

# Evaluación del impacto del SNP rs121917856 en la proteína IHH mediante un análisis in silico

## SNP rs121917856 impact in protein IHH: in silico analysis

Rocío del Pilar Fernández<sup>1</sup>, Esteban Pinto<sup>1</sup>, Julio César Osorio<sup>2</sup>

### RESUMEN

El IHH es una proteína que codifica para miembro de la familia Sonic hedgehog (SHH) que secreta moléculas señalizadoras. Por medio de una estrategia bioinformática (in-silico) se pretende evaluar el efecto que tiene el cambio de un solo nucleótido (SNP) rs121917856 de la proteína IHH. Con el Programa Protein Data Bank (PDB) se escogió la estructura en cristal de un dominio de señalización N-terminal de SHH con código de identificación 3K7G. Con el programa PolyPhen2 se evaluó el posible impacto de una sustitución del aminoácido Prolina por Leucina. Por último con el programa software DeepView-Swiss-PubViewer se visualizó la conformación tridimensional y la energía libre de Gibbs. Se puede concluir que el SNP rs121917856 que hace una sustitución del aminoácido Prolina por Leucina en la posición 46 desestabiliza e impacta funcionalmente la proteína SHH.

**Palabras Clave:** Sonic hedgehog, in-silico, bioinformática, SNP, sustitución aminoácidos

### ABSTRACT

The IHH is a protein that encoding a member of the Sonic hedgehog family (SHH) which secreted signaling molecules. Through a bioinformatics strategy (in-silico) were evaluated the effects of a single nucleotide (SNP) rs121917856 on the IHH protein. With the Protein Data Bank program (PDB) was chosen the glass structure of an N-terminal signaling domain SHH with 3K7G identification code. With the PolyPhen2 program was assessed the possible impact of substitution of amino acid proline by leucine. Finally with the program Swiss-PubViewer DeepView- was visualized the dimensional conformation and Gibbs free energy. It can be concluded that SNP rs121917856 at position 46 destabilizes SHH protein.

**Keywords:** Sonic hedgehog, in-silico, bioinformatics, SNP, amino acid substitution

#### Grupo de Investigación - Ciencias Odontológicas UNICOC

1. Residentes 2 año de Especialización en Ortodoncia y Ortopedia Maxilar - UNICOC, Santiago de Cali.
  2. Biólogo, Maestría en Ciencias con énfasis en Genética
- Autor responsable de correspondencia: Julio César Osorio  
Correo electrónico: cejulio704@gmail.com

**Citar como:** Fernández RP, Pinto E, Osorio JC. Evaluación del impacto del SNP RS121917856 en la proteína IHH mediante un análisis in silico. Journal Odont Col. 2016;9(17):53-62

Recibido: Mayo 2016, aceptado: Junio 2016

## INTRODUCCIÓN

El IHH es una proteína que codifica para miembro de la familia Sonic hedgehog (SHH) que secreta moléculas señalizadoras. Las proteínas SHH son reguladores esenciales en la morfogénesis y desarrollo de los individuos, controlando procesos que incluyen el crecimiento, modelado y morfogénesis. La proteína IHH desempeña un papel específico en el crecimiento y diferenciación ósea, además coordina la proliferación e hipertrofia de los condrocitos por medio de la interacción con PTHrP/PTH-R.

Las mutaciones en este gen se han asociado con enfermedades del desarrollo óseo entre las que destaca la braquidactilia tipo A1, la cual se caracteriza por malformación de las falanges. Otros efectos de la mutación de este gen son la displasia acrocapitofemoral. (1,2) Por medio de una estrategia bioinformática (in-silico) se pretende evaluar el efecto que tiene el cambio de un solo nucleótido (SNP) rs121917856 de la proteína IHH basado principalmente en los cálculos de la energía libre de Gibbs que nos da información sobre la espontaneidad que tiene el plegamiento de la proteína.

