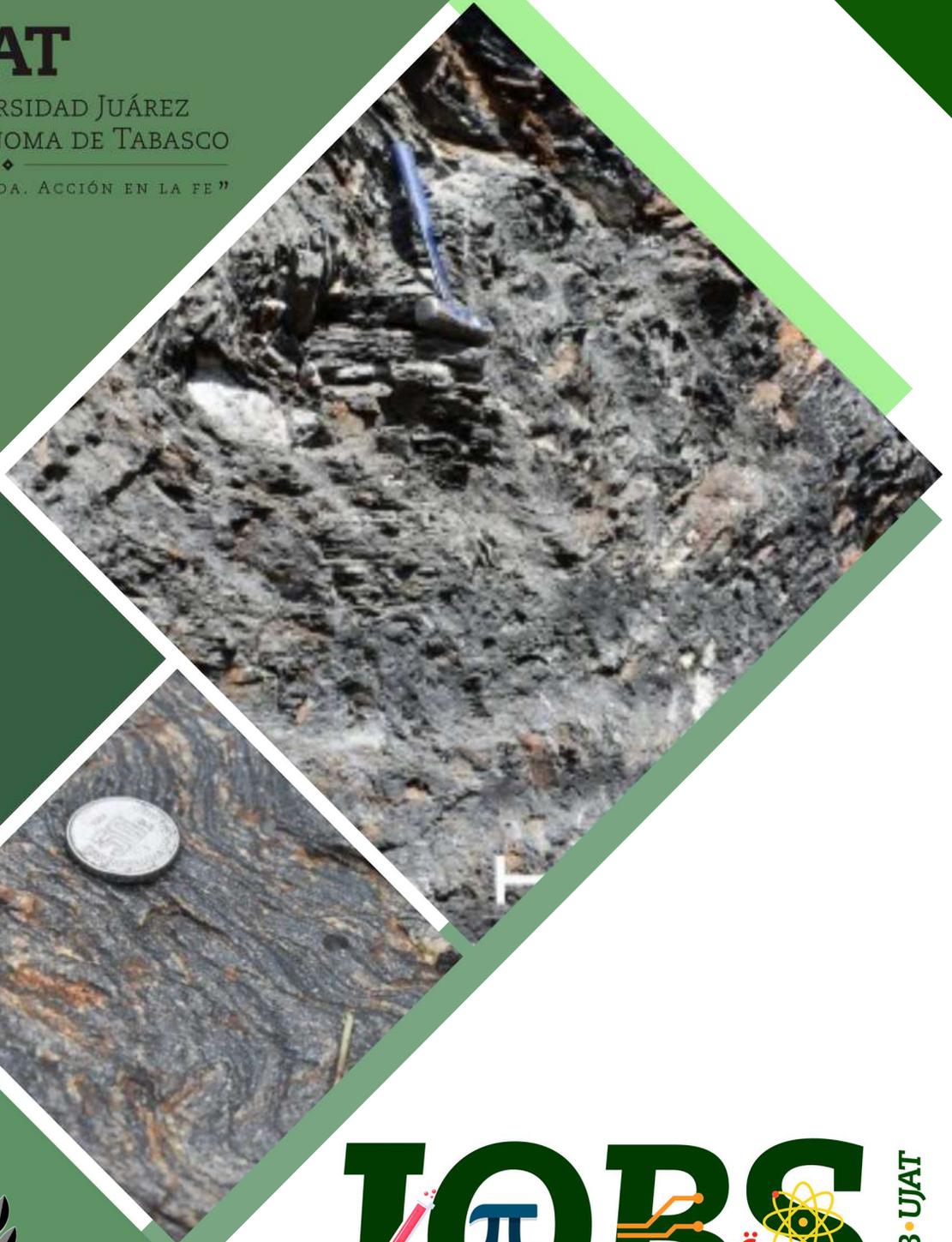




UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”



JOB π BS

DACB • UJAT

Journal of Basic Sciences

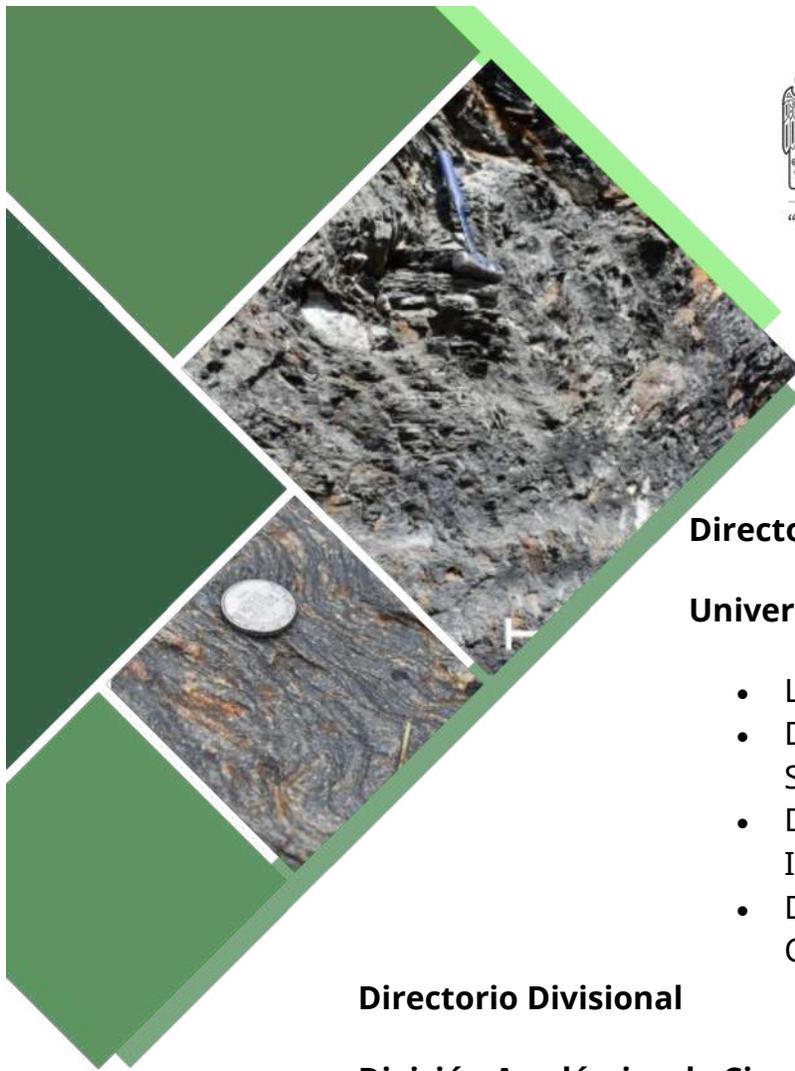
Volumen 10 • número 27 • enero-abril 2024

ISSN:2448-4997

<https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs>

OPEN  ACCESS

La revista **Journal of Basic Sciences** (antes Revista de Ciencias Básicas UJAT) es una revista electrónica multidisciplinaria que es editada por la División Académica de Ciencias Básicas (DACB) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) desde el 2002. Desde su nacimiento hasta el año 2014, se editaba semestralmente y de manera impresa, pero durante un proceso de reestructuración y relanzamiento, sufrió algunos cambios. A partir del 2015 cambió de título a su nombre actual, migró al modo solo electrónico y además pasó a ser editada cuatrimestralmente. La revista publica artículos con resultados de investigaciones científicas originales en los campos de la Física, Química, Matemáticas, Ciencias Computacionales y áreas afines. Sitio web: <http://revistas.ujat.mx/index.php/jobs>. Editor responsable: **Carlos Ernesto Lobato García**. Informes: jobs@ujat.mx. Es una revista de **Revista de acceso libre!**



Directorio Institucional

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

- Lic. Guillermo Narváez Osorio. Rector
- Dr. Luis Manuel Hernández Govea. Secretario de Servicios Académicos
- Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez. Secretario de Investigación, Posgrado y Vinculación
- Dr. Pablo Marín Olán. Director de Difusión, Divulgación Científica y Tecnológica

Directorio Divisional

División Académica de Ciencias Básicas

- Dra. Hemicenda Pérez Vidal. Directora
- Dr. Luis Manuel Martínez González. Coordinador de Investigación
- M.C. Abel Cortazar May. Coordinador de Docencia
- Mtro. Santiago Antonio Méndez Pérez. Coordinador de Difusión Cultural y Extensión
- L.Q. Esmeralda León Ramos. Jefa de Investigación

