ISSN Versión Impresa 1816-0719 ISSN Versión en línea 1994-9073 ISSN Versión CD ROM 1994-

The Biologist (Lima), 2026, vol. 24 (1), 165-171

The Biologist (Lima)



RESEARCH NOTE / NOTA CIENTÍFICA

COMPUTATIONAL ANALYSIS OF DOUBLESEX ISOFORMS IN *ANOPHELES GAMBIAE*

ANÁLISIS COMPUTACIONAL DE ISOFORMAS DE *DOUBLESEX* EN *ANOPHELES GAMBIAE*

Mabel Serrano[1], Cheryl Marte[1], Nasla Gomez[1], Manuel Colomé-Hidalgo[2], Edian Franco[1,3], Pedro María Alarcón-Elbal[4] & Alejandro Vallejo Degaudenzi[1,2]

[1] Instituto Tecnológico de Santo Domingo (INTEC), Santo Domingo, República Dominicana.
[2] Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD), Santo Domingo, República Dominicana.
[3] Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria (IIBI), Santo Domingo, República Dominicana.
[4] Grupo de Investigación de Zoonosis Transmitidas por Vectores (ZOOVEC), Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos (PASAPTA), Facultad de Veterinaria, Universidad CEU Cardenal Herrera, CEU Universities, Alfara del Patriarca, Valencia, España.
* Corresponding author: avdegaudenzi@live.com

Mabel Serrano: https://orcid.org/0009-0002-3908-4195
Cheryl Marte: https://orcid.org/0009-0001-2335-443X
Nasla Gomez: https://orcid.org/0009-0003-2227-562X
Manuel Colomé-Hidalgo: https://orcid.org/0000-0002-4562-6491
Edian Franco: https://orcid.org/0000-0001-9715-9437
Pedro María Alarcón-Elbal: https://orcid.org/0000-0001-5319-4257
Alejandro Vallejo-Degaudenzi: https://orcid.org/0000-0003-2057-2332

ABSTRACT

The doublesex (dsx) gene is involved in sex determination in *Anopheles gambiae sensu stricto* and is a potential target for vector control. The objective was to computationally characterize its sex-specific isoforms. Materials and methods: An *in silico* analysis of RA and RB isoforms was performed using VectorBase data, evaluating gene architecture, CDS length, and predicted protein products. RA and RB showed structural and protein-length differences while preserving the reading frame. RB-derived theoretical variants allowed the effect of terminal modifications to be explored without introducing frameshift changes. The functional diversity of dsx is associated with alternative splicing and supports its relevance as a molecular target for future genetic vector control research.

Keywords: alternative splicing – biosafety – *in silico* analysis – malaria – sex determination – vector control

Este artículo es publicado por la revista The Biologist (Lima) de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [https:// creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original.

DOI: https://doi.org/10.62430/rtb20262412138

RESUMEN

El gen *doublesex* (*dsx*) participa en la determinación sexual de *Anopheles gambiae* sensu stricto y constituye una posible diana para control vectorial. El objetivo fue caracterizar computacionalmente sus isoformas sexo-específicas. Se realizó un análisis *in silico* de las isoformas RA y RB con datos de VectorBase, evaluando arquitectura génica, longitud del CDS y productos proteicos predichos. RA y RB mostraron diferencias en organización estructural y longitud proteica, conservando el marco de lectura. Las variantes teóricas derivadas de RB permitieron explorar el efecto de modificaciones terminales sin introducir cambios de fase. La diversidad funcional de dsx se asocia al splicing alternativo y refuerza su interés como diana molecular para futuras investigaciones en control genético de vectores.

Palabras clave: análisis *in silico* – bioseguridad – control vectorial – determinación sexual – malaria – *splicing* alternativo

INTRODUCCIÓN

La malaria persiste como una de las enfermedades infecciosas con mayor impacto en la salud pública global, vinculada estrechamente a la biología de sus vectores. *Anopheles gambiae* Giles, 1902 (Arthropoda: Diptera: Culicidae) es el principal transmisor de *Plasmodium falciparum* (Welch, 1897) (Apicomplexa: Haemosporida: Plasmodiidae) en África subsahariana, región que soporta la mayor carga de esta parasitosis (World Health Organization, 2025). Esta situación ha impulsado el estudio de los mecanismos biológicos que regulan su desarrollo, destacando la determinación sexual por su relevancia operativa: solo las hembras transmiten el patógeno. En *A. gambiae sensu stricto*, este proceso depende de mecanismos regulatorios precisos donde el gen *doublesex* (*dsx*) actúa como regulador terminal, codificando un factor de transcripción que controla la formación de caracteres sexuales específicos (Wexler *et al*., 2019; Chikami *et al.,* 2022).

