

Abstract

Mitochondria are autonomous organelles, which oversee a variety of functions within the cell. They maintain their shape by continuous cycles of fusion and fission. These dynamic processes are regulated by dynamin-like GTPases on the outer and inner mitochondrial membrane and are crucial for adaptation processes. Mutations in these GTPases are linked to mitochondrial diseases such as autosomal dominant optic atrophy or Charcot-Marie-Tooth type 2A. At the inner mitochondrial membrane, the dynamin-like GTPase OPA1 regulates mitochondrial dynamics and is involved in the maintenance of mtDNA, mitochondrial respiration, cristae formation and apoptosis. *OPA1* is transcribed into multiple mRNA isoforms, which are diversely expressed throughout organs in mice and humans. At proteolytic level, OPA1 is processed from a long, membrane-anchored form (L-OPA1) to a short, soluble form (S-OPA1) by the two inner mitochondrial membrane proteases OMA1 and YME1L leading to a balanced formation of L- and S-OPA1. Whereas L- and S-OPA1 forms can maintain mtDNA levels, mitochondrial ultrastructure and respiration, only L-OPA1 mediates inner membrane fusion *in vitro*. In this thesis, the physiological relevance of OPA1 processing and OPA1 isoforms is examined. In mice, YME1L-mediated OPA1 processing is found to be dispensable for embryonic development and post-natal development up to one year of age. In addition, OMA1-mediated OPA1 processing can be strongly reduced without causing a mitochondrial disease-like phenotype in young animals. In heart mitochondria, one OPA1 isoform suffices to sustain mitochondrial tubulation and cristae formation. This applies also to the *in vitro* model where multiple OPA1 isoforms and balanced processing are dispensable for a tubular mitochondrial network, proper cristae formation, maintenance of mtDNA and mitochondrial respiration.

Together, the transgenic mouse lines generated and data provided in this thesis show that balanced OPA1 processing and multiple isoforms are not essential for embryonic and post-natal life.

Zusammenfassung

Mitochondrien sind dynamische Zellorganellen, welche sich durch Änderung ihrer Form an veränderte Bedingungen anpassen können. Diese dynamischen Prozesse werden durch Dynamin-ähnliche GTPasen an der äußeren und inneren mitochondrialen Membran reguliert. Mutationen in diesen Genen führen zu verschiedenen Krankheitsbildern beim Menschen. Auf Ebene der inneren mitochondrialen Membran reguliert die Dynamin-ähnliche GTPase OPA1 mitochondriale Morphologie und ist essentiell für das Erhalten der mitochondrialen DNA, der Atmungskette, der Ultrastruktur und die Regulation mitochondrial-gesteuerter Apoptose. OPA1 wird in mehrere mRNA-Isoformen abgelesen, welche sich durch alternatives Spleißen unterscheiden. Diese Isoformen werden in verschiedenen Organen unterschiedlich stark exprimiert. Auf proteolytischer Ebene wird OPA1 durch die beiden mitochondrialen Proteasen OMA1 und YME1L von einer langen, membran-verankerten Form (L-OPA1) in eine kurze OPA1 Form (S-OPA1) geschnitten. Die Prozessierung durch OMA1 an der Schnittstelle S1 und YME1L an S2 wird durch unterschiedliche Stimuli angeregt. Lange und kurze OPA1 Formen können die mitochondriale Atmung, DNA und Ultrastruktur aufrechterhalten, wohingegen nur L-OPA1 die Fusion aufrechterhalten kann.

Wir haben herausgefunden, dass die Prozessierung von OPA1 durch YME1L nicht essentiell für die embryonale Entwicklung ist und dass Mäuse, welche im kompletten Körper nur eine OPA1 Isoform exprimieren, keine Auffälligkeiten bis zu einem Alter von einem Jahr zeigen. Des Weiteren konnten wir zeigen, dass bis zu einem Alter der Mäuse von 12 Wochen, die Balance zwischen L- und S-OPA1 zugunsten von L-OPA1 stark verschoben werden kann ohne einen pathologischen Phänotyp herbei zu führen. Dem konnten wir *in vitro* Daten hinzufügen, welche zeigen, dass eine OPA1 Isoform ausreicht, um mitochondriale Atmung, Ultrastruktur und DNA zu erhalten und dass OPA1 Prozessierung nicht für ein tubuläres mitochondriales Netzwerk benötigt wird.

Durch Generierung von Mausmodellen, welche OPA1 Exon 4b oder 5b in der alternativen Spleißregion enthalten, haben wir herausgefunden, dass diese nicht kompatibel mit post-nataler Entwicklung sind. Zellexperimente mit OPA1 Isoformen, die Exon 4b enthalten, konnten zeigen, dass eine bisher unbekannte Schnittstelle für YME1L in Exon 4b existiert.

Insgesamt zeigt diese Arbeit, dass endogene Expressionslevel einer OPA1 Isoform in Mäusen bis zu einem Alter von einem Jahr ausreichen, um mitochondriale Funktion zu erhalten, sowie dass OPA1 Prozessierung durch YME1L komplett verhindert und OPA1 Prozessierung durch OMA1 stark reduziert werden kann ohne pathologische Auswirkungen auf junge Mäuse unter normalen Haltungsbedingungen.