

Supramolecular Structure of Visual Pigments in Chicken Photoreceptors

Inaugural-Dissertation

Zur

Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-

Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln



vorgelegt von

Zhiyang Tan

aus Hefei

Berichtersteller: Prof. Dr. U. B. Kaupp
Prof. Dr. U. Baumann
Prof. Dr. Berenike Maier
Dr. Stephan Irsen

Datum der mündlichen Prüfung: 11.06.2018

Abstract

Some birds are supposed to detect polarized light and it is proposed they use this ability for navigation. Since can detect light, the photoreceptors within the retina of birds could play an essential role in the polarized light detection, which proposed by previous studies. There are two types of photoreceptors: cones and rods and the opsins inside the photoreceptor are responsible for light detection. Since cones show higher axial dichroism and polarization sensitivity than rods, which contributed by the opsins inside cones. Therefore, the orientations of opsins inside cones are proposed responsible for polarized light detection. However, the molecular mechanism behind avian polarization sensitivity is still controversial. The molecular mechanism behind insect polarization vision, which is dependent on the orthogonal orientation of microvilli from rhabdomeric photoreceptors, has been investigated for decades. Therefore, the organization of opsins inside these orthogonal microvilli is crucial for polarized light sensitivity. By learning from the molecular mechanism behind insect polarization vision, it has been hypothesized that the polarization vision of birds might also be correlated with a highly ordered arrangement of opsins in photoreceptors. Therefore, it is necessary to identify key structural differences between cones and rods as well as investigate the arrangement of visual pigments within the outer segments of photoreceptors

In this thesis, by using transmission electron microscopy and cryo-electron tomography, I identified two morphologically characteristics to distinguish between cones and rods in the chicken retina. First, I could visualize the oil droplets which are unique for cones and connect the inner and outer segment of each photoreceptor. Second, depending on the plasma membrane organization differences remarkably between rods and cones, I have identified cone by its continued plasma membrane of the outer segment, which forms the discs of outer segments. Moreover, I figure out the plasma membrane of the outer segment of the cone is not always continued to form discs but also separated with discs in some area of the outer segment.

Additionally, I have observed a time-related and osmotic stress related degradation of chicken photoreceptors. These degradations seemed to occur more frequently in

cones than in rods, which gives a hint, which cones are more sensitive and prone to degrade than rods in the chicken retina.

Previous studies suggested a supramolecular organization of Rhodopsin in the outer segments of rods. In my studies of outer segments, I was able to identify electron densities, most probably opsins, in a supramolecular, row-like organization in photoreceptors as well. Further sub-tomogram averaging results in higher resolution of the opsins that are organized in rows, which exhibits an approximate distance of 6-7 nm between two rows and a length of about 40 nm for each row.

My results, that opsins inside disc membranes of photoreceptors form highly organized rows reveals a potential explanation to the question how birds could be able to detect polarized light.

Zusammenfassung

Einige Vögel sind wahrscheinlich in der Lage polarisiertes Licht wahrzunehmen, vermutlich wird diese Polarisationsrichtung von ihnen auch für die Navigation genutzt. Wahrscheinlich sind die Photorezeptoren in der Netzhaut (Retina) des Auges an der Wahrnehmung des polarisierten Lichtes maßgeblich beteiligt. Unter den Photorezeptoren der Netzhaut im Auge wird zwischen Stäbchen, die für das skotopische Sehen (Nachtsehen) benötigt werden, und Zapfen, welche für das photopische Sehen (Farbwahrnehmung) zuständig sind, unterschieden. Beide Zelltypen verwenden spezialisiertes Molekül, das als Opsin bezeichnet wird, um Licht wahrzunehmen. Im Gegensatz zu den Stäbchen zeichnen sich Zapfen bei Vögeln durch einen axialen Dichroismus aus, sie absorbieren Licht also in Abhängigkeit von dessen Polarisation unterschiedlich stark. Die die zugrunde liegenden molekularen Abläufe werden jedoch kontrovers diskutiert. Bereits seit einigen Jahrzehnten wird auch das Polarisationssehen von Insekten untersucht. Hier ist die Organisation der Opsins in den rechtwinklig zueinander angeordneten Mikrovilli von entscheidender Bedeutung. Auf Basis dieser Kenntnisse wird vermutet, dass in Vögeln ebenfalls eine geordnete Ausrichtung der Pigmente in den Zapfen für die Wahrnehmung des polarisierten Lichtes von Bedeutung sein könnte. Für den weiteren Verlauf dieser Arbeit ist es also essentiell Stäbchen und Zapfen klar voneinander zu unterscheiden zu können, hierfür können beispielsweise morphologische Unterscheider herangezogen werden.

In der vorliegenden Arbeit zeige ich mithilfe der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM), auch unter tiefkalten Bedingungen (cryo-TEM) und der Zuhilfenahme der Tomographie, zwei Möglichkeiten auf um Stäbchen und Zapfen in der Retina von Hühnern über die Morphologie zu identifizieren. Dies ist zum einen mithilfe der für Stäbchen typischen Öl-Tröpfchen möglich. Zum anderen ist eine durchgehende Plasmamembran nur für Stäbchen, nicht aber für Zapfen charakteristisch. Außerdem scheinen Zapfen empfindlicher auf die Präparation des Gewebes zu reagieren, da sie deutlich schneller als Stäbchen degradieren.

Für an die Dunkelheit adaptierte Augen wurde in einer vorherigen Studie die Organisation von Rhodopsin in Stäbchen untersucht. Dort ordnet sich das Opsin zu Reihen, bestehend aus Dimeren, an. Sehr ähnliche Beobachtungen von, zu Reihen angeordneten, Opsins konnten hier auch in der Licht-adaptierten Retina gemacht und, durch die Durchschnittsberechnung von Sub-Tomogrammen (Sub-tomogram averaging), näher beschrieben werden. So ergibt sich beispielsweise ein Abstand von 6-7 nm zwischen den aufgereihten Sehpigmenten und eine Länge von annähernd 40 nm.

Die hochgradig organisierte Anordnung von Sehpigmenten in den Außensegmenten der Photorezeptoren konnte erneut gezeigt werden und somit wird die Vermutung bestärkt, dass die Wahrnehmung von polarisiertem Licht in der Retina von Vögeln auf eben jene Organisation zurückzuführen ist.