## MÉTODOS

En la página web del Programa Protein Data Bank (PDB) <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> se realizó la búsqueda de un cristal de la proteína SHH. Se escogió la estructura en cristal de un dominio de señalización N-terminal de SHH con código de identificación 3K7G. A ese cristal se le analizó su secuencia de amino ácidos y los SNP reportados (Figura 1). Solo se evaluó la posición 46 el cual es un cambio del

aminoácido Prolina(PRO) por el aminoácido Leucina(LEU). Se generó un archivo PDB y otro FASTA con la secuencia de la proteína.

Se utilizó la página Web del programa PolyPhen2 <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/> con el fin de tratar de predecir el posible impacto de una sustitución de aminoácido en la estructura y función de una proteína humana usando consideraciones físicas y comparativas directas. Por último, se utilizó el software DeepView-Swiss-PubViewer descargado de la página Web <http://spdbv.vital-it.ch/> con el fin de ver los cambios en la estructura terciaria de la proteína SHH pertenecientes al cristal 3K7G.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Al someter la secuencia FASTA de la proteína 3K7G al programa SIFT se evaluó que el cambio del aminoácido Prolina(PRO) por el aminoácido Leucina(LEU) en la posición 46 del cristal 3K7G afecta negativamente la función del receptor N-terminal de la proteína SHH (Figura 2). El valor cercano a 1 (color rojo) indica una alta probabilidad de que el cambio afecte negativamente la proteína.

La modelación tridimensional de la proteína con el software DeepView-Swiss-PubViewer permite la visualización de como los tres amino ácidos interactúan y el efecto que causa el cambio del aminoácido Prolina(PRO) por el aminoácido Leucina(LEU). Swiss-PdbViewer (también conocido como DeepView) es una aplicación que proporciona una interfaz fácil de usar que permite analizar varias proteínas al mismo tiempo. Las proteínas se pueden superponer

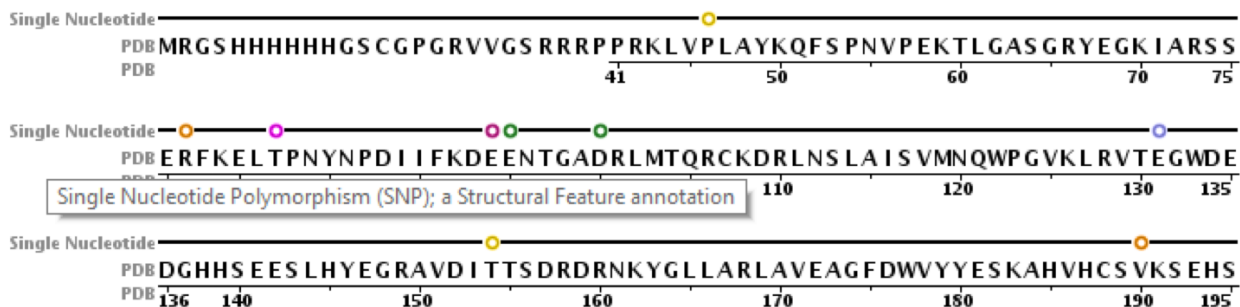


Figura 1

Secuencia de amino ácidos del cristal 3K7G de la proteína SHH. La línea seguida representa la proteína cristalizada. Los diferentes puntos en la secuencia representan SNPs.

