

Análisis *in silico* a nivel proteico de la estructura de presenilina-1 en homínidos¹

Alejandro Soto-Ospina², Elías Cataño-Sánchez³, Omer Campo Nieto⁴, Andrés Puerta González⁵, Andrés Villegas Lanau⁶

Resumen

Introducción: Las placas amiloides son uno de los marcadores neuropatológicos de la enfermedad de Alzheimer, formadas por fragmentos peptídicos que se depositan, derivados del corte proteasa de la enzima γ -secretasa, de la cual presenilina-1 es la subunidad con el sitio activo, es posible investigar a nivel evolutivo que sucede con esta proteína en una muestra de homínidos.

Materiales y métodos: se hace un estudio de biología estructural para evaluar cambios en la estructura de las proteínas modeladas con el software Phyre2 y alineamientos de secuencia primaria con Jalview de los homínidos *Pongo*

abellii, *Pan troglodytes*, *Pan paniscus*, *Gorilla gorilla*, *Homo sapiens* y dos especies usadas en ensayos biológicos como *Macaca fascicularis*, *Macaca mulatta*. **Resultados:** se encontró que las secuencias primarias de la isoforma 467 presentaron porcentajes de identidad muy altos con T-Coffee 2.0 de 99,57 % de promedio, dentro de su secuencia primaria en el alineamiento por pares y a nivel tridimensional, con el algoritmo Needleman-Wunsch, se encontraron ligeros cambios en la estructura a nivel de los lazos, pero muy conservada entre las especies, lo que también se vio reflejado en valores de desviación estándar de los modelos menor a 5 Å. **Conclusiones:** Finalmente, no se encontraron cambios significativos a nivel

1 Artículo original, derivado del proyecto de investigación en enfermedad de Alzheimer Familiar con código (FP44842-124-2017, Universidad de Antioquia, ejecutado entre noviembre de 2017 y noviembre de 2021; Grupo de investigación Genética Molecular (GenMol) y Grupo de Neurociencias de Antioquia (GNA); Financiado por Consejo nacional de investigación- Francisco José de Caldas de Colombia, Colciencias.

2 PhD en Ciencias Químicas con énfasis en Bioquímica y Neurociencias, Universidad de Antioquia, Líder del grupo de investigación en alimentos (GRIAL) de la Corporación Universitaria Unilasallista, investigador asociado y miembro del grupo GenMol y GNA, Correo: jsoto72@unilasallista.edu.co ORCID: 0000-0003-2382-7038

3 Estudiante de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, miembro del grupo GenMol y GNA. Correo: elias.catano@udea.edu.co

4 MSc en Biología, Posgrado en ciencias biológicas, Universidad de Antioquia, miembro del grupo GenMol de Universidad de Antioquia. Correo: omer.campo@udea.edu.co / ORCID: 0000-0002-5577-2724

5 MSc en Genética de Ciencias básicas biomédicas, Universidad de Antioquia, Correo: andres.puertag@udea.edu.co / ORCID: 0000-0002-6103-6424

6 PhD en Ciencias básicas biomédicas con énfasis en Neurociencias, Universidad de Antioquia, Profesor titular de la Universidad de Antioquia, Coordinador del Neurobanco de GNA e investigador asociado del grupo GenMol, correo: andres.villegas@udea.edu.co / ORCID: 0000-0001-6336-2541

Autor para Correspondencia: Andrés Villegas Lanau, correo: andres.villegas@udea.edu.co

Recibido: 22/04/2022 Aceptado: 09/11/2022

*Los autores declaran que no tienen conflicto de interés

estructural en la proteína con la función proteasa, por lo que para la muestra de homínidos, no hubo cambios evolutivos por lo menos para esta proteína y como perspectiva

queda evaluar los otros componentes de la enzima γ -secretasa.

Palabras clave: Genética, presenilina-1, homínidos, proteína, alineamiento.

In silico analysis at the protein level of the structure of presenilin-1 in hominids.

Abstract

Introduction. Amyloid plaques are one of the neuropathological markers of Alzheimer's disease, formed by peptide fragments that are deposited, derived from the protease cut of the enzyme γ -secretase, of which presenilin-1 is the subunit with the active site, it is possible to investigate at the evolutionary level what happens with this protein in a sample of hominids. **Materials and methods.** structural biology study is carried out to evaluate changes in the structure of the proteins modeled with the Phyre2 software and primary sequence alignments with Jalview from the hominids *Pongo abelii*, *Pan troglodytes*, *Pan paniscus*, *Gorilla gorilla*, *Homo sapiens* and two species

used in biological tests as *Macaca fascicularis*, *Macaca mulatta*. **Results.** It was found that the primary sequences of isoform 467 presented very high percentages of identity with T-Coffee 2.0 of 99.57 % on average, within its primary sequence in the pairwise alignment and at the three-dimensional level, with the Needleman-Wunsch algorithm, slight changes were found in the structure at the loop level, but very conserved between species, which was also reflected in standard deviation values of the models of less than 5 Å. **Conclusions.** Finally, no significant changes were found at the structural level in the protein with protease function, so for the hominin sample there were no evolutionary changes, at least for this protein, and in perspective, the other components of the enzyme gamma-secretase remain to evaluate.

Keywords: Genetic, presenilin-1, hominids, protein, alignment.

Análise in silico ao nível proteico da estrutura da presenilina-1 em homínídeos

Resumo

Introdução. As placas amilóides são um dos marcadores neuropatológicos da doença de Alzheimer, formadas por fragmentos peptídicos que se depositam, derivados do corte da protease da enzima γ -secretase, da qual a presenilina-1 é a subunidade com o sítio ativo, é possível investigar em um nível

evolutivo o que acontece com esta proteína em uma amostra de homínídeo. **Materiais e métodos.** é realizado um estudo de biologia estrutural para avaliar alterações na estrutura das proteínas modeladas com o software Phyre2 e alinhamentos de sequências primárias com Jalview dos homínídeos *Pongo abelii*, *Pan troglodytes*, *Pan paniscus*, *Gorilla gorilla*, *Homo sapiens* e duas espécies utilizadas em testes biológicos como *Macaca fascicularis*, *Macaca mulatta* **Resultados.** Verificou-se que as sequências primárias de isoforma 467 apresentavam percentagens muito elevadas de identidade com T-Coffee 2,0 de 99,57 % em média, dentro da sua sequência primária no

alinhamento em pares e ao nível tridimensional, com o algoritmo Needleman-Wunsch, foram encontradas ligeiras alterações na estrutura ao nível dos loops, mas muito conservadas entre espécies, o que também se refletiu em valores de desvio padrão dos modelos de menos de 5 Å. **Conclusões.** Por fim, não foram encontradas alterações significativas a nível estrutural na proteína com função de protease,

portanto para a amostra de homínídeos não houve alterações evolutivas, pelo menos para esta proteína, e em perspectiva, os outros componentes da enzima gama-secretase foram eles manter para avaliar.

Palavras-chave: Genética, presenilina-1, homínídeos, proteína, alinhamento.

