

## II.- INDICE GENERAL

I.- AGRADECIMIENTOS.....	2
II.- INDICE GENERAL.....	4
III.- INDICE DE FIGURAS.....	6
IV.- INDICE DE GRAFICAS.....	7
V.- RESUMEN.....	8
VI.- ABSTRACT.....	9
1.- INTRODUCCIÓN.....	10
1.1.- Antecedentes Generales.....	10
1.1.1.- Función y Composición de la Membrana Celular.....	11
1.1.2.- Canales Iónicos y Mecanismos de Transporte a través de la Membrana Celular.....	12
1.1.3.- Potencial de Membrana y Potencial de Acción.....	13
1.1.4.- Canales de Potasio ( $K^+$ ) Dependiente de Voltaje.....	15
1.1.4.1.- Filtro de selectividad.....	17
1.1.4.2.- Cavidad Interna y Compuerta de Apertura.....	19
1.1.4.3.- Sensor de Voltaje.....	20
1.2.- Antecedentes Específicos.....	21
1.2.1.- Conductancia.....	21
1.2.2.- Efectos de los mutantes P475D y P475Q en la conductancia del canal....	22
1.3.- Hipótesis.....	27
1.3.1.- Hipótesis Alternativa.....	27
1.4.- Objetivos.....	27
1.4.1.- Objetivos Generales.....	27
1.4.2.- Objetivos Específicos.....	28
2.- METODOLOGÍA.....	29
2.1.- Fundamento Teórico de los Métodos Computacionales.....	29
2.1.1.- Dinámica Molecular.....	29
2.1.2.- Algoritmo de HOLE.....	31

2.1.5.-	Potencial Electrostático (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver, APBS)...	33
2.2.-	Descripción de los Métodos Computacionales.....	35
2.2.1.-	Modelamiento Comparativo.....	35
2.2.1.1.-	Tetramerización del Canal <i>Shaker</i> .....	38
2.2.1.2.-	Incorporación de iones en el filtro de selectividad.....	39
2.2.2.-	Modelamiento del Sistema Molecular.....	40
2.2.2.1.-	Construcción del PSF (Protein Structure File).....	40
2.2.2.2.-	Adición de Membrana Lipídica.....	41
2.2.2.3.-	Adición de Caja de Solvente.....	41
2.2.2.4.-	Adición de Concentración Iónica.....	42
2.2.3.-	Simulación Molecular.....	43
2.2.3.1.-	Minimización Energética.....	44
2.2.3.1.-	Equilibrio Termodinámico.....	44
2.2.4.-	Validación de los Modelos.....	45
2.2.5.-	Cálculos de HOLE.....	45
2.2.6.-	Cálculos de PMF/APBS (Potential of Mean Force).....	45
2.2.7.-	Cálculos de Potencial Electrostático.....	46
2.2.8.-	Cálculos de Densidad Iónica.....	47
2.2.9.-	Representación Gráfica y Análisis Estadístico.....	47
3.-	RESULTADOS .....	48
3.1.-	Generación de Modelos Comparativos.....	48
3.2.-	Trayectorias de Dinámica Molecular.....	49
3.3.-	Análisis en la Validación de Modelos.....	51
3.4.-	Análisis con HOLE.....	53
3.5.-	Análisis de PMF/APBS.....	59
3.6.-	Análisis de Potencial Electrostático.....	61
3.7.-	Análisis de Densidad Iónica.....	63
4.-	DISCUSIÓN.....	64
5.-	CONCLUSIONES.....	69
6.-	REFERENCIAS.....	71
7.-	ANEXOS.....	76

