

## Zusammenfassung

Die olfaktorische Signalwandlung findet in den Zilien olfaktorischer Neurone statt. An der Erzeugung des Aktionspotentials sind  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierte  $\text{Cl}^-$ -Kanäle maßgeblich beteiligt. Sie leiten einen depolarisierenden  $\text{Cl}^-$ -Strom. Die Klonierung olfaktorischer  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierter  $\text{Cl}^-$ -Kanäle ist bisher noch nicht gelungen. Um die Kanäle molekular und biochemisch zu charakterisieren, wurde in dieser Arbeit die ODORA-Zelllinie benutzt, die olfaktorischen Ursprungs ist und die gesuchten Kanäle exprimiert. Bestrophin-Proteine gelten zurzeit als die besten Kandidaten für  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierte  $\text{Cl}^-$ -Kanäle. Ich habe deshalb Mitglieder der Bestrophin-Genfamilie aus ODORA-Zellen kloniert.

Es ist mir gelungen insgesamt vier Bestrophin-Gene der Ratte vollständig zu klonieren. Die Bestrophin-cDNAs wurden transient in HEK 293-Zellen transfiziert und die heterologe Expression der Proteine durch  $\alpha$ -HA-Antikörper nachgewiesen. Zusätzlich wurden stabile Zelllinien hergestellt, die die Bestrophin-Proteine konstitutiv exprimieren. Elektrophysiologische Untersuchungen zeigten, dass Bestrophin 1 homooligomere,  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierte  $\text{Cl}^-$ -Kanäle bildet. Gegen alle vier Bestrophine wurden Isoform-spezifische Antikörper hergestellt. In Western Blots wurden Bestrophin-Proteine in Membranpräparationen der stabilen Zelllinien sowohl von den spezifischen  $\alpha$ -Bestrophin-Antikörpern als auch von  $\alpha$ -HA-Antikörpern erkannt.

Da der  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierte  $\text{Cl}^-$ -Kanal in ODORA-Zellen vermutlich durch CaM reguliert wird, wurde nach potentiellen CaM-Bindestellen in den Bestrophinen gesucht. Alle vier Bestrophin-Proteine binden an CaM-Agarose und können mit  $\text{Ca}^{2+}$ -freiem Puffer eluiert werden. Ein Aminosäureaustausch in der 1-5-8-14 CaM-Bindestelle von Bestrophin 2 und 3 wirkt sich allerdings nicht auf die CaM-Bindung aus. Immunhistochemisch wurde Bestrophin 2 in olfaktorischen Neuronen nachgewiesen. Bestrophin 2 befindet sich hauptsächlich in den Dendriten und Somata. In einigen Präparaten waren auch Zilien gefärbt. Da Bestrophin 2 nicht eindeutig mit dem zyklisch Nukleotid-gesteuerten Ionenkanal (CNGA2-Untereinheit) kolokalisiert ist, kann die Frage, ob Bestrophine den olfaktorischen  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierten  $\text{Cl}^-$ -Kanal bilden, noch nicht abschließend beantwortet werden.