

Artículo original

## Modelamiento molecular y análisis estructural de la variante I684S en la enzima TYK2 y su relación con la propensión a la psoriasis

### Molecular modeling and structural analysis of variant I684S in the TYK2 enzyme and its relation with the susceptibility to psoriasis

Yesid Alvarez<sup>1,\*</sup>, Alejandro Soto-Ospina<sup>1,2</sup>, Andrés Villegas-Lanau<sup>1</sup>, Pedronel Araque<sup>3</sup>, Carlos Andrés Naranjo<sup>1</sup>, Esteban Uribe<sup>4</sup>, Sol Jiménez<sup>4</sup>, Elsa Vásquez<sup>5</sup>, Gabriel de Jesús Bedoya<sup>1</sup>, Margarita Velásquez<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Genética Molecular (GenMol), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigaciones en Alimentos (GRIAL), Facultad de Ingenierías, Corporación Universitaria Unilasallista, Caldas, Antioquia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación e Innovación en Formulaciones Químicas, Universidad EIA, Envigado, Colombia

<sup>4</sup> Dermatología, Universidad CES, Medellín, Colombia

<sup>5</sup> Epidemiología, Universidad CES, Medellín, Colombia

<sup>6</sup> Centro de Investigaciones Dermatológicas, CIDERM, Sección de Dermatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Citación:** Alvarez Y, Soto-Ospina A, Villegas-Lanau A, *et al.* Modelamiento molecular y análisis estructural de la variante I684S en la enzima TYK2 y su relación con la propensión a la psoriasis. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. 47(182):8-21, enero-marzo de 2023. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1694>

**Editor:** John Mario González

**\*Correspondencia:**

Yesid Alvarez Maya;  
[yesid.alvarez@udea.edu.co](mailto:yesid.alvarez@udea.edu.co)

**Recibido:** 25 de mayo de 2022

**Aceptado:** 21 de enero de 2023

**Publicado en línea:** 8 de marzo de 2023



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

## Resumen

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica inmunomediada en la que el eje IL-23/Th17 dirige el proceso patogénico. En la regulación del sistema inmunitario la propensión al desarrollo de la psoriasis en una población colombiana se asoció con la variante no sinónima I684S en TYK2. En el estudio funcional del efecto de la variante a nivel molecular, se hizo la modelación molecular de la enzima a partir de su secuencia primaria, lo que permite reconocer el plegamiento tridimensional y unificar así el modelo con las estructuras cristalizadas de las diferentes subunidades de la enzima que han sido reportadas como aisladas y sin conexión. Este modelo final se refinó utilizando dos programas y se seleccionó el mejor para la simulación posterior según la puntuación de los valores energéticos y estereoquímicos. La simulación molecular se hizo con el método semiempírico del programa Spartan 18<sup>®</sup> y el campo de fuerza del Austin Model 1 para la región vecinal que incluye la posición 684 en donde se hizo el cálculo energético y de superficie electrónica bajo un enfoque mecánico cuántico. Los resultados evidenciaron que los modelos presentaron cambios tridimensionales a nivel topológico de la enzima TYK2 silvestre y la mutación I684S en los patrones del enlace de hidrógeno y en la estructura electrónica, con un aumento de la densidad electrónica en la mutación que favorece la fosforilación de quinasas en la transducción de la señal y la desregulación inmunológica.

**Palabras claves:** Psoriasis; Tirosina quinasa; Modelamiento molecular; Simulación; Mecánica cuántica.

## Abstract

Psoriasis is an immune-mediated chronic inflammatory disease in which the IL-23/Th17 axis directs the pathogenic process. In a Colombian population, the regulation of the immune system and susceptibility to the development of psoriasis was associated with the non-synonymous variant I684S in TYK2. To understand the effect of this mutation, we used molecular modeling with the structure predictor Phyre2, which allowed us to recognize 3D folding and, thus, unify the model with the crystallized structures of the different subunits that have been reported as isolated subunits. This final model was refined with two software programs and the best model scored with energetic and stereo-chemical values was selected for subsequent simulation. The molecular simulation was done

with the semi-empirical method of the Spartan 18' software and the Austin Model 1 force field for the neighborhood region that includes position 684 where the energetic and electronic surface calculation was made under a quantum mechanical approach. The results showed that the models presented 3D changes at the topological level in the wild TYK2 enzyme compared with the I684S mutation in the hydrogen bonding patterns and the electronic structure with an increase in the electronic density of the mutation favoring phosphorylation of kinases in signal transduction and immune dysregulation.

**Keywords:** Psoriasis; Tyrosine kinase; Molecular modeling; Simulation; Quantum mechanics.

## Introducción

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria de curso crónico que afecta fundamentalmente la piel; se la considera como una de las enfermedades inflamatorias de mayor frecuencia en este órgano. Su patogenia incluye la desregulación del sistema inmunitario y posee un patrón de herencia compleja (Freeman *et al.*, 2003) La Organización Mundial de la Salud (OMS) la declaró como un problema de salud global debido a su impacto en la morbilidad y la mortalidad de quienes la padecen (Boehncke & Schön, 2015).

La prevalencia de la enfermedad varía en las diferentes regiones geográficas del mundo y su frecuencia es mayor en las latitudes del norte que en el trópico (Chandran, 2013; Langley & Ellis, 2004). En Europa la prevalencia de la psoriasis fluctúa entre 0,6 y 6,5 %, con los porcentajes más altos en los países situados en el norte del continente (Chandran, 2013). En Estados Unidos la prevalencia se ha estimado en un 3,15 %, lo que se explica por la fuerte composición ancestral de origen europeo de su población (Kurd & Gelfand, 2009), en tanto que en África varía según la localización geográfica y la etnia (Chandran, 2013). En el este africano los porcentajes oscilan entre 2,6 y 3,3 y en el oeste del continente los porcentajes están entre 0,05 y 0,3 % (Farber & Nall, 1994). En el continente asiático los porcentajes disminuyen comparados con los de Europa; en India la prevalencia oscila entre 0,5 y 2,3 %. No hay reportes sobre la prevalencia de la psoriasis en ciertas culturas nativas de la región andina, lo que también es el caso de los aborígenes australianos (Chandran, 2013). En la inmunopatogenia de la psoriasis se reconoce que el principal eje es el IL-23/Th17 (Griffiths, 2003) y se ha establecido que las citocinas IL-17, IL-23 y TNF- $\alpha$ , entre otras, están implicadas de manera directa en la inmunopatogenia de la psoriasis (Grillo *et al.*, 2020; Luger & Loser, 2018).