Desde la salud pública, los blancos moleculares que permiten sesgar la proporción sexual o reducir la fertilidad femenina son clave para complementar las estrategias convencionales de control, especialmente ante la creciente resistencia a insecticidas. (Beier *et al*., 2008; World Health Organization, 2021; Messenger *et al*., 2023). La función de *dsx* reside en el *splicing* alternativo, permitiendo que un único locus genere isoformas con funciones distintas según el sexo (Price *et al*., 2015). Aunque la caracterización de estas isoformas es vital para entender la biología reproductiva del vector, las limitaciones técnicas del análisis experimental dificultan su exploración sistemática.

Históricamente, la introducción accidental de *A. gambiae* s.s. en Brasil en la década de 1930 demostró que un vector altamente competente puede alterar drásticamente el riesgo de transmisión si no existen sistemas de vigilancia y gobernanza sólidos (Killeen *et al*., 2002). Aunque actualmente ausente en las Américas, la malaria persiste mediante vectores como *Anopheles darlingi* Root, 1926 y *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 (Sinka *et al*., 2010). La conservación de la vía de determinación sexual sugiere la existencia de ortólogos de *dsx* en vectores americanos, cuya caracterización podría orientar futuras investigaciones y discusiones regulatorias bajo marcos de evaluación de riesgos (Krzywinska *et al.,* 2021).

En este escenario, los enfoques *in silico* permiten analizar la arquitectura génica e identificar la plausibilidad funcional de variantes del *splicing*. El presente estudio realiza un análisis computacional de las isoformas de *dsx* en *A. gambiae* s.s. para evaluar sus diferencias estructurales y discutir sus implicaciones en bioseguridad y control genético orientado a reducir la transmisión de la malaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y comparativo de tipo *in silico* sobre las isoformas del gen *dsx* (AGAP004050) en *A. gambiae* s.s., utilizando anotaciones génicas y secuencias CDS y proteicas de VectorBase. Se analizaron las isoformas canónicas RA (macho) y RB (hembra) mediante scripts en Python 3.12.3 para reconstruir su arquitectura génica y evaluar exones,

segmentos codificantes, longitud del CDS y productos proteicos, con anotación de dominios en UniProt. De forma exploratoria, se generaron variantes teóricas de RB por truncaciones en los extremos 5′ y 3′ del CDS, realizadas en múltiplos de tres nucleótidos para conservar el marco de lectura. Por tratarse de un análisis descriptivo exploratorio, no se aplicaron pruebas estadísticas inferenciales.

Aspectos éticos: Se basan en su naturaleza *in silico*. Dado que no se trabajó con sujetos humanos ni con animales, no fue necesario obtener aprobación de un comité de ética. No obstante, el estudio se desarrolló cumpliendo estrictamente con las normativas nacionales e internacionales vigentes en investigación científica, garantizando la integridad y transparencia de los procedimientos.

RESULTADOS

A partir del modelo génico de AGAP004050 (*dsx*), se identificaron dos isoformas principales, AGAP004050-RA y AGAP004050-RB, ambas localizadas en la hebra negativa (strand –). La isoforma RA presenta 6 exones y 4 segmentos CDS, con una longitud codificante de 1902 nt, mientras que RB contiene 7 exones y 4 segmentos CDS, con 798 nt. Estas diferencias indican que ambas isoformas presentan arquitecturas génicas distintas que impactan directamente la extensión del producto proteico (Figura 1).

