

# 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 transienter 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 <i>SLC10A7</i> -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