La psoriasis tiene un fuerte componente genético según las evaluaciones iniciales de estudios en los que se analizaron gemelos y familias (Lønnberg *et al.*, 2013; Rahman & Elder, 2005) Se ha encontrado que la heredabilidad es mayor en gemelos monocigóticos que en gemelos dicigóticos (2 a 3,5 veces) (Lønnberg *et al.*, 2016) y las estimaciones de heredabilidad oscilan entre un 50 y 90 % en las poblaciones de origen europeo (Grjibovski *et al.*, 2007; Lønnberg *et al.*, 2013). El rol de la genética en la enfermedad se ha confirmado mediante la evaluación de los análisis de ligamiento paramétricos en familias y en estudios de asociación. Se han identificado más de 70 variantes asociadas, lo que representa solamente el 30 % de la heredabilidad y podría explicarse por la acumulación de las variantes, cuyo efecto y frecuencia son bajos, así como por la interacciones que se generan entre genes o entre genes y medio ambiente (Gudjonsson & Elder, 2007; Mahil *et al.*, 2015). Se han descrito señales de asociación en mutaciones de la región que marca la propensión a la psoriasis, como la PSORS6, ubicada en 19p13, la cual contiene el locus de la tirosina quinasa 2 (TYK2) (Lee *et al.*, 2000). En un estudio de casos y controles en Colombia (resultados aún no publicados) en el que se analizó el efecto de siete variantes de susceptibilidad a la psoriasis, solo la rs12720356 en TYK2 se asoció con la aparición de psoriasis en un modelo de herencia dominante (OR=3,5; p=0,0002). Al ajustar esta asociación con cada uno de los valores de los componentes ancestrales (europeo, nativo americano y africano) en el mismo modelo, esta se mantuvo, pero se incrementó con el componente europeo (OR=3,68; p=0,0001). Cuando se ajustó por los componentes ancestrales amerindio y africano, el OR disminuyó a 2,92 (p=0,0045).

Esta variante ya ha sido descrita previamente como factor de riesgo genético para la psoriasis en algunos estudios de asociación (Kisiel *et al.*, 2017; Maniatis, 1989; Nititham *et al.*, 2017; Strange *et al.*, 2010), aunque otros autores no respaldan la importancia de la variante rs12720356 TYK2 I684S en la propensión a la enfermedad, catalogándola como protectora (Ellinghaus *et al.*, 2016; Enerbäck *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2013). Por otro lado, en algunas publicaciones se asocia la variante en TYK2 únicamente a un tipo de psoriasis (Prieto-Pérez *et al.*, 2015). La diversidad de los resultados plantea la necesidad de seguir desarrollando estudios de funcionalidad y asociación en poblaciones como la colombiana, que es producto de mezclas, en las que la interacción entre diversos alelos podría explicar la diversidad de resultados que se evidencia en los estudios citados.

Desde el punto de vista estructural, en las bases de datos RCSB Protein Data Bank (Berman *et al.*, 2012) la enzima TYK2 tiene una longitud de 1.187 aminoácidos y en ella se destaca un dominio pseudoquinasa 1 que es analíticamente inactivo y comprende la región de 589 a 875 aminoácidos, dominio que aparece cristalizado con la técnica de difracción de rayos X a una resolución de 2.15 Å (PDB-ID 3ZON) (Elkins *et al.*, 2013). El dominio pseudoquinasa 2 también se encuentra cristalizado e incluye el rango de 897 a 1.176 aminoácidos; experimentalmente este fragmento se resolvió con difracción de rayos X a una resolución de 2.00 Å (PDB-ID 6DBK) (Fensome *et al.*, 2018). La porción estructural del dominio FERM, cuya función radica en la asociación de la membrana mediante la unión directa a la región citoplasmática, constituido por los aminoácidos 26 a 431 y del dominio atípico de SH2 en la enzima tiroxina quinasa para los aminoácidos 450 a 529, ambos resueltos por difracción de rayos X a 1.99 Å (PDB-ID 4PO6) (Wallweber *et al.*, 2014). Los fragmentos estructurales están aislados y la estructura no se encuentra completamente unida en un modelo tridimensional. Por ello, el objetivo de este trabajo consistió en modelar los fragmentos faltantes en la estructura y unificar las diferentes subunidades de la TYK2, así como hacer un análisis estructural de la mutación polar en la región I684S, enfocándonos en la respuesta desregulada por transducción de la señal celular a partir de la fosforilación con enzimas quinasas.

## Metodología

### *Modelos de predicción y refinamiento estructural para TYK2*

El modelo estructural que utiliza el enhebrado para conectar los diferentes fragmentos cristalizados en los dominios proteicos recurre al programa predictor de estructura de péptidos y proteínas Phyre2 (Kelley *et al.*, 2015), el cual pertenece al grupo de bioinformática estructural del Imperial College de Londres, en donde se realiza un ensamblaje por homología a partir de una comparación con las estructuras cristalizadas ya reportadas y la secuencia primaria a la que se asemejan. Este programa unifica los fragmentos encontrados por homología, concibiendo el esqueleto atómico como un sistema flexible que obedece las leyes dinámicas de Newton en la conceptualización clásica (Kelley *et al.*, 2015; Kelley & Sternberg, 2009).

La TYK2 mutada en la posición 684 del dominio pseudoquinasa 1 utiliza la misma metodología de modelamiento molecular para la enzima *wilde type*, que genera el archivo en formato PDB. Como parte de su algoritmo de ensamblaje, el programa Phyre2 hace un refinamiento previo, sin embargo, se emplean programas externos para el refinamiento de los modelos hipotéticos, lo que evita los posibles solapamientos entre átomos y mejora la distribución espacial acorde con la dinámica de los campos de fuerza que afectan el modelo, para así constatar si sus parámetros tienden a cambiar mediante interacciones no covalentes del esqueleto carbonado en el modelo peptídico que se manifiesta en la estructura secundaria; para ello, se utilizan los programas de fragmentos guiados de dinámica molecular Modrefiner y FG-MD (Xu & Zhang, 2011; Zhang *et al.*, 2011).

### *Caracterización energética y estereoquímica de los modelos hipotéticos de TYK2*

El modelo hipotético sin refinar obtenido cuenta con fragmentos que se crearon *ab-initio*, los cuales deben adoptar una distribución tridimensional que permita ilustrar la plausible

funcionalidad de los dominios activos y no activos de la enzima TYK2. Para caracterizar y evaluar los modelos hipotéticos, se hizo una caracterización energética y estereoquímica que permitiera seleccionar el mejor modelo, sin refinar o refinado, con el fin de emplearlo en el estudio funcional de las variantes contrasentido. En la caracterización energética se hace uso del parámetro de caracterización QMEAN6 (Benkert *et al.*, 2008), el cual define un valor normalizado de la combinación lineal de términos relacionados con la estabilidad del modelo. La caracterización estereoquímica, por su parte, se hace con el programa RAMPAGE (Crystallography and Bioinformatics Group, 2017), herramienta del grupo de bioinformática y cristalografía que permite medir los ángulos diedrales Phi ( $\phi$ ) y Psi ( $\psi$ ) (que conectan el esqueleto carbonado de los enlaces peptídicos) en el análisis de la movilidad proteica.

#### ***Visualizadores estructurales - alineamiento tridimensional***

Para estudiar las coordenadas espaciales y atómicas, se utilizaron varios visualizadores estructurales de los programas Deepview/Swiss-PdbViewer versión 3.7 (Guex & Peitsch, 1997), los cuales permiten obtener un enfoque preliminar y topológico del estudio. Las estructuras se visualizaron en el programa U.C.S.F. Chimera versión 1.11 (Pettersen *et al.*, 2004), y cada estructura secundaria se modeló en un formato del tipo de cintas y estructura de densidad. El mejor modelo obtenido se alineó con los cristales reportados en el PDB a partir de un alineamiento tridimensional con la herramienta Matchmaker, la cual considera la estructura de referencia y el modelo hipotético, usando el algoritmo de alineamiento global Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM62 para la secuencia de aminoácidos, con lo que se obtuvo una representación tridimensional del modelo que permite observar si hay coincidencias o no a nivel espacial en esa comparación estructural, dado que en la literatura se reportan estructuras que conservan su actividad enzimática, por lo que se usa este alineamiento global para entender los efectos a nivel funcional (Carter *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2015). Estos alineamientos se cuantificaron a partir de la medición de la desviación estándar RMSD.

