

**Untersuchung der Expression und
phänotypischen Bedeutung von *Ran-binding protein 3-like* in
innermedullären Sammelrohrzellen der Niere**

Dissertation

zur Erlangung des
Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I – Biowissenschaften

der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg,

vorgelegt

von Herrn Dmitry Chernyakov

geb. am 11.03.1994 in Brjansk

Gutachter

1. PD. Dr. Frank Erdmann

2. Prof. Dr. Bayram Edemir

3. Prof. Dr. Giuliano Ciarimboli

Verteidigungsdatum: 01.06.2023

Just don't believe the hype.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-------------|
| Inhaltsverzeichnis | I |
| Abkürzungsverzeichnis | VIII |
| Abbildungsverzeichnis | XIII |
| Tabellenverzeichnis | XVI |
| 1 Einleitung | 1 |
| 1.1 Die Niere | 1 |
| 1.1.1 Lage und Aufbau | 1 |
| 1.1.2 Das Nephron..... | 3 |
| 1.2 Einfluss von Hyperosmolalität auf zelluläre Prozesse | 8 |
| 1.2.1 Begriffsklärung..... | 8 |
| 1.2.2 Folgen von hyperosmotischem Stress | 8 |
| 1.2.3 Adaptionsmechanismen | 9 |
| 1.3 <i>Nuclear factor of activated T-cells 5</i> (NFAT5)..... | 10 |
| 1.3.1 Die Proteinfamilie der Rel-Proteine | 10 |
| 1.3.2 Funktion von NFAT5 in der Nierenphysiologie | 12 |
| 1.4 <i>Ran-binding protein 3-like</i> - bisherige Forschung | 13 |
| 1.5 Das Nierenzellkarzinom..... | 16 |
| 1.5.1 Klassifikation | 16 |
| 1.5.2 Pathogenese..... | 17 |
| 1.6 Osmolalitätsregulierte-Gene im RCC..... | 17 |
| 2 Zielstellung | 20 |
| 3 Materialien | 22 |
| 3.1 Chemikalien | 22 |
| 3.2 Allgemeine Materialien..... | 23 |
| 3.3 Geräte | 23 |
| 3.4 Wissenschaftliche Software | 24 |
| 3.5 Kits..... | 24 |
| 3.6 Enzyme..... | 25 |
| 3.7 Plasmide | 25 |
| 3.8 Antikörper | 26 |
| 3.9 Puffer und Lösungen und Zellkulturmedien | 27 |
| 3.10 Zellen und Bakterien | 28 |
| 3.11 Oligonukleotide..... | 28 |
| 3.11.1 Primer für guide-RNA-Klonierung | 28 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.11.2 | Primer für Target-Amplifizierung und Sequenzierung | 29 |
| 3.11.3 | Standardsequenzierprimer | 30 |
| 3.11.4 | quantitative PCR-Primer | 30 |
| 3.11.5 | Primer für Quick-Change-Mutagenese | 31 |
| 3.11.6 | RANBP3L V180 Vektor-Klonierung..... | 31 |
| 4 | Methoden | 32 |
| 4.1 | Allgemeine Zellkulturstammhaltung..... | 32 |
| 4.1.1 | Kultivierung der immortalisierten Zelllinien mpkCCD und HEK-293T | 32 |
| 4.1.2 | Passagieren und Zellzahlbestimmung der Zelllinien..... | 32 |
| 4.1.3 | Kultivierung unter extrazellulärer Hyperosmolalität..... | 33 |
| 4.2 | Allgemeine molekularbiologische Methoden | 33 |
| 4.2.1 | Herstellung chemisch kompetenter E. coli..... | 33 |
| 4.2.2 | Transformation von E. coli..... | 33 |
| 4.2.3 | Mini-Präparation | 34 |
| 4.2.4 | Sequenzierung | 34 |
| 4.2.5 | Maxi-Präparation..... | 34 |
| 4.2.6 | Isolation genomischer DNA..... | 34 |
| 4.2.7 | Polymerasekettenreaktion | 34 |
| 4.2.8 | Agarose-Gelelektrophorese | 35 |
| 4.2.9 | Aufreinigung der DNA..... | 36 |
| 4.2.9.1 | Aufreinigung aus dem PCR Ansatz..... | 36 |
| 4.2.9.2 | Aufreinigung aus dem Agarosegel..... | 36 |
| 4.2.10 | RNA-Isolation und cDNA-Synthese | 36 |
| 4.2.11 | Quantitative PCR (qPCR) | 37 |
| 4.2.12 | Auswertung der qPCR-Analysen | 38 |
| 4.2.13 | Proteinisolation und Konzentrationsbestimmung..... | 38 |
| 4.2.14 | SDS-Page und Western Blot | 38 |
| 4.2.15 | Immunfluoreszenz..... | 39 |
| 4.2.16 | Quantitative Analyse mittels Zen Blue | 40 |
| 4.2.16.1 | Signalintensitätsdiagramm | 40 |
| 4.2.16.2 | Berechnung der Lamellipodienfläche | 41 |
| 4.3 | Etablierung einer primären Maus-Nierenzellkultur | 42 |
| 4.3.1 | Organentnahme und Kultivierung | 42 |
| 4.3.2 | Ex-vivo Knockout von NFAT5 | 42 |

| | | |
|---------|--|----|
| 4.4 | Generierung CRISPR/Cas9-vermittelter-defizienter-mpkCCD-Zellen..... | 43 |
| 4.4.1 | CRISPR/Cas9 Vektor-Klonierung | 43 |
| 4.4.1.1 | Verdau des lentiviralen Vektors | 43 |
| 4.4.1.2 | Oligonukleotid-Zusammenlagerung..... | 44 |
| 4.4.1.3 | Ligation und Plasmidaufreinigung | 44 |
| 4.4.2 | Virusproduktion | 45 |
| 4.4.2.1 | Hek-293T Transfektion | 45 |
| 4.4.2.2 | Transduktion der mpkCCD Zelllinie..... | 46 |
| 4.4.3 | Genotypische Charakterisierung | 46 |
| 4.4.3.1 | Nachweis des CRISPR/Cas9-vermittelten-Doppelstrangbruches im Ziellokus | 46 |
| 4.4.3.2 | Vereinzelung | 47 |
| 4.4.3.3 | Tracking of InDels by DEcomposition (TIDE)..... | 48 |
| 4.4.3.4 | TOPO-TA Klonierung..... | 48 |
| 4.5 | Phänotypische Charakterisierung defizienter Zellen..... | 49 |
| 4.5.1 | Migrations- und Proliferationsanalyse | 49 |
| 4.5.1.1 | Migration..... | 49 |
| 4.5.1.2 | Proliferation..... | 50 |
| 4.5.2 | Soft-Agar-Assay..... | 51 |
| 4.6 | Analyse des globalen Genexpressionsprofils | 51 |
| 4.7 | Etablierung von zweifach-defizienten-mpkCCD-Zellen..... | 52 |
| 4.8 | Behandlung der Zellen mit TGF- β 1 | 52 |
| 4.9 | Promotoranalysen..... | 52 |
| 4.9.1 | Suche nach evolutionär konservierten Sequenzen (ECRs) | 52 |
| 4.9.2 | Klonierung von Ranbp3l-Promotor-Fragmenten | 53 |
| 4.9.3 | Quick change Mutagenese vom Ranbp3l-Promotor-Fragment | 55 |
| 4.9.4 | Messung der Promotoraktivität | 55 |
| 4.10 | Etablierung einer RANBP3L-überexprimierenden-Zelllinie | 55 |
| 4.10.1 | Klonierung des RANBP3L-FLAG Plasmids | 55 |
| 4.10.2 | Stabile Transfektion in mpkCCD-Zellen | 57 |
| 4.10.3 | Nachweis der Überexpression | 57 |
| 4.11 | Nutzung von frei zugänglichen online Datenbanken | 58 |
| 4.11.1 | Primerdesign mittels NCBI Primer-BLAST | 58 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 4.11.2 | CRISPR/CAS9-vermittelter-Knockout | 58 |
| 4.11.2.1 | CHOPCHOP..... | 58 |
| 4.11.2.2 | TIDE..... | 58 |
| 4.11.2.3 | Expasy | 58 |
| 4.11.3 | Genexpressionsanalysen..... | 58 |
| 4.11.3.1 | Morpheus..... | 58 |
| 4.11.3.2 | TCGA..... | 58 |
| 4.11.3.3 | The Human Protein Atlas | 59 |
| 4.11.3.4 | Gepia2 | 59 |
| 4.11.3.5 | DAVID | 59 |
| 4.11.3.6 | GSEA | 59 |
| 4.11.3.7 | UALCAN | 59 |
| 4.11.4 | Promotorstudien | 60 |
| 4.11.4.1 | ECR | 60 |
| 4.11.4.2 | JASPAR | 60 |
| 4.11.4.3 | QuikChange Primer Design..... | 60 |
| 4.12 | Statistische Auswertung der Daten..... | 60 |
| 5 | Ergebnisse | 61 |
| 5.1 | Osmotische Genregulation von <i>Ranbp3l</i> | 61 |
| 5.1.1 | Expression in einer murinen IMCD-Primärkultur..... | 61 |
| 5.1.2 | Expression in der mpkCCD-Zelllinie..... | 63 |
| 5.2 | NFAT5 als Schlüsseltranskriptionsfaktor der Hyperosmolalität..... | 64 |
| 5.3 | Generierung einer CRISPR/Cas9-vermittelten-NFAT5-defizienten-mpkCCD-Zelllinie | 66 |
| 5.3.1 | Knockout-Verifizierung | 66 |
| 5.3.1.1 | Genomische Charakterisierung des Knockouts..... | 66 |
| 5.3.1.2 | NFAT5-Defizienz auf Protein-Ebene..... | 69 |
| 5.3.2 | Expressionsanalyse der NFAT5-defizienten-mpkCCD-Klone | 72 |
| 5.4 | Tamoxifen-vermittelter <i>ex-vivo-Knockout</i> von NFAT5 in primär-kultivierten-Maus-Nierenzellen | 73 |
| 5.4.1 | Etablierung einer NFAT5-defizienten-Primärkultur | 73 |
| 5.4.2 | Expressionsanalyse einer NFAT5-defizienten-Primärkultur | 76 |
| 5.5 | <i>Ranbp3l</i> als direktes NFAT5-Target..... | 76 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 5.5.1 | Evolutionär konservierte NFAT5-Bindestellen im <i>Ranbp3l</i> -Promotorbereich..... | 76 |
| 5.5.2 | Analyse der Promotoraktivität von unterschiedlichen <i>Ranbp3l</i> -Promotorfragmenten | 78 |
| 5.6 | Generierung einer CRISPR/Cas9-vermittelten-RANBP3L-defizienten-mpkCCD-Zelllinie | 79 |
| 5.6.1 | Genomische Charakterisierung des RANBP3L-Knockouts..... | 79 |
| 5.6.2 | Morphologische Untersuchungen der RANBP3L-KO-Zellen | 82 |
| 5.6.3 | Funktionelle Charakterisierung der RANBP3L-KO-Zellen..... | 83 |
| 5.6.3.1 | Migrationsanalysen | 84 |
| 5.6.3.2 | Proliferationsanalysen | 85 |
| 5.6.3.3 | Soft-Agar-Assay | 85 |
| 5.6.4 | Genexpressionanalyse von RANBP3L-defizienten-Zellen..... | 86 |
| 5.6.4.1 | Globale Genexpressionsveränderung | 86 |
| 5.6.4.2 | Analyse von Signalwegen und angereicherten Gensets | 88 |
| 5.6.4.3 | Assoziation einer RANBP3L-Defizienz mit der Expression prognostischer Gene im RCC | 90 |
| 5.6.5 | Analyse ausgewählter regulierter Gene bei RANBP3L-Defizienz | 93 |
| 5.7 | Charakterisierung von SPARC und RANBP3L-defizienten-Zellen | 96 |
| 5.7.1 | Etablierung von SPARC und RANBP3L-defizienten-Zellen | 96 |
| 5.7.2 | Phänotypische Untersuchungen von SPARC und RANBP3L-defizienten-Zellen... .. | 98 |
| 5.7.2.1 | qPCR Analyse von <i>Col4a1</i> und <i>Col4a2</i> | 98 |
| 5.7.2.2 | Morphologische Untersuchung | 99 |
| 5.7.2.3 | Phänotypische Charakterisierung | 100 |
| 5.8 | Mögliche Assoziation zum TFG- β -Signalweg..... | 102 |
| 6 | Diskussion | 106 |
| 6.1 | Die mpkCCD-Zelllinie als geeignetes Modellsystem für Hyperosmolalitäts-assozierte-Anpassungen | 106 |
| 6.2 | NFAT5 ist an der hyperosmolalitäts-regulierenden Expression von <i>Ranbp3l</i> beteiligt. .. | 107 |
| 6.2.1 | NFAT5-Defizienz sorgt für einen Verlust der Expressionsinduktion von <i>Ranbp3l</i> unter Hyperosmolalität..... | 107 |
| 6.2.2 | NFAT5 ist direkt an der hyperosmolalität-assozierten- <i>Ranbp3l</i> -Expressionsinduktion beteiligt | 108 |
| 6.3 | Die Expression osmolalitätsregulierter-Gene zeigt eine prognostische Rolle beim Nierenzellkarzinom | 109 |

| | | |
|----------|---|----------------|
| 6.4 | Ein RANBP3L-Verlust in mpkCCD-Zellen führt zu einem tumor-assoziierten-Phänotyp . | 111 |
| 6.4.1 | Morphologische Veränderungen | 111 |
| 6.4.2 | Veränderung der Migration und Proliferation | 112 |
| 6.5 | Ein RANBP3L-Verlust führt zu einer prognostisch unvorteilhaften Gensignatur im Nierenzellkarzinom | 114 |
| 6.6 | Der <i>Knockout</i> von SPARC in RANBP3L-defizienten-Zellen minimiert den malignen Phänotyp | 115 |
| 6.7 | RANBP3L ist an der Translokation von TGF- β abhängigen Proteinen beteiligt | 117 |
| 7 | Zusammenfassung und Ausblick | 120 |
| | Literaturverzeichnis | XVIII |
| 8 | Anhang | XXXVIII |
| 8.1 | Vektorkarten | XXXVIII |
| 8.2 | RANBP3 und RANBP3L Aminosäure-Sequenz und Domänen | XLI |
| 8.3 | Novogene NGS Vorgehen | XLII |
| 8.4 | Differenziell exprimierte Gene unter Hyperosmolalität in Maus IMCDs und mpkCCDs. . | XLV |
| 8.5 | Immunfluoreszenzfärbung von NFAT5 in HEK293-T-Zellen | LXXIV |
| 8.6 | NFAT5 putative Bindesequenz | LXXIV |
| 8.7 | Differenziell exprimierte Gene in NFAT5-defizienten-IMCD-Primärzellen vs. Wildtyp-Kontrollen | LXXV |
| 8.8 | Nierenzellkarzinom - Klassifikation, Einteilung und Therapieentwicklung | LXXVII |
| 8.8.1 | Histologische Beispiele der häufigsten Nierenzellkarzinom Entitäten | LXXVII |
| 8.8.2 | Nierenzellkarzinom-Stadien Einteilung | LXXVII |
| 8.8.3 | Medikamentöse Therapie-Entwicklung beim Nierenzellkarzinom | LXXVIII |
| 8.9 | GEPIA2 Tumorentitäten | LXXIX |
| 8.10 | Expasy-Analyse | LXXX |
| 8.10.1 | NFAT5 | LXXX |
| 8.10.2 | RANBP3L | LXXX |
| 8.10.3 | SPARC | LXXX |
| 8.11 | RANBP3L-Knockout-Analysen | LXXXI |
| 8.11.1 | 1771 regulierte Gene in RANBP3L-defizienten-mpkCCD-Zellen im Vergleich zu Scr-Kontrollen | LXXXI |
| 8.11.2 | Weitere angereicherte Gensets | CXXI |
| 8.11.3 | qPCR weiterer RANBP3L-Knockout Klone | CXXII |
| 8.11.4 | Prognostische Gene des Nierenzellkarzinoms laut Protein-Atlas | CXXIII |

| | | |
|--|--|----------------|
| 8.11.5 | Mutationen im RANBP3L-Genom | CXLI |
| 8.12 | Expressionsanalysen in anderen RCC-Datensets | CXLI |
| 8.12.1 | Expression ausgewählter Gene in einem KIRC-ähnlichen Mausmodell..... | CXLI |
| 8.12.2 | RANBP3L-Expression im CDC..... | CXLII |
| 8.13 | RANBP3L überexprimierende mpkCCD-Zellen | CXLII |
| 8.14 | Immunfluoreszenzanalyse von c-JUN und Smad2 | CXLIII |
| 8.14.1 | c-JUN-Färbung..... | CXLIII |
| 8.14.2 | Phospho c-JUN-Färbung..... | CXLIV |
| 8.14.3 | SMAD2-Färbung..... | CXLV |
| 8.14.4 | Phospho SMAD2-Färbung..... | CXLVI |
| 8.15 | Analyse der Mauslinik | CXLVII |
| Eigenständigkeitserklärung..... | | CXLVIII |
| Danksagung | | LXXXIX |
| Lebenslauf..... | | XC |
| Publikationsliste | | XCI |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------------------|---|
| 300 | Kultivierung von Zellen bei 300 mosmol/kg (isoosmolar) |
| 4-OH-TM | 4-Hydroxytamoxifen |
| 600 | Kultivierung von Zellen bei 600 mosmol/kg (hyperosmolar) |
| 786-0 | Zelllinie des klarzelligen Nierenzellkarzinoms, primärer Tumor |
| ADGRA2 | <i>adhesion G protein-coupled receptor A2</i> |
| ADH | Antidiuretisches Hormon |
| AED | <i>auxiliary export domain</i> |
| AG | Arbeitsgruppe |
| ALDH2 | Aldehyd-Dehydrogenase 2 |
| AQP | Aquaporin |
| Aqp2-Cre | Cre-Rekombinase im Aqp2-Promotor |
| AR | Aldosereduktase |
| ATP6V0E2 | <i>ATPase H⁺ transporting V0 subunit e2</i> |
| AVP | Arginin-Vasopressin |
| BAP1 | <i>BRCA1 Associated Protein 1</i> |
| BGT1 | Betaine/GABA Transporter 1 |
| BMP | <i>bone morphogenic protein</i> |
| BMP-40 | <i>basement-membrane protein 40</i> |
| bp | Basenpaar |
| C1orf100 | <i>chromosome 1 open reading frame 100</i> |
| Caki 1 | Zelllinie des klarzelligen Nierenzellkarzinoms, metastatisch |
| Cas9 | <i>CRISPR associated protein 9</i> |
| CBR1 | <i>carbonyl reductase 1</i> |
| CCDC91 | <i>coiled-coil domain containing 91</i> |
| CD | <i>cluster of differentiation</i> |
| CDC | <i>Collecting duct carcinoma</i> , Nieren-Sammelrohr-Zellkarzinom |
| cDNA | <i>complementary DNA</i> , komplementäre DNA |
| c-JUN | <i>cellular JUN</i> |
| CMV | Cytomegalievirus |
| CMV-Cre | Cre-Rekombinase im CMV Enhancer Bereich |
| COL4A1 | <i>Collagen Type IV Alpha 1 Chain</i> |
| COL4A2 | <i>Collagen Type IV Alpha 2 Chain</i> |
| CP | <i>ceruloplasmin</i> |
| CRISPR | <i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i> |
| CRM1 | 1 chromosomal region maintenance |
| C_T | <i>cycle threshold</i> |
| DAPI | 4',6-Diamidin-2-Phenylindol |
| DBN1 | <i>drebrin 1</i> |

| | |
|-------------------------|---|
| DD | Dimerisierungsdomäne |
| ddH₂O | bidestilliertes Wasser |
| DEG | <i>differentially expressed genes</i> , differenziell-regulierte-Gene |
| DMEM | <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i> |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| DNA | <i>deoxyribonucleic acid</i> , Desoxyribonukleinsäure |
| dNTP | Desoxyribonukleosidtriphosphat |
| DSB | Doppelstrangbruch |
| DTT | Dithiothreitol |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| ECR | <i>evolutionarily conserved regions</i> , evolutionär konservierte Regionen |
| EDTA | Ethylendiamintetraessigsäure |
| ELF 5 | <i>E74-like factor 5</i> |
| EMT | <i>Epithelial-mesenchymale Transition</i> |
| EPO | Erythropoetin |
| ER^{T2} | <i>tamoxifen inducible estrogen receptor</i> |
| et al. | <i>et alia</i> (und andere) |
| ES | <i>enrichment score</i> |
| FACS | <i>Fluorescence-activated cell sorting</i> |
| FKS | fötales Kälberserum |
| flx | <i>floxed allele</i> |
| FPKM | <i>fragment per kilobase million</i> |
| FXYD2 | <i>FXYD domain-containing ion transport regulator 2</i> |
| FXYD4 | <i>FXYD domain-containing ion transport regulator 4</i> |
| GAPDH | <i>Glycerin-Aldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase</i> |
| GEPIA | <i>Gene expression profiling interactive analysis</i> |
| GFR | glomeruläre Filtrationsrate |
| GLIPR2 | <i>GLI pathogenesis related 2</i> |
| GSEA | <i>Gene Set Enrichment Analysis</i> , Gen-Set-Anreicherungsanalyse |
| HE-Färbung | Hämatoxylin-Eosin-Färbung |
| HEK 293T | <i>Human Embryonic Kidney-293T</i> , Zelllinie |
| HOX | <i>homeobox</i> |
| HIF | Hypoxie-induzierter Faktor |
| HR | <i>Hazard Ratio</i> |
| HSP | Hitzeschockprotein |
| IFN | Interferon |
| IGV | <i>Integrative Genomics Viewer</i> |
| IL | Interleukin |
| IMCD | <i>Inner medullary collecting duct</i> |

| | |
|------------------|--|
| InDel | Insetion/ Deletion |
| IPO | Importin |
| JNK | c-JUN-N-terminale Kinasen |
| KEGG | <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i> |
| KICH | <i>Kidney renal chromophobe carcinoma</i> , chromophobes Nierenzellkarzinom |
| KIRC | <i>Kidney renal clear cell carcinoma</i> , klarzelliges Nierenzellkarzinom |
| KIRP | <i>Kidney renal papillary cell carcinoma</i> , papilläres Nierenzellkarzinom |
| KO | <i>Knockout</i> |
| loxP | <i>locus of X-over P1</i> |
| LYPD2 | <i>LY6/PLAUR domain containing 2</i> |
| MAPK | <i>mitogen-activated protein kinase</i> |
| MCS | <i>multiple cloning site</i> |
| MDC1 | <i>Mediator of DNA damage checkpoint protein 1</i> |
| mosmol | Miliosmol |
| mosmol/kg | Osmolalität, Miliosmol pro Kilogramm |
| mpkCCD | <i>Mouse cortical collecting duct</i> , Zelllinie |
| mRNA | <i>messenger-RNA</i> |
| N1 | NFAT5-defizienter-mpkCCD-Zellklon erzeugt durch gRNA 1 |
| N3 | NFAT5-defizienter-mpkCCD-Zellklon erzeugt durch gRNA 3 |
| NCBI | <i>National Center for Biotechnology Information</i> |
| n.d. | nicht detektierbar |
| NES | <i>nuclear export signal</i> , Kernexportsignal |
| NGS | <i>Next generation sequencing</i> |
| NKCC2 | Na ⁺ -K ⁺ -2Cl ⁻ Cotransporter Typ 2 |
| NLS | <i>nuclear localization signal</i> , Kernimportsignal |
| NFκB | <i>nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells</i> |
| NFAT | <i>Nuclear factor of activated T-cells</i> |
| NRK | <i>Normal rat kidney cell line</i> , Zelllinie |
| n.s. | nicht signifikant |
| OREBP | <i>Osmotic-responsive element binding protein</i> |
| p53 | Protein 53 |
| PBRM1 | <i>Polybromo 1</i> |
| PBS | <i>Phosphate Buffered Saline</i> |
| PCA | <i>Principal component analysis</i> , Hauptkomponentenanalyse |
| PCR | <i>Polymerase chain reaction</i> |
| PHACTR2 | <i>phosphatase and actin regulator 2</i> |
| PI3 | Phosphoinositid-3 |
| PMP22 | <i>peripheral myelin protein 22</i> |
| pLP1/2 | <i>proteolipid protein 1/2</i> |

| | |
|-------------------------------|--|
| R1 | RANBP3L-defizienter-mpkCCD-Zellklon erzeugt durch gRNA 1 |
| R3 | RANBP3L-defizienter-mpkCCD-Zellklon erzeugt durch gRNA 3 |
| R1-S2 | RANBP3L und SPARC-defizienter-mpkCCD-Zellklon |
| R1-Scr | RANBP3L-defizienter-mpkCCD-Zellklon + stabil-transduziertes- <i>Scrambled</i> -Plasmid |
| RAAS | Renin-Angiotensin-Aldosteron-System |
| RAN | <i>Ras related nuclear protein</i> |
| RANBP | Ran Bindeprotein |
| RANBP3L | <i>Ran-binding protein like</i> |
| RAS | Rat Sarcoma |
| RB1 | <i>RB transcriptional corepressor 1</i> |
| RBD | <i>Ran-binding domain</i> , Ran-Bindedomäne |
| RCC | <i>Renal cell carcinoma</i> , Nierenzellkarzinom |
| RHD | <i>Rel homology domain</i> |
| RHO | <i>Ras homology gene</i> |
| RIPA | <i>Radioimmunoprecipitation assay</i> |
| RNA | <i>ribonucleic acid</i> , Ribonukleinsäure |
| RNF183 | <i>ring finger protein 183</i> |
| qPCR | <i>quantitative PCR</i> |
| RVI | regulatorischen Volumenzunahme |
| RWD | <i>Relative wound denstiy</i> |
| S 2 | Sicherheitsstufe 2 |
| SDS | <i>sodium dodecyl sulfate</i> , Natriumdodecylsulfat |
| Scr | <i>Scrambled</i> |
| Scr-Scr | doppelt transfizierter <i>Scrambled</i> mpkCCD Zellklon |
| SETD2 | <i>SET Domain Containing 2</i> |
| sgRNA | <i>single guide RNA</i> |
| SH3GL2 | <i>SH3 Domain Containing GRB2 Like 2</i> |
| SLC | <i>Solute carrier</i> |
| SMAD | <i>Mothers against decapentaplegic homolog</i> |
| SMIT | <i>Sodium-myo-inositol co-transporter</i> |
| SPARC | <i>Secreted Protein Acidic And Cysteine Rich</i> |
| TAD | <i>transactivation domain</i> |
| TAUT | Taurine Transporter |
| TCGA | <i>The Cancer Genome Atlas</i> |
| TGF-β | <i>Transforming growth factor beta</i> |
| TIDE | <i>Tracking of Indels by Decomposition</i> |
| TKI | Tyrosinkinase-Inhibitoren |
| TonE | <i>Tonicity-responsive enhancer</i> |
| TonEBP | <i>Tonicity-responsive enhancer binding protein</i> |

| | |
|----------------|--|
| TOPO | Topoisomerase |
| TRAF1 | <i>TNF receptor associated factor 1</i> |
| UALCAN | <i>The University of Alabama at Birmingham Cancer data analysis Portal</i> |
| Ube-Cre | <i>Ubiquitin expressed Cre-recombinase</i> |
| UNC5B | <i>unc-5 netrin receptor B</i> |
| UT-A | <i>Urea transporter A</i> |
| UTR | untranslatierte Region |
| UV | Ultraviolet |
| VEGF | <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> |
| VHL | Von Hippel Lindau |
| VSVG | <i>vesicular stomatitis virus G glycoprotein</i> |
| WT | Widltyp |
| X-GAL | 5-Brom-4-chlor-3-indoxyl- β -D-galactopyranosid |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1: Schematische Darstellung der Nierenanatomie..... | 2 |
| Abbildung 2: Schematische Darstellung der wichtigsten Transportsysteme im proximalen Tubulus. | 4 |
| Abbildung 3: Schematische Darstellung der wichtigen Prozesse zur passiven Wasserresorption und Konzentrierung des Urins..... | 7 |
| Abbildung 4: Schematische Darstellung der Domänenstruktur von NFAT1-5 und NF- κ B/Rel..... | 11 |
| Abbildung 5: Detaillierte Domänenstruktur von NFAT5. | 11 |
| Abbildung 6: Postulierter Mechanismus der CRM1-abhängigen-Proteintranslokation mittels Ran und RANBP3. | 14 |
| Abbildung 7: Schematische mRNA-Expressionsverteilung von <i>RANBP3</i> und <i>RANBP3L</i> | 15 |
| Abbildung 8: Schematische Darstellung der Einteilung des Nierenzellkarzinoms in die Stadien I-IV und die jeweilige Überlebenswahrscheinlichkeit. | 16 |
| Abbildung 9: Expressionsprofil der top 25 herunterregulierten Gene im klarzelligen Nierenzellkarzinom. | 18 |
| Abbildung 10: Expression von <i>RANBP3L</i> im Nierenzellkarzinom sowie dessen prognostische Relevanz. | 19 |
| Abbildung 11: Beispiel einer Signalintensitätsanalyse mittels <i>Zen Blue</i> | 41 |
| Abbildung 12: Beispielmessung der Lamellipodienfläche der Zellen. | 41 |
| Abbildung 13: Beispiel einer Mischkultursequenz. | 47 |
| Abbildung 14: Verdünnungsreihe zur Zellvereinzlung..... | 47 |
| Abbildung 15: Schematische Darstellung der Sequenzanalyse durch das TIDE <i>webtool</i> | 48 |
| Abbildung 16: Schematische Darstellung der Klonierung von <i>Ranbp3l</i> -Promotorfragmenten in den PGL3 Vektor. | 54 |
| Abbildung 17: Schematische Darstellung der Klonierung des proteinkodierenden Bereichs von <i>Ranbp3l</i> in den V180 Vektor. | 56 |
| Abbildung 18: Volcano-Plot von Maus-IMCD-Zellen. | 61 |
| Abbildung 19: FPKM-Werte aller identifizierten Transkripte der RANBP-Familie..... | 62 |
| Abbildung 20: Signifikant-regulierte-Gene in mpkCCD und murinen IMCD-Zellen unter Hyperosmolalität. | 63 |
| Abbildung 21: Immunfluoreszenzanalyse von NFAT5 in murinen IMCD und mpkCCD-Zellen... | 65 |
| Abbildung 22: Genomische Struktur des murinen NFAT5 nach gRNA Transduktion | 67 |
| Abbildung 23: TIDE-Analyse der NFAT5-defizienten-mpkCCD-Zellen. | 68 |
| Abbildung 24: Schematische Darstellung der trunkierten NFAT5 Einzelklone N1 und N3 im Vergleich zum WT-NFAT5-Protein. | 70 |
| Abbildung 25: Nachweis der Defizienz von NFAT5 in N1 und N3 mittels Western Blot. | 70 |

| | |
|--|----|
| Abbildung 26: NFAT5-Immunfluoreszenzaufnahmen von Scr- und NFAT5-defizienten-Zellen... | 71 |
| Abbildung 27: qPCR von Scr und NFAT5-defizienten-Zellen..... | 72 |
| Abbildung 28: Etablierung eines konditionellen NFAT5- <i>Knockout</i> -Systems in primärkultivierten Maus-Nierenzellen. | 73 |
| Abbildung 29: NFAT5-Immunfluoreszenzaufnahmen primärer IMCD-Zellen mit und ohne 4-OH-TM Behandlung. | 74 |
| Abbildung 30: qPCR Analyse der <i>Nfat5</i> -Expression in NFAT5-defizienten-Zellen sowie den Kontrollgruppen. | 75 |
| Abbildung 31: NGS-Analyse von primären IMCD-Zellen mit und ohne 4-OH-TM Behandlung. . | 76 |
| Abbildung 32: Analyse von NFAT5-Bindestellen im <i>Ranbp3l</i> -Promotor über diverse Spezies. | 77 |
| Abbildung 33: Promotoraktivität von mutierten <i>Ranbp3l</i> -Promotorfragmenten in HEK-293T-Zellen. | 79 |
| Abbildung 34: Genomische Struktur von murinem <i>Ranbp3l</i> nach gRNA-Transduktion. | 80 |
| Abbildung 35: TIDE-Analyse der RANBP3L-defizienten-mpkCCD-Zellen. | 81 |
| Abbildung 36: Schematische Darstellung der trunkierten RANBP3L Varianten. | 82 |
| Abbildung 37: Morphologische Analyse von Scr-, R1- und R3-mpkCCD-Zellen. | 83 |
| Abbildung 38: Untersuchung der Migrationsgeschwindigkeit von Scr-, R1- und R3-mpkCCD-Zellen..... | 84 |
| Abbildung 39: Proliferationsanalysen von Scr-, R1- und R3-mpkCCD-Zellen..... | 85 |
| Abbildung 40: Analyse der Fähigkeit zur Koloniebildung in Scr, R1 und R3 mpkCCD-Zellen..... | 86 |
| Abbildung 41: Signifikant-deregulierte-Gene zwischen RANBP3L-defizienten-Zellen und Scr-Zellen bei 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg. | 87 |
| Abbildung 42: Bioinformatische Gruppierung und Analysen von angereichten Gensets nach Verlust von RANBP3L. | 89 |
| Abbildung 43: Hauptkomponentenanalyse (PCA) der top 30 hoch- und herunterregulierten Gene nach RANBP3L-Verlust. | 90 |
| Abbildung 44: Expression prognostischer Gene des RANBP3L-regulierten-Gensets. | 91 |
| Abbildung 45: Expression des prognostischen Gensets in den TCGA-RCC-Kohorten. | 93 |
| Abbildung 46: Expression von <i>Sparc</i> , <i>Col4a1</i> und <i>Col4a2</i> im Nierenzellkarzinom 94 | 94 |
| Abbildung 47: Pearson-Korrelation der <i>RANBP3</i> -Expression mit <i>SPARC</i> und <i>COL4A1/2</i> in RCC und dem Subtypen KIRC. | 95 |
| Abbildung 48: Etablierung eines SPARC und RANBP3L-Doppel- <i>Knockout</i> -Einzelklons..... | 97 |
| Abbildung 49: Schematische Darstellung der trunkierten SPARC Proteinvariante in R1-S2-Zellen im Vergleich zum WT-SPARC Protein. | 98 |
| Abbildung 50: qPCR Analyse für <i>Col4a1</i> und <i>Col4a2</i> in Scr-Scr, R1-Scr und R1-S2-mpkCCD-Zellen..... | 99 |

| | |
|--|---------|
| Abbildung 51: Färbung des Zytoskeletts mittels Phalloidin. | 100 |
| Abbildung 52: Migrationsverhalten von Scr-Scr-, R1-Scr- und R1-S2-mpkCCD-Zellen. | 101 |
| Abbildung 53: Koloniebildung von Scr-Scr, R1-Scr und R1-S2-mpkCCD-Zellen. | 102 |
| Abbildung 54: Box-Plot für <i>TGFBI</i> -Expression im Nierenzellkarzinom..... | 103 |
| Abbildung 55: Effekt von TGF- β 1 auf den Phänotyp von unterschiedlichen mpkCCD-Zellen. ... | 104 |
| Abbildung 56: Verlust des osmotischen Gradienten bei der Urinbildung in <i>Vhl</i> $^{\Delta/\Delta}$ Mäusen. | 110 |
| Abbildung 57: Schematische Darstellung der möglichen Funktion von RANBP3L. | 118 |
| Abbildung 58: Immunfluoreszenzaufnahmen von HEK-293T-Zellen unter 300 und 450 mosmol/kg für NFAT5..... | LXXIV |
| Abbildung 59: Putative Bindesequenz von NFAT5 laut JASPAR | LXXIV |
| Abbildung 60: Pathohistologie des Nierenzellkarzinoms. | LXXVII |
| Abbildung 61: Medikamentöse Therapie-Entwicklung beim Nierenzellkarzinom..... | LXXVIII |
| Abbildung 62: qPCR Analyse weiterer RANBP3L-KO-Klone für ausgewählte Zielgene. | CXXII |
| Abbildung 63: Regulation prognostische Gene im Nierenzellkarzinom nach RANBP3L-Defizienz. | CXXIII |
| Abbildung 64: Mutationsprofil von <i>RANBP3L</i> im RCC..... | CXLI |
| Abbildung 65: Expression von <i>Ranbp3l</i> , <i>Sparc</i> , <i>Col4a1</i> und <i>Col4a2</i> in WT und <i>Vhl</i> $^{\Delta/\Delta}$ <i>Trp53</i> $^{\Delta/\Delta}$ <i>Rb1</i> $^{\Delta/\Delta}$ Mäusen (VpR)..... | CXLI |
| Abbildung 66: Expression von <i>RANBP3L</i> in zwei unabhängigen CDC-Datensätzen. | CXLII |
| Abbildung 67: Überepression von RANBP3L in mpkCCD-Zellen. | CXLII |
| Abbildung 68: Immunfluoreszenzanalyse von c-JUN in Scr- und R1-mpkCCD-Zellen..... | CXLIII |
| Abbildung 69: Immunfluoreszenzanalyse von phosphoryliertem c-JUN in Scr- und R1-mpkCCD-Zellen..... | CXLIV |
| Abbildung 70: Immunfluoreszenzanalyse von SMAD2 in Scr- und R1-mpkCCD-Zellen..... | CXLV |
| Abbildung 71: Immunfluoreszenzanalyse von phosphoryliertem SMAD2 in Scr- und R1-mpkCCD-Zellen..... | CXLVI |
| Abbildung 72: Möglicher Analyse-Screen der RANBP3L-defizienten-Maus in der <i>German Mouse Clinic</i> | CXLVII |

Tabellenverzeichnis

| | |
|---|-------|
| Tabelle 1: Reaktionsansatz des standardisierten PCR-Protokolls zur Amplifizierung spezifischer DNA-Fragmente..... | 35 |
| Tabelle 2: Programm des standardisierten PCR-Protokolls zur Amplifizierung spezifischer DNA-Fragmente..... | 35 |
| Tabelle 3: Reaktionsansatz der cDNA-Synthese aus 1µg RNA..... | 36 |
| Tabelle 4: Reaktionsansatz der qPCR pro <i>well</i> mit SYBR® Select Master Mix für CFX..... | 37 |
| Tabelle 5: Programm für die qPCR mit SYBR® Select Master Mix für CFX | 37 |
| Tabelle 6: BsmBI-Verdau des lentiviralen Vektors lentiCRISPRv2 | 43 |
| Tabelle 7: Beispiel für die Oligonukleotid-Generierung aus der Zielsequenz..... | 44 |
| Tabelle 8: Reaktionsansatz für die Oligonukleotid-Zusammenlagerung | 44 |
| Tabelle 9: Programm der Oligonukleotid-Zusammenlagerung..... | 44 |
| Tabelle 10: Ansatz für die Ligationsreaktion von verdautem lentiCRISPRv2 und einem Oligonukleotid-Paar..... | 45 |
| Tabelle 11: Ansatz für die Transfektion von HEK-293T Zellen einer 100 mm Schale..... | 45 |
| Tabelle 12: Ansatz für die Zwischenklonierung in den TOPO-TA-Vektor | 49 |
| Tabelle 13: Ansatz für den Restriktionsverdau | 53 |
| Tabelle 14: Ansatz für die Ligationsreaktion..... | 53 |
| Tabelle 15: Mutierte NFAT5 Bindesequenzen im <i>Ranbp3l</i> -Promotor | 55 |
| Tabelle 16: Reaktionsansatz für die Transfektion mittels TurboFect pro <i>well</i> | 57 |
| Tabelle 17: Verwendete gRNAs gegen den murinen <i>Nfat5</i> -Lokus..... | 66 |
| Tabelle 18: Zusammenfassung der Sequenzanalyse der TOPO-TA-Klone..... | 69 |
| Tabelle 19: Verwendete gRNAs für den murinen <i>Ranbp3l</i> -Lokus..... | 80 |
| Tabelle 20: Zusammenfassung der Sequenzanalyse aller R1 und R3-TOPO-TA-Klone. | 82 |
| Tabelle 21: Funktion aller 17 im RCC prognostischen Gene laut Proteinatlas..... | 92 |
| Tabelle 22: mittlere FPKM-Werte der Gene <i>Sparc</i> , <i>Col4a1</i> und <i>Col4a2</i> in Scr- und R1-Zellen ... | 93 |
| Tabelle 23: Verwendete gRNAs für den murinen <i>Sparc</i> -Lokus | 96 |
| Tabelle 24: Zusammenfassung der Sequenzanalyse aller R1-S2-TOPO-TA-Klone..... | 98 |
| Tabelle 25: Log ₂ fold changes signifikant differenziell exprimierte Gene unter Hyperosmolalität in Maus IMCD Zellen | XLV |
| Tabelle 26: Log ₂ fold changes signifikant differenziell exprimierte Gene unter Hyperosmolalität in mpkCCD Zellen | L |
| Tabelle 27: Log ₂ fold changes gemeinsamer differenziell exprimierte Gene unter Hyperosmolalität in Maus IMCDs und mpkCCD..... | LXVII |
| Tabelle 28: Log ₂ fold change von differentiell exprimierten, hyperosmolalitäts-regulierten-Genen in NFAT5 defizienten-IMCD-Primärzellen unter 600 mosmol/kg im Vergleich zur Kontrolle... | LXXXV |

| | |
|---|--------|
| Tabelle 29: Einteilung der Stadien des Nierenzellkarzinoms | LXXVII |
| Tabelle 30: Auflistung aller in GEPIA2 enthaltenen Tumorentitäten mit den jeweiligen Abkürzungen | LXXIX |
| Tabelle 31: Log ₂ fold change von 1771 differentiell-regulierten-Genen in RANBP3L-defizienten- Zellen unter 300 und 600 mosmol/kg | LXXXI |
| Tabelle 32: Top 20 angereicherte Gensets aus der Klasse <i>Hallmarks</i> | CXXI |
| Tabelle 33: Top 20 angereicherte Gensets aus der Klasse <i>Reactome</i> | CXXI |
| Tabelle 34: Liste aller prognostisch unvorteilhaften und vorteilhaften Gene im Nierenzellkarzinom aus dem Humanen Protein Atlas | CXXIII |

1 Einleitung

1.1 Die Niere

Die Nieren übernehmen im Körper vielfältige Aufgaben. Dazu zählen unter anderem die Wasser- und Elektrolythomöostase sowie die Elimination harnpflichtiger Stoffwechselendprodukte [1]. Bei einer Durchblutung von knapp 1700 l Blut am Tag werden etwa 120 ml Blutplasma pro Minute filtriert und somit von Stoffwechselabfällen gereinigt, welche zusammen mit dem gebildeten Urin (1-2 l am Tag) ausgeschieden werden [1, 2]. Zu den über die Nieren eliminierten Stoffen zählen unter anderem Medikamente beziehungsweise ihre Metabolite und harnpflichtige Substanzen wie Harnstoff, Harnsäure und Kreatinin [3, 4]. Bei akuter oder chronischer Niereninsuffizienz können diese Substanzen akkumulieren und durch ihre toxischen Effekte verschiedene Organsysteme affektieren [1, 5].

Weitere Aufgaben der Nieren umfassen die Regulation des Säure-Base-Gleichgewichts, wobei der Blut-pH-Wert im Wesentlichen über die renale Rückresorption von Bikarbonat reguliert wird [1, 6], sowie die Bildung einer Reihe lebensnotwendiger Hormone [1]. Durch die nierenspezifische Synthese des Hormons Erythropoetin (EPO) wird die Produktion von Erythrozyten stimuliert [7]. Über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) regulieren die Nieren den systemischen Blutdruck zum Erhalt der renalen Perfusion [8] um folglich eine konstante glomeruläre Filtrationsrate (GFR) zu gewährleisten. Vitamin D3 wird durch die Nieren in die biologisch aktive Form Calcitriol (1 α ,25-Dihydroxycholecalciferol) umgewandelt, wodurch die intestinale Calcium- und Phosphataufnahme erhöht sowie die renale Ausscheidung dieser vermindert und somit die Mineralisierung der Knochen unterstützt wird [9].

1.1.1 Lage und Aufbau

Die Nieren sind paarig, retroperitoneal beiderseits der Wirbelsäule angelegte Organe [10] (Abbildung 1A). Beide Nieren sind zunächst von einer dünnen Bindegewebskapsel, der *Capsula fibrosa*, umhüllt und in einem Fettgewebekörper eingebettet [1]. Zusammen mit der Nebenniere werden sie wiederum von einem Faszien-Sack, der *Fascia renalis* (Gerotafaszie), eingefasst [10]. Der mediale Rand der Niere bildet eine Einziehung, den sogenannten Nierenhilus, an welchem sich die Blutgefäße verzweigen und der Harnleiter (*Ureter*) entspringt [10]. Das Nierenparenchym, unterteilt sich von außen nach innen in die

Nierenrinde (Cortex) und das Nierenmark (Medulla) [1] (Abbildung 1B). In der Medulla liegen die Nierenpyramiden, welche mit ihrer Spitze, der Papille, zum Hilus gerichtet sind. Sie besitzen viele kleine Öffnungen, über welche der Harn aus den Sammelrohren in die Nierenkelche austritt. Die Kelche bilden das Nierenbecken (*Pelvis renalis*), welches in den Harnleiter übergeht. Die Harnleiter beider Nieren münden in die Harnblase, in der der Urin gesammelt und über die Harnröhre (Urethra) ausgeschieden wird [1].

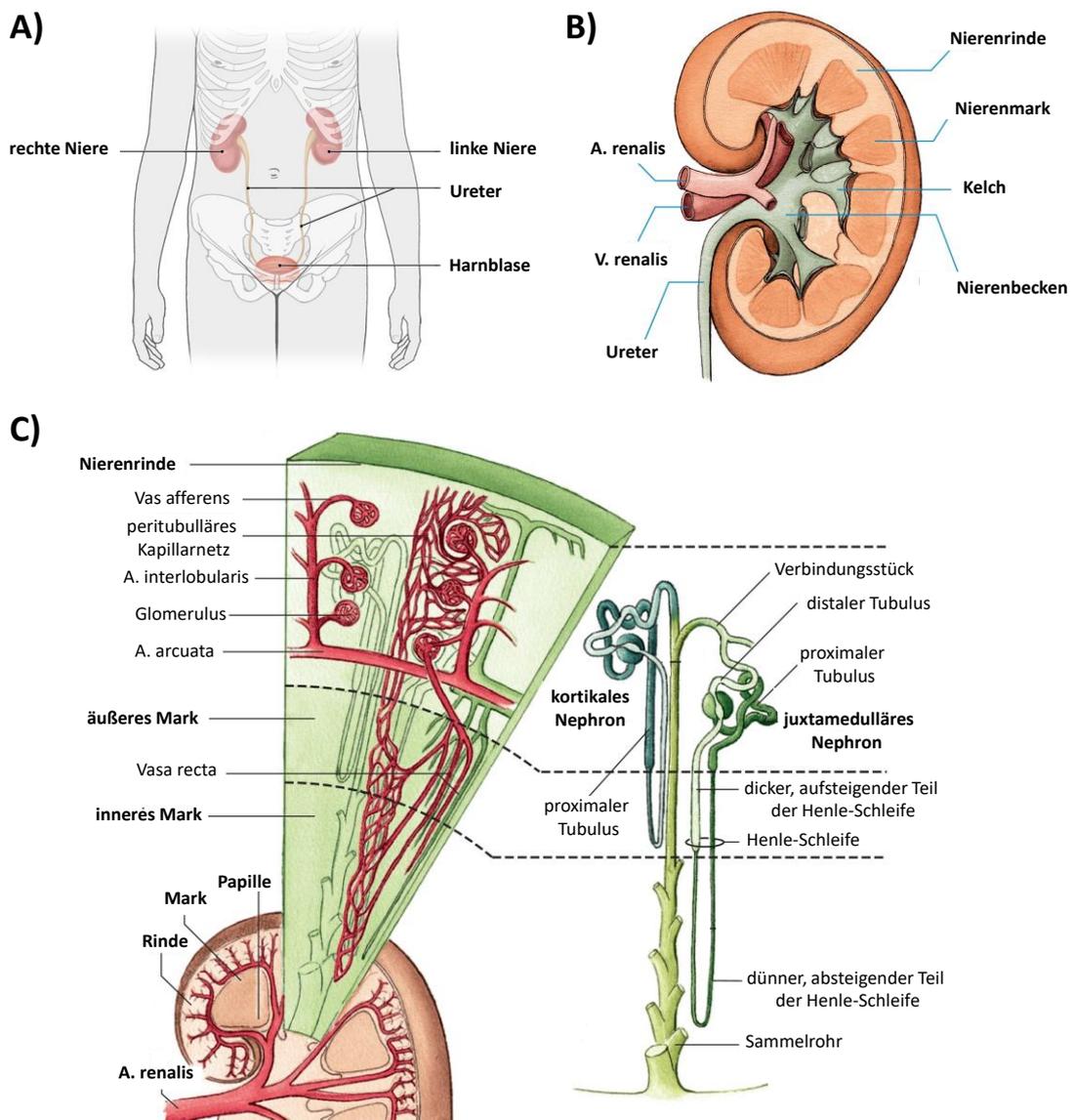


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Nierenanatomie.

A) Darstellung der Lage der Nieren im menschlichen Körper inklusive Harnleiter und Harnblase. **B)** Aufbau der Niere. Die Nieren besitzen eine komplexe innere Struktur, welche in Nierenparenchym (Nierenrinde und Nierenmark) und Nierenbeckenkelchsystem (Nierenkelch und Nierenbecken) unterteilt wird. **C)** Feinstruktur der Niere und schematischer Aufbau der Blutversorgung. Die Nieren werden über die Nierenarterien mit Blut versorgt, welche sich mehrfach verzweigen und in Richtung Cortex führen, wo sie sich schließlich zu den afferenten Arteriolen verzweigen, aus welchen die Glomeruli hervorgehen. Ausgehend von den juxtamedullären Glomeruli verzweigen sich die Blutgefäße in die *Vasa recta* und versorgen so das Nierenmark (verändert nach [11, 12]).

Die Nieren werden über die Nierenarterien (*Arteriae renales*), welche paarig aus der abdominellen Aorta entspringen, mit Blut versorgt [1]. Die Blutgefäße verzweigen sich innerhalb der Nieren mehrfach (*Arteriae interlobares*, *Arteriae arcuatae* und *Arteriae interlobulares*) und führen entlang der Nierenpyramiden in Richtung Cortex, wo sie sich schließlich zur den afferenten Arteriolen (*Vasa afferentia*) verzweigen, aus welchen Gefäßknäuel, Glomeruli genannt, hervorgehen [1] (Abbildung 1C). Die Glomeruli stellen die primären Filtrationseinheiten der Nieren dar, welche größtenteils kortikal, aber auch marknah (juxtamedullär) lokalisiert sind [13]. Hier wird das arterielle Blut über die glomeruläre Basalmembran filtriert und das Ultrafiltrat (Primärharn) in die angrenzende Bowman-Kapsel abgegeben [1, 13]. Das filtrierte Blut fließt anschließend arteriell weiter über die *Vasa efferentia*, welche sich erneut in ein peritubuläres Kapillarsystem verzweigen, das vor allem die Tubuli des Cortex mit Blut versorgt. Ausgehend von den juxtamedullären Glomeruli verzweigen sich die *Vasa efferentia* in die *Vasa recta* und versorgen so das Nierenmark [1, 13] (Abbildung 1C). Das venöse Blut von den peritubulären Kapillaren des Cortex sowie von den *Vasa recta* des Nierenmarks gelangt nacheinander in die *Venae arcuatae*, die *Venae interlobares* und die *Venae renales*, von wo es dann in die *Vena cava inferior* fließt.

1.1.2 Das Nephron

Der in den Glomeruli erzeugte Primärharn wird über das Tubulussystem abtransportiert und durch diverse Resorptions- und Sekretionsprozesse konzentriert. Glomeruli und Tubuli werden zusammen als Nephron bezeichnet und bilden so die eigentlichen funktionellen Einheiten der Nieren [1, 13]. Insgesamt befinden sich in einer menschlichen Niere etwa 1,2 Millionen Nephronen [1]. Ausgehend vom Glomerulus und der Bowman-Kapsel erstreckt sich der proximale Tubulus über den absteigenden Ast der Henle-Schleife bis in die Medulla [1, 13]. Über die Henle-Schleife ist der proximale Tubulus mit dem distalen Tubulus verbunden, der parallel dazu wieder in den Cortex zurückführt. Von dort aus fließt der Harn in das Sammelrohr, welches schließlich in das Nierenbecken mündet [1, 13] (Abbildung 1C). Entlang des Nephrons werden 99 % des glomerulär filtrierten Primärharns durch Epithelzellen rückresorbiert [14].

Im Glomerulus beginnt die Urinproduktion mit der Ultrafiltration des Blutes. Der Glomerulus ist ein Knäuel aus parallel verlaufenden Kapillaren der afferenten Arteriolen, welches nur für niedermolekulare Substanzen (bis ca. 15 kDa) durchlässig ist [15].

Blutzellen und höhermolekulare Substanzen wie das Plasmaalbumin können unter physiologischen Umständen die Kapillarwand nicht passieren und gelangen damit nicht in den gebildeten Primärharn. Kleinere Teilchen, wie Wasser, Elektrolyte, Aminosäuren, Bicarbonat, Glucose, Harnstoff und Kreatinin können währenddessen ungehindert die Filter passieren und liegen so im Primärharn in nahezu identischer Konzentration wie im Blutplasma vor [15]. Der überwiegende Teil der im Primärharn enthaltenen Moleküle inklusive zwei Drittel des filtrierte Wassers werden bereits im proximalen Tubulus rückresorbiert [16]. Bei gesunder Nierenfunktion werden somit am Tag ca. 180 l Primärharn produziert [1].

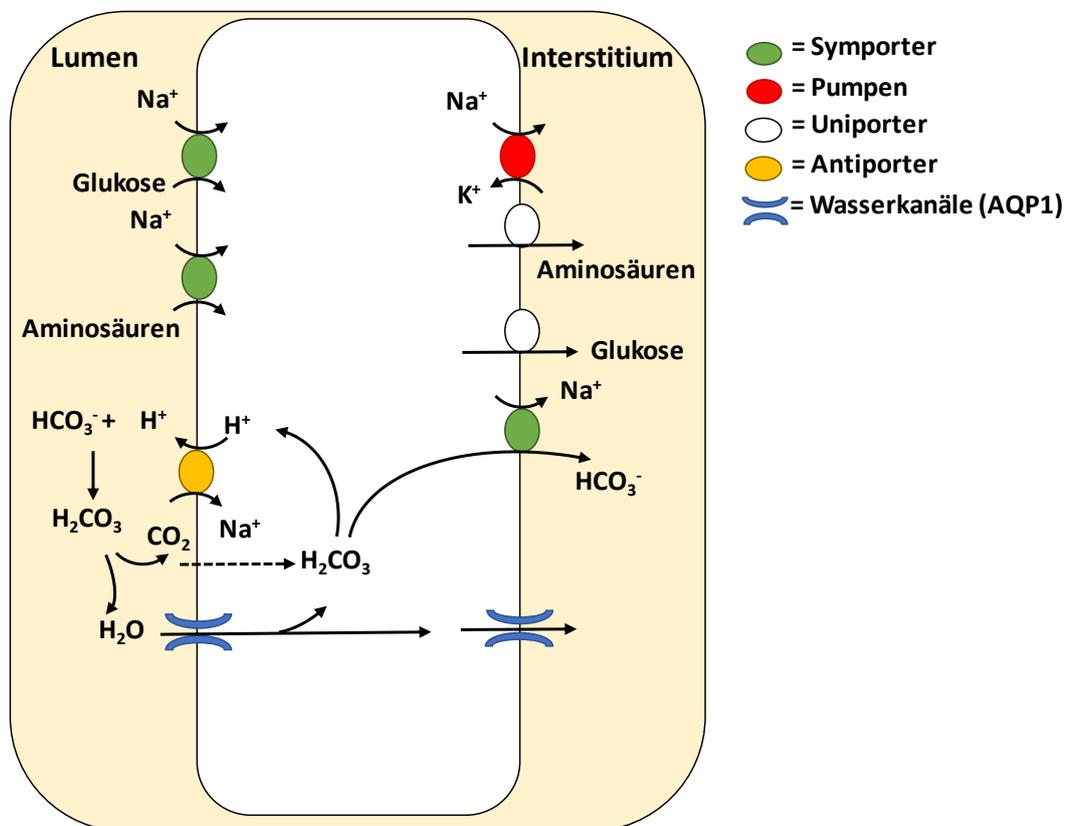


Abbildung 2: Schematische Darstellung der wichtigsten Transportsysteme im proximalen Tubulus.

Die Na^+/K^+ -ATPase (rot) an der basolateralen Membran transportiert Na^+ unter ATP-Verbrauch im Austausch gegen K^+ aus der Zelle in das Interstitium. Dieser Gradient ist die Triebkraft für sekundäre, Na^+ -abhängige Transportsysteme. Unter anderem wird über Na^+/H^+ -Antiporter (gelb) Na^+ im Austausch gegen Protonen über die apikale Membran in die Zelle transportiert, was direkt an die Rückgewinnung von Bicarbonat gekoppelt ist. Weiterhin werden über diverse Na^+ -Symport-Carrierer (grün, weiß) L-Aminosäuren, Glukose, Phosphat, Sulfat, Galactose, Vitamin C, Lactat, Acetat, Citrat, Acetoacetat, Succinat und andere Stoffe sekundär aktiv aus dem Primärharn in die Zelle aufgenommen. Durch die Resorption der im Filtrat enthaltenen gelösten Stoffe wird entlang eines osmotischen Gradienten ebenfalls Wasser rückresorbiert. Erleichtert wird dieser Wassertransport durch die Expression von Aquaporinen in der luminalen und basolateralen Membran. Dabei ist Aquaporin-1 (AQP1) vorwiegend im proximalen Tubulus exprimiert und hauptverantwortlich für den dort stattfindenden Wassertransport (blauer Kanal) (verändert nach [17]).

Die Resorption fast aller Stoffe ist direkt an Na^+ -Ionen gekoppelt. Die Na^+/K^+ -ATPase an der basolateralen Membran von proximalen Tubuluszellen transportiert Na^+ unter hohem ATP-Verbrauch im Austausch gegen K^+ aus der Zelle in das Interstitium, wodurch die intrazelluläre Na^+ -Konzentration geringer als die extrazelluläre Konzentration ist [16] (Abbildung 2, rot). Dieser Gradient ist die Triebkraft für sekundär aktive, Na^+ -abhängige Transportsysteme. Unter anderem wird Na^+ dabei über Na^+/H^+ -Antiporter im Austausch gegen Protonen über die apikale Membran in die Zelle transportiert, was direkt an die Rückgewinnung von Bicarbonat gekoppelt ist und damit wichtigen Beitrag zur Regulation des Säure-Base-Haushaltes leistet [6] (Abbildung 2, gelb). Weiterhin werden über diverse Na^+ -Symport-Carrier L-Aminosäuren, Phosphat, Sulfat, Galactose, Vitamin C, Lactat, Acetat, Citrat, Acetoacetat, Succinat und andere Stoffe sekundär aktiv aus dem Primärharn in die Zelle aufgenommen [1] (Abbildung 2, grün). Durch die Resorption der im Filtrat enthaltenen gelösten Stoffe wird entlang eines osmotischen Gradienten ebenfalls Wasser rückresorbiert [16]. Erleichtert wird der Wassertransport durch die Expression von Wasserkanälen, den Aquaporinen in der luminalen und basolateralen Epithelmembran. Dabei ist Aquaporin-1 (AQP1) vorwiegend im proximalen Tubulus und dem absteigenden Ast der Henle-Schleife exprimiert und hauptverantwortlich für den dort stattfindenden Wassertransport [18] (Abbildung 2, blauer Kanal). Durch den gekoppelten Ionen- und Wassertransport besitzt der Harn im proximalen Tubulus dieselbe Osmolalität wie das angrenzende Blutplasma von ~ 290 mosmol/kg, weshalb man hier auch von isoosmotischer Rückresorption spricht. Der erzeugte Endharn hingegen kann beim Menschen Osmolalitäten von bis zu 1200 mosmol/kg erreichen [19]. Grundlage hierfür ist die Generierung eines hypertonen Interstitiums durch das Gegenstromprinzip. Darunter versteht man eine parallele Anordnung von Tubuli und Gefäßen mit verschiedener Flussrichtung und unterschiedlichen Permeabilitätseigenschaften [13] (Abbildung 3).

Zusammen mit Na^+/K^+ -ATPasen erfolgt im dicken aufsteigenden Teil der Schleife eine aktive Resorption von NaCl durch $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ -Symporter (NKCC2). Dieser Teil des Nephrons ist gleichzeitig impermeabel für Wasser, sodass hier ein hypotoner Harn gebildet wird [13]. Der absteigende Ast der Henle-Schleife ist, im Gegensatz zum dicken, aufsteigenden Ast, durch das Vorhandensein von AQP1 wasserdurchlässig [18]. Wasser diffundiert in das höher osmolare Interstitium, wo es größtenteils von den *Vasa recta* abtransportiert wird, sodass der vorher isoosmotische Harn hyperten wird [13]. Am dünnen,

absteigenden Ast findet abgesehen von der Wasserrückresorption wenig Ionenaustausch statt, da hier Transporterproteine fehlen.

Gleichzeitig findet in den unteren Hauptzellen des Sammelrohres über spezifische Harnstofftransporter eine Rückresorption von Harnstoff statt, welcher neben NaCl mit einem Anteil von fast 50 % zum Aufbau des hypertonen Interstitiums in der Medulla beiträgt [20]. Der dünne, aufsteigende Ast der Henle-Schleife ist durchlässig für Harnstoff, wodurch er wieder in das Tubulussystem zurück gelangt und dem Kreislauf wieder zur Verfügung steht. Von hier aus gelangt der hypotone Urin in den distalen Tubulus. Die Hauptaufgabe des distalen Tubulus und des Sammelrohres besteht darin, den Harn final aufzukonzentrieren und dabei seine Zusammensetzung feinabzustimmen [13]. Hier wird die Rückresorption von Wasser hormonell reguliert [21]. Durch spezifische Rezeptoren im Hypothalamus des Gehirns werden Osmolalitätsunterschiede im Blut registriert. Bei ansteigender Blutosmolalität kommt es zur Ausschüttung des Hormons Arginin-Vasopressin (AVP), auch anti-diuretisches Hormon (ADH) genannt. AVP bindet nach dem Erreichen der Nieren an den basolateralen Vasopressin-V2-Rezeptor (V2R) in der Membran der Sammelrohr-Epithelzellen. Dadurch wird eine Signalkaskade ausgelöst, die letztendlich dazu führt, dass AQP2 in die luminale Epithelmembran der Sammelrohrzellen eingebaut wird [21]. Der Einbau von AQP2 ermöglicht die Rückresorption von Wasser aus dem Lumen des Sammelrohrs in die Epithelzellen. Der Transport von den Epithelzellen in das Blutsystem erfolgt nun wiederum über die Aquaporine 3 und 4 (AQP3, AQP4) [18]. Der Endharn kann somit dem hyperosmolaren Interstitium entsprechend bis zu Osmolalitäten von 1200 mosmol/kg konzentriert werden [19].

Dieser komplexe Prozess der Urinproduktion, bei dem die Rückgewinnung von Elektrolyten und Wasser passiv an die Natriumrückresorption gekoppelt ist, beginnend bei den Glomeruli über den proximalen Tubulus und der Henle-Schleife bis zum Sammelrohr ist noch einmal zusammenfassend und auf das wichtigste begrenzt in Abbildung 3 dargestellt.

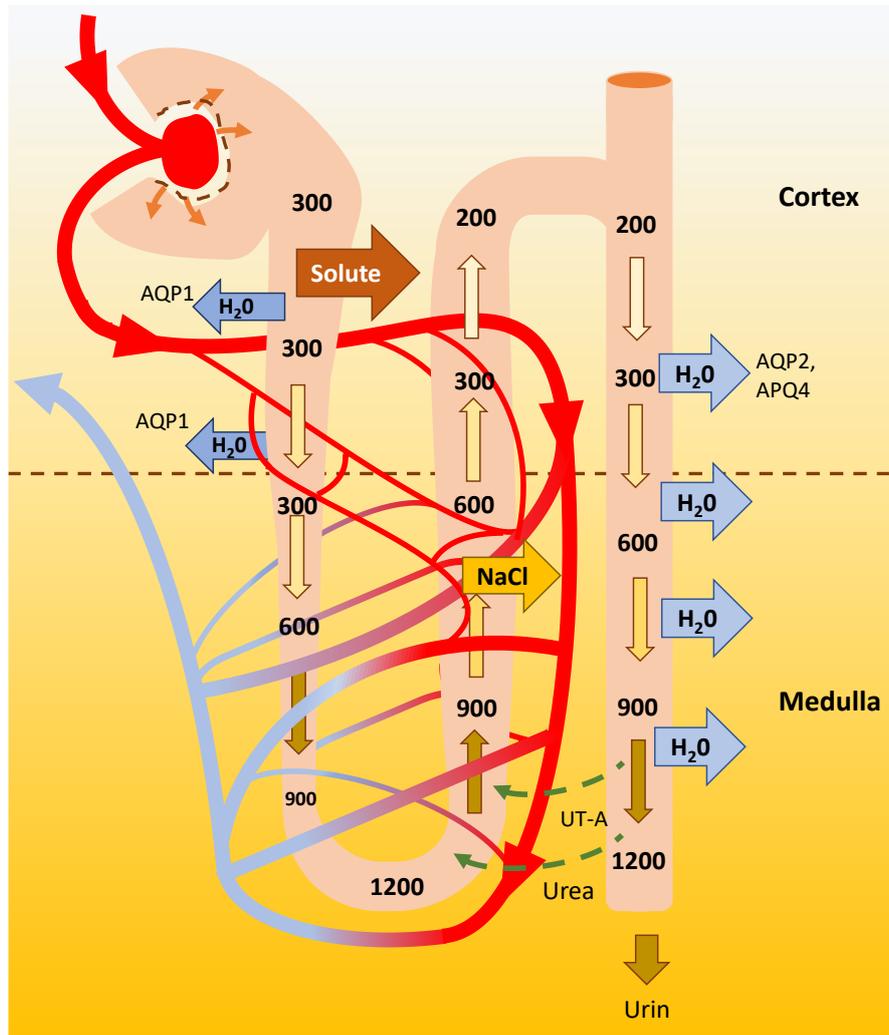


Abbildung 3: Schematische Darstellung der wichtigen Prozesse zur passiven Wasserresorption und Konzentrierung des Urins.

Im Glomerulus beginnt die Urinproduktion mit der Filtration Blutes (Bildung des Primärharns, 180 l am Tag). Höhermolekulare Substanzen können die Kapillarwand (gestrichelte Linie) nicht passieren. Kleinere Teilchen wie Wasser und Elektrolyte können gleichermaßen aus dem Primärharn rückresorbiert (brauner Solute Pfeil) werden, weswegen die Osmolarität bei etwa 300 mosmol/kg bleibt. Aus dem proximalen Tubulus gelangt das Filtrat in die Henle-Schleife. Diese ist hauptverantwortlich für den Aufbau eines osmotischen Gradienten. Dieser wird erreicht über das Gegenstromprinzip zwischen Henle-Schleife und *Vasa recta*. Die *Vasa recta* besitzt einen vom Glomerulus ausgehenden, ins Mark absteigenden Ast (rot markiert) und einen aufsteigenden Ast (blau markiert), die parallel zueinander verlaufen. Henle-Schleife und *Vasa recta* sind dabei so angeordnet, dass nicht nur eine gegenläufige Fließrichtung zwischen den jeweiligen auf- und absteigenden Ästen ermöglicht wird, sondern zudem auch zwischen Henle-Schleife und *Vasa recta*. Im dicken aufsteigenden Teil der Henle-Schleife erfolgt eine aktive Resorption von NaCl (oranger Pfeil). Dieser Teil des Nephrons ist impermeabel für Wasser, sodass hier ein hypotoner Harn gebildet wird. Der absteigende Ast der Henle-Schleife ist, im Gegensatz zum dicken, aufsteigenden Ast, durch das Vorhandensein von AQP1 wasserdurchlässig. Wasser diffundiert in das höher osmolare Interstitium (blauer Pfeil), sodass der vorher isoosmotische Harn hypertonen wird. Gleichzeitig findet in den unteren Hauptzellen des Sammelrohres eine Rückresorption von Harnstoff statt (grüner Pfeil), welches neben NaCl zum Aufbau des hypertonen Interstitiums in der Medulla beiträgt. Der dünne, aufsteigende Ast der Henle-Schleife ist durchlässig für Harnstoff, wodurch er wieder in das Tubulussystem zurück gelangt und dem Kreislauf wieder zur Verfügung steht. Von hier aus gelangt der hypotone Urin in den distalen Tubulus und von dort ins Sammelrohr. Die Hauptaufgabe des Sammelrohres besteht in der Aufkonzentrierung des Harns. Durch AQP2 an der Epithelmembran kommt es zur Rückresorption von Wasser aus dem Lumen. Der Transport von den Epithelzellen in das Blutsystem erfolgt nun über die Aquaporine 3 und 4 (AQP3, AQP4). Der Endharn (1-2 l am Tag) kann somit bis zu Osmolaritäten von 1200 mosmol/kg aufkonzentriert werden (verändert nach [22, 23]).

1.2 Einfluss von Hyperosmolalität auf zelluläre Prozesse

1.2.1 Begriffsklärung

Die Osmolalität einer Flüssigkeit definiert sich durch die Anzahl der in ihr gelösten Teilchen, wodurch kolligativen Eigenschaften wie Gefrierpunkt, Siedepunkt oder Dampfdruck einer Flüssigkeit verändert werden. Dementsprechend ist die Osmolalität die Summe der osmotischen Konzentrationen aller dissoziierten Teilchen in einer Lösung und wird in mosmol/kg angegeben [24].

Dagegen abzugrenzen ist die Tonizität. Sie bezieht sich immer auf den Effekt von unterschiedlichen Osmolalitäten zwischen zwei Lösungen, die durch eine semipermeable Membran voneinander getrennt sind, wie beispielweise das intrazelluläre und extrazelluläre Milieu [25]. Die Folge dieses Effektes ist immer ein osmotisch getriebener Wassertransfer zwischen zwei Kompartimenten, welcher eine Volumenänderung der Zelle mit sich bringt. Dabei unterscheidet man drei Zustände: Zellen, die einer extrazellulären Hypertonizität ausgesetzt sind, also deren extrazelluläre Lösung mehr gelöste Teilchen beinhaltet als innerhalb der Zelle, verlieren an Wasser und dementsprechend auch an Zellvolumen. Das Gegenteil ist der Fall, wenn die Lösung hypoton ist. Ist eine Lösung jedoch isoton, ändert sich das Volumen aufgrund identischer Konzentrationen gelöster Teilchen in- und außerhalb der Zellen nicht [24].

1.2.2 Folgen von hyperosmotischem Stress

In der inneren Medulla der Nieren ist die Osmolalität des Interstitiums mit etwa 1200 mosmol/kg viermal so hoch wie die des Cortex oder die des Blutplasmas mit 300 mosmol/kg [19]. Bedingt durch diesen Effekt sind Zellen aus der inneren Medulla der Nieren hohem osmotischen Stress ausgesetzt, welcher zu Änderungen in der Zellgröße und des Zytoskeletts sowie zu einem Zellzyklus-Arrest führt [26, 27]. Sind die negativen Auswirkungen für die Zelle nicht mehr tolerierbar, kann Hyperosmolalität auch die Apoptose induzieren [27]. Studien zeigen dabei, dass kultivierte Zellen bereits bei wesentlich geringeren Osmolalitäten absterben als *in-vivo* [28, 29]. Um große zelluläre Schäden zu verhindern und physiologische Funktionen zu erfüllen, ist es den Zellen über Adaptionprozesse jedoch möglich eine derart hohe Osmolalität zu tolerieren [30].

1.2.3 Adaptionsmechanismen

Anpassungsmechanismen der Zelle auf extrazelluläre Hyperosmolalität können zeitlich in Stadien eingeordnet werden. Eine der ersten Anpassungen besteht in der regulatorischen Volumenzunahme (RVI) der Zelle [26]. Damit verbunden ist die schnelle Aktivierung von membrangebundenen Ionentransportern und eine Anreicherung der anorganischen Ionen Na^+ , K^+ und Cl^- um die zytoplasmatische Osmolalität zu erhöhen [26]. Der damit einhergehende osmotisch getriebene Wassereinstrom stellt das Zellvolumen wieder her. Dies führt jedoch in zu hohen Konzentrationen zu nachteiligen Auswirkungen auf die Zellphysiologie. Dazu zählen eine veränderte Enzymaktivität, verminderte DNA-Replikation, verminderte Proteinsynthese und im Extremfall DNA-Doppelstrangbrüche mit konsekutiver Apoptoseinduktion [30-32], weshalb parallel sowie nachfolgend dazu weitere Anpassungsmechanismen erfolgen müssen.

Um die Homöostase der anorganischen Ionenkonzentration wiederherzustellen, werden verzögert (Stunden bis Tage nach Exposition) nicht toxische, metabolisch neutrale organische Osmolyte in der Zelle akkumuliert [30]. Sie können aus verschiedenen chemischen Klassen stammen, einschließlich Aminosäuren, Methylaminen und Polyolen [33]. Zu den organischen Osmolyten zählen unter anderem Betain, Glycerophosphorylcholin (GPC), Myo-Inositol, Taurin und Sorbitol [26, 30]. Die Akkumulation dieser Stoffe in der Zelle geschieht entweder durch Aufnahme der Osmolyte aus dem extrazellulären Raum oder durch intrazelluläre Produktion [30]. So sind Betain/GABA-Transporter (BGT1, Slc6a12), Na^+ -Myo-Inositol-Transporter (SMIT, Slc5a3) oder Taurin-Transporter (TAUT, Slc6a6) für den Import von Betain, Myo-Inositol und Taurin verantwortlich während Aldosereduktase (AR) die Synthese von Sorbitol aus Glukose katalysiert [34-37].

Neben der Akkumulation von organischen Osmolyte werden bei extrazellulärer Hyperosmolalität molekulare Chaperone und Hitzeschockproteine aktiviert, die der Destabilisierung und Fehlfaltung von zellulären Proteinen entgegenwirken. Das Hitzeschockprotein HSP70 bindet reversibel an hydrophobe Seitenketten von ungefalteten oder teilweise entfalteten Proteinen und führt zur Wiederherstellung der korrekten Konformation, wodurch fehlerhafte intramolekulare Wechselwirkungen oder Aggregationen verhindert werden [26, 30]. Weiterhin wird, um Schäden an der DNA zu beseitigen, die durch hyperosmotischen Stress entstanden sind, die Expression des Tumorsuppressorgens p53 induziert [26]. Als Transkriptionsfaktor reguliert p53 die

Expression von Genen, die an der Kontrolle des Zellzyklus, der Reparatur der DNA oder der Induktion der Apoptose beteiligt sind [38].

Eine Vielzahl an Studien legt nahe, dass hyperosmotischer Stress nicht nur in renalen Zellen von Relevanz ist, sondern dass viele Mechanismen und Signalwege zur Anpassung an hyperosmotischem Stress in unterschiedlichen Zelltypen analog ablaufen. Beispielsweise konnten die aufgeführten Anpassungsmechanismen bereits in T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, Neuronen, Myoblasten, Fibroblasten, glatten Gefäßmuskelzellen und Epithelzellen nachgewiesen werden [39]. In vielen Prozessen zur Anpassung an hyperosmolare Bedingungen ist der Transkriptionsfaktor *Nuclear factor of activated T-cells* (NFAT5) beteiligt und stellt somit einen bedeutenden Regulator für die Anpassung an osmotischem Stress dar [39].

1.3 Nuclear factor of activated T-cells 5 (NFAT5)

1.3.1 Die Proteinfamilie der Rel-Proteine

NFAT5, auch bekannt als TonEBP (*Tonicity-responsive enhancer binding protein*) oder OREBP (*Osmotic-responsive element binding protein*), gilt als der bedeutendste Transkriptionsfaktor von hyperosmotischer Stressvermittlung [39, 40]. Es konnte gezeigt werden, dass NFAT5 in einer Reihe verschiedener Gewebetypen, wie Niere, Gehirn, Herz, Thymus, Lunge und Skelettmuskulatur exprimiert wird [41, 42].

Erstmals wurde NFAT5 1999 als TonEBP in medullären Zellen der Nieren identifiziert [42]. MIYAKAWA et al. zeigten, dass NFAT5 bei der Antwort auf osmotischen Stress mit Hilfe einer Rel-homologen DNA-Bindedomäne (RHD) an *Tonicity-responsive enhancer* (TonE)-Elemente osmoprotektiver-Gene bindet und so die Expression dieser Gene reguliert [42]. Aufgrund struktureller Ähnlichkeiten durch die RHD zählt NFAT5 mit den Calcineurin-abhängigen NFAT 1-4 Proteinen sowie der NF- κ B-Gruppe (*Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells*) zur Rel-Familie [43, 44] (Abbildung 4).

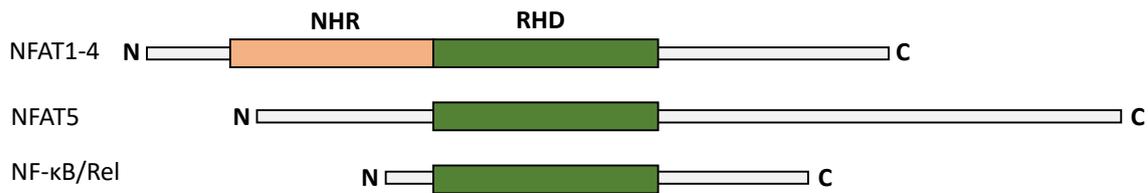


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Domänenstruktur von NFAT1-5 und NF-κB/Rel.

Alle Proteine weisen eine konservierte RHD Domäne (grün) auf. Die N- und C-terminalen Domänen sind nicht über die Gruppen hinaus konserviert (grau). Allein die NFAT1-4 weisen eine Calcium abhängige NHR Domäne (orange) auf (RHD = Rel Homologie Domäne, NHR = NFAT-homologe Region, verändert nach [45]).

Allerdings besitzen, abgesehen von der konservierten RHD die Vertreter der Rel-Familie nur geringe strukturelle Ähnlichkeiten [43]. So fehlt NFAT5 die N-terminale regulatorische NFAT-homologe Domäne (NHR), welche in NFAT 1-4 Proteinen zu finden ist [41, 46]. Sie weisen eine sehr hohe Variabilität in ihrer DNA-Bindung auf, wodurch eine Vielzahl unterschiedlicher Transkripte, wie beispielsweise Signalproteine, Cytokine und Zelloberflächenproteine, reguliert werden können [47]. Weiterhin werden sie in einer Vielzahl von Geweben exprimiert, wie neuralem Gewebe, Endothelzellen, Skelett- und Herzmuskeln, Chondrozyten, Keratinozyten, Adipozyten und in den meisten Immunzellen [47]. Auch die fünf Mitglieder der NF-κB-Gruppe (Rel A, Rel B, c-Rel, p50 und p52) sind untereinander sehr unterschiedlich und weisen sehr heterogene DNA-Bindemotive auf [48]. In Abbildung 5 ist die Domänen-Organisation des NFAT5-Proteins schematisch dargestellt [45].

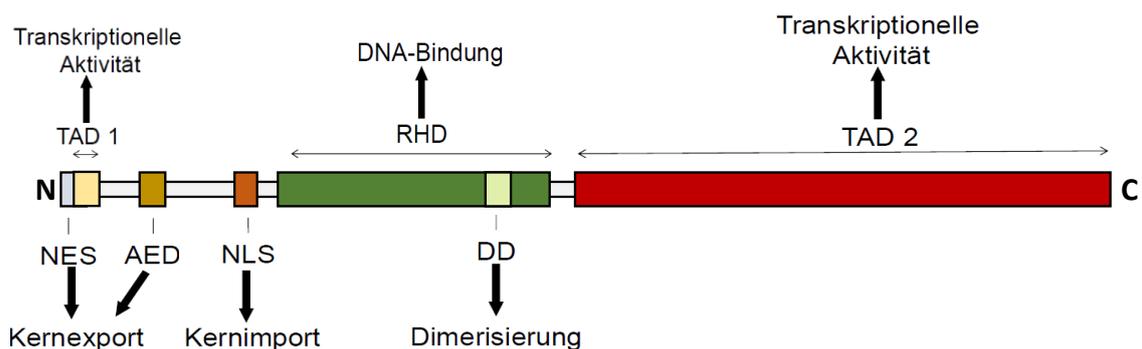


Abbildung 5: Detaillierte Domänenstruktur von NFAT5.

NFAT5 enthält eine Vielzahl an funktionellen Domänen. Darunter eine NES, AED und NLS Domäne für die Translokation in und aus dem Zellkern, eine TAD1 und TAD2 Domäne zur transkriptionellen Aktivierung sowie eine RHD Domäne zur DNA-Bindung (NES = nuclear export signal, AED = auxiliary export domain, NLS = nuclear import signal, TAD1/2 = Transaktivierungsdomäne1/2, RHD = Rel Homologie Domäne, DD = Dimerisierungsdomäne, verändert nach [45]).

Die Kernimport- und -exportsignale NLS, NES und AED vermitteln den Transport von NFAT5 zwischen Zellplasma und Zellkern. Unter isoosmolaren Bedingungen befindet sich NFAT5 nicht in einem statischen Zustand, sondern liegt sowohl im Zytoplasma als auch im Zellkern in einem aktiven Gleichgewichtszustand vor [42]. Verändert sich die extrazelluläre Osmolalität des Milieus verändert sich die Menge und das Verhältnis von NFAT5 zwischen Kern und Cytosol, wobei hyperosmolarer Stress den nukleären Import und die Akkumulation des Transkriptionsfaktors erhöht, während Hypoosmolalität zu seinem nukleären Export führt [49]. NFAT5 liegt in der Zelle als Homodimer vor und bindet über die Rel Homologie Domäne (RHD) an DNA-Elementen mit einer TGGAAANN (N, beliebiges Nukleotid, siehe Anhang Abbildung 59) Sequenz [45].

