

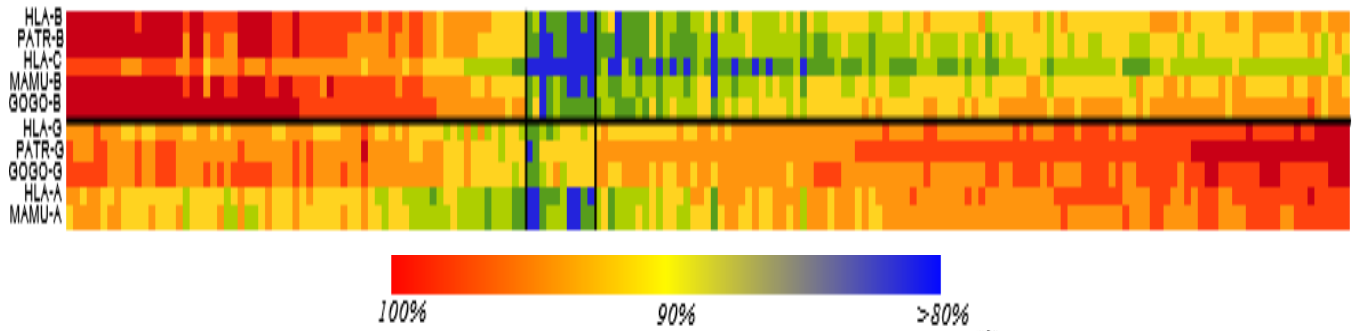
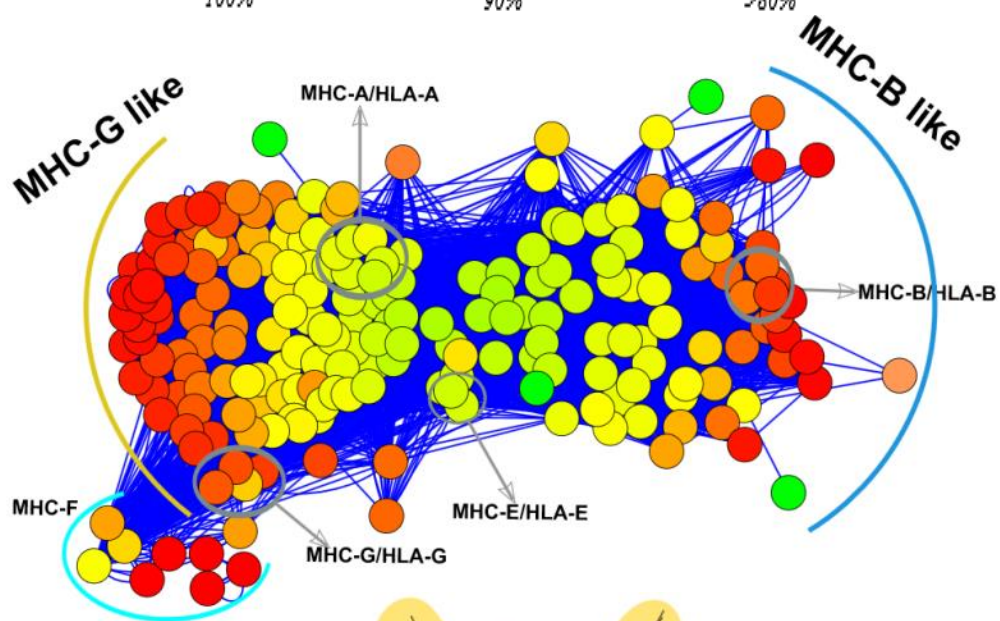
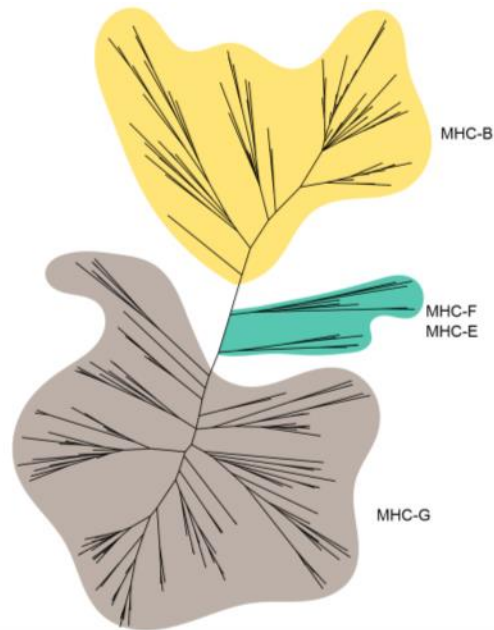
## ***2. Los platirrininos transcriben genes MHC-G-like, -B y -E.***

---

Los estudios de genes del MHC-I transcritos en platirrininos han mostrado que la mayoría son *MHC-G-like*, mientras que tan sólo unos 4 transcritos se han reportado como similares a *MHC-B*. Recientemente se buscó identificar transcritos relacionados a *MHC-B* en la especie *Callithrix jacchus* con primers basados en las secuencias genómicas reportadas [3], sin embargo no se obtuvo ningún resultado positivo [12]. En esta sección se muestran los resultados de la secuenciación de cDNAs del MHC-I de un individuo de cada una de las especies *Saguinus leucopus* (tití gris), *Aloutatta seniculus* (mono aullador), *Ateles hybridus* (marimonda), *Cebus albifrons* (maicero), *Cebus apela* (maicero cachón), *Cebus capuchinus* (maicero cariblanco) y *Lagothrix lagothricha* (churuco), especies para las cuales no existe información publicada. También se obtuvieron secuencias de cDNA de *Saimiri sciureus* (mono ardilla), *Saguinus oedipus* (tití cabeciblanco), *Ateles belzebuth* (mono araña), para las cuales existen secuencias previamente publicadas (Ver anexo 4).

### ***2.1 Los MHC-I expresados en Platyrrhini, son semejantes a MHC-G, -B y -E de Catarrhini.***

La secuenciación de cDNAs del MHC-I derivados de transcritos completos resultó en un total de 57 secuencias únicas en las 10 especies de platirrininos analizadas. Para clasificar las secuencias se emplearon tres aproximaciones diferentes: en la primera se generó un mapa de similaridad (Figura 11A) donde cada cuadro de color representa un evento independiente que refleja el porcentaje de identidad entre cada una de las secuencias de platirrininos (eje X) y una secuencia de referencia proveniente de catarrinos (eje Y). En la segunda aproximación, se generó una red de similaridad (Figura 11B) construida a partir de BLAST, donde los nodos representan cada una de las secuencias, y las aristas (la conexión entre dos nodos) un valor de e-value menor a e-165. Los nodos de la red se agruparon con el algoritmo “weighted-spring-embedded” en Cytoscape [47] que agrupa los nodos que compartan mayor número de aristas. El color indica el grado de similaridad entre grupos de nodos. Finalmente, la tercera aproximación involucró una clasificación filogenética (Figura 11C).

**A****B****C**

**Figura 11. Clasificación de los transcritos de MHC-I obtenidos.** Diferentes métodos para clasificar las secuencias en dos grupos. A) heatmap de similaridad basado en las distancias genéticas K2P. B) Red de similaridad basado en Blast. Los nodos encerrados en círculos grises corresponden a secuencias de *Catarrhini*. C) clasificación filogenética.

Estos 3 métodos clasificaron las secuencias de cDNA de las 10 especies de platirrininos en dos clases: secuencias relacionadas a *MHC-G-like* y secuencias relacionadas a *MHC-B*. Estas secuencias se muestran para cada especie en la Tabla 4. Ninguna de las secuencias obtenidas es 100% idéntica a las previamente publicadas, ni es idéntica entre especies. Todas las secuencias reportadas se consideran alelos nuevos.

**Tabla 4** Secuencias de cDNA obtenidas de las diferentes especies incluidas en el estudio.

Subfamilia	Especie	Alelo	MHC	Subfamilia	Especie	Nombre alelo	MHC	Subflia.	Especie	Nombre alelo	MHC	
ATELINAE	<i>Alouatta seniculus</i>	Alse-B0101	B	CEBINAE	<i>Cebus apella</i>	Ceap-G0102	G	CALLITHRICINAE	<i>Saguinus leucopus</i>	Sale-G0301	G	
		-B0102	B			-B0101	B			-G0302	G	
		-B02	B			-B0102	B			-G0303	G	
		-G0101	G			-G01	G			-G0304	G	
		-G0102	G			-G0301	G			-G0305	G	
	-G0302	G	-G0302			G	-G0303			G		
	<i>Ateles belzebuth</i>	Atbe-B0102	B		<i>Cebus capuchinus</i>	Ceca-B0101	B		<i>Saguinus oedipus</i>	Saoe-G0303	G	
		-B0103	B			-B0102	B			-G0301	G	
		-G0302	G			-E	E			-G0302	G	
		-B02	B			-G0101	G			-G0305	G	
	-E	E	-G0102		G	-G0304	G					
	-G0102	G	-G03		G	-G0304	G					
	<i>Ateles hybridus</i>	Athy-B01012	B		<i>Cebus albifrons</i>	Ceal-G03	G	CALLITHRICINAE	<i>Saguinus leucopus</i>	Sale-G0301	G	
		-B0102	B			-B01	B			-G0302	G	
		-B02	B			-B0102	B			-G0303	G	
		-G0102	G			-B03	B			-G0304	G	
		-G0302	G			-G01	G			-G0305	G	
	-G0301	G	-G0102		G	-G0304	G					
	<i>Lagothrix lagothrica</i>	Lala-G0301	G		<i>Saimiri sciureus</i>	Sasc-G06	G		CALLITHRICINAE	<i>Saguinus leucopus</i>	Sale-G0301	G
		-B01012	B			-B0101	B				-G0302	G
		-B0102	B			-B0102	B				-G0303	G
		-B02012	B			-B0201	B				-G0304	G
		-B02022	B			-B0202	B				-G0305	G
		-G0302	G			-G0102	B				-G0304	G
-G0302	G	-G0202	G	-G0304	G							

## **2.2 Duplicaciones y pérdidas en la evolución del MHC-G-like.**

Con los transcritos clasificados como *MHC-G-like*, se realizaron análisis filogenéticos con tres metodologías: Neighbour-joining, Maximum-Likelihood y análisis Bayesiano. Estas filogenias se realizaron con la secuencia de exones 4-8 para evitar el sesgo generado por la fuerte selección natural actuando sobre el sitio de unión al antígeno (exones 2 y 3). También se realizó una filogenia por análisis Bayesiano con los exones 1-8, empleando un modelo evolutivo para los exones 2 + 3 y otro modelo para los exones restantes. Las topologías obtenidas con las distintas metodologías no fueron exactamente iguales, pero conservaron algunos clados con valores de soporte estadístico aceptables.

En la filogenia de la Figura 12 se identifican 8 grupos de genes numerados en relación a los grupos obtenidos en la filogenia de secuencias genómicas de la Figura 8. Los grupos señalados tienen un buen soporte estadístico ( $pp > 0,5$  y  $bootstrap > 50$ ), sin embargo las relaciones entre dichos grupos no tienen un soporte estadístico aceptable.

El clado más cercano a las secuencias de *Catarrhini* es el linaje G-I, compuesto por secuencias genómicas de pseudogenes (ver sección anterior). En el linaje G-II se encuentran secuencias genómicas de pseudogenes de *S. boliviensis* y *C. jacchus*, y un clado hermano de 3 cDNAs de *Pithecia pithecia* (Pipi). El grupo G-III tiene secuencias de todos los géneros estudiados, excepto de miembros de la subfamilia *Callithricinae* (*C. jacchus*, *S. leucopus*, *S. oedipus* y *Leonthopitecus rosalia*), lo que sugiere que es un linaje ancestral que se perdió secundariamente en la subfamilia *Callitrichinae*. Dentro de este linaje se encuentran duplicaciones ancestrales como lo sugieren la secuencia genómica de *S. boliviensis* *Sabo-G2* y la secuencia de *Pithecia pithecia*, *Pipi-G03*.

El linaje G-IV observado en la filogenia de secuencias genómicas, se separa en 5 sublinajes (A-E) cuando se incluyen las secuencias de cDNA. El linaje G-IV-A contiene secuencias genómicas y de cDNA de *Saimiri sciureus*, secuencias de pseudogenes retroprocesados-1 (PS-1) y una secuencia de un pseudogen de *Callithrix jacchus*. El linaje G-IV-B tiene tres clados, uno de secuencias del pseudogen retroprocesado (PS-2), el segundo con secuencias genómicas y de cDNA del género *Saimiri*, y el tercero tiene secuencias del género *Aotus*. El linaje G-IV-C contiene las secuencias genómicas de *C.*



agrupa secuencias del género *Ateles*, incluyendo una de origen genómico (*Atge G3*), y secuencias del género *Alouatta*, ambos pertenecientes a la familia *Atelidae*. Finalmente, el linaje G-IV-E incluye únicamente secuencias de la subfamilia *Callithricinae*, observándose una organización género-específica.

La filogenia de los cDNAs de *MHC-G-like* confirma el modelo de evolución por nacimiento y muerte de genes, donde algunos loci ancestrales se han perdido en linajes completos, como el linaje G-III en *Callithricinae*. Dicha dinámica de pérdida de genes también puede presentarse por pseudogenización, como aquellos de los linajes G-IV-A y B, donde parece existir un locus que se expresa en géneros de la misma subfamilia *Cebinae* como *Saimiri* y *Aotus*, pero en *Callithricinae* es un pseudogen retroprocesado con los grupos PS1 y PS2. Los genes *MHC-G-like* se han diversificado rápidamente por duplicación génica, lo cual se evidencia por la alta prevalencia de agrupaciones género-específica. Sin embargo hay linajes ancestrales como el G-III que parecen haberse originado justo después de la divergencia entre platirrininos y catarrinos, pero que se perdieron en la subfamilia *Callithricinae*.

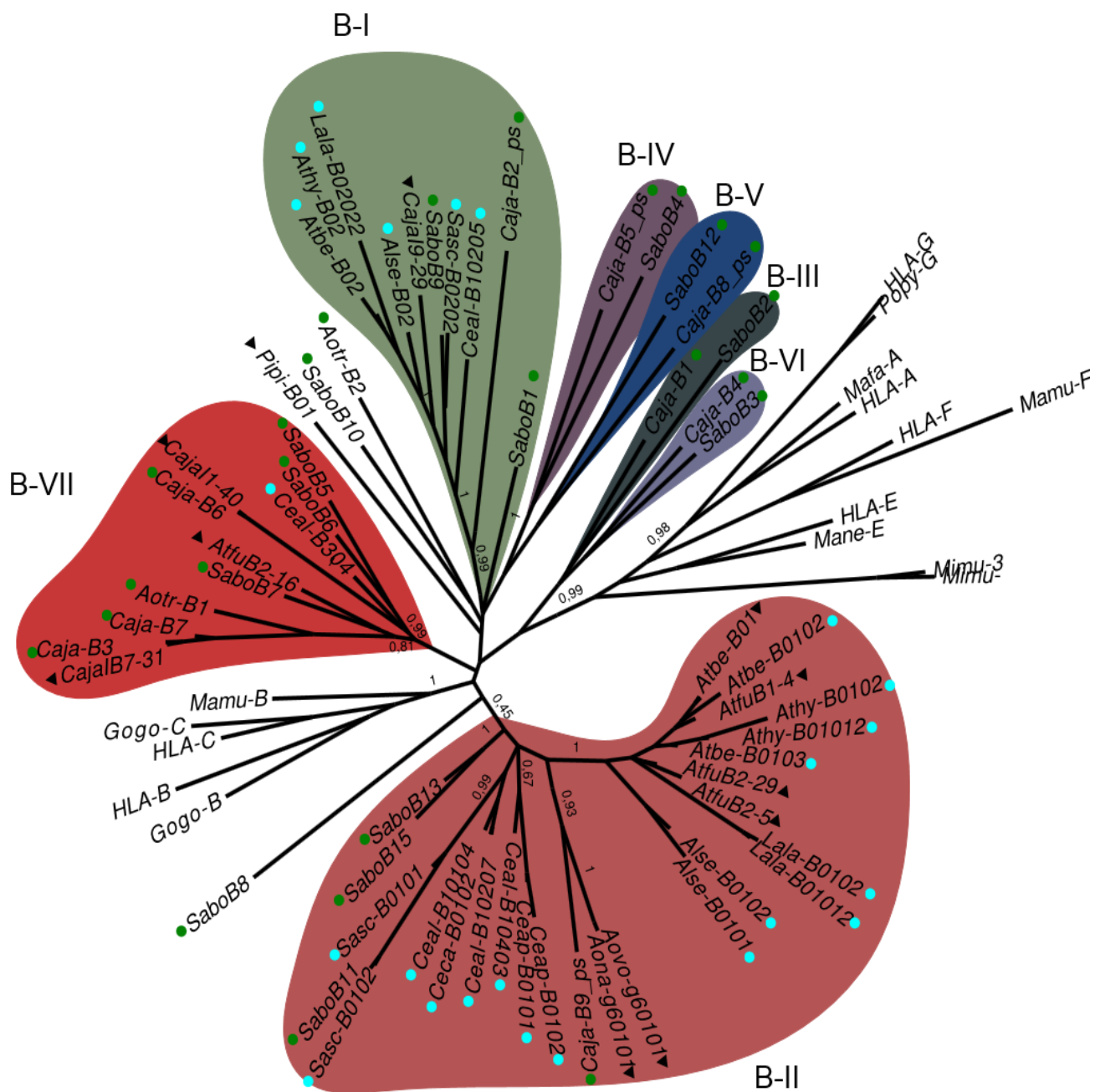
### **2.3 Evolución del MHC-B en platirrininos.**

En estudios previos se habían identificado algunos transcritos de *MHC-B* en platirrininos. Sin embargo, esta es la primera vez que se hace un estudio sistemático del locus en este grupo de primates. Con las secuencias genómicas y de cDNA obtenidas de las distintas especies, se realizó una filogenia usando las metodologías de Neighbour Joining, Maximum-Likelihood y análisis Bayesiano.

