



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

RIASSUNTO

L'energia solare è una sorgente fluttuante di luce, usata da sistemi fotosintetici per portare avanti processi cellulari richiedenti energia chimica. L'energia solare è principalmente assorbita da due gruppi di pigmenti, clorofille e carotenoidi, maggiormente localizzati nei complessi collettori di luce (LHCs). Queste proteine sono essenziali per la fotosintesi non solo perché coinvolte nell'assorbimento della luce ma anche perché proteggono il sistema da danni provocati dall'eccesso di energia solare.

Nel **Capitolo 2**, ho condotto studi *in vitro*, al fine di mimare le due principali funzioni della proteina LHCII. Quest'ultima è stata inserita in liposomi e nano dischi ricreando rispettivamente lo stato collettore di luce e foto-protettore. Ho dimostrato che il quenching dello stato eccitato delle Chls dipende essenzialmente da interazioni proteina-proteina e non da interazioni proteina-lipidi. L'obiettivo è stato raggiunto analizzando la fluorescenza di proteo-liposomi con differente contenuto di proteina usando asolectina e lipidi tilacoidi. Per riuscire a creare interazione simile a quella *in vivo*, LHCII dovrebbe essere inserita unidirezionalmente nella membrana lipidica. Attraverso una digestione enzimatica, ho mostrato un'inserzione preferenziale della proteina LHCII nelle nostre membrane modello.

Usando membrane modello con asolectina lipidi, ho provato ad investigare le specifiche interazioni tra la proteina LHCII con PsbS, nota per il suo ruolo fondamentale nel quenching dello stato eccitato in caso di stress *in vivo*. Il **Capitolo 3** è, quindi, dedicato ad investigare che il solo ambiente acido possa essere sufficiente per la promozione del quenching della fluorescenza. Gli esperimenti di CD e TRF sono stati condotti su PsbS-LHCII proteo-liposomi a pH 5 e 7.5. Il ruolo dipendente dal pH del PsbS durante la veloce risposta al qE, risiede nel promuovere arrangiamenti della membrana lipidica facilitando l'interazione LHCII-LHCII piuttosto che attivare direttamente lo stato di quenching.

Nei **Capitoli 4 e 5** il focus è spostato dalla sfera intermolecolare alla sfera intramolecolare per capire come la proteina cambi la distribuzione spaziale dei pigmenti a causa dello stato di quenching. Ho ottenuto con successo ¹³C lutein-rLhcb1, tramite il refolding della proteina con clorofille e carotenoidi estratti da spinaci freschi e, in presenza di un eccesso della sola luteina estratta da *Chlamydomonas reinhardtii* marcate isotopicamente e purificato tramite HPLC. La ¹³C lutein-rLhcb1 così ottenuta, solubilizzata in presenza di detergente, mima lo stato di non quenching mentre la proteina aggregate, mima lo stato di quenching. Ambedue sono state caratterizzate dal punto di vista biochimico e spettroscopico. Indagini più specifiche sono state condotte con NMR allo stato solido. I dati ottenuti da quest'ultimo sono stati comparati con quelli del chemical shift ottenuti dall'indagine della sola luteina. La corrente di anello prodotta nelle strutture cicliche provoca un chemical shift quando la testa della luteina è nelle vicinanze delle Chls (Chl *a*610 e Chl *a*602), dando per la prima volta informazioni strutturali riguardo le interazioni specifiche luteina-Chl nella proteina LHCII nello stato di non quenching.