

Proyecto Final

Genómica Computacional

Hernández Uriostegui David
Suaste Morales Noé Abraham

03/06/23



1. Introducción

Desde el año 2019 la humanidad se ha visto atacada por el coronavirus de tipo 2 causante del síndrome drespiratorio agudo severo **SARS-CoV-2** (del inglés *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*). Este virus fue el que ocasionó la epidemia, y que durante ésta, manifestó distintas variantes gracias a mutaciones que se convirtieron rápidamente en objeto de estudio para el desarrollo de vacunas y medicinas.

Desde el primer brote detectado en Wuhan, China en diciembre de 2019 de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, se han confirmado más de 767 millones de casos y más de 6.9 millones de muertes debido al virus (1). Estos datos reflejan la importancia que debe tener el estudio del virus, particularmente de las variantes de relevancia médica.

Las variantes se clasifican de acuerdo a su tasa de transmisión y a la gravedad de la enfermedad que ocasionan. También su linaje es un factor importante para clasificar de manera correcta y así mismo lo es la mutación dentro de las variantes particulares, dentro de las variantes más importantes y en las cuáles nos basaremos para el análisis, están las variantes: alfa, beta, gamma, delta y ómicron.

2. Pregunta de investigación

¿Qué tanto difieren las secuencias de las variantes de SARS-CoV-2 con respecto a la secuencia original?

3. Objetivo

El objetivo de éste trabajo es determinar las diferencias y similitudes entre las principales variantes de importancia médica del SARS-CoV-2 frente a la secuencia original.

4. Datos

Los nucleótidos usados para el proyectos fueron los siguientes:

- https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_045512.2?report=fasta (**Secuencia original**)
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OW996240.1?report=fasta> (**Omicron**)
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OW998408.1?report=fasta> (**Alfa**)
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OX014251.1?report=fasta> (**Delta**)
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OX000832.1?report=fasta> (**Gamma**)
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OX008586.1?report=fasta> (**Beta**)

5. Métodos

- Clustel Omega. Se utilizará este método para alinear las múltiples secuencias y obtener la matriz de porcentaje de identidad.
- BLAST. Se usa para realizar una alineamiento local entre la secuencia de referencia con las secuencias de las variantes.
- BioPython. Se utiliza para poder comparar como funciona los alineamientos globales los cuales están basados en el algoritmo Needleman-Wunsch.

6. Resultados

Primeramente, utilizando las siguientes secuencias y alineando mediante Clustel Omega:

- Secuencia variante alfa.
- Secuencia variante beta.
- Secuencia variante delta.
- Secuencia variante gamma.
- Secuencia variante ómicron.

podimos obtener resultados que podemos visualizarlos en el siguiente árbol filogenético 1:

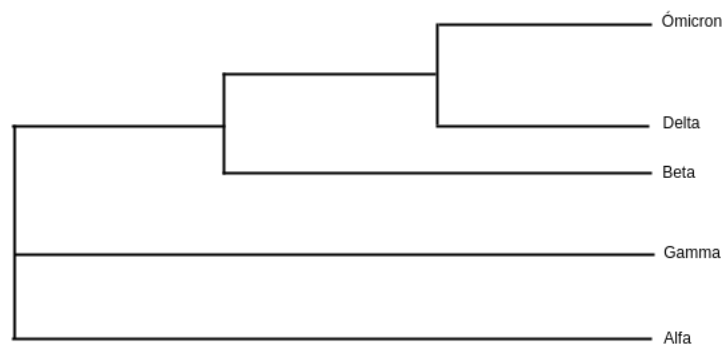


Figura 1: Árbol filogenético de las 5 principales variantes

Mediante el mismo método pero también considerando la secuencia original, pudimos obtener la matriz de porcentaje de identidad representada en la tabla 1.

Cabe mencionar, que Clustel Omega usa el algoritmo HAlign (7) para realizar el alineamiento.