La topología obtenida mediante análisis Bayesiano se muestra en la Figura 13. Esta filogenia reproduce los linajes observados en la filogenia construida con secuencias genómicas (Figura 8) mostrando un buen soporte estadístico ( $pp > 0,5$  y  $bootstrap > 50$ ), aunque las relaciones entre los linajes no tienen buen soporte.

Únicamente en los linajes B-I, II y VII hay transcritos de *MHC-B*, aunque en los restantes linajes algunas secuencias parecen transcribir moléculas funcionales. Una observación llamativa en el análisis





**Figura 13. Relaciones filogenéticas de MHC-B-like.** Topología de Análisis bayesiano realizado con los exones 4-8 bajo el modelo K2P + I+G. Las secuencias marcadas con círculos verdes corresponden a secuencias de origen genómico, los círculos azules para secuencias de cDNA en este trabajo y los triángulos negros indican secuencias obtenidas de bases de datos. Los grupos sombreados y numerados están descritos en el texto. Se muestran los valores de probabilidad posterior en algunos grupos.

de los cDNAs de platirrininos es que no se obtuvo ningún transcrito de *MHC-B* en las especies de la subfamilia *Callithricinae*, aunque en las bases de datos existen algunos cDNAs de *MHC-B* en *C. jacchus*.

El linaje B-I incluye transcritos derivados de especies de las familias *Atelidae* y *Cebidae*. Este linaje tiene también las secuencias genómica *Sabo B9*, la cual se agrupa con un cDNA de *S. sciureus*, y *Caja B2*, el cual es un pseudogen. El linaje B-II es el grupo más grande de cDNAs y reúne secuencias de todas las especies evaluadas exceptuando miembros de la subfamilia *Callithricinae*, que contribuyen a este linaje solo con el pseudogen *Caja-B9*. En el linaje B-VII se hallaron cDNAs principalmente de *C. jacchus*, aunque también algunas *A. fusciceps* y *C. albifrons*. Este linaje incluye también secuencias genómicas de *C. jacchus*, las cuales se agrupan con los cDNAs de esta misma especie (Figura 8).

La distribución filogenética de los cDNAs de *MHC-B* en platirrininos sugiere un activo proceso de diversificación de esta región genómica mediante continuas duplicaciones génicas. Sin embargo, existe un clado ancestral que agrupa las secuencias de *MHC-B/C* de catarrinos con las de *MHC-B* de platirrininos. Este linaje ancestral carece de representantes funcionales de la subfamilia *Callithricinae*, estando únicamente el pseudogen *Caja- B9*.

#### ***2.4 Los diferentes linajes de MHC-I en Primates del Nuevo Mundo diversifican la región de unión al péptido por selección positiva.***

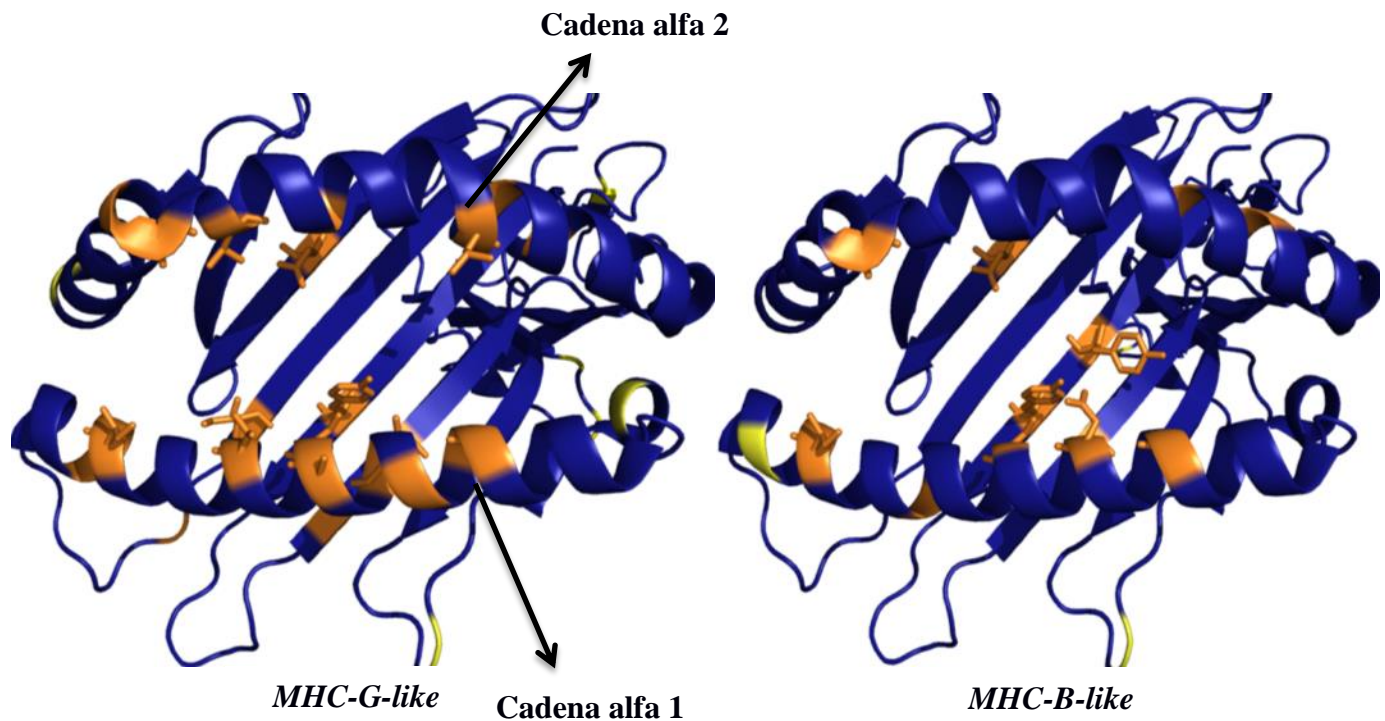
Para evaluar los mecanismos de diversificación de los genes *MHC-I* de *platirrininos*, se evaluó el efecto de selección natural en diferentes linajes de *MHC-I* tanto a nivel de secuencia completa (con el algoritmo PARRIS), como a nivel de codones individuales empleando diferentes algoritmos del servidor Datamonkey. El análisis de selección natural con las secuencias completas, se dividió en 3 partes: región de unión al péptido (PBR), exones 2 y 3 sin la región de unión al péptido (NO-PBR) y los exones restantes (Tabla 5). La mayoría de linajes presentan un número significativamente mayor de sustituciones nucleotídicas no-sinónimas (dN) que sustituciones sinónimas (dS) en la región del PBR. En el resto de regiones, estas diferencias no existen, indicando que los linajes de *MHC-G-like* y *-B* de



**Tabla 5.** Análisis de selección natural en los cDNAs de platirrinos

Linaje	Region	M1	M2	LRT	P-value
G-III	PBR	-835,8350	-831,2620	9,1448	0,0103
	NONPBR	-1605,9100	-1605,9100	0,0001	0,9999
	Exones 4-8	-1594,3300	-1594,3300	0,0009	0,9996
G-IV-A	PBR	-537,8720	-534,3240	7,3428	0,0489
	NONPBR	-1361,1567	-1360,8667	1,8924	0,3172
	Exones 4-8	-1272,5390	-1272,5390	0,0982	0,3230
G-IV-B	PBR	-604,9160	-600,3213	9,1448	0,0103
	NONPBR	-1328,9867	-1328,6967	0,0187	0,8231
	Exones 4-8	-1585,8290	-1585,8290	0,1892	0,8970
G-IV-C	PBR	-484,1985	-481,3442	9,1448	0,0103
	NONPBR	-1296,8167	-1296,5267	0,0093	0,0965
	Exones 4-8	-1638,0440	-1638,0440	0,0183	0,9872
G-IV-D	PBR	-625,9480	-615,8550	20,1867	4,13537e-05
	NONPBR	-1129,0100	-1128,1400	1,7314	0,4208
	Exones 4-8	-994,4620	-994,4670	-0,0083	1,0000
G-IV-E	PBR	-1077,2700	-1072,0100	10,5329	0,0052
	NONPBR	-1541,5700	-1541,5700	0,0001	0,9999
	Exones 4-8	-1698,7600	-1695,1100	7,2868	0,0262
B-I	PBR	-321,97	-321,97	3,43675e-05	0,045847
	NONPBR	-1086,43	-1086,42	0,00615532	0,996927
	Exones 4-8	-1058,38	-1058,09	0,565792	0,753598
B-II	PBR	-1280,78	-1276,49	8,5771	0,0137248
	NONPBR	-2234,44	-2234,44	0,00127574	0,999362
	Exones 4-8	-1460,9	-1460,9	0,00816211	0,995927
B-VII	PBR	-568,103	-564,613	6,97934	0,0305109
	NONPBR	-1406,2	-1406,2	9,69339e-05	0,999952
	Exones 4-8	-1309,09	-1309,09	8,95221e-05	0,999955

Análisis realizado con el algoritmo PARRIS. Dividiendo la secuencia en las regiones de unión al péptido (PBR), exones 2 y 3 sin PBR y exones 4-8.



**Figura 14. Análisis de Selección de MHC-G-like y MHC-B-like por codones.** El análisis se realizó con 5 métodos . REL,SLAC,FEL, IFEL, MEME. Representación de las posiciones bajo selección diversificadora. \*  $p < 0,1$  o  $pp(REL) > 90$  \*\*  $p < 0,05$  o  $pp(REL) > 95$ . B) Las posiciones de color naranja representan posiciones del PBR bajo selección positiva. Residuos en amarillo son posiciones no pertenecientes al PBR que están bajo selección positiva.

platrinos se han diversificado por selección natural positiva, promoviendo la la variación en el PBR, y por lo tanto, la capacidad de unir una gran diversidad de péptidos.

El análisis de selección por codones se realizó con 5 metodologías diferentes que varían en cuanto a su sensibilidad para detectar posiciones bajo selección y en cuanto a la evaluación de cambios en dN y dS a lo largo de todo el árbol filogenético. Los análisis muestran que la mayoría de posiciones bajo selección positiva, hacen parte del sitio de unión al péptido (PBR), específicamente en residuos del PBR que forman los bolsillos de interacción con las posiciones 2 y 9 del péptido (Figura 14 y Anexo X). Existen también residuos bajo selección positiva que interactúan con los receptores de células NK tipo KIR y con el TcR de linfocitos CD8+. En las secuencias *MHC-G-like*, las posiciones bajo selección positiva tienden a localizarse hacia la cadena alfa-1 del PBR, las cuales interactúan tanto con

el TcR como con los péptidos. En las secuencias *MHC-B*, el número de posiciones bajo selección positiva es mucho menor que en secuencias *MHC-G-like*, probablemente debido a diferencias en el número de secuencias analizadas. De igual forma, también hay posiciones del PBR que no están asociadas a la unión del péptido como la posición 42, que se ubica en un loop de las láminas beta de la base de unión al péptido. El hecho de que esta posición esté siendo diversificada puede sugerir algún papel importante de interacción con otras moléculas.

En esta sección se ha descrito la expresión a nivel de cDNA, de los Genes MHC-I en Primates del Nuevo Mundo. Genes homólogos a MHC-G-Like se expresan en todas las especies de Platyrrhini sin embargo las relaciones de ortología de dichos genes entre las especies no es clara, sólo a niveles de subfamilia, género y especie es posible aclarar algunas de estas relaciones. De forma importante, también hemos demostrado la expresión de genes MHC-B en dos linajes presentes en todas las especies de Platyrrhini, exceptuando aquellas de la subfamilia *Callithricinae*, donde al parecer estos linajes de genes se encuentran pseudogenizados. Por ello es posible que se encuentren los demás linajes expresados a niveles muy bajos o teniendo restricción tejido-específica. Adicionalmente, diferentes linajes de genes han mostrado selección positiva en diversas posiciones que se encuentran en contacto con los posibles péptidos presentados. Esto sugiere que la diversidad de estos genes MHC-I puede estar ligada a su posible funcionalidad de presentación de antígenos e interacción con receptores de linfocitos.

### ***3. Polimorfismo de los genes MHC-B y MHC-G-like de Cebus albifrons.***

---

El polimorfismo de *MHC-G-like* se ha caracterizado extensamente en *S. oedipus*, *S. labiatus*, *C. jacchus* y en varias especies del género *Aotus* [10] [12] [35] [36], sin embargo no existen reportes sobre los niveles de polimorfismo de *MHC-B* en platirrinos. Para contribuir a un mejor entendimiento de la biología de este locus, se analizaron 12 individuos de la especie *Cebus albifrons* mediante secuenciación de cDNAs.

#### ***3.1 Caracterización de alelos en la especie Cebus albifrons***

Los individuos de *Cebus albifrons* que se analizaron pertenecen a dos poblaciones putativas que no están definidas por una región geográfica, sino por el Centro de Rescate donde se muestrearon. La población A tiene 5 individuos muestreados en Corponor (Norte de Santander), y la población B tiene 7 individuos muestreados en el Centro de Rescate CAM (Huila). En los 12 individuos se identificó un total de 51 cDNAs de *MHC-I*, la mayoría de ellos únicos de un solo individuo y solo el 11,7% (6 alelos) compartidos entre individuos (Figura 15). De aquellos alelos compartidos, 3 se encuentran únicamente en individuos de la población B (Ceal-B1:02:07, Ceal B3:03 y Ceal G2:01:05) mientras que los 3 restantes (Ceal-B1:01:04, Ceal-G1:01:01 y Ceal-G2:01:03) se encuentran en individuos de ambas poblaciones. El número de alelos varió de 3 a 7 por individuo, incluyendo *MHC-B-like* y *MHC-G-like* (Figura 15), indicando que hay al menos 4 loci de genes *MHC-I* en esta especie.

El porcentaje de similitud nucleotídica promedio de los alelos fue de 90% para toda la muestra, y de 92% y 87% para las poblaciones A y B, respectivamente. La menor distancia entre dos fue de 30 bp y la mayor distancia entre dos alelos fue de 175 bp (Ceal-G1:01:11 y Ceal-B3:03). Aunque existen características propias de cada una de las poblaciones no existe indicio de diferenciación de los genes *MHC-I* entre las dos poblaciones (valor de diferenciación = 0,0009).

