



CARACTERIZACIÓN DEL ROL DEL RESIDUO F380 EN LA CONDUCTANCIA A TRAVÉS DEL CANAL DE POTASIO *hSlo*.

VALERIA OLIVIA MÁRQUEZ MIRANDA
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA

RESUMEN

Dentro de los canales de potasio, los canales dependientes de voltaje y de calcio intracelular se caracterizan por presentar una alta conductancia, que en el caso del canal de potasio humano *hSlo* alcanza los 250 pS. Además, todos los canales de potasio presentan los mismos residuos en el filtro de selectividad, siendo indispensables en el reconocimiento del K^+ sobre el Na^+ .

Estudios en el canal de potasio humano dependiente de voltaje y de calcio intracelular *hSlo* indicarían que un residuo en el vestíbulo intracelular del canal, F380, tiene un rol crítico en la cinética de activación del canal. Mutaciones del residuo a sus equivalentes en canales de menor conductancia, *Shaker* y *herg* demuestran que la conductancia de *hSlo* disminuye notablemente en ambos casos. La mutación a F380Y, el equivalente en *herg*, disminuye incluso la dependencia de calcio. Siguiendo en esta línea, se realizaron estudios enfocados en la caracterización de la función del residuo F380 en la conductancia a través del canal de potasio *hSlo*, realizando comparaciones con el canal mutante F380A. Para el desarrollo de estos estudios, se efectuaron simulaciones usando el método *Adaptive Biasing Force* (ABF); técnica basada en la integración termodinámica, para obtener finalmente un perfil de energía libre a lo largo de una coordenada de reacción, o PMF. Los resultados muestran que el gasto energético que implica el paso del ión K^+ a través del poro es menor, y por lo tanto más favorable, en el canal *hSlo* que en el canal mutante F380A. El anillo de fenilalaninas del canal silvestre resulta ser crítico para la desolvatación del ión K^+ antes de su ingreso al filtro de selectividad. Este proceso de desolvatación permite que el ión no enfrente una barrera energética antes de su llegada al filtro; una situación que si ocurre en el canal mutante.

Palabras claves : Canal de Potasio, ABF, *hSlo*.

ABSTRACT

Within potassium channels family, large conductance, voltage-dependent, and Ca^{2+} -sensitive K^+ channels are distinguished to show large conductance; in case of human potassium channel *hSlo* reaches 250 pS. Moreover, all potassium channels have the same residues in selectivity filter, being essential in recognition of K^+ over Na^+ . Studies about human voltage-dependent and Ca^{2+} -sensitive K^+ channel, *hSlo*, should indicate that a residue in the intracellular cavity of the pore, F380, has a critical role determining the activation kinetics of this channel. Mutations of F380 to its equivalent ones in low-conductance channels, Shaker and *herg*, showed that the *hSlo* conductance has remarkably reduced in both of them. F380Y channels, the equivalent one in *herg*, even reduces calcium dependence. Following this way, studies about descriptions of residue F380 in conductance through *hSlo* potassium channel were made, making comparisons with F380A mutant channel. For developing this studies, simulations using Adaptive Biasing Force (ABF) method, based in thermodynamic integration, were carried out, to get finally a free energy profile through reaction coordinate, or PMF. The results show that, the energy-consuming involved in going the K^+ ion past through the pore is lower, and therefore more favorable, in *hSlo* channel than in F380A mutant channel. The ring of phenylalanines of the wild type channel results to be critical for K^+ ion desolvation, before its entry in selectivity filter. This desolvation process allows K^+ ion does not confront an energy barrier, before its arrival to the filter; a situation that happens in F380A mutant channel.