Introducción

La enfermedad de Alzheimer familiar (FAD) es una enfermedad asociada a factores de riesgo genéticos, especialmente debido a mutaciones en los genes que se traducen a proteína precursora de amiloide (PPA), presenilina-1 (PSEN-1) y presenilina-2 (PSEN-2). Esta enfermedad puede manifestarse en menores de 65 años y las mutaciones asociadas a variantes familiares, pueden producir deterioro cognitivo de manera precoz (Alonso vilatela, López-López, and Yesca-Gómez 2012; Rovelet-Lecrux et al. 2006; Shao, Peng, and Wang 2017). En el entendimiento de los mecanismos bioquímicos de procesamiento y producción del péptido amiloide, la enzima γ -secretasa realiza un procesamiento proteasa con su sitio activo la proteína presenilina-1 (PS1), ubicado en los dos ácidos aspárticos con localización en las TM6 y TM7 (Zhou, R; Yang, Guanghui; Guo Xuefei; Zhou, Qiang; Lei, jianlin and Shi 2019; Ballard et al. 2011; Martinelli 2022), esta enzima realiza los cortes de manera transmembranal y el punto inicial de procesamiento es el corte ϵ en los aminoácidos LV (49 aminoácido) o TL (48 aminoácido) para el sustrato PPA CTF99, dependiendo de ese corte inicial se hace una ruta de procesamiento que consiste en los cortes sucesivos de 49-46-43 hasta el corte γ en el aminoácido 40 y los cortes sucesivos cuando la ruta es 48-45 hasta el corte γ en el aminoácido 42 o 38 dependiendo de la difusión del sustrato

y la interacción con su bolsillo activo (Szaruga et al. 2017; Hitzenberger and Zacharias 2019). La enzima γ -secretasa es una aspartil proteasa muy importante en el metabolismo celular y se encuentra relacionada con el procesamiento de aproximadamente 93 sustratos, los cuales ayudan en funciones de señalización celular, adhesión, expresión, diferenciación celular, neuro-desarrollo, movilización o anclaje en membrana celular y regulación de factores de transcripción, todo esto dependiendo del tipo de sustrato (Kaether, Haass, and Steiner 2006; Medoro et al. 2018; Golriz Khatami et al. 2022).

Enfocados en el complejo enzimático de γ -secretasa, en especial en su sitio activo con la sub unidad presenilina-1 (PS1), la cual tiene 7 isoformas, pero en el cerebro, la isoforma que más se expresa, es aquella que tiene 467 aminoácidos y que exhibe 9 pases transmembrana (Apweiler et al. 2014; Soto-Ospina, Araque Marín, Bedoya, Sepulveda-Falla, et al. 2021). Para ser activado el complejo enzimático, aún no se conoce muy bien el mecanismo, pero en la literatura se propone el mecanismo de endo-proteólisis, que supone un autocorte del loop que une las TM6 y TM7, lo que produce un N-terminal y C-terminal, los cuales sirven para el reconocimiento de los sustratos (Saura et al. 2000; Levitan et al. 2001; Khan, Ali, and Mirza 2020). Esta proteína participa en la activación de varios sustratos por reacciones de rompimiento de péptidos, pero también se caracteriza porque tiene algunos sitios de fosforilación

que pueden ilustrarse, por ejemplo, en la región C-terminal, en el aminoácido Ser346 ubicado en el motivo de reconocimiento de caspasa donde la PKC quinasa se fosforila para el procesamiento proteolítico de PS1 y la activación de la apoptosis (Fluhrer et al. 2004; Zhang, Chen, and Lee 2020). De la misma manera, los aminoácidos Ser353, Ser357 y Ser397 son fosforilados por la proteína quinasa GSK-3 β , que está involucrada en la interacción con los sustratos de β -catenina y N-cadherina, que tienen funciones en la expresión de la superficie celular y la señalización celular de PS1. La proteína quinasa GSK-3 β también tiene un papel en la alteración del procesamiento del péptido β -amiloide y también está relacionada con la proporción 40/42 de fragmentos β -amiloide (Soto-Ospina, Araque Marín, Bedoya, Sepulveda-Falla, et al. 2021; Soto-Ospina, Araque Marín, Bedoya, and Villegas Lanau 2021; Okochi et al. 2013; Fernandez et al. 2014; L. Sun et al. 2016).

Esta importancia funcional puede verse afectada por mutaciones que pueden aparecer en su información genética, lo que produce cambios en el desempeño de su funcionalidad. En humanos esta proteína tiene reportadas aproximadamente 327 mutaciones (Alzforum 2022), las cuales incluyen variantes sin sentido, deleciones e inserciones, que producen diversas patologías, por lo que, en los estudios evolutivos sobre la proteína, es crucial observar los efectos y propuestas de las mutaciones en la especiación. La proteína presenilina-1 es paróloga de presenilina-2 (Khan, Ali, and Mirza 2020), son dos proteínas que se traducen de dos genes localizados en dos cromosomas diferentes como lo son el cromosoma 1 y 14 (Clark et al. 1995; Vidal et al. 1996), pero por motivos de este trabajo, se centrará en entender a nivel molecular presenilina-1, la cual cuenta con una plantilla estructural, obtenida por criomicroscopía electrónica, que proporciona la base para la propuesta de modelado de las proteínas del grupo de homínidos y permite el acercamiento, desde el

punto de vista funcional, a nivel computacional, cuyo foco principal es la comprensión estructural a partir de la visualización de genomas, transcriptomas y proteomas (Haas et al. 2017; Y. V. Sun and Hu 2016; Bruggeman and Westerhoff 2007).

Materiales y métodos

Selección de homínidos y Macacos

La búsqueda de la secuencia primaria de aminoácidos, se hizo para una muestra de cinco homínidos, los cuales fueron: Orangután de Sumatra (*Pongo abelii*), Chimpancé (*Pan troglodytes*), gorila del este (*Gorilla-gorilla*), Bonobo (*Pan paniscus*) y Humano (*Homo sapiens*); los macacos se escogieron porque han sido ampliamente usados en bioensayos en neurodegeneración y se utilizaron las especies Macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*) y Macaco Rhesus (*Macaca mulatta*), ya que se tenía la información estructural depurada para esas especies. Las bases de datos utilizadas fueron UniProt para recolectar la secuencia de los aminoácidos, la búsqueda de las estructuras proteicas disponibles se hizo con Protein Model Portal (PMP) y en el Protein Data Bank (PDB) (Berman et al. 2012; UniProt 2010; Consortium 2012), la plantilla que se usó para el modelamiento molecular tiene ID: 6LYC, obtenida por criomicroscopía electrónica con una resolución de 2.60Å (Zhou, R; Yang, Guanghui; Guo Xuefei; Zhou, Qiang; Lei, jianlin and Shi 2019).

Alineamiento de secuencias primarias

Al obtener las secuencias primarias en formato FASTA para los homínidos a partir de las bases de datos, se hizo un alineamiento de estas con el software Jalview (Waterhouse et al. 2009), seleccionando el histograma normalizado sin consenso, asimismo se hizo el cálculo de índice de similaridad ID a partir

de las herramientas T-Coffee 2.0 (Notredame, Higgins, and Heringa 2000) y ClustalX (Larkin et al. 2007) para estudiar la conservación potencial de los fragmentos estructurales entre la muestra de homínidos seleccionados.

Modelos de predicción estructural para PS1

La secuencia primaria de aminoácidos para cada proteína de la especie, fue sometida en el software predictor de estructura de proteína y péptidos Phyre2 (Kelley et al. 2015), el cual produce construcción de modelos por homología con estructuras reportadas y comparación de regiones de aminoácidos por su secuencia con el reconocimiento de plegamientos estructurales en folding y ensamblaje por threading (hilamiento), se van uniendo los fragmentos encontrados por similitud, teniendo en cuenta el esqueleto atómico en los ensamblajes (Kelley et al. 2015).

Refinamiento de los modelos estructurales

El refinamiento de los modelos obtenidos por Phyre2 se hizo con el software Modeller (Webb and Sali 2016), con el cual se hizo el refinamiento de las regiones flexibles, con el fin de evitar solapamientos de los loops dentro de la misma estructura y localización en las hélices alfa de las estructuras localizadas en la membrana, esto se hace a partir del algoritmo ZDOPE (Energía de la proteína discreta optimizada) (Shen and Sali 2006), el cual presenta un estimado estadístico a partir de la distancia interatómica, entregando cinco modelos con calificación normalizada, de los cuales se seleccionó el mejor modelo calificado (Krieger et al. 2009; Webb and Sali 2016).