Comité Editorial

- Dr. Carlos Ernesto Lobato García. Editor en Jefe
- Dr. Adib Abiu Silahua Pavón. Gestor Editorial
- Mtra. Claudia Gisela Vázquez Cruz. Editora Asociada. Actuaría
- Mtra. María Hortensia Almaguer Cantú. Editora Asociada. Ciencias de la Computación
- Dr. José Arnold González Garrido. Editor Asociado. Ciencias Farmacéuticas
- Dr. José Luis Benítez Benítez. Editor Asociado. Física
- Mtro. Guillermo Chávez Hernández. Editor Asociado. Geofísica
- Dra. Addy Margarita Bolívar Cimé. Editora Asociada. Matemáticas
- Dra. Nancy Romero Ceronio. Editora Asociada. Química
- Dr. Carlos Mario Morales Bautista (Editor Invitado)

Contenido

	Pag.
Análisis estructural y modelamiento molecular de los receptores de odorante Or4 de mosquitos <i>Aedes aegypti</i>	1-17
Regulación de la angiogénesis por antioxidantes en el cáncer de mama triple negativo	18-34
Principales alimentos funcionales con efecto hipoglucemiante en Diabetes mellitus	35-45
Bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre provenientes de diferentes rizosferas de mangles	46-57
Contaminación y deficiencia de la calidad por uso de suelos agrícolas: una revisión cualitativa	58-64
Síntesis de Ugi de tres componentes (U-3CR) en presencia de metales de transición. Obtención de N-bencil-2-fenil-2-(fenilamino)acetamida	65-74
Condiciones metamórficas del grafito en el Complejo Metamórfico Paleozoico Esquistos Granjeno	75-81
Determinación del parámetro Vs30 en el Municipio de Teapa, Tabasco	82-86
Problema de control para el modelo básico de la hepatitis C con tratamiento	87-105



Análisis estructural y modelamiento molecular de los receptores de odorante Or4 de mosquitos *Aedes aegypti*

Alejandro Soto-Ospina^{1,2,*}, Sebastián Pino¹, Gabriel Bedoya[†], Pedronel Araque³, Winston Rojas-Montoya¹

¹Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina, Grupo de Genética Molecular (GenMol), Medellín, Colombia.

²Corporación Universitaria Lasallista, Facultad de Ingeniería, Grupo de Investigación en Ingeniería de Alimentos (GRIAL).

³Universidad EIA, Grupo de Investigación e Innovación en Formulaciones Químicas, Envigado, Colombia.

*jsoto72@unilasallista.edu.co

† (Q.E.P.D)

Resumen

Los receptores de odorantes OR4 acoplados a co-receptores como Orco, son importantes estructuras multiproteicas que permiten la interacción con moléculas de odorante, esenciales en la detección de nutrientes en la dieta de mosquitos *Aedes aegypti*, para entender como el cambio de haplotipos entre mosquitos salvajes y mosquitos urbanos pueden tener una relación estructural a nivel tridimensional, se hizo el modelado de haplotipos A, B, G (Zoófagos) y C, D, E, F (Antropófagos) que no tienen estructura reportada a partir de un predictor por homología, los posteriores refinamientos por homología fueron realizados para obtener un modelo de reconstrucción por biología estructural ideal para hacer la comparación tridimensional. Los alineamientos de las estructuras tridimensionales se hicieron con el algoritmo Needleman Wunsch y se encontró relación entre los haplotipos zoófagos y antropófagos. Asimismo, los cambios estructurales obtenidos en los haplotipos altamente diferenciados a nivel genético no presentaron una relación tridimensional.

Palabras claves: Mosquitos, odorantes, receptor OR4, modelamiento molecular.

Abstract

OR4 odorant receptors docked to co-receptors such as Orco, are important multiprotein structures that allow interaction with odorant molecules, essential in the detection of nutrients of *Aedes aegypti* mosquitoes. The main approach is to understand the haplotype change among wild mosquitoes and urban mosquitoes from structural relationship. The haplotypes A, B, G (Zoophages) and C, D, E, F (Anthropophagous) were modeled, in order to propose a tridimensional model, since there are not published structure in protein databases. The unrefined models were refined and evaluated to determine an ideal structural biology reconstruction model to make the three-dimensional comparison. The alignments of the three-dimensional structures were made with the Needleman Wunsch algorithm and dimensional relationship was found between zoophagous and anthropophagous haplotypes. Likewise, the structural changes obtained in the highly differentiated haplotypes at the genetic level did not present a three-dimensional relationship.

Keywords: Mosquitoes, odorants, OR4 receptor, molecular modeling.

Recibido: 02 de octubre de 2023. Aceptado: 22 de diciembre de 2023. Publicado: 30 de abril de 2024.



1. Introducción

Los mosquitos pertenecen al grupo más importante de vectores de agentes causantes de enfermedades, esto lo demuestra la gran cantidad de especies involucradas en la transmisión de parásitos y patógenos a humanos y animales. *Aedes aegypti* es una especie invasora particularmente adaptable que ha colonizado con éxito la mayoría de las zonas urbanas y sub-urbanas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo; esto se debe al comportamiento antropofílico que ha desarrollado y a la capacidad de poner huevos resistentes a la desecación en recipientes de agua artificiales, ampliamente disponible en la mayoría de los países en desarrollo, donde la distribución del agua y las condiciones sanitarias suelen ser rudimentarias [1]. De igual manera, el transporte moderno y el comercio han contribuido en gran medida a la difusión pasiva geográfica de este vector y, en consecuencia, a la difusión de la enfermedad. Los mosquitos *Aedes aegypti* contribuyen a la propagación del Virus Dengue (DEV), Virus de la Fiebre Amarilla (YFV), el Chikungunya (CHIK), Virus Zika (ZIKV) y el Virus del Nilo Occidental (WNV) a través de la transmisión viral mediada por el hábito de alimentarse con sangre [2]. Este comportamiento de alimentación es el resultado de una combinación única de características morfológicas, fisiológicas y genéticas del sistema sensorial de los mosquitos, incluida la visión, quimiosensación, termosensación, mecanosensación e higosensación [3].

La pregunta sobre las preferencias alimenticias para una especie, cuando dispone variadas fuentes alimenticias, siempre ha sido motivo de interés. Estudios de laboratorio han demostrado una fuerte preferencia de *Aedes aegypti* hacia odorantes humanos [4, 5], pero la confirmación de este comportamiento es insuficiente. Existen factores externos que pueden afectar la preferencia del huésped, como cuando la especie preferida no está disponible y el umbral de respuesta para la selección del hospedero se ha reducido debido a la baja energía metabólica o cuando el clima adverso impide que los mosquitos se alejen del hábitat residencial en el que se encuentran [6]. Diferentes estudios han logrado demostrar que los insectos han desarrollado complejos repertorios de receptores para responder a estímulos químicos en su entorno, incluidos: receptores de olor (OR), receptores ionotrópicos (IR) y receptores gustativos (GR) [7]. En *Drosophila* y en mosquitos los ORs forman un complejo heteromérico con Orco para su orientación a la membrana celular [8]. En dos subespecies de *Aedes* (*Aedes aegypti aegypti* y *Aedes aegypti formosus*), variaciones en la expresión del receptor OR4 se han asociado con variaciones en las preferencias antroppo/zoofílicas [9]; también con el comportamiento repelente hacia el DEET [10, 11]. Los ORs parecen estar estrechamente relacionados con la detección de varios componentes del olor que emanan de los seres humanos, como 1-octen-3-ol (presente en el aliento), 2,3-butanediona (subproducto del sudor metabolizado) e indol (sudor volátil) [10]. Los ORs de insectos pertenecen al tipo 7- transmembrana, pero no muestran ninguna homología con otros ORs identificados en los vertebrados o en nematodos. Estos también muestran una inserción invertida en la membrana y se ha demostrado que el heterómero OR-orco de insectos funciona como un canal iónico dependiente de odorantes [12–14]. Por lo tanto, la identidad de un odorante puede estar codificada en gran medida en la identidad de los ORs que activa y, por extensión, en la identidad de las ORNs que expresan esos ORs.



Su estudio ha recibido mucha atención tanto en el contexto de la biología y la evolución de insectos como en el potencial de aplicaciones para el control de plagas[8, 15]. Para el gen del receptor de olores OR4, se ha determinado que presenta 7 haplotipos (nomenclados de A-G) y se evidenció que 3 de ellos, los haplotipos A, B y G estaban en una mayor frecuencia en las poblaciones de mosquitos que vivían en zonas urbanas y que preferían alimentarse en humanos [9], lo que demuestra que una expresión diferencial de estos alelos puede estar relacionada con este comportamiento en la predilección a alimentaria.

