

VU Research Portal

Imaging membrane-protein diffusion in living bacteria

Varadarajan, A.

2017

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Varadarajan, A. (2017). *Imaging membrane-protein diffusion in living bacteria*.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Nederlandse Samenvatting

De visualisatie van membraaneiwit diffusie in levende bacteriën

In levende cellen worden essentiële processen, zoals transcriptie, translatie, intracellulair transport en eiwit segregatie gedreven door eiwitten die tijdelijke en zeer dynamische interacties aangaan. Enkel-molecuul fluorescentie technieken zijn succesvol ingezet om de mobiliteit van eiwitten te bestuderen in eukaryote en prokaryote cellen. Deze technologie maakt het mogelijk om het gedrag in kaart te brengen van individuele eiwitten met een milliseconden temporele en een nanometer spatiele resolutie.

Met enkel-molecuul fluorescentie microscopie heb ik de laterale mobiliteit van 10 verschillende *E. coli* membraaneiwitten (WALP-KcsA, YedZ, YidC, CstA, GlpT, MscL, MscS, MreB, TatA and YqiK) onderzocht om inzicht te verkrijgen hoe heterogeniteit en macromoleculaire drukte de mobiliteit en functie van bacteriële cytoplasma membraaneiwitten beïnvloed. Hiervoor heb ik ten eerste deze tien eiwitten fluorescent gelabeld en tot expressie gebracht met plasmiden in *E. Coli* bacteriën. Daarna heb ik individuele fluorescente eiwitmoleculen binnen bacteriële cellen gevisualiseerd met wide-field microscopie. Met tracking software heb ik vervolgens de beweging in tijd van de fluorescente eiwitten in kaart gebracht.

In hoofdstuk 3 van dit proefschrift laat ik de invloed van het MreB cytoskelet netwerk op de mobiliteit van trans-membraan eiwitten in *E. coli* zien. In dit hoofdstuk benadruk ik het bestaan van membraan micro-domeinen in het binnen membraan van *E. coli*. Naast het stabiliseren van deze micro-domeinen wordt ook de mobiliteit van trans-membraan eiwitten door het MreB cytoskelet begrenst.

De mobiliteit van de TatA component van het arginine eiwittransport systeem in *E. coli* onderzoek ik in hoofdstuk 4. Dit hoofdstuk brengt de heterogeniteit in de diffusie eigenschappen van het TatA complex naar voren, welke veroorzaakt wordt door een gedeelte van de complexen die sneller bewegen dan anderen. Gebaseerd op deze vindingen stel ik nieuw model voor, het zogenaamde “substraat geïndiceerde flip-flop model” voor het beschrijven van de dynamica van het Tat systeem. In dit model begint de TatA translocatie cyclus met TatA oligomeren en monomeren die vast zitten aan het membraan een complex vormen met TatB en TatC. Daarna bindt substraat eiwit aan dit TatBC complex, gevolgd door de PMF-afhankelijke werving van TatA oligomeren. Vervolgens flippen de TatBC-gebonden TatA oligomeren in het membraan waarmee zij een transmembraan TatABC substraat vormen dat relatief langzaam diffundeert. Dit vormt een gefunctionaliseerde porie die het substraat de mogelijkheid geeft om het membraan van de cytoplasmatische zijde naar het periplamische zijde te passeren.

In hoofdstuk 5, bestudeer ik de mobiliteit van de membraan organiserende eiwitten YqiK en MreB in *E.coli* bacteriën. In dit hoofdstuk laat ik zien dat YqiK flotillin-achtige eigenschappen heeft en wellicht dezelfde eigenschappen heeft als eucaryotische flotillines. Het visualiseren van fluorescerend gelabelde MreB en YqiK laat zien dat regio's met verhoogde fluiditeit (RIFs) en hogere orde regio's (rafts) intrinsieke structurele eigenschappen zijn van *E. coli*'s cytoplasmatische membraan die spatiaal gesepareerd zijn van elkaar.

Concluderend laten mijn bevindingen zien dat *E. coli*'s cytoplasmatisch membraan heterogeen is en georganiseerd wordt door het MreB cytoskelet netwerk. Door het diffusie gedrag van verschillende *E. coli* cytoplasma membraaneiwitten te bestuderen heb ik ontdekt dat membraan heterogeniteit en macromoleculaire drukte twee essentiële parameters zijn die transmembrane eiwit mobiliteit en functie controleren.