

Zusammenfassung

Makroautophagie (Autophagie) ist ein intrazellulärer Abbauprozess zur Wiederverwertung von Zellbestandteilen und Organellen, der in eukaryotischen Zellen hoch konserviert ist. An der Steuerung dieses Prozesses sind viele Proteine beteiligt, deren kodierende Elemente als Autophagiegene (ATG's) bezeichnet werden. Autophagie spielt eine wichtige Rolle bei vielen physiologischen und pathologischen Vorgängen und stellt ebenso einen wichtigen Mechanismus in Bezug auf zellautonome Immunität dar. In früheren Untersuchungen haben wir herausgefunden, daß die Infektion von *Dictyostelium discoideum* mit medizinisch relevanten Pathogenen die differentielle Regulation der Autophagiegene *Atg8a*, *Atg8b*, *Atg9*, *Atg12* und *Atg16* bewirkt. In dieser Arbeit werden die Phänotypen der Gendisruptionsmutanten ATG9⁻, ATG16⁻ und ATG9⁻/16⁻ beschrieben, sowie die von Zellen, die ATG16-GFP in diesen Mutanten exprimieren. Die Gendisruption von ATG16 verursachte einen Anstieg der Expression von einer Reihe von Autophagiegengen, u.a. *atg9* und die zwei *atg8* Paraloge. Die ATG9⁻ und ATG16⁻ Einfach- und Doppelmutanten wiesen einen komplexen Phänotyp auf mit ähnlichen Defekten in Pinozytose und Phagozytose. Die Aufnahme von *Legionella pneumophila* war reduziert. Darüber hinaus hatten die ATG9⁻ und ATG16⁻ Zellen erhebliche Defekte in der Autophagie, Entwicklung und proteasomalen Aktivität, die alle in der ATG9⁻/16⁻ Doppelmutante deutlich schwerer ausgeprägt waren. Die Mutanten zeigten dabei einen Anstieg an poly-ubiquitinierten Proteinen und enthielten große, ubiquitin-positive Proteinaggregate, die partiell mit ATG16-GFP in der Doppelmutante kolokalisierten. Wir identifizierten PSMD1 und PSMD2, beides Komponenten des 19S Proteasoms, als neue Interaktionspartner von ATG16. Die Interaktion von PSMD1 und ATG16 erwies sich als direkt. Weitere Analysen ergaben, daß überexprimiertes PSMD1 und PSMD2 in zytoplasmatischen „Puncta“ lokalisiert waren, deren Bildung von ATG16 abhängig war. Die schwerwiegenden Defekte in der Autophagie, Entwicklung und proteasomalen Aktivität in der ATG9⁻/16⁻ Doppelmutante implizieren eine parallele Funktion von ATG9 und ATG16 in der Autophagie und legen darüber hinaus autophagie-unabhängige Funktionen in weiteren zellulären Prozessen nahe. Die Interaktion zwischen ATG16 und proteasomalen Untereinheiten könnte eine direkte Verbindung zwischen der Autophagie und dem Ubiquitin-Proteasom System (UPS) darstellen.