

RESUMEN

La cristalografía de rayos X es una potente técnica para la resolución de la estructura atómica de macromoléculas. La información generada, tiene gran impacto sobre diferentes campos relacionados con la investigación básica y aplicada, como son la biomedicina y diseño de fármacos, al igual que en el desarrollo de aplicaciones nanotecnológicas y biotecnológicas. Esta Tesis se centra en determinadas problemáticas actuales y en las proteínas involucradas en las mismas (TryR, eEF1A2 y CBDP35), siendo éstas sujeto de desarrollo biotecnológico en los campos de la biomedicina, farmacia y de la industria alimentaria, en el que la cristalografía de rayos X juega un papel crucial para dilucidar sus estructuras atómicas y funciones.

En consideración a la biomedicina y diseño de fármacos, hemos resuelto la estructura de la Tripanotión reductasa (TryR) de *Leishmania infantum* en complejo con potentes inhibidores de su actividad oxidorreductasa, con potencial de desarrollo como fármacos. Así, se ha caracterizado la unión y mecanismo de acción de éstos inhibidores. TryR es una reconocida diana farmacológica para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, la Tripanosomiasis Humana Africana y la leishmaniosis, ya que desempeña un papel crucial y esencial en el metabolismo redox de los parásitos de la familia *Trypanosomatidae*. Además, se han analizado los parámetros de cristalización y difracción de novedosos inhibidores de la dimerización de TryR, cuyo diseño racional se basa en la unión a la interfaz de dimerización de la misma.

La oncoproteína eEF1A2, involucrada en múltiples funciones celulares y sujeto de numerosas modificaciones post-traduccionales, se une al fármaco anticancerígeno plitidepsina. La cristalografía de rayos X, combinada con experimentos de espectrometría de masas, se han utilizado como herramientas para identificar nuevas modificaciones post-traduccionales y características estructurales en eEF1A2:GDP. Una modificación única, la adición de etanolamina fosfoglicerol (EPG) a aminoácidos conservados (Glu301 y Glu374 en mamíferos), se ha observado aquí por primera vez. El análisis estructural de estos hallazgos facilita la comprensión de las múltiples funciones y regulaciones de eEF1A2. La adquisición de una muestra conformacionalmente homogénea de eEF1A2:GTP, necesaria para la unión a la plitidepsina, ha sido evaluada en ensayos de cristalización del complejo terciario de eEF1A2: GTP: plitidepsina.

Con respecto al dominio de unión a la pared celular de la endolisina PlyP35 codificada por el fago P35 de *Listeria monocytogenes* (CBDP35), hemos resuelto la estructura cristalina de CBDP35 en un complejo con ácido teicoico natural de *L. monocytogenes* serovar 1/2a. Esta estructura es el primer módulo de unión a la pared celular en complejo con ácidos teicoicos jamás dilucidado. El análisis estructural reveló los principales determinantes para la unión de la pared celular bacteriana, en particular, el mecanismo molecular del reconocimiento de N-acetil-d-glucosamina, una decoración de carácter glicosídico en ácidos teicoicos de serovares patógenos

de *L. monocytogenes*. Estos hallazgos arrojan luz sobre el desarrollo biotecnológico de nuevas herramientas en la industria alimentaria y las terapias derivadas de fagos para detectar y tratar infecciones bacterianas.