

Structurele Biologie Brussel

nodigt U graag uit op de openbare verdediging van het proefschrift van

Anna Caccamo

ter behaling van de graad van Doctor in de Bio-ingenieurswetenschappen

Gezamenlijk doctoraat met Universit  de Liège

Titel van het proefschrift:

**The role of ascorbate peroxidase 2 and protein cysteine modifications
in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii***

Promotors:

Prof. dr. Joris Messens (VUB)

Prof. dr. Claire Remacle (Universit  de Liège)

De verdediging heeft plaats op

**Donderdag 25 januari 2024 om 15h30 in
Universit  de Liège in the auditorium of
Botanique institute, B22, Sart Tilman**

De verdediging kan ook online gevolgd worden via:

https://teams.microsoft.com/l/meetup-join/19%3ameeting_OGZmODVjYzktNWlZS00YjM3LTgxZGI0NGYxZjA0MzZlZGVh%40thread.v2/0?context=%7b%22Tid%22%3a%22695b7ca8-2da8-4545-a2da-42d03784e585%22%2c%22Oid%22%3a%224003c475-5c45-4529-a30e-810737cc49a3%22%7d

Samenstelling van de jury

Prof. dr. Marc Hanikenne (ULi ge, voorzitter)

Prof. dr. ir. Geert Angenon (VUB, secretaris)

Prof. dr. Joske Ruytinx (VUB)

Dr. Frédéric Kerff (ULi ge)

Dr. Didier Vertommen (UCLouvain)

Prof. dr. Michael Hippler (Universität Münster, Duitsland)

Curriculum vitae

Anna Caccamo behaalde haar bachelordiploma biologie aan de Universiteit van Turijn, Italië. In 2014 begon ze aan haar masterstudies Plant Biotechnologie aan dezelfde universiteit. In 2016 ontving Anna een Erasmus+ beurs, waardoor ze haar masterthesis in Biologie kon uitvoeren aan de National University of Ireland. Daar werkte ze in het lab van Dr. Maria Tuohy op de nutraceutische eigenschappen van algenpolysaccharide-rijke extracten. Vervolgens verhuisde Anna naar België om haar doctoraatsthesis te starten, een gezamenlijk project tussen ULi ge en VUB. Haar onderzoek richtte zich op de rol van het ascorbaat peroxidase 2-eiwit en eiwitcysteinemodificaties in de groene alg *Chlamydomonas reinhardtii*. Anna's onderzoekresultaten zijn gepubliceerd in twee onderzoeksartikelen, en ze heeft ook bijgedragen aan een hoofdstuk in een boek.

Abstract van het doctoraatsonderzoek

H₂O₂, een reactieve zuurstofmolecule, staat erom bekend oxidatieve schade te veroorzaken bij stress, maar wordt nu ook erkend als signaalmolecuul voor het modifieren van cysteines in eiwitten, ook gekend als cysteine-sulfenylatie. Cellulaire signaaloverdracht kan anterograad plaatsvinden, een signaal wordt dan door de kern naar andere organellen gestuurd zoals de chloroplasten of mitochondriën in fotosynthetische organismen, of retrograad, een signaal van de organellen gaat terug naar de kern. Organismen die aan fotosynthese doen, zoals cyanobacteriën, algen en planten, produceren H₂O₂ voornamelijk in de chloroplasten tijdens de fotosynthese en in de mitochondriën tijdens de ademhaling.

In deze studie gebruikten we de groene alg *Chlamydomonas reinhardtii*. Onze aandacht ging specifiek uit naar het H₂O₂-afbrekende enzym ascorbaatperoxidase 2 (APX2), dat onlangs werd geclassificeerd als 'ascorbate peroxidase-related' (APX-R) en waarvan de functie nog onduidelijk is. Wij onderzochten de cellulaire rol van het H₂O₂-afbrekende enzym APX2 en identificeerden gemodificeerde cysteines in hun gesulfenyleerde vorm (-SOH) in *Chlamydomonas* gedurende oxidatieve stress.

Met een exploratieve screening van mutanten door middel van moleculaire en genetische methoden, gebruikmakend van ¹H-NMR, activiteitstests en biofysische technieken met recombinant ge xprimeerde en gezuiverde APX2 en plastocyanine eiwitten, en door middel van structuurvoorspellingen, ontdekten we dat APX2 zich hoogstwaarschijnlijk in het lumen van de chloroplasten bevindt en een invloed heeft op plastocyanine. Anders dan de typische H₂O₂-afbrekende enzymen, vertoonde APX2 naast peroxidase activiteit ook koperbinding in een typisch metaalbindend MxxM sequentiemotief en is APX2 betrokken bij het reguleren van de cellulaire plastocyanine niveaus.

Door een verfijning van een massaspectrometrische sulfenoom-analysetechniek, toegepast op eiwitextracten van *Chlamydomonas* wild-type onder zowel normale als oxidatieve stressomstandigheden, hebben we een gesulfenyleerd peptide ge identificeerd dat geassocieerd is met drie 'light-harvesting' complexen van fotosysteem-II en met het ATP/ADP AAA1 dragereiwit. Deze ontdekking dient als een eerste aanwijzing dat de modificatie van een cysteine betrokken is bij de regulatie van deze complexen en het AAA1 dragereiwit.

Onze resultaten onthullen een nieuwe functie voor APX2 en geven ons een inzicht in de sulfenyleringspatronen in *Chlamydomonas*.