

DOCTORAL CANDIDATE: Theis Sommer
DEGREE: Philosophiae Doctor
FACULTY: Faculty of Mathematics and Natural Sciences
DEPARTMENT: IBV, NCMM
AREA OF EXPERTISE: Biochemistry, Structural biology
SUPERVISORS: Jens Preben Morth, Oddmund Bakke
DATE OF DISPUTATION: 30th of June 2016

DISSERTATION TITLE: *Biotechnological application of the bacterial enzyme Isatin hydrolase AND Structural studies of the regulatory N-terminal domain of the SLC4 bicarbonate transporters*

Bioteknologisk anvendelse av det bakterielle enzymet isatin hydrolase OG strukturelle studier av det regulatoriske N-terminale domenet fra SLC4 bikarbonat-transportere samt karakteriseringen av et nyoppdaget zinc-bindingssete

Del I: Beskriver strukturen og karakteriseringen av det bakterielle enzymet isatin hydrolase (IH). Forhøyede nivåer av enzymets substrat, isatin, er forbundet med stress i mennesker og gnagere. Som en bioteknologisk videreføring av IH-karakteriseringen ble en fluorescensbasert metode for detektering av isatin i blodprøver utviklet. Metoden kan, ved hjelp av faseekstraksjon, kvantifisere isatin innholdet i en prøve gjennom den enzymatiske omdannelsen av isatin til isatinat. Prosedyren tillater analyse av et stort antall prøver på en enkel og rask måte og kan bidra til å bedre forståelsen av isatin i human fysiologi.

Del II: Kontroll av ekstra- og intracellulær pH er nødvendig for opprettholdelse av homeostase. Bikarbonat-buffersystemet utgjør det sentrale buffersystemet i menneskekroppen og transport av bikarbonat over celledmembranen blir hovedsakelig ivaretatt av SLC4 transporter-familien. Familien, som består av ti medlemmer, inkluderer den natriumavhengige klorid bikarbonat utveksler (NDCBE) og den elektrogene natrium bikarbonat kotransporter 2 (NBCe2). Vi presenterer her et nyoppdaget zink-bindingssete på overflaten av NDCBEs regulatoriske domene, samt den første krystallstrukturen (2.6 Å oppløsning) av NDCBE. Vi beskriver regioner av NDCBE som er sentrale for dimerisering av proteinet og foreslår en modell for hvordan det regulatoriske domenet er orientert i forhold til transportdomenet. Studien underbygges av den første lav-oppløste (4.2 Å oppløsning) krystallstrukturen av NBCe2. Det nye zink-bindingssetet ble identifisert og karakterisert ved hjelp av tryptofanfluorescens og isotermisk titreringskalorimetri av NBCe2 og NDCBE, samt mutasjonsstudier av NDCBE. Zink-binding kan vise seg å utgjøre en ny regulatorisk mekanisme for denne essensielle gruppen av transportere.