

Resumen

El ensamblaje de ribosomas es uno de los procesos más importantes y costosos energéticamente en una célula eucariota. A pesar de ello, se sabe relativamente poco acerca de la gran mayoría de los eventos y factores implicados en la síntesis de las subunidades ribosomales. La maduración de ribosomas comprende numerosos pasos de procesamiento del rRNA que requieren la asociación y disociación de más de doscientos factores de ensamblaje. Esas proteínas establecen una compleja red de interacciones que son esenciales para que el proceso pueda llevarse a cabo. Los estudios realizados en *Saccharomyces cerevisiae* han permitido la identificación de algunas correlaciones genéticas y funcionales entre los factores prerribosomales. Es el caso del heterotrímero formado por Nop7, Erb1 e Ytm1 (complejo PeBoW en mamíferos), que es imprescindible para la correcta formación de la subunidad 60S. La ausencia de cualquiera de las tres proteínas es inviable y también se conocen ciertas variantes truncadas que alteran el procesamiento del rRNA 27SA₂ y de este modo afectan la proliferación celular. Se ha demostrado que Nop7 y Erb1 se asocian al rRNA y que su reclutamiento al pre60S ocurre antes de la unión a Ytm1. Además se sabe que el trímero tiene que separarse de la partícula prerribosomal emergente con el fin de favorecer su maduración. A pesar de su gran relevancia en la célula, no está claro el papel exacto del complejo PeBoW y tampoco se dispone de conocimientos suficientes acerca de las interacciones intermoleculares que lo mantienen.

Durante el desarrollo de este proyecto se ha llevado a cabo un exhaustivo análisis bioquímico y estructural del trímero Nop7/Erb1/Ytm1 procedente de *S. cerevisiae* y del hongo termófilo *Chaetomium thermophilum*. En este trabajo hemos sido capaces de reconstituir el complejo estable *in vitro* que posteriormente se ha utilizado en los ensayos de cristalización, con los que hemos podido resolver la estructura del dominio carboxi-terminal de Erb1 de levadura, cuyo plegamiento corresponde a una hélice enrollada (*β-propeller*) de siete hojas. Gracias a la información estructural, hemos demostrado que esa parte de la proteína es capaz de unir RNA *in vitro*, lo que puede ser una propiedad importante para su función. Además, a pesar de los estudios anteriores que sugerían que la hélice enrollada de Erb1 no era esencial en la biogénesis del ribosoma, hemos resuelto la estructura cristalina de la proteína Ytm1 unida al dominio C-terminal de Erb1 de *C. thermophilum*. Ese descubrimiento nos ha permitido redefinir las interacciones macromoleculares que mantienen el complejo. Inicialmente hemos confirmado que el extremo amino-terminal de Nop7 interactúa con Erb1. A continuación, hemos demostrado que el dominio WD40 de Ytm1 se une al *β-propeller* de Erb1 con una buena afinidad. Después de un detallado análisis de la superficie involucrada en la formación del dímero, hemos sido capaces de diseñar una variante mutada de Erb1 que se asocia más débilmente con Ytm1. Los hallazgos estructurales y biofísicos se han confirmado *in vivo* usando *S. cerevisiae* donde hemos demostrado que una mutación puntual que disminuye la afinidad de unión entre los dominios C-terminales de Erb1 e Ytm1 manifiesta un efecto negativo sobre el crecimiento de levadura porque interfiere con la síntesis de 60S. Nuestros resultados establecen un buen ejemplo de una superficie conservada involucrada en interacciones proteína-proteína, que podría considerarse una buena diana para inhibir la proliferación celular eucariota.