

**Die Bedeutung der zweiten extrazellulären Schleife
von Claudin-3 und Claudin-5
für Claudin-Interaktionen und *Tight junction*-Strangbildung**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades des Doktors
der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Lars Winkler
aus Berlin

Juli 2007

1. Gutachter: PD Dr. Ingolf E. Blasig
2. Gutachter: Prof. Dr. Volker Haucke

Disputation am: 12.11.2007

Diese Arbeit ist Jürgen Winkler gewidmet.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Dr. Ingolf E. Blasig für die Bereitstellung des interessanten Themas sowie für die vielen wertvollen Ratschläge und für den Freiraum auch neben dem eigentlichen Thema tüfteln zu dürfen.

Bei Prof. Dr. Volker Haucke möchte ich mich ganz herzlich für die schnell entschlossene Übernahme des zweiten Gutachtens für diese Arbeit bedanken.

Insbesondere möchte ich mich auch bei Dr. Jörg Piontek für die hervorragende Betreuung bedanken, die nicht aus Arbeitsanweisungen bestand, sondern aus vielen freundschaftlichen Anleitungen, Ratschlägen und Hinweisen - auch wenn Anweisungen manchmal besser für mich gewesen wären.

Natürlich möchte ich mich auch bei den Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe, insbesondere meinen „Leidensgenossen“ Juliane, Dörte und Christian für die zahlreichen fachlichen, nicht-fachlichen und vor allem konspirativen Diskussionen bedanken, und dafür, dass wir uns so gut verstanden haben und viel Spaß zusammen hatten.und noch mal bei Dörte, da sie mir in der Endphase viel bei der Fehlersuche geholfen hat. Mein Dank gilt ausdrücklich auch den Diplomanden und Praktikanten, die zu dieser Arbeit beigetragen haben: Nikolaj Zuleger, Katrin Schulz und meine Lieblingsdiplomandin Ariane Schuster, die einen wesentlichen Anteil an dem CPE-Projekt hatte (und hat).

Bei Barbara Eilemann bedanke ich mich für den Geburtstagservice und für die technische Assistenz. Bei Reiner Haseloff für die vielen, vielen, vielen Geschichten, die Hilfe mit den Computern und vielen anderen Fragestellungen. Nicht zu vergessen alle übrigen Mitglieder und Ex-Mitarbeiter der Arbeitsgruppe, die mich während meiner Doktorarbeit begleitet haben.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Kooperationspartnern dieser Arbeit, die da wären: Dr. Sebastian Müller und Dr. Gerd Krause für die molekularen Strukturmodelle, Prof. Dr. Hartmut Wolburg für die gefrierbrüchelektronenmikroskopischen Aufnahmen und Dr. Burkhard Wiesner und Jenny Eichhorst für die Bereitstellung des mikroskopischen Equipments und sehr netten Hilfestellung im Umgang mit diesen.

Schließlich möchte ich meinen Eltern danken, die mich immer vorbehaltlos unterstützt haben und viel von dem, was ich erreicht habe erst ermöglicht haben. Auch über 4 Jahre nach dem viel zu frühen Tod meines Vaters vermisse ich ihn sehr und bedauere, dass er den Abschluss meiner Arbeit nicht mehr erleben kann. Es bleibt ein tiefes Loch im Herzen durch den Verlust eines wunderbaren Menschen. **Daher widme ich ihm diese Arbeit.**

Meiner lieben Mutter danke ich sehr, da sie mich insbesondere in den letzten 4 Wochen durch Nahrungszufuhr und mit frischer Wäsche am Leben erhalten hat und natürlich für die letzten 30 Jahre.

Zum Schluss bedanke ich mich bei meiner liebevollen Frau Hien, die ich sehr Liebe (zumindestens meistens) und die in meiner Zeit des Schreibens (insbesondere am Ende) meine schlechte Laune mit stoischer Gelassenheit ertragen hat und ohne die ich privat wohl im organisatorischen Chaos enden würde.

Teile dieser Dissertation sind in folgenden Publikationen enthalten:

Blasig IE †, Winkler L †, Lassowski B, Mueller SL, Zuleger N, Krause E, Krause G, Gast K, Kolbe M and Piontek J (2006)

On the self-association potential of transmembrane tight junction proteins. Cell Mol Life Sci. 2006 Feb;63(4):505-14

†These authors contributed equally to this work.