1.3.2 Funktion von NFAT5 in der Nierenphysiologie

Die Konzentrierung des Harns und die damit verbundene Aufrechterhaltung des Wasser- und Elektrolythaushaltes zählt zu den Hauptfunktionen der Nieren [1]. Dies hat eine hohe interstitielle Osmolalität von bis zu 1200 mosmol/kg insbesondere in marknahen Bereichen in den Nieren zur Folge [19]. Durch seine Funktion als Schlüsseltranskriptionsfaktor reguliert NFAT5 eine Vielzahl von Genen, die für die Adaption der Zellen an eine höhere Osmolalität wichtig sind. So konnte gezeigt werden, dass NFAT5 die Aktivierung von Wasserkanälen, wie Aquapoin-1 (*Aqp1*, proximalen Tubulus und absteigenden Ast der Henle-Schleife) [50] oder von Aquapoin-2 (*Aqp2*, Sammelrohr) [51] steuert, was zur Regulierung der Wasserpermeabilität des Nephrons beiträgt. Zusätzlich reguliert NFAT5 die Expression der Urea transporter a (*Uta1*, *Uta3* und *Uta4*), welche bedeutsam für die Erhöhung der interstitiellen Osmolalität und der Ausscheidung von Harnstoff sind [52]. Ebenfalls steuert NFAT5 unter Hyperosmolalität die Aktivierung der Gene *SMIT*, *BGT1*, *AR* oder *TAUT*, die eine Akkumulation oder Synthese von Osmolyten in der Zelle zur Folge haben [40]. Weitere Daten beschreiben eine NFAT5-vermittelte-Expression von Hitzeschockproteinen (*HSP70*), wodurch fehlerhafte Proteinfaltungen verhindert werden [53].

Neben diesen klassischen hyperosmolalitäts-induzierten-Genen zeigen Studien die Regulation hunderter weiterer Gene über die extrazelluläre Osmolalitätserhöhung [54, 55]. Jedoch sind die meisten der identifizierten Gene, die ebenfalls über die Osmolalität sehr stark in ihrer Expression reguliert werden, in Bezug auf eine NFAT5-abhängige-Expression oder

die physiologische Rolle in den Nieren kaum charakterisiert. Dazu zählt ebenfalls das, aus letzterer Studie am stärksten regulierte-Gen, *ran-binding protein 3-like (Ranbp3l)* [55].

1.4 ***Ran-binding protein 3-like* - bisherige Forschung**

SCHULZE BLASUM et al. konnten insgesamt über 8700 osmolalitätsregulierte-Gene in primär-kultivierten-intermedullären-Sammelrohrzellen (IMCD, *inner medulla collectingduct*) von Ratten identifizieren [55]. Zu den am stärksten hochregulierten Genen unter Hyperosmolalität und zugleich kaum charakterisierte zählte das *Ranbp3l*, welches für diese Arbeit von besonderem Interesse war [55-57].

RANBP3L zeigt unter seiner Familie die größte Ähnlichkeit zu RANBP3 (siehe Aminosäuresequenz im Anhang unter 8.2), welches schon in diversen Studien als Kern-Transport-Protein beschrieben werden konnte [58-60]. Deshalb wird von einer ähnlichen Funktion von RANBP3L ausgegangen. Die einzige Arbeit außerhalb unseres Labors hat eine Funktion von RANBP3L bei der Regulation von Signalwegen des knochenmorphogenetischen Proteins (*bone morphogenic protein*, BMP) gezeigt, indem es die Smad-Proteine, in diesem Fall Smad1, 5 und 8, aus dem Kern transportiert [61, 62]. Die Funktion als Kernexport-Protein ist zurückzuführen auf die in RANBP3L-Sequenz konservierte Ran-Bindedomäne (RBD) von etwa 120 Aminosäuren [63, 64]. Das *Ras related nuclear protein* (Ran) ist ein kleines monomeres G-Protein, welches eine entscheidende Rolle im nukleo-zytoplasmatischen-Transport spielt. Der nukleotidgebundene-Zustand von Ran wird durch das *Ran GTPase-activating protein* (RanGAP) und durch den Guaninnukleotid-Austauschfaktor RCC1 reguliert [65, 66]. Da RCC1 im Zellkern vorliegt und RanGAP auf das Zytoplasma beschränkt ist, ist Ran im Zellkern primär an GTP und im Cytosol an GDP gebunden, was die treibende Kraft des nukleo-zytoplasmatischen-Transports darstellt. Im Zellkern lagert sich CRM1, auch Exportin1 genannt, mit Ran-GTP und dem NES-tragenden Cargo-Protein zu einem ternären CRM1/Ran/Cargo-Komplex zusammen, der durch den Kernporenkomplex (NPC) ins Zytoplasma transloziert [63] (Abbildung 6).

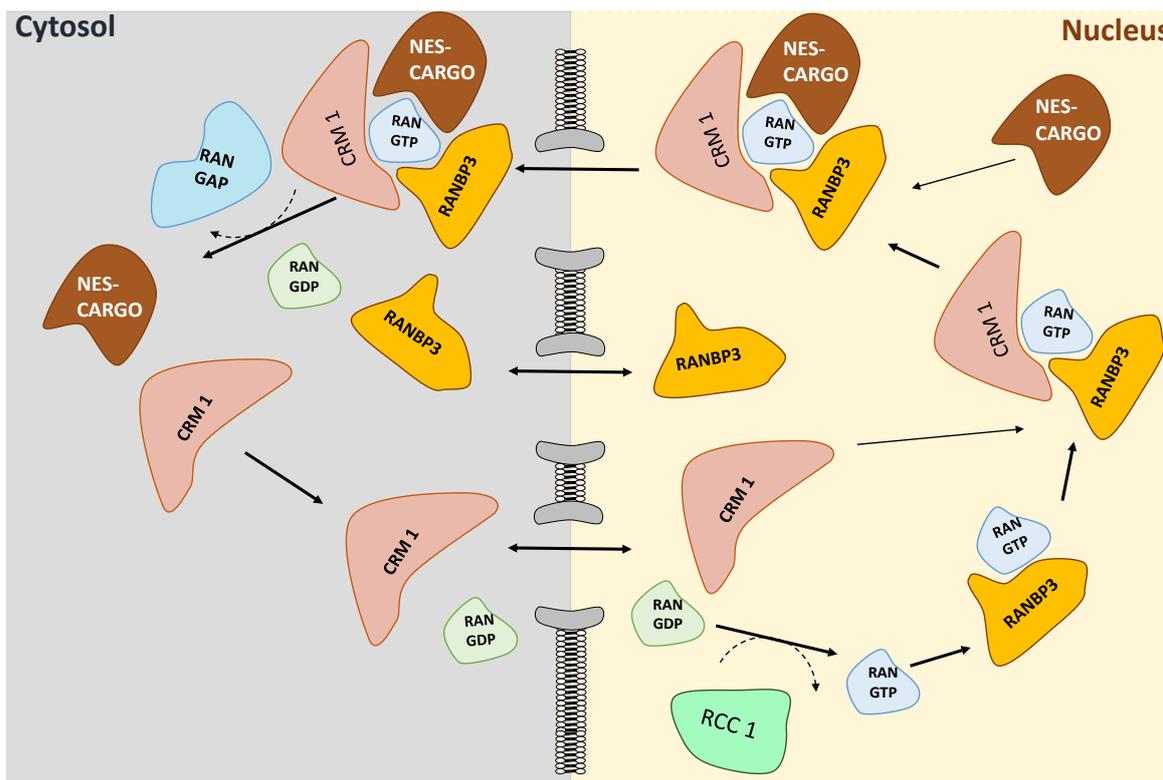


Abbildung 6: Postulierter Mechanismus der CRM1-abhängigen-Proteintranslokation mittels Ran und RANBP3.

Im Nucleus wird Ran-GDP durch RCC1 zum Ran-GTP umgewandelt. Um Cargo-Proteine (markiert durch ein NES Signal, blau) aus dem Nucleus in das Cytosol zu transportieren formt sich ein ternärer Komplex aus CRM1/Ran-GTP/Cargo-Komplex, welcher durch RANBP3 begünstigt wird. Der Komplex passiert die Kernmembran und zerfällt im Cytosol. Ran-GTP wird im Cytosol zu Ran-GDP durch die RanGAP umgewandelt. RANBP3 und CRM1 können nun erneut die Kernmembran passieren und stehen für einen neuen Zyklus bereit (CRM1 = Chromosomal Maintenance 1/ Exportin 1, GDP = Guanosindiphosphat, GTP = Guanosintriphosphat NES = nuclear export signal, Ran = Ras-related nuclear protein, RanGAP = Ran GTPase-activating protein 1, RANBP3 = Ran-binding protein 3, RCC1 = Regulator der Chromosomenkondensation 1, auch bekannt als Ran-Guanin-Nucleotid-Austauschfaktor, verändert nach [67]).

Andere RBD-haltige Proteine sind beispielsweise das kleine RANBP1 [68] oder RANBP2, auch Nup358 genannt. Letzteres ist ein Riesennukleoporin, welches an der cytosolischen Seite des NPC lokalisiert ist und vier RBDs enthält [69].

SCHULZE BLASUM et al. konnten bereits zeigen, dass *Ranbp3l*-mRNA in der Ratte spezifisch in den Nieren und dort vor allem in den tief gelegenen innermedullären Bereichen und der Papille exprimiert wird [55]. Diese Ergebnisse decken sich mit dem humanen Expressionsmuster von *RANBP3L* laut der Datenbank GEPIA2 (Abbildung 7). Während RANBP3 eine ubiquitäre Expression aufweist, zeigt RANBP3L eine spezifische Expression in den Nieren und dem Gehirn. Diese Befunde wurden auch durch Immunfluoreszenzaufnahmen der Ratten-Nierenrinde und inneren Medulla validiert [55]. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass durch Kultivierung von primären Ratten-IMCD-

Zellen in Medium mit 600 mosmol/kg eine verstärkte RANBP3L-Proteinsynthese im Zellkern zu beobachten ist. Zusätzlich konnte dieser Effekt in Zellen des proximalen Tubulus von Ratten, den NRK-Zellen, bestätigt werden. Somit ist durch extrazelluläre Hyperosmolalität eine Methode vorhanden, die die physiologischen Bedingungen der Nieren *in-vitro* nachahmt und auf deren Grundlage die Rolle von RANBP3L untersucht werden kann [55].

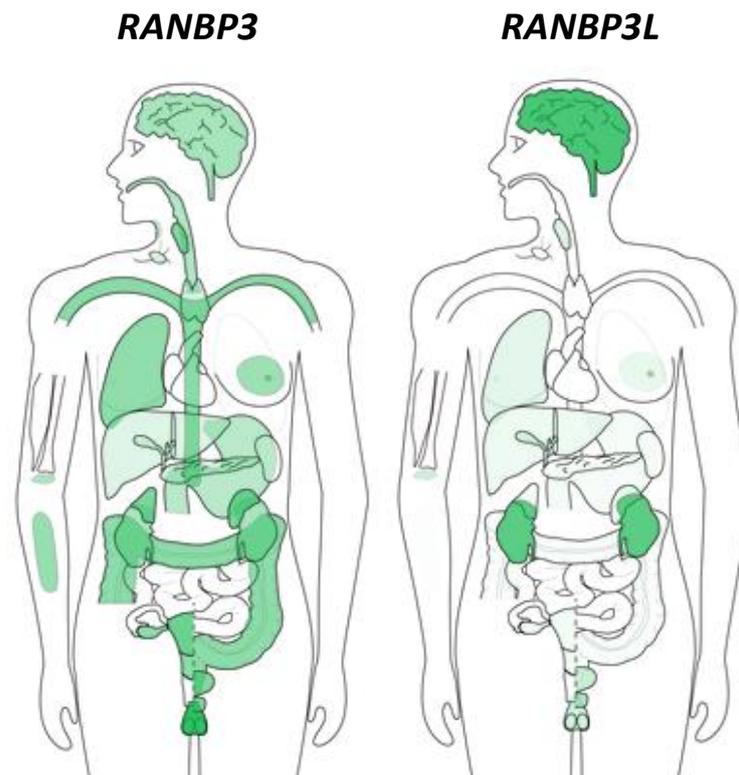


Abbildung 7: Schematische mRNA-Expressionsverteilung von RANBP3 und RANBP3L.

Während *RANBP3* eine ubiquitäre mRNA-Verteilung aufzeigt, ist die Expression von *RANBP3L* begrenzt auf die Nieren und das Gehirn. Daten bezogen von GEPIA2 [70] (Datenstand: 14.07.2022).

RANBP3L sowie eine Vielzahl weiterer osmolalitätsregulierter-Gene, die von SCHULZE BLASUM et al. [55] gefunden wurden, konnten in der Studie von KANDABARAU et al. ebenfalls identifiziert werden [56]. Zusätzlich wurde hier gezeigt, dass diese Gene im Nierenzellkarzinom invers reguliert sind und die Expression von 111 Genen davon, sowie auch *RANBP3L*, mit dem Überleben von Nierenzellkarzinom-Patienten korreliert. Ob oder wie die Gene bei der Entstehung oder Progression des Nierenzellkarzinoms eine Rolle spielen ist bislang kaum untersucht.

1.5 Das Nierenzellkarzinom

1.5.1 Klassifikation

Das Nierenzellkarzinom (*renal cell carcinoma*, RCC) ist eine sehr heterogene Tumorentität, die am häufigsten den Epithelzellen des Nephrons entspringt und sich durch verschiedene Subtypen auszeichnet [71]. Die häufigsten Formen bilden das klarzellige-Nierenzellkarzinom (KIRC), mit ca. 70-80 % aller RCC-Fälle [71, 72], das papilläre Karzinom (KIRP) mit etwa 10-15 % [72] sowie das chromophobe Karzinom (KICH, ca. 3-5 %) [72]. Nach der Diagnose kann das Nierenzellkarzinom in 4 Stadien unterteilt werden (Abbildung 8A, siehe Anhang 8.1) [73] wobei mit steigendem Stadium sich die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten enorm verringert [73, 74] (Abbildung 8B).

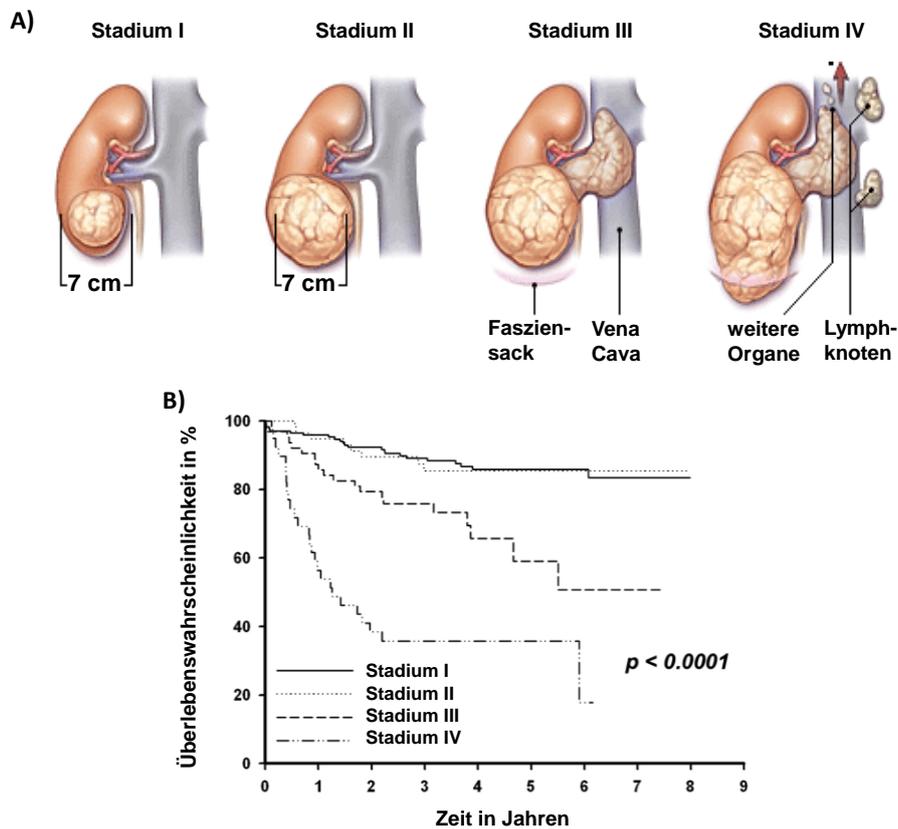


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Einteilung des Nierenzellkarzinoms in die Stadien I-IV und die jeweilige Überlebenswahrscheinlichkeit.

A) Einteilung der Stadien des Nierenzellkarzinoms. Bei Stadium 1-2 ist der Tumor lokal auf die Niere begrenzt und wird anhand seiner Größe (Stadium 1 < 7 cm > Stadium 2) kategorisiert. Stadium 3 ist dadurch gekennzeichnet, dass der Tumor beginnt das umliegende Fettgewebe oder benachbarte Blutgefäße zu infiltrieren. Patienten im Stadium 4 besitzen entweder Fernmetastasen oder ein lokal fortgeschrittenes Tumorstadium mit Infiltration über die Grenzen der Gerotafaszie hinaus beziehungsweise Befall mehrerer regionaler Lymphknoten [73] (verändert nach [75]). **B)** Kaplan-Meier-Plot aus der Studie von CHANG et al. [74] zeigt Verringerung der Überlebenswahrscheinlichkeit mit steigendem Tumorstadium. Hierfür wurden 328 Patienten analysiert. Im Stadium I lag die Überlebensrate bei 85,8 %, im Stadium II bei 85,5 %, im Stadium III bei 59,1 % und im Stadium IV bei 35,7 %.

Frühzeitig entdeckt (Stadium I – Stadium II) ist das Nierenzellkarzinom zwar heilbar, in fortgeschrittenen (ab Stadium III) beziehungsweise metastasierten Stadien jedoch meist nur in palliativer Intension behandelbar [71, 72].

1.5.2 Pathogenese

Zu den Hauptrisikofaktoren für eine Entstehung von RCC zählen arterielle Hypertonie, Nikotinkonsum, geringe physische Aktivität und Übergewicht [71]. Aber auch hereditäre Nierenzellkarzinome sind in der Literatur beschrieben [71]. So gilt der Verlust oder die Inaktivierung des von Hippel-Lindau-Tumorsuppressorgens (*VHL*) als ein Hauptrisikofaktor für die Entwicklung von RCC [76]. Allerdings zeigten Studien, dass eine Mutation von *VHL* allein nicht ausreicht, um die Entstehung eines Nierenzellkarzinoms zu induzieren [77]. In dem Maus-Modell von HARLANDER et al. waren zusätzlich Mutationen der Gene *Trp53* und *Rb1* notwendig [77]. Ebenso sind innerhalb eines Nierenzellkarzinoms auch häufig neben *VHL*, Deletionen in den Tumorsuppressorgenen *PBRM1*, *SETD2* und *BAP1* zu finden [78]. Mittels der *Next Generation Sequencing* (NGS)-Analyse von Tumorzellen konnten in den letzten Jahren immer mehr solcher Daten bei sinkenden Kosten erfasst werden [79]. So konnten also neben der sehr früh entdeckten *VHL*-Mutation viele weitere Nierenzellkarzinom-assoziierte-Gene identifiziert werden [80]. Die Mutations- bzw. Expressions-Heterogenität, die sich in Nierenkarzinomzellen beobachten lässt, wirkt sich wiederum auf die unterschiedliche Prognose betroffener Patienten sowie deren Behandlungsmöglichkeiten aus [71]. Zukünftige Herausforderungen liegen also in der Interpretation und Analyse identifizierter Expressionsprofile mit dem Ziel die Ursachen der Erkrankung besser zu verstehen und letztendlich dadurch neue Therapiekonzepte entwickeln zu können [81].

1.6 Osmolalitätsregulierte-Gene im RCC

Wie in Absatz 1.2.3 erwähnt, konnte in Ratten-IMCD-Zellen mittels Sequenzier- und *in-silico*-Analysen gezeigt werden, dass Hyperosmolalität verantwortlich für die Expression und Repression hunderter charakteristischer Gene ist [55]. Viele davon zeigen eine inverse Regulation im Nierenzellkarzinom sowie eine signifikante Korrelation mit der Überlebensrate von KIRC-Patienten [56]. Das Expressionsprofil der top 25 herunterregulierten-Gene in der KIRC-Kohorte aus der TCGA (*The Cancer Genome Atlas*)

Datenbank [82] zeigt zudem bekannte osmolalitätsregulierte-Gene (rot markiert) [56] sowie auch *RANBP3L* auf (Abbildung 9).

Top 25 herunterregulierte Gene in KIRC

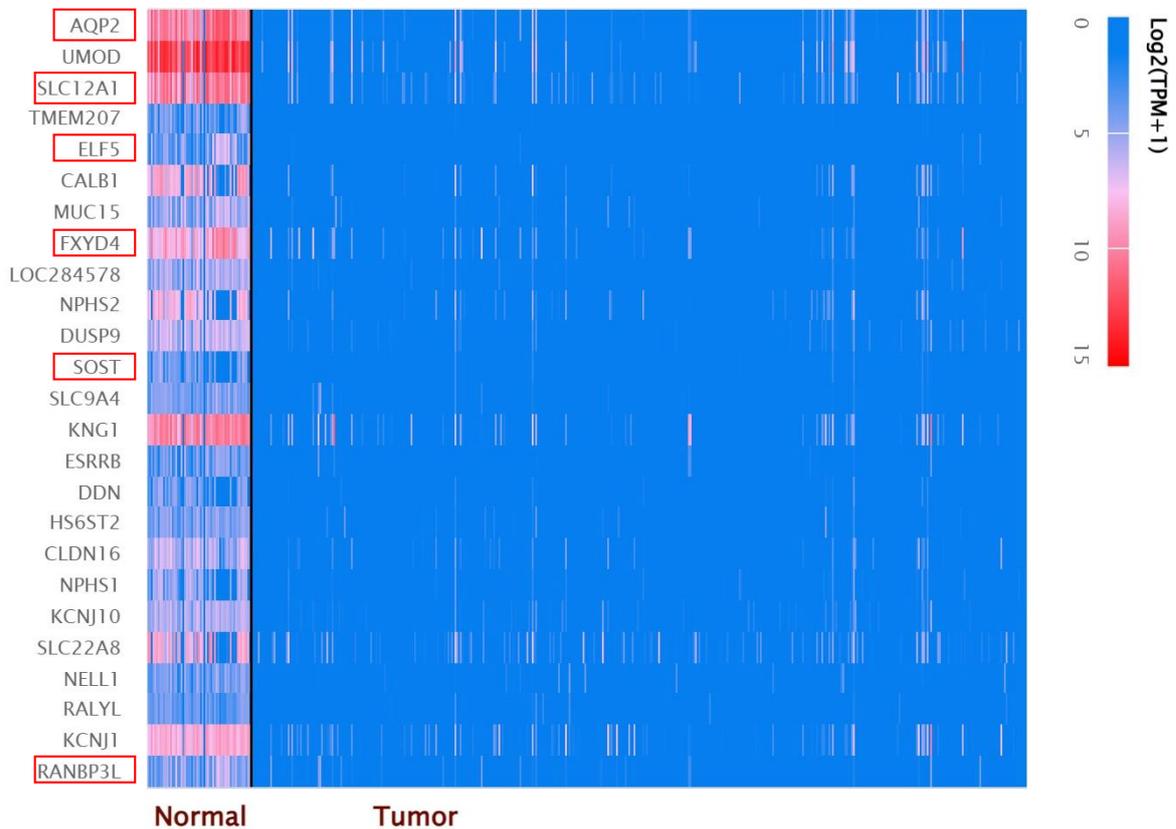


Abbildung 9: Expressionsprofil der top 25 herunterregulierten Gene im klarzelligen Nierenzellkarzinom.

Dargestellt sind die top 25 herunterregulierten Gene im klarzelligen Nierenzellkarzinom (KIRC). Darunter auch identifizierte hyperosmolalitätsregulierte-Gene (rot markiert [55]) sowie auch *RANBP3L*. Die Daten stammen aus der TCGA-Datenbank und sind durch das Ualcan-tool dargestellt [83] (Datenstand: 14.07.2022)

Eine genaue Analyse der *RANBP3L*-Expression im Vergleich zu der Kontrollkohorte zeigt eine signifikante Reduktion im RCC und allen drei Subtypen KIRC, KICH und KIRP (Abbildung 10A-B). Zusätzlich scheint allein die Expression von *RANBP3L* ein prognostischer Faktor für das Gesamtüberleben innerhalb der KIRC-Kohorte zu sein (Abbildung 10C). Die Analyse der TCGA-Mutationsdatenbank ergab weiterhin keine weit verbreiteten Mutationen innerhalb der genomischen Region von *RANBP3L* (siehe Anhang 8.11.4), was für eine tatsächliche Herunterregulierung von *RANBP3L* beim Nierenzellkarzinom spricht.

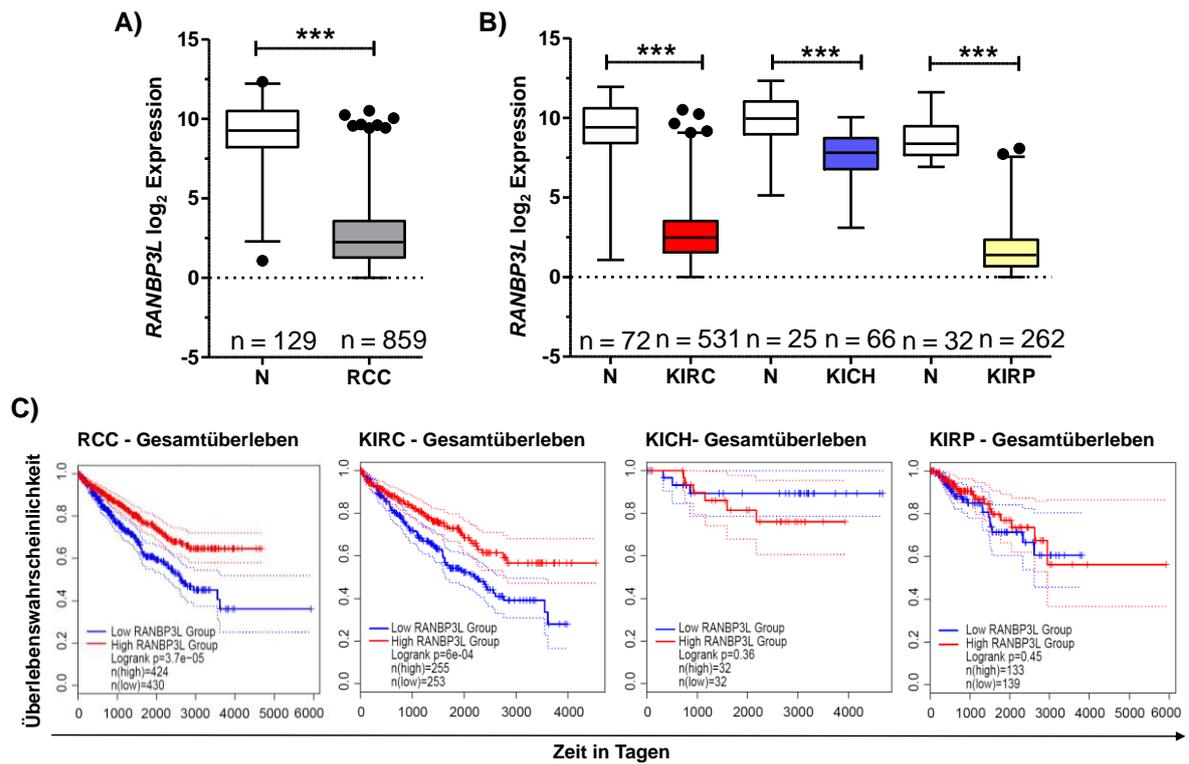


Abbildung 10: Expression von *RANBP3L* im Nierenzellkarzinom sowie dessen prognostische Relevanz.
A) Expression von *RANBP3L* im Nierenzellkarzinom (grau) im Vergleich zu den gesunden Kontrollen (weiß).
B) Expression von *RANBP3L* separiert nach den Nierenzellkarzinomentitäten KIRC (rot), KICH (blau) und KIRP (gelb) im Vergleich zu den gesunden Kontrollen (weiß). Die Werte wurden mit einem Student's-T-Test analysiert und sind in einem Whisker-Plot mit 1-99 Perzentilen dargestellt, ***, $p < 0,001$. Die Daten stammen aus der TCGA-Datenbank [82, 84] (Datenstand 14.07.2022). **C)** Kaplan-Meier-Plots für *RANBP3L* im Nierenzellkarzinom. Alle Kaplan-Meier-Plots wurden mit dem GEPIA2-Tool mit der entsprechenden RCC-Kohorte aus TCGA-Daten und normalen Proben (N) erstellt [70]. Die Gruppengrößen sowie die p-Werte sind den Grafiken zu entnehmen (Hoch: Proben mit einem Expressionsniveau, das über dem Median liegt, werden als Hochexpressionskohorte betrachtet. Niedrig: Proben mit einem Expressionsniveau, das unter dem Median liegt, werden als Kohorte mit niedriger Expression betrachtet, Logrank-Test) [85].

Die bis jetzt gezeigten Daten verdeutlichen eine prognostische Relevanz osmolalitätsregulierter-Gene wie *RANBP3L* im Nierenzellkarzinom aber ohne näher auf die nierenspezifische Regulation und zelluläre Funktion einzugehen. Das Fehlen solcher Daten bildet die Intention für die Anfertigung dieser naturwissenschaftlichen Doktorarbeit.

2 Zielstellung

Die Physiologie der Nieren weist einen osmotischen Gradienten zwischen Nieren-Cortex und Medulla auf, wobei sich die Osmolalität in Richtung Medulla aufkonzentriert. Genexpressionsanalysen in innermedullären Sammelrohrzellen (IMCD) von Ratten zeigten hunderte von osmoregulierten-Genen im Vergleich zu Zellen unter isoosmolaren Bedingungen. Weiterhin scheinen viele dieser Gene über den Transkriptionsfaktor NFAT5 reguliert zu werden. Sie zeigen eine signifikante Korrelation mit der Überlebensrate von Nierenzellkarzinompatienten - vorrangig im klarzelligen Subtyp (KIRC). Eines der am stärksten regulierten Gene war das bis dahin kaum charakterisierte *Ranbp3l* (*Ran-binding protein 3-like*). Vorarbeiten zeigten bereits eine nierenspezifische-Expression in Sammelrohrzellen, was eine wichtige Rolle in der Nierenphysiologie impliziert. Im Rahmen dieses Projektes sollte die Expressionregulation von *Ranbp3l* unter Hyperosmolalität weiter charakterisiert sowie dessen Rolle für die Nierenfunktion auf zellulärer Ebene herausgearbeitet werden. Dafür wurden folgende Ziele formuliert:

1) Die in Ratten-IMCD erzeugten Daten sollten in Mausmodellen verifiziert werden.

Dafür musste:

- die etablierte Kultivierung von Ratten-IMCD auf Maus-IMCD-Zellen übertragen werden.
- die Sammelrohrzelllinie mpkCCD für *in-vitro*-Studien als Modellsystem charakterisiert werden.

2) Die Rolle von NFAT5 bei der hyperosmolalitäts-vermittelten-Transkriptionsaktivierung von *Ranbp3l* sollte untersucht werden.

Dafür war es nötig:

- NFAT5 mittels CRISPR/Cas9 in mpkCCD unter Verwendung verschiedener gRNAs sowie einer *Scramble* (Scr)-gRNA auszuschalten.
- *ex-vivo* NFAT5 konditionell durch Zugabe von 4-Hydroxy-Tamoxifen in murinen IMCD auszuschalten.
- eine direkte Interaktion von NFAT5 und RANBP3L über Promotoranalysen zu bestätigen.

3) Die physiologische Funktion von RANBP3L sollte *in-vitro* genauer untersucht werden.

Dafür wurden:

- die mpKCCD-Zelllinie mittels einer CRISPR/Cas9 induzierten RANBP3L-Inaktivierung (analog zum NFAT5-*Knockout*) auf phänotypische Unterschiede dieser Zellen untersucht.
- globale Genexpressionsanalysen der RANBP3L-*Knockout*-Zellen durchgeführt, die zu RANBP3L Zielgenen führen sollten.
- die bioinformatisch identifizierten Zielgene durch Rettungsversuche verifiziert und genauer analysiert.

3 Materialien

3.1 Chemikalien

Alle Grundchemikalien wurden von Sigma (Missouri, USA), Thermo Fisher Scientific (Massachusetts, USA), Invitrogen (Massachusetts, USA), Gibco®Life Technologies (Massachusetts, USA), Merck (Massachusetts, USA) oder Roth (Karlsruhe, Deutschland) bezogen. Alle besonderen Chemikalien sind nachfolgend aufgelistet und entstammen, soweit nicht anders angegeben, den oben genannten Firmen.

| Bezeichnung | Hersteller |
|-------------------------------------|--|
| 4-Hydroxytamoxifen | Sigma-Aldrich |
| DNA Ladder (50 bp-1 kb) | NEB (Massachusetts, USA) |
| Agarose | Biozym (Oldendorf, Deutschland) |
| Ampicillin | Sigma-Aldrich |
| Bacto™ Agar | BD Biosciences (Heidelberg, Deutschland) |
| Bradfordreagenz | Bio-Rad Laboratories (Kalifornien, USA) |
| CaCl ₂ | Merck |
| Collagen IV | Thermo Fisher Scientific |
| DAPI | Sigma-Aldrich |
| Dimethylsulfoxid (DMSO) | AppliChem (Darmstadt, Deutschland) |
| destilliertes Wasser | Apotheke des Uniklinikums Halle (Saale) |
| Ethidiumbromid, 1 % wässrige Lösung | Carl Roth |
| Fluoroshield™ | Sigma-Aldrich |
| Formaldehyd | Thermo Fisher Scientific |
| G418 (Geneticin) | Invitrogen |
| Gelatine (50%ig) | Sigma-Aldrich |
| Glycerol | Merck |
| Kanamycin | Sigma-Aldrich |
| LB Broth | Sigma-Aldrich |
| Milchpulver | Carl Roth |
| Natriumchlorid | Carl Roth |
| NuPAGE™ LDS-Probenpuffer (4x) | Invitrogen |
| NuPAGE™ MES SDS Laufpuffer (20X) | Invitrogen |
| Oligo-dT Primer | Invitrogen |
| Phalloidin-Alexa Fluor™ 488 | Invitrogen |
| Phalloidin-Alexa Fluor™ 568 | Invitrogen |
| PBS | Sigma-Aldrich |

| | |
|---------------------------------|---|
| Ponceau S | Chem Cruz (Santa Cruz, USA) |
| Penicillin/Streptomycin | Gibco®Life Technologies |
| Puromycin (10 mg/ml) | Sigma-Aldrich |
| Random Hexamere | Invitrogen |
| SeeBlue™ Plus2 Pre-stained | Invitrogen |
| SYBR™ Select Master Mix für CFX | Applied Biosystems (Massachusetts, USA) |
| Triton X-100 | Merck |
| Trypsin-EDTA | Sigma-Aldrich |
| TurboFect | Thermo Fisher Scientific |
| Tween® 20 | Merck |
| Urea | Sigma-Aldrich |
| X-Gal-Lösung | biomol (Hamburg, Deutschland) |

3.2 Allgemeine Materialien

| Bezeichnung | Hersteller |
|--|---|
| Amersham™ Protran® 0,2 µm | GE Healthcare (Illinois, USA) |
| Deckgläser, 12 mm Durchmesser | VWR (Darmstadt, Deutschland) |
| Filterspitzen 10, 20, 100, 200, 1000 µl | Biozym |
| Flüssigprobenbeutel Whirl-Pak® | Carl Roth |
| Hard-Shell PCR Plates, 96-well, weiß | Bio-Rad Laboratories |
| IncuCyte® ImageLock 96-well Platten | Sartorius (Göttingen, Deutschland) |
| Microseal 'B' PCR Plate Sealing Film | Bio-Rad Laboratories |
| Mini Trans-Blot | Bio-Rad Laboratories |
| Neubauer Zählkammer 0,1 mm | Marienfeld (Lauda-Königshofen, Deutschland) |
| Novex™ 4-20% Tris-Glycin-Gele | Invitrogen |
| Objektträger Mattrand, 76 x 26 mm | Süsse, (Wuppertal, Deutschland) |
| Serologische Pipetten 5, 10, 25 50 ml | Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) |
| Whatman™ Chromatography Paper 3 mm | GE Healthcare |
| XCell SureLock Mini-Cell Modul | Thermo Fisher Scientific |
| Zellkulturflasche 25,75 cm² | TPP® (Trasadingen, Schweiz) |
| Zellkulturplatte 6, 12, 24, 48, 96F well | TPP® |
| Zellkulturschale 100 | TPP® |

3.3 Geräte

| Bezeichnung | Hersteller |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| BioPhotometer® D30 | Eppendorf, (Hamburg, Deutschland) |
| Bio-Rad CFX Connect™ Real-Time System | Bio-Rad Laboratories |
| ChemiDoc™MP Imaging System | Bio-Rad Laboratories |
| Digital Graphic Printer UP-D890 | Sony Corporation (Tokio, Japan) |

| | |
|--|------------------------------------|
| Digital Sonifier 250 | Branson (Connecticut, USA) |
| Heraeus™ Biofuge fresco | Thermo Fisher Scientific |
| Heraeus™ HERAcell Brutschrank | Thermo Fisher Scientific |
| Heraeus™ HERAsafe KSP | Thermo Fisher Scientific |
| Heraeus™ Multifuge 1 S-R | Thermo Fisher Scientific |
| IncuCyte S3® Live-Cell Analysis System | Sartorius (Göttingen, Deutschland) |
| Keyence BZ-9000 | Keyence (Osaka, Japan) |
| LSRFortessa™ Cell Analyzer | BD (New Jersey, USA) |
| Mini Trans-Blot® Cell | Bio-Rad Laboratories |
| New Brunswick™ Excella® E24 (Schüttler) | Eppendorf |
| T100™ Thermal Cycler | Bio-Rad Laboratories |
| ThermoMixer F1.5 | Eppendorf |
| Gellaufkammer | Bio-Rad Laboratories |
| UVP UVsolo touch Geldokumentationssystem | Analytik Jena (Jena, Deutschland) |
| PowerPac™ Basic Power Supply | Bio-Rad Laboratories |
| Sub-Cell GT Cell (Laufkammer) | Bio-Rad Laboratories |
| Spark® Multimode Mikroplatten Reader | Tecan (Männedorf, Schweiz) |
| Sprout® Mini Zentrifuge | Roth |
| Vortex Genie 2 | Thermo Fisher Scientific |
| WoundMaker™ | Sartorius |
| XCell II Blot Module (Transferkammer) | Thermo Fisher Scientific |

3.4 Wissenschaftliche Software

| Bezeichnung | Hersteller |
|-----------------------------|--------------------------------|
| Bio-Rad CFX Manager 3.1 | Bio-Rad Laboratories |
| Bio-Rad CFX Maestro 2.0 | Bio-Rad Laboratories |
| GraphPad Prism 8 | GraphPad Software |
| Incucyte® Analysis Software | Sartorius |
| Zen 3.0 blue edition | Carl Zeiss (Jena, Deutschland) |
| Image Lab Software | Bio-Rad Laboratories |

3.5 Kits

| Bezeichnung | Hersteller |
|--|---------------------------|
| GenElute™ Gel Extraction | Sigma-Aldrich |
| GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep | Sigma-Aldrich |
| GenElute™ Mammalian Total RNA Miniprep | Sigma-Aldrich |
| GenElute™ PCR Clean-Up | Sigma-Aldrich |
| GeneJET Plasmid Miniprep | Thermo Fischer Scientific |
| M-MLV Reverse Transkriptase | Invitrogen |
| Luciferase Assay System | Promega |
| Pierce™ ECL Western Blotting Substrate | Thermo Fischer Scientific |

| | |
|--|----------------------------|
| PureLink™ HiPure Plasmid Filter Maxiprep | Invitrogen |
| QuickChange II Mutagenese | Agilent (Santa Clara, USA) |
| TOPO® TA Cloning® | Invitrogen® |

3.6 Enzyme

| Restriktionsenzyme | Schnittstelle | Hersteller |
|--------------------|---------------|---------------------------|
| AscI | GG/CGCGCC | Thermo Fischer Scientific |
| BsmBI | CGTCTCN/NNNN | Thermo Fischer Scientific |
| PacI | TTAAT/TAA | Thermo Fischer Scientific |
| SacI | GAGCT/C | Thermo Fischer Scientific |
| XhoI | C/TCGAG | Thermo Fischer Scientific |

| weitere Enzyme | Hersteller |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Hyaluronidase | Sigma-Aldrich |
| Kollagenase Typ 2 | Cellsystems (Troisdorf, Deutschland) |
| Proteinase K (0,5 mg/ml) | Sigma-Aldrich |
| T4-Ligase | Thermo Fischer Scientific |
| <i>Jumpstart Taq</i> DNA-Polymerase | Sigma-Aldrich |

Alle weiteren nicht speziell aufgelisteten Enzyme entstammen aus dazugehörigen Kits.

3.7 Plasmide

| CRISPR/Cas9 <i>Knockout</i> Plasmide | Hersteller |
|--------------------------------------|----------------------------|
| Crispr lenti v2 | addgene-# 98290 |
| Crispr lenti v2-Scr-gRNA | laborintern hergestellt |
| Crispr lenti v2-gRNA1-mNfat5 | laborintern hergestellt |
| Crispr lenti v2-gRNA2-mNfat5 | laborintern hergestellt |
| Crispr lenti v2 gRNA3-mNfat5 | laborintern hergestellt |
| Crispr lenti v2-gRNA1-mRanbp3l | laborintern hergestellt |
| Crispr lenti v2-gRNA2-mRanbp3l | laborintern hergestellt |
| Crispr lenti v2-gRNA3-mRanbp3l | laborintern hergestellt |
| SGL40C.EFS.dTomato | AG Heckl, addgene - #89395 |
| SGL40C.EFS.dTomato-Scr-gRNA | laborintern hergestellt |
| SGL40C.EFS.dTomato-gRNA1-Sparc | laborintern hergestellt |
| SGL40C.EFS.dTomato-gRNA2-Sparc | laborintern hergestellt |

| Virus Plasmide | Hersteller |
|----------------|--|
| pLP1 | ViraPower™ Lentiviral Packaging Mix (Thermo) |
| pLP2 | ViraPower™ Lentiviral Packaging Mix (Thermo) |
| VSVG | ViraPower™ Lentiviral Packaging Mix (Thermo) |

| Luciferase Plasmide | Hersteller |
|-------------------------------|-------------------------|
| PGL3-promMx1 | addgene - #30536 |
| PGL3-2 kb-mRanbp3l | laborintern hergestellt |
| PGL3-0,8 kb-mRanbp3l | laborintern hergestellt |
| PGL3-0,8 bp-quick1-mRanbp3l | laborintern hergestellt |
| PGL3-0,8 bp-quick2-mRanbp3l | laborintern hergestellt |
| PGL3-0,8 bp-quick1+2-mRanbp3l | laborintern hergestellt |
| GFP-Kontrollplasmid | addgene - # 6085-1 |

| RANBP3L Überexpression | Hersteller |
|-------------------------------|-------------------------|
| V180-Leervektor | addgene-# 11707 |
| V180-RANBP3L-Flag | laborintern hergestellt |

Von den kommerziell erhältlichen Plasmiden sind die dazugehörigen Vektorkarten im Anhang unter 8.1 hinterlegt.

3.8 Antikörper

Die Antikörper wurden von den Firmen Abcam (Cambridge, Vereinigtes Königreich), Cell Signaling (Massachusetts, USA), Sigma Aldrich, Jackson ImmunoResearch (Ely, Vereinigtes Königreich) oder Thermo Fisher Scientific bezogen.

| Primärantikörper | Host | Verdünnung | Kopplung |
|------------------------------|-------------|-------------------|-----------------|
| NFAT5 (ab3446) | Kaninchen | 1:1000 | - |
| GAPDH (14C10) | Kaninchen | 1:5000 | - |
| SMAD2 (5339) | Kaninchen | 1:500 | - |
| p-SMAD2 (Ser465/467) (138D4) | Kaninchen | 1:500 | - |
| c-JUN (9165) | Kaninchen | 1:500 | - |
| p-c-JUN(Ser63) (2361) | Kaninchen | 1:500 | - |
| ANTI-FLAG® M2 (F1804) | Maus | 1:1000 | - |

| Sekundärantikörper | Host | Verdünnung | Kopplung |
|----------------------------------|-------------|-------------------|-----------------------|
| IgG anti-Kaninchen (111-035-144) | Ziege | 1:1000 | Meerrettichperoxidase |
| IgG anti-Kaninchen (A-11008) | Ziege | 1:1000 | Alexa Fluor 488 |
| IgG anti-Maus (A-11004) | Ziege | 1:1000 | Alexa Fluor 568 |

Bei Verwendung der Antikörper im Western Blot wurden die Primärantikörper (gegen NFAT5, GAPDH) in der Blockierlösung verdünnt (5 % Magermilchpulver in PBST, siehe 3.9) und der Sekundärantikörper (IgG anti-Kaninchen+Meerrettichperoxidase) in PBST.

Für die Immunfluoreszenzanalysen wurden die jeweiligen Primärantikörper (gegen NFAT5, SMAD2, p-SMAD2, c-JUN, p-c-JUN, FLAG-M2) in einer 0,3 %igen Gelatinelösung (siehe

3.9) verdünnt. Die Sekundärantikörper (IgG anti-Kaninchen + Alexa Fluor 488, IgG anti-Maus+ Alexa Fluor 568) dagegen wurden in PBS verdünnt.

3.9 Puffer und Lösungen und Zellkulturmedien

Die zur Puffer- und Lösungsherstellung verwendeten Chemikalien stammen von den Firmen AppliChem, Carl Roth, Merck sowie Sigma und entsprechen dem höchsten Reinheitsgrad. Zellkulturmedien wurden von Sigma bezogen. Weitere nicht explizit aufgeführte Standard-Puffer und Lösungen wurden nach MANIATIS ET. AL. [86] hergestellt.

| PCR und Elektrophorese | Bestandteile |
|----------------------------------|--|
| DNA-Probenpuffer, 6x | 50 % (v/v) Glycerol 50 % (v/v) TAE Bromphenolblau |
| TAE-Puffer, 50x | 2 M Tris-Base 2 M Eisessig 50 mM EDTA pH 8,0 |
| SDS-PAGE und Western Blot | Bestandteile |
| Transferpuffer | 25 mM Tris 190 mM Glycin 20 % (v/v) Methanol |
| Waschpuffer Blockierlösung | 0,1 % Tween-20 in PBS 5 % Magermilchpulver in Waschpuffer |
| Immunfluoreszenz (IF) | Bestandteile |
| Fixierpuffer | 5 % Formaldehydlösung in PBS |
| Permeabilisierungspuffer | 0,1 % Triton X-100 in PBS |
| IF Blockierlösung/Waschlösung | 0,3 % Gelatine in PBS |
| Zellkulturmedien | Bestandteile |
| DMEM/F12 Vollmedium für mpkCCD | + 10 % FKS + 100 U/ml Penicillin + 100 U/ml Streptomycin |
| DMEM Medium für HEK293-T | + 10 % FKS + 100 U/ml Penicillin + 100 U/ml Streptomycin |

| | |
|------------------------------|-------------------------------|
| DMEM Medium für Primärkultur | + 1 % Ultroser |
| | + 1 % essenzielle Aminosäuren |
| | + 100 U/ml Penicillin |
| | + 100 U/ml Streptomycin |

3.10 Zellen und Bakterien

Eukaryotische Zellen

primäre Nierenzellkultur aus Mausnieren [87]

- Kultivierung von IMCD-Zellen (*Inner medullary collecting duct*, innermedulläre Sammelrohrzellen)

mpKCCD-Zelllinie [88]

- abgeleitet aus kortikalen Sammelrohrzellen einer transgenen Maus (*cortical collecting duct*, mpKCCD)
- enthalten integriertes SV40 large T-Antigen

HEK293-T Zelllinie, ATCC-CRL-3216, [89]

- abgeleitet von humanen embryonalen Nierenzellen, adhärent
- enthalten integriertes SV40-large T Antigen

Prokaryotische Zellen

E. coli DH5α (Thermo Fisher Scientific, 18265017)

- Genotyp: F- Φ 80lacZ Δ M15 Δ (lacZYA-argF) U169 recA1 endA1 hsdR17(rk-, mk+) phoA supE44 thi-1 gyrA96 relA1 λ -

3.11 Oligonukleotide

Alle verwendeten Primer wurden von der Firma Biologio (Nijmegen, Niederlande) synthetisch hergestellt.

3.11.1 Primer für guide-RNA-Klonierung

Die *guide*-RNA (gRNA)-Sequenzen (20 Nukleotide) wurden mittels CHOP CHOP (siehe 4.4.1) generiert. Die Primer für die Klonierung der gRNA-Sequenz in den Crispr lenti v2 Vektor (3.7) wurden nach SANJANA et al. [90] designt (siehe 4.4.1.2).

| Name | 5'-3' |
|--------------------------------------|---------------------------|
| Kontroll-gRNA (Scramble gRNA) | |
| Scramble-gRNA-O1 | CACCGATATCCGGAATTCGCGCGAT |
| Scramble-gRNA-O2 | AAACATCGCGCGAATTCGGATATC |

Nfat5 gRNAs

| | |
|----------------|----------------------------|
| Nfat5 gRNA1-O1 | CACCGCAATCTCGTCGTTTGACCCC |
| Nfat5 gRNA1-O2 | AAACGGGGTCAAACGACGAGATTGC |
| Nfat5 gRNA2-O1 | CACCGTTTCGTTTTTCGTGATTTACG |
| Nfat5 gRNA2-O2 | AAACCGTAAATCACGAAAACGAAAC |
| Nfat5 gRNA3-O1 | CACCGGTTACTTACCCCCACGGCTG |
| Nfat5 gRNA3-O2 | AAACCAGCCGTGGGGGTAAGTAACC |

Ranbp31 gRNAs

| | |
|------------------|----------------------------|
| Ranbp31-gRNA1-O1 | CACCGCTTTGTCTCAAACGCGTCTG |
| Ranbp31-gRNA1-O2 | AAACCAGACGCGTTTGAGACAAAGC |
| Ranbp31-gRNA2-O1 | CACCGTTGCGACTGAACGACACGGC |
| Ranbp31-gRNA2-O2 | AAACGCCGTGTCGTTTCAGTCGCAAC |
| Ranbp31-gRNA3-O1 | CACCGCAGCTGACGCGTGCACGAAC |
| Ranbp31-gRNA3-O2 | AAACGTTTCGTGCACGCGTCAGCTGC |

Sparc gRNAs

| | |
|----------------|----------------------------|
| Sparc gRNA1-O1 | CACCGCGGTGCAGAGGAAACGGTTCG |
| Sparc gRNA1-O2 | AAACCGACCGTTTCCTCTGCACCGC |
| Sparc gRNA2-O1 | CACCGGGGCCCTCCCGGCCAGGCAA |
| Sparc gRNA2-O2 | AAACTTGCCTGGCCGGGAGGGCCCC |

3.11.2 Primer für Target-Amplifizierung und Sequenzierung

Die Primer für die Amplifizierung der Zielsequenz mittels PCR wurden in dem integrierten *Primer-BLAST tool* von NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) erstellt (siehe 4.11.1) [91].

| Name | 5'-3' |
|--------------------------|------------------------|
| mNfat5-gRNA1+2-sense | AGCATCCATCAACCCCGAAG |
| mNfat5-gRNA1+2-antisense | TGTGGATACCAACCCATTTCCA |
| mNfat5-gRNA3-sense | AGCCAGCCTAGGTGAAAACA |
| mNfat5-gRNA3-antisense | TCTTCGGGGTTGATGGATGC |
| mRanbp31-gRNA1-sense | ATCGATCTCCACCCACTACGA |
| mRanbp31-gRNA1-antisense | TGAGGCATCAGAGTGTGAGG |
| mRanbp31-gRNA2-sense | AGCCAGGCCTAATAGTGTCA |
| mRanbp31-gRNA2-antisense | GTAGTCCACCCTCGGGTTTAT |
| mRanbp31-gRNA3-sense | GTTTTACATGCGAGGCGAGA |
| mRanbp31-gRNA3-antisense | CCACCCTTCCCCAGACATAC |
| mSparc-gRNA1-sense | CCCCTCACTTTCTTCTGGGTT |

| | |
|--------------------------------|-----------------------|
| mSparc-gRNA1- <i>antisense</i> | ATCTTGGTGACCGGATGTGAC |
| mSparc-gRNA2- <i>sense</i> | GCTCTAAACAAGGTGGCGTC |
| mSparc-gRNA2- <i>antisense</i> | GGTTTGTTCCTAAAGCTGGG |

3.11.3 Standardsequenzierprimer

Die Sequenzen der Standardsequenzierprimer (bis auf GL-2) wurden von addgene bezogen (<https://www.addgene.org/mol-bio-reference/sequencing-primers/>; Stand: 24.07.2022). Die Sequenz von GL-2 entstammt vom Promega aus dem *Luciferase Assay System*-Kit.

| Name | 5'-3' |
|------------------------|-------------------------|
| M13 <i>sense</i> | TGTA AACGACGGCCAGT |
| U6 Primer <i>sense</i> | GAGGGCCTATTTCCCATGATT |
| RV-3 | CTAGCAA AATAGGCTGTCCC |
| GL-2 | CTTTATGTTTTTGGCGTCTTCCA |
| CMV- <i>sense</i> | CGCAAATGGGCGGTAGGCGTG |

3.11.4 quantitative PCR-Primer

Primer für die quantitative PCR (qPCR) wurden ebenfalls mittels NCBI erstellt [91].

| Name (alle Primer für <i>mus musculus</i>) | 5'-3' |
|---|--------------------------------|
| <i>Gapdh</i> -real <i>sense</i> | TGGCCTTCCGTGTTCCCTACC |
| <i>Gapdh</i> -real <i>antisense</i> | GGTCCTCAGTGTAGCCCAAGATG |
| <i>Ranbp3l</i> -real <i>sense</i> | GA ACTCTCCCAGCAGAAAGC |
| <i>Ranbp3l</i> -real <i>antisense</i> | CAAGTCTCTGTGCTCTGTGG |
| <i>Aqp2</i> -real <i>sense</i> | CACCGGCTGCTCCATGAATCC |
| <i>Aqp2</i> -real <i>antisense</i> | TCCGCCTCCAGGCCCTTGAGC |
| <i>Slc6a12</i> -real <i>sense</i> | CTGGGAGAGACGGGTTTTGGGTATTACATC |
| <i>Slc6a12</i> -real <i>antisense</i> | GGACCCCAGGTTCGTGGAT |
| <i>Nfat5</i> exon 4-5 <i>sense</i> | TACAGCCTGAAACCCAACAC |
| <i>Nfat5</i> exon 4-5 <i>antisense</i> | ACTCGACCAGAATCATTGCC |
| <i>Sparc</i> -real <i>sense</i> | CCTGGACTACATCGGACCAT |
| <i>Sparc</i> -real <i>antisense</i> | GCCCTCATCTCTCTCGTACA |
| <i>Col4a1</i> -real <i>sense</i> | GCAACATCAACAACGTCTGC |
| <i>Col4a1</i> -real <i>antisense</i> | ACTGCGGAATCTGAATGGTC |
| <i>Col4a2</i> -real <i>sense</i> | CCCTGGTATCTCTCCACCAT |
| <i>Col4a2</i> -real <i>antisense</i> | TGATTCCAGGAAGTGCGTTT |
| <i>Sh3gl2</i> -real <i>sense</i> | AAAGAAATCGCCGAGTCGAG |
| <i>Sh3gl2</i> -real <i>antisense</i> | GGCAA ACTCTAGGCTCATCC |
| <i>Aldh2</i> -real <i>sense</i> | AAGGGAACAAGGAGGACGTA |

| | |
|-------------------------------------|----------------------|
| <i>Aldh2</i> -real <i>antisense</i> | CCAAATCCACCAGGTACGAG |
| <i>Hoxa7</i> -real <i>sense</i> | CTCTGCAGTGACCTCGCCAA |
| <i>Hoxa7</i> -real <i>antisense</i> | CTCTGCAGTGACCTCGCCAA |

3.11.5 Primer für Quick-Change-Mutagenese

Primer für eine gerichtete Mutagenese des *Ranbp3l*-Promotors wurden mittels des *QuikChange Primer Design tools* der Firma Agilent erstellt (siehe 4.11.4.3).

| Name | 5'-3' |
|--|--|
| RANBP3L-Prom1-(2 kb)- <i>sense</i> | CCGGCAGAGCTCACCAGGAATAGCCACTACAACAT |
| RANBP3L-Prom1-(2 kb)- <i>antisense</i> | GGCCTACTCGAGGGTACCAACGATCTGGCTGTGAC |
| RANBP3L-Prom2-(0,8 kb)- <i>sense</i> | CCGGCAGAGCTCTTACAGAGTCCGAGAGTCCCAGC |
| RBP3L-Prom2-(0,8 kb)- <i>antisense</i> | GGCCTACTCGAGGGTACCAACGATCTGGCTGTGAC |
| Quick-Mut-1- <i>sense</i> | CTGGTCAGGAGCGCATT TTT TTT GTACTGCTGGGAC TCTCGGACTCTGT |
| Quick-Mut-1- <i>antisense</i> | ACAGAGTCCGAGAGTCCCAGCAGTACAAAAAATG CGCTCCTGACCAG |
| Quick-Mut-2- <i>sense</i> | CAGTTATTCTCAGGCACAAGCGAAAT TTT TTT TAGAT CCAGCTGGATCTGGTC |
| Quick-Mut-2- <i>antisense</i> | TCCTGACCAGATCCAGCTGGATCTAAAAAAT T TCG CTTGTGCCTGAGAATAACG |

3.11.6 RANBP3L V180 Vektor-Klonierung

Primer für die Vektor-Klonierung des proteinkodierenden Bereichs von *Ranbp3l* (NCBI Referenzsequenz: NM_198024.2) wurden ebenfalls mittels NCBI erstellt [91].

| Name | 5'-3' |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| AscI Primer- <i>sense</i> | CACCGGGCGGCCATGTCTACAACACAAAGGAAAG |
| PacI Primer- <i>antisense</i> | GCACCTTAATTAATTATGAACAGACAATTGACTGTC |

4 Methoden

4.1 Allgemeine Zellkulturstammhaltung

Die Kultivierung aller in dieser Arbeit genutzten Zellen erfolgte in einem Inkubator bei 37°C, 5 % CO₂-Gehalt und 95 % Luftfeuchte. Alle Methoden, die zum Passagieren sowie Manipulieren der Zellen angewandt wurden, wurden stets an einer sterilen Sicherheitswerkbank durchgeführt. Zellkulturmedien, PBS-Waschpuffer und 1x-Trypsin/EDTA wurden vor ihrer Anwendung in einem Wasserbad auf 37°C erwärmt und nach Gebrauch wieder bei 4°C gelagert.

4.1.1 Kultivierung der immortalisierten Zelllinien mpkCCD und HEK-293T

Die *human embryonic kidney 293T cells* (HEK-293T-Zellen) wurden in *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) supplementiert mit 10 % fötalem Kälberserum (FKS), sowie 1 % Penicillin/Streptavidin (100 U/ml) kultiviert.

Dagegen erfolgte die Kultivierung der *mouse cortical collecting duct* (mpkCCD)-Zellen in *Dulbecco's Modified Eagles Medium/Nutrient Mixture F-12 Ham* (DMEM/F12) Medium mit 10 % fötalem Kälberserum (FKS) und 1 % Penicillin/Streptavidin (100 U/ml).

4.1.2 Passagieren und Zellzahlbestimmung der Zelllinien

Zum Passagieren der Zellen wurde zunächst das alte Medium vollständig abgenommen und die Zellkulturflasche einmal mit PBS gewaschen. Zum Lösen der adhärennten Zellen vom Flaschenboden wurde je nach Flaschengröße 0,5-2 ml 1x-Trypsin/EDTA eingesetzt und die Zellkulturflasche für 5-10 min bei 37°C inkubiert, bis sich alle Zellen vom Boden abgelöst hatten. Danach wurde je nach Flaschengröße 2-10 ml Medium zugegeben und durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren die Zellen vereinzelt. Zum Weiterführen wurden 500-1000 µl (je nach Anzahl von Kultivierungstagen und Größe der Zellkulturflasche) in eine neue Zellkulturflasche mit Medium überführt (25 cm²: 5 ml Medium, 75 cm²: 10 ml Medium). Das Passagieren von Zellen im 6-, 24-, 48- oder 96-*well* Formaten erfolgte nach demselben Prinzip, jedoch mit an die Größen der *well*-Platten angepassten Volumina. Für experimentelle Untersuchungen wurde die Zellzahl mit der Zählkammer nach Neubauer bestimmt und in das entsprechende *Well*- oder Flaschenformat mit dem entsprechenden Medienvolumen ausgesät.

4.1.3 Kultivierung unter extrazellulärer Hyperosmolalität

Für die Kultivierung aller Zellen wurde Medium mit einer Osmolalität von ca. 300 mosmol/kg verwendet (isoosmolar). Um die Expression von osmotisch-regulierten-Genen in der mpkCCD-Zelllinie zu induzieren, wurden die Zellen unter 600 mosmol/kg kultiviert. Hierfür wurde die Osmolalität des Mediums durch die Zugabe von 100 mM NaCl und 100 mM Urea erhöht. Um die Osmolalitätserhöhung zu verifizieren, wurde im Zentrallabor des Universitätsklinikums die Osmolalität des Mediums mit Hilfe eines Osmometers gemessen. Für die Adaption der Zellen von 300 mosmol/kg auf 600 mosmol/kg war es wichtig die Zellen auf 450 mosmol/kg für mindestens 24 h zwischenzukultivieren. Dieses Medium wurde durch Mischen gleicher Teile des 300er und 600er Mediums hergestellt.

4.2 Allgemeine molekularbiologische Methoden

4.2.1 Herstellung chemisch kompetenter *E. coli*

Zur Herstellung kompetenter Bakterien wurde der DH5 α Bakterienstamm verwendet. Dafür wurde 1 ml einer Übernachtskultur in 100 ml LB-Medium überführt und bis zu einer OD_{600 nm} von 0,5 bei 37°C inkubiert. Anschließend wurden die Bakterien für 15 min bei 4000 x g und 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet in 25 ml 100 mM CaCl₂ (4°C) resuspendiert und 30 min auf Eis inkubiert. Es erfolgte eine erneute Zentrifugation für 15 min bei 4000xg und 4°C. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet in 1,6 ml 100 mM CaCl₂ (4°C) resuspendiert. Nach Zugabe von 400 μ l Glycerin wurde das Gemisch in kalte, sterile Eppendorfgefäße zu je 100 μ l aliquotiert und bei -80°C gelagert.

4.2.2 Transformation von *E. coli*

Zur Transformation wurden chemisch kompetente *E. coli* (DH5 α) auf Eis aufgetaut und 100-1000 ng Plasmid hinzupipettiert. Nach einer 30-minütigen Inkubation auf Eis folgte ein Hitzeschock bei 42°C für 2 Minuten. Danach wurden 400 μ l LB-Medium hinzugegeben und die Zellen bei 37°C für 1 h schüttelnd inkubiert. Der Ansatz wurde anschließend bei 8000 x g für 3 min zentrifugiert und der Überstand verworfen. Das Pellet wurde im Restmedium resuspendiert und auf vorgewärmte LB-Agarplatten mit entsprechendem Antibiotikum ausplattiert und bei 37°C über Nacht kultiviert.

4.2.3 Mini-Präparation

Zur Gewinnung von Plasmiden wurden transformierte Einzelklone in 3 ml LB-Flüssigmedium mit dem jeweiligen Antibiotikum überführt und bei 37°C schüttelnd über Nacht inkubiert. Die Aufreinigung der DNA der Plasmide erfolgte am darauffolgenden Tag mit dem GeneJET *Plasmid Mini prep Kit* (Thermo) nach Angaben des Herstellers.

4.2.4 Sequenzierung

Zur Überprüfung der Sequenzen wurden die gewünschten DNA-Proben von der Firma GATC/Eurofins sequenziert. Dazu wurde DNA mit 1 µl 10 µM Primer (spezifisch für jeden Versuch) versetzt und mit ddH₂O auf 10 µl aufgefüllt und versandt.

4.2.5 Maxi-Präparation

Nach Bestätigung der korrekt klonierten Plasmid-DNA mittels der Sequenzierung aus 4.2.4 wurde eine Übernachtskultur in 200 ml LB-Flüssigmedium mit dem jeweiligen Antibiotikum angesetzt und bei 37°C schüttelnd über Nacht inkubiert. Die Isolation der Plasmid-DNA erfolgte mit dem *PureLink HiPure Plasmid Filter Kit* nach Angaben der Firma Invitrogen. Die Elution der DNA erfolgte in 500-1000 µl H₂O. Die Proben wurden bei -20°C gelagert.

4.2.6 Isolation genomischer DNA

Für die Isolation der genomischen DNA wurden die Zellen wie in Punkt 4.1.2 trypsiniert und nachfolgend bei 400 x g für 5 min zentrifugiert. Aus den pelletierten Zellen wurde mit dem *GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit* nach Herstellerangaben genomische DNA isoliert und je nach Pelletgröße in 100-200 µl Elutionspuffer eluiert. Die Konzentration wurde am BioPhotometer® D30 bestimmt und bis zur Verwendung bei -20°C gelagert.

4.2.7 Polymerasekettenreaktion

Zur Amplifikation von spezifischen DNA-Fragmenten wurde ein standardisiertes PCR-Protokoll nach dem folgenden Reaktionsansatz verwendet:

Tabelle 1: Reaktionsansatz des standardisierten PCR-Protokolls zur Amplifizierung spezifischer DNA-Fragmente

| Komponenten | Menge |
|-------------------------------------|--------------------------------|
| 10x PCR <i>Reaction Buffer</i> | 5 μ l |
| dNTP-Mix (10 mM) | 1 μ l |
| Primer <i>sense</i> (10 mM) | 1 μ l |
| Primer <i>antisense</i> (10 mM) | 1 μ l |
| JumpStart <i>Taq</i> DNA Polymerase | 0,5 μ l |
| DNA | x μ l |
| H ₂ O | ad 50 μl |

Die PCR-Reaktionen wurden nach den folgenden Programmen durchgeführt:

Tabelle 2: Programm des standardisierten PCR-Protokolls zur Amplifizierung spezifischer DNA-Fragmente

| Programmschritt | Temperatur | Zeit | |
|---------------------------|------------|-----------|-------------------|
| 1. Initiale Denaturierung | 95°C | 3 min | 35 Zyklen von 2-4 |
| 2. Denaturierung | 95°C | 30 s | |
| 3. Annealing | 56°C | 30 s | |
| 4. Elongation | 72°C | 30 s-90 s | |
| 5. Finale Elongation | 72°C | 5 min | |
| 6. Hold | 4 C | ∞ | |

Die Dauer der Elongationsphase wurde je nach erwarteter Fragmentlänge und verwendeter Polymerase mit etwa 1000 bp/min angepasst.

4.2.8 Agarose-Gelelektrophorese

Zur größenabhängigen Auftrennung der PCR-Produkte wurde die Agarose-Gelelektrophorese angewendet. Es wurden je nach erwarteter Produktgröße 1-3 %-ige Agarose-Gele hergestellt. Die Agarose wurde in 1x-TAE-Puffer durch Erhitzen in einer Mikrowelle vollständig gelöst und nach Zugabe von 0,5 μ g/ml Ethidiumbromid (EtBr) in eine horizontale Gelkammer gegossen. Nach dem Erhärten des Gels wurde es vollständig mit 1x-TAE-Puffer bedeckt. Die aufzutragenden Proben wurden mit 5x-Probenpuffer versetzt (Bromphenolblau) und in die Taschen des Gels pipettiert. Als Größenstandard wurden 5 μ l der *GeneRuler DNA Ladder (50bp-1kb)* mit aufgetragen. Der Lauf erfolgte anschließend bei einer Spannung von 100-120 V für 30-60 min. Das Gel wurde anschließend unter UV-Licht (UVP UVsolo touch Geldokumentationssystem) analysiert.

4.2.9 Aufreinigung der DNA

4.2.9.1 Aufreinigung aus dem PCR Ansatz

Für die Aufreinigung der PCR-Produkte aus dem PCR-Ansatz wurde das *GenElute PCR Clean-Up Kit* nach Angaben des Herstellers verwendet. Je nach Stärke der Bande im Gel wurde die DNA in 20-50 µl eluiert.

4.2.9.2 Aufreinigung aus dem Agarosegel

Für die Aufreinigung von PCR-Produkten aus dem Agarosegel wurde die entsprechende DNA-Bande aus dem Gel ausgeschnitten und anschließend mit dem *GenElute Gel Extraction Kit* nach Angaben des Herstellers aufgereinigt. Je nach Stärke der Bande im Gel wurde die DNA in 20-50 µl eluiert.

4.2.10 RNA-Isolation und cDNA-Synthese

Für die RNA-Isolierung wurde das *Gen Elute Mammalian Total RNA Miniprep Kits* von Sigma nach Angaben des Herstellers verwendet.

Die Elution der RNA erfolgte je nach eingesetzter Zellmenge in 20-50 µl Elutionspuffer. Die RNA-Konzentration wurde photometrisch bestimmt und bis zur Verwendung bei -20°C gelagert. Zur Erzeugung der cDNA wurde das M-MLV-RT-Protokoll (Invitrogen) verwendet und 1 µg RNA nach dem folgenden Reaktionsansatz umgeschrieben:

Tabelle 3: Reaktionsansatz der cDNA-Synthese aus 1µg RNA

| Komponenten | Menge |
|--------------------------------|-----------------|
| Oligo dT (100 µM) | 0,5 µl |
| Random Hexamer-Primer (100 µM) | 0,5 µl |
| dNTP-Mix (10 mM) | 1 µl |
| RNA | 1 µg |
| H ₂ O | ad 13 µl |

Es erfolgte eine 5-minütige Inkubation bei 65°C.

| Komponenten | Menge |
|------------------------|--------------|
| 5x-First Strand Buffer | 4,0 µl |
| DTT (0,1 M) | 2,0 µl |
| | 19 µl |

Nach 2-minütiger Inkubation bei 37°C wurde 1 µl *Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase* (M-MLVRT) zum Ansatz gegeben und 10 min bei 2°C inkubiert. Nach

50 min bei 37°C wurde die Reaktion mit 70 °C für 15 min abgeschlossen. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Proben bei -20°C gelagert.

4.2.11 Quantitative PCR (qPCR)

Mittel der quantitative PCR (qPCR), auch *real time* PCR genannt, können relative Genexpressionsunterschiede zwischen einer Kontrolle und einer spezifisch behandelten Probe charakterisiert werden. Dazu dient ein DNA-interkalierender Farbstoff (hier *SYBR-Green*), wodurch anhand der daraus resultierenden Fluoreszenz die relative DNA-Menge bestimmt werden kann. Als „*Housekeeping-Gene*“ wurde Glycerin-Aldehyd-3-phosphatdehydrogenase (*Gapdh*) mitgeführt. Vor der Verwendung der in 4.2.10 hergestellten cDNA wurde diese 1:20 verdünnt. Die qPCR erfolgte im 96-*well* Format mit folgendem Reaktionsansatz pro *well*:

Tabelle 4: Reaktionsansatz der qPCR pro *well* mit SYBR® Select Master Mix für CFX

| Komponenten | Menge |
|-----------------------------------|-------|
| 2x SYBR Select Master Mix für CFX | 5 µl |
| Primer sense (10 mM) | 1 µl |
| Primer antisense (10 mM) | 1 µl |
| cDNA (12,5 ng/µl) | 3 µl |
| 10 µl Gesamtvolumen | |

Für jede Kombination aus Probe und Primerpaar wurden technische Duplikate vermessen. Die qPCR wurde anschließend nach dem Programm von Tabelle 5 in einem Thermocycler (CFX Connect™ *Real-Time System*) durchgeführt:

Tabelle 5: Programm für die qPCR mit SYBR® Select Master Mix für CFX

| | Programmschritt | Temperatur | Zeit |
|----|--|------------|---------------------------------|
| 1. | Uracil N-Glycosylase Aktivierung (Verringerung von Fremd DNA-Kontaminationen) | 50°C | 2 min |
| 2. | Initiale Denaturierung | 95°C | 2 min |
| 3. | Denaturierung | 95°C | 5 s |
| 4. | Annealing und Elongation | 60°C | 30 s |
| 5. | Schmelzkurve | 65°C-95°C | 5 s Erhöhung in 0,5°C-Schritten |

40 Zyklen von Schritt 3-4

Schritt 1 (Uracil N-Glycosylase Aktivierung) dient der Verringerung von Kontaminationen durch zuvor amplifizierte DNA.

4.2.12 Auswertung der qPCR-Analysen

Für die Auswertung der qPCR-Ergebnisse wurde die Software Bio-Rad CFX Manager 3.1 verwendet.

Um die relativen Genexpressions-Unterschiede zu quantifizieren, wird der Ct-Wert von GAPDH von dem Ct-Wert des Zieltranskripts abgezogen. Anschließend wird die $\Delta\Delta C_t$ -Methode nach LIVAK UND SCHMITTGEN [92] angewendet um die relative Genexpressionsänderung zu erfassen.

4.2.13 Proteinisolation und Konzentrationsbestimmung

Die Zellen wurden wie in 4.1.2 beschrieben trypsinisiert. Zur Gewinnung zellulärer Proteine wurden die Zellen zu Beginn bei 1200 x g für 5 min zentrifugiert. Die geernteten und pelletierten Zellen wurden je nach Größe des Zellpellets in 50-200 μ l Pierce RIPA *Lysis and Extraction Buffer* resuspendiert. Der RIPA-Puffer wurde zuvor mit einem Protease-Inhibitor-Mix (40 μ l Inhibitormix pro 1 ml RIPA Puffer) versetzt. Der Ansatz wurde dann 30 min auf Eis inkubiert und anschließend zusätzlich für 1 min mit Ultraschall behandelt (Sonifier W-250D, 60 % Amplitude, 60°C Abbruchtemperatur). Zur Entfernung der Zelltrümmer wurde der Ansatz für 30 min bei 15.000xg pelletiert.

Die Konzentration des proteinhaltigen Überstandes wurde mittels der Bradford-Methode [93] photometrisch bestimmt (BioPhotometer D30). Hierfür wurden 2 μ l Probe mit 798 μ l Wasser und 200 μ l Bradford-Reagenz (*Protein Assay Dye Reagent Concentrate*) vermischt und die Absorption bei 595 nm gemessen. Mittels einer BSA-Kalibriergeraden konnte dann die Konzentration der Probe berechnet werden.

4.2.14 SDS-Page und Western Blot

Für die Auftrennung der Proteine nach ihrer Größe wurde die Methode der SDS-PAGE nach LAEMMLI angewendet [94]. Hierfür wurden Novex NuPAGE 4-12 % Bis-Tris-Protein-Gele verwendet, die in das XCell SureLock *Mini-Cell Electrophoresis System* eingespannt wurden. Zunächst wurden 10 μ g Protein mit 5 μ l 4x-Lämmli-Puffer versetzt und mit RIPA *Lysis and Extraction Buffer* auf 20 μ l aufgefüllt.

Der Ansatz wurde anschließend für 10 min bei 95°C inkubiert. Die SureLock Mini-Apparatur wurde mit 1x NuPAGE SDS *Running Buffer* gefüllt und die Proben in die einzelnen Taschen pipettiert. Zusätzlich wurden 5 μ l des *SeeBlue Plus2 Prestained Protein Standard* Marker mit aufgetragen. Die Auftrennung der Proteine erfolgte zunächst 10 min

bei 80 V und weitere 1 ½ h bei 120 V bis die Bromphenol-Lauffront das Ende des Gels erreicht hatte.

Zur weiteren immunchemischen Detektion von Proteinen mittels spezifisch-bindenden Antikörpern wurde die Western Blot-Methode nach TOWBIN et al. angewendet [95]. Das Gel wurde auf eine 0,45 µm Nitrocellulose-Membran gelegt und zwischen jeweils einer Schicht Filterpapier und einer Schicht Schaumpolstern in eine Halterungskassette eingespannt. Die Kassette wurde anschließend in eine Tank-Blot-Apparatur überführt, sodass der Minuspol zur Gelseite zeigte und der Pluspol zur Membranseite. Dadurch bewegen sich die, durch den Probenpuffer negativ-geladenen, Proteine in Richtung des Pluspols und dementsprechend auf die Membran. Die Apparatur wurde mit 1x-Laufpuffer befüllt und anschließend für 3 h bei 4°C bei einer Spannung von 75 V angeschlossen. Danach wurde die Membran zur weiteren Verwendung entnommen. Es erfolgte eine kurze Färbung mit Ponceau S, um eine gleichmäßige Beladung des Gels mit Proteinen und den Transfer auf die Membran zu prüfen. Danach wurde die Membran kurz mit destilliertem Wasser gewaschen und für 30 min bei Raumtemperatur in der Blockierlösung inkubiert, um unspezifische Bindungsstellen für Antikörper auf der Membran zu blockieren. Anschließend wurde die Membran, je nach Behandlung, größenspezifisch geschnitten, sodass die einzelnen Teile der Membran mit unterschiedlichen Primärantikörpern inkubiert werden konnten. Die Inkubation erfolgte in der Blockierlösung über Nacht bei 4°C. Am darauffolgenden Tag wurde die Antikörper-Lösung vollständig abgenommen und die Membranen dreimal für 10 min mit PBST gewaschen.

Danach erfolgte die Inkubation mit dem jeweils passenden HRP-gekoppelten-Sekundärantikörper, ebenfalls in der Blockierlösung für 1-2 h bei Raumtemperatur. Abschließend wurde die Membran erneut dreimal für 10 min mit PBST gewaschen. Als Detektionsmethode wurde die Chemilumineszenz angewendet. Hierfür wurden die Amersham ECL Prime Western-Blot-Detektions-Reagenzien 1:1 vermischt und auf die Membran gegeben. Die Detektion erfolgte an einem ChemiDoc *Imaging System*.

4.2.15 Immunfluoreszenz

Für die Immunfluoreszenz wurden Zellen auf Deckgläsern in 24-well Platten ausgesät und für die Zeit des Versuches bei 37°C und 5 % CO₂ inkubiert. Danach wurde das Kultivierungsmedium vollständig durch das Ausschlagen der Platte entfernt und die Zellen in 400 µl 4 %igem Formalin pro well für 20 min bei Raumtemperatur (RT) fixiert.

Anschließend wurde pro *well* mit 400 µl PBS dreimal für 15 min erneut bei RT gewaschen. Die Zellen wurden hiernach mit 400 µl einer 0,1 %igen Triton-X-100-Lösung für 5 min unter RT permeabilisiert und anschließend erneut dreimal für 15 min mit PBS gewaschen. Das Blockieren unspezifischer Bindungsstellen für Antikörper erfolgte in 400 µl einer 0,3 %igen *Fishskin*-Gelatine-Lösung für 30 min bei 37°C. Nach dem Blockieren wurden 200 µl der Primärantikörper-Lösung (in 0,3 % Gelatine-Lösung) auf jedes Deckglas gegeben und für 1 h bei 37°C in einem Brutschrank inkubiert. Anschließend wurden die *wells* erneut dreimal für 15 min bei RT mit PBS gewaschen und mit der Sekundärantikörper-Lösung (in PBS) wieder für 1 h bei 37°C inkubiert. Als Kernmarker diente für alle Versuche DAPI. Abschließend wurden die Deckgläser erneut dreimal für 15 min bei RT mit PBS gewaschen, danach kurz in bidestilliertem Wasser entsalzt und abgetupft. Auf Objektträgern wurde pro Deckglas ein Tropfen *Fluoroshield* Eindeckmedium gegeben, die Deckgläser mit der zellbewachsenen Seite zum Eindeckmedium hin geklappt und über Nacht bei RT trocknen gelassen. Die Objektträger mit den Deckgläsern wurden nach dem Trocknen unter einem Fluoreszenzmikroskop betrachtet.

4.2.16 Quantitative Analyse mittels Zen Blue

Die *Zen Blue Software* der Firma Zeiss wurde zur weiteren Analyse der Immunfluoreszenzbilder genutzt. Über das Programm erfolgte die Berechnung der NFAT5 und DAPI Signalintensität (5.2 und 5.3.1.2) sowie die Berechnung der Lamellipodienfläche (5.6.2).

4.2.16.1 *Signalintensitätsdiagramm*

Der Signalintensität des grünen und blauen Kanals wurde in einem repräsentativen Bereich eines jeden Präparats (durch weißen Pfeil dargestellt) aufgenommen. Die generierten Signalintensitäten für den blauen und grünen Kanal wurden folgend durch GraphPadPrism grafisch als Plot der Signalintensität gegen die Präparatlänge (in Pixel) angegeben.

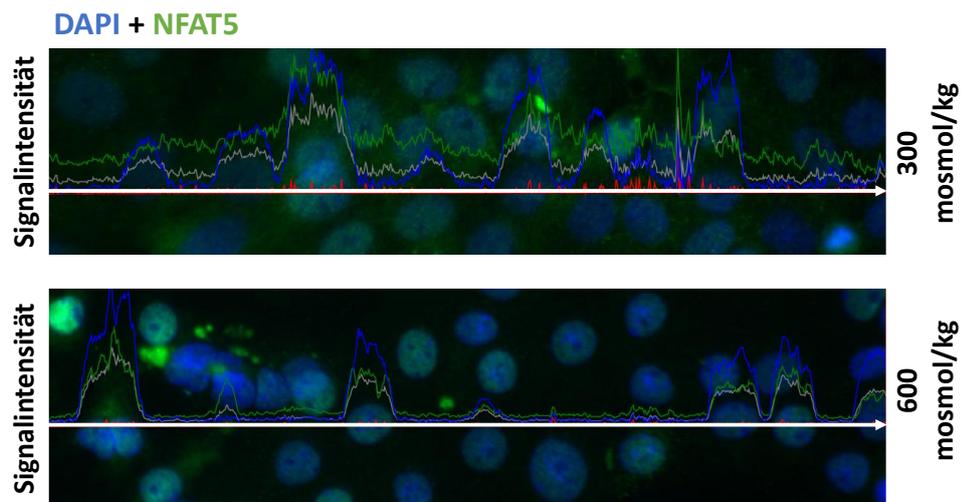


Abbildung 11: Beispiel einer Signalintensitätsanalyse mittels *Zen Blue*.

Dargestellt sind Beispielaufnahmen von NFAT5 Färbungen bei 300 mosmol/kg (oben) sowie 600 mosmol/kg (unten). DAPI diente als Kernsignal. Für beide Präparate galten identische Färbebedingungen sowie Geräte- und Lichteinstellungen. Die Intensitäten beider aufgenommenen Signale wurde in einem repräsentativen Bereich des Präparats mittels der *Zen Blue-Software* ermittelt und sind durch den weißen Pfeil dargestellt. Die Software zeigt zusätzlich immer die Signalintensität im roten Kanal an, welcher aber für diese Beispielaufnahme mit keinem Fluorophor-gekoppeltem Antikörper belegt wurde und daher zu vernachlässigen ist.