Actualmente no existen estudios en los que se reporten como estos receptores interactúan con los odorantes que percibe *Aedes aegypti*. Se hace importante evaluar estas interacciones dada la importancia médica de esta especie de mosquito y su variación en sus preferencias alimenticias sobre diferentes especies hospederas y sobre diferentes individuos de la misma especie, pues se puede aportar al entendimiento del comportamiento antropófago además para diseñar instrumentos eficaces para su control o para evitar el contacto con los humanos.

2. Metodología

Búsqueda de haplotipos del receptor Or4

La búsqueda de haplotipos a nivel genómico se hizo en la base de datos Genbank, mostrando que reportados se encuentran 7 haplotipos, de los cuales 3 son de mosquitos antropófagos y los 4 restantes de mosquitos zoófagos, cada uno tiene el siguiente ID (Antropófagos: 'KF801614.1'A', 'KF801615.1'B' y 'KF801621.1'G'; Zoófagos: 'KF801618.1'C', 'KF801620.1'D', 'KF801619.1'E' y 'KF801617.1'F')[16, 17].

Análisis y caracterización del receptor de odorante 4 del mosquito Aedes aegypti

En la búsqueda de las bases de datos RCSB Protein Data Bank [18] para el receptor de odorante4 (Odr4) del mosquito *Aedes aegypti*, no se encuentra cristalizado ningún fragmento estructural, sin embargo en otras bases de datos tales como Uniprot, EMBL y Pfam, se encuentran descripciones sobre la proteína, pero no existe estructura predicha; mientras que en la base de datos NCBI, se tiene que solo existe estructura para el receptor de odorante1 (Odr1) de *Aedes aegypti*, *Anopheles gambiae* y *Culex quinquefasciatus*, por lo que se procede a proponer un modelo hipotético a partir de predictores de estructura para haplotipos reportados para el Odr4 de *Aedes aegypti*.

Alineamiento de secuencias primarias

Al obtener los haplotipos según la base de datos en NCBI se tienen los datos de las traducciones para cada haplotipo, tanto zoófago como antropófago en formato FASTA, por lo que se procede a realizar un alineamiento con Jalview seleccionando el histograma normalizado sin consenso, asimismo se hace el cálculo de índice de similaridad ID a partir de las herramientas T-Coffee 2.0 y



clustal X para estudiar la conservación potencial de los fragmentos estructurales entre los siete haplotipos evaluados para el receptor de odorante4 [19, 20].

Modelos de predicción estructural para Or4

Cada haplotipo contenido en la base de datos fue traducido a la secuencia proteica, para obtener así la secuencia primaria del receptor de odorante para cada haplotipo, esta secuencia primaria de aminoácidos fue sometida en el software predictor de estructura de proteína y péptidos I-Tasser, los cuales realizan una construcción por homología a partir de una comparación con las estructuras cristalizadas que se tienen reportadas, asimismo el reconocimiento de plegamientos estructurales en (folding) y ensamblaje por threading (hilamiento), va uniendo los fragmentos encontrados por similitud, teniendo en cuenta el esqueleto atómico como un sistema flexible que obedece las leyes dinámicas de Newton en la conceptualización clásica[21–23].

Refinamiento estructural de los modelos estructurales

Los modelos obtenidos por el predictor de estructura con los resultados cuyo algoritmo coincida en proporción, con el alineamiento de las secuencias primarias de cada proteína traducida de los haplotipos, sus modelos fueron refinados a partir de los software Modrefiner, Remo y fragmentos guiados de dinámica molecular (FG-MD), los cuales generaron modelos de refinamiento estructural que se validaron posteriormente[24, 25].

Validación estructural de los modelos hipotéticos de Odr4 Aedes aegypti

Cada uno de los modelos obtenidos con el predictor de estructura sin refinar y refinados, fueron validados de manera energética y estereoquímica, a partir de algoritmos bioinformáticos que permiten generar comparaciones de medidores de parámetros globales y locales de los modelos, para los valores energéticos se hizo uso del suite de Swiss Assessment Structure de XPASy, el cual genera datos de los algoritmos dfire, anolea, gromocs y QMEAN6 como un valor en el rango normalizado, asimismo se hace uso del cálculo del gráfico de Ramachandran para evaluar cada residuo de aminoácido según la orientación de los ángulos diedrales Phi (ϕ) y Psi (ψ), seleccionando el modelo con los datos mejor fijados[26–29].

Visualizadores estructurales

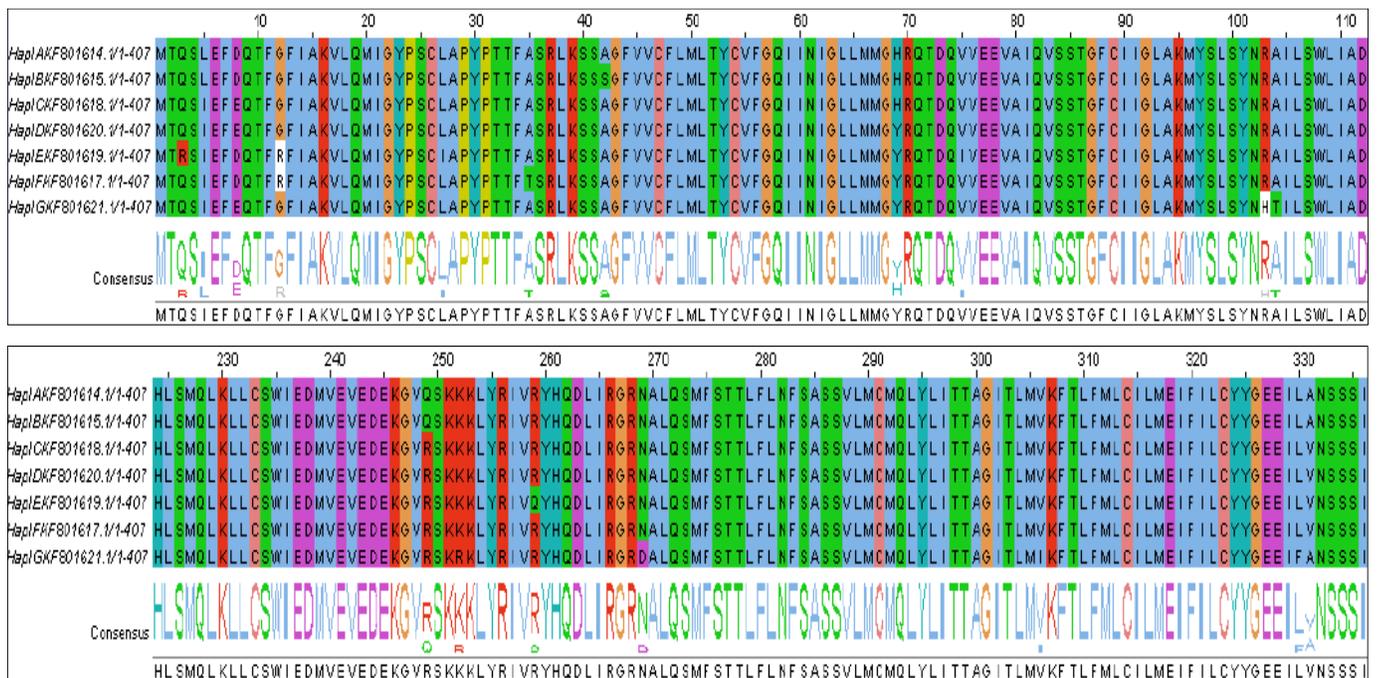
Los visualizadores permiten realizar los alineamientos y dar una idea de los modelos estructurales ensamblados y creados, los alineamientos se hacen con el software chimera U.C.S.F. versión 1.11[30], para ello se usa la comparación estructural con la opción Matchmaker, con los parámetros de matrix de sustitución de bloques BLOSUM62 y el algoritmo de programación dinámica que produce un alineamiento global para proteínas, ácidos nucleicos y canales de proteína transmembranal, para una identificación y localización topológica se hace uso del software Deepview/Swiss-PdbViewer versión 3.7[31]. El cálculo de la desviación estándar RMSD, el



coeficiente de similaridad Q_H y el índice de similaridad se obtienen con un Multi alignment of protein structure and sequences (STAMP) mediado por el software VMD que viene en el paquete NAMD/VMD de la Universidad de Illinois[32, 33]. Asimismo, Protter es una plataforma abierta que entrega un gráfico en 2D teniendo en cuenta esferas tangentes que coinciden con los aminoácidos que tienen la conectividad del receptor e integra de una manera interactiva las características químicas de la secuencia[34].

