

# INHALTSVERZEICHNIS

---

|           |   |     |
|-----------|---|-----|
| I.        | Erklärung zur selbstständigen Anfertigung der Dissertationsschrift .....          | IV  |
| II.       | Abbildungsverzeichnis .....   | IX  |
| III.      | Tabellenverzeichnis .....   | X   |
| IV.       | Abkürzungsverzeichnis .....   | XI  |
| V.        | Referenznummern .....   | XIV |
| VI.       | Kurzeinleitung in das Thema .....   | XV  |
| 1         | Literaturübersicht .....  | 1   |
| 1.1       | Transportproteine .....   | 1   |
| 1.2       | Die Solute Carrier Superfamilie .....   | 1   |
| 1.2.1     | Einteilung und Nomenklatur .....  | 1   |
| 1.2.2     | Funktion und Substrate .....  | 2   |
| 1.2.3     | Lokalisation und Struktur .....   | 3   |
| 1.2.4     | Regulation .....  | 4   |
| 1.3       | Die SLC10 Familie .....   | 4   |
| 1.4       | SLC10A7 .....   | 6   |
| 1.4.1     | Geschichte: von C4orf13 zu SLC10A7 .....  | 6   |
| 1.4.2     | Krankheitsbild bei SLC10A7-Defizienz .....  | 9   |
| 1.4.2.1   | Skelettale Dysplasie .....  | 9   |
| 1.4.2.2   | Amelogenesis imperfecta .....   | 9   |
| 1.4.2.3   | Humane SLC10A7-defiziente Patienten .....   | 10  |
| 1.4.3     | Informationen aus Datenbanken .....   | 13  |
| 1.4.3.1   | Phylogenie .....  | 13  |
| 1.4.3.2   | Genomische Organisation .....   | 15  |
| 1.4.3.3   | Proteinstruktur .....   | 17  |
| 1.4.3.4   | Gewebeexpression .....  | 18  |
| 1.4.3.5   | Zelluläre Lokalisation .....  | 20  |
| 1.4.4     | Ungeklärte Funktion .....   | 21  |
| 1.5       | Zelluläre Calciumregulation .....   | 23  |
| 1.5.1     | Bedeutung von Calcium für die Zelle .....   | 23  |
| 1.5.2     | On- und Off-Reaktion .....  | 26  |
| 1.5.2.1   | Calciumfreisetzung durch die PLC-IP <sub>3</sub> Signaltransduktionskaskade ..... | 27  |
| 1.5.2.2   | Calciumeintritt über speichergesteuerte Kanäle .....                              | 28  |
| 1.5.2.2.1 | SOCE durch STIM und ORAI .....  | 28  |
| 1.5.2.3   | Senkung der zytoplasmatischen Calciumkonzentration durch SERCA .....              | 29  |
| 1.6       | Glykosylierung .....  | 32  |

