



Doctoral Thesis

## **Molecular architecture of a biological turbine the subunit C oligomer the *Ilyobacter tartaricus* $F_1F_0$ ATP synthase**

**Author(s):**

Meier, Thomas Kurt

**Publication Date:**

2002

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004446717> →

**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](#).

DISS. ETH NO. 14800

**MOLECULAR ARCHITECTURE OF A BIOLOGICAL TURBINE:  
THE SUBUNIT C OLIGOMER OF THE  
*ILYOBACTER TARTARICUS* F<sub>1</sub>F<sub>0</sub> ATP SYNTHASE**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY (ETH) ZURICH

For the degree of  
DOCTOR OF NATURAL SCIENCES

Presented by  
THOMAS KURT MEIER

Dipl. Natw. ETH  
Born December 1<sup>st</sup>, 1972  
From Liechtenstein

Accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. Peter Dimroth, examiner  
Prof. Dr. Hauke Hennecke, co-examiner

Zurich, 2002

---

# SUMMARY

---

ATP is the universal chemical energy carrier in all living cells. The majority of this indispensable compound for life is synthesized by an  $F_1F_0$  ATP synthase. Equivalents of this enzyme exist in bacteria, mitochondria and chloroplasts. The enzyme consists of a water soluble  $F_1$  part, which harbors the subunits  $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ . The membrane embedded  $F_0$  part of the enzyme consists of three subunits in a stoichiometry  $ab_2c_n$ . By translocation of the coupling ions (sodium ions or protons) over the membrane, rotational torque is generated within the  $F_0$  motor and transmitted to the  $\gamma$  shaft which rotates together with subunits  $c_n$  and  $\epsilon$  against the stator subunits  $ab_2\alpha_3\beta_3\delta$ . The rotation of the asymmetric  $\gamma$  subunit causes conformational changes in the catalytically active  $\beta$  subunits, which leads to the synthesis of ATP. The translocation of the coupling ions is performed by the subunits  $a$  and  $c$ . Details of this event and the conversion into rotary torque are still not clear mainly because structure information on the  $F_0$  motor is still incomplete.

This work provides new insights into the structure and function of the subunit  $c$  oligomer of the *Ilyobacter tartaricus* ATP synthase. First, the purified  $c$  subunit turbine was shown to retain its native structure in the solubilized form. Then, for structural analysis, the  $c$ -ring was crystallized in two dimensions. Atomic force microscopy and cryo-transmission electron microscopy indicated that the  $c$ -oligomer from the bacterium *I. tartaricus* forms a ring structure consisting of 11 subunits. Each subunit is composed of an  $\alpha$ -helical hairpin, protruding the bacterial membrane and connected by a cytoplasmic loop. The inner ring of 11  $\alpha$ -helices is tightly packed, whereas the outer ring is more relaxed. The coupling ion binding sites on the  $c$ -ring are located near the middle of the membrane. The turbine has 11 putative access channels, allowing free access for the  $Na^+$  ions to the binding sites from the cytoplasm. The  $Na^+$  ions are coordinated in the binding site by at least three amino acids, which are located on two adjacent subunits. The single subunits, which make up one  $c$  ring, are therefore cross-bridged by  $Na^+$  ions. This constellation leads to a remarkable stability of the complex, allowing even boiling in sodiumdodecylsulfate. The number of  $c$  subunits seems to be a constant for each species and is determined by the protein's primary structure. By every  $360^\circ$ -turn of the enzyme's rotor part, 3 ATP molecules are synthesized and released into

the cytoplasm of the cell. The number of subunits in the c-ring is therefore the determinant for the number of sodium ions (or protons), which have to be translocated over the membrane for the formation of 1 ATP molecule. Nature seems to prefer a non-integer ratio, which lies between 3.3 and 4.7, depending on the organism. The structural data are fully in accord with the biochemical data of ion coordination and translocation presented in this work and they provide strong support for the refined 1a+11c channel model of the F<sub>o</sub> sector.

