

Zusammenfassung

Die Untersuchung der posttranslationalen Regulation mitochondrialer Funktionen hat sich im Laufe des letzten Jahrzehnts zu einem dynamischen und vielseitigen Forschungsgebiet entwickelt. Insbesondere die reversible Lysinmodifikation der Acetylierung sowie deren möglicher Einfluss auf metabolische Prozesse, wurden tiefgreifend untersucht (Hofer and Wenz, 2014). Das mitochondriale Acetylierungsniveau wird maßgeblich von, einer NAD⁺-abhängigen Proteindeacetylase, die sich in der mitochondrialen Matrix befindet, reguliert (Lombard et al., 2007). Darüber hinaus spielt SIRT3 eine zentrale Rolle bei der Integration von metabolischen Prozessen und dem aktuellen Nährstoffangebot. Als Reaktion auf ein verändertes Nährstoffangebot, induziert SIRT3 eine globale, organübergreifende, Umprogrammierung des gesamten Energiestoffwechsels (Anderson and Hirschey, 2012; Choudhary et al., 2014; Hebert et al., 2013). In umfassenden Massenspektrometrie-basierten Studien wurden unzählige mitochondriale Proteine identifiziert, die durch reversible Lysinacetylierung modifiziert werden können. Darunter befinden sich auch einige Proteinuntereinheiten der Atmungskette. Allerdings gibt es zurzeit noch weitaus weniger Daten bezüglich der funktionellen und physiologischen Relevanz dieser Modifikationen (Hebert et al., 2013; Hofer and Wenz, 2014; Rardin et al., 2013b; Weinert et al., 2015).

Das Hauptziel dieser Arbeit war es, ein besseres Verständnis zu erlangen, welche regulatorische Rolle mitochondriale Acetylierung bei der metabolischen Anpassung des oxidativen Phosphorylierungssystems an plötzliche Veränderungen des Nährstoffangebots spielt. Durch die Kombination von genetischen Strategien zur Veränderung der *SIRT3* Expression und gleichzeitiger Anwendung metabolischer Stressbedingungen in HEK293T Zellen, konnten wir die Rolle von SIRT3 in der metabolischen Stressadaption der mitochondrialen Translation aufklären. Wir konnten zeigen, dass die Regulation der mitochondrialen Translation unabhängig von SIRT3 stattfindet. Dies trifft nicht nur auf die gewählten Kontrollbedingungen, sondern auch bei Anwendung metabolischer Stressbedingungen zu. Folglich liefert diese Arbeit grundlegende Hinweise dafür, dass eine SIRT3-abhängige Regulation der mitochondrialen Translation keinen generellen Mechanismus darstellt, der übergreifend in sämtliche Zelltypen, Organen und Spezies vorzufinden ist. Zusätzlich haben wir den Einfluss von SIRT3 auf Signalwege untersucht, die durch Nährstoffmangel aktiviert werden. Durch Modulation dieser Signalwege könnte SIRT3 in einer potentiellen, retrograden Signalkaskade mitwirken, die den aktuellen Energiehaushalt der Mitochondrien „rückwärts“ zum Zellkern, der Steuerungszentrale jeder Zelle, kommuniziert. Trotz seiner Funktion als zellulärer Nährstoffsensoren und metabolischer Weichensteller, hatte SIRT3 in dem gewählten experimentellen Aufbau keinen Einfluss auf die untersuchte Signalkaskade, welche aus den Kinasen Akt, AMPK und mTOR besteht.

Darüber hinaus haben wir im Rahmen dieser Arbeit untersucht, ob Veränderungen des mitochondrialen Acetylierungsniveaus an einer strukturellen und funktionellen Umorganisation der Atmungskettenkomplexe als Reaktion auf eine veränderte Nährstoffverfügbarkeit beteiligt sind. Mit Hilfe eines *in vitro* Acetylierungsexperiments und nachfolgender Blau-nativ gelelektrophoretischer (BN-PAGE) Analyse konnten wir zeigen, dass ein plötzlicher und unkontrollierter Anstieg der mitochondrialen Acetylierung die strukturelle Organisation der Atmungskette zerstört. Jedoch ließ sich dieser Zusammenhang nicht *in vivo* beobachten, wenn die mitochondriale Acetylierung gewebespezifisch durch genetische und metabolische Interventionen moduliert wurde. Nachfolgende Untersuchungen sollten sich daher mit der Frage auseinandersetzen, ob die erwartete Umstrukturierung der Atmungskette *in vivo* durch möglicherweise stattfindende sekundäre Effekte, wie zum Beispiel einer veränderte Zusammensetzung der inneren mitochondrialen Membran oder der Gegenwart einer definierten Cristastruktur, unterbunden werden kann.

Der letzte Abschnitt dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung von GCN5L1 und seiner Rolle in der mitochondrialen Acetylierung *in vivo*. Dazu wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit neue Mausmodelle mit einer *GCN5L1*-Defizienz hergestellt. Mit Hilfe einer gleichzeitigen Inaktivierung der Gene für GCN5L1 und SIRT3, der mitochondrialen Deacetylase, konnten wir eine Funktion der beiden Proteine als unmittelbare Gegenspieler klar ausschließen. Darüber hinaus zeigen unsere Untersuchungen von Mäusen mit einer gezielten *GCN5L1*-Defizienz im Skelettmuskel bzw. in Vorderhirn-Neuronen, dass GCN5L1 kein essentieller Bestandteil des mitochondrialen Acetyltransferase-Programms ist, wie dies von anderer Seite vorgeschlagen wurde. Stattdessen haben wir einen starken Einfluss von GCN5L1 auf Prozesse der Autophagie beobachtet. Während Mäuse mit gezielter *GCN5L1*-Defizienz im Skelettmuskel eine normale Lebenserwartung und Gesundheit zeigen, erliegen Mäuse mit gezielter *GCN5L1*-Defizienz in den Vorderhirn-Neuronen, kurze Zeit nach Aktivierung der *Cre* Rekombinase, einem plötzlichen Tod. Unsere Datenlage deutet daraufhin, dass der plötzlich eintretende Tod durch erhöhten neuronalen Zelltod ausgelöst werden könnte. Dadurch konnten wir erstmalig zeigen, dass der Verlust von *GCN5L1* in Neuronen des Vorderhirns wesentlich schwerwiegendere Konsequenzen nach sich zieht, als der Verlust des Proteins im Skelettmuskel. Insgesamt stellt diese Arbeit nicht nur die erste Beschreibung eines lebensfähigen Vertebratenmodells mit gezielter *GCN5L1*-Defizienz dar, sondern liefert auch erste experimentelle Hinweise für eine gewebespezifische Funktion von GCN5L1 im Gehirn. Daher trägt diese Arbeit maßgeblich zu einem besseren Verständnis der *in vivo* Funktion von GCN5L1 in Vertebraten bei.