#### ***Análisis bioinformático de las variaciones en las proteínas - cálculo de fosforilación***

La caracterización empleada en el seguimiento de las variantes a nivel proteínico toma en cuenta la estimación de la fosforilación mediante el cálculo con la secuencia de la biblioteca nativa y la mutación Ile684Ser y considera sus puntos de fosforilación en el grupo hidroxilo de aminoácidos polares neutros, como la serina y la treonina, o los hidroxilos de grupos aromáticos, como el fenol en la tirosina. Las puntuaciones en 15 quinasas, en las que se resaltan PKA, PKC, PKE, RSK, EGFR o MAPK38, se evalúan para entender las posibilidades de fosforilación a lo largo de las posiciones en la proteína (Artimo *et al.*, 2012; Blom *et al.*, 2004).

#### ***Modelación de las variantes con el método híbrido de mecánica cuántica y mecánica molecular (QM-MM)***

En el análisis funcional de la variante en la enzima TYK2, se utilizó una simulación del modelo tridimensional obtenido para las enzimas silvestre y mutada. En los modelos se aplica el nivel de teoría acorde con la capacidad del *hardware* disponible, el tiempo computacional, y la cantidad de núcleos y de electrones presentes en el sistema poliatómico. En la construcción de la simulación se hace una parametrización del modelo en el archivo de entrada, saturando con hidrógenos las regiones vecinas al sitio de mutación, lo que en este caso se hizo en el análisis cuántico enfocado en la posición 684 considerando las hojas beta desde Val640 hasta Asp645 y desde Gly680 hasta Glu688. Los cambios se monitorean en las estructuras tridimensionales mediante la matriz topológica. Para estos sistemas macromoleculares se utiliza el método semiempírico con la base Austin Model 1 (AM1) del programa Spartan18 de Wavefunction de medición de cambios energéticos, distancias de enlace y cambios en los ángulos (Foresman & Frisch, 1996; Dewar *et al.*, 1993), ya que la base AM1 funciona muy bien en los métodos híbridos de estudio de sistemas

enzimáticos (Cano *et al.*, 2021; Cardona-Pemberthy *et al.*, 2018; Grillo *et al.*, 2020; López-Rivera *et al.*, 2022; Peng *et al.*, 2019; Soto-Ospina *et al.*, 2021a; Soto-Ospina *et al.*, 2021b; Tejada-Moreno *et al.*, 2022), que provienen de análisis cristalográficos y experimentales que favorecen la parametrización.

En la simulación se hace una optimización geométrica de los diversos conformeros energéticos y se obtiene el de menor energía, el cual sirve de base para el enfoque analítico en una modelación superficial de la estructura electrónica utilizando la herramienta “superficie” para generar diversas superficies a manera de mapas de potenciales electrostáticos en rangos de -200kJ/mol a 200kJ/mol, y obtener la distribución electrónica y la posibilidad de fosforilar las vecindades de la región que sufre la mutación en escalas de ocho colores que representan el potencial (Wavefunction, 1991). El ion fosfato considerado como el responsable de la fosforilación en el dominio pseudoquinasa 1 debido al aminoácido Ser (S), se optimizó de manera geométrica con el método del funcional de densidad DFT en un ambiente acuoso con la segunda esfera de solvatación y el método wB97x-D con la base 6-31G\*. Se midieron las superficies equipotenciales, los mapas de potencial electrostático y los orbitales HOMO-LUMO, con el fin de caracterizar el comportamiento del ion considerando las escalas de distribución del potencial.

### *Acoplamiento molecular*

El estudio de la interacción entre el ion fosfato y la pseudoquinasa 1 de la enzima TYK2 *wild type* y la mutada Ile684Ser, se hizo con el programa Autodock Vina que permite el estudio conformacional y el acoplamiento receptor-ligando, y genera la calificación de la interacción y la desviación estándar entre los conformeros. Se usaron los modelos construidos con los predictores de estructura y el ion fosfato se obtuvo de Pubchem en formato .SDF para realizar la simulación.

## Resultados y discusión

### *Modelo tridimensional - caracterización energética y estereoquímica*

El modelo tridimensional se realizó a partir de la secuencia primaria de aminoácidos contemplando el total de 1.187 unidades. Esta secuencia primaria se caracterizó con el alineamiento T-Coffee 2.0 y se obtuvo un valor de 99,92 % de identidad y una desviación estándar RMSD de 2.970, producto de la variante de isoleucina (I) por serina (S) en la posición 684, como se muestra en la **figura suplementaria 1**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1694/3341>.

Con el consenso de las secuencias primarias se construyó el modelo tridimensional utilizando el programa de predicción de estructura Phyre2, el cual se refinó utilizando algunas herramientas de medición de las interacciones no covalentes de los esqueletos carbonados a partir de campos de fuerza intrínsecos en el algoritmo de cada programa y alterando el plegamiento tridimensional para evaluar el efecto con respecto a los no refinados. Cada modelo encontrado en el estudio se caracterizó con herramientas energéticas y estereoquímicas, cuyos valores se encuentran reportados en la **tabla 1**.

Los valores reportados que se obtuvieron de la caracterización de los modelos refinados y sin refinar, se lograron utilizando el QMEAN6 en gráficos de Ramachandran de los ángulos diedrales, de los carbonos alfa y de los enlaces peptídicos; estos evidenciaron que el mejor modelo para la enzima nativa se determinó con el Phyre2 sin refinar, con un valor definido dentro de un rango normalizado, la estimación obtenida en QMEAN6 fue de 0,666, en tanto que los de los ángulos diedrales Phi ( $\phi$ ) y Psi ( $\psi$ ), cuya constitución ubica los residuos en los cuadrantes según su estructura secundaria, los valores generados fueron: (95,4 %) en la región favorable, (3,2 %) en la región permitida y (1,4 %) en la región prohibida, estos valores se ubican en las regiones de mayor importancia para los residuos que constituyen el total de la quinasa.

También se desarrolló el análisis de la variante, en la cual el mejor modelo obtenido se determinó con el Phyre2 sin refinar, con un valor de QMEAN6 de 0,662 y un gráfico de Ramachandran con características de (95,8 %) en la región favorable, (2,8 %) en la región

