



Doctoral Thesis

Untersuchungen der Primärstruktur von Lichtsammlerpolypeptiden von Grünen und Purpurbakterien

Author(s):

Wagner-Huber, Regula

Publication Date:

1990

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000568880> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

11. Mai 1990

DISS.ETH Nr. 9117

**Untersuchungen der Primärstruktur von
Lichtsammlerpolypeptiden von Grünen und
Purpurbakterien**

Abhandlung
zur Erlangung des Titels der
Doktorin der Naturwissenschaften
der
Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich

vorgelegt von
Regula Wagner-Huber
Dipl. Natw. ETH
geboren am 15. April 1961
von Zürich und Buckten (BL)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. H. Zuber, Referent
Prof. Dr. Ph. Matile, Korreferent

1990

H. Zuber

6. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Primärstruktur von pigmenttragenden Polypeptiden des photosynthetischen Apparates von Grünen und Purpurbakterien. Als Vertreter der Purpurbakterien wurde *Ectothiorhodospira halochloris*, ein schwefelverwertendes, extrem halophiles Bakterium ausgewählt. Durch Extraktion von lyophilisierten Zellen und nachfolgenden, verschiedenen Chromatographieschritten gelang es, insgesamt mindestens vier Lichtsammelnpolypeptide des α/β Typs zu isolieren und rein darzustellen. In der Folge konnte von zwei dieser Polypeptide die gesamte und von den zwei anderen ein beträchtlicher Teil der Primärstruktur ermittelt werden. Der Vergleich dieser AS-Sequenzen mit bekannten Sequenzen von anderen Purpurbakterien ergab interessante neue Resultate. So ist in einem β -Polypeptid, das sonst strikt konservierte Histidin, welches mit grosser Wahrscheinlichkeit das BChl bindet, durch ein Asn ersetzt. In zwei der Antennenpolypeptide, welche sich u. a. durch auffallend verlängerte C-Termini auszeichnen, wurden zudem zum ersten Mal Cysteinreste gefunden. Interessant ist auch die Tatsache, dass alle untersuchten Lichtsammelnpolypeptide eine höhere Homologie zu 'core' AK Polypeptiden zeigen als zu denjenigen der peripheren AK, was ein Hinweis auf eine phylogenetisch späte Abtrennung eines möglichen peripheren AK sein könnte.

In Analogie zu *Chloroflexus aurantiacus* wurde aus Chlorosomen verschiedener Vertreter der Chlorobiaceae (*Pd. luteolum*, *Cb. limicola*, *Pc. aestarii*, *Cb. vibrioforme* und *Cb. phaeovibrioides*) das Polypeptid isoliert und gereinigt, von welchem angenommen wird, dass es für die Bindung des Pigmentes (BChl c) innerhalb des Chlorosoms verantwortlich ist. Im Falle von *Pd. luteolum* konnte die gesamte AS-Sequenz dieses Polypeptids ermittelt werden, während bei den entsprechenden Polypeptiden der vier anderen Bakterien je mindestens die ersten 49 AS von 60 hatten identifiziert werden können. Der Vergleich dieser Primärstrukturen mit dem c-Protein von *Chloroflexus aurantiacus* ergibt Homologien um 30%, die sich hauptsächlich auf zwei Regionen konzentrieren. Die Asn und Gln Reste, welche für *Chloroflexus* als Bindungsstellen vorgeschlagen wurden, sind nicht erhalten. Der eine homologe Bereich enthält jedoch ein konserviertes Histidin, welches evt. als Ligand zum BChl funktionieren könnte. Die Homologien der Sequenzen der c-Proteine der Chlorobiaceae untereinander sind ausserordentlich hoch, zwischen 84 und 100% und sind ein Hinweis darauf, dass diese Polypeptide eine wichtige Funktion haben, welche nur wenig AS-Austausche zulässt. Von weiteren Chlorosomenproteinen wurden kurze Anfangssequenzen bestimmt, ebenso wie von einem vermutlich nur mit dem Chlorosom assoziierten 7.5 kDa Polypeptid.

Die Reinigung von Reaktionszentren aus *Pd. luteolum* hatte u. a. zum Ziel, pigmenttragende Polypeptide daraus zu isolieren. Es gelang spektral intakte RC zu präparieren. Die sonstigen Charakteristika (Differenzspektren, Polypeptidzusammensetzung) stimmen jedoch nicht ganz mit den zu erwartenden Daten aus der Literatur überein. Trotz Anwendung verschiedener Methoden gelang es nicht, ein 65 kDa Polypeptid, welches mit grosser Wahrscheinlichkeit das Apoprotein des RC ist, zu isolieren. Dagegen konnten von einem weiteren pigmenttragenden Polypeptid, welches zwischen Chlorosom und RC lokalisiert ist, dem BChl a bindenden Protein, die Sequenz der ersten 19 AS bestimmt werden.

7. Summary

The aim of these theses was the investigation of the primary structure of pigment-binding proteins from green and purple bacteria.

Ectothiorhodospira halochloris, a sulphur oxidizing, extremely halophilic bacterium was chosen, as a member of the purple bacteria. By extraction of lyophilized cells and subsequent chromatography steps, we were able to isolate and purify at least four α/β light-harvesting polypeptides. The complete amino acid sequence of two of them as well as the major part of the remaining polypeptides could be determined. The comparison of these primary structures with the known sequences of antenna polypeptides of other purple bacteria lead to interesting new results. The strictly conserved His residue, most probably the ligand to the Mg-atom of the BChl molecule, is replaced by Asn. Two of the antenna polypeptides exhibit elongated C-termini and they are the first examples known to contain cystein residues. A further point of interest is the fact, that all light-harvesting polypeptides of *Ec. halochloris* express higher homologies to core complex antenna polypeptides than to those of peripheral complexes, indicative of a late phylogenetical separation of a presumptive peripheral complex.

In analogy to *Chloroflexus aurantiacus*, the protein, which most probably binds the pigment (BChl c) inside the chlorosome, has been isolated and purified from several members of the Chlorobiaceae (*Pd. luteolum*, *Cb. limicola*, *Pc. aestuarii*, *Cb. vibrioforme* und *Cb. phaeovibrioides*). In the case of *Pd. luteolum* the complete amino acid sequence of this protein has been elucidated. From the corresponding proteins of the other four bacteria at least 49 of 60 amino acids each have been identified. The homology to the c-protein of *Chloroflexus aurantiacus* is about 30%, mainly concentrated in two domains. The Asn and Gln residue proposed as possible binding sites for BChl in *Chloroflexus* are not conserved. But one of the homologous regions contains a conserved His residue, which could possibly bind the BChl pigment molecule. The homology between the c-proteins of the Chlorobiaceae is extremely high, 84-100%. Therefore it is very probable, that these proteins have a very important role, which does not allow many amino acid substitutions. From two other chlorosomal proteins, as well as from an additional 7.5 kDa protein, which is perhaps only chlorosome associated, N-terminal sequences have been established.

From isolated reaction centers of *Pd. luteolum*, pigment binding proteins should have been isolated. Spectrally pure reaction centers could be prepared. However other characteristics (dark minus light spectrum, protein composition) were not completely in accordance with the data obtained from literature. Although many different methods were applied we were not able to purify a 65 kDa protein, which is most probably the apoprotein of the reaction center. However, from a further pigment binding protein, the BChl a binding protein located between reaction center and chlorosome, the first 19 amino acids were identified.