4.2.16.2 Berechnung der Lamellipodienfläche

Die Flächenmessung der Lamellipodien wurde im Kanal der Phalloidin-Färbung vorgenommen. Da Phalloidin benutzt wird, um das Aktin-Zytoskeletts anzufärben, können somit die Zellgrenzen erkennbar gemacht werden. Dazu wurde die *Zen Blue-Software* verwendet, die aus dem umrissenen Bereich eine Fläche in Pixel bestimmt hat. Pro Präparat wurde immer mindestens von 4 Zellen die Fläche der Lamellipodien bestimmt.

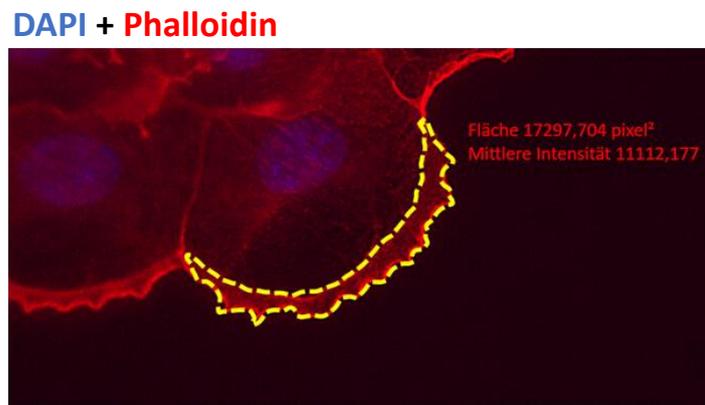


Abbildung 12: Beispielmessung der Lamellipodienfläche der Zellen.

Dargestellt ist eine Beispielaufnahme von einer Phalloidin-Alexa Fluor™-568-Färbung. DAPI diente als Kernsignal. Für alle Präparate galten identische Färbebedingungen sowie Geräte- und Lichteinstellungen. Die Lamellipodienfläche beider Signale wurde mittels der *Zen Blue-Software* ermittelt.

4.3 Etablierung einer primären Maus-Nierenzellkultur

4.3.1 Organentnahme und Kultivierung

Mäuse mit dem gewünschten Phänotyp wurden im ZMG angemeldet und von den Tierpflegern von den Zuchttieren separiert. Am darauffolgenden Tag wurden diese Mäuse unter CO₂ narkotisiert und final durch zervikale Dislokation getötet. Anschließend erfolgte die Entnahme der Nieren. Jedes Paar Nieren wurde in ein separates 15 ml Falcon in kaltem PBS aufgenommen. Nach Entnahme beider Nieren wurden IMCD-Zellen nach dem Protokoll von FAUST et al. isoliert [87]. Dazu wurde die Papille mit einer Schere ausgeschnitten und mit einem Skalpell zerkleinert. Die zerkleinerten Papillenfragmente wurden mit einer Enzymlösung bestehend aus Hyaluronidase (2 mg/ml) und Collagenase (2,2 mg/ml) 1 h bei 37°C unter Schütteln inkubiert. Anschließend wurde die Lösung durch mehrmaliges Auf- und Abpipetieren homogenisiert und weitere 30 min bei 37°C unter Schütteln inkubiert. Danach wurde die Lösung für 5 min bei 400 x g zentrifugiert, der Überstand verworfen und in PBS-Lösung gewaschen. Nach erneuter Zentrifugierung für 5 min bei 400 g wurde die Lösung im Primärzellkulturmedium aufgenommen und 24 h im Brutschrank bei 37°C und 5 % CO₂ inkubiert. Anschließend wurde das Medium komplett abgenommen und alle nicht abgesetzten Zellen und restlichen unverdauten Lipid- und Organfragmente durch Waschen mit PBS entfernt. Die Zellen wurden mit frischem Medium weiter unter 37°C und 5 % CO₂ im Brutschrank kultiviert.

4.3.2 Ex-vivo Knockout von NFAT5

Es wurde ein konditionelles *Knockout*-System in Mäusen über eine Tamoxifen induzierbare Ube-Cre/ERT2-Maus-Linie etabliert. Eine Ube-Cre/ERT2^{+/-} NFAT5^{flx/wt} Maus wurde freundlicherweise von KÜPER et al. zur Verfügung gestellt [96]. Durch Verpaarung der Mäuse innerhalb des Stammes, durch Tierpfleger des Uniklinikums Halle (Saale), konnte eine Ube-Cre/ERT2^{+/-} NFAT5^{flx/flx} Maus generiert werden. Dieser Stamm besitzt eine ubiquitäre Tamoxifen induzierbare Cre-Aktivität, welche unter der Kontrolle des ubiquitären C-Promotors liegt. Das Cre/ERT2 Fusionsprotein besteht aus der Rekombinase Cre fusioniert an einen mutierten humanen Östrogen-Rezeptor, welcher nicht seinen natürlichen Agonisten 17β-Estradiol, sondern 4-Hydroxytamoxifen (4-OH-TM) bindet. Ohne eine Induktion ist Cre/ERT2 im Cytoplasma lokalisiert. Erst durch die Zugabe von 4-OH-TM transloziert es in den Kern, wo die Cre Rekombinase aktiv werden kann. Tamoxifen

metabolisiert in der Leber zu 4-OH-TM, welches der eigentliche Agonist ist (siehe Abbildung 28). Nach Organentnahme des jeweiligen Maus-Genotypes wurden die Primärzellen in Kultur genommen. Nach 48 h Kultivierung der Zellen unter den jeweiligen Bedingungen wurde 4-OH-TM für 24 h zugegeben. Anschließend wurde das Medium wieder auf die jeweilige Osmolalität gewechselt und weitere 3 Tage inkubiert. Um den *Knockout* von NFAT5 zu bestätigen, wurde sowohl RNA aus den Zellen isoliert und anschließend mittels qPCR analysiert als auch Immunfluoreszenz-Bilder aufgenommen.

4.4 Generierung CRISPR/Cas9-vermittelter-defizienter-mpkCCD-Zellen

Zur Generierung von CRISPR/Cas9-vermittelten-defizienten-Zellen wurde ein 1-Plasmid lentivirales System genutzt. Dieser Vektor enthält den kodierenden Bereich für die Nuklease Cas9 sowie einen U6 Promotor und das nötige *guide*-RNA (gRNA) *scaffold*. Für eine gezielte Mutation eines spezifischen Gens wurde eine Zielsequenz in den lentiCRISPRv2 Vektor inkloniert. Als Kontrolle wurde eine AG-interne Kontroll-*guide*-RNA verwendet, die keine Zielsequenz bindet (*Scramble*-gRNA = ATATCCGGAATTCGCGCGAT) und im weiteren Verlauf als Scr-gRNA bezeichnet wird. Diese synthetische gRNA wurde vor dem Beginn der experimentellen Arbeit dieser Dissertation generiert und bestätigt. Zur Generierung von gRNA-Sequenzen für eine CRISPR/Cas9-vermittelte-Mutation der Zielgene wurde das online *tool* CHOPCHOP verwendet [97].

4.4.1 CRISPR/Cas9 Vektor-Klonierung

4.4.1.1 Verdau des lentiviralen Vektors

Der lentivirale Vektor lentiCRISPRv2 [98] wurde mittels BsmBI für 30 min bei 37°C nach folgendem Schema verdaut:

Tabelle 6: BsmBI-Verdau des lentiviralen Vektors lentiCRISPRv2

| Komponenten | Menge |
|------------------|----------|
| lentiCRISPRv2 | 5 µg |
| BsmBI | 1 µl |
| 10x Tango Buffer | 6 µl |
| DTT (0,1 M) | 1 µl |
| H ₂ O | ad 60 µl |

Der verdaute Ansatz wurde auf ein Agarosegel aufgetragen (4.2.8), um das mittels BsmBI geschnittene Fragment vom restlichen Vektor der Größe nach zu trennen. Der geschnittene Vektor wurde anschließend nach 4.2.9.2 aufgereinigt.

4.4.1.2 Oligonukleotid-Zusammenlagerung

Die von CHOPCHOP generierten Zielsequenzen wurden mit für das lentiCRISPRv2 Plasmid spezifischen Überhängen ausgestattet und die Oligos von der Firma Biologio bestellt.

Tabelle 7: Beispiel für die Oligonukleotid-Generierung aus der Zielsequenz.

| | |
|---------------------------|---|
| Zielsequenz (gRNA) | CAATCTCGTCGTTTGACCCC |
| Oligo 1 (5'-3') | CACCG -CAATCTCGTCGTTTGACCCC |
| Oligo 2 (5'-3') | AAAC -GGGGTCAAACGACGAGATTG- C |

Ansatz je Oligopaar:

Tabelle 8: Reaktionsansatz für die Oligonukleotid-Zusammenlagerung

| Komponenten | Menge |
|---------------------------------|--------------|
| Oligo 1 (100 mM) | 1 µl |
| Oligo 2 (100 mM) | 1 µl |
| 10x T4 Ligasepuffer | 1 µl |
| Nukleasefreies H ₂ O | 7 µl |
| 10 µl Gesamtvolumen | |

Die Reaktion wurde in einem Thermocycler nach dem folgenden Programm durchgeführt:

Tabelle 9: Programm der Oligonukleotid-Zusammenlagerung

| Programmschritt | Zeit |
|---------------------------|-------------|
| 37°C | 30 min |
| 95°C | 5 min |
| langsam Abkühlen auf 25°C | 5°C/min |

Anschließend wurde der Ansatz 1:200 verdünnt.

4.4.1.3 Ligation und Plasmidaufreinigung

Die Ligationsreaktion erfolgte nach dem folgenden Reaktionsansatz bei 4°C über Nacht.

Tabelle 10: Ansatz für die Ligationsreaktion von verdautem lentiCRISPRv2 und einem Oligonukleotid-Paar.

| Komponenten | Menge |
|---------------------------------|-----------------|
| lentiCRISPRv2 verdautes Plasmid | 50 ng |
| Oligo-Paare (1:200) | 1 µl |
| 10x T4 Ligase Puffer | 1 µl |
| ATP (0,1 mM) | 1 µl |
| T4-Ligase | 1 µl |
| H ₂ O | ad 10 µl |

Das erhaltene Plasmid wurde analog zu 4.2.2 in chemisch kompetente DH5 α transformiert, die DNA mittels Mini-Präparation isoliert (4.2.3), mit dem U6 Primer sequenziert (3.11.3, U6 Primer *sense*) und für größere Maßstäbe mittels Maxi-Präparation erneut isoliert (4.2.5).

4.4.2 Virusproduktion

Die Produktion der Viren-Partikel und alle nachfolgenden Schritte, die virushaltiges Material enthielten, erfolgten nach Gentechnik S2-Standards.

4.4.2.1 Hek-293T Transfektion

Für die Transfektion der mpkCCD-Zelllinie mit den gRNA-tragenden lentiCRISPRv2-Vektoren und der Scr-Kontrolle wurden Viren-Partikel produziert. Als Produktionssystem wurden HEK293T-Zellen verwendet, die aufgrund der Expression des SV40 LT-Antigens zur Überexpression von lentiviralen Vektoren, die einen SV40 *origin* tragen, geeignet sind[99]. Dafür wurden 2×10^6 HEK-293T-Zellen in Zellkulturschalen (100 mm) ausgesät und bis zu einer Konfluenz von 70 % in DMEM-Medium mit 10 % FKS inkubiert. Zur Herstellung der Viruspartikel wurden die Vektoren pLP1, pLP2, pLP/VSVG (siehe 3.7) und das Transfektionsreagenz TurboFect verwendet. Der folgende Ansatz wurde dafür hergestellt:

Tabelle 11: Ansatz für die Transfektion von HEK-293T Zellen einer 100 mm Schale.

| Komponenten | Menge |
|--------------------------------|-------------------|
| pLP1 | 7,2 µg |
| pLP2 | 2,4 µg |
| pLP/VSVG | 4,0 µg |
| lentiCRISPRv2+spezifische gRNA | 10,4 µg |
| Turbofect | 46 µl pro Ansatz |
| serumfreies DMEM-Medium | 300 µl pro Ansatz |

Der Reaktionsansatz wurde 15 min bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend tropfenweise auf eine 100 mm HEK-293T Schale pipettiert. Nach 24 h Inkubation der Zellen bei 37°C wurde das Medium gewechselt (10 ml frisches Medium) und die Zellen weitere 48 h im Brutschrank inkubiert. Nachfolgend wurde der Überstand aus den Schalen entnommen, für 5 min bei 300 x g zentrifugiert und abschließend filtriert (0,45 µm). Bis zur geplanten Transduktion der Zielzellen wurde der virushaltige Überstand bei -20°C weggefroren. Es erfolgte kein spezifischer Nachweis für transduzierte Viren im Mediumsüberstand.

4.4.2.2 *Transduktion der mpkCCD Zelllinie*

Die zu transfizierenden mpkCCD-Zellen wurden in 12-*well* Platten ausgesät (je zwei *wells* pro gRNA-Konstrukt), sodass nach einer Inkubationszeit von 24 h eine Konfluenz von 50-60 % erreicht wurde. Danach wurde das Medium vollständig abgenommen und 1 ml frisches Medium sowie 1 ml Virus-Überstand mit dem lentiCRISPRv2-gRNA-Konstrukt auf jeweils zwei *wells* gegeben. Die Zellen wurden für 48 h bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Danach wurde das Medium vollständig entfernt, die Zellen durch Trypsin/EDTA abgelöst und auf 25 cm²- Zellkultur-Flaschen verteilt. Die Selektion der Zellen und die weitere Kultivierung erfolgte mit Puromycin-haltigem Medium (2 µg/ml).

4.4.3 **Genotypische Charakterisierung**

4.4.3.1 *Nachweis des CRISPR/Cas9-vermittelten-Doppelstrangbruches im Ziellokus*

Für den Nachweis der Aktivität und des Schnittes im Ziellokus der Cas9 mit der gebundenen gRNA wurde zunächst aus den behandelten Zellen DNA isoliert (4.2.6) und mittels PCR und spezifischen Primern (3.11.2) der Ziellokus amplifiziert. Nachfolgend erfolgte eine Analyse mittels Sangersequenzierung (4.2.4). Bei Beobachtung multipler *Peaks* an derselben Position (Abbildung 13) wurde die Zellkultur als Mischkultur bezeichnet.

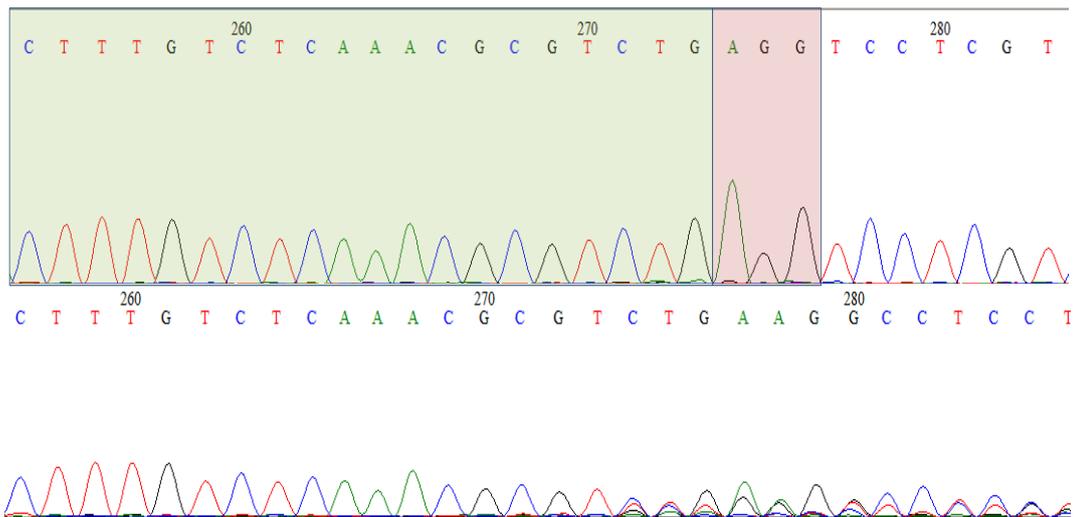


Abbildung 13: Beispiel einer Mischkultursequenz.

Dargestellt ist eine Wildtyp-Sequenz (oben) sowie die Sequenz einer Mischkultur (unten). Während in der Wildtyp-Sequenz nur ein definierter Peak an jeder Position zu erkennen ist, sind in der Mischkultur multiple Peaks an einer Position. Dies ist das Resultat des CRISPR/Cas9-vermittelten-Doppelstrangbruches (DSB) und des darauffolgenden Reparaturmechanismus NHEJ (*non-homologous end joining*). Durch das Fehlen eines *template*-Stranges findet in jeder Zelle eine andere DNA-Reparatur statt. Die grüne Fläche stellt den Zielbereich der gRNA dar und der rote Bereich das PAM-Motiv.

4.4.3.2 Vereinzlung

Um eine defiziente Zelllinie mit einer spezifischen Mutation zu erzeugen, musste die Mischkultur vereinzelt werden. Dafür wurden die Zellen trypsiniert, gezählt und so weit verdünnt, dass eine Konzentration von **10 Zellen/ml**, **5 Zellen/ml** sowie **2,5 Zellen/ml** erreicht wurde. Aus diesen drei Verdünnungsstufen wurden jeweils 100 μ l pro *well* auf eine 96-*well*-Platte verteilt (Abbildung 14).

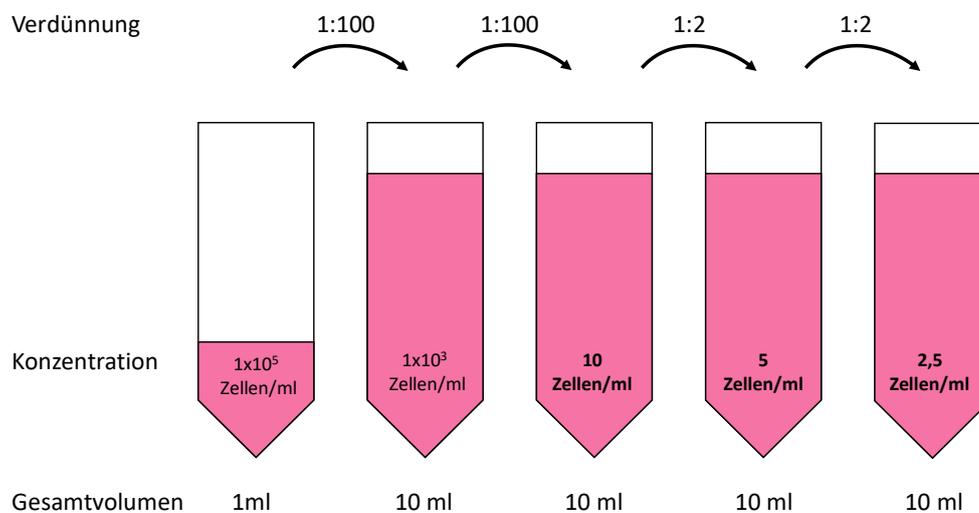


Abbildung 14: Verdünnungsreihe zur Zellvereinzlung

Nach zweiwöchiger Kultivierung der Zellen im Brutschrank bei 37°C und 5 %CO₂ wurde die 96-*well*-Platte durch ein Mikroskop auf Kolonien untersucht. *Wells* mit vitalen Zellen, die in einer Einzelkolonie wuchsen, wurden markiert und weiter bis zu einer Konfluenz von 80-90 % kultiviert und anschließend in eine 6-*well*-Platte überführt. Beim erneuten Erreichen von einer Konfluenz von 80-90 % wurde DNA der gewählten Einzelklone isoliert (4.2.6), mit spezifischen Primern amplifiziert (4.2.7), aufgereinigt (4.2.9.1) und anschließend mit dem sense Primer sequenziert (4.2.4).

4.4.3.3 Tracking of InDels by DEcomposition (TIDE)

Um die erhaltenen Sequenzdaten auszuwerten wurde das freizugängliche *online-tool* TIDE verwendet [100]. Für die Analyse mittels TIDE war es notwendig eine WT-Sequenz als Referenz mitzuführen. Das Programm ermittelt dann, durch den Vergleich der WT-Sequenz gegen die gRNA-behandelte Sequenz, die jeweilige Mutationswahrscheinlichkeit auf beiden Allelen. Die Mutationswahrscheinlichkeiten geben dementsprechend Auskunft, ob es sich um einen wirklichen *Knockout* des Zielgens durch eine Leserasterverschiebung handelt.

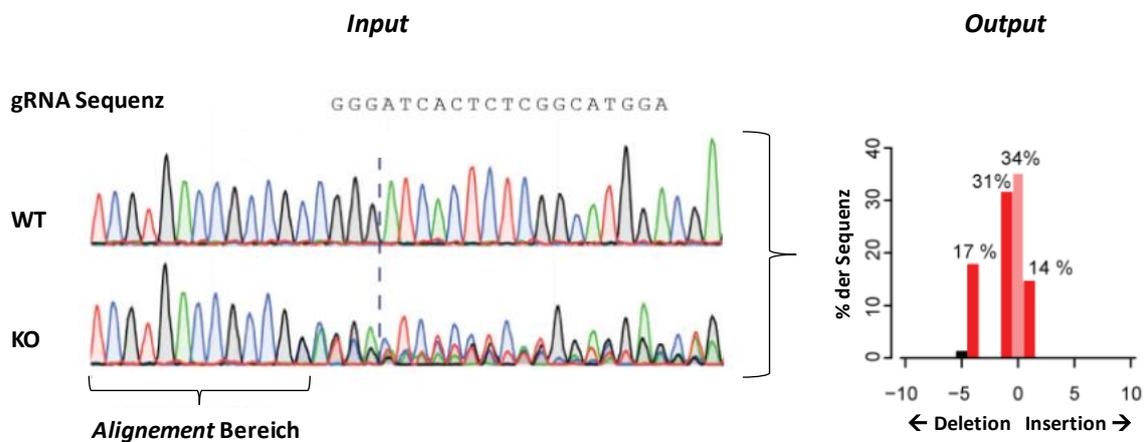


Abbildung 15: Schematische Darstellung der Sequenzanalyse durch das TIDE webtool.

Für die Sequenzanalyse wird die gRNA Sequenz, eine WT-Referenzsequenz sowie die zu untersuchende KO-Sequenz benötigt. Aus diesen Daten errechnet das Programm die möglichen Deletionen und Insertion in der Sequenz (Screenshot von der TIDE Internetseite, <http://shinyapps.datacurators.nl/tide/>, Datenstand: 14.07.2022).

4.4.3.4 TOPO-TA Klonierung

Um einerseits die bioinformatische Analyse von TIDE zu bestätigen und zusätzlich die genaue Mutation im Zielgen zu ermitteln, wurde das DNA-Amplifikat, welches die Mutation enthält, in einen TOPO-TA-Vektor nach Tabelle 12 zwischenkloniert.

Tabelle 12: Ansatz für die Zwischenklonierung in den TOPO-TA-Vektor

| Komponenten | Menge |
|-------------------------------|--------|
| aufgereinigtes PCR-Amplifikat | 4,5 µl |
| TOPO-TA-Vektor | 0,5 µl |
| Salzlösung | 1 µl |
| 6 µl Gesamtvolumen | |

Nach Klonierung wurde das Plasmid in *DH5α E. coli* transformiert und auf Ampicillin und X-Gal Platten über Nacht bei 37°C inkubiert. X-Gal dient für eine Blau-Weiß-Selektion. Die Position der Insertion von DNA-Amplifikaten im TOPO-TA-Vektor enthält das Gen für die β -Galactosidase. Durch Einfügung des Amplifikats wird die β -Galactosidase funktionsunfähig. Die β -Galactosidase kann den Farbstoff X-Gal in einen blauen Farbstoff spalten (5,5'-Dibromo-4,4'-Dichloro-Indigo) [101]. Transgene Organismen können den Farbstoff dementsprechend nicht mehr spalten und bilden folglich weiße Kolonien. Es wurden pro Amplifikat 10 Klone gepickt, zirkuläre DNA isoliert (4.2.3) und anschließend mit dem M13 sense Primer sequenziert (3.11.3, M13 *sense*).

4.5 Phänotypische Charakterisierung defizienter Zellen

4.5.1 Migrations- und Proliferationsanalyse

Für die Migrations- und Proliferationsversuche wurden die Zellen unter den jeweiligen Versuchsbedingungen kultiviert und an einem IncuCyte® an der *Core Facility Imaging* der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg im Charles-Tanford-Proteinzentrum durchgeführt und über einen Zeitraum von 24 h Daten aufgenommen. Die Datenauswertung erfolgte über die IncuCyte®-Software.

4.5.1.1 Migration

Für die Bestimmung des Migrationsverhaltens am IncuCyte® mussten die Zellen vor Aufnahme des Experiments in eine 96-well IncuCyte® ImageLock- Zellkulturschale ausgesät werden. Die Zellzahl wurde so gewählt, dass die Zellen im *well* eine Konfluenz von 100 % vor Versuchsstart aufwiesen. Mittels eines *WoundMakers* wurde dem konfluenten Zellrasen dann eine Wunde definierter Breite zugefügt (700-800 µm). Das Medium wurde anschließend durch Ausschlagen entfernt und anschließend mit PBS gewaschen und das Medium erneuert (100 µl/*well*). Die Zellkulturschale wurde anschließend in das IncuCyte® *Live-Cell Analysis*-System innerhalb eines Brutschranks gestellt (37°C, 5 % CO₂). Über eine

Kamera wurde dann die Zellmigration für 24 h betrachtet, indem alle 4 h zwei separate Bildaufnahmen pro *well* erfolgten. Die Auswertung der Migration erfolgte durch die Bestimmung der *relative wound density* (RWD). Die RWD ist ein auf die Dichte der Zellregion relativierter prozentualer Wert der Wunddicke und setzt sich wie folgt zusammen (IncuCyte® ZOOM-Manual Scratch Wound Cell Migration & Invasion Assays):

$$\%RWD(t) = 100 \cdot \frac{(w(t)-w(0))}{(c(t)-w(0))}$$

$w(t)$ = Dichte der Wunde zu einem bestimmten Zeitpunkt (t)

$c(t)$ = Dichte der Zellregion zu einem bestimmten Zeitpunkt (t)

Die RWD für jeden Messzeitpunkt wurde von der Software pro *well* angegeben und nachfolgend in GraphPad Prism übernommen. Für den Zeitpunkt bis 8 h nach Migrationsstart wurden die Werte zusätzlich einer linearen Regression unterzogen. Die gebildeten Anstiege für jedes technische Replikat wurden gemittelt und auf die jeweiligen Kontrollen normalisiert wodurch eine relative Migrationsänderung (relativ zur Kontrolle) angegeben werden konnte.

4.5.1.2 Proliferation

Zur Bestimmung der Proliferation wurden die jeweiligen Zellen in 96-*well* Platten ausgesät und 24 h inkubiert. Nachfolgend wurden die Zellen über das IncuCyte® *Live-Cell Analysis*-System für 48 h über eine Kamera alle 4 h dokumentiert.

Die Regression der Graphen aus Abbildung 39 wurde in GraphPad Prism mittels einer Gleichung für exponentielles Wachstum durchgeführt:

$$y = y_0 \cdot e^{kx}$$

y = relative Wachstumsrate (%)

x = t (h)

Mit den ermittelten Geschwindigkeitskoeffizienten (k) wurde anschließend die Verdopplungszeit (t_d) der Zellen bestimmt:

$$t_d = \frac{\ln(2)}{k}$$

4.5.2 Soft-Agar-Assay

Zur Bestimmung des Transformationspotentials der untersuchten Zellen wurde der Soft-Agar-Assay durchgeführt. Nach 2-wöchiger Inkubation der Zellen wurde die Koloniegröße und Anzahl bestimmt. Vor Start des Experiments wurde in 48-*well* Platten ein Basis-Agar (0,5 %) gegossen. Hierfür wurde autoklavierte 2 %ige Agarose mit entsprechendem Medium 1:4 verdünnt und in die Kavitäten pipettiert. Zum Aushärten des Basis-Agars wurden die Platten bei 4°C und bis zum Start des Experimentes gelagert. Zu Beginn wurden 62.500 Zellen in 4 ml Medium gegeben. Dazu wurden 500 µl FKS pipettiert. Dieser Ansatz wurde danach für 30 min im Brutschrank (37°C, 5 % CO₂) inkubiert. Danach wurden zum Ansatz 500 µl aufgewärmte 2 %ige Agarose gegeben, durch Auf- und Abpipettieren gut durchmischt und sofort davon 200 µl in die *wells* auf den Basis-Agar pipettiert (final 2500 Zellen pro *well*). Für jeden Zelltyp erfolgte eine 2-fach-Bestimmung pro Experiment. Die Zellkulturplatte wurde anschließend für 1 h unter der Zellkulturbank stehen gelassen und 200 µl Medium in die *wells* auf den Haupt-Agar gegeben. Über einen Zeitraum von 2 Wochen wurde die Platte dann im Brutschrank (37°C, 5 % CO₂) inkubiert, unter Erneuerung des Mediums aller drei Tage. Nach zwei Wochen wurden an einem Lichtmikroskop Bilder von verschiedenen Ebenen der *wells* aufgenommen. Die Bilder wurden dann unter Verwendung des ImageJ-Programms ausgewertet [102]. Zunächst wurden alle Ebenenbilder eines *wells* in ImageJ geöffnet und die Farbtiefe auf 8 Bit eingestellt. Danach wurde aus allen Bildern ein Stapelbild angefertigt, sodass alle Ebenen auf eine projiziert wurden (*Z projection*). Von diesem Stapelbild wurden Hintergrundsignale bis zu einer Grenze von 100 Pixeln abgezogen. Der Schwellenwert des Bildes wurde dann auf 212 Pixel eingestellt und die Partikel von 70-2000 Pixel Größe analysiert und gezählt. Die weitere Verarbeitung der erhaltenen Daten erfolgte mit GraphPad Prism.

4.6 Analyse des globalen Genexpressionsprofils

Für die Analyse des globalen Genexpressionprofils wurden die Zellen in 6-*well* Platten ausgesät. Die Zellzahl wurde so gewählt, dass das *well* nach einer Inkubationszeit von 96 h eine Konfluenz von 80-90 % aufwies. Es wurden Zellen bei 300 mosmol/kg Medium-Osmolalität ausgesät, sowie Zellen, die zuvor für 72 h an 450 mosmol/kg adaptiert wurden bei 600 mosmol/kg ausgesät. Die RNA wurde nach 4.2.10 isoliert und dessen Qualität über die Aufnahme eines Absorptionsspektrums (Biophotometer D30) überprüft. Zusätzlich wurde die Adaption an die erhöhte Osmolalität mittels qPCR (4.2.11) des

nierenspezifischen, osmolalitätsabhängigen Gens *Aqp2* überprüft. Bis zum Versand wurde die RNA bei -80°C gelagert. Die RNA-Sequenzierung und bioinformatische Auswertung der Daten wurde durch die Firma Novogene Co, Ltd durchgeführt (siehe Anhang 8.3).

4.7 Etablierung von zweifach-defizienten-mpkCCD-Zellen

Zur Untersuchung der weiteren Funktion von RANBP3L-defizienten-Zellen wurde zusätzlich noch SPARC in den mpkCCD-Zellen funktionell ausgeknockt. Da diese mpkCCDs bereits eine aktive Cas9 aufweisen, musste nur noch ein neues Vektorkonstrukt mit neuer gRNA und neuer Selektion (Rotfluoreszenz) ausgewählt werden. Das Plasmid wurde freundlicherweise von der AG HECKL der Universitätsklinik und Poliklinik für Pädiatrie I Halle (Saale) bereitgestellt (3.7). Auch hier wurde zusätzlich zu spezifischen gRNAs noch eine Kontroll gRNA (Scr-gRNA) kloniert. Die Vektor-Klonierung, Transfektion und Transduktion erfolgte dabei analog zu den Punkten 4.4.1 - 4.4.2. Nach 48 h Kultivierung der mpkCCD-Zellen mit Virusüberstand wurde das Vorhandensein rotfluoreszierender Zellen mittels Fluoreszenzmikroskopie als Zeichen der erfolgreichen Transduktion analysiert. Nachfolgend erfolgte eine Sortierung der Zellen am LSRFortessa™ Cell Analyzer, wobei nur rotfluoreszierende Zellen weitergeführt wurden. Anschließend wurden die Zellen auf 6-well Platten überführt und bis zu Konfluenz unter $2\ \mu\text{g/ml}$ Puromycin kultiviert. Danach erfolgte die DNA-Isolation und Einzelklonengenerierung nach oben beschriebenenem Schema (4.4.3).

4.8 Behandlung der Zellen mit TGF- β 1

Für funktionelle Charakterisierungen wurden die Zellen mit TGF- β 1 des Herstellers PromoCell (Heidelberg, Deutschland) behandelt. Dafür wurde zuerst das lyophilisierte TGF- β 1 in 10 mM Citronensäure ($\text{pH} = 3,0$) gelöst (50 mM *stock* Konzentration) und bis zur Verwendung bei -20°C gelagert. Die Zellen wurden mit 10 ng/ml für 48 h mit TGF- β 1 inkubiert.

4.9 Promotoranalysen

4.9.1 Suche nach evolutionär konservierten Sequenzen (ECRs)

Um Sequenzabschnitte in verschiedenen Spezies zu vergleichen, wurde das freizugängliche *ECR Browser tool* verwendet [103]. Dieser Browser bietet die Möglichkeit innerhalb von 12

verschiedenen Spezies nach konservierten Sequenzen zu suchen. Für *Ranbp3l* wurde ein Promotorbereich von ca. 2000 bp *upstream* vom Startcodon gewählt. Hier konnten mehrere konservierte Bereiche identifiziert werden. Diese konnten nun durch eine weitere Datenbank, JASPAR, auf Transkriptionsfaktorerkennungssequenzen untersucht werden [104]. Laut JASPAR bindet NFAT5 an der DNA-Sequenz NTTTTCCA (siehe Anhang 8.6).

4.9.2 Klonierung von *Ranbp3l*-Promotor-Fragmenten

Aus muriner DNA wurde mittels PCR und spezifischer Primer ein 2 kb sowie 0,8 kb großes *Ranbp3l*-Promotor-Fragment (siehe 3.11.5, *Ranbp3l*-Prom1-2 kb und *Ranbp3l*-Prom2-0,8 kb) amplifiziert (ab Startcodon *upstream* gezählt). Die Primer wurden so gewählt, dass das Promotor-Fragment spezifische Restriktionserkennungssequenzen als Überhänge bekam. Die Produkte wurden wie in Absatz 4.2.9.2 beschrieben aus dem Gel aufgereinigt und in einen TOPO-TA-Vektor zwischenkloniert (4.4.3.4). Der erhaltene TOPO-TA-Vektoren mit dem jeweiligen murinen *Ranbp3l*-Promotor-Fragment (2 kb und 0,8 kb) und das Luciferase enthaltende PGL3 Plasmid (3.7) wurden mit den Restriktionsenzymen SacI und XhoI bei 37°C für 1 h geschnitten und danach auf einem Gel aufgetragen.

Tabelle 13: Ansatz für den Restriktionsverdau

| Komponenten | Menge |
|----------------------|----------|
| Plasmid | 1 µg |
| SacI | 1 µl |
| XhoI | 1 µl |
| 10x CutSmart™ Puffer | 5 µl |
| H ₂ O | ad 50 µl |

Das *Ranbp3l*-Promotor-Fragment sowie das geschnittene PGL3 *backbone* wurden aus dem Gel aufgereinigt und über Nacht bei 4 h nach folgendem Schema ligiert:

Tabelle 14: Ansatz für die Ligationsreaktion

| Komponenten | Menge |
|-----------------------------------|----------|
| PGL3-Plasmid | 50 ng |
| <i>Ranbp3l</i> -Promotor-Fragment | 45 ng |
| 10x T4 Ligase Puffer | 2 µl |
| ATP (0,1 mM) | 1 µl |
| T4-Ligase | 1 µl |
| H ₂ O | ad 20 µl |

Das Vektor-Insert Verhältnis betrug dabei 1:3. Anschließend erfolgte wie in Punkt 4.2.2 bis 4.2.5 beschrieben die Transformation und die finale Maxi-Präparation der erzeugten Plasmide. Zur Verifizierung wurden die Plasmide mit den Primern RV-3 und GL-2 sequenziert (Primer siehe 3.11.3). Der Klonierungsprozess ist zusammenfassend in Abbildung 16 dargestellt. Im weiteren Verlauf wurden die erzeugten Plasmide PGL3-2 kb-mRanbp3l und PGL3-0,8 kb-mRanbp3l bezeichnet.

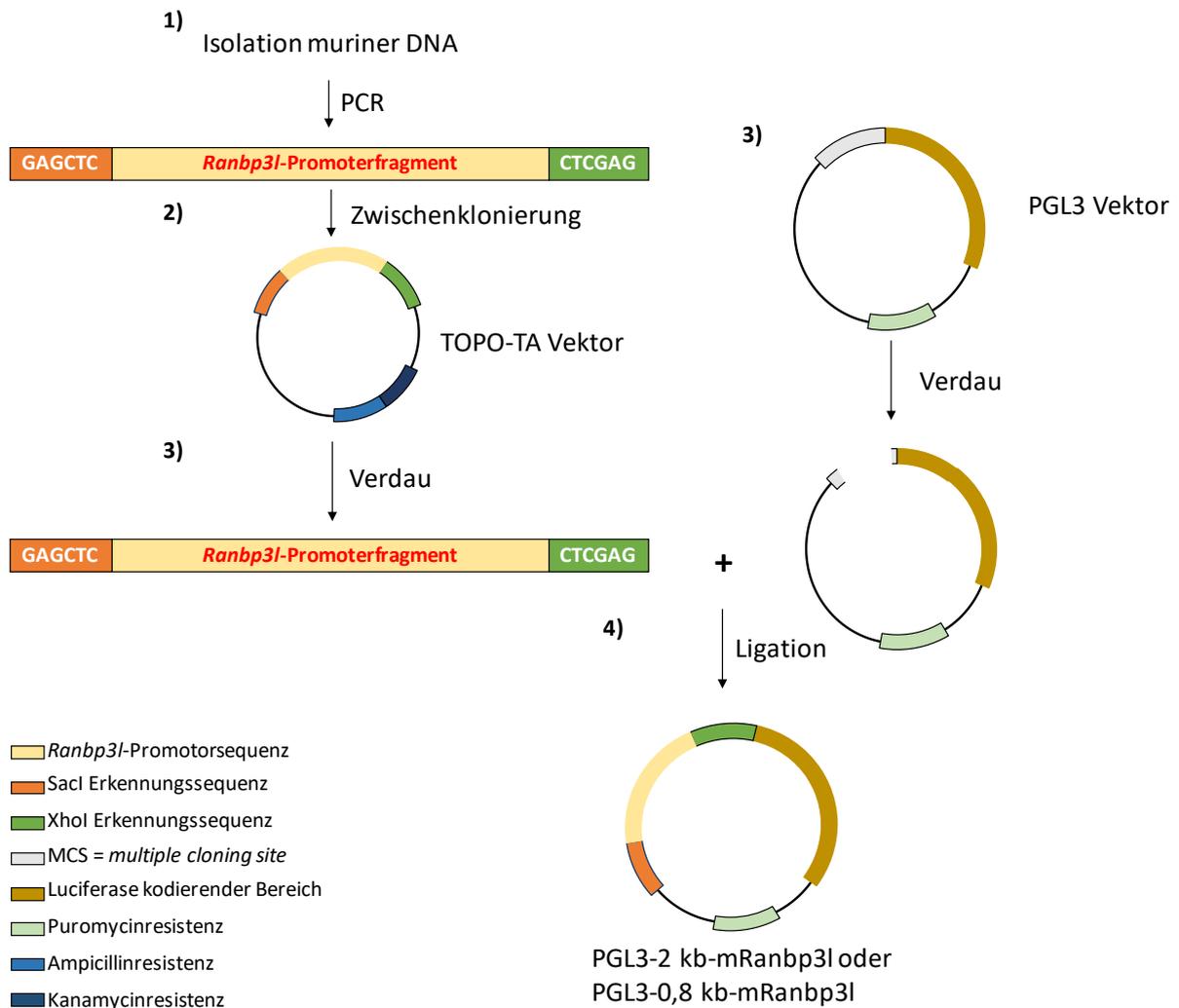


Abbildung 16: Schematische Darstellung der Klonierung von *Ranbp3l*-Promotorfragmenten in den PGL3 Vektor.

Zu Beginn wurde mit spezifischen Primern aus muriner DNA *Ranbp3l*-Promotorfragmente amplifiziert, welche als Überhänge Restriktionserkennungssequenzen (orange = *SacI*, grün = *XhoI*) enthielten (1). Dieses PCR-Fragment wurde in einen TOPO Vektor zwischenkloniert (2). Nun wurde das erzeugte TOPO-Plasmid und der PGL3 Vektor mit *SacI* und *XhoI* verdaut (3) und das *Ranbp3l*-Promotorfragment sowie das PGL3 backbone aus dem Gel extrahiert und zusammenligiert (4). Nach erfolgter Transformation und Aufreinigung konnte somit der PGL3 Vektor mit einem *Ranbp3l*-Promotorfragment (3,7, PGL3-2 kb-mRanbp3l oder PGL3-0,8 kb-mRanbp3l) erzeugt werden.

4.9.3 Quick change Mutagenese vom Ranbp3l-Promotor-Fragment

In dem Konstrukt PGL3-0,8 kb-mRanbp3l wurden die putativen NFAT5-Bindestellen durch das *QuickChange II Mutagenese* Kit mutiert. Aus der *QuickChange Primer Design* -Software der Firma Agilent wurden Primer bestimmt, die den gewünschten *Ranbp3l*-Promotor-Bereich mutieren (Primer siehe 3.11.5, Quick-Mut-1 und Quick-Mut-2). Die WT-Sequenzen sowie die erzeugten mutierten Sequenzen sind in Tabelle 15 dargestellt. Die erhaltenen Plasmide mit den mutierten Promotorbereichen (siehe 3.7, PGL3-0,8 bp-quick1-mRanbp3l, PGL3-0,8 bp-quick2-mRanbp3l, PGL3-0,8 bp-quick1+2-mRanbp3l) wurden erneut wie in Absatz 4.2.2 bis 4.2.5 beschrieben in *E. coli* transformiert und mittels Mini- und nachfolgender Maxi-Präparation aufgereinigt. Auch hier dienten zur Verifizierung die Primer RV-3 und GL-2 (3.11.3).

Tabelle 15: Mutierte NFAT5 Bindesequenzen im *Ranbp3l*-Promotor

| Komponenten | <i>Ranbp3l</i> -Promotor-Sequenz |
|-------------------------|----------------------------------|
| WT-Bindestelle 1 | GTACA TTTCCA TGCGC |
| Quick-Mut-Bindestelle 1 | GTACA AAAAAA TGCGC |
| WT-Bindestelle 2 | GATCT TTTCCA TTTCG |
| Quick-Mut-Bindestelle 2 | GATCT AAAAAA TTTCG |

4.9.4 Messung der Promotoraktivität

HEK-293T-Zellen wurden in 96-*well*-Platte ausgesetzt und für 24 h bei 37 C inkubiert. Darauf folgte die Transfektion mit den jeweiligen Promotorkonstrukten (3.7) und einem GFP-Kontrollplasmid (addgene # 6085-1). Nach 24 h wurden die Zellen auf Grünfluoreszenz untersucht. Bei erfolgreicher Transfektion wurde die Mediumosmolalität auf 450 mosmol/kg erhöht. Nach weiteren 24 h erfolgte die Lumineszenzmessung mit dem *Luciferase Assay System* von Promega nach Angaben des Herstellers.

4.10 Etablierung einer RANBP3L-überexprimierenden-Zelllinie

4.10.1 Klonierung des RANBP3L-FLAG Plasmids

Aus muriner cDNA wurde mittels spezifischer Primer der komplette für *Ranbp3l* proteinkodierende Bereich (NCBI Referenzsequenz: NM_198024.2) durch PCR amplifiziert (siehe 3.11.6, AscI Primer-*sense* und PacI Primer-*antisense*). Dafür wurden die Primer so designt, dass das erzeugte Konstrukt Restriktionsschnittstellen-Überhänge erhält, die

spezifisch von AscI und PacI erkannt werden. Das Fragment wurde nachfolgend wie in 4.4.3.4 beschrieben in einen TOPO-TA-Vektor zwischenkloniert. Im nächsten Schritt wurden der zwischenklonierte TOPO-TA+*Ranbp3l* Vektor und der Zielvektor (3.7, V180-Leervektor) mit den Restriktionsenzymen AscI und PacI analog zu Tabelle 13 inkubiert. Die Ligation erfolgte über Nacht nach analogem Prinzip wie in Tabelle 14 (Abbildung 17 zeigt kompletten Klonierungsprozess). Anschließend erfolgte wie in Punkt 4.2.2 bis 4.2.5 beschrieben die Transformation und die finale Maxi-Präparation des erzeugten Plasmids (siehe 3.7, V180-RANBP3L-Flag).

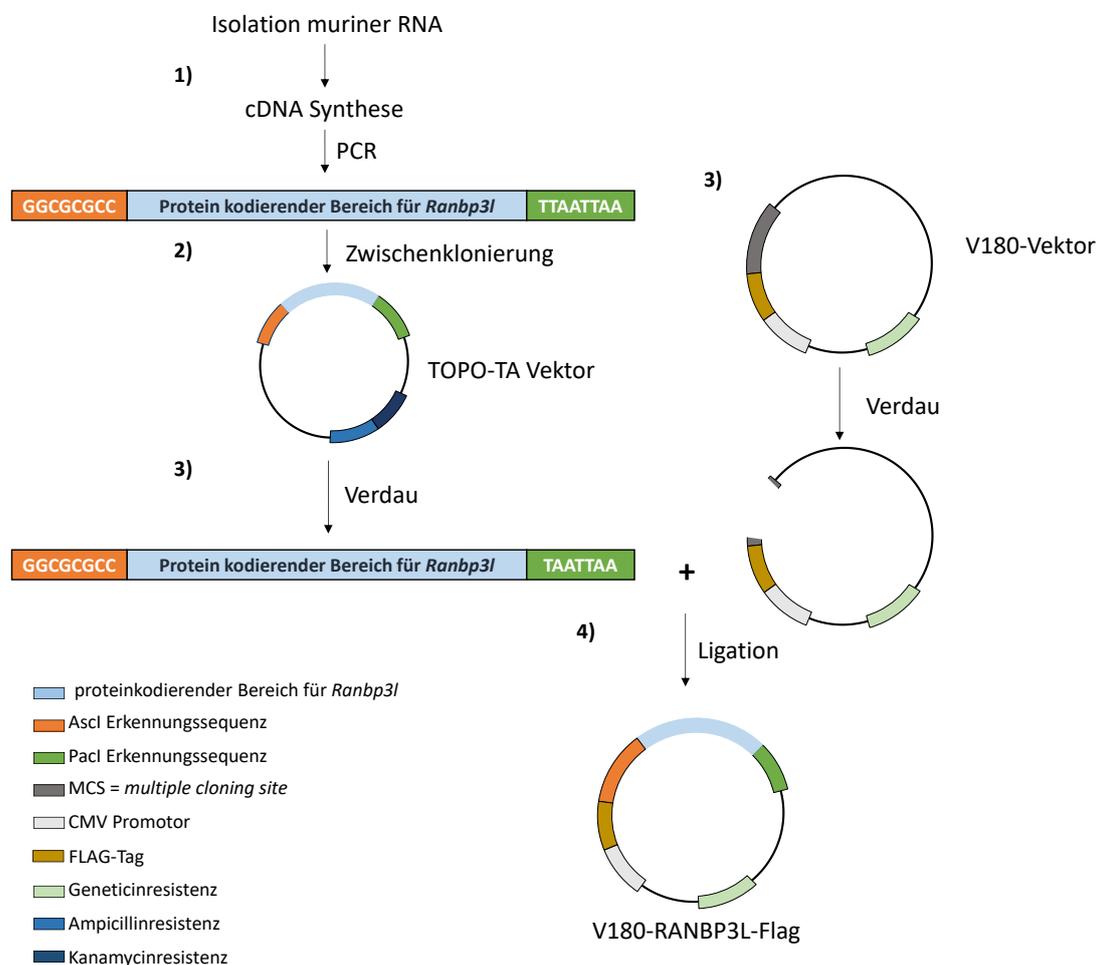


Abbildung 17: Schematische Darstellung der Klonierung des proteinkodierenden Bereichs von *Ranbp3l* in den V180 Vektor.

Zu Beginn wurde aus murinen Zellen RNA isoliert und in cDNA synthetisiert. Im weiteren Verlauf wurde mit spezifischen Primern der proteinkodierende Bereich von *Ranbp3l* (NCBI Referenzsequenz: NM_198024.2) aus der cDNA amplifiziert (1). Dieses besitzt zusätzlich als Überhänge Restriktionserkennungssequenzen (orange = PacI, grün = AscI). Dieses PCR-Fragment wurde in einen TOPO Vektor zwischenkloniert (2). Nun wurde das erzeugte TOPO Plasmid und der V180 Vektor mit PacI und AscI verdaut (3) und die *Ranbp3l* proteinkodierende Sequenz sowie das V180-Leervektor *backbone* aus dem Gel extrahiert und zusammenligiert (4). Nach Transformation und Aufreinigung wurde somit der V180 Vektor mit einem *Ranbp3l*-proteinkodierender Fragment erzeugt (3.7, V180-RANBP3L-Flag), welcher als Überexpressionsplasmid benutzt werden konnte.

Final wurde die erfolgreiche Klonierung des RANBP3L kodierenden Bereichs in den V180-Flag Vektor mittels Sequenzierung (4.2.4) der qPCR *Ranbp3l* Primer (siehe 3.11.4, *Ranbp3l*-real sense, *Ranbp3l*-real antisense) und des CMV-*sense* Primers (3.11.3) verifiziert.

4.10.2 Stabile Transfektion in mpkCCD-Zellen

Die mpkCCD-Zellen wurden in 12-*well* Platten so ausgesetzt, dass am Tag der Transfektion eine Konfluenz von 70-80 % vorlag. Das Volumen pro *well* betrug 2 ml. Die Transfektion des aus 4.10.1 generierten V180-RANBP3L-Flag-Plasmids sowie des leeren Plasmids als Negativkontrolle (3.7, V180-Leervektor) erfolgte nach folgendem Reaktionsansatz:

Tabelle 16: Reaktionsansatz für die Transfektion mittels TurboFect pro *well*.

| Komponenten | Menge | Serum freies Medium |
|---------------------------------|--------------|----------------------------|
| Vektor | 2 µg | 200 µl |
| TurboFect-Transfektions-Reagenz | 6 µl | |

Der Reaktionsansatz wurde gevortext und für 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden die 200 µl des Transfektionsansatzes tropfenweise pro *well* zugegeben und die Zellen für weitere 48 h bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Das transfizierte Plasmid enthält einen kodierenden Bereich für eine Neomycinresistenz. So wurden die transfizierten mpkCCD-Zellen mit 0,25 mg/ml G418 (Geneticin) versetzt und nachfolgend nur mit G418 versetztem Medium kultiviert.

4.10.3 Nachweis der Überexpression

Die Überexpression von RANBP3L in den mpkCCD-Zellen wurde auf RNA-Ebene durch eine qPCR auf *Ranbp3l* analysiert. Die Überexpression auf Proteinebene konnte anhand der Kernlokalisierung von RANBP3L und des existierenden Flag-Tags im V180 Vektor (der Flag-Tag ist direkt an den C-terminal für *Ranbp3l* kodierenden Bereich gebunden) mittels Immunfluoreszenz analysiert werden (Siehe Anhang 8.13.). Als Kontrolle dienten jeweils mit dem Leervektor stabil transfizierte Zellen.

4.11 Nutzung von frei zugänglichen online Datenbanken

4.11.1 Primerdesign mittels NCBI Primer-BLAST

Zur Generierung spezifischer Primer für PCR, qPCR oder diverse Klonierungen wurde das NCBI Primer-BLAST tool verwendet (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>, Stand 17.08.21) [91].

4.11.2 CRISPR/CAS9-vermittelter-Knockout

4.11.2.1 CHOPCHOP

Das gRNA Design für das CRISPR/Cas9 System wurde mittels CHOP-CHOP durchgeführt (<https://chopchop.cbu.uib.no>, Stand 17.08.21) [97].

4.11.2.2 TIDE

Eine CRISPR/Cas9-vermittelten-Mischkultur sowie Einzelklongenerierung wurde mittels einer *Tracking of Indels by DEcomposition* (TIDE)-Analyse verifiziert (<http://shinyapps.datacurators.nl/tide/>, Stand 17.08.21) [100].

4.11.2.3 Expasy

Die Einzelklon-DNA-Sequenzen wurden nun mittels Expasy in Protein-Sequenzen umgewandelt und somit die Proteinelänge der CRISPR/Cas9-vermittelten-Knockout-Klone analysiert (<https://web.expasy.org/translate/>, Stand 17.08.21) [105].

4.11.3 Genexpressionsanalysen

4.11.3.1 Morpheus

Die Morpheus Software des *Broad Institute* wurde zur Generierung von Heatmaps verwendet (<https://software.broadinstitute.org/morpheus/>, Stand 17.08.21).

4.11.3.2 TCGA

Die *The Cancer Genome Atlas* (TCGA)-Datenbank diente dazu, aus der Kohorte der Nierenzellkarzinompatienten Genexpressionsprofile zu erstellen und mit den Subtypen KIRC, KICH und KIRP zu vergleichen (<https://xenabrowser.net>, Stand 17.08.21) [82].

4.11.3.3 *The Human Protein Atlas*

Der humane Protein-Atlas wurde verwendet, um vorteilhafte und unvorteilhafte Gensets für das Nierenzellkarzinom mit entstandenen Genexpressionsprofil-Analysen von RANBP3L-KO-Zellen zu vergleichen (<https://www.proteinatlas.org/humanproteome/pathology>, Stand 17.08.21) [106].

4.11.3.4 *Gepia2*

Gene Expression Profiling Interactive Analysis 2 (Gepia2) wurde genutzt, um Kaplan-Meier-Plots einzelner Gene sowie Gensets zu generieren. Weiterhin wurde die Hauptkomponentenanalyse (*principal component analysis*, PCA) hiermit generiert. Die Hauptkomponentenanalyse ist dabei ein statistisches Verfahren, mit dem viele Variablen (Gene) zu wenigen Hauptkomponenten zusammengefasst werden, um so eine Darstellung der Daten in wenigen Plots zu ermöglichen. Dafür wird mathematisch eine Trendkurve über alle Werte gelegt (PC1) und wiederum eine zweite Trendkurve die senkrecht zur ersten steht (PC2). Dies kann für die Anzahl an existierenden Variablen wiederholt werden. Meistens decken aber bereits PC1 und PC2 den Großteil der Daten ab, womit durch einen einzigen Plot (X = PC1 und Y = PC2) eine Aussagekraft für alle Gene beschrieben werden kann (<http://gepia2.cancer-pku.cn>, Stand 17.08.21) [70].

4.11.3.5 *DAVID*

The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery, DAVID wurde zur Generierung von *KEGG-Pathway-Analysen* (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) genutzt (<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>, Stand 17.08.21) [107].

4.11.3.6 *GSEA*

Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) wurden mittels der Software des Broad Instituts generiert (<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/index.jsp>, Stand 17.08.21) [108].

4.11.3.7 *UALCAN*

Das *The University of ALabama at Birmingham CANcer data analysis Portal* (UALCAN) wurde für die Generierung der Heatmap aus Abbildung 9 verwendet (<http://ualcan.path.uab.edu/>, Stand: 17.08.2021)[83].

4.11.4 Promotorstudien

4.11.4.1 *ECR*

Zur Ermittlung von evolutionär konservierten Bereichen wurde die freizugängliche Datenbank *Evolutionary Conserved Regions* (ECR)-Browser benutzt. (<https://ecrbrowser.dcode.org>, Stand 17.08.21).

4.11.4.2 *JASPAR*

Zur Untersuchung der evolutionär konservierten Bereiche auf putative Transkriptionsfaktor Bindestellen wurde die Datenbank JASPAR genutzt (<http://jaspar.genereg.net>, Stand 17.08.21) [104, 109].

4.11.4.3 *QuikChange Primer Design*

Zum Design der Primer für eine Quick Change Mutagenese wurde die Software QuikChange Primer Design der Firma Agilent verwendet (<https://www.agilent.com/store/primerDesignProgram.jsp>, Stand 17.08.21).

4.12 Statistische Auswertung der Daten

Daten, die für eine statistische Auswertung verwendet wurden, wurden aus mindestens drei unabhängigen Experimenten mit mindestens zwei technischen Replikate gewonnen. und als Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwerts (*Standard error of the mean*, SEM) dargestellt. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mittels GraphPad Prism 8. Signifikante Unterschiede wurden im Vergleich zur im Ansatz mitgeführten Kontrolle durch den Student t-Test oder 1-Weg-ANOVA bestimmt. Für jedes Experiment ist die n-Zahl sowie statische Auswertemethode in der Legende aufgeführt.

5 Ergebnisse

5.1 Osmotische Genregulation von *Ranbp3l*

5.1.1 Expression in einer murinen IMCD-Primärkultur

SCHULZE BLASUM et al. konnte in Primärkulturen von innermedullären Sammelrohrzellen (*inner medullary collecting duct*, IMCD) aus Ratten durch Microarray-Analysen bisher noch unbeschriebene Gene und Signalwege identifizieren, die über die Osmolalität beeinflusst werden. Darunter befand sich auch das *ran-binding protein 3-like* (*Ranbp3l*) [55]. Zu Beginn meiner Arbeiten sollten die in Ratte gewonnen *Microarray* Daten in Maus IMCD-Primärkulturen verifiziert werden. Dafür wurde mittels Next-Generation-Sequenzierung (NGS) das globale Genexpressionsprofil der murinen IMCD-Zellen unter isoosmolaren (300 mosmol/kg) sowie hyperosmolaren (600 mosmol/kg) Bedingungen bestimmt (Abbildung 18).

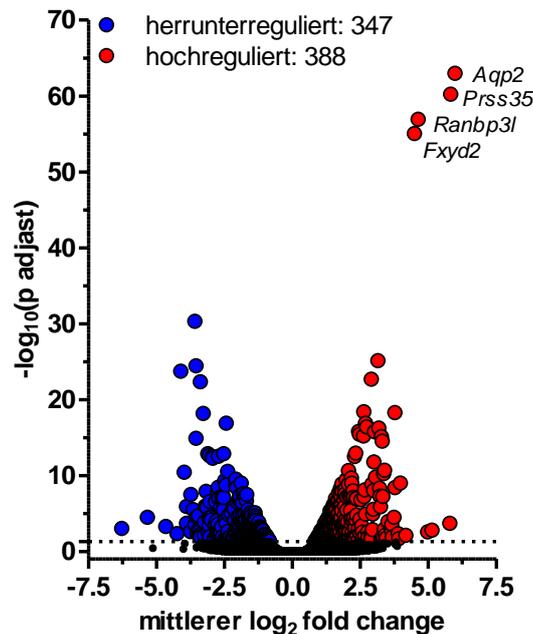


Abbildung 18: Volcano-Plot von Maus-IMCD-Zellen.

Maus IMCD-Zellen wurden 7 d in 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg Medium kultiviert. Anschließend wurde die RNA isoliert, die Reinheit bestimmt und durch die Firma Novogene mittels NGS analysiert. Der dargestellte Volcano-Plot gibt Auskunft darüber, welche Gene in welchem Ausmaß differentiell exprimiert werden sowie auch wie signifikant diese Veränderung ist. Grundlage der Volcano-Plots sind die differentiell exprimierten Gen (DEG)-Listen. Die x-Achse stellt den \log_2 fold change dar, welcher das Verhältnis der Transkriptmengen zweier verglichener Proben angibt. Die Y-Achse dagegen gibt den $-\log_{10}(p_{\text{adjust}})$ -Wert an, der die Signifikanz der Änderung der Daten einbezieht. p_{adjust} -Werte von $\geq 0,05$ wurden als nicht signifikant eingestuft (gestrichelte Linie). Dargestellt sind alle unterschiedlich regulierten Gene zwischen den bei 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg ermittelten Transkripten. Die Punkte in den Volcano-Plots repräsentieren Gene (Blaue Punkte stehen für herunterregulierte Gene, die roten Punkte dagegen für hochregulierte Gene, schwarz = nicht signifikant regulierte Gene, $n = 2$ für jede Osmolalität).

Die Firma Novogene Co, Ltd übernahm dabei die Qualitätskontrolle der RNA-Proben, die RNA-Sequenzierung und die bioinformatische Auswertung der erhaltenen Daten. Genauer über das Vorgehen von Novogene ist im Anhang unter 8.3 zu finden. Die Ergebnisse zeigen, dass ebenfalls in murinen Primärkulturen eine Vielzahl an Genen reguliert wird. Dabei ist zu erkennen, dass insgesamt 735 Gene (347 hoch und 388 runter) in ihrer Expression signifikant reguliert sind. Neben bekannten osmolalitätsregulierten-Genen wie *Aqp2* (\log_2 fold change = 4,98) [51], *Fxyd2* (\log_2 fold change = 4,49) [110] oder *Prss35* (\log_2 fold change = 5,82) [54], die auch in den Ratten-*Microarray*-Daten identifiziert werden konnten [55], zeigt auch *Ranbp3l* eine ähnlich starke Induktion seiner Expression (\log_2 fold change = 4,62) unter Hyperosmolalität (Die \log_2 fold changes aller unter Hyperosmolalität signifikant-regulierten-Gene aus Maus-IMCD-Zellen sind im Anhang 8.4 unter Tabelle 25 zu finden). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass in demselben Datensatz kein anderes Mitglied der *Ran binding protein* Familie einen solchen Unterschied in der Genexpressionsänderung besitzt. In Abbildung 19 sind die *fragments per kilobase million* (FPKM) der Ran Bindeprotein Familienmitglieder als *Heatmap* für 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg beider Proben dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass nur die *Ranbp3l*-Expression bei 600 mosmol/kg einen Unterschied im Vergleich zu den 300 mosmol/kg Proben aufweist.

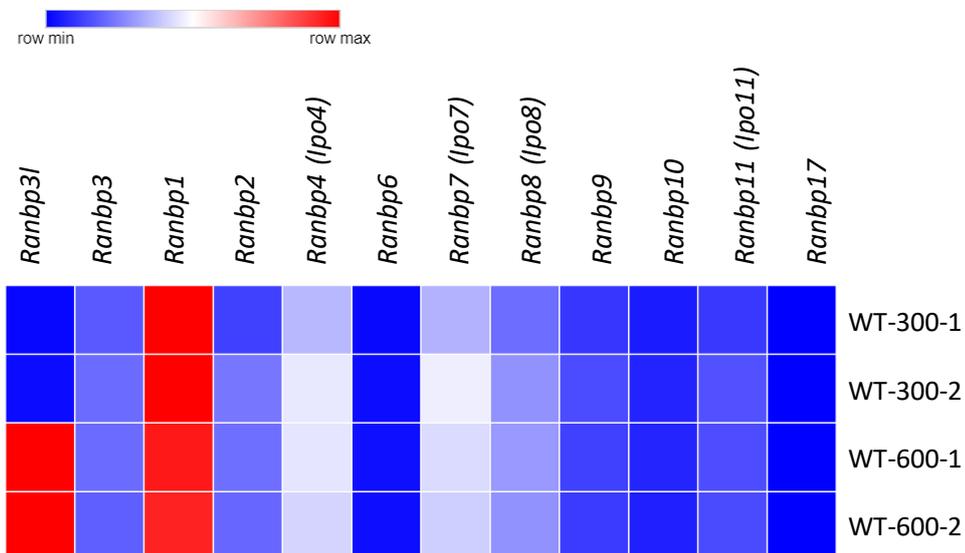


Abbildung 19: FPKM-Werte aller identifizierten Transkripte der RANBP-Familie.

Maus IMCD-Zellen wurden 7 d bei 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg kultiviert. Anschließend wurde die RNA isoliert, die Reinheit bestimmt und von der Firma Novogene die RNA Sequenzierung durchgeführt. Dargestellt sind die FPKM (*fragments per kilobase million*) Werte eines jeden zur RANBP-Familie gehörenden Transkripts, welches durch RNA-Sequenzierung identifiziert werden konnte (Ranbp = Ran binding protein, Ipo = Importin, n=2 für jede Osmolalität) [85].

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die gewonnenen Daten aus Ratten-IMCD-Zellen sich ebenfalls auf eine murine Primärkultur übertragen lassen konnten.

5.1.2 Expression in der mpkCCD-Zelllinie

Um die Funktion von RANBP3L erforschen zu können, war es weiterhin notwendig auf ein Modell zurückzugreifen, welches im Gegensatz zu Primärkulturen seine Manipulation zulässt. Diese Zelllinie sollte zusätzlich renalen Ursprungs sein und sich unter Hyperosmolalität kultivieren lassen. In der Literatur wird die mpkCCD-Sammelrohrzelllinie als solch ein Modell beschrieben [51, 88, 111, 112]. Auch hier konnte durch NGS-Analysen gezeigt werden, dass *Ranbp3l* unter Hyperosmolalität (600 mosmol/kg) signifikant hochreguliert wird (\log_2 fold change = 8,95, Abbildung 20A). (Die \log_2 fold changes aller signifikant-regulierter-Gene aus mpkCCD Zellen sind im Anhang 8.4 in der Tabelle 26 zu finden).

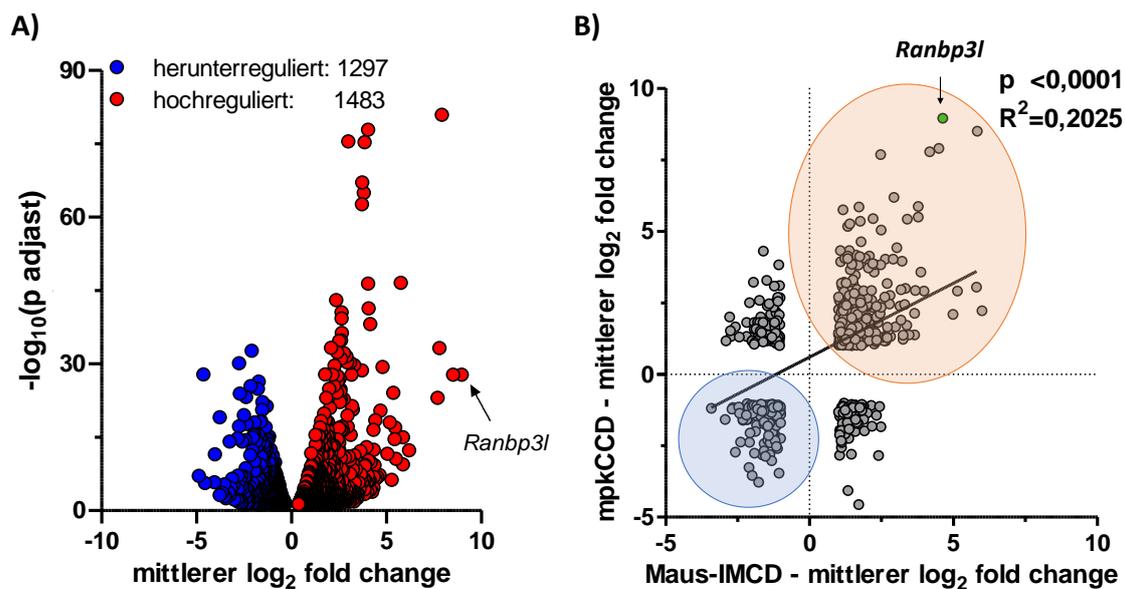


Abbildung 20: Signifikant-regulierte-Gene in mpkCCD und murinen IMCD-Zellen unter Hyperosmolalität.

A) Die mpkCCD-Zellen wurden 7 d in 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg Medium kultiviert. Anschließend wurde die RNA isoliert, die Reinheit bestimmt und durch die Firma Novogene durch NGS analysiert. Der hier dargestellte Volcano-Plot gibt Auskunft darüber, welche Gene in welchem Ausmaß differentiell exprimiert werden sowie auch wie signifikant diese Veränderung ist. Die x-Achse stellt den \log_2 fold change dar. Die Y-Achse dagegen gibt den $-\log_{10}(\text{p adjust})$ -Wert an. Dargestellt sind alle unterschiedlich regulierten Gene zwischen den bei 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg. Die Punkte in den Volcano-Plots repräsentieren Gene (Blaue Punkte stehen für herunterregulierte Gene, die roten Punkte dagegen für hochregulierte Gene, $n=2$ für jede Osmolalität). **B)** Maus IMCD und mpkCCD-Zellen wurden 7 d unter Hyperosmolalität kultiviert, die RNA wurde isoliert und nachfolgend ein globales Genexpressionsprofil erstellt. Überlappende signifikant-regulierte-Gene (\log_2 fold change < -1 , > 1) sind gegeneinander dargestellt und zeigen eine signifikante Korrelation ($n = 583$, $p < 0,0001$, Blaue = überlappende herunterregulierte Gene, rot = überlappende hochregulierte Gene, grüner Punkt = *Ranbp3l*) [85].

Nachfolgend wurde untersucht wie stark die durch Hyperosmolalität induzierten Genexpressionsprofile zwischen primären IMCDs und mpKCCD-Zellen korrelieren. In Abbildung 20B sind die aus Abbildung 18 enthaltenen murinen IMCD-Daten sowie die \log_2 fold change Werte der mpKCCD-Zellen (kleiner als -1 und größer als 1) gegeneinander aufgetragen. Dabei konnten 583 gemeinsame signifikant differentiell-regulierte-Gene beschrieben werden (Die \log_2 fold changes aller gemeinsamer signifikant-regulierter-Gene sind im Anhang 8.4 in der Tabelle 27 zu finden).

Dabei lässt sich erkennen, dass beide Gensets signifikant und positiv miteinander korrelieren ($R^2 = 0,2025$). Weiterhin lässt sich feststellen, dass *Ranbp3l* in beiden Datensätzen eine der am stärksten hochregulierten Transkripte war (grüner Punkt). Somit ist gezeigt, dass für die weiteren Analysen der Funktion von RANBP3L sich die mpKCCD-Zelllinie eignet. Sie weist nicht nur eine vergleichbare Induktion von *Ranbp3l* zu der murinen IMCD-Primärkultur auf, sondern exprimiert ebenfalls ein vergleichbares Genset wie in der murinen-IMCD-Primärkultur. Dadurch sind die weiteren Daten sehr wahrscheinlich auf physiologische *in-vivo*-Prozesse übertragbar.

5.2 NFAT5 als Schlüsseltranskriptionsfaktor der Hyperosmolalität

Wie unter Punkt 1.3 dargelegt, wird NFAT5 als Schlüsseltranskriptionsfaktor der Anpassung an Hyperosmolalität beschrieben [40, 43]. Dabei kommt es einerseits zu einer verstärkten Transkription als auch einer Translokation in den Zellkern. Die Lokalisation von NFAT5 im Zellkern wurde folgend in murinen-IMCD-Zellen sowie der mpKCCD-Zelllinie mittels Immunfluoreszenzanalysen untersucht und die Ergebnisse sind in Abbildung 21 dargestellt. Bei beiden Färbungen diente DAPI als Kernmarker. Es ist zu erkennen, dass das NFAT5-Signal unter 300 mosmol/kg diffus in der Zelle verteilt vorliegt und unter 600 mosmol/kg im Kern deutlich angereichert ist. Eine quantitative Auswertung mit der *Zen Blue-Software* (4.2.16) zeigt zusätzlich die überlagerte Auftragung der Signalintensität des DAPI-sowie des NFAT5-Signals über das Präparat (Abbildung 21B und D). Für beide Analysen lassen sich ähnliche Schlussfolgerungen treffen. Während das NFAT5-Signal unter 300 mosmol/kg ein über die gesamte Zelle verstreutes Signal aufweist, welches nur gering mit dem DAPI-Signal überlappt, zeigt der Plot unter 600 mosmol/kg eine starke Kern-Kolokalisation mit dem DAPI-Kernsignal.

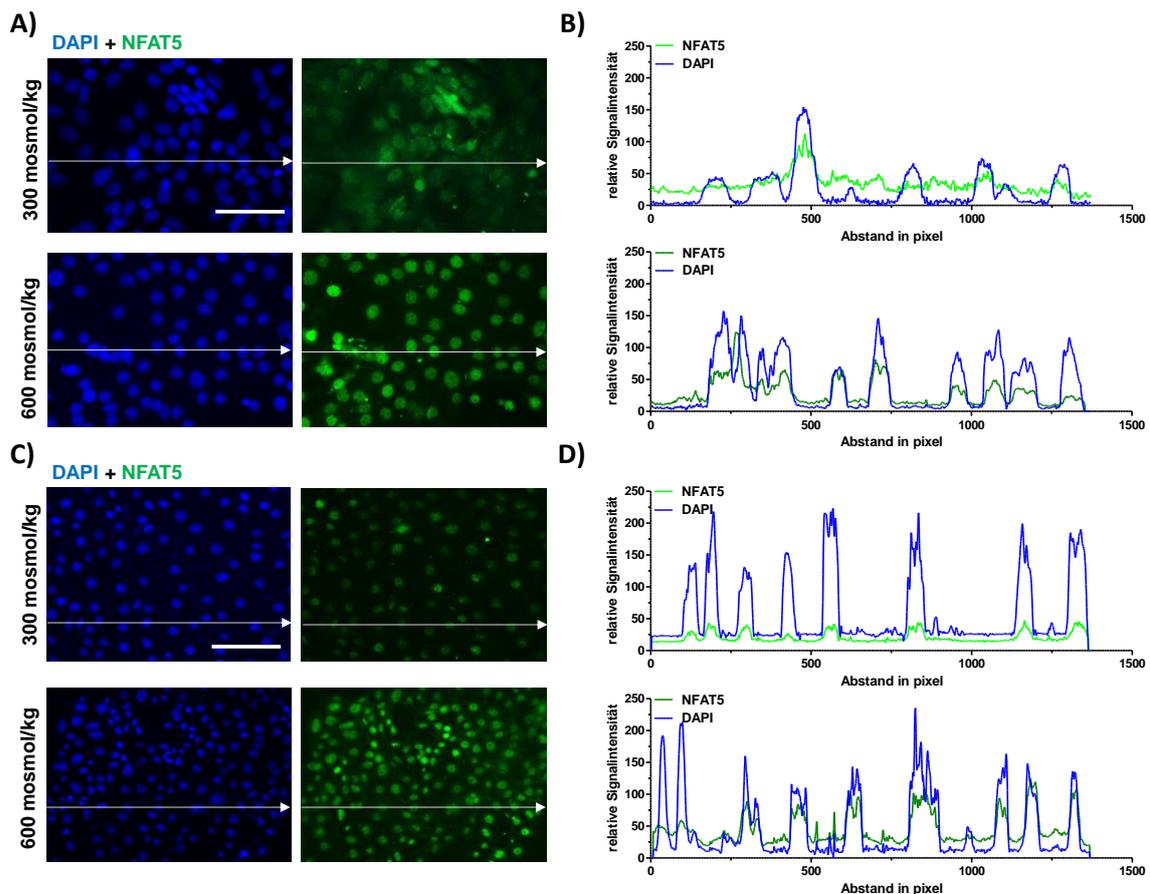


Abbildung 21: Immunfluoreszenzanalyse von NFAT5 in murinen IMCD und mpkCCD-Zellen.

A, C Primär-kultivierte-Maus-IMCD-Zellen (**A**) und mpkCCD-Zellen (**C**) wurden jeweils auf Deckgläsern ausgesetzt und unter 300 mosmol/kg beziehungsweise 600 mosmol/kg bis zu einer gewünschten Konfluenz kultiviert. Für die Immunfluoreszenzfärbung wurden die Zellen fixiert und mit spezifischen Antikörpern gegen NFAT5 (3446-Abcam) behandelt. Als Kernmarker diente DAPI (Maßstabsleiste: 100 μm). **B, D** Intensitätsdiagramm des NFAT5- und DAPI-Signals für primär-kultivierte-Maus-IMCD-Zellen (**B**) und mpkCCD-Zellen (**D**). Die Färbung der Zellen mit dem NFAT5-Antikörper sowie die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die isosmolare und hyperosmolare Probe. Die Quantifizierung der Signalintensitäten erfolgte durch die *Zen Blue-Software* für den mit dem weißen Pfeil markierten Bereichs.

Es konnte folglich gezeigt werden, dass NFAT5 in beiden Systemen unter Hyperosmolalität stark nukleär lokalisiert vorliegt und somit die mpKCCD-Zelllinie einen ähnlichen Mechanismus der NFAT5-Aktivierung aufweist. Viele der bekannten osmoregulierten-Gene aus 1.3.2 sind durch NFAT5 reguliert [40, 51]. Es sollte nun untersucht werden, ob auch *Ranbp3l* in seiner Expression über NFAT5 reguliert wird. Dazu diente ein CRISPR/Cas9-vermitteltes-*Knock-Out*-System, um die endogene Expression von NFAT5 in den verwendeten mpkCCD-Zellen zu inaktivieren.

5.3 Generierung einer CRISPR/Cas9-vermittelten-NFAT5-defizienten-mpkCCD-Zelllinie

5.3.1 Knockout-Verifizierung

5.3.1.1 Genomische Charakterisierung des Knockouts

Durch die Verwendung der CRISPR/Cas9-Methode kann spezifisch ein genomischer Bereich verändert werden [113-115]. In diesem Zusammenhang sollte eine Mutation des NFAT5-Lokus in mpkCCD-Zellen zu einem NFAT5-Funktionsverlust führen. Dazu wurden in den mpkCCD-Zellen NFAT5 mittels drei verschiedener gRNAs am Exon 4 mutiert (Tabelle 17, generiert mit den Oligos aus 3.11.1 für *Nfat5* nach 4.4.1.2) (Abbildung 22A).

Tabelle 17: Verwendete gRNAs gegen den murinen *Nfat5*-Lokus

| Name | gRNA-Sequenz | Exon |
|-------------|-----------------------|------|
| NFAT5-gRNA1 | CAATCTCGTCGTTTGACCCC | 4 |
| NFAT5-gRNA2 | TTTCGTTTTTCGTGATTTACG | 4 |
| NFAT5-gRNA3 | GTTACTTACCCCCACGGCTG | 4 |

Dieser Bereich wurde ausgewählt, da es 100 % Sequenzhomologie zu dem humanen NFAT5 aufweist [96]. Diese starke Konservierung spricht für die Kodierung eines wichtigen funktionellen Bereichs. Zunächst wurden dafür die drei gegen NFAT5 gerichtete gRNAs separat in einen lentiCRISPRv2-Vektor kloniert, in kompetenten DH5 α -Zellen (*E. coli*) vervielfältigt und das Plasmid isoliert (4.4.1). Mit Hilfe eines lentiviralen Transduktionssystems wurden die gRNA-tragenden lentiCRISPRv2-Konstrukte (3.7, Crispr lenti v2-gRNA1-mNfat5, Crispr lenti v2-gRNA2-mNfat5, Crispr lenti v2 gRNA3-mNfat5) in die mpkCCD-Zelllinie eingebracht (4.4.2) und über Selektion durch 2 μ g/ml Puromycin eine Mischkultur mit verschiedenen NFAT5 mutierten Zellen generiert. Die Transduktion war nur für Crispr lenti v2-gRNA1-mNfat5 und Crispr lenti v2-gRNA3-mNfat5 erfolgreich, da unter Puromycinbehandlung alle Crispr lenti v2-gRNA2-mNfat5-transduzierten-Zellen abstarben. Die erzeugten Mutationen ließen sich durch eine PCR mit spezifischen Primern des Zielbereichs im *Nfat5*-Lokus (Primer siehe 3.11.2., mNfat5-gRNA1+2 sowie mNfat5-gRNA3) verifizieren (Daten nicht gezeigt). Die PCR-Produkte wurden schließlich aus dem PCR Ansatz aufgereinigt (4.2.9.1) und mit den gerade erwähnten *sense* und *antisense* Primern sequenziert (4.2.4).

Die Cas9-Nuklease sorgt an der Zielsequenz für einen Doppelstrangbruch (DSB), worauf die Zelle über den *non-homologous end joining* (NHEJ) Mechanismus beide DNA-Stränge

ohne vorhandenes *template* wieder zusammenfügt. Dabei kommt es zur Entstehung von **Insertionen** und **Deletionen** (InDels) [116]. Nicht jede Veränderung der NFAT5-DNA sorgt für einen kompletten funktionellen *Knockout* des Proteins. Somit ist die erzeugte Mischkultur nur als *Knockdown* von NFAT5 zu betrachten (Sequenzbeispiel siehe Abbildung 13). Es ist wichtig eine Mutation zu erzeugen, welche in einem *Frameshift* und nachfolgend zu einer falschen oder abbrechenden Translation des Proteins führt. Durch Verdünnungsreihen wurde aus den Mischkulturen schließlich Einzelklone generiert (4.4.3.2), dessen Mutationen im *Nfat5*-Lokus mittels PCR (Primer siehe 3.11.2., mNfat5-gRNA1+2 sowie mNfat5-gRNA3) für das zielesequenztragende-DNA-Fragment verifiziert wurde. Die PCR-Produkte wurden erneut aufgereinigt und sequenziert. Anhand der Sequenzierungsergebnisse konnten final aus zwei verschiedenen gRNAs zwei Einzelklone (N1 und N3) als NFAT5-*Knockout*-Klone generiert werden (Abbildung 22B).

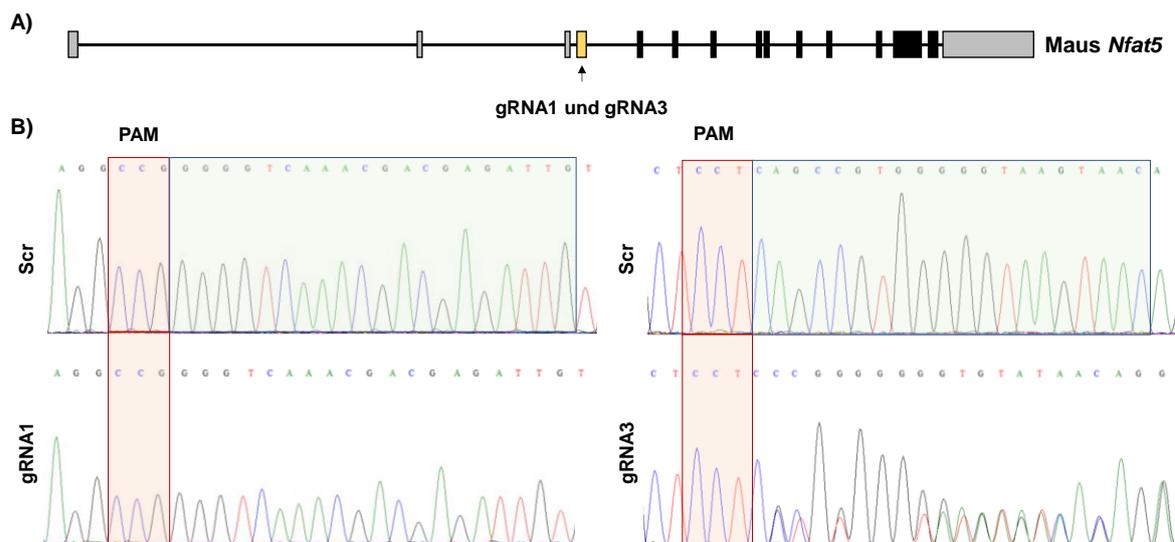


Abbildung 22: Genomische Struktur des murinen NFAT5 nach gRNA Transduktion

A) Schematische genomische Struktur des murinen NFAT5. grau = nicht kodierende Exons, gelb = Exon mit Zielsequenz, Schwarz = kodierende Exons B) Sequenzanalyse von Scr (oben), N1 (unten links) und N3 (unten rechts) Zellen für Zielsequenz-enthaltendes DNA-Fragment. Im Klon N1 (links) ist das Fehlen einer Base Guanin zu erkennen, während im Klon N3 (rechts) nach der PAM Sequenz multiple Peaks an derselben Position auftreten, was auf eine Genomveränderung durch die gRNA zurückzuführen ist (PAM = *protospacer adjacent motif*, rot Fläche= PAM Sequenz, grün Fläche= Zielsequenz).

