

## Zusammenfassung

Makroautophagie (Autophagie) ist ein in eukaryotischen Zellen hoch konservierter Abbauprozess, der für die zelluläre Protein-Homöostase unerlässlich ist. Während des Abbauprozesses werden zytoplasmatische Komponenten durch ein Autophagosom, welches von einer Doppelmembran umgeben ist, eingeschlossen. Das Autophagosom verschmilzt schließlich mit einem Lysosom zum Autolysosom, in welchem das zytoplasmatische Material abgebaut wird. Die Autophagosomenbildung umfasst zwei Ubiquitin-ähnliche Konjugationsreaktionen an denen verschiedene Autophagieproteine (ATG) beteiligt sind. In der ersten Reaktion wird das Autophagieprotein ATG12 benötigt, welches zusammen mit ATG5 und ATG16 einen Multimer Komplex bildet. Dieser Komplex agiert von der autophagosomalen Membran aus als E3-Ligase bei der Konjugation von ATG8 mit Phosphatidylethanolamin.

Im Rahmen dieser Arbeit werden die komplexen Phänotypen der generierten „Knock out“ (KO)-Stämme ATG12<sup>-</sup> und ATG12<sup>-</sup>/16<sup>-</sup> im Vergleich zu ATG16<sup>-</sup> und zum AX2 Wildtypstamm in *Dictyostelium discoideum* beschrieben. Die Mutanten zeigten eine verlangsamte Entwicklung und einen vergleichbaren Defekt in Zellviabilität sowie in der Ausbildung von Fruchtkörpern. Immunofluoreszenz-Analysen von RFP-GFP-ATG8a-exprimierenden ATG12<sup>-</sup>, ATG16<sup>-</sup> und ATG12<sup>-</sup>/16<sup>-</sup> Stämmen verdeutlichten, dass sowohl ATG12 als auch ATG16 eine essentielle Funktion in der Reifung von Autolysosomen spielen. Des Weiteren führte die Deletion dieser Autophagiegene zu einer verringerten Makropinozytose und zu einem Anstieg an ubiquitinierten Proteinen mit gleichzeitiger Abnahme der proteasomalen Aktivität. Die ATG12<sup>-</sup>/16<sup>-</sup> Doppelmutante wies einen deutlich stärker ausgeprägten Defekt in Phagozytose und Sporen-Viabilität auf. Der schwerwiegendere Phänotyp der Doppelmutante weist darauf hin, dass ATG12 und ATG16 Autophagie-unabhängige Funktionen in weiteren zellulären Prozessen ausüben, in denen sie parallel agieren. Zusätzlich fungieren beide Proteine zusammen mit ATG5 als funktionale Einheit innerhalb des Autophagie-Prozesses. RNASeq- und qRT-PCR-Analysen der Mutanten im Vergleich zu AX2 offenbarten darüber hinaus einen erheblichen Anstieg in der Expression einer Vielzahl von Genen, darunter die Autophagiegene *atg5*, *atg7*, *atg9* und zwei *atg8* Paraloge. Dieses Ergebnis spricht für die Existenz einer positiven Rückkopplungsschleife im Prozess der Membran-Extension des Autophagosoms. Untersuchungsgegenstand zukünftiger Studien wird es sein: i) neue ATG12-Interaktionspartner zu identifizieren, ii) die Rolle von ATG12 in der Wechselwirkung von Autophagie und dem UPS aufzuklären und iii) die Rolle von ATG12 in Autophagie-unabhängigen zellulären Prozessen zu analysieren.