		Alelo																						
		Ceal-B1:01:01	Ceal-B1:01:02	Ceal-B1:01:03	Ceal-B1:01:04	Ceal-B1:02:01	Ceal-B1:02:02	Ceal-B1:02:03	Ceal-B1:02:04	Ceal-B1:02:05	Ceal-B1:02:06	Ceal-B1:02:07	Ceal-B1:02:08	Ceal-B1:02:09	Ceal-B1:04:01	Ceal-B1:04:02	Ceal-B1:04:03	Ceal-B1:04:04	Ceal-B2:01:01	Ceal-B3:01	Ceal-B3:02	Ceal-B3:03	Ceal-B3:04	
A	1																							
	2																							
	3																							
	4																							
	5																							
B	6																							
	7																							
	8																							
	9																							
	10																							
	11																							
	12																							

		Alelo																	Total												
		Ceal-G1:01:01	Ceal-G1:01:02	Ceal-G1:01:03	Ceal-G1:01:04	Ceal-G1:01:05	Ceal-G1:01:06	Ceal-G1:01:07	Ceal-G1:01:08	Ceal-G1:01:09	Ceal-G1:01:10	Ceal-G1:02:01	Ceal-G1:02:02	Ceal-G1:02:03	Ceal-G1:02:04	Ceal-G1:02:05	Ceal-G1:02:06	Ceal-G1:03:01	Ceal-G1:03:02	Ceal-G1:03:03	Ceal-G1:03:04	Ceal-G1:03:05	Ceal-G1:03:06	Ceal-G2:01:01	Ceal-G2:01:02	Ceal-G2:01:03	Ceal-G2:01:04	Ceal-G2:01:05	Ceal-G2:01:06	Ceal-G2:01:07	
A	1																														5
	2																														4
	3																														5
	4																														6
	5																														6
B	6																														7
	7																														4
	8																														6
	9																														5
	10																														3
	11																														5
	12																														5

Figura 15. cDNAs encontrados en 12 individuos de *Cebus albifrons*. La población A tiene 5 individuos y la B tiene 7 individuos. Las cuadrículas sombreadas indican presencia de un alelo dado. En el panel superior se muestran los cDNAs de *MHC-B* y en el panel inferior los cDNAs de *MHC-G-like*.

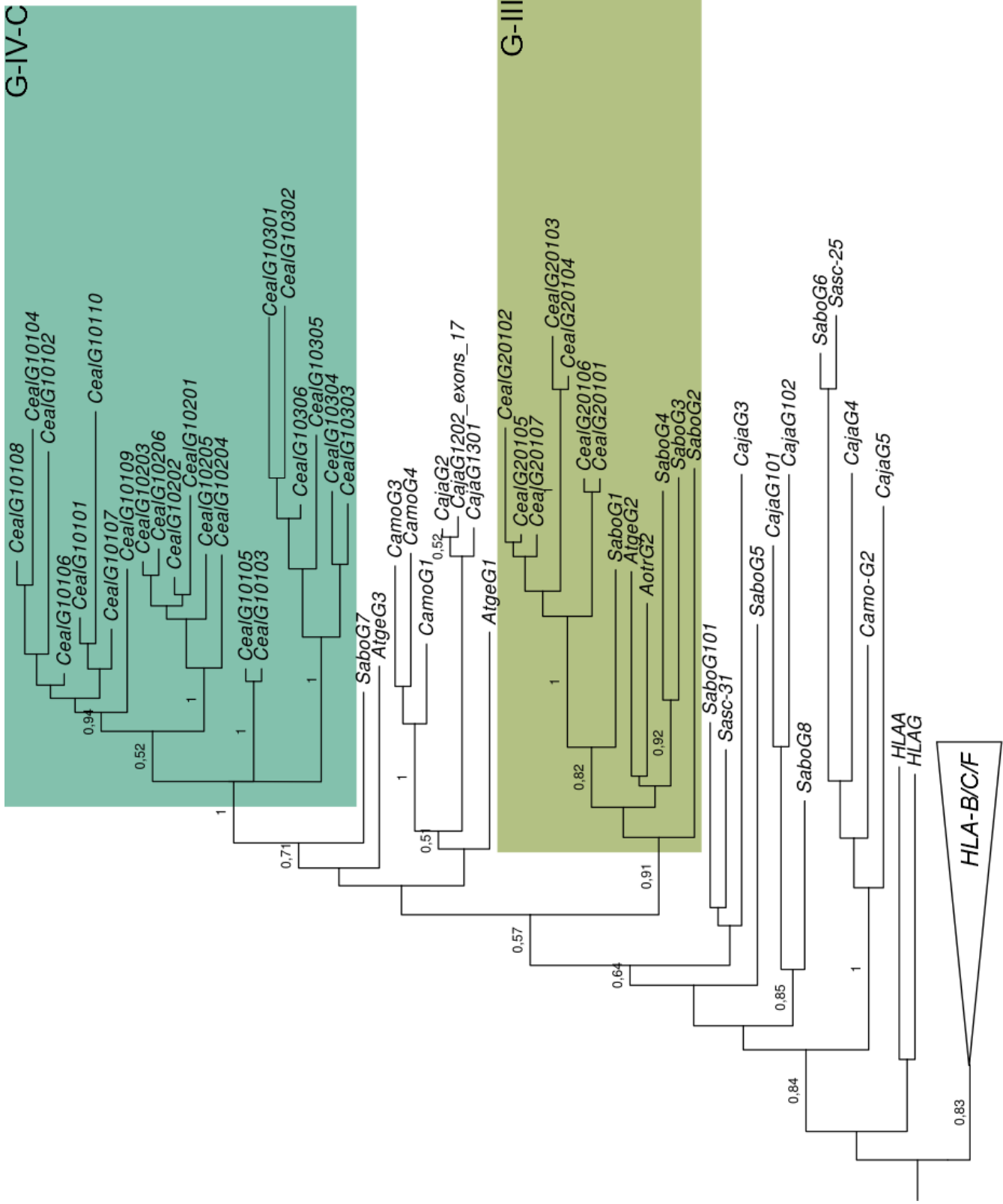
### **3.2 MHC-G-like y MHC-B tienen duplicaciones recientes en la especie *C. albifrons*.**

Las secuencias de cDNA obtenidas se usaron para hacer análisis filogenéticos basados en los exones 4-8 de *MHC-G-like* y *MHC-B*, por separado (Figura 16). La filogenia de los cDNAs de *MHC-G-like* mostró 2 grandes grupos, uno con secuencias similares al gen *Sabo-G1* perteneciente al linaje G-III y el otro grupo relacionado con la secuencia *Sabo-G7*, perteneciente al linaje G-IV-C (Figura 16A). El primer clado parece representar un sólo locus (*CealG2*) con 7 alelos en la muestra. Los alelos del segundo clado se distribuyen en 2 linajes, sugiriendo que provienen de dos loci (en el individuo 5 se obtuvieron 4 alelos distribuidos en este clado).

A excepción de la secuencia *Ceal-B20101*, los *MHC-B* de *C. albifrons* se encuentran distribuidos en los linajes B-II y B-VII. Los cDNAs del linaje B-II se distribuyen en dos subgrupos que pueden corresponder a dos loci diferentes (Figura 16B).

Esta dinámica sugiere entonces que los MHC-I expresados de *Cebus albifrons* se ubican en linajes de duplicación ancestral y de duplicación reciente.





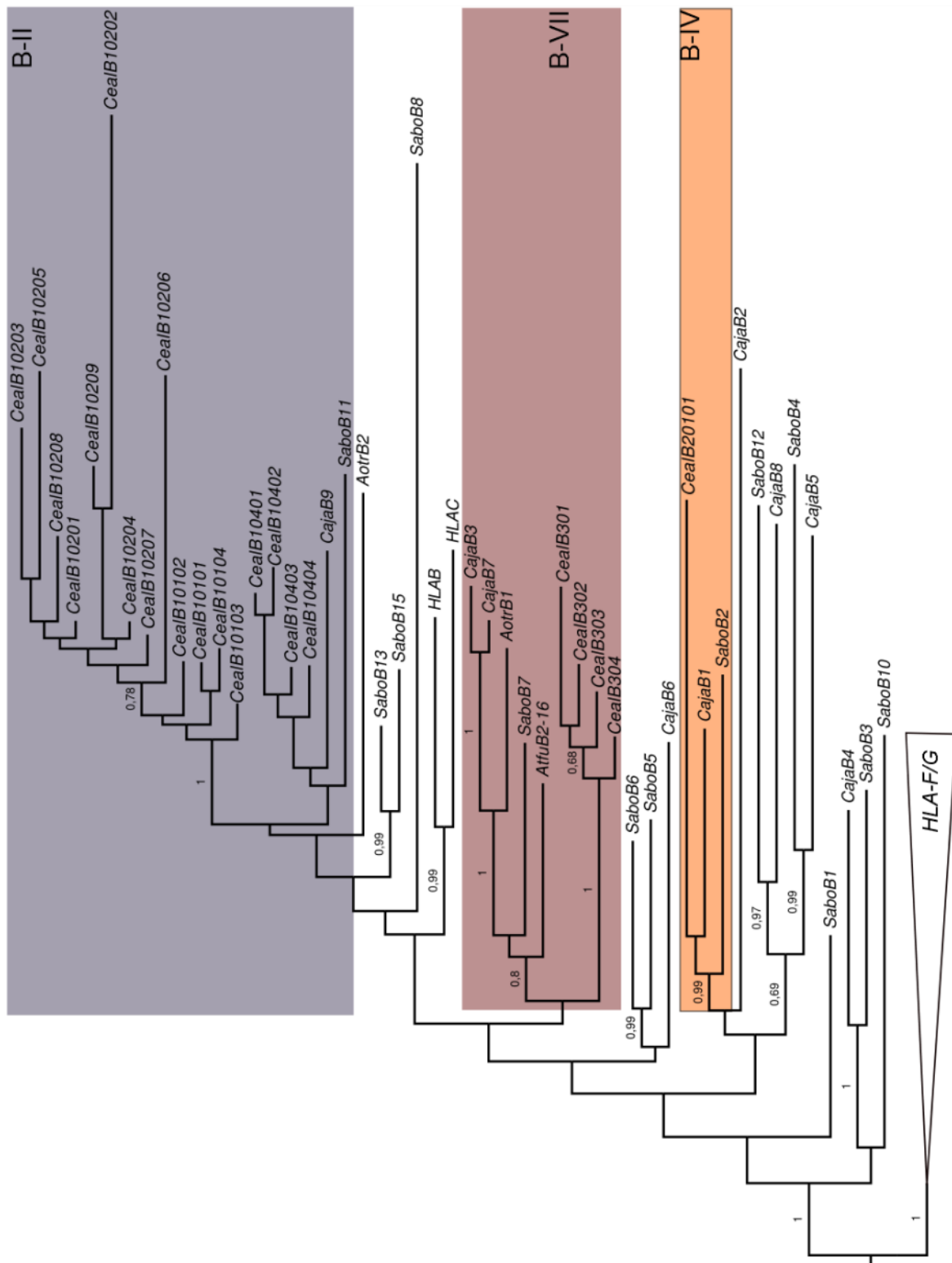


Figura 16. Filogenia de los cDNAs del MHC-I de *C. albifrons*. Topología del análisis Bayesiano usando los exones 4-8 bajo un modelo de sustitución K2P+I+G. A) *MHC-G-like*, B) *MHC-B*. Los clados sombreados corresponden a la Figura 8.

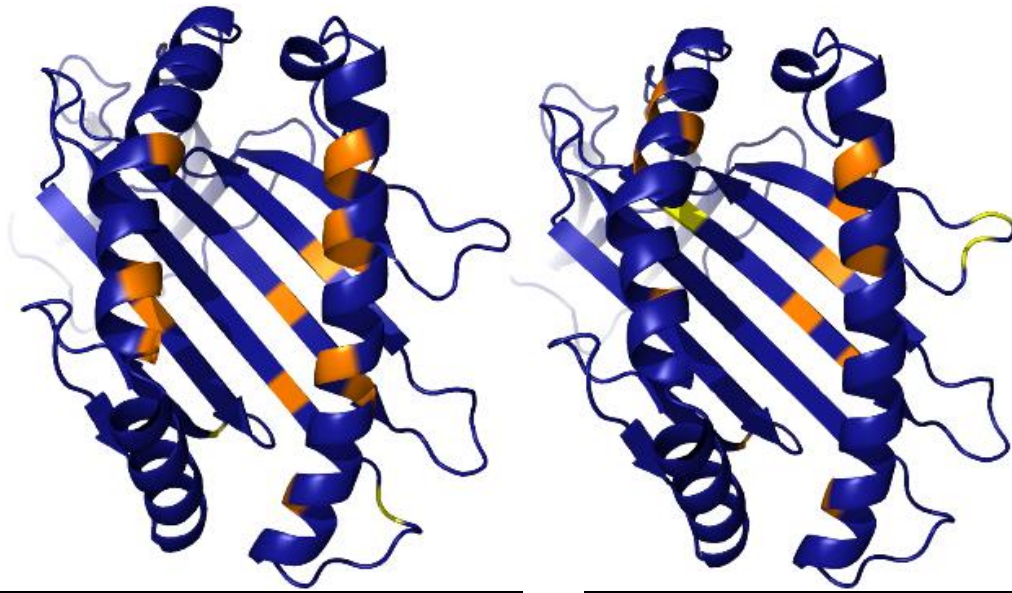
### 3.3. La selección natural positiva diversifica la región de unión al péptido en linajes ancestrales

Comparando los patrones evolutivos entre los diferentes grupos de de alelos, se evidencia que la región el PBR está siendo diversificado por selección natural (Tabla 6 y Figura 17). Los análisis de selección por codones identificaron 19 posiciones bajo selección positiva o diversificadora, la gran mayoría de las cuales se ubican en el PBR.

**Tabla 6.** Análisis de selección natural en los cDNAs de *C. albifrons*

Linaje	Region	M1	M2	LRT	P-value
G-III	<b>PBR</b>	<b>-515,8350</b>	<b>-511,2620</b>	<b>6,9183</b>	<b>0,0496</b>
	NONPBR	-1285,9100	-1285,9100	0,0001	0,9999
	Exones 4-8	-1274,3300	-1274,3300	0,0009	0,9996
G-IV-C	<b>PBR</b>	<b>-164,1985</b>	<b>-161,3442</b>	<b>4,1448</b>	<b>0,0365</b>
	NONPBR	-976,8167	-976,5267	0,0093	0,9655
	Exones 4-8	-1318,0440	-1318,0440	0,0183	0,9872
B-II	<b>PBR</b>	<b>-459,738</b>	<b>-459,38</b>	<b>0,299</b>	<b>0,0494</b>
	NONPBR	-1608,863	-1608,863	0,001	1
	Exones 4-8	-1034,3	-1034,265	0,001	1
B-VII	PBR	-294,16	-294,18	0,0295	0,908
	NONPBR	-314,97	-314,97	3,92384e-07	1
	Exones 4-8	642,52	642,52	2,09283E-07	0,062

Análisis realizado con el algoritmo PARRIS. Dividiendo la secuencia en las regiones de unión al péptido (PBR), exones 2 y 3 sin PBR y exones 4-8.



Linaje	Posición	SLAC p-value	FEL p-value	REL Bayes Factor	MEME p-Value	FUBAR p-value
G-III	11			*	**	
	62				*	**
	63			**		
	67		*		*	
	73	*			**	
	81			*	*	
	150	*		**		*
	163			**		
G-IV-C	24				**	*
	65	*		*	*	**
	70			**	*	**
	114			*	*	
	152			*	*	*

Linaje	Posición	SLAC p-value	FEL p-value	REL Bayes Factor	MEME p-Value	FUBAR p-value
B-II	45				**	
	67			**	*	*
	95			*	*	
	114		**		**	
	152				**	
B-VII	9				**	
	106			*	*	**
	260				**	

Figura 17. Análisis de selección natural del MHC-I de *C. albifrons*. A) Análisis de selección con el algoritmo PARRIS. B) El análisis por codones realizado con 5 métodos . REL,SLAC,FEL, IFEL, MEME. Representación de las posiciones bajo selección diversificadora. \*  $p < 0,1$  o  $pp(REL) > 90$  \*\*  $p < 0,05$  o  $pp(REL) > 95$ . Las posiciones de color naranja representan posiciones del PBR bajo selección positiva. Residuos en amarillo son posiciones no pertenecientes al PBR bajo selección.

