

Diss. Nr. 5571

S T R U K T U R D E R T H Y L A K O I D M E M B R A N

E I N E G E F R I E R A E T Z - U N D D O P P E L A B D R U C K S T U D I E

A B H A N D L U N G

zur Erlangung

des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften

der

E I D G E N O E S S I S C H E N T E C H N I S C H E N

H O C H S C H U L E Z U E R I C H

vorgelegt von

E R N S T W E H R L I

Dipl. Ing. Agr. E T H

geboren am 26. März 1942

von Küttigen/AG und Zürich

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. K. Mühlethaler, Referent

Prof. Dr. H. Moor, Korreferent

1975

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit stellt den Versuch einer umfassenden strukturellen Charakterisierung isolierter Thylakoidmembranen aus Spinatchloroplasten dar. Als Methode wurde das Gefrier-Doppelabdruckverfahren zur Herstellung komplementärer Bruchhälften und das Aetzverfahren zur Oberflächenabbildung verwendet. Besondere Bedeutung wird dem Studium parakristalliner Strukturbereiche im Inneren und an den Oberflächen der Thylakoidmembran beigemessen. Im weiteren wird versucht, durch partiellen Abbau und Extraktion der Lipide und Pigmente Aufschluss über deren Lokalisation in der Thylakoidmembran zu gewinnen. Die Befunde werden mit der entsprechenden Literatur verglichen und diskutiert. Daraus ergeben sich folgende Schlussfolgerungen für die Struktur und Funktion der Thylakoidmembran:

1. Die Thylakoidmembran ist in ihrem strukturellen Aufbau komplizierter als das "Fluid-Mosaic"-Modell von Singer und Nicolson (102). Die Proteine sind sowohl im Inneren, wie an den Aussenflächen der Thylakoidmembran zu finden und die Lipide können als einfache Schichten die Proteine überdecken oder als Doppelschichten dazwischen liegen.
2. Die Lipide und Pigmente der Thylakoidmembran sind asymmetrisch auf die beiden Membranhälften verteilt. Es wird vorgeschlagen, dass sich die Monogalaktolipide zusammen mit den Sulfolipiden und den Phosphatidylglycerinen in der äusseren Membranhälfte befinden, während die Digalaktolipide und die Chlorophylle eine monomolekulare Mischschicht bilden, die in der gegen das Thylakoidlumen gerichteten Membranhälfte liegt.

3. Die Proteine im Inneren der Thylakoidmembran bilden einheitliche morphologische Komplexe von ca. 100 \AA Grösse, die im Bereich der Granaregionen noch grösseren morphologischen Membraneinheiten angehören können. Diese können in parakristalliner Anordnung vorliegen, wo sie eine maximale Fläche von $200 \text{ \AA} \times 250 \text{ \AA}$ bedecken. Die membraninternen Proteine sind nicht vollständig in die Lipidschicht eingebettet und können an der nach der Stromaseite orientierten Oberfläche sichtbar werden.
4. Die Proteine der Thylakoidoberflächen bilden charakteristische morphologische Komplexe. Auf der äusseren Thylakoidoberfläche sind es 120 \AA grosse Partikel, die die Koppelungsfaktoren der Photophosphorylierung enthalten, auf der inneren Thylakoidoberfläche Komplexe, die aus vier Untereinheiten bestehen. Für letztere wird vorgeschlagen, dass es sich um Aggregate von Cytochrom-f handle.
5. Zwischen den Partikeln der äusseren Thylakoidoberfläche und denjenigen im Innern der Membran besteht wahrscheinlich kein direkter Zusammenhang, hingegen zwischen den Vierergruppen der inneren Oberfläche und den grossen membraninternen Partikeln der Granaregion.
6. Die Thylakoidmembran weist sowohl im Inneren, wie auch an ihren beiden Oberflächen eine Differenzierung in Stroma- und Granaregion auf. Interessant ist der Befund, dass die Koppelungsfaktoren der Photophosphorylierung nur in den Stromaregionen der Thylakoide beobachtet wurden.
7. Die membraninternen Komponenten, sowie diejenigen der beiden Oberflächen weisen in den Stromaregionen eine freie laterale Beweglichkeit auf. Bei Membrankontakt in der Granaregion wird diese Beweglichkeit stark eingeschränkt.

A B S T R A C T

Thylakoid membranes isolated from chloroplasts of spinach leaves have been studied morphologically by the freeze-etching technique, in particular by the double replica method, which permits comparison of both parts of a fractured specimen. Special attention was given to membrane regions with paracrystalline patterns. In addition, partial extraction of the thylakoid membranes by acetone was used to study the distribution of the lipids and pigments within the membrane.

This study provides evidence for the complementarity between the fracture faces of the thylakoid membrane produced by the freeze-fracture procedure. A model of the thylakoid membrane is suggested in which vertical asymmetry and lateral differentiation into stroma and grana regions are essential (e.g. chlorophyll is located on the luminal face of the thylakoid membrane and coupling factors (CF_1) are restricted to the stroma regions). Two groups of protein complexes (with sizes of 100\AA and 150\AA) are frequently interposed in the hydrophobic core of the thylakoid membrane. These complexes may be assembled in units of approximately $200\text{\AA} \times 250\text{\AA}$ which can form paracrystalline structures. Furthermore, the relation between surface and internal membrane components is established and the biochemical and functional significance of the observed structures discussed.