3. Resultados

Según los datos recolectados de las bases de datos, el receptor de odorante 4 (Odr4) tiene 7 haplotipos obtenidos de la base de datos Genbank, los cuales son el fragmento codificante del receptor para mosquitos con características antropofagas y zoofagas, los haplotipos evaluados fueron: 'KF801614.1'A', 'KF801615.1'B', 'KF801621.1'G' como antropófagos y 'KF801618.1'C', 'KF801620.1'D', 'KF801619.1'E', 'KF801617.1'F' como zoófago. De la caracterización en bases de datos se pudo determinar que la mayoría de haplotipos, presentan algunas variantes características que son las responsables de la discriminación por sangre humana o animal, de igual modo cabe resaltar que los haplotipo 'KF801614.1'A' y 'KF801615.1'B' solo presentan una variante entre los dos para la mutación Ala42Ser, lo que evidencia su cercanía filogenética. En la Figura 1 se presenta el alineamiento de los receptores de odorante para su secuencia primaria de aminoácidos, luego de realizar su respectiva traducción y obtener los aminoácidos constituyentes en formato FASTA:



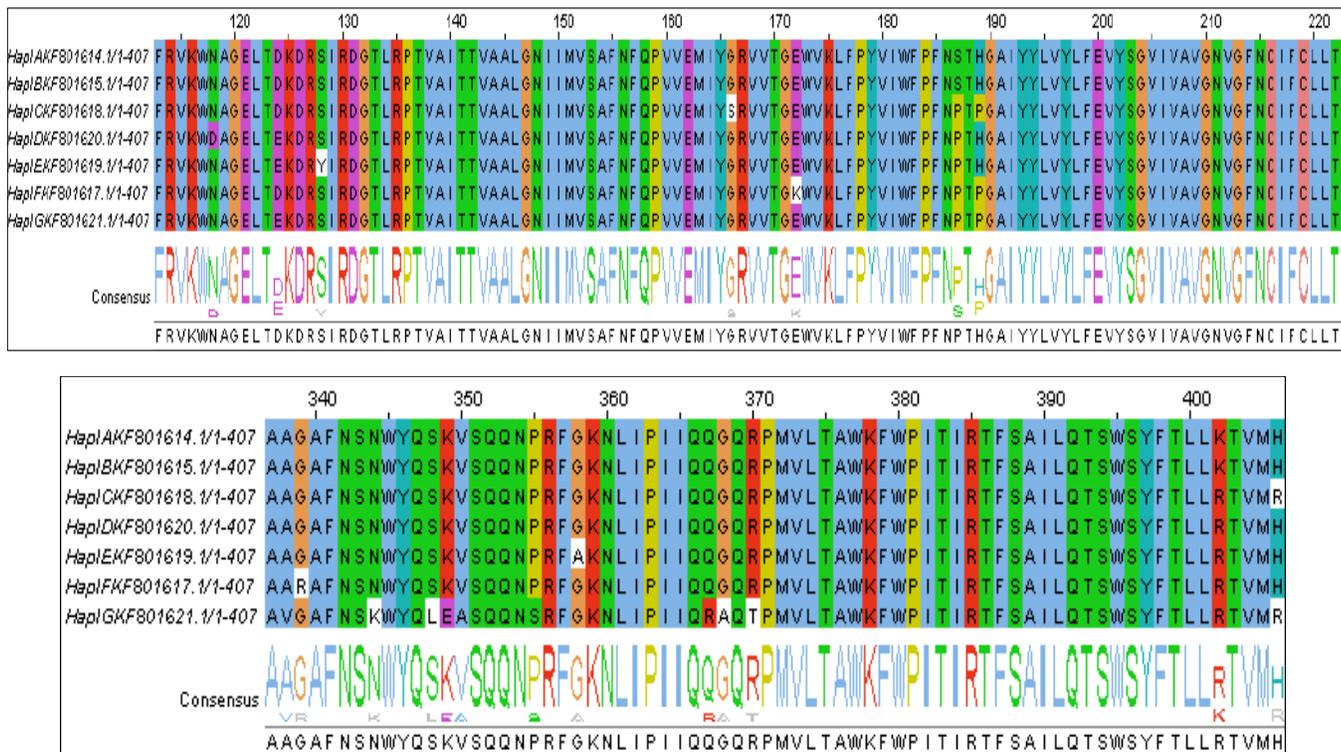


Figura 1. Alineamiento de secuencias primaria de haplotipos A, B, C, D, E, F y G en el software Jalview.

En el alineamiento con la herramienta T-Coffee 2.0 del software Jalview y código de colores ClustalX que considera la naturaleza química polar, no polar, aromática, neutra, ácido o básica para cada aminoácido perteneciente a la secuencia de composición proteica, en donde se pudo obtener un alineamiento de las secuencias de los haplotipos, que ilustra de manera visual la Figura 1. Este tipo de representación permite observar las regiones estructurales que son conservadas entre todos los haplotipos de igual modo se pueden observar variantes que pueden tener efecto en la diferenciación de insectos hematófagos, ya sean antropófagos o zoófagos. Al tener la secuencia primaria como propósito de la investigación, y el comportamiento de los alineamientos consenso para las secuencias primarias como muestra el logomat, se busca realizar el modelamiento molecular con un enfoque a nivel estructural, obteniendo los diversos modelos de los haplotipos que no tienen estructura cristalizada ni reportada en la literatura como se ha encontrado en las diversas bases de datos de estructura de proteínas, con el fin de evaluar el efecto de las variantes y su influencia como posible factor diferenciador desde la distribución espacial. En la Figura 2 se presenta el gráfico en 2D obtenido con el software Protter, para reconocer la estructura del receptor con la localización transmembrana de los aminoácidos constituyentes de la proteína, las variantes

encontradas en los genes que traducen a este receptor de odorantes y la localización de las porciones N-terminal y C-terminal.

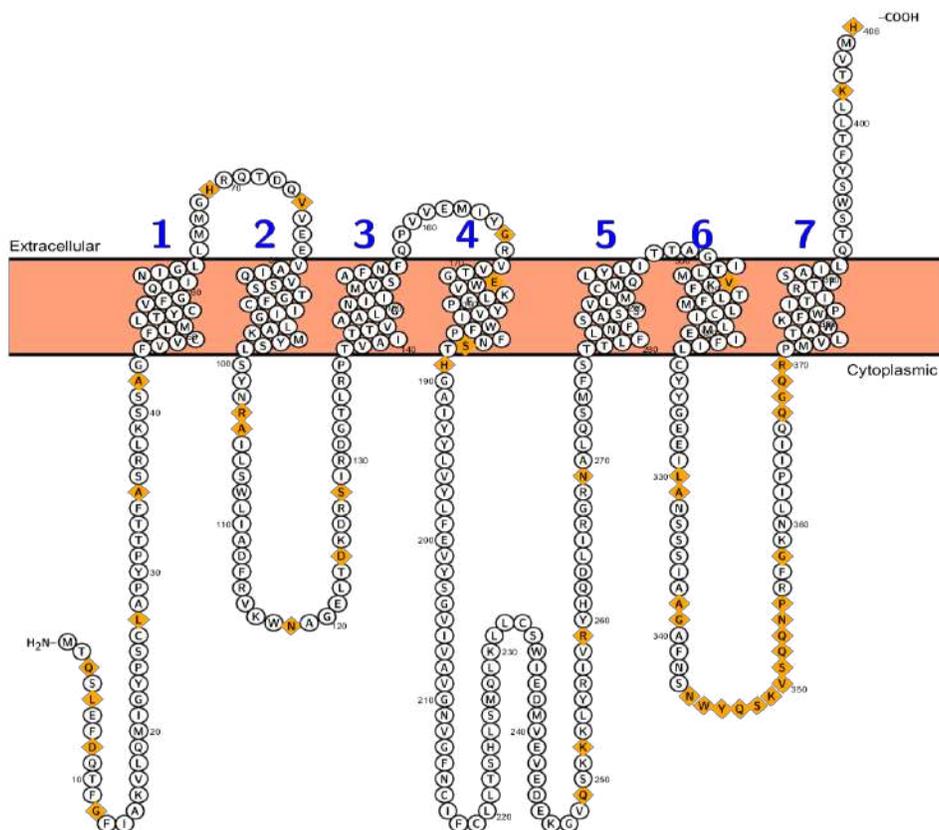


Figura 2. Estructura del receptor de odorante 4 para *Aedes aegypti* en 2D.

Los modelos tridimensionales seleccionados a partir de datos de validación energética y estereoquímica son consignados en la Tabla 1.