**Tabla 1.** Estimaciones del modelo hipotético propuesto con métodos de caracterización estructural

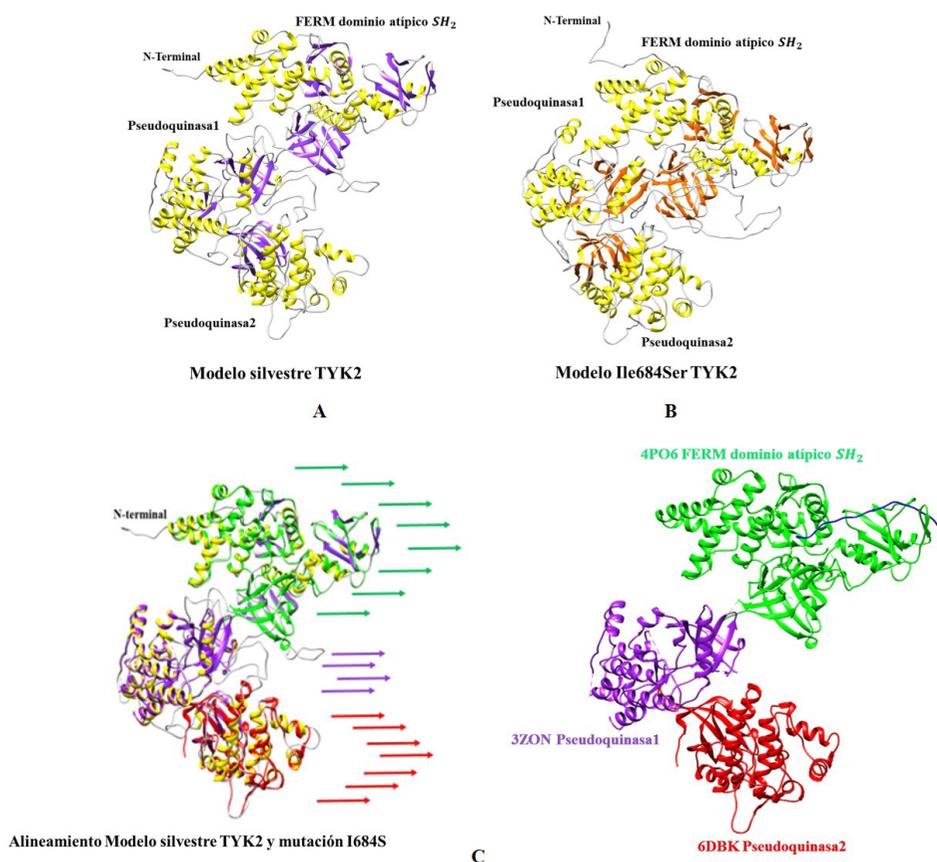
Modelo	Programa	QMEAN6	Gráficos de Ramachandran
TYK2 sin refinar	Phyre2	0,666	Región favorable: 1131 (95,4 %)
			Región permitida: 38 (3,2 %)
			Región prohibida: 16 (1,4 %)
TYK2 refinada	Modrefiner	0,664	Región favorable: 1123 (94,8 %)
			Región permitida: 45 (3,8 %)
			Región prohibida: 17 (1,4 %)
TYK2 refinada	FGMD	0,634	Región favorable: 1046 (88,3 %)
			Región permitida: 112 (9,5 %)
			Región prohibida: 27 (2,3 %)
Ile684Ser-TYK2 sin refinar	Phyre2	0,662	Región favorable: 1135 (95,8 %)
			Región permitida: 33 (2,8 %)
			Región prohibida: 17 (1,4 %)
Ile684Ser-TYK2 refinada	Modrefiner	0,661	Región favorable: 1131 (95,4 %)
			Región permitida: 38 (3,2 %)
			Región prohibida: 16 (1,4 %)
Ile684Ser-TYK2 refinada	FGMD	0,631	Región favorable: 1059 (89,4 %)
			Región permitida: 95 (8,0 %)
			Región prohibida: 31 (2,6 %)

permitida y (1,4 %) en la región prohibida, lo que generó un modelo de características muy parecidas en cuanto a la predicción estructural y la caracterización energética y estereoquímica. El predictor de estructura Phyre2 hace un refinamiento previo y las herramientas de refinación no mejoran los parámetros energéticos y estereoquímicos, por esa razón, se utilizan los modelos construidos por Phyre2 mejor calificados y sin refinamiento mediante los programas Modrefiner o FGMD.

El mejor modelo silvestre (**Figura1A**) y el mejor de la variante (**Figura1B**) se alinearon a nivel tridimensional para visualizar solo el modelo silvestre y compararlo con las plantillas cristalizadas (**Figura1C**).

Luego de su caracterización, los modelos obtenidos a nivel tridimensional se alinearon con las plantillas de las regiones cristalizadas, lo que mostró poca desviación estándar entre ellos y mantuvo la topología espacial, validando así el modelo artificial al unificarlo a partir del enhebrado para contemplar la estructura completa de la enzima TYK2. El mismo tratamiento se aplicó para la variante encontrada en el dominio pseudoquinasa 1, que también tuvo un muy buen alineamiento tridimensional de la estructura, como se muestra en el material suplementario (**Figura suplementaria 2**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1694/3341>).

Cuando se determina una variante en los exones que codifican para la enzima TYK2, se hace una comparación del modelo a nivel tridimensional, esto para detectar cambios en la topología con respecto a la variante y así entender cómo se afecta la funcionalidad de la enzima a través del algoritmo Needleman Wunschman para alineamientos globales entre ambos modelos (**Figura 2A**). Asimismo, se hizo el cálculo de los enlaces de hidrógeno en el programa teniendo en cuenta los parámetros de detección de enlaces de hidrógeno intramolecular e intermolecular a lo largo de la estructura, con una restricción de 2.7 Å en la distancia y 20° en la torsión angular; estos enlaces de hidrógeno se representan en la estructura con líneas rojas dentro del alineamiento de los modelos y del fragmento pseudoquinasa 1 donde se encontró la mutación relacionada Ile684Ser, como se muestra en la **figura 2B**.

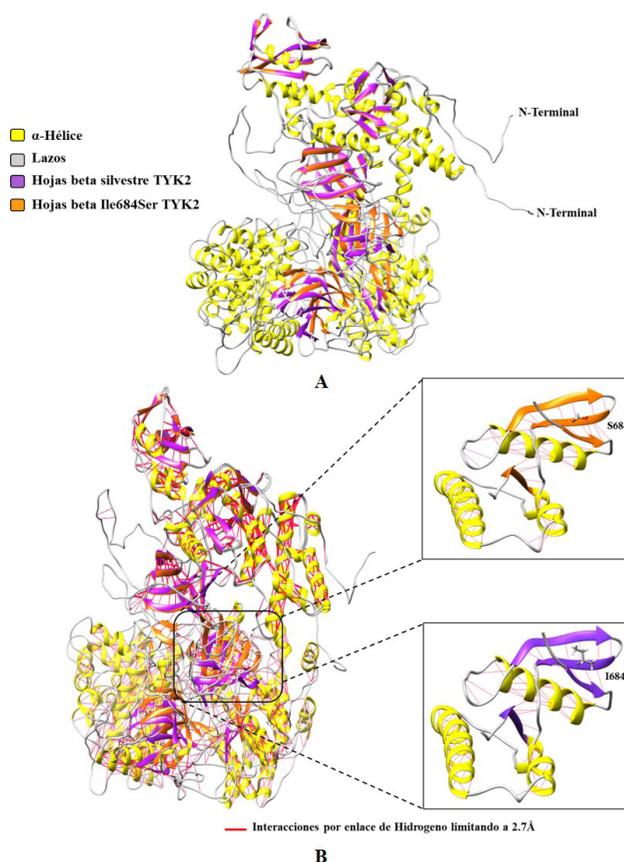


**Figura 1.** Representación estructural de los modelos obtenidos por predicción estructural. **A)** Modelo hipotético de TYK2 silvestre. **B)** Modelo hipotético de la variante Ile684Ser en la enzima TYK2. **C)** Alineamiento tridimensional con plantillas cristalizadas (Inferior izquierda); Plantillas cristalizadas (Inferior derecha)

En el análisis cuantitativo del alineamiento estructural global, se encontró que la RMSD del alineamiento por pares fue de 1.575 Å entre los dos modelos de predicción, el silvestre y el mutado. Al observar la mutación y encontrar las posibles diferencias funcionales, se analizó el resultado del cálculo del enlazamiento de hidrógeno para determinar cómo al centrarse en la región pseudoquinasa 1, donde se localiza la mutación para la posición Ile684Ser, se esperaba que el cambio de un grupo funcional hidrocarbonado alifático por un grupo hidroxilo modificara el perfil de enlazamiento de hidrógeno en las vecindades de la posición 684.