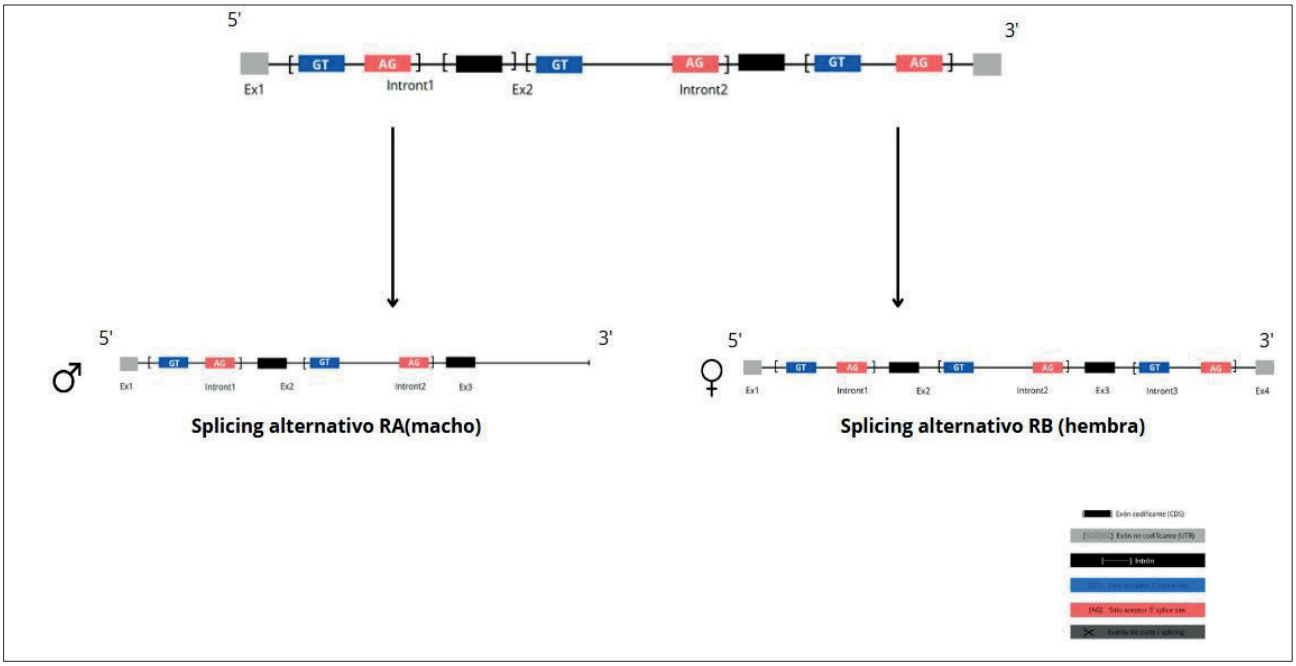


Figura 1. Arquitectura génica del gen *dsx* (AGAP004050) y generación de isoformas sexo-específicas por *splicing* alternativo en *A. gambiae sensu stricto*.

La concordancia entre las anotaciones estructurales del GFF y las secuencias CDS y proteicas en FASTA se confirmó para ambas isoformas: RA (1902 nt; 634 aa) y RB (798 nt; 266 aa), ambas con marco de lectura íntegro y sin codones de parada internos.

Con fines exploratorios, se generaron variantes teóricas de RB mediante truncaciones controladas, conservando el marco de lectura: ALT3′-B (678 nt; 226 aa) y ALT5′-A′ (708 nt; 236 aa). Estas variantes no representan transcritos biológicos observados (Figura 2).

La comparación cuantitativa entre las isoformas analizadas evidenció diferencias progresivas en longitud a nivel de CDS y proteína. El orden fue: RA base (1902 nt; 634 aa) > RB base (798 nt; 266 aa) > ALT5′-A′ (708 nt; 236 aa) > ALT3′-B (678 nt; 226 aa). Estos resultados indican que las variantes teóricas afectan principalmente regiones terminales del CDS sin comprometer la integridad del marco de lectura.

