

Tilo Breidert

Dr. med.

Funktionelle Charakterisierung von zwei Transportern aus der Amphiphilic-Solute-Facilitator-Familie nach Expression in 293-Zellen

Geboren am 02.11.1971 in Dortmund

Reifeprüfung am 18.06.1991 in Ettlingen

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1992/93 bis SS 1999

Physikum am 07.09.1994 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg und London

Praktisches Jahr in London, Heidelberg und Bern

Staatsexamen am 07.05.1999 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pharmakologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. E. Schömig

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei Transporter der Amphiphilic-Solute-Facilitator-Familie funktionell untersucht.

Im ersten Abschnitt wurde das Substratspektrum des ursprünglich aus der Rattenniere klonierten Transporters für organische Kationen OCT1 näher untersucht. Hierzu wurden 293-Zellen mit OCT1-cDNA transfiziert. In der resultierenden stabil transfizierten Säugetierzelllinie 293_{OCT1} ließ sich OCT1 funktionell nachweisen: Die MPP⁺-Aufnahme war mit einem K_m von 19 $\mu\text{mol/l}$ und einer V_{max} von 500 $\text{pmol} \cdot \text{mg Protein}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ sättigbar, zeigte eine Abhängigkeit vom Membranpotential, und der Einfluss einer Reihe strukturell unterschiedlicher Inhibitoren auf die MPP⁺-Aufnahme ergab ein OCT1-spezifisches Profil. Bei der weiteren funktionellen Charakterisierung von OCT1 zeigte der Transporter eine relative Substratspezifität: Neben TEA und MPP⁺ ließ sich in 293_{OCT1}-Zellen eine OCT1-spezifische Transportaktivität für das indirekte Sympathomimetikum Tyramin, die Catecholamine Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin, sowie für das Indoleamin 5-Hydroxytryptamin nachweisen. 293_{OCT1}-Zellen zeigten keine induzierte Transportaktivität für das Imidazoleamin Histamin, die Aminosäuren Alanin und Glutamat, sowie für O-Methylglucose und Vincristin. Der Transport von Dopamin, Noradrenalin und 5-Hydroxytryptamin ließ sich im Gegensatz zu Inhibitoren von bekannten neuronalen, extraneuronalen und vesikulären Monoamintransportern durch Cyanin 863 mit einem K_i von 0.14, 0.25 und 0.27 $\mu\text{mol/l}$ hemmen. Der K_m für die Aufnahme von 5-Hydroxytryptamin, Dopamin und Noradrenalin betrug 0.65, 1.1 und 2.8 mmol/l .

Im zweiten Abschnitt dieser Arbeit wurde das Substratspektrum des mit OCT1 verwandten putativen Transporters NLT aus der Rattenleber untersucht. NLT-cDNA

induziert in transient transfizierten 293-Zellen weder eine Aufnahme von prototypischen organischen Kationen wie MPP⁺ und TEA noch eine Aufnahme von strukturell verschiedenen Substanzen wie Adenosin, Glutamat, O-Methylglucose und Vincristin.

Das durch heterologe Expression von OCT1-cDNA gewonnene Substratspektrum läßt den Schluß zu, daß OCT1 aus der ASF-Familie am Transport von biogenen Aminen über die basolaterale Membran in Niere und Leber beteiligt ist. Der Vergleich mit *in-vivo*-Daten legt nahe, daß OCT1 eine wichtige Rolle bei der renalen und hepatischen Inaktivierung zirkulierender Catecholamine spielt.