

Diss. ETH Nr. 7976

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN AN PHOTOSYNTHESE
MEMBRANEN VERSCHIEDENER PURPURBAKTERIEN

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels eines
DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN
der
EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von
FRANZ PHILIPP WYSS
Dipl. Natw. ETH
geboren am 3.11.1956
von Solothurn und Riedholz SO

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. K. Mühlethaler, Referent
PD Dr. F. Jay, Korreferent

1986

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden monoklonale Antikörper gegen die native photosynthetische Membran (Thylakoidmembran) von Rps. viridis hergestellt. Daraus resultierten vor allem Klone gegen die Lichtsammlerpolypeptide B1015- α und β , aber auch gegen 2 Lipide (Sulfolipid und Cardiolipin).

Mittels Kreuzreaktionen anhand der anti-Lichtsammlerpolypeptid - Antikörper in zwei unabhängigen Testsystemen (ELISA - native Membran; Protein A J¹²⁵ Radioimmunoblot - denaturierte Membran) konnte eine abnehmende Ähnlichkeit (Verwandtschaft) von Rps. viridis zu Rps. sulfoviridis - Rm. vannielii - Rps. palustris - Th. pfennigii - Ect. abdelmalekii - Rhiz. japonicum festgestellt werden (eine Reihe anderer Purpurbakterien ergaben keine Kreuzreaktionen).

Die Resultate wurden mit andern taxonomischen Untersuchungsmethoden (v.a. 16s RNA Sequenz, Cyt c, Lipidzusammensetzung) verglichen und bezüglich konvergenter und divergenter Entwicklung analysiert.

Im speziellen Vergleich zeigt sich Rps. sulfoviridis sowohl in Struktur (Elektronenmikroskop), Lage der kreuzreagierenden Protein-Antigenstellen (Immunelektronenmikroskopie), sowie den hauptsächlichen Lipidkomponenten von Rps. viridis kaum unterscheidbar (Lipidanalysen von Rps. viridis und Rps. sulfoviridis).

Immunologische Markierungen (Immunelektronenmikroskopie), sowie radioaktive Markierungen lassen auf eine asymmetrische Verteilung der Lipide in der Thylakoidmembran von Rps. viridis schliessen: auf der exoplasmatischen Seite, innerhalb der photosynthetischen Einheit liegt das Cardiolipin, ausserhalb ein Sulfolipid (SL2); auf der plasmatischen Seite, innerhalb der Einheit liegt ein Ornithinlipid.

Summary

Monoclonal antibodies were raised against the native photosynthetic membrane (thylakoid membrane) of Rps. viridis.

The majority of the hybridomas produced antibody specific for the light harvesting polypeptides B1015- α and B1015- β . In addition, antibodies against two lipids (a sulfolipid and cardiolipin) were detected.

Two independent screening assays, namely the ELISA assay (carried out on native membranes) and the protein A-I¹²⁵ immunoblot (using SDS-denatured proteins) were used to test for cross reactions between the light harvesting polypeptides. Using antibodies specific for B1015- α and B1015- β it was possible to ascertain significant cross reaction with Rps. sulfovireidis and succeedingly less reaction with Rm. vannielii, Rps. palustris, Th. pfennigii, Ect. abdelmalekii, and Rhiz. japonicum. A number of other purple bacteria failed to show any cross reaction with Rps. viridis. These results will be compared with those derived from other taxonomical analyses (for example 16S RNA sequences, cytochrome c and polar lipid composition) and are interpreted for convergent or divergent evolution of the different bacterial strains.

A direct comparison of Rps. sulfovireidis and Rps. viridis showed that the two strains appear to be closely related. They could not be differentiated on the basis of structure (determined by electron microscopy), the majority of the antigenic determinants on two of the light harvesting polypeptides were topographically indistinguishable (immune electron microscopy) and the major lipid components appear identical. Based upon both antibody-mediated- and radioactive-labelling of the lipids an asymmetrical distribution of the lipids in

the thylakoid membranes of Rps. viridis were determined. Cardiolipin, one of the major lipids, is located on the exoplasmatic surface and is present within the photosynthetic unit. A sulfolipid component is present between the units and an ornithine lipid is found on the plasmatic surface between the reaction centre and light harvesting complexes.