

---

## Zusammenfassung

Makroautophagie wird als hochkonservierter Prozess von eukaryotischen Zellen genutzt, um zytoplasmische Komponenten abzubauen und dadurch ein Gleichgewicht von Synthese und Degradation zu erhalten. Neben Proteinen können auch ganze Organellen von einer das Autophagosom bildenden Doppelmembran umschlossen werden. Durch Verschmelzung des Autophagosoms mit dem Lysosom kann dessen Inhalt abgebaut werden. An diesem Prozess sind über 40 Autophagie (ATG) Proteine beteiligt, darunter der ATG12~5-16 Komplex, der in einer Ubiquitin-ähnlichen Konjugationsreaktion als E3-ähnliches Enzym ATG8 mit Phosphatidylethanolamin verknüpft.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die ATG5<sup>-</sup>, ATG5<sup>-</sup>/12<sup>-</sup>, ATG5<sup>-</sup>/16<sup>-</sup> und ATG5<sup>-</sup>/12<sup>-</sup>/16<sup>-</sup> „knock-out“-Stämme im *Dictyostelium discoideum* Wildtyphintergrund AX2 generiert. Die Mutanten zeigten vergleichbare Defekte in der Entwicklung und der Zellviabilität bei Aminosäuremangel. Das Wachstum in Flüssigkultur, die Makropinozytose und die Phagozytose von Hefen war umso stärker beeinträchtigt, je mehr Bestandteile des ATG12~5-16 Komplexes gleichzeitig ausgeschaltet waren. Dies deutet auf noch geringfügig vorhandene Aktivität des Komplexes in den Einzel- oder Doppelmutanten und/oder auf weitere Autophagie-unabhängige Funktionen der Proteine des Komplexes hin. Das Wachstum auf *Klebsiella aerogenes* und die Phagozytose von *Escherichia coli* zeigte einen komplexeren Phänotyp, der darauf schließen lässt, dass ATG5 und ATG16 einen hemmenden, ATG12 einen leicht stimulierenden Effekt unabhängig von ihrer Funktion in der kanonischen Autophagie auf das Wachstum auf *K. aerogenes* haben.

Die Protein-Homöostase ist in den Mutanten stark gestört, was sich in einer stärkeren Ubiquitinierung von Proteinen und der Ausbildung Ubiquitin-positiver Aggregate zeigte. Diese konnten nicht mehr effektiv durch das Ubiquitin-Proteasom-System abgebaut werden, da in den Mutanten zusätzlich die proteasomale Aktivität herabgesetzt war. Dabei wurde in Abwesenheit von ATG5 und Anwesenheit von ATG16 eine stärkere Beeinträchtigung festgestellt als in Abwesenheit beider Proteine. RNA<sub>seq</sub> zeigte massive transkriptionelle Änderungen im Vergleich zum Wildtyp, darunter eine erhöhte Expression der Autophagiegene *atg8a*, *atg8b*, *atg11* und *atg18*, was im Einklang mit einem möglichen Sensorsystem der Autophagosomenbildung steht. Durch bioinformatische Analysen konnten alle bekannten Domänen in *D. discoideum* ATG5 nachgewiesen werden sowie ein 3D-Homologiemodell des ATG12~5-16 Komplexes erzeugt werden.

Ein polyklonaler-ATG5-Antikörper wurde generiert, der künftig genutzt werden kann, um mögliche posttranslationale Modifikation des ATG12~5 Konjugates zu identifizieren. Zusätzlich sollten in künftigen Arbeiten Autophagie-unabhängige Funktionen und die Wechselwirkung des ATG12~5-16 Komplexes mit dem UPS genauer untersucht werden.