

10 Anhang

Abstract

TFF peptides (TFF1-3) represent a family of small, secreted polypeptides characterized by a trefoil-like three-loop structure. They are constitutively expressed in mucous epithelial tissues where they have a protective function by stabilizing the extracellular mucus layer and act as motogenic factors during epithelial restitution after wounding and during inflammation. In contrast to these beneficial functions, TFF peptides induce cell scattering and invasion in tumor cells. These processes are accompanied by a modulation of cell-cell contacts. Here we analyzed the E-cadherin/catenin adhesion complex in hTFF3 and control transfected epithelial cells as well as the cellular amount of tight junctions components.

Consistent with the motogenic function, FLAG-hTFF3 transfected cells revealed enhanced cell migration in gap-filling assays. On Western blots the levels of E-cadherin, α - and β -catenin were reduced. This was confirmed by immunofluorescence microscopy. Moreover, transfected cells showed enhanced stress fiber formation.

Posttranslational down-regulation of E-cadherin leads to a reduction of half life from 7.9 h to 3.7 h as shown in pulse-chase experiments. In addition down-regulation of E-cadherin is mediated at the transcriptional level as shown by Multiplex-RT-PCR and quantitative RT-PCR. Methylation-specific PCRs did not reveal changes in promoter methylation. No significant changes in the mRNA levels of the known E-cadherin transcriptional repressors Snail1, Slug, SIP-1, E12/E47 were detectable.

In addition reduced protein levels of claudin-2 were detectable in FLAG-hTFF3 transfected cells in Western blot and immunofluorescence analyses. RT-PCR studies show that the transcriptional downregulation of claudin-2 is involved in this reduction.

In conclusion TFF3 modulates cell-cell contacts by complex transcriptional and post-translational mechanisms, emphasizing the important role of TFF3 in tissue protection, wound healing and epithelial restitution and also in cell scattering and invasion.

Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. R. Tauber und bei Herrn Prof. Dr. Otmar Huber bedanken, die mir zusammen den Weg von der Theoretisch Chemie zu der Molekularbiologie ermöglicht haben und mir dabei stets hilfreich zur Seite standen.

Bei Herrn Prof. Dr. R. Tauber möchte ich mich vor allem für seine ständige Unterstützung bedanken. Gerade in schwierigen Situationen konnte ich mich auf seine Hilfe immer verlassen. Zudem waren seinen zahlreichen, nicht nur wissenschaftlichen Rat-schlägen für mich unverzichtbar. Dafür danke ich ihm herzlichst.

Herrn Prof. Dr. Otmar Huber gebührt mein größter Dank, beruht doch der Erfolg dieser Arbeit maßgeblich auf seinen vielfältigen Anregungen, seinen konstruktiven Vor-schlägen und den vielen Diskussionen mit ihm. Dabei konnte ich mich in jeder Phase meiner Arbeit auf seine schier grenzenlose Hilfsbereitschaft verlassen. Für all dieses bin ich Herrn Professor Dr. Otmar Huber zu unschätzbar großem Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. M. Kalesse danke ich für die Betreuung und Begutachtung meiner Arbeit am Fachbereich Biologie, Chemie und Pharmazie der Freien Universität Berlin.

Herrn Dr. H. Hoschützky, nano Tools Antikörper Technik, danke ich für die Generierung der monoklonalen hTFF3 Antikörper Klone. Herrn Dr. S. Amasheh danke ich für die Bereitstellung von Antikörpern gegen *Tight Junctions* Proteinc.

Mein besonderer Dank gilt weiterhin Herrn Dr. Jörg Weiske, Frau Barbara „Luise“ Kosel und Frau Dr. Andrea Hämmerlein. Gerade zu Beginn der Arbeit waren mir ihre Hilfsbereitschaft und der Wissens- und Erfahrungsaustausch mit ihnen eine große Hilfe bei dem Erlernen der verschiedenen Arbeitstechniken. Noch viel wichtiger als die kooperative Zusammenarbeit war für mich der Spaß, den wir während unserer Zeit im und auch außerhalb des Labors hatten. In diesem Zusammenhang dürfen Herr Sebastian Orso und Herr Dr. Christian Bojarski nicht unerwähnt bleiben.

Darüber hinaus danke ich allen nicht namentlich genannten Mitgliedern der Arbeits-gruppe für ihre praktische Hilfe im Labor und das nette Arbeitsklima.

Curriculum Vitae

Name

Dirk Oliver Meyer zum Büschenfelde

Geburtsdatum

12.04.1972

Geburtsort

Mainz

Schulbildung

1978 - 1982: Martinus-Grundschule, Mainz

1982 - 1991: Willigis-Gymnasium, Mainz

03.06.1991 : Abitur (Note 1,5)

Akademische Ausbildung

1991 - 1994: Grundstudium der Chemie an der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

1994 - 1997: Hauptstudium der Chemie an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn (Schwerpunkt Theoretische Chemie)

01.09.1996 - 30.09.1997: Diplomprüfung (Gesamtnote 1)

01.10.1997 - 31-07.1999: Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Theoretische Chemie an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Ab dem 15.08.1999 bis heute: Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie (Lehrstuhl: Prof. Dr. R. Tauber)

Lehrtätigkeiten

Seit dem WS 2001/2:

- "Zellbiologisches Seminar für Naturwissenschaftler und Mediziner"
- " Zellbiologisches Praktikum für Naturwissenschaftler und Mediziner"

Publikationen

D. Meyer zum Büschenfelde, A. Staib. "Vibrational spectroscopy and molecular dynamics of solvated methanol tetramer and pentamer", Chem. Phys., 236, 253-261 (1998).

D. Meyer zum Büschenfelde, H. Hoshützky, R. Tauber, O. Huber. "Molecular mechanisms involved in TFF3 peptide-mediated modulation of the E-cadherin/catenin cell adhesion complex", Peptides, (previously accepted).