



Universiteit
Leiden
The Netherlands

A semisynthetic peptide-metalloporphyrin responsive matrix for artificial photosynthesis

Sun, Z.

Citation

Sun, Z. (2019, November 20). *A semisynthetic peptide-metalloporphyrin responsive matrix for artificial photosynthesis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/80689>

Version: Not Applicable (or Unknown)

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/80689>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/80689> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Sun, Z.

Title: A semisynthetic peptide-metalloporphyrin responsive matrix for artificial photosynthesis

Issue Date: 2019-11-20

Samenvatting

Natuurlijke fotosynthese is een gecompliceerd proces waarvoor door verschillende organismen een verscheidenheid aan strategieën wordt toegepast. Onder lichtarme condities kan lichtenergie via de antenne naar het reactiecentrum vervoerd worden met bijna 100 % efficiëntie. De hoge opbrengst van natuurlijke fotosynthese inspireert wetenschappers om het natuurlijke proces van fotosynthese te repliceren en om artificiële fotosynthese systemen te bouwen die CO₂ en H₂O in brandstof en chemicaliën om te zetten met gebruik van zonlicht. De focus in deze thesis zal op het bouwen van een artificieel licht verzamelend complex liggen, waarbij onderzocht wordt hoe een chirale responsieve matrix kan worden gevormd en of de geoogste lichtenergie met 100 % efficiëntie kan worden overgedragen aan een acceptor. **Hoofdstuk 1** is een algemene introductie van het semi-artificiële licht verzamelende systeem dat wordt bestudeerd in deze thesis, dit systeem is afgeleid van het CsmA eiwit van de baseplate van *Chlorobaculum tepidum*.

In **Hoofdstuk 2** wordt uiteengezet hoe tCsmA, de verkorte versie van CsmA, succesvol is toegepast om de eiwit structuur te vormen en om te binden met het chromofoor ZnPP, gebruik makende van een speciaal voor dit doel ontwikkelde dialyse procedure. De fotochemische eigenschappen zoals de molaire extinctie coëfficiënt en de stoichiometrie van het tCsmA-ZnPP complex zijn bepaald. Structurele informatie is verkregen met behulp van cryo-EM, en gevalideerd met LD en CD optische spectroscopie en SEC. Het resultaat laat zien dat het complex een verlengde periodieke 7₂ helische structuur, bestaande uit welgeordende tetramerische eenheden, vormt. De ZnPP zijn loodrecht ten opzichte van de lange as van de eiwit helix georiënteerd en zijn aan sterke dipool-dipool koppelingen onderhevig in de zelfassemblage. En bijna 100 % van de geoogste energie kan worden overgedragen naar het positieve acceptor ion radicaal, methyl viologen. De excitatie-energie overdrachtssnelheid in het complex is van de ns⁻¹ schaal geobserveerd in monomere ZnPP in oplossing naar de ps⁻¹ schaal, vergelijkbaar met natuurlijke licht verzamelende antenne systemen, overgegaan.

In **Hoofdstuk 3** wordt een gedetailleerde studie van het mechanisme van de zelfassemblage van het tCsmA-ZnPP complex gepresenteerd. Er wordt aangetoond dat de hoge pH van de dialyse buffer, de netto lading van het complex, een α -helische eiwitstructuur, en het binden van ligand belangrijk zijn voor de modulatie van de zelfassemblage van verkort CsmA en ZnPP. De organisatie van het complex in een geordende chirale matrix zou gedreven kunnen worden door het hydrofobe effect, door de zoutbruggen of door de dipool-dipool interacties van de chromoforen. Daarnaast wordt er een kleinere fractie van para-kristallijne platen geobserveerd met cryo-EM, vergelijkbaar met de structuur die in de natuurlijke baseplate gevonden wordt. De baseplate-structuur komt tot stand door het loswinden van de helische structuur en mogelijk ook door de formatie van zoutbruggen tussen antiparallel gelegen eiwit strengen en matrices van dimerisch ZnPP gecoördineerd aan de histidyl tussen de strengen.

De 3D structuur van de helische tCsmA-ZnPP assemblage is opgelost met single particle analysis en wordt bediscussieerd in **Hoofdstuk 4**. In de helische structuur draaien twee tCsmA strengen om elkaar heen en vormen zo een hydrofobe kern waarin ZnPP, gecoördineerd aan de imidazool groep van de histidine, verankert wordt. De helix is opgebouwd uit antiparallel gelegen strengen van tCsmA waarvan de monomeren kop aan staart georganiseerd zijn binnen elke streng. In dit geval is er interactie tussen de ZnPP en vormen deze een tetramerische eenheid. De geladen residuen zitten aan de buitenkant van de helices en vormen zoutbruggen om de helische filamenten in bundels te stabiliseren. In de baseplate structuur is ZnPP op een verticale manier ten opzichte van de plaat georiënteerd.

Om de peptide synthese te complimenteren is in **Hoofdstuk 5** de expressie van tCsmA in *E-coli* onderzocht. Zonder een lange fusie tag valt tCsmA snel uiteen. Met een TRX tag wordt de stabiliteit significant verbeterd, maar slaat het sample ook sneller neer, wat verdere bewerkingen compliceert. Met de MBP tag wordt een sterk geassocieerd, oplosbaar tCsmA-MBP construct verkregen. Met behulp van denaturatie met 6 M guanidine hydrochloride kunnen tCsmA en MBP via SEC van elkaar gescheiden worden, een kleine hoeveelheid tCsmA kan vervolgens verkregen worden uit dialyse. Dit maakt de weg vrij voor verdere verbeteringen gericht op het verkrijgen van recombinante variaties van tCsmA voor onder andere het prepareren van isotoop gelabelde samples voor toekomstige NMR studies.