Visualizadores estructurales

Los visualizadores tridimensionales se usaron en el alineamiento y en la

representación de los modelos ensamblados, los alineamientos se hacen con el software Chimera U.C.S.F. versión 1.11 (Pettersen et al. 2004), para ello se usa la comparación estructural con Matchmaker, para los parámetros de matriz de sustitución de bloques BLOSUM62 (Henikoff and Henikoff 1992) y el algoritmo de programación dinámica que produce un alineamiento global Needleman-Wunsch (Needleman and Wunsch 1970), para proteínas, ácidos nucleicos y canales de proteína transmembranal. La identificación y localización topológica se hace con el software Deepview/Swiss-PdbViewer versión 3.7 (N. Guex and M. C. Peitsch 1997).

Modificaciones postraduccionales

Las secuencias primarias de aminoácidos para cinco especies de homínidos y dos especies de macacos, se analizaron a partir del software suite ExpASY, utilizando las herramientas para calcular la glicosilación en los aminoácidos que tienen aminas en su cadena lateral N-glicosilación y O-glicosilación para los aminoácidos que tienen grupos funcionales oxigenados y disponibles para interactuar (Artimo et al. 2012). De igual forma, se evaluaron las secuencias primarias de la proteína PS1 de tipo silvestre en el servidor NetPhosK 3.1, con el fin de predecir sitios susceptibles de fosforilación debido a serina, treonina o tirosinas por diversas quinasas, por ejemplo, quinasas PKA, PKC, PKE, RSK, EGFR o MAPK38 (Blom et al. 2004; Blom, Gammeltoft, and Brunak 1999).

Resultados

Para los homínidos seleccionados en el análisis de secuencia primaria, se hizo la búsqueda en la base de datos UniProt para la proteína presenilina-1, la cual se considera en el análisis con la misma isoforma de un tamaño de 467 aminoácidos entre la muestra evaluada.

El alineamiento de las secuencias primarias de aminoácidos, se hizo con el software Jalview y el porcentaje de identidad del alineamiento se hizo con el software T-Coffee 2.0, presentando el alineamiento entre las especies *Homo sapiens-Macaca fascicularis (Macfas)*, *Pongo abelii (Ponab)*- *Homo sapiens*, *Ponab-Macfas*, *Macaca mulatta (Macmu)*- *Homo sapiens*, *Macmu-Macfa*, *Macmu-Ponab*, *Pan troglodytes (Pantro)*-*Macfas*, *Ponab-Pantro*, *Homo sapiens-Gorilla gorilla (Gor)*, *Homo sapiens-Pan paniscus (Panis)* y *Pantro-Macmu*, el cual tiene un valor

de similitud de 99,69 % como promedio de los alineamientos evaluados. En la **Figura 1**, se presenta el alineamiento de la estructura para su secuencia primaria de aminoácidos, luego de realizar su respectiva traducción y obtener los aminoácidos constituyentes en formato FASTA, T-Coffee 2.0 consideró todos los aminoácidos, mostrando algunos cambios debido a mutaciones, las cuales, al no participar en el consenso, el software las trata sin relleno de color, evidenciando las regiones de mutación:

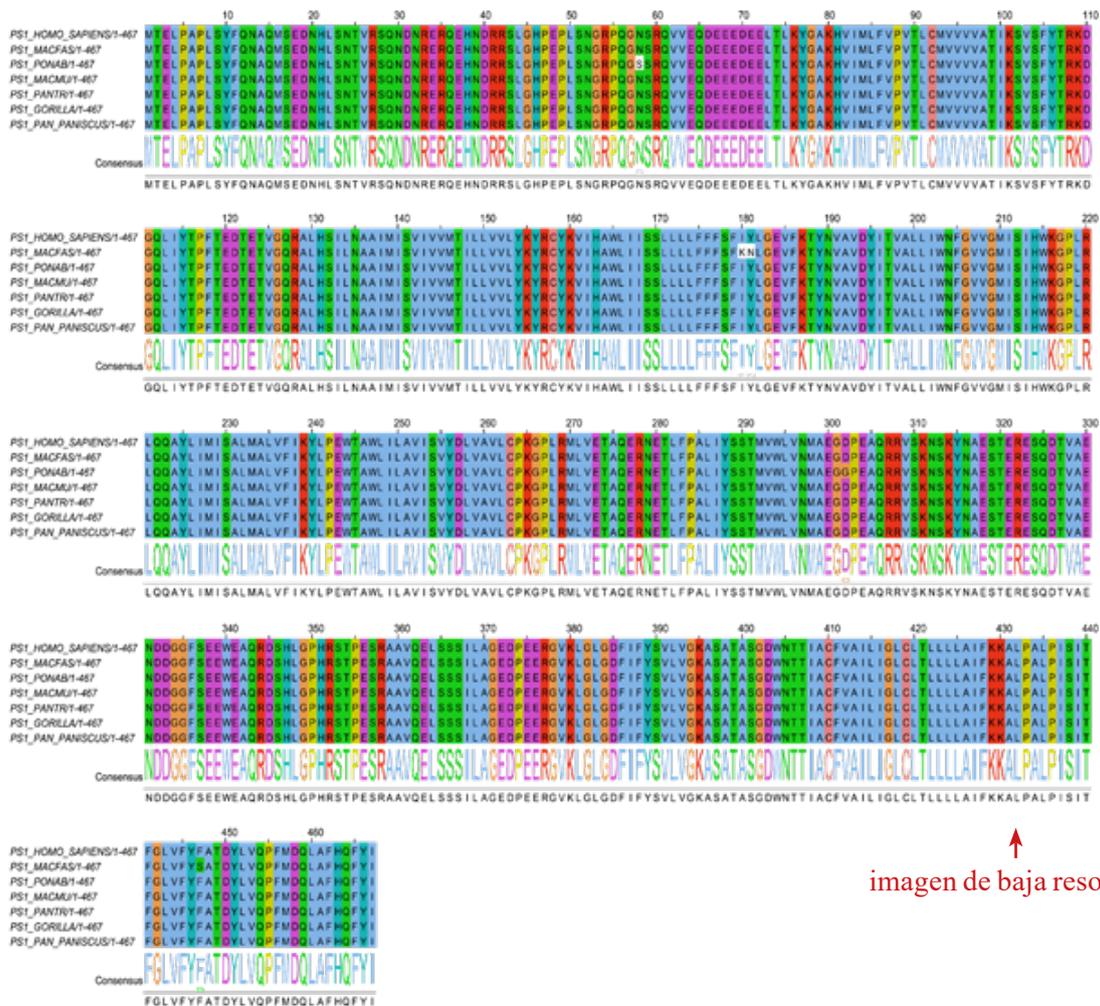


Figura 1. Alineamiento de secuencia primaria de la proteína PS1 para los homínidos *Homo sapiens*, *Macaca fascicularis*, *Pongo abelii*, *Macaca mulatta*, *Pan troglodytes*, *Gorilla gorilla* y *Pan paniscus*.