Piontek J †, Winkler L †, Wolburg H, Müller S, Zuleger N, Piehl C, Burkhard W, Krause G and Blasig IE

Formation of tight junction: Determinants of homophilic interaction between classical claudins.

Angenommen bei: FASEB J

†These authors contributed equally to this work.

Krause G, Winkler L, Müller SL, Haseloff RF, Piontek J und Blasig IE

Structure, function and regulation of claudins.

Angenommen bei: Biochim Biophys Acta (Biomembranes)

Andere Publikationen:

Tran HJ, Heroven AK, Winkler L, Spreter T, Beatrix B, Dersch P (2005)

Analysis of RovA, a transcriptional regulator of *Yersinia pseudotuberculosis* virulence that acts through antirepression and direct transcriptional activation. J Biol Chem. 2005 Dec 23;280(51):42423-32

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
Abkürzungsverzeichnis	X

1	Einleitung	1
1.1	<i>Tight junctions</i> in Epithelien und Endothelien	1
1.2	Molekulare Komponenten der <i>Tight junctions</i>	3
1.3	Claudine	4
1.3.1	Claudin-3 und Claudin-5	5
1.3.2	Claudine bilden größen- und ionenselektive Poren im parazellulären Spalt	7
1.3.3	Struktur und Funktion der ersten extrazellulären Schleife	9
1.3.4	Zytoplasmatische und transmembranale Regionen	10
1.3.5	Struktur und Funktion der zweiten extrazellulären Schleife	11
1.3.6	<i>Cis-</i> und <i>trans</i> -Interaktionen von Claudinen	11
1.3.7	Claudin-assoziierte Krankheiten	14
1.4	<i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin	15
1.4.1	Bindung und Lyse epithelialer Zellen	16
1.4.2	Claudin- <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin-Interaktion	17
1.4.3	Funktionelle Regionen von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin	17
1.5	Zielstellung	19
2	Material und Methoden	21
2.1	Materialien	21
2.2	Molekularbiologische Methoden	25
2.2.1	Molekularbiologische Standardmethoden	25
2.2.2	Klonierung von MBP- und GST-Expressionskonstrukten	26
2.2.2.1	MBP- und GST-Fusionskonstrukte von Claudin-3 und -5	26
2.2.2.2	MBP- und GST-Fusionskonstrukte von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin	27
2.2.2.3	Eukaryotische Expressionskonstrukte	28
2.2.3	Ortsspezifische Mutagenese	29

2.2.4	DNA-Sequenzierung	31
2.3	Biochemische Methoden	32
2.3.1	Expression und Reinigung von MBP-Proteinen	32
2.3.2	Expression und Reinigung von GST-Proteinen	33
2.3.3	Proteinkonzentrationsbestimmung, Konzentrierung und Acetonfällung.....	33
2.3.4	SDS-PAGE, Fixierung und Färbung von Polyacrylamidgelen	34
2.3.5	Immunoblot-Methode (Westernblot)	34
2.3.6	Membrangekoppelte Peptidbibliotheken (<i>peptide array</i>)	35
2.3.7	Immunoblot-Bindungstest (<i>Overlay assay</i>).....	37
2.3.8	Größenausschlusschromatographie	37
2.3.9	Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie	38
2.4	Zellkulturmethoden	40
2.4.1	Kultivierung der Zellen	40
2.4.2	Kryokonservierung und Auftauen von eukaryotischen Zellen.....	41
2.4.3	Transfektion von eukaryotischen Zellen mit Plasmid-DNA.....	41
2.4.4	Generierung von stabil transfizierten HEK-293-Zellen	41
2.4.5	Zelloberflächenbiotinylierung	42
2.4.6	Immunfluoreszenzfärbungen.....	44
2.4.7	Lebendzellfärbungen	45
2.4.8	Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer (FRET).....	46
2.4.9	Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie	48
2.4.10	<i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin-Zellinkubationsansatz	48
2.5	Statistik	49
3	Ergebnisse	50
3.1	Homodimerisierungseigenschaften der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-3 und -5 <i>in vitro</i>	50
3.1.1	Nachweis der Dimerisierung der Fusionsproteine der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-3 und -5 durch Größenausschlusschromatographie	50
3.1.2	Analyse von synthetischen Peptiden der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-3 und -5 durch Größenausschlusschromatographie	52
3.2	HEK-293-Zellen als Zellkultursystem für <i>Tight junction</i>-Untersuchungen	53
3.2.1	Immunzytochemische Charakterisierung von HEK-293-Zellen.....	53