Esta es la estructura general del receptor de *Aedes aegypti* con su N-terminal intracelular y el C-terminal extracelular. Al realizar la búsqueda en las bases de datos Protein Data Bank, Uniprot y EMBL, no se tiene una estructura cristalizada y para entender mejor la funcionalidad del receptor de odorante OR4, se procede a realizar una predicción estructural con el software I-Tasser para modelos hipotéticos con comparaciones por homología para los 7 haplotipos reportados [9]. Cada uno de estos haplotipos obtuvo un modelo estructural hipotético sin refinar y se compara con los modelos refinados, caracterizando los valores para cada modelo desde una conceptualización energética y estereoquímica que se reporta en la Tabla 1 y cuyos modelos con mejor puntaje, fueron comparados para cada haplotipo, seleccionando el mejor en representación para los haplotipos antropófagos (Figura 3) y haplotipos zoófagos en la Figura 4.

Los mejores modelos de haplotipos se escogen como motivo estructural que representa la secuencia primaria de los aminoácidos alineados en sus secuencias primarias y son visualizados y representados con la herramienta Chimera U.C.S.F, las ubicaciones de las regiones C-terminal y N-terminal, son resaltadas, respetando el código de cada haplotipo y aprovechando esta nomenclatura para mostrar los modelos asociados a haplotipos antropófagos y de igual forma ocurre con los haplotipos zoófagos.

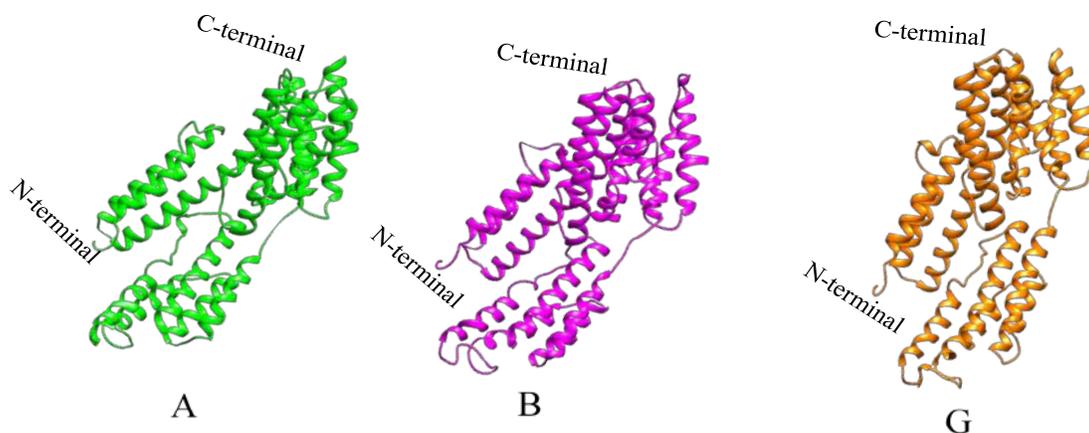


Figura 3. Modelos de predicción estructural para cada uno de los haplotipos Antropófagos Or4 construidos con el software de predicción I-Tasser: Haplotipo A (Verde), Haplotipo B (Magenta) and Haplotipo G (Naranjado).

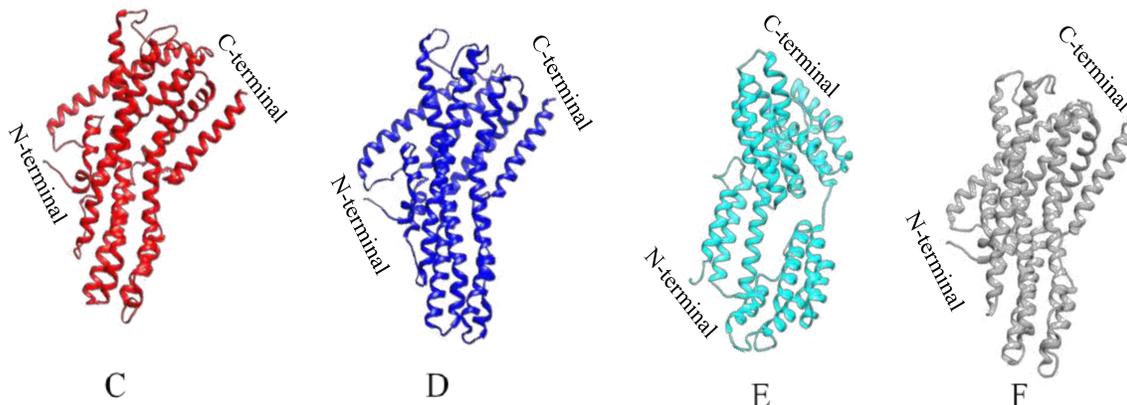


Figura 4. Modelos de predicción estructural para cada uno de los haplotipos Zoófagos Or4 construidos con el software de predicción I-Tasser: Haplotipo C (Rojo), Haplotipo D (Azul oscuro), Haplotipo E (Azul ciano) and Haplotipo F (Gris).

Estos modelos seleccionados y visualizados a nivel tridimensional son la representación de cada uno de los haplotipos que fueron evaluados bajo una comparación de refinadores estructurales para obtener estructuras sin contactos entre átomos o con átomos solapados, los refinadores fueron Modrefiner, FG-MD y Remo, los cuales califican interacciones mediadas por campos externos para



favorecer el plegamiento estructural. Todas las representaciones tienen un modelado estructural de la secuencia completa sin fragmentos faltantes en su estructura. Según los resultados, los valores estereoquímicos consideran los valores porcentuales de residuos que queden en las regiones favorables y permitidas, además, los valores normalizados más altos para QMEAN6 y los Z-score más bajitos que guarden la tendencia de comparación con estructuras resueltas a nivel experimental.

Haplotype	Model	Software	QMEAN6	Zscore	Ramachandran plot		
					Favoured region	Allowed region	Outlier region
A	Unrefined	I-TASSER	0,341	-5,019	346 (85,6%)	40 (9,9%)	18 (4,5%)
		FG-MD	0,345	-4,973	346 (85,6%)	40 (9,9%)	18 (4,5%)
	Refined	Remo	0,370	-4,682	350 (86,6%)	29 (7,2%)	25 (6,2%)
		ModRefiner	0,357	-4,836	380 (94,1%)	19 (4,7%)	5 (1,2%)
B	Unrefined	I-TASSER	0,350	-4,919	348 (86,1%)	34 (8,4%)	22 (5,4%)
		FG-MD	0,360	-4,796	348 (86,1%)	39 (9,7%)	17 (4,2%)
	Refined	Remo	0,342	-5,005	357 (88,4%)	24 (5,9%)	23 (5,7%)
		ModRefiner	0,358	-4,825	385 (95,3%)	17 (4,2%)	2 (0,5%)
C	Unrefined	I-TASSER	0,319	-5,282	343 (84,9%)	43 (10,6%)	18 (4,5%)
		FG-MD	0,312	-5,358	345 (85,4%)	36 (8,9%)	23 (5,7%)
	Refined	Remo	0,362	-4,768	331 (81,9%)	32 (7,9%)	41 (10,1%)
		ModRefiner	0,378	-4,579	381 (94,8%)	17 (4,2%)	4 (1,0%)
D	Unrefined	I-TASSER	0,366	-4,729	338 (83,7%)	48 (11,9%)	18 (4,5%)
		FG-MD	0,366	-4,722	338 (83,7%)	46 (11,4%)	20 (5,0%)
	Refined	Remo	0,351	-4,9	338 (83,7%)	48 (11,9%)	18 (4,5%)
		ModRefiner	0,388	-4,463	378 (93,6%)	22 (5,4%)	4 (1,0%)
E	Unrefined	I-TASSER	0,365	-4,732	340 (84,2%)	49 (12,1%)	15 (3,7%)
		FG-MD	0,357	-4,832	344 (85,1%)	46 (11,4%)	14 (3,5%)
	Refined	Remo	0,353	-4,882	347 (85,9%)	30 (7,4%)	27 (6,7%)
		ModRefiner	0,390	-4,448	381 (94,3%)	20 (5,0%)	3 (0,7%)
F	Unrefined	I-TASSER	0,479	-3,39	358 (88,6%)	35 (8,7%)	11 (2,7%)
		FG-MD	0,487	-3,632	355 (87,9%)	38 (9,4%)	11 (2,7%)
	Refined	Remo	0,539	-5,718	358 (88,6%)	35 (8,7%)	11 (2,7%)
		ModRefiner	0,443	-7,809	386 (95,5%)	14 (3,5%)	4 (1,0%)
G	Unrefined	I-TASSER	0,354	-4,873	347 (85,9%)	46 (11,4%)	11 (2,7%)
		FG-MD	0,353	-4,874	341 (84,4%)	48 (11,9%)	15 (3,7%)
	Refined	Remo	0,363	-4,758	347 (85,9%)	46 (11,4%)	11 (2,7%)
		ModRefiner	0,370	-4,685	385 (95,3%)	18 (4,5%)	1 (0,2%)

Tabla 1. Resultados de la validación energética y estereoquímica para cada modelo de haplotipo.

