

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Einleitung	1-16
1.1 Makroskopische Anatomie des Magens	1
1.2 Histologie des Magens	2
1.3 Rezeptoren der Parietalzelle	4
1.4 Die H ⁺ K ⁺ -ATPase	6
1.5 Polare Verhältnisse an der Parietalzelle	7
1.5.1 Das basolaterale Membransystem	8
1.5.2 Das apikale Membransystem	8
1.6 Stimulationsbedingte Membranumverteilung in der Parietalzelle	9
1.7 Die SNARE-Hypothese	11
1.8 Clostridiale Neurotoxine	14
1.9 Fragestellung	15
2. Material und Methoden	17-43
2.1 Material	17
2.2 Methoden	24
2.2.1 Isolation und Anreicherung von Parietalzellen aus Schweinemägen	24
2.2.1.1 Enzymatische Isolierung von Zellen aus der Magenmukosa	24
2.2.1.2 Zelltrennung und –anreicherung mit den Methoden der Elutriation und Dichtegradientenzentrifugation	26
2.2.2 Mikroskopische Auszählung der präparierten Zellen in der Zählkammer	27
2.2.3 Präparation der Cytospots	28
2.2.4 Histaminstimulierung der Parietalzellen und Messung der Säuresekretion anhand der Aminopyrinaufnahme	28
2.2.5 Präparation der Membranfraktion aus Parietalzellen	29

2.2.6	Immunpräzipitation von Proteinkomplexen aus Membranfraktionen	30
2.2.7	Behandlung von Membranfraktionen aus Parietalzellen mit Tetanus Neurotoxin	31
2.2.8	Bestimmung der Proteinkonzentration	31
2.2.9	Polyacrylamid-Gelelektrophorese mit Natrium-Dodecylsulfat	31
2.2.10	Anfärbung der SDS-Gele mit Coomassie Blue	33
2.2.11	Westernblot und Immundetektion der Proteinbanden	33
2.2.12	Immunfluoreszenzmikroskopie	34
2.2.13	Präparation von Gesamt-RNA aus Parietalzellen	37
2.2.14	Elektrophoretische Trennung von DNA und RNA-Fragmenten	38
2.2.15	Klonierung von PCR-Fragmenten	38
2.2.15.1	Reverse Transkription und Polymerase-Ketten-Reaktion	39
2.2.15.2	Reinigung der amplifizierten DNA	41
2.2.15.3	Restriktionsverdau und Ligation	41
2.2.15.4	Herstellung transformationskompetenter E. coli Zellen	42
2.2.15.5	Transformation	42
2.2.15.6	Minipräparation	43
2.2.15.7	Glycerolstocks	44
2.2.15.8	Sequenzierung	44
3.	Ergebnisse	45-67
3.1	Immunfluoreszenzmikroskopie: Morphologische Analyse der gastrischen Mukosa des Schweins und der Ratte in Abhängigkeit vom stimulationsbedingten Sekretionszustand	45
3.2	Immunfluoreszenzmikroskopie: Die subzelluläre Verteilung von Synaptobrevin, Syntaxin und SNAP25 in Parietalzellen	48
3.3	Immunfluoreszenzmikroskopie: Die subzelluläre Verteilung von Rab3A in Parietalzellen	51

3.4	Immunfluoreszenzmikroskopische Analyse der subzellulären Verteilung von NSF und α,β -SNAP	53
3.5	Isolierung und Anreicherung von Parietalzellen aus der gastrischen Mukosa des Schweins	55
3.6	Proteinbiochemische Analyse der isolierten und angereicherten Parietalzellen	56
3.7	Immunchemische Identifizierung der SNARE-Proteine Synaptobrevin, Syntaxin und SNAP25 in Parietalzellen	58
3.8	PCR-Analyse und Sequenzierung der m-RNA für SNAP25 in Parietalzellen	60
3.9	Immunchemische Identifizierung von NSF und α,β -SNAP in Parietalzellen	62
3.10	Immunpräzipitation von SNARE-Proteinen in Membranpräparationen aus Parietalzellen	63
3.11	Inkubation von Membranpräparationen aus Parietalzellen mit Tetanus Neurotoxin	64
3.12	Inhibition der stimulationsbedingten Säuresekretion in Parietalzellen nach Inkubation mit Tetanus Neurotoxin	65
4.	Diskussion	68-82
4.1	Morphologische Aspekte der ruhenden und stimulierten Parietalzelle im Hinblick auf die Membranamverteilungshypothese	68
4.2	SNARE-Proteine in der Parietalzelle	69
4.3	Das GTP-bindene Protein Rab3A	71
4.4	SNAP25, SNAP23 und Cellubrevin	72
4.5	Die Funktion von SNARE-Proteinen in Parietalzellen	74
4.6	NSF und α,β -SNAP in Parietalzellen	77
4.7	Die Parietalzelle als Modell für kombinierte homotypische und heterotypische Membranfusionen	78
5.	Zusammenfassung	83-84
6.	Literatur	85-99

Abkürzungen

Publikationen / Kongreßbeiträge

Lebenslauf

Erklärung an Eides statt

Danksagung