

DOKTORAND: Marta Hammerstad
GRAD: Philosophiae doctor
FAKULTET: Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet
INSTITUTT: Institutt for biovitenskap
FAGOMRÅDE: Strukturbiologi, biokjemi, biofysikk
VEILEDERE: K. Kristoffer Andersson, Hans-Petter Hersleth og Åsmund K. Røhr
DISPUTASDATO: 22. august 2014

AVHANDLINGENS TITTEL: *Structural and functional studies of proteins in the class Ib ribonucleotide reductase system*

Marta Hammerstad har i sin avhandling anvendt røntgenkrystallografi i kombinasjon med biokjemiske og biofysiske teknikker for å studere enzymet ribonukleotid reductase (RNR), samt andre redoxproteiner involvert som partnere i dette systemet. Funksjonell og strukturell kunnskap om RNR er viktig for utviklingen av kreftmedisiner, antivirale og antibakterielle medikamenter.

Ribonukleotid reductase (RNR) omdanner RNA-byggeblokker til DNA-byggeblokker, og er viktig i replikasjon og reparasjon av arvematerialet (DNA) i celler. Den bakterielle klassen Ib RNR proteiner anvender en spesiell reaksjonsmekanisme, der et jern- eller mangankluster (i den lille subenheten, R2) brukes til å generere et radikal som forflyttes til enzymets aktive sete (i den store subenheten, R1) og anvendes i reaksjonen. Hammerstad har studert en tidligere antatt ureaktiv RNR R2 fra *Mycobacterium tuberculosis*, og påvist aktivitet for dette proteinet. Dette R2 proteinet har blitt studert via aktivitetsstudier, samt gjennom en spektroskopisk karakterisering ved hjelp av resonans Raman spektroskopi og elektron paramagnetisk resonans (EPR) spektroskopi. Resultatene indikerer at denne bakterien kan benytte seg av to distinkte små subenheter for radikalgenerering, og er et interessant startpunkt for videre biologiske studier. Ved å bruke modellorganismen *Bacillus cereus*, har Hammerstad i tillegg utført røntgenkrystallografiske studier av RNR subenheten R2 ko-krySTALLISERT med et flavoprotein (NrdI). NrdI fungerer som en elektrondonor for genereringen av det aktive mangan-radikal klusteret. KrySTALLkomplekset er det andre av sitt slag, og det eneste komplekset der RNR subenheten har et jernkluster bundet. Studiet viser at de to ko-krySTALLISERTE proteinene (R2 og NrdI) binder via konservative overflater sammenlignet med det tidligere løste komplekset fra *Escherichia coli*. Det viser også tilstedeværelsen av en hydrofil kanal som fungerer i overføringen av en reaktiv oksygenart til manganklusteret for aktiv kofaktor-generering i R2, oppnådd ved hjelp av flavingruppen i NrdI. Undersøkelsen viser også ulikheter i koordineringsnettverket rundt metallkofaktorene i de to kompleksene, avhengig av metalltype bundet i R2 (mangan eller jern). Dette tyder på ulike geometriske startpunkter for kofaktor-generering for jern- og mangankofaktoren, spesielt avhengig av sidekjedekonformasjonen av en glutamat sidekjede. I den siste delen av Hammerstads studier, har et tioredoxin (Trx)-lignende protein blitt undersøkt. Ved bruk av krystallografi, biokjemiske metoder, samt kvantemekaniske beregninger, har rollen til en treonin residie som potensiell hydrogenbånddonor til en cystein-tiolat blitt undersøkt. Studiet indikerer at denne treoninen bidrar til senkingen av cysteinens pK_a -verdi, slik at denne cysteinen kan utføre det siste nukleofile angrepet på en disulfidbinding i substratet, og dermed fullføre substratreduksjons-mekanismen.