



Universiteit
Leiden
The Netherlands

In vitro investigation of the photoprotection mechanism of Light Harvesting Complex II

Crisafi, E.

Citation

Crisafi, E. (2019, June 25). *In vitro investigation of the photoprotection mechanism of Light Harvesting Complex II*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/74368>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/74368>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/74368> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Crisafi,E.

Title: In vitro investigation of the photoprotection mechanism of Light Harvesting Complex II

Issue Date: 2019-06-25

SAMENVATTING

Zonne-energie is een fluctuerende lichtbron die gebruikt wordt door fotosyntheseorganismen om cellulaire processen aan te drijven. Zonne-energie wordt primair geabsorbeerd door twee groepen pigmenten, het chlorofyl en de carotenoiden, welke voornamelijk voorkomen in eiwitcomplexen (LHC's). Deze eiwitten zijn essentieel voor de werking van fotosynthese, niet alleen omdat ze betrokken zijn bij het opvangen van licht, maar ook omdat ze het fotosynthesesysteem beschermen tegen schade door overmatige lichtinval.

In **Hoofdstuk 2** heb ik in vitro studies uitgevoerd om de twee functies van LHCII na te bootsen, door het eiwit in nanodiscs en liposomen in te voegen, waarmee respectievelijk de lichtopvangactiviteit en de lichtbeschermingsactiviteit nagebootst worden. Ik heb aangetoond dat Chl fluorescentiedoving afhankelijk is van eiwit-eiwit interacties, en niet van eiwit-lipide interacties, door fluorescentie-experimenten uit te voeren op proteoliposomen met verschillende PLR's en gebruik te maken van thylakoïd lipiden of asolectin. Om natuurgetrouwe eiwitinteracties na te bootsen is vereist dat LHCII unidirectioneel in de membranen ingevoegd wordt, zoals in vivo. Door gebruik te maken van enzymatische vertering heb ik gedemonstreerd dat er een preferentiële invoeging bestaat van de LHCII-eiwitten in onze modelmembranen.

Met behulp van modelmembranen gemaakt van asolectine heb ik de specifieke interactie van LHCII met PsbS onderzocht, waarvan bekend is dat ze in vivo een sleutelrol spelen in fluorescentiedoving onder invloed van lichtinval. In **Hoofdstuk 3** is onderzocht of de interactie tussen alleen de twee eiwitten, in een aangezuurde omgeving, genoeg is om LHCII fluorescentiedoving te doen plaatsvinden. CD en TRF studies zijn uitgevoerd naar PsbS-LHCII proteoliposomen bij verschillende pH condities. Fluorescentieonderzoek naar ons modelmembraan wijst er sterk op dat de pH-afhankelijke rol van PsbS, gedurende de snelle qE respons, ligt in het herschikken van het membraan en het opnieuw modelleren van het supercomplex dat LHCII-aggregatie-uitdoving faciliteert, in plaats van het creëren van uitdovingstoestanden.

In **Hoofdstukken 4 en 5** verschuift de focus van een intermoleculaire aanpak naar een intramoleculaire aanpak, om te kunnen begrijpen hoe het eiwit in de uitgedoofde toestand de pigmentconformaties verandert, in vergelijking tot de niet-uitgedoofde toestand. Ik heb op succesvolle wijze ¹³C luteïne-rLhcb1 verkregen door het opnieuw vouwen van recombinant Lhcb1 eiwit uit *Arabidopsis thaliana* in de aanwezigheid van niet-isotopisch gelabeld pigment uit verse spinazie met een overmaat van ¹³C-gelabeld luteïne, dat via HPLC geëxtraheerd is uit isotoop verrijkt *Chlamydomonas reinhardtii*.

Het ^{13}C luteïne-rLhcb1 eiwit in detergens, dat de niet uitgedoofde toestand nabootst, en eiwitaggregaten, die de uitgedoofde toestand nabootsen, zijn biochemisch en spectroscopisch gekarakteriseerd en verder geanalyseerd met vaste stof-NMR. De chemische verschuiving voor ^{13}C luteïne kon worden toegekend voor LHCII in detergens. Ringstroomverschuivingen van de luteïne-kopsignalen geven aan dat de koppen zich dicht bij specifieke Chls bevinden (Chl a610 en Chl a602), waarmee voor de eerste keer structurele informatie over de luteïne-Chl interactie in LHCII in zijn niet-uitgedoofde staat geleverd wordt.