

Índice

Abstract	4
Resumen	5
1. Introducción	6
2. Hipótesis	15
3. Objetivos	15
3.1. Objetivo general	15
3.2. Objetivos específicos	15
4. Materiales y Métodos	16
4.1. Ensamble sistema Kv1.2/CTX	16
4.2. Protocolo y ejecución de simulaciones de dinámicas moleculares	17
4.2.1. Preparación del protocolo de constraints durante equilibrado del complejo Shaker/CTX	18
4.2.2. Variables colectivas para equilibrar el complejo Shaker/CTX	19
4.2.3. Campo eléctrico externo y dinámicas de producción	20
4.3. Análisis y evaluación de cálculos de simulación de dinámicas moleculares	21
4.3.1. Caracterización interacciones toxina-canal	21
4.3.2. Análisis estados de transición	22
4.3.3. Modelado de rutas de disociación	23
5. Resultados y discusión	25
5.1. Ensamble de los sistemas, equilibrado y aplicación de potencial eléctrico.	25
5.1.1. Evaluación estructural del ensamble del sistema	25
5.2. Análisis comparativo de los sistemas utilizando distintos voltajes	26
5.2.1. Dinámicas moleculares utilizando 0.5 y 1 V	26
5.2.2. Aplicación de voltajes cercanos a 2V	28
5.2.3. Despegue de caribdotoxina desde el poro del canal	30
5.2.3.1. Distancias entre pares críticos versus el voltaje	32
5.3. Transiciones, cálculos de energía e interacciones que determinan el bloqueo	33
5.3.1. Cálculo de energía para 0.5 y 1V	35
5.4. Eventos de permeación	37
5.5. Modelado ruta de disociación	41
6. Conclusiones y proyecciones	45
Referencias	47
Anexos	53

Índice de figuras

Figura 1: Representación de la cantidad de artículos publicados entre los años 2008-2020 referentes a las búsquedas.	7
Figura 2: Tipos de inhibición toxina-canal.	8
Figura 3: (A) Estructura caribdotoxina (CTX).	10
Figura 4: (A) Vista frontal y (B) superior del complejo CTX/Kv1.2.	11
Figura 5: Bloqueo CTX/Shaker.	12
Figura 6: Residuos aminoácidos que forman parte de CTX e interactúan en la superficie del canal.	13
Figura 7: Sistema de estudio en membrana lipídica.	14
Figura 8: Esquema general de la metodología a utilizar para el desarrollo del proyecto.	16
Figura 9: Funciones y variables descritas para el cálculo de energía potencial utilizadas por modelos de campos de fuerza	17
Figura 10: Protocolo de minimización y equilibrado utilizado para el sistema Shaker/CTX.	19
Figura 11: Esquema contacto.	22
Figura 12: (A) Esquema para recopilar y transformar información siguiendo principios de cadenas de Markov. (B) Esquema que representa posibles rutas de disociación.	24
Figura 13: Sistema ensamblado.	25
Figura 14: Gráfico RMSD versus tiempo de equilibrado (~60 ns).	26
Figura 15: Análisis estructural de caribdotoxina aplicando 0, 0.5 y 1 volt.	28
Figura 16: Análisis estructural de caribdotoxina aplicando 1.2 y 1.3 V.	30
Figura 17: Comportamiento pares críticos en unión del complejo a voltajes: 0 (Control), 0.5, 1, 1.2 y 1.3 V.	31
Figura 18: Distancias entre residuos críticos en CTX y su respectivo par en Shaker en distintas condiciones de voltaje.	33
Figura 19: Heatmap de las transiciones entre contacto y desacople de pares.	34
Figura 20: Residuos críticos en caribdotoxina que podrían ser determinantes en el proceso de disociación.	36
Figura 21: Desocupación del sitio S1.	38
Figura 22: Eventos de permeación en distintas condiciones de voltaje.	39
Figura 23: Efecto de caribdotoxina sobre eventos de permeación por microsegundo.	40
Figura 24: Comparación de réplicas a 1 V con diferente concentración de KCl (normalizado por microsegundo).	41
Figura 25: Probabilidades para adoptar cada uno de los microestados a 0.5 V.	43
Figura 26: Probabilidades para adoptar cada uno de los microestados a 1 V.	44

Índice de Tablas

Tabla 1: Distancias reportadas para cada par de aminoácidos (en código de una letra) que interactúan en la interfaz toxina-canal, extraídas desde el cristal PDB ID: 4JTA.	20
Tabla 2: Umbral calculado para cada par.	34
Tabla 3: Cálculo de energía para 0.5 y 1 V basado en probabilidades.	35
Tabla 4: Número de eventos de permeación por condición de voltaje con su respectiva duración de simulación y promedio.	39
Tabla 5: Microestados de las trayectorias a 0.5 y 1 V.	42
Tabla Anexo 1: Matriz de conteo de transiciones para 0.5 V.	53
Tabla Anexo 2: Matriz de conteo de transiciones para 1 V.	56