

## Zusammenfassung

Makroautophagie ist ein evolutiv konservierter zellulärer Prozess, der sowohl bei vielen physiologischen Prozessen wie Hungerphasen, Zelldifferenzierung, neurodegenerativen Erkrankungen als auch bei der Immunantwort gegen invasive Pathogene eine erhebliche Rolle spielt. Mehr als 30 Gene, die eine Autophagie-bezogene Rolle haben, wurden bislang, überwiegend in Hefen, identifiziert. Etwa 18 von diesen gehören zu den Kern-autophagie Genen, die bei Nahrungsmangel induziert sind. Um die Funktion von Autophagie in *D. discoideum* zu untersuchen, haben wir das hoch konservierte *atg9* Gen ausgewählt. ATG9 ist bislang das einzige bekannte Transmembranprotein, welches zur Kerngruppe der Autophagie gehört. Es wird angenommen, dass es Membranbestandteile zur prä-autophagosomalen Struktur (PAS) in Hefen oder Phagophore in Säugerzellen transportiert, um diese dort für die Synthese des Autophagosoms bereit zu stellen. In Säugerzellen ist ATG9 am *trans*-Golgi und an den Endosomen lokalisiert. Dagegen wird bei *S. cerevisiae* vermutet, dass das Protein an der Oberfläche von Mitochondrien oder nahe gelegenen Organellen lokalisiert ist. In *D. discoideum* Zellen konnten wir ATG9 in Form kleiner, das Protein enthaltender Vesikel (ACVs) nachweisen. Die ACVs sind im gesamten Zytosol verteilt, wo sie oftmals entlang der Mikrotubuli lokalisiert sind und schließlich am Mikrotubuli organisierenden Zentrum (MTOC) akkumulieren. Live Cell Aufnahmen haben gezeigt, dass die ACVs in der Zellperipherie entstehen und anschließend weiter in Richtung des MTOC wandern. Durch die Behandlung der Zellen mit Nocodazol konnte diese Anreicherung von ACVs am MTOC nicht mehr nachgewiesen werden, aber viele von ihnen ko-lokalisieren stets mit den im Zytosol lokalisierten depolymerisierten Mikrotubuli. Diese Resultate deuten darauf hin, dass das mikrotubuläre Netzwerk für den Transport von ACVs zum MTOC genutzt wird. Die Disruption des *atg9* Gens in *D. discoideum* Zellen führt zu einem pleiotropen Phänotyp. Die Autophagie war deutlich blockiert, gezeigt durch einen gestörten autophagischen Fluß und ebenso war das Ubiquitin-Proteasom-System (UPS) stark betroffen. Die proteasomale Aktivität war stark gehemmt, was man bei einer parallelen Studie herausfand (Arhzaouy K. *et al.*, *PLos one*, *in press*). Zudem war die Anzahl an ubiquitinierten Proteinen deutlich erhöht und oftmals konnte man große ubiquitin-positive Aggregate in dem ATG9<sup>-</sup> Stamm beobachten. Außerdem zeigte die ATG9<sup>-</sup> Mutante diverse Wachstumsstörungen, welche sich wahrscheinlich durch eine verminderte Pinozytose- und Phagozytose-aktivität begründen lassen.

Übereinstimmend mit einer Rolle der Autophagie in der Entwicklung von *D. discoideum* zeigte die ATG9<sup>-</sup> Mutante schwerwiegende Entwicklungsstörungen, die allerdings durch die Zugabe des Differenzierung induzierenden Faktors-1 (DIF-1) partiell geheilt werden konnten.