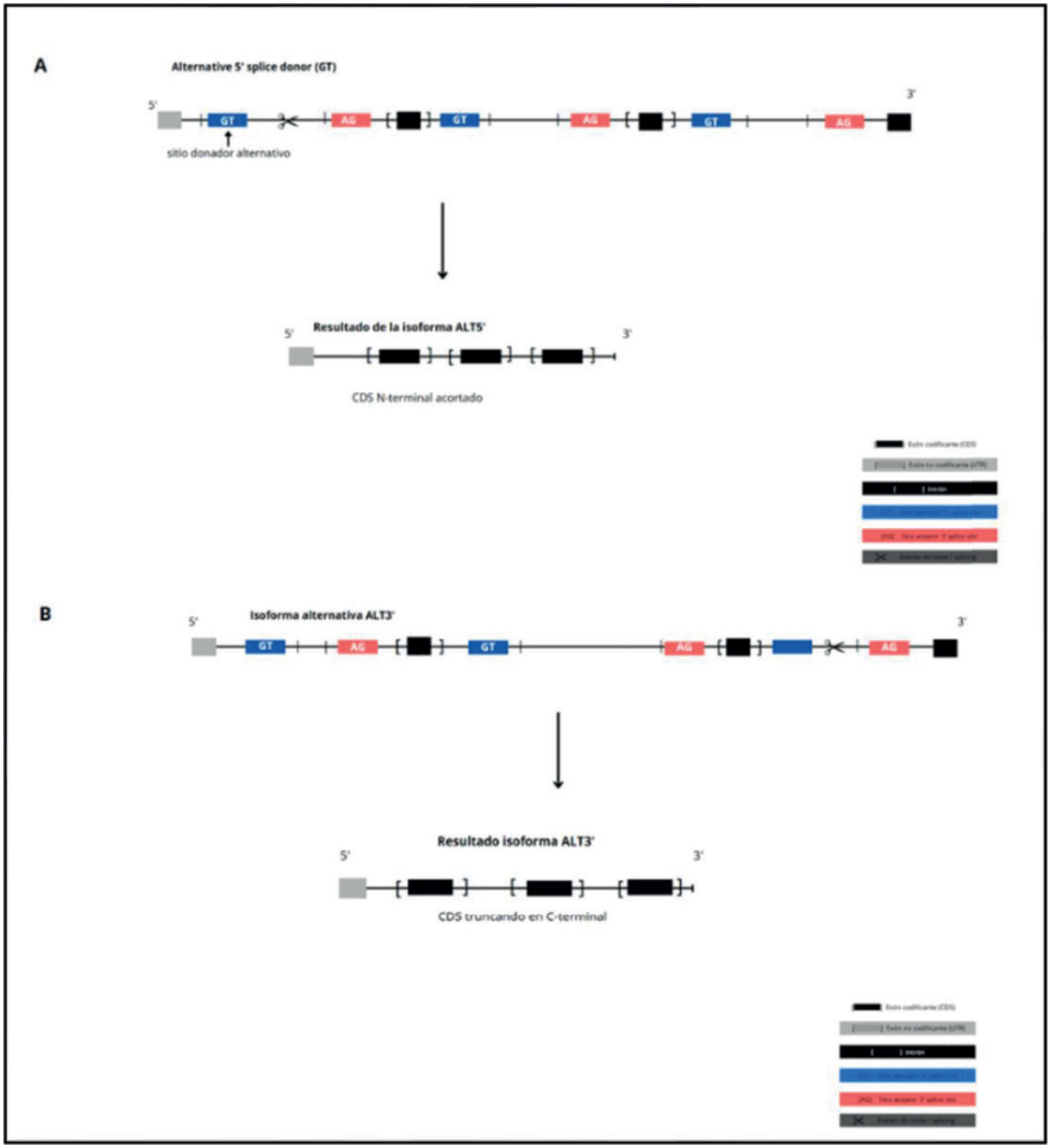


Figura 2. Variantes teóricas del gen *dsx* generadas mediante simulación de eventos de splicing alternativo. (A). Variante derivada de la modificación del extremo 5' del CDS. (B) Variante derivada de la modificación del extremo 3' del CDS.

La comparación cuantitativa entre las isoformas analizadas evidenció diferencias progresivas en longitud a nivel de CDS y proteína. El orden fue: RA base (1902 nt; 634 aa) > RB base (798 nt; 266 aa) > ALT5′-A′ (708 nt; 236 aa) > ALT3′-B (678 nt; 226 aa). Estos resultados indican que las variantes teóricas afectan principalmente regiones terminales del CDS sin comprometer la integridad del marco de lectura.