Los haplotipos seleccionados con mejores características y valores de puntaje estereoquímico y energético fueron: Haplotipo A con refinamiento Modrefiner, Haplotipo B con refinamiento Modrefiner, Haplotipo C con refinamiento Modrefiner, Haplotipo D con refinamiento Modrefiner, Haplotipo E con refinamiento Modrefiner, Haplotipo F con refinamiento Remo y Haplotipo G con refinamiento Modrefiner, donde algunos a pesar de no tener una diferencia muy marcada energéticamente, si se tienen cambios a nivel de los ángulos diedrales que generan el enlace peptídico, por lo que funciona como criterio para seleccionar los modelos. El Haplotipo F presenta una mejor validación energética y por tamaño del Z-score con respecto a los demás haplotipos en

bruto o con refinación, esto es debido a la secuencia primaria, las conexiones y a las posibles interacciones que se producen con los cambios de aminoácidos, debido a la interacción de los ambientes externos con los ácidos nucleicos (epigenética), para las variantes que estabilizan la estructura. Todos los modelos seleccionados se alinearon para comparar homología a nivel tridimensional para los haplotipos asociados de mosquitos antropófagos y hematófagos, este alineamiento fue realizado con el software Chimera con matriz Blosum 62 y el algoritmo Needleman Wunsch de alineamiento global, como se muestra en la Figura 5 para Zoófagos y Figura 6 de antropófagos:

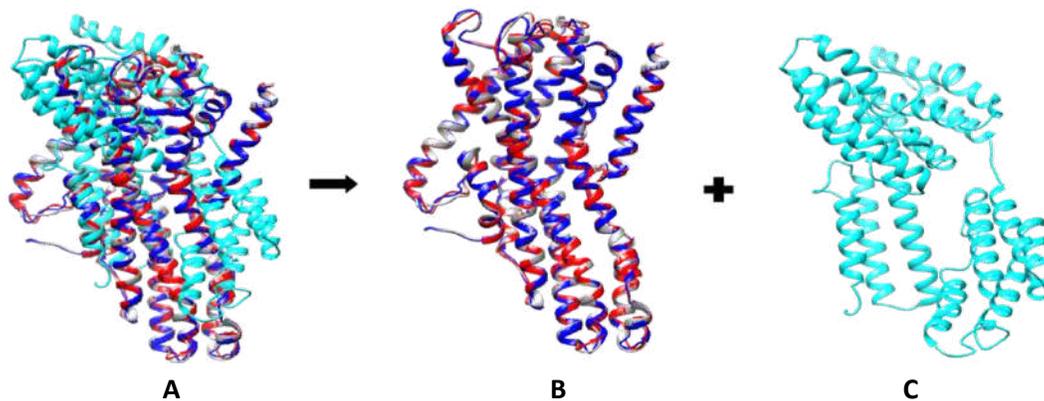


Figura 5. Alineamientos estructurales del receptor de odorantes Or4 asociado a mosquitos zoófagos para haplotipos C, D, E y F: A) Alineamiento incompleto del total de haplotipos de receptor zoófago Or4; B) Alineamiento de los receptores de odorante Or4 con regiones altamente conservadas a nivel tridimensional para los haplotipos C, D y E; C) Haplotipo E de la estructura tridimensional Or4 que no presentó alineamiento estructural con los demás haplotipos.

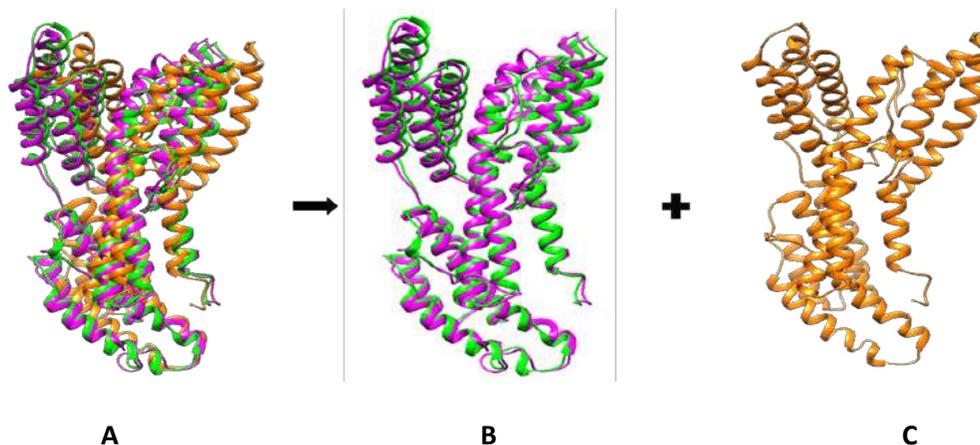


Figura 6. Alineamientos estructurales del receptor de odorantes Or4 asociado a mosquitos antropófagos: A) Alineamiento levemente desfasado del total de haplotipos de receptor antropófago Or4 para haplotipos A, B y G; B) Alineamiento de los receptores de odorante Or4 con regiones altamente conservadas a nivel tridimensional haplotipos A y B; C) Haplotipo G de la estructura tridimensional Or4 que no presentó alineamiento estructural con los demás haplotipos.



Cada uno de los alineamientos desde el punto de vista cualitativo permite esclarecer cuales haplotipos tienen estructuralmente, regiones con plegamientos y zonas de alta conservación, lo que permite considerar actividades o comportamientos químicos que pueden ser muy parecidos en las interacciones con odorantes o el acoplamiento del correceptor Orco. A continuación, se procede a calcular el alineamiento cuantitativo de los receptores de odorantes asociados para cada uno de los haplotipos modelados, estos resultados se muestran, con su respectiva tabla de acoplamiento en la **Tabla 2**.

Modelos	QH	RMSD
<i>Antropófagos</i>		
Or4A	QHA-B: 0,9417	RMSDA-B: 0,8703
	QHA-G: 0,8783	RMSDA-G: 1,2835
Or4B	QHB-A: 0,9417	RMSDB-A: 0,8703
	QHB-G: 0,8870	RMSDB-G: 1,2505
Or4G	QHG-A: 0,8783	RMSDG-A: 1,2835
	QHG-B: 0,8870	RMSDG-B: 1,2505
<i>Zoófagos</i>		
Or4C	QHC-D: 0,9716	RMSDC-D: 4,5381
	QHC-E: 0,1076	RMSDC-E: 37,1704
	QHC-F: 0,9706	RMSDC-F: 3,4089
Or4D	QHD-C: 0,9716	RMSDD-C: 4,5381
	QHD-E: 0,1075	RMSDD-E: 36,9043
	QHD-F: 0,9735	RMSDD-F: 5,5846
Or4E	QHE-C: 0,1076	RMSDE-C: 37,1704
	QHE-D: 0,1075	RMSDE-D: 36,9043
	QHE-F: 0,1074	RMSDE-F: 37,4342
Or4F	QHF-C: 0,9706	RMSDF-C: 3,4089
	QHF-D: 0,9735	RMSDF-D: 5,5846
	QHF-E: 0,1074	RMSDF-E: 37,4342

Tabla 2. Multialineamiento cuantitativo de los haplotipos por pares con la herramienta STAMP: Q_H (índice de similitud del alineamiento pareado) y RMSD (Desviación estándar de los alineamientos pareados).

Estos alineamientos presentaron valores de índice de similitud, desviación estándar de la estructura para cada uno de los haplotipos comparados con la misma naturaleza, es decir, entre los haplotipos de mosquitos zoófagos y antropófagos, se tiene que para los haplotipos antropófagos A-B el valor de índice de similitud Q_H de 0.9417 representa un buen alineamiento estructural y una baja desviación estándar RMSD de 0.8703; en comparación con el alineamiento por pares de los haplotipos A-G y B-G que presentan valores menores con Q_H de 0.8783 y 0.8870 y desviación estándar de RMSD 1.2835 y 1.2505 respectivamente; asimismo, considerando los haplotipos de los mosquitos zoófagos, los mejores alineamientos se presentan para haplotipos C-D, C-F con Q_H de 0.9716 y 0.9706 y RMSD de 4.5381 y 3.4089 consecuentemente, respecto a valores muy bajos de los alineamientos por pares con el haplotipo E que tiene la mayor diferencia a nivel estructural con valores de índice Q_H para alineamientos de E-C, E-D y E-F de 0.1076, 0.1075 y 0.1074 con RMSD de



37.1704, 36.9043 y 37.4342 proporcionalmente, lo que evidencia las diferencias de estos haplotipos acordes con la diferencias genéticas encontradas tanto para los haplotipos antropófagos con G y los haplotipos zoófagos con E, siendo estos los más alejados.

