

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Sekundär-aktiver Ionen-transport: Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> -Austauscher .....	1
1.2 Spermienphysiologie .....	6
1.3 Zielsetzung der Arbeit .....	12
2. Material & Methoden .....	13
2.1 Lösungen und Medien .....	13
2.1.1 Lösungen für Spermienproben.....	13
2.1.2 Lösungen für die Zellkultur .....	13
2.1.3 Lösungen für die Elektrophysiologie.....	15
2.2 Fluoreszenzfarbstoffe .....	17
2.2.1 pH-sensitive Fluoreszenzfarbstoffe .....	17
2.2.2 Spannungssensitive Fluoreszenzfarbstoffe .....	18
2.2.3 Natriumsensitive Fluoreszenzfarbstoffe .....	19
2.3 Spermienproben .....	19
2.4 Die <i>Stopped-Flow</i> -Apparatur .....	20
2.4.1 <i>Stopped-Flow</i> -Fluorimetrie.....	21
2.4.2 Beladung der Spermienproben mit Fluoreszenzfarbstoffen .....	22
2.4.3 Immunhistochemie.....	22
2.5 Zellkultur und heterologe Genexpression .....	24
2.5.1 Herstellung einer stabilen <i>SpSLC9C1</i> -Zelllinie.....	24
2.5.2 Transiente Genexpression .....	25
2.5.3 SDS-Gelelektrophorese und <i>Western-Blot</i> -Analyse .....	26
2.5.4 Immunzytochemie und Membransheets .....	28
2.6 Kalibrierung durch die pH <sub>null</sub> -Methode.....	30
2.7 Elektrophysiologie .....	32
2.7.1 Die <i>Patch-Clamp</i> -Technik .....	32
2.7.2 pH-Fluorimetrie .....	36
2.7.3 <i>Acid-load</i> von CHO-Zellen.....	37
2.7.4 Blitzlicht-Photolyse.....	37
2.7.5 Messung von <i>Gating</i> -Strömen .....	38
2.7.6 Die <i>Patch-Clamp</i> -Apparatur .....	39

3. Ergebnisse.....	40
3.1 Sequenzanalyse von SLC9C1 .....	40
3.1.1 Die Austauscherdomäne .....	40
3.1.2 Die S4-Spannungssensordomäne.....	44
3.1.3 Die Bindestelle für zyklische Nukleotide .....	45
3.2 <i>Sp</i> SLC9C1 erreicht die Plasmamembran von CHO-Zellen .....	46
3.3 <i>Sp</i> SLC9C1 besitzt einen funktionstüchtigen Spannungssensor .....	47
3.4 Die <i>Gating</i> -Ströme werden durch cAMP moduliert .....	50
3.5 <i>Sp</i> SLC9C1 ist ein spannungsgesteuerter Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> -Austauscher .....	52
3.6 Die Spannungsabhängigkeit von <i>Sp</i> SLC9C1 .....	58
3.7 Die Spannungsabhängigkeit wird durch cAMP moduliert .....	63
3.8 SLC9-spezifische Blocker sind ineffektiv gegen <i>Sp</i> SLC9C1 .....	66
3.9 <i>Sp</i> SLC9C1 ist für den Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> -Austausch in Spermien verantwortlich .....	72
4. Diskussion .....	76
4.1 Frankensteins Molekül .....	76
4.1.1 Die Austauscherdomäne .....	77
4.1.2 Der Spannungssensor .....	79
4.1.3 Die Bindestelle für zyklische Nukleotide .....	82
4.1.4 Wie interagieren Austauscherdomäne, VSD und CNBD? .....	86
4.2 Physiologie .....	90
4.2.1 Die lösliche Adenylatzyklase.....	91
4.2.2 SLC9C1 in Säugetieren.....	93
5. Literaturverzeichnis .....	96