Fuente: Elaborada por los autores

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 básico para cada aminoácido perteneciente a la secuencia de composición proteica, en donde se pudo obtener un alineamiento de las secuencias de PS1₄₆₇. El consenso muestra el logomat de la secuencia, en la que se observan regiones muy conservadas a lo largo de la secuencia proteica, pero para *Pongo abelii* hay una mutación en la región flexible del loop que corresponde al N-terminal y

también una mutación en la región que da al C-terminal de PS1₄₆₇. Otra de las secuencias que presenta mutaciones en la región que comprende la transmembrana 3 (TM3) en la especie *Macaca fascicularis*, se presentan dos cambios adyacentes, lo que cambia el ambiente químico en el que estaba la estructura proteica. Para analizar los cambios que se generaron entre especies, bajo una conceptualización bioquímica, se realiza un agrupamiento de los aminoácidos, teniendo en cuenta su naturaleza, como se muestra en la **Figura 2**:

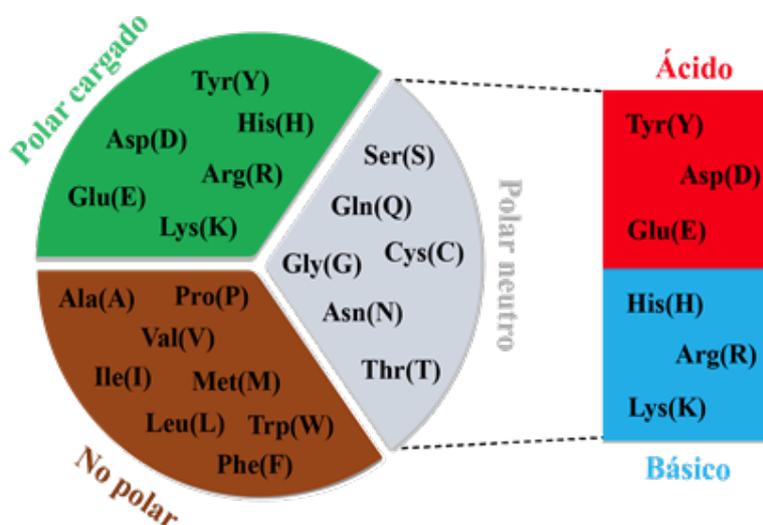


Figura 2. Diagrama de clasificación de la naturaleza química de los aminoácidos.

Fuente: Elaborada por los autores

Según las variantes en los aminoácidos encontrados para la especie *Pongo Abelii* que en la posición 58 tiene Ser(S) en vez de Asn(N), indica que hay un cambio en el aminoácido con un grupo funcional diferente en su cadena lateral. Asimismo, para la especie *Macaca fascicularis* se obtienen un par de mutaciones adyacentes en la posición 180Ile(I)-180Tyr(Y), por los aminoácidos 181Lys(K)-181Asn(N), los cuales están localizados en la transmembrana 3 extracelular, esta mutación presenta un

cambio de no polar-polar cargado a un aumento de polaridad de polar cargado-polar neutro.

Considerando la secuencia primaria de las especies de homínidos para la proteína PS1₄₆₇, se hizo la modelación molecular de la estructura de la proteína para cada una de las secuencias de las muestras de homínidos, con el fin de determinar si existen diferencias importantes a nivel estructural, para ello se hace el uso del predictor de estructura Phyre2,

el cual permite predecir la estructura de aquellas proteínas que experimentalmente se les desconoce, dadas las difíciles condiciones experimentales de aislamiento para obtener la proteína o los problemas de flexibilidad en las regiones loops que producen zonas de baja electrodensidad, incluso la característica química de los aminoácidos que no permite la nucleación del cristal. Se hace el modelamiento molecular y luego a cada modelo hipotético

se le hace un alineamiento estructural (ver **Figura 3**), en el que se tiene como referente en cada alineamiento 3D la proteína PS1₄₆₇ *Homo sapiens* (color azul). Estos alineamientos permiten visualizar si en el sistema se producen cambios a nivel tridimensional, lo que afectaría la función de la proteína en su sitio activo y se tendría el efecto directo de las variantes según la especiación de los homínidos:

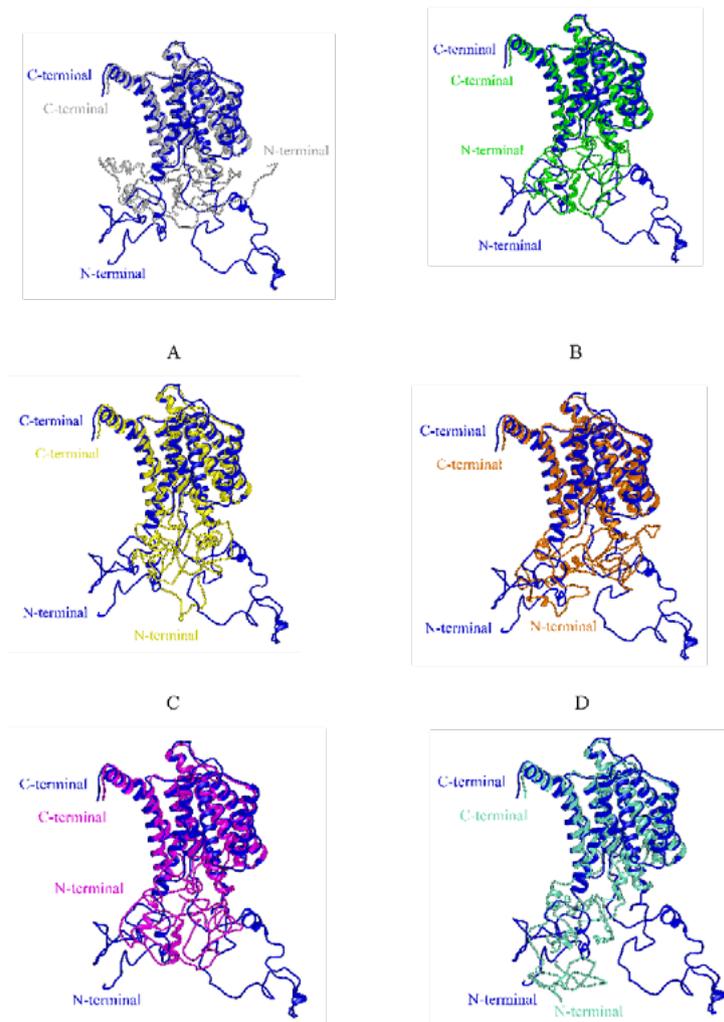


Figura 3. Alineamiento estructural de PS1467 Humana (azul) ID: 6IYC con PS1467 de: A) Macfas (plateado), B) Macmu (verde), C) Pantro (amarillo), D) Ponab (naranja), E) Gor (magenta) y F) Panis (aguamarina). Visualización en cintas con el software UCSF Chimera 1.11.

Fuente: Elaborada por los autores

En la visualización de los alineamientos tridimensionales por pares para la proteína PS1₄₆₇ en las especies de homínidos, se puede apreciar que en el dominio transmembrana de hélices alfa hay una alta coincidencia estructural, es decir, se presenta superposición estructural entre las mismas (ver **Figura 3**. A, B, C, D, E y F). No obstante, en la región intracelular de la proteína es donde la coincidencia estructural

difiere, ya que dicha región está constituida mayoritariamente por loops, los cuales pueden tomar diferentes conformaciones. Lo mencionado con anterioridad, se refuerza con los datos listados en la **Tabla 1**, donde se presenta la desviación cuadrática media (RMSD) estimada para cada uno de los alineamientos tridimensionales, obtenidas mediante el algoritmo de Needleman-Wunsch.

