

## M<sup>a</sup> Cristina Vega Fernández

Científica Titular  
cvega@cib.csic.es



PhD, 1997  
UPC-CSIC

Postdoctoral, 1997-2000  
European Molecular Biology Laboratory (EMBL,  
Heidelberg, DE)

Postdoctoral 2001-2004  
EMBL Outstation (Hamburg, DE)

Investigadora RyC, 2004-2008  
IBMB, CSIC

Científico Titular, 2008  
CIB, CSIC

### Otros miembros | Other lab members:

Dr. Francisco J. Fernández Pérez  
Miguel López Estepa  
Javier Querol García  
Cecilia Melchor Tafur  
Dra. M<sup>a</sup> Concepción Civera Tejuca

<http://www.cib.csic.es/es/grupo.php?idgrupo=74>

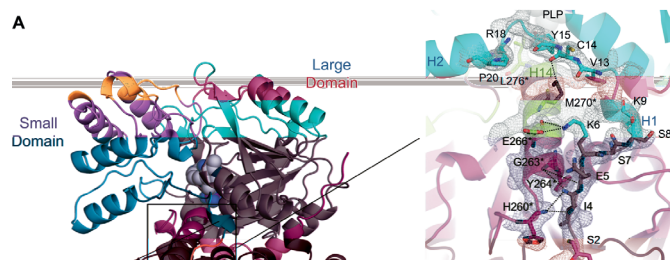
# Biología Estructural de las Interacciones Huésped-Patógeno

Nuestro grupo estudia las interacciones biológicas que median la comunicación con bacterias comensales/patógenas, incluyendo los mecanismos de inmunoevasión del sistema del complemento. La combinación de métodos de producción de proteínas, bioquímicos, biofísicos y de difracción de rayos-X, nos permite obtener y caracterizar la estructura de complejos proteicos y sus interacciones.

**B**uscamos comprender aspectos estructurales-funcionales de la comunicación entre las bacterias a las que estamos expuestos (patógenas o comensales) y el huésped humano, incluyendo el análisis de diversos aspectos del metabolismo de la microbiota (homeostasis, absorción de fármacos) y las interacciones con el sistema inmune (e.g., factores de inmunoevasión). Algunos de los complejos multiproteicos implicados en estos procesos han sido producidos con nuevas tecnologías de expresión desarrolladas en nuestro grupo empleando metodologías basadas en levadura, con el objetivo último de desarrollar nuevas moléculas terapéuticas. También estudiamos la estructura cristalina de complejos de Pd(II) con tiosemicarbazonas con potentes actividades antitumorales, antibacterianas, antifúngicas, que representan terapias antiherpes alternativas.

Las Alaninas aminotransferasas (AlaAT) son enzimas centrales en el metabolismo bacteriano que interconvierten Ala y piruvato, ayudando a mantener la homeostasis de aminoácidos. En *E. coli* hay tres AlaATs principales: AlaA, AlaC y AvtA. La estructura cristalina de AlaA en complejo con un análogo de sustrato ha proporcionado el primer centro activo completamente ordenado, mimetizando el complejo de Michaelis (Fig. 1). Esta estructura está conservada evolutivamente y tiene interés biomédico al ser AlaAT un marcador de hepatotoxicidad en humanos. A pesar de su redundancia funcional, la contribución de AlaA, AlaC y AvtA a la adaptabilidad celular demuestra que no son intercambiables, sino que tienen efectos diferenciales en ambientes aeróbicos/anaeróbicos.

Adicionalmente, estudiamos Glucocinasas (GKs) dependientes de ADP, que pertenecen a una familia única de proteína-quinasas de la superfamilia de las ribocinasas presentes sobre todo en arqueas hipertermofílicas. Hemos dilucidado la magnitud y tipos de transiciones estructurales que ocurren durante la catálisis de ADP-GK, descifrando los cambios conformacionales abierto-cerrado que realizan (Fig. 2).



### Figura 1 | Figure 1

(A) Estructura global y del sitio activo de AlaA de *E. coli* en complejo con acetato. Detalle de la interacción y del sitio activo ordenado con densidad electrónica. (B) Comparación de AlaA con homólogos estructurales. Árbol filogenético basado en comparaciones de estructuras. Estructura de AlaATs conocidas, plegamiento global, residuos catalíticos y motivos N-terminales.

(A) Overall and active site structure of *E. coli* AlaA in complex with acetate, with detail of the interaction and ordered active site with electron density. (B) Comparison of AlaA with structurally homologous enzymes. Phylogenetic tree based on structure-based multiple sequence alignments. Cartoon of AlaATs of known structure, showing the overall fold, catalytic residues and N-terminal motifs.





# Structural Biology of Host-Pathogen Interactions

Our group focuses in the analysis of biological interactions that vehicle communication between the host and commensal/pathogenic bacteria, including complement immunoevasion mechanisms. We combine protein production, X-ray diffraction, biochemical and biophysical methods to capture high-resolution snapshots and characterize protein complex interactions.

We seek to understand structural and functional aspects of the communication between the inhabitant bacteria (pathogenic or commensal) and the human host, including the analysis of diverse aspects of the microbiota metabolism (cellular homeostasis, drug absorption competition) and the interactions with the host immune system (e.g., virulence factors with immunoevasive properties). Some of protein complexes involved in these communication processes have been produced with novel expression technologies developed in our group using yeast-based methodologies with the final goal of developing new therapeutic molecules. We have also studied the crystal structure of Pd(II) thiosemicarbazone complexes with potent antitumoral, antibacterial, antifungal, which represent remarkable alternatives for antiherpes therapy.

