

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 EPB41L5-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 <i>EPB41L5</i> beeinflusst den strukturellen Aufbau der GBM im Mausmodell.....	44
4.2 Der Verlust von <i>EPB41L5</i> 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 Matrismos der gebildeten EZM.....	57
4.7 Validierungen der Proteom- und Matrism-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 <i>EPB41L5</i> beeinflusst die Morphologie der GBM im Mausmodell.....	69
5.2 <i>EPB41L5</i> reguliert die Synthese von EZM-Komponenten <i>in vitro</i>	71
5.3 Die Ausbildung der podozytären FAs wird durch den Verlust von <i>EPB41L5</i> beeinträchtigt....	72
5.4 <i>EPB41L5</i> beeinflusst die Signaltransduktion zwischen EZM und Podozyten	74
5.5 TGM2 moduliert die EZM-Synthese der Podozyten.....	77
5.6 Der Verlust von <i>EPB41L5</i> 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