Los resultados permiten observar que la comparación cuantitativa del perfil de enlazamiento dentro de las láminas beta evidenció la aparición de dos enlaces de hidrógeno que no estaban en la enzima silvestre. Dichos cambios se deben a las interacciones entre los aminoácidos N683 y S684, los cuales conciben distancias de enlace entre el donador y los átomos donadores, como el nitrógeno y el oxígeno, de 4.886 Å y 4.580 Å, respectivamente (**Tabla suplementaria 1**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1694/3341>).

Fue posible corroborar la aparición de dos líneas de enlace de hidrógeno que produjeron un cambio topológico en la estructura secundaria del dominio pseudoquinasa 1, lo que podría generar cambios en los diagramas de superficie de distribución de cargas e, incluso, en la estructura electrónica, y permitiría a la subunidad pseudoquinasa 1 quedar más expuesta a una posible fosforilación o interacción con la subunidad FERM y el dominio atípico de SH<sub>2</sub>.



**Figura 2.** Alineamiento tridimensional de los modelos predichos. **A)** Alineamiento estructural global en representación en cintas. **B)** Cálculo de enlaces de hidrógeno (líneas en rojo) para los modelos en representación en cintas: la región pseudoquinasa 1 donde ocurre la mutación para ambos modelos se amplificó en los recuadros.

Con el fin de determinar los posibles cambios en las estructuras topológica y electrónica (**Figura suplementaria 3**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1694/3341>), se hizo luego una optimización geométrica a partir del método híbrido de QM-MM, utilizando una metodología semiempírica con la base Austin Model 1 (AM1) para el cálculo de la estructura optimizada, y un congelamiento a partir de una descripción de mecánica molecular para el resto de la región de la enzima, enfocando el cálculo de superficies y mapas de potencial electrostático de la región seleccionada silvestre y de la mutada Ile684Ser, con el fin de no comprometer recursos computacionales ni niveles de teoría muy altos. Además, con las estructuras optimizadas se hizo el cálculo de superficie para entender cómo ocurre el cambio del mapa de potencial electrostático y las regiones de alta o baja densidad electrónica. Los valores de potencial se muestran en la **figura 3A**.

Después de considerar los cambios en la estructura electrónica, se hizo la representación de los modelos silvestre y mutado de TYK2 en la superficie de densidad y la distribución de cargas para comparar los cambios relacionados con la variante Ile584Ser en lo que respecta a la topología de la enzima y el acceso a los diversos dominios funcionales. En la **figura suplementaria 4A**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1694/3341>, puede observarse que tanto la enzima *wild type* como la enzima mutada presentaron cambios en la tridimensionalidad de sus dominios pseudoquinasa 1.

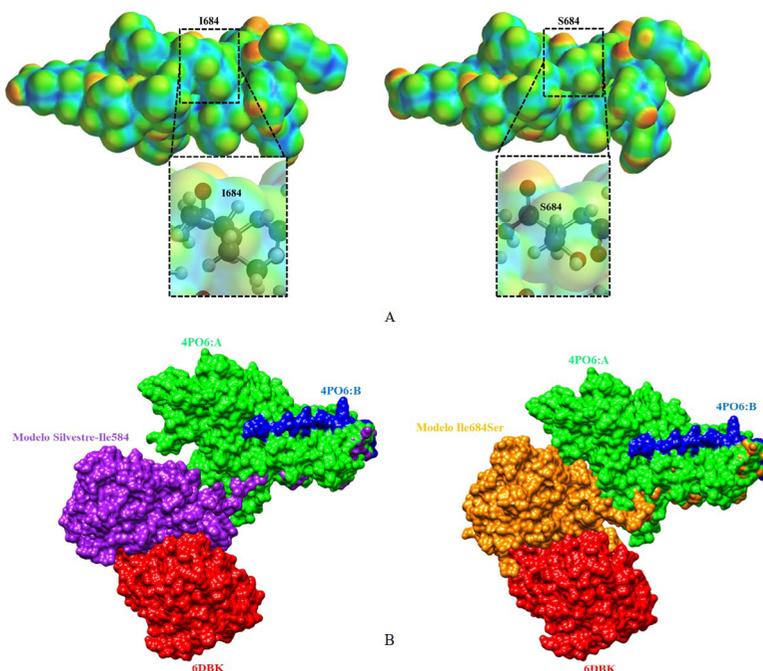
Ahora, con el fin de entender el posible acoplamiento entre el ión fosfato responsable de la fosforilación y la región en las cercanías de la posición 684, se hizo la simulación de la distribución de su densidad electrónica a partir de un método que contempla la correlación

electrónica como teoría de densidad funcional; este método genera información más precisa y sensible que el método semiempírico, pero tiene una limitante para sistemas poliatómicos y la infraestructura computacional, pues los tiempos de simulación son elevados. Se estudió también el ion en el mapa de potencial en forma de superficie sólida y transparente, como se muestra en la **figura suplementaria 4B**, <https://www.raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/1694/3341>.

Se hizo el acoplamiento del ion fosfato y el fragmento de estructura de la pseudoquinasa 1 y se encontró una mejor interacción entre el ion fosfato  $\text{PO}_3^{4-}$  y el aminoácido serina en la posición 684, lo que podría suponer una interacción entre ion y dipolo con el dipolo del grupo hidroxilo, mientras en la región pseudoquinasa 1 *wild type* se dio una posible interacción con isoleucina por dispersión de London, desfavoreciendo el acoplamiento y la plausible fosforilación, como se observa en la **figura 3B**.

Los resultados obtenidos permitieron constatar la existencia de un efecto en la estructura electrónica (**Figura 3A**), lo que lleva a inferir que las láminas beta anti-paralelas externas quedan expuestas a su superficie. La mutación favorece que la distribución electrónica en el grupo hidroxilo genere mayor exposición para una posible interacción con alguna quinasa, permitiendo su fosforilación o una eventual interacción como la que ocurre con el dominio FERM y el atípico  $\text{SH}_2$ .

