

## Summary

Mitochondria are membrane-bounded organelles, which are important for diverse cellular and physiological processes such as energy production by oxidative phosphorylation. Loss of functional mitochondria can lead to cell death and is associated with neurodegenerative diseases like Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis. In order to execute their tasks, mitochondria have to communicate and interact with different cellular structures including other organelles and the cytoskeleton.

In the first part of this study, it is shown that the contacts between the endoplasmic reticulum (ER) and mitochondria are important for the mitochondrial turnover by autophagy, also called mitophagy. Mitophagy is a process ensuring the appropriate quality and quantity of mitochondria by sequestering a mitochondrion within a double membrane and delivering it to degradative organelles. Failed mitophagy in neurons is supposed to result in accumulation of dysfunctional mitochondria and ultimately to neurodegeneration. By screening a collection of several hundred yeast mutants for defective mitochondrial autophagy, the four mutants lacking the ER-mitochondria encounter structure (ERMES), which connects ER and mitochondria, were found to have a decreased rate of mitophagy. Strikingly, artificial tethering of mitochondria and ER by a chimeric protein restores mitophagy in the ERMES mutants, indicating that loss of spatial proximity between the two organelles is the main cause of the mitophagy deficit. Moreover, one of the ERMES subunits interacts with the autophagic membrane expansion factor Atg8, which suggests that ERMES plays a role during growth of this membrane. Consequently, ERMES mutants show aberrant autophagic membrane structures, which can again be rescued by artificial mitochondria-ER tethering. It can thus be hypothesized that ERMES mediates the spatial proximity between mitochondria, the membrane expansion factor Atg8 and the ER, and that ERMES thereby promotes lipid flux from the ER to the autophagic membrane.

In the second part, a genetic screen revealed that mitochondrial dynamics is important for the inheritance of mitochondria into the daughter cell. In yeast, mitochondria are transported along the actin cytoskeleton by the myosin V motor protein Myo2. The mutant *myo2(LQ)* allele carries two amino acid substitutions resulting in impaired mitochondrial motility. By introducing this allele into yeast deletion mutants on a genome-wide scale by synthetic genetic array technology, it was shown that mutants lacking fusion-competent mitochondria heavily depend on a functional transport machinery, since otherwise mitochondria are not transported into the daughter cell. However, if mitochondrial division is blocked in the *myo2(LQ)* mutant, mitochondrial inheritance is restored, indicating that mitochondrial dynamics regulates the amount of mitochondria that is transported into the bud.

In sum, this study provides new insights into how the interplay of mitochondria with different cellular structures orchestrates mitochondrial behavior.

## Zusammenfassung

Mitochondrien sind membranumschlossene Organellen, die für zahlreiche zelluläre und physiologische Prozesse wichtig sind. Der Verlust funktioneller Mitochondrien kann zum Zelltod führen und ist mit neurodegenerativen Krankheiten wie Parkinson und amyotropher Lateralsklerose assoziiert. Um ihre Aufgaben zu bewältigen, müssen Mitochondrien mit verschiedenen zellulären Strukturen, wie anderen Organellen oder dem Zytoskelett, kommunizieren und interagieren.

Im ersten Teil dieser Arbeit wird gezeigt, dass Kontakte zwischen dem endoplasmatischen Retikulum und Mitochondrien wichtig für den mitochondrialen Abbau über Autophagie sind, der auch als Mitophagie bezeichnet wird. Mitophagie stellt sicher, dass Mitochondrien in angemessener Anzahl und Qualität vorhanden sind, indem Mitochondrien in einer Doppelmembran eingeschlossen und in abbaubare Organellen transportiert werden. Man geht davon aus, dass der Verlust der Fähigkeit zur Mitophagie in Neuronen dazu führt, dass nicht-funktionelle Mitochondrien akkumulieren, was schließlich in Neurodegeneration resultiert. Indem mehrere hundert Hefemutanten hinsichtlich veränderter Mitophagieraten untersucht wurden, konnten vier Mutanten als Mitophagie-defizient identifiziert werden, denen die *ER-mitochondrion encounter structure* (ERMES) fehlt, welche ER und Mitochondrien verbindet. Erstaunlicherweise konnte dieser Defekt gerettet werden, indem mittels eines chimären Proteins die mitochondrialen ER-Kontakte wieder künstlich hergestellt wurden. Dies deutet darauf hin, dass der Verlust der räumlichen Nähe zwischen den beiden Organellen der Hauptgrund für das Mitophagie-Defizit ist. Zudem interagiert eine der ERMES-Untereinheiten mit dem Autophagie-Membranexpansionsfaktor Atg8, was nahelegt, dass der ERMES-Komplex eine Rolle beim Wachstum von Autophagiemembranen spielt. Dementsprechend zeigen ERMES-Mutanten veränderte Autophagiemembran-Strukturen, die wiederum durch künstliche ER-Mitochondrien-Verbindungen wiederhergestellt werden können. Deshalb kann angenommen werden, dass der ERMES-Komplex die räumliche Nähe zwischen Mitochondrien, dem Membranexpansionsfaktor Atg8 und dem ER herstellt, wodurch der Komplex den Lipidfluss vom ER zur Autophagiemembran unterstützt.

Im zweiten Teil wurde ein genetisches Screening durchgeführt, welches zeigte, dass die mitochondriale Dynamik wichtig für die Vererbung von Mitochondrien an die Tochterzelle ist. In Hefe werden Mitochondrien entlang des Aktin-Zytoskeletts über das Klasse V Myosin-Motorprotein Myo2 transportiert. Das mutante *myo2(LQ)* Allel führt zu reduzierter mitochondrialer Beweglichkeit. Indem dieses Allel genomweit über *synthetic genetic array*-Technologie in Hefedeletionsmutanten eingeführt wurde, konnte gezeigt werden, dass Hefen ohne fusionskompetente Mitochondrien stark von einer funktionellen Transportmaschinerie abhängen, da ansonsten Mitochondrien nicht in die Tochterzelle transportiert werden können. Wenn allerdings die mitochondriale Teilung in der *myo2(LQ)* Mutante unterbunden wird, führt dies zu verbesserter mitochondrialer Vererbung. Dies deutet darauf hin, dass die mitochondriale Dynamik die Menge an Mitochondrien reguliert, die in die Tochterzelle transportiert wird.

Zusammengefasst bietet diese Arbeit neue Einsichten, wie das Zusammenspiel von Mitochondrien mit verschiedenen zellulären Strukturen das Verhalten von Mitochondrien beeinflusst.