4 Discusión

Estos receptores de odorante 4 en la especie *Aedes egypti* tienen una función importante en el reconocimiento de fuentes de alimento hematófagas, ya sea de fuente animal o humana; para realizar este proceso se requiere la participación de un co-receptor Orco y del enlace de la molécula de odorante. A partir de los haplotipos reportados [9], se desea comparar a nivel de la expresión de esos genes y comparar diferencia genética desde los cambios estructurales, se tienen que los alineamientos a partir de la secuencia primaria presentan para cada uno de los haplotipos regiones altamente conservadas y esto se puede ver luego que con los alineamientos de T-Coffee 2.0 en el consenso se tienen un mayor tamaño del Logomat, es decir, las letras son más grandes para estas regiones. Siguiendo con el proceder, se tiene que al consultar las bases de datos de proteínas, el receptor de odorante 4 no presenta estructura cristalizada y se procede a generar modelos hipotéticos a partir de softwares predictores de estructura proteica, estos modelos seleccionados fueron desarrollados con el algoritmo I-Tasser y refinados posteriormente como se describe en la metodología, teniendo en cuenta la optimización de las disposiciones espaciales por las restricciones de nuevas interacciones por enlaces de hidrogeno y cambios inducidos por campos de fuerzas que optimizan las distribuciones estructurales.

Estos modelos al ser creados fueron comparados por homología usando como plantilla los archivos cristalizados y reportados en los bancos de datos, fueron también ensamblados por el reconocimiento del plegamiento estructural tipo (folding) según la secuencia primaria del receptor y algunas de las regiones sin estructura, se proponen por modelamiento *ab-initio* que consiste de ensamble y rearreglos espaciales promovidos por fuerzas de interacción e impedimentos estéricos. Los haplotipos obtenidos fueron validados de manera energética con el parámetro de QMEAN6 que consiste en una combinación lineal de términos que producen un valor promedio normalizado, tomando valores entre 0 a 1, teniendo en cuenta: interaction of β -carbon energy; all atom pairwise energy; solvation energy; torsión angle energy; secondary structure agreement and solvent accessibility agreement. De la misma manera, fueron evaluados con el parámetro Z-score los modelos creados, haciendo una comparación estructural respecto a las proteínas con el mismo tamaño, obtenidas a nivel experimental y determinando valores acordes con las proteínas reales a partir de un score. En el análisis estereoquímico con los resultados obtenidos y consignados en el artículo, se caracterizaron los ángulos diedrales Psi (ψ) y Phi (ϕ) de los planos generados por cada enlace peptídico (tipo amida), los modelos seleccionados de la tabla fueron los haplotipos que mejores valores presentaron como se indican en los resultados. Los mejores haplotipos multi-alineados mostraron que a nivel 3D no hay un alineamiento considerable entre todos, por lo que cada uno a pesar de tener un porcentaje de similitud muy conservados para ciertas regiones de aminoácidos, los cambios entre haplotipos se manifiestan con un cambio a nivel tridimensional

marcado, guiado por los cambios a nivel tridimensional, lo que permite argumentar que hay una diferencia entre los receptores de odorante Or4 de mosquitos *Aedes aegypti* zoófagos y antropófagos ya que no se tienen coincidencias estructurales en ninguno de los alineamientos, posterior a realizar la depuración tridimensional. Se seleccionan los haplotipos de los antropófagos y los zoófagos para intentar encontrar una correlación tridimensional como la encontró McBride y colaboradores [9], al hacerlo se obtuvo un muy buen valor cuantitativo del alineamiento por la herramienta STAMP “Alineamiento estructural de múltiples proteínas” de VMD “visualizador de dinámica molecular”, para un índice de similitud Q_H alto para los haplotipos A y B con una baja desviación estándar entre las estructuras alineadas RMSD. Asimismo, para los haplotipos zoófagos C, D y F se encontraron muy buenos alineamientos, dejando aislados con diferencias estructurales al haplotipo G en el alineamiento antropófago y el haplotipo E para el alineamiento zoófago, los cuales son los más alejados entre las comparaciones y cuyas diferencias genéticas se muestran en la Figura 7.

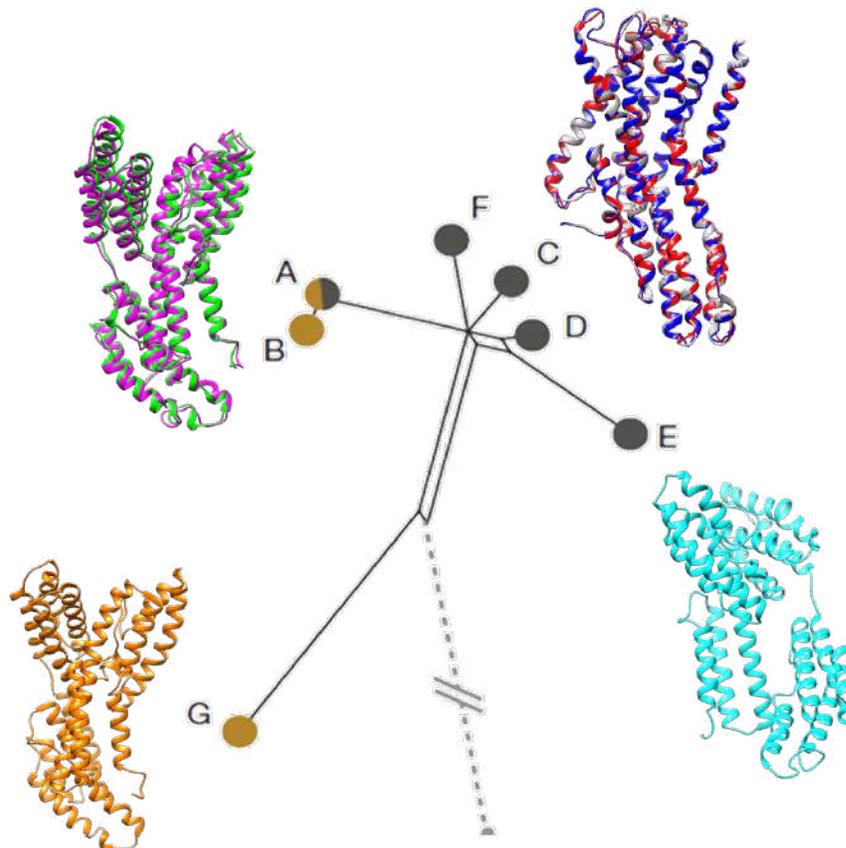


Figura 7. Relación filogenética a nivel estructural para los haplotipos considerados antropófagos y zoofágos para *Aedes aegypti* a nivel tridimensional según el esquema reportado y modificado de [9].



5. Conclusiones

La biología estructural nos permite explicar comportamientos y entender sistemas en el ámbito funcional para correlacionar aspectos importantes como, la ubicación de alimento para mosquitos hematófagos y el cambio para el reconocimiento de fuentes proteína en sangre antropófaga o zoófaga, para este trabajo se consideran 7 haplotipos reportados en la literatura para los cuales, luego de su respectiva expresión génica evaluada en los modelos obtenidos con los predictores de estructura, se conserva la diferencia genética y a pesar de no encontrar una correlación estructural entre los haplotipos antropófagos y zoófagos en el acoplamiento de co-receptores como Orco o la interacción con odorantes, se tienen que los haplotipos más cercanos entre los mosquitos antropófagos como el Haplotipo A y B, presentan un muy buen alineamiento tridimensional cuantificado con el alineamiento STAMP, de igual modo, los haplotipos de los mosquitos zoófagos C, D y F presentaron un muy buen alineamiento estructural y al ser tan cercanos, comparten gran parte de su distribución espacial, pero el haplotipo E al ser más alejado, a nivel estructural no presentaba un buen alineamiento para los zoófagos como el haplotipo G para los antropófagos, aportando así un argumento adicional a los estudios realizados según la literatura, en donde esquematizan esa diferencia entre los haplotipos de los mosquitos. Asimismo, el algoritmo de predictor estructural que mejor se acopló al sistema y conservó los datos obtenidos con un significado coherente fue el software I-Tasser en el modelamiento molecular por homología, apoyando los resultados en el análisis para las comparaciones realizadas con la secuencia primaria reportada para cada haplotipo y su estructura tridimensional.

