

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Abbildungsverzeichnis .....	III
Abkürzungsverzeichnis .....	IV
1 Einleitung .....	1
1.1 Anatomie und Physiologie der Niere .....	2
1.2 Aufbau der glomerulären Filtrationsbarriere.....	3
1.2.1 Struktur des glomerulären Endothels .....	4
1.2.2 Funktion der Podozyten.....	5
1.2.2.1 Bedeutung der podozytären Adhäsionsmaschinerie.....	7
1.2.3 Organisation der glomerulären Basalmembran .....	9
1.2.4 Signaltransduktion und intraglomeruläre Kommunikation .....	13
1.3 Glomeruläre Erkrankungen .....	15
1.4 Das podozytäre Adhäsionsprotein EPB41L5 .....	16
2 Zielsetzung der Arbeit .....	19
3 Material und Methoden .....	20
3.1 Materiallisten.....	20
3.1.1 Verbrauchsmaterialien, Kits und Reagenzien .....	20
3.1.2 Chemikalien.....	22
3.1.3 SDS-PAGE.....	23
3.1.4 Antikörper .....	25
3.1.5 Lösungen und Puffer .....	26
3.1.6 Laborgeräte.....	28
3.1.7 Software.....	29
3.2 Methoden.....	30
3.2.1 Mauslinie .....	30
3.2.2 Entnahme und Fixation von Gewebeproben .....	30
3.2.3 Histologie .....	31
3.2.4 Immunfluoreszenzfärbung von kryofixiertem Gewebe.....	31
3.2.5 Transmissionselektronenmikroskopie .....	32
3.2.6 Zelllinie und Zellkultur.....	32
3.2.7 Lysate der <i>EPB41L5</i> -KO- und WT-Zellen (Podozytenlysate).....	33
3.2.8 Messung der Gesamtproteinkonzentration .....	33
3.2.9 SDS-PAGE.....	33
3.2.10 Immunfluoreszenzfärbung von Zellen .....	34
3.2.11 Analyse der FN1-Ablagerungen.....	35

3.2.12 Analyse der fokalen Adhäsionen.....	35
3.2.13 Kultivierung von <i>EPB41L5</i> -KO- und WT-Zellen auf unterschiedlichen Härtegraden .....	36
3.2.14 Analyse der fokalen Adhäsionen unter Anwendung eines TGM2-Inhibitors .....	36
3.2.15 Analyse der Zellausbreitung auf unterschiedlichen EZM-Komponenten .....	37
3.2.16 Analyse der Zellausbreitung unter Anwendung eines TGM2-Inhibitors .....	38
3.2.17 Visualisierung und Präparation der gebildeten EZM der <i>EPB41L5</i> -KO- und WT-Zellen. ....	38
3.2.18 EZM-Lysate der <i>EPB41L5</i> -KO- und WT-Zellen.....	39
3.2.19 SILAC-basierte massenspektrometrische Analyse der Podozyten- und EZM-Lysate .....	40
3.2.20 Kultivierung von WT-Zellen sowie HMECs auf generierter <i>EPB41L5</i> -KO- und WT-EZM .....	41
3.2.21 Ko-Kultivierung von <i>EPB41L5</i> -KO- und WT-Zellen mit HMECs .....	41
3.2.22 Präparation der Deckgläser.....	42
3.2.23 Statistik.....	42
4 Ergebnisse .....	44
4.1 EPB41L5 beeinflusst den strukturellen Aufbau der GBM im Mausmodell.....	44
4.2 Der Verlust von EPB41L5 führt zu einer veränderten Synthese von EZM- Komponenten <i>in vitro</i> .....	48
4.3 Im adynamischen Zustand weisen <i>EPB41L5</i> -KO-Zellen eine verminderte Anzahl der fokalen Adhäsionen auf.....	50
4.4 <i>EPB41L5</i> -KO-Zellen zeigen ein unterschiedliches Ansprechen auf verschiedene EZM-Komponenten .....	53
4.5 Etablierung und Validierung einer Methode zur Präparation der EZM .....	56
4.6 Analysen des SILAC-basierten massenspektrometrischen Proteoms sowie des Matrisoms der gebildeten EZM.....	57
4.7 Validierungen der Proteom- und Matrisom-Analysen .....	60
4.8 Die EZM-Synthese der Podozyten wird durch TGM2 beeinflusst.....	63
4.9 Die von <i>EPB41L5</i> -KO-Zellen gebildete EZM zeigt funktionelle Defizite .....	66
5 Diskussion .....	69
5.1 EPB41L5 beeinflusst die Morphologie der GBM im Mausmodell .....	69
5.2 EPB41L5 reguliert die Synthese von EZM-Komponenten <i>in vitro</i> .....	71
5.3 Die Ausbildung der podozytären FAs wird durch den Verlust von EPB41L5 beeinträchtigt.....	72
5.4 EPB41L5 beeinflusst die Signaltransduktion zwischen EZM und Podozyten .....	74
5.5 TGM2 moduliert die EZM-Synthese der Podozyten.....	77
5.6 Der Verlust von EPB41L5 führt zu funktionellen Defiziten der EZM .....	80
6. Zusammenfassung.....	83
7. Summary .....	84
8. Literaturverzeichnis.....	85
9. Publikationen.....	103

10. Erklärung.....	104
11. Danksagung.....	105