

Kurzzusammenfassung

Punktmutationen in der mitochondrialen DNA (mtDNA) führen zur Bildung defekter Proteine und folglich zu Atmungskettendefekten, welche verschiedenste Erkrankungen im Menschen verursachen. Bisher wurde angenommen, dass mutierte Proteine nicht in die Atmungskettenkomplexe eingebaut werden können und durch mitochondriale Qualitätskontrollproteasen abgebaut werden. Um die Mechanismen des selektiven Proteinabbaus und der mitochondrialen Stressantwort detaillierter zu verstehen, wurde eine Cybridzelllinie mit einer G6930A Punktmutation in der Cytochrom-c-Oxidase Untereinheit 1 des Komplex IV untersucht. Durch die Mutation entsteht ein Stopp-Codon und folglich ein um 30 % verkürztes Protein, welches jedoch in nicht nachweisbarer Menge vorliegt. In G6930A Cybridzellen liegen neben dem Komplex IV-Defekt auch verminderte Aktivitäten und Mengen der Atmungskettenkomplexe I, II und III vor.

Um die nukleäre Antwort auf den mitochondrialen Stress zu analysieren, wurde eine Genexpressionsanalyse (mRNA-Array) durchgeführt und eine reduzierte Genexpression vieler nukleär kodierter Atmungskettenuntereinheiten festgestellt. Eine kompensatorische Hochregulation der mitochondrialen Biogenese konnte somit ausgeschlossen werden. Zusätzlich waren die mRNA- und Proteinmengen der mitochondrialen Qualitätskontrollproteasen AFG3L2 und YME1L1 hochreguliert. Um die Rolle und den Effekt der Protease AFG3L2 im Abbau von Atmungskettenuntereinheiten zu untersuchen, wurden Pulse Chase Experimente nach transienter Transfektion von AFG3L2-Varianten und transientem AFG3L2-Knockdown durchgeführt. Während die Überexpression der Wildtypform von AFG3L2 in einem erhöhten Abbau von Atmungskettenuntereinheiten resultierte, führte sowohl die Überexpression der dominant negativen AFG3L2-Variante (AFG3L2^{E408Q}) als auch der Knockdown zu einer gesteigerten Stabilität. Die äußerst wichtige Rolle von AFG3L2 im Abbau von Atmungskettenuntereinheiten konnte auf diese Weise demonstriert werden. Darüber hinaus wurde das verkürzte COX1 Protein, sowie andere Atmungskettenuntereinheiten der Komplexe I, IV und V mit Hilfe von Pulldown-Experimenten als Substrate von AFG3L2 identifiziert.

Die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse lassen auf einen gegenseitigen Austausch von Informationen zwischen Mitochondrien und Nukleus schließen, um die Anreicherung von fehlgefalteten und nicht-assemblierten Atmungskettenuntereinheiten und einen damit verbundenen negativen Effekt in den Mitochondrien zu verhindern. Dieses Ziel wird zum einen durch die herunterregulierte Genexpression von kernkodierten mitochondrialen Atmungskettenuntereinheiten und zum anderen durch die Hochregulation der mitochondrialen Qualitätskontrollproteasen erreicht.