Zusätzlich wurde eine Kontrolle mit einer zufällig zusammengesetzten *Scramble*-gRNA (Scr-gRNA = ATATCCGGAATTCGCGCGAT, generiert mit den Oligos aus 3.11.1 für *Scramble* nach 4.4.1.2) ohne gerichtete Ziel-Sequenz in den lentiCRISPRv2-Vektor kloniert (3.7, Crispr lenti v2-Scr-gRNA) und wie die NFAT5-gRNAs in mpkCCD-Zellen transfiziert, um den Effekt der dauerhaft aktiven Cas9-Nuklease für spätere funktionelle

Ergebnisse auszuschließen [117]. Die Scr-DNA weist für den NFAT5-Bereich nur Wildtypsequenz auf und wurde daraufhin für alle folgenden Experimente als Kontrolle eingesetzt (Abbildung 22B, obere Sequenz = Scr-DNA).

Unter Verwendung der TIDE-Software (4.4.3.3) konnte anschließend die genaue Größe des InDels auf beiden Allelen identifiziert werden [100]. Für diese Analyse wurden die Sequenziererdaten aus Abbildung 22B genutzt. Das Programm ermittelt dann, durch den Vergleich der WT-Sequenz gegen die gRNA-behandelte Sequenz, die jeweilige Mutationswahrscheinlichkeit auf beiden Allelen. Die bioinformatische Auswertung von TIDE für beide NFAT5-KO-Klone N1 und N3 ist in Abbildung 23 dargestellt (N1 oben, N3 unten).

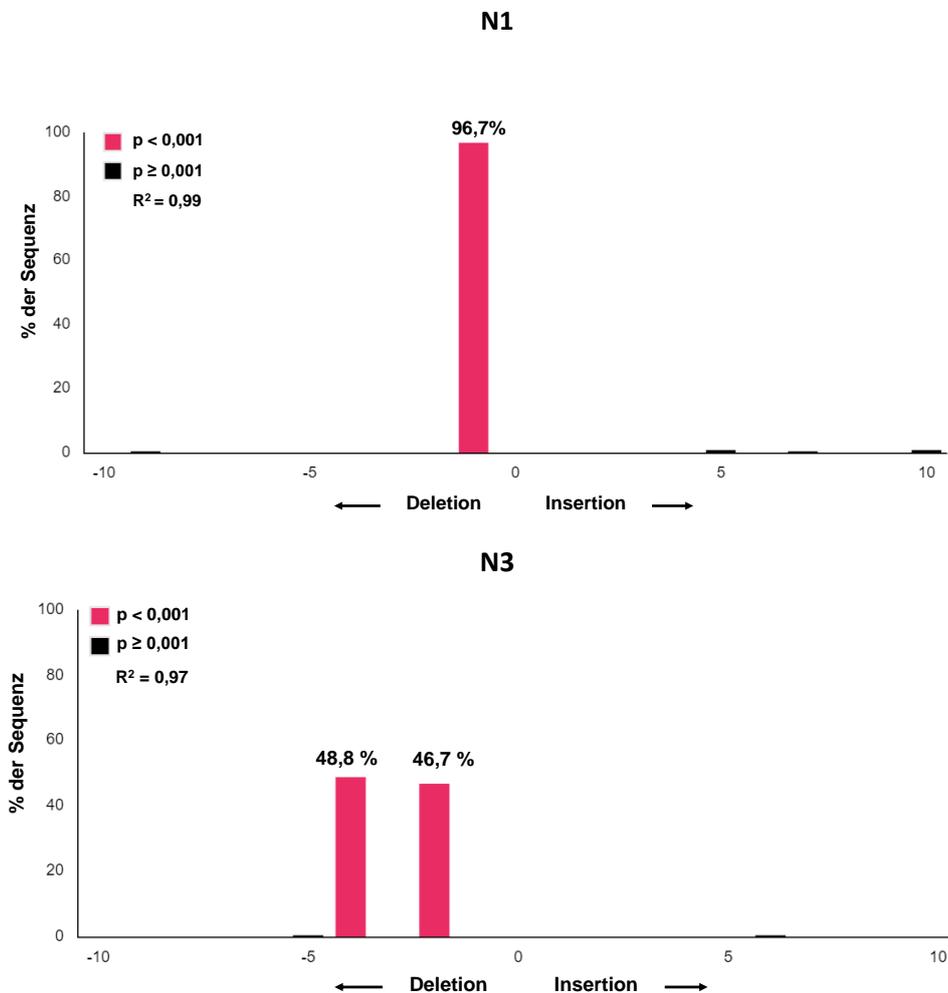


Abbildung 23: TIDE-Analyse der NFAT5-defizienten-mpkCCD-Zellen.

Das PCR-Amplifikat wurde mit einer jeweiligen Kontrollsequenz sowie der gRNA Sequenz (N1 oben, N3 unten) in die TIDE-Software geladen. Die Zahlen über den Balken beziehen sich auf den Anteil des InDels an der Gesamtsequenz angegeben in %. Klon N1 (oben) weist, wie die Sequenz bereits zeigt, eine Deletion von einer Base auf. Klon N3 (unten) zeigt eine Deletion von 4 bp sowie 2 bp (rot = signifikant, schwarz = nicht signifikant) [85].

Die roten Balken geben Auskunft über die in den jeweiligen Klonen entstandenen Mutationen und den berechneten Anteil an der DNA-Sequenz. Daher zeigt die Auswertung eine Deletion auf beiden Allen im Klon N1 und eine Deletion von 4 bp sowie 2 bp im Klon N3.

Weiterhin wurde nach Selektion der Klone N1 und N3 das PCR-Amplifikat (siehe 3.11.2, generiert durch PCR mit den Primern mNfat5-gRNA1+2 sowie mNfat5-gRNA3), welches für die TIDE-Analyse diente, in einem TOPO-TA-Vektor zwischenkloniert (4.4.3.4) um einerseits die bioinformatische TIDE-Analyse zu verifizieren und zusätzlich, nicht nur die Größe, sondern auch die genaue Sequenzmutation von N1 und N3 zu erhalten. Nach der Klonierung wurde das Plasmid in *DH5α E. coli* transformiert und auf Ampicillin + X-Gal Platten über Nacht bei 37°C inkubiert. X-Gal dient hier für eine Blau-Weiß-Selektion (4.4.3.4). Es wurden jeweils 10 weiße Klone eines jeden Amplifikats gepickt, die DNA aufgereinigt und mit dem M13 *sense* Primer (3.11.3) sequenziert. Die erhaltenen Sequenzen bestätigten die TIDE-Analyse und zeigen, dass es bei Klon N1 auf beiden Allelen zu einer Deletion von einem G (Guanin) kam. Klon N3 weist auf einem Allel eine 2 bp Deletion von CT (Cytidin + Thymin) und eine 4 bp Deletion von GCTG (Guanin + Cytodin + Thymin + Guanin) auf dem anderen Allel auf (Tabelle 18).

Tabelle 18: Zusammenfassung der Sequenzanalyse der TOPO-TA-Klone.

| WT-Sequenz | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|
| CCGGGGGTCAAACGACGAGATTGTGAAGAATCT | ACTTACCCCCACGGCTGAGGAGCAGCTCTCCACTT |
| NFAT5-gRNA1-KO | NFAT5-gRNA3-KO |
| CCGGG-GTCAAACGACGAGATTGTGAAGAATCT | ACTTACCCCCACGG--GAGGAGCAGCTCTCCACTT |
| CCGGG-GTCAAACGACGAGATTGTGAAGAATCT | ACTTACCCCCACG----AGGAGCAGCTCTCCACTT |

5.3.1.2 NFAT5-Defizienz auf Protein-Ebene

Der N1 sowie N3-Klon bilden aufgrund der CRISPR/Cas9-vermittelten-Mutation eine Leserasterverschiebung. Um folgend herauszufinden, wie groß das gebildete NFAT5-Protein in den Klonen N1 und N3 ist, wurden die sequenzierten Bereiche über das *Webtool ExPASy-translate* in eine Aminosäuresequenz umgewandelt und diese mit der murinen WT-NFAT5-Aminosäuresequenz verglichen (siehe Anhang 8.10.1). Es konnte festgestellt werden, dass es in beiden Klonen zu einem früheren Abbruch der Translation kommt. Weiterhin zeigt die Analyse, dass N1-Klone im Vergleich zu N3 ein größeres NFAT5-

Protein bilden, aber beide trunkierte NFAT5-Varianten über keine funktionelle RHD oder Kernimport Domänen verfügen (Abbildung 24).

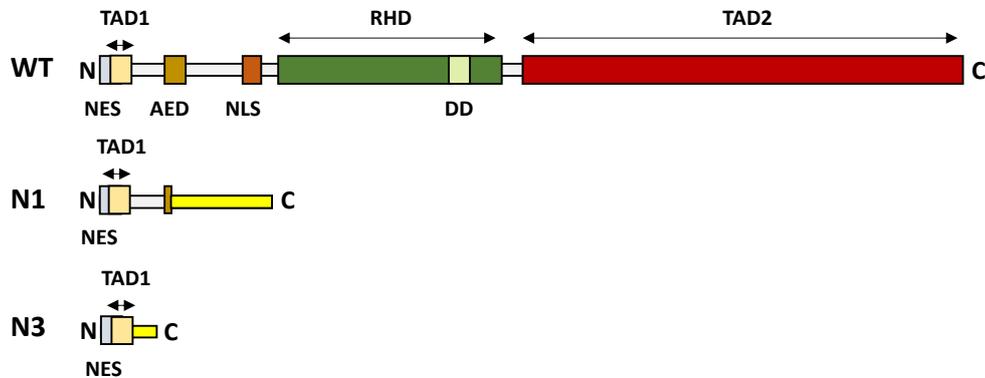


Abbildung 24: Schematische Darstellung der trunkierten NFAT5 Einzelklone N1 und N3 im Vergleich zum WT-NFAT5-Protein.

Im Vergleich zu der WT-NFAT5-Struktur konnte gezeigt werden, dass es in den Klonen N1 und N3 durch die Leserasterverschiebung zu einem frühzeitigen N-terminalen Translationsabbruch kommt. Beide Klone bilden die Aminosäuren für die NES (grau) sowie die TAD1 (beige) Domäne. Klon N1 weist zusätzlich einen kurzen Teil der AED (braun) Sequenz auf. Es fehlen aber vollständig die NLS, RHD sowie die TAD2 Domäne. In gelb ist die *de-novo*-Sequenz der Klone N1 und N3 dargestellt, die aufgrund der Leserasterverschiebung neue Aminosäureketten hervorbringt.

Beide NFAT5-defizienten-mpkCCD-Klone weisen trunkierte NFAT5-Varianten auf, die zum Funktionsverlust des Proteins führen müssten. Um die NFAT5-Defizienz auf Proteinebene zu bestätigen, wurde ein Western Blot mit isolierten Proteinproben aus den Einzelklonkulturen N1 und N3 durchgeführt (4.2.13-4.2.14). Für die beiden Einzelklone N1 und N3 kann im Vergleich zu Scr keine eindeutige NFAT5-Bande detektiert werden (Abbildung 25). GAPDH, welches als Ladekontrolle dient, ist im Gegensatz dazu in allen drei Proben nahezu gleich abundant vertreten.

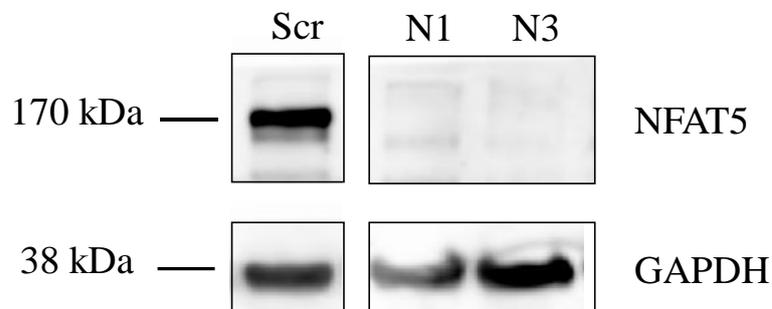


Abbildung 25: Nachweis der Defizienz von NFAT5 in N1 und N3 mittels Western Blot.

Proteine wurden aus den jeweiligen Zellen isoliert und über eine SDS-Page ihrer Größe nach aufgetrennt. Nachfolgend erfolgte das Blotting der Proteine auf eine Nitrocellulose-Membran. Durch spezifisch-bindende Antikörper wurde dann in den Scr, N1 und N3-Proben NFAT5 (3446-Abcam) und GAPDH (Cell Signaling) analysiert [85].

Um zusätzlich den Funktionsverlust von NFAT5 als Transkriptionsfaktor zu bestätigen, wurden Immunfluoreszenzanalysen (4.2.15) mit einem anti-NFAT5 Antikörper durchgeführt. Wie Abbildung 21 schon gezeigt hat, transloziert NFAT5 unter Hyperosmolalität (600 mosmol/kg) verstärkt in den Zellkern. Während bei Scr-mpkCCD-Zellen dies immer noch der Fall ist, konnte unter extrazellulärer Hyperosmolalität bei den NFAT5-defizienten-Zellen kein definiertes Kernsignal von NFAT5 mehr beobachtet werden (Abbildung 26A). DAPI diente in den Versuchen als Kernmarker. Erneut zeigt die quantitative Auswertung der Signalintensität in den Scr-Kontrollen unter Hyperosmolalität ein überlagertes NFAT5-Signal mit dem DAPI-Signal. Für die NFAT5-defizienten-Klone N1 und N3 kann diese Überlagerung beider Signale nicht mehr gezeigt werden (Abbildung 26B).

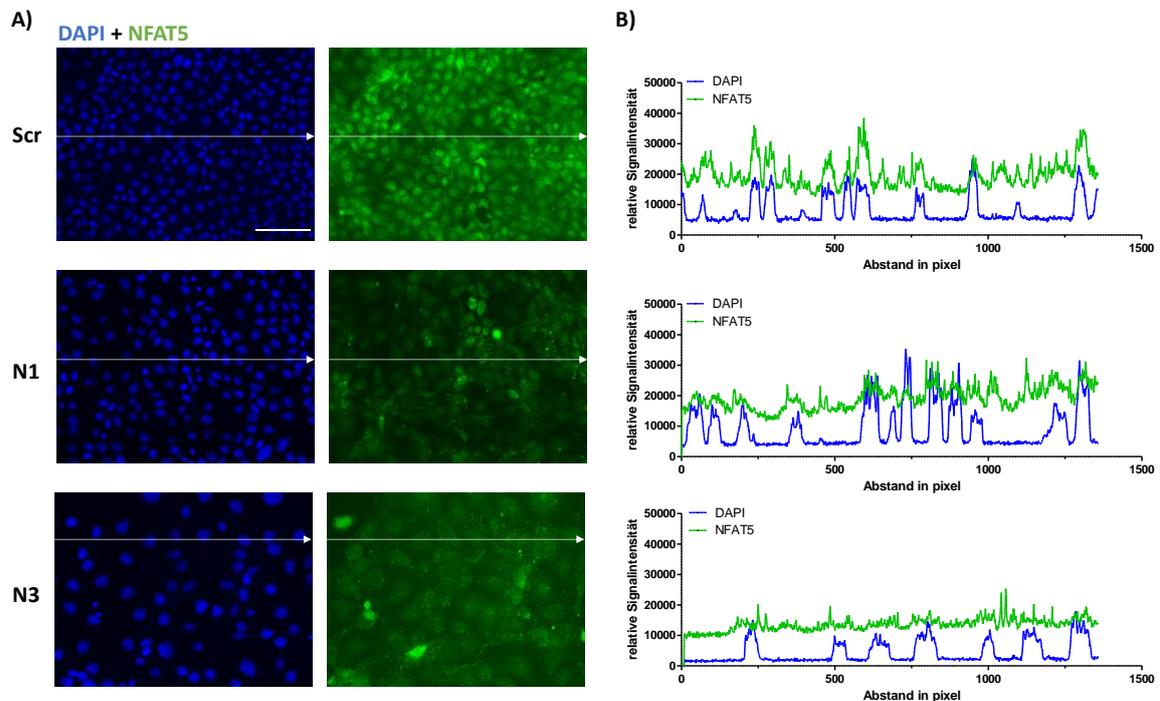


Abbildung 26: NFAT5-Immunfluoreszenzaufnahmen von Scr- und NFAT5-defizienten-Zellen.

A) Scr, N1 und N3-Zellen wurden jeweils auf Deckgläsern ausgesetzt und unter 300 mosmol/kg beziehungsweise 600 mosmol/kg bis zu einer gewünschten Konfluenz kultiviert. Für die Immunfluoreszenzfärbung wurden die Zellen fixiert und mit spezifischen Antikörpern gegen NFAT5 (3446-Abcam) behandelt. Als Kernmarker diente DAPI (Maßstabsleiste: 100 μ M). B) Intensitätsdiagramm des NFAT5 und DAPI-Signals für Scr; N1 und N3 zeigt bei dem Scr-Kontrollpräparat (oben) überlappende Peaks in beiden Kanälen, während bei beiden NFAT5 KO-Präparaten (Mitte und Unten) nur unspezifische NFAT5 Signale identifiziert werden konnten. Die Färbung der Zellen mit dem NFAT5-Antikörper sowie die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die Scr- und KO-Probe. Die Quantifizierung der Signalintensitäten erfolgte durch die *Zen Blue-Software* für den mit dem weißen Pfeil markierten Bereichs.

5.3.2 Expressionsanalyse der NFAT5-defizienten-mpkCCD-Klone

Nach erfolgreicher Etablierung von NFAT5-defizienten-mpkCCD-Zellen wurde die NFAT5 abhängige *Ranbp3l*-Expression untersucht. Dafür wurden die Scr- sowie N1- und N3-Zellen für 7 d unter 300 mosmol/kg sowie 600 mosmol/kg kultiviert und folgend die RNA isoliert und qPCR-Analysen durchgeführt (4.2.10-4.2.12). Zur Verifizierung der Osmolalitätsadaption wurde zunächst die relative Expressionsänderung von *Ranbp3*, *Aqp2* und *Slc6a12* der Scr-Zellen bei 600 mosmol/kg bezogen auf die isoosomolare Kontrolle (300 mosmol/kg) mittels qPCR bestimmt (Primer siehe 3.11.4, *Ranbp3l*-real, *Aqp2*-real, *Slc6a12*-real, *Gapdh*-real). Als *housekeeping gene* wurde *Gapdh* genutzt. Unter Hyperosmolalität war die Expression der Transkripte, wie erwartet, stark hochreguliert (nicht dargestellt, analog zu Abbildung 20). Anschließend wurden die Genexpressionswerte der beiden Einzelklone N1 und N3 auf die Genexpressionswerte der Scr-Kontrolle bei 600 mosmol/kg normiert und für *Ranbp3l* statistisch ausgewertet. Als Positivkontrollen dienten *Aqp2* und *Slc6a12* (Abbildung 27). Es ist zu erkennen, dass die NFAT5-defizienten-Zellen bei 600 mosmol/kg im Vergleich zu der Scr-Kontrolle signifikant weniger *Aqp2*, *Slc6a12* und *Ranbp3l* exprimieren.

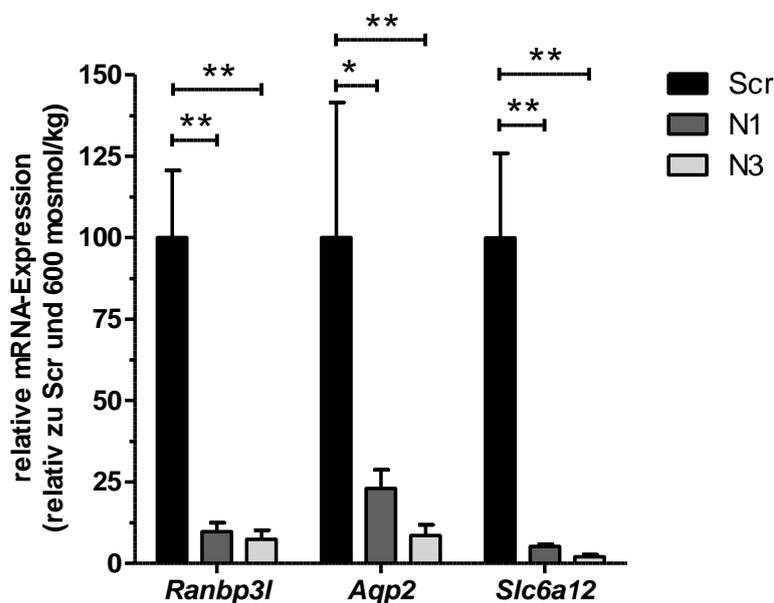


Abbildung 27: qPCR von Scr und NFAT5-defizienten-Zellen.

Scr und NFAT5-defiziente-Zellen wurden 7 d unter 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg kultiviert. Anschließend wurde RNA isoliert und 1 µg RNA zu cDNA umgeschrieben. Durch die Verwendung spezifischer Primer konnten qPCR für *Aqp2* und *Ranbp3l*, mit *Gapdh* als *house keeping gene* (Primer siehe 3.11.4, *Ranbp3l*-real, *Aqp2*-real, *Slc6a12*-real, *Gapdh*-real) durchgeführt werden (Mittelwerte ± SEM (Fehlerbalken), n = 3-5, *, p < 0,05, **, p < 0,01, Student's-T-Test) [85].

5.4 Tamoxifen-vermittelter *ex-vivo-Knockout* von NFAT5 in primär-kultivierten-Maus-Nierenzellen

5.4.1 Etablierung einer NFAT5-defizienten-Primärkultur

Nach erfolgreicher Charakterisierung der NFAT5-defizienten-mpkCCD-Zellen sollte analysiert werden, ob eine NFAT5-abhängige *Ranbp3l*-Expression auch in einer primären Maus-IMCD-Zellkultur beobachtet werden kann. Da globale NFAT5-*Knockout*-Mausembryonen eine höhere Letalität aufweisen [40], wurde ein konditionelles NFAT5-*Knockout* System in Mäusen über eine Tamoxifen induzierbare Ube-Cre/ERT2-Maus-Linie der Gruppe KÜPER et al. genutzt [96].

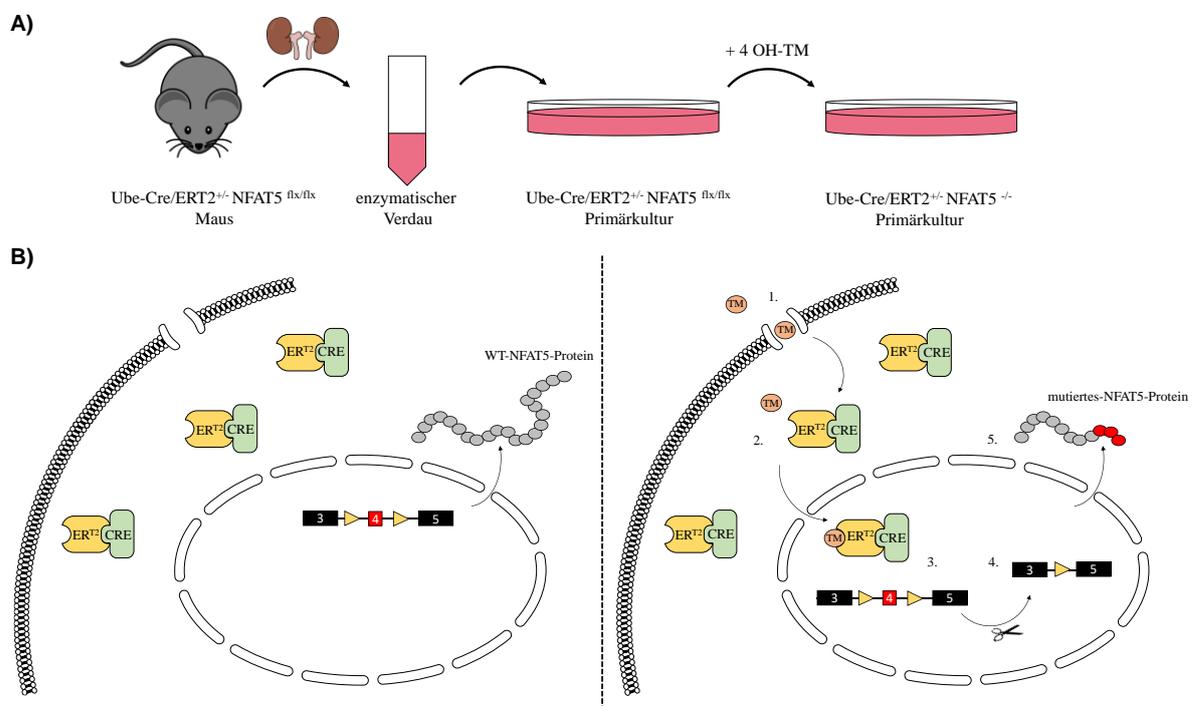


Abbildung 28: Etablierung eines konditionellen NFAT5-*Knockout*-Systems in primärkultivierten Maus-Nierenzellen.

A) Ablaufplan für die Kultivierung von primären murinen IMCD-Zellen. **B)** Cre-Aktivierung durch 4-Hydroxy-Tamoxifen (4-OH-TM). Ohne Tamoxifen (links) ist die CRE-ERT in Cytosol lokalisiert und nicht reaktiv. Bei Gabe von 4-OH-TM ins Medium (1), kommt es durch die Bindung von 4-OH-TM an den CRE-ERT Komplex (2) zur Aktivierung und somit zur Translokation in den Zellkern (3). Die Cre-Rekombinase erkennt loxP-frankierte Bereiche und schneidet diese aus dem Genom (4). Bei der Translation entsteht folglich eine mutierte NFAT5 Variante, der das Exon 4 vollständig fehlt (5).

In Abbildung 28A ist die Generierung von NFAT5-defizienten-Primärzellen schematisch aufgezeigt [87] sowie in Abbildung 28B die genaue Wirkungsweise des 4-Hydroxy-Tamoxifens (4-OH-TM) induzierten konditionellen NFAT5-*Knockouts*. Es erfolgte wie in Abbildung 28A dargestellt die Nierenentnahme bei den Mäusen und ein enzymatischer

Verdau zur Homogenisierung des Gewebes. Die Zellen wurden nachfolgend für die jeweiligen Analysen in unterschiedliche *well*-Formate ausgesät und kultiviert. Um den *Knockout* zu verifizieren wurde ein Teil der Zellen für eine Immunfluoreszenz Analyse analog zu den NFAT5-defizienten-mpkCCD-Zellen verwendet und aus einem anderen Teil RNA isoliert. Ohne die Zugabe von 4-OH-TM zeigt die Immunfluoreszenz deutlich ein starkes Kernsignal bei 600 mosmol/kg. Dieselbe Färbung zeigt bei Zugabe von 4-OH-TM nur noch ein diffuses NFAT5-Signal (Abbildung 29A). Erneut lässt sich der Funktionsverlust von NFAT5 durch die quantitative Analyse mittels eines Signalintensitätsdiagramms verifizieren. In Abbildung 29B ist zu erkennen, dass in der Kontrolle das NFAT5-Signal aufgrund der Kernlokalisierung mit dem DAPI-Signal überlagert ist. Dies ist bei den 4-OH-TM behandelten Zellen nicht mehr der Fall, weswegen von einem Funktionsverlust des NFAT5-Proteins als Transkriptionsfaktor auszugehen ist.

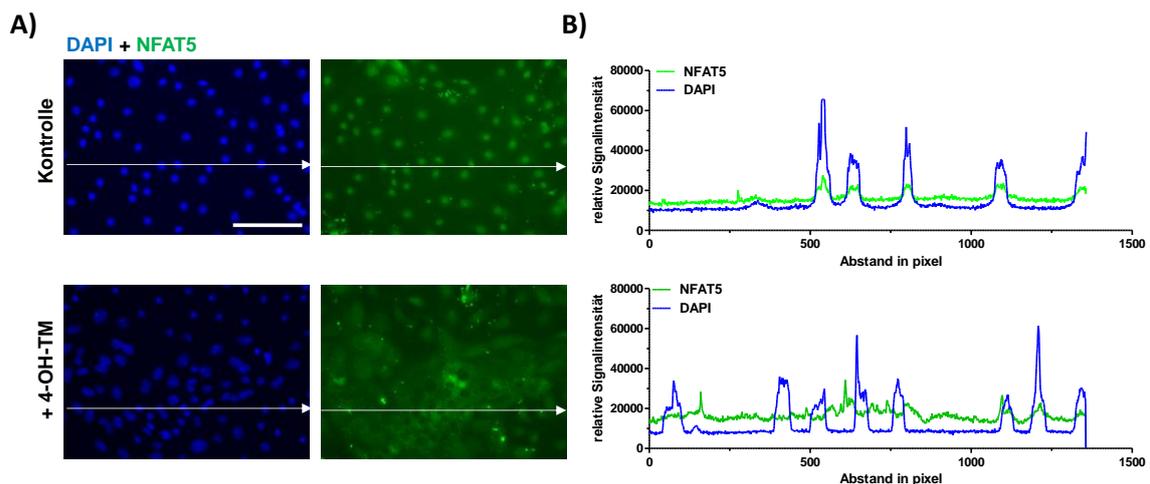


Abbildung 29: NFAT5-Immunfluoreszenzaufnahmen primärer IMCD-Zellen mit und ohne 4-OH-TM Behandlung.

A) Die murinen IMCD-Zellen wurden aus Mausnieren von Ube-Cre/ERT2 ^{+/-} NFAT5 ^{fl/flx} Mäusen isoliert und auf Deckgläsern in 24-*well* Platten ausgesetzt. Nach 48 h Inkubation wurde 1 µg/ml 4-OH-TM, außer bei den Kontrollwells, zugegeben und 24 h weiter inkubiert. Es erfolgte ein Mediumswechsel und nach weiteren 72 h Inkubation wurden die Zellen fixiert und mit spezifischen Antikörpern gegen NFAT5 (3446-Abcam) behandelt. Unter einer 4-OH-TM Behandlung kann kein nukleäres NFAT5-Signal mehr detektiert werden. Als Kernmarker diente DAPI (Maßstabsleiste: 100 µm). B) Die Signalintensität des NFAT5 und DAPI Signals über dem Präparat zeigt bei dem Kontrollpräparat überlappende Peaks in beiden Kanälen, während bei dem 4-OH-TM Präparat nur unspezifische NFAT5 Signale identifiziert werden konnten. Die Quantifizierung erfolgte durch die *Zen Blue-Software* für den mit dem weißen Pfeil markierten Bereichs. Die Färbung der Zellen mit dem NFAT5-Antikörper sowie die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die Kontroll- und 4-OH-TM-Probe.

1 µg der isolierten RNA wurde in cDNA umgeschrieben und für qPCRs verwendet, die mit spezifischen Primern, die Exon 4 von NFAT5 binden (Primer siehe 3.11.4, *Nfat5* exon 4-5),

durchgeführt wurde. Da bei einer Aktivierung der Cre-Rekombinase Exon 4 vom murinen *Nfat5* herausgeschnitten wird, kann mit diesen Primern die tamoxifen-induzierte-NFAT5-Deletion quantitativ nachgewiesen werden. Als Kontrolle dienten sowohl Ube-Cre/ERT2^{-/-} *Nfat5*^{flx/flx} Maus-Primärkulturzellen mit einer 4-OH-TM Behandlung, sowie Ube-Cre/ERT2^{+/-} NFAT5^{flx/flx} ohne 4-OH-TM. Bei allen isolierten Kontrollproben (○ und ●) ist das *Nfat5*-Expressionsniveau auf einem ähnlichen Niveau (Abbildung 30), weswegen auch ein toxischer Nebeneffekt von 4-OH-TM ausgeschlossen werden kann. Weiterhin zeigen die Daten, bei fast allen isolierten Ube-Cre/ERT2^{+/-} NFAT5^{flx/flx} Proben mit einer 4-OH-TM Behandlung (□) eine deutliche Herunterregulation der *Nfat5*-Expression im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen (Abbildung 30).

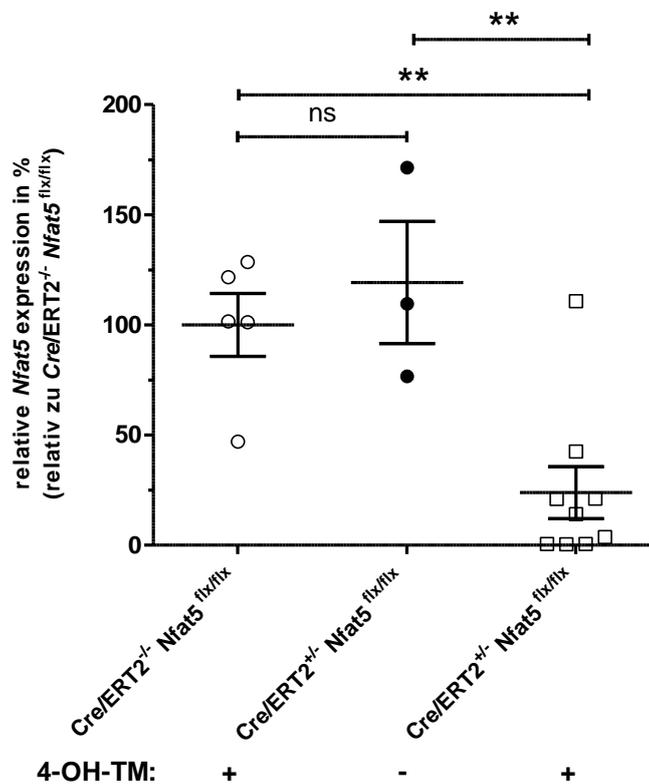


Abbildung 30: qPCR Analyse der *Nfat5*-Expression in NFAT5-defizienten-Zellen sowie den Kontrollgruppen.

IMCD-Zellen wurden aus Mausnieren isoliert und in 24-well Platten ausgesetzt. Nach 48 h Inkubation wurde den Ube-Cre/ERT2^{+/-} NFAT5^{flx/flx} IMCD-Zellen 1 µg/ml 4-OH-TM zugegeben (□) und 24 h weiter inkubiert. Es dienten Ube-Cre/ERT2^{-/-} NFAT5^{flx/flx} + 4-OH-TM (○) und Ube-Cre/ERT2^{+/-} NFAT5^{flx/flx} ohne 4-OH-TM Gabe (●) als Kontrolltiere. Es erfolgte ein Mediumswechsel und nach weiteren 72 h Inkubation erfolgte die RNA Isolation, c-DNA Umschreibung und qPCR Analysen (3.11.4, *Nfat5* exon 4-5, *Gapdh*-real). Es konnte festgestellt werden, dass die relative *Nfat5*-Expression (relativ zu *Gapdh*) in den Kontrollgruppen (Ube-Cre/ERT2^{-/-} NFAT5^{flx/flx} oder Ube-Cre/ERT2^{+/-} NFAT5^{flx/flx} ohne 4-OH-TM Zugabe) nicht signifikant verändert vorlag, während eine 4-OH-TM Gabe in den Ube-Cre/ERT2^{+/-} NFAT5^{flx/flx} zu einer signifikanten Herunterregulation von *Nfat5* führte (Mittelwerte ± SEM (Fehlerbalken), mit n = 3-9, n.s., p > 0,5, **, p < 0,01. 1-Weg-ANOVA) [85].

5.4.2 Expressionsanalyse einer NFAT5-defizienten-Primärkultur

Nach erfolgreicher Etablierung einer 4-OH-TM-induzierbaren-NFAT5-KO-Maus-Primärkultur sollte nun untersucht werden, ob das Fehlen von NFAT5 einen Effekt auf die Expression von *Ranbp3l* unter Hyperosmolalität hat.

Für eine globale Genexpressionsanalyse wurden je zwei Ube-Cre/ERT2^{+/-} NFAT5^{flx/flx} mit 4-OH-TM behandelten IMCD-Kulturen sowie zwei nicht mit 4-OH-TM behandelte Ube-Cre/ERT2^{-/-} Nfat5^{flx/flx} Kontrollen verwendet. Auch hier konnte der *Knockout* anhand der Verteilung der *RNA-Seq-Reads* im *Nfat5*-Maus-Genom verifiziert werden, da in Abbildung 31A deutlich zu sehen ist, dass das Exon 4 in der 4-OH-TM Gruppe fehlt (durch Pfeil markiert). Weiterhin konnten Genexpressionsdaten zeigen, dass kanonische NFAT5-regulierte-Gene (*Akr1b3*, *Aqp2*, *Slc5a3* etc.) sowie auch *Ranbp3l* in der behandelten Gruppe nicht mehr mittels Hyperosmolalität in ihrer Expression induziert werden (Abbildung 31B).

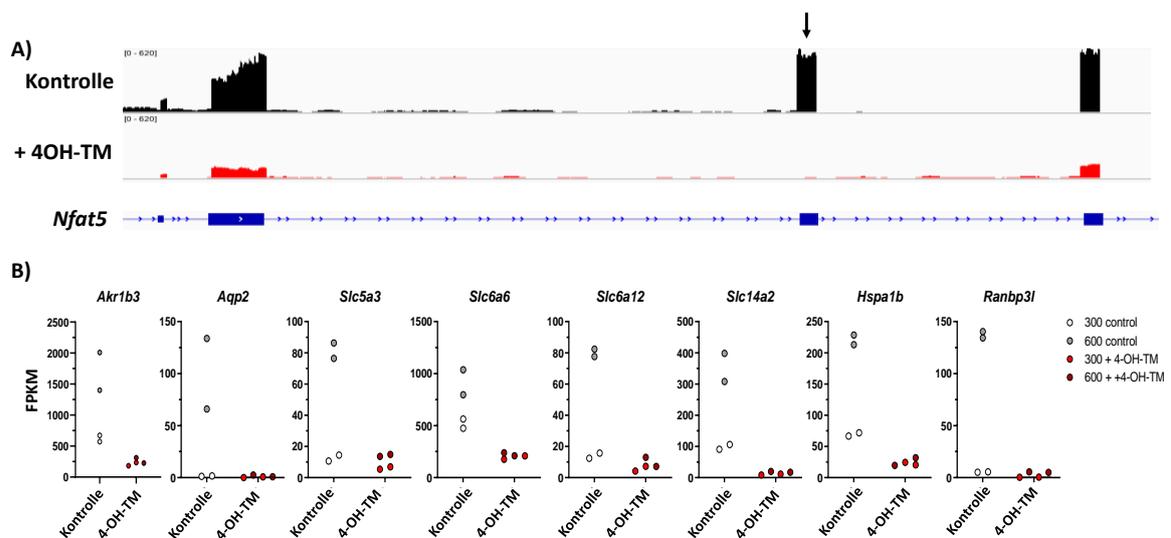


Abbildung 31: NGS-Analyse von primären IMCD-Zellen mit und ohne 4-OH-TM Behandlung.

A) Dargestellt sind die *RNA-Seq-Reads* einer Probe (schwarz = Kontrolle, rot = 4-OH-TM Behandlung) gemapped auf die Exon-Intron-Struktur von murinem *Nfat5*. Dieser Plot verifiziert den 4-OH-TM-vermittelten-NFAT5-*Knockout*, da eindeutig gezeigt werden kann, dass Exon 4 fehlt. B) FPKM-Werte kanonischer NFAT5-Zielgene. Während die Kontrolle unter 600 mosmol/kg eine Induktion der Gene zeigt, ist dies in der 4-OH-TM Gruppe nicht mehr der Fall [85].

5.5 *Ranbp3l* als direktes NFAT5-Target

5.5.1 Evolutionär konservierte NFAT5-Bindestellen im *Ranbp3l*-Promotorbereich

Es konnte bislang gezeigt werden, dass *in-vitro* sowie *ex-vivo* die *Ranbp3l*-Expression über NFAT5 reguliert wird. Bei vielen kanonischen-NFAT5-regulierten-Genen konnte bereits

eine direkte Bindung von NFAT5 an den Promotorbereich gezeigt werden [40, 42, 51, 53]. Weiterhin sollte untersucht werden, ob diese Regulation über die Bindung von NFAT5 an *Ranbp3l*-Promotorbereiche ebenfalls direkt vermittelt wird. Dafür wurden zunächst mit der freizugänglichen online Datenbank ECR evolutionär-konservierte-Bereiche in der *Ranbp3l*-Promotorregion (2000 bp *upstream* vom Startcodon) identifiziert (Abbildung 32A). Die mit Pfeil markierten Bereiche stellen stark konservierte Bereiche über die gezeigten Spezies dar.

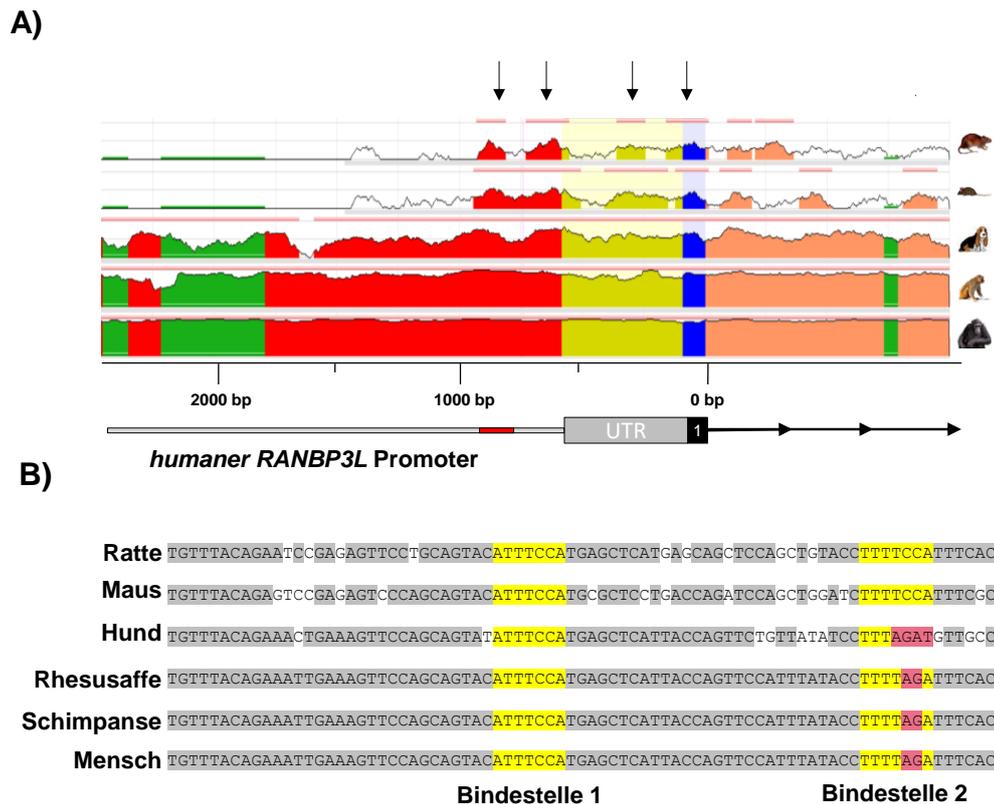


Abbildung 32: Analyse von NFAT5-Bindestellen im *Ranbp3l*-Promotor über diverse Spezies.

A) Screenshot aus einem Bereich der menschlichen *Ranbp3l*-Promotorregion von der ECR-Browser-Website mit evolutionär konservierten Regionen (ECR) in den Genomen von Ratte, Maus, Hund, Makaken und Schimpansen. Die rosafarbenen Linien (siehe Pfeile) zeigen die ECR zwischen dem Menschen und den angegebenen Säugetieren. B) Der 800 bp große Bereich vor der *Ranbp3l*-Starttranskriptionsstelle ist in den angegebenen Säugetieren konserviert und enthält eine konservierte NFAT5-Konsensussequenz (NNTTTCCA ist gelb dargestellt, Bindestelle 1) und eine nur teilweise konservierte Sequenz (nicht konservierte Nukleotide sind rot dargestellt, Bindestelle 2) [85].

Die nun identifizierten Bereiche wurden mit einer weiteren freizugänglichen Software (JASPAR) auf putative Transkriptionsfaktorbindestellen untersucht (NFAT5-Konsensussequenz = NNTTTCCA, siehe Anhang Abbildung 59). Darunter konnten zwei nah beieinander gelegene Bindestellen für NFAT5 ca. 800 bp *upstream* vom Startcodon identifiziert werden (Abbildung 32B). Während eine dieser Bindestellen eine starke

Konservierung aufweist (Bindestelle 1), zeigt die andere (Bindestelle 2) eine veränderte Basenabfolge bei höher entwickelten Vertebraten.

5.5.2 Analyse der Promotoraktivität von unterschiedlichen *Ranbp3l*-Promotorfragmenten

Um zu untersuchen ob auch der *Ranbp3l*-Promotor unter der direkten Kontrolle von NFAT5 steht, wurden verschiedene Promotorfragmente in einen PGL3-Luciferasevektor kloniert (Primer siehe 3.11.5 RANBP3L-Prom1-2 kb, RANBP3L-Prom2-0,8 kb) (4.9). Dazu wurde ein langes 2 kb großes Promotorfragment als auch ein kürzeres (800 bp), welches aber immer noch beide putative NFAT5-Bindesequenzen enthält, in einen PGL3-Vektor kloniert (3.7, PGL3-2 kb-m*Ranbp3l*, PGL3-0,8 kb-m*Ranbp3l*). Zusätzlich wurden die zwei NFAT5-Bindestellen im *Ranbp3l*-Promotor mittels *quick change mutagenese* mutiert (3.7, jeweils eine = PGL3-0,8 bp-quick1-m*Ranbp3l*, PGL3-0,8 bp-quick2-m*Ranbp3l* sowie beide zusammen = PGL3-0,8 bp-quick1+2-m*Ranbp3l*). Das jeweilige *Ranbp3l*-Promotor-Fragment wurde vor die für Luciferase-kodierende-Region kloniert (Primer siehe 3.11.5 RANBP3L-Prom1-2 kb, RANBP3L-Prom2-0,8 kb). Bindet nun NFAT5 an die putativen Erkennungssequenzen des Promotor-Fragments aktiviert es als Transkriptionsfaktor die Expression der Luciferase, welche durch eine Lumineszenzmessung quantifiziert werden kann (4.9.4). Somit kann durch die Lumineszenz die Promotoraktivität angegeben werden. Die Promotoraktivität wurde nachfolgend in HEK-293T-Zellen untersucht (4.9.4). Ebenfalls wie die mpkCCD-Zellen transloziert NFAT5 in HEK-293T-Zellen unter Hyperosmolalität in den Kern (siehe Anhang Abbildung 58) und kann nachfolgend die Expression von Zielgenen aktivieren. HEK-293T-Zellen wurden mit dem gewünschten Plasmidkonstrukt transfiziert und 24 h unter 450 mosmol/kg Medium inkubiert und nachfolgend die Lumineszenz gemessen. Da HEK-293T-Zellen im Gegensatz zu mpKCCD-Zellen nicht differenzierte Nierenzellen sind, führt eine kurzfristige Inkubation dieser Zellen bei 600 mosmol/kg zu unerwünschten apoptotischen Nebeneffekten [26]. In Abbildung 33 sind die Ergebnisse der Lumineszenzmessung dargestellt. In Abbildung 33A ist zu erkennen, dass das 2 kb Promotor-Konstrukt eine ca. zweifache Induktion der *Ranbp3l*-Promotoraktivität im Vergleich zur isoosmolaren Kontrolle zeigt. Die weiteren Daten aus Abbildung 33B zeigen außerdem, dass das 0,8 kb Konstrukt ebenfalls die Promotoraktivität induziert in etwa in der gleichen Relation wie das 2 kb Konstrukt.

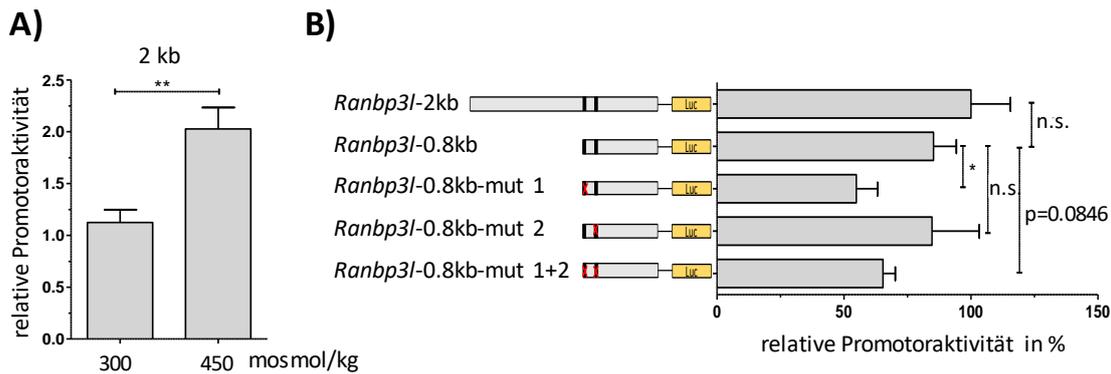


Abbildung 33: Promotoraktivität von mutierten *Ranbp3l*-Promotorfragmenten in HEK-293T-Zellen.

A) Gesteigerte Promotoraktivität des kompletten (2kb) *Ranbp3l*-Konstrukts unter 450 mosmol/kg im Vergleich zu 300 mosmol/kg. Mittelwerte \pm SEM (Fehlerbalken), $n = 4$ (mit jeweils technischen Duplikaten) **, $p < 0,01$, Student's-T-Test. **B)** Relative Promotoraktivität nach Inkubation der Zellen unter 450 mosmol/kg Mediumosmolalität. Es ist kein signifikanter Unterschied in der Promotoraktivität zwischen dem 2 kb und dem 0,8 kb Promotor-Konstrukt zu erkennen. Die Mutation der ersten Bindestelle sorgt für eine signifikant geringere Aktivität, während eine Mutation der zweiten Bindestelle kein Unterschied in der Aktivität erkennen lässt. Eine Kombination beider Mutationen sorgt wiederum für eine tendenzielle Reduktion der Aktivität (Mut-1 = erste Bindestelle mutiert, Mut 2 = zweite Bindestelle mutiert, Mut-1+2 = beide Bindestellen mutiert. Mittelwerte \pm SEM (Fehlerbalken), $n = 4$ (mit jeweils technischen Duplikaten), n.s., $p > 0,05$, *, $p < 0,05$, 1-Weg-ANOVA) [85].

Dagegen zeigt eine Mutation der ersten Bindestelle (konservierte Bindestelle 1 aus Abbildung 32B) eine deutlich verringerte Aktivierung um etwa 50 %, wohingegen eine Mutation der zweiten Bindestelle (teilweise konservierte Bindestelle 2 aus Abbildung 32B) zu keiner signifikanten Reduktion der Promotoraktivität geführt hat. Eine Kombination beider Mutationen zeigt erneut eine Verringerung der Promotoraktivität (Abbildung 33 B). Zusammenfassend kann aber gesagt werden, dass anhand der gezeigten Daten eine direkte NFAT5-Beteiligung an der *Ranbp3l*-Expression stattfinden könnte.

5.6 Generierung einer CRISPR/Cas9-vermittelten-RANBP3L-defizienten-mpkCCD-Zelllinie

5.6.1 Genomische Charakterisierung des RANBP3L-Knockouts

Die meisten NFAT5-abhängigen-Gene haben in der Niere eine osmoprotektive-Eigenschaft [40, 53]. *RANBP3L* konnte mit den hier gezeigten Daten als neues osmolalitäts-induziertes-NFAT5-Zielgen beschrieben werden dessen physiologische Rolle in der Niere bislang noch ungeklärt ist. Da die mpkCCD-Zelllinie ein gutes Modellsystem für hyperosmolalitäts-vermittelte-Adaptionsprozesse widerspiegelt, wurde folgend die zelluläre Funktion von RANBP3L in diesen Zellen untersucht. Dafür wurde, analog zu den NFAT5-CRISPR/Cas9-Experimenten, die funktionelle Expression von RANBP3L in den mpkCCD-Zellen

verhindert. Es wurden hierfür *Ranbp3l*-gRNAs designed (Tabelle 19, Nutzung der Oligos aus 3.11.1 für *Ranbp3l* nach 4.4.1.2) und in den Crispr lenti v2-Vektor kloniert (3.7, Crispr lenti v2-gRNA1-mRanbp3l, Crispr lenti v2-gRNA2-mRanbp3l und Crispr lenti v2-gRNA3-mRanbp3l).

Tabelle 19: Verwendete gRNAs für den murinen *Ranbp3l*-Lokus

| Name | gRNA-Sequenz | Exon |
|---------------|----------------------|------|
| RANBP3L-gRNA1 | CTTTGTCTCAAACGCGTCTG | 5 |
| RANBP3L-gRNA2 | TTGCGACTGAACGACACGGC | 13 |
| RANBP3L-gRNA3 | CAGCTGACGCGTGCACGAAC | 1 |

Die erzeugten Plasmide wurden zur Virusproduktion in HEK-293T-Zellen transfiziert, die Viruspartikel in mpkCCD-Zellen transduziert und die erhaltene Mischkultur mittels PCR und Sangersequenzierung untersucht (Primer für Zielsequenzamplifizierung 3.11.2, mRanbp3l-gRNA1, mRanbp3l-gRNA2, mRanbp3l-gRNA3). Hier zeigte sich, dass RANBP3L-gRNA2 transduzierte mpkCCD-Zellen zwar unter 2 µg/ml Puromycin kultivierbar waren, aber keine Sequenzveränderungen aufwiesen (Daten nicht gezeigt). Aus diesem Grund wurde nur die RANBP3L-gRNA1 und gRNA3 mpkCCD-Mischkulturen mittels Verdünnungsreihe in Einzelklone separiert (4.4). Final gelang es so zwei RANBP3L-*Knockout*-Klone (R1 und R3) verschiedener gRNAs zu gewinnen (Abbildung 34). Als Kontrollzellen dienten wieder die bereits etablierten Scr-mpkCCD-Zellen.

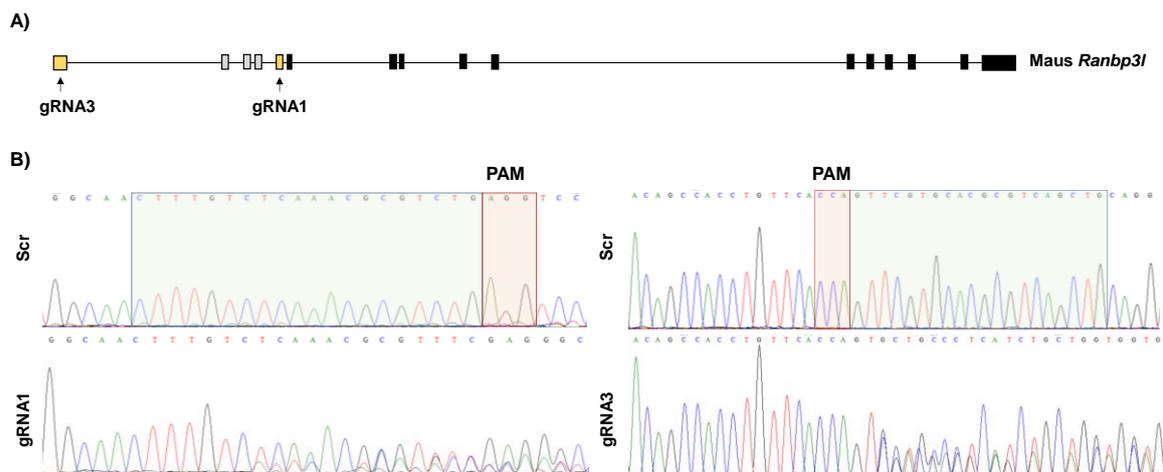


Abbildung 34: Genomische Struktur von murinem *Ranbp3l* nach gRNA-Transduktion.

A) Schematische genomische Struktur von Maus *Ranbp3l*. Grau = nicht kodierende Exons, gelb = Exon mit Zielsequenz, Schwarz = kodierende Exons. B) Sequenzanalyse von Scr, R1 und R3 Zellen für Zielsequenzenthaltendes DNA-Fragment. Beide Klone weisen multiple Peaks an derselben Stelle auf, was auf eine Genomveränderung durch die gRNA zurückzuführen ist. PAM = protospacer adjacent motif, rot = PAM Sequenz, grün = Zielsequenz.

Der Vergleich der WT-Sequenz gegen die Sequenz beider RANBP3L-defizienten-Klone durch die TIDE-Analyse (4.4.3.3) ergibt Mutationen, welche einen *Frameshift* in beiden Einzelklonen auf beiden Allelen aufweist (Abbildung 35).

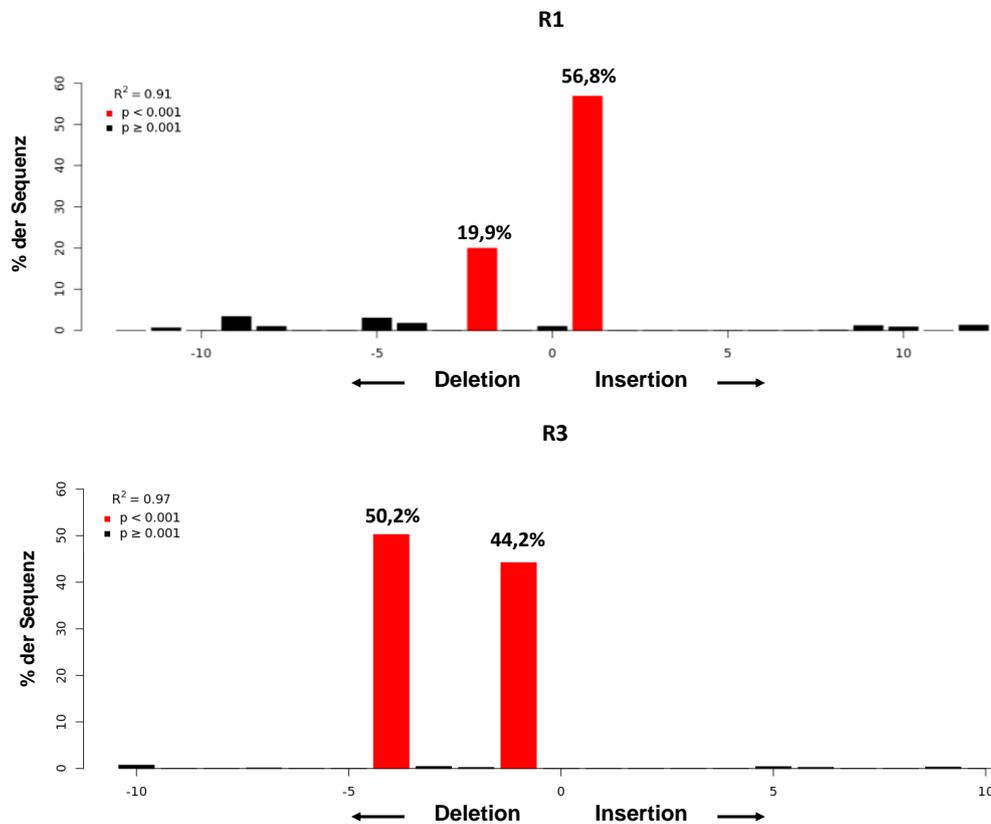


Abbildung 35: TIDE-Analyse der RANBP3L-defizienten-mpkCCD-Zellen.

Das PCR-Amplifikat wurde mit einer jeweiligen Kontrollsequenz sowie der gRNA Sequenz in die TIDE Software geladen. Die Zahlen über den Balken beziehen sich auf den Anteil des InDels an der Gesamtsequenz angegeben in %. Klon R1 (oben) weist, eine Deletion von 2 bp sowie eine Insertion von 1 bp auf. Klon R3 (unten) dagegen zeigt eine Deletion von 4 bp sowie 1 bp (rot = signifikant, schwarz = nicht signifikant) [85].

Ebenfalls wie für NFAT5 wurden mittels TOPO-TA-Klonierung (4.4.3.4) die Ergebnisse aus der bioinformatischen TIDE-Analyse bestätigt (Tabelle 20). Hierfür wurde in den R1- und R3-Zellen der gRNA-tragende-*Ranbp3l*-Lokus mittels PCR amplifiziert (Primer siehe Primer für Zielsequenzamplifizierung 3.11.2, mRanbp3l-gRNA1, mRanbp3l-gRNA3) und das Amplifikat in den TOPO-TA-Vektor kloniert. Auch hier wurden, nach Transformation des zwischenklonierten Plasmids auf Ampicillin + X-Gal-Aagar Platten, jeweils 10 weiße Klone eines jeden Amplifikats gepickt, die DNA aufgereinigt und mit dem M13 *sense* Primer (3.11.3) sequenziert. Der Einzelklon R1 weist eine Insertion von 1 bp (T) und eine Deletion von 2 bp (TC) auf, während in R3 zwei Deletionen von je 1 bp (G) und 4 bp (CGTG) gezeigt werden können.

Tabelle 20: Zusammenfassung der Sequenzanalyse aller R1 und R3-TOPO-TA-Klone.

| WT-Sequenz | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| AACTTTGTCTCAAACGCGTCTGAGGTCCTCGTCA | CCAGTTCGTGCACGCGTCAGCTGCAGGTGCAGG |
| RANBP3L-gRNA1-KO | RANBP3L-gRNA3-KO |
| AACTTTGTCTCAAACGCGTCTGAGGTCCTCGTCA | CCAGTT----CACGCGTCAGCTGCAGGTGCAGGA |
| AACTTTGTCTCAAACGCG--TGAGGTCCTCGTCA | CCAGTTC-TGCACGCGTCAGCTGCAGGTGCAGGA |

Auf DNA-Ebene konnte eindeutig eine Leserasterverschiebung festgestellt werden, was zu einem Funktionsverlust des RANBP3L-Proteins führen müsste. Folgend wurde die analysierte DNA-Sequenz der Einzelklone R1 und R3 mittels Expassy in Proteinsequenzen umgerechnet (komplette AS-Sequenz siehe Anhang 8.10.2). Es zeigt sich, dass es in beiden Einzelklonen N-terminal vor der RAN-Bindedomäne zu einem Translationsabbruch kommt und somit ein Funktionsverlust von RANBP3L zu erwarten ist. In Abbildung 36 sind die berechneten *Knockout*-Varianten schematisch dargestellt, wobei in Klon R1 ein längeres RANBP3L-Protein synthetisiert wird als in R3.

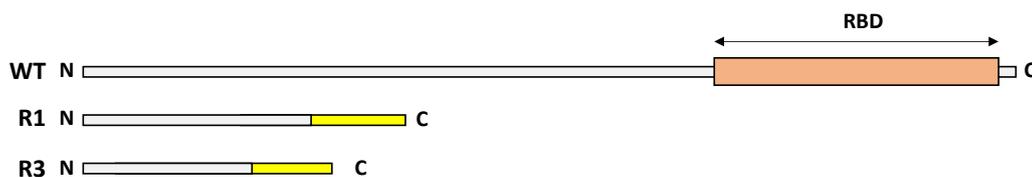


Abbildung 36: Schematische Darstellung der trunkeierten RANBP3L Varianten.

Während die WT RANBP3L Sequenz C-terminal eine RAN Bindedomäne (RBD) beinhaltet, die über viele RANBP Familienmitglieder konserviert ist, konnte gezeigt werden, dass in den Klonen R1 und R3 es durch die Leserasterverschiebung zu einem frühzeitigen N-terminalen Translationsabbruch kommt (Grau = nicht konservierter Bereich, braun = RAN Bindedomäne, Gelb = durch CRISPR/Cas9-vermittelte *de-novo*-Sequenz, die zu einem frühzeitigen Abbruch während der Translation führt).

Es existiert zum Zeitraum der Anfertigung dieser Dissertation kein kommerziell erhältlicher Antikörper gegen murines RANBP3L. Aus diesem Grund konnte die CRISPR/Cas9-vermittelte-RANBP3L-Defizienz in den mpkCCD-Zellen nicht, wie für NFAT5, durch Western Blot oder Immunfluoreszenz verifiziert werden. Nachfolgend sind die ausgewählten Klone R1 und R3 morphologisch und phänotypisch charakterisiert worden.

5.6.2 Morphologische Untersuchungen der RANBP3L-KO-Zellen

Um zu überprüfen, ob ein RANBP3L-*Knockout* (RANBP3L-KO) in den mpkCCD-Zellen zu morphologischen Veränderungen von Zell-Zell-Kontakten führt, wurde das F-Aktin als Bestandteil des Zytoskeletts angefärbt. Durch die Affinität von Phalloidin zum F-Aktin

lassen sich Anteile des Aktin-Zytoskeletts anfärben [118]. Bei der Scr-Kontrolle sind die Aktin-Filamente hauptsächlich membranassoziiert (Abbildung 37A).

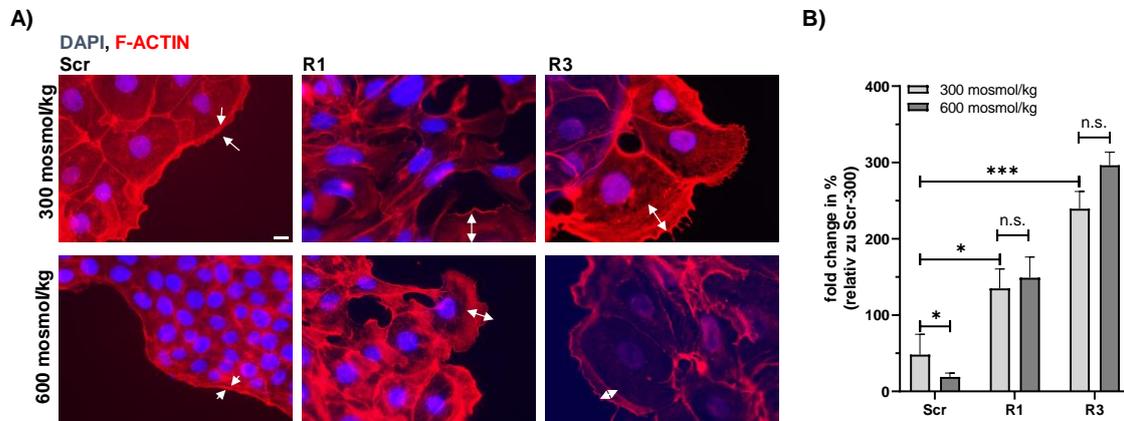


Abbildung 37: Morphologische Analyse von Scr-, R1- und R3-mpkCCD-Zellen.

A) Färbung von F-Aktin mit Alexa-568-gekoppeltem Phalloidin in Scr-, R1- und R3-mpkCCD-Zellen, Färbung des Zellkerns mit DAPI (Maßstabsleiste: 10 μ m). Weiße Pfeile zeigen die Grenze der Lamellipodien an. B) Fold change der Lamellipodien-Fläche von RANBP3L-KO-Zellen im Vergleich zu Scr-Zellen. Die von Lamellipodien-bedeckte-Fläche wurde mit der *Zen Blue-Software* gemessen. Die Färbung der Zellen mit Phalloidin-Alexa Fluor™ 568 und die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die Scr-, R1 und R3-Probe. Für jede Bedingung wurden 2-4 Zellen aus 3 unabhängigen biologischen Replikaten gemessen (n = 3, Mittelwerte \pm SEM (Fehlerbalken), n.s., p > 0,05, *, p < 0,05, ***, p < 0,001, 1-Weg-ANOVA) [85].

Dadurch lassen sich einzelne Zellen voneinander unterscheiden. Weiterhin sind zwischen den Zellen kaum Lücken zu erkennen, was auf einen starken Zell-Zell-Kontakt schließen lässt. Dieser Effekt verstärkt sich bei Anpassung an die Hyperosmolalität enorm. Im Kontrast dazu weisen die Zellverbände der RANBP3L-KO-Zellen auch starke intrazelluläre Stressfaser-Signale auf (Abbildung 37A). Die Zellgrenzen sind nicht weniger deutlich zu erkennen. Auch die Anpassung an das hyperosmolare Medium ist morphologisch nicht mehr zu erkennen. Zur genaueren Quantifizierung wurden aus den Bildern die Fläche der Lamellipodien gemessen (4.2.16.2) (Abbildung 37B). Deutlich dabei zu erkennen ist die Vergrößerung der Lamellipodien in den RANBP3L-KO-Klonen um das 1.5- bis 3-fache.

5.6.3 Funktionelle Charakterisierung der RANBP3L-KO-Zellen

Die Fluoreszenzaufnahmen konnten zeigen, dass RANBP3L-KO-Zellen im Vergleich zu Scr-Zellen deutlich reduzierte Zell-Zell-Kontakte ausprägen sowie vergrößerte Lamellipodien besitzen. Deswegen wurde im nächsten Schritt das Migrationsverhalten der Zellen untersucht.

5.6.3.1 Migrationsanalysen

Das Migrationsverhalten von Scr- und RANBP3L-KO-Zellen wurde über das Live-Zell-*Imaging*-System von Incucyte über 24 h bestimmt (4.5.1.2). Dabei ist zu erkennen, dass sich bereits nach 8 h bei RANBP3L-defizienten-Zellen die Wunde fast komplett geschlossen hat, während die Scr-Zellen deutlich langsamer migrieren. Dieses Phänomen ist zusätzlich unter 600 mosmol/kg verstärkt zu beobachten (Abbildung 38A). Mittels IncuCyte®-Software konnte die Zellmigration auch quantitativ ausgewertet werden. Abbildung 38B zeigt die relative Migrationsänderung nach 8 h, während Abbildung 38C die relative Wunddicke (*relative wound density*, RWD) in Prozent über die gesamten 24 h angibt. Zu erkennen ist, dass die RANBP3L-defizienten-Zellen nach 16 h keinen offenen Wundrasen mehr aufweisen, wohingegen die Scr-Zellen zu diesem Zeitpunkt erst bei 50-70 % relativer Wunddicke sind.

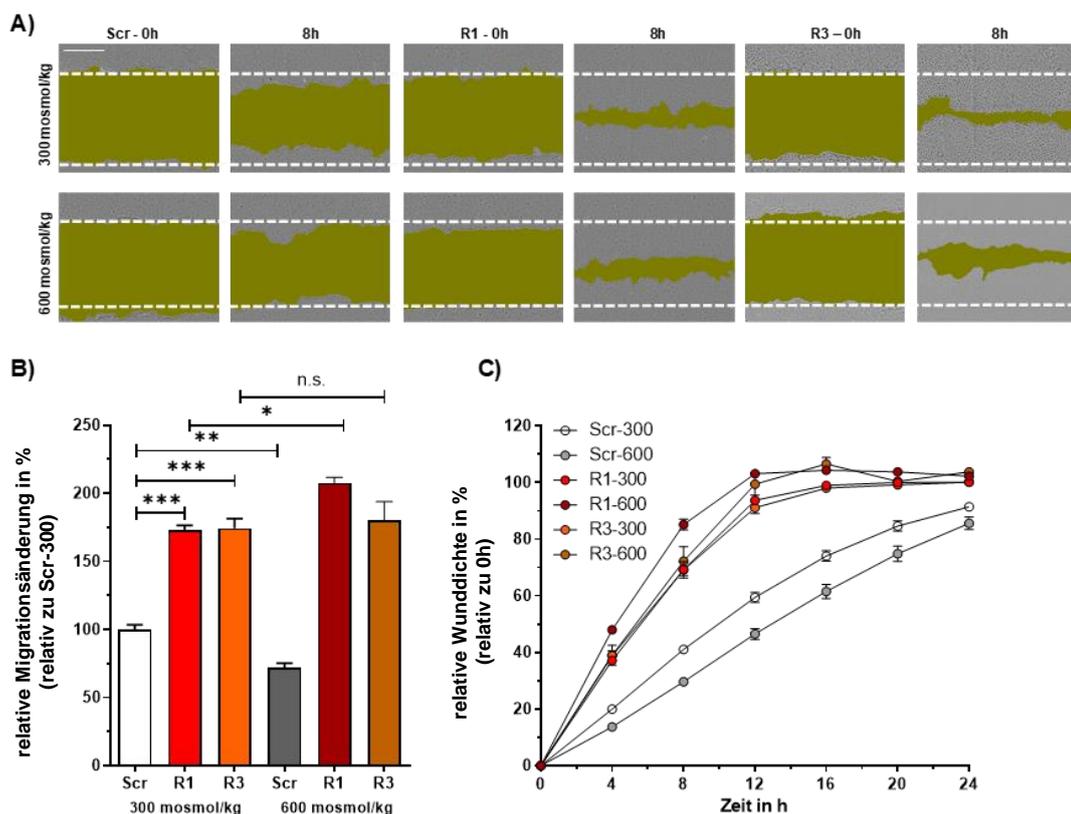


Abbildung 38: Untersuchung der Migrationsgeschwindigkeit von Scr-, R1- und R3-mpkCCD-Zellen.

A) Repräsentative Bilder der Wundschließung. Scr-, R1- und R3-mpkCCD-Zellen wurden in 96-well Platten kultiviert, und die Zellmigration wurde durch Live-Zell-*Imaging* mit dem IncuCyte S3-System überwacht. Die Bilder zeigen die fortschreitende Schließung einer induzierten Wunde zu den angegebenen Zeitpunkten (0 h und 8 h). Die Wundbereiche sind dunkelgrün markiert (Maßstabsbalken: 400 µm). B) Die relative Migrationsänderung nach 8 h wurde durch lineare Regressionsanalyse mit GraphPad Prism berechnet. C) Diagramm der Wunddicke über die Zeit. Der Migrationstest wurde 24 h lang durchgeführt (Mittelwerte ± SEM (Fehlerbalken), n = 6 (mit 4 technischen Wiederholungen), n.s., p > 0,05, *, p < 0,05, ***, p < 0,001, 1-Weg-ANOVA) [85].

5.6.3.2 Proliferationsanalysen

Ebenfalls über das Live-Zell-Imaging-System von Incucyte wurde die Proliferation der mpkCCD-Zellen bestimmt (4.5.1.2). Mittels einer exponentiellen Wachstumsgleichung (4.5.1.2) wurde die Verdopplungszeit der Scr-, R1- und R3-Zellen berechnet. Diese Ergebnisse zeigen unter isoosmolaren Bedingungen eine signifikant erhöhte Verdopplungszeit der RANBP3L-KO-Zellen auf ca. 13-14 h. Im Vergleich dazu weisen die Scr-Zellen eine mittlere Verdopplungszeit von 11 h auf (Abbildung 39). Ein ähnlicher Effekt lässt sich ebenfalls unter Hyperosmolalität beobachten.

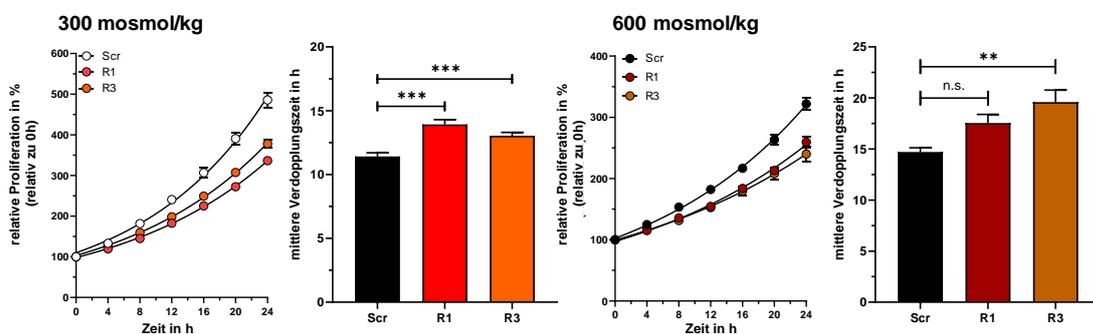


Abbildung 39: Proliferationsanalysen von Scr-, R1- und R3-mpkCCD-Zellen.

Die Zellen wurden in 96-well-Platten kultiviert und die Proliferation wurde durch Live-Zell-Imaging mit dem IncuCyte S3-System gemessen, wobei alle 4 h über 24 h ein Bild aufgenommen wurde. Die relative Zelldichte wurde mit der IncuCyte S3-Software berechnet und auf die Zelldichte bei 0 h normiert. Die Datenpunkte wurden durch eine nichtlineare exponentielle Wachstumsgleichung mit GraphPad Prism angepasst um die mittleren Verdopplungszeiten zu berechnen (Mittelwerte \pm SEM (Fehlerbalken), $n = 3$ (mit 4 technischen Wiederholungen), n.s., $p > 0,05$, **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$, Student's-T-Test) [85].

5.6.3.3 Soft-Agar-Assay

Zusätzlich zu den Migrations- und Proliferationsversuchen wurde mittels des Soft-Agar-Assays die verankerungsunabhängige Koloniebildung beobachtet [119] (4.5.2). Diese Eigenschaft wird als ein Kennzeichen der Karzinogenese betrachtet [120]. Die Auswertung zeigte nach zwei Wochen Kultivierung eine deutlich größere Kolonie-Anzahl in RANBP3L-KO-Zellen (Abbildung 40A). Die quantitative Auswertung ergibt zwar deutliche Streuungen innerhalb der Koloniezahl, ist aber stets in den RANBP3L-KO-Zellen erhöht (Abbildung 40B). Im Mittel liegt die Koloniezahl bei ca. 300-400. Weiterhin ist die Größe der vorhandenen Kolonien der RANBP3L-KO-Zellen deutlich erhöht. Zusätzlich ist zu beobachten, dass unter 600 mosmol/kg aus Scr-Zellen keine Kolonien anwachsen konnten. Währenddessen kommt es bei RANBP3L-KO-Zellen immer noch zu zwar kleinem, aber deutlichem Kolonienwachstum (Abbildung 40C).

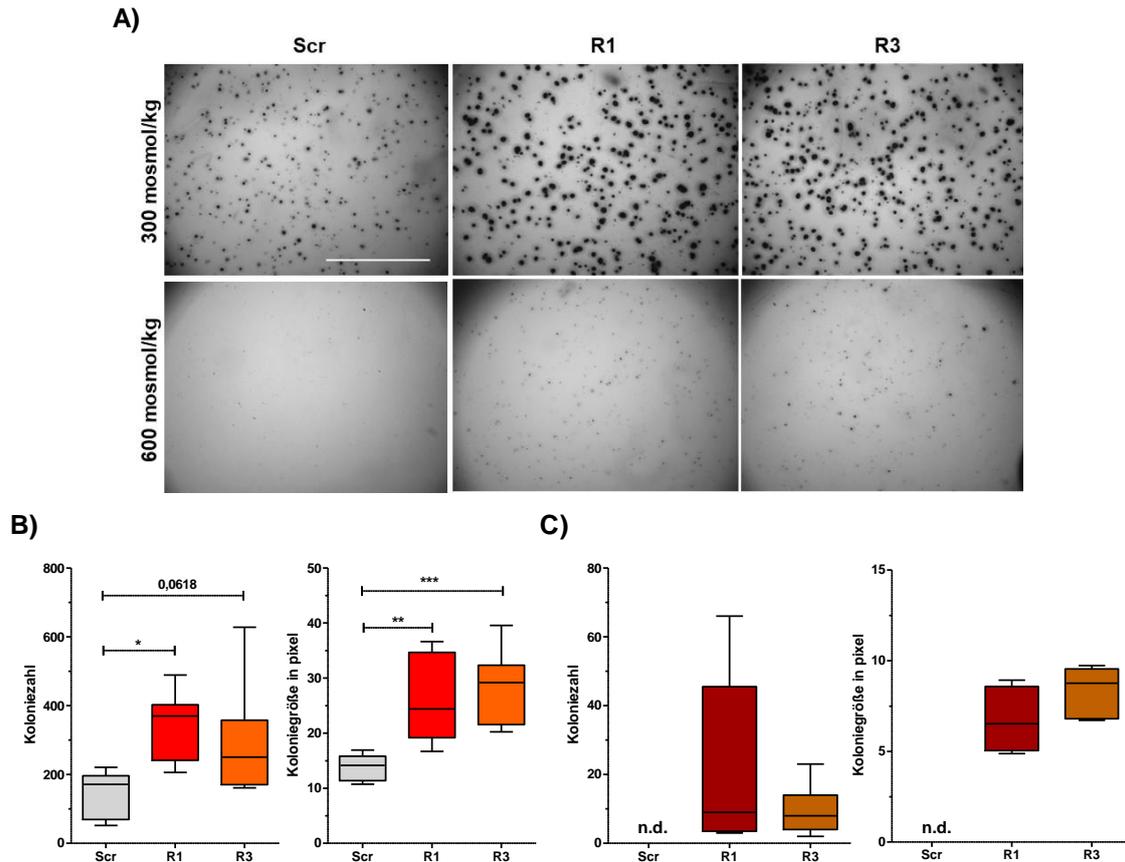


Abbildung 40: Analyse der Fähigkeit zur Koloniebildung in Scr, R1 und R3 mpkCCD-Zellen.

A) Repräsentative Bilder von Scr-, R1- und R3-Zellen während des Koloniebildungstests. Nach zweiwöchiger Inkubation wurden 4-5 Bilder pro Vertiefung aufgenommen und mit dem *Image-J-Software* übereinandergelegt (Maßstabsleiste: 500 Pixel). B-C) Koloniezahl und Koloniegröße bei 300 mosmol/kg (B) und 600 mosmol/kg (C). Die Werte sind in einem Whisker-Plot mit 1-99 Perzentilen dargestellt (n.d. = nicht detektierbar, n = 4 (mit je mindestens 4 technischen Replikaten), *, p < 0,05, **, p < 0,01, ***, p < 0,001, Student's-T-Test) [85].