Con el fin de indagar más sobre la naturaleza de las fuerzas evolutivas que han moldeado el MHC-I en *C. Albifrons*, las secuencias se clasificaron de acuerdo a sus perfiles de dN/dS mediante un análisis de “Evolutionary Fingerprinting” (EVF) [44]. Para este análisis se evaluaron todos los alelos de *MHC-G-like* del linaje IV-C y *MHC-B* del linaje II y se compararon con alelos humanos de los loci *HLA-A*, *-B*, y *-C* publicadas. En la figura 18 se observa el análisis de EVF mostrando que los diferentes loci están bajo presiones selectivas de diferente naturaleza, aunque en todos ellos la selección positiva promueve la diversificación del PBR. En la figura se observa que las secuencias de *MHC-B* de *C. albifrons* se clasifican en dos clases bajo selección positiva y dos clases bajo selección negativa, mientras que en *MHC-G-like* hay una clase bajo selección negativa, una bajo selección neutral y dos bajo selección positiva.

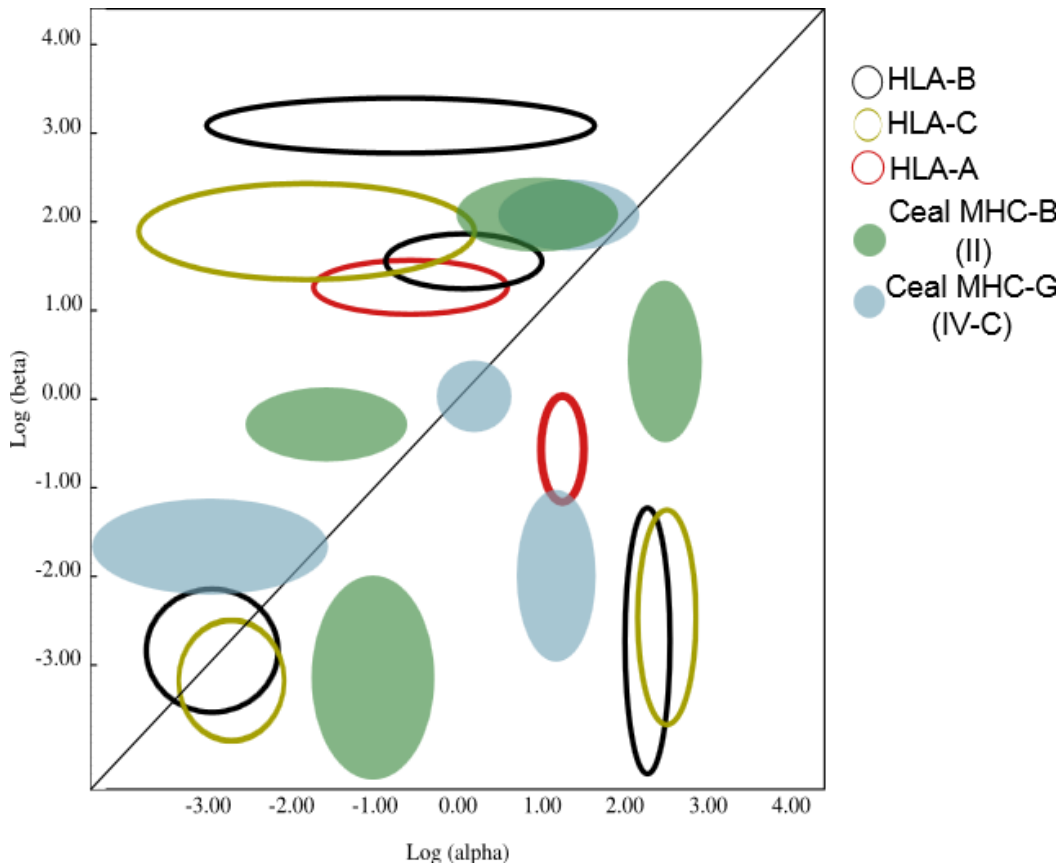


Figura 18. EVF (Evolutionary Fingerprinting) de MHC-G grupo específicos y locus ancestral. A) Loci género específicos de cada especie *Cebus albifrons*, *MHC-G-like* y *MHC-B* con un color diferente indicado. Se compara con secuencias de HLA.

### 3.4. Los alelos de *C. albifrons* también presentan recombinaciones como forma de generar polimorfismo.

Fenómenos de recombinación ocurren frecuentemente en el MHC-I. Incluso en plátirinos se ha observado recombinación interalélica en *S. oedipus* y en especies del género *Aotus* [10], [36], [48]. Un análisis de detección de alelos recombinantes en *C. albifrons* mostró recombinación entre alelos de un mismo locus pero también entre secuencias de *MHC-G-like* y MHC-B (Figura 19). Si bien es posible que exista recombinación, también existe la posibilidad de errores debido a convergencia y efectos de selección. Así como la aparición de artefactos resultantes de la amplificación con primers degenerados.

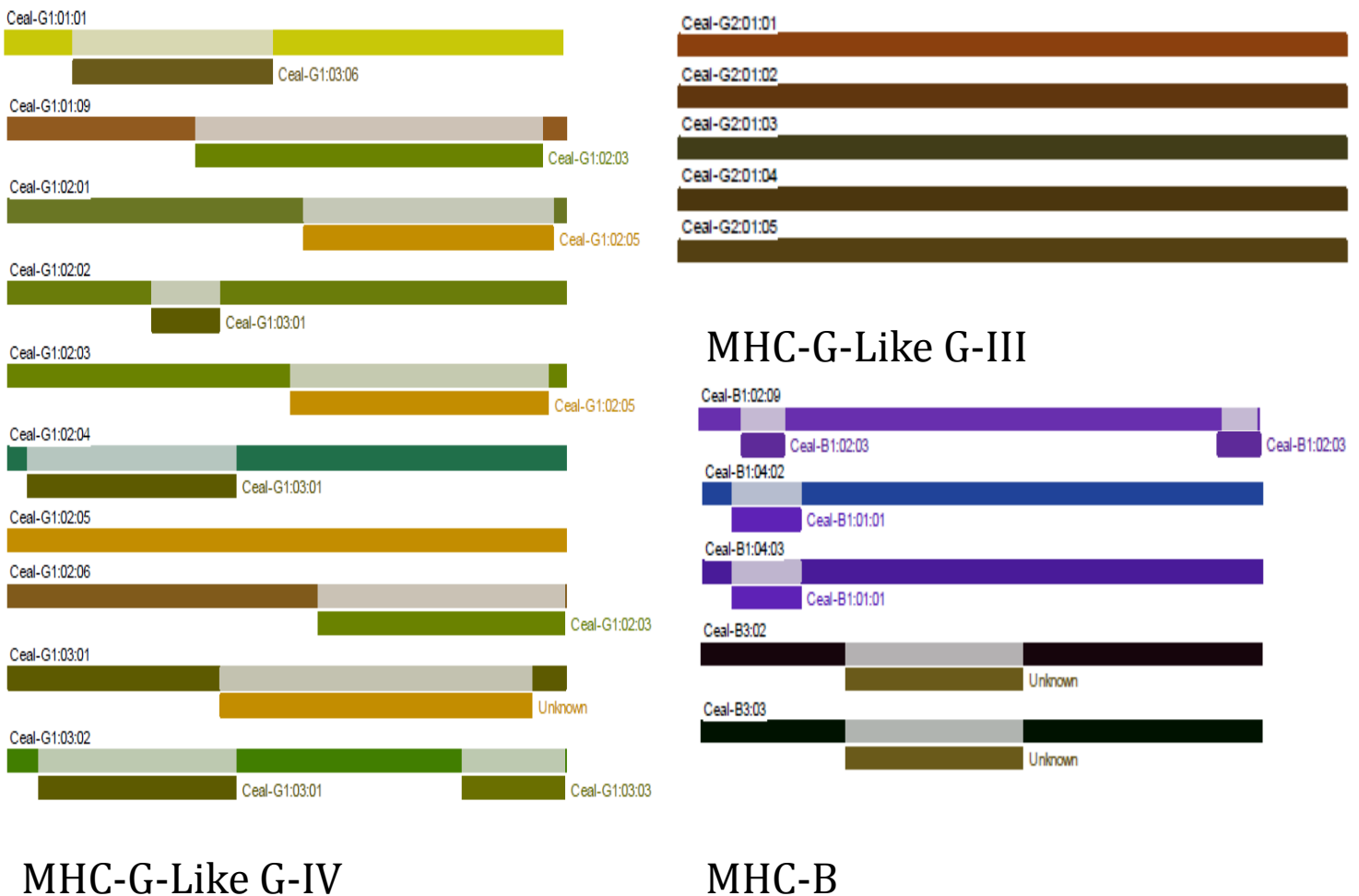


Figura 19. Recombinación en alelos de *C. albifrons*. Análisis realizado con el programa GENECONV con el software RDP4.



Si bien en la mayoría de alelos se presentan recombinaciones, en los loci ancestrales de *MHC-G-like* del linaje G-III, como Ceal-G2, existe muy baja frecuencia de recombinación. En linajes que muestran duplicaciones génicas especie-específicas la frecuencia de recombinantes es mayor, probablemente por la mayor similitud entre las secuencias (Figura 19). Adicionalmente en estos genes los sitios de recombinación son variables. Por su parte en los MHC-B la frecuencia de recombinación es mucho menor y dichas recombinaciones se dan en lugares fijos.

De esta sección es posible deducir que los mecanismos de diversidad encontrados pueden parecerse a algunos reportados previamente en otras especies. En especial especies relacionadas pueden tener mecanismos de diversidad similares como *C. albifrons* y *A. nancymae*. A medida que nos alejamos en la escala filogenética estos mecanismos varían hasta encontrar entonces mecanismos y características diferentes como el caso de las especies del género *Saguinus* donde el polimorfismo es bastante bajo. Cabe anotar también que el MHC-B el cual se reporta por primera vez en este trabajo es también polimórfico y con varios mecanismos para generar diversidad.

	Especie	Polimórfico	Mecanismos de diversidad			REF
			Selección + en región de péptido	Recombinación	Duplicación	
MHC-G-like	<i>Cebus albifrons</i>	✓ 27 (12)	✓	✓	✓ Reciente y ancestral	Este trabajo
	<i>Aotus nancymae</i>	✓ 17 (6)	✓	✓	✓ Reciente y ancestral	Cárdenas et al, 2005
	<i>Callithrix jachuus</i>	✓ 24(9)	✓	N.D.	✓ Reciente	vander Wiel et al, 2013
	<i>Saguinus oedipus</i>	☒ 11 (79)	✓	✓	✓ Reciente	Watkins et al 1991
	<i>Saguinus labiatus</i>	☒ 8 (8)	✓	N.D.	✓ Reciente	Mee, et al 2011
MHC-B	<i>Cebus albifrons</i>	✓ 22 (12)	✓	✓	✓ Reciente y ancestral	Este trabajo

## ***4. Algunas predicciones relacionadas con el MHC-I en Primates del Nuevo Mundo.***

---

En este trabajo se abordarán dos fenómenos con los cuales se puede realizar predicciones: interacción entre MHC-I y receptores de células NK tipo KIR, donde se plantea una metodología que puede definir pares de interacción tanto en humanos como en otros primates. El segundo fenómeno es la presentación de péptidos en el MHC-I, en donde se emplea un programa que predice los posibles péptidos que se unen a determinado MHC-I.

### ***4.1 Predicción de Interacción MHC-KIR***

La predicción de interacción de proteínas es un campo de intenso estudio en informática, para lo cual existen muchas metodologías, incluyendo docking, fusión de genes, perfil filogenético, e información mutua. Sin embargo, en el caso de las interacciones MHC-I:KIR los métodos mencionados no logran definir la especificidad, incluso algunos de ellos no predicen correctamente la interacción como se ha dilucidado mediante estudios de cristalografía [49]. La falta de aplicabilidad de estas metodologías en parte se debe a que en estas interacciones la complementariedad electrostática y energética es más importante que la complementariedad geométrica. De igual forma, las características y las diferentes presiones evolutivas a las que están sujetas estas dos proteínas impiden realizar una predicción con base a su secuencia y perfil filogenético o información mutua.

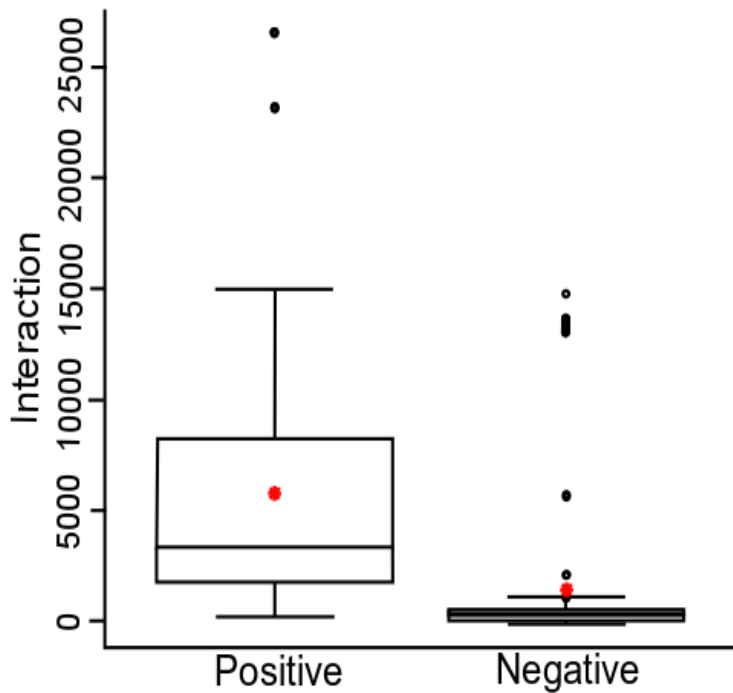
Para tener una mejor predicción de pares interactuantes de MHC-KIR, se emplearon datos estructurales y termodinámicos que ayudan a especificar características de la interacción entre estas dos proteínas. En el contexto inmune es importante definir los pares interactuantes, debido a la implicación que tiene esta relación en fenómenos de respuesta inmune innata, trasplantes y de forma relevante en la interfaz utero-embionaria en la reproducción [16].

El método que se propone toma en cuenta dos factores importantes en la interacción de proteínas:

puentes de hidrógeno y Energía de desolvatación. El primero es el factor que influye en muchas interacciones de proteínas, mientras que el segundo, evalúa el cambio de la energía libre de las proteínas cuando están libres o cuando están interactuando, pues en algunas proteínas la energía libre es mucho más favorable durante la interacción que cuando está en su estado libre. Recientemente se emplearon otros factores termodinámicos y de docking para el análisis de la interacción KIR3DL1/HLA-B en humanos que confirman lo previamente conocido de la especificidad de dicho KIR por proteínas de MHC-I con epítopes del tipo Bw4 [50][51].

Los parametros termodinamicos se analizaron con el programa FASTCONTACT que calcula la energía libre de desolvatación (kcal/mol) de un potencial par interactuante, mientras que el número de puentes de hidrógeno se predice con el programa pymol. El índice que se emplea para determinar una interacción viene de evaluar la mayor cantidad de puentes de hidrógeno posibles entre un MHC-I y un KIR, pues a mayor cantidad de posibles puentes de hidrógeno, más estable será la interacción entre dicho par. Así mismo, entre menor sea la energía libre, se favorecerán efectos hidrofóbicos que establecen la interacción, debido al desplazamiento de agua. Por esa razón se postula la razón  $I = H/dG$  como un índice adecuado de predicción interactiva. Para darle mayor valor a los cambios que se presentan en la energía de desolvatación, se emplea entonces su logaritmo natural que entre más negativo, es decir entre más afinidad, se vuelve más pequeño, y al estar en el denominador, hará mucho más grande el valor. Para eliminar las unidades, entonces el número de puentes de hidrógeno es multiplicado por el valor promedio de energía de un puente de hidrógeno que es aproximadamente 5 kcal/mol.