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| 1.6.1     | N-Glykosylierung .....   | 33 |
| 1.6.2     | Angeborene Glykosylierungsstörungen .....  | 38 |
| 2         | Publikationen und Eigenanteil.....   | 41 |
| 2.1       | Publikation #1.....  | 41 |
| 2.1.1     | Darstellung des Eigenanteils .....   | 42 |
| 2.1.2     | Bescheinigung der Richtigkeit der Angaben durch die Coautoren .....  | 42 |
| 2.2       | Publikation #2.....  | 43 |
| 2.2.1     | Darstellung des Eigenanteils .....   | 44 |
| 2.2.2     | Bescheinigung der Richtigkeit der Angaben durch die Coautoren .....  | 44 |
| 3         | Diskussion .....   | 45 |
| 3.1       | Zielsetzung.....   | 45 |
| 3.2       | Methodik .....   | 47 |
| 3.2.1     | Existierende Modelle.....  | 47 |
| 3.2.1.1   | Hefemodelle .....  | 47 |
| 3.2.1.2   | Tiermodelle.....   | 48 |
| 3.2.1.2.1 | Zebrabärbling ( <i>D. rerio</i> ) .....  | 48 |
| 3.2.1.2.2 | Mausmodell.....  | 49 |
| 3.2.2     | Zellkulturmodell .....   | 52 |
| 3.2.2.1   | SLC10A7-Knockout-Zelllinie: Hap1-KOP7 .....  | 54 |
| 3.2.2.2   | SLC10A7-überexprimierende Zelllinie: HekP7+Tet .....   | 55 |
| 3.2.3     | Auf das Zellmodell angewandte Methoden .....   | 57 |
| 3.2.3.1   | Western Blot.....  | 57 |
| 3.2.3.2   | Immunfluoreszenz.....  | 60 |
| 3.2.3.3   | Transiente Transfektion .....  | 60 |
| 3.2.3.4   | Proteintags .....  | 60 |
| 3.2.3.5   | Colokalisationsstudien.....  | 64 |
| 3.2.3.6   | Fluo-4 AM .....  | 66 |
| 3.3       | Die Rolle von SLC10A7 im Calciumstoffwechsel.....  | 70 |
| 3.3.1     | Effekte von SLC10A7 auf die Calciumfreisetzung und den Calciumeinstrom .....   | 70 |
| 3.3.1.1   | Durch Ionomycin ausgelöste Effekte.....  | 70 |
| 3.3.1.2   | Durch Thapsigargin ausgelöste Effekte .....  | 71 |
| 3.3.1.3   | Durch ATP + Carbachol ausgelöste Effekte .....   | 73 |
| 3.3.1.4   | Durch BTP-2 ausgelöste Effekte .....   | 73 |
| 3.3.1.5   | Aufhebung der durch SLC10A7-Defizienz ausgelösten Effekte via transiente SLC10A7-Überexpression in Hap1-KOP7 Zellen. ..... | 74 |
| 3.3.1.6   | Negative Korrelation zwischen SLC10A7-Expression und zellulärer Calciumkonzentration .....                                 | 74 |

|         |   |     |
|---------|---|-----|
| 3.3.1.7 | Colokalisation mit ORAI/ STIM/ SERCA .....                            | 75  |
| 3.3.1.8 | Zusammenfassung der Effekte .....                                     | 75  |
| 3.3.1.9 | Hypothesen zur Regulation des SOCE durch SLC10A7 .....                | 75  |
| 3.3.2   | Patientenmutationen im SLC10A7-Gen.....                               | 79  |
| 3.3.2.1 | SIFT .....  | 83  |
| 3.3.2.2 | PolyPhen.....   | 85  |
| 3.3.2.3 | SLC10A7-Mutanten im Zellkulturmodell .....                            | 85  |
| 3.4     | Der Einfluss von SLC10A7 auf die N-Glykosylierung.....                | 89  |
| 3.4.1   | Effekte auf die Glykosylierung bei SLC10A7-Defizienz .....            | 89  |
| 3.4.2   | Hypothesen zu den Ursachen der veränderten Glykosylierung.....        | 90  |
| 3.4.2.1 | Erhöhung der mannosereichen Strukturen.....                           | 90  |
| 3.4.2.2 | Erhöhung an Glykanen, denen GlcNAc fehlt .....                        | 91  |
| 3.4.2.3 | Verminderte Sialylierung der Glykanstrukturen .....                   | 92  |
| 3.5     | Verknüpfung des Calciumstoffwechselwegs mit der N-Glykosylierung..... | 93  |
| 3.5.1   | Gemeinsame Phänotypen bei unterschiedlichem Genotyp.....              | 93  |
| 3.5.2   | Vergleich mit TMEM165 .....   | 95  |
| 3.5.3   | Bedeutung und Interpretation der Veränderungen für SLC10A7 .....      | 96  |
| 3.6     | Zusätzliche Experimente in Bezug auf die N-Glykosylierung .....       | 99  |
| 3.6.1   | RT-PCR .....  | 99  |
| 3.6.2   | Quantitative PCR (qPCR).....  | 99  |
| 3.6.3   | Western Blot.....   | 101 |
| 4       | Ausblick.....   | 105 |
| 5       | Zusammenfassung .....   | 108 |
| 5.1     | Deutsch .....   | 108 |
| 5.2     | Englisch.....   | 109 |
| 6       | Referenzliste .....   | 110 |
| 6.1     | Fachzeitschriften und Fachbücher .....                                | 110 |
| 6.2     | Webseiten .....   | 120 |
| 7       | Danksagung .....  | 121 |
| 8       | Anhang.....   | 124 |