

Zusammenfassung

Autophagie ist ein hoch konservierter intrazellulärer Abbauprozess der für verschiedenste zelluläre Vorgänge essentiell ist. Autophagie lässt sich in unterschiedliche Phasen unterteilen: Initiation, Autophagosomen-Reifung und lysosomaler Abbau. Mehr als 40 sogenannte Autophagieproteine (ATGs) sind in diesen Prozess involviert. Autophagie 8 (ATG8, in Säugetieren LC3) ist ein etabliertes Markerprotein für Autophagie und ist von der Initiation bis zur lysosomalen Degradation mit der autophagosomalen Membran verbunden.

Wir haben sowohl Einzel- als auch Doppel- „knock-out“ (KO) Mutanten der zwei *Dictyostelium* Paraloge, ATG8a und 8b hergestellt, als auch Stämme die RFP-ATG8a, und/oder GFP-ATG8b, RFP-ATG8b, RFP-GFP-ATG8a oder RFP-GFP-ATG8b im KO Hintergrund exprimieren. Die ATG8b⁻ Mutante zeigt nur geringe phänotypische Veränderungen im Vergleich zum AX2 Wildtypstamm. Dagegen resultierte eine Deletion von ATG8a in einen komplexen Phänotyp mit verlangsamter Entwicklung, verringertem Wachstum, verringerter Phagozytose und stark verminderter Zellviabilität, einem Anstieg an ubiquitinylierten Proteinen und gleichzeitig einer Verringerung der proteasomalen Aktivität. Der Phänotyp der ATG8a/b Doppelmutante war in allen genannten Aspekten stärker ausgeprägt. Dies deutet auf eine gravierende Störung der zellulären Homeostase hin und zeigt, dass beide Proteine parallele Funktionen in der Autophagie haben.

Immunfluoreszenzanalysen von KO Stämmen, die RFP-GFP-ATG8a oder RFP-GFP-ATG8b exprimieren, zeigten, dass ATG8b eine essentielle Funktion in der Autophagosom-Lysosom-Fusion hat. Analyse von Stämmen die RFP-ATG8b, RFP-ATG8a und/oder GFP-ATG8b exprimieren offenbarten, dass ATG8b generell an kleinen und großen Vesikeln zu finden ist, wohingegen ATG8a vorzugsweise mit ATG8b an größeren Vesikeln lokalisierte. Dies deutet darauf hin, dass ATG8b vor ATG8a an ein gerade entstehendes Autophagosom bindet. Hochauflösende Mikroskopie zeigte, dass ATG8b offensichtlich um ein ATG8a-positives Zentrum angeordnet ist und vermutlich an der äußeren Membran des Autophagosoms lokalisiert ist. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass ATG8a und ATG8b unterschiedliche Funktionen während der Autophagie erfüllen, wobei ATG8b in erster Linie als Adapter für die Autophagosomen-Maschinerie an der äußeren Membran zu fungieren scheint, während die vorherrschende Funktion von ATG8a die eines „Cargo“-Rezeptors an der inneren Membran der Autophagosomen zu sein scheint. Wir folgern, dass *Dictyostelium* ATG8b wahrscheinlich das funktionale Ortholog der LC3 Subfamilie von Säugern und ATG8a der GABARAP Subfamilie ist.