

# Zusammenfassung

Der Glutamattransporter GLT-1 ist ein Transmembranprotein, das im ZNS überwiegend in Astrozyten lokalisiert ist. Seine Funktion als hochaffiner,  $\text{Na}^+$ -abhängiger Transporter besteht in der Entfernung des Neurotransmitters Glutamat aus dem synaptischen Spalt. Dies ermöglicht eine getreue Signalweiterleitung und die Vermeidung von exzitatorischer Schädigung.

Von den Glutamattransportern GLT-1 und den fluoreszierenden GLT-1 wie auch GLAST-1 und EAAC1, die am N-Terminus mit dem fluoreszierenden Polypeptid EGFP fusioniert sind, sind Konstrukte für die heterologe Expression in *Xenopus laevis* Oozyten und HEK293 Zellen (*human embryonic kidney*) erstellt worden. Die Untersuchungen dieser Arbeit belegen, daß GLT-1 als auch das Fusionsprotein während des *Zell-targeting* korrekt prozessiert und funktionell in die Plasmamembran eingebaut werden.

Deshalb wurden die Konstrukte zur Charakterisierung von GLT-1 in Neurotransmitter Aufnahmestudien in GLT-1 transfizierten *Xenopus laevis* Oozyten und HEK293 Zellen mit radioaktiv markiertem L-[ $^{14}\text{C}$ ]-Glutamat, als auch in elektrophysiologischen *whole-cell voltage*- und *patch-clamp* Experimenten angewandt. Die Ionenspezifität für  $\text{Na}^+$ -Ionen,  $K_M$ -Werte von Glutamat und  $\text{Na}^+$ -Ionen, die Kinetik der Glutamataufnahme und verschiedene Inhibitoren des GLT-1 Transporters wurden ermittelt. Die vorliegende Arbeit beschreibt zusätzlich den Einfluß von extrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen auf den Transport von Glutamat. Im Gegensatz zu  $\text{Na}^+$  wird  $\text{Ca}^{2+}$  nicht von GLT-1 transportiert,  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen beeinflussen aber den Transport von L-Glutamat. Diese Beobachtungen erweitern unsere Kenntnisse über den Effekt von intrazellulärem  $\text{Ca}^{2+}$  hinaus auf die GluT Familie.

Strukturanaloge Substrate des natürlichen Neurotransmitters Glutamat sind genauer klassifiziert worden. Zusätzlich zur endständigen geladenen Carboxylgruppe oder der SH-Gruppe in Liganden, konnte die essentielle Bedeutung der Aminogruppe in

$\alpha$ -Position – wie in L- $\alpha$ -Aminoadipat – für die Bindung des Liganden bewiesen werden. Ungeladene Aminosäuren oder  $\beta$ -Aminosäuren, wie L- $\beta$ -Aminoadipat, zeigen dagegen keinen Einfluß auf den Transport von L-Glutamat. Es wurde gezeigt, daß GLT-1, ähnlich wie GLAST-1, L-Aspartat transportieren kann.