

For English text see page 2

Naturwissenschaftliche Doktorarbeit (ab sofort/spätestens 01.03.2021) zum Thema:

Molekulare Architektur von Tight Junctions und parazellulären Ionenkanälen

Tight Junctions regulieren die parazelluläre Permeabilität für Solute und Wasser in Epithelien und Endothelien und sind für Organschranken essentiell. Zum einen könnte eine gezielte transiente Öffnung der Tight Junctions die Arzneistoffaufnahme über Gewebearrieren, z.B. das intestinale Epithel oder die Blut-Hirnschranke, drastisch verbessern. Zum anderen könnte eine therapeutische Stabilisierung pathologisch dysregulierter Tight Junctions die protektive Wirkung von beeinträchtigten Organschranken wiederherstellen (z.B. bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen). Hierfür sind die Transmembranproteine der Claudinfamilie erfolgsversprechende Angriffspunkte, da sie das Rückgrat der Tight Junctions bilden und die Claudin-Zusammensetzung die parazellulären Barriereigenschaften bestimmt.

Im Rahmen des DFG-geförderten Projektes sollen Struktur-Funktionsbeziehungen zum molekularen Mechanismus geklärt werden, über den Claudine die parazelluläre Permeabilität regulieren. Insbesondere ist Ziel, die molekulare Architektur der Tight Junctions aufzudecken und zu klären, wie Claudine an Zell-Zellkontakten mit einander interagieren und intramembranäre Polymere bilden, die je nach Claudin-Subtyp, den parazellulären Spalt entweder abdichten oder größen- und ladungsselektive Kanäle bilden.

Folgende Methoden sollen hierfür zur Anwendung kommen: **(a)** Experimentell: Zellkultur, Transfektion, zelluläre Rekonstitution von Tight Junction-Strängen/Polymere, konfokale und STED Super Resolution Mikroskopie, Lebendzell-Imaging, FRET, FRAP, ortsgerichtete Mutagenese, Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie, Western-Blot, chemisches Protein-Crosslinking, Messung der parazellulären Ionen- und Tracer-Permeabilität; **(b)** Strukturelle Bioinformatik: Homologie-Modellierung von Claudinproteinstrukturen, Oligomer-Docking und vor allem Molekulardynamik Simulationen von membraneingebetteten Claudinoligomeren.

Formale und fachliche Voraussetzungen:

Ein sehr gut abgeschlossenes Hochschulstudium der Fächer Biochemie, Biologie, Bioinformatik, Biotechnologie oder einer verwandten Studienrichtung, starkes Interesse an zellbiologischen und strukturellen Fragestellungen und der Wunsch nach Teamarbeit. Wir bieten ein starkes und engagiertes wissenschaftliches Umfeld an der Schnittstelle naturwissenschaftlicher Grundlagenforschung und präklinischer Forschung.

Die Eingruppierung erfolgt unter Berücksichtigung der persönlichen Voraussetzungen nach Entgeltgruppe E13 des Entgeltgefüges zum TV-Charité (65%), befristet für drei Jahre

Bewerbungen und Rückfragen bitte an PD Dr. Jörg Piontek Tel. 030/450-514535, E-Mail: joerg.piontek@charite.de. Für weitere Informationen, siehe <https://klinphys.charite.de> und folgende Publikationen:

1. Hempel et al., 2020. Assembly of Tight Junction Strands: Claudin-10b and Claudin-3 Form Homo Tetrameric Building Blocks that Polymerise in a Channel-Independent Manner. *J Mol Biol.* pii: S0022-2836(20)30222-9. doi: 10.1016/j.jmb.2020.02.034
2. Piontek et al., 2020. Molecular architecture and assembly of the tight junction backbone. *Biochim Biophys Acta.*, 1862(7):183279. doi: 10.1016/j.bbame.2020
3. Rosenthal et al., 2019. Claudin-15 forms a water channel through the tight junction with distinct function compared to claudin-2. *Acta Physiol (Oxf)*. 228(1):e13334. doi: 10.1111/apha.13334
4. Neuhaus et al., 2018. Reversible opening of the blood-brain barrier by claudin-5-binding variants of Clostridium perfringens enterotoxin's claudin-binding domain. *Biomaterials* 161: 129-143
5. Klar et al., 2017. Paracellular cation permeability due to a rare CLDN10B variant causes anhidrosis and kidney damage. *PLoS Genet*;13(7):e1006897. doi: 10.1371/journal.pgen.1006897
6. Milatz S et al., 2015. Probing the cis-arrangement of prototype tight junction proteins claudin-1 and claudin-3. *Biochem. J.* 468(3): 449-458
7. Piontek et al., 2008. Formation of tight junction: determinants of homophilic interaction between classic claudins. *FASEB J.* 22:146-158