5.6.4 Genexpressionanalyse von RANBP3L-defizienten-Zellen

5.6.4.1 Globale Genexpressionsveränderung

Ein Verlust von RANBP3L in mpkCCD-Zellen führt zu starken morphologischen und phänotypischen Veränderungen. Um zu analysieren welche Gene diese Veränderungen bedingen, wurde mittels Next-Generation-Sequenzierung (NGS) das globale Genexpressionsprofil von Scr- und RANBP3L-KO-Zellen (folgend nur für R1 gezeigt) unter isoosmolaren sowie hyperosmolaren Bedingungen bestimmt. Wie schon in den vorangegangenen Versuchen übernahm die Firma Novogene Co. Ltd dabei die Qualitätskontrolle der RNA-Proben, die RNA-Sequenzierung und die bioinformatische Auswertung der erhaltenen Daten (siehe Anhang 8.3). Im Folgenden wird ein Teil der erhaltenen Ergebnisse beschrieben. Die in Abbildung 41A dargestellten Volcano-Plots

zeigen alle signifikant differentiell-regulierten-Transkripte im Vergleich zu den Scr-Kontrollzellen, jeweils bei 300 mosmol/kg (links) und bei 600 mosmol/kg (rechts).

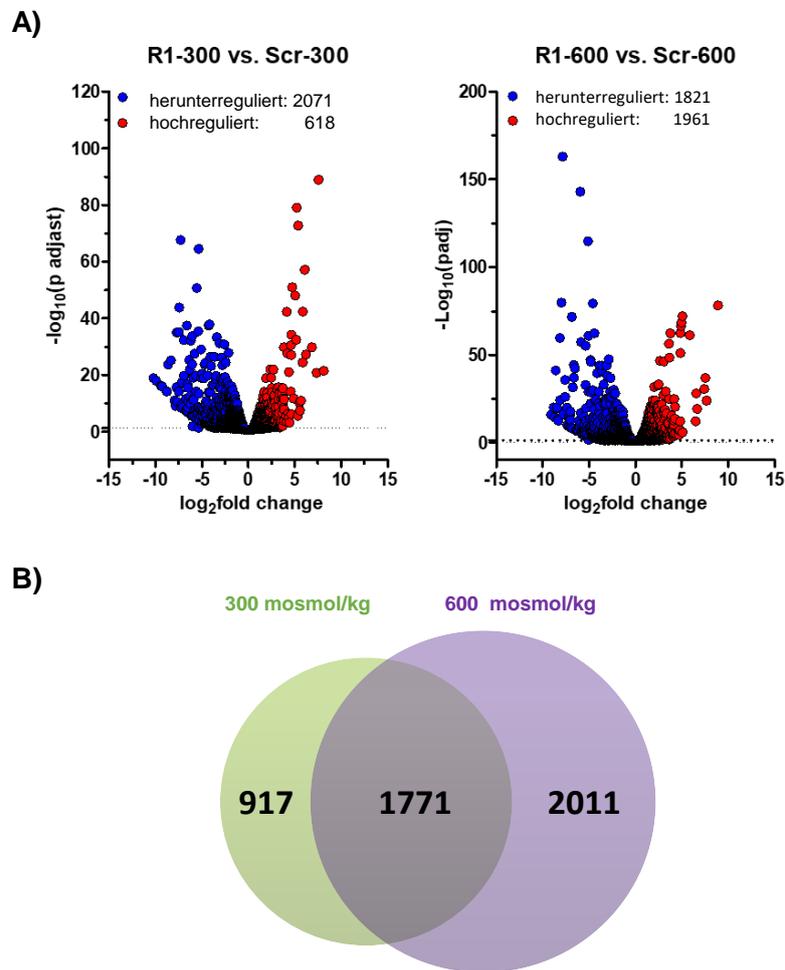


Abbildung 41: Signifikant-deregulierte-Gene zwischen RANBP3L-defizienten-Zellen und Scr-Zellen bei 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg.

A) Scr- und R1-mpkCCD-Zellen wurden 7 d in 300 mosmol/kg und 600 mosmol/kg Medium kultiviert. Anschließend wurde die RNA isoliert, die Reinheit bestimmt und durch die Firma Novogene durch NGS analysiert. Der hier dargestellte Volcano-Plot gibt Auskunft darüber, welche Gene in welchem Ausmaß differentiell exprimiert werden sowie auch wie signifikant diese Veränderung ist. Die x-Achse stellt den \log_2 fold change dar. Die Y-Achse dagegen gibt den $-\log_{10}(\text{p adjust})$ -Wert an. P_{adjust} -Werte von $\geq 0,05$ wurden als nicht signifikant eingestuft (gestrichelte Linie). Dargestellt sind alle unterschiedlich regulierten Gene zwischen den bei 300 mosmol/kg (links) und 600 mosmol/kg (rechts) ermittelten Transkripten. Die Punkte in den Volcano-Plots repräsentieren Gene (Blaue Punkte stehen für herunterregulierte Gene, die rote Punkte dagegen für hochregulierte Gene, schwarz = nicht signifikant regulierte Gene, $n = 2$ für jede Osmolalität). **B)** Venn-Diagramm zeigt die Überschneidung von 1771 Genen, deren Genexpression bei 300 und 600 mosmol/kg in R1-Zellklonen verändert ist [85].

Es ist zu erkennen, dass bei 300 mosmol/kg Mediumosmolalität kultivierte RANBP3L-defiziente-Zellen im Vergleich zu den Scr-Zellen 2689 Gene signifikant differentiell exprimiert wurden, wovon ein Großteil der Gene (2071 Gene) in den RANBP3L-*Knockouts* signifikant herunterreguliert ist. Dagegen sind 618 Gene signifikant in ihrer Expression

hochreguliert. Bei höheren Mediums-osmolalitäten nimmt die differenzielle Genexpression zwischen RANBP3L-KO-Zellen und Kontrolle zu. Dort werden insgesamt 3782 Gene signifikant differentiell reguliert. Für die weitere statistische Analyse wurden alle differentiell-regulierten-Gene in RANBP3L-defizienten-Zellen im Vergleich zur Scr-Kontrolle bei 300 mosmol/kg sowie 600 mosmol/kg zusammengefasst. Dies ergab eine Gruppe von 4699 signifikant-regulierten-Genen (Abbildung 41B). Die Gesamtheit dieser Gene beschreibt final die Veränderung der Genexpression von mpkCCD-Zellen bei einer RANBP3L-Defizienz. Die weitere Analyse der 4699 differentiell exprimierten Gene (DEGs) ergab eine Deregulierung von 1771 Genen, die sich unter iso- und hyperosmotischen Bedingungen überschneiden. Interessanterweise waren fast alle Gene (1767) zwischen 300 und 600 osmol/kg gemeinsam hoch (468) beziehungsweise herunter (1299) reguliert (komplette Liste siehe Anhang 8.11.1). Im Gegensatz dazu waren 917 Gene ausschließlich unter isoosmolaren Bedingungen verändert, während 2011 Gene nur unter hyperosmotischen Bedingungen differentiell exprimiert wurden.

5.6.4.2 Analyse von Signalwegen und angereicherten Gensets

Abbildung 42A zeigt die 4699 Gene als Heatmap. Hierarchisches Clustering trennte die Scr-Zellen eindeutig von den RANBP3L-KO-Zellen und innerhalb dieser Gruppen gruppieren sich die Proben nach ihren Zellkulturbedingungen (300 mosmol/kg oder 600 mosmol/kg). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass osmolalitätsregulierte-Gene aus den Scr-Zellen keine Regulation in RANBP3L-defizienten-Zellen aufweisen (Abbildung 42A). Die *in-silico*-Analysen von biologischen Prozessen (Abbildung 42B) und KEGG Signalwegen (Abbildung 42C) der 4699 DEGs (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) wurden mit dem DAVID *tool* (4.11.3.5) generiert und ergab eine signifikante Anreicherung von Genen in Verbindung mit ribosomalen Signalwegen (*translation*, *Ribosome*) sowie Krebs-assoziierten-Pfaden (*angiogenesis*, *cell migration*, *Pathways in Cancer*, *Proteoglycans in Cancer* und *PI3K-Akt pathway*) (Abbildung 42B-C). Diese Ergebnisse sind durch eine Gensatzanreicherungsanalyse (GSEA, *Gene Set Enrichment Analysis*) bestätigt. Der zu untersuchende Datensatz aus den 4699 Genen ergab als Top 2 angereicherte Gensets in der Klasse *Hallmarks* eine Anreicherung von EMT- (*Epithelial-to-mesenchymal transition*) und TGF- β -assoziierten-Pfaden. Weiterhin zeigt sich die Tendenz zu einer Anreicherung von Genen aus dem KEGG-Genset für Nierenzellkarzinom in RANBP3L-KO-Zellen

(Abbildung 42C, weitere Genset-Anreicherungen sind dem Anhang unter 8.11.2 zu entnehmen).

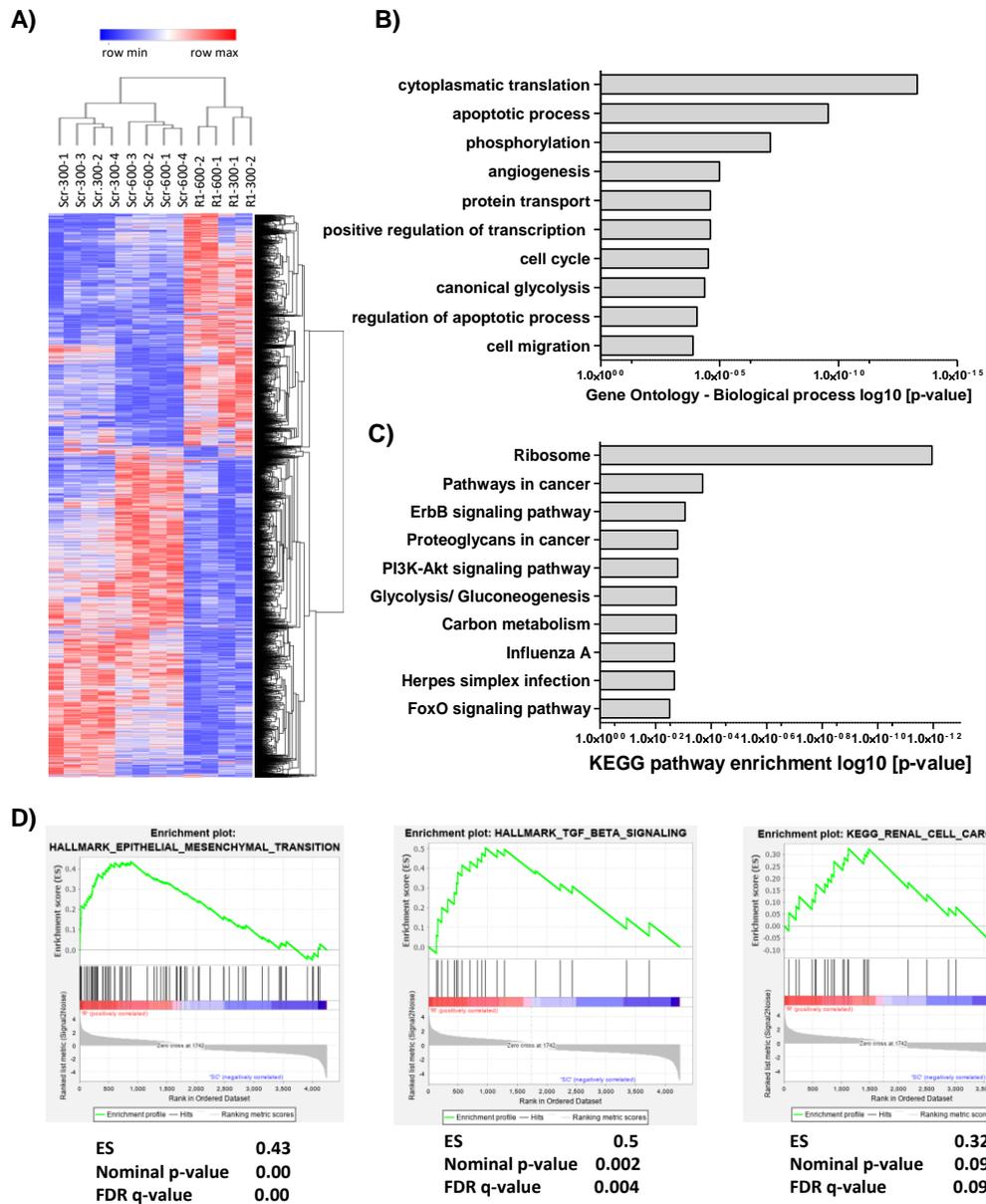


Abbildung 42: Bioinformatische Gruppierung und Analysen von angereicherten Gensets nach Verlust von RANBP3L.

A) *Heatmap* und hierarchisches *Clustering* aller 4699 differenziell-regulierter-Gene zwischen Scr und R1-Zellen. **B-C)** Die Liste der unterschiedlich exprimierten Gene zwischen Scr und R1 mpkCCD-Zellen, die unter 300 und 600 mosmol/kg kultiviert wurden, wurde auf Anreicherung biologischer Prozesse (B) oder von KEGG-Pfaden (C) analysiert. Die 10 am stärksten angereicherten Pfade sind hier jeweils dargestellt. **D)** Die Gensatz-Anreicherungsanalyse (GSEA) der RNA-Seq-Ergebnisse zeigt die Induktion von EMT- und TGF-β-Signalwegen sowie eine positive Korrelation mit Nierenzellkarzinom-Signalwegen. Ein GSEA-Plot ist dabei aufgeteilt in drei verschiedene Bereiche. Im oberen Teil der Grafik (grüner Graph) befindet sich der laufende Enrichment Score (ES) für den Gensatz, während die Analyse die Rangliste abläuft. Der Wert an der Spitze des Diagramms entspricht dem ES für den Gensatz. Der zweite Teil des Diagramms (Mitte mit roter bis blauer Abstufung) zeigt, wo die Mitglieder der Gengruppe, die mit dem Pfad oder dem Merkmal in Verbindung stehen, sich in der Rangliste befinden. Der dritte Teil des Graphen (unten in grau) zeigt die Anzahl sowie die Verteilung von positiv zu negativ des zu analysierenden Gensets entlang der Liste [85].

5.6.4.3 Assoziation einer RANBP3L-Defizienz mit der Expression prognostischer Gene im RCC

Als nächstes wurde untersucht, ob die in den RANBP3L-KO-Zellen RCC-tendierende Gensignatur mit den Expressionsprofilen der menschlichen KIRC-, KIRP- oder KICH-Proben aus der TCGA-Nierenzellkarzinom-Kohorte übereinstimmt, indem die Hauptkomponentenanalyse (PCA) verwendet wurde. Die Hauptkomponentenanalyse ist dabei ein statistisches Verfahren, mit dem viele Variablen (Gene) zu wenigen Hauptkomponenten zusammengefasst werden, um so eine Darstellung der Daten in wenigen Plots zu ermöglichen (4.11.3.4). Von den unter 300 und 600 mosmol/kg gemeinsam regulierten 1771 Genen (Abbildung 42D) wurden für die PCA die 30 am stärksten hoch- und herunterregulierten Gene verwendet (Abbildung 43) (komplette Liste siehe Anhang 8.11.1).

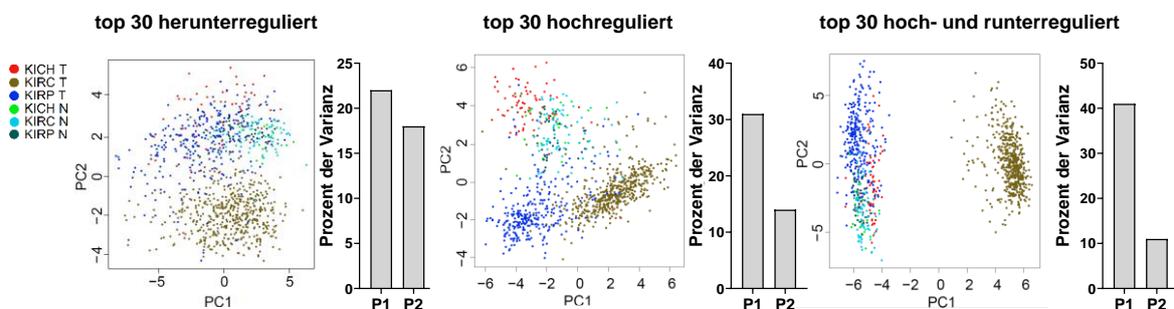


Abbildung 43: Hauptkomponentenanalyse (PCA) der top 30 hoch- und herunterregulierten Gene nach RANBP3L-Verlust.

PCA der top 30 herunterregulierten Gene (links), PCA der top 30 hochregulierten Gene (Mitte), PCA der top 30 hoch und herunterregulierten Gene (rechts) (Liste siehe Anhang 8.11.1.). Die PCA ist ein statistisches Verfahren, mit dem viele Variablen (Gene) zu wenigen Hauptkomponenten zusammengefasst werden. Dafür wird mathematisch eine Trendkurve über alle Werte gelegt (PC1) und wiederum eine zweite Trendkurve, die senkrecht zur ersten steht (PC2). Dies kann weiterhin wiederholt werden für die Anzahl an existierenden Variablen. Meistens decken aber bereits PC1 und PC2 den Großteil der Daten ab, womit durch einen einzigen Plot ($X = PC1$ und $Y = PC2$) eine Aussagekraft für alle Gene beschrieben werden kann. Die Grafik wurde durch GEPIA2 erstellt [70] (Datenstand 14.07.2022). (Rot = KICH-Tumor, Braun = KIRC-Tumor, Blau = KIRP-Tumor, grün = KICH-Normal, türkis = KIRC-Normal, dunkelgrün = KIRP-Normal [85])

Die Visualisierung der ersten beiden Hauptkomponenten ergibt für die 30 am stärksten herunterregulierten Gene eine leichte Separierung des KIRC-Phänotyps während die 30 hochregulierten Gene ein starkes Subtypen-spezifisches-Clustering zeigen. Insbesondere die Kombination von hoch- und herunterregulierten Signaturen trennt die KIRC-Proben deutlich vom Rest. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Verlust von RANBP3L stark mit einer KIRC-Gensignatur assoziiert ist.

Im nächsten Schritt wurde analysiert, ob die RANBP3L-abhängige-Genregulation mit bereits bekannten Nierenkarzinom-assoziierten-Genen korreliert. Dafür wurden die Daten

aus dem Protein-Atlas (4.11.3.3) verwendet, der für das Nierenzellkarzinom 3209 prognostisch unvorteilhafte und 2755 vorteilhaft-regulierten-Genen aufweist (gesamte Liste siehe Anhang 8.11.4). Aus den vorher etablierten 1771 regulierten Genen konnten insgesamt 290 günstige und 333 ungünstige übereinstimmende Gene identifiziert werden (siehe Anhang Abbildung 63). Interessanterweise sind günstige und ungünstige Gene gleichmäßig in der Gruppe der Gene verteilt, die in den RANBP3L-defizienten-Zellen herunterreguliert sind (18 % bzw. 17 %). Im Gegensatz dazu werden in RANBP3L-KO-Zellen eine größere Anzahl ungünstiger Gene (23 %) induziert als günstige Gene (11 %).

Da der humane Protein-Atlas für das Nierenzellkarzinom die mit Abstand meisten prognostischen Gene aufweist, wurde der erhaltene Datensatz von 623 prognostisch übereinstimmenden Genen weiter eingeschränkt- Dazu wurden nur Gene mit einem \log_2 fold change von mindestens > 3 oder ≤ -3 und einem mittleren FPKM-Wert von mehr als 10 extrahiert. So konnten final nur die signifikantesten und am meisten veränderten Transkripte eingeschlossen werden. Dies ergab final eine Liste von 17 Genen (Abbildung 44).

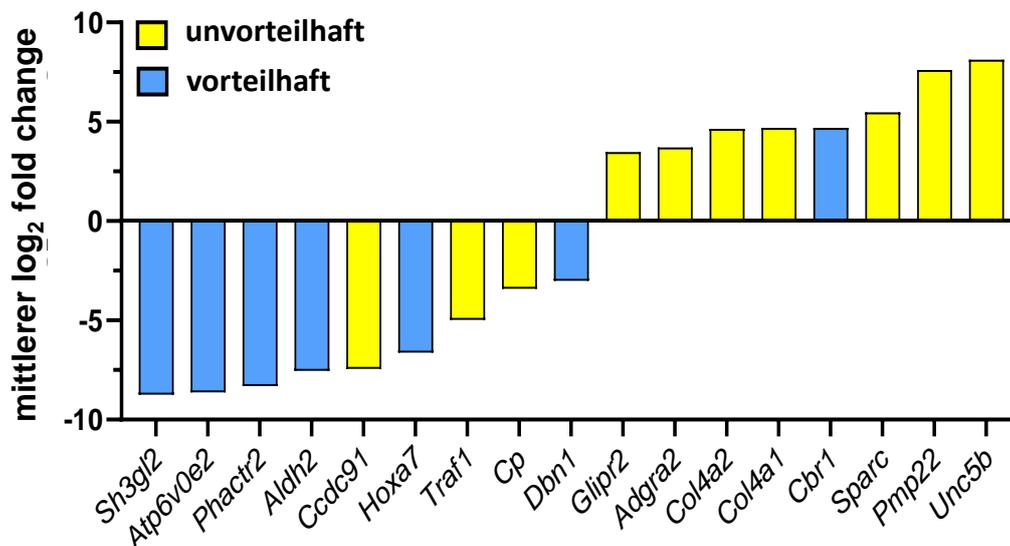


Abbildung 44: Expression prognostischer Gene des RANBP3L-regulierten-Gensets.

Die prognostischen Gene sind nach ihrem korrespondierenden \log_2 fold change sortiert. Dabei sind vorteilhafte Gene blau und unvorteilhafte gelb dargestellt. Nach bioinformatischer Selektion sind von 1771 regulierten Genen 17 Gene übrig. Dabei ist zu erkennen, dass 7 von 8 hochregulierten Genen unvorteilhaft sind und 6 von 9 herunterregulierten Genen vorteilhaft sind. Damit ergibt sich in Summe ein unvorteilhafter Phänotyp [85].

Die Mehrheit der 17 verbleibenden Gene ist mit einer insgesamt ungünstigen Prognose für das Nierenzellkarzinom verbunden. Von insgesamt 8 hochregulierten Genen sind 7 (87,5 %) unvorteilhaft (gelb) und 6 von 9 herunterregulierten Genen (66,7 %) sind als vorteilhaft (blau) klassifiziert. Um diese Daten zu bestätigen wurde mit weiteren RANBP3L-

defizienten-Klonen, für ausgewählte Gene, die Expressionsänderung mittels qPCR analysiert (siehe Anhang 8.11.3).

Weiterhin ist in Tabelle 21 die Funktion der Proteine laut Proteinatlas aufgezeigt. Zusammenfassend legen die Daten nahe, dass der Verlust von RANBP3L zu einer ungünstigen Gensignatur für das Nierenzellkarzinom führt.

Tabelle 21: Funktion aller 17 im RCC prognostischen Gene laut Proteinatlas.

| Gensymbol | prognostischer Faktor im RCC | Funktion laut Proteinatlas [106], Stand 1.08.2022 |
|-----------------|------------------------------|---|
| <i>Sh3gl2</i> | vorteilhaft | Endozytose |
| <i>ATP6v0e2</i> | vorteilhaft | Ion-Transport |
| <i>Phactr2</i> | vorteilhaft | Actin-Bindung |
| <i>Aldh2</i> | vorteilhaft | Oxidoreductase |
| <i>CCdc91</i> | unvorteilhaft | Protein Transport |
| <i>Hoxa7</i> | vorteilhaft | Transkriptionsfaktor, Entwicklung |
| <i>Traf1</i> | unvorteilhaft | Apoptose |
| <i>Cp</i> | unvorteilhaft | Ion-Transport |
| <i>Dbn1</i> | vorteilhaft | Actin-Bindung |
| <i>Glipr2</i> | unvorteilhaft | keine Information bezüglich Funktion |
| <i>Adgra2</i> | unvorteilhaft | Angiogenese |
| <i>Col4a2</i> | unvorteilhaft | Bestandteil der Basalmembran, Angiogenese |
| <i>Col4a1</i> | unvorteilhaft | Bestandteil der Basalmembran, Angiogenese |
| <i>Cbr1</i> | vorteilhaft | Oxidoreductase |
| <i>Sparc</i> | unvorteilhaft | Zellmatrixinteraktion |
| <i>Pmp22</i> | unvorteilhaft | Wachstumsregulations |
| <i>Unc5b</i> | unvorteilhaft | Apoptose |

Die RNA-Seq-Analysen von RANBP3L-defizienten-Zellen zeigen einen signifikanten Einfluss von prognostischen Genen für das Nierenzellkarzinom. Allerdings unterscheidet der humane Protein-Atlas nicht zwischen den Nierenzellkarzinom-Subtypen KIRC, KICH und KIRP. Da die PCA-Analysen (Abbildung 43) eine deutliche Gruppierung der Daten für den KIRC-Phänotyp zeigten, wurde das etablierte Genset (17 Gene, Abbildung 44) genauer analysiert. Dazu dienten die TCGA-Daten für die Nierenzellkarzinom-Subtypen (KIRC, KICH und KIRP). Im Vergleich zu normalem Gewebe (N, weiß) ist die mittlere Expression der 8 hochregulierten Gene in der KIRC-Kohorte (rot) besonders stark erhöht, während die mittlere Expression der 9 herunterregulierten Gene in allen drei Nierenzellkarzinom-Subtypen (KIRC, KICH und KIRP) gleich stark abnimmt (Abbildung 45).

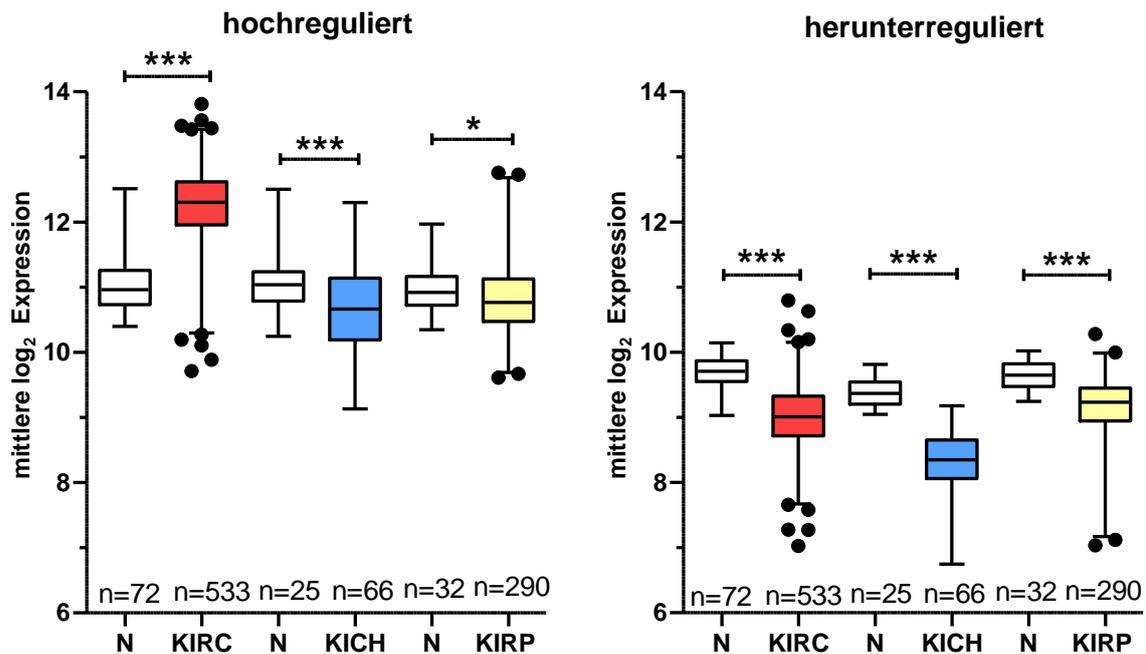


Abbildung 45: Expression des prognostischen Gensets in den TCGA-RCC-Kohorten.

Mittlere \log_2 -Expression der 8 hochregulierten (ohne ADGRA2, nicht in TCGA Datenset enthalten) (links) und 9 herunterregulierten (rechts) RCC-Biomarker aus Abbildung 44 in RCC-Subtypen KIRC (rot), KICH (blau) und KIRP (gelb) im Vergleich zu normalem Gewebe (N, weiß). Die Werte wurden mit einem Student's-T-Test analysiert und sind in einem Whisker-Plot mit 1-99 Perzentilen dargestellt (*, $p < 0,05$, ***, $p < 0,001$). Die Daten stammen aus der TCGA-Datenbank [82, 84] [85] (Datenstand 14.07.2022).

5.6.5 Analyse ausgewählter regulierter Gene bei RANBP3L-Defizienz

Bis zu diesem Punkt wurde immer ein *Ranbp3l*-assoziiertes-Genset betrachtet. In den weiterfolgenden Analysen wurden einzelne Gene und ihre Regulation im Zusammenhang mit der *Ranbp3l*-Expression und dem Nierenzellkarzinom charakterisiert. Für diesen Sachverhalt wurden die Gene *Sparc* (*Secreted Protein Acidic And Cysteine Rich*), *Col4a1* (*Collagen Type IV Alpha 1 Chain*) und *Col4a2* (*Collagen Type IV Alpha 2 Chain*) verwendet, da sie neben einer starken relativen Expressionsinduktion (*Sparc* \log_2 fold change = 5,47, *Col4a1* \log_2 fold change = 4,69, *Col4a2* \log_2 fold change = 4,65) auch sehr abundant in den RANBP3L-defizienten-Zelle vorliegen (Tabelle 22). Weiterhin existieren Studien die bereits einen Zusammenhang von *Sparc* und *Col4a1/2* im Nierenzellkarzinom zeigten [121].

Tabelle 22: mittlere FPKM-Werte der Gene *Sparc*, *Col4a1* und *Col4a2* in Scr- und R1-Zellen

| Name | Scr - 300 | Scr - 600 | R1 - 300 | R1 - 600 |
|---------------|-----------|-----------|----------|----------|
| <i>Sparc</i> | 1,38 | 2,61 | 93,42 | 88,70 |
| <i>Col4a1</i> | 3,18 | 6,55 | 130,11 | 106,97 |
| <i>Col4a2</i> | 3,89 | 6,43 | 144,28 | 115,17 |

Zu Beginn wurde dafür mittels der TCGA-Datenbank die Expression dieser Gene im Nierenzellkarzinom (grau) und der Subtypen KIRC (rot), KICH (blau) und KIRP (gelb) verglichen (Abbildung 46). Zu sehen ist deutlich, dass alle drei Gene eine signifikant verstärkte Expression aufweisen, die nur in der KIRC-Entität auftritt.

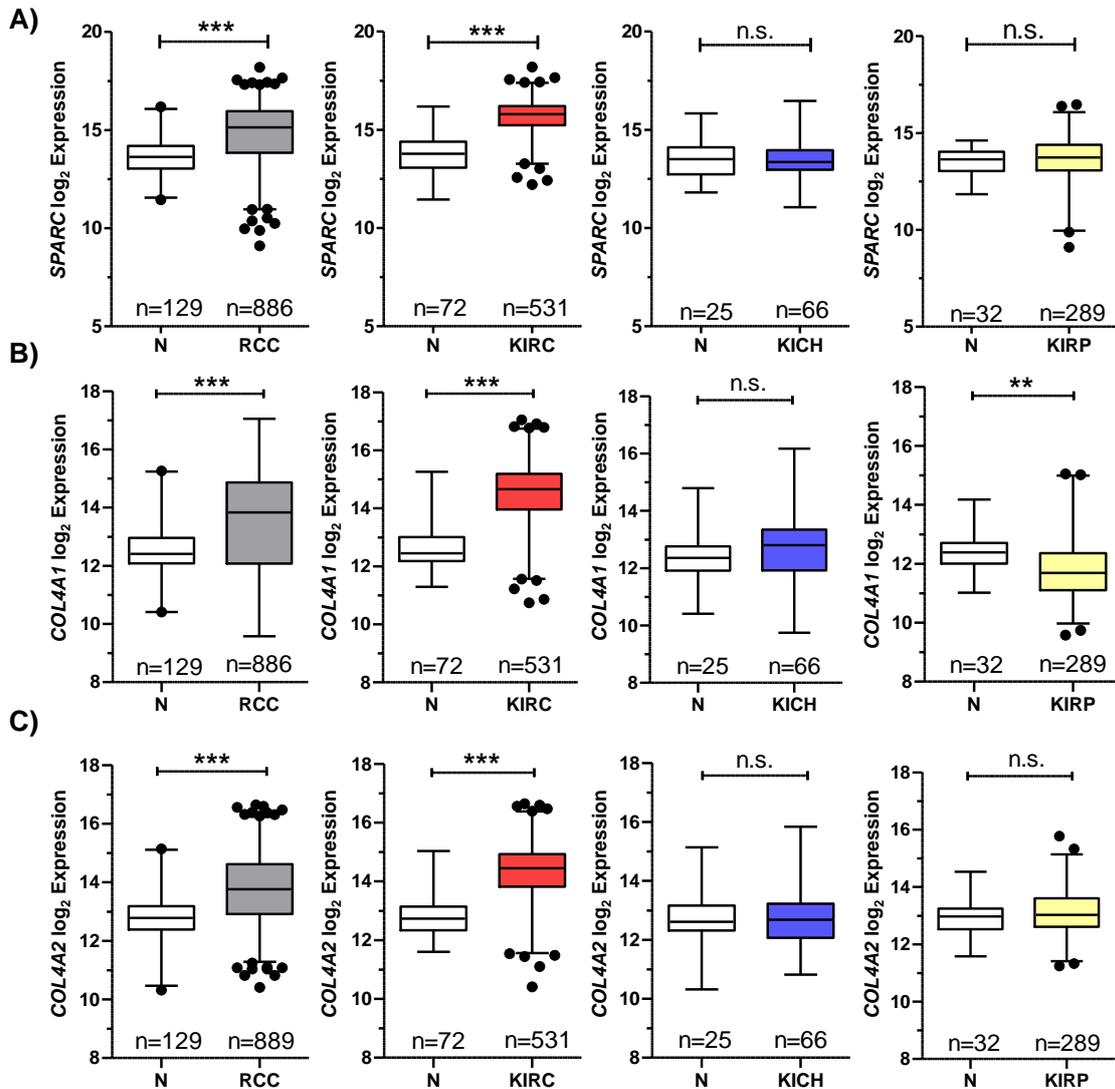


Abbildung 46: Expression von *Sparc*, *Col4a1* und *Col4a2* im Nierenzellkarzinom

Die log₂-Expression von *SPARC* (A), *COL4A1* (B) und *COL4A2* (C) in RCC (grau) und seinen Subtypen KIRC (rot), KICH (blau) und KIRP (gelb) im Vergleich zu normalem Gewebe (N, weiß). Die Werte wurden mit einem Student's-T-Test analysiert und sind in einem Whisker-Plot mit 1-99 Perzentilen dargestellt (n.s. > 0,05, **, p < 0,01, ***, p < 0,001). Die Daten stammen aus der TCGA-Datenbank [82, 84] (Datenstand: 14.07.2022).

Weitere Analysen ergeben ebenfalls eine signifikant-negative-Korrelation zwischen der *RANBP3L*- und *SPARC*-, *COL4A1*- oder *COL4A2*-Expression in der KIRC-Kohorte (rot) (Abbildung 47).

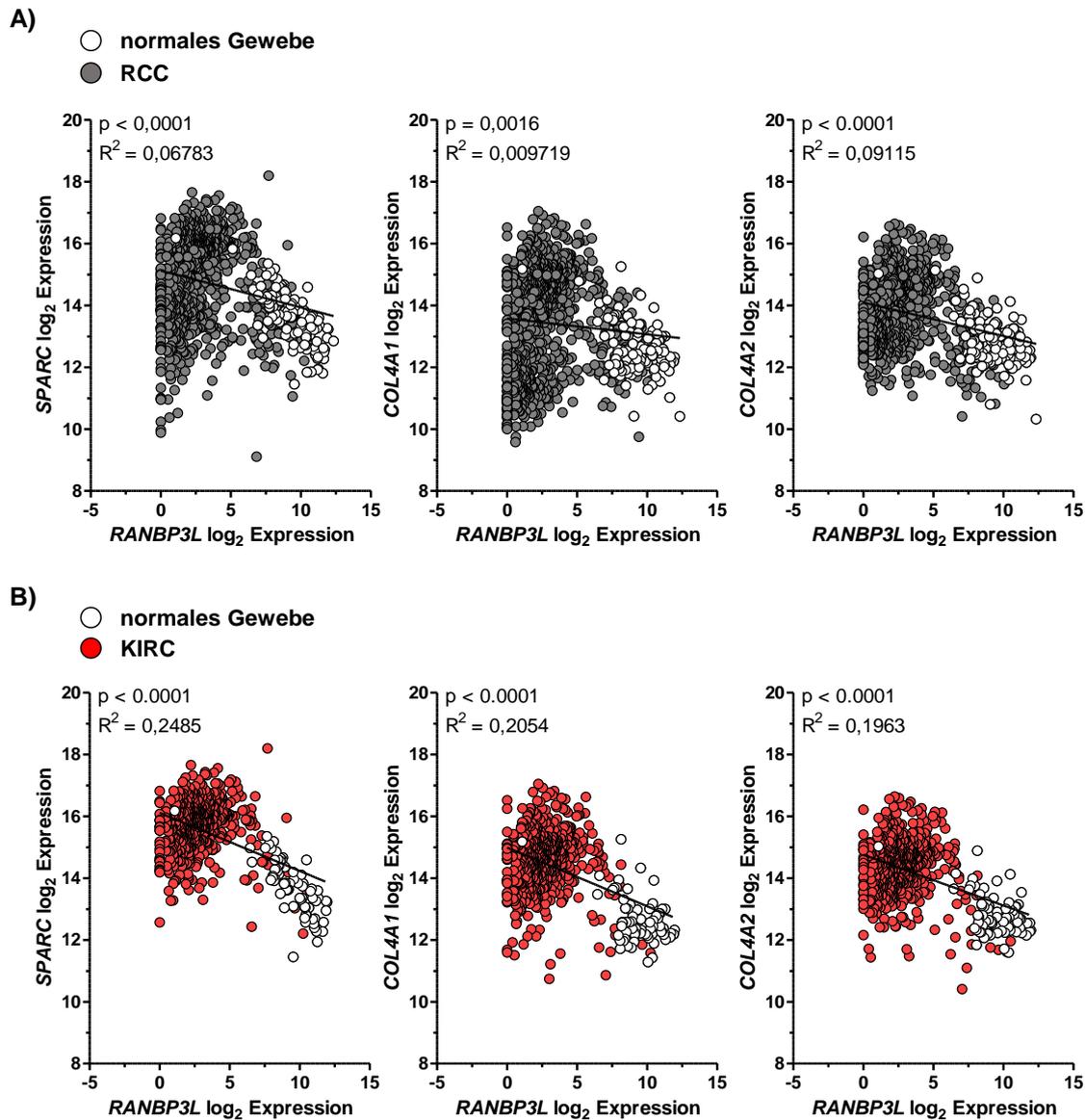


Abbildung 47: Pearson-Korrelation der *RANBP3*-Expression mit *SPARC* und *COL4A1/2* in RCC und dem Subtypen KIRC.

Die \log_2 -Expressionswerte von *RANBP3L* wurden in RCC (A, grau) und dem Subtypen KIRC (B, rot) jeweils gegen die \log_2 Expressionswerte von *SPARC*, *COL4A1* und *COL4A2* gegeneinander aufgetragen und die Korrelation ermittelt. Die jeweiligen Signifikanzen sind den Grafiken zu entnehmen. Die Daten stammen aus der TCGA-Datenbank [82, 84] (Datenstand: 14.07.2022).

Zusammengefasst zeigt die Analyse der TCGA-Daten einen starken Zusammenhang der *RANBP3L*-Expression mit den aus Abbildung 44 identifizierten Zielgenen *SPARC* und *COL4A1/2* in Bezug auf das Nierenzellkarzinom und speziell dem KIRC-Subtyp. Inwieweit diese bioinformatischen Expressions-Korrelationen eine echte physiologische Signifikanz aufweisen, wurde in weiteren Analysen untersucht.

5.7 Charakterisierung von SPARC und RANBP3L-defizienten-Zellen

5.7.1 Etablierung von SPARC und RANBP3L-defizienten-Zellen

Um die bioinformatische Auswertung des RANBP3L-*Knockout*-Genexpressionsprofils sowie die Korrelationsanalysen der TCGA-Kohorten zu verifizieren, wurde folgend untersucht, ob der beobachtete RANBP3L-KO-Phänotyp aus 5.6.3 durch eine zusätzliche Defizienz von SPARC abgemildert werden kann. Dafür wurde folgend mittels CRISPR/Cas9 SPARC inaktiviert und die Morphologie sowie die karzinogenen Merkmale wie Migration oder Koloniebildung analysiert.

Der CRISPR/Cas9-vermittelte-*Knockout* von SPARC in RANBP3L-defizienten-Zellen wurde mit einem Plasmid durchgeführt, welches weder den kodierenden Bereich für die Cas9-Nuklease noch eine Resistenzkassette enthält, sondern nur die SPARC-spezifische gRNA-Sequenz sowie eine für dtTomato kodierende Sequenz trägt (SGL40C.EFS.dtTomato). Dadurch können stabil transfizierte Zellen rot fluoreszieren und im Anschluss danach sortiert werden. Zu Beginn wurden erneut verschiedene gRNAs (Tabelle 23, Nutzung der Sparc-Oligos aus 3.11.1) in den Vektor kloniert (3.7, SGL40C.EFS.dtTomato-gRNA1-Sparc, SGL40C.EFS.dtTomato-gRNA2-Sparc).

Tabelle 23: Verwendete gRNAs für den murinen *Sparc*-Lokus

| Name | gRNA-Sequenz | Exon |
|-------------|-----------------------|------|
| SPARC-gRNA1 | CGGTGCAGAGGAAACGGTTCG | 2 |
| SPARC-gRNA2 | GGGCCCTCCCGGCCAGGCAA | 4 |

Die Klonierung und Virusproduktion erfolgte analog zu NFAT5 und RANBP3L. Nach Selektion mit 2 µg/ml Puromycin zeigte nur die SPARC-gRNA2-transduzierten Zellen eine Mischkultur nach der Analyse der Sangersequenzierung (Primer siehe 3.11.2, mSparc-gRNA2). Nachfolgend wurde die SPARC-gRNA2-Mischkultur nach rotfluoreszierenden Zellen als Einzelklone sortiert und mittels TIDE analysiert (Abbildung 48). Hierfür wurde mittels PCR und spezifischen Primern (Primer siehe 3.11.2, mSparc-gRNA2) der Zielbereich im *Sparc*-Lokus amplifiziert und im Anschluss sequenziert mit den oben erwähnten *sense* und *antisense* Primern. Es lässt sich ein SPARC-KO-Einzelklon mit einer Deletion von 11 bp sowie 2 bp feststellen. Dieser Klon wird nachfolgend als R1-S2 bezeichnet. Als Kontrollen diente eine doppelt Scr transfizierte Linie (Scr-Puro + Scr-dt tomato, normaler Phänotyp), nachfolgend als Scr-Scr bezeichnet, sowie eine RANBP3L-KO

Scr transfizierte Linie (R1-Scr dt tomato, onkogener Phänotyp), nachfolgend als R1-Scr benannt.

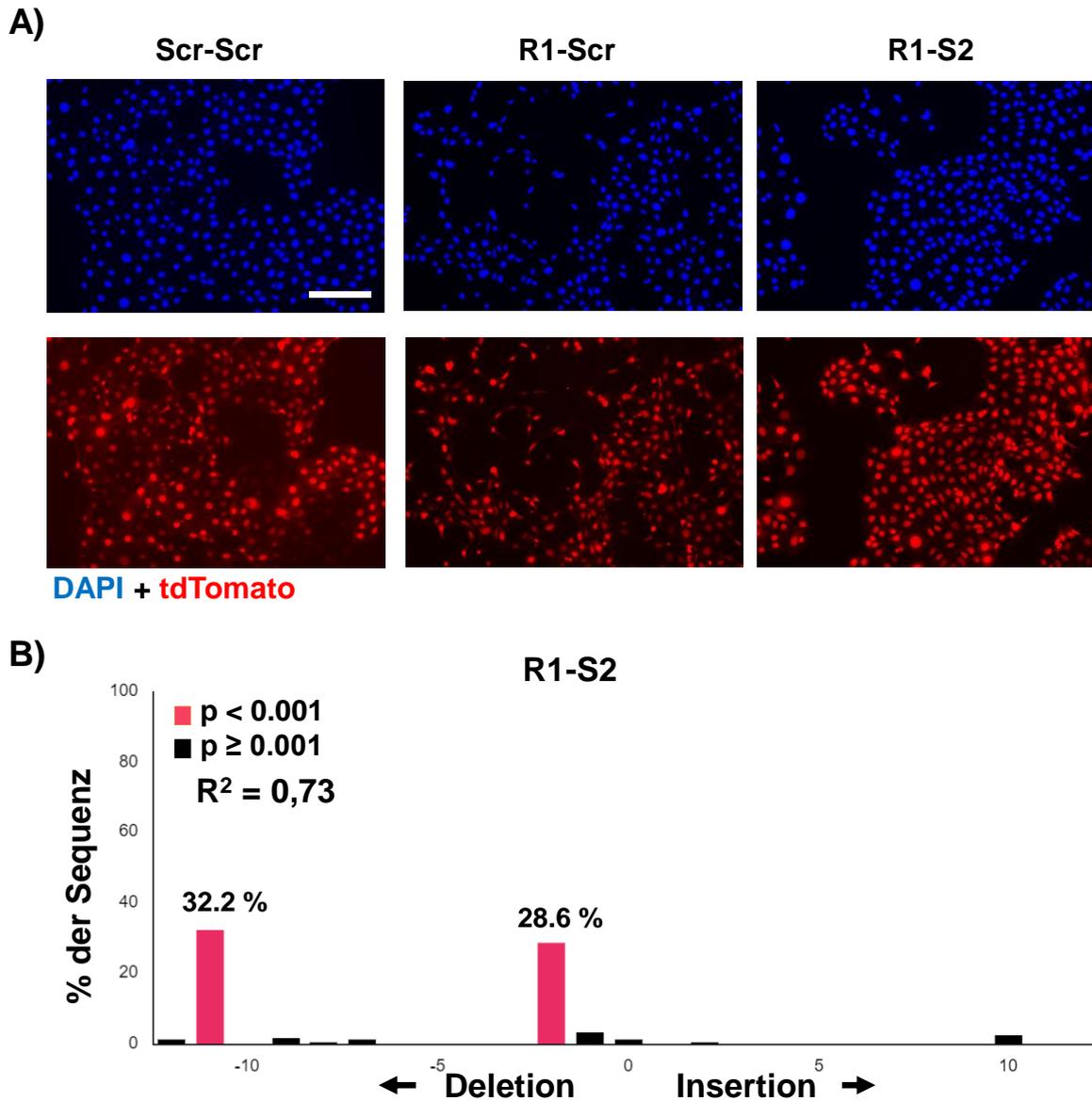


Abbildung 48: Etablierung eines SPARC und RANBP3L-Doppel-Knockout-Einzelklons.

A) Selektion mittels dtTomato zeigt eine Rotfluoreszenz (rot, unten) aller mpkCCD-Zellen. DAPI (blau, oben) diente als Kernmarker. Die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die Scr-Scr, R1-Scr und R1-S2-Probe (Maßstabsleiste: 100 μm). **B)** TIDE-Analyse des Klons R1-S2 zeigt eine Deletion von 11bp sowie eine Deletion von 2bp. Das PCR-Amplifikat wurde mit einer jeweiligen Kontrollsequenz sowie der gRNA Sequenz in die TIDE Software geladen. Die Zahlen über den Balken beziehen sich auf den Anteil des InDels an der Gesamtsequenz angegeben in % (rot = signifikant, schwarz = nicht signifikant) [85].

Im Anschluss wurde ebenfalls, wie für *Nfat5* und *Ranbp3l*, die TIDE-Analyse durch eine TOPO-TA Klonierung verifiziert. Erneut wurde das PCR-Amplifikat (3.11.2, mSparc-gRNA2) in einen TOPO-TA-Vektor zwischenkloniert. Es wurden nach Transformation des

zwischenklonierten Plasmids jeweils 10 weiße Klone des R1-S2 Amplifikats gepickt, die DNA aufgereinigt und mit dem M13 *sense* Primer (3.11.3) sequenziert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 24 dargestellt. So weist Klon R1-S2 eine 11 bp Deletion von TCTCCTTTGCC und eine 2 bp Deletion auf dem anderen Allel von TG auf.

Tabelle 24: Zusammenfassung der Sequenzanalyse aller R1-S2-TOPO-TA-Klone.

WT-Sequenz

GCCTGGATCTTCTTTCTCCTTTGCCTGGCCGGGAGGGCCCTGGCAGCCCCCTGTAAG

SPARC-gRNA2-KO

GCCTGGATCTTCTTTCTCCTT--CCTGGCCGGGAGGGCCCTGGCAGCCCCCTGTAAG

GCCTGGATCTTCTT-----TGGCCGGGAGGGCCCTGGCAGCCCCCTGTAAG

Folgend wurden die analysierten DNA-Sequenzen des Einzelklons mittels Expsy in Proteinsequenzen konvertiert (komplette AS Sequenz siehe Anhang 8.10.3). Es zeigt sich, dass nur ein kurzer N-terminaler-Bereich des SPARC-Proteins im Einzelklon gebildet wird, bevor es zu einem Translationsabbruch kommt (Abbildung 49). Nachfolgend wurde dieser Klon untersucht.

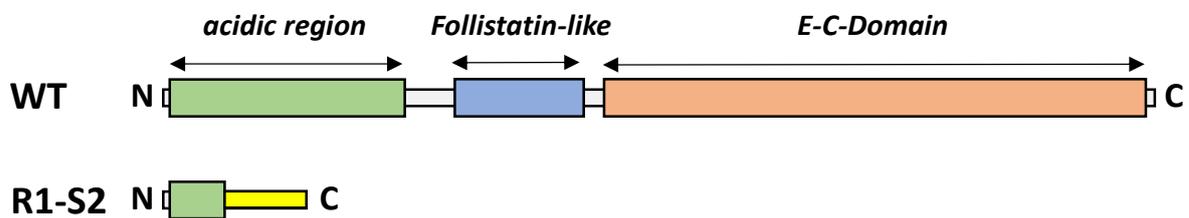


Abbildung 49: Schematische Darstellung der trunkierten SPARC Proteinvariante in R1-S2-Zellen im Vergleich zum WT-SPARC Protein.

Proteinstruktur von WT-SPARC kann in drei konservierte Domänen aufgeteilt werden. grün = *acidic region*, blau = *follistatin-like domain*, orange = *Extracellular-Ca²⁺-binding domain*. Die trunkierte SPARC Variante des R1-S2 Klons zeigt dagegen nur einen stark verkürzten Bereich der acidic Domäne sowie eine unspezifische Proteinabfolge (gelb) bis zum vorzeitigen Translationsabbruch.

5.7.2 Phänotypische Untersuchungen von SPARC und RANBP3L-defizienten-Zellen

5.7.2.1 qPCR Analyse von Col4a1 und Col4a2

Die NGS-Daten der RANBP3L-defizienten-Zellen zeigen eine Hochregulation von *Col4a1* und *Col4a2* im Vergleich zu den Kontrollzellen. Weiterhin zeigen Studien als auch die TCGA-Daten eine assoziierte Expression von *SPARC* und *COL4A1/2* [121]. So wurden eine qPCR-Analyse für *Col4a1* und *Col4a2* in mpkCCD-Zellen durchgeführt (Primer siehe

3.11.4, *Col4a1*-real, *Col4a2*-real). Als *housekeeping gene* wurde *Gapdh* ((Primer siehe 3.11.4, *Gapdh*-real) verwendet. Die Analyse zeigt eine erwartete Hochregulation von *Col4a1* sowie *Col4a2* in R1-Scr-Zellen im Vergleich zu Scr-Scr-Zellen. Dagegen zeigt die R1-S2-Zellen zwar immer noch eine 4-5-fache Hochregulation von *Col4a1* und *Col4a2* im Vergleich zu den Scr-Scr-Zellen, aber im Vergleich zu den R1-Scr-Zellen kann hier eine ca. 50 %-ige Herunterregulation von beiden Collagen 4 Transkripten gezeigt werden (Abbildung 50).

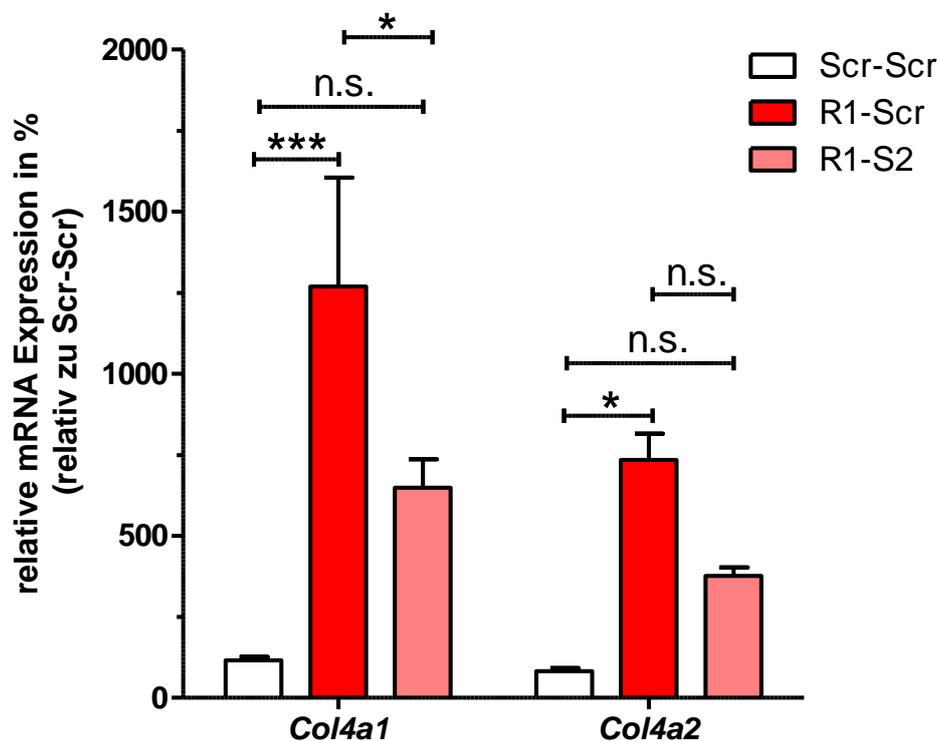


Abbildung 50: qPCR Analyse für *Col4a1* und *Col4a2* in Scr-Scr, R1-Scr und R1-S2-mpkCCD-Zellen. Die RNA von den jeweiligen Zellen wurde isoliert und 1 µg RNA zu cDNA umgeschrieben. Durch die Verwendung spezifischer Primer (Primer siehe 3.11.4, *Col4a1*-real, *Col4a2*-real, *Gapdh*-real) konnten qPCR Daten für *Col4a1* und *Col4a2*, mit *Gapdh* als *house keeping gene* generiert werden. Als Kontrollen dienen Scr-Scr und R1-Scr Zellen (Mittelwerte ± SEM (Fehlerbalken), n = 3, n.s., p > 0,05, *, p < 0,05, ***, p < 0,001. 1-Weg-ANOVA).

5.7.2.2 Morphologische Untersuchung

Morphologische Analysen der Zellen mittels Phalloidin-Alexa-Fluor™-488-Färbung ergaben für die Kontrollzellen ein ähnliches Bild wie in Abbildung 37. Während die Scr-Scr-Zellen ein membranassoziiertes Signal zeigen, weisen die R1-Scr-Zellen eher ein mesenchymalen Phänotyp mit unklarerer Zellgrenzen auf. Die R1-S2-Zellen zeigen dagegen einen verbesserten Zell-Zell-Kontakverbund, der sich aber immer noch in seiner

Polarität und Membranassoziation des Phalloidin-Signals von der Kontrolle unterscheidet (Abbildung 51).

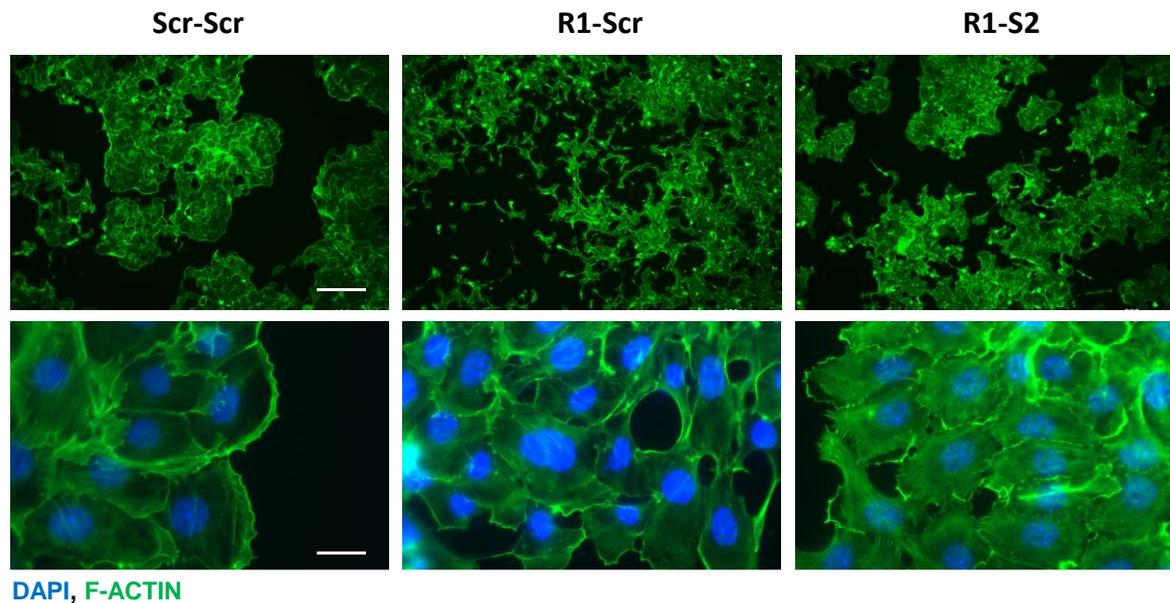


Abbildung 51: Färbung des Zytoskeletts mittels Phalloidin.

Färbung von F-Aktin mit Alexa-488-gekoppeltem Phalloidin in Scr-Scr, R1-Scr und R1-S2 -mpkCCD-Zellen. Färbung des Zellkerns erfolgte mit DAPI. Die Färbung der Zellen mit Phalloidin-Alexa-Fluor™-488 sowie die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die Scr-Scr-, R1-Scr- und R1-S2-Probe (Oben = Übersichtsbild des Zellsubtyps, Unten = detaillierte Aufnahme des Zellsubtyps, Maßstabsleiste: oben 100 µm, unten 10 µm).

5.7.2.3 Phänotypische Charakterisierung

Die morphologische Untersuchung konnte bereits einen tendenziell verbesserten Zell-Zell-Kontakt feststellen, weswegen auch hier anschließend die Migration der Scr-Scr-, R1-Scr- und R1-S2-Zellen untersucht wurde. Analog zu 5.6.3 wurde die Migration nach dem Erreichen eines konfluenten Zellrasens mit dem Incucyte-System durchgeführt. Pro *well* wurde dem Monolayer eine definierte Wunde zugefügt und die Zellmigration unter *live Imaging* 24 h verfolgt (4.5.1.1). Auch hier konnte, analog zu den Ergebnissen aus Abbildung 38, eine schnellere Wundschließung der R1-Scr-Zellen im Vergleich zu den Scr-Scr-Zellen beobachtet werden. Während nach 8 h die R1-Scr-Wunde bereits geschlossen ist, ist dies für Scr-Scr noch nicht der Fall (Abbildung 52A, C). Die R1-S2-Zellen dagegen migrierten wieder in einem ähnlichen Maß wie die Scr-Scr-Kontrollen. Die quantitative Analyse der relativen Migrationsänderung nach 8 h ergibt einen erwarteten signifikanten Unterschied zwischen Scr-Scr und R1-Scr, aber keinen signifikanten Unterschied zwischen Scr-Scr- und R1-S2-Zellen (Abbildung 52B).

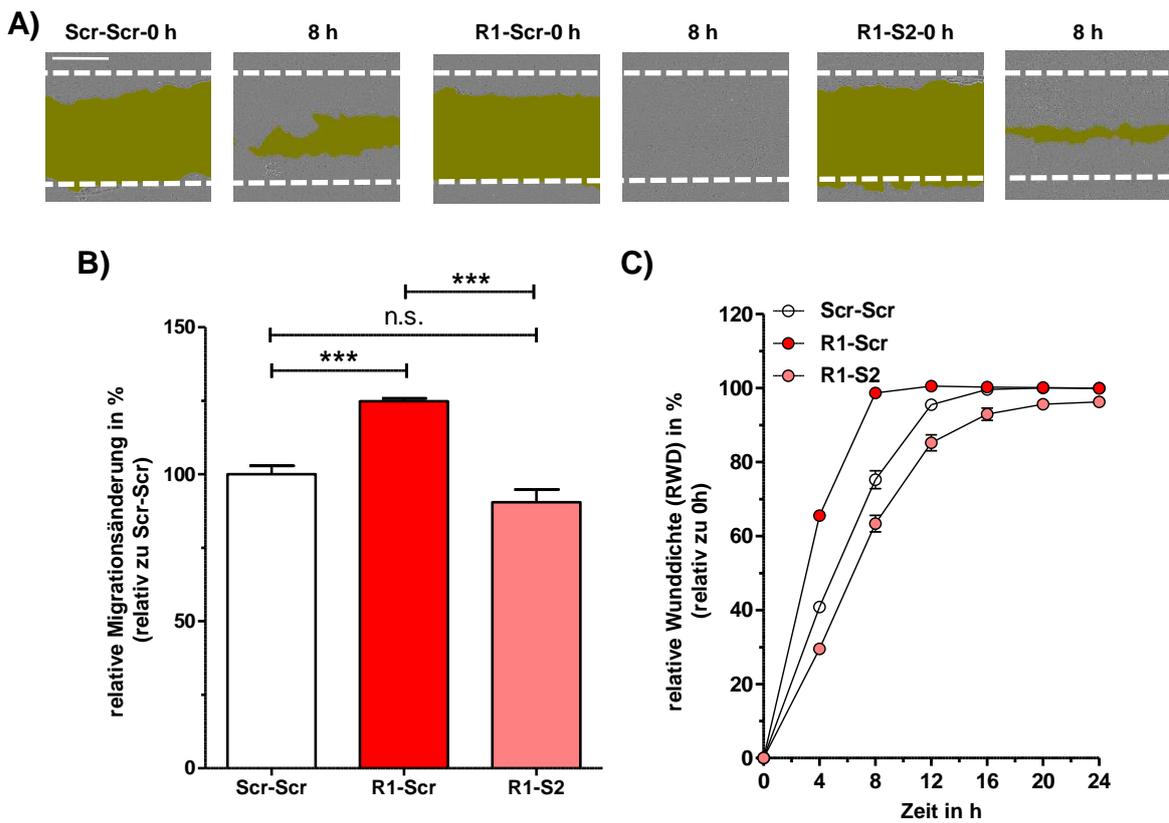


Abbildung 52: Migrationsverhalten von Scr-Scr-, R1-Scr- und R1-S2-mpkCCD-Zellen.

A) Repräsentative Bilder der Wundschließung nach angegebenen Zeitpunkten. Scr-Scr-, R1-Scr- und R1-S2-mpkCCD-Zellen wurden in 96-well-Platten kultiviert und die Zellmigration wurde durch Live-Zell-Imaging mit dem IncuCyte S3-System überwacht. Die Bilder zeigen die fortschreitende Schließung einer induzierten Wunde zu den angegebenen Zeitpunkten (0 h und 8 h). Die Wundbereiche sind dunkelgrün markiert (Maßstabsbalken: 400 µm). B) Die relative Migrationsänderung nach 8 h wurde durch lineare Regressionsanalyse mit GraphPad Prism berechnet. C) Diagramm der Wunddichte über die Zeit. Der Migrationstest wurde 24 h lang durchgeführt (Mittelwerte ± SEM (Fehlerbalken), n = 3 (mit 4 technischen Wiederholungen), *, p < 0,05, ***, p < 0,001, 1-Weg-ANOVA).

Auch die Bildung von Kolonien im Soft-Agar wurde hier erneut untersucht (Abbildung 53). Für Scr-Scr und R1-Scr lassen sich analoge Ergebnisse einer verstärkten Koloniebildung zeigen wie für die Scr- und R1-Zellen aus Abbildung 40. Die R1-S2-Zellen dagegen weisen im Vergleich zu den R1-Scr-Zellen eine deutlich verringerte Koloniezahl auf, die sich auf einem ähnlichen Niveau wie der Scr-Scr-Zellen befindet.

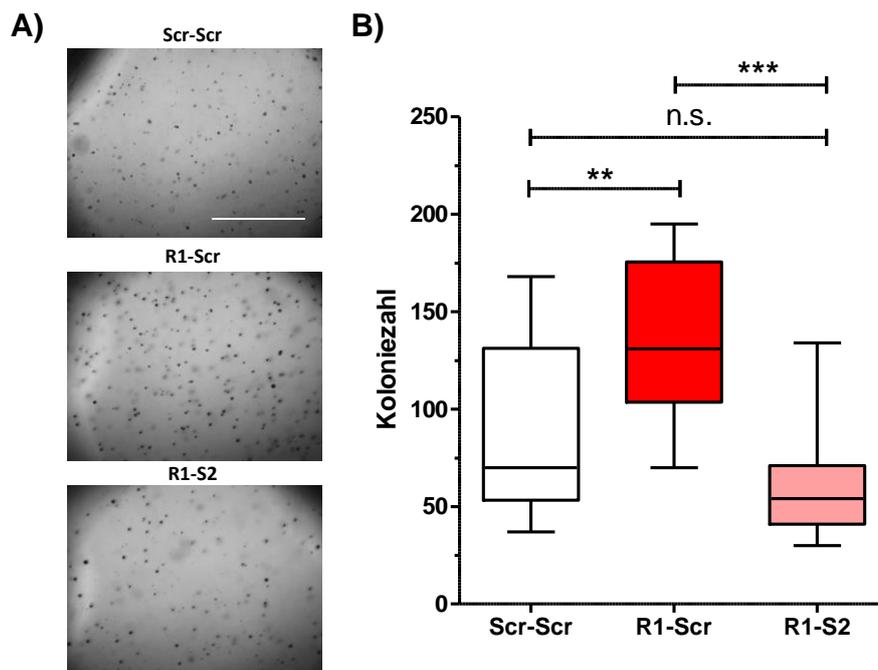


Abbildung 53: Koloniebildung von Scr-Scr, R1-Scr und R1-S2-mpkCCD-Zellen.

A) Repräsentative Bilder von Scr-Scr, R1-Scr und R1-S2-mpkCCD-Zellen während des Koloniebildungstests. Nach zweiwöchiger Inkubation wurden 4-5 Bilder pro Vertiefung aufgenommen und mit dem *Image-J-Software* übereinandergelegt (Maßstabsleiste: 500 Pixel). B) Koloniezahl, die Werte sind in einem Whisker-Plot mit 1-99 Perzentilen dargestellt (n.s., $p > 0,05$, **, $p < 0,01$, ***, $p < 0,001$, 1-Weg-ANOVA).

Zusammenfassend zeigen diese Daten, dass ein *Knockout* von SPARC in RANBP3L-defizienten-Zellen nicht nur die Koexpression von weiteren RANBP3L-regulierten-Genen wie *Col4a1* und *Col4a2* herunterreguliert, sondern auch, dass zuvor beobachtbare morphologische und phänotypische Besonderheiten von RANBP3L-defizienten-Zellen abgeschwächt werden.

5.8 Mögliche Assoziation zum TGF- β -Signalweg

Bis jetzt zeigen die hier beschriebenen Ergebnisse, dass eine RANBP3L-Defizienz mit einer KIRC-ähnlichen und unvorteilhaften Gensignatur einhergeht und im Wesentlichen Transkripte wie *Sparc* und *Col4a1* oder *Col4a2* eine onkogene Rolle zu spielen scheinen. BAO et al. konnten im Nierenzellkarzinom bereits eine Rolle von SPARC über den TGF- β 1-Signalweg feststellen [122]. Die Gensignatur von RANBP3L-defizienten-mpkCCD-Zellen zeigt ebenfalls eine Assoziation zu TGF- β -Signalwegen (Abbildung 42C). Auch die TCGA-Daten für das Nierenzellkarzinom (Abbildung 54A-B) zeigten die stärkste Expression von *TGFBI* (kodierendes Gen für TGF- β 1) in KIRC (rot) im Vergleich zur Kontrollkohorte (Abbildung 54B). Ebenfalls weisen Expressionsanalysen zwischen *TGFBI* und *RANBP3L*,

SPARC sowie *COL4A1/2* eine Korrelation innerhalb der KIRC-Kohorte (rot) auf (Abbildung 54C-D).

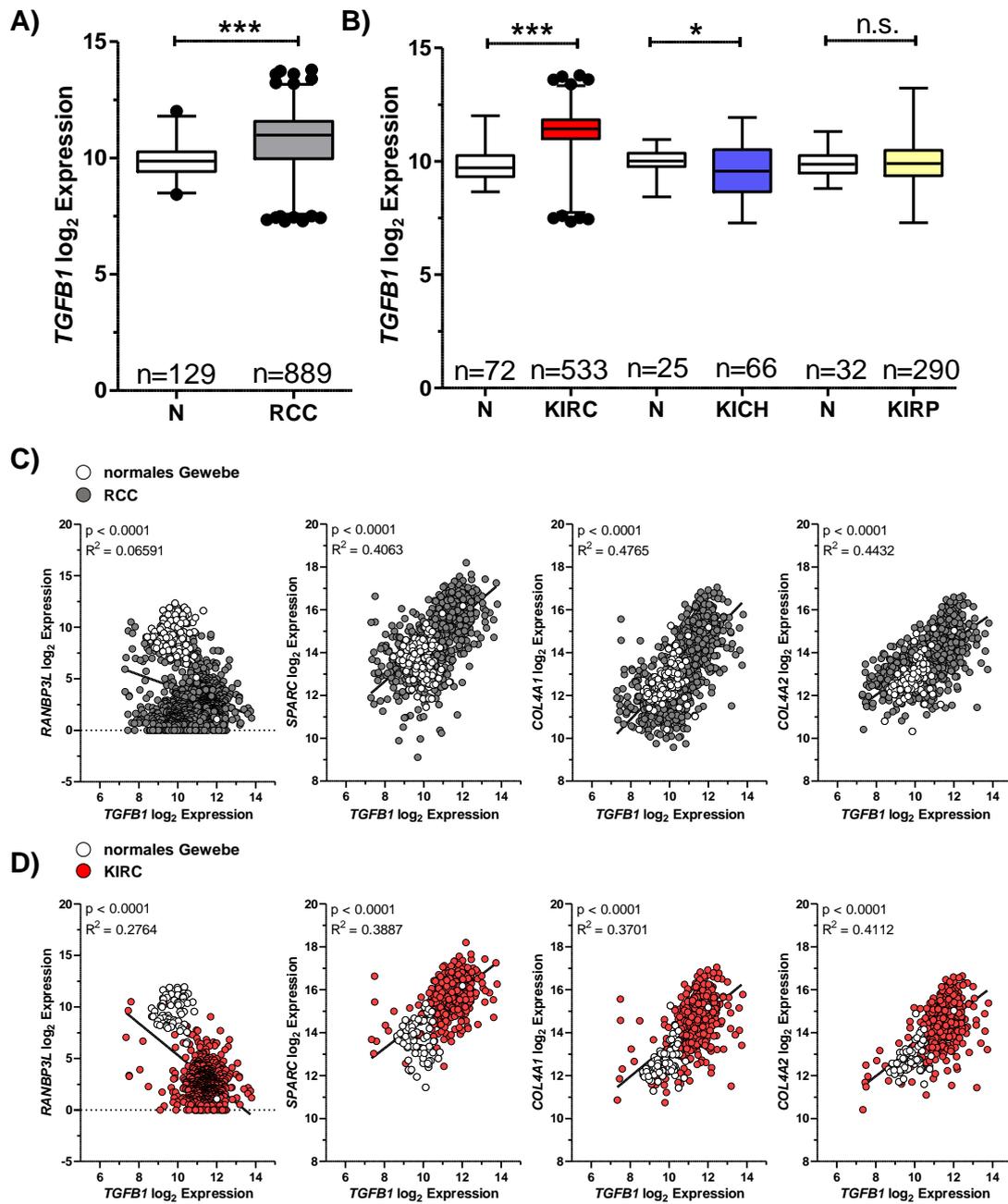


Abbildung 54: Box-Plot für *TGFBI*-Expression im Nierenzellkarzinom

A) Die log₂-Expression von *TGFBI* in RCC (grau) gegen die Kontrollkohorte. **B)** Die log₂-Expression von *TGFBI* in RCC-Subtypen KIRC (rot), KICH (blau) und KIRP (gelb) im Vergleich zu normalem Gewebe (N, weiß). Die Werte wurden mit einem Student's-T-Test analysiert und sind in einem Whisker-Plot mit 1-99 Perzentilen dargestellt (n.s. > 0,05, *, p < 0,05, ***, p < 0,001). Die Daten stammen aus der TCGA-Datenbank [82, 84] (Datenstand: 14.07.2022). **C-D)** Die log₂-Expressionswerte von *TGFBI* wurden in RCC (**C**, grau = RCC, weiß = normales Gewebe) und seinem Subtypen, KIRC (**D**, rot = KIRC, weiß = normales Gewebe) gegen die log₂-Expressionswerte von *RANBP3L*, *SPARC*, *COL4A1* und *COL4A2* aufgetragen und die Korrelation ermittelt. Die jeweiligen Signifikanzen sind den Grafiken zu entnehmen. Die Daten stammen aus der TCGA-Datenbank [82, 84].

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Scr-Zellen unter TGF- β 1-Kultivierung (4.8) nach 48 h eine deutlich veränderte Morphologie aufweisen, die der von RANBP3L-defizienten-Zellen ähnelt (Abbildung 55A). Neben einer deutlichen Reduktion der Zell-Zell-Kontakte konnte ebenfalls eine verstärkte Ausprägung von Lamellipodien beobachtet werden (weiße Pfeile Abbildung 55A).

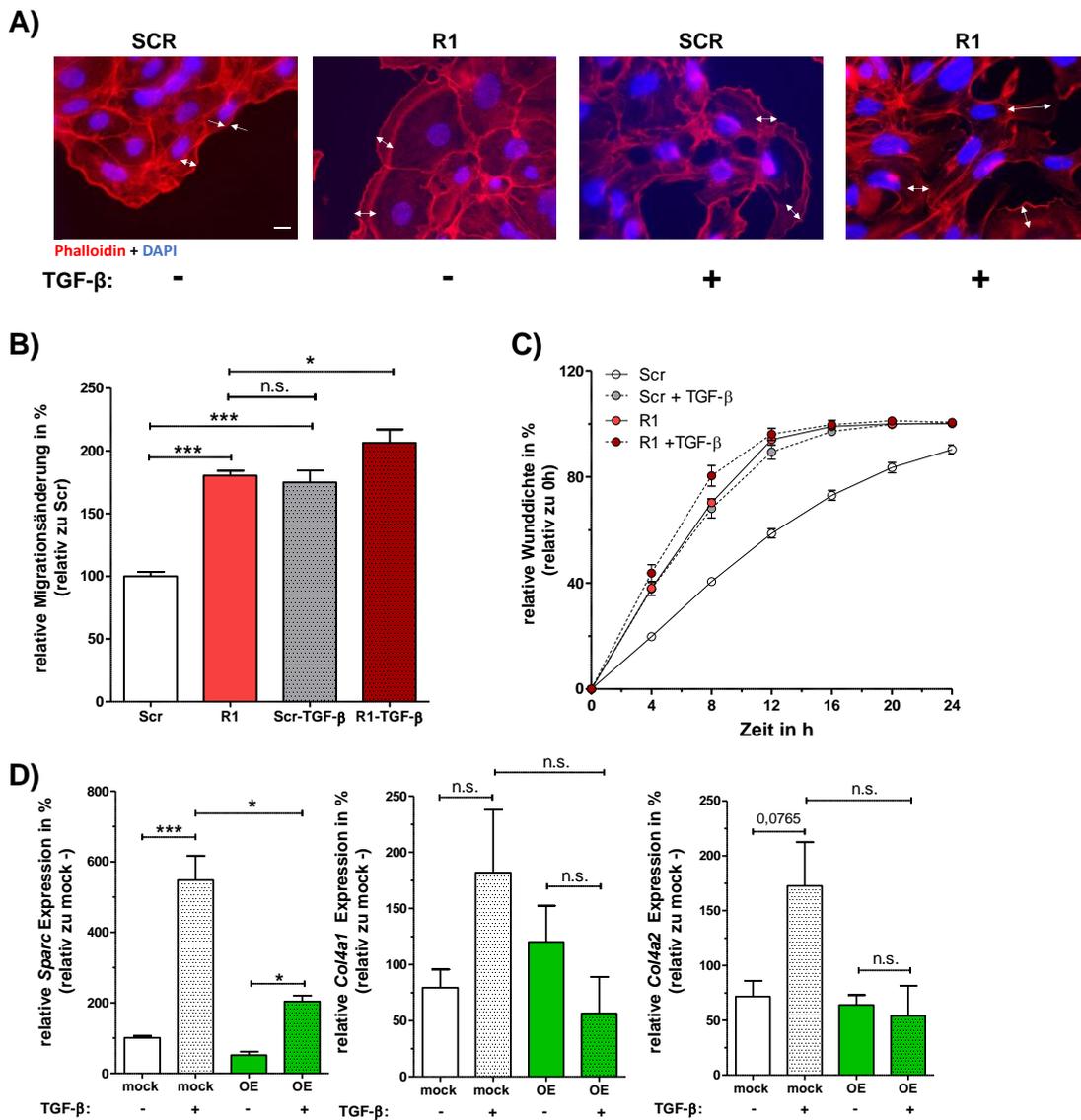


Abbildung 55: Effekt von TGF- β 1 auf den Phänotyp von unterschiedlichen mpkCCD-Zellen.

A) Fluoreszenzaufnahmen nach Phalloidin-568-Färbung mit und ohne TGF- β 1-Zugabe von Scr- und R1-mpkCCD-Zellen (Maßstabsleiste: 10 μ m). **B)** Die relative Migrationsänderung nach 8 h für Scr- und R1-Zellen mit und ohne TGF- β 1 Zugabe wurde durch lineare Regressionsanalyse mit GraphPad Prism berechnet. **C)** Diagramm der Wunddichte über die Zeit. Der Migrationstest wurde 24 h lang durchgeführt. (Mittelwerte \pm SEM (Fehlerbalken). n = 3 (mit 4 technischen Wiederholungen). n.s., p > 0,05, *, p < 0,05, ***, p < 0,001, 1-Weg-ANOVA). **D)** qPCR Analysen für *Sparc*, *Col4a1* und *Col4a2* (Primer siehe 3.11.4, *Sparc*-real, *Col4a1*-real, *Col4a2*-real, *Gapdh*-real) mit und ohne TGF- β 1 Zugabe in RANBP3L-überexprimierenden-Zellen (OE, grün) im Vergleich zu Kontrollzellen (mock, weiß). Als housekeeping gene diente *Gapdh* (Mittelwerte \pm SEM (Fehlerbalken), n = 3, n.s., p < 0,05, *, p < 0,05, ***, p < 0,001, 1-Weg-ANOVA).

Diese Beobachtung geht konform mit einer signifikant erhöhten Migrationsfähigkeit der Scr-Zellen unter TGF- β 1-Kultivierung um das Zweifache. Dies entsprach einem ähnlichen Niveau wie von RANBP3L-KO-Zellen (Abbildung 55B-C). Eine Zugabe von TGF- β 1 zu R1-Zellen verstärkt den beobachteten migratorischen Effekt durch ein erneutes Ansteigen der Migration auf das 2,5-fache im Vergleich zu Scr-Zellen. Um zu untersuchen, ob RANBP3L und TGF- β 1 in funktioneller Verbindung stehen, wurden RANBP3L-überexprimierende-mpkCCD-Zellen durch eine stabile Transfektion des V180-RANBP3L-Flag-Plasmids etabliert (OE-Zellen) (3.7, 4.10.2). Die erfolgreiche Überexpression wurde mittels qPCR auf *Ranbp3l* (Primer siehe 3.11.4, *Ranbp3l*-real, *Gapdh*-real) und durch Immunfluoreszenzanalysen mit einem Flag-Antikörper nachgewiesen (siehe Anhang 8.13). Als Kontrollen dienten stabil transfizierte mpkCCD-Zellen mit einem V180-Leervektor (mock-Zellen) (3.7). RANBP3L überexprimierende mpkCCD-Zellen als auch die Kontrollzellen wurden jeweils mit oder ohne TGF- β 1 inkubiert. Mittels qPCR-Analysen (Primer siehe 3.11.4, *Sparc*-real, *Col4a1*-real, *Col4a2*-real, *Gapdh*-real) kann gezeigt werden, dass RANBP3L-assoziierte-Gene wie *Sparc* eine signifikante mRNA-Expressionsinduktion in mock-Zellen unter TGF- β 1 zeigen. Für *Col4a1* und *Col4a2* kann nur eine leichte Expressionsinduktion beobachtet werden. Gleichzeitig ist zu erkennen, dass die TGF- β -vermittelte-Induktion von *Sparc* bei den RANBP3L-überexprimierenden Zellen (OE-Zellen) signifikant vermindert ist (Abbildung 55D). Für *Col4a1* und *Col4a2* zeigt sich erneut kein signifikanter Zusammenhang aber eine tendenzielle Reduktion der Expression durch die RANBP3L-Überexpression.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine *TGFBI*-Expression in starker Korrelation mit *RANBP3L* und RANBP3L-abhängigen-Genen in der KIRC-Kohorte steht und dass eine TGF- β 1-Behandlung einen RANBP3L-defizienten-Zell-Phänotyp annimmt. Weiterhin zeigt eine TGF- β 1-Behandlung in mpkCCD-Zellen eine Induktion der *Sparc*-mRNA-Expression, welche in RANBP3L-überexprimierenden-Zellen signifikant reduziert war. Daher lässt sich auf einen gemeinsamen Signalweg schlussfolgern, der allerdings noch in weiteren Assays genauer untersucht werden muss.