Así, el índice se transforma a  $I = h * EB / \ln (dG)$ , donde h es el número de puentes de hidrógeno predichos, EB la energía promedio de un puente de hidrógeno y dG energía libre de desolvatación. Para validar el método propuesto, se hicieron pruebas de validación con experimentos de laboratorio publicados en diferentes artículos. En los artículos se emplean diferentes metodologías para evaluar la interacción entre MHC-I - KIR como constante de afinidad (kd), lisis celular, escaneo de alaninas y rayos X. Con base en la información de interacción, se empleó el índice para pares que estuvieran interactuando (Positivos) y pares que no interactúan (Negativos). Los valores del índice se agruparon como se observa en la Figura 20. En general se observa que las interacciones positivas tienen un rango



MHC	KIR	Interaction value
LalaB0101	KIR300274	8924,24
LalaB0201	KIR300225	9988,59
LalaB0201	KIR300289	23209,35
LalaB0201	KIR300026	26615,22
LalaB0101	KIR300026	8925,24
AtbeG03	Atbe170197	17583,45
AtbeB0103	Atbe170197	8641,20
AtbeB0103	Atbe170185	8239,22
AtbeG03	Atbe170185	17353,70
AtbeG03	Atbe170178	17415,06
SaboB13	SABO KIR4	8516,88
SaboB1	SABO KIR1	9343,22
SaboB10	SABO KIR7	9390,79
SaboB2	SABO KIR9	2975,49

Fig 20 Validación de la predicción de interacción y aplicación a pares de *Platyrrhini*. A) Boxplot mostrando los rangos de los índices de interacción. B) Potenciales interactuantes en Primates del Nuevo Mundo.

mucho más grande que las negativos. El valor del índice más alto en un par de interacción positiva es de alrededor de 27000 y el más bajo de alrededor de 500. Por otro lado, el rango de interacción de los negativos es de 14000 como su mayor par interactuante y de 100 como el menor par de interacción. No obstante esta gran variación, el 90% de los valores positivos se encuentra entre 2000 y 8000, mientras que de los negativos, el 85% se agrupan en valores bajos de interacción (<1000). No obstante el 15% restante se ubica en valores altos, lo que representa posibles falsos positivos así como también existen interacciones positivas calificadas con valores de interacción bajos.

Para aplicar este método a los datos de platirrininos, se realizó la predicción en 3 especies: *Ateles belzebuth* (Atbe), *Lagothrix lagotricha* (Lala) y *Saimiri boliviensis* (Sabo). Como MHC-I se emplearon las secuencias descritas en este trabajo mientras que las secuencias de KIR de *L. lagotricha* y *A. belzebuth* provienen de trabajos previos en nuestro laboratorio[52], mientras que para *S. boliviensis* provienen de bases de datos. Para definir una interacción positiva que se pueda emplear en las secuencias de platirrininos, se estableció un umbral que pertenece al promedio de los experimentos

positivos de validación incluidos en la validación (punto rojo en la fig 20A). Aplicando este método se pueden postular varios MHC-I interactuantes por KIR. En algunos casos hay más de un MHC que puede estar interactuando con un mismo KIR (KIR300274 de Lala y KIR170197 de Atbe) y en otros no fue posible identificar un par interactuante como el caso de SABO\_KIR9. (Fig 20B)

En muchas de las interacciones los puentes de Hidrógeno involucraban las mismas posiciones que en humanos, lo que sugiere que estas posiciones están bajo algún efecto de selección natural. Por esta razón, en algunos casos la ubicación de los puentes de Hidrógeno semeja a la interacción que se da en MHC-KIR de humanos, pero en algunos, como en Sabo B1 (Figura 21), existían cambios que podrían cambiar de posición dichos puentes de hidrógeno.

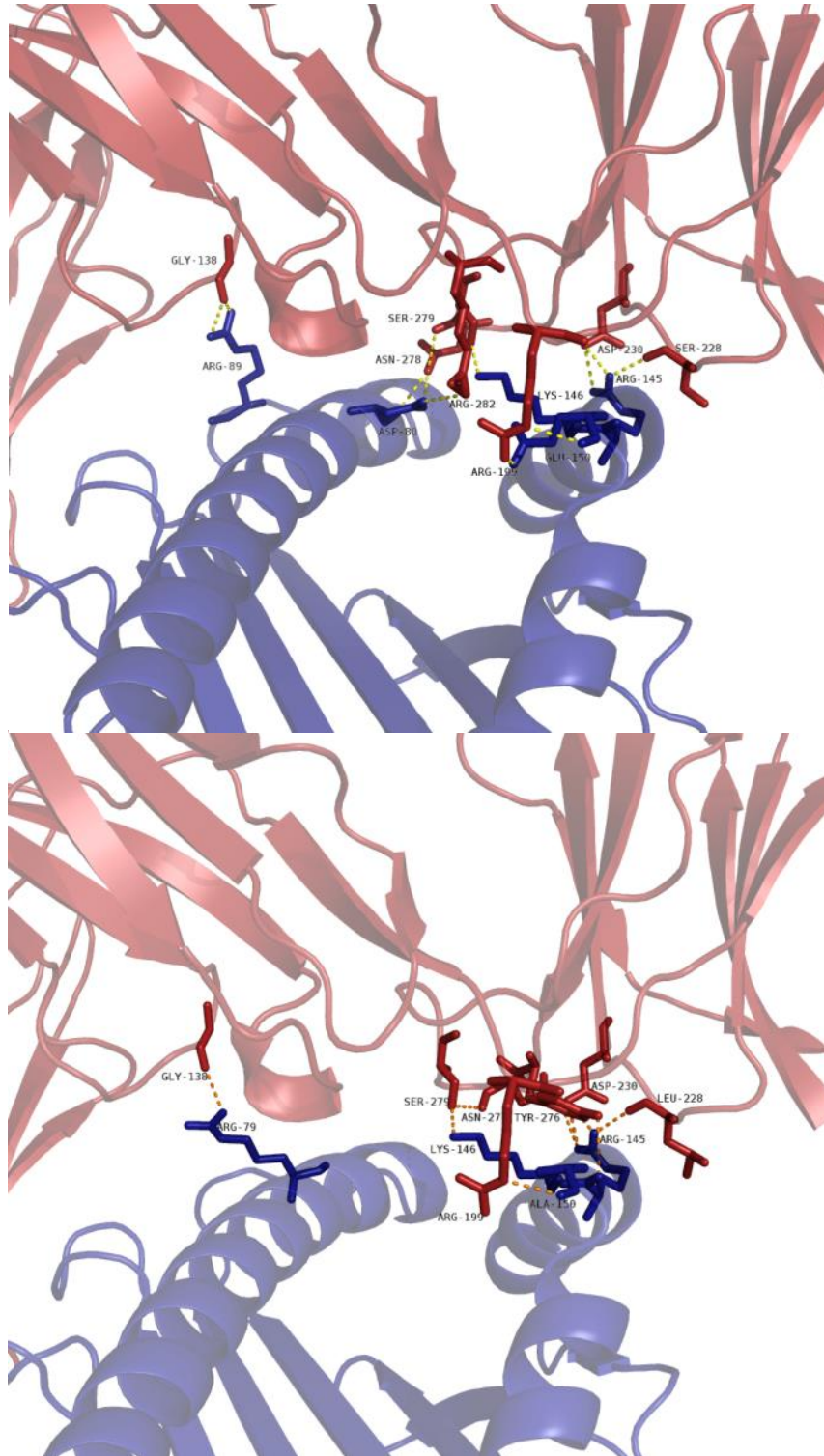


Figura 21. Predicción de interacción en las proteínas. En naranja con líneas punteadas se muestran las interacciones de puentes de hidrógeno A. SaboB1 KIR1. B) Interacción HLA-B57:KIR3DL1



## 4.2 Predicción de péptidos

Los métodos de predicción de péptidos de unión al MHC-I están bien establecidos. En este análisis se buscó determinar la diversidad de péptidos que pueden presentar las moléculas del MHC-I de platirrininos. El grupo de genes con menor probabilidad de predicción fue las secuencias de *MHC-B* que mostraron diversificación reciente por duplicación génica. Esto probablemente quiere decir que las proteínas codificadas por estos genes están presentando péptidos muy diferentes a los de los otros grupos. Por el contrario, los genes que mejores predicciones tuvieron son los genes del grupo ancestral de *MHC-B*, lo cual también estaría mostrando en parte su relación con los genes de catarrinos. De hecho, este grupo de genes es el único en el que las propiedades de los sitios ancla varía en comparación con los demás grupos, teniendo en la última posición del péptido amino ácidos con carga positiva (R,K), mientras que en los demás casos existen posiciones con amino ácidos hidrofóbicos (F,L,I) (Figura 22).

De interés también es el hecho de que aunque generalmente la posición más conservada del péptido es la posición número 9, en el grupo de genes ancestrales del tipo *MHC-G-like* las tres primeras posiciones de los péptidos predichos tienden a tener posiciones conservadas. En algunos casos, se ven predicciones que parecen pertenecer a grupos diferentes, como el caso de algunos genes pertenecientes al grupo B-II. Esto se puede deber a las características evolutivas por las que han pasado estos primates, o a efectos de recombinación. Es importante resaltar también que los péptidos que se predicen para las especies del género *Saguinus* son bastante similares, teniendo perfiles de conservación de las posiciones del péptido muy parecidos. Sin embargo en otras especies de la subfamilia *Callithricidae*, dicha conservación no se observa.

La similaridad de los péptidos que se presentan tiende a ser mayor entre alelos de una misma especie, pero, notablemente los alelos caracterizados en *C. albifrons* tienen la capacidad de presentar péptidos diferentes por cada uno de los alelos caracterizados. Esto se hace evidente al comparar con secuencias de especies como *C. jacchus* y *S. oedipus* (Figura 23)

Esto muestra que la diversidad evidenciada en los análisis anteriores también puede tener implicaciones funcionales ya que cada especie está presentando una gran diversidad de péptidos.

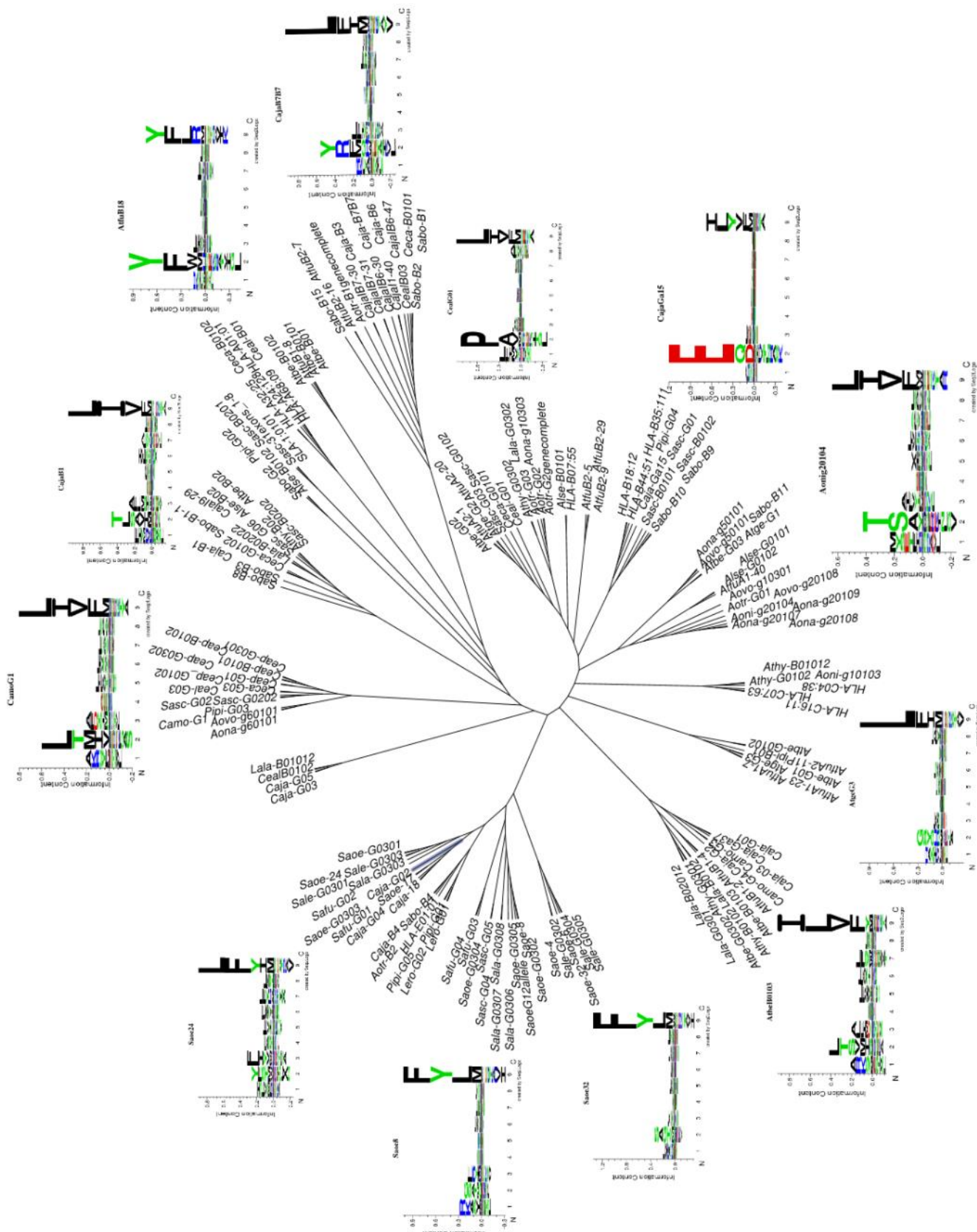


Figura 22. Topología NJ obtenida únicamente con las posiciones del PBR. Se muestra el perfil de los péptidos predichos para uno de los alelos dentro de los grupos.

