



Tillmann Burghardt

Jahrgang 1979. 1999–2005 Biologiestudium an der Universität Regensburg. 2005–2008 Dissertation am dortigen Institut für Mikrobiologie und Archäozentrum/Zentrum für Elektronenmikroskopie unter der Leitung von Prof. Dr. Rachel. Seit 2009 Akademischer Rat am Institut für Anatomie der Universität Regensburg.

VAAM-Promotionspreis 2009

Ignicoccus hospitalis und *Nanoarchaeum equitans*: Proteine der Kontaktstelle

TILLMANN BURGHARDT

INSTITUT FÜR ANATOMIE, UNIVERSITÄT REGENSBURG

Das Organismensystem *Ignicoccus hospitalis* und *Nanoarchaeum equitans* repräsentiert die erste bekannte rein hyperthermophile und rein archaelle Biozönose. Während *Ignicoccus* chemolithoautotroph wächst und seine Energie durch Bildung von H_2S aus Schwefel und molekularem Wasserstoff gewinnt, ist eine Kultivierung von *N. equitans* lediglich in direktem Kontakt mit *I. hospitalis* möglich (Abb. 1A). *N. equitans* zählt mit einem Zelldurchmesser von 400 nm und einer Genomgröße von 490 kbp zu den kleinsten bekannten Lebewesen [1]. Analysen deuten auf erhebliche genomische Defizite der fundamentalen Biosynthesewege hin. Daraus ergab sich die Frage nach einem möglichen Stoffaustausch zwischen den Spezies und den an der Versorgung von *N. equitans* beteiligten Strukturen, weshalb unser spezielles Interesse der Kontaktstelle zwischen den Mikroorganismen galt.

Das auffälligste ultrastrukturelle Merkmal der Gattung *Ignicoccus* ist die erstmals für Archaeen beschriebene äußere Membran als abschließende Zelloberfläche, welche einen ungewöhnlich weiten und mit Vesikeln gefüllten, periplasmatischen Raum um die Zytoplasmamembran aufspannt und vermutlich eine zentrale Bedeutung im Aufbau der Kontaktstelle zwischen *I. hospitalis* und *N. equitans* sowie dem Austausch zwischen den Organismen einnimmt.

Ziel war die strukturelle und funktionelle Charakterisierung des dominierenden Oberflächenproteins von *I. hospitalis* sowie die Identifikation weiterer, potenziell am Aufbau der Kontaktstelle beteiligter Proteinspezies. Mit Ihomp1 (*Ignicoccus hospitalis* outer membrane protein 1) wurde das erste Protein dieser einzigartigen Membranstruktur charakterisiert [2]. Nach bioinformatischer Recherche handelt es sich um ein kleines, funktionell uncharakterisiertes Protein (6,3 kDa), welches keinerlei signifikante strukturelle Homologien zu bereits bekannten Proteinen aufweist. Ihomp1 bildet homoooligomere Komplexe aus; sie repräsentieren die funktionelle Einheit der dominierenden 7 nm-Partikel der Zelloberfläche von *I. hospitalis*, formen Transmembranporen und erfüllen möglicherweise eine Funktion in der Versorgung des Organismus mit Nährstoffen, wie dem terminalen Elektronenakzeptor Polysulfid. So wurde durch elektrophysiologische Einzelkanalstudien in künstlichen Membranen eine signifikante Leitfähigkeit für nativ aufgereinigte Ihomp1-Komplexe nachgewiesen.

Immunzytologische Studien an Gefrierätzpräparaten der drei bekannten *Ignicoccus*-Spezies belegten, dass es sich bei Ihomp1 um ein spezies- bzw. wirtsspezifisch exprimiertes Protein handelt.

Für die strukturelle und funktionelle Charakterisierung nativer Ihomp1-Komplexe wur-

de ein mehrstufiges Aufreinigungsprotokoll etabliert. Massenspektrometrische (LILBID-MS), bioinformatische und CD-spektroskopische Analysen bestimmten für die stabilen Ihomp1-Komplexe eine einheitliche Stöchiometrie aus zehn Monomeren, welche die Membran in α -helikaler Form durchspannen (Abb. 1B). Eine röntgenkristallografische Untersuchung der Komplexe ist in Arbeit. Laut gelochromatografischer Daten wird eine Funktion des Proteins in der Initiierung der Zell-Zell-Interaktion zwischen *I. hospitalis* und *N. equitans* als spezifisches Erkennungs- bzw. Bindemotiv für das dominierende Oberflächenprotein NEQ300 aus *N. equitans* diskutiert.

