

2 Zielsetzung

Im Rahmen dieser Arbeit sollte eine funktionelle Charakterisierung potentieller Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren der LEF/TCF-Familie im Promotor des abdichtenden Tight junction-Proteins Claudin-1 durchgeführt werden. Für das Tight junction-Protein Claudin-2, das für die Bildung kationen-selektiver Poren innerhalb der Tight junction verantwortlich ist, sollte ein direkter regulatorischer Einfluss über LEF/TCF-Bindungsstellen im Promotor untersucht werden. Weiterhin sollte geklärt werden, ob ein durch potentielle Cdx-Bindungsstellen vermittelter regulatorischer Effekt durch den Wnt-Signalweg beeinflusst wird.

Zur Untersuchung dieser Fragen sollten Sequenzanalysen der Promotoren durchgeführt und potentielle Bindungsstellen auf ihre direkte Interaktion mit nukleären Effektoren des Wnt-Signalwegs hin untersucht werden. Die direkte Interaktion der Bindungsstellen mit nukleären Effektoren sollte durch EMSAs (Gelretardations-Assays) erfolgen. Zum Nachweis der funktionellen Bedeutung identifizierter Bindungsstellen sollte durch Reporteragen-Analysen der Promotoren deren Aktivierbarkeit durch sekretorisches Wnt sowie die nukleären Effektoren LEF-1, TCF-4 und β -Catenin analysiert werden. Die LEF/TCF-Bindungsstellen bzw. Cdx-Bindungsstellen in den Promotor-Konstrukten sollten durch Mutagenese inaktiviert werden. Die mutagenisierten Promotor-Konstrukte sollten auf ihre Aktivierbarkeit durch die nukleären Effektoren LEF-1, TCF-4 und β -Catenin hin untersucht werden.