Central players in bacterial metabolism are alanine aminotransferases (AlaAT), enzymes that interconvert Ala and pyruvate thus helping keep a balanced intracellular amino acid pool. In *E. coli* there are three major isofunctional AlaATs, AlaA, AlaC and AvtA. The crystal structure of AlaA in complex with a substrate analog has provided the first complete active center, mimicking a Michaelis complex (Fig. 1). The conserved structure is of biomedical interest since AlaAT is a hepatotoxicity marker in humans. Despite their functional redundancy, the analysis of the contribution of AlaA, AlaC and AvtA to the cellular adaptability demonstrates that they are not freely exchangeable in vivo, rather they show different performances in aerobic/anaerobic environments.

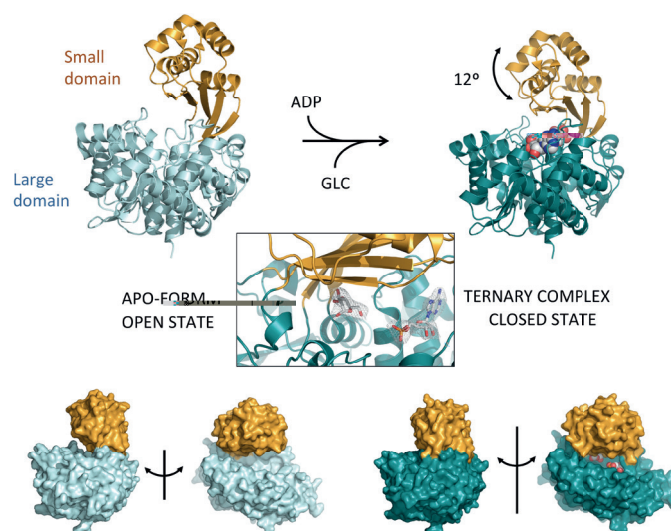
In addition, we study ADP-dependent Glucokinases, a unique family of protein kinases from the ribokinase superfamily, present mainly in hyperthermophilic archaea. We have elucidated the magnitude and types of structural transitions that occur during ADP-GK catalysis, thereby deciphering the open-closed conformational changes that *T. litoralis* ADP-GK undergoes during the complete reaction cycle (Fig. 2).

## Publicaciones Seleccionadas Selected Publications

- Peña-Soler E & Fernandez FJ, Lopez-Esteva M, Garces F, Richardson AJ, Quintana JF, Rudd KE, Coll M, Vega MC [2014] *Structural Analysis and Mutant Growth Properties Reveal Distinctive Enzymatic and Cellular Roles for the Three Major L-Alanine Transaminases of Escherichia coli*. **PLoS ONE** 9(7): e102139
- Rivas-Pardo JA, Herrera-Morande A, Castro-Fernandez V, Fernandez FJ, Vega MC & Guixé V [2013] *Crystal Structure, SAXS and Kinetic Mechanism of Hyperthermophilic ADP-Dependent Glucokinase from Thermococcus litoralis Reveal a Conserved Mechanism for Catalysis*. **PLoS ONE** 8(6): e66687
- Lobana TS, Sultana R, Butcher RJ, Jasinskie JP, Golenc JA, Castineiras A, Pröpper K, Fernandez FJ, Vega MC [2013] *Heterocyclic-2-thione derivatives of silver(I): Synthesis, spectroscopy and structures of mono- and di-nuclear silver(I) halide complexes*. **J Organ Chem** 745-546:460-469
- Fernandez FJ, Vega MC [2013] *Technologies to keep an eye on: Alternative hosts for protein production in structural biology*. **Curr Op Struct Biol** 23(3), 365-373
- Lobana TS, Sultana R, Butcher RJ, Castineiras A, Akitsu T, Fernandez FJ, Vega MC [2013] *Chemistry of Heterocyclic 2-Thiones: In Situ Generation of 3-(2-Thiazolin-2-yl)thiazolidine-2-thione and 1,1-Dimethyl-2,2-diimidazolyl Sulfide and Their Coordination to Cu(I) and Cu(II)*. **Eur J Inorg Chem**. 29:5161-5170
- Aguilera L, Ferreira E, Gimenez R, Fernandez FJ, Taules M, Aguilar J, Vega MC, Badia J, Baldoma L [2012] *Secretion of the housekeeping protein glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by the LEE-encoded type III secretion system in enteropathogenic Escherichia coli*. **Int J Biochem & Cell Biol**, 44:955-962.

## Financiación | Funding

- FIS (PI-121667) (ISCIII)
- S2010/BMD-2316 (Comunidad de Madrid)
- FP7-HEALTH-2011: 279039 (EC)



**Figura 2 | Figure 2**

Estructuras cristalinas de TIGKapo (en la conformación abierta) y TIGK en complejo ternario con ADP/Glc (en la conformación cerrada). Detalle del centro activo de TIGK-ADP/Glc con densidad electrónica.

Crystal structures of TIGKapo (in the open conformation) and TIGK in a ternary complex with ADP/Glc (in the closed conformation). Detail of the active site of TIGK-ADP/Glc with electron density.