Siguiendo con **BLAST**, sabemos a partir de la Práctica 3 que esta herramienta usa el algoritmo de **Smith–Waterman**, el cual es un algoritmo de alineamiento global.

Estos fueron los resultados obtenidos:

| | original | alfa | beta | delta | gamma | ómicron |
|----------|----------|-------|-------|-------|-------|---------|
| original | 100 | 99.47 | 97.05 | 98.24 | 95.94 | 95.89 |
| alfa | | 100 | 97.36 | 98.54 | 96.29 | 96.21 |
| beta | | | 100 | 96.10 | 93.87 | 93.78 |
| delta | | | | 100 | 96.50 | 95.09 |
| gamma | | | | | 100 | 92.70 |
| ómicron | | | | | | 100 |

Tabla 1: Matriz de porcentaje de identidad de las principales variantes

| 7ZBCZVZZ114-Alignment-Descriptions | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-----------------|-------------|-------|-----------|-------------|-------------|---------|------------|----------|------------|
| Description | Scientific Name | Common Name | Taxid | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. ident | Acc. Len | Accession |
| Alpha | | | 0 | 54674 | 54674 | 99% | 0.0 | 99.82 | 29884 | Query_8401 |
| Delta | | | 0 | 38566 | 54010 | 98% | 0.0 | 99.82 | 29890 | Query_8403 |
| Gamma | | | 0 | 27497 | 52769 | 96% | 0.0 | 99.87 | 29898 | Query_8404 |
| Omicron | | | 0 | 25874 | 52505 | 96% | 0.0 | 99.35 | 29866 | Query_8405 |
| Beta | | | 0 | 21339 | 53348 | 97% | 0.0 | 99.79 | 29879 | Query_8402 |

Cómo podemos observar del **Query cover** y **Per. Ident** indican, que en efecto, las variantes son similares a la secuencia original, siendo la más divergente la variante *Omicron*.

Por último, para poder realizar una mejor comparativa entre las tecnologías disponibles para realizar alineamientos. Se decidió hacer uso de la biblioteca de Python: **Biopython**.

Para el análisis, usamos la implementación del algoritmo de alineamiento global, el cual se basa en el algoritmo **Needleman-Wunsch**.

Cabe mencionar, que las secuencias son bastante grandes lo cual querer comparar todas contra la secuencia original hacía que nuestras computadoras se volvieran bastante lentas y que no terminaran de correr el algoritmo. Por lo cual decidimos ir evaluando por subregiones en intervalos de 900 (se escogió intervalos de 900, ya que era el número más grande que nuestras máquinas podían usar sin que el algoritmo tardara una cantidad de tiempo bastante alta). Es decir comparamos la subregión (0, 900) de la secuencia original, contra la subregión (0, 900) de *alpha*, *beta*, *gamma*, *delta* y *omicron*.

De esta manera lo que se hacía era ir sumando los resultados obtenidos de correr el algoritmo en esas regiones por cada una de las variantes, y al final. El resultado de cada variante dividirlo entre el número de subregiones evaluadas.

```

In [7]: query_ranges = [(i, i+900) for i in range(0, 28001, 900)]

In [8]: query_ranges
Out[8]: [(0, 900),
(900, 1800),
(1800, 2700),
(2700, 3600),
(3600, 4500),
(4500, 5400),
(5400, 6300),
(6300, 7200),
(7200, 8100),
(8100, 9000),
(9000, 9900),
(9900, 10800),
(10800, 11700),
(11700, 12600),
(12600, 13500),
(13500, 14400),
(14400, 15300),
(15300, 16200),
(16200, 17100),
(17100, 18000),
(18000, 18900),
(18900, 19800),
(19800, 20700),
(20700, 21600),
(21600, 22500),
(22500, 23400),
(23400, 24300),
(24300, 25200),
(25200, 26100),
(26100, 27000),
(27000, 27900),
(27900, 28800)]

In [9]: variants_scores = {
    "alpha" : 0,
    "beta" : 0,
    "delta" : 0,
    "gamma" : 0,
    "omicron" : 0
}

In [10]: for seq, name in variants:
    for start, end in query_ranges:
        score = perform_sequence_alignment(ref_seq, seq, gap_penalty, match_score, mismatch_penalty, start=start, end=end)
        variants_scores[name] += score

In [11]: for variant in variants_scores:
    variants_scores[variant] /= len(query_ranges)

In [12]: variants_scores
Out[12]: {'alpha': 1760.65625,
'beta': 1691.0625,
'delta': 1751.3125,
'gamma': 1671.65625,
'omicron': 1668.78125}