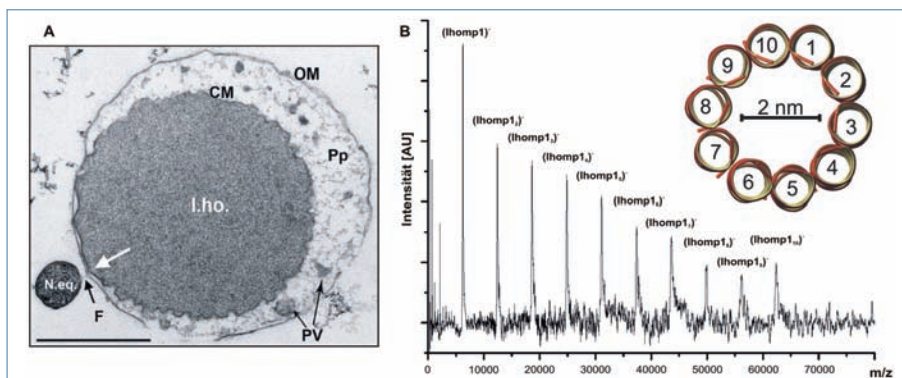
Im Rahmen einer proteinanalytischen Untersuchung der Membranfraktionen von *I. hospitalis* und *N. equitans* wurde die Expression von mehr als 280 Proteinen beider Organismen nachgewiesen. Für einen Großteil dieser Proteine ist bislang keine bioinformatische Funktionsvorhersage insbesondere für die Interaktion zwischen *I. hospitalis* und *N. equitans* möglich [3, 4].

Literatur

- [1] Jahn U, Gallenberger M, Paper W, Junglas B, Eisenreich W, Stetter KO, Rachel R, Huber H (2008) *Nanoarchaeum equitans* and *Ignicoccus hospitalis*: new insights into a unique, intimate association of two Archaea. *J Bacteriol* 190:1743–1750.
- [2] Burghardt T, Näther DJ, Junglas B, Huber H, Rachel R (2007) The dominating outer membrane protein of the hyperthermophilic Archaeum *Ignicoccus hospitalis*: a novel pore-forming complex. *Mol Microbiol* 63:166–176.
- [3] Burghardt T, Saller M, Gürster S, Müller D, Meyer C, Jahn U, Hochmut E, Deutzmann R, Babinger P, Wirth R, Huber H, Rachel R (2008) Insights into the proteome of the hyperthermophilic Crenarchaeum *Ignicoccus hospitalis*: the major cytosolic and membrane proteins. *Arch Microbiol* 190:379–394.
- [4] Burghardt T, Junglas B, Wasserburger N, Meyer C, Siedler F, Deutzmann R, Wirth R, Huber H, Rachel R (2009) The interaction of *Nanoarchaeum equitans* with *Ignicoccus hospitalis*: Proteins in the contact site between two cells. *Biochem Soc Trans* 37:127–132.
- [5] Jahn U, Gallenberger M, Paper W, Junglas B, Eisenreich W, Stetter KO, Rachel R, Huber H (2008) *Nanoarchaeum equitans* and *Ignicoccus hospitalis*: New Insights into a Unique, Intimate Association of Two Archaea. *J Bacteriol* 190:1743–1750.

Korrespondenzadresse:

Dr. Tillmann Burghardt
Institut für molekulare und zelluläre Anatomie
Universität Regensburg
Universitätsstraße 31
D-93051 Regensburg
Tel.: 0941-943-2873
Fax: 0941-943-2861
Tillmann.Burghardt@vkl.uni-regensburg.de



▲ Abb. 1: A, EM-Aufnahme der Kontaktstelle zwischen *Ignicoccus hospitalis* (I.ho.) und *Nanoarchaeum equitans* (N.eq.). CM: Zytoplasmamembran; OM: äußere Membran; Pp: periplasmatischer Raum; PV: periplasmatische Vesikel; F: interzelluläre fibrilläre Strukturen; weißer Pfeil: Kontaktstelle. Balken: 1 μ m [1]. B, LILBID-Massenspektrum und Modell eines Ihomp1-Homodecamers.