

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE CONTENIDOS	1
INDICE DE TABLAS	3
INDICE DE FIGURAS	4
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
a. Regulación de los hemicanales de conexinas mediada por Ca^{2+}	12
b. Regulación de los hemicanales mediada por ácidos grasos insaturados.....	17
c. Hemicanal Cx46 homomérico.....	18
HIPÓTESIS	20
OBJETIVOS	20
a. Objetivo general	20
b. Objetivos específicos.....	20
MATERIALES Y METODOS	21
a. Uso de servidor AFAL para detección de residuos en sitio de unión a Ca^{2+} y AL 21	
b. Modelamiento comparativo de conexina 46	21
c. Herramientas de evaluación para modelos:	23
<input type="checkbox"/> RMSD.....	23
<input type="checkbox"/> Gráficos de Ramachandran	24
<input type="checkbox"/> HOLE	24
d. Minimización de energía y construcción del sistema para dinámica molecular (DM).....	25
e. Equilibrio termodinámico y dinámica molecular (DM) del sistema.....	26
f. Identificación de posible sitio de unión a Ca^{2+}	28
g. Detección sitio de unión de AL a Cx46.....	29
<input type="checkbox"/> Docking molecular para el estudio de la unión de AL a Cx46	29
<input type="checkbox"/> Simulación molecular	31
RESULTADOS.....	32

a.	Uso de servidor AFAL para detección de residuos en sitio de unión a Ca^{2+} y AL	32
	<input type="checkbox"/> AFAL para detectar residuos que modulan Ca^{2+}	32
	<input type="checkbox"/> AFAL para detectar residuos que se unen a AL.....	33
b.	Modelamiento comparativo.....	38
c.	Minimización de energía.....	43
d.	Dinámica Molecular con Ca^{2+}	46
	<input type="checkbox"/> Análisis de posibles interacciones de hemicanal de Cx46 con Ca^{2+}	51
	<input type="checkbox"/> Calculo de potencial electrostático	52
e.	Detección sitio de unión a AL	55
	<input type="checkbox"/> Docking Molecular de AL en Cx46	55
	<input type="checkbox"/> Dinámica Molecular con ácido linoleico.....	56
	<input type="checkbox"/> Análisis interacción de hemicanal de Cx46 con AL.....	62
	<input type="checkbox"/> Enlaces de hidrógeno.....	65
	DISCUSIÓN	66
	CONCLUSIÓN	73
	REFERENCIAS.....	74
	ANEXOS	81

INDICE DE TABLAS

1. Valor de RMSD para modelo construido.....	40
2. Estadísticas del gráfico de Ramachandran de los modelos.....	41
3. Valores RMSD modelo minimizado.....	44
4. Estadísticas gráficos Ramachandran para estructura de primer y último paso de la minimización	45
5. Estadísticas gráficos Ramachandran para estructura de primer y último paso de la simulación de dinámica molecular	49
6. Estadísticas gráfico Ramachandran para estructura del hemicanal después de la dinámica.....	60
7. Interacción enlaces hidrógeno entre hemicanal y ácido linoleico.....	65

INDICE DE FIGURAS

1. Representación esquemática de un canal de unión en hendidura o unión gap	9
2. Modelo topológico de una conexina	10
3. Curva de respuesta a concentración de Ca^{2+} de hemicanal de conexina 32 y sus mutantes.....	13
4. Los residuos D50 y K61 están acoplados de una manera sensible a Ca^{2+} en el hemicanal Cx26.....	14
5. Posible interacción de puente salino entre las posiciones D50 y K61 en la conformación abierta.....	15
6. Facilitación de corriente del hemicanal Cx46 afectada por la concentración de Ca^{2+} extracelular.....	16
7. Hemicanal Cx46 modulado por ácido linoleico.....	17
8. Secuencia aminoacídica de Cx46 de <i>Rattus norvegicus</i>	19
9. Frecuencia de aminoácidos cercanos a ión Ca^{2+}	32
10. Gráfico de porcentaje de ocurrencia de aminoácidos en distintos pdb	33
11. Representación de interacción AL con residuos de LAH.....	34
12. Representación de interacción AL con residuos de la proteína Arac	35
13. Representación de interacción AL con residuos de betalactoglobulina.....	36
14. Representación de interacción AL con residuos de la ciclooxigenasa	37
15. Alineamiento de secuencia de Cx46 contra PDB	38
16. Estructura general y monómero de Cx26	39
17. Gráfico de Ramachandran para el modelo del HC de Cx46.....	41
18. Comparación de los diámetros de los poros de hemicanal de Cx26 y Cx46.....	42
19. Energía de minimización para modelo de Cx46	43
20. RMSD del modelo construido a lo largo de la minimización.....	44

21. Gráficos de Ramachandran para modelo antes y después de la minimización ..	45
22. Gráfico de energía durante la trayectoria de DM.....	47
23. Gráfico de temperatura durante la trayectoria de DM	47
24. Gráfico de presión durante la trayectoria de DM.....	48
25. RMSD del modelo de HC de conexina 46 durante trayectoria de DM.....	48
26. Gráficos de Ramachandran para modelo antes y después de simulación de dinámica molecular	49
27. Variación del diámetro del poro de hemicanal Cx46 durante la trayectoria.....	50
28. Interacciones de Ca^{2+} con residuos de GLU y ASP	51
29. Representación gráfica de hemicanal de Cx46 y su interacción con Ca^{2+}	52
30. Representación de potencial electrostático de hemicanal de Cx46 antes de la dinámica.....	53
31. Representación de potencial electrostático de hemicanal de Cx46 después de la dinámica.....	54
32. Interacción ácido linoleico con hemicanal de Cx46.....	55
33. Gráfico de energía durante la trayectoria de DM con AL	57
34. Gráfico de temperatura durante la trayectoria de DM con AL	58
35. Gráfico de presión durante la trayectoria de DM con AL.....	58
36. RMSD del modelo de HC de conexina 46 durante trayectoria de DM con AL.....	58
37. Gráficos de Ramachandran para modelo antes y después de simulación de dinámica molecular	59
38. Variación del diámetro del poro de hemicanal Cx46 durante la simulación de dinámica molecular con AL	61
39. Interacción de residuos con AL a lo largo de la trayectoria de simulación de dinámica molecular	62
40. Representación gráfica de hemicanal de Cx46 y su interacción con AL.....	63

41. Representación gráfica de la cadena B del hemicanal de Cx46 y su interacción con su AL correspondiente.....	63
42. Distribución de los 6 ácidos linoleicos al finalizar la simulación de dinámica molecular.....	64
43. Alineamiento entre las secuencias de hemicanal de conexina 32 y 46.....	69
44. Alineamiento entre las secuencias de hemicanal de conexina 26 y 46.....	69