## KURZFASSUNG

---

ATP ist die universelle chemische Energiewährung in allen lebenden Zellen. Der grösste Teil dieser für das Leben unverzichtbaren Verbindung wird durch die  $F_1F_0$  ATP-Synthase synthetisiert. Dieses Enzym kommt in Bakterien, Mitochondrien und Chloroplasten vor. Das Enzym besitzt einen wasserlöslichen  $F_1$  Teil, bestehend aus den Untereinheiten  $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ . Der in der Membran eingebettete  $F_0$  Teil beherbergt drei verschiedene Untereinheiten in einer Stöchiometrie  $ab_2c_n$ . Durch Translokation der Kopplungionen (Natrium-Ionen oder Protonen) über die Membran wird innerhalb des  $F_0$ -Motors ein Drehmoment erzeugt, wodurch die Rotoruntereinheiten  $c_{11}\gamma\epsilon$  gegen die Stator-Untereinheiten  $ab_2\alpha_3\beta_3\delta$  rotieren. Die Rotation der asymmetrischen  $\gamma$ -Untereinheit verursacht Konformationsänderungen in der katalytisch aktiven  $\beta$ -Untereinheiten, was zur Synthese von ATP führt. Die Translokation der Kopplungionen wird von den Untereinheiten a und c bewerkstelligt. Genaue Details dieses Vorgangs, welcher die Umwandlung des Drehmomentes in Rotationsbewegung beinhaltet, sind heute noch immer unvollständig beschrieben.

Diese Arbeit bietet neue Erkenntnisse bezüglich der Struktur und Funktion des Oligomers aus c-Untereinheiten der *Ilyobacter tartaricus* ATP-Synthase. Zuerst konnte gezeigt werden, dass die gereinigte Turbine aus c-Untereinheiten ihre native Struktur auch in solubilisierter Form behält. Danach wurde der c-Ring für strukturelle Untersuchungen in 2-D kristallisiert. Untersuchungen mit Hilfe von Atomkraftmikroskopie und Kryo-Elektronenmikroskopie zeigten dann, dass das c-Oligomer des Bakteriums *I. tartaricus* eine Ringstruktur, bestehend aus 11 Untereinheiten, besitzt. Jede Untereinheit besteht aus einer  $\alpha$ -helikalen Haarnadel, welche die bakterielle Membran durchstösst und durch einen zytoplasmatischen Henkel verbunden ist. Der innere Ring aus 11  $\alpha$ -Helices liegt in einer eng gepackten Form vor, während der äussere Ring mehr aufgelockert ist. Die Bindungsstellen für die Kopplungionen auf dem c-Ring befinden sich in der Nähe der Membranmitte. Die Turbine hat 11 mutmassliche Zugangskanäle, welche den Natriumionen eine freie Zugänglichkeit von der zytoplasmatischen Seite zu den Bindungsstellen hin erlauben. Die Natriumionen werden von mindestens drei Aminosäuren, welche auf zwei

benachbarten Untereinheiten liegen, in der Bindungsstelle koordiniert. Deshalb sind die einzelnen c-Ring aufbauenden Untereinheiten durch Natrium Ionen verbrückt. Eine solche Konstellation bewirkt eine bemerkenswerte Stabilität des Komplexes, welche sogar Kochen in Natriumdodecylsulfat übersteht. Die Anzahl c-Untereinheiten scheint für jede Spezies konstant zu sein und wird durch die Primärstruktur des Proteins definiert. Bei jeder Umdrehung des Rotorteils um  $360^\circ$  können 3 ATP Moleküle synthetisiert und ins Zytoplasma der Zelle entlassen werden. Die Anzahl Untereinheiten im c-Ring ist deshalb der bestimmende Faktor für die Anzahl Natriumionen (oder Protonen), welche über die Membran transloziert werden müssen, um ein ATP Molekül zu erzeugen. Die Natur scheint hier ein nicht-ganzzahliges Verhältnis zu bevorzugen, welches, abhängig vom jeweiligen Organismus, zwischen 3.3 und 4.7 liegt. Die strukturellen Daten stimmen voll und ganz mit den biochemischen Daten der in dieser Arbeit vorgestellten Ionen-Koordination und -Translokation überein und unterstützen sehr stark das verfeinerte  $1a+11c$ -Kanalmodell des  $F_0$  Sektors.