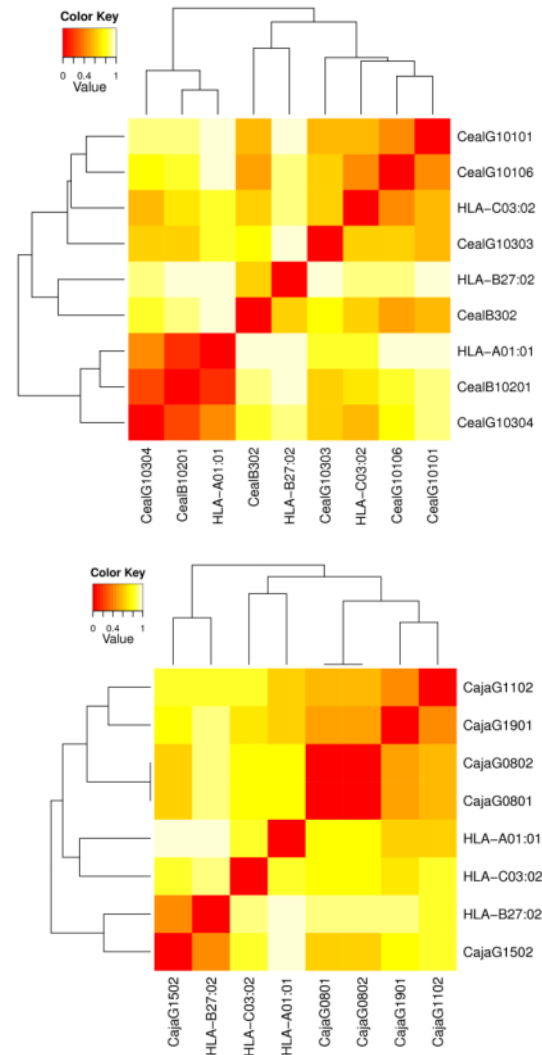
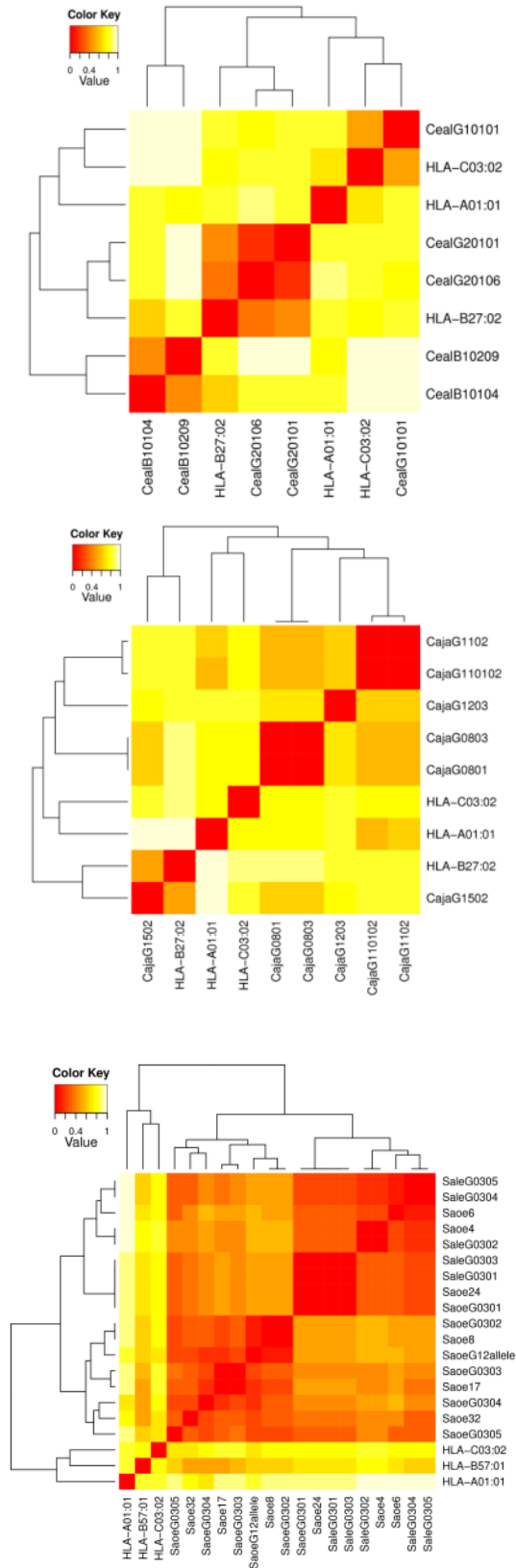


Figura 23. Similitud de los péptidos presentados. Análisis de cluster para los péptidos predichos de 2 individuos de *C. jachhus*. y *C. albifrons* y predicción para todos los alelos de *S. oedipus*

# VI. DISCUSIÓN

## ***Los loci MHC-B y MHC-G-like muestran diferentes mecanismos de duplicación.***

El análisis genómico de los bloques alfa y beta del MHC-I en platirrininos mostró patrones de diversificación previamente desconocidos, aun cuando no se trabajó con secuencias completas para todas las especies estudiadas. Aunque el bloque gamma no se identificó con esta búsqueda, es posible que en los platirrininos también se encuentre ya que el MHC-E contenido en dicho bloque ya ha sido descrito a nivel del cDNA y es reconocido como uno de los genes ancestrales para todo el clado de los Primates [11].

Debido a la secuenciación incompleta de las regiones genómicas puede haber genes MHC-I que no se caracterizaron en este trabajo. No obstante esta falta, se lograron caracterizar 4 linajes de genes *MHC-G-like* y 7 linajes de *MHC-B* en platirrininos que corresponden a duplicaciones génicas en los bloques genómicos alfa y beta, respectivamente. Los genes de dichos bloques genómicos presentan diferencias estructurales y evolutivas que sugieren diferentes mecanismos de duplicación. Por un lado las dinámicas evolutivas muestran una predominancia de duplicaciones genero/especie-específicas en los genes *MHC-G-like*, mientras que en los *MHC-B* predominan genes putativamente ortólogos en varias especies. Por otro lado, las diferencias estructurales se evidencian en el análisis de retroelementos de las regiones 5' flanqueantes de los genes, donde una de las diferencias que se destacan es la abundancia de retroelementos del tipo LINE-1 (L1) en los genes *MHC-B*, mientras que en *MHC-G-like* son más abundantes los del tipo LINE-2 (L2).

Esas diferencias estructurales pueden estar influenciando diferentes mecanismos de duplicación en los genes *MHC-G-like* y *MHC-B*, pues los retrotransposones L1 son activo en primates, mientras que los

L2 son inactivos. Con esto se puede proponer diferentes formas de generación de duplicación en la que los retroelementos L1 duplican mediante inserción de genes completos, mientras que en los genes L2 y retroelementos de tipo Alu se dan recombinaciones no homologas como se muestra en la Fig 24

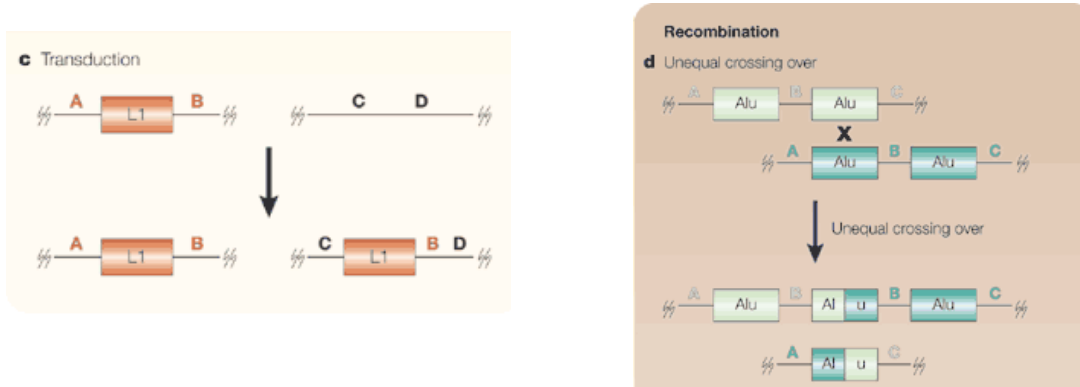


Figura 24. Modelos de duplicación en los loci MHC-B y MHC-G-like. Tomado de ([53])

Esto también se puede basar en evidencia de loci que son recombinantes como los loci AG y AL en primates, el primero recombinante entre MHC-G y -A, el segundo entre MHC-A y un pseudogen MHC-L. Este posible modelo de evolución explica también el mosaico evolutivo que se presenta en especies del género *Aotus* como se describe en [36] y la mayor cantidad de recombinaciones encontradas para los *MHC-G-like* de *C. albifrons*. Esto hace que los loci de *MHC-G-like* sean más difíciles de asignar ortología debido a que muchas de esas duplicaciones generadas por recombinación generan incongruencias en filogenias.

***La reconstrucción de los posibles ancestros de cada uno de los clados, muestra diferencias en las tasas de duplicación de MHC-G-like y MHC-B.***

Al comparar las regiones genómicas de diferentes subórdenes de primates se puede hipotetizar sobre los eventos evolución genómica que llevaron a configurar los diferentes bloques del MHC-I (Figura 25).

En el bloque alfa de Strepsirrhini se encuentran al menos 2 pseudogenes que posiblemente fueron activos en el ancestro de todos los Haplorrhini, e hipotéticamente pertenecen a los linajes de *MHC-F* y *MHC-G/A*. Los genes *MHC-G/A* no se duplicaron entre la divergencia strepsirrhini-haplorrhini (ancestros 1 y 2). Desde la divergencia de Catarrinos y platirrhinos se presentaron una serie de duplicaciones: *MHC-F* en el ancestro de los Platyrrhini (cuadros amarillos Figura 25A), en el linaje Catarrhini el gen *MHC-G/A* ancestral se duplicó hasta 5 veces, dejando como evidencia los genes *MHC-G* y *-A* y los pseudogenes *MHC-V*, *K*, *W* y *J*. En los Platyrrhini, por su parte, el ancestro *MHC-G/A* se duplicó obteniendo los ancestros de los linajes G-I y IV, y luego en este suborden, se presentaron duplicaciones que generaron los linajes G-III para el ancestro de las familias *Atelidae* y *Cebidae* y por último generando duplicaciones encontradas únicamente en la familia *Cebidae* como el linaje G-II.

La dinámica de las duplicaciones se puede observar en la figura 25 B, donde se cuentan las posibles duplicaciones que han tenido cada una de estas especies teniendo en cuenta el tiempo de divergencia entre los diferentes clados (Eje X) y la cantidad de duplicaciones que se presentan (eje Y). De esta manera el tiempo cero muestra cero duplicaciones que aumentan con el tiempo de divergencia.

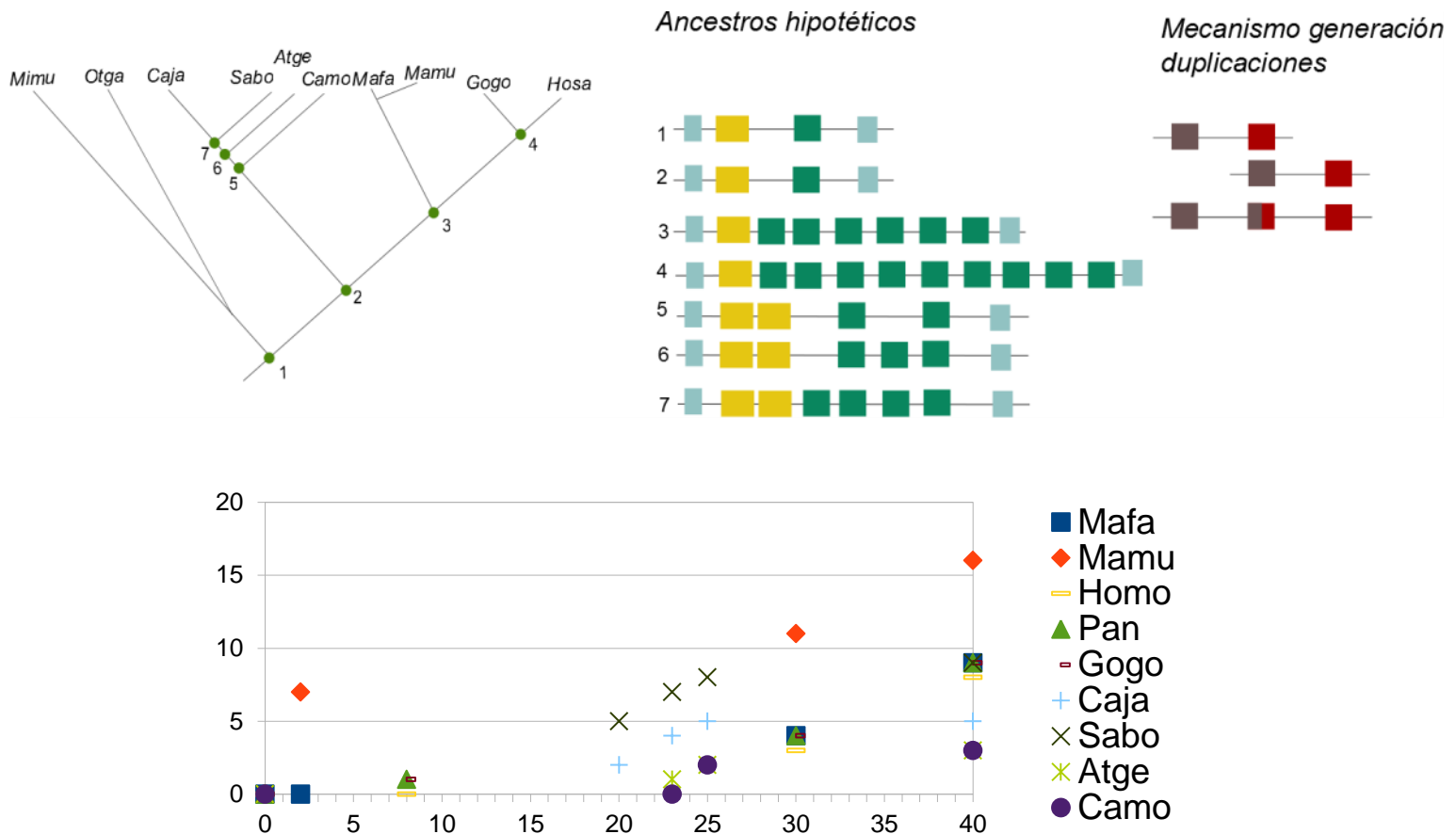


Figura 25. Modelo de evolución del bloque Alfa (MHC-G-LIKE). El modelo describe cada uno de los ancestros hipotéticos y posibles cambios que se generan. El mecanismo de evolución representa una recombinación no homóloga.

La evolución genómica del bloque beta, muestra un MHC-I entre los genes marco centromérico en el genoma de *Otolemur garnettii* (gálgalo) el cual se duplicó varias veces en esta región. Evidencia de ello es el gen *HLA-X* que se encuentra entre los genes *MIC-A* y *MIC-B* de Catarrinos. Durante la divergencia Strepsirrhini-Haplorrhini se duplicó este gen ancestral y generó el posible ancestro de los *MHC-B*. De allí también se obtuvieron diferentes duplicaciones, 3 para el ancestro de platirrhinos e hipotéticamente 2 para los catarrinos (*HLA-S* y *HLA-B*) que tuvieron grandes diferencias en sus familias, ya que se duplicó intensamente en el linaje de los Cercopithecidae, y en los Hominidae generando el loci *HLA-C*. Por esta razón la tasa de duplicaciones de *MHC-B* se ve con un marcado crecimiento exponencial para las especies del género *Macaca*.



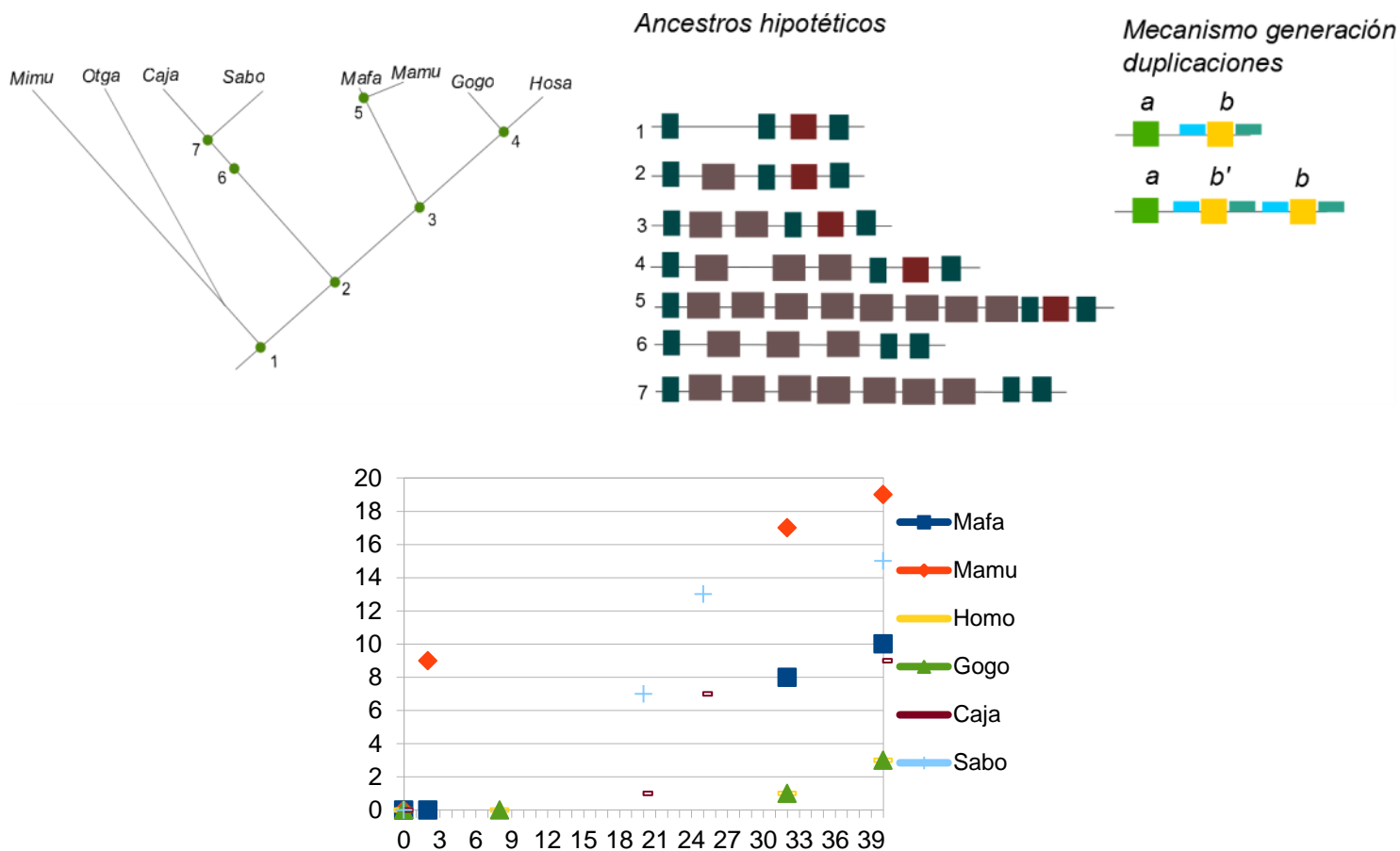


Figura 26. Modelo de evolución del bloque beta (MHC-B). El modelo describe cada uno de los ancestros hipotéticos y posibles cambios que se generan. El mecanismo de evolución representa una transducción de los retroelementos L1.

