

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Caracterización estructural de proteínas involucradas en la respuesta inmune

Investigador Principal 1: SERGIO MARTÍNEZ RODRÍGUEZ
(sergio@ugr.es)

Centro de Trabajo: DPTO. DE BIOQUÍMICA Y BIOL. MOLEC. III E INMUNOL. UGR

Investigador Principal 2: JOSE ANTONIO GAVIRA GALLARDO
(jgavira@iact.ugr-csic.es)

Centro de Trabajo: LABORATORIO DE ESTUDIOS CRISTALOGRAFICOS. CSIC.

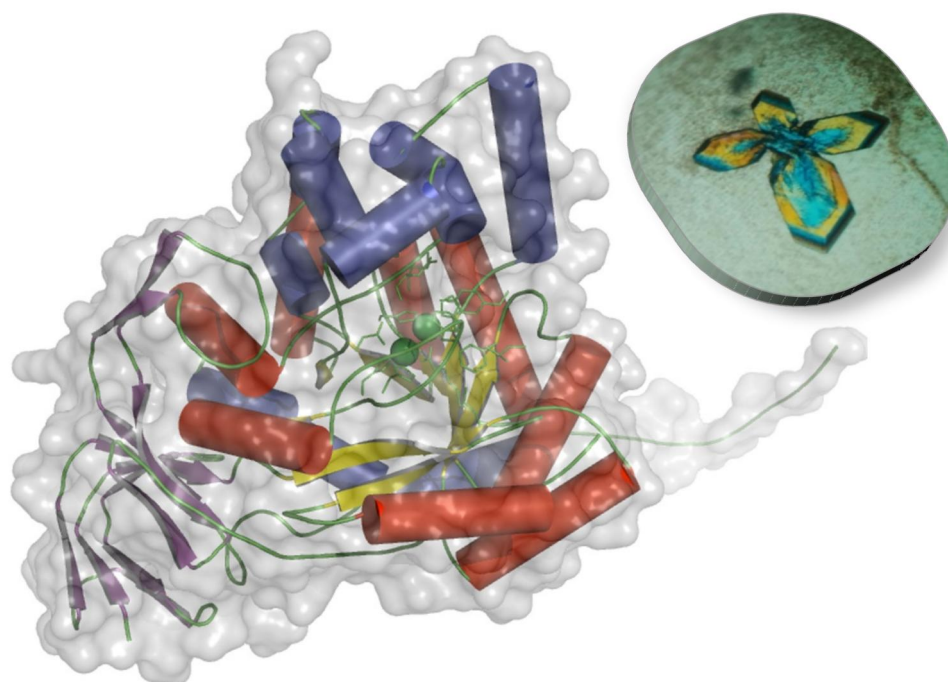
Resumen línea de investigación

Las células se comunican entre sí a través de una serie de receptores en la superficie celular que reconocen y unen moléculas presentes en el ambiente extracelular. Como ejemplo, la unión de antígenos a los receptores de los linfocitos T y B producen la activación de cascadas señalizadoras intracelulares que alteran el comportamiento celular, pudiendo desembocar en la activación, inactivación o incluso desembocar en la muerte celular. En dichas cascadas señalizadoras que se activan o desactivan durante la respuesta inmune, intervienen muchas proteínas aún sin caracterizar, o en las que no se conocen todas las interacciones proteína-proteína o proteína-ADN existentes. Entre los dominios de proteínas involucrados en dichas interacciones transitorias se encuentran los dominios SH3, SH2, PDZ, WW, armadillo, etc...

La cristalografía de proteínas es la técnica más utilizada para la obtención de la estructura tridimensional de macromoléculas biológicas. Dichas estructuras son imprescindibles para elucidar el mecanismo de acción de las mismas, información que puede a posteriori ser utilizada, por ejemplo, para el diseño específico de fármacos para dichas dianas, o para la mejora mediante Ingeniería de Proteínas de su funcionalidad. Dicha técnica requiere de grandes cantidades de proteína, siendo además deseable que las muestras sean altamente puras y homogéneas. Además, es importante conocer la estabilidad termodinámica y la estructura de la proteína a estudiar en un intervalo rango de pHs y temperatura, para lo que se pueden utilizar

diferentes técnicas biofísicas, tal como la fluorescencia, el dicroísmo circular, DLS o la cromatografía de exclusión molecular.