### III.- INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Representación de la Membrana Celular.....	12
Figura 1.2: Estados conformaciones de un canal iónico.....	13
Figura 1.3: Estructura de la membrana de una fibra nerviosa.....	15
Figura 1.4: Representación de las subunidades $\alpha$ y $\beta$ de un canal Kv.....	16
Figura 1.5: Filtro de selectividad.....	17
Figura 1.6: Sitios de unión a iones $K^+$ .....	18
Figura 1.7: Cavidad Interna.....	19
Figura 1.8: Sensor de Voltaje.....	21
Figura 1.9: Alineamiento del segmento S6 de diferentes canales de $K^+$ .....	23
Figura 1.10: (A) Corriente Iónica v/s Voltaje en el canal <i>Shaker</i> .....	24
Figura 1.10: (B) Conductancia v/s Voltaje en <i>Shaker</i> .....	24
Figura 1.10: (C) y (D) Conductancia v/s Voltaje en distintas mutantes de <i>Shaker</i> .....	24
Figura 1.11: Sitio adicional de unión a $K^+$ .....	25
Figura 1.12: Sitios de unión a $K^+$ en el vestíbulo intracelular.....	26
Figura 2.1: Representación de un sistema molecular utilizando PBC.....	30
Figura 2.2: Radio máximo para el algoritmo de HOLE.....	31
Figura 2.3: Planos paralelos en el algoritmo de HOLE.....	32
Figura 2.4: Campo Eléctrico.....	33
Figura 2.5: Representación del Potencial Electrostático.....	35
Figura 2.6: (A) Construcción de loops con Rosetta.....	36
Figura 2.6: (B) Modelo estructural de Kv1.2 en su conformación abierta y cerrada....	36
Figura 2.7: Alineamiento usado en el modelamiento comparativo.....	37
Figura 2.8: Tetramerización del canal de $K^+$ <i>Shaker</i> .....	38
Figura 2.9: Distribución de iones propuesta por Morais-Cabral.....	39
Figura 3.0: Membrana Lipídica POPC.....	41
Figura 3.1: Caja de Solvente.....	42
Figura 3.2: Distribución Iónica a 110mM de KCl.....	43
Figura 3.3: Representación Implícita de la Membrana y la caja de Solvente.....	46

Figura 3.4: Densidad de Iones en Poro.....	47
Figura 4.0: Modelos comparativos del canal de K <sup>+</sup> <i>Shaker</i> .....	48
Figura 4.1: Simulación del canal <i>Shaker</i> en condiciones fisiológicas. ....	49
Figura 4.2: Superficie de HOLE del Poro Iónico ( <i>Shaker_Closed</i> ).....	54
Figura 4.3: Superficie de HOLE del Poro Iónico (P475D_Closed).....	55
Figura 4.4: Superficie de HOLE del Poro Iónico ( <i>Shaker_Open</i> ).....	56
Figura 4.5: Superficie de HOLE del Poro Iónico (P475D_Open).....	57
Figura 4.6: Superficie de HOLE del Poro Iónico (P475Q_Open).....	58
Figura 4.7: Poro Iónico de mutante P475D en estado abierto.....	59
Figura 4.8: Mapas de Potencial Electrostático.....	62
Figura 4.9: Sitio S6 de unión a potasio.....	63

#### IV.- INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.0: Energía de Minimización v/s Time Step.....	50
Gráfica 1.1: Energía de Equilibrado v/s Time Step.....	50
Gráfica 1.2: Energía de Equilibrado v/s Time Step.....	51
Gráfica 2.0: Perfil de Energía DOPE v/s Residuo ( <i>Shaker_Open</i> ).....	52
Gráfica 2.1: Perfil de Energía DOPE v/s Residuo ( <i>Shaker_Closed</i> ).....	53
Gráfica 3.0: Radio del Poro Iónico v/s Eje Z ( <i>Shaker_Closed</i> ).....	54
Gráfica 3.1: Radio del Poro Iónico v/s Eje Z (P475D_Closed).....	55
Gráfica 3.2: Radio del Poro Iónico v/s Eje Z ( <i>Shaker_Open</i> ).....	56
Gráfica 3.3: Radio del Poro Iónico v/s Eje Z (P475D_Open).....	57
Gráfica 3.4: Radio del Poro Iónico v/s Eje Z (P475Q_Open).....	58
Gráfica 4.0: Energía Electrostática de Unión v/s Coordenada de Reacción.....	60
Gráfica 4.1: $\Delta\Delta G$ de Unión v/s Coordenada de Reacción.....	60
Gráfica 5.0: Diferencia de Potencial Electrostático respecto a la wildtype v/s Eje Z....	61
Gráfica 6.0: Densidad Iónica v/s Eje Z.....	63