Tabla 1. Desviación cuadrática media (RMSD) estimada de cada uno de los alineamientos tridimensionales por pares PS1 homínidos

Alineamiento 3D de PS1	RMSD estimada (Å)	Alineamiento 3D de PS1	RMSD estimada (Å)
<i>Homo Sapiens-Macfas</i>	4,41	<i>Macfas-Panis</i>	2,56
<i>Homo Sapiens-Macmu</i>	3,39	<i>Macmu-Pantro</i>	1,55
<i>Homo Sapiens-Pantro</i>	4,21	<i>Macmu-Ponab</i>	1,14
<i>Homo Sapiens-Ponab</i>	2,56	<i>Macmu-Gor</i>	0,03
<i>Homo Sapiens-Gor</i>	3,26	<i>Macmu-Panis</i>	1,66
<i>Homo Sapiens-Panis</i>	2,96	<i>Pantro-Ponab</i>	1,39
<i>Macfas-Macmu</i>	1,43	<i>Pantro-Gor</i>	1,64
<i>Macfas-Pantro</i>	3,16	<i>Pantro-Panis</i>	1,81
<i>Macfas-Ponab</i>	4,11	<i>Gor-Panis</i>	1,13
<i>Macfas-Gor</i>	1,17		

Fuente: Elaborada por los autores

En la **Tabla 1**, se observa que en el alineamiento estructural de PS1₄₆₇ *Homo sapiens* con los otros homínidos hay una menor desviación estándar con la especie *Ponab* (RMSD=2,56 Å) y la especie *Panis* (RMSD=2,96 Å), mientras que hay mayor desviación estándar (RMSD=4,41 Å) con la especie *Macfas* que presentan varias mutaciones en PS1₄₆₇. Asimismo, se tiene que los alineamientos 3D de PS1₄₆₇ entre las especies de homínidos examinados, excluyendo la PS1₄₆₇ *Homo sapiens*, presentan desviaciones estándar en el rango de 0,03-4,11 Å, siendo el alineamiento 3D

de *Macmu-Gor* la de menor desviación estándar (RMSD=0,03 Å) y la *Macfas-Ponab* (especies con mutaciones) la de mayor desviación estándar (RMSD=4,11 Å). Sin embargo, las anteriores no superan una desviación estándar de 5Å, por tanto, se puede decir que no hay diferencias significativas en la distancia promedio entre los átomos alineados tridimensionalmente para PS1₄₆₇ entre las especies evaluadas.

Cada una de las variantes encontradas en los alineamientos de Jalview se modelan para visualizar el efecto en *Pongo abelii* y

Macaca fascicularis, las dos estructuras fueron comparadas para la región que comprende sus variaciones respecto a *Homo sapiens*,

con el fin de entender el efecto a partir de la tridimensionalidad estructural como se muestra en la **Figura 4**.

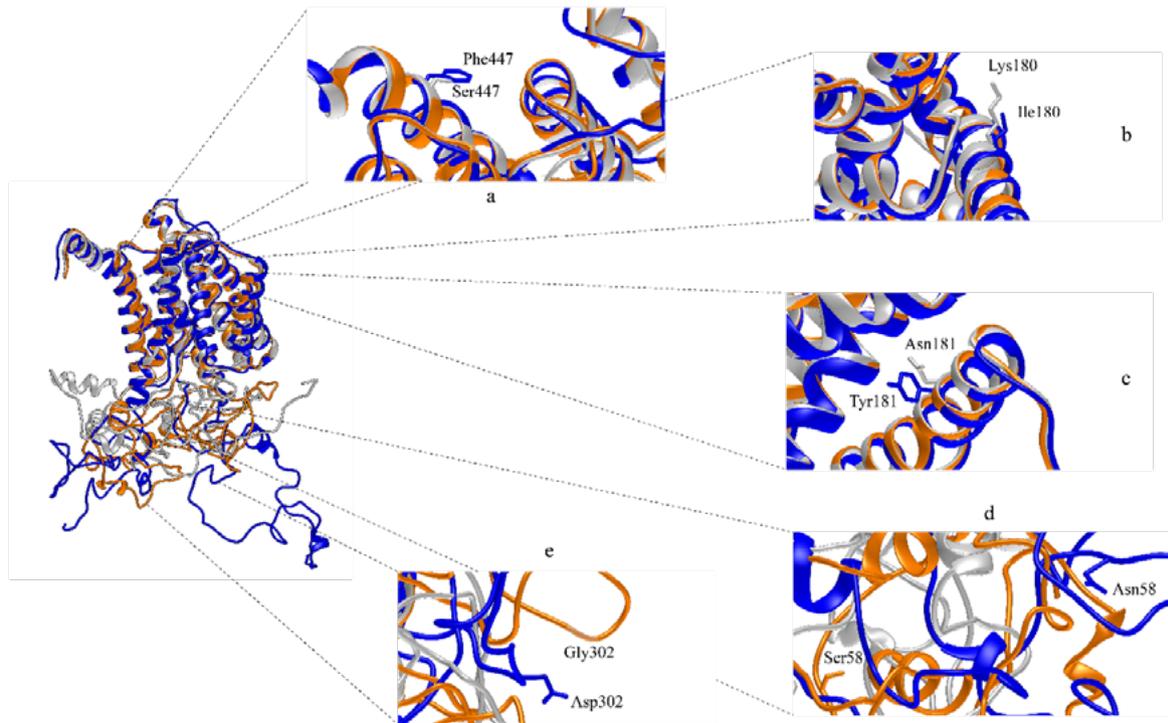


Figura 4. Alineamiento estructural de PS1₄₆₇ Humana (azul) ID: 6IYC con PS1₄₆₇ de *Pongo abelii* (Naranja) y *Macaca fascicularis* (Plateado), donde se observa variaciones en residuos: a) Phe447 a Ser447, b) Ile180 a Lys180, c) Tyr181 a Asn181, d) Asn58 a Ser58 y e) Asp302 a Gly302. Visualización en cintas con el software UCSF Chimera 1.11.

Fuente: Elaborada por los autores

Discusión

En el alineamiento de las secuencias primarias de homínidos para la proteína PS1 presentó variantes para *Pongo Abelii*, ya que se cambió una amida por un grupo hidroxilo, pero la naturaleza del aminoácido no se altera, debido a que el aminoácido sigue siendo polar neutro, esto quiere decir, que esa posición puede mantener las interacciones en la formación de aductos o dipolo-dipolo de Keesom; por su localización en el loop

flexible de la región N-terminal de PS1₄₆₇, tiene un papel importante en la interacción con las otras subunidades en el ensamble de la enzima γ -secretasa como APH1 y PEN-2 que son dos proteínas andamiaje del sitio activo. Además, la variación al residuo de Ser(S) puede posibilitar que en procesos postraduccionales o incluso en membrana, sea probable la O-Glicosilación y la fosforilación por quinasas y, con ello, contribuir con la funcionalidad de la proteína (ver **Tabla 2**). Por otro lado, en la posición 302, sí hay un cambio de polaridad:

de polar cargado Asp(D) a polar neutro Gly(G), pero sigue localizado en las regiones loop y no afecta en su distribución tridimensional.

Para *Macaca Fascicularis*, ocurren dos cambios adyacentes, ya que se producen ligeros cambios en el ambiente químico de la TM3, como se puede evidenciar para el cálculo de pases transmembranales (ver **Tabla 2**). Sin

embargo, la estructura tridimensional tiende a mantenerse, dado que la variante se localiza en la porción extracelular de TMD3. También se observa cambios en la posición 447, del aminoácido Phe(F) al aminoácido Ser(S), adicionando un nuevo sitio de fosforilación a la proteína, ya que es posible ver el efecto directo en las estructuras desde la discusión resumida en la **Tabla 2**:

Tabla 2. Sitios de: fosforilación, O-Glicosilación, N-Glicosilación y pasos transmembrana de PS1 Para las especies *Homo sapiens*, *Macfas* y *Ponab*