### Efectos de la pérdida de transcritos en las especies de Callithricidae

Es posible que en el muestreo de todas las moléculas MHC-I de un individuo no se hayan obtenido en todos los alelos. No obstante, se presentan particularidades en algunas subfamilias, como la subfamilia *Callithricinae*, en la cual las posibilidades de un muestreo inadecuado se reducen al revisar los resultados de otros trabajos, donde se diseñaron primers específicos para los linajes de *MHC-B* sin éxito [12]. Si bien en este trabajo se muestra la expresión de *MHC-B* en un rango amplio de especies, no fue posible detectarlo en ninguna de las dos especies de *Saguinus*, pertenecientes a *Callithricinae*. Una posible explicación se basa en el agrupamiento de un pseudogen de Caja (B9) en el clado donde se

encontró la mayoría de transcritos de platirrininos, lo que sugiere que el gen homólogo a este linaje ha sido pseudogenizado en los *Callithricinae*. Sin embargo, algunas secuencias de transcritos de Caja, muestran aparición en otros loci, que posiblemente no puedan ser amplificadas con los primers que se diseñaron. Esta aparición y desaparición de loci en algunos clados, es un claro ejemplo del modelo de evolución por nacimiento y muerte de genes.

Esta pérdida de loci ancestrales puede estar teniendo repercusiones en las características inmunes de estos individuos. Sin embargo también existe la posibilidad de encontrarlos expresados de manera específica para algún tejido, o algún otro mecanismo de control transcripcional. Dichas pérdidas y características de polimorfismo pueden tener relación con características biológicas de este clado (*Callithricidae*), los cuales presentan partos dizigóticos y quimerismo de médula ósea. En el primer caso, la pérdida de loci puede estar permitiendo que la hembra pueda engendrar dos individuos con genomas diferentes sin interferir con la implantación del embrión en el útero donde hay una modulación especial de la respuesta inmune modulada por la interacción entre MHC y KIRs. Concomitante con esto, en el segundo caso el quimerismo de médula ósea puede ayudar a aumentar el rango de péptidos que presenta un individuo al tener hasta 4 alelos para un locus, lo cual se había visto afectado por pérdidas de loci y bajo polimorfismo

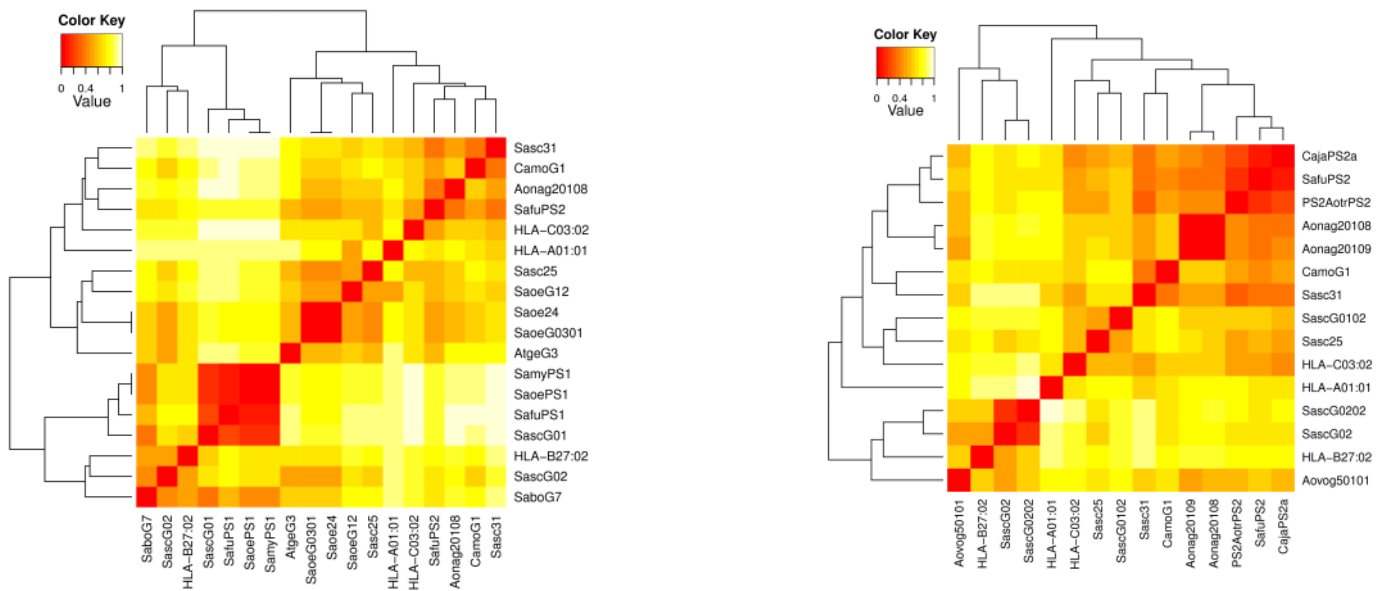
### ***Polimorfismo en C. albifrons y predicciones funcionales***

Los mecanismos para generar polimorfismo en *C. albifrons* son comúnmente encontrados en las especies de primates incluyendo los strepsirrinidos, catarrinos y platirrininos donde se presentan recombinaciones, selección positiva en el PBR y duplicación génica.

No obstante, el polimorfismo muestra tener particularidades en cada especie de Primate del Nuevo Mundo. En este estudio se encontró una cantidad elevada de alelos para la especie *C. albifrons*, que comparado con especies del género *Saguinus*, tiene diferencias notables. Sin embargo, comparando con otras especies como *C. jacchus* o aquellas del género *Aotus*, el nivel de polimorfismo es semejante. Por esta razón es probable que en la historia evolutiva de *Callithricidae* puede haber existido algún cuello de botella poblacional en el linaje del género *Saguinus*.

Predecir qué péptidos pueden estar presentando las moléculas de MHC-I en Primates del Nuevo Mundo puede dar indicios de varios aspectos tanto evolutivos como funcionales. En primera instancia el poder describir los perfiles de péptidos que se pueden presentar puede dar un indicio de otros mecanismos evolutivos que han llevado a convergencia en algunas moléculas de MHC-I, así como también eventos de recombinación que puedan estar generando moléculas con perfiles similares de presentación de péptidos pero con diferente origen evolutivo. De igual forma se puede estar viendo el efecto que tiene la duplicación génica sobre la presentación de péptidos y cómo esa presentación de péptidos puede estar influenciando características del sistema inmune de los animales en cuestión, aspectos tales como la selección tímica y la respuesta frente a patógenos.

También es posible realizar algunas predicciones hipotéticas en las que por ejemplo se pueden tomar todos los pseudogenes y compararlos con los transcripcionalmente activos. Esto mostraría cuales posibles efectos pueden estar sugiriendo la pseudogenización de loci. Por ejemplo, al reconstruir y comparar la predicción de los genes retroprocesados, se evidencia que son semejantes entre ellos y a los del clado al cual pertenecen. Esto permite plantear la hipótesis en la que cada especie genera su propio conjunto de moléculas MHC-I debido a presiones selectivas propias de la especie o por otro lado puede sugerir que la pérdida y pseudogenización de algunos loci es completamente al azar.



# VII. CONCLUSIONES

- Se describieron y analizaron regiones genómicas del bloque alfa y bloque Beta para 4 y 1 especies de Primates del Nuevo Mundo respectivamente. Con esto se obtiene que cada especie presenta un número variable de genes MHC-G-Like y MHC-B cuyas relaciones de ortología no son claras.
- Se identificaron transcritos de MHC-B para todas las especies de Primates del Nuevo Mundo, exceptuando aquellas de la subfamilia *Callithricinae*, ya que probablemente en estas especies, se encuentra pseudogenizado.
- La expresión de los MHC-G-Like se da principalmente en linajes de aparición reciente mientras que la expresión de MHC-B se da en linajes de aparición ancestral.
- Los MHC-G-Like de la especie *Cebus albifrons* son altamente polimórficos, comparable al de otras especies de Primates del Nuevo Mundo, excepto a las del género *Saguinus*.
- Entre los mecanismos de generación de diversidad en la especie *C. albifrons*, se encuentran recombinación interalélica, duplicación génica y selección positiva en la región de unión al péptido.

# REFERENCIAS

- [1] A. L. Hughes and M. Yeager, “Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates.,” *Annu. Rev. Genet.*, vol. 32, pp. 415–35, Jan. 1998.
- [2] R. E. Bontrop, “Comparative genetics of MHC polymorphisms in different primate species: duplications and deletions.,” *Hum. Immunol.*, vol. 67, no. 6, pp. 388–97, Jun. 2006.
- [3] T. Shiina, A. Kono, N. Westphal, S. Suzuki, K. Hosomichi, Y. F. Kita, C. Roos, H. Inoko, and L. Walter, “Comparative genome analysis of the major histocompatibility complex (MHC) class I B/C segments in primates elucidated by genomic sequencing in common marmoset (*Callithrix jacchus*).,” *Immunogenetics*, Apr. 2011.
- [4] a Moretta, E. Marcenaro, S. Parolini, G. Ferlazzo, and L. Moretta, “NK cells at the interface between innate and adaptive immunity.,” *Cell Death Differ.*, vol. 15, no. 2, pp. 226–33, Feb. 2008.
- [5] E. J. Adams and P. Parham, “Species-specific evolution of MHC class I genes in the higher primates,” *Immunol. Rev.*, vol. 183, pp. 41–64, 2001.
- [6] J. K. Kulski, T. Shiina, T. Anzai, S. Kohara, and H. Inoko, “Comparative genomic analysis of the MHC: the evolution of class I duplication blocks, diversity and complexity from shark to man.,” *Immunol. Rev.*, vol. 190, pp. 95–122, 2002.
- [7] R. Bontrop, “MHC variation in primates ( Roland Major Histocompatibility Complex variation in primates About compatibility MHC nomenclature of different species MHC variation in primates ( Roland Bontrop , BPRC ) shell How old is the MHC ? Natural history of the MHC,” pp. 1–13.
- [8] T. Shiina, M. Ota, S. Shimizu, Y. Katsuyama, N. Hashimoto, M. Takasu, T. Anzai, J. K. Kulski, E. Kikkawa, T. Naruse, N. Kimura, K. Yanagiya, A. Watanabe, K. Hosomichi, S. Kohara, C. Iwamoto, Y. Umehara, A. Meyer, V. Wanner, K. Sano, C. Macquin, K. Ikeo, K. Tokunaga, T. Gojobori, H. Inoko, and S. Bahram, “Rapid evolution of major histocompatibility complex class I genes in primates generates new disease alleles in humans via hitchhiking diversity.,” *Genetics*, vol. 173, no. 3, pp. 1555–70, Jul. 2006.
- [9] A. Watanabe, T. Shiina, S. Shimizu, K. Hosomichi, K. Yanagiya, Y. F. Kita, T. Kimura, E. Soeda, R. Torii, K. Ogasawara, J. K. Kulski, and H. Inoko, “A BAC-based contig map of the cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*) major histocompatibility complex genomic region.,” *Genomics*, vol. 89, no. 3, pp. 402–12, Mar. 2007.
- [10] D. I. Watkins, T. L. Garber, Z. W. Chen, G. Toukatly, A. L. Hughes, and L. Letvin, “Unusually limited nucleotide sequence variation of the expressed primate species ( *Saguinus oedipus* ),” *Immunogenetics*, vol. 33, pp. 79–89, 1991.
- [11] L. A. Knapp, L. F. Cadavid, and D. I. Watkins, “The MHC-E Locus Is the Most Well Conserved of All Known Primate Class I Histocompatibility Genes,” *J. Immunol.*, vol. 160, pp. 189–196, 1998.
- [12] M. K. van der Wiel, N. Otting, N. G. de Groot, G. G. M. Doxiadis, and R. E. Bontrop, “The repertoire of MHC class I genes in the common marmoset: evidence for functional plasticity.,” *Immunogenetics*, vol. 65, no. 12, pp. 841–9, Dec. 2013.
- [13] E. R. Unanue, “From antigen processing to peptide-MHC binding,” *Nat Immunol*, vol. 7, no. 12,

2006.

- [14] J. M. Vyas, A. G. Van der Veen, and H. L. Ploegh, “The known unknowns of antigen processing and presentation.,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 8, no. 8, pp. 607–18, Aug. 2008.
- [15] L. L. Lanier, “NK cell recognition.,” *Annu. Rev. Immunol.*, vol. 23, pp. 225–74, Jan. 2005.
- [16] J. Trowsdale and A. Moffett, “NK receptor interactions with MHC class I molecules in pregnancy.,” *Semin. Immunol.*, vol. 20, no. 6, pp. 317–20, Dec. 2008.
- [17] A. Parham, Peter. Moffett, “Variable NK cell receptors and their MHC class I ligands in immunity, reproduction and human evolution,” *Nat Rev Immunol*, vol. 13, no. 2, pp. 133–144, 2013.
- [18] L. Bernatchez and C. Landry, “MHC studies in nonmodel vertebrates: what have we learned about natural selection in 15 years?,” *J. Evol. Biol.*, vol. 16, no. 3, pp. 363–77, May 2003.
- [19] M.-P. Lefranc, V. Giudicelli, C. Ginestoux, J. Jabado-Michaloud, G. Folch, F. Bellahcene, Y. Wu, E. Gemrot, X. Brochet, J. Lane, L. Regnier, F. Ehrenmann, G. Lefranc, and P. Duroux, “IMGT, the international ImMunoGeneTics information system.,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 37, no. Database issue, pp. D1006–12, Jan. 2009.
- [20] R. Horton, L. Wilming, V. Rand, R. C. Lovering, E. a Bruford, V. K. Khodiyar, M. J. Lush, S. Povey, C. C. Talbot, M. W. Wright, H. M. Wain, J. Trowsdale, A. Ziegler, and S. Beck, “Gene map of the extended human MHC.,” *Nat. Rev. Genet.*, vol. 5, no. 12, pp. 889–99, Dec. 2004.
- [21] M. F. Flajnik, M. Kasahara, and W. B. Street, “Comparative Genomics of the MHC : Glimpses into the Evolution Review University of Maryland at Baltimore,” vol. 15, pp. 351–362, 2001.
- [22] J. Kelley, L. Walter, and J. Trowsdale, “Comparative genomics of major histocompatibility complexes.,” *Immunogenetics*, vol. 56, no. 10, pp. 683–95, Jan. 2005.
- [23] K. M. Kiemnec-Tyburczy, J. Q. Richmond, a E. Savage, K. R. Lips, and K. R. Zamudio, “Genetic diversity of MHC class I loci in six non-model frogs is shaped by positive selection and gene duplication.,” *Heredity (Edinb)*, vol. 109, no. 3, pp. 146–55, Sep. 2012.
- [24] J. G. Fleagle, *Primate adaptation and evolution*, Second edi. Academic Press, 2008.
- [25] J. Klein, A. Sato, and N. Nikolaidis, “MHC, TSP, and the origin of species: from immunogenetics to evolutionary genetics.,” *Annu. Rev. Genet.*, vol. 41, pp. 281–304, Jan. 2007.
- [26] A. Averdarm, B. Petersen, C. Rosner, J. Neff, C. Roos, M. Eberle, F. Aujard, C. Münch, W. Schempp, M. Carrington, T. Shiina, H. Inoko, F. Knaust, P. Coggill, H. Sehra, S. Beck, L. Abi-Rached, R. Reinhardt, and L. Walter, “A novel system of polymorphic and diverse NK cell receptors in primates.,” *PLoS Genet.*, vol. 5, no. 10, p. e1000688, Oct. 2009.
- [27] Y. Go, Y. Satta, Y. Kawamoto, G. Rakotoarisoa, A. Randrianjafy, N. Koyama, and H. Hirai, “Frequent segmental sequence exchanges and rapid gene duplication characterize the MHC class I genes in lemurs.,” *Immunogenetics*, vol. 55, no. 7, pp. 450–61, Oct. 2003.
- [28] P. Flügge, E. Zimmermann, A. L. Hughes, E. Günther, and L. Walter, “Characterization and phylogenetic relationship of prosimian MHC class I genes.,” *J. Mol. Evol.*, vol. 55, no. 6, pp. 768–75, Dec. 2002.
- [29] E. J. Adams, S. Cooper, and P. Parham, “A novel, nonclassical MHC class I molecule specific to the common chimpanzee.,” *J. Immunol.*, vol. 167, no. 7, pp. 3858–69, Oct. 2001.
- [30] E. J. Adams, G. Thomson, and P. Parham, “Evidence for an HLA-C-like locus in the orangutan *Pongo pygmaeus*.,” *Immunogenetics*, vol. 49, no. 10, pp. 865–71, Sep. 1999.
- [31] G. I. Bondarenko, S. V Dambaeva, R. L. Grendell, A. L. Hughes, M. Durning, M. a Garthwaite,