```

De igual manera, en este caso podemos observar que el *Omicron* es la variante con menor similitud entre todas las demás.

Lo que se procedió a hacer es comparar cada una de las variantes contra las demás y también comprobar que el método de alineamiento que usa BioPython es en efecto el de Needleman-Wunsch. Al final, se comprobó que esto último es cierto.

7. Discusión

Del árbol filogenético 1 podemos deducir que la variante ómicron ha sido la que más mutaciones ha tenido con respecto a las demás variantes de importancia médica. Además, sabemos que la variante ómicron es de las más predominantes en diversos países(2). Esto nos invita a pensar que las mutaciones efectivamente ayudaron a que el virus encontrara una manera más eficaz de infectar.

Gracias a la matriz de porcentaje de identidad1 podemos observar que tenemos variantes bastante similares a la original como la alfa y en menor medida la delta y por el contrario tenemos algunas que no se asemejan tanto a la secuencia original como lo son la gamma y la ómicron.

De igual manera, pudimos ver que usando los alineamientos locales y globales que los resultados de Clustel Omega coinciden con los arrojados por los alinamientos (BLAST y el uso de BioPython).

8. Conclusión

Podemos apreciar que las variantes que más mutaciones conllevaron son aquellas que actualmente tienen un alto grado de casos en el mundo como la variante ómicron y la variante delta(2). También pudimos ver que no necesariamente se necesitaba diferir mucho de la secuencia original para ser una variante altamente contagiosa como lo es la variante delta. Sin embargo la variante ómicron si presenta significantes cambios con respecto a la variante original y ha sido probada altamente contagiosa aunque menos letal.

Referencias

- [1] Organización Mundial de la Salud. (2023). COVID-19: Información general. Recuperado de <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
- [2] Covariants. (2023) Casos estimados por variante. Recuperado de <https://covariants.org/cases>
- [3] Farhud, D. D., and Mojahed, N. (2022). SARS-COV-2 Notable Mutations and Variants: A Review Article. Iranian journal of public health, 51(7), 1494–1501. <https://doi.org/10.18502/ijph.v51i7.10083>
- [4] Mittal, A. (2021, February 23). Sequence Alignment and the Needleman-Wunsch Algorithm. Analytics Vidhya. <https://medium.com/analytics-vidhya/sequence-alignment-and-the-needleman-wunsch-algorithm-710c7b1a23a4>
- [5] Bio.pairwise2 module — Biopython 1.75 documentation. (n.d.). Biopython.org. <https://biopython.org/docs/1.75/api/Bio.pairwise2.html>
- [6] Help - Clustal Omega FAQ - Tools Help Documentation - EMBL-EBI. (n.d.). [Www.ebi.ac.uk](https://www.ebi.ac.uk/seqdb/confluence/display/THD/Help+-+Clustal+Omega+FAQ). Retrieved June 8, 2023, from <https://www.ebi.ac.uk/seqdb/confluence/display/THD/Help+-+Clustal+Omega+FAQ>: :text=Clustal%20Omega%20uses%20the%20HHalign
- [7] HHAlign-Kbest. (n.d.). Bioserv.rpbs.univ-Paris-Diderot.fr. Retrieved June 8, 2023, from <https://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/HHalign-Kbest/>