6 Diskussion

6.1 Die mpkCCD-Zelllinie als geeignetes Modellsystem für Hyperosmolalitäts-assoziierte-Anpassungen

Um den Mechanismen der hyperosmolalitäts-induzierten-Anpassung von Zellen genauer analysieren zu können, war es wichtig auf Modelle zurückzugreifen, die bereits grundlegende physiologische Niereneigenschaften besitzen und des Weiteren, im Gegensatz zu primär-kultivierten-Nierenzellen, ihre Manipulation zulassen. In der Literatur wird die aus dem kortikalen Sammelrohr von SV-PK/Tag-Mäusen gewonnene Sammelrohrzelllinie mpkCCD als solch ein Model beschrieben [51, 88, 111, 123, 124]. In der Vergangenheit wurden nierenphysiologische Analysen in diesen Zelllinien mittels AVP-Gabe untersucht. Die hier gezeigten Daten sowie bereits ältere Arbeiten aus unserer Gruppe zeigten, dass bereits mittels Osmolalitätsänderung des Mediums die Genexpression der Zellen verändert werden kann [51, 112]. Die Erstellung von Genexpressionsprofilen in diesen Zellen zeigte, dass Hyperosmolalität zu umfangreichen Transkriptionsveränderungen führt. *Ranbp3l* gehörte zu den Transkripten mit dem höchsten Anstieg der Expression. Der Vergleich der regulierten Gene zwischen primär-kultivierten-IMCD-Zellen und der mpkCCD-Zelllinie unter Hyperosmolalität ergab eine signifikante Gesamtkorrelation (Abbildung 20). Somit konnte nicht nur eine vergleichbare Induktion von *Ranbp3l* zu der murinen IMCD-Primärkultur gezeigt werden, sondern ebenfalls, dass ein vergleichbares Genset wie in der murinen IMCD-Primärkultur exprimiert wird.

Eine weitere Verifizierung in anderen Sammelrohrmodell-Zelllinien würde die hier aufgeführten Daten verstärken, allerdings existieren nach heutigem Wissen keine geeigneten kommerziell-verfügbaren-Linien. Die Zelllinie mIMCD3 ist zwar ebenfalls aus epithelialen murinen Sammelrohrzellen gewonnen, zeigte aber in vorangegangenen Experimenten der AG wenig Ansprechen auf bereits etablierte osmolalitätsregulierte-Markergene wie *Aqp2*, *Fxyd2* oder *Slc6a12*. Deswegen wurde sie für die weitere Forschung nicht verwendet. Weiterhin ist die MDCK-Zelllinie ein anderes Nieren-Modell. Diese Linie ist zwar als manipulationsfähig beschrieben, wird allerdings für EMT und virale Infektionsstudien eingesetzt [125] und ist im Gegensatz zu den mpkCCD und der mIMCD3 aus der Niere eines Cocker Spaniels gewonnen und damit vom Säugersystem unpassend, da nur wenig Antikörper speziell auf Hundeantigene getestet werden.

6.2 NFAT5 ist an der hyperosmolalitäts-regulierenden Expression von *Ranbp3l* beteiligt

6.2.1 NFAT5-Defizienz sorgt für einen Verlust der Expressionsinduktion von *Ranbp3l* unter Hyperosmolalität

Es konnte bereits gezeigt werden, dass die Hyperosmolalität einen Faktor darstellt, der die Expression von *Ranbp3l* in IMCD-Zellen der Ratte und Maus induziert. In dieser Arbeit wurde der Befund erweitert, indem *Ranbp3l* als neues NFAT5-Zielgen unter hyperosmotischen Bedingungen mit NFAT5-defizienten-mpkCCD- und primär-kultivierten-IMCD-Zellen nachgewiesen wurde.

Wie bereits für viele Zellmodelle gezeigt [39, 126], kommt es auch in der mpKCCD-Zelllinie zu einer NFAT5-Aktivierung unter Hyperosmolalität (Abbildung 21), weswegen sie als Modellsystem verwendet werden kann. Die NFAT5-Defizienz in den mpkCCD-Zellen wurde mittels einer CRISPR/Cas9-vermittelten-Inaktivierung und Vereinzlung in zwei unabhängige Klone (N1 und N3) erreicht (Abbildung 24 -Abbildung 26). *Off-target*-Effekte sind durch die Nutzung von zwei unabhängigen gRNAs minimiert [127], weswegen die beobachteten Ergebnisse auf den Verlust von NFAT5 zurückzuführen sind. Die Daten zeigten eine deutliche Reduktion der Expression von *Ranbp3l* sowie bereits etablierten Markern wie *Aqp2* und *Slc6a12* [40] in den NFAT5-defizienten-Zellen im Vergleich zu den Kontrollen (Abbildung 27). Dies wird durch Daten von IZUMI et al [54] bestätigt, die zeigen, dass nach NFAT5-Verlust ebenfalls Gene wie *Aqp2* oder *Slc6a12* unter Hyperosmolalität keine Aktivierung ihrer Expression mehr aufweisen [54]. Allerdings nutzte diese Studie keine nierenspezifischen Zellen, sondern murine embryonale Fibroblasten-Zellen. Weitere *in-vitro*-Studien die wiederum Nierenzelllinien (mpkCCD oder IMCD3) verwendeten, nutzten ein siRNA-vermittelte-NFAT5-*Knockdown*-Modell [51, 126, 128]. Durch siRNAs wird zwar die Expression von *Nfat5* signifikant verringert aber es kann kein kompletter Funktionsverlust der Zielstruktur erzielt werden [129]. Somit bietet diese Arbeit die ersten Daten eines nierenspezifischen NFAT5-*Knockout*-Modells unter Iso- und Hyperosmolalität. Neben den zellulären Modellen existieren aber unterschiedliche NFAT5-*Knockout*-Mausmodelle. Sie zeigen abseits der spezifischen Nierenfunktion eine weitere wichtige Rolle in der Embryonalentwicklung [130-132]. Experimente mehrerer Arbeitsgruppen zeigten eine hohe embryonale Sterblichkeitsrate von Mäusen mit homozygotem NFAT5-*Knockout* [40, 133, 134]. Der *Knockout* äußerte sich durch ein stark verringertes Körpergewicht, Herzentwicklungsstörungen sowie in der Atrophie der Nieren-Medulla.

Aufgrund der hohen Sterblichkeit der NFAT5-KO-Tiere scheint ein globaler *Knockout* nicht geeignet zu sein, um die Funktionen von NFAT5 im adulten Tier zu bestimmen. Um solche Einschränkungen zu überwinden, entwickelten KÜPER et al. ein induzierbares NFAT5-KO-Mausmodell [96]. Mit Hilfe dieser Mäuse wurden nun primäre IMCD-Zellen isoliert und NFAT5 *ex-vivo* durch Hydroxytamoxifen (4-OH-TM) deaktiviert (Abbildung 28). Die NGS-Analyse zeigte auf, dass die primärkultivierten NFAT5-KO-Zellen ähnliche Merkmale der NFAT5-vermittelten-Osmoregulation wie die transgenen Mäuse von KÜPER et al. [96] oder LÓPEZ-RODRÍGUEZ et al. [40], denen die NFAT5-Aktivität fehlte, aufwiesen. So waren klassische Zielgene wie *Aqp2*, diverse *Solute-Carrier*-Gene, Hitzeschockproteine als auch das hier zu untersuchende *Ranbp3l* betroffen (Abbildung 31).

6.2.2 NFAT5 ist direkt an der hyperosmolalität-assoziierten-Ranbp3l-Expressionsinduktion beteiligt

Anhand beider Modelle (*in-vitro*- und *ex-vivo*-NFAT5-KO) konnte gezeigt werden, dass der Verlust von NFAT5 dazu führt, dass kanonische-Osmolalitätsgene wie *Aqp2*, *Slc5a3*, *Slc6a6* oder *Slc6a12* [40, 51, 54, 135] weniger oder gar nicht auf Osmolalitätsänderung reagieren (Abbildung 27 und Abbildung 31). Für viele dieser Gene konnte eine direkte Expressionsregulierung durch NFAT5 nachgewiesen werden [40, 42, 51, 53].

Dieser Zusammenhang konnte ebenfalls für *Ranbp3l* gezeigt werden. Mittels eines Luciferase-Assays und *Quick change mutagenese* Studien wurden putative NFAT5-Bindestellen auf ihre Promotoraktivität untersucht. Es zeigte sich, dass eine Mutation der Bindestellen zu einem Aktivitätsverlust führte. (Abbildung 33). Im Vergleich zu der Erhöhung der *Ranbp3l*-mRNA-Expression wirkt dies allerdings gering. Mögliche Ursachen dafür können sein, dass die HEK-293T-Zellen nur bei 450 mosmol/kg kultiviert wurden. Eine weitere mögliche Erklärung für diese leichte Induktion ist, dass nur eine kurze Sequenz des *Ranbp3l*-Promotors untersucht wurde. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen haben HASLER et al. [51] und CHEN et al. [136] gezeigt, dass die Aktivität der *AQP2*- und *SGK1*-Promotoren (die jeweils ein NFAT5-bindendes Element enthalten) nach hyperosmolaler Stimulation um das ~1,5- bzw. 5-Fache anstieg. Im *SMIT*-Promotor wurden mindestens fünf NFAT5-bindende-Elemente über 50 kb verteilt nachgewiesen, die an der NFAT5-vermittelten-Transkriptionsstimulation beteiligt sind [137]. Ähnliches gilt auch für den *AKR1B1*-Promotor, wo drei NFAT5-bindende-Sequenzen identifiziert wurden [138]. Daher kann nicht ausgeschlossen werden, dass weitere andere NFAT5-Bindestellen in

weiter *upstream* gelegenen Regionen des *Ranbp3l*-Promotors vorhanden sind. Es könnten auch bislang nicht identifizierte NFAT5-Sequenzen an der Bindung zu NFAT5 führen oder weitere bislang nicht untersuchte Transkriptionsfaktoren, die ebenfalls durch Hyperosmolalität aktiviert werden, an der *Ranbp3l*-Induktion beteiligt sein. Hier könnte ELF5 als Transkriptionsfaktor [56], weiter untersucht werden, da *Aqp2* ebenfalls über ELF5 reguliert werden kann [139].

Eine weniger artifizielle Methode zur Untersuchung der direkten Induktion von *Ranbp3l* durch NFAT5 könnte mittels Chromatin-Immunpräzipitations-Sequenzierung (CHIP-Seq) verifiziert werden [140]. Dabei werden Zellen in Ethanol fixiert und somit die bindenden Proteine an DNA konserviert. Durch nachfolgende DNA-Fragmentierung, Inkubation dieser Fragmente mit speziellen NFAT5 Antikörpern und finaler DNA-Aufreinigung kann mittels RNA-Seq untersucht werden, ob sich unter den enthaltenen Fragmenten *Ranbp3l*-Promotor Fragmente befinden. Damit könnten auch mögliche weiter entfernte Promotorbereiche identifiziert werden.

6.3 Die Expression osmolalitätsregulierter-Gene zeigt eine prognostische Rolle beim Nierenzellkarzinom

Neben der nierenphysiologischen Funktion von NFAT5 als Transkriptionsfaktor, haben verschiedene Studien die Beziehung zwischen NFAT5 und mehreren Tumorentitäten aufgezeigt [141-147]. Die Resultate der Arbeiten sind allerdings divers. So zeigen einige Daten eine karzinogene Wirkung im Mammakarzinom [141], in Lungenadenokarzinomzellen [142], in Melanomzellen [143] oder auch in Thymomen [144]. Im Gegensatz dazu konnte beobachtet werden, dass NFAT5 im hepatozellulären Karzinom die Apoptose induzieren [145] oder die T-Zellen-Aktivierung in der Nähe von Tumormassen fördern kann [146]. Weiterhin zeigen Daten auch eine signifikant verringerte Expression von NFAT5 sowie kanonischen NFAT5-Zielgenen im Nierenzellkarzinom. Die Studie von BOGUSLAWSKA et al. [147] wurden mittels der TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) Datenbank erstellt [82].

Die TCGA-Datenbank ermöglicht hier weitere Einblicke in die Entstehung und Progression des Nierenzellkarzinoms (RCC), wie durch die Identifizierung von Gensignaturen, die eine Unterscheidung zwischen den Nierenzellkarzinom-Subtypen mit gesundem Gewebe ermöglichen [82]. Sie beinhaltet Daten zu den drei häufigsten RCC-Entitäten, dem klarzelligen (KIRC), dem papillären (KIRP) und dem chromophoben (KICH)

Nierenzellkarzinom [76]. Neben der Studie von BOGUSLAWSKA et al. [147] zeigen auch Daten von GROSS et al. [112] und KANDABARAU et al. [56] erste Berichte, welche ein Expressionsmuster von Genen definiert, das nicht nur zur Unterscheidung zwischen normalem- und Tumorgewebe verwendet werden kann und mit dem tumorspezifischem Überleben in unabhängigen KIRC-Kohorten assoziiert ist, sondern einen gemeinsamen physiologischen Mechanismus aufweist, der deren Expression osmolalitäts-vermittelt reguliert. Eine physiologische Erklärung für die Regulation vieler osmolalitäts-assoziiertes Gene im Nierenzellkarzinom bietet ein RCC-induzierendes-Mausmodell von SCHONEBERGER et al. [148]. Wie in 1.5.2 beschrieben gilt die Mutation des Hippel-Lindau Proteins (VHL) als einer der wesentlichsten Aspekte in der RCC-Entwicklung [76]. Dabei ist bekannt, dass es bei einem VHL-*Knockout* zu einer Daueraktivierung des Transkriptionsfaktors HIF-1 und zu einer damit verbundenen Überexpression HIF-1-abhängiger Gene kommt. Dazu zählt unter anderem der *angiogene Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*, was die Ausbildung neuer Blutgefäße stimuliert [149]. SCHONEBERGER et al. [148] postulieren, dass ein VHL-*Knockout* zu einer verstärkten Vaskularisation im Interstitium führt, welches darin resultiert, dass die Mäuse den hyperosmotischen Gradienten in den Nieren nicht aufbauen können, der für die Urinkonzentration notwendig ist, da ein Großteil der Ionen bereits im proximalen Tubulus resorbiert werden (Abbildung 56).

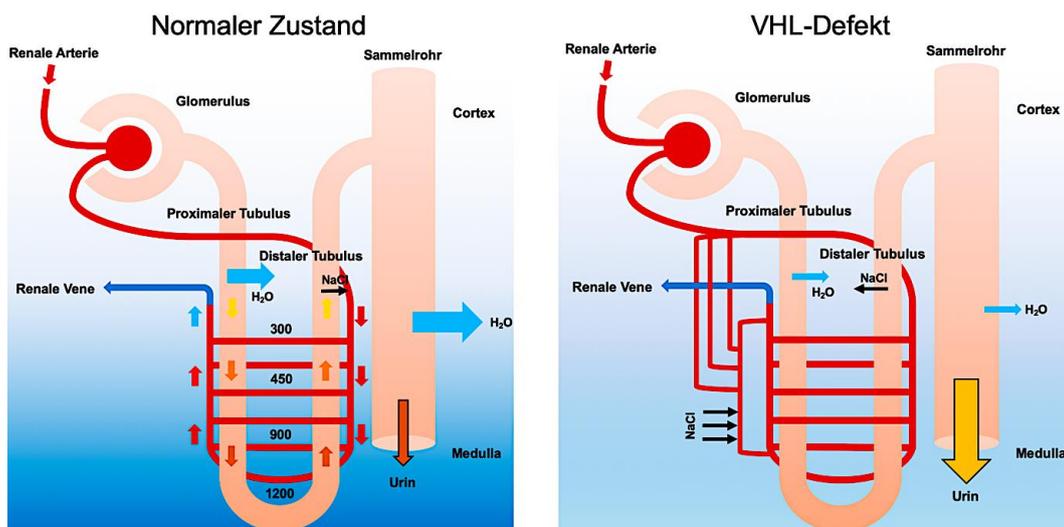


Abbildung 56: Verlust des osmotischen Gradienten bei der Urinbildung in $Vhl^{A/A}$ Mäusen.

A) In gesunden Mäusen wird durch Permeabilitätsunterschiede und das Gegenstromprinzip in den Nephronen der Niere Wasser passiv rückresorbiert wodurch der Urin bis zu einer Osmolarität 1200 mosmol/kg aufkonzentriert wird. **B)** Ein Verlust von VHL führt zu einer verstärkten Ausbildung von Blutgefäßen wodurch es zu einer verstärkten Resorption der Solute und folglich zu einer vergrößerten Urinabgabe kommt (verändert nach [148]).

Somit scheint es einen erklärbaren physiologischen Ansatz für die inverse Regulation von osmolalitätsregulierten-Genen im Nierenzellkarzinom zu geben aber es bleibt ungeklärt, wie das prognostische Potential dieses Gensets funktionell mit der Entstehung oder Progression des Nierenzellkarzinoms zusammenhängt. Die Untersuchung einzelner Gene aus diesem Set ist daher wichtiger Bestandteil aktueller Forschung [56, 112, 126, 150, 151].

Diese Arbeit nutzte die etablierten mpkCCD-Zelllinie um mittels eines CRISPR/Cas9-vermittelten-*Knockouts* die Funktion des stark osmolalitätsregulierten-RANBP3Ls näher zu analysieren. Aufgrund der hohen Aminosäuresequenzhomologie zu RANBP3 und dem Vorhandensein einer konservierten RAN-Bindedomäne (siehe Anhang 8.2) wird eine ähnliche Kernexport-Funktion von RANBP3L in der Niere angenommen. RANBP3 ist bereits als TGF- β -terminierendes-Protein klassifiziert, da gezeigt werden konnte, dass es TGF- β -vermittelte-Proteine aus dem Zellkern zurück in das Zytoplasma transportiert [58, 60]. Für RANBP3L konnte bislang eine Translokation für die Proteine Smad1/5/8 gezeigt werden [62]. Weitere Arbeiten, die die prognostische Relevanz mit einem funktionellen Mechanismus vergleichen existieren nicht. Diese Arbeit liefert erste mechanistische Erklärungen für den prognostischen Wert von *RANBP3L* (Abbildung 10) beim Nierenzellkarzinom, da der Verlust der Expression von *Ranbp3l* in Sammelrohrzellen der Niere eine zelluläre Transformation hin zu einem tumorähnlichen-Phänotyp auslöst (5.6.2-5.6.3.3) welcher durch eine mögliche Translokation von TGF- β -abhängigen-Proteinen vermittelt werden könnte (5.8).

6.4 Ein RANBP3L-Verlust in mpkCCD-Zellen führt zu einem tumor-assoziierten-Phänotyp

6.4.1 Morphologische Veränderungen

Die morphologische Untersuchung ließ zu Beginn ein Verlust der epithelialen Struktur und der Anpassung der mpkCCD-Zellen an die Hyperosmolalität durch eine F-Aktin-Färbung mittels Phalloidin erkennen [118] (Abbildung 37A). Während Scr-Zellen unter 600 mosmol/kg ein dichteres Aktin-Netz im Vergleich zu der isoosmolaren Behandlung (Abbildung 37 - Abbildung 39) zeigen, ist dies für RANBP3L-defiziente-Zellen nicht mehr der Fall. Diese Daten gehen einher mit bereits publizierten Arbeiten in MDCK-Zellen [152]. Die Veränderungen im Zytoskelett der RANBP3L-defizienten-mpkCCD-Zellen ist direkt auf den Verlust von RANBP3L zurückzuführen, da den Zellen keine weiteren genetischen Veränderungen zugrunde liegen und für die Untersuchungen zwei unabhängige RANBP3L-

Knockout-Klone (R1 und R3) genutzt wurden (Abbildung 34). Aktin ist ein Hauptbestandteil des eukaryotischen Zytoskeletts und sorgt über Verankerungen mit *Adherens junction* (AJ) [153] und *Tight junction* (TJ) [153] an der Zellmembran für die Stabilität und Polarität der Zelle sowie Zell-Zell-Kontakten mit benachbarten Epithelzellen. Ein Verlust oder eine Reduktion dieser Eigenschaften ist oft mit der Annahme eines migratorischen und invasiven Phänotyps verbunden [154], welches durch die verstärkte Ausprägung von Lamellipodien [155] beobachtet werden konnte, besonders bei solchen Zellen, die an zellfreien Regionen angrenzten (Abbildung 37B). Die Entstehung von Lamellipodien wird durch F-Aktin-Filamente verursacht, die gegen die Membran drücken und somit eine Fortbewegung der Zelle ermöglichen [156]. Eine solche Reorganisationen des Zytoskellets hinzu einem invasiven Phänotyps wird als Kennzeichen einer beginnenden *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) gewertet [154].

Um diesen Befund zu bekräftigen könnten weitere klassische Marker der EMT in RANBP3L-defizienten-Zellen analysiert werden [157]. Wie bereits beschrieben ist Aktin durch seine Verbindung von AJ und TJ ein wesentlicher Bestandteil für die Integrität und Stabilität von Epithelzellen. Über eine Färbung des *Adherens junctions*-Proteins β -Catenin könnte verifiziert werden, dass zwischen den veränderten mpkCCD-Zellen weniger Zell-Zell-Kontakte ausgebildet werden. Dies wurde bereits für VHL-defiziente-mpkCCD-Zellen von GROSS et al. [112] gezeigt. β -Catenin assoziiert mit der zytoplasmatischen Domäne von E-Cadherinen [154]. Eine reduzierte Expression von E-Cadherin wurde in diversen Krebsentitäten, wie dem Kolorektal-, Pankreas-, Prostata- oder Mammakarzinom [154] beschrieben und gilt als klassischer Marker der EMT. Neben der Analyse von AJs könnte ebenfalls die Expression *Tight junctions* wie ZO-1 (*zonula occludens-1*) analysiert werden. ZO-1 agiert als Verbindungsstück zwischen den Transmembranproteinen Occludin und Claudin und dem Aktin-Zytoskelett [153]. Für VHL-defiziente-mpkCCD-Zellen [112] als auch diverse Krebsentitäten, unter anderem dem hepatozellulären Karzinom [158], konnte bereits eine reduzierte ZO-1-Expression in Verbindung mit einer erhöhte Invasivität festgestellt werden.

6.4.2 Veränderung der Migration und Proliferation

Als weiteres Zeichen eines malignen-Phänotyps konnte eine beschleunigte Zellmigration der RANBP3L-defizienten-Zellen im Vergleich zu den Scr-Zellen gezeigt werden (Abbildung 38). Wie für die morphologische Untersuchung, zeigte sich ebenfalls keine Anpassung an

die extrazelluläre Osmolalität, wie sie andere Studien bereits für MDCK und mpkCCD-Zellen zeigen konnten [112, 152]. Diese Daten werden weiterhin verifiziert durch eine verlangsamte Proliferation der RANBP3L-KO-Zellen in einem 2D-Monolayer-Modell (Abbildung 39). Der beobachtete beschleunigte Wundschluss tritt somit nicht durch eine verstärkte Proliferation der Zellen auf. Es wird deutlich, dass ein RANBP3L-Verlust in Sammelrohrzellen eher einen malignen Phänotyp induziert, der sich durch ein starkes Migrationspotential und eher geringe Proliferation der Zellen auszeichnet. Trotzdem ließ sich feststellen, dass die Klone R1 und R3 im Soft-Agar-Assay signifikant größere Kolonien bilden konnte im Vergleich zu Scr (Abbildung 40). Der gut etablierte Soft-Agar-Assay stellt durch sein verankerungsunabhängiges Wachstum eine *in-vitro* Methode dar, mit der ein mögliches Transformationspotential von Zelllinien untersucht werden kann [119]. Ein Transformationspotential von Tumorzellen ist nicht nur durch die invasive Eigenschaft gekennzeichnet in die Blutlaufbahn des Körpers zu gelangen, sondern ebenfalls in einem fremden Gewebe zu kolonialisieren [159]. Den RANBP3L-defizienten-Zellen ist es demnach möglich beide Phänotypen auszubilden. In einem adhären 2D-Monolayer-System zeigen die KO-Zellen eher einen migratorischen Phänotyp. Durch die Ausbildung der größeren Kolonien lässt sich jedoch ebenfalls auf einen proliferativen Phänotyp der Zellen rückschließen. Diese Beobachtung wird außerdem durch den „Go or Grow“-Ansatz unterstützt [160, 161]. Er besagt, dass die gesteigerte Proliferation oder Migration von Tumorzellen nicht allein auf genetische Mutationen zurückzuführen sind, sondern ebenfalls äußeren Einflüssen bedingen und die Zellen somit zwischen zwei Zuständen wechseln.

Um die erzeugten *in-vitro* Daten eines mesenchymalen Phänotyps auch *in-vivo* zu verifizieren, sollten zukünftig Xenograft-Studien (subkutanes Tumorstadium und Tumormetastasierung) mit den hier etablierten RANBP3L-KO-mpkCCD-Zellen im Vergleich zu Scr-mpkCCD-Zellen durchgeführt werden. Dabei wären ein vergrößertes Tumorstadium sowie eine verstärkte Tumormetastasierung der RANBP3L-defizienten-Zellen im Vergleich zu den Scr-Zellen zu erwarten. Als mögliche Positivkontrollen würden sich bekannten Nierenzellkarzinom-Zelllinien wie 786-0 (KIRC, primär) oder Caki-1 (KIRC, metastasiert) anbieten [162-164].

6.5 Ein RANBP3L-Verlust führt zu einer prognostisch unvorteilhaften Gensignatur im Nierenzellkarzinom

Neben funktionellen Unterschieden geht der Verlust von RANBP3L mit einer massiven Genexpressionsänderung einher. Im Vergleich zu den Kontrollzellen konnten insgesamt 4699 Gene identifiziert werden, die in ihrer Expression signifikant reguliert sind (300 und 600 mosmol/kg zusammengefasst, Abbildung 42). Diese Verschiebung des Genexpressionsprofils geht einher mit verschiedenen krebsassoziierten-Signalwegen, darunter die Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K)/Akt-, EMT- oder TGF- β -Signalkaskaden (Abbildung 42B-C). Dies steht im Einklang mit Nierenzellkarzinom-Studien, die über eine hohe Aktivität von PI3K/Akt berichten [165] und stimmt mit den Ergebnissen (siehe 5.6.2 und 5.6.3) einer mesenchymaleren Morphologie sowie einer beschleunigten Migration überein [166]. Darüber hinaus werden diese Daten durch die einzig weitere existierende Arbeit über RANBP3L unterstützt, dass der Kernexport von Smad-Proteinen mittels RANBP3L durch knochenmorphogenetische Proteine (BMP) reguliert wird, die zur TGF- β -Superfamilie gehören [62, 167]. Auffallend war, dass eine RANBP3L-regulierte-Gensignatur mit einer Nierenzellkarzinom-Signatur einherging (Abbildung 42C) und sich die KIRC-Kohorte durch eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) deutlich von den anderen RCC-Subtypen (KICH und KIRP) und dem normalen Kontrollgewebe unterschied (Abbildung 43). Weiterhin zeigte der Vergleich der Daten mit Daten aus dem humanen Pathologie-Atlas [106, 135], dass ein RANBP3L-Mangel vor allem die Expression von Genen induziert, die mit einer ungünstigen Prognose bei Patienten mit Nierenzellkarzinom assoziiert sind (Abbildung 44). Zum jetzigen Kenntnisstand ist dies die einzige Arbeit, die eine differenzierte Gensignatur beschreibt, die durch den Funktionsverlust eines bestimmten Gens vermittelt wird und die KIRC eindeutig von anderen RCC-Entitäten und normalem Gewebe unterscheidet. Bekannte Studien haben bislang nur Gensignatur mit dem Überleben von RCC-Patienten [135, 168-171] oder dem Metastasierungspotential des Tumors [172] in Verbindung gebracht. Obwohl dazu keine humanen, sondern murine Zelllinien verwendet wurden, deuten diese Daten zusammen mit einer veröffentlichten Studie mit primären Ratten-IMCD-Zellen [56] auf einen translationalen Wert für KIRC-Patienten hin. Eine weitere potenzielle Einschränkung dieser Arbeit ist die Verwendung von Sammelohrzellen [88]. Es herrscht zwar traditionell die Auffassung, dass KIRC aus Zellen des proximalen Tubulus entsteht [71] aber schon 1989 konnte NOGUEIRA et al. in einem Rattenmodell zeigen, dass klarzellige Nierenzellkarzinome

aus Segmenten des Sammelrohres stammten [173]. Unterstützt wird diese Vermutung durch modernere Untersuchungen, die gezeigt haben, dass in manchen KIRC-Tumorproben Marker exprimiert sind, die typisch für den distalen Tubulus oder das Sammelrohr sind [174, 175]. Jedoch werden zusätzlich zu den Haupt-RCC-Entitäten (KIRC, KICH und KIRP) auch andere Subtypen beschrieben. Darunter stellt das Nieren-Sammelrohr-Zellkarzinom (CDC; auch *Ductus-Bellini*-Karzinom genannt) eine weitere seltene (weniger als 2 %) aber hoch aggressive RCC-Entität dar [176]. Für CDCs liegen nur wenige Studien vor, von denen noch weniger Genexpressionsprofile erstellt. Diese wenigen zeigen aber, dass ein CDC-spezifischer Gensatz mit dem KIRC-Subtyp clustert [135, 177, 178] und dass eine starke Herabregulierung von *RANBP3L* für CDC-Proben im Vergleich zur Kontrollgruppe charakteristisch ist (siehe Anhang 8.12).

So wäre es sinnvoll in den nächsten Schritten Genexpressionsanalysen von globalen sowie nierenspezifischen *RANBP3L*-defizienten-Mäusen gegen Kontrollgruppen zu vergleichen, um zu untersuchen, ob ein ähnliches tumor-assoziiertes-Genexpressionsprofil auch in einem *in-vivo* Modell beobachtet werden kann. Die Generierung von globalen *RANBP3L*-defizienten-Mäusen wurde auch bereits in Auftrag gegeben, erfordert aber mehr Zeit als gedacht, weswegen diese Daten kein Bestandteil dieser Dissertation werden konnten. Etablierte nierenspezifische-*Knockout*-Mausmodelle existieren bereits, die unter anderem *Ksp-Cadherin* als Nierenmarker [179] oder *Aquaporin 2* als Sammelrohrzell-Marker [180] verwenden. Eine erste phänotypische Analyse der Mäuse (Aussehen, Verhalten, Metabolismus, Pathologie etc., siehe Anhang 8.15) könnte in einer Kooperation mit der deutschen Mauslinik (*german mouse clinic*, GMC) erfolgen [181].

6.6 Der *Knockout* von SPARC in *RANBP3L*-defizienten-Zellen minimiert den malignen Phänotyp

In den weiterfolgenden Analysen wurden einzelne Gene aus dem *RANBP3L*-abhängigen Gensatz bestehend aus 17 Genen (Abbildung 44) intensiver charakterisiert. Für diesen Sachverhalt wurden die Gene *Sparc*, *Col4a1* und *Col4a2* verwendet, da sie neben einer starken relativen Expressionsinduktion auch sehr abundant in den *RANBP3L*-defizienten-Zellen vorliegen. Weiterhin existieren Studien, die bereits einen Zusammenhang von *Sparc* und *Col4a1/2* im Nierenzellkarzinom zeigen [121].

SPARC beeinflusst viele molekulare Funktionen wie Gewebewachstum, Zell-Matrix-Adhäsion, Wachstumsfaktoraktivität und die ECM-Dynamik [182]. Dies deutet auf eine

wichtige Rolle bei der Karzinomentwicklung und -progression hin. Die Studienlage ist allerdings sehr divers, da sowohl erhöhte als auch verringerte SPARC-Niveaus während der Tumorentstehung bekannt sind. Eine verminderte *SPARC*-Expression wurde bei der akuten myeloischen Leukämie, dem duktalem Adenokarzinom des Pankreas und dem Ovarialkarzinom [183-185] ermittelt, während eine Überexpression von SPARC mit Tumorentitäten wie dem Mammakarzinom, Melanom, Glioblastom und Nierenzellkarzinom in Verbindung gebracht wurde [121, 186-188]. Es ist weiterhin bekannt, dass SPARC mit Kollagen I-V in Assoziation stehen. Dies wird durch Arbeiten an *C. elegans* [189], *Drosophila* [190, 191] sowie Mäusen [192] unterstützt. Sie gehen davon aus, dass SPARC die Löslichkeit von Kollagenen fördert, indem es als Chaperon fungiert und somit verhindert, dass Kollagen mit Zelloberflächenrezeptoren interagiert. Somit wird die Hypothese aufgestellt, dass die betroffenen Gewebe bei einem erhöhten SPARC-Spiegel leichter von malignen Zellen durchdrungen werden können [189].

Das RANBP3L-defiziente-Genexpressionsprofil korreliert ebenfalls mit einem von FREW et al. etabliertem KIRC-ähnlichen-Mausmodell [77, 193]. In diesem Modell ist *Ranbp3l* herunterreguliert und neu identifizierte, von RANBP3L-abhängige-Gene wie *Sparc*, *Col4a1* und *Col4a2* sind hochreguliert (siehe Anhang 8.12.1). So wurde nachfolgend mittels TCGA-Analyse die Korrelation der Expression von *RANBP3L* mit *SPARC*, *COL4A1* und *COL4A2* im Nierenzellkarzinom, besonders im KIRC-Subtyp, bestätigt (Abbildung 46). Um zu untersuchen, ob diese Ergebnisse phänotypische Relevanz haben, wurde ein CRISPR/Cas9-vermittelten-*Knockout* von SPARC in RANBP3L-defizienten-Zellen durchgeführt. Zusammenfassend zeigen die ersten Daten eine Abschwächung des onkogenen Phänotyps von RANBP3L-defizienten-Zellen durch einen zusätzlichen SPARC-*Knockout* und verifizierten die vorangegangenen Genexpressionsanalysen (Abbildung 50-Abbildung 53). Weiterführend wäre ebenfalls eine globale Genexpressionsanalyse der doppelt-defizienten-Zellen im Vergleich zu einfach-defizienten-Zellen und den Kontrollzellen sinnvoll. Ebenfalls sollten die in 6.4 erwähnten Xenograft-Analysen zusätzlich mit den doppelt-defizienten-Zellen (RANBP3L-KO + SPARC-KO) durchgeführt werden, um die Abschwächung des malignen Phänotyps *in-vivo* zu bestätigen. Es wurde auch berichtet, dass die Überexpression von SPARC in Lungenmetastasen von Mammakarzinomen allein nicht ausreicht, um eine Zelle mit metastatischen Fähigkeiten zu bilden [194], sondern stattdessen die Malignität von Zellen fördert, die bereits ein basales Maß an invasiver Fähigkeit besitzen. Daher sollte die Rolle anderer, nicht charakterisierter nachgeschalteter Zielgene von

RANBP3L analysiert werden. Dazu zählen zum Beispiel *Sh3gl2* (*SH3 Domain Containing GRB2 Like 2*), auch Endophilin A1 genannt, von dem bekannt ist, dass ein Mangel die Malignität bei Urothelkarzinomen und nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) fördert [195, 196] oder diverse Hox Gene (*Hoxa10*, *Hoxa9* oder *Hoxa7*), welche in vielen Tumorentitäten eine Rolle zu spielen scheinen [197]. Weitere unter RANBP3L-regulierte Transkripte waren das *Unc5b* (Unc-5 Netrin Receptor B), welches im Mammakarzinom die Proliferation und Metastasierung fördert [198] und das *Pmp22* (peripheral myelin protein 2), dessen erhöhte Expression bereits im Magenkarzinom beobachtet werden konnte [199]. Ob und wie diese und weitere regulierte Gene in Assoziation zu RANBP3L stehen ist bislang nicht untersucht.

6.7 RANBP3L ist an der Translokation von TGF- β abhängigen Proteinen beteiligt

Die TGF- β -Signalkaskade führt über Faktoren wie Smad2/3 oder c-JUN zu einer Aktivierung von Genen wie *SNAIL* oder *ZEB* die wiederum die Expression klassische EMT Marker wie Fibronectin, Vimentin oder N-Cadherin aktivieren. [200]. Daten aus *in-vitro*- und *in-vivo*-Experimenten zeigen ebenfalls eine TGF- β -vermittelte-Expressionsinduktion für *Sparc* [122] und *Col4a1/2* [201]. Weiterhin zeigen die TCGA-Daten für das RCC eine erhöhte Expression von *TGFBI* (kodierendes gen für TGF- β 1) im Vergleich zur Kontrollkohorte sowie eine Korrelation mit der Expression von *SPARC*, *COL4A1/2* und auch *RANBP3L* (Abbildung 54). Darüber hinaus führt eine TGF- β 1-Behandlung der mpkCCD-Zellen zu der Induktion eines Phänotyps, der einer RANBP3L-Defizienz ähnelt sowie einer erhöhten *Sparc*-Expression (Abbildung 55). Eine RANBP3L-überexprimierende-mpkCCD-Zellkultur zeigt dagegen eine signifikant verringerte *Sparc*-Induktion unter einer TGF- β 1-Behandlung (Abbildung 55), weswegen von einer reprimierenden Eigenschaft von RANBP3L auf die TGF- β -Signalkaskade geschlossen werden kann. Studien zeigen, dass die *SPARC*-Expression über eine c-JUN/ JNK-Kaskade aktiviert wird [182] und, dass der JNK-Signalweg durch verschiedene Stimuli aktiviert werden kann, die mit akuten und chronischen Nierenschäden in Verbindung gebracht werden [202, 203]. Erste Immunfluoreszenz Daten zeigen, dass bei 600 mosmol/kg die phosphorylierte aktive Form von c-JUN im Kern weniger stark vorliegt als unter isoosmolaren Bedingungen (siehe Anhang 8.14). Diese Beobachtung konnte im RANBP3L-KO-Zellen nicht mehr gezeigt werden. Dies deutet darauf hin, dass RANBP3L unter

physiologischen Bedingungen in Sammelrohrzellen der Niere die Translokation von c-JUN oder c-JUN-abhängiger-Faktoren in den Kern hemmen oder vermindern und damit eine Signalkaskade von c-JUN-abhängigen-Genen terminieren könnte (Abbildung 57).

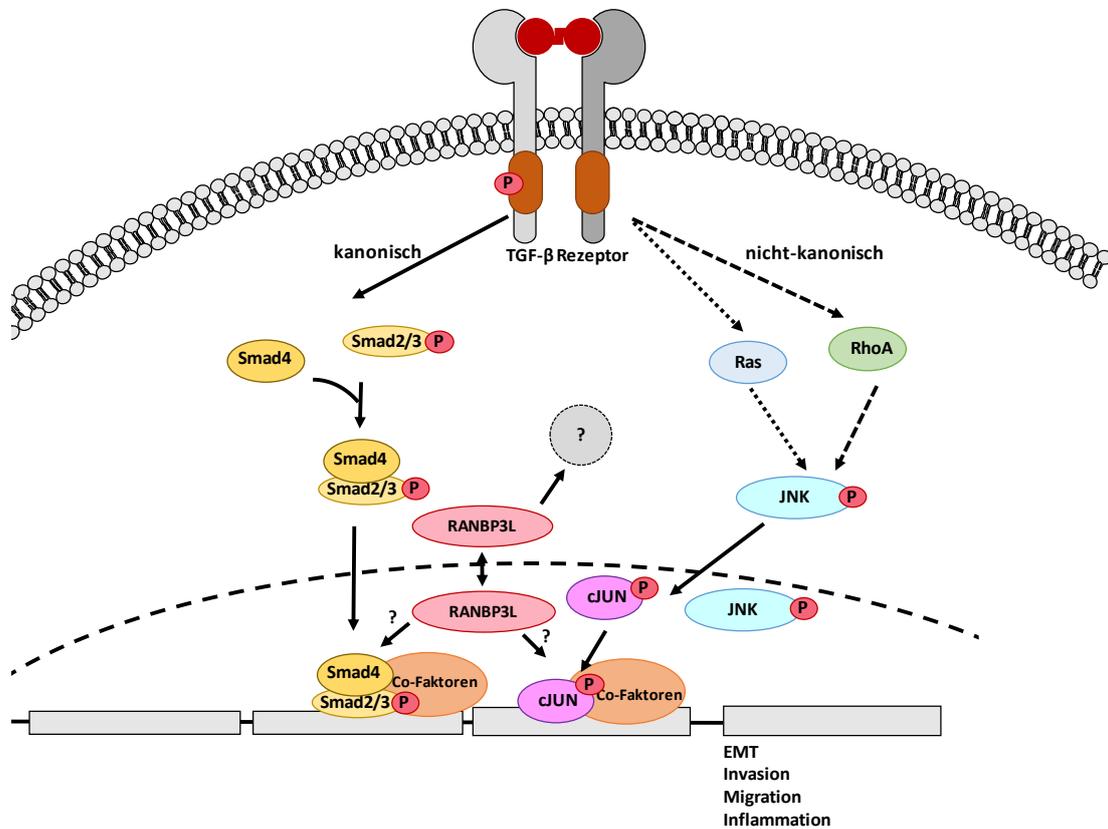


Abbildung 57: Schematische Darstellung der möglichen Funktion von RANBP3L.

Dargestellt ist der kanonische sowie nicht kanonische Signalweg nach TGF-β Aktivierung. Im kanonischen Signalweg werden SMAD2/3-Proteine an ihren C-terminalen Serinresten phosphoryliert und bilden einen Komplex mit SMAD4 (auch co-SMAD genannt). Dieser Komplex transloziert in den Kern und bindet dort an weitere Co-Faktoren, wodurch eine Reihe von biologischen Prozessen durch transkriptionelle Regulierung von Zielgenen in Gang gesetzt werden. Nicht kanonische TGF-β Kaskaden können über Ras und RhoA JNK phosphorylieren, welches wiederum im Nucleus c-JUN aktiviert. Final werden Zielgene für verstärkte Invasion, Migration oder auch Inflammation transkriptionell aktiviert. RANBP3L könnte nach diesem Schema direkt die Translokation von Smad2/3, c-JUN oder *upstream* geschalteten Proteinen inhibieren. Smad2/3/4 = *mothers against decapentaplegic homolog 2/3/4*, Ras = *Rat sarcoma*, RhoA = *Ras Homolog Gene Family Member A*, JNK = c-Jun-N-terminale Kinasen, c-JUN = *AP-1 transcription factor subunit* (verändert nach [203-205])

Weitere Experimente, die die nachgeschaltete Signalübertragung von RANBP3L aufzeigen, sind somit erforderlich. So könnte die Signalkaskade genauer mittels CO-Immunpräzipitation (CO-IP) in der bereits etablierten RANBP3L-überexprimierenden mpkCCD-Zelllinie untersucht werden. Dafür würden durch ein spezifisches Protokoll nur RANBP3L-gebundene-Faktoren aufgearbeitet und nachfolgend massenspektrometrisch untersucht werden. Hier könnte final bewiesen werden, ob RANBP3L direkt c-JUN oder

andere Protein in dieser Kaskade (JNK, Smad2/3) hemmt. Nachfolgend könnten diese Ergebnisse dazu führen den Verlust von RANBP3L durch eine Inhibitortherapie gegen TGF- β , Smad2/3, cJUN oder andere identifizierte Faktoren zu kompensieren. Im Gegensatz zu einem *SPARC-Knockout* wäre dieser Ansatz auch therapeutisch im Nierenzellkarzinom denkbar. Momentan befinden sich solche Inhibitoren noch in experimenteller Testung und müssen hinreichend auf ihre Spezifität und Wirksamkeit analysiert werden [206, 207].

Bislang ist keine nierenspezifische Tumorthherapie in der Anwendung. Erste medikamentöse Therapien wurden in den 1980er -1990er Jahren mittels Zytokintherapie durch Interferon alpha (IFN- α) [208] und Interleukin 2 (IL-2) [209] durchgeführt. Ein deutlicher Fortschritt konnte ab 2005 mit den Multityrosinkinase-Inhibitoren Sorafenib und Sunitinib erzielt werden [210]. Neuere Ansätze in der onkologischen Therapie haben den Einsatz von Immuncheckpoint-Inhibitoren hervorgebracht [211]. Dabei werden Antikörper gegen Rezeptoren wie PDL-1 und CTLA4 hergestellt, die eine Abschwächung des Immunsystems durch Tumorzellen verhindern [211]. Zum heutigen Zeitpunkt stehen nun unterschiedliche Kombinations- und Monotherapien zur Verfügung [71]. Dabei muss allerdings beachtet werden, dass in den meisten Studien nur klarzellige Nierenzellkarzinome eingeschlossen wurden. Aktuell werden Nierenzellkarzinome mit einer Kombination von Axitinib mit Avelumab [212] oder Axitinib mit Pembrolizumab [213] unabhängig vom Risikofaktor oder histologischer Entität behandelt (siehe Anhang Abbildung 61). Somit geht dieses Konzept eher auf die generelle Inhibierung der Vaskularisation (Axitinib) sowie auf die immunmodulatorische Funktion durch die PD-L1 Inhibitoren Avelumab oder Pembrolizumab aber nicht auf Nierenkarzinom-spezifische-Faktoren. Studien zeigten bereits, dass eine TGF- β induzierte *SPARC*-Expression durch Smad- und JNK-Inhibitoren herunterreguliert werden kann [214, 215]. Diese Daten könnten in den RANBP3L-defizienten-mpkCCD-Zellen, den zuvor erwähnten RCC-Xenograft-Modellen (6.4.2) oder der *in-vivo* RANBP3L-KO-Maus (6.5) verifiziert werden.

7 Zusammenfassung und Ausblick

In den menschlichen Nieren herrscht ein osmotischer Gradient zwischen dem Cortex und der Medulla, wobei sich die Osmolalität in Richtung Medulla bis zu 1200 mosmol/kg aufkonzentriert. Um diesen Belastungen standzuhalten, besitzen die Zellen in den einzelnen Tubulussegmenten ein zu Grunde liegendes Geneexpressionsprofil. Wie dieses spezifische Expressionsprofil erreicht wird, ist nicht vollkommen verstanden. Die Zellen aktivieren gezielte Adaptionenmechanismen, die hauptsächlich über den Transkriptionsfaktor *Nuclear factor of activated T-cells 5* (NFAT5) reguliert sind. Vorarbeiten zeigen, dass in IMCD-Zellen der Niere die extrazelluläre Osmolalität die Expression von hunderten nierenzellspezifischen-Genen reguliert. Weiterhin zeigen Studien, dass viele dieser beschriebenen Gene zusätzlich invers mit der Expression in Nierenzellkarzinomen (RCC) korrelieren. Von einigen Genen ist eine RCC-assoziierte-Funktion bereits beschrieben, aber für viele fehlt dies noch. Eines der dabei am stärksten regulierten Gene mit prognostischer Relevanz ist das kaum charakterisierte *Ran-binding protein 3-like* (RANBP3L). Somit war es Ziel dieser Arbeit über die Untersuchung der RANBP3L-Expression und Funktion erste Rückschlüsse auf den zugrundeliegenden Signalweg zu schließen.

Innerhalb dieser Arbeit konnte in murinen Systemen über einen CRISPR/Cas9-vermittelten-NFAT5-Knockout (KO) *in-vitro* als auch über ein induzierbares KO-System *ex-vivo* gezeigt werden, dass die Expressionsinduktion unter Hyperosmolalität bekannter und unbekannter NFAT5-abhängigen-Gene, einschließlich *Ranbp3l* verloren geht. Weiterhin konnte durch Promotoraktivitätsanalysen eine direkte Interaktion von NFAT5 bei der Regulation von *Ranbp3l* aufgezeigt werden.

Anschließend wurde RANBP3L ebenfalls mittels CRISPR/Cas9 ausgeknockt und die Zelllinie mpkCCD nachfolgend phänotypisch charakterisiert. Die Ergebnisse zeigten eine onkogene Wirkung des RANBP3L-Verlustes durch eine mesenchymalere Morphologie, eine verstärkte Migration sowie eine verstärkte Koloniebildung. Um zu untersuchen, welche Gene diese phänotypischen Veränderungen bedingen, wurde mittels RNA-Seq das globale Genexpressionsprofil von RANBP3L-defizienten-Zellen analysiert. Die Ergebnisse zeigen ein stark KIRC (klarzelliges Nierenzellkarzinom)-abhängiges-Expressionsprofil. Vor allem fiel eine Anreicherung der Gene *Secreted Protein Acidic And Cysteine Rich* (*Sparc*), *Collagen Type IV Alpha 1 Chain* (*Col4a1*) sowie *Collagen Type IV Alpha 2 Chain* (*Col4a2*) auf, die nachfolgend untersucht wurden. *In-silico*-Analysen zeigten, dass alle drei Gene im KIRC-Subtyp stark mit der RANBP3L-Expression korrelieren. Um die bioinformatischen NGS-

Analysen zu verifizieren, wurde ein CRISPR/Cas9-vermittelter-SPARC-*Knockout* in RANBP3L-defizienten-Zellen etabliert. Der zuvor beobachtete onkogene Phänotyp zeigte durch die zusätzliche SPARC-Defizienz eine deutliche Abmilderung bezüglich der Migration und Koloniebildung der Zellen.

Andere Arbeiten zeigen bereits eine Rolle von SPARC im Nierenzellkarzinom, welche TGF- β 1 vermittelt zu sein scheint, da *TGFBI* (für TGF- β 1 kodierendes Gen) in RCC im Vergleich zu den Kontrollkohorten hochreguliert vorliegt. In diesem Zusammenhang zeigen unsere Daten, dass eine TGF- β 1-Behandlung zu einem ähnlichen Phänotyp führt, wie eine erzeugte RANBP3L-Defizienz. Weiterhin zeigen die Daten, dass eine RANBP3L-Überexpression die TGF- β 1-vermittelte-Expression von *Sparc* hemmt. Das lässt Rückschlüsse darauf zu, dass RANBP3L in der Niere ein TGF- β -terminierende Funktion besitzen könnte, indem RANBP3L TGF- β -vermittelten-Faktoren aus dem Zellkern in das Cytosol transloziert. Darunter fallen kanonische Faktoren wie Smad2/3 oder Smad4 sowie nicht-kanonische TGF- β Proteine wie JNK oder c-JUN. Da bereits c-JUN als Transkriptionsfaktor für SPARC bekannt ist, wäre diese Signalkaskade ein denkbarer Ansatz.

Interessant bleibt zu untersuchen, ob die hier gezeigten *in-vitro*-Ergebnisse sich in RANBP3L-defizienten-Mausmodellen oder Xenograft-Studien verifizieren lassen. In diesem Zusammenhang wird es ebenfalls wichtig sein den zugrundeliegenden Signalweg von RANBP3L genauer aufzuschlüsseln. Diese Daten könnten zukünftig helfen die Behandlung von bestimmten Nierenzellkarzinom-Entitäten, durch das *Targeting* bislang nicht genutzter RANBP3L-assoziierter-Pfade, zu verbessern.

Literaturverzeichnis

- 1 Wallace MA. Anatomy and physiology of the kidney. *AORN J* 1998; 68: 800, 803-816, 819-820; quiz 821-804.
- 2 Kaufman DP, Basit H, Knohl SJ. Physiology, Glomerular Filtration Rate. *StatPearls: Treasure Island (FL)*, 2020.
- 3 Weiner ID, Mitch WE, Sands JM. Urea and Ammonia Metabolism and the Control of Renal Nitrogen Excretion. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10: 1444-1458.
- 4 Masereeuw R, Russel FG. Mechanisms and clinical implications of renal drug excretion. *Drug Metab Rev* 2001; 33: 299-351.
- 5 Almeras C, Argiles A. The general picture of uremia. *Semin Dial* 2009; 22: 329-333.
- 6 Brown D, Wagner CA. Molecular mechanisms of acid-base sensing by the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 774-780.
- 7 Maxwell AP, Lappin TR, Johnston CF, Bridges JM, McGeown MG. Erythropoietin production in kidney tubular cells. *Br J Haematol* 1990; 74: 535-539.
- 8 Sparks MA, Crowley SD, Gurley SB, Mirotsoy M, Coffman TM. Classical Renin-Angiotensin system in kidney physiology. *Compr Physiol* 2014; 4: 1201-1228.
- 9 Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 491S-499S.
- 10 Soriano RM, Penfold D, Leslie SW. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Kidneys. *StatPearls: Treasure Island (FL)*, 2021.
- 11 Pape H KA, Silbernagl S. *Physiologie - Die Funktion der Niere*, vol. 9. Thieme, 2019.
- 12 (IQWiG) IfQuWiG. Wie funktionieren die Nieren?, 12. Januar 2022.
- 13 Madrazo-Ibarra A, Vaitla P. Histology, Nephron. *StatPearls: Treasure Island (FL)*, 2021.
- 14 Zhuo JL, Li XC. Proximal nephron. *Compr Physiol* 2013; 3: 1079-1123.

- 15 Murray I, Paolini MA. Histology, Kidney and Glomerulus. *StatPearls: Treasure Island (FL)*, 2021.
- 16 Curthoys NP, Moe OW. Proximal tubule function and response to acidosis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014; 9: 1627-1638.
- 17 Behrends J BJ, Deutzmann R, Ehmke H, Frings S, Grissmer S, Hoth M, Kurtz A, Leipziger J et al. *Duale Reihe Physiologie*. Georg Thieme Verlag, 2021.
- 18 Edemir B, Pavenstadt H, Schlatter E, Weide T. Mechanisms of cell polarity and aquaporin sorting in the nephron. *Pflugers Arch* 2011; 461: 607-621.
- 19 Sands JM, Layton HE. The physiology of urinary concentration: an update. *Semin Nephrol* 2009; 29: 178-195.
- 20 Bankir LT, Trinh-Trang-Tan MM. Renal urea transporters. Direct and indirect regulation by vasopressin. *Exp Physiol* 2000; 85 Spec No: 243S-252S.
- 21 Cuzzo B, Padala SA, Lappin SL. Physiology, Vasopressin. *StatPearls: Treasure Island (FL)*, 2021.
- 22 Dantzler WH, Layton AT, Layton HE, Pannabecker TL. Urine-concentrating mechanism in the inner medulla: function of the thin limbs of the loops of Henle. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014; 9: 1781-1789.
- 23 Nawata CM, Pannabecker TL. Mammalian urine concentration: a review of renal medullary architecture and membrane transporters. *J Comp Physiol B* 2018; 188: 899-918.
- 24 Argyropoulos C, Rondon-Berrios H, Raj DS, Malhotra D, Agaba EI, Rohrscheib M et al. Hypertonicity: Pathophysiologic Concept and Experimental Studies. *Cureus* 2016; 8: e596.
- 25 Maldonado KA, Mohiuddin SS. Biochemistry, Hypertonicity. *StatPearls: Treasure Island (FL)*, 2020.
- 26 Burg MB, Ferraris JD, Dmitrieva NI. Cellular response to hyperosmotic stresses. *Physiol Rev* 2007; 87: 1441-1474.
- 27 Dmitrieva NI, Michea LF, Rocha GM, Burg MB. Cell cycle delay and apoptosis in response to osmotic stress. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001; 130: 411-420.

- 28 Cai Q, Michea L, Andrews P, Zhang Z, Rocha G, Dmitrieva N *et al.* Rate of increase of osmolality determines osmotic tolerance of mouse inner medullary epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283: F792-798.
- 29 Michea L, Ferguson DR, Peters EM, Andrews PM, Kirby MR, Burg MB. Cell cycle delay and apoptosis are induced by high salt and urea in renal medullary cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278: F209-218.
- 30 Neuhofer W, Beck FX. Response of renal medullary cells to osmotic stress. *Contrib Nephrol* 2005; 148: 21-34.
- 31 Kultz D, Chakravarty D. Hyperosmolality in the form of elevated NaCl but not urea causes DNA damage in murine kidney cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 1999-2004.
- 32 Petronini PG, Tramacere M, Mazzini A, Kay JE, Borghetti AF. Control of protein synthesis by extracellular Na⁺ in cultured fibroblasts. *J Cell Physiol* 1989; 140: 202-211.
- 33 Khan SH, Ahmad N, Ahmad F, Kumar R. Naturally occurring organic osmolytes: from cell physiology to disease prevention. *IUBMB Life* 2010; 62: 891-895.
- 34 Grunewald RW, Wagner M, Schubert I, Franz HE, Muller GA, Steffgen J. Rat renal expression of mRNA coding for aldose reductase and sorbitol dehydrogenase and its osmotic regulation in inner medullary collecting duct cells. *Cell Physiol Biochem* 1998; 8: 293-303.
- 35 Ito T, Fujio Y, Hirata M, Takatani T, Matsuda T, Muraoka S *et al.* Expression of taurine transporter is regulated through the TonE (tonicity-responsive element)/TonEBP (TonE-binding protein) pathway and contributes to cytoprotection in HepG2 cells. *Biochem J* 2004; 382: 177-182.
- 36 Yamauchi A, Uchida S, Kwon HM, Preston AS, Robey RB, Garcia-Perez A *et al.* Cloning of a Na⁽⁺⁾- and Cl⁽⁻⁾-dependent betaine transporter that is regulated by hypertonicity. *J Biol Chem* 1992; 267: 649-652.
- 37 Yamauchi A, Uchida S, Preston AS, Kwon HM, Handler JS. Hypertonicity stimulates transcription of gene for Na⁽⁺⁾-myo-inositol cotransporter in MDCK cells. *Am J Physiol* 1993; 264: F20-23.
- 38 Meek DW. Post-translational modification of p53 and the integration of stress signals. *Pathol Biol (Paris)* 1997; 45: 804-814.

- 39 Brocker C, Thompson DC, Vasiliou V. The role of hyperosmotic stress in inflammation and disease. *Biomol Concepts* 2012; 3: 345-364.
- 40 Lopez-Rodriguez C, Antos CL, Shelton JM, Richardson JA, Lin F, Novobrantseva TI *et al.* Loss of NFAT5 results in renal atrophy and lack of tonicity-responsive gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2392-2397.
- 41 Lopez-Rodriguez C, Aramburu J, Rakeman AS, Rao A. NFAT5, a constitutively nuclear NFAT protein that does not cooperate with Fos and Jun. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 7214-7219.
- 42 Miyakawa H, Woo SK, Dahl SC, Handler JS, Kwon HM. Tonicity-responsive enhancer binding protein, a rel-like protein that stimulates transcription in response to hypertonicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 2538-2542.
- 43 Aramburu J, Drews-Elger K, Estrada-Gelonch A, Minguillon J, Morancho B, Santiago V *et al.* Regulation of the hypertonic stress response and other cellular functions by the Rel-like transcription factor NFAT5. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1597-1604.
- 44 Hogan PG, Chen L, Nardone J, Rao A. Transcriptional regulation by calcium, calcineurin, and NFAT. *Genes Dev* 2003; 17: 2205-2232.
- 45 Lee N, Kim D, Kim WU. Role of NFAT5 in the Immune System and Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Front Immunol* 2019; 10: 270.
- 46 Rao A, Luo C, Hogan PG. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 707-747.
- 47 Viola JP, Carvalho LD, Fonseca BP, Teixeira LK. NFAT transcription factors: from cell cycle to tumor development. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 335-344.
- 48 Oeckinghaus A, Ghosh S. The NF-kappaB family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a000034.
- 49 Tong EH, Guo JJ, Huang AL, Liu H, Hu CD, Chung SS *et al.* Regulation of nucleocytoplasmic trafficking of transcription factor OREBP/TonEBP/NFAT5. *J Biol Chem* 2006; 281: 23870-23879.
- 50 Lanaspá MA, Andres-Hernando A, Li N, Rivard CJ, Cicerchi C, Roncal-Jimenez C *et al.* The expression of aquaporin-1 in the medulla of the kidney is dependent on the transcription factor associated with hypertonicity, TonEBP. *J Biol Chem* 2010; 285: 31694-31703.

- 51 Hasler U, Jeon US, Kim JA, Mordasini D, Kwon HM, Feraille E *et al.* Tonicity-responsive enhancer binding protein is an essential regulator of aquaporin-2 expression in renal collecting duct principal cells. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1521-1531.
- 52 Nakayama Y, Peng T, Sands JM, Bagnasco SM. The TonE/TonEBP pathway mediates tonicity-responsive regulation of UT-A urea transporter expression. *J Biol Chem* 2000; 275: 38275-38280.
- 53 Woo SK, Lee SD, Na KY, Park WK, Kwon HM. TonEBP/NFAT5 stimulates transcription of HSP70 in response to hypertonicity. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 5753-5760.
- 54 Izumi Y, Yang W, Zhu J, Burg MB, Ferraris JD. RNA-Seq analysis of high NaCl-induced gene expression. *Physiol Genomics* 2015; 47: 500-513.
- 55 Schulze Blasum B, Schroter R, Neugebauer U, Hofschroer V, Pavenstadt H, Ciarimboli G *et al.* The kidney-specific expression of genes can be modulated by the extracellular osmolality. *FASEB J* 2016; 30: 3588-3597.
- 56 Kandabarau S, Leiz J, Krohn K, Winter S, Bedke J, Schwab M *et al.* Hypertonicity-Affected Genes Are Differentially Expressed in Clear Cell Renal Cell Carcinoma and Correlate with Cancer-Specific Survival. *Cancers (Basel)* 2019; 12.
- 57 Hinze C, Karaiskos N, Boltengagen A, Walentin K, Redo K, Himmerkus N *et al.* Kidney Single-cell Transcriptomes Predict Spatial Corticomedullary Gene Expression and Tissue Osmolality Gradients. *J Am Soc Nephrol* 2021; 32: 291-306.
- 58 Dai F, Lin X, Chang C, Feng XH. Nuclear export of Smad2 and Smad3 by RanBP3 facilitates termination of TGF-beta signaling. *Dev Cell* 2009; 16: 345-357.
- 59 Englmeier L, Fornerod M, Bischoff FR, Petosa C, Mattaj IW, Kutay U. RanBP3 influences interactions between CRM1 and its nuclear protein export substrates. *EMBO Rep* 2001; 2: 926-932.
- 60 Hendriksen J, Fagotto F, van der Velde H, van Schie M, Noordermeer J, Fornerod M. RanBP3 enhances nuclear export of active (beta)-catenin independently of CRM1. *J Cell Biol* 2005; 171: 785-797.
- 61 Chen F, Lin X, Xu P, Zhang Z, Chen Y, Wang C *et al.* Correction for Chen et al., "Nuclear Export of Smads by RanBP3L Regulates Bone Morphogenetic Protein Signaling and Mesenchymal Stem Cell Differentiation". *Mol Cell Biol* 2017; 37.

- 62 Chen F, Lin X, Xu P, Zhang Z, Chen Y, Wang C *et al.* Nuclear Export of Smads by RanBP3L Regulates Bone Morphogenetic Protein Signaling and Mesenchymal Stem Cell Differentiation. *Mol Cell Biol* 2015; 35: 1700-1711.
- 63 Langer K, Dian C, Rybin V, Muller CW, Petosa C. Insights into the function of the CRM1 cofactor RanBP3 from the structure of its Ran-binding domain. *PLoS One* 2011; 6: e17011.
- 64 Vetter IR, Nowak C, Nishimoto T, Kuhlmann J, Wittinghofer A. Structure of a Ran-binding domain complexed with Ran bound to a GTP analogue: implications for nuclear transport. *Nature* 1999; 398: 39-46.
- 65 Bischoff FR, Klebe C, Kretschmer J, Wittinghofer A, Ponstingl H. RanGAP1 induces GTPase activity of nuclear Ras-related Ran. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 2587-2591.
- 66 Bischoff FR, Ponstingl H. Catalysis of guanine nucleotide exchange on Ran by the mitotic regulator RCC1. *Nature* 1991; 354: 80-82.
- 67 Riddick G, Macara IG. The adapter importin-alpha provides flexible control of nuclear import at the expense of efficiency. *Mol Syst Biol* 2007; 3: 118.
- 68 Richards SA, Lounsbury KM, Carey KL, Macara IG. A nuclear export signal is essential for the cytosolic localization of the Ran binding protein, RanBP1. *J Cell Biol* 1996; 134: 1157-1168.
- 69 Wu J, Matunis MJ, Kraemer D, Blobel G, Coutavas E. Nup358, a cytoplasmically exposed nucleoporin with peptide repeats, Ran-GTP binding sites, zinc fingers, a cyclophilin A homologous domain, and a leucine-rich region. *J Biol Chem* 1995; 270: 14209-14213.
- 70 Tang Z, Kang B, Li C, Chen T, Zhang Z. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis. *Nucleic Acids Res* 2019; 47: W556-W560.
- 71 Hsieh JJ, Purdue MP, Signoretti S, Swanton C, Albiges L, Schmidinger M *et al.* Renal cell carcinoma. *Nat Rev Dis Primers* 2017; 3: 17009.
- 72 Rini BI, Campbell SC, Escudier B. Renal cell carcinoma. *Lancet* 2009; 373: 1119-1132.
- 73 Pandey J, Syed W. Renal Cancer. *StatPearls*: Treasure Island (FL), 2021.

- 74 Chang YH, Chuang CK, Pang ST, Wu CT, Chuang KL, Chuang HC *et al.* Prognostic value of TNM stage and tumor necrosis for renal cell carcinoma. *Kaohsiung J Med Sci* 2011; 27: 59-63.
- 75 Physiopedia. Kidney cancer stage, 2021.
- 76 Gnarr JR, Tory K, Weng Y, Schmidt L, Wei MH, Li H *et al.* Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Genet* 1994; 7: 85-90.
- 77 Harlander S, Schonenberger D, Toussaint NC, Prummer M, Catalano A, Brandt L *et al.* Combined mutation in Vhl, Trp53 and Rb1 causes clear cell renal cell carcinoma in mice. *Nat Med* 2017; 23: 869-877.
- 78 Hakimi AA, Ostrovnaya I, Reva B, Schultz N, Chen YB, Gonen M *et al.* Adverse outcomes in clear cell renal cell carcinoma with mutations of 3p21 epigenetic regulators BAP1 and SETD2: a report by MSKCC and the KIRC TCGA research network. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 3259-3267.
- 79 Park ST, Kim J. Trends in Next-Generation Sequencing and a New Era for Whole Genome Sequencing. *Int Neurorol J* 2016; 20: S76-83.
- 80 Elias R, Sharma A, Singla N, Brugarolas J. Next Generation Sequencing in Renal Cell Carcinoma: Towards Precision Medicine. *Kidney Cancer J* 2019; 17: 94-104.
- 81 Gossage L, Eisen T, Maher ER. VHL, the story of a tumour suppressor gene. *Nat Rev Cancer* 2015; 15: 55-64.
- 82 Goldman M, Craft B, Swatloski T, Cline M, Morozova O, Diekhans M *et al.* The UCSC Cancer Genomics Browser: update 2015. *Nucleic Acids Res* 2015; 43: D812-817.
- 83 Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya SAH, Creighton CJ, Ponce-Rodriguez I, Chakravarthi B *et al.* UALCAN: A Portal for Facilitating Tumor Subgroup Gene Expression and Survival Analyses. *Neoplasia* 2017; 19: 649-658.
- 84 Goldman MJ, Craft B, Hastie M, Repecka K, McDade F, Kamath A *et al.* Visualizing and interpreting cancer genomics data via the Xena platform. *Nat Biotechnol* 2020; 38: 675-678.
- 85 Chernyakov D, Gross A, Fischer A, Bornkessel N, Schultheiss C, Gerloff D *et al.* Loss of RANBP3L leads to transformation of renal epithelial cells towards a renal clear cell carcinoma like phenotype. *J Exp Clin Cancer Res* 2021; 40: 226.

- 86 Maniatis T. *Molecular cloning : a laboratory manual*, vol. 1. Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.
- 87 Faust D, Geelhaar A, Eisermann B, Eichhorst J, Wiesner B, Rosenthal W *et al.* Culturing primary rat inner medullary collecting duct cells. *J Vis Exp* 2013.
- 88 Duong Van Huyen J, Bens M, Vandewalle A. Differential effects of aldosterone and vasopressin on chloride fluxes in transimmortalized mouse cortical collecting duct cells. *J Membr Biol* 1998; 164: 79-90.
- 89 DuBridge RB, Tang P, Hsia HC, Leong PM, Miller JH, Calos MP. Analysis of mutation in human cells by using an Epstein-Barr virus shuttle system. *Mol Cell Biol* 1987; 7: 379-387.
- 90 Sanjana NE, Shalem O, Zhang F. Improved vectors and genome-wide libraries for CRISPR screening. *Nat Methods* 2014; 11: 783-784.
- 91 Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics* 2012; 13: 134.
- 92 Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402-408.
- 93 Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-254.
- 94 Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680-685.
- 95 Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979; 76: 4350-4354.
- 96 Kuper C, Beck FX, Neuhofer W. Generation of a conditional knockout allele for the NFAT5 gene in mice. *Front Physiol* 2014; 5: 507.
- 97 Labun K, Montague TG, Krause M, Torres Cleuren YN, Tjeldnes H, Valen E. CHOPCHOP v3: expanding the CRISPR web toolbox beyond genome editing. *Nucleic Acids Res* 2019; 47: W171-W174.

- 98 Stringer BW, Day BW, D'Souza RCJ, Jamieson PR, Ensbey KS, Bruce ZC *et al.* A reference collection of patient-derived cell line and xenograft models of proneural, classical and mesenchymal glioblastoma. *Sci Rep* 2019; 9: 4902.
- 99 Merten OW, Hebben M, Bovolenta C. Production of lentiviral vectors. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2016; 3: 16017.
- 100 Brinkman EK, Chen T, Amendola M, van Steensel B. Easy quantitative assessment of genome editing by sequence trace decomposition. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: e168.
- 101 Chaffin DO, Rubens CE. Blue/white screening of recombinant plasmids in Gram-positive bacteria by interruption of alkaline phosphatase gene (*phoZ*) expression. *Gene* 1998; 219: 91-99.
- 102 Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T *et al.* Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods* 2012; 9: 676-682.
- 103 Ovcharenko I, Nobrega MA, Loots GG, Stubbs L. ECR Browser: a tool for visualizing and accessing data from comparisons of multiple vertebrate genomes. *Nucleic Acids Res* 2004; 32: W280-286.
- 104 Fornes O, Castro-Mondragon JA, Khan A, van der Lee R, Zhang X, Richmond PA *et al.* JASPAR 2020: update of the open-access database of transcription factor binding profiles. *Nucleic Acids Res* 2020; 48: D87-D92.
- 105 Gasteiger E, Gattiker A, Hoogland C, Ivanyi I, Appel RD, Bairoch A. ExPASy: The proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis. *Nucleic Acids Res* 2003; 31: 3784-3788.
- 106 Uhlen M, Zhang C, Lee S, Sjostedt E, Fagerberg L, Bidkhori G *et al.* A pathology atlas of the human cancer transcriptome. *Science* 2017; 357.
- 107 Huang da W, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc* 2009; 4: 44-57.
- 108 Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, Mukherjee S, Ebert BL, Gillette MA *et al.* Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 15545-15550.
- 109 Mathelier A, Zhao X, Zhang AW, Parcy F, Worsley-Hunt R, Arenillas DJ *et al.* JASPAR 2014: an extensively expanded and updated open-access database of transcription factor binding profiles. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: D142-147.

- 110 Wetzel RK, Pascoa JL, Arystarkhova E. Stress-induced expression of the gamma subunit (FXVD2) modulates Na,K-ATPase activity and cell growth. *J Biol Chem* 2004; 279: 41750-41757.
- 111 Yu MJ, Miller RL, Uawithya P, Rinschen MM, Khositseth S, Braucht DW *et al.* Systems-level analysis of cell-specific AQP2 gene expression in renal collecting duct. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 2441-2446.
- 112 Gross A, Chernyakov D, Gallwitz L, Bornkessel N, Edemir B. Deletion of Von Hippel-Lindau Interferes with Hyper Osmolality Induced Gene Expression and Induces an Unfavorable Gene Expression Pattern. *Cancers (Basel)* 2020; 12.
- 113 Cho SW, Kim S, Kim JM, Kim JS. Targeted genome engineering in human cells with the Cas9 RNA-guided endonuclease. *Nat Biotechnol* 2013; 31: 230-232.
- 114 Cong L, Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N *et al.* Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 2013; 339: 819-823.
- 115 Mali P, Yang L, Esvelt KM, Aach J, Guell M, DiCarlo JE *et al.* RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science* 2013; 339: 823-826.
- 116 Bauer DE, Canver MC, Orkin SH. Generation of genomic deletions in mammalian cell lines via CRISPR/Cas9. *J Vis Exp* 2015: e52118.
- 117 Hart T, Tong AHY, Chan K, Van Leeuwen J, Seetharaman A, Aregger M *et al.* Evaluation and Design of Genome-Wide CRISPR/SpCas9 Knockout Screens. *G3 (Bethesda)* 2017; 7: 2719-2727.
- 118 Lengsfeld AM, Low I, Wieland T, Dancker P, Hasselbach W. Interaction of phalloidin with actin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1974; 71: 2803-2807.
- 119 Borowicz S, Van Scoyk M, Avasarala S, Karuppusamy Rathinam MK, Tauler J, Bikkavilli RK *et al.* The soft agar colony formation assay. *J Vis Exp* 2014: e51998.
- 120 de Larco JE, Todaro GJ. Growth factors from murine sarcoma virus-transformed cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978; 75: 4001-4005.
- 121 Kato Y, Sakai N, Baba M, Kaneko S, Kondo K, Kubota Y *et al.* Stimulation of motility of human renal cell carcinoma by SPARC/Osteonectin/BM-40 associated with type IV collagen. *Invasion Metastasis* 1998; 18: 105-114.

- 122 Bao JM, Dang Q, Lin CJ, Lo UG, Feldkoren B, Dang A *et al.* SPARC is a key mediator of TGF-beta-induced renal cancer metastasis. *J Cell Physiol* 2021; 236: 1926-1938.
- 123 Bens M, Vallet V, Cluzeaud F, Pascual-Letallec L, Kahn A, Rafestin-Oblin ME *et al.* Corticosteroid-dependent sodium transport in a novel immortalized mouse collecting duct principal cell line. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 923-934.
- 124 Rinschen MM, Yu MJ, Wang G, Boja ES, Hoffert JD, Pisitkun T *et al.* Quantitative phosphoproteomic analysis reveals vasopressin V2-receptor-dependent signaling pathways in renal collecting duct cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 3882-3887.
- 125 Capellini FM, Vencia W, Amadori M, Mignone G, Parisi E, Masiello L *et al.* Characterization of MDCK cells and evaluation of their ability to respond to infectious and non-infectious stressors. *Cytotechnology* 2020; 72: 97-109.
- 126 Maeoka Y, Wu Y, Okamoto T, Kanemoto S, Guo XP, Saito A *et al.* NFAT5 up-regulates expression of the kidney-specific ubiquitin ligase gene Rnf183 under hypertonic conditions in inner-medullary collecting duct cells. *J Biol Chem* 2019; 294: 101-115.
- 127 Zhang XH, Tee LY, Wang XG, Huang QS, Yang SH. Off-target Effects in CRISPR/Cas9-mediated Genome Engineering. *Mol Ther Nucleic Acids* 2015; 4: e264.
- 128 Lakshmipathi J, Wheatley W, Kumar A, Mercenne G, Rodan AR, Kohan DE. Identification of NFAT5 as a transcriptional regulator of the EDN1 gene in collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 2019; 316: F481-F487.
- 129 Boettcher M, McManus MT. Choosing the Right Tool for the Job: RNAi, TALEN, or CRISPR. *Mol Cell* 2015; 58: 575-585.
- 130 Arroyo JA, Teng C, Battaglia FC, Galan HL. Determination of the NFAT5/TonEBP transcription factor in the human and ovine placenta. *Syst Biol Reprod Med* 2009; 55: 164-170.
- 131 Maouyo D, Kim JY, Lee SD, Wu Y, Woo SK, Kwon HM. Mouse TonEBP-NFAT5: expression in early development and alternative splicing. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 282: F802-809.
- 132 Arroyo JA, Garcia-Jones P, Graham A, Teng CC, Battaglia FC, Galan HL. Placental TonEBP/NFAT5 osmolyte regulation in an ovine model of intrauterine growth restriction. *Biol Reprod* 2012; 86: 94.

- 133 Mak MC, Lam KM, Chan PK, Lau YB, Tang WH, Yeung PK *et al.* Embryonic lethality in mice lacking the nuclear factor of activated T cells 5 protein due to impaired cardiac development and function. *PLoS One* 2011; 6: e19186.
- 134 Mak KM, Lo AC, Lam AK, Yeung PK, Ko BC, Chung SS *et al.* Nuclear factor of activated T cells 5 deficiency increases the severity of neuronal cell death in ischemic injury. *Neurosignals* 2012; 20: 237-251.
- 135 Agaba EI, Rohrscheib M, Tzamaloukas AH. The renal concentrating mechanism and the clinical consequences of its loss. *Niger Med J* 2012; 53: 109-115.
- 136 Chen S, Grigsby CL, Law CS, Ni X, Nekrep N, Olsen K *et al.* Tonicity-dependent induction of Sgk1 expression has a potential role in dehydration-induced natriuresis in rodents. *J Clin Invest* 2009; 119: 1647-1658.
- 137 Rim JS, Atta MG, Dahl SC, Berry GT, Handler JS, Kwon HM. Transcription of the sodium/myo-inositol cotransporter gene is regulated by multiple tonicity-responsive enhancers spread over 50 kilobase pairs in the 5'-flanking region. *J Biol Chem* 1998; 273: 20615-20621.
- 138 Ko BC, Ruepp B, Bohren KM, Gabbay KH, Chung SS. Identification and characterization of multiple osmotic response sequences in the human aldose reductase gene. *J Biol Chem* 1997; 272: 16431-16437.
- 139 Grassmeyer J, Mukherjee M, deRiso J, Hettinger C, Bailey M, Sinha S *et al.* Elf5 is a principal cell lineage specific transcription factor in the kidney that contributes to Aqp2 and Avpr2 gene expression. *Dev Biol* 2017; 424: 77-89.
- 140 Nakato R, Sakata T. Methods for ChIP-seq analysis: A practical workflow and advanced applications. *Methods* 2021; 187: 44-53.
- 141 Amara S, Alotaibi D, Tiriveedhi V. NFAT5/STAT3 interaction mediates synergism of high salt with IL-17 towards induction of VEGF-A expression in breast cancer cells. *Oncol Lett* 2016; 12: 933-943.
- 142 Guo K, Jin F. NFAT5 promotes proliferation and migration of lung adenocarcinoma cells in part through regulating AQP5 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 465: 644-649.
- 143 Kim DH, Kim KS, Ramakrishna S. NFAT5 promotes in vivo development of murine melanoma metastasis. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 505: 748-754.

- 144 Xin Y, Cai H, Lu T, Zhang Y, Yang Y, Cui Y. miR-20b Inhibits T Cell Proliferation and Activation via NFAT Signaling Pathway in Thymoma-Associated Myasthenia Gravis. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 9595718.
- 145 Qin X, Li C, Guo T, Chen J, Wang HT, Wang YT *et al.* Upregulation of DARS2 by HBV promotes hepatocarcinogenesis through the miR-30e-5p/MAPK/NFAT5 pathway. *J Exp Clin Cancer Res* 2017; 36: 148.
- 146 Tellechea M, Buxade M, Tejedor S, Aramburu J, Lopez-Rodriguez C. NFAT5-Regulated Macrophage Polarization Supports the Proinflammatory Function of Macrophages and T Lymphocytes. *J Immunol* 2018; 200: 305-315.
- 147 Boguslawska J, Poplawski P, Alseekh S, Koblowska M, Iwanicka-Nowicka R, Rybicka B *et al.* MicroRNA-Mediated Metabolic Reprogramming in Renal Cancer. *Cancers (Basel)* 2019; 11.
- 148 Schonenberger D, Rajski M, Harlander S, Frew IJ. Vhl deletion in renal epithelia causes HIF-1alpha-dependent, HIF-2alpha-independent angiogenesis and constitutive diuresis. *Oncotarget* 2016; 7: 60971-60985.
- 149 Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. *Cell* 2019; 176: 1248-1264.
- 150 Fu RJ, He W, Wang XB, Li L, Zhao HB, Liu XY *et al.* DNMT1-maintained hypermethylation of Kruppel-like factor 5 involves in the progression of clear cell renal cell carcinoma. *Cell Death Dis* 2017; 8: e2952.
- 151 He J, Yang B. Aquaporins in Renal Diseases. *Int J Mol Sci* 2019; 20.
- 152 Schwab A, Schuricht B, Seeger P, Reinhardt J, Dartsch PC. Migration of transformed renal epithelial cells is regulated by K⁺ channel modulation of actin cytoskeleton and cell volume. *Pflugers Arch* 1999; 438: 330-337.
- 153 Hartsock A, Nelson WJ. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 660-669.
- 154 Knights AJ, Funnell AP, Crossley M, Pearson RC. Holding Tight: Cell Junctions and Cancer Spread. *Trends Cancer Res* 2012; 8: 61-69.
- 155 Ozawa M, Hiver S, Yamamoto T, Shibata T, Upadhyayula S, Mimori-Kiyosue Y *et al.* Adherens junction regulates cryptic lamellipodia formation for epithelial cell migration. *J Cell Biol* 2020; 219.

- 156 Ballestrem C, Wehrle-Haller B, Hinz B, Imhof BA. Actin-dependent lamellipodia formation and microtubule-dependent tail retraction control-directed cell migration. *Mol Biol Cell* 2000; 11: 2999-3012.
- 157 Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009; 119: 1429-1437.
- 158 Zhang X, Wang L, Zhang H, Tu F, Qiang Y, Nie C. Decreased expression of ZO-1 is associated with tumor metastases in liver cancer. *Oncol Lett* 2019; 17: 1859-1864.
- 159 Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428.
- 160 Hatzikirou H, Basanta D, Simon M, Schaller K, Deutsch A. 'Go or grow': the key to the emergence of invasion in tumour progression? *Math Med Biol* 2012; 29: 49-65.
- 161 Shiwarski DJ, Shao C, Bill A, Kim J, Xiao D, Bertrand CA *et al.* To "grow" or "go": TMEM16A expression as a switch between tumor growth and metastasis in SCCHN. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 4673-4688.
- 162 Brodaczewska KK, Szczylik C, Fiedorowicz M, Porta C, Czarnecka AM. Choosing the right cell line for renal cell cancer research. *Mol Cancer* 2016; 15: 83.
- 163 Feng C, Sun Y, Ding G, Wu Z, Jiang H, Wang L *et al.* PI3Kbeta inhibitor TGX221 selectively inhibits renal cell carcinoma cells with both VHL and SETD2 mutations and links multiple pathways. *Sci Rep* 2015; 5: 9465.
- 164 Masannat J, Purayil HT, Zhang Y, Russin M, Mahmud I, Kim W *et al.* betaArrestin2 Mediates Renal Cell Carcinoma Tumor Growth. *Sci Rep* 2018; 8: 4879.
- 165 Guo H, German P, Bai S, Barnes S, Guo W, Qi X *et al.* The PI3K/AKT Pathway and Renal Cell Carcinoma. *J Genet Genomics* 2015; 42: 343-353.
- 166 Tretbar S, Krausbeck P, Muller A, Friedrich M, Vaxevanis C, Bukur J *et al.* TGF-beta inducible epithelial-to-mesenchymal transition in renal cell carcinoma. *Oncotarget* 2019; 10: 1507-1524.
- 167 Miyazono K, Maeda S, Imamura T. BMP receptor signaling: transcriptional targets, regulation of signals, and signaling cross-talk. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 251-263.
- 168 Brooks SA, Brannon AR, Parker JS, Fisher JC, Sen O, Kattan MW *et al.* ClearCode34: A prognostic risk predictor for localized clear cell renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2014; 66: 77-84.