Proteína	Sitios de fosforilación	Sitios de O-Glicosilación	Sitios de N-Glicosilación	HHM transmembrana (Localización)
PS1-<i>Homo sapiens</i>	38 sitios de fosforilación (9, 17, 25, 28, 43, 51, 74, 99, 104, 107, 116, 119, 122, 124, 141, 170, 178, 195, 254, 274, 281, 310, 313, 319, 320, 324, 327, 337, 346, 353, 354, 357, 365, 390, 401, 406, 438, 451)	17 sitios de O-Glicosilación (43, 51, 59, 310, 313, 319, 320, 324, 327, 337, 346, 353, 354, 357, 365, 366, 367)	279 NETL0.6114 405 NTTI0.5734	9 pases transmembranales (82-100, 132-154, 161-183, 193-215, 224-241, 246-268, 281-298, 404-426, 431-453)
PS1-<i>Macfas</i>	Se presenta un sitio de fosforilación adicional en la posición 447 respecto a la <i>Homo sapiens</i>	Se presentan tres sitios de O-Glicosilación adicional en las posiciones 23, 25 y 28 respecto a la <i>Homo sapiens</i>	No hay cambios respecto a la <i>Homo sapiens</i>	Pérdida de la TMD 7 Cambios en TMD 1 (83-105), TMD 2 (129-151), TMD 3 (161-179), TMD 4 (191-213) y TMD 6 (246-263)
PS1-<i>Ponab</i>	Se presenta un sitio de fosforilación adicional en la posición 58 respecto a la <i>Homo sapiens</i>	Se presenta un sitio de O-Glicosilación adicional en la posición 58 respecto a la <i>Homo sapiens</i>	No hay cambios respecto a la <i>Homo sapiens</i>	No hay cambios respecto a la <i>Homo sapiens</i>

Fuente: Elaborada por los autores.

Las especies con variaciones que se revelaron en la secuencia primaria estudiada con Jalview, fueron alineadas de manera global con Matchmaker del software Chimera U.C.S.F, con el fin de comparar si hay un efecto en la funcionalidad, por lo que se relacionan *Homo sapiens* con *Pongo abelii* y con *Macus fascicularis*, mostrando que la proteína del Macaco a pesar de tener varios cambios en las zonas un poco más rígidas como las α -hélice en la membrana, se evidencia que no hay cambios estructurales marcados e incluso la hélice no se pierde por cambio de la variante en la modelación, aunque tenga un ligero desplazamiento en el alineamiento y la naturaleza del aminoácido en primera instancia, no parece afectar la estabilidad de la estructura secundaria. Las variantes del homínido *Pongo abelii*, las describimos con anterioridad a partir de su naturaleza química y a nivel estructural. Esta variante se encuentra localizada en las regiones flexibles y no parece inducir ningún efecto respecto al sitio activo de la proteína que queda entre la transmembrana 6 y 7, para los aminoácidos ácido aspártico 257 y 385, dejando como perspectiva un análisis considerando las otras subunidades del complejo enzimático, para evaluar su efecto a nivel de estructura cuaternaria.

Además, se puede observar en los alineamientos globales que las estructuras de presenilina-1, en términos generales, presentan una muy buena conservación de los fragmentos que no son tan flexibles, es decir, el sitio activo y las alfa hélices que presentan los nueve pases transmembranales que coinciden de igual forma con la isoforma 1 que es la más representativa en cerebro, con una constitución de 467 aminoácidos. Los cambios en las regiones flexibles, cuya funcionalidad se asocia en el reconocimiento de sustratos y en las interacciones con las subunidades laterales, las cuales reconocen y movilizan los sustratos cuando se tiene el complejo γ -secretasa ensamblado, es fundamental para la estructura proteica y su funcionalidad, pero

los cambios no difieren de la estructura de *Homo sapiens* de referencia, como se puede mostrar cuantitativa y cualitativamente.

Por otro lado, es importante señalar, que al revisar las mutaciones patogénicas para *Homo sapiens* reportadas en la base de datos de Alzforum, no se encuentran variantes en las posiciones 58 o 302, que corresponden a las variaciones en la secuencia para el *Pongo abelii* (ver **Figura 4. d y e**), aunque se encuentra reportada una variante aleadaña al sitio 302, que corresponde al cambio Pro(P) por Leu(L) en el aminoácido 303 y que ha sido asociada a demencia frontotemporal (Koriath et al. 2020). Para el caso de las variaciones en *Macaca fascicularis*, no se han reportado mutaciones patogénicas para *Homo sapiens* en la posición 447 (ver **Figura 4. a**), tampoco se han reportado variaciones en la posición 181 (ver **Figura 4. c**), sin embargo, si se encuentra reportada una variante en el codón 180, que lleva al cambio de Ile (I) por Asn (N), que se considera posiblemente responsable de causar FAD de inicio precoz (Hélène-Marie et al. 2017). El cambio de Ile (I) por Asn (N) (en el humano) o por Lys (K) (en el macaco) (ver **Figura 4. b**), aunque son diferentes aminoácidos, en ambos casos, se generan un cambio en la polaridad; sin embargo, se debe considerar que la PS1 es solo una porción del complejo γ -secretasa y que puede haber variaciones en las subunidades que hagan que los complejos se ensamblen con cambios entre estas especies, haciendo que estas variaciones no tengan efecto sobre la función enzimática.

Es notoria la homología entre las secuencias de PSEN1 en los homínidos (100 % en 4 de los 5 estudiados), indicando una función importante conservada en todas estas especies. Probablemente está homología en las secuencias, tiene relación con los diferentes reportes de cambios involutivos en los cerebros de los simios, similares a los que se presentan en el *Homo sapiens* durante el envejecimiento. Aunque lo común son

reportes de depósitos del péptido β -amiloide, también se describen con menor frecuencia ovillos neurofibrilares y pérdida de memoria o cambios comportamentales durante el envejecimiento, lo cual claramente está en relación con los cambios neuropatológicos para la enfermedad de Alzheimer (Gearing et al. 1997; Edler et al. 2017; King 2018).

Esta proteína y su función proteasa es importante en los mecanismos patológicos, en donde el péptido amiloide se le asocia funcionalidad a nivel de señalización celular, con el fragmento dominio intracelular AICD. A nivel tridimensional no se observan diferencias, lo que quiere decir que muy probablemente, bajo una visión computacional, los mecanismos se pueden desarrollar de igual manera para los homínidos evaluados y la muerte neuronal se daría con el envejecimiento en estas especies. Este estudio como perspectiva, podría complementarse con un análisis experimental, en donde se tengan todas las enzimas γ -secretasa y se evalúen cinéticas enzimáticas de procesamiento del sustrato PPA, para *Homo sapiens*, *Pongo abelii* y *Macaca Fascicularis*.

Conclusión

Entender la enfermedad de Alzheimer y el papel del mecanismo patogénico en la actualidad, conlleva a realizar análisis desde una perspectiva molecular, del complejo multiproteico γ -secretasa y en últimas de la subunidad comprometida con el sitio activo y la funcionalidad proteasa. PS1 es una proteína muy conservada entre las especies y para los homínidos, también presentó solo unas ligeras diferencias en los lazos flexibles, pues cabe recordar que estas regiones son dinámicas y se le asocia la función de reconocer moléculas

y realizar la auto proteólisis como el corte de la proteína para poder activarse. Con los resultados actuales puede concluirse que para la proteína PS1, no hay cambios considerables en su estructura para la muestra de homínidos, como se demuestra con el cálculo de RMSD de los alineamientos por pares, en donde se mostraron valores por debajo de 5 Å y las mutaciones que se tenían en algunas especies como *Macaca Fascicularis* y *Pongo abelii*, están localizadas en regiones muy flexibles y alejadas de los sitios activos, en donde podrían tener un efecto directo en la funcionalidad de PS1. Como aspecto relevante, queda realizar el modelado de las enzimas completas para una muestra mucho más grande de especies, que incluso no quede restringida sólo a organismos eucariotas, de igual forma determinar la función y ver qué organismos tienen la presencia de las subunidades.

