

**PHOTOSYSTEM II DAMAGE AND REPAIR IN  
*CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*; ROLE OF REP27**



**PHICHAYA KHAMAI**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
DOCTOR OF PHILOSOPHY (BIOCHEMISTRY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2010**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

PHOTOSYSTEM II DAMAGE AND REPAIR IN *CHLAMYDOMONAS*  
*REINHARDTII* ; ROLE OF REP 27

PHICHAYA KHAMAI 4736004 SCBC/D

Ph.D. (BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: KITTISAK YOKTHONGWATTANA, Ph.D. (AGRICULTURAL AND ENVIRONMENTAL CHEMISTRY), M.R. JISNUSON SVASTI, Ph.D. (MOLECULAR BIOLOGY), JAMORN SOMANA, M.D., Ph.D. (PLANT BIOCHEMISTRY)

ABSTRACT

The goal of this research is to elucidate the molecular mechanism for the unique photo system II (PSII) damage and repair cycle in chloroplast. A frequently occurring, irreversible photo-oxidative damage inhibits PSII charge separation reaction and stops photosynthesis. The chloroplast PSII repair process rectifies this adverse effect by selectively removing and replacing the photo-inactivated D1/32-kDa reaction center protein (encoded by *psbA* gene) located in the massive (>1,000 kDa) water-oxidizing and O<sub>2</sub>-evolving PSII holocomplex. Elucidation of the PSII repair mechanism may reveal the occurrence of hitherto unknown regulatory and catalytic reactions for the selective in situ replacement of specific proteins from within multiprotein complexes. DNA insertional mutagenesis in the model organism *Chlamydomonas reinhardtii* was applied for the isolation and characterization of *rep27*, a repair-aberrant mutant. Gene cloning and biochemical analyses of this mutant resulted in the identification of *REP27*, a nuclear gene encoded putative chloroplast-targeted protein, which is specifically required for the completion of the D1 turnover process but is not essential for the *de novo* biogenesis and assembly of the PSII holocomplex in this model green alga. The *REP27* protein contains two highly conserved tetratricopeptide repeats, postulated to facilitate the *psbA* mRNA cotranslational insertion of the nascent D1 protein into the existing PSII core complex.

KEY WORDS:REP27/CHLAMYDOMONAS/PHOTOSYSTEM II

59 pages

การสูญเสียและการซ่อมแซมของ PSII โปรตีนในสาหร่ายสีเขียว; บทบาทของ REP27 โปรตีน  
PHOTOSYSTEM II DAMAGE AND REPAIR IN *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*; ROLE  
OF REP 27

พิชญะ คำอ้าย 4736004 SCBC/D

ปร.ค. (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : กิตติศักดิ์ หยกทองวัฒนา, Ph.D. (AGRICULTURAL AND ENVIRONMENTAL CHEMISTRY), ม.ร.ว. ชัยอนุสรณ์ สวัสดิวัฒน์, Ph.D. (MOLECULAR BIOLOGY), จามร สมณะ, Ph.D. (PLANT BIOCHEMISTRY)

#### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานนี้คือการศึกษากลไกการสูญเสียและการซ่อมแซมโปรตีน PSII ที่เกิดขึ้นอยู่เป็นประจำโดยโปรตีนนี้เป็นโปรตีนองค์รวมมีขนาดมากกว่า 1000 kDa ทำหน้าที่ในการรับแสงและออกซิไดซ์น้ำให้ได้อิเล็กตรอนเพื่อส่งต่อไปยังโปรตีนที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์แสงตัวอื่นในขบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งหากโปรตีนนี้ถูกทำลายการสังเคราะห์แสงก็จะไม่สามารถเกิดขึ้นได้โดยโปรตีนที่ถูกทำลายนั้นเป็นโปรตีน D1 มีขนาด 32kDa ที่อยู่ใจกลางของโปรตีนองค์รวม PSII นี้เมื่อ D1 ถูกทำลายจะทำให้โปรตีน PSII นี้ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ไม่ได้ การที่จะทำให้ PSII นี้กลับมาทำงานได้ต้องทำการย้ายโปรตีน D1 ที่ถูกทำลายนั้นออกไปแล้วสร้างขึ้นใหม่ใส่เข้าไปไว้ใน PSII เหมือนเดิมจึงจะสามารถทำให้ขบวนการสังเคราะห์แสงกลับมาทำงานได้ซึ่งขบวนการนี้มีขั้นตอนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องมากมาย ในการศึกษาการซ่อมแซมของโปรตีนองค์รวม PSII นี้ อาจทำให้ทราบกลไกการควบคุมและปฏิกริยาในการแทนที่ของโปรตีนที่จำเพาะของในโปรตีนองค์รวมที่มี โปรตีนองค์ประกอบจำนวนมากจากการศึกษาในสาหร่ายสีเขียวกลายพันธุ์ rep27 ที่ได้มาจากการทำให้บกพร่องในการซ่อมแซมโปรตีนองค์รวม PSII จนทำให้ความสามารถในสังเคราะห์แสงลดลง การทำยีนโคลนนิ่งและศึกษาทางชีวเคมีพบว่า โปรตีน REP27 ซึ่งเป็นโปรตีนที่สร้างขึ้นในไซโตพลาสซึมเพื่อที่ส่งไปทำงานในคลอโรพลาสต์ มีบทบาทในการทำให้ D1 กลับมาทำงานในโปรตีนองค์รวม PSII ได้แต่ไม่จำเป็นในการสังเคราะห์ D1 ใหม่และการรวมเข้าเป็นโปรตีนองค์รวม PSII โครงสร้างของโปรตีน REP27 นี้ ประกอบด้วย หน่วย สายเพปไทด์ที่ซ้ำๆกันที่เรียก Tetratricopeptide ซึ่งคาดว่าทำหน้าที่ในการช่วยอำนวยความสะดวกให้สาย mRNA ของ psbA gene สร้างโปรตีน D1 ใส่เข้าไปในรวมเข้าโปรตีนองค์รวม PSII