

Die Transporter SLC22A7 (OAT2) und SLC22A13: Substratsuche, Lokalisation, Entdeckung eines Orotsäure-Transporters

Die Solute Carrier SLC22A7 (OAT2, „Organic Anion Transporter 2“) und SLC22A13 liegen in mehreren Mammalia-Spezies konserviert vor. OAT2 wird im Mensch primär in der Leber exprimiert, wohingegen SLC22A13 hauptsächlich in den Nieren vorzufinden ist. Ihre physiologische Bedeutung ist jedoch unklar. Da Transporter im Wesentlichen durch ihre Substrate definiert werden, wurden Substrate für diese beiden verwandten Proteine, mittels LC-MS- (Liquid Chromatography – Mass Spectrometry) Differenz Abtönung, aufgespürt. Über diese Methode konnten Guanidiniumsuccinat (GSA) für SLC22A13h (human) und Trigonellin (Trig) für OAT2h als Substrate identifiziert werden. Darüber hinaus konnten die organischen Anionen α -Ketoglutarat, Glutarat, Glycocholat, Guanidiniumglutarat (GGA), Nikotinat, para-Aminohippurat, Pantothenat (PA), Orotat und Urat sowie die Zwitterionen Glycylprolin (GP), Prolylglycin (PG) und Kreatin als Substrate für SLC22A13h gefunden werden. Die höchste Transporteffizienz (TE) von $15 \mu\text{l min}^{-1} \text{mg Protein}^{-1}$ wurde hierbei mit dem Nikotinat erzielt. Auf Grund eines verminderten intrazellulären Gehalts von GSA, GGA, GP, PG und PA bei Expression von SLC22A13h in HEK293-Zellen sowie trans-Stimulations Experimente, ließ die Schlussfolgerung zu, dass SLC22A13h als Austauschoperiert. Neben dem Aufspüren von Substraten wurde die Lokalisation von SLC22A13 durch eine Antikörperfärbung untersucht. So konnte erstmalig gezeigt werden, dass der Transporter in der basolateralen Membran von Schaltzellen im Sammelrohr der Rattenniere lokalisiert ist. Aufgrund dieser Tatsache, wurde die Hypothese aufgestellt, dass SLC22A13 für die Exkretion und/oder Resorption von organischen Anionen, im Zusammenspiel mit dem in Schaltzellen apikal lokalisierten SLC22A9 eine Rolle spielt.

Für OAT2 konnte festgestellt werden, dass Trig ein spezifisches Substrat für den humanen und den orthologen Rattentransporter (OAT2r) ($\text{TE} = 4 \mu\text{l min}^{-1} \text{mg Protein}^{-1}$, $K_m = 409 \mu\text{M}$) ist. Die Glutaminsäure an Position 441 im humanen Protein ist am Trig-Transport involviert. Mit Trig als Leitstruktur wurden strukturähnliche Verbindungen auf einen Transport untersucht. Nikotinat-Ribosid wurde hierbei als ein weiteres Substrat nachgewiesen (TE für OAT2r $7 \mu\text{l min}^{-1} \text{mg Protein}^{-1}$). Des Weiteren wurde erstmalig aufgedeckt, dass OAT2r das Pyrimidin-Derivat Orotsäure bzw. das Salz Orotat effizient transportiert ($\text{TE} = 74\text{-}99 \mu\text{l min}^{-1} \text{mg Protein}^{-1}$, $K_m = 234 \mu\text{M}$), wohingegen OAT2h Orotat nicht als Substrat akzeptierte. Aufgrund der hier gewonnenen Erkenntnisse, kann die anatomische und physiologische Veränderung der Rattenleber (Steatosis hepatis (Fettleber)) durch vermehrte Orotsäure-Aufnahme mit der Nahrung auf OAT2r zurückgeführt werden. Mit OAT2r wurde zum ersten mal ein Orotsäure-Transporter in Eukaryonten identifiziert.