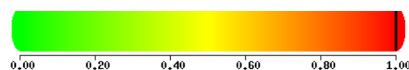
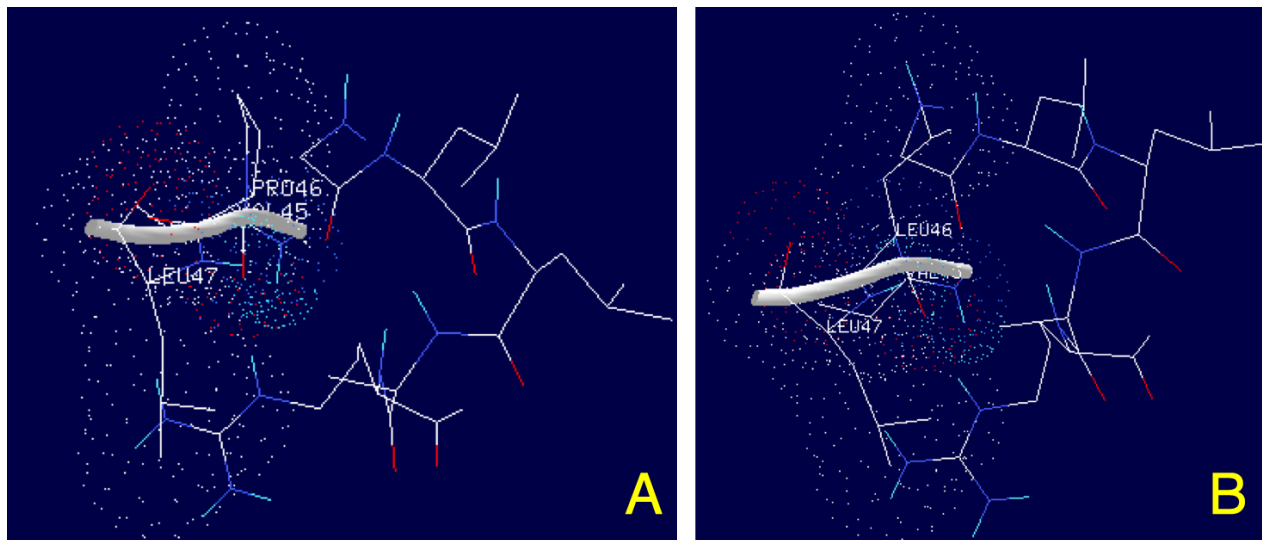


Figura 2

Probabilidad del daño del cambio del amino ácido prolina por el amino ácido leucina en el cristal de la proteína 3K7G del gen SHH



**Figura 3**

El software DeepView-Swiss-PubViewer permite la visualización de la interacción de los tres amino ácidos y el efecto que causa el cambio del aminoácido Prolina (PRO) por el aminoácido Leucina (LEU). A) Amino ácido Prolina. B) Cambia de Prolina por Leucina.

con el fin de deducir las alineaciones estructurales y comparar sus sitios activos o cualesquiera otras partes pertinentes. mutaciones de aminoácidos, enlaces de H, ángulos y distancias entre los átomos son fáciles de obtener, gracias a la interfaz gráfica y un menú intuitivo (Figura 3).

El software también calcula la energía libre de Gibbs la cual nos da información relacionada a la espontaneidad de las reacciones biológicas. En este caso puntal el amino ácido nativo u original prolina presenta una energía libre de Gibbs de -14.3, pero al realizar la sustitución por leucina la energía libre de Gibbs sube hasta 224,7 lo que hace la reacción no espontánea y reforzaría el dato arrojado por el programa PolyPhen2 que predijo que la sustitución era probablemente dañina.

## CONCLUSIÓN

De acuerdo a los análisis realizados del SNP rs121917856 se puede concluir que un cambio en el aminoácido Prolina por Leucina en la posición 46 desestabiliza e impacta funcionalmente la proteína IHH causando que esta no sea funcional. Lo anterior genera una hipótesis nueva de trabajo con el fin de validar el efecto de esta sustitución y su relación con los defectos en el crecimiento y la diferenciación ósea.

## REFERENCIAS

1. Mesenchymal stem cells overexpressing Ihh promote bone repair. Shasha Zou, Tingting Chen, Yanan Wang, Ruhui Tian, Lingling Zhang, Pingping Song, Shi Yang, Yong Zhu, Xizhi Guo, Yiran Huang, Zheng Li, Lixin Kan
2. Ihh and Runx2/Runx3 Signaling Interact to Coordinate Early Chondrogenesis: A Mouse Model. Eun-Jung Kim,<sup>1,\*</sup> Sung-Won Cho,<sup>1</sup> Jeong-Oh Shin,<sup>1</sup> Min-Jung Lee,<sup>1</sup> Kye-Seong Kim,<sup>2</sup> and Han-Sung Jung.