

Martin Engelhardt

Dr. med.

## **Strukturaufklärung und Charakterisierung eines neuartigen, membrangebundenen Transportsystems**

Geboren am 20. 05. 1974 in Ingelheim

Reifeprüfung am 18. 06. 1993 in Ingelheim

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1994 bis WS 1999/2000

Physikum am 22. 03. 1996 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Baltimore/USA und Heidelberg

Staatsexamen am 02. 05. 2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pharmakologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. E. Schömig

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Strukturaufklärung und Charakterisierung eines neuartigen, putativen Transportproteins aus renalem Gewebe der Ratte. Die Grundlage für diese Klonierung bildeten Sequenzdaten des molekular aufgeklärten Transporters für organische Kationen OCT1.

Mit Hilfe degenerierter Oligonukleotide konnte eine einzelsträngige DNA-Sonde konstruiert werden. Die Klonierung des putativen Transportsystems erfolgte daraufhin nach dem Prinzip der spezifischen Nukleinsäurehybridisierung, mit dem die erstellte cDNA-Bibliothek durchmustert wurde.

Die Hydropathieanalyse der Proteinprimärstruktur erbrachte eine potentielle Anordnung von 12 hydrophoben Regionen in der Membran. Dieses Strukturmerkmal findet sich bei einer grossen Menge von am Translokationsprozess niedermolekularer Substanzen beteiligter membranständiger Transportproteine.

Signifikante Sequenz-Homologien bestehen zu renalen Transportproteinen für organische Kationen (OCT1 und OCT2) bzw. Anionen (OAT1 und OAT2) sowie dem extraneuronalen Monamintransporter EMT und einem kürzlich als Carnitin-Transporter identifizierten und vormals als UST2 beschriebenen Protein. UST1r lässt sich somit in die Superfamilie der Uni-, H<sup>+</sup>- Sym- und Antiporter (MFS) einordnen.

UST1r ließ sich durch RT-PCR und Northern-Blotting ausschließlich in renalem Gewebe nachweisen. Eine weitere Lokalisation dieses Transportproteins ist daher relativ unwahrscheinlich. Eine In-Situ-Hybridisierung verdeutlichte die Verteilung des Proteins nahe der Mark-Rinden-Grenze, ähnlich der des gut beschriebenen und untersuchten OCT1.

Die funktionellen Untersuchungen des UST1r erbrachten keinen Hinweis auf einen Transport einer Anzahl organischer Kationen und Anionen, wobei die Durchführung der stabilen Transfektion kaum mit dem Überleben des Wirtssystems vereinbar war.

Auf der Basis der in dieser Arbeit erbrachten Ergebnisse ist zur weiteren Vertiefung der funktionellen und regulativen Eigenschaften des UST1r somit eine Modifizierung und Weiterentwicklung der bisher angewendeten Methoden zur Genexpression und renalzellulären Gewebelokalisation notwendig.