

ANÁLISIS DE SECUENCIAS PROTEINICAS DEL HOMO SAPIENS

Relaciones entre el hombre y otros mamíferos a partir de sus receptores olfativos.

Diana Marcela Valencia G.
Ingeniería de Sistemas
Universidad del Valle
Cali, Colombia

Andres Felipe Obando R.
Ingeniería de Sistemas
Universidad del Valle
Cali, Colombia

RESUMEN

Al realizar un estudio en biología molecular surgen problemas que para ser solucionados deben hacer uso de herramientas que faciliten obtener una solución en tiempo real. Los seres humanos tenemos rasgos de parentesco con ciertos animales, tales como el gorila, el chimpancé, entre otros, dado que provenimos de ancestros comunes. A partir del análisis de las proteínas de sus receptores olfativos, se quiere determinar cuáles son las aproximaciones evolutivas de las especies a comparar con el hombre a saber: el gorila, el chimpancé, la rata y el ratón común, así como también las propiedades hidrofílicas que tienen una de las tantas proteínas del ser humano. Al final, se podrá ver cómo la evolución de algunas proteínas se fueron adaptando a cada uno de estos seres. También, se hará un juicio respecto a las propiedades de la proteína mencionada anteriormente.

Palabras claves:

receptor olfativo, análisis hidrofílico, homo sapiens, proteína, BioEdit.

1. Introducción

El presente trabajo se refiere al tema del análisis y comportamiento de las proteínas, en particular las proteínas del receptor olfatorio humano, por medio del uso de las herramientas vistas en clase.

Para analizar este trabajo es necesario mencionar sus causas. Una de ellas se basa en la determinación de las relaciones de parentescos entre el ser humano y algunos mamíferos, lo cual nos ayudaría a entender un poco más acerca de nuestra propia historia evolutiva. Adicionalmente, el estudio de las propiedades hidrofílicas en la proteínas es muy importante debido a que interviene en la determinación de otras propiedades, tales como la solubilidad de la misma.

1.1 RECEPTOR OLFATORIO HUMANO

Estamos rodeados de constantes percepciones, captadas por diversas partes de nuestros sentidos. El ser humano utiliza estos receptores para distinguir los diferentes olores o aromas que lo rodean. Lo interesante de estos receptores es que no es el cerebro como tal el que hace el reconocimiento olfativo, sino las neuronas nasales que se encuentran en el mismo. Estos receptores se encuentran distribuida a lo largo de lo que se conoce como epitelio olfatorio. Los olores agradables son capturados desde la parte inicial del epitelio, mientras que los más desagradables se encuentran al final del mismo. Antes de que estas moléculas puedan ser tratadas, deben ser anexadas a una proteína receptora de olor en particular.

Las proteínas receptoras de olor son una de las familias más numerosas encontradas en los seres humanos, las cuales conformadas por más de 1000 y las cuales solo se expresan en los receptores olfatorios como habría de esperarse. Cuando los receptores perciben la entrada de un olor, este último se une a más de un receptor, a manera de patrón y así este reconocimiento es empleado por las neuronas olfativas y dan el estímulo apropiado que la persona debe realizar. Este mecanismo se puede ver reflejado en casi todos los demás mamíferos, siendo unos más especializados que otros claro está.

1.2. HIDROFOBICIDAD E HIDROFILICIDAD.

En los aminoácidos, es determinada dependiendo de su solubilidad en el agua, a los que posean mayor solubilidad en el agua (afinidad con el agua) se llaman aminoácidos hidrofílico y los que son repelentes al agua hidrofóbicos. Cabe destacar que, los aminoácidos hidrofóbicos deben su comportamiento a que la cadena que los acompaña no tienen un grupo que interactúe de una manera adecuada con el agua. Entre ellos podemos encontrar la Alanina (Ala), Valina (Val), Leucina (Leu), Isoleucina (Iso), Prolina (Pro),

Fenilalanina (Phe), Triptofano (Trp), Metionina (Met), Tirosina (Tyr) y Cisteína (Cys)

Mientras que los aminoácidos hidrofílicos, o aminoácidos polares no cargados como también se le conoce, poseen un grupo en el cual no se encuentran presencias de cargas positivas o negativas, dando así la facilidad de interactuar con el agua, estableciendo enlaces de hidrógeno. Entre estos aminoácidos se encuentran: Glicina (Gly), Serina (Ser), Treonina (Thr), Asparagina (Asn), Glutamina (Gln), Lisina (Lys), Arginina (Arg), Histidina (His), Aspartato (Asp) y Glutamato (Glu).

