

Zusammenfassung

In den meisten Wirbeltier-Neuronen leiten Cl^- -selektive Ionenkanäle einen inhibitorischen Cl^- -Auswärtsstrom. Einen gegenteiligen Effekt haben Cl^- -Kanäle in somatosensorischen Neuronen und Riechzellen, wo sie eine Depolarisation bewirken. Bei beiden Zelltypen ist die Aktivierung des Cl^- -Stroms an zytoplasmatische Ca^{2+} -Signale gekoppelt. So wird z.B. der Rezeptorstrom der Riechzellen zum größten Teil von einem Ca^{2+} -aktivierten Cl^- -Kanal getragen. Obwohl Ca^{2+} -aktivierte Cl^- -Kanäle von mehreren Arbeitsgruppen elektrophysiologisch in vielen Zellen nachgewiesen wurden, konnte bisher kein verantwortliches Gen identifiziert werden. Den Produkten der *clca*-Genfamilie werden allerdings die Eigenschaften Ca^{2+} -aktivierter Cl^- -Kanäle zugeschrieben: Die bislang klonierten *clca*-Gene stammen alleamt aus nicht-neuronalen Geweben. In unserer Arbeitsgruppe wurde das erste neuronale Homolog, *relca1*, aus dem Riechepithel der Ratte kloniert.

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob *relca1* für den Ca^{2+} -aktivierten Cl^- -Kanal der Riechsignalkaskade kodiert. Dazu wurde das rCLCA1-Protein zunächst mittels spezifischer Antikörper biochemisch charakterisiert und mit anderen CLCA-Proteinen verglichen: rCLCA1 ist ein glykosyliertes, 125 kDa großes Membranprotein mit vier Transmembrandomänen. Es wird - wie einige andere CLCA-Proteine - proteolytisch in ein 35 kDa und ein 97 kDa-Fragment gespalten. Es wird gezeigt, dass beide Fragmente in Zilienproteinen gegenüber dem gesamten olfaktorischen Epithel schwach angereichert sind, so wie es für alle Proteine der Riechsignalkaskade beschrieben wurde. In der Immunhistochemie konnte das rCLCA1-Protein jedoch nicht in olfaktorischen Zilien, sondern in Tight-Junction-Strukturen lokalisiert werden. Die funktionelle Untersuchung ergab, dass *relca1*-transfizierte Zellen zwar eine zusätzliche Cl^- -Leitfähigkeit erhielten, die sich jedoch grundlegend vom nativen Strom der Riechzellen unterschied. Die Untersuchung der Riechzelllinie Odora ergab schließlich, dass rCLCA1 nicht der Ca^{2+} -aktivierte Cl^- -Kanal der Riechsignalkaskade sein kann, da diese Zellen zwar den bekannten Ca^{2+} -aktivierten Cl^- -Strom zeigten, jedoch weder das *relca1*-Gen noch das entsprechende Protein exprimierten.

Ca^{2+} -aktivierte Cl^- -Ströme depolarisieren somatosensorische Neurone und Riechzellen, da diese Zellen, im Gegensatz zu den meisten Neuronen des ZNS, eine besonders hohe $[\text{Cl}^-]_i$ besitzen. In dieser Arbeit wurde erstmalig die Fluoreszenz-Lebenszeit-Analyse verwendet,

um die $[Cl^-]_i$ frisch dissoziierter, somatosensorischer Neurone zu bestimmen. Mit ca. 30 mM ist sie tatsächlich so hoch, dass ein Cl^- -Strom die Aktivierung dieser Neurone bewirken kann. Die $[Cl^-]_i$ der Neurone wird durch die Expression verschiedener Cl^- -Transportmoleküle bestimmt. In dieser Arbeit wurde mittels RT-PCR-Experimenten und Immunhistochemie gezeigt, dass weder Riechzellen noch somatosensorische Neurone die bekannten Kationen/ Cl^- -Kotransporter zur Cl^- -Akkumulation nutzen. Die Cl^- -Akkumulation kann in diesen Zellen somit nur durch einen aktiven Cl^- -Transport funktionieren.