Financiamiento: Este trabajo fue elaborado gracias a la financiación por parte del Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación de Colombia (Minciencias) del proyecto "Caracterización clínica y genética de grupos familiares con enfermedad de Alzheimer y trastornos de movimiento con patrones de herencia mendelianos", identificado con el código 111565741597.

AS-O fue financiado por la beca de Colciencias Francisco José de Caldas para doctorados nacionales en Colombia (FP44842-124-2017) con número 23411.

Contribución: AS-O, EC-S, OCN y APG trabajaron por igual en la ejecución de los análisis y en la recolección de la información, además construyeron el manuscrito. AVL ha hecho el aporte crítico al manuscrito, la revisión y la orientación en la investigación.

Referencias

- Alonso vilatela, Maria Elisa, Marisol López-López, and Petra Yesca-Gómez. 2012. "Genetics of Alzheimer's Disease." *Archives of Medical Research* 43: 622-31. <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0295-9>.
- Alzforum. 2022. "ALZFORUM Networking for a Cure." Biomedical Research Forum. 2022. <https://www.alzforum.org/>.
- Apweiler, Rolf, Alex Bateman, Maria Jesus Martin, Claire O'Donovan, Michele Magrane, Yasmin Alam-Faruque, Emanuele Alpi, et al. 2014. "Activities at the Universal Protein Resource (UniProt)." *Nucleic Acids Research* 42 (D1): 191-98. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1140>.
- Artimo, Panu, Manohar Jonnalagedda, Konstantin Arnold, Delphine Baratin, Gabor Csardi, Edouard De Castro, Séverine Duvaud, et al. 2012. "ExPASy: SIB Bioinformatics Resource Portal." *Nucleic Acids Research* 40 (W1): 597-603. <https://doi.org/10.1093/nar/gks400>.
- Ballard, Clive, Serge Gauthier, Anne Corbett, Carol Brayne, Dag Aarsland, and Emma Jones. 2011. "Alzheimer's Disease." *The Lancet* 377 (9770): 1019-31. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61349-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61349-9).
- Berman, Helen M., Gerard J. Kleywegt, Haruki Nakamura, and John L. Markley. 2012. "The Protein Data Bank at 40: Reflecting on the Past to Prepare for the Future." *Structure* 20 (3): 391-96. <https://doi.org/10.1016/j.str.2012.01.010>.
- Blom, Nikolaj, Steen Gammeltoft, and Søren Brunak. 1999. "Sequence and Structure-Based Prediction of Eukaryotic Protein Phosphorylation Sites." *Journal of Molecular Biology* 294 (5): 1351-62. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3310>.
- Blom, Nikolaj, Thomas Sicheritz-Pontén, Ramneek Gupta, Steen Gammeltoft, and Søren Brunak. 2004. "Prediction of Post-Translational Glycosylation and Phosphorylation of Proteins from the Amino Acid Sequence." *Proteomics* 4 (6): 1633-49. <https://doi.org/10.1002/pmic.200300771>.
- Bruggeman, Frank J., and Hans V. Westerhoff. 2007. "The Nature of Systems Biology." *Trends in Microbiology* 15 (1): 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.11.003>.
- Clark, R. F., M. Hutton, M. Fuldner, S. Froelich, E. Karran, C. Talbot, R. Crook, et al. 1995. "The Structure of the Presenilin 1 (S182) Gene and Identification of Six Novel Mutations in Early Onset AD Families." *Nature Genetics* 11 (2): 219-22. <https://doi.org/10.1038/ng1095-219>.
- Consortium, The Uniprot. 2012. "Reorganizing the Protein Space at the Universal Protein Resource (UniProt)." *Nucleic Acids Research* 40 (2): D71-5. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1068>.
- Edler, Melissa K., Chet C. Sherwood, Richard S. Meindl, William D. Hopkins, John J. Ely, Joseph M. Erwin, Elliott J. Mufson, Patrick R. Hof, and Mary Ann Raghanti. 2017. *Aged Chimpanzees Exhibit Pathologic Hallmarks of Alzheimer's Disease. Neurobiology of Aging*. Vol. 59. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.07.006>.
- Fernandez, Marty A., Julia A. Klutkowski, Taylor Freret, and Michael S. Wolfe. 2014. "Alzheimer Presenilin-1 Mutations

- Dramatically Reduce Trimming of Long Amyloid B-Peptides (A β) by γ -Secretase to Increase 42-to-40-Residue A β ." *Journal of Biological Chemistry* 289 (45): 31043–52. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.581165>.
- Fluhrer, Regina, Arno Friedlein, Christian Haass, and Jochen Walter. 2004. "Phosphorylation of Presenilin 1 at the Caspase Recognition Site Regulates Its Proteolytic Processing and the Progression of Apoptosis." *The Journal of Biological Chemistry* 279 (3): 1585–93. <https://doi.org/10.1074/jbc.M306653200>.
- Gearing, M., J. Tigges, H. Mori, and Suzanne S. Mirra. 1997. "B-Amyloid (A β) Deposition in the Brains of Aged Orangutans." *Neurobiology of Aging* 18 (2): 139–46. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(97\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(97)00012-2).
- Golriz Khatami, Sepehr, Yasamin Salimi, Martin Hofmann-Apitius, Neil P. Oxtoby, and Colin Birkenbihl. 2022. "Comparison and Aggregation of Event Sequences across Ten Cohorts to Describe the Consensus Biomarker Evolution in Alzheimer's Disease." *Alzheimer's Research and Therapy* 14 (1): 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13195-022-01001-y>.
- Haas, Robert, Aleksej Zelezniak, Jacopo Iacovacci, Stephan Kamrad, St John Townsend, and Markus Ralser. 2017. "Designing and Interpreting 'multi-Omic' Experiments That May Change Our Understanding of Biology." *Current Opinion in Systems Biology* 6 (September): 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.coisb.2017.08.009>.
- Hélène-Marie, Lanoiselée, Nicolas Gäel, David Wallon, Anne Rovelet-lecrux, Anne-claire Richard, Florence Pasquier, Morgane Lacour, et al. 2017. "APP, PSEN1, and PSEN2 Mutations in Early-Onset Alzheimer Disease: A Genetic Screening Study of Familial and Sporadic Cases." *PLoS Medicine* 1: 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002270>.
- Henikoff, S, and J G Henikoff. 1992. "Amino Acid Substitution Matrices from Protein Blocks." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89 (22): 10915–19. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.22.10915>.
- Hitzenberger, M., and M. Zacharias. 2019. "Structural Modeling of γ -Secretase A β n Complex Formation and Substrate Processing." *ACS Chemical Neuroscience* 10 (3): 1826–40. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.8b00725>.
- Kaether, Christoph, Christian Haass, and Harald Steiner. 2006. "Assembly, Trafficking and Function of γ -Secretase." *Neurodegenerative Diseases* 3 (4–5): 275–83. <https://doi.org/10.1159/000095267>.
- Kelley, L.A., S. Mezulis, C. Yates, M. Wass, and M. Sternberg. 2015. "The Phyre2 Web Portal for Protein Modelling, Prediction, and Analysis." *Nature Protocols* 10 (6): 845–58. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015-053>.
- Khan, Ammad Aslam, Raja Hashim Ali, and Bushra Mirza. 2020. "Evolutionary History of Alzheimer Disease-Causing Protein Family Presenilins with Pathological Implications." *Journal of Molecular Evolution* 88 (8–9): 674–88. <https://doi.org/10.1007/s00239-020-09966-w>.
- King, Anthony. 2018. "Developing Better Models of Alzheimer's Disease Could Be