6. Referencias

- [1] Monteiro, F. A., Shama, R., Martins, A. J., Gloria-Soria, A., Brown, J. E. and Powell, J. R. (2014). Genetic Diversity of Brazilian *Aedes aegypti*: Patterns following an Eradication Program. E. Matovu, ed *PLoS Negl Trop Dis* 8 e3167. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003167>
- [2] Cardé, R. T. (2015). Multi-Cue Integration: How Female Mosquitoes Locate a Human Host. *Current Biology* 25 R793–5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.057>
- [3] Dekel, A., Pitts, R. J., Yakir, E. and Bohbot, J. D. (2016). Evolutionarily conserved odorant receptor function questions ecological context of octenol role in mosquitoes. *Sci Rep* 6 37330. <https://doi.org/10.1038/srep37330>
- [4] Bernier, U. R., Kline, D. L., Schreck, C. E., Yost, R. A. and Barnard, D. R. (2002). Chemical analysis of human skin emanations: comparison of volatiles from humans that differ in attraction of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Am Mosq Control Assoc* 18 186–95.
- [5] Dekker, T., Geier, M. and Cardé, R. T. (2005). Carbon dioxide instantly sensitizes female yellow fever mosquitoes to human skin odours. *J Exp Biol* 208 2963–72. <https://doi.org/10.1242/jeb.01736>
- [6] Williams, C. R., Bader, C. A., Kearney, M. R., Ritchie, S. A. and Russell, R. C. (2010). The Extinction of Dengue through Natural Vulnerability of Its Vectors. M. J. Turell, ed *PLoS Negl Trop Dis* 4 e922. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000922>



- [7] Suh, E., Bohbot, J. D. and Zwiebel, L. J. (2014). Peripheral olfactory signaling in insects. *Curr Opin Insect Sci* 6 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.10.006>
- [8] Benton, R. (2015). Multigene family evolution: perspectives from insect chemoreceptors. *Trends Ecol Evol* 30 590–600. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.07.009>
- [9] McBride, C. S., Baier, F., Omondi, A. B., Spitzer, S. A., Lutomiah, J., Sang, R., Ignell, R. and Vosshall, L. B. (2014). Evolution of mosquito preference for humans linked to an odorant receptor. *Nature* 515 222–7. <https://doi.org/10.1038/nature13964>
- [10] DeGennaro, M., McBride, C. S., Seeholzer, L., Nakagawa, T., Dennis, E. J., Goldman, C., Jasinskiene, N., James, A. A. and Vosshall, L. B. (2013). orco mutant mosquitoes lose strong preference for humans and are not repelled by volatile DEET. *Nature* 498 487–91. <https://doi.org/10.1038/nature12206>
- [11] Xu, P., Choo, Y.-M., De La Rosa, A. and Leal, W. S. (2014). Mosquito odorant receptor for DEET and methyl jasmonate. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111 16592–7. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1417244111>
- [12] Sato, K., Pellegrino, M., Nakagawa, T., Nakagawa, T., Vosshall, L. B. and Touhara, K. (2008). Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. *Nature* 452 1002–6. <https://doi.org/10.1038/nature06850>
- [13] Smart, R., Kiely, A., Beale, M., Vargas, E., Carraher, C., Kralicek, A. V., Christie, D. L., Chen, C., Newcomb, R. D. and Warr, C. G. (2008). Drosophila odorant receptors are novel seven transmembrane domain proteins that can signal independently of heterotrimeric G proteins. *Insect Biochem Mol Biol* 38 770–80. <https://doi.org/10.1016/J.IBMB.2008.05.002>
- [14] Wicher, D., Schäfer, R., Bauernfeind, R., Stensmyr, M. C., Heller, R., Heinemann, S. H. and Hansson, B. S. (2008). Drosophila odorant receptors are both ligand-gated and cyclic-nucleotide-activated cation channels. *Nature* 452 1007–11. <https://doi.org/10.1038/nature06861>
- [15] Carraher, C., Dalziel, J., Jordan, M. D., Christie, D. L., Newcomb, R. D. and Kralicek, A. V. (2015). Towards an understanding of the structural basis for insect olfaction by odorant receptors. *Insect Biochem Mol Biol* 66 31–41. <https://doi.org/10.1016/J.IBMB.2015.09.010>
- [16] Sayers, E. W.,avanaugh, M., Clark, K., Ostell, J., Pruitt, K. D. and Karsch-Mizrachi, I. (2019). GenBank. *Nucleic Acids Res* 47 D94–9. <https://doi.org/10.1093/nar/gky989>
- [17] Crooks, G., Hon, G., Chandonia, J. and Brenner, S. (2004). NCBI GenBank FTP Site WebLogo: a sequence logo generator. *Genome Res* 14 1188–90. <https://doi.org/10.1101/gr.849004.1>
- [18] Berman, H. M., Kleywegt, G. J., Nakamura, H. and Markley, J. L. (2012). The protein data bank at 40: Reflecting on the past to prepare for the future. *Structure* 20 391–6. <https://doi.org/10.1016/j.str.2012.01.010>
- [19] Waterhouse, A. M., Procter, J. B., Martin, D. M. A., Clamp, M. and Barton, G. J. (2009). Jalview Version 2-A multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics* 25 1189–91. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033>
- [20] Larkin, M. a, Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. a, McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, a, Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J. and Higgins, D. G. (2007).



Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23 2947–8.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>.

[21] Yang, J., Yan, R., Roy, A., Xu, D., Poisson, J. and Zhang, Y. (2015). The I-TASSER Suite: protein structure and function prediction. *Nat Methods* 12 7–8. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3213>.

[22] Roy, A., Kucukural, A. and Zhang, Y. (2010). I-TASSER: a unified platform for automated protein structure and function prediction. *Nat Protoc* 5 725–38. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.5>.

[23] Zhang, Y. (2008). I-TASSER server for protein 3D structure prediction. *BMC Bioinformatics* 9 40. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-40>.

[24] Zhang, J., Liang, Y. and Zhang, Y. (2011). Atomic-level protein structure refinement using fragment-guided molecular dynamics conformation sampling. *Structure* 19 1784–95. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.09.022>.

[25] Xu, D. and Zhang, Y. (2011). Improving the physical realism and structural accuracy of protein models by a two-step atomic-level energy minimization. *Biophys J* 101 2525–34. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.10.024>.

[26] Artimo, P., Jonnalagedda, M., Arnold, K., Baratin, D., Csardi, G., De Castro, E., Duvaud, S., Flegel, V., Fortier, A., Gasteiger, E., Grosdidier, A., Hernandez, C., Ioannidis, V., Kuznetsov, D., Liechti, R., Moretti, S., Mostaguir, K., Redaschi, N., Rossier, G., Xenarios, I. and Stockinger, H. (2012). ExpASY: SIB bioinformatics resource portal. *Nucleic Acids Res* 40 597–603. <https://doi.org/10.1093/nar/gks400>.

[27] Benkert, P., Tosatto, S. C. E. and Schomburg, D. (2008). QMEAN: A comprehensive scoring function for model quality assessment. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 71 261–77. <https://doi.org/10.1002/prot.21715>

[28] Studer, G., Biasini, M. and Schwede, T. (2014). Assessing the local structural quality of transmembrane protein models using statistical potentials (QMEANBrane). *Bioinformatics* 30 505–11. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu457>.

[29] Crystallography and Bioinformatics Group. (2017). Rampage: Ramachandran plot. Available at <http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php>.

[30] Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C. and Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* 25 1605–12. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>.

[31] Guex, N. and Peitsch, M. C. (1997). SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis* 18 2714–23. <https://doi.org/10.1002/elps.1150181505>

[32] Humphrey, W., Dalke, A. and Schulten, K. (1996). VMD- Visual molecular dynamics. *J Mol Graph* 14 33–8. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5).

[33] Phillips, J. C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., Chipot, C., Skeel, R. D., Kalé, L. and Schulten, K. (2005). Scalable molecular dynamics with NAMD. *J Comput Chem* 26 1781–802. <https://doi.org/10.1002/jcc.20289>.



[34] Omasits, U., Ahrens, C. H., Müller, S. and Wollscheid, B. (2014). Protter: Interactive protein feature visualization and integration with experimental proteomic data. *Bioinformatics* 30 884–6. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt607>.