

Die Mitglieder der BCL2-Proteinfamilie sind grundlegend an der Regulation und Einleitung der mitochondrienabhängigen Apoptose beteiligt. Das pro-apoptotische BCL2-Protein BAX und dessen strukturelles Homolog BAK, sind in der Lage eine Permeabilisierung der mitochondrialen Außenmembran zu verursachen. Während BAK konstitutiv mitochondrial lokalisiert ist, befindet sich BAX in dessen inaktivem Zustand vornehmlich im Zytosol. Eine kleinere Fraktion von BAX ist allerdings auch in nicht-apoptotischen Zellen mit den Mitochondrien assoziiert. Gleichzeitig vermittelt das anti-apoptotische Protein BCL-X<sub>L</sub> eine kontinuierliche Retranslokation von BAX zurück in das Zytosol, um dessen kritische Akkumulation an den Mitochondrien zu verhindern. Nach einem Apoptose-Stimulus wird BAX aktiviert und inseriert in die mitochondriale Außenmembran, wo es oligomerisiert und den Ausstrom von Proteinen aus dem Intermembranraum vermittelt. Die freigesetzten Proteine aktivieren eine proteolytische Kaskade, welche schließlich im Zelltod resultiert.

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurde untersucht, welche Faktoren die Membraninsertion von BAX fördern. Da die Assoziation von BAX mit den mitochondrialen Membranen eine hohe Dynamik aufweist und reversibel ist, wurde BAX auf das Vorhandensein einer Lipid-basierten, post-translationalen Modifikation analysiert.

Die Untersuchung von BAX zeigte, dass das Cystein 126 mit einem Palmitinsäure-Rest modifiziert wird und dass diese Palmitoylierung durch Applikation von 2-Bromopalmitat signifikant reduziert werden konnte. Die Substitution des Cystein 126 durch Serin blockierte die Palmitoylierung von BAX und reduzierte gleichzeitig dessen pro-apoptotische Aktivität. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Cystein-Variante BAX C126S eine signifikant reduzierte Membranassoziation zeigte und damit verbunden auch keine hochmolekularen Oligomere bildete. In Folge dessen, resultierte die Expression dieser nicht-palmitoylierten Variante ebenfalls in einer signifikanten Reduktion der Caspase 3-Aktivität gegenüber dem BAX WT sowie in einer verringerten Bildung von *apoptotic bodies*. Nach Substitution von Cystein 62 wurde BAX weiterhin palmitoyliert, wobei die Mutation in der BH3-Domäne gleichzeitig das pro-apoptotische Potential von BAX verstärkte. Die mitochondriale Assoziation war gesteigert und es zeigte sich eine erhöhte Caspase 3-Aktivität im Vergleich zu BAX WT sowie die verstärkte Bildung von *apoptotic bodies*. Dieser pro-apoptotische Effekt der C62S-Mutation überlagerte vollständig die Auswirkungen der C126S-Mutation, weshalb sich die Doppelmutante BAX C62S C126S wie Wildtyp BAX verhielt und keine reduzierte pro-apoptotische Aktivität zeigte. Die Mutation in der BH3-Domäne verursachte dabei keine Beeinträchtigung der Interaktion von BAX mit anti-apoptotischen Proteinen wie BCL-X<sub>L</sub>, was durch die Co-Immunpräzipitation beider Proteine gezeigt werden konnte. Des Weiteren führte die Expression von BCL-X<sub>L</sub> zu einer funktionellen Inhibition von BAX C62S, die sich in einer signifikant reduzierten Caspase 3-Aktivität widerspiegelte. Das Cystein 62 von BAX unterlag des Weiteren einer Nitrosylierung, welche durch die C62S-Mutation unterbunden wurde und damit einhergehend zu dem beobachteten pro-apoptotischen Effekt von BAX C62S führte.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ebenfalls gezeigt, dass die Palmitoylierung von BAX *in vitro* durch die Aktivität der DHHC-Proteine 3, 7, 11, 12 und 21 verstärkt werden konnte. Gleichzeitig konnte nachgewiesen werden, dass Zellen durch die verstärkte Palmitoylierung von BAX gegenüber einem Apoptose-Stimulus sensibilisiert wurden und diese mit einer signifikant höheren Caspase 3-Aktivität auf die Apoptose-Induktion reagierten als Kontrollzellen. Auf diese Weise konnte eine funktionelle Korrelation zwischen der Palmitoylierung von BAX und der Einleitung der Apoptose hergestellt werden.