1.3. MARCO CONCEPTUAL

Proteína: son moléculas que están formadas por cadenas de aminoácidos las cuales se encuentran presentes en la casi todos los procesos biológicos, siendo de gran importancia debido a que son portadoras de la herencia.

Filogenia: permiten obtener relaciones entre ancestros y descendientes mediante la topología de árboles. También se logra obtener distancias evolutivas por medio del análisis de la longitud de las ramas del árbol.

Bioedit: es un editor desarrollado para el sistema operativo Windows para la alineación y manipulación de secuencias biológicas. Otras de sus funciones son generación de árboles filogenéticos, análisis de hidrofobicidad e hidrofiliidad, matriz gráfica de herramientas de visualización de datos, alineación de ácido nucleico a base de traducción, entre otras.

1.4. OBJETIVO DEL PARCIAL

El objetivo en este proyecto es aplicar una serie de análisis por medio del empleo de herramientas bioinformáticas para el procesamiento de proteínas receptoras olfativas. El método consiste en pasar, en primera instancia, una serie de 15 proteínas y realizar un árbol filogenético, donde se analizarán los rasgos de parentesco entre el hombre y otros 4 mamíferos. La segunda parte del método consiste en el análisis de perfiles de hidrofiliidad empleando Bioedit.

El presente informe está organizado de la siguiente manera: la sección 2 contiene la metodología empleada para resolver este problema, la sección 3 contiene las pruebas realizadas y sus respectivos resultados, la sección 4 muestra la discusión realizada en los anteriores puntos, la sección 5 muestra la(s) conclusión(es). Finalmente la sección 6 contiene la bibliografía empleada para el desarrollo del parcial.

2. METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL PROCESAMIENTO DE LAS PROTEÍNAS

Para llevar a cabo la práctica se seleccionaron secuencias de la proteína del Receptor olfatorio de los siguientes organismos:

- **Homo Sapiens** (Ser Humano)
- **Mus Musculus:** ratón doméstico o común, es la especie de ratón más frecuente. Es una especie de ratón miomorfo de la familia muridae.
- **Rattus Norvegicus:** comúnmente denominada rata de alcantarilla, es una de las ratas más conocidas, a logrado colonizar casi todo el mundo desde sus orígenes en china, esto se debe a su relación con las actividades humanas. han dado lugar a otras variedades de ratas.
- **Pan Troglodytes:** conocido como el chimpancé común. Es una especie de primate propia del África tropical. Estos junto a los bonobos son los parientes vivos más cercanos al hombre, compartiendo casi el 96% del ADN con ellos.
- **Gorilla Gorilla:** son primates que habitan los bosques de África central, son los más grandes de los primates vivos y su ADN es un 97% igual al de un humano.

Como primera medida la práctica busca familiarizarnos con las bases de datos disponibles para el área de biología molecular, para este caso haremos uso de la página web del NCBI. El NCBI busca la accesibilidad a la base de datos de secuencias de ADN del GenBank, esté constantemente está almacenando y actualizando información principalmente sobre secuencias genómicas. Para hacer uso de las herramientas desarrolladas para hacer bioinformática se descargaron secuencias desde el NCBI, las cuales serán de un mismo tipo de proteína pero en organismos diferentes, finalmente se quiere lograr establecer la relación de parentesco entre estas especies.

Posteriormente, se hace empleo de la herramienta Bioinformática MEGA 6 para la construcción del árbol filogenético, computado por medio de bootstrap, el método más usado para la parsimonia y la máxima verosimilitud. Los pasos para desarrollar esta parte se pueden encontrar en [4].

Las secuencias de proteínas pueden ser analizadas también con el objetivo de mostrar su perfil de hidrofiliidad a través de métodos como el Parker, Bokyo y Hopp and Wood. Dichos métodos, o perfiles, se encuentran ya implementados en la herramienta Bioedit. Aquí se empleará la proteína de receptor olfativo 311 aa, la cual es mejor descrita más adelante en este mismo documento. los cuales se encuentran implementados en la herramienta BioEdit.

