

**INHALTSVERZEICHNIS:**

**INHALTSVERZEICHNIS: .....A**

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS: .....C**

**1. EINLEITUNG: ..... 1**

**2. LITERATURÜBERSICHT..... 3**

2.1. ÜBERSICHT ÜBER ANATOMIE UND PHYSIOLOGIE: ..... 3

2.2. TIERARTSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE SCHAF/RIND: ..... 3

2.3. EPITHELIALER TRANSPORT ALLGEMEIN: ..... 4

2.4. TRANSPORTFUNKTIONEN DES OMASUM: ..... 4

2.5. DIE TRANSPORTVORGÄNGE IM EINZELNEN: ..... 5

    2.5.1. *Wassertransport:* ..... 6

    2.5.2. *Kationen:* ..... 6

    2.5.3. *Anionen:*..... 9

    2.5.4. *Ammoniak:* ..... 12

    2.5.5. *Partikel:* ..... 12

2.6.  $\text{HCO}_3^-$ -TRANSPORT DES PANSENS (IM VERGLEICH ZUM PSALTER): ..... 13

2.7.  $\text{HCO}_3^-$ -TRANSPORT IN ANDEREN GEWEBEN DES KÖRPERS: ..... 13

    2.7.1. *Darm (Dünndarm):*..... 13

    2.7.2. *Darm (Dickdarm):* ..... 14

    2.7.3. *Niere (Proximaler Nierentubulus):*..... 14

2.8. MOLEKULARBIOLOGISCHE CHARAKTERISIERUNG VON  $\text{HCO}_3^-$ -TRANSPORTERN: ..... 16

    2.8.1. *AE – (Natrium independent) Anion Exchanger; SLC4:* ..... 16

    2.8.2. *DRA – Down Regulated in Adenoma; SLC26A3:* ..... 19

    2.8.3. *CFTR – Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator:* ..... 19

    2.8.4. *CA I- IV – Carboanhydrase:* ..... 20

2.9. ZUSAMMENFASSUNG DER LITERATUR IM HINBLICK AUF DIE EIGENE FRAGESTELLUNG: ..... 22

**3. MATERIAL UND METHODEN: ..... 23**

3.1. VERSUCHSTIERE: ..... 23

3.2. GEWINNUNG DER EPITHELIIEN: ..... 24

3.3. MESSMETHODE/ PRINZIP: ..... 26

    3.3.1. *Ussing-Kammer:* ..... 26

    3.3.2. *pH-Stat:*..... 27

    3.3.3. *Berechnung der Transportraten:* ..... 28

3.4. INKUBATIONSTECHNIK: ..... 28

3.5. GRUNDLAGEN DER BERECHNUNG DER TRANSPORTRATEN: ..... 29

3.6. CHEMIKALIEN/TRANSPORTPUFFER: ..... 29

3.7. STATISTIK: ..... 30

3.8. ALLGEMEINER VERSUCHSAUFBAU UND AUSWERTUNG DER USSING-KAMMER - VERSUCHE: ..... 31

    3.8.1. *Hemmstoffzugabe:* ..... 31

    3.8.2. *Variationen in der Konzentration verschiedener Elektrolyte:* ..... 32

    3.8.3. *Umkehrung der Gradientenrichtungen:*..... 33

    3.8.4. *Zusammenfassende Auswertung der unterschiedlichen Gradienten- und Fütterungsgruppen:..* 34

3.9. MOLEKULARBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN: ..... 35

    3.9.1. *Übersicht:*..... 35

    3.9.2. *RNA-Isolierung und RNA-Qualitätskontrolle* ..... 35

    3.9.3. *Reverse Transkription (cDNA-Synthese)* ..... 38

    3.9.4. *Qualitativer Nachweis der „Genes of interest“ (GOIs):* ..... 38

    3.9.5. *Quantitative PCR:*..... 41

    3.9.6. *Weitere molekularbiologische Verfahren* ..... 50

<b>4. ERGEBNISSE:</b> .....	<b>52</b>
4.1. ERGEBNISSE DER USSING-KAMMER-VERSUCHE: .....	52
4.1.1. Zellmodell: .....	52
4.1.2. Vorversuche: Zeitliche Stabilität der Parameter: .....	52
4.1.3. Variation der Elektrolytkonzentrationen: .....	53
4.1.4. Hemmstoffe: .....	58
4.1.5. Umkehr der Gradienten für $Cl^-$ und $HCO_3^-$ : .....	67
4.2. ZUSAMMENFASSENDE VERGLEICH:.....	72
4.2.1. Vergleich der Fütterungen:.....	72
4.2.2. Vergleich der $HCO_3^-$ Gradienten bei Heu-Tieren: .....	73
4.3. ERGEBNISSE DER MOLEKULARBIOLOGISCHEN VERSUCHE:.....	75
4.3.1. RNA-Isolierung und RNA-Qualitätskontrolle: .....	75
4.3.2. Qualitativer Nachweis der GOIs .....	75
4.3.3. Quantitative PCR:.....	76
4.3.4. Relative Expression: .....	78
4.4. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE: .....	83
<b>5. DISKUSSION:</b> .....	<b>84</b>
5.1. DISKUSSION DER TRANSPORTPHYSIOLOGISCHEN VERSUCHE: .....	84
5.1.1. Allgemeine Methodenkritik:.....	84
5.1.2. Variation der Elektrolytkonzentrationen: .....	85
5.1.3. Hemmstoffe .....	88
5.1.4. Umkehr der Gradienten für $Cl^-$ und $HCO_3^-$ : .....	92
5.1.5. Einfluss der Fütterung: .....	93
5.2. DISKUSSION DER MOLEKULARBIOLOGISCHEN VERSUCHE: .....	94
5.2.1. Methodenkritik allgemein: .....	94
5.2.2. RNA-Isolierung und RNA-Qualitätskontrolle .....	95
5.2.3. Reverse Transkription (cDNA-Synthese) .....	95
5.2.4. Qualitativer Nachweis der Transporter mittels RT-kPCR: .....	96
5.2.5. Quantitative PCR.....	96
5.3. SCHLUSSFOLGERUNGEN: .....	98
5.3.1. Transportphysiologische Ergebnisse:.....	98
5.3.2. Molekularbiologische Ergebnisse: .....	98
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG:</b> .....	<b>99</b>
<b>7. SUMMARY:</b> .....	<b>100</b>
<b>8. LITERATURVERZEICHNIS:</b> .....	<b>102</b>
<b>9. ANHANG:</b> .....	<b>119</b>
9.1. EINGESetzte PUFFER: .....	119
9.2. ERGEBNISSE – MITTELWERTE UND ELEKTROPHYSIOLOGIE: .....	121
9.3. EINZELERGEBNISSE DER MOLEKULARBIOLOGISCHEN VERSUCHE: .....	127
9.3.1. Mittelwerte GOI's:.....	127
9.3.2. Einzelergebnisse:.....	128
9.4. VERWENDETE INTERNETSEITEN: .....	132
9.5. VERWENDETE FORMELN UND BERECHNUNGEN: .....	132