

Kurzzusammenfassung

In den meisten Riechzellen von Wirbeltieren beginnt die Signaltransduktion mit der Bindung von Duftstoffen an G-Protein-gekoppelte Duftstoffrezeptoren in der Zilienmembran. Durch Aktivierung des Duftstoffrezeptors wird eine Signalkaskade in Gang gesetzt, die zur Synthese des intrazellulären Botenstoffs cAMP führt. In einer kleinen Subpopulation von Riechzellen scheint dagegen ein cGMP-abhängiger Signalweg stattzufinden, da hier die Komponenten des cAMP-Signalweges nicht nachgewiesen werden konnten. In diesen Zellen wird eine membrangebundene Guanylatzyklase (GC), die GC-D, exprimiert. Der physiologische Ligand der GC-D ist unbekannt. Man vermutet jedoch, daß das Protein durch Pheromon-ähnliche Duftstoffe aktiviert wird, die das Brutpflege- bzw. Säugeverhalten steuern.

In der vorliegenden Arbeit wurde die cDNA der GC-D aus genomischer Maus-DNA kloniert. Die GC-D konnte mit Hilfe spezifischer Antikörper in einzelnen Neuronen des olfaktorischen Epithels der Maus lokalisiert werden. Die GC-D wurde heterolog in eukaryontischen Zelllinien exprimiert. Es wurden zwei Testsysteme entwickelt, mit denen die Aktivität des mGC-D Proteins gemessen werden kann. Mit diesen Testsystemen ist es in zukünftigen Experimenten möglich, den Liganden der GC-D zu identifizieren. Bei dem ersten Testsystem handelt es sich um ein *in vitro* System, bei dem die Aktivierung des mGC-D Proteins über die Menge an gebildetem cGMP erfaßt werden kann. In Abwesenheit des Liganden konnte eine geringe GC-D Aktivität, die Basalaktivität, gemessen werden. Um die Empfindlichkeit des Systems zu steigern, kann das rekombinante mGC-D Protein solubilisiert und über Affinitätschromatographie aufgereinigt werden. Hierfür wurde ein Aufreinigungsprotokoll erstellt, das in weiteren Schritten optimiert werden muß. Bei dem zweiten Testsystem handelt es sich um ein zelluläres System, bei dem die GC-D mit einem cGMP-gesteuerten Ionenkanal in einer eukaryontischen Zelllinie stabil koexprimiert wird. Die Aktivierung der GC-D durch einen Liganden führt zur cGMP-Synthese. cGMP bindet an den Ionenkanal, der sich daraufhin öffnet, und Ca^{2+} aus dem extrazellulären Medium strömt in die Zellen ein. Der Ca^{2+} -Einstrom wird über einen Ca^{2+} -sensitiven Fluoreszenzfarbstoff verfolgt. Dieses System ist aufgrund der Signalverstärkung durch die Ionenkanäle besonders empfindlich.

Der Ligand der GC-D kann in weiteren Experimenten mit den etablierten Systemen identifiziert werden. Hierfür sollen verschiedene Körperflüssigkeiten aus der Maus in Einzelkomponenten aufgetrennt und mittels beider Testsysteme auf eine mögliche Aktivierung der GC-D hin untersucht werden.