Con la simulación se obtuvieron los valores energéticos de la optimización y se observó que la estructura nativa tuvo un valor de  $-2764\text{ k J/mol}$  y la mutación Ile684Ser en la región adyacente a la posición 684 uno de  $-2982,48\text{ k J/mol}$ , lo que evidenció que la mutación generó mayor estabilidad, por lo que su valor fue de menor energía que el de la silvestre. En el análisis superficial con el mapa de potencial electrostático, el grupo funcional isoleucina en la posición 684 de la enzima TYK2 silvestre no presentó potencial, lo que se explica por su naturaleza hidrocarbonada, pero cuando la mutación se produjo por la vía del aminoácido serina, esta presentó un momento dipolar neto establecido por la diferencia de electronegatividad entre el oxígeno y el carbono al que está enlazado, lo



**Figura3.** Diagramas de superficie para la estructura electrónica de la enzima silvestre y mutada Ile684Ser. **A)** Mapa de potencial electrostático para la vecindad de la región 684 en la pseudoquinasa 1 (izquierda) y para la mutación Ile684Ser (derecha). **B)** Acoplamiento de TYK2 *wild type* con el ion  $\text{PO}_4^{3-}$  (izquierda) y TYK2 Ile684Ser con el ion  $\text{PO}_4^{3-}$  (derecha)

que produjo un aumento de densidad electrónica localizado en el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo. Al cuantificar las propiedades de superficie se logró obtener un valor del volumen de distribución de carga de  $465.65 \text{ \AA}^3$  y un área superficial electrónica de  $94.27 \text{ \AA}^2$ . Al analizar los resultados de la superficie, también se pudo evidenciar un efecto de bloqueo por impedimento estérico dada la cadena hidrocarbonada presente, que en la mutación presenta menos bloqueo y una mayor porción de acceso a la región electrónica disponible para reaccionar como una fosforilación plausible.

Con las herramientas bioinformáticas del programa Netphos 3.1, se calculó la fosforilación para la enzima silvestre y para la mutada. Se encontró que la posición 684 de la silvestre no presentaba ninguna posibilidad de fosforilación, pero al sufrir la mutación en Ser684, la región pseudoquinasa 1 quedó sujeta a una fosforilación según el orden de probabilidad por acción de las quinasas, con un valor normalizado de (0,455) GSK3, (0,447) CaM-II, (0,439) CK-II y (0,431) DNAPK. Teniendo en cuenta los valores que no superaron el umbral de 0,5, fueron cuatro los puntos que se acercaron a superar el umbral. Al evaluar la enzima silvestre en esa posición no hubo una respuesta importante en cuanto a los valores de las quinasas, como se muestra en el recuadro de la **figura suplementaria 5**, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1694/3341>.

Esto evidencia una posible hiperactivación de la enzima que puede desencadenar la respuesta patológica debido a la posible fosforilación favorecida por la formación del aducto con el grupo hidroxilo del aminoácido serina (Ser684). En la **figura suplementaria 4**, <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1694/3341> se resumen los cambios estructurales encontrados: la mutación produjo una alteración en las distribuciones de carga y un efecto sobre el dominio FERM y el atípico de  $\text{SH}_2$ , evidenciados en los cambios en el dominio pseudoquinasa 1 y en aquellos ocurridos en la superficie de densidad, que podrían afectar la función enzimática de la TYK2.

En la literatura no se encontraron reportes experimentales que confirmen la fosforilación de esta posición para la enzima TYK2, pero sí se sabe que la inhibición de esta enzima favorece el tratamiento contra la inflamación en la psoriasis, dado que es mediadora de la inflamación en la producción de  $\text{IFN-}\gamma$ , IL-17 e IL-23. Por ello se hace una propuesta de simulación computacional como mecanismo de activación desregulada de la señalización de la enzima TYK2 a partir de una autofosforilación, lo que hasta el momento no se ha hecho a nivel experimental, por lo que este modelo explica su hiperactivación (**Ghoreschi et al.**, 2021; **Zhi Li et al.**, 2013; **Min et al.**, 2015).

## Conclusión

En este estudio estructural y funcional de nivel teórico del modelamiento molecular puede concluirse que con un predictor estructural este permitió unificar los dominios pseudoquinasa y FERM a partir de su ligando utilizando la metodología de enhebrado, así como reconstruir las regiones faltantes en el dominio pseudoquinasa 1 con la metodología *ab initio* para el dominio completo. Este puede ser un modelo preliminar construido computacionalmente para los fragmentos resueltos experimentalmente que podría usarse en un análisis más profundo como el de acoplamientos moleculares. Desde el punto de vista de la simulación molecular, se puede relacionar no solo un efecto topológico en el cambio del patrón de enlazamiento por el enlace de hidrogeno para la mutación I684S comparada con la TYK2 silvestre dentro de la estructura secundaria de láminas beta antiparalelas, sino también cambios en la estructura electrónica que favorecen anclajes de quinasas que podrían activar vías de transducción diferentes al metabolismo normal y ofrecer una respuesta distinta al manejo de la psoriasis. Este modelo hipotético es un acercamiento a la explicación funcional en el marco de los estudios poblacionales en los que se asocia la variante Ile684Ser con la respuesta y desarrollo de la enfermedad.

## Información suplementaria

Ver información suplementaria en <https://www.raccefyfyn.co/index.php/raccefyfyn/article/view/1694/3341>

## Agradecimientos y financiación

AS-O fue financiado por la beca de Colciencias “Francisco José de Caldas” para doctorados nacionales en Colombia (FP44842-124-2017, número 23411). Agradecemos a Novartis su apoyo al proyecto y a su publicación y al profesor Gabriel de Jesús Bedoya (Q.E.P.D), por su gran aporte a la genética humana y médica en el contexto colombiano actual.

## Contribución de los autores

YAM y AS-O trabajaron por igual en la ejecución de los análisis y en la recolección de la información, además construyeron el manuscrito. MV, AVL, PAM, CAN, EU, SJ, EV y GB contribuyeron en la revisión crítica del manuscrito y la orientación de la investigación.

## Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Referencias

- 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., ... Stockinger, H.** (2012). ExPASy: SIB bioinformatics resource portal. *Nucleic Acids Research*, *40*(W1), 597-603. <https://doi.org/10.1093/nar/gks400>
- Benkert, P., Tosatto, S. C. E., Schomburg, D.** (2008). QMEAN: A comprehensive scoring function for model quality assessment. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, *71*(1), 261-277. <https://doi.org/10.1002/prot.21715>
- Berman, H. M., Kleywegt, G. J., Nakamura, H., Markley, J. L.** (2012). The protein data bank at 40: Reflecting on the past to prepare for the future. *Structure*, *20*(3), 391-396. <https://doi.org/10.1016/j.str.2012.01.010>
- Blom, N., Sicheritz-Pontén, T., Gupta, R., Gammeltoft, S., Brunak, S.** (2004). Prediction of post-translational glycosylation and phosphorylation of proteins from the amino acid sequence. *Proteomics*, *4*(6), 1633-1649. <https://doi.org/10.1002/pmic.200300771>
- Boehncke, W.-H. & Schön, M. P.** (2015). Psoriasis. *The Lancet*, *386*(9997), 983-994. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61909-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61909-7)
- Cano, L., Soto-Ospina, A., Araque, P., Caro-Gómez, M.A.** (2021). Diffusion Mechanism Modeling of Metformin in Human Organic Cationic Amino Acid Transporter one and Functional Impact of S189L, R206C, and G401S Mutation. *Frontiers in Pharmacology*, *11*, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.587590>
- Cardona-Pemberthy, V., Rendón, M., Beltrán, J. C., Soto-Ospina, A., Muñoz-Gomez, A., Araque-Marín, P., Corredor, M., Bedoya, G., Cardona-Castro, N.** (2018). Genetic variants, structural, and functional changes of Myelin Protein Zero and Mannose-Binding Lectin 2 protein involved in immune response and its allelic transmission in families of patients with leprosy in Colombia. *Infection, Genetics and Evolution*, *61*(March), 215-223. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.04.002>
- Carter, M., Jemth, A. S., Hagenkort, A., Page, B. D. G., Gustafsson, R., Griese, J. J., Gad, H., Valerie, N. C. K., Desroses, M., Boström, J., Warpman Berglund, U., Helleday, T., Stenmark, P.** (2015). Crystal structure, biochemical and cellular activities demonstrate separate functions of MTH1 and MTH2. *Nature Communications*, *6*, 4-13. <https://doi.org/10.1038/ncomms8871>
- Chandran, V.** (2013). The Genetics of Psoriasis and Psoriatic Arthritis. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, *44*(2), 149-156. <https://doi.org/10.1007/s12016-012-8303-5>
- Crystallography and Bioinformatics Group.** (2017). *Rampage: Ramachandran plot*. <http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php>
- Dewar, M.J., Zoebisch, E.G., Healy, E.F., Stewart, J. P.** (1993). AM1: A Quantum Mechanical Molecular Model. *J. Am. Chem. Soc.*, *49*(June), 3903-3909.
- Elkins, J.M., Wang, J., Krojer, T., Savitsky, P., Chalk, R., Daga, N., Salah, E., Berridge, G., Picaud, S., von Delft, F., Bountra, C., Edwards, A., Knapp, S.** (2013). *Human TYK2 pseudokinase domain bound to a kinase inhibitor*. Protein Data Bank Europe. <https://doi.org/10.2210/pdb3ZON/pdb>