3.2.2	Expression von Claudin-3 und Claudin-5 in HEK-293-Zellen	54
3.2.3	<i>Tight junction</i> -Strangbildung in HEK-293-Zellen	56
3.3	Aminosäuresubstitutionen in der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5 blockieren die <i>trans</i>-Interaktion	57
3.3.1	Ortsspezifische Mutagenese der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5	57
3.3.2	Analyse der subzellulären Verteilung der Claudin-5-Mutanten.....	57
3.3.2.1	Quantifizierung der Kolo-kalisation der Claudin-5-Mutanten mit der Plasmamembran in Lebendzellfärbungen	59
3.3.2.2	Quantifizierung der Plasmamembranlokalisation der Claudin-5-Mutanten durch Zelloberflächenbiotinylierung	60
3.3.2.3	Quantifizierung der Claudin-5-Kontaktanreicherung: Mutanten vom <i>disjunction</i> -Typ stören die <i>trans</i> -Interaktion.....	62
3.3.2.4	Einfluss der Koexpression von Claudin-5 _{wt} auf die subzelluläre Verteilung von Claudin-5-Mutanten in HEK-293-Zellen	64
3.3.3	Plasmamembranlokalisation und <i>trans</i> -Interaktion weiterer Claudin-5-Konstrukte in HEK-293-Zellen	65
3.3.4	Die zweite extrazelluläre Schleife von Claudin-3	66
3.4	Claudin-5-Mutanten vom intrazellulären Typ akkumulieren im endoplasmatischen Retikulum.....	67
3.5	Homophile <i>cis</i>-Interaktionen werden durch Mutationen in der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5 nicht beeinträchtigt.....	69
3.5.1	Analyse der <i>cis</i> -Interaktion durch Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer.....	69
3.5.2	Einfluss der Aminosäuresubstitutionen auf die <i>cis</i> -Interaktion	71
3.5.3	Claudin-Oligomere in der SDS-Gelelektrophorese	72
3.6	Veränderte Strangmorphologie der Mutanten der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5	73
3.7	Molekulare Monomer- und Dimermodelle der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5	75
3.7.1	Monomermodell der intramolekularen Interaktionen der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5	75
3.7.2	Dimermodell der intermolekularen Interaktionen der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5	77

3.8	Analyse der Bindung von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin an Claudin-3 und Claudin-5	77
3.8.1	Expression und Reinigung von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin	77
3.8.2	Bindung von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin an Claudin-3 und -5 transfizierte HEK-293-Zellen	78
3.8.3	Rekombinant exprimierte Konstrukte der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-3 interagieren mit <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin	80
3.8.4	Identifikation der mit <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin interagierenden Claudine mittels membrangebundener Peptidbibliotheken.....	81
3.8.5	Analyse der Interaktion zwischen <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin und Peptiden von Claudin-3 und -5 durch Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie	82
3.8.6	Molekulare Determinanten der Interaktion zwischen <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin und der zweiten extrazellulären Schleifen von Claudinen	84
3.8.6.1	Die Bindung von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin an Mutanten von Claudin-3 und Claudin-5 in HEK-293-Zellen.....	85
3.8.6.2	Substitutionsanalyse von Peptiden der zweiten extrazellulären Schleife der Claudine -2, -3, -4 und -5 durch membrangebundene Peptidbibliotheken.....	88
4	Diskussion	92
4.1	Claudin-Claudin-Interaktionen	92
4.1.1	HEK-293-Zellen als Zellkultursystem für Claudin-Claudin-Interaktionen	92
4.1.2	Die zweite extrazelluläre Schleife: Essentiell für <i>trans</i> -Interaktionen.....	94
4.1.3	<i>Tight junction</i> -Strangbildung durch Claudin-5	98
4.1.4	Molekulares Modell der homophilen Interaktion der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5	99
4.1.5	Modell der Claudin-5-Strangbildung	101
4.2	Claudin-<i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin-Interaktionen	102
4.2.1	<i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin: ein Claudin-5-Modulator für die Steigerung der Wirkstoffzufuhr durch die Blut-Hirnschranke?.....	103
4.2.2	Molekulare Determinanten der Interaktionen zwischen <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin und Claudin-3 bzw. Claudin-5.....	105
4.2.3	Die Region 116-290 von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin verstärkt	

	die Bindung an Claudine und bewirkt die Öffnung der <i>Tight junctions</i>	108
5	Zusammensetzung	110
6	Summary	112
7	Literatur	114
8	Anhang	129
8.1	Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie	129
8.2	Reinigungsfractionen verwendeter Proteine	130
8.2.1	Reinigungs- und Elutionsfractionen verwendeter MBP-Fusionsproteine der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-3 und -5	130
8.2.2	Reinigungs- und Elutionsfractionen verwendeter GST- und MBP-Fusionsproteine von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin	130
8.3	Quantifikation der Substitutionsanalyse aus Abbildung 3.26	131