Uno de los principales métodos de obtención de grandes cantidades de una proteína determinada consiste en la aplicación de la tecnología del ADN recombinante, que permite obtener secuencias de ADN, naturales o no, e introducirlas en un organismo diferente al original para su sobreproducción. Además, la Ingeniería Genética permite introducir secuencias adicionales en dichas proteínas para facilitar su purificación posterior. En esta línea de investigación, se persigue la sobreproducción, purificación y caracterización estructural de diferentes dominios de interacción proteína-proteína y proteína-ADN involucradas en diferentes cascadas señalizadoras. Se llevarán a cabo estudios de caracterización estructural de las dianas seleccionadas, entre los que se incluyen diferentes dominios de interacción proteína-proteína de los explicados. Se persigue también descubrir nuevas interacciones proteína-proteína con alguno de los dominios estudiados mediante, por ejemplo, técnicas de co-inmunoprecipitación o técnicas de afinidad específicas.



PUBLICACIONES RECIENTES

- **Martínez-Rodríguez S***, Cámara-Artigas A, **Gavira JA**. First 3-D structural evidence of a native-like intertwined dimer in the acylphosphatase family. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (accepted september 2023)

- Alonso-Lerma B, ..., **Gavira JA**, et al., Evolution of CRISPR-associated endonucleases as inferred from resurrected proteins. *Nat Microbiol.* 2023 8(1):77-90.
- **Gavira JA**, Cámara-Artigas A, Neira JL, Torres de Pinedo JM, Sánchez P, Ortega E, **Martínez-Rodríguez S***. Structural insights into choline-O-sulfatase reveal the molecular determinants for ligand binding. *Acta Crystallogr D Struct Biol.* 2022 78(Pt 5):669-682.
- Fernández-Penas R, Verdugo-Escamilla C, **Martínez-Rodríguez S, Gavira JA***. Production of Cross-Linked Lipase Crystals at a Preparative Scale. *Cryst Growth Des.* 2021 21(3):1698-1707.
- Neira JL, Vega S, **Martínez-Rodríguez S***, Velázquez-Campoy A. The isolated GTPase-activating-protein-related domain of neurofibromin-1 has a low conformational stability in solution. *Arch Biochem Biophys.* 2021 700:108767.
- Modi T, Risso VA, **Martínez-Rodríguez S, Gavira JA**, Mebrat MD, Van Horn WD, Sanchez Ruiz JM, Ozkan SB. Hinge-Shift Mechanism: A Protein design principle for the evolution from substrate promiscuity to specificity. Application to β -lactamase. *Nat Commun* 2021. 12, 1852. 2.
- **Martínez-Rodríguez S***, Torres, J.M., Sánchez, P., Ortega, E. Overview on multienzymatic cascades for the production of non-canonical α -amino acids. *Front Bioeng Biotechnol* 2020, 8:887.
- **Gavira, J.A.**, Rodríguez-Ruiz, I., **Martínez-Rodríguez, S**, Basud, S., Teychené, S., McCarthy, A., Mueller-Dieckmann, C. Attaining atomic resolution from in situ data collection at room temperature using counter-diffusion-based low-cost microchips. *Acta Cryst D* 2020, D76, 751-758.