- Ellinghaus, D., Jostins, L., Spain, S. L., Cortes, A., Bethune, J., Han, B., Park, Y. R., Raychaudhuri, S., Pouget, J. G., Hübenthal, M., Folseraas, T., Wang, Y., Esko, T., Metspalu, A., Westra, H.-J., Franke, L., Pers, T. H., Weersma, R. K., Collij, V., ... Franke, A. (2016). Analysis of five chronic inflammatory diseases identifies 27 new associations and highlights disease-specific patterns at shared loci. *Nature Genetics*, 48(5), 510. <https://doi.org/10.1038/NG.3528>
- Enerbäck, C., Sandin, C., Lambert, S., Zawistowski, M., Stuart, P. E., Verma, D., Tsoi, L. C., Nair, R. P., Johnston, A., Elder, J.T. (2018). The psoriasis-protective TYK2 1684S variant impairs IL-12 stimulated pSTAT4 response in skin-homing CD4+ and CD8+ memory T-cells. *Scientific Reports*, 8(1), 7043. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25282-2>
- Farber, E.M. & Nall, L. (1994). Psoriasis in the tropics. Epidemiologic, genetic, clinical, and therapeutic aspects. *Dermatologic Clinics*, 12(4), 805-816.
- Fensome, A., Ambler, C. M., Arnold, E., Banker, M. E., Brown, M. F., Chrencik, J., Clark, J. D., Dowty, M. E., Efremov, I. V., Flick, A., Gerstenberger, B. S., Gopalsamy, A., Hayward, M. M., Hegen, M., Hollingshead, B. D., Jussif, J., Knafels, J. D., Limburg, D. C., Lin, D., ... Zhang, L. (2018). Dual Inhibition of TYK2 and JAK1 for the Treatment of Autoimmune Diseases: Discovery of ((S)-2,2-Difluorocyclopropyl)((1 R,5 S)-3-(2-((1-methyl-1 H-pyrazol-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-3,8-diazabicyclo[3.2.1]octan-8-yl) methanone (PF-06700841). *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(19), 8597-8612. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00917>
- Foresman, J. & Frisch, E. (1996). *Exploring chemistry with electronic structure methods*, Gaussian Inc. (ed.); Second edition. Gaussian Inc.
- Freeman, A. K., Linowski, G. J., Brady, C., Lind, L., VanVeldhuisen, P., Singer, G., Lebwahl, M. (2003). Tacrolimus ointment for the treatment of psoriasis on the face and intertriginous areas. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48(4), 564-568. <https://doi.org/10.1067/mjd.2003.169>
- Ghoreschi, K., Augustin, M., Baraliakos, X., Krönke, G., Schneider, M., Schreiber, S., Schulze-Koops, H., ZeiBbig, S., Thaçi, D. (2021). TYK2 inhibition and its potential in the treatment of chronic inflammatory immune diseases. *JDDG - Journal of the German Society of Dermatology*. <https://doi.org/10.1111/ddg.14585>
- Griffiths, C.E.M. (2003). The immunological basis of psoriasis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 17 Suppl 2, 1-5.
- Grillo, I.B., Urquiza-Carvalho, G. A., Bacheга, J.F.R., Rocha, G.B. (2020). Elucidating Enzymatic Catalysis Using Fast Quantum Chemical Descriptors. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 60(2), 578-591. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00860>
- Grjibovski, A., Olsen, A., Magnus, P., Harris, J. (2007). Psoriasis in Norwegian twins: contribution of genetic and environmental effects. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 21(10), 1337-1343. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2007.02268.x>
- Gudjonsson, J.E. & Elder, J.T. (2007). Psoriasis: epidemiology. *Clinics in Dermatology*, 25(6), 535-546. <https://doi.org/10.1016/J.CLINDERMATOL.2007.08.007>
- Guex, N. & Peitsch, M.C. (1997). SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis*, 18(15), 2714-2723. <https://doi.org/10.1002/elps.1150181505>
- Kelley, L.A., Mezulis, S., Yates, C., Wass, M., Sternberg, M. (2015). The Phyre2 web portal for protein modelling, prediction, and analysis. *Nature Protocols*, 10(6), 845-858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015-053>
- Kelley, L.A. & Sternberg, M.J.E. (2009). Protein structure prediction on the Web: a case study using the Phyre server. *Nature Protocols*, 4(3), 363-371. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2009.2>
- Kisiel, B., Kisiel, K., Szymański, K., Mackiewicz, W., Bialo-Wó Jcicka, E., Uczniak, S., Fogtman, A., Iwanicka-Nowicka, R., Koblowska, M., Kossowska, H., Placha, G., Sykulski, M., Bachta, A., Tlustochowicz, W., Ploski, R., Kaszuba, A. (2017). The association between 38 previously reported polymorphisms and psoriasis in a Polish population: High predicative accuracy of a genetic risk score combining 16 loci. *PLoS ONE* 12(6): e0179348. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179348>
- Kurd, S.K. & Gelfand, J.M. (2009). The prevalence of previously diagnosed and undiagnosed psoriasis in US adults: Results from NHANES 2003-2004. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 60(2), 218-224. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2008.09.022>
- Langley, R.G. & Ellis, C.N. (2004). Evaluating psoriasis with psoriasis area and severity index, psoriasis global assessment, and lattice system physician's global assessment. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 51(4), 563-569.