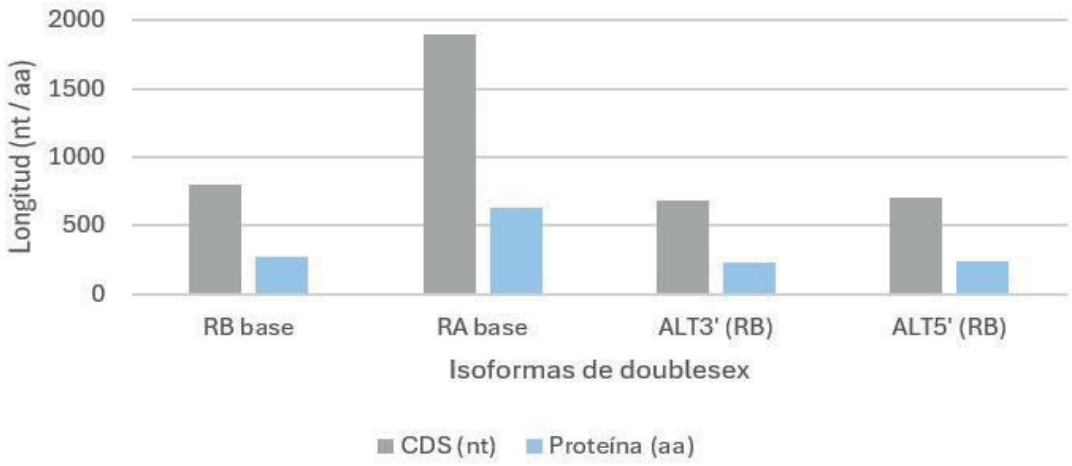


Figura 3. Comparación de las longitudes del CDS y de las proteínas predichas de las isoformas RA y RB del gen *dsx* y de las variantes teóricas ALT5'- A' y ALT3'-B derivadas de RB.

Se compararon las longitudes del CDS y de los productos proteicos predichos de las isoformas RA y RB del gen *doublesex* (*dsx*, AGAP004050), así como de las variantes teóricas ALT5′ y ALT3′ derivadas de RB. Se observaron diferencias en la extensión codificante entre RA y RB, y las variantes truncadas conservaron un marco de lectura íntegro, generando proteínas más cortas sin introducir cambios de fase (Figura 3).

DISCUSIÓN

La identificación de las isoformas AGAP004050-RA y RB en *A. gambiae* s.s. concuerda con el modelo clásico de determinación sexual, donde el gen *dsx* actúa como regulador terminal mediante *splicing* alternativo específico del sexo. Las diferencias en el número de exones y la longitud de la región codificante (1902 nt para RA y 798 nt para RB) demuestran arquitecturas transcripcionales distintas que impactan la composición del producto proteico. Este patrón es consistente con lo descrito previamente para la especie, donde los transcritos sexo-específicos conservan regiones centrales, pero difieren en segmentos terminales responsables de funciones regulatorias (Scali *et al.,* 2005). Asimismo, la correspondencia entre modelos génicos y productos traducidos confirmó marcos de lectura íntegros, evidenciando que la ausencia de un codón stop terminal responde a la convención de los archivos CDS FASTA y no a productos truncados, lo que refuerza la robustez del análisis. Desde una perspectiva funcional, la isoforma RB (femenina) presenta una organización coherente con la variante DSX-F. En *A. gambiae*, la integridad de esta isoforma es crítica para la diferenciación y fertilidad; por ello, alteraciones específicas en sus regiones codificantes pueden generar efectos poblacionales significativos (Kyrou *et al.*, 2018). Las variantes generadas mediante truncaciones controladas sugieren que las regiones terminales modulan la función del factor de transcripción sin comprometer su continuidad traduccional. Aunque son predicciones *in silico*, estas variantes respetan el principio biológico de generar diversidad funcional mediante la variación de extremos codificantes mientras se preservan los dominios centrales de unión al ADN y dimerización. En relación con la salud pública, el control vectorial mediante ITNs sigue siendo un pilar fundamental, complementado por herramientas como los cebos ATSB que reducen la densidad de vectores mediante alimentación inducida (Traore *et al.,* 2020; World Health Organization, 2025). Estrategias genéticas como las de Target Malaria buscan reducir la transmisión mediante la liberación de mosquitos modificados, con o sin *gene drives* (Target Malaria, s. f.). Dado que solo las hembras transmiten patógenos, la alteración de *dsx* es una línea de interés clave para reducir la proporción de hembras funcionales. Sin embargo, esta manipulación implica riesgos de bioseguridad: su alta sensibilidad funcional facilita una rápida reducción poblacional, pero también supone un riesgo de dispersión no intencionada y difícilmente reversible en poblaciones naturales (Kyrou *et al.*, 2018). Pese a la baja variabilidad observada en sitios de splicing clave (intrón 4/exón 5), la detección de SNPs sugiere que podrían surgir mecanismos de resistencia genética que afecten la estabilidad de estas intervenciones (Kientega *et al.*, 2024). Adicionalmente, la supresión de poblaciones de *A. gambiae* s.s. podría generar efectos ecológicos indirectos, como cambios en la competencia interespecífica o alteraciones en redes tróficas locales (Kormos *et al.*, 2023). Por tanto, el potencial de *dsx* debe valorarse junto a sus riesgos genéticos y regulatorios

