

6. ZUSAMMENFASSUNG

Optische Atrophie 1 (OPA1) ist eine Dynamin-verwandte GTPase, die in die Mitochondrien importiert wird. Mutationen im *OPA1* Gen führen zur Erblindung in Patienten mit autosomal dominant erblicher Optikusatrophie (adOA) (Alexander et al., 2000). Als Pathomechanismus für die adOA wurde Haploinsuffizienz postuliert, die zu einem Verlust an retinalen Ganglienzellen führt und in einer Degeneration des optischen Nervs resultiert.

OPA1 wurde während der letzten fünf Jahre sehr intensiv studiert und die Ergebnisse lassen eine zentrale Rolle bei der Fusion von Mitochondrien erwarten. Fusion und Teilung von Mitochondrien sind Prozesse, die ständig in Zellen ablaufen, und Mitochondrien zu sehr dynamischen Organellen machen. Sie stellen sicher, dass ein Gleichgewicht zwischen kurzen und langen Mitochondrien in der Zelle herrscht, und dass einzelne Mitochondrien ihren Inhalt, wie z.B. mitochondriale DNA, untereinander austauschen können.

Obwohl viele Untersuchungen zu OPA1 an Säugerzellen unternommen wurden, ist die Funktionsweise dieses Proteins noch nicht verstanden. Um seine physiologische Rolle *in vivo* zu studieren und seinen Einfluss bei der Manifestation der erblichen Optikusatrophie zu untersuchen, wurde die orthologe *OPA1*-Gensequenz in Mäusen durch homologe Rekombination zerstört. Heterozygote *OPA1*-defiziente Mäuse ($OPA1^{+/-}$) weisen reduzierte *OPA1* Proteinlevel auf, sind aber phänotypisch unauffällig im Vergleich zu Wildtyptieren. Im Gegensatz dazu zeigen homozygote *OPA1*-defiziente Mäuse ($OPA1^{-/-}$) ein reduziertes Wachstum während der frühen Embryonalphase und sterben noch während der Gastrulation. Mitochondrien in $OPA1^{-/-}$ Embryonen sind vollständig fragmentiert und weisen einen Verlust an mitochondrialer DNA auf. Viele Zellen des Embryonalgewebes demonstrieren typische Anzeichen des programmierten Zelltods.

$OPA1^{-/-}$ Embryonalgewebe wurde zur Etablierung von Fibroblastenkulturen (MEF, „mouse embryonic fibroblasts“) genutzt. Auch diese $OPA1^{-/-}$ Zellen enthalten vollständig fragmentierte Mitochondrien, die ihre Fähigkeit zur Fusionierung verloren haben. Die Mitochondrien sind vergrößert und zeigen eine veränderte Morphologie der inneren Mitochondrienmembran. Sie sind ausserdem respirationsdefizient und weisen ein verringertes mitochondriales Membranpotential auf. Schließlich reagieren $OPA1^{-/-}$ -Fibroblasten im Gegensatz zu Wildtypzellen weniger sensitiv auf die Apoptose-

induzierende Stimulation mit Staurosporin und setzen kein Cytochrom c frei. Die Transfektion der OPA1^{-/-} Zellen mit der Wildtypform von OPA1-Isoform1 führt zur Wiederherstellung der Atmungskettenfunktion, des mitochondrialen Membranpotentials, einer tubulären Mitochondrienmorphologie und der Fusionskompetenz des mitochondrialen Netzwerks.

Es ist zu folgern, dass OPA1 absolut notwendig ist für die frühe Embryonalentwicklung und das Überleben von Zellen bzw. Embryonen. Ausserdem konnte durch Rekonstitutionsexperimente für eine der acht bekannten Isoformen von OPA1 gezeigt werden, für welche mitochondrialen Funktionen sie von Bedeutung ist.