



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**Trabajo de fin de Carrera titulado:**

**Análisis de la Interfaz de interacción de la Calmodulina con su dominio de unión en las isoformas de Ca<sup>2+</sup>-ATPsas de membrana plasmática en humano**

**Realizado por:**

Esteban Nicolás Lizano Meléndez

**Director del proyecto:**

**José Rubén Ramírez-Iglesias , Miguel Martínez-Fresneda Mestre**

**Como requisito para la obtención del título de:**

**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

QUITO, 15 de Septiembre del 2025

## DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, ESTEBAN NICOLAS LIZANO MELENDEZ, ecuatoriano, con Cédula de ciudadanía N° 1803403821, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido presentado anteriormente para ningún grado o calificación profesional, y se basa en las referencias bibliográficas descritas en este documento.

A través de esta declaración, cedo los derechos de propiedad intelectual a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido en la Ley de Propiedad Intelectual, reglamento y normativa institucional vigente.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Esteban', written over a horizontal dashed line.

ESTEBAN NICOLAS LIZANO MELENDEZ

C.I.: 1803403821

## **DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS**

Declaramos haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.

-----  
PhD. JOSE RUBEN RAMIREZ IGLESIAS

C.I.: 3050666993

-----  
PhD. MIGUEL MARTINEZ-FRESNEDA

C.I.: 1756577043

**LOS PROFESORES INFORMANTES:**

JUAN CARLOS NAVARRO CASTRO

MANUEL ANDRES HERRERA YELA

Después de revisar el trabajo presentado lo han calificado como apto para su defensa oral ante el tribunal examinador.



---

JUAN CARLOS NAVARRO CASTRO

C.I.:1757166614

---

MANUEL ANDRES HERRERA YELA

C.I.: 1715315428

Quito, 15 de Septiembre de 2025

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Esteban', is written above a horizontal dashed line. The signature is cursive and stylized.

ESTEBAN NICOLAS LIZANO MELENDEZ

C.I.: 1803403821

## **Análisis de la Interfaz de interacción de la Calmodulina con su dominio de unión en las isoformas de Ca<sup>2+</sup>-ATPasas de membrana plasmática en humanos**

**Resumen:** El calcio intracelular (Ca<sup>2+</sup>) actúa como un segundo mensajero esencial en múltiples procesos fisiológicos, por lo que su regulación precisa es vital para evitar toxicidad celular. Las ATPasas de Ca<sup>2+</sup> de membrana plasmática (PMCA) cumplen un papel central en esta regulación, moduladas funcionalmente por su interacción con la calmodulina (CaM). En este estudio se caracterizó la interfaz de interacción CaM-PMCA en diferentes isoformas humanas, evaluando tanto mutaciones previamente descritas (G→D, V→F, W→A), como nuevas mutaciones propuestas (R→S, F→L) localizadas en el dominio de unión a CaM (CaMBD).

Las isoformas y sus variantes alternativas fueron identificadas a partir de GenBank, modelando sus dominios de interacción mediante AlphaFold y PEP-FOLD4. Posteriormente, se realizaron acoplamientos moleculares con la estructura de referencia 2kne y se calcularon los valores de energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) usando FoldX. Se observó que algunas mutaciones previamente asociadas a patologías reducen significativamente la estabilidad del complejo CaM-PMCA, validando la sensibilidad del sistema de modelado. Las nuevas mutaciones evaluadas mostraron también variaciones importantes en la afinidad del CaMBD por la CaM, especialmente R→S en las isoformas PMCA1a y PMCA4b, y F→L en PMCA3a, lo que sugiere que estas modificaciones podrían alterar la regulación del transporte de Ca<sup>2+</sup> en tejidos sensibles como el sistema nervioso o muscular.

Los modelos generados evidencian cómo diferencias locales en el CaMBD entre isoformas influyen en su respuesta ante mutaciones puntuales, permitiendo predecir efectos diferenciales en la interacción con la CaM. Esta estrategia metodológica robusta combina predicciones estructurales, simulaciones de acoplamiento y cálculos energéticos, lo que permite anticipar alteraciones en la función de la PMCA que podrían desencadenar disfunciones celulares o sistémicas. Estos hallazgos constituyen un aporte clave para comprender el impacto estructural y funcional de mutaciones en la homeostasis del Ca<sup>2+</sup> y su relación con enfermedades humanas.

**Palabras clave:** Ca<sup>2+</sup>; CaM; PMCA; CaMBD; modelado estructural; acoplamiento molecular; energía libre de Gibbs; mutaciones patológicas; predicción funcional.

## **Analysis of the Interaction Interface of Calmodulin with Its Binding Domain in Human Plasma Membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase Isoforms**

**Abstract:** Intracellular calcium (Ca<sup>2+</sup>) plays a key role as a second messenger in numerous physiological processes; therefore, its precise regulation is essential to prevent cellular toxicity. Plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPases (PMCAs) are central to this regulation and are functionally modulated through their interaction with calmodulin (CaM). This study characterizes the CaM–PMCA interaction interface across different human isoforms, evaluating both previously described mutations (G→D, V→F, W→A) and novel point mutations (R→S, F→L) located within the calmodulin-binding domain (CaMBD).

Isoforms and splice variants were retrieved from GenBank, and the CaMBD structures were modeled using AlphaFold and PEP-FOLD4. Molecular docking was performed using the 2kne structure as a reference, and binding free energy values ( $\Delta G$ ) were calculated using FoldX. Known mutations associated with pathology showed a significant decrease in CaM–PMCA complex stability, validating the sensitivity of the modeling system. Novel mutations also produced relevant changes in CaM binding affinity, particularly R→S in PMCA1a and PMCA4b, and F→L in PMCA3a, suggesting their potential to disrupt calcium transport regulation in sensitive tissues such as the nervous or muscular systems.

The generated models reveal that local differences in CaMBD across isoforms impact their susceptibility to point mutations, allowing differential predictions of binding behavior. This robust methodological approach combines structural modeling, molecular docking, and energetic calculations to anticipate alterations in PMCA function that may lead to cellular or systemic dysfunction. These findings offer important insights into the structural and functional consequences of PMCA mutations in the context of Ca<sup>2+</sup> homeostasis and human disease.

**Keywords:** calcium homeostasis; CaM; PMCA; CaMBD; structural modeling; molecular docking; Gibbs free energy; point mutations; functional prediction.