(Connolly *et al*., 2023; James & Santos, 2023) bajo marcos éticos sólidos y alineados con la capacidad regulatoria local (Diéguez-Fernández *et al*., 2021), tal como se ha discutido en la República Dominicana para el control de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Colomé-Hidalgo & Vallejo Degaudenzi, 2024). Finalmente, al ser un análisis computacional, estos hallazgos deben interpretarse como una base conceptual que requerirá validación funcional y evaluación en condiciones de campo (Frieß *et al.,* 2023).

El análisis *in silico* del gen *dsx* (AGAP004050) en *A. gambiae* s.s. permitió caracterizar comparativamente las isoformas canónicas RA y RB, evidenciando diferencias en su arquitectura génica y en la extensión de sus regiones codificantes. Estos hallazgos indican que la diversidad funcional de *dsx* depende de una organización transcripcional sexo-específica que impacta directamente el producto proteico.

La concordancia entre los modelos génicos y las secuencias traducidas respaldó la integridad del marco de lectura de ambas isoformas, apoyando la confiabilidad del enfoque computacional utilizado. Además, la generación exploratoria de variantes teóricas de RB sugirió que modificaciones terminales pueden originar proteínas más cortas sin alterar dicho marco.

En conjunto, los resultados refuerzan la relevancia de *dsx* como regulador central de la determinación sexual y como posible diana molecular para estrategias de control genético del vector. No obstante, por tratarse de un estudio exclusivamente computacional, estas observaciones deben considerarse preliminares y requieren validación experimental y transcriptómica futura.

Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)

MB = Mabel Serrano

CM = Cheryl Marte

NG = Nasla Gomez

MCH = Manuel Colomé-Hidalgo

EF = Edian Franco

PMAE = Pedro María Alarcón-Elbal

AVD = Alejandro Vallejo-Degaudenzi

Conceptualization: MB, AVD

Data curation: CM

Formal Analysis: MB, CM

Funding acquisition: MB, CM, NG, MCH, EF, PMAE, AVD

Investigation: NG, MCH

Methodology: MS, AVD

Project administration: AVD

Resources: PMAE, AVD

Software: MS, CM

Supervision: EF, AVD

Validation: NG, MCH

Visualization: MSM, AVD

Writing – original draft: MS, AVD

Writing – review & editing: CM, EF

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beier, J. C., Keating, J., Githure, J. I., Macdonald, M. B., Impoinvil, D. E., & Novak, R. J. (2008). Integrated vector management for malaria control. *Malaria Journal, 7*(Suppl 1), S4.

Chikami, Y., Kawamoto, M., Toyoda, A., Katsuma, S., & Abe, H. (2022). Evolutionary history of sexual differentiation mechanisms in insects. *Molecular Biology and Evolution, 39*(7), msac145.

Colomé-Hidalgo, M., & Vallejo Degaudenzi, A. (2024). Uso de mosquitos genéticamente modificados para el control del dengue en la República Dominicana: análisis ético y regulatorio. *Ciencia, Ambiente y Clima, 7*, 11–29.

Connolly, J. B., Romeis, J., Devos, Y., Glandorf, D. C. M., Turner, G., & Coulibaly, M. B. (2023). Gene drive in species complexes: Defining target organisms. *Trends in Biotechnology, 41*, 154–164.

Diéguez-Fernández, L., Monzón-Muñoz, M. V., Juárez-Sandoval, J. A., Barrios-Barrios, D. Y., Barrientos-Juárez, M.E., Barrios, Y.H., Rodríguez-Sosa, M. A., Vásquez-Bautista, Y. E., & Alarcón-Elbal, P. M. (2021). Caracterización de la infestación de viviendas por tres especies de mosquitos (Diptera: Culicidae) de importancia médica en países de bajos y medios ingresos: recomendaciones para su control doméstico. *Ciencia y Salud, 5*, 49–66.

