

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Das Hepatitis-B-Virus (HBV)	1
1.1.1	Epidemiologie und Pathogenese	1
1.1.2	Prävention, Diagnose und Therapie	3
1.1.3	Klassifizierung	5
1.1.4	Aufbau des Viruspartikels	6
1.1.5	HBV-Genom	8
1.1.6	Oberflächenproteine (HBsAg)	10
1.1.6.1	SHBsAg	10
1.1.6.2	MHBsAg	10
1.1.6.3	LHBsAg	10
1.1.7	Lebenszyklus von HBV	11
1.2	Intrazellulärer Vesikeltransport	13
1.2.1	Rab-Proteine	13
1.2.2	SNARE-Komplex	13
1.2.3	NSF und SNAP	15
1.2.4	Sec1/Munc18 (SM)-Proteine	15
1.3	ESCRT-System	15
1.4	ESCRT und HBV	18
1.5	$\alpha$ -Taxilin	20
<b>2</b>	<b>Zielsetzung</b>	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>Material</b>	<b>22</b>
3.1	Bakterienstämme und Zelllinien	22
3.1.1	Bakterienstämme	22
3.1.2	Zelllinien	22
3.2	Mäuse	23
3.3	Gewebeproben	23
3.4	Plasmide	23
3.4.1	Kommerziell erhältliche Plasmide	23
3.4.2	Hergestellte Plasmide	23

3.5	Oligonukleotide	24
3.6	Antikörper	24
3.7	Größenstandards	26
3.8	Enzyme	26
3.9	Reagenzien für die Zellkultur	26
3.10	Inhibitoren	27
3.11	Chemikalien	27
3.12	Verwendete Kits	28
3.13	Geräte	28
3.13.1	Elektrophorese- und Blotsysteme	28
3.13.2	Mikroskope	28
3.13.3	Software	29
3.13.4	PCR Cycler	29
3.13.5	Zentrifugen	29
3.13.6	Sonstige	29
3.14	Puffer, Lösungen und Medien	30
3.15	Verbrauchsmaterialien	32
<b>4</b>	<b>Methoden</b>	<b>34</b>
4.1	Zellbiologische Methoden	34
4.1.1	Kultivierung von <i>E. coli</i>	34
4.1.2	Kultivieren und Passagieren von eukaryotischen Zellen	34
4.1.3	Transfektion von Expressionsplasmiden	34
4.1.4	Ernte und Lyse von eukaryotischen Zellen	35
4.1.4.1	Proteinlysate	35
4.2	Molekularbiologische Methoden	35
4.2.1	Gewinnung kompetenter <i>E. coli</i>	35
4.2.2	Transformation von <i>E. coli</i> mit rekombinanter DNA	35
4.2.3	Präparation und Konservierung von Plasmiden	36
4.2.4	Quantifizierung isolierter Plasmid-DNA	36
4.2.5	Agarosegelelektrophorese und Reinigung der DNA	36
4.2.6	RNA-Isolierung	37
4.2.7	cDNA-Synthese	37
4.2.8	Real-time PCR (RT-PCR)	37
4.3	Proteinbiochemische Methoden	38
4.3.1	Proteinkonzentrationsbestimmung mittels Bradford Assay	38
4.3.2	SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE)	38
4.3.3	Western-Blot-Analyse (WB-Analyse)	39
4.4	Immunologische Methoden	40

4.4.1	Coimmunpräzipitation (Co-IP)	40
4.4.2	Indirekte Immunfluoreszenz (IF)	40
4.4.3	Enzym-linked-immunosorbent-assay (ELISA)	41
4.5	Mikroskopie	41
4.5.1	Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM)	41
4.6	Methoden zur Charakterisierung HBV-transgener Mäuse	41
4.6.1	Serumgewinnung von Mäusen	41
4.6.2	Messung von ALT und AST	42
4.6.3	Gewinnung von Organen	42
4.6.4	Präparation von Organlysaten	42
4.6.5	Isolierung von RNA aus Lebergewebe	42
4.6.6	Paraffinpräparate und Färbeverfahren	42
4.6.7	Immunfärbung von Paraffinschnitten	43
<b>5</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>44</b>
5.1	Erhöhte Mengen $\alpha$ -Taxilin in HBV-exprimierenden Zellkulturen	44
5.2	Erhöhte Mengen von $\alpha$ -Taxilin <i>in vivo</i>	46
5.2.1	Expression von $\alpha$ -Taxilin in HBV-transgenen Mäusen	46
5.2.2	Expression von $\alpha$ -Taxilin in HBV-infizierten Patienten	50
5.3	Überexpression von $\alpha$ -Taxilin	52
5.4	Knockdown von $\alpha$ -Taxilin	53
5.5	Colokalisation von HBV mit $\alpha$ -Taxilin	55
5.6	Interaktion zwischen $\alpha$ -Taxilin und LHBs	56
5.7	Interaktion zwischen gereinigtem $\alpha$ -Taxilin und der PreS1PreS2-Domäne	57
5.8	Einfluss von $\alpha$ -Taxilin auf die Expression von Komponenten des ESCRT-Systems	58
5.9	$\alpha$ -Taxilin colokalisiert mit tsg101	60
5.10	Interaktion zwischen $\alpha$ -Taxilin und tsg101	61
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>Summary</b>	<b>70</b>
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>73</b>
<b>9</b>	<b>Abkürzungen</b>	<b>87</b>
<b>10</b>	<b>Publikationsverzeichnis</b>	<b>89</b>
<b>11</b>	<b>Danksagung</b>	<b>90</b>