3. PRUEBAS APLICADAS EN EL PARCIAL

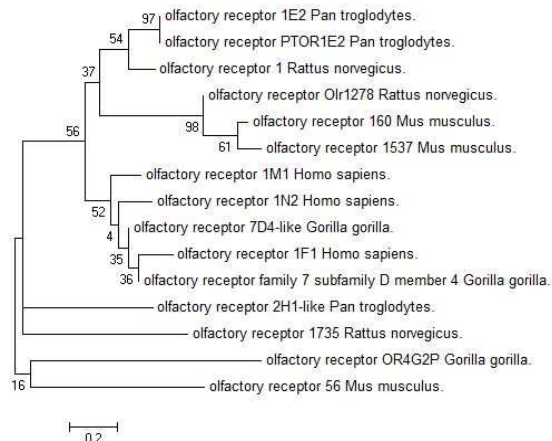
3.1. ANÁLISIS DEL ÁRBOL FILOGENÉTICO.

La información usada para este proyecto consta de 15 archivos en formato FASTA de los anteriores especímenes mencionados, tomando 3 de cada uno. En la siguiente tabla se muestran las secuencias seleccionadas de estas especies.

| Especie | GenBank ID | Descripción de la secuencia | GI |
|-------------------|----------------|--|--------------|
| Homo Sapiens | NP_036492.1 | Receptor olfatorio 1F1 | gi-6912554 |
| Homo Sapiens | NP_001004456.1 | Receptor olfatorio 1M1 | gi-52218828 |
| Homo Sapiens | NP_001004457.1 | Receptor olfatorio 1N2 | gi-52317166 |
| Mus Musculus | NP_035129.1 | Receptor olfatorio 56 | gi-33468919 |
| Mus Musculus | NP_085030.2 | Receptor olfatorio 160 | gi-257196282 |
| Mus Musculus | NP_997548.1 | Receptor olfatorio 1537 | gi-46575901 |
| Rattus Norvegicus | NP_001000139.1 | Receptor olfatorio 1735 | gi-47777348 |
| Rattus Norvegicus | NP_775152.1 | Receptor olfatorio Olf1278 | gi-27465587 |
| Rattus Norvegicus | NP_997692.1 | Receptor olfatorio 1 | gi-47058972 |
| Pan Troglodytes | NP_001267313.1 | Receptor olfatorio 2H1-like | gi-525342754 |
| Pan Troglodytes | NP_001009162.1 | Receptor olfatorio 1E2 | gi-57114196 |
| Pan Troglodytes | NP_001009116.1 | Receptor olfatorio PTOR1E2 | gi-57114097 |
| Gorilla Gorilla | NP_001266571.1 | Receptor olfatorio 7D4-like | gi-525343057 |
| Gorilla Gorilla | ACZ52483.1 | Receptor olfatorio, familia 7, subfamilia D, miembro 4 | gi-269868367 |
| Gorilla Gorilla | ACD61703.1 | Receptor olfatorio OR4G2P | gi-188523805 |

Tabla 1. Muestra cada una de las secuencias tomadas de la proteína del receptor olfatorio de cinco especies diferentes.

Con la finalidad de encontrar relaciones evolutivas entre las especies mencionadas anteriormente, las cuales se cree que tienen una ascendencia común, se realizó el siguiente árbol filogenético.



3.2. PERFIL HIDROFÍLICO DE LA PROTEÍNA 311 aa

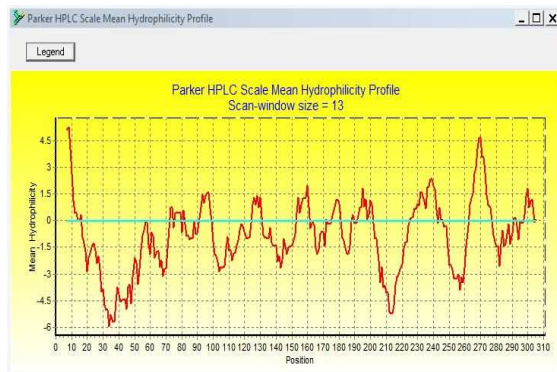
Se realizó un análisis hidrofílico a la proteína 311 aa, la cual es una proteína del receptor olfatorio del hombre, identificada con el número CAC21444.1.