Frieß, J. L., Lalyer, C. R., Giese, B., Simon, S., & Otto, M. (2023). Review of gene drive modelling and impli-

cations for risk assessment of gene drive organisms. *Ecological Modelling, 478*, 110285.

James, S., & Santos, M. (2023). The promise and challenge of genetic biocontrol approaches for malaria elimination. *Tropical Medicine and Infectious Disease, 8*(4), 201.

Kientega, M., Morianou, I., Traoré, N., Kranjc, N., Kaboré, H., Zongo, O. N., Millogo, A. A., Epopa, P. S., Yao, F. A., Belem, A. M. G., Burt, A., & Diabaté, A. (2024). Genomic analyses revealed low genetic variation in the intron-exon boundary of the *doublesex* gene within the natural populations of *Anopheles gambiae* s.l. in Burkina Faso. *BMC Genomics, 25*, 1207.

Killeen, G. F., Fillinger, U., Kiche, I., Gouagna, L. C., & Knols, B. G. (2002). Eradication of *Anopheles gambiae* from Brazil: lessons for malaria control in Africa? *The Lancet Infectious Diseases, 2*, 618–627.

Kormos, A., Dimopoulos, G., Bier, E., Lanzaro, G. C., Marshall, J. M., & James, A. A. (2023). Conceptual risk assessment of mosquito population modification gene-drive systems to control malaria transmission: Preliminary hazards list workshops. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 11*, 126112.

Krzywinska, E., Ferretti, L., Li, J., Li, J. C., Chen, C. H., & Krzywinski, J. (2021). Femaleless Controls Sex Determination and Dosage Compensation Pathways in Females of *Anopheles* Mosquitoes. *Current Biology, 31*, 1084–1091.

Kyrou, K., Hammond, A. M., Galizi, R., Kranjc, N., Burt, A., Beaghton, A. K., Nolan, T., & Crisanti, A. (2018). A CRISPR–Cas9 gene drive targeting *doublesex* causes complete population suppression in caged *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Nature Biotechnology, 36*, 1062–1066.

Messenger, L. A., Furnival-Adams, J., Chan, K., Pelloquin, B., Paris, L., & Rowland, M. (2023). Vector control for malaria prevention during humanitarian emergencies: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health, 11*, e534–e545.

Price, D. C., Egizi, A., & Fonseca, D. M. (2015). The ubiquity and ancestry of insect *doublesex*. *Scientific Reports, 5*, 13068.

Scali, C., Catteruccia, F., Li, Q., & Crisanti, A. (2005). Identification of sex-specific transcripts of the *Anopheles gambiae doublesex* gene. *Journal of Experimental Biology, 208*, 3701–3709.

Sinka, M. E., Rubio-Palis, Y., Manguin, S., Patil, A. P., Temperley, W. H., Gething, P. W., Van Boeckel, T., Kabaria, C. W., Harbach, R. E., & Hay, S. I. (2010). The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Americas: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. *Parasites & Vectors, 3*, 72.

Target Malaria. (s.f.). *A Vector Control Research Alliance*. https://targetmalaria.org/

Traore, M. M., Junnila, A., Traore, S. F., Doumbia, S., Revay, E. E., Kravchenko, V. D., Schlein, Y., Arheart, K. L., Gergely, P., Xue, R. D., Hausmann, A., Beck, R., Prozorov, A., Diarra, R. A., Kone, A. S., Majambere, S., Bradley, J., Vontas, J., Beier, J. C., & Müller, G. C. (2020). Large-scale field trial of attractive toxic sugar baits (ATSB) for the control of malaria vector mosquitoes in Mali, West Africa. *Malaria Journal, 19*, 72.

Wexler, J. R., Plachetzki, D. C., & Kopp, A. (2019). Hemimetabolous insects elucidate the origin of sexual differentiation mechanisms. *eLife, 8*, e47490.

World Health Organization. (2021). *Global technical strategy for malaria 2016–2030, 2021 update*. Geneva: World Health Organization. https://www.who.int/publications/i/item/9789240031357

World Health Organization. (2025). *World malaria report 2025: Addressing the threat of antimalarial drug resistance*. Geneva: World Health Organization. https://www.who.int/publications/i/item/9789240117822

Received May 5, 2026.

Accepted May 29, 2026.