TESIS DIRIGIDAS RECIENTEMENTE

- D^a Mariia Savchenko. Production and characterization of protein crystals in hydrogels to support inorganic precipitation in confined spaces Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. 25-11-22. Sobresaliente Cum Laude

PROYECTOS Y AYUDAS DE INVESTIGACIÓN

- Estudio de nuevas dihidropirimidinasas para la biosíntesis de β -aminoácidos (PP2022.PP.18). IP: Sergio Martínez Rodríguez. Proyectos de Investigación precompetitivos de la Universidad de Granada. 01/01/2023-31/12/2023. 2000 €

- Advanced crystallization techniques to increase the success rate and to improve crystals quality. iLINKC20027. IP: Jose Antonio Gavira Gallardo. Proyectos “I-LINK”, CSIC-2021. 01/01/2022-31/12/2023. 9.083,28 €.
- Macromolecular Crystallography at South-East Andalusia (Proyectos en Infraestructuras Científicas y Técnicas Singulares (ICTS), nueve proyectos consecutivos renovados; “bag proposals” MX-1406, MX-1541, MX-1629, MX1738, MX1830, MX1938, MX2064, MX2281, MX2353, MX2454) European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble, Francia; 2012-2023). IPs: Jose Antonio Gavira, Sergio Martínez-Rodríguez, Ana Cámara Artigas. Cuantía total aprox: > 180.000 euros (correspondiente a cantidad subvencionada de uso instalaciones y viajes/estancias en el ESRF para los investigadores)
- Macromolecular Crystallography as a tool in biotechnology and biomedicine (Proyectos en Infraestructuras Científicas y Técnicas Singulares (ICTS), ocho proyectos consecutivos renovados; “bag proposals” 2013100658, 2015071316, 2016091824, 2017082320, 2018072903, 2019083655, 2020084445, 2021085252, 2022086950) Sincrotrón ALBA, España; 2014-2023). IPs:, Ana Cámara Artigas, Sergio Martínez-Rodríguez, Jose Antonio Gavira. Cuantía total aprox: > 160.000 euros (correspondiente a cantidad subvencionada de uso instalaciones y viajes/estancias en el ALBA para los investigadores)
- Biotechnological applications of protein crystals. MICINN, ID2020-116261GB-I00. IP: Jose Antonio Gavira Gallardo. 01/09/2021-31/08/2024. 127.050,00 €.

TRABAJOS FIN DE MÁSTER DIRIGIDOS (Últimos 4 cursos académicos)

- Caracterización preliminar y cristalización del dominio EVH1 de la proteína humana SPRED1. Lorena Gutiérrez Sánchez. Máster en Investigación y Avances en Inmunología Molecular y Celular. Año: 2019/2020
- Empleo de geles supramoleculares fluorescente peptídicos para la generación de cristales de lisozima. Younes Boumoulahem. Universidad de Granada. Máster universitario en Biotecnología. Año: 2019/2020.
- Control de la cristalización de insulina en hidrogel, tamaño y homogeneidad, mediante la técnica de sembrado. María Inmaculada Martínez Fernández. Universidad de Granada. Máster universitario en Biotecnología. Año: 2020/2021.

- Caracterización preliminar y cristalización del dominio GRD de la proteína humana neurofibromina 1. Alexandru Mirel Taranu. Universidad de Granada. Máster en Investigación y Avances en Inmunología Molecular y Celular. Año: 2020/2021
- Producción de cristales de dihidropirimidasa entrecruzados y evaluación preliminar de su actividad enzimática. Alejandro Ortiz Santander. Universidad de Granada. Máster universitario en Biotecnología. Año: 2021/2022.
 - Purificación, caracterización preliminar y cristalización de una nueva D-aminopeptidasa. Hassan Mohamad Alshamaa. Universidad de Granada. Máster universitario en Biotecnología. Año: 2022/2023.
- Heterologous expression, purification and preliminary characterization of a thermostable L-succinylase from *Geobacillus kaustophilus*. Florencia Barragán Pellegrinelli. Universidad de Granada. Máster Universitario en Investigación y Avances en Inmunología Molecular y Celular. Año: 2022/2023.
- Improving Control of the Growth and Size of Lysozyme Crystals through the Method of Seeding in Agarose. Diego Alejandro Cobar Arguello. Universidad de Granada. Máster universitario en Biotecnología. Año: 2022/2023.
- Purificación y caracterización preliminar de la proteína humana OSTF1 recombinante y sus dominios aislados. Martín Trujillo Pérez. Máster Universitario en Investigación y Avances en Inmunología Molecular y Celular. Año: 2022/2023.