- 169 Dai J, Lu Y, Wang J, Yang L, Han Y, Wang Y *et al.* A four-gene signature predicts survival in clear-cell renal-cell carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7: 82712-82726.
- 170 Li F, Hu W, Zhang W, Li G, Guo Y. A 17-Gene Signature Predicted Prognosis in Renal Cell Carcinoma. *Dis Markers* 2020; 2020: 8352809.
- 171 Rini B, Goddard A, Knezevic D, Maddala T, Zhou M, Aydin H *et al.* A 16-gene assay to predict recurrence after surgery in localised renal cell carcinoma: development and validation studies. *Lancet Oncol* 2015; 16: 676-685.
- 172 Sanjmyatav J, Steiner T, Wunderlich H, Diegmann J, Gajda M, Junker K. A specific gene expression signature characterizes metastatic potential in clear cell renal cell carcinoma. *J Urol* 2011; 186: 289-294.
- 173 Nogueira E, Klimek F, Weber E, Bannasch P. Collecting duct origin of rat renal clear cell tumors. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1989; 57: 275-283.
- 174 Shen SS, Krishna B, Chirala R, Amato RJ, Truong LD. Kidney-specific cadherin, a specific marker for the distal portion of the nephron and related renal neoplasms. *Mod Pathol* 2005; 18: 933-940.
- 175 Ozcan A, Zhai Q, Javed R, Shen SS, Coffey D, Krishnan B *et al.* PAX-2 is a helpful marker for diagnosing metastatic renal cell carcinoma: comparison with the renal cell carcinoma marker antigen and kidney-specific cadherin. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 1121-1129.
- 176 Ciszewski S, Jakimow A, Smolska-Ciszewska B. Collecting (Bellini) duct carcinoma: A clinical study of a rare tumour and review of the literature. *Can Urol Assoc J* 2015; 9: E589-593.
- 177 Malouf GG, Comperat E, Yao H, Mouawad R, Lindner V, Rioux-Leclercq N *et al.* Unique Transcriptomic Profile of Collecting Duct Carcinomas Relative to Upper Tract Urothelial Carcinomas and other Kidney Carcinomas. *Sci Rep* 2016; 6: 30988.
- 178 Wang J, Papanicolau-Sengos A, Chintala S, Wei L, Liu B, Hu Q *et al.* Collecting duct carcinoma of the kidney is associated with CDKN2A deletion and SLC family gene up-regulation. *Oncotarget* 2016; 7: 29901-29915.
- 179 Shao X, Somlo S, Igarashi P. Epithelial-specific Cre/lox recombination in the developing kidney and genitourinary tract. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1837-1846.

- 180 Ge Y, Ahn D, Stricklett PK, Hughes AK, Yanagisawa M, Verbalis JG *et al.* Collecting duct-specific knockout of endothelin-1 alters vasopressin regulation of urine osmolality. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288: F912-920.
- 181 Fuchs H, Aguilar-Pimentel JA, Amarie OV, Becker L, Calzada-Wack J, Cho YL *et al.* Understanding gene functions and disease mechanisms: Phenotyping pipelines in the German Mouse Clinic. *Behav Brain Res* 2018; 352: 187-196.
- 182 Briggs J, Chamboredon S, Castellazzi M, Kerry JA, Bos TJ. Transcriptional upregulation of SPARC, in response to c-Jun overexpression, contributes to increased motility and invasion of MCF7 breast cancer cells. *Oncogene* 2002; 21: 7077-7091.
- 183 DiMartino JF, Lacayo NJ, Varadi M, Li L, Saraiya C, Ravindranath Y *et al.* Low or absent SPARC expression in acute myeloid leukemia with MLL rearrangements is associated with sensitivity to growth inhibition by exogenous SPARC protein. *Leukemia* 2006; 20: 426-432.
- 184 Sato N, Fukushima N, Maehara N, Matsubayashi H, Koopmann J, Su GH *et al.* SPARC/osteonectin is a frequent target for aberrant methylation in pancreatic adenocarcinoma and a mediator of tumor-stromal interactions. *Oncogene* 2003; 22: 5021-5030.
- 185 Yiu GK, Chan WY, Ng SW, Chan PS, Cheung KK, Berkowitz RS *et al.* SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine) induces apoptosis in ovarian cancer cells. *Am J Pathol* 2001; 159: 609-622.
- 186 Barth PJ, Moll R, Ramaswamy A. Stromal remodeling and SPARC (secreted protein acid rich in cysteine) expression in invasive ductal carcinomas of the breast. *Virchows Arch* 2005; 446: 532-536.
- 187 Girotti MR, Fernandez M, Lopez JA, Camafeita E, Fernandez EA, Albar JP *et al.* SPARC promotes cathepsin B-mediated melanoma invasiveness through a collagen I/alpha2beta1 integrin axis. *J Invest Dermatol* 2011; 131: 2438-2447.
- 188 Schultz C, Lemke N, Ge S, Golembieski WA, Rempel SA. Secreted protein acidic and rich in cysteine promotes glioma invasion and delays tumor growth in vivo. *Cancer Res* 2002; 62: 6270-6277.
- 189 Morrissey MA, Jayadev R, Miley GR, Blebea CA, Chi Q, Ihara S *et al.* SPARC Promotes Cell Invasion In Vivo by Decreasing Type IV Collagen Levels in the Basement Membrane. *PLoS Genet* 2016; 12: e1005905.

- 190 Martinek N, Shahab J, Saathoff M, Ringuette M. Haemocyte-derived SPARC is required for collagen-IV-dependent stability of basal laminae in *Drosophila* embryos. *J Cell Sci* 2008; 121: 1671-1680.
- 191 Shahab J, Baratta C, Scuric B, Godt D, Venken KJ, Ringuette MJ. Loss of SPARC dysregulates basal lamina assembly to disrupt larval fat body homeostasis in *Drosophila melanogaster*. *Dev Dyn* 2015; 244: 540-552.
- 192 Bradshaw AD. The role of SPARC in extracellular matrix assembly. *J Cell Commun Signal* 2009; 3: 239-246.
- 193 Hoefflin R, Harlander S, Schafer S, Metzger P, Kuo F, Schonenberger D *et al.* HIF-1alpha and HIF-2alpha differently regulate tumour development and inflammation of clear cell renal cell carcinoma in mice. *Nat Commun* 2020; 11: 4111.
- 194 Minn AJ, Gupta GP, Siegel PM, Bos PD, Shu W, Giri DD *et al.* Genes that mediate breast cancer metastasis to lung. *Nature* 2005; 436: 518-524.
- 195 Dasgupta S, Jang JS, Shao C, Mukhopadhyay ND, Sokhi UK, Das SK *et al.* SH3GL2 is frequently deleted in non-small cell lung cancer and downregulates tumor growth by modulating EGFR signaling. *J Mol Med (Berl)* 2013; 91: 381-393.
- 196 Majumdar S, Gong EM, Di Vizio D, Dreyfuss J, Degraff DJ, Hager MH *et al.* Loss of Sh3gl2/endophilin A1 is a common event in urothelial carcinoma that promotes malignant behavior. *Neoplasia* 2013; 15: 749-760.
- 197 Brotto DB, Siena ADD, de B, II, Carvalho S, Muys BR, Goedert L *et al.* Contributions of HOX genes to cancer hallmarks: Enrichment pathway analysis and review. *Tumour Biol* 2020; 42: 1010428320918050.
- 198 Wu S, Guo X, Zhou J, Zhu X, Chen H, Zhang K *et al.* High expression of UNC5B enhances tumor proliferation, increases metastasis, and worsens prognosis in breast cancer. *Aging (Albany NY)* 2020; 12: 17079-17098.
- 199 Cai W, Chen G, Luo Q, Liu J, Guo X, Zhang T *et al.* PMP22 Regulates Self-Renewal and Chemoresistance of Gastric Cancer Cells. *Mol Cancer Ther* 2017; 16: 1187-1198.
- 200 Xu J, Lamouille S, Derynck R. TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition. *Cell Res* 2009; 19: 156-172.
- 201 Castro NE, Kato M, Park JT, Natarajan R. Transforming growth factor beta1 (TGF-beta1) enhances expression of profibrotic genes through a novel signaling cascade and microRNAs in renal mesangial cells. *J Biol Chem* 2014; 289: 29001-29013.

- 202 Smith AO, Jonassen JA, Preval KM, Davis RJ, Pazour GJ. c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling contributes to cystic burden in polycystic kidney disease. *PLoS Genet* 2021; 17: e1009711.
- 203 Grynberg K, Ma FY, Nikolic-Paterson DJ. The JNK Signaling Pathway in Renal Fibrosis. *Front Physiol* 2017; 8: 829.
- 204 Kaminska B, Cyranowski S. Recent Advances in Understanding Mechanisms of TGF Beta Signaling and Its Role in Glioma Pathogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2020; 1202: 179-201.
- 205 Hammouda MB, Ford AE, Liu Y, Zhang JY. The JNK Signaling Pathway in Inflammatory Skin Disorders and Cancer. *Cells* 2020; 9.
- 206 Wu Q, Wu W, Jacevic V, Franca TCC, Wang X, Kuca K. Selective inhibitors for JNK signalling: a potential targeted therapy in cancer. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2020; 35: 574-583.
- 207 Huang CY, Chung CL, Hu TH, Chen JJ, Liu PF, Chen CL. Recent progress in TGF-beta inhibitors for cancer therapy. *Biomed Pharmacother* 2021; 134: 111046.
- 208 Minasian LM, Motzer RJ, Gluck L, Mazumdar M, Vlamis V, Krown SE. Interferon alfa-2a in advanced renal cell carcinoma: treatment results and survival in 159 patients with long-term follow-up. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1368-1375.
- 209 Rosenberg SA. Interleukin 2 for patients with renal cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2007; 4: 497.
- 210 Bamias A, Escudier B, Sternberg CN, Zagouri F, Dellis A, Djavan B *et al*. Current Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review and Critical Evaluation. *Oncologist* 2017; 22: 667-679.
- 211 Hui E. Immune checkpoint inhibitors. *J Cell Biol* 2019; 218: 740-741.
- 212 Motzer RJ, Penkov K, Haanen J, Rini B, Albiges L, Campbell MT *et al*. Avelumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 380: 1103-1115.
- 213 Rini BI, Plimack ER, Stus V, Gafanov R, Hawkins R, Nosov D *et al*. Pembrolizumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 380: 1116-1127.

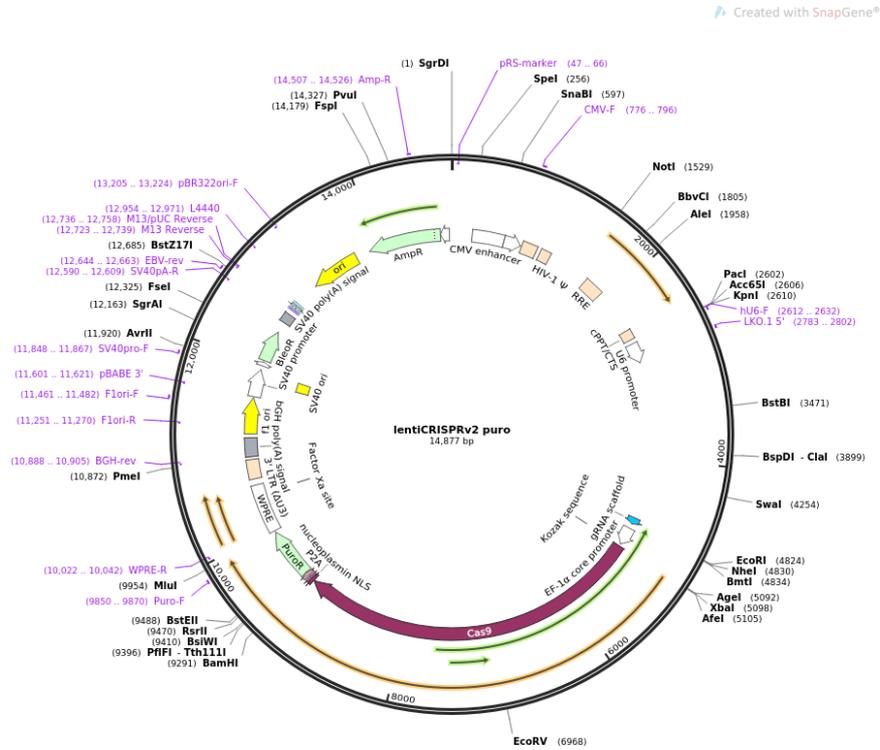
- 214 Shibata S, Ishiyama J. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) is upregulated by transforming growth factor (TGF)-beta and is required for TGF-beta-induced hydrogen peroxide production in fibroblasts. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2013; 6: 6.
- 215 Kang MH, Oh DJ, Kang JH, Rhee DJ. Regulation of SPARC by transforming growth factor beta2 in human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 2523-2532.
- 216 Cock PJ, Fields CJ, Goto N, Heuer ML, Rice PM. The Sanger FASTQ file format for sequences with quality scores, and the Solexa/Illumina FASTQ variants. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: 1767-1771.
- 217 Erlich Y, Mitra PP, delaBastide M, McCombie WR, Hannon GJ. Alta-Cyclic: a self-optimizing base caller for next-generation sequencing. *Nat Methods* 2008; 5: 679-682.
- 218 Jiang L, Schlesinger F, Davis CA, Zhang Y, Li R, Salit M *et al.* Synthetic spike-in standards for RNA-seq experiments. *Genome Res* 2011; 21: 1543-1551.
- 219 Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 1997; 25: 3389-3402.
- 220 Finn RD, Tate J, Mistry J, Coghill PC, Sammut SJ, Hotz HR *et al.* The Pfam protein families database. *Nucleic Acids Res* 2008; 36: D281-288.
- 221 Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S *et al.* STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* 2013; 29: 15-21.
- 222 McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A *et al.* The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res* 2010; 20: 1297-1303.
- 223 Trapnell C, Williams BA, Pertea G, Mortazavi A, Kwan G, van Baren MJ *et al.* Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 511-515.
- 224 Dillies MA, Rau A, Aubert J, Hennequet-Antier C, Jeanmougin M, Servant N *et al.* A comprehensive evaluation of normalization methods for Illumina high-throughput RNA sequencing data analysis. *Brief Bioinform* 2013; 14: 671-683.
- 225 Anders S, Huber W. Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biol* 2010; 11: R106.

-
- 226 Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* 2010; 26: 139-140.
- 227 Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res* 2000; 28: 27-30.
- 228 Peng Zhang¹ JYR. Renal Cell Carcinoma. *Annals of Urologic Oncology* 2018; 1: 1-18.
- 229 Wach S, Taubert H, Weigelt K, Hase N, Kohn M, Misiak D *et al.* RNA Sequencing of Collecting Duct Renal Cell Carcinoma Suggests an Interaction between miRNA and Target Genes and a Predominance of Deregulated Solute Carrier Genes. *Cancers (Basel)* 2019; 12.

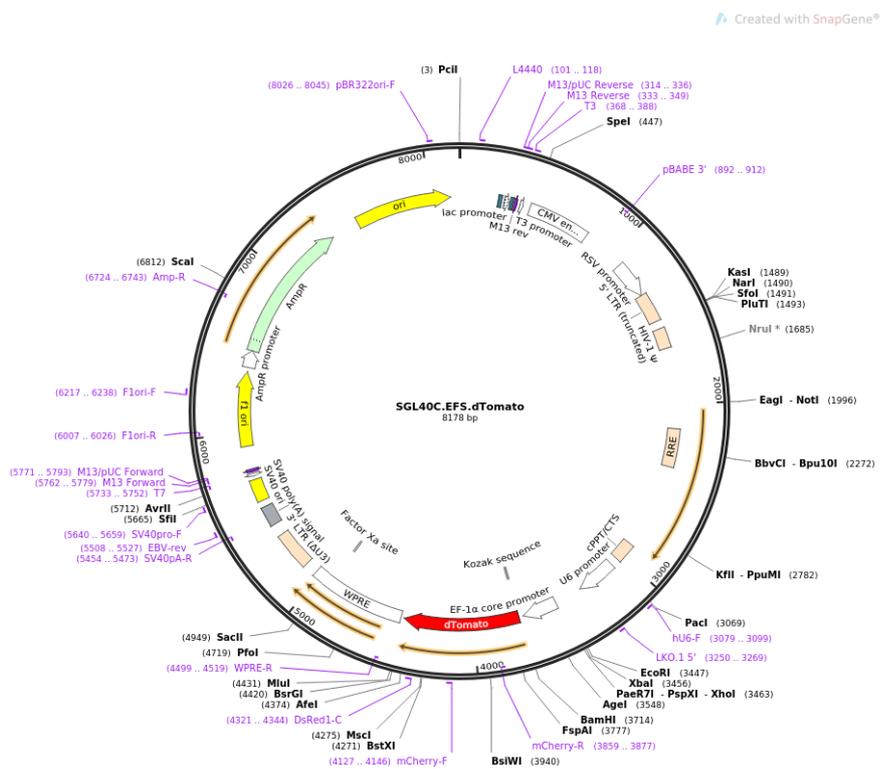
8 Anhang

8.1 Vektorkarten

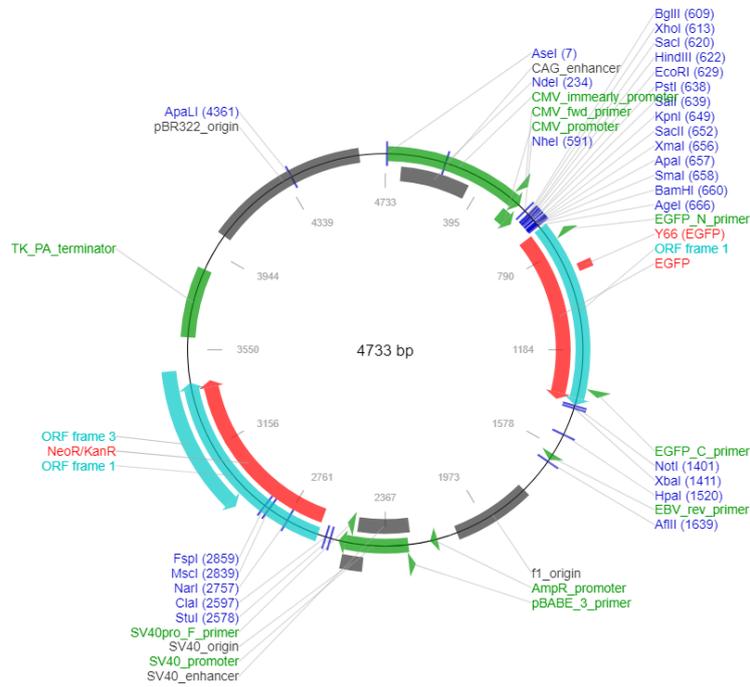
lentiCRISPRv2 puro (Plasmid #98290)



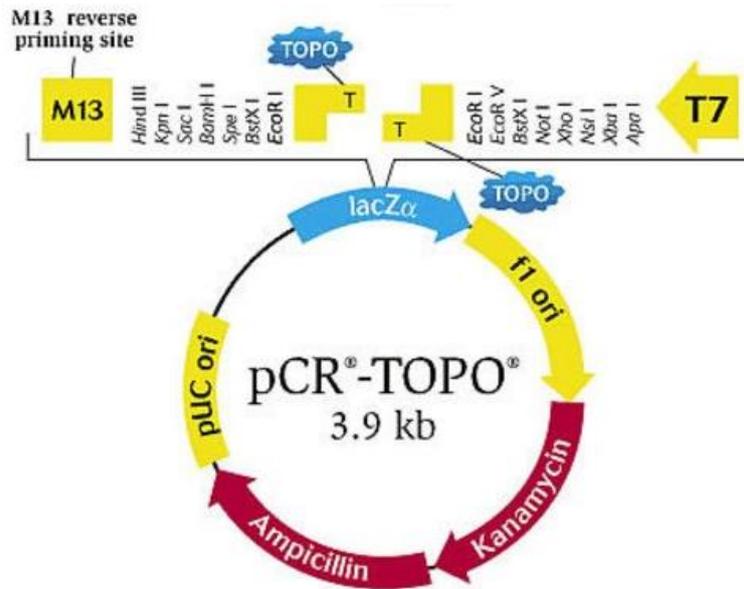
SGL40C.EFS.dTomato (Plasmid #89395)



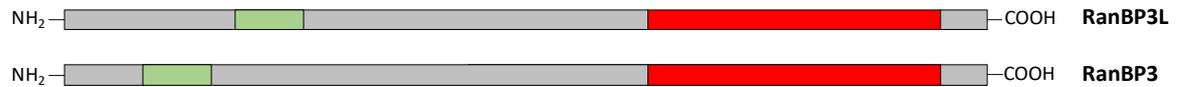
pET28:GFP (Plasmid # 6085-1)



pCR 2.1-TOPO TA Vektor (451641)



8.2 RANBP3 und RANBP3L Aminosäure-Sequenz und Domänen



Murines RANBP3L-UniProtKB - Q6PDH4

MSTTQRKDDSHLFTSSCTRQLQVQEDRQQQEKYVIAQPIFVFEKGEHNFKRPAEDSLEETAPEPFT
GFLRKRVRSSSVTLHTTDPQSQGVATLSQTRLRSSSFTDVPFPPCRFPVRKNNVFMTRSLLQRSDD
 MNNVEQGPPMRSSSEQVLRPAVLQPSQTQSCQKAGTTFGPGALKSYKKEKAEHEI SEVGSSSSLLSE
 NLPNARSSIQLSTDPCISEAPSGCQPKEDKCSFTSCSSDFVFGENMVERVLGTQKLTQPPLQNLSY
 AKEKTFKSVLKFPNAVSNSDSIENI **SLVESAAAFSSKPSQKCLLEKIDVITGEEETEHNVLKINCKI**
FVFNKATESWSE**RGQGI****LRLND**TAGRE**CGTLQSRLIMRNQGSRLVLNSRLWAQMKIQRASQKNLR**
ITATDLEDDGIKIFLIQASAKDTGFLYAAIHHRLVALRSLAKQGDGGPAESQSDTALPQLNGESCD
 EDEDEIAQVTKNGSDPSRWSHRQSIVCS

Murines RANBP3-UniProtKB - Q9CT10

MADLANEEKPAVAPSVFVFQKDKGQKRSAGSSSPEAGEDSDHEDGNY**CPPVKRERT**SSLTHSEEKS
 SGFRLKPPTLIHGQAPSAGLPSQKPREQQRGVLRPAVLQAPQPKVLSQTVPSSGTNGVSMPADCTG
 PATSVSPENLTQRSPSESAEETHLTLEEKVPQKTPHGTSEEGHCEEEQAAPQAFVFGQNLDRVKLM
 NENASVADVDSAAHPSSETPSATNYFLQYISSADNATHSADNSTKFVFGQNMSEVLSPPKLNEA
 NSDTSRETTHAQSGSESSQEAAPKKE**SLAESAAAYTKATAWTCLLEKVEVITGEEAESNVLQIQ**
KL**FVFDKTSQSW****VERGRGLLRLND**MASTDD**GTLQSRLVMRTQGSRLILN**TKLWAQM**QMDKASEKS**
IRITATDAEDQGVKFLISASSKDTGQLYAALHHRILALRSRAEQEQEAKAPPPEPGATRATEEED
 SDEDAVLAPSGVTGAGTGDEGDGQAPGST

Rot = konservierte Aminosäuren in der Ran Bindedomäne (RBD)

Grün = NLS (*nuclear localisation signal*, Kernlokalisierungssignal)

8.3 Novogene NGS Vorgehen

Die NGS Sequenzierung und nachfolgende Datenanalyse wurde von Novogene durchgeführt. Dies geschah wie von Novogene vorgesehen und beschrieben [216-227].

RNA-Quantifizierung und -Qualifizierung

Der RNA-Abbau und die Kontamination wurden auf 1%igen Agarosegelen überwacht. Die RNA-Reinheit wurde mit dem NanoPhotometer®-Spektralphotometer (IMPLEN, CA, USA) überprüft. Die RNA-Integrität und -Quantifizierung wurde mit dem RNA Nano 6000 Assay Kit des Bioanalyser 2100 Systems (Agilent Technologies, CA, USA) bewertet.

Bibliotheksvorbereitung für die Transkriptomsequenzierung

Eine Gesamtmenge von 1 µg RNA pro Probe wurde als Ausgangsmaterial für die RNA-Probenvorbereitung verwendet. Die Sequenzierungsbibliotheken wurden mit dem NEBNext® Ultra™ RNA Library Prep Kit für Illumina® (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) gemäß den Empfehlungen des Herstellers erstellt, wobei Indexcodes hinzugefügt wurden, um jeder Probe die jeweiligen Sequenzen zuzuordnen. Die mRNA wurde aus der Gesamt-RNA mit an Poly-T-Oligos gebundenen durch magnetischen Beads aufgereinigt. Die Fragmentierung erfolgte unter Verwendung zweiwertiger Kationen bei erhöhter Temperatur in NEBNext First Strand Synthesis Reaction Buffer (5X). Die cDNA-Erststrang-Synthese erfolgte unter Verwendung von Random-Hexamer-Primern und M-MuLV Reverse Transcriptase (RNase H-). Die Synthese des zweiten cDNA-Strangs erfolgte anschließend mit DNA-Polymerase I und RNase H. Die verbleibenden Überhänge wurden durch Exonuklease/Polymerase-Aktivitäten in stumpfe Enden umgewandelt. Nach der Adenylierung der 3'-Enden der DNA-Fragmente wurden NEBNext Adaptor mit Haarnadelschleifenstruktur ligiert, um die Hybridisierung vorzubereiten. Zur Auswahl von cDNA-Fragmenten mit einer Länge von vorzugsweise 150 bis 200 bp wurden die Bibliotheksfragmente mit dem AMPure XP-System (Beckman Coulter, Beverly, USA) gereinigt. Dann wurden 3 µl USER-Enzym (New England Biolabs, USA) mit gröbenselektierter, adaptorgeligerter cDNA bei 37°C für 15 Minuten verwendet, gefolgt von 5 Minuten bei 95°C vor der PCR. Dann wurde die PCR mit Phusion High-Fidelity DNA Polymerase, Universal PCR Primern und Index (X) Primer durchgeführt. Schließlich wurden die PCR-Produkte gereinigt (AMPure XP System) und die Qualität der Bibliothek mit dem Agilent Bioanalyser 2100 System bewertet.

Clustering und Sequenzierung

Das Clustering der indexkodierten Proben wurde mit einem cBot Cluster Generation System unter Verwendung des PE Cluster Kits cBot-HS (Illumina, San Diego, CA, USA) gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Nach der Clustergenerierung wurden die Bibliothekspräparate auf einer Illumina-Plattform sequenziert und Paired-End-Reads generiert.

Datenanalyse und Qualitätskontrolle

Die Rohdaten (Raw Reads) im FASTQ-Format wurden zunächst mit firmeneigenen Skripten verarbeitet. In diesem Schritt wurden saubere Daten (Clean Reads) erhalten, indem Reads, die Adapter- und Poly-N-Sequenzen enthalten, sowie Reads mit geringer Qualität aus den Rohdaten entfernt wurden. Gleichzeitig wurden Q20, Q30 und der GC-Gehalt der sauberen Daten berechnet. Alle nachgeschalteten Analysen basierten auf den sauberen Daten mit hoher Qualität.

Mapping auf das Referenzgenom

Referenzgenom- und Genmodell-Annotationsdateien wurden direkt vom Genom-Website-Browser (NCBI/UCSC/Ensembl) heruntergeladen. Paired-End Clean Reads wurden mit der Software HISAT2 auf das Referenzgenom gemappt. HISAT2 verwendet einen großen Satz von kleinen GFM-Indizes, die zusammen das gesamte Genom abdecken. Diese kleinen Indizes (so genannte lokale Indizes) ermöglichen in Kombination mit verschiedenen Alignment-Strategien ein schnelles und genaues Alignment von Sequenzierungs-Reads.

Quantifizierung

HTSeq wurde verwendet, um die Anzahl der Lesungen zu zählen, die von jedem Gen, einschließlich bekannter und neuer Gene, zugeordnet wurden. Anschließend wurde die RPKM jedes Gens auf der Grundlage der Länge des Gens und der Anzahl der auf dieses Gen gemappten Reads berechnet. RPKM (*Reads Per Kilobase of exon model per million mapped reads*) berücksichtigt die Auswirkungen der Sequenziertiefe und der Genlänge auf die Anzahl der Reads gleichzeitig und ist derzeit die am häufigsten verwendete Methode zur Schätzung der Genexpressionswerte.

Differenzielle Expressionsanalyse

Die Analyse der differentiellen Expression zwischen zwei Bedingungen/Gruppen (drei biologische Replikate pro Bedingung) wurde mit dem R-Paket DESeq2 durchgeführt. DESeq2 bietet statistische Routinen zur Bestimmung der differentiellen Expression in digitalen Genexpressionsdaten unter Verwendung eines auf der negativen Binomialverteilung basierenden Modells. Die resultierenden P-Werte wurden mit dem Ansatz von Benjamini und Hochberg zur Kontrolle der Falschentdeckungsrate (FDR) angepasst. Gene mit einem bereinigten p-Wert $< 0,05$, die durch DESeq2 gefunden wurden, wurden als differenziell exprimiert eingestuft.

Anreicherungsanalyse

Eine gängige Methode für die Suche nach gemeinsamen Funktionen von Genen ist die Einbeziehung des biologischen Wissens, das durch biologische Ontologien bereitgestellt wird. Die *Gene Ontology* (GO) annotiert Gene zu biologischen Prozessen, molekularen Funktionen und zellulären Komponenten in einer gerichteten azyklischen Graphenstruktur, und die *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) annotiert Gene zu Pfaden. KEGG ist eine Datenbankressource für das Verständnis von Funktionen und Funktionen auf hoher Ebene des biologischen Systems, wie z. B. der Zelle, des Organismus und des Ökosystems, aus Informationen auf molekularer Ebene, insbesondere aus großen molekularen Datensätzen, die durch Genomsequenzierung und andere experimentelle Technologien mit hohem Durchsatz erzeugt werden (<http://www.genome.jp/kegg/>). Wir verwendeten die KOBAS-Software, um die statistische Anreicherung von Genen mit unterschiedlicher Expression in KEGG-Pfaden zu testen.

8.4 Differenziell exprimierte Gene unter Hyperosmolalität in Maus IMCDs und mpkCCDs.

Tabelle 25: Log₂ fold changes signifikant differenziell exprimierte Gene unter Hyperosmolalität in Maus IMCD Zellen

Aufgelistet sind alle signifikant-regulierten-Gene unter Hyperosmolalität in Maus-IMCD-Zellen. Die hier gelisteten Gene sind in Abbildung 18 als Volcano Plot dargestellt.

| signifikant herunterregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | |
|---|------------------------------|-----------------------|------------------------------|---|------------------------------|-----------------|------------------------------|
| Genname | Log ₂ fold change | Genname | Log ₂ fold change | Genname | Log ₂ fold change | Genname | Log ₂ fold change |
| <i>Chil3</i> | -6,2774 | <i>Wnt10b</i> | -1,6530 | <i>Chpt1</i> | 0,8263 | <i>Defb1</i> | 1,5280 |
| <i>Fcrls</i> | -5,3339 | <i>Ass1</i> | -1,6455 | <i>Fam20c</i> | 0,8513 | <i>Mlxipl</i> | 1,5289 |
| <i>Dnah14</i> | -4,6630 | <i>Glpr1</i> | -1,6433 | <i>Megf9</i> | 0,8582 | <i>Esrrb</i> | 1,5309 |
| <i>Ccr5</i> | -4,2479 | <i>Scarf2</i> | -1,6396 | <i>Hsd17b11</i> | 0,8587 | <i>Nr3c2</i> | 1,5352 |
| <i>Mrc1</i> | -4,1085 | <i>Cntfr</i> | -1,6391 | <i>Loxl4</i> | 0,8689 | <i>Car2</i> | 1,5353 |
| <i>Wfdc17</i> | -3,9773 | <i>D630003M21Rik</i> | -1,6330 | <i>Bcl6</i> | 0,8748 | <i>Elf5</i> | 1,5387 |
| <i>Pf4</i> | -3,8972 | <i>Cd40</i> | -1,6240 | <i>Fam84a</i> | 0,8772 | <i>Gstt1</i> | 1,5489 |
| <i>Parvg</i> | -3,8908 | <i>Stra6</i> | -1,6218 | <i>Srgap3</i> | 0,8789 | <i>Slc4a5</i> | 1,5514 |
| <i>Bcl2a1d</i> | -3,7442 | <i>Phyhd1</i> | -1,6195 | <i>L1cam</i> | 0,8817 | <i>Fcgbp</i> | 1,5573 |
| <i>Foxl2os</i> | -3,7347 | <i>Pdgfc</i> | -1,6176 | <i>Cldn8</i> | 0,8842 | <i>Gjb1</i> | 1,5794 |
| <i>Dpysl4</i> | -3,6491 | <i>Tlr13</i> | -1,6155 | <i>Ctdspl</i> | 0,8860 | <i>Vgll1</i> | 1,5911 |
| <i>Ccl6</i> | -3,5899 | <i>Sema3d</i> | -1,6071 | <i>Tgfbr3</i> | 0,9025 | <i>Gstm1</i> | 1,5921 |
| <i>Themis2</i> | -3,5850 | <i>Inha</i> | -1,5994 | <i>Cd14</i> | 0,9170 | <i>Prkar2b</i> | 1,5939 |
| <i>A1593442</i> | -3,5484 | <i>Pik3ap1</i> | -1,5964 | <i>Blnk</i> | 0,9193 | <i>Cldn19</i> | 1,5947 |
| <i>Igfbp2</i> | -3,5440 | <i>Pirb</i> | -1,5919 | <i>Reps2</i> | 0,9214 | <i>Rhof</i> | 1,5957 |
| <i>Slco2b1</i> | -3,5178 | <i>Dmrta2</i> | -1,5850 | <i>Nipal1</i> | 0,9273 | <i>Aldh1a1</i> | 1,5977 |
| <i>Cd4</i> | -3,5025 | <i>Wfdc8</i> | -1,5759 | <i>Cdo1</i> | 0,9286 | <i>Plet1os</i> | 1,5985 |
| <i>Itgax</i> | -3,4594 | <i>Obsl1</i> | -1,5655 | <i>Nadk2</i> | 0,9301 | <i>Clnka</i> | 1,6041 |
| <i>Lrrc25</i> | -3,4594 | <i>Ctss</i> | -1,5579 | <i>Lgals3bp</i> | 0,9333 | <i>A1839979</i> | 1,6047 |
| <i>Sla</i> | -3,4480 | <i>Slco5a1</i> | -1,5475 | <i>Ctmm11</i> | 0,9387 | <i>Hspa1b</i> | 1,6108 |
| <i>Clec4n</i> | -3,4215 | <i>Cldn6</i> | -1,5472 | <i>Lpin2</i> | 0,9420 | <i>Ifit2</i> | 1,6131 |
| <i>Selp</i> | -3,3923 | <i>9930111J21Rik2</i> | -1,5419 | <i>Hcfc1r1</i> | 0,9444 | <i>Aqp4</i> | 1,6196 |
| <i>Foxl2</i> | -3,3923 | <i>Sox9</i> | -1,5319 | <i>4932438A13Rik</i> | 0,9514 | <i>Lect1</i> | 1,6215 |
| <i>Adamts16</i> | -3,3854 | <i>Tead2</i> | -1,5308 | <i>Nyap1</i> | 0,9530 | <i>Spon1</i> | 1,6265 |
| <i>Krt17</i> | -3,2770 | <i>Mycl</i> | -1,5300 | <i>Ampd3</i> | 0,9534 | <i>Galm</i> | 1,6346 |
| <i>Igfbpl1</i> | -3,2370 | <i>Trpv2</i> | -1,5295 | <i>Ppm1k</i> | 0,9613 | <i>Selenbp1</i> | 1,6360 |
| <i>Fbxo40</i> | -3,2352 | <i>Adcy1</i> | -1,5258 | <i>Bcat1</i> | 0,9615 | <i>Havcr1</i> | 1,6370 |
| <i>Capn6</i> | -3,2115 | <i>Slc29a4</i> | -1,5245 | <i>Tiam1</i> | 0,9655 | <i>Hspa4l</i> | 1,6482 |
| <i>Msi1</i> | -3,1745 | <i>Cyth4</i> | -1,5242 | <i>Gm7694</i> | 0,9733 | <i>Prtn3</i> | 1,6534 |
| <i>Fcgr4</i> | -3,1546 | <i>Lmcd1</i> | -1,5224 | <i>Lynx1</i> | 0,9772 | <i>Zim1</i> | 1,6584 |
| <i>Ifi202b</i> | -3,1098 | <i>Cyp4a12b</i> | -1,5185 | <i>Itpr2</i> | 0,9831 | <i>Car11</i> | 1,6640 |
| <i>Cx3cr1</i> | -3,0875 | <i>Tenm4</i> | -1,5085 | <i>Tspan12</i> | 0,9852 | <i>Strip2</i> | 1,6668 |
| <i>Trem1</i> | -3,0753 | <i>Lhx1</i> | -1,5076 | <i>Sema4b</i> | 0,9885 | <i>Ppp4r4</i> | 1,6699 |
| <i>Clec7a</i> | -3,0704 | <i>Ccnd2</i> | -1,5057 | <i>Napepld</i> | 0,9887 | <i>Timd2</i> | 1,6699 |
| <i>Ms4a7</i> | -3,0685 | <i>Pcsk5</i> | -1,4873 | <i>Egln3</i> | 0,9888 | <i>Btc</i> | 1,6843 |
| <i>Dgkk</i> | -3,0589 | <i>Anpep</i> | -1,4797 | <i>Fam149a</i> | 0,9925 | <i>Gcm1</i> | 1,6851 |
| <i>Bcl11b</i> | -3,0506 | <i>Maf</i> | -1,4719 | <i>Wfs1</i> | 0,9932 | <i>Scd1</i> | 1,6894 |

| signifikant herunterregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|------------------|--------|
| <i>Msr1</i> | -3,0467 | <i>Ms4a6d</i> | -1,4556 | <i>Gpr146</i> | 0,9967 | <i>Epor</i> | 1,6930 |
| <i>Cd300lf</i> | -3,0368 | <i>Trank1</i> | -1,4541 | <i>Map3k1</i> | 0,9970 | <i>Tmem45b</i> | 1,7003 |
| <i>Syndig1</i> | -3,0100 | <i>Lfng</i> | -1,4495 | <i>Rtn1</i> | 1,0065 | <i>Ptprh</i> | 1,7058 |
| <i>Ifi205</i> | -3,0000 | <i>Gm8113</i> | -1,4493 | <i>Hif1a</i> | 1,0117 | <i>Slc1a3</i> | 1,7065 |
| <i>Pamr1</i> | -2,9386 | <i>Mnda</i> | -1,4397 | <i>Pfkip</i> | 1,0123 | <i>Plcx1</i> | 1,7123 |
| <i>C1qc</i> | -2,9272 | <i>Tll1</i> | -1,4378 | <i>Bcam</i> | 1,0127 | <i>Gm6665</i> | 1,7360 |
| <i>Klhl1</i> | -2,8826 | <i>Ltbp1</i> | -1,4315 | <i>Tspan33</i> | 1,0154 | <i>Fabp3</i> | 1,7411 |
| <i>Foxf1</i> | -2,8651 | <i>Ogdhl</i> | -1,4257 | <i>Haus4</i> | 1,0166 | <i>Gm5868</i> | 1,7521 |
| <i>Tifab</i> | -2,8455 | <i>Cd200r3</i> | -1,4219 | <i>Hist1h1c</i> | 1,0244 | <i>Gm12868</i> | 1,7526 |
| <i>Ccr1</i> | -2,8244 | <i>Fcer1g</i> | -1,4176 | <i>Cdc42ep2</i> | 1,0265 | <i>Tmem27</i> | 1,7533 |
| <i>Dcx</i> | -2,7980 | <i>4632428N05Rik</i> | -1,4116 | <i>Ermp1</i> | 1,0285 | <i>Bsnd</i> | 1,7583 |
| <i>Ptpn7</i> | -2,7776 | <i>Dbn1</i> | -1,4055 | <i>Tmprss2</i> | 1,0335 | <i>Oxtr</i> | 1,7600 |
| <i>GpnmB</i> | -2,7611 | <i>Nme4</i> | -1,3998 | <i>Hgfac</i> | 1,0346 | <i>Rasl11b</i> | 1,7614 |
| <i>P2rx2</i> | -2,7570 | <i>Map7d2</i> | -1,3965 | <i>Clca3a2</i> | 1,0350 | <i>Prom2</i> | 1,7626 |
| <i>Tfec</i> | -2,7500 | <i>Dab2</i> | -1,3911 | <i>Sptb</i> | 1,0443 | <i>Hist1h2be</i> | 1,7634 |
| <i>Ms4a4a</i> | -2,7370 | <i>Moxd1</i> | -1,3844 | <i>Gramd1b</i> | 1,0466 | <i>Slc45a3</i> | 1,7695 |
| <i>Eya4</i> | -2,7309 | <i>Nox4</i> | -1,3789 | <i>Epn3</i> | 1,0478 | <i>Shisa7</i> | 1,7822 |
| <i>C1qa</i> | -2,7166 | <i>Adamts5</i> | -1,3789 | <i>Bmpr1b</i> | 1,0480 | <i>Nrip3</i> | 1,7830 |
| <i>Lair1</i> | -2,7162 | <i>Cda</i> | -1,3653 | <i>Diap3</i> | 1,0545 | <i>Veph1</i> | 1,7873 |
| <i>Arg1</i> | -2,7139 | <i>Sdc3</i> | -1,3511 | <i>Cys1</i> | 1,0616 | <i>Dnase1l2</i> | 1,7934 |
| <i>Mmp12</i> | -2,7108 | <i>Scara3</i> | -1,3503 | <i>Ptgs1</i> | 1,0638 | <i>Fut2</i> | 1,7952 |
| <i>Itgal</i> | -2,6684 | <i>Cd36</i> | -1,3479 | <i>Fam174b</i> | 1,0659 | <i>Serpina10</i> | 1,7959 |
| <i>Capn8</i> | -2,6668 | <i>Runx2</i> | -1,3468 | <i>Tspan15</i> | 1,0706 | <i>Serpina6</i> | 1,7987 |
| <i>Pygo1</i> | -2,6630 | <i>Pvrl4</i> | -1,3430 | <i>Lmo7</i> | 1,0750 | <i>Slc14a2</i> | 1,8090 |
| <i>P2ry13</i> | -2,6521 | <i>Olfm2</i> | -1,3422 | <i>Homer2</i> | 1,0755 | <i>Podn</i> | 1,8153 |
| <i>Shc2</i> | -2,6469 | <i>Nuak1</i> | -1,3421 | <i>Styk1</i> | 1,0766 | <i>Rhpn2</i> | 1,8192 |
| <i>Csf2rb</i> | -2,6451 | <i>Jag1</i> | -1,3327 | <i>Cdh16</i> | 1,0778 | <i>Gcnt1</i> | 1,8308 |
| <i>Ms4a6c</i> | -2,6057 | <i>Tnc</i> | -1,3293 | <i>Mapk11</i> | 1,0788 | <i>Them7</i> | 1,8427 |
| <i>F13a1</i> | -2,5987 | <i>Adra2a</i> | -1,3283 | <i>Hspb2</i> | 1,0812 | <i>Gm2260</i> | 1,8541 |
| <i>Cthrc1</i> | -2,5930 | <i>Prrg3</i> | -1,3235 | <i>Bnip3</i> | 1,0814 | <i>Sorcs3</i> | 1,8580 |
| <i>Lilrb4a</i> | -2,5874 | <i>Gpr176</i> | -1,3189 | <i>Ak4</i> | 1,0815 | <i>Hist1h4k</i> | 1,8613 |
| <i>Mmp16</i> | -2,5850 | <i>P2ry6</i> | -1,3090 | <i>Tspan8</i> | 1,0818 | <i>Slc6a19</i> | 1,8698 |
| <i>Col14a1</i> | -2,5607 | <i>Gsap</i> | -1,2902 | <i>Pdzklip1</i> | 1,0825 | <i>Rasal1</i> | 1,8979 |
| <i>Cdh10</i> | -2,5546 | <i>Gm8995</i> | -1,2895 | <i>Arhgef37</i> | 1,0875 | <i>Kcns3</i> | 1,9033 |
| <i>Tyrobp</i> | -2,5506 | <i>Rasl12</i> | -1,2821 | <i>Folr1</i> | 1,0942 | <i>Gm42528</i> | 1,9117 |
| <i>Hck</i> | -2,5449 | <i>Fblim1</i> | -1,2810 | <i>Hagh</i> | 1,0957 | <i>Cldn10</i> | 1,9186 |
| <i>Dpp6</i> | -2,5433 | <i>Adam12</i> | -1,2786 | <i>NdrG4</i> | 1,0982 | <i>Flrt1</i> | 1,9260 |
| <i>Mmp8</i> | -2,5394 | <i>Des</i> | -1,2785 | <i>Kbtbd11</i> | 1,0992 | <i>Ifit1bl1</i> | 1,9260 |
| <i>Tgfb1</i> | -2,5325 | <i>2310007B03Rik</i> | -1,2754 | <i>Lifr</i> | 1,1015 | <i>Arl4d</i> | 1,9296 |
| <i>Coro6</i> | -2,5250 | <i>Pdlim4</i> | -1,2718 | <i>Gm10241</i> | 1,1025 | <i>Apela</i> | 1,9303 |
| <i>Plcb2</i> | -2,5025 | <i>Dpysl3</i> | -1,2689 | <i>Camk1d</i> | 1,1046 | <i>Stc1</i> | 1,9329 |
| <i>C1qb</i> | -2,4849 | <i>Gm5424</i> | -1,2680 | <i>Tspan1</i> | 1,1108 | <i>Oit1</i> | 1,9386 |
| <i>Pld4</i> | -2,4695 | <i>Lrp2</i> | -1,2655 | <i>Rasgrf2</i> | 1,1150 | <i>Urah</i> | 1,9551 |
| <i>Hsd11b2</i> | -2,4464 | <i>Pappa</i> | -1,2595 | <i>Mapt</i> | 1,1175 | <i>Car8</i> | 1,9645 |
| <i>AI607873</i> | -2,4344 | <i>Fn1</i> | -1,2522 | <i>Kcnj15</i> | 1,1217 | <i>Gm21960</i> | 1,9668 |

| signifikant herunterregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|-----------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Wisp1</i> | -2,4299 | <i>Ctsw</i> | -1,2466 | <i>Ociad2</i> | 1,1222 | <i>Cldn15</i> | 1,9769 |
| <i>Ly6h</i> | -2,4150 | <i>Pdgfb</i> | -1,2418 | <i>Pfkfb3</i> | 1,1236 | <i>Slc25a48</i> | 1,9777 |
| <i>Pkp1</i> | -2,4044 | <i>Cotl1</i> | -1,2393 | <i>Frem2</i> | 1,1243 | <i>Fndc9</i> | 1,9974 |
| <i>Laptm5</i> | -2,3810 | <i>D8Ert82e</i> | -1,2387 | <i>Pmvk</i> | 1,1323 | <i>Ckmt1</i> | 1,9986 |
| <i>Cd300a</i> | -2,3744 | <i>Akr1c19</i> | -1,2381 | <i>Ugdh</i> | 1,1341 | <i>Rasd1</i> | 2,0041 |
| <i>Selplg</i> | -2,3576 | <i>Zc3hav1l</i> | -1,2306 | <i>Peg10</i> | 1,1351 | <i>Dtx1</i> | 2,0106 |
| <i>Mmp13</i> | -2,3536 | <i>Lax1</i> | -1,2274 | <i>Unc13d</i> | 1,1481 | <i>Lipg</i> | 2,0111 |
| <i>Lilr4b</i> | -2,3424 | <i>Nrep</i> | -1,2150 | <i>Gprc5b</i> | 1,1503 | <i>Mgarp</i> | 2,0373 |
| <i>Aoah</i> | -2,3074 | <i>Sfn</i> | -1,2126 | <i>Glt28d2</i> | 1,1528 | <i>Plet1</i> | 2,0629 |
| <i>Fcgr3</i> | -2,3055 | <i>Pmp22</i> | -1,2116 | <i>Dnm3</i> | 1,1592 | <i>Fbln1</i> | 2,0641 |
| <i>C3ar1</i> | -2,2573 | <i>Lmo1</i> | -1,2052 | <i>Id2</i> | 1,1604 | <i>Slc34a2</i> | 2,0658 |
| <i>Abca9</i> | -2,2395 | <i>Foxj1</i> | -1,2049 | <i>Lpar1</i> | 1,1629 | <i>Fam107a</i> | 2,0704 |
| <i>Ccl9</i> | -2,1908 | <i>Prss22</i> | -1,2049 | <i>Arhgap24</i> | 1,1644 | <i>Gm17750</i> | 2,0728 |
| <i>Cacna1h</i> | -2,1898 | <i>Ctla2b</i> | -1,2044 | <i>Pgap1</i> | 1,1647 | <i>Tmem229a</i> | 2,0817 |
| <i>Mafb</i> | -2,1783 | <i>Cd38</i> | -1,1961 | <i>Acer2</i> | 1,1654 | <i>Gm15753</i> | 2,0943 |
| <i>Bin2</i> | -2,1699 | <i>Ltk</i> | -1,1944 | <i>Zbtb16</i> | 1,1770 | <i>Neurl1b</i> | 2,1393 |
| <i>Fyb</i> | -2,1553 | <i>Sox8</i> | -1,1923 | <i>Npnt</i> | 1,1773 | <i>Sod3</i> | 2,1418 |
| <i>Cnr1</i> | -2,1414 | <i>Igsf9</i> | -1,1903 | <i>Prr15</i> | 1,1826 | <i>Ifit1</i> | 2,1553 |
| <i>Plek</i> | -2,1333 | <i>Gria3</i> | -1,1844 | <i>Muc1</i> | 1,1844 | <i>Ccl20</i> | 2,1670 |
| <i>Fcgr2b</i> | -2,1293 | <i>Cdkn1c</i> | -1,1828 | <i>Fbxo2</i> | 1,1868 | <i>Krt4</i> | 2,1677 |
| <i>Ramp1</i> | -2,1293 | <i>Plin2</i> | -1,1676 | <i>Sema3c</i> | 1,1955 | <i>1700016C15Rik</i> | 2,1802 |
| <i>Rab3il1</i> | -2,1011 | <i>Col27a1</i> | -1,1633 | <i>Pax2</i> | 1,1969 | <i>Aqp1</i> | 2,1841 |
| <i>Fbln5</i> | -2,0856 | <i>Il11</i> | -1,1625 | <i>Me1</i> | 1,1994 | <i>Sult1d1</i> | 2,1949 |
| <i>Cyp21a1</i> | -2,0849 | <i>Sox17</i> | -1,1511 | <i>Irs2</i> | 1,2005 | <i>Inmt</i> | 2,2039 |
| <i>St8sia2</i> | -2,0834 | <i>Gdpd5</i> | -1,1444 | <i>Coro2a</i> | 1,2007 | <i>Clca2</i> | 2,2224 |
| <i>Serpina3g</i> | -2,0661 | <i>Sepp1</i> | -1,1408 | <i>Akr1b8</i> | 1,2077 | <i>Cnmm1</i> | 2,2367 |
| <i>Arl11</i> | -2,0566 | <i>Serpine1</i> | -1,1399 | <i>Mal</i> | 1,2160 | <i>Svep1</i> | 2,2370 |
| <i>Ano1</i> | -2,0566 | <i>Gm16907</i> | -1,1375 | <i>Hacd4</i> | 1,2170 | <i>Igfbp5</i> | 2,2383 |
| <i>Dkk3</i> | -2,0302 | <i>Mical1</i> | -1,1358 | <i>Sgk1</i> | 1,2202 | <i>Irs3</i> | 2,2461 |
| <i>Arhgap30</i> | -2,0124 | <i>Cyp1b1</i> | -1,1307 | <i>Wnt4</i> | 1,2324 | <i>Fa2h</i> | 2,2495 |
| <i>Cd1d1</i> | -2,0000 | <i>Sorcs2</i> | -1,1278 | <i>Cab39l</i> | 1,2398 | <i>Itga8</i> | 2,2854 |
| <i>Gm9821</i> | -2,0000 | <i>Palld</i> | -1,1266 | <i>Entpd5</i> | 1,2575 | <i>Pcx</i> | 2,2872 |
| <i>Gm16574</i> | -2,0000 | <i>Creb3l1</i> | -1,1264 | <i>Acap1</i> | 1,2602 | <i>Gsdmcl2</i> | 2,2966 |
| <i>Cxcl12</i> | -1,9887 | <i>Ptpru</i> | -1,1171 | <i>Layn</i> | 1,2610 | <i>Ppef2</i> | 2,3038 |
| <i>Nat8l</i> | -1,9875 | <i>Lrrn1</i> | -1,1085 | <i>Nupr1</i> | 1,2642 | <i>Gm16310</i> | 2,3129 |
| <i>Slc35f1</i> | -1,9787 | <i>Arrdc4</i> | -1,1074 | <i>Tnfaip2</i> | 1,2647 | <i>Scg5</i> | 2,3262 |
| <i>Ikzf1</i> | -1,9709 | <i>Mcam</i> | -1,1066 | <i>Upk3b</i> | 1,2689 | <i>Psca</i> | 2,3290 |
| <i>Pramef12</i> | -1,9584 | <i>Arntl2</i> | -1,1033 | <i>Gstt3</i> | 1,2697 | <i>Psg22</i> | 2,3382 |
| <i>Adgrb1</i> | -1,9553 | <i>Nfatc4</i> | -1,0933 | <i>Bspry</i> | 1,2719 | <i>Gm42835</i> | 2,3606 |
| <i>Gxylt2</i> | -1,9524 | <i>Rhobtb1</i> | -1,0903 | <i>Phyhipl</i> | 1,2758 | <i>Serpinalf</i> | 2,3618 |
| <i>Auts2</i> | -1,9519 | <i>Marcks1l</i> | -1,0764 | <i>Tas1r3</i> | 1,2773 | <i>Slc14a1</i> | 2,3668 |
| <i>Galnt6</i> | -1,9500 | <i>Gm14005</i> | -1,0737 | <i>Cited4</i> | 1,2801 | <i>Pik3c2g</i> | 2,4150 |
| <i>Samsn1</i> | -1,9386 | <i>Bglap3</i> | -1,0663 | <i>P3h2</i> | 1,2866 | <i>B230312C02Rik</i> | 2,4190 |
| <i>Mmp15</i> | -1,9328 | <i>Jam2</i> | -1,0649 | <i>Mrps6</i> | 1,2872 | <i>Muc4</i> | 2,4303 |
| <i>Sumo2</i> | -1,9319 | <i>Stk26</i> | -1,0640 | <i>Aldoc</i> | 1,2884 | <i>Aqp5</i> | 2,4374 |

| signifikant herunterregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Gatm</i> | -1,9313 | <i>Cdh2</i> | -1,0616 | <i>Kap</i> | 1,2957 | <i>Slc6a12</i> | 2,4670 |
| <i>Spock3</i> | -1,9269 | <i>Arid5a</i> | -1,0571 | <i>Wnt16</i> | 1,3064 | <i>Ptpr</i> | 2,4838 |
| <i>Vcam1</i> | -1,9218 | <i>Gjb2</i> | -1,0567 | <i>Tmprss4</i> | 1,3070 | <i>Ghrhr</i> | 2,4854 |
| <i>Siglec1</i> | -1,9175 | <i>Cdh11</i> | -1,0492 | <i>Oat</i> | 1,3121 | <i>Fga</i> | 2,4919 |
| <i>March1</i> | -1,9175 | <i>Vwa2</i> | -1,0454 | <i>Agfg2</i> | 1,3209 | <i>Tmem254c</i> | 2,5236 |
| <i>Fbln2</i> | -1,8838 | <i>Tmem86a</i> | -1,0452 | <i>Kcnj16</i> | 1,3245 | <i>Serpina16</i> | 2,5546 |
| <i>Vash2</i> | -1,8745 | <i>Gm10282</i> | -1,0441 | <i>Gm6736</i> | 1,3276 | <i>Dgkg</i> | 2,5707 |
| <i>Mmp9</i> | -1,8725 | <i>Kit</i> | -1,0433 | <i>Idh1</i> | 1,3285 | <i>Abca13</i> | 2,5850 |
| <i>Fgl2</i> | -1,8699 | <i>Tcf7</i> | -1,0407 | <i>Kctd12</i> | 1,3292 | <i>Nqo1</i> | 2,6106 |
| <i>Gpr50</i> | -1,8662 | <i>Tspan7</i> | -1,0364 | <i>Crispld2</i> | 1,3311 | <i>Plat</i> | 2,6235 |
| <i>Fermt3</i> | -1,8573 | <i>Ltbp2</i> | -1,0348 | <i>Muc20</i> | 1,3323 | <i>Rnf186</i> | 2,6396 |
| <i>Btdl11</i> | -1,8504 | <i>5730559C18Rik</i> | -1,0241 | <i>Acss1</i> | 1,3451 | <i>Gsta2</i> | 2,6554 |
| <i>Fam163a</i> | -1,8480 | <i>Tmeff1</i> | -1,0131 | <i>Tert</i> | 1,3453 | <i>Olfm4</i> | 2,6586 |
| <i>Cd33</i> | -1,8456 | <i>Bmp7</i> | -1,0126 | <i>Adora1</i> | 1,3468 | <i>Slc38a3</i> | 2,6630 |
| <i>Klf8</i> | -1,8430 | <i>Csrp2</i> | -1,0096 | <i>Lzts3</i> | 1,3477 | <i>Slc5a3</i> | 2,6868 |
| <i>Tmem151b</i> | -1,8240 | <i>Vangl2</i> | -1,0060 | <i>Cyfp2</i> | 1,3583 | <i>Gm42586</i> | 2,6889 |
| <i>Pard6g</i> | -1,8231 | <i>Inhbb</i> | -0,9982 | <i>Vstm5</i> | 1,3726 | <i>9530052E02Rik</i> | 2,7279 |
| <i>Col7a1</i> | -1,8083 | <i>Malrd1</i> | -0,9944 | <i>Dbp</i> | 1,3744 | <i>Fxyd4</i> | 2,7316 |
| <i>Ms4a6b</i> | -1,8030 | <i>Slc16a2</i> | -0,9925 | <i>Ppap2b</i> | 1,3762 | <i>Lypd2</i> | 2,7753 |
| <i>Ncf1</i> | -1,8017 | <i>Pxdn</i> | -0,9919 | <i>Plch2</i> | 1,3765 | <i>Cav3</i> | 2,7814 |
| <i>Tbxas1</i> | -1,7965 | <i>Cldn1</i> | -0,9917 | <i>Slc17a4</i> | 1,3794 | <i>Dio1</i> | 2,7885 |
| <i>Nckap11</i> | -1,7952 | <i>Clcf1</i> | -0,9859 | <i>Akr1b3</i> | 1,3833 | <i>0610012D04Rik</i> | 2,8875 |
| <i>Csf2rb2</i> | -1,7879 | <i>Ncam1</i> | -0,9847 | <i>Ldhd</i> | 1,3837 | <i>Cyp11b1</i> | 2,8962 |
| <i>Pltp</i> | -1,7824 | <i>Epb4112</i> | -0,9842 | <i>Fut9</i> | 1,3867 | <i>Rnf183</i> | 2,9023 |
| <i>Serpib9b</i> | -1,7731 | <i>Myo7a</i> | -0,9815 | <i>Oas2</i> | 1,3893 | <i>Kcnj1</i> | 2,9260 |
| <i>Nkain1</i> | -1,7697 | <i>Ccbe1</i> | -0,9738 | <i>Hspa12a</i> | 1,3905 | <i>Gm43003</i> | 2,9475 |
| <i>Acp5</i> | -1,7687 | <i>Reep6</i> | -0,9711 | <i>Ddit4l</i> | 1,3912 | <i>Slc12a1</i> | 2,9500 |
| <i>Il23a</i> | -1,7643 | <i>Pde4d</i> | -0,9633 | <i>Fbxo41</i> | 1,3913 | <i>Aldob</i> | 2,9740 |
| <i>Megf6</i> | -1,7562 | <i>Gpc4</i> | -0,9512 | <i>Sult1a1</i> | 1,4015 | <i>Guca2b</i> | 2,9814 |
| <i>Apobec1</i> | -1,7536 | <i>Kif1a</i> | -0,9510 | <i>Pde1a</i> | 1,4090 | <i>Enpp2</i> | 2,9948 |
| <i>Cd53</i> | -1,7514 | <i>Zdhhc15</i> | -0,9437 | <i>Rfm2</i> | 1,4113 | <i>Adgrfl</i> | 3,0221 |
| <i>Npr3</i> | -1,7350 | <i>Prnp</i> | -0,9368 | <i>Tmem30b</i> | 1,4116 | <i>Slc5a1</i> | 3,0605 |
| <i>Gm14206</i> | -1,7348 | <i>Ecm1</i> | -0,9342 | <i>2210011C24Rik</i> | 1,4139 | <i>Cdk1l</i> | 3,1394 |
| <i>Hpgd</i> | -1,7342 | <i>Sox4</i> | -0,9341 | <i>Nipal4</i> | 1,4166 | <i>Slc6a18</i> | 3,1751 |
| <i>Adra2c</i> | -1,7145 | <i>Rin2</i> | -0,9311 | <i>Rassf6</i> | 1,4358 | <i>Gucy2g</i> | 3,2039 |
| <i>9930111J21Rik1</i> | -1,7132 | <i>Angptl4</i> | -0,9288 | <i>Mycbpap</i> | 1,4365 | <i>Slc38a11</i> | 3,2167 |
| <i>Lcp1</i> | -1,7101 | <i>Mgst1</i> | -0,9211 | <i>Spr1a</i> | 1,4441 | <i>Htr5b</i> | 3,2410 |
| <i>Sh3pxd2b</i> | -1,6924 | <i>Sbk1</i> | -0,9116 | <i>A330023F24Rik</i> | 1,4480 | <i>Nptx1</i> | 3,2479 |
| <i>Csdc2</i> | -1,6818 | <i>Chd7</i> | -0,8955 | <i>Hs3st1</i> | 1,4488 | <i>Zan</i> | 3,2749 |
| <i>Marcks</i> | -1,6790 | <i>Fyn</i> | -0,8954 | <i>Klhl14</i> | 1,4522 | <i>Gm7893</i> | 3,2977 |
| <i>Stra6l</i> | -1,6679 | <i>Nek6</i> | -0,8926 | <i>Srp2</i> | 1,4536 | <i>Il5ra</i> | 3,3021 |
| <i>Ivl</i> | -1,6663 | <i>Synpo</i> | -0,8888 | <i>Hsph1</i> | 1,4545 | <i>Pabpn11</i> | 3,3219 |
| <i>Lcp2</i> | -1,6641 | <i>Fstl1</i> | -0,8825 | <i>Trabd2b</i> | 1,4550 | <i>Fndc1</i> | 3,3373 |
| <i>Palmd</i> | -1,6614 | <i>Prkcdp</i> | -0,8672 | <i>Vsig10l</i> | 1,4584 | <i>Eln</i> | 3,3540 |
| <i>Zdhhc2</i> | -1,6593 | <i>Rpl17-ps10</i> | -0,8632 | <i>Atp1b1</i> | 1,4618 | <i>Gm13418</i> | 3,3750 |

| signifikant herunterregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene IMCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|---------------|---------|---|--------|------------------|--------|
| <i>Apbb1p</i> | -1,6590 | <i>Lrrc8c</i> | -0,8590 | <i>Nckap5</i> | 1,4654 | <i>Gm567</i> | 3,3897 |
| | | <i>Bmp1</i> | -0,8456 | <i>Slco4a1</i> | 1,4672 | <i>BC016548</i> | 3,4150 |
| | | | | <i>Cd59b</i> | 1,4699 | <i>Gsdmcl-ps</i> | 3,4500 |
| | | | | <i>Gcnt4</i> | 1,4704 | <i>Gm37320</i> | 3,5166 |
| | | | | <i>Depdc1b</i> | 1,4757 | <i>Calml3</i> | 3,6439 |
| | | | | <i>Gem</i> | 1,4766 | <i>Gsdmc4</i> | 3,6476 |
| | | | | <i>Paqr5</i> | 1,4833 | <i>Lgi2</i> | 3,6480 |
| | | | | <i>Ros1</i> | 1,4876 | <i>Pou2f3</i> | 3,6724 |
| | | | | <i>5730508B09Rik</i> | 1,4884 | <i>Gsdmc3</i> | 3,7325 |
| | | | | <i>Gstm2-ps1</i> | 1,4924 | <i>Npy4r</i> | 3,7682 |
| | | | | <i>Gm17281</i> | 1,4937 | <i>Slc17a1</i> | 3,7732 |
| | | | | <i>Hs3st3b1</i> | 1,4988 | <i>Gm11749</i> | 3,8826 |
| | | | | <i>Gstm2</i> | 1,5002 | <i>Rs1</i> | 3,9069 |
| | | | | <i>Hipk4</i> | 1,5009 | <i>Gsdmc2</i> | 3,9686 |
| | | | | <i>Hspa1a</i> | 1,5013 | <i>Tlhc2</i> | 4,1699 |
| | | | | <i>Cobll1</i> | 1,5037 | <i>Fxyd2</i> | 4,4892 |
| | | | | <i>Atp7b</i> | 1,5070 | <i>Ranbp3l</i> | 4,6226 |
| | | | | <i>Cbr2</i> | 1,5106 | <i>Gm5210</i> | 4,9773 |
| | | | | <i>Pglyrp1</i> | 1,5123 | <i>Gm5043</i> | 5,1293 |
| | | | | <i>Ptges</i> | 1,5172 | <i>Meox2</i> | 5,7944 |
| | | | | <i>Gcnt3</i> | 1,5198 | <i>Prss35</i> | 5,8200 |
| | | | | <i>Gm12138</i> | 1,5207 | <i>Aqp2</i> | 5,9813 |

Tabelle 26: Log₂ fold changes signifikant differenziell exprimierte Gene unter Hyperosmolalität in mpkCCD Zellen

Aufgelistet sind alle signifikant-regulierten-Gene unter Hyperosmolalität in mpkCCD Zellen. Die hier gelisteten Gene sind in Abbildung 20A als Volcano Plot dargestellt.

