

Zusammenfassung

Die Prohibitine Phb1 und Phb 2 sind evolutionär konservierte Proteine mit unterschiedlicher zellulärer Lokalisation und Funktion. In Hefe formen Prohibitine einen hochmolekularen Komplex in der inneren Mitochondrienmembran, der physikalisch mit der *mAAA* Protease interagiert und die Stabilität von nicht-assemblierten proteolytischen Substraten beeinflusst. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei mögliche Funktionen von Prohibitinen bei der Proteolyse untersucht: 1) Prohibitine als negativer Regulator in der *mAAA* Protease (Steglich *et al.*, 1999) und/oder 2) Prohibitine in der Funktion als molekulare Chaperone für die Assemblierung neu synthetisierter mitochondrialer Proteine (Nijtmans *et al.*, 2000). Um diese beiden Funktionen unterscheiden zu können, wurde die Stabilität der proteolytischen Substrate der *mAAA* Protease in Zellen untersucht, die unterschiedliche Mengen von Prohibitinen enthielten. Während die Überexpression von Prohibitinen die Stabilität von nicht-nativen Proteinen der inneren Membran nicht erhöhte, bewirkte die Abwesenheit von Prohibitinen ihre schnelle Proteolyse. Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen also vermuten, daß Prohibitine bei der Stabilisierung von mitochondrialen Proteinen nicht als Chaperone fungieren. Es scheint eher, daß Prohibitine durch die Bindung an *mAAA* Protease in einer Nukleotid-unabhängigen Weise funktionieren und eventuell die Zugänglichkeit von Substraten für die Protease oder die Aktivität der Protease beeinflussen.

mAAA Protease ist ein entscheidender Faktor im mitochondrialen Qualitätskontrollsystem in Hefe und menschlichen Zellen (Arlt *et al.*, 1996; Arlt *et al.*, 1998; Nolden *et al.*, 2005). In menschlichen Zellen besteht Protease aus Paraplegin und Afg3l2, die homolog zu den Hefeproteinen Yta10 und Yta12 sind (Atorino *et al.*, 2003). In Mäusen wird eine dritte AAA Untereinheit, genannt Afg3l1 exprimiert (Kremmidiotis *et al.*, 2001) und somit bleibt die Zusammensetzung der murinen *mAAA* Proteaseuntereinheit weiter unbekannt. In dieser Arbeit wurden die Komplexe aus Paraplegin, Afg3l1 und Afg3l2 in den Mitochondrien von Wildtyp- und SPG7^{-/-} Mausstämmen untersucht. Immunpräzipitierungsexperimente zeigten, daß Paraplegin, Afg3l1 und Afg3l2 physikalisch interagieren und in einem hochmolekularen Komplex mit Prohibitinen enthalten sind. Dies deutet auf eine konservierte Rolle von Phb1 und Phb2 für die Proteolyse in murinen Mitochondrien

hin. Co-Immunpräzipitierung und Immunabbauexperimente mit Lebermitochondrien aus SPG7^{-/-} Mausstämmen zeigten, daß Afg3l1 und Afg3l2 ebenfalls hochmolekulare Komplexe in Abwesenheit von Paraplegin bilden können. Darüberhinaus waren diese Komplexe in der Lage, mit Prohibitinen zu interagieren, was darauf hindeutet, daß Paraplegin für diese Interaktion nicht essentiell ist.

Offenbar gibt es in der inneren Membran muriner Mitochondrien *mAAA* Proteasen mit unterschiedlicher Zusammensetzung der Untereinheiten. Die physiologische Relevanz dieser *mAAA* Proteasen mit unterschiedlicher Zusammensetzung der Untereinheiten soll hinsichtlich ihrer Substratspezifität und/oder unterschiedlichen Gewebeverteilung diskutiert werden.