- Key to Stemming the Continued Clinical Failure of Treatments.” *Nature*, 6–8. <https://www.nature.com/magazine-assets/d41586-018-05722-9/d41586-018-05722-9.pdf>.
- Koriath, C., J. Kenny, G. Adamson, R. Druyeh, W. Taylor, J. Beck, L. Quinn, et al. 2020. “Predictors for a Dementia Gene Mutation Based on Gene-Panel next-Generation Sequencing of a Large Dementia Referral Series.” *Molecular Psychiatry* 25 (12): 3399–3412. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0224-0>.
- Krieger, Elmar, Keehyoung Joo, Jinwoo Lee, Jooyoung Lee, Srivatsan Raman, James Thompson, Mike Tyka, David Baker, and Kevin Karplus. 2009. “Improving Physical Realism, Stereochemistry, and Side-Chain Accuracy in Homology Modeling: Four Approaches That Performed Well in CASP8.” *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* 77 (SUPPL. 9): 114–22. <https://doi.org/10.1002/prot.22570>.
- Larkin, M. A., G. Blackshields, N. P. Brown, R. Chenna, P. A. Mcgettigan, H. McWilliam, F. Valentin, et al. 2007. “Clustal W and Clustal X Version 2.0.” *Bioinformatics* 23 (21): 2947–48. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>.
- Levitan, D., J. Lee, L. Song, R. Manning, G. Wong, E. Parker, and L. Zhang. 2001. “PS1 N- and C-Terminal Fragments Form a Complex That Functions in APP Processing and Notch Signaling.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (21): 12186–90. <https://doi.org/10.1073/pnas.211321898>.
- Martinelli, Dominic D. 2022. “Evolution of Alzheimer’s Disease Research from a Health-Tech Perspective: Insights from Text Mining.” *International Journal of Information Management Data Insights* 2 (2): 100089. <https://doi.org/10.1016/j.jjimei.2022.100089>.
- Medoro, Alessandro, Silvia Bartollino, Donatella Mignogna, Daniela Passarella, Carola Porcile, Aldo Pagano, Tullio Florio, et al. 2018. “Complexity and Selectivity of γ -Secretase Cleavage on Multiple Substrates: Consequences in Alzheimer’s Disease and Cancer.” *Journal of Alzheimer’s Disease* 61 (1): 1–15. <https://doi.org/10.3233/JAD-170628>.
- N. Guex and M. C. Peitsch. 1997. *SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An Environment for Comparative Protein Modeling*. <https://doi.org/10.1002/elps.1150181505>.
- Needleman, Saul B., and Christian D. Wunsch. 1970. “A General Method Applicable to the Search for Similarities in the Amino Acid Sequence of Two Proteins.” *Journal of Molecular Biology* 48 (3): 443–53. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(70\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0022-2836(70)90057-4).
- Notredame, Cédric, Desmond G. Higgins, and Jaap Heringa. 2000. “T-Coffee: A Novel Method for Fast and Accurate Multiple Sequence Alignment.” *Journal of Molecular Biology* 302: 205–17. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4042>.
- Okochi, Masayasu, Shinji Tagami, Kanta Yanagida, Mako Takami, Takashi S. Kodama, Kohji Mori, Taisuke Nakayama, Yasuo Ihara, and Masatoshi Takeda. 2013. “ γ -Secretase Modulators and Presenilin 1 Mutants Act Differently on Presenilin/ γ -Secretase Function to Cleave AB42 and AB43.” *Cell Reports* 3 (1): 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.11.028>.
- Rovelet-Lecrux, Anne, Didier Hannequin, Gregory Raux, Nathalie Le Meur,

- Annie Laquerrière, Anne Vital, Cécile Dumanchin, et al. 2006. "APP Locus Duplication Causes Autosomal Dominant Early-Onset Alzheimer Disease with Cerebral Amyloid Angiopathy." *Nature Genetics* 38 (1): 24–26. <https://doi.org/10.1038/ng1718>.
- Saura, Carlos A., Taisuke Tomita, Salvador Soriano, Masaaki Takahashi, Jae Yoon Leem, Toshiyuki Honda, Edward H. Koo, Takeshi Iwatsubo, and Gopal Thinakaran. 2000. "The Nonconserved Hydrophilic Loop Domain of Presenilin (PS) Is Not Required for PS Endoproteolysis or Enhanced A β 42 Production Mediated by Familial Early Onset Alzheimer's Disease-Linked PS Variants." *Journal of Biological Chemistry* 275 (22): 17136–42. <https://doi.org/10.1074/jbc.M909624199>.
- Shao, Wen, Dantao Peng, and Xiaomin Wang. 2017. "Genetics of Alzheimer's Disease: From Pathogenesis to Clinical Usage." *Journal of Clinical Neuroscience* 1. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2017.06.074>.
- Shen, Min-yi, and Andrej Sali. 2006. "Statistical Potential for Assessment and Prediction of Protein Structures." *Protein Science* 15 (11): 2507–24. <https://doi.org/10.1110/ps.062416606>.
- Soto-Ospina, Alejandro, Pedronel Araque Marín, Gabriel De Jesús Bedoya, and Andrés Villegas Lanau. 2021. "Structural Predictive Model of Presenilin-2 Protein and Analysis of Structural Effects of Familial Alzheimer's Disease Mutations." *Biochemistry Research International* 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/9542038>.
- Soto-Ospina, Alejandro, Pedronel Araque Marín, Gabriel Bedoya, Diego Sepulveda-Falla, and Andrés Villegas Lanau. 2021. "Protein Predictive Modeling and Simulation of Mutations of Presenilin-1 Familial Alzheimer's Disease on the Orthosteric Site." *Frontiers in Molecular Biosciences* 8 (June): 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.649990>.
- Sun, Linfeng, Rui Zhou, Guanghui Yang, and Yigong Shi. 2016. "Analysis of 138 Pathogenic Mutations in Presenilin-1 on the in Vitro Production of A β 42 and A β 40 Peptides by γ -Secretase." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114 (4): E476–85. <https://doi.org/10.1073/pnas.1618657114>.
- Sun, Yan V., and Yi Juan Hu. 2016. *Integrative Analysis of Multi-Omics Data for Discovery and Functional Studies of Complex Human Diseases. Advances in Genetics*. Vol. 93. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2015.11.004>.
- Szaruga, Maria, Bogdan Munteanu, Sam Lismont, Sarah Veugelen, Katrien Horr , Marc Mercken, Takaomi C. Saido, et al. 2017. "Alzheimer's-Causing Mutations Shift A β Length by Destabilizing γ -Secretase-A β n Interactions." *Cell* 170 (3): 443–456.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.004>.
- UniProt. 2010. "The Universal Protein Resource" 2010 (November 2007): 190–95. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl929>.
- Vidal, Ruben, Jorge Ghiso, Thomas Wisniewski, and Blas Frangione. 1996. "Alzheimer's Presenilin 1 Gene Expression in Platelets and Megakaryocytes." *FEBS Letters* 393 (1): 19–23. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00845-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00845-9).
- Waterhouse, Andrew M., James B. Procter, David M A Martin, Mich le Clamp, and Geoffrey J. Barton. 2009. "Jalview Version

2-A Multiple Sequence Alignment Editor and Analysis Workbench." *Bioinformatics* 25(9): 1189–91. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033>.

Webb, Benjamin, and Andrej Sali. 2016. "Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER." *Current Protocols in Bioinformatics* 2016 (June): 5.6.1-5.6.37. <https://doi.org/10.1002/cpbi.3>.

Zhang, Tao, Dongmei Chen, and Tae Ho Lee. 2020. "Phosphorylation Signaling in APP Processing in Alzheimer's Disease." *International Journal of Molecular Sciences*.

Zhou, R; Yang, Guanghui; Guo Xuefei; Zhou, Qiang; Lei, Jianlin and Shi, Yigong. 2019. "Recognition of the Amyloid Precursor Protein by Human Gamma Secretase." *Science* 0930 (January).