



Universiteit
Leiden
The Netherlands

High fidelity DNA replication and repair: new structures and mechanisms using cryogenic electron microscopy

Borsellini, A.

Citation

Borsellini, A. (2022, October 19). *High fidelity DNA replication and repair: new structures and mechanisms using cryogenic electron microscopy*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3483673>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3483673>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

De inleiding bevat een overzicht van de onderzoeksthema's die in dit proefschrift besproken worden. Allereerst wordt een achtergrond gegeven over moleculaire mechanismen die betrokken zijn bij DNA replicatie en DNA mismatch repair. Dit wordt gevolgd door een beschrijving van bacteriële DNA polymerases als potentieel doelwit voor de ontwikkeling van nieuwe antibiotica. Tenslotte een hoofdstuk over de uitdagingen van cryo-elektronenmicroscopie en de introductie van een nieuwe methode om deze te overwinnen.

Hoofdstuk 1 behandelt een fundamentele vraag in DNA mismatch herstel, namelijk hoe ATP binding en ATP hydrolyse de conformationele veranderingen in MutS aansturen die nodig zijn tijdens de mismatch herstel cascade. De studie beschrijft vier cryo-EM structuren van *E. coli* MutS tijdens opeenvolgende stadia van de ATP-hydrolysecyclus. De structuren in combinatie met biochemische analyse beschrijven hoe DNA de ATPase-activiteit van MutS moduleert.

Hoofdstuk 2 richt zich op de laatste fasen van het DNA mismatch-reparatieproces, namelijk de resectie en de daaropvolgende synthese van de mismatch-bevattende streng. Het beschrijft een nieuwe functie van het DNA mismatch herstel eiwit MutL, namelijk het blokkeren van DNA-polymerase tot 3'-geresecteerde DNA-uiteinden. Deze bevindingen helpen bij het begrijpen van de wisselwerking tussen mismatch herstel en DNA replicatie tijdens de laatste stappen van de mismatch herstelreactie.

Hoofdstuk 3 geeft een voorbeeld van hoe DNA polymerases kunnen worden benut voor de ontwikkeling van nieuwe antibiotica tegen *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). We tonen aan dat nargenicin, een natuurlijk product dat zich richt tegen de replicatieve DNA polymerase van *Staphylococcus aureus*, een bactericide genotoxine is dat een DNA schade respons induceert en de groei van *Mycobacterium tuberculosis* remt.

Hoofdstuk 4 beschrijft ten slotte een nieuw instrument, genaamd Puffalot, dat ontwikkeld is voor de bereiding van cryo-EM monsters, met als doel de betrouwbaarheid te verbeteren. Daarnaast bespreekt het hoofdstuk hoe het nieuwe instrument gebruikt kan worden om 'time-resolved cryo-EM' experimenten uit te voeren en zo conformatie veranderingen van eiwitten te bestuderen die in de milliseconde tijdschaal optreden.

De **discussie** geeft een samenvatting van de wetenschappelijke bevindingen beschreven in dit proefschrift en plaatst deze in de context van gepubliceerde literatuur. De discussie biedt tevens een overzicht van mogelijke toekomstige onderzoeksrichtingen en perspectieven.