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1:	Zell- <i>junctions</i> in Epithel- und Endothelzellen.....	1
Abb. 1.2:	<i>Tight junction</i> -Stränge zwischen Epithelzellen verschließen den parazellulären Spalt.....	2
Abb. 1.3:	Schematische Darstellung der Topologie von Claudin-5 in der Plasmamembran.	6
Abb. 1.4:	Modell der homophilen und heterophilen <i>cis</i> - und <i>trans</i> -Interaktionen von Claudinen.....	12
Abb. 1.5:	Schematische Darstellung der funktionellen Abschnitte von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin.....	19
Abb. 2.1.:	Prinzip der Interaktionsanalyse durch membrangekoppelte Peptidbibliotheken.	36
Abb. 2.2:	Prinzip der Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer (FRET)-Methode.	47
Abb. 3.1:	Nachweis der Dimerisierung der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5 durch Größenausschlusschromatographie.....	50
Abb. 3.2:	Peptid-Monomer der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5.	52
Abb. 3.3:	Immunzytochemische Charakterisierung von HEK-293-Zellen.	54
Abb. 3.4:	Lokalisation von exprimierten Claudin-Konstrukten in HEK-293-Zellen	55
Abb. 3.5:	Analyse von <i>Tight junction</i> -Strängen in der Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie.....	56
Abb. 3.6:	Drei Phänotypen zellulärer Lokalisation von Claudin-5-Mutanten in HEK-293-Zellen.....	58
Abb. 3.7:	Quantifizierung der Plasmamembranlokalisation durch Lebendzellfärbungen. .	60
Abb. 3.8:	Analyse der Plasmamembranlokalisation von Claudin-5-YFP-Mutanten durch Zelloberflächenbiotinylierung.	61
Abb. 3.9:	Quantifizierung der <i>trans</i> -Interaktion der Claudin-5-YFP-Mutanten.	63
Abb. 3.10:	Einfluss der Koexpression von Claudin-5 _{wt} auf die subzelluläre Lokalisation der Claudin-5-Mutanten R145A, Y148L und D149A.....	64
Abb. 3.11:	Quantifizierung der Membranlokalisation und Claudin-5-Kontaktanreicherung weiterer Claudin-Konstrukte.	66
Abb. 3.12:	Subzelluläre Lokalisation von Claudin-3-Mutanten und Claudin-5 _{Q44N} -YFP.	67

Abb. 3.13: Claudin-5-Mutanten vom intrazellulären Typ akkumulieren im endoplasmatischen Retikulum.....	68
Abb. 3.14: FRET-Kontrollen und die Abhängigkeit der FRET-Effizienz von den YFP- und CFP-Fluoreszenzintensitäten.....	70
Abb. 3.15: Quantifikation der <i>cis</i> -Interaktionen von Claudin-5-Mutanten durch FRET.....	72
Abb. 3.16: SDS-resistente Claudin-5-Oligomere im Immunoblot.....	73
Abb. 3.17: Der Einfluss von Aminosäuresubstitutionen in der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5 auf die TJ-Strangbildung.....	74
Abb. 3.18: Molekulares Monomer- und Dimermodell der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-5.....	76
Abb. 3.19: Immunfluoreszenzfärbungen der <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin-Bindung an Claudin-exprimierende HEK-293-Zellen.....	79
Abb. 3.20: Immunoblot-Bindungstest mit rekombinanten Fusionsproteinen von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin und der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-3 und Claudin-5.....	80
Abb. 3.21: Interaktion von CPE ₁₁₆₋₃₁₉ mit Peptiden der zweiten extrazellulären Schleife der Claudine.....	81
Abb. 3.22: Analyse der Bindung von GST-CPE ₁₁₆₋₃₁₉ und GST-CPE ₂₉₀₋₃₁₉ an Cld3 ₁₄₀₋₁₅₉ durch Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie.....	83
Abb. 3.23: Analyse der Bindung von GST-CPE ₁₁₆₋₃₁₉ und GST-CPE ₂₉₀₋₃₁₉ an Peptide von Claudin-3 und Claudin-5 durch Oberflächenplasmonresonanz-Spektroskopie.....	84
Abb. 3.24: Immunfluoreszenzfärbungen CPE-inkubierter HEK-293-Zellen, die mit Claudin-3- oder Claudin-5-Konstrukten transfiziert wurden.....	86
Abb. 3.25: Quantifizierung der Zelloberflächenbindung von GST-CPE ₁₁₆₋₃₁₉ an Cld5-Mutanten in HEK-293-Zellen im Immunoblot.....	87
Abb. 3.26: Substitutionsanalyse der Interaktion von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin mit Peptiden der zweiten extrazellulären Schleife von Claudin-3 durch membrangebundene Peptidbibliotheken.....	89
Abb. 4.1: Schema der homophilen Claudin-5-Oligomerisation und Strangbildung.....	102
Abb. 4.2: Sequenzalignment der zweiten extrazellulären Schleife der Claudine.....	106

Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1:	Effekte von exogen exprimierten Claudinen auf elektrophysiologische Eigenschaften epithelialer Zellkulturen.....	8
Tab. 1.2:	Homo- und Heterophile <i>trans</i> -Interaktionen und Cld-Strangbildung verschiedener Claudine exogen exprimiert in <i>tight junction</i> -losen Zelllinien ...	13
Tab. 1.3:	Assoziationskonstanten der Interaktion von Claudinen mit <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin	17
Tab. 2.1:	Geräte und Materialien.....	21
Tab. 2.2:	Chemikalien.....	22
Tab. 2.3:	Enzyme	23
Tab. 2.4:	Antikörper	23
Tab. 2.5:	Plasmide	24
Tab. 2.6:	<i>Escherichia coli</i> -Stämme	24
Tab. 2.7:	Kulturmedien für Bakterien- und Gewebekulturen.....	25
Tab. 2.8:	MBP- und GST-Konstrukte von Claudin-3 und Claudin-5.....	27
Tab. 2.9:	MBP- und GST-Konstrukte von <i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin	28
Tab. 2.10:	CFP- und YFP-Konstrukte von Claudin-5	28
Tab. 2.11:	Reaktionsansatz der Mutagenese.....	29
Tab. 2.12:	Durch ortsgerichtete Mutagenese erzeugte Claudin-3- und Claudin-5-Konstrukte	30
Tab. 2.13:	Puffer für die MBP-Proteinreinigungen	32
Tab. 2.14:	Puffer für die GST-Proteinreinigungen	33
Tab. 2.15:	SDS-Probenpuffer und Coomassie-Färbelösung.....	34
Tab. 2.16:	Puffer für die Immunoblot-Methode	35
Tab. 2.17:	Puffer für membrangeboppelte Peptidbibliotheken	36
Tab. 2.18:	Lysepuffer für HEK-293-Zellen (RIPA-Puffer).....	43
Tab. 3.1:	Durch Größenausschlusschromatographie bestimmte Mittelwerte der Elutionsvolumina, K_{av} -Werte und Molekulargewichte von MBP-Cld-Proteinen der zweiten extrazellulären Schleife	51
Tab. 3.2:	Durch Größenausschlusschromatographie bestimmte Mittelwerte der Elutionsvolumina, K_{av} -Werte und Molekulargewichte verschiedener Peptide der zweiten extrazellulären Schleife.....	53
Tab. 3.3:	Übersicht der Aminosäuresubstitutionen in der zweiten extrazellulären	

Schleife von Claudin-5	57
Tab. 3.4: Durch Größenausschlusschromatographie bestimmte Mittelwerte der Elutionsvolumina, K_{av} -Werte und Molekulargewichte von GST-CPE-Proteinen	78
Tab. 3.5: Quantifizierung der CPE ₁₁₆₋₃₁₉ -Bindung an Peptide der zweiten extrazellulären Schleife der Claudine.....	82
Tab. 3.6: Substitutionen von Claudin-3-Peptiden, die verstärkt GST-CPE ₁₁₆₋₃₁₉ binden...	90
Tab. 3.7: Substitutionsanalyse der CPE ₁₁₆₋₃₁₉ -Bindung an Peptide der zweiten extrazellulären Schleife der Claudine -2, -3, -4 und -5	91
Tab. 4.1: Effekte verschiedener Aminosäuresubstitutionen in Claudin-5 und Claudin-3 auf die subzelluläre Lokalisation, <i>trans</i> -, <i>cis</i> -Interaktion und Strangbildung	95