- and T. G. Golos, “Characterization of cynomolgus and vervet monkey placental MHC class I expression: diversity of the nonhuman primate AG locus.,” *Immunogenetics*, vol. 61, no. 6, pp. 431–42, Jun. 2009.
- [32] T. R. Defler, *HISTORIA NATURAL DE LOS PRIMATES COLOMBIANOS*, 2nd ed. Bogotá, Colombia: Editorial UN, 2010.
- [33] L. F. Cadavid, C. Shufflebotham, F. J. Ruiz, M. Yeager, a L. Hughes, and D. I. Watkins, “Evolutionary instability of the major histocompatibility complex class I loci in New World primates.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 94, no. 26, pp. 14536–41, Dec. 1997.
- [34] E. T. Mee, J. Greenhow, and N. J. Rose, “Characterisation of Mhc class I and class II DRB polymorphism in red-bellied tamarins (*Saguinus labiatus*).,” *Immunogenetics*, vol. 63, no. 10, pp. 619–26, Oct. 2011.
- [35] C. F. Suárez, P. P. Cárdenas, E. J. Llanos-Ballestas, P. Martínez, M. Obregón, M. E. Patarroyo, and M. a Patarroyo, “Alpha1 and alpha2 domains of Aotus MHC class I and Catarrhini MHC class Ia share similar characteristics.,” *Tissue Antigens*, vol. 61, no. 5, pp. 362–73, May 2003.
- [36] P. P. Cardenas, C. F. Suarez, P. Martinez, M. E. Patarroyo, and M. a Patarroyo, “MHC class I genes in the owl monkey: mosaic organisation, convergence and loci diversity.,” *Immunogenetics*, vol. 56, no. 11, pp. 818–32, Feb. 2005.
- [37] S. Kumar and S. B. Hedges, “TimeTree2: species divergence times on the iPhone.,” *Bioinformatics*, vol. 27, no. 14, pp. 2023–4, Jul. 2011.
- [38] H. Sawai, Y. Kawamoto, N. Takahata, and Y. Satta, “Evolutionary relationships of major histocompatibility complex class I genes in simian primates.,” *Genetics*, vol. 166, no. 4, pp. 1897–907, Apr. 2004.
- [39] R. C. Edgar, “MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity.,” *BMC Bioinformatics*, vol. 5, p. 113, Aug. 2004.
- [40] K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, and S. Kumar, “MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0.,” *Mol. Biol. Evol.*, vol. 30, no. 12, pp. 2725–9, Dec. 2013.
- [41] D. Posada and K. A. Crandall, “Modeltest: testing the model of DNA substitution.,” *Bioinformatics*, vol. 14, no. 9, 1998.
- [42] N. Saitou and M. Nei, “The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees.,” *Mol. Biol. Evol.*, vol. 4, no. 4, pp. 406–25, Jul. 1987.
- [43] F. J. P. H. Ronquist, “MRBAYES: Bayesian phylogenetic Inference of nder mixed models.,” *Bioinformatics*, vol. 19, 2003.
- [44] S. L. K. Pond, K. Scheffler, M. B. Gravenor, A. F. Y. Poon, and S. D. W. Frost, “Evolutionary fingerprinting of genes.,” *Mol. Biol. Evol.*, vol. 27, no. 3, pp. 520–36, Mar. 2010.
- [45] D. P. Martin, P. Lemey, M. Lott, V. Moulton, D. Posada, and P. Lefevre, “RDP3: a flexible and fast computer program for analyzing recombination.,” *Bioinformatics*, vol. 26, no. 19, pp. 2462–3, Oct. 2010.
- [46] N. Guex and M. C. Peitsch, “SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling.,” *Electrophoresis*, vol. 18, pp. 2714–2723, 1997.
- [47] R. Saito, M. Smoot, K. Ono, and J. Ruschewski, “A travel guide to Cytoscape plugins,” *Nat. ...*, vol. 9, no. 11, pp. 1069–1076, 2012.
- [48] M. Karberg, H. Guo, J. Zhong, R. Coon, J. Perutka, and a M. Lambowitz, “Group II introns as



- controllable gene targeting vectors for genetic manipulation of bacteria.,” *Nat. Biotechnol.*, vol. 19, no. 12, pp. 1162–7, Dec. 2001.
- [49] D. Sharma, K. Bastard, L. a Guethlein, P. J. Norman, N. Yawata, M. Yawata, M. Pando, H. Thananchai, T. Dong, S. Rowland-Jones, F. M. Brodsky, and P. Parham, “Dimorphic motifs in D0 and D1+D2 domains of killer cell Ig-like receptor 3DL1 combine to form receptors with high, moderate, and no avidity for the complex of a peptide derived from HIV and HLA-A\*2402.,” *J. Immunol.*, vol. 183, no. 7, pp. 4569–82, Oct. 2009.
- [50] A. Grifoni, C. Montesano, A. Patronov, V. Colizzi, and M. Amicosante, “Immunoinformatic docking approach for the analysis of KIR3DL1/HLA-B interaction.,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2013, no. i, p. 283805, Jan. 2013.
- [51] K. Acevedo-Whitehouse and A. a Cunningham, “Is MHC enough for understanding wildlife immunogenetics?,” *Trends Ecol. Evol. (Personal Ed.)*, vol. 21, no. 8, pp. 433–8, Aug. 2006.
- [52] L. Cadavid, C. Palacios, and J. Lugo, “Bimodal evolution of the killer cell Ig-like receptor (KIR) family in New World primates,” *Immunogenetics*, vol. 65, no. 10, pp. 725–736, 2013.
- [53] E. T. Kazazian and L. P. & H. H., “Mobile elements and the human genome,” *Nat. Rev. Genet.*, vol. 1, 2000.

## **A. *Anexo 1:* Anotación genómica de BACs y Scaffolds encontrados.**

Se indica la posición de inicio y final de cada modelo de gen, su dirección y su asignación como pseudogen o gen putativamente codificante. En las secuencias donde se presentan gaps, están indicados de dos maneras: si el gap es de distancia conocida la posición de inicio y final indicaría la longitud de dicho gap, si el gap está resaltado en amarillo es un gap de distancia desconocida y por tanto la longitud asignada es de siempre 100bp.

Especie	BAC ID	Gen	Posición inicio	Posición fin	Dirección	Observaciones
<i>Ateles geoffroyi</i>	AC240700.2	Zinc Finger Protein (ZNF57)	1829	3336	-	Coding
		Gap	26741			
		Glycine tRNA ligase	35538	37141	+	Pseudo
		Glycyl tRNA synthetase	37143	42895	+	Pseudo
		Mitochondrial coiled-coil domain 1 (MCCD1)	43391	44588		
		Homo sapiens HLA complex group 26 (non-protein coding) (HCG26), non-coding RNA	46951	48090	-	
		Gap	61654			
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	62256	63965	-	Pseudo
		MHC-1	63498	66216	+	Coding
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	68937	70695		Pseudo
		Homo sapiens Dihydrofolate reductase-like 1 (DHFR1)	74383	76859	-	Pseudo
		Gap	81654			
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	94115	96128	-	Pseudo
		MHC-2	95337	98634	+	Coding
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	102327	103204	-	Pseudo
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	110022	112038	-	Pseudo
		MHC-3	111235	114485	+	Coding
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	118294	119282	-	Pseudo
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	155123	157137	-	Pseudo
		MHC-4	156351	159116	+	Coding
	Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	162165	163269	-	Pseudo	
	Gap	176394				
	Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	193401	195495	-	Pseudo	
	MHC-5	194678	197467	+	Coding	
	Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	200185	201161	-	Pseudo	
	AC241574.2	Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1-like (ETF1)	235811	236260	+	Coding
	Homo sapiens Ribosomal Protein L7 Like 1 (RPL7L1)	249457	250239	-	Coding	
	Putative uncharacterized protein ZNRD1-AS1-like	262178	265717	-	Pseudo	
Protein phosphatase 1 regulatory subunit 11 isoform 1	272233	277841	+	Coding		
Homo sapiens Ring Finger protein 39 (RNF39)	277932	278586	-	Coding		
<b>Longitud total</b>			<b>278576</b>			

Especie	BAC ID	Gen	Posición inicio	Posición fin	Dirección	Observaciones
<i>Callicebus moloch</i>	AC240643.3	Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)	1	900	+	Coding
		Zinc Finger Protein (ZNF57)	1219	6236	+	Coding
	AC240538.3	Homo sapiens HLA complex P5 (non-protein coding) (HCP5), non-coding RNA	55751	58074	-	Pseudo
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	64077	66088	-	Pseudo
		<b>MHC-1</b>	<b>65278</b>	<b>67946</b>	<b>+</b>	<b>Coding</b>
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	72339	73822	-	Pseudo
		<b>MCCD1</b>	125157	125704	-	Pseudo
		Homo sapiens HLA complex group 26 (non-protein coding) (HCG26), non-coding RNA	128711	129854	-	Pseudo
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	159268	161306	-	Pseudo
		<b>MHC-2</b>	<b>160475</b>	<b>163228</b>	<b>+</b>	<b>Coding</b>
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	166334	167308	-	Pseudo
		Homo sapiens SH3-domain kinase binding protein 1 (SH3KBP1)	172406	173286	-	Pseudo
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	176960	178925	-	Pseudo
		<b>MHC-3</b>	<b>178110</b>	<b>180829</b>	<b>+</b>	<b>Pseudo</b>
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	183413	185447	-	Pseudo
		<b>MHC-4</b>	<b>184615</b>	<b>187359</b>	<b>+</b>	<b>Coding</b>
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	190147	191943	-	Pseudo
		<b>ZNRD1</b>	216873	218516	-	Pseudo
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	230249	232330	-	Pseudo
		<b>MHC-5</b>	<b>231498</b>	<b>234251</b>	<b>+</b>	<b>Coding</b>
Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	237069	237632	-	Pseudo		
Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	238787	239189	-	Pseudo		
<b>Longitud Total</b>			<b>243168</b>			

Especie	Scaffold / BAC ID	Gen	Posición inicio	Posición fin	Dirección
<i>Callithrix jachaus</i>	NW_003185658.1	ZNRD1	16518	17077	-
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	25886	27344	-
		MHC-1	26888	28977	+
		Gap	29383	30643	
		MHC-1	30644	30855	+
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	33627	35443	-
		Homo sapiens Dihydrofolate reductase-like 1 (DHFR1)	37162	41971	-
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	39413	40727	-
		RN7SL2	43034	43323	-
		RN7SL2	48742	49038	-
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	57409	59433	-
		MHC-2	58610	59726	+
		MHC-2	60141	61416	+
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	78887	79343	-
	MHC-3	80169	82931	+	
	NW_003188308.1	Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	3263	5273	-
	MHC-4	4458	7128	+	
	MHC-5	408	713	+	
	NW_003185656.1	Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	16640	18627	-
		MHC-6	20806	21226	+
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	23397	25200	-
		Homo sapiens Dihydrofolate reductase-like 1 (DHFR1)	28403	31806	-
		Homo sapiens Dihydrofolate reductase-like 1 (DHFR1)	34783	38246	-
		RN7SL2	39296	39592	-
		Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	54036	55273	-
		MHC-7	54510	57226	+
		Gap	55274	55597	
		Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	62392	63190	-
Gap		67629	70525		
Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA		70539	71812	-	
MHC-8		71175	74985	+	
NW_003185734.1	MHC-9	8584	6208	+	
Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	569	1759	-		
NW_003187949.1	Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	19023	19662	-	
	MHC-10	13500	16230	+	

	Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	12387	13788	-
	Homo sapiens SH3-domain kinase binding protein 1 (SH3KBP1)	6855	8793	-
	HSP 90 beta likeHomo sapiens Heat shock Protein 90kDa (HSP90)	4354	6832	-
NW_003188569.1	Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	16211	17816	-
	<b>MHC-11</b>	<b>10753</b>	<b>13443</b>	<b>+</b>
	Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	9522	11548	-
NW_003183369.1	Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1-like (ETF1)	62227	64448	
	Homo sapiens Ribosomal Protein L7 Like 1 (RPL7L1)	76471	77514	
	Putative uncharacterized protein ZNRD1-AS1-like	89185	93437	
	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 11 isoform 1	102165	100533	
	Homo sapiens Ring Finger protein 39 (RNF39)	103302	108911	

## B. Anexo 2: Genes y pseudogenes anotados, no pertenecientes a MHC-I.

Gen o pseudogen	<i>Humano</i>	<i>C. jachuus</i>	<i>A. geoffroyii</i>	<i>C. moloch</i>	<i>boliviensis</i>	
MOG (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein)	X			X	X	Marco Alfa
ZNF57	X		X	X	X	
Glyciyl tRNA synthetase			X			
Mitochondrial coiled-coil domain 1 (MCCD1)			X	X	X	
Homo sapiens HLA complex group 4 (non-protein coding) (HCG4), non-coding RNA	X	X	X	X	X	
Homo sapiens HLA complex group 8 (HCG8), non-coding RNA	X	X	X	X	X	
DHFRL1 (Dihydrofolate reductase-like 1)		X	X		X	
Homo sapiens SH3-domain kinase binding protein 1 (SH3KBP1)		X		X	X	
HSP 90 beta like (Heat shock protein 90 Beta Like)		X			X	
nuclear cap-binding protein subunit 2-like (NCBP2)					X	
NHP2					X	
nucleophosmin					X	
Heterogeneous nuclear riboprot					X	
Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1-like (ETF1)	X	X	X		X	Marco Alfa
Putative uncharacterized protein ZNRD1-AS1-like	X		X		X	
Protein phosphatase 1 regulatory subunit 11 isoform 1	X	X	X			
CDSN (Corneodesmosin)	X	X*				Marco Beta
<i>POU5F1</i> (POU domain containing class 5 transcription factor 1)	X	X*				
Methionine adenosyl transferase II (MAT2A)					X	
Homo sapiens cyclin E1 (CCNE1P)		X*			X	
Ferritin heavy chain-like (FTH)		X*			X	
Cyclin-G1-like (CCNG1P)		X*			X	
Ring finger protein 181 (RNF181)		X*			X	
Ring finger protein 34, E3 ubiquitin protein ligase (RNF34)		X*			X	
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A-like	X	X*			X	Marco Beta
MHC class I polypeptide-related sequence A-like	X	X*			X	