- Lee, Y.-A., Rüschemdorf, F., Windemuth, C., Schmitt-Egenolf, M., Stadelmann, A., Nürnberg, G., Ständer, M., Wienker, T.F., Reis, A., Traupe, H. (2000). Genomewide Scan in German Families Reveals Evidence for a Novel Psoriasis-Susceptibility Locus on Chromosome 19p13. *The American Journal of Human Genetics*, 67(4), 1020-1024. <https://doi.org/10.1086/303075>
- Li, Z., Gakovic, M., Ragimbeau, J., Eloranta, M.-L., Ronnblom, L., Michel, F., Pellegrini, S. (2013). Two Rare Disease-Associated Tyk2 Variants Are Catalytically Impaired but Signaling Competent. *The Journal of Immunology*, 190(5), 2335-2344. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203118>
- Li, Zhi, Gakovic, M., Ragimbeau, J., Eloranta, M.-L., Rönblom, L., Michel, F., Pellegrini, S. (2013). Two Rare Disease-Associated Tyk2 Variants Are Catalytically Impaired but Signaling Competent. *The Journal of Immunology*, 190(5), 2335-2344. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203118>
- Lønning, A. S., Skov, L., Skytthe, A., Kyvik, K.O., Pedersen, O.B., Thomsen, S.F. (2013). Heritability of psoriasis in a large twin sample. *British Journal of Dermatology*, 169(2), 412-416. <https://doi.org/10.1111/bjd.12375>
- Lønning, A., Skov, L., Duffy, D., Skytthe, A., Kyvik, K., Pedersen, O., Thomsen, S. (2016). Genetic Factors Explain Variation in the Age at Onset of Psoriasis: A Population-based Twin Study. *Acta Dermato Venereologica*, 96(1), 35-38. <https://doi.org/10.2340/00015555-2171>
- López-Rivera, J.J., Rodríguez-Salazar, L., Soto-Ospina, A., Estrada-Serrato, C., Serrano, D., Chaparro-Solano, H.M., Londoño, O., Rueda, P.A., Ardila, G., Villegas-Lanau, A., Godoy-Corredor, M., Cuartas, M., Vélez, J. I., Vidal, O.M., Isaza-Ruget, M.A., Arcos-Burgos, M. (2022). Structural Protein Effects Underpinning Cognitive Developmental Delay of the PURA p.Phe233del Mutation Modelled by Artificial Intelligence and the Hybrid Quantum Mechanics–Molecular Mechanics Framework. *Brain Sciences*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/brainsci12070871>
- Luger, T.A. & Loser, K. (2018). Novel insights into the pathogenesis of psoriasis. *Clinical Immunology*, 186, 43-45. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2017.07.014>
- Mahil, S.K., Capon, F., Barker, J.N. (2015). Genetics of Psoriasis. *Dermatologic Clinics*, 33(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/J.DET.2014.09.001>
- Maniatis, S.E.F.T. (1989). Genetics of Psoriasis and Pharmacogenetics of Biological Drugs. In *Autoimmune Diseases* (2nd ed., Vol. 2013). <https://doi.org/10.1155/2013/613086>
- Min, X., Ungureanu, D., Maxwell, S., Hammarén, H., Thibault, S., Hillert, E. K., Ayres, M., Greenfield, B., Eksterowicz, J., Gabel, C., Walker, N., Silvennoinen, O., Wang, Z. (2015). Structural and functional characterization of the JH2 pseudokinase domain of JAK family tyrosine kinase 2 (TYK2). *Journal of Biological Chemistry*, 290(45), 27261-27270. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.672048>
- Nititham, J., Gupta, R., Zeng, X., Hartogensis, W., Nixon, D. F., Deeks, S.G., Hecht, F.M., Liao, W. (2017). Psoriasis risk SNPs and their association with HIV-1 control. *Human Immunology*, 78(2), 179. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2016.10.018>
- Peng, C., Wang, J., Yu, Y., Wang, G., Chen, Z., Xu, Z., Cai, T., Shao, Q., Shi, J., Zhu, W. (2019). Improving the accuracy of predicting protein-ligand binding-free energy with semiempirical quantum chemistry charge. *Future Medicinal Chemistry*, 11(4), 303-321. <https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0207>
- Petterson, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Couch, G.S., Greenblatt, D.M., Meng, E.C., Ferrin, T.E. (2004). UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- Prieto-Pérez, R., Solano-López, G., Cabaleiro, T., Román, M., Ochoa, D., Talegón, M., Baniandrés, O., López-Estebanz, J. L., Cueva, P. de la, Daudén, E., Abad-Santos, F. (2015). Polymorphisms Associated with Age at Onset in Patients with Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis. *Journal of Immunology Research*, 2015, Article ID 101879, 8 pages. <https://doi.org/10.1155/2015/101879>
- Rahman, P. & Elder, J.T. (2005). Genetic epidemiology of psoriasis and psoriatic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 64(suppl 2), ii37-ii39.
- Soto-Ospina, A., Araque Marín, P., Bedoya, G. D. J., Villegas Lanau, A. (2021a). Structural Predictive Model of Presenilin-2 Protein and Analysis of Structural Effects of Familial Alzheimer's Disease Mutations. *Biochemistry Research International*, 2021, Article ID 9542038, 20 pages. <https://doi.org/10.1155/2021/9542038>

- Soto-Ospina, A., Araque Marín, P., Bedoya, G., Sepulveda-Falla, D., Villegas Lanau, A.** (2021b). 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>
- Strange, A., Capon, F., Spencer, C.C.A., Knight, J., Weale, M. E., Allen, M. H., Barton, A., Band, G., Bellenguez, C., Bergboer, J. G. M., Blackwell, J. M., Bramon, E., Bumpstead, S. J., Casas, J. P., Cork, M. J., Corvin, A., Deloukas, P., Diltney, A., Duncanson, A., ... Trembath, R.C.** (2010). A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nature Genetics*, 42(11), 985-990. <https://doi.org/10.1038/ng.694>
- Tejada-Moreno, J.A., Villegas-Lanau, A., Madrigal-Zapata, L., Baena-Pineda, A. Y., Vélez-Hernández, J., Campo-Nieto, O., Soto-Ospina, A., Araque-Marín, P., Rishishwar, L., Norris, E. T., Chande, A. T., Jordan, I. K., Berrío, G.B.** (2022). Mutations in SORL1 and MTHFDL1 possibly contribute to the development of Alzheimer's disease in a multigenerational Colombian Family. *PLoS ONE*, 17(7 July), 1-28. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269955>
- Wallweber, H.J.A., Tam, C., Franke, Y., Starovasnik, M.A., Lupardus, P. J.** (2014). Structural basis of recognition of interferon- $\alpha$  receptor by tyrosine kinase 2. *Nature Structural and Molecular Biology*, 21(5), 443-448. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2807>
- Wavefunction.** (1991). *Spartan 20*<sup>1</sup>. Wavefunction. [https://www.wavefun.com/corporate/more\\_spartan.html](https://www.wavefun.com/corporate/more_spartan.html)
- Xu, D. & Zhang, Y.** (2011). Improving the physical realism and structural accuracy of protein models by a two-step atomic-level energy minimization. *Biophysical Journal*, 101(10), 2525-2534. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.10.024>
- Zhang, J., Liang, Y., Zhang, Y.** (2011). Atomic-level protein structure refinement using fragment-guided molecular dynamics conformation sampling. *Structure*, 19(12), 1784-1795. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.09.022>
- Zhao, Y., Soh, T. S., Zheng, J., Chan, K. W. K., Phoo, W. W., Lee, C. C., Tay, M. Y. F., Swaminathan, K., Cornvik, T. C., Lim, S. P., Shi, P. Y., Lescar, J., Vasudevan, S. G., Luo, D.** (2015). A Crystal Structure of the Dengue Virus NS5 Protein Reveals a Novel Interdomain Interface Essential for Protein Flexibility and Virus Replication. *PLoS Pathogens*, 11(3), 1-27. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004682>