La secuencia en formato FASTA es:

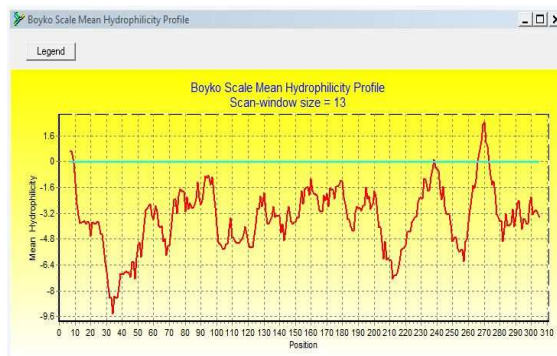
```
>gi|12140484|emb|CAC21444.1| olfactory receptor [Homo sapiens]
MNDDGKVNASSEGYFILVGFSNWPHELVVIFVVVLI
FYLMTLIGNLFIILSYLDSHLHTPMYFFLSNLS
FLDLCYTTSSIPQLLVNLWGPEKTISYAGCMIQLYFV
LALGTAECVLLVMSYDRYAACVCRPLHYTVLMH
PRFCHLLAVASWVSGFTNSALHSSFTFWVPLCGHRQ
VDHFFCEVPALLRLSCVDTHVNELTLMITSSIFV
LIPLILILTSYGAIQAVLRMQSTTGLQKVFGTCGAH
LMAVSLFFIPAMCIYLQPPSGNSQDGKGFALF
YTVVTPSLNPLIYTLRNKVVVRGAVKRLMGWE
```

La herramienta BioEdit nos permite realizar un perfil hidrofílico a la proteína mencionada anteriormente.

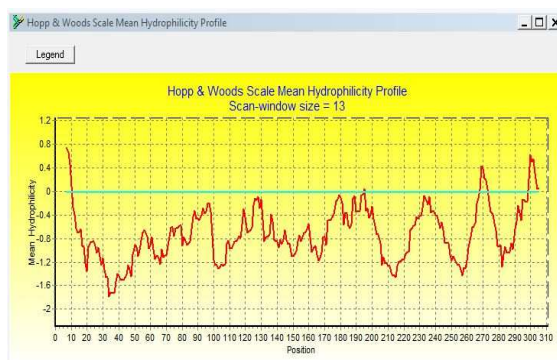
- **Perfil de hidrofiliidad de Parker**



- **Perfil de hidrofiliidad de Boyko**



- **Perfil de hidrofiliidad de Hopp & Woods**



El análisis de hidrofiliidad se realizó siguiendo tres distintos métodos: el método de Parker, el método de Boyko y el método de Hopp y Woods. Cómo se puede observar en los gráficos, el eje de la abscisa corresponde a la cantidad de aminoácidos presentes en la proteína para este caso 310 aminoácidos y en el eje de las ordenadas tenemos el valor de hidrofiliidad o hidrofobicidad para cada región de la proteína. Tenemos que la representación de la hidrofiliidad presenta diversos valores mayores a cero para cada aminoácido.

4. DISCUSIÓN ACERCA DE LOS RESULTADOS

4.1. DISCUSIÓN DEL ÁRBOL FILOGENÉTICO

El árbol fue generado en el programa MEGA, versión 6, A partir de los resultados presentados de los análisis de las proteínas de los receptores olfativos de las especies mencionadas, se puede apreciar que:

1. Los ratones y las ratas comparten un ancestro común. Esto es, por supuesto, algo muy lógico si miramos la gran cantidad de rasgos morfológicos similares entre ambas especies.

2. Las ratas y los simios presentan una relación algo débil y poco común, debido a que hay un 54% de proximidad, lo cual es algo muy pequeño, pero no lo suficiente para ignorar este hecho. Esto indica que ambos especímenes comparten un rasgo de algún ancestro común a ellos. Aun así, las sospechas de que ratones, ratas y chimpancés tengan una similitud parental es muy baja e indica que es casi improbable que provengan los tres de un mismo ancestro común.