PhD student Position - life science

The Institute of Clinical Physiology / Div. of Nutritional Medicine is part of the Medizinische Klinik für Gastroenterologie, Infektiologie und Rheumatologie at the Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin.

A PhD student position (TVöD 13, 65%) is available for three years as part of a project funded by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (project leader: PD Dr. Jörg Piontek)

Topic: Molecular architecture of tight junctions and paracellular ion channels

Tight Junctions regulate paracellular permeability for solutes and water in epithelia and endothelia and are essential for tissue barriers. On the one hand, transient opening of tight junctions could improve drug delivery across tissue barriers, e.g. the intestinal epithelium or the blood brain barrier. On the other hand, stabilization of pathologically altered tight junctions could recover the protective function of a compromised tissue barrier (e.g. in inflammatory bowel disease). To achieve this, the transmembrane claudin proteins are promising targets, since they form the backbone of tight junctions and determine their paracellular barrier properties.

In the project, claudin structure-function relationships will be characterized to elucidate the molecular mechanism of paracellular permeability regulation by claudins. Aim is, in particular, to clarify the molecular architecture of tight junctions and how claudins interact with each other at cell-cell contacts to form intramembranous polymers which – in a claudin subtyp-dependent manner – either tighten the paracellular gap or form size- and charge-selective channels.

The following methods will be applied: **(a)** experimental: cell culture, transfection, cellular reconstitution von tight junction strands/polymers, confocal and STED super resolution microscopy, live cell imaging, FRET, FRAP, site-directed mutagenesis, freeze-fracture electron microscopy, Western blot, chemical protein crosslinking, measurement of paracellular ion- and tracer permeability; **(b)** structural bioinformatics: homology modeling of claudin protein structures, oligomer docking and especially molecular dynamics simulations of membrane- embedded claudin oligomers.

Requirements:

Very good Master degree in biochemistry, biology, bioinformatics, biotechnology or a related field of study and a strong interest in structural and functional cell biology. We offer a strong, committed and enthusiastic scientific environment at the interface between basic and preclinical research.

For application (please via email) and further information please contact: PD Dr. Jörg Piontek phone 030/450-514535, e-mail: joerg.piontek@charite.de, Institut für Klinische Physiologie, Charité, Hindenburgdamm 30, 12203 Berlin.

For more information, see <https://klinphys.charite.de> and project-related publications:

1. Hempel et al., 2020. Assembly of Tight Junction Strands: Claudin-10b and Claudin-3 Form Homo Tetrameric Building Blocks that Polymerise in a Channel-Independent Manner. *J Mol Biol.* pii: S0022-2836(20)30222-9. doi: 10.1016/j.jmb.2020.02.034
2. Piontek et al., 2020. Molecular architecture and assembly of the tight junction backbone. *Biochim Biophys Acta.*, 1862(7):183279. doi: 10.1016/j.bbame.2020
3. Rosenthal et al., 2019. Claudin-15 forms a water channel through the tight junction with distinct function compared to claudin-2. *Acta Physiol (Oxf)*. 228(1):e13334. doi: 10.1111/apha.13334
4. Neuhaus et al., 2018. Reversible opening of the blood-brain barrier by claudin-5-binding variants of Clostridium perfringens enterotoxin's claudin-binding domain. *Biomaterials* 161: 129-143
5. Klar et al., 2017. Paracellular cation permeability due to a rare CLDN10B variant causes anhidrosis and kidney damage. *PLoS Genet*;13(7):e1006897. doi: 10.1371/journal.pgen.1006897
6. Milatz S et al., 2015. Probing the cis-arrangement of prototype tight junction proteins claudin-1 and claudin-3. *Biochem. J.* 468(3): 449-458
7. Piontek et al., 2008. Formation of tight junction: determinants of homophilic interaction between classic claudins. *FASEB J.* 22:146-158