

Superoksiidi dismutaas (SOD) on metalloensüüm, mis katalüüsib superoksiidi radikaalide lõhustumist hapnikuks ja vesinikperoksiidiks. See reaktsioon kaitseb rakku aeroobse hingamise käigus tekkivate toksiliste hapnikuühendite eest. Inimese rakkudes esineb kolm superoksiidi dismutaasi isovormi. SOD1 on tsütoplasmas asuv homodimeer, kus ensüümi aktiivtsentrisse on seotud üks tsingi ja üks vase ioon. SOD1 struktuuris on oluline ka intramolekulaarne konserveerunud disulfiidisild, mis säilitatakse isegi tsütoplasma redutseerivas keskkonnas.

Inimese SOD1 aktiveerimisel on oluline roll tsingi ning vase iooni seondumisel. Tsingi ioonil on eelkõige struktuurne roll, redoks-aktiivsel vase ioonil on aga katalüütiline roll. Vase iooni kättesaadavuse eest vastutab *in vivo* tingimustes SOD1 vase šaperoon (CCS), mis lisaks vase iooni omandamisele on vajalik ka disulfiidisilla moodustumiseks. Täielikult metalleeritud disulfiidisildadega SOD1 dimeer on erakordselt stabiilne, see eest metalli-vaba SOD1 vorm soodustab valgu agregaatide teket.

SOD1 mutatsioonid on seotud amüotroofse lateraalskleroosiga (ALSiga). ALS on ravimatu neurodegeneratiivne haigus, mille puhul esinevad patsientide seljaajus SOD1-rikkad agregaadid. Arvatakse, et SOD1 agregaatide tekkes ja toksilisuses on oluline roll metalli ioonidel, samas on aga SOD1 ja ka tema mutantide metallide sidumisomaduste kohta hetkel väga vähe informatsiooni. Natiivse ja mutantsete SOD1 vormide sidumisomaduste uurimiseks on vajalik täielikult metalleeritud valgu vorm, mille saavutamine *in vitro* tingimustes on keerukas.

Käesolev töö oli pühendatud usaldusväärse meetodika väljatöötamisele täielikult metalleeritud inimese SOD1 tootmiseks bakteriaalses ekspressioonisüsteemis. Töös katsetati kahte erinevat ekspressioonisüsteemi, kus esiteks suunati valk bakteri periplasmasse ja teiseks koekspresseriti inimese SOD1 koos pärmi SODi vase šaperooniga. Testides mitmeid puhastamise variante leiti, et kuumutamise etapi lisamine valgu puhastamise protokollis tõstab SOD1 valgu metalleerimise astet. Periplasmaatiline süsteem ei osutunud edukaks, kuna puhastatud valk sisaldas Met-jääki N-lõpus ja samuti polnud saadud valk täielikult metalleeritud. Kasutades teist ekspressioonisüsteemi, mis ekspresseeris SOD1 valku koos pärmi SODi vase šaperooniga saadi täielikult metalleeritud ja aktiivne valk, mis on sobilik edasisteks metallisidumise katseteks. Saadud tulemused on rakendatavad ka ALSiga seotud SOD1 mutantide ekspressiooni ja puhastamise väljatöötamisel.