Abkürzungsverzeichnis

A ₂₈₀	UV-Absorption bei 280 nm
A ₂₁₆	UV-Absorption bei 216 nm
Amp ^r	Ampicilinresistenz
APS	Ammoniumperoxodisulfat
bp	Basenpaare
BLU	<i>Boehringer light units</i>
BSA	Albumin aus Rinderserum
CFP	Cyan fluoreszierendes Protein
Cld	Claudin
<i>C. perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
CPE	<i>Clostridium perfringens</i> Enterotoxin
Da	Dalton
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindol
DMEM	<i>Dulbecco's modified Eagle's medium</i>
DMSO	Dimethylsulfoxide
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotide
DOC	Desoxycholsäure
DTT	1,4-Dithiothreitol
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDC	1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl)-Carboimid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
<i>E-face</i>	exoplasmatische Hälfte der Plasmamembran
ER	Endoplasmatisches Retikulum
EZS	extrazelluläre Schleife
FCS	Fötale Kälberserum
FHHNC	<i>familial hypomagnesemia with hypercalciuria and nephrocalcinosis</i>
FRET	Fluoreszenz-Resonanz-Energy-Transfer
G418	Geneticin
GFP	grün fluoreszierendes Protein
GKEZ	Gehirnkapillar-Endothelzellen
GST	Glutathione-S Transferase
GUK	Guanylat-Kinase
HEK-293	humane embryonale Nierenzelllinie
HEPES	N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-2-Ethansulfonsäure
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HRP	<i>horse radish peroxidase</i>
IPTG	Isopropyl-β-D-thiopyranosid
JAM	<i>junctional adhesion molecule</i>
K _a	Assoziationskonstante
Kan ^r	Kanamycinresistenzgen
K _{av}	Verteilungskoeffizient in der Größenausschlusschromatographie
Kb	Kilobasenpaare
KDa	Kilodalton
LB	Luria-Bertani
MAGUK	Membran assoziierte Guanylat-Kinase
MAPK	Mitogen-aktivierte Protein Kinase
MBP	Maltosebindeprotein
MDCK	Madin-Darby <i>canine kidney</i> Zellen
M _w	Molekulargewicht
MWCO	<i>moleculare weight cut off</i>
Neo ^r	Neomycin-Resistenzgen
NHS	N-Hydroxysuccinimid
NP-40	Nonidet P40
Occ	Occludin
OD	optische Dichte
PBS	Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
PBS-CM	PBS mit Ca ²⁺ und Mg ²⁺
PCR	Polymerase-Kettenreaktion

Abkürzungsverzeichnis

PDEA	4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-ethan-sulfonsäure
PDZ	PSD-95/Dlg/ZO-1 Domäne
P-face	protoplasmatische Hälfte der Plasmamembran
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
PVDF	Polyvinylidenfluorid
RU	Resonanzeinheit
RT	Raumtemperatur
SDS	Natrium-Dodecylsulfat
SDS-PAGE	SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese
SH3	<i>Src oncogene homology region 3</i>
TBST	Tris-gepufferte Kochsalzlösung mit Tween-20
TBSTM	Tris-gepufferte Kochsalzlösung mit Tween-20 und Magermilchpulver
TEER	Transepithelialer elektrischer Widerstand
TJ	<i>Tight junction</i>
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
U	Einheit (Units)
ÜN	über Nacht
upm	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
V ₀	Ausschlussvolumen
V _e	Elutionsvolumen
V _t	Totalvolumen
wt	Wildtyp
YFP	gelb fluoreszierendes Protein
ZO	Zonula Occludens
λ_{exc}	Anregungswellenlänge
λ_{em}	Emissionswellenlänge

Abkürzungen von Nukleotiden:

A	Adenin
C	Cytosin
G	Guanin
T	Thymin

Abkürzungen von Aminosäuren:

A	Alanin (Ala)
C	Cystein (Cys)
D	Asparaginsäure (Asp)
E	Glutaminsäure (Glu)
F	Phenylalanin (Phe)
G	Glycin (Gly)
H	Histidin (His)
I	Isoleucin (Ile)
K	Lysin (Lys)
L	Leucin (Leu)
M	Methionin (Met)
N	Asparagin (Asn)
P	Prolin (Pro)
Q	Glutamin (Gln)
R	Arginin (Arg)
S	Serin (Ser)
T	Threonin (Thr)
V	Valin (Val)
W	Tryptophan (Trp)
Y	Tyrosin (Tyr)