3. Caso parecido al de las ratas y los chimpancés, lo podemos notar con los gorilas y los seres humanos. A pesar de que vienen de un ancestro común, el cual surgió hace aproximadamente 6 u 8 millones de años atrás, podemos apreciar que su relación es algo débil, puesto que solo tiene un 52%. Nuevamente, esto no niega que provengan de un mismo ancestro.

4. Algo curioso sucede cuando convergen las situaciones de los puntos 2 y 4. En este caso, se puede apreciar de nuevo una relación débil entre los cinco especímenes aquí evaluados. Este hecho permite determinar que, efectivamente, antes de la separación entre las familias de los homínidos y los móridos, existió un espécimen que compartieron durante muchos años.

Anteriormente, se creía que los humanos y los ratones compartían similitudes en su código genético. Pero, en estudios actuales, se pudo encontrar que tales diferencias estaban mal infundadas. “Hasta ahora se presumía que “todo lo que se descubría en el ratón sería válido también para humanos, pero la idea nunca se ha evaluado de forma sistemática”, dice Bing Ren, del Instituto Ludwig para la Investigación sobre el Cáncer de la Universidad de California en San Diego (EE UU)” [1]

En el árbol se pueden ver todas las posibles relaciones entre las muestras extraídas de los individuos, excepto, quizás para nosotros, la relación existente entre los chimpancés y los seres humanos. Los chimpancés comparten aproximadamente un 98% de nuestro código genético, podemos inferir que son estos animales los más cercanos a nosotros y no los roedores que mencionamos antes. La respuesta al porque no se experimentan con estos animales, acerca de las enfermedades que también nos aquejan (cáncer, sida, entre otros) es debido a una cuestión de ética o moral podríamos decir y en vez de eso usamos a los ratones para los experimentos sobre estos temas.

4.1. DISCUSIÓN DEL PERFIL DE HIDROFILICIDAD

Para este caso en especial podemos observar que la proteína es más hidrofóbica ya que la mayoría de sus regiones toman valores menores a cero y pocas por encima de cero, lo cual deja en evidencia que la proteína posee poca solubilidad en el agua, siendo el análisis de Boyko el más preciso para este caso. La hidrofobia es una de las propiedades fundamentales que determinan la estructura de las proteínas, por lo tanto los aminoácidos hidrofílicos como Lisina (K), Asparagina (N) y Serina (S) presentes en la secuencia formarán la capa exterior de la proteína, mientras que los aminoácidos hidrofóbicos se encontrarán en la parte interior.

5. CONCLUSIONES

- Para el trabajo en bioinformática es importante conocer las herramientas y bases de datos que nos permiten llevar a cabo una investigación en el campo de la biología molecular.
- Los seres humanos comparten muchas similitudes con la mayoría de los mamíferos de su misma familia, la hominidae. Sin embargo, como se pudo apreciar en el árbol filogenético, existe la posibilidad de que hubiera un ancestro mucho más primitivo donde podríamos haber compartido ciertas características (algunas más predominantes que otras) con otros mamíferos (en este caso los roedores).
- La hidrofobicidad o la hidrofiliidad es una propiedad fundamental para la estructuración de la proteína y a través del análisis de estos perfiles nos permite conocer la forma que tomarán (plegamiento de proteínas).

6. BIBLIOGRAFIA

[1] TENDENCIAS 21. Los humanos y los ratones se parecen genéticamente menos de lo que se pensaba. publicado el: 20 de Noviembre, 2014. Disponible en: http://www.tendencias21.net/Los-humanos-y-los-ratones-se-parecen-geneticamente-menos-de-lo-que-se-pensaba_a38763.html

[2] MORENO, Pedro. Biología Molecular: Traducción o síntesis de proteínas. Universidad del Valle. Cali, Colombia.

[3] RAMO, Jose. Sistema olfatorio de vertebrados. Universidad de Valencia. Disponible en: <http://www.uv.es/ramo/quimio/OLFATOVert.pdf>

[4] HALL, Barry. Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA. Molecular Biology and Evolution. Oxford University. 2013. Disponible en: <http://mbe.oxfordjournals.org/content/30/5/1229.full>