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|------------------------------|----------------------|------------------------------|---|------------------------------|----------------------|------------------------------|
| Genname | Log ₂ fold change | Genname | Log ₂ fold change | Genname | Log ₂ fold change | Genname | Log ₂ fold change |
| <i>Sprr2b</i> | -4,8777 | <i>B230118H07Rik</i> | -0,6921 | <i>Col4a3bp</i> | 0,3605 | <i>Homez</i> | 0,9179 |
| <i>Pdzm3</i> | -4,6439 | <i>Chmp2b</i> | -0,6918 | <i>Ptk2</i> | 0,3641 | <i>4632404H12Rik</i> | 0,9190 |
| <i>2610528A11Rik</i> | -4,5593 | <i>Tmem64</i> | -0,6917 | <i>Itpripl2</i> | 0,3702 | <i>Tacc2</i> | 0,9217 |
| <i>Krt5</i> | -4,0692 | <i>Polr3g</i> | -0,6916 | <i>Bcr</i> | 0,3734 | <i>Slc6a6</i> | 0,9241 |
| <i>Serpina1e</i> | -4,0297 | <i>Impa1</i> | -0,6910 | <i>Gm6206</i> | 0,3748 | <i>Fzd8</i> | 0,9251 |
| <i>Gm20796</i> | -3,7814 | <i>Rps29</i> | -0,6909 | <i>Sik2</i> | 0,3802 | <i>Adgrg1</i> | 0,9251 |
| <i>Serpinb9b</i> | -3,7769 | <i>Gm11263</i> | -0,6903 | <i>Pdrg1</i> | 0,3822 | <i>Adcy6</i> | 0,9266 |
| <i>Prss52</i> | -3,6553 | <i>Ruvbl2</i> | -0,6887 | <i>Nxf1</i> | 0,3886 | <i>Nrk</i> | 0,9271 |
| <i>Krt16</i> | -3,5443 | <i>Pmm1</i> | -0,6883 | <i>Stk4</i> | 0,3948 | <i>Rnf24</i> | 0,9274 |
| <i>Fmo1</i> | -3,5236 | <i>Gm10243</i> | -0,6881 | <i>Ccar1</i> | 0,3952 | <i>Dennd2d</i> | 0,9281 |
| <i>Nts</i> | -3,4594 | <i>Klf10</i> | -0,6879 | <i>Dhd2</i> | 0,3993 | <i>Atxn7l1</i> | 0,9283 |
| <i>Anks4b</i> | -3,3219 | <i>Rps13-ps2</i> | -0,6878 | <i>Sema4d</i> | 0,3999 | <i>Atrn</i> | 0,9288 |
| <i>Ctca3b</i> | -3,2653 | <i>Med21</i> | -0,6875 | <i>Psm5</i> | 0,4014 | <i>Ppm1d</i> | 0,9296 |
| <i>Clip4</i> | -3,2479 | <i>A430005L14Rik</i> | -0,6869 | <i>Ppp1r21</i> | 0,4051 | <i>Ahr</i> | 0,9297 |
| <i>Rab7b</i> | -3,1876 | <i>Hs1bp3</i> | -0,6866 | <i>Pkp4</i> | 0,4051 | <i>Gpd1</i> | 0,9304 |
| <i>Aldh3a1</i> | -3,1352 | <i>2310009B15Rik</i> | -0,6861 | <i>Gfod2</i> | 0,4072 | <i>Nfat5</i> | 0,9308 |
| <i>Nmnat2</i> | -3,0589 | <i>Gm15710</i> | -0,6856 | <i>Rock2</i> | 0,4113 | <i>Cadm1</i> | 0,9309 |
| <i>Krt14</i> | -3,0255 | <i>Myzap</i> | -0,6851 | <i>Mpp1</i> | 0,4141 | <i>Trim56</i> | 0,9343 |
| <i>Sprr2a3</i> | -2,8745 | <i>Tspan18</i> | -0,6850 | <i>Cstf2t</i> | 0,4149 | <i>Lipg</i> | 0,9349 |
| <i>Crocc2</i> | -2,8365 | <i>Rps10-ps2</i> | -0,6843 | <i>Zbtb41</i> | 0,4171 | <i>Map4k1</i> | 0,9386 |
| <i>Cntfr</i> | -2,8301 | <i>Sdhc</i> | -0,6842 | <i>Rabif</i> | 0,4171 | <i>Map4k3</i> | 0,9399 |
| <i>Klra4</i> | -2,8220 | <i>Gm12751</i> | -0,6842 | <i>Lars2</i> | 0,4195 | <i>Apobr</i> | 0,9404 |
| <i>Kif26a</i> | -2,8074 | <i>Gadd45b</i> | -0,6839 | <i>Myd88</i> | 0,4215 | <i>Rhbd1</i> | 0,9413 |
| <i>Sprr1a</i> | -2,7957 | <i>Fam65b</i> | -0,6838 | <i>Ube2g1</i> | 0,4219 | <i>Neur11b</i> | 0,9452 |
| <i>Gm37131</i> | -2,7944 | <i>R3hcc1</i> | -0,6834 | <i>Smek1</i> | 0,4232 | <i>Man1a</i> | 0,9456 |
| <i>Cav1</i> | -2,7662 | <i>2410006H16Rik</i> | -0,6820 | <i>Bmi1</i> | 0,4233 | <i>Ccdc62</i> | 0,9475 |
| <i>Vcam1</i> | -2,7600 | <i>Rpl9</i> | -0,6819 | <i>Cyb5b</i> | 0,4242 | <i>Dram2</i> | 0,9487 |
| <i>Scara5</i> | -2,7305 | <i>Dhfr</i> | -0,6818 | <i>Agtpbp1</i> | 0,4258 | <i>Diap2</i> | 0,9490 |
| <i>Cysrt1</i> | -2,7249 | <i>Exosc3</i> | -0,6817 | <i>Map2k7</i> | 0,4295 | <i>Serpini1</i> | 0,9497 |
| <i>H2-M2</i> | -2,6781 | <i>Aprt</i> | -0,6814 | <i>Nisch</i> | 0,4296 | <i>Snx8</i> | 0,9566 |
| <i>Nrcam</i> | -2,6724 | <i>Mapk13</i> | -0,6810 | <i>Myo10</i> | 0,4298 | <i>Traf4</i> | 0,9567 |
| <i>Gm4070</i> | -2,6503 | <i>Epb41l2</i> | -0,6804 | <i>Atp9b</i> | 0,4311 | <i>Eda</i> | 0,9571 |
| <i>Hacd1</i> | -2,6400 | <i>Plekhhl1</i> | -0,6788 | <i>Cnot11</i> | 0,4312 | <i>Pak6</i> | 0,9578 |
| <i>Meox1</i> | -2,6245 | <i>Dse</i> | -0,6784 | <i>Baz1b</i> | 0,4315 | <i>Eme2</i> | 0,9581 |
| <i>Gm2115</i> | -2,6189 | <i>Rpl27a</i> | -0,6784 | <i>Pgs1</i> | 0,4317 | <i>Arid3b</i> | 0,9588 |
| <i>Il1m</i> | -2,6040 | <i>Tic9</i> | -0,6778 | <i>Gon4l</i> | 0,4335 | <i>Gpd1l</i> | 0,9595 |
| <i>Dmkn</i> | -2,5629 | <i>Dpy19l1</i> | -0,6778 | <i>Btbd9</i> | 0,4336 | <i>Ngf</i> | 0,9597 |
| <i>Drd3</i> | -2,5293 | <i>Arl6ip5</i> | -0,6778 | <i>Zfp384</i> | 0,4337 | <i>Litaf</i> | 0,9601 |
| <i>Tigit</i> | -2,5075 | <i>Cryl1</i> | -0,6775 | <i>Spint2</i> | 0,4337 | <i>Atg16l2</i> | 0,9628 |
| <i>Nalcn</i> | -2,4883 | <i>Chd7</i> | -0,6768 | <i>Setd1a</i> | 0,4340 | <i>Dapk1</i> | 0,9630 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|-----------------------|--------|
| <i>Grin1</i> | -2,4386 | <i>Cat</i> | -0,6763 | <i>Hsd17b4</i> | 0,4351 | <i>Ptprcap</i> | 0,9639 |
| <i>Cbs</i> | -2,4315 | <i>Bcap29</i> | -0,6755 | <i>Ccdc88c</i> | 0,4352 | <i>Plxnb1</i> | 0,9670 |
| <i>B230303O12Rik</i> | -2,4288 | <i>Arfgef3</i> | -0,6753 | <i>Mthfd2l</i> | 0,4355 | <i>Sh2b2</i> | 0,9683 |
| <i>Eps8</i> | -2,4272 | <i>Notch3</i> | -0,6743 | <i>Gm23935</i> | 0,4360 | <i>2700081O15Rik</i> | 0,9694 |
| <i>Slc26a9</i> | -2,4116 | <i>Rpl27</i> | -0,6740 | <i>Gm14420</i> | 0,4368 | <i>Tapbp</i> | 0,9698 |
| <i>Ereg</i> | -2,4053 | <i>Gm6311</i> | -0,6726 | <i>Cdc14a</i> | 0,4397 | <i>Dnase1l2</i> | 0,9709 |
| <i>Mro</i> | -2,4021 | <i>Tmem256</i> | -0,6720 | <i>Ncor1</i> | 0,4402 | <i>Gm21887</i> | 0,9711 |
| <i>Ppp1r42</i> | -2,4021 | <i>Pkia</i> | -0,6717 | <i>Tmppe</i> | 0,4404 | <i>Sparc</i> | 0,9738 |
| <i>Gjal</i> | -2,4017 | <i>Tnfrsf23</i> | -0,6713 | <i>Wasl</i> | 0,4410 | <i>Bahcc1</i> | 0,9742 |
| <i>Pkp1</i> | -2,3692 | <i>Gm10177</i> | -0,6700 | <i>Acsl5</i> | 0,4411 | <i>Rltpr</i> | 0,9759 |
| <i>Liph</i> | -2,3536 | <i>Prkch</i> | -0,6680 | <i>Zfand5</i> | 0,4433 | <i>Il1r1</i> | 0,9765 |
| <i>Enho</i> | -2,3505 | <i>Gm6472</i> | -0,6678 | <i>Phf20</i> | 0,4462 | <i>6330403L08Rik</i> | 0,9780 |
| <i>Upk3bl</i> | -2,3265 | <i>Gprc5a</i> | -0,6671 | <i>Rdh13</i> | 0,4466 | <i>Kdm7a</i> | 0,9802 |
| <i>Serpina3h</i> | -2,3219 | <i>Gm15682</i> | -0,6662 | <i>Pank2</i> | 0,4476 | <i>Socs2</i> | 0,9807 |
| <i>Gabrp</i> | -2,3140 | <i>Rps27</i> | -0,6662 | <i>Ubl3</i> | 0,4477 | <i>H2-DMb1</i> | 0,9813 |
| <i>Sprr2a1</i> | -2,2928 | <i>Gm4735</i> | -0,6660 | <i>Arhgef18</i> | 0,4486 | <i>Spns2</i> | 0,9833 |
| <i>Aldh3b2</i> | -2,2863 | <i>Rrm1</i> | -0,6659 | <i>Zfp672</i> | 0,4489 | <i>Ppm1k</i> | 0,9836 |
| <i>Il15ra</i> | -2,2801 | <i>Rpl18</i> | -0,6642 | <i>Galnt4</i> | 0,4491 | <i>Tgif2</i> | 0,9840 |
| <i>Gm10010</i> | -2,2801 | <i>Gm12854</i> | -0,6637 | <i>Atg2a</i> | 0,4495 | <i>6330403K07Rik</i> | 0,9846 |
| <i>Cacna2d1</i> | -2,2479 | <i>Rps15a</i> | -0,6634 | <i>Rab11b</i> | 0,4506 | <i>Gm43597</i> | 0,9848 |
| <i>Card14</i> | -2,2429 | <i>Adck4</i> | -0,6632 | <i>Zcchc14</i> | 0,4523 | <i>Lgals9</i> | 0,9852 |
| <i>Gvin1</i> | -2,1940 | <i>Fam83b</i> | -0,6632 | <i>Tmem63b</i> | 0,4554 | <i>Tor3a</i> | 0,9853 |
| <i>Il24</i> | -2,1794 | <i>Gm8730</i> | -0,6626 | <i>Zfp408</i> | 0,4556 | <i>Mast1</i> | 0,9854 |
| <i>S100a14</i> | -2,1573 | <i>Fut10</i> | -0,6620 | <i>Socs5</i> | 0,4559 | <i>Fam3c</i> | 0,9856 |
| <i>Gm43202</i> | -2,1538 | <i>Rpsa-ps10</i> | -0,6617 | <i>Tsen54</i> | 0,4567 | <i>Zbtb18</i> | 0,9874 |
| <i>Sfta2</i> | -2,1155 | <i>Asph</i> | -0,6614 | <i>Ssh1</i> | 0,4570 | <i>Dclre1b</i> | 0,9875 |
| <i>P2rx3</i> | -2,1043 | <i>Shisa4</i> | -0,6609 | <i>Zfp629</i> | 0,4574 | <i>Scx</i> | 0,9893 |
| <i>Flt4</i> | -2,0994 | <i>Impdh1</i> | -0,6605 | <i>Alg13</i> | 0,4579 | <i>Dsg2</i> | 0,9925 |
| <i>Gck</i> | -2,0919 | <i>Itgb2</i> | -0,6572 | <i>Cgnl1</i> | 0,4585 | <i>Tspan33</i> | 0,9925 |
| <i>Gm2895</i> | -2,0834 | <i>Sapcd2</i> | -0,6566 | <i>Tmem132a</i> | 0,4590 | <i>Tfdp2</i> | 0,9936 |
| <i>Mb</i> | -2,0641 | <i>Higd1a</i> | -0,6566 | <i>Tmem127</i> | 0,4591 | <i>Tmem140</i> | 0,9943 |
| <i>Gdnf</i> | -2,0563 | <i>9430038I01Rik</i> | -0,6563 | <i>Tanc1</i> | 0,4594 | <i>Nfkbid</i> | 0,9948 |
| <i>Mirt1</i> | -2,0559 | <i>Dgka</i> | -0,6543 | <i>Tulp4</i> | 0,4596 | <i>Dhx58</i> | 0,9956 |
| <i>Timp1</i> | -2,0507 | <i>Eno1</i> | -0,6543 | <i>Neur14</i> | 0,4606 | <i>Pcdh19</i> | 0,9976 |
| <i>Asb2</i> | -2,0395 | <i>Ahnak</i> | -0,6541 | <i>Tspan14</i> | 0,4609 | <i>6430550D23Rik</i> | 1,0000 |
| <i>Prss27</i> | -2,0395 | <i>Rbks</i> | -0,6537 | <i>Ints3</i> | 0,4614 | <i>B230208H11Rik</i> | 1,0000 |
| <i>Rwdd3</i> | -2,0368 | <i>Eif1b</i> | -0,6531 | <i>B3glt</i> | 0,4616 | <i>Hsf4</i> | 1,0000 |
| <i>Efhd1</i> | -2,0324 | <i>Baiap2</i> | -0,6530 | <i>Arhgef17</i> | 0,4618 | <i>Jak3</i> | 1,0000 |
| <i>Ramp3</i> | -2,0319 | <i>Maoa</i> | -0,6519 | <i>Caskin2</i> | 0,4630 | <i>Zfp950</i> | 1,0047 |
| <i>Mall</i> | -2,0297 | <i>Gm11518</i> | -0,6518 | <i>Brd2</i> | 0,4632 | <i>Hsph1</i> | 1,0055 |
| <i>Tcrg-C4</i> | -2,0199 | <i>Itgb4</i> | -0,6516 | <i>Sec22c</i> | 0,4636 | <i>RP23-114E15.18</i> | 1,0067 |
| <i>Fbln2</i> | -2,0036 | <i>Rpl37</i> | -0,6504 | <i>Ttyh3</i> | 0,4642 | <i>Tert</i> | 1,0073 |
| <i>Figf</i> | -1,9827 | <i>Ier3ip1</i> | -0,6502 | <i>Slc39a9</i> | 0,4650 | <i>Spon1</i> | 1,0095 |
| <i>Krt79</i> | -1,9740 | <i>Map6</i> | -0,6484 | <i>Zbed4</i> | 0,4652 | <i>Paqr5</i> | 1,0107 |
| <i>Cda</i> | -1,9664 | <i>Slc30a1</i> | -0,6470 | <i>Tsc22d1</i> | 0,4661 | <i>2900093K20Rik</i> | 1,0108 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>RP23-200M5.7</i> | -1,9652 | <i>Prodh</i> | -0,6463 | <i>Akap13</i> | 0,4661 | <i>Shank2</i> | 1,0109 |
| <i>Entpd3</i> | -1,9639 | <i>Fra10ac1</i> | -0,6461 | <i>Rapgef6</i> | 0,4662 | <i>Pgap1</i> | 1,0121 |
| <i>Mrvi1</i> | -1,9511 | <i>Rpsa</i> | -0,6459 | <i>Kmt2b</i> | 0,4669 | <i>Pla2g4c</i> | 1,0124 |
| <i>RP23-200M5.8</i> | -1,9511 | <i>Gm9493</i> | -0,6458 | <i>Pcnxl3</i> | 0,4678 | <i>Plhf3</i> | 1,0126 |
| <i>Nod2</i> | -1,9449 | <i>Gpx1</i> | -0,6448 | <i>Mrpl45</i> | 0,4681 | <i>Mycbpap</i> | 1,0144 |
| <i>Fcgrt</i> | -1,9431 | <i>Rpl23a</i> | -0,6444 | <i>Sema6b</i> | 0,4688 | <i>Cd59a</i> | 1,0145 |
| <i>Chmd</i> | -1,9419 | <i>Gm13436</i> | -0,6439 | <i>Sptbn2</i> | 0,4689 | <i>Bex1</i> | 1,0146 |
| <i>Dab2</i> | -1,9411 | <i>Gm11703</i> | -0,6436 | <i>Gclm</i> | 0,4696 | <i>Cx3cl1</i> | 1,0158 |
| <i>Uroc1</i> | -1,9156 | <i>Vegfb</i> | -0,6435 | <i>Cdk5</i> | 0,4698 | <i>Dixdc1</i> | 1,0161 |
| <i>Cyp2s1</i> | -1,9120 | <i>AI413582</i> | -0,6423 | <i>Kansl2</i> | 0,4709 | <i>Lmo4</i> | 1,0181 |
| <i>Anxa8</i> | -1,9060 | <i>1110007C09Rik</i> | -0,6420 | <i>Phactr4</i> | 0,4709 | <i>Lipe</i> | 1,0216 |
| <i>Gm6634</i> | -1,8745 | <i>Chchd5</i> | -0,6418 | <i>Hmg20b</i> | 0,4710 | <i>Plscr2</i> | 1,0226 |
| <i>Tnip3</i> | -1,8745 | <i>Gm15500</i> | -0,6410 | <i>Eif2ak2</i> | 0,4710 | <i>Hif1a</i> | 1,0233 |
| <i>Aim11</i> | -1,8679 | <i>Ppp3cc</i> | -0,6400 | <i>Arhgef16</i> | 0,4716 | <i>Mypopos</i> | 1,0236 |
| <i>Fam167a</i> | -1,8663 | <i>Krt8</i> | -0,6399 | <i>Zfp513</i> | 0,4717 | <i>Tspan1</i> | 1,0245 |
| <i>Prkg2</i> | -1,8659 | <i>Rps4x</i> | -0,6385 | <i>Tpm1</i> | 0,4728 | <i>Nuak2</i> | 1,0262 |
| <i>Cyp26b1</i> | -1,8598 | <i>Hddc2</i> | -0,6378 | <i>Bspry</i> | 0,4731 | <i>Hoxb4</i> | 1,0328 |
| <i>Kndc1</i> | -1,8515 | <i>Def6</i> | -0,6377 | <i>Fbxw17</i> | 0,4731 | <i>Dmtn</i> | 1,0338 |
| <i>Gm11451</i> | -1,8301 | <i>Gm6467</i> | -0,6366 | <i>Pop5</i> | 0,4732 | <i>Slc35g1</i> | 1,0363 |
| <i>Klk10</i> | -1,8224 | <i>Hspe1</i> | -0,6360 | <i>Llg12</i> | 0,4744 | <i>H2-DMb2</i> | 1,0389 |
| <i>Krt4</i> | -1,8159 | <i>Rps3a1</i> | -0,6359 | <i>Macf1</i> | 0,4751 | <i>Rell2</i> | 1,0390 |
| <i>Trank1</i> | -1,8074 | <i>Npm3</i> | -0,6353 | <i>Hdac6</i> | 0,4752 | <i>Izumo4</i> | 1,0401 |
| <i>RP24-363O21.3</i> | -1,7975 | <i>Pms2</i> | -0,6351 | <i>Edem3</i> | 0,4752 | <i>Btg1</i> | 1,0409 |
| <i>Lamc3</i> | -1,7970 | <i>Rpl19-ps11</i> | -0,6350 | <i>Cenpj</i> | 0,4752 | <i>Ext1</i> | 1,0458 |
| <i>Vtn1</i> | -1,7910 | <i>Syne3</i> | -0,6345 | <i>Atf6b</i> | 0,4753 | <i>Gm12276</i> | 1,0458 |
| <i>Btd11</i> | -1,7847 | <i>Nabp1</i> | -0,6344 | <i>Spint1</i> | 0,4763 | <i>Gm14276</i> | 1,0478 |
| <i>Cldn1</i> | -1,7748 | <i>Atp10a</i> | -0,6341 | <i>Sdhaf2</i> | 0,4769 | <i>Yjefn3</i> | 1,0487 |
| <i>Il33</i> | -1,7737 | <i>Eef1d</i> | -0,6335 | <i>Anxa5</i> | 0,4771 | <i>Abcc4</i> | 1,0503 |
| <i>Dsg3</i> | -1,7726 | <i>Mast4</i> | -0,6328 | <i>Fbxo33</i> | 0,4771 | <i>Gm8783</i> | 1,0539 |
| <i>Pla2g16</i> | -1,7714 | <i>Bach1</i> | -0,6328 | <i>Gskip</i> | 0,4772 | <i>Agap1</i> | 1,0553 |
| <i>Mfi2</i> | -1,7687 | <i>Rab25</i> | -0,6326 | <i>Fam83h</i> | 0,4784 | <i>Helz2</i> | 1,0565 |
| <i>Pbp2</i> | -1,7661 | <i>Rpl21-ps15</i> | -0,6325 | <i>Kif12</i> | 0,4788 | <i>Kank3</i> | 1,0575 |
| <i>Podxl</i> | -1,7326 | <i>Gm4332</i> | -0,6323 | <i>Slc44a2</i> | 0,4797 | <i>Fa2h</i> | 1,0576 |
| <i>S100a7a</i> | -1,7318 | <i>Hspbap1</i> | -0,6323 | <i>Mepce</i> | 0,4798 | <i>Csf2ra</i> | 1,0583 |
| <i>Serpib5</i> | -1,7201 | <i>Eif2d</i> | -0,6308 | <i>Specc1</i> | 0,4808 | <i>1700067K01Rik</i> | 1,0584 |
| <i>BB557941</i> | -1,7199 | <i>Tbc1d22a</i> | -0,6304 | <i>Ube4a</i> | 0,4814 | <i>Wfikn1</i> | 1,0589 |
| <i>Rpsa-ps1</i> | -1,7162 | <i>Acyp1</i> | -0,6301 | <i>Asb13</i> | 0,4821 | <i>4930481B07Rik</i> | 1,0597 |
| <i>Ahnak2</i> | -1,7162 | <i>Mipol1</i> | -0,6291 | <i>Btd7</i> | 0,4821 | <i>Frem2</i> | 1,0608 |
| <i>Fgfbp1</i> | -1,7051 | <i>Gm10288</i> | -0,6291 | <i>Camta2</i> | 0,4822 | <i>Ptp4a1</i> | 1,0665 |
| <i>Tmeff1</i> | -1,7018 | <i>1700024P16Rik</i> | -0,6288 | <i>Pip5k1c</i> | 0,4835 | <i>Cds1</i> | 1,0676 |
| <i>Cep83os</i> | -1,6997 | <i>Gm14322</i> | -0,6286 | <i>Zfp319</i> | 0,4837 | <i>Fam63a</i> | 1,0687 |
| <i>Sgk2</i> | -1,6911 | <i>Rras</i> | -0,6285 | <i>Hagh</i> | 0,4846 | <i>Sh3bp4</i> | 1,0698 |
| <i>Gm15848</i> | -1,6881 | <i>Pold2</i> | -0,6283 | <i>Mtmr2</i> | 0,4859 | <i>Itpr1</i> | 1,0719 |
| <i>Selenbp2</i> | -1,6881 | <i>Gm9115</i> | -0,6280 | <i>Camsap1</i> | 0,4860 | <i>Avil</i> | 1,0721 |
| <i>1810011O10Rik</i> | -1,6881 | <i>Cdca71</i> | -0,6270 | <i>Zfp318</i> | 0,4861 | <i>Fmnl3</i> | 1,0747 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|-------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Fkbp11</i> | -1,6827 | <i>Camk1</i> | -0,6268 | <i>Otud3</i> | 0,4871 | <i>Lgr4</i> | 1,0777 |
| <i>4930481A15Rik</i> | -1,6781 | <i>Gipc2</i> | -0,6261 | <i>Ocel1</i> | 0,4881 | <i>Gli3</i> | 1,0786 |
| <i>Lincenc1</i> | -1,6630 | <i>Stk10</i> | -0,6260 | <i>40787</i> | 0,4898 | <i>Hist1h4i</i> | 1,0790 |
| <i>Slc22a4</i> | -1,6603 | <i>Gm15501</i> | -0,6260 | <i>Atxn7l2</i> | 0,4913 | <i>Cul7</i> | 1,0851 |
| <i>Ak5</i> | -1,6554 | <i>Acy1</i> | -0,6256 | <i>Rbpms</i> | 0,4915 | <i>Tm6sf2</i> | 1,0875 |
| <i>Fxyd5</i> | -1,6547 | <i>Tprg</i> | -0,6253 | <i>2410089E03Rik</i> | 0,4923 | <i>Cpe</i> | 1,0875 |
| <i>Emp1</i> | -1,6510 | <i>Gm7665</i> | -0,6250 | <i>D1Erd622e</i> | 0,4924 | <i>Gm37422</i> | 1,0875 |
| <i>Fam71f2</i> | -1,6439 | <i>Prrc1</i> | -0,6249 | <i>Tlr3</i> | 0,4930 | <i>Slc39a8</i> | 1,0881 |
| <i>Ggta1</i> | -1,6348 | <i>Tmsb10</i> | -0,6241 | <i>Zfp608</i> | 0,4939 | <i>A730017L22Rik</i> | 1,0901 |
| <i>Gm3716</i> | -1,6150 | <i>Fancl</i> | -0,6237 | <i>Map3k10</i> | 0,4947 | <i>Gm11696</i> | 1,0958 |
| <i>Abcg2</i> | -1,6096 | <i>Rps28</i> | -0,6231 | <i>Swap70</i> | 0,4949 | <i>Tiam1</i> | 1,0974 |
| <i>Cst6</i> | -1,6090 | <i>Rplp0</i> | -0,6218 | <i>Zfp46</i> | 0,4968 | <i>Fam160a1</i> | 1,0976 |
| <i>Hspb1</i> | -1,6079 | <i>Rpl10</i> | -0,6218 | <i>Dock1</i> | 0,4971 | <i>Trp63</i> | 1,0995 |
| <i>Myh14</i> | -1,5962 | <i>Rpl29</i> | -0,6217 | <i>Nfxl1</i> | 0,4978 | <i>Cpne8</i> | 1,1008 |
| <i>Ank1</i> | -1,5880 | <i>Rps6-ps4</i> | -0,6217 | <i>Noa1</i> | 0,4982 | <i>Gm10524</i> | 1,1028 |
| <i>Gm37145</i> | -1,5850 | <i>Epb4114aos</i> | -0,6213 | <i>Morc2a</i> | 0,4990 | <i>Cdh17</i> | 1,1069 |
| <i>Cpm</i> | -1,5811 | <i>Cdca7</i> | -0,6210 | <i>Hoxb6</i> | 0,4993 | <i>Vgf</i> | 1,1103 |
| <i>Gsdma</i> | -1,5742 | <i>Pold4</i> | -0,6192 | <i>H2aff</i> | 0,5022 | <i>Fgd4</i> | 1,1106 |
| <i>Etv5</i> | -1,5716 | <i>Naf1</i> | -0,6186 | <i>Micall1</i> | 0,5023 | <i>Limch1</i> | 1,1123 |
| <i>Tmem71</i> | -1,5705 | <i>Ifi46</i> | -0,6177 | <i>Ivns1abp</i> | 0,5028 | <i>Trim21</i> | 1,1150 |
| <i>1700007L15Rik</i> | -1,5663 | <i>Pus7</i> | -0,6174 | <i>Slc22a23</i> | 0,5039 | <i>Ndufb2</i> | 1,1161 |
| <i>Ltf</i> | -1,5641 | <i>Nsa2</i> | -0,6168 | <i>Mier3</i> | 0,5042 | <i>Gpr182</i> | 1,1169 |
| <i>Gm11613</i> | -1,5629 | <i>Rpl8</i> | -0,6160 | <i>Ttc13</i> | 0,5059 | <i>Ybx2</i> | 1,1174 |
| <i>Mlf1</i> | -1,5523 | <i>Phlda2</i> | -0,6157 | <i>Sh2b1</i> | 0,5067 | <i>Gm27028</i> | 1,1186 |
| <i>Lgals1</i> | -1,5519 | <i>Gm5884</i> | -0,6155 | <i>Kat6b</i> | 0,5068 | <i>D630039A03Rik</i> | 1,1192 |
| <i>Cers3</i> | -1,5514 | <i>Mybl2</i> | -0,6151 | <i>Pigw</i> | 0,5070 | <i>Tle6</i> | 1,1198 |
| <i>Ablim1</i> | -1,5436 | <i>Ctsb</i> | -0,6151 | <i>Plod3</i> | 0,5088 | <i>Tacc1</i> | 1,1198 |
| <i>Tnfrsf1b</i> | -1,5406 | <i>Rps12-ps3</i> | -0,6150 | <i>Trim39</i> | 0,5098 | <i>Kcnj10</i> | 1,1232 |
| <i>Myo1b</i> | -1,5208 | <i>Shhg5</i> | -0,6145 | <i>Smarcad1</i> | 0,5101 | <i>A930004D18Rik</i> | 1,1245 |
| <i>Fam198b</i> | -1,5052 | <i>Rps3</i> | -0,6136 | <i>Specc11</i> | 0,5108 | <i>Irs2</i> | 1,1254 |
| <i>2310069B03Rik</i> | -1,5045 | <i>Hk2</i> | -0,6109 | <i>Cramp11</i> | 0,5108 | <i>Ndst1</i> | 1,1272 |
| <i>Rasa4</i> | -1,5036 | <i>Dnajc19</i> | -0,6103 | <i>Epc1</i> | 0,5119 | <i>Tmem120b</i> | 1,1281 |
| <i>Tmem53</i> | -1,5025 | <i>Rin1</i> | -0,6101 | <i>Cfap43</i> | 0,5120 | <i>Icosl</i> | 1,1289 |
| <i>Anxa2</i> | -1,5005 | <i>Rpl7</i> | -0,6099 | <i>Birc2</i> | 0,5127 | <i>Slc8b1</i> | 1,1312 |
| <i>Krt19</i> | -1,4982 | <i>Klf5</i> | -0,6096 | <i>Lhfp</i> | 0,5130 | <i>Stra6</i> | 1,1315 |
| <i>St6galnac2</i> | -1,4982 | <i>Rpl4</i> | -0,6095 | <i>AU040320</i> | 0,5136 | <i>Dock8</i> | 1,1318 |
| <i>Dusp5</i> | -1,4975 | <i>Rps18-ps3</i> | -0,6070 | <i>Mprip</i> | 0,5138 | <i>Adam11</i> | 1,1355 |
| <i>Spo11</i> | -1,4960 | <i>Dus2</i> | -0,6070 | <i>Tsc22d4</i> | 0,5141 | <i>Slc45a4</i> | 1,1367 |
| <i>Adssl1</i> | -1,4894 | <i>Synpo</i> | -0,6060 | <i>Mtmr10</i> | 0,5149 | <i>Gm26880</i> | 1,1427 |
| <i>Slc26a1</i> | -1,4854 | <i>Clstn1</i> | -0,6060 | <i>Fam208a</i> | 0,5170 | <i>Itgb6</i> | 1,1430 |
| <i>Gm4535</i> | -1,4800 | <i>Sil1</i> | -0,6059 | <i>Dlg1</i> | 0,5176 | <i>Plekhh2</i> | 1,1442 |
| <i>C920009B18Rik</i> | -1,4764 | <i>Ifrd2</i> | -0,6058 | <i>Secisbp2</i> | 0,5189 | <i>Gm10143</i> | 1,1449 |
| <i>Pecr</i> | -1,4695 | <i>Cct8</i> | -0,6049 | <i>Lrfn4</i> | 0,5192 | <i>Usp46</i> | 1,1450 |
| <i>Gap43</i> | -1,4695 | <i>Smox</i> | -0,6043 | <i>Slc27a4</i> | 0,5192 | <i>Gm14230</i> | 1,1455 |
| <i>Fgf5</i> | -1,4658 | <i>Oxct1</i> | -0,6043 | <i>Fosl2</i> | 0,5196 | <i>Lynx1</i> | 1,1464 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Cdc34-ps</i> | -1,4639 | <i>Nphp1</i> | -0,6034 | <i>Tor1aip1</i> | 0,5206 | <i>B4galt6</i> | 1,1466 |
| <i>Hlx</i> | -1,4584 | <i>Cdk6</i> | -0,6029 | <i>Ets1</i> | 0,5206 | <i>Abhd11os</i> | 1,1540 |
| <i>Fam163a</i> | -1,4529 | <i>Isoc1</i> | -0,6026 | <i>Parp6</i> | 0,5211 | <i>Lurap1</i> | 1,1569 |
| <i>Cd44</i> | -1,4305 | <i>Dis3</i> | -0,6023 | <i>Lactb</i> | 0,5217 | <i>Jade1</i> | 1,1609 |
| <i>Guca1a</i> | -1,4190 | <i>Gm7846</i> | -0,6012 | <i>Map3k1</i> | 0,5223 | <i>Nat14</i> | 1,1631 |
| <i>9030617003Rik</i> | -1,4187 | <i>Pycr2</i> | -0,6009 | <i>Smad7</i> | 0,5234 | <i>5330438D12Rik</i> | 1,1631 |
| <i>Endod1</i> | -1,4150 | <i>Ipo5</i> | -0,6006 | <i>Map3k9</i> | 0,5235 | <i>F730043M19Rik</i> | 1,1636 |
| <i>Fam81a</i> | -1,4142 | <i>Gga2</i> | -0,5996 | <i>Gm53</i> | 0,5253 | <i>Hist1h2bc</i> | 1,1644 |
| <i>Scarb2</i> | -1,4113 | <i>Cd81</i> | -0,5976 | <i>Igf2bp1</i> | 0,5258 | <i>Ankrd44</i> | 1,1675 |
| <i>Padi1</i> | -1,4069 | <i>Snrpa1</i> | -0,5970 | <i>Zfp715</i> | 0,5263 | <i>Opn5</i> | 1,1721 |
| <i>Wdr72</i> | -1,4005 | <i>Rpl34-ps1</i> | -0,5967 | <i>Zbtb48</i> | 0,5285 | <i>Smtnl2</i> | 1,1747 |
| <i>Dclk3</i> | -1,3994 | <i>3110082I17Rik</i> | -0,5957 | <i>BC037034</i> | 0,5296 | <i>Plet1</i> | 1,1752 |
| <i>Grasp</i> | -1,3967 | <i>Focad</i> | -0,5948 | <i>Mon2</i> | 0,5296 | <i>Fut4</i> | 1,1799 |
| <i>Fst</i> | -1,3942 | <i>Gm9625</i> | -0,5944 | <i>Fut11</i> | 0,5302 | <i>Serpine1</i> | 1,1803 |
| <i>Coq3</i> | -1,3932 | <i>Acat1</i> | -0,5942 | <i>Mbd5</i> | 0,5309 | <i>Orai2</i> | 1,1842 |
| <i>Gckr</i> | -1,3899 | <i>Fam46b</i> | -0,5937 | <i>Zfp523</i> | 0,5310 | <i>4933415A04Rik</i> | 1,1854 |
| <i>Fam161a</i> | -1,3870 | <i>Rpl15</i> | -0,5934 | <i>Fbxl19</i> | 0,5315 | <i>Izumo1</i> | 1,1859 |
| <i>Ccdc122</i> | -1,3843 | <i>Mrpl2</i> | -0,5929 | <i>Zfp251</i> | 0,5320 | <i>Pik3c2a</i> | 1,1871 |
| <i>Tpm2</i> | -1,3798 | <i>Neil1</i> | -0,5917 | <i>Ube2q1</i> | 0,5328 | <i>Zglp1</i> | 1,1876 |
| <i>Fgf11</i> | -1,3781 | <i>Epha4</i> | -0,5914 | <i>Hip1</i> | 0,5335 | <i>Gli1</i> | 1,1883 |
| <i>RP23-143J24.4</i> | -1,3750 | <i>SI00a13</i> | -0,5904 | <i>Kansl1</i> | 0,5340 | <i>Kcnk1</i> | 1,1889 |
| <i>Tomm7</i> | -1,3731 | <i>Ppap2a</i> | -0,5895 | <i>Rab3ip</i> | 0,5342 | <i>Apbb2</i> | 1,1893 |
| <i>Pter</i> | -1,3720 | <i>Eif2s1</i> | -0,5884 | <i>Zyx</i> | 0,5349 | <i>RP24-143K11.1</i> | 1,1895 |
| <i>Csrp2</i> | -1,3698 | <i>Fcho1</i> | -0,5884 | <i>Prmt2</i> | 0,5354 | <i>Psca</i> | 1,1904 |
| <i>Slpi</i> | -1,3675 | <i>Gm9794</i> | -0,5883 | <i>Sumo3</i> | 0,5360 | <i>Omp</i> | 1,1918 |
| <i>Tmprss4</i> | -1,3630 | <i>Tom1</i> | -0,5882 | <i>Dcun1d2</i> | 0,5364 | <i>Epor</i> | 1,1944 |
| <i>Evalc</i> | -1,3626 | <i>Adsl</i> | -0,5880 | <i>Pip4k2c</i> | 0,5373 | <i>Mzf1</i> | 1,1950 |
| <i>Csdc2</i> | -1,3608 | <i>Rps21</i> | -0,5879 | <i>Gpre5c</i> | 0,5374 | <i>Nyap1</i> | 1,1983 |
| <i>Steap3</i> | -1,3563 | <i>Impact</i> | -0,5875 | <i>Taok2</i> | 0,5383 | <i>Rimbp3</i> | 1,1988 |
| <i>Gm43742</i> | -1,3559 | <i>Pyroxd1</i> | -0,5872 | <i>Rnf145</i> | 0,5384 | <i>Mcf2l</i> | 1,1995 |
| <i>A530016L24Rik</i> | -1,3558 | <i>Tsr2</i> | -0,5866 | <i>Aacs</i> | 0,5386 | <i>RP23-380L19.3</i> | 1,2001 |
| <i>Bckdhb</i> | -1,3506 | <i>Cnih1</i> | -0,5849 | <i>Cpd</i> | 0,5389 | <i>B330016D10Rik</i> | 1,2025 |
| <i>Gm14306</i> | -1,3297 | <i>Rpl18a</i> | -0,5845 | <i>Nckipsd</i> | 0,5390 | <i>Gm43305</i> | 1,2047 |
| <i>Hist1h3c</i> | -1,3219 | <i>Svip</i> | -0,5840 | <i>Mmgt2</i> | 0,5420 | <i>Gm17396</i> | 1,2070 |
| <i>Tubb6</i> | -1,3169 | <i>Endog</i> | -0,5830 | <i>Acp6</i> | 0,5426 | <i>Rad9b</i> | 1,2116 |
| <i>Myo15</i> | -1,3103 | <i>AA465934</i> | -0,5829 | <i>Tcirg1</i> | 0,5431 | <i>Slc3a1</i> | 1,2118 |
| <i>Tmem151a</i> | -1,3093 | <i>Sorbs3</i> | -0,5827 | <i>Nav1</i> | 0,5434 | <i>Gm43460</i> | 1,2184 |
| <i>Fhad1</i> | -1,3040 | <i>Zfp930</i> | -0,5824 | <i>Maz</i> | 0,5436 | <i>Ttbk2</i> | 1,2187 |
| <i>Krt80</i> | -1,3025 | <i>Rps11</i> | -0,5824 | <i>Reep3</i> | 0,5444 | <i>4632428C04Rik</i> | 1,2199 |
| <i>Fam114a1</i> | -1,3017 | <i>Rpl9-ps4</i> | -0,5821 | <i>Gramd4</i> | 0,5445 | <i>Gm43457</i> | 1,2224 |
| <i>Ltbp2</i> | -1,3013 | <i>Gm5428</i> | -0,5816 | <i>Slc18a2</i> | 0,5451 | <i>Timp3</i> | 1,2224 |
| <i>Adam8</i> | -1,2977 | <i>Tfcp2l1</i> | -0,5812 | <i>Zmym6</i> | 0,5452 | <i>Cldn15</i> | 1,2224 |
| <i>Inca1</i> | -1,2942 | <i>Mrpl48</i> | -0,5811 | <i>Wdfy3</i> | 0,5453 | <i>Htr5b</i> | 1,2224 |
| <i>Fam71f1</i> | -1,2939 | <i>Arrb2</i> | -0,5811 | <i>Zbtb12</i> | 0,5465 | <i>Chd5</i> | 1,2241 |
| <i>Zdhhc2</i> | -1,2917 | <i>Mrrf</i> | -0,5809 | <i>Nucb2</i> | 0,5467 | <i>Gm43860</i> | 1,2261 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>S100a10</i> | -1,2860 | <i>Zfp185</i> | -0,5799 | <i>Iffo2</i> | 0,5469 | <i>Ppp2r3a</i> | 1,2288 |
| <i>Gm14005</i> | -1,2829 | <i>Sgms1</i> | -0,5788 | <i>Pank1</i> | 0,5473 | <i>Rasgrp2</i> | 1,2306 |
| <i>Gm28119</i> | -1,2768 | <i>Pfdn5</i> | -0,5774 | <i>Gpr137</i> | 0,5479 | <i>4933405L10Rik</i> | 1,2308 |
| <i>Tmem40</i> | -1,2652 | <i>Ostm1</i> | -0,5771 | <i>Prkcd</i> | 0,5482 | <i>Cysltr1</i> | 1,2347 |
| <i>Itga6</i> | -1,2603 | <i>Sh3bp1</i> | -0,5769 | <i>Tmem131</i> | 0,5511 | <i>Mylk</i> | 1,2355 |
| <i>Wnt4</i> | -1,2544 | <i>Trit1</i> | -0,5755 | <i>Zfp12</i> | 0,5525 | <i>Bend5</i> | 1,2359 |
| <i>Pik3cd</i> | -1,2542 | <i>Eif5a2</i> | -0,5746 | <i>Tmem68</i> | 0,5531 | <i>Phactr2</i> | 1,2382 |
| <i>Pltp</i> | -1,2526 | <i>Susd4</i> | -0,5746 | <i>Zfp668</i> | 0,5536 | <i>Tlcd2</i> | 1,2388 |
| <i>Cd93</i> | -1,2508 | <i>Snrpd2</i> | -0,5746 | <i>Mpp6</i> | 0,5537 | <i>Gm16793</i> | 1,2436 |
| <i>Dhrs7</i> | -1,2496 | <i>Emd</i> | -0,5739 | <i>BC031181</i> | 0,5539 | <i>Runx2</i> | 1,2453 |
| <i>Gm37800</i> | -1,2377 | <i>Prpsap2</i> | -0,5735 | <i>Smn</i> | 0,5544 | <i>Rasip1</i> | 1,2469 |
| <i>Zfpml</i> | -1,2358 | <i>Nup37</i> | -0,5731 | <i>Rbm15b</i> | 0,5548 | <i>2010016118Rik</i> | 1,2521 |
| <i>Emp3</i> | -1,2328 | <i>Rpl14</i> | -0,5726 | <i>Bid</i> | 0,5549 | <i>Lpin2</i> | 1,2544 |
| <i>Slc16a1</i> | -1,2263 | <i>Rpl22</i> | -0,5726 | <i>Gm15800</i> | 0,5551 | <i>Shroom4</i> | 1,2545 |
| <i>Akr1c19</i> | -1,2208 | <i>Mex3d</i> | -0,5725 | <i>Dpy1914</i> | 0,5560 | <i>Idh1</i> | 1,2559 |
| <i>Has2</i> | -1,2127 | <i>Tmem175</i> | -0,5704 | <i>Trim45</i> | 0,5560 | <i>Cnbd2</i> | 1,2584 |
| <i>Tns4</i> | -1,2118 | <i>Birc5</i> | -0,5694 | <i>Zfp428</i> | 0,5577 | <i>Irf9</i> | 1,2586 |
| <i>Tmie</i> | -1,2089 | <i>Bin1</i> | -0,5693 | <i>Sphk1</i> | 0,5585 | <i>Pclo</i> | 1,2596 |
| <i>Trappc6a</i> | -1,2039 | <i>Wdr83os</i> | -0,5693 | <i>Smpd1</i> | 0,5594 | <i>A230083G16Rik</i> | 1,2599 |
| <i>Rpp40</i> | -1,2033 | <i>Rpl17-ps5</i> | -0,5692 | <i>Map3k11</i> | 0,5594 | <i>Slc5a5</i> | 1,2622 |
| <i>Galk1</i> | -1,1994 | <i>Tuba4a</i> | -0,5688 | <i>Elavl6</i> | 0,5600 | <i>Sh2d4a</i> | 1,2659 |
| <i>Gm13056</i> | -1,1991 | <i>Arhgap8</i> | -0,5679 | <i>Zfp276</i> | 0,5603 | <i>Comp</i> | 1,2721 |
| <i>Pcyt1b</i> | -1,1936 | <i>Cstb</i> | -0,5678 | <i>C2cd2l</i> | 0,5607 | <i>Ikzf4</i> | 1,2726 |
| <i>Meis2</i> | -1,1924 | <i>Gm5805</i> | -0,5674 | <i>Zfp235</i> | 0,5611 | <i>Slc5a3</i> | 1,2731 |
| <i>Cend1</i> | -1,1885 | <i>Gm16477</i> | -0,5672 | <i>Scmh1</i> | 0,5616 | <i>Zswim6</i> | 1,2751 |
| <i>Lrrc51</i> | -1,1852 | <i>Gm11560</i> | -0,5670 | <i>Armc5</i> | 0,5619 | <i>L1cam</i> | 1,2784 |
| <i>5930403N24Rik</i> | -1,1844 | <i>Tuba1b</i> | -0,5666 | <i>Slc38a2</i> | 0,5620 | <i>Trim34a</i> | 1,2789 |
| <i>Thsd7a</i> | -1,1842 | <i>Uck2</i> | -0,5651 | <i>Bbs2</i> | 0,5634 | <i>Csf1</i> | 1,2824 |
| <i>P4ha2</i> | -1,1834 | <i>Sival1</i> | -0,5650 | <i>Slc25a20</i> | 0,5635 | <i>Scin</i> | 1,2834 |
| <i>Sdcbp2</i> | -1,1833 | <i>Slc25a24</i> | -0,5646 | <i>Plxna3</i> | 0,5638 | <i>A3galt2</i> | 1,2835 |
| <i>Serpinb6a</i> | -1,1820 | <i>Gm13394</i> | -0,5637 | <i>Als2</i> | 0,5643 | <i>Apom</i> | 1,2880 |
| <i>Krt20</i> | -1,1798 | <i>Gas5</i> | -0,5633 | <i>Bcam</i> | 0,5652 | <i>Glt28d2</i> | 1,2887 |
| <i>Dnph1</i> | -1,1750 | <i>Gm10443</i> | -0,5631 | <i>Steap2</i> | 0,5652 | <i>Ttc22</i> | 1,2895 |
| <i>P4ha1</i> | -1,1740 | <i>Tmem192</i> | -0,5630 | <i>Letmd1</i> | 0,5657 | <i>Fndc9</i> | 1,2895 |
| <i>Sbsn</i> | -1,1674 | <i>Gnb2l1</i> | -0,5630 | <i>Bcat1</i> | 0,5663 | <i>Serpinb6b</i> | 1,2920 |
| <i>Gm5297</i> | -1,1669 | <i>Wdr34</i> | -0,5629 | <i>Baz2b</i> | 0,5669 | <i>Plekha1</i> | 1,2936 |
| <i>Gpr137b</i> | -1,1576 | <i>Rlf</i> | -0,5625 | <i>Fkrp</i> | 0,5675 | <i>E230013L22Rik</i> | 1,2946 |
| <i>Slc22a21</i> | -1,1561 | <i>Rps20</i> | -0,5602 | <i>Rhot2</i> | 0,5675 | <i>Serpinb9</i> | 1,2950 |
| <i>Pthr1</i> | -1,1528 | <i>Krt18</i> | -0,5600 | <i>Trim47</i> | 0,5678 | <i>Olfm4</i> | 1,2994 |
| <i>Atp6v0a4</i> | -1,1489 | <i>Pgm1</i> | -0,5596 | <i>Cep104</i> | 0,5679 | <i>H2-T10</i> | 1,3007 |
| <i>Aifm3</i> | -1,1468 | <i>Rab11fip5</i> | -0,5586 | <i>4930522L14Rik</i> | 0,5679 | <i>Hsd11b2</i> | 1,3020 |
| <i>Pof1b</i> | -1,1464 | <i>Nhp2</i> | -0,5562 | <i>Tcf7l2</i> | 0,5680 | <i>Syt11</i> | 1,3049 |
| <i>Msln1</i> | -1,1457 | <i>Eif3e</i> | -0,5562 | <i>Ppfbp1</i> | 0,5681 | <i>Jam3</i> | 1,3049 |
| <i>A330009N23Rik</i> | -1,1436 | <i>Nme6</i> | -0,5559 | <i>Gprasp1</i> | 0,5682 | <i>Itgb8</i> | 1,3053 |
| <i>Amdhd1</i> | -1,1435 | <i>mt-Rnr2</i> | -0,5557 | <i>Cacnb3</i> | 0,5684 | <i>Gm12932</i> | 1,3081 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Sema3b</i> | -1,1412 | <i>Tbrg1</i> | -0,5550 | <i>Exog</i> | 0,5686 | <i>Hyi</i> | 1,3099 |
| <i>0610038B21Rik</i> | -1,1342 | <i>Rassf8</i> | -0,5548 | <i>Prss16</i> | 0,5687 | <i>Ksr2</i> | 1,3126 |
| <i>Tnfrsf9</i> | -1,1339 | <i>Rpl9-ps6</i> | -0,5528 | <i>Gm24270</i> | 0,5689 | <i>Aldh4a1</i> | 1,3135 |
| <i>Mrto4</i> | -1,1331 | <i>Mrpl48-ps</i> | -0,5522 | <i>B4galt3</i> | 0,5692 | <i>Adam1a</i> | 1,3184 |
| <i>Msx2</i> | -1,1306 | <i>Smad1</i> | -0,5509 | <i>Syde2</i> | 0,5695 | <i>Gprc5b</i> | 1,3188 |
| <i>Xk</i> | -1,1291 | <i>Ckap2l</i> | -0,5505 | <i>Tlr4</i> | 0,5707 | <i>Ccdc40</i> | 1,3219 |
| <i>1500011K16Rik</i> | -1,1277 | <i>Ppp1r13l</i> | -0,5500 | <i>Smyd4</i> | 0,5736 | <i>Slc4a11</i> | 1,3221 |
| <i>Muc4</i> | -1,1268 | <i>Cdk20</i> | -0,5493 | <i>Smad2</i> | 0,5741 | <i>Them6</i> | 1,3230 |
| <i>RP24-174G2.1</i> | -1,1227 | <i>Nsun2</i> | -0,5491 | <i>Iscu</i> | 0,5749 | <i>Cdk5r1</i> | 1,3239 |
| <i>Fstl3</i> | -1,1193 | <i>Sms</i> | -0,5490 | <i>Agpat3</i> | 0,5752 | <i>RP24-143K11.2</i> | 1,3286 |
| <i>Lypd3</i> | -1,1190 | <i>Tbl2</i> | -0,5486 | <i>Cic</i> | 0,5767 | <i>Matk</i> | 1,3310 |
| <i>Cav2</i> | -1,1135 | <i>Rbm3</i> | -0,5481 | <i>Afipb</i> | 0,5775 | <i>Glipr2</i> | 1,3312 |
| <i>Stbd1</i> | -1,1126 | <i>2810417H13Rik</i> | -0,5477 | <i>F2r</i> | 0,5778 | <i>Crim1</i> | 1,3332 |
| <i>Gsta4</i> | -1,1078 | <i>Rps19-ps6</i> | -0,5476 | <i>Fchsd2</i> | 0,5794 | <i>Gm7160</i> | 1,3349 |
| <i>Ephx1</i> | -1,1071 | <i>Elp4</i> | -0,5470 | <i>Serinc2</i> | 0,5795 | <i>Gm17399</i> | 1,3388 |
| <i>Rpl21-ps11</i> | -1,1051 | <i>Chchd6</i> | -0,5458 | <i>Enpp4</i> | 0,5796 | <i>Impg2</i> | 1,3429 |
| <i>Lmna</i> | -1,1047 | <i>Gm10132</i> | -0,5456 | <i>Hs6st1</i> | 0,5804 | <i>Ccdc64</i> | 1,3430 |
| <i>Dok7</i> | -1,1039 | <i>Sox9</i> | -0,5449 | <i>Gent2</i> | 0,5805 | <i>Pde8b</i> | 1,3503 |
| <i>Gls2</i> | -1,1003 | <i>Tomm5</i> | -0,5448 | <i>Exoc8</i> | 0,5811 | <i>Gm20559</i> | 1,3508 |
| <i>5031415H12Rik</i> | -1,0995 | <i>Osgep</i> | -0,5434 | <i>Nprl2</i> | 0,5811 | <i>Slc7a6</i> | 1,3512 |
| <i>Sorbs2</i> | -1,0993 | <i>Mettl1</i> | -0,5433 | <i>Wnt7b</i> | 0,5816 | <i>Npr1</i> | 1,3516 |
| <i>Gpr137b-ps</i> | -1,0952 | <i>Igf2bp2</i> | -0,5425 | <i>Gramd1c</i> | 0,5817 | <i>4930563E22Rik</i> | 1,3555 |
| <i>Ppargc1b</i> | -1,0948 | <i>Rbm8a</i> | -0,5423 | <i>Patz1</i> | 0,5825 | <i>Pik3r3</i> | 1,3560 |
| <i>Speg</i> | -1,0938 | <i>Sgol1</i> | -0,5417 | <i>Mras</i> | 0,5836 | <i>1810019D21Rik</i> | 1,3564 |
| <i>Msln</i> | -1,0936 | <i>1110059E24Rik</i> | -0,5415 | <i>4931414P19Rik</i> | 0,5841 | <i>Pdlim5</i> | 1,3571 |
| <i>Numbl</i> | -1,0818 | <i>Rpl6</i> | -0,5414 | <i>Trim46</i> | 0,5843 | <i>Col4a3</i> | 1,3599 |
| <i>Tgm1</i> | -1,0807 | <i>Rasef</i> | -0,5411 | <i>Nm4</i> | 0,5852 | <i>Hspa1b</i> | 1,3601 |
| <i>Spa17</i> | -1,0794 | <i>Sub1</i> | -0,5409 | <i>Trak2</i> | 0,5855 | <i>8430422M14Rik</i> | 1,3661 |
| <i>Gcsh</i> | -1,0790 | <i>Dus4l</i> | -0,5407 | <i>Mlst8</i> | 0,5858 | <i>Ifit2</i> | 1,3701 |
| <i>Hmga1</i> | -1,0763 | <i>Till12</i> | -0,5403 | <i>Camkk2</i> | 0,5861 | <i>Akna</i> | 1,3785 |
| <i>Card6</i> | -1,0740 | <i>Malsu1</i> | -0,5389 | <i>Usp27x</i> | 0,5878 | <i>Lgals4</i> | 1,3890 |
| <i>Nrp1</i> | -1,0727 | <i>Plod1</i> | -0,5389 | <i>Lemd2</i> | 0,5889 | <i>Dnah10</i> | 1,3899 |
| <i>Ano1</i> | -1,0721 | <i>Rpl37rt</i> | -0,5386 | <i>Zfp94</i> | 0,5891 | <i>Atp1b1</i> | 1,3946 |
| <i>Katmal2</i> | -1,0683 | <i>Snrpg</i> | -0,5380 | <i>Rab15</i> | 0,5898 | <i>Lurap1l</i> | 1,3969 |
| <i>Akr1e1</i> | -1,0668 | <i>Top1mt</i> | -0,5376 | <i>Klrg2</i> | 0,5906 | <i>Grb14</i> | 1,3976 |
| <i>Angptl2</i> | -1,0616 | <i>E2f2</i> | -0,5371 | <i>Sec23b</i> | 0,5908 | <i>Malat1</i> | 1,3981 |
| <i>Pla2g12a</i> | -1,0559 | <i>Gm9843</i> | -0,5370 | <i>Nox4</i> | 0,5910 | <i>Gbp4</i> | 1,3996 |
| <i>Il1f6</i> | -1,0556 | <i>Nudt2</i> | -0,5362 | <i>Rnf167</i> | 0,5919 | <i>Gm43034</i> | 1,4021 |
| <i>Pnkp</i> | -1,0556 | <i>Tmem54</i> | -0,5360 | <i>Plekha3</i> | 0,5920 | <i>Hal</i> | 1,4030 |
| <i>Btn1a1</i> | -1,0541 | <i>Gm6136</i> | -0,5353 | <i>4930523C07Rik</i> | 0,5926 | <i>Syne2</i> | 1,4032 |
| <i>BC029722</i> | -1,0521 | <i>Arfip1</i> | -0,5352 | <i>3110062M04Rik</i> | 0,5928 | <i>Irgq</i> | 1,4036 |
| <i>Map3k6</i> | -1,0506 | <i>Lsm7</i> | -0,5346 | <i>Samhd1</i> | 0,5943 | <i>Ddx58</i> | 1,4116 |
| <i>Tarsl2</i> | -1,0476 | <i>Zfand1</i> | -0,5346 | <i>Bst2</i> | 0,5956 | <i>Chpt1</i> | 1,4121 |
| <i>Gsap</i> | -1,0466 | <i>Gm13680</i> | -0,5346 | <i>Dennd5a</i> | 0,5957 | <i>Fgd3</i> | 1,4143 |
| <i>Rem2</i> | -1,0466 | <i>Pms1</i> | -0,5337 | <i>Skil</i> | 0,5962 | <i>6820408C15Rik</i> | 1,4150 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|-------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Eef2kmt</i> | -1,0463 | <i>Ptrf</i> | -0,5333 | <i>Sbk1</i> | 0,5967 | <i>Me1</i> | 1,4187 |
| <i>Marcks</i> | -1,0453 | <i>Bnip1</i> | -0,5329 | <i>Pde7a</i> | 0,5978 | <i>Hoxa4</i> | 1,4206 |
| <i>Akap12</i> | -1,0374 | <i>Chmp6</i> | -0,5326 | <i>Acap3</i> | 0,5996 | <i>Lbp</i> | 1,4211 |
| <i>Gm10169</i> | -1,0356 | <i>Gm4737</i> | -0,5320 | <i>Fhod1</i> | 0,5998 | <i>Vstm5</i> | 1,4219 |
| <i>Gm8129</i> | -1,0302 | <i>Rgs12</i> | -0,5320 | <i>Atxn7</i> | 0,6000 | <i>Tepp</i> | 1,4245 |
| <i>4933421A08Rik</i> | -1,0275 | <i>Gm13092</i> | -0,5312 | <i>D630045J12Rik</i> | 0,6008 | <i>Slco2a1</i> | 1,4306 |
| <i>Hmga1-rs1</i> | -1,0232 | <i>Fau</i> | -0,5307 | <i>Zbtb44</i> | 0,6018 | <i>Ppcdc</i> | 1,4307 |
| <i>Plau</i> | -1,0208 | <i>Tmem97</i> | -0,5307 | <i>Tpcn1</i> | 0,6025 | <i>Pnpla6</i> | 1,4329 |
| <i>Ttc39a</i> | -1,0204 | <i>Cdc34</i> | -0,5302 | <i>Jmjd4</i> | 0,6025 | <i>Frat2</i> | 1,4337 |
| <i>Vsnl1</i> | -1,0191 | <i>Ncapg</i> | -0,5295 | <i>Dmb</i> | 0,6030 | <i>Slco1a5</i> | 1,4371 |
| <i>Blvra</i> | -1,0166 | <i>Cast</i> | -0,5294 | <i>Rnf5</i> | 0,6050 | <i>Pcx</i> | 1,4403 |
| <i>Slc16a6</i> | -1,0141 | <i>Tctm3</i> | -0,5293 | <i>Zbtb38</i> | 0,6055 | <i>Insl3</i> | 1,4436 |
| <i>Inhbb</i> | -1,0137 | <i>Rpl9-ps7</i> | -0,5290 | <i>Tprm</i> | 0,6055 | <i>Gm11946</i> | 1,4463 |
| <i>Spire1</i> | -1,0131 | <i>Bzw2</i> | -0,5288 | <i>Col4a5</i> | 0,6068 | <i>RP24-157O12.2</i> | 1,4530 |
| <i>Sult2b1</i> | -1,0130 | <i>Nipsnap1</i> | -0,5283 | <i>Plekhg3</i> | 0,6069 | <i>Grin3b</i> | 1,4558 |
| <i>Sord</i> | -1,0116 | <i>Ncl</i> | -0,5282 | <i>Tfap2a</i> | 0,6071 | <i>Fscn2</i> | 1,4594 |
| <i>Fam65c</i> | -1,0098 | <i>Atp5g2</i> | -0,5281 | <i>Zhx3</i> | 0,6071 | <i>Lzts3</i> | 1,4614 |
| <i>S100a16</i> | -1,0096 | <i>Rpl23</i> | -0,5279 | <i>Wasf1</i> | 0,6081 | <i>Mxd4</i> | 1,4615 |
| <i>Rps27rt</i> | -1,0091 | <i>Lta4h</i> | -0,5275 | <i>Gnaq</i> | 0,6086 | <i>2900052L18Rik</i> | 1,4626 |
| <i>Nfic</i> | -1,0066 | <i>Mettl22</i> | -0,5272 | <i>Epb4114b</i> | 0,6093 | <i>Sort1</i> | 1,4649 |
| <i>Rps15a-ps7</i> | -1,0062 | <i>Znr1</i> | -0,5224 | <i>Zfp628</i> | 0,6100 | <i>Spata20</i> | 1,4687 |
| <i>Rpl36</i> | -1,0020 | <i>Pet100</i> | -0,5219 | <i>Tcf7l1</i> | 0,6100 | <i>Aspa</i> | 1,4721 |
| <i>Epdr1</i> | -1,0016 | <i>Capns1</i> | -0,5213 | <i>Gripap1</i> | 0,6103 | <i>Cttnal1</i> | 1,4735 |
| <i>Pxdc1</i> | -1,0012 | <i>Fbxo10</i> | -0,5211 | <i>Bdnf</i> | 0,6122 | <i>Muc20</i> | 1,4737 |
| <i>Areg</i> | -1,0000 | <i>Gltscr2</i> | -0,5208 | <i>Hsd17b7</i> | 0,6133 | <i>Fgf9</i> | 1,4881 |
| <i>Slc2a8</i> | -0,9969 | <i>Cdkn2aipnl</i> | -0,5208 | <i>Pikfyve</i> | 0,6135 | <i>Tbr1</i> | 1,4883 |
| <i>Drap1</i> | -0,9965 | <i>Mettl2</i> | -0,5207 | <i>Prr3</i> | 0,6137 | <i>1700102P08Rik</i> | 1,4975 |
| <i>Plekh2</i> | -0,9917 | <i>Ybx3</i> | -0,5207 | <i>Adgrl1</i> | 0,6148 | <i>B230206H07Rik</i> | 1,4988 |
| <i>Ifi205</i> | -0,9916 | <i>Ctsc</i> | -0,5203 | <i>R3hdm2</i> | 0,6150 | <i>Filip11</i> | 1,5016 |
| <i>Reck</i> | -0,9881 | <i>Ccdc107</i> | -0,5202 | <i>Rdh10</i> | 0,6165 | <i>Elfn1</i> | 1,5096 |
| <i>Gchfr</i> | -0,9865 | <i>Plcb3</i> | -0,5202 | <i>Lrrc1</i> | 0,6168 | <i>Kifc2</i> | 1,5100 |
| <i>Miip</i> | -0,9822 | <i>Kctd10</i> | -0,5201 | <i>Gm17491</i> | 0,6183 | <i>Wdr66</i> | 1,5102 |
| <i>Ccdc34</i> | -0,9820 | <i>Hprt</i> | -0,5200 | <i>Zbtb1</i> | 0,6183 | <i>Arhgap9</i> | 1,5125 |
| <i>Tekt5</i> | -0,9806 | <i>Cenpa</i> | -0,5196 | <i>Ppia</i> | 0,6188 | <i>Pou2f2</i> | 1,5146 |
| <i>Arl4c</i> | -0,9788 | <i>Mrpl28</i> | -0,5192 | <i>Atxn7l3</i> | 0,6189 | <i>Rnf225</i> | 1,5182 |
| <i>Ada</i> | -0,9787 | <i>Kif21a</i> | -0,5191 | <i>Dsn1</i> | 0,6200 | <i>P2rx2</i> | 1,5185 |
| <i>Morn1</i> | -0,9781 | <i>Slc18b1</i> | -0,5183 | <i>Stat2</i> | 0,6200 | <i>Galr2</i> | 1,5217 |
| <i>Alad</i> | -0,9775 | <i>Piga</i> | -0,5182 | <i>Prune</i> | 0,6201 | <i>D630024D03Rik</i> | 1,5220 |
| <i>Rpl36a-ps1</i> | -0,9765 | <i>Dpagt1</i> | -0,5179 | <i>St3gal3</i> | 0,6202 | <i>RP23-134H19.4</i> | 1,5236 |
| <i>Gm5786</i> | -0,9745 | <i>Rps6ka4</i> | -0,5178 | <i>Fam13b</i> | 0,6209 | <i>Cyp4b1</i> | 1,5250 |
| <i>Tpi-rs11</i> | -0,9744 | <i>Ttc32</i> | -0,5164 | <i>Lbh</i> | 0,6221 | <i>Derl3</i> | 1,5251 |
| <i>Cdkn3</i> | -0,9722 | <i>Itga7</i> | -0,5162 | <i>Tbc1d8</i> | 0,6223 | <i>Zmynd10</i> | 1,5305 |
| <i>Pdlim2</i> | -0,9707 | <i>Gm7536</i> | -0,5157 | <i>Rnf213</i> | 0,6224 | <i>A330058E17Rik</i> | 1,5325 |
| <i>Pctp</i> | -0,9695 | <i>Nfatc2</i> | -0,5152 | <i>Gba2</i> | 0,6229 | <i>Fxyd4</i> | 1,5377 |
| <i>Mettl20</i> | -0,9657 | <i>Ipp</i> | -0,5137 | <i>Usp35</i> | 0,6234 | <i>Cul9</i> | 1,5406 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|-------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Arpin</i> | -0,9599 | <i>Rps13-ps1</i> | -0,5133 | <i>Gm43737</i> | 0,6235 | <i>Gm20492</i> | 1,5406 |
| <i>Mif</i> | -0,9579 | <i>Fam185a</i> | -0,5131 | <i>Afap112</i> | 0,6236 | <i>Lrrd1</i> | 1,5425 |
| <i>Gm10275</i> | -0,9566 | <i>Tspan5</i> | -0,5123 | <i>Acvr2a</i> | 0,6243 | <i>Fgfr2</i> | 1,5426 |
| <i>Rpl13-ps6</i> | -0,9526 | <i>Tead2</i> | -0,5116 | <i>Gm26809</i> | 0,6244 | <i>Ptgs2</i> | 1,5427 |
| <i>Rpl35a</i> | -0,9511 | <i>Lsm5</i> | -0,5112 | <i>Mavs</i> | 0,6246 | <i>Bicc1</i> | 1,5470 |
| <i>Rps27a</i> | -0,9466 | <i>Tbl3</i> | -0,5112 | <i>Lmo7</i> | 0,6248 | <i>Ccdc116</i> | 1,5475 |
| <i>Plxna2</i> | -0,9452 | <i>Adi1</i> | -0,5108 | <i>Sh2d3c</i> | 0,6257 | <i>Oas1c</i> | 1,5486 |
| <i>Perp</i> | -0,9430 | <i>Cnot6l</i> | -0,5107 | <i>Fmnl2</i> | 0,6265 | <i>Cd24a</i> | 1,5488 |
| <i>Cadm4</i> | -0,9423 | <i>Tpst2</i> | -0,5099 | <i>Limd2</i> | 0,6273 | <i>Rep15</i> | 1,5493 |
| <i>Il34</i> | -0,9417 | <i>Id1</i> | -0,5092 | <i>Mob3b</i> | 0,6280 | <i>Myom1</i> | 1,5528 |
| <i>Anxa3</i> | -0,9399 | <i>Rpf2</i> | -0,5087 | <i>Rab20</i> | 0,6286 | <i>Camk2n1</i> | 1,5541 |
| <i>Msh5</i> | -0,9386 | <i>Lage3</i> | -0,5082 | <i>Ajuba</i> | 0,6288 | <i>Gm5602</i> | 1,5569 |
| <i>Mam3</i> | -0,9386 | <i>Smim15</i> | -0,5081 | <i>Hspb2</i> | 0,6296 | <i>Mycn</i> | 1,5576 |
| <i>Chst13</i> | -0,9384 | <i>Ict1</i> | -0,5080 | <i>Zfp646</i> | 0,6297 | <i>Rrad</i> | 1,5577 |
| <i>Plek2</i> | -0,9365 | <i>Pabpc1</i> | -0,5077 | <i>P3h2</i> | 0,6319 | <i>Scarf1</i> | 1,5587 |
| <i>Fbxl2</i> | -0,9326 | <i>Nsmaf</i> | -0,5077 | <i>Usp49</i> | 0,6322 | <i>Clqmf6</i> | 1,5642 |
| <i>Tnfaip8l1</i> | -0,9317 | <i>Ppid</i> | -0,5069 | <i>Zmynd8</i> | 0,6322 | <i>Cldn4</i> | 1,5765 |
| <i>Ctsl</i> | -0,9309 | <i>Klc3</i> | -0,5061 | <i>Ap1s2</i> | 0,6340 | <i>Akr1b8</i> | 1,5801 |
| <i>Bmp7</i> | -0,9303 | <i>Parn</i> | -0,5059 | <i>Cdh24</i> | 0,6345 | <i>Oas1a</i> | 1,5841 |
| <i>Rpl35a-ps2</i> | -0,9292 | <i>Ccdc66</i> | -0,5040 | <i>Prkx</i> | 0,6349 | <i>B230217C12Rik</i> | 1,5850 |
| <i>Dnajc15</i> | -0,9283 | <i>Psmb3</i> | -0,5024 | <i>Zfp182</i> | 0,6350 | <i>Psd2</i> | 1,5850 |
| <i>Znrd1as</i> | -0,9281 | <i>Rpl3</i> | -0,5024 | <i>Pkd2l2</i> | 0,6353 | <i>Pglyrp2</i> | 1,5850 |
| <i>Pgm2</i> | -0,9260 | <i>Rpl21</i> | -0,5021 | <i>Ptms</i> | 0,6357 | <i>Adgra1</i> | 1,5903 |
| <i>Glt1d1</i> | -0,9227 | <i>Rpl3-ps2</i> | -0,5013 | <i>Anxa1</i> | 0,6358 | <i>Ccl5</i> | 1,5963 |
| <i>Gm12602</i> | -0,9223 | <i>Gatsl3</i> | -0,5007 | <i>2810403A07Rik</i> | 0,6362 | <i>Chrn2</i> | 1,5972 |
| <i>Rpl38</i> | -0,9222 | <i>Xylt2</i> | -0,5004 | <i>Gm6548</i> | 0,6366 | <i>Hhip12</i> | 1,6020 |
| <i>Gpd2</i> | -0,9197 | <i>Naa10</i> | -0,5003 | <i>Blnk</i> | 0,6369 | <i>Adra2a</i> | 1,6041 |
| <i>Atg9b</i> | -0,9194 | <i>Gm6863</i> | -0,5002 | <i>Pafah2</i> | 0,6372 | <i>Gm11537</i> | 1,6049 |
| <i>Rpl41</i> | -0,9175 | <i>Pgap2</i> | -0,5001 | <i>4931406C07Rik</i> | 0,6375 | <i>Eps8l1</i> | 1,6054 |
| <i>Ribc1</i> | -0,9153 | <i>Npm1</i> | -0,4979 | <i>Slc25a45</i> | 0,6379 | <i>4933408B17Rik</i> | 1,6194 |
| <i>Arnt12</i> | -0,9148 | <i>Kif13a</i> | -0,4974 | <i>Ndufa6</i> | 0,6393 | <i>Il15</i> | 1,6253 |
| <i>Gm7993</i> | -0,9128 | <i>Epb4113</i> | -0,4971 | <i>Tns3</i> | 0,6394 | <i>Slc39a4</i> | 1,6261 |
| <i>Rpia</i> | -0,9120 | <i>Gm4294</i> | -0,4964 | <i>Fermt1</i> | 0,6395 | <i>Kctd6</i> | 1,6307 |
| <i>Gm29630</i> | -0,9069 | <i>40422</i> | -0,4963 | <i>Epb4114a</i> | 0,6397 | <i>Tnfsf13b</i> | 1,6323 |
| <i>Rpl38-ps2</i> | -0,9066 | <i>Zfp111</i> | -0,4962 | <i>Trp53bp2</i> | 0,6407 | <i>Arid3a</i> | 1,6340 |
| <i>Socs1</i> | -0,9060 | <i>Rpl17-ps10</i> | -0,4962 | <i>5033430I15Rik</i> | 0,6411 | <i>Prr22</i> | 1,6349 |
| <i>Plekhg6</i> | -0,9038 | <i>Parpbbp</i> | -0,4960 | <i>Arhgap42</i> | 0,6416 | <i>Dok3</i> | 1,6392 |
| <i>Rpl35</i> | -0,9037 | <i>Hpcal1</i> | -0,4951 | <i>Gdf11</i> | 0,6422 | <i>Cytip</i> | 1,6415 |
| <i>Bphl</i> | -0,9001 | <i>Mpzl3</i> | -0,4950 | <i>Amotl2</i> | 0,6425 | <i>Plekha4</i> | 1,6485 |
| <i>Wipi1</i> | -0,8991 | <i>Basp1</i> | -0,4948 | <i>Fat2</i> | 0,6427 | <i>Arhgef37</i> | 1,6538 |
| <i>Smim3</i> | -0,8969 | <i>Axl</i> | -0,4946 | <i>Ndr3</i> | 0,6443 | <i>Gm27343</i> | 1,6540 |
| <i>Hspb11</i> | -0,8944 | <i>Fam83d</i> | -0,4942 | <i>Ift80</i> | 0,6444 | <i>1600020E01Rik</i> | 1,6543 |
| <i>Tmem41a</i> | -0,8901 | <i>Mrps16</i> | -0,4938 | <i>Kcnk5</i> | 0,6452 | <i>Strip2</i> | 1,6556 |
| <i>Terf1</i> | -0,8894 | <i>Ube2e1</i> | -0,4935 | <i>Papd7</i> | 0,6453 | <i>Espnl</i> | 1,6605 |
| <i>Smim6</i> | -0,8892 | <i>Nfyb</i> | -0,4934 | <i>Zfp84</i> | 0,6458 | <i>Sptb</i> | 1,6652 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>2010204K13Rik</i> | -0,8891 | <i>Glrx3</i> | -0,4929 | <i>Hapln4</i> | 0,6470 | <i>4930533K18Rik</i> | 1,6724 |
| <i>Aim1</i> | -0,8887 | <i>Zfp37</i> | -0,4918 | <i>Pitpnm2</i> | 0,6493 | <i>Sec14l1</i> | 1,6764 |
| <i>Kdelc2</i> | -0,8879 | <i>Rpl14-ps1</i> | -0,4916 | <i>Cdan1</i> | 0,6494 | <i>Dsg4</i> | 1,6781 |
| <i>Akap7</i> | -0,8878 | <i>Isy1</i> | -0,4913 | <i>Myl6b</i> | 0,6505 | <i>1700001O22Rik</i> | 1,6881 |
| <i>Rpl36a-ps2</i> | -0,8878 | <i>Ybx1</i> | -0,4903 | <i>Mcam</i> | 0,6505 | <i>Prkar2b</i> | 1,6895 |
| <i>Rad9a</i> | -0,8867 | <i>Unc119</i> | -0,4891 | <i>Vps37c</i> | 0,6509 | <i>Fhod3</i> | 1,6931 |
| <i>Nphp3</i> | -0,8840 | <i>Efh2</i> | -0,4891 | <i>Cttn1</i> | 0,6510 | <i>Ecscr</i> | 1,7004 |
| <i>Pstpip2</i> | -0,8806 | <i>Ing2</i> | -0,4889 | <i>Gm43719</i> | 0,6510 | <i>Gm27209</i> | 1,7004 |
| <i>Rpl12</i> | -0,8803 | <i>Psm28</i> | -0,4877 | <i>Man2a2</i> | 0,6510 | <i>Hspa4l</i> | 1,7021 |
| <i>Dph5</i> | -0,8800 | <i>Rps5</i> | -0,4872 | <i>Ptger1</i> | 0,6511 | <i>Ltbp1</i> | 1,7059 |
| <i>Rps16</i> | -0,8778 | <i>Fntb</i> | -0,4867 | <i>Slc12a6</i> | 0,6516 | <i>Adora2a</i> | 1,7078 |
| <i>Adora1</i> | -0,8774 | <i>Mrpl1</i> | -0,4867 | <i>Chst7</i> | 0,6521 | <i>Gm13418</i> | 1,7078 |
| <i>Sepw1</i> | -0,8773 | <i>5031439G07Rik</i> | -0,4864 | <i>Slc30a4</i> | 0,6533 | <i>Gm43693</i> | 1,7078 |
| <i>Blvrb</i> | -0,8773 | <i>Mfge8</i> | -0,4863 | <i>Csrnp1</i> | 0,6534 | <i>Fam43a</i> | 1,7088 |
| <i>Nkpd1</i> | -0,8769 | <i>Zswim3</i> | -0,4863 | <i>Fndc3b</i> | 0,6552 | <i>Gm17971</i> | 1,7105 |
| <i>Nsmce1</i> | -0,8764 | <i>Fibp</i> | -0,4858 | <i>Zfp579</i> | 0,6560 | <i>Rn7sk</i> | 1,7151 |
| <i>Odc1</i> | -0,8759 | <i>Fbxw9</i> | -0,4846 | <i>Lrrc24</i> | 0,6569 | <i>Fam169a</i> | 1,7199 |
| <i>Rps19-ps7</i> | -0,8758 | <i>Srp72</i> | -0,4841 | <i>Stard10</i> | 0,6569 | <i>Baiap3</i> | 1,7264 |
| <i>Coa4</i> | -0,8745 | <i>Rpl3-ps1</i> | -0,4839 | <i>Ptprij</i> | 0,6580 | <i>A530084C06Rik</i> | 1,7306 |
| <i>Gsn</i> | -0,8742 | <i>Fh1</i> | -0,4837 | <i>Slco3a1</i> | 0,6587 | <i>Plekhg4</i> | 1,7327 |
| <i>Ckmt1</i> | -0,8742 | <i>Thoc7</i> | -0,4835 | <i>2610507B11Rik</i> | 0,6599 | <i>Fam20c</i> | 1,7362 |
| <i>Ropn11</i> | -0,8708 | <i>Stambpl1</i> | -0,4831 | <i>BC051226</i> | 0,6607 | <i>Gpr153</i> | 1,7370 |
| <i>Tpi1</i> | -0,8701 | <i>Nxn</i> | -0,4831 | <i>Snapc1</i> | 0,6613 | <i>Gm15753</i> | 1,7485 |
| <i>Tomm70a</i> | -0,8692 | <i>Scpep1</i> | -0,4826 | <i>Wdr81</i> | 0,6617 | <i>Uvrag</i> | 1,7506 |
| <i>Gm21710</i> | -0,8684 | <i>Gk</i> | -0,4814 | <i>Traf5</i> | 0,6620 | <i>Arhgap24</i> | 1,7535 |
| <i>Zfp3612</i> | -0,8655 | <i>Pofut1</i> | -0,4804 | <i>Esrp2</i> | 0,6622 | <i>Irgm1</i> | 1,7558 |
| <i>Gm4604</i> | -0,8648 | <i>Manea</i> | -0,4804 | <i>Styk1</i> | 0,6624 | <i>Gm42878</i> | 1,7574 |
| <i>Arhgap40</i> | -0,8646 | <i>Pes1</i> | -0,4800 | <i>Gm15545</i> | 0,6630 | <i>Isg15</i> | 1,7600 |
| <i>Cmss1</i> | -0,8631 | <i>Coq5</i> | -0,4798 | <i>Xrcc1</i> | 0,6644 | <i>Ncald</i> | 1,7614 |
| <i>Grhpr</i> | -0,8622 | <i>Cetn3</i> | -0,4797 | <i>Iba57</i> | 0,6645 | <i>Gm43270</i> | 1,7618 |
| <i>Gadd45g</i> | -0,8614 | <i>Nin</i> | -0,4795 | <i>Anapc16</i> | 0,6649 | <i>2310068J16Rik</i> | 1,7655 |
| <i>Gm12254</i> | -0,8603 | <i>Tctex1d2</i> | -0,4795 | <i>Ulk2</i> | 0,6652 | <i>Cp</i> | 1,7670 |
| <i>Rps26</i> | -0,8603 | <i>Pgrmc1</i> | -0,4791 | <i>Ermp1</i> | 0,6653 | <i>4930402H24Rik</i> | 1,7693 |
| <i>Pif1</i> | -0,8577 | <i>Psd4</i> | -0,4790 | <i>Itga10</i> | 0,6663 | <i>Gm20544</i> | 1,7723 |
| <i>Gm2223</i> | -0,8568 | <i>Snx6</i> | -0,4789 | <i>Slc25a38</i> | 0,6671 | <i>Col11a2</i> | 1,7767 |
| <i>Clybl</i> | -0,8551 | <i>Gtf3a</i> | -0,4789 | <i>Pfn2</i> | 0,6682 | <i>Hist1h2bg</i> | 1,7776 |
| <i>Akap17b</i> | -0,8532 | <i>Mrpl30</i> | -0,4779 | <i>Inpp5f</i> | 0,6685 | <i>Megf9</i> | 1,7813 |
| <i>Vill</i> | -0,8528 | <i>Orc5</i> | -0,4779 | <i>Edrf1</i> | 0,6685 | <i>Hs3st1</i> | 1,7853 |
| <i>Tmbim1</i> | -0,8523 | <i>Rps9</i> | -0,4769 | <i>Fanca</i> | 0,6686 | <i>Tmem91</i> | 1,7885 |
| <i>Plcd1</i> | -0,8519 | <i>Gm10282</i> | -0,4761 | <i>Znrf2</i> | 0,6687 | <i>Spire2</i> | 1,7996 |
| <i>Gm2000</i> | -0,8517 | <i>Zfpm2</i> | -0,4758 | <i>Hoxb8</i> | 0,6687 | <i>Acox2</i> | 1,8000 |
| <i>Gm10156</i> | -0,8509 | <i>Ahcy</i> | -0,4755 | <i>Prr14l</i> | 0,6687 | <i>Cldn8</i> | 1,8000 |
| <i>Rpl28-ps1</i> | -0,8470 | <i>Hmces</i> | -0,4744 | <i>Slc35a5</i> | 0,6688 | <i>Ccl9</i> | 1,8074 |
| <i>Entpd2</i> | -0,8458 | <i>Phykpl</i> | -0,4743 | <i>Tesk1</i> | 0,6691 | <i>Spaca4</i> | 1,8074 |
| <i>Krt7</i> | -0,8454 | <i>Tmem5</i> | -0,4742 | <i>Samd14</i> | 0,6702 | <i>Gm9955</i> | 1,8074 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Mdf1</i> | -0,8453 | <i>Gm10094</i> | -0,4741 | <i>Hap1</i> | 0,6703 | <i>4930426D05Rik</i> | 1,8074 |
| <i>Lor</i> | -0,8451 | <i>Mrps9</i> | -0,4741 | <i>BC021891</i> | 0,6717 | <i>Foxa1</i> | 1,8159 |
| <i>Pgk1</i> | -0,8445 | <i>Fer</i> | -0,4737 | <i>Ano8</i> | 0,6722 | <i>Cilp2</i> | 1,8171 |
| <i>Gcat</i> | -0,8424 | <i>Rp9</i> | -0,4734 | <i>Atp1a1</i> | 0,6723 | <i>Slc16a5</i> | 1,8179 |
| <i>Rpl36a</i> | -0,8401 | <i>Kxd1</i> | -0,4730 | <i>Kif3c</i> | 0,6723 | <i>Gm38056</i> | 1,8231 |
| <i>Rpl34</i> | -0,8391 | <i>Krtcap3</i> | -0,4710 | <i>Cxc5</i> | 0,6724 | <i>Fbxl22</i> | 1,8255 |
| <i>Rpl28</i> | -0,8377 | <i>Gm15427</i> | -0,4705 | <i>Slc25a10</i> | 0,6726 | <i>2210016F16Rik</i> | 1,8260 |
| <i>Creg1</i> | -0,8373 | <i>1110004F10Rik</i> | -0,4699 | <i>Slc12a7</i> | 0,6737 | <i>Gm43310</i> | 1,8278 |
| <i>Clu</i> | -0,8341 | <i>Preld1</i> | -0,4695 | <i>Mfhas1</i> | 0,6738 | <i>Ddx60</i> | 1,8285 |
| <i>Rplp1</i> | -0,8339 | <i>Uqcrb</i> | -0,4692 | <i>Coq10b</i> | 0,6738 | <i>Gm42940</i> | 1,8365 |
| <i>Rps2</i> | -0,8333 | <i>Cct5</i> | -0,4690 | <i>Cfp</i> | 0,6753 | <i>Oit1</i> | 1,8389 |
| <i>Gm10420</i> | -0,8326 | <i>Lrrc40</i> | -0,4685 | <i>Rap1gap2</i> | 0,6754 | <i>Vegfa</i> | 1,8411 |
| <i>Eif2s3x</i> | -0,8294 | <i>Dhps</i> | -0,4681 | <i>Zfp697</i> | 0,6794 | <i>Col4a4</i> | 1,8473 |
| <i>Rps10-ps1</i> | -0,8284 | <i>Ptpn21</i> | -0,4676 | <i>4931428F04Rik</i> | 0,6795 | <i>Gm37621</i> | 1,8501 |
| <i>Sfn</i> | -0,8276 | <i>Rpl10a</i> | -0,4669 | <i>Mypop</i> | 0,6798 | <i>4933413G19Rik</i> | 1,8541 |
| <i>Yif1a</i> | -0,8273 | <i>Ruvbl1</i> | -0,4669 | <i>Mast2</i> | 0,6798 | <i>Arrb1</i> | 1,8591 |
| <i>Esr1</i> | -0,8265 | <i>Eif3i</i> | -0,4666 | <i>Smap2</i> | 0,6803 | <i>Fabp3</i> | 1,8667 |
| <i>Gm14388</i> | -0,8253 | <i>Tdg</i> | -0,4659 | <i>Cpne2</i> | 0,6805 | <i>Clra</i> | 1,8669 |
| <i>Adam12</i> | -0,8235 | <i>Gar1</i> | -0,4648 | <i>Arhgef3</i> | 0,6806 | <i>Hsd17b11</i> | 1,8685 |
| <i>Rpl39</i> | -0,8235 | <i>Serbp1</i> | -0,4645 | <i>Zscan2</i> | 0,6808 | <i>Igsf5</i> | 1,8698 |
| <i>Enkur</i> | -0,8231 | <i>Chtf18</i> | -0,4644 | <i>Thn2</i> | 0,6809 | <i>Sorcs2</i> | 1,8701 |
| <i>Bbs12</i> | -0,8223 | <i>Farsb</i> | -0,4644 | <i>Cxcl5</i> | 0,6818 | <i>Serpinf2</i> | 1,8908 |
| <i>Rps14</i> | -0,8201 | <i>Ccng1</i> | -0,4641 | <i>Rusc1</i> | 0,6831 | <i>Ugt8a</i> | 1,8946 |
| <i>Rps16-ps2</i> | -0,8185 | <i>Usp6nl</i> | -0,4637 | <i>Fxr2</i> | 0,6837 | <i>Gm9522</i> | 1,8995 |
| <i>Morn4</i> | -0,8170 | <i>Hmbs</i> | -0,4635 | <i>Lin9</i> | 0,6848 | <i>Agmo</i> | 1,9018 |
| <i>1110004E09Rik</i> | -0,8167 | <i>Gm4204</i> | -0,4634 | <i>Zfp236</i> | 0,6849 | <i>Oasl2</i> | 1,9088 |
| <i>Azin2</i> | -0,8156 | <i>Mrpl15</i> | -0,4608 | <i>Sft2d3</i> | 0,6851 | <i>Itga1</i> | 1,9120 |
| <i>Tmem238</i> | -0,8154 | <i>Phlda3</i> | -0,4605 | <i>Slc25a19</i> | 0,6853 | <i>Tc2n</i> | 1,9147 |
| <i>Rps12</i> | -0,8153 | <i>Sgk3</i> | -0,4604 | <i>Psd3</i> | 0,6859 | <i>Trim12a</i> | 1,9303 |
| <i>Il17re</i> | -0,8130 | <i>Did1</i> | -0,4599 | <i>Galm</i> | 0,6876 | <i>Fam179a</i> | 1,9329 |
| <i>Tmem98</i> | -0,8127 | <i>Smurf1</i> | -0,4592 | <i>Gm16314</i> | 0,6882 | <i>Gm16209</i> | 1,9329 |
| <i>Gm2a</i> | -0,8117 | <i>Fundc2</i> | -0,4591 | <i>Edn1</i> | 0,6898 | <i>Slc25a48</i> | 1,9344 |
| <i>Rpl17</i> | -0,8111 | <i>Slc39a11</i> | -0,4582 | <i>Rn18s-rs5</i> | 0,6900 | <i>Casp14</i> | 1,9381 |
| <i>Dis3l2</i> | -0,8108 | <i>Vars2</i> | -0,4582 | <i>Glis3</i> | 0,6900 | <i>Tns1</i> | 1,9414 |
| <i>Eya2</i> | -0,8103 | <i>Nufip1</i> | -0,4582 | <i>Rere</i> | 0,6902 | <i>Gem</i> | 1,9441 |
| <i>Tmem205</i> | -0,8100 | <i>Thbs3</i> | -0,4580 | <i>Frmd4b</i> | 0,6910 | <i>Nos2</i> | 1,9475 |
| <i>Apool</i> | -0,8092 | <i>Znhit3</i> | -0,4575 | <i>Bpgm</i> | 0,6915 | <i>Oas1g</i> | 1,9497 |
| <i>Adamtsl4</i> | -0,8085 | <i>Rad23a</i> | -0,4560 | <i>Mllt11</i> | 0,6940 | <i>Heyl</i> | 1,9502 |
| <i>Mum111</i> | -0,8078 | <i>Mrps10</i> | -0,4558 | <i>Pde5a</i> | 0,6940 | <i>Muc1</i> | 1,9522 |
| <i>Eef1g</i> | -0,8076 | <i>Lrrc8b</i> | -0,4548 | <i>Epn2</i> | 0,6945 | <i>Hist1h1c</i> | 1,9619 |
| <i>Celf2</i> | -0,8070 | <i>Lnp</i> | -0,4544 | <i>Hipk1</i> | 0,6956 | <i>Trabd2b</i> | 1,9709 |
| <i>Rpl31</i> | -0,8061 | <i>Clic1</i> | -0,4544 | <i>Atp11a</i> | 0,6961 | <i>Mapk4</i> | 1,9733 |
| <i>Rps23</i> | -0,8060 | <i>Fam57a</i> | -0,4540 | <i>4932438A13Rik</i> | 0,6970 | <i>Cfap69</i> | 1,9763 |
| <i>Hilpda</i> | -0,8057 | <i>Capza1</i> | -0,4527 | <i>Ehd4</i> | 0,6971 | <i>Gfap</i> | 1,9866 |
| <i>Tagln2</i> | -0,8043 | <i>Ndufb5</i> | -0,4524 | <i>Mllt3</i> | 0,6972 | <i>Myom3</i> | 1,9938 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Stom</i> | -0,8029 | <i>Zcchc17</i> | -0,4524 | <i>Aktip</i> | 0,6981 | <i>Gm15418</i> | 2,0000 |
| <i>Cep41</i> | -0,8024 | <i>Krtcap2</i> | -0,4507 | <i>Parp8</i> | 0,6983 | <i>4930511M06Rik</i> | 2,0000 |
| <i>Gm11942</i> | -0,8019 | <i>Dhrs1</i> | -0,4503 | <i>Asb1</i> | 0,6983 | <i>Dao</i> | 2,0082 |
| <i>Gsto1</i> | -0,8015 | <i>Plekha7</i> | -0,4501 | <i>Ppt2</i> | 0,6986 | <i>Tbxa2r</i> | 2,0116 |
| <i>Ifitm10</i> | -0,7995 | <i>Eef1b2</i> | -0,4499 | <i>Arhgef9</i> | 0,6989 | <i>Ppp1r3f</i> | 2,0128 |
| <i>Map3k8</i> | -0,7976 | <i>Sde2</i> | -0,4498 | <i>Acap1</i> | 0,6994 | <i>Ccnjl</i> | 2,0169 |
| <i>Irf8</i> | -0,7968 | <i>Emc2</i> | -0,4497 | <i>Mal</i> | 0,6997 | <i>Trpv3</i> | 2,0224 |
| <i>Tatdn3</i> | -0,7962 | <i>Banf1</i> | -0,4496 | <i>Phf6</i> | 0,7000 | <i>Cish</i> | 2,0240 |
| <i>Rpl26</i> | -0,7961 | <i>Me2</i> | -0,4493 | <i>Slc39a6</i> | 0,7002 | <i>Fam188b</i> | 2,0300 |
| <i>Gm10076</i> | -0,7955 | <i>Snrpd1</i> | -0,4493 | <i>Pomgnt1</i> | 0,7019 | <i>Sycp3</i> | 2,0410 |
| <i>Rhbdl2</i> | -0,7953 | <i>Polr2h</i> | -0,4472 | <i>Foxc1</i> | 0,7022 | <i>4930512B01Rik</i> | 2,0561 |
| <i>Sptssa</i> | -0,7951 | <i>Ckap2</i> | -0,4471 | <i>Kmt2d</i> | 0,7028 | <i>Hic1</i> | 2,0641 |
| <i>Garnl3</i> | -0,7922 | <i>Tmem9</i> | -0,4461 | <i>Gm9958</i> | 0,7032 | <i>Ampd3</i> | 2,0678 |
| <i>Dip2c</i> | -0,7916 | <i>Zranb2</i> | -0,4461 | <i>Lgr6</i> | 0,7033 | <i>Slc5a9</i> | 2,0704 |
| <i>Klf4</i> | -0,7915 | <i>Nt5dc1</i> | -0,4452 | <i>Tmem62</i> | 0,7035 | <i>Tgfbr3</i> | 2,0716 |
| <i>Rps2-ps13</i> | -0,7904 | <i>Cpt2</i> | -0,4447 | <i>Casd1</i> | 0,7051 | <i>Rnasel</i> | 2,0734 |
| <i>Rpl31-ps8</i> | -0,7903 | <i>Adamts15</i> | -0,4446 | <i>Klf13</i> | 0,7053 | <i>B230312C02Rik</i> | 2,0780 |
| <i>Rps10</i> | -0,7898 | <i>Hat1</i> | -0,4443 | <i>Rom1</i> | 0,7058 | <i>Ggt1</i> | 2,0875 |
| <i>Mov10</i> | -0,7894 | <i>Ppm11</i> | -0,4435 | <i>Spg7</i> | 0,7074 | <i>Crb2</i> | 2,0995 |
| <i>Adgre5</i> | -0,7890 | <i>Fkbp5</i> | -0,4423 | <i>Rac3</i> | 0,7077 | <i>Tmem59l</i> | 2,1008 |
| <i>Slc29a1</i> | -0,7888 | <i>Fbl</i> | -0,4422 | <i>Pls3</i> | 0,7084 | <i>Igtp</i> | 2,1035 |
| <i>2610301B20Rik</i> | -0,7870 | <i>Slc25a4</i> | -0,4417 | <i>Zfp239</i> | 0,7096 | <i>Lppr4</i> | 2,1065 |
| <i>Dusp10</i> | -0,7867 | <i>B9d1</i> | -0,4414 | <i>Atp8b1</i> | 0,7096 | <i>Bpi</i> | 2,1155 |
| <i>Rpl27-ps3</i> | -0,7863 | <i>Ppa2</i> | -0,4413 | <i>Camk2d</i> | 0,7101 | <i>Ppara</i> | 2,1155 |
| <i>A630095E13Rik</i> | -0,7858 | <i>Gm13736</i> | -0,4410 | <i>Gm27003</i> | 0,7110 | <i>2310014F06Rik</i> | 2,1155 |
| <i>Rpl30</i> | -0,7851 | <i>Clns1a</i> | -0,4409 | <i>Dock9</i> | 0,7115 | <i>Gpx2</i> | 2,1197 |
| <i>Rps15a-ps6</i> | -0,7846 | <i>Timm13</i> | -0,4407 | <i>Mex3b</i> | 0,7121 | <i>Il11</i> | 2,1414 |
| <i>Acsf2</i> | -0,7841 | <i>Prim1</i> | -0,4399 | <i>Phf8</i> | 0,7122 | <i>Anxa9</i> | 2,1449 |
| <i>Dgat2</i> | -0,7836 | <i>App11</i> | -0,4395 | <i>Mtus1</i> | 0,7137 | <i>Cldn22</i> | 2,1497 |
| <i>Aldoa</i> | -0,7831 | <i>Mpzl2</i> | -0,4394 | <i>Cyth1</i> | 0,7146 | <i>Gfod1</i> | 2,1510 |
| <i>Nudt19</i> | -0,7822 | <i>Ccdc85b</i> | -0,4389 | <i>Rhof</i> | 0,7149 | <i>Mir8102</i> | 2,1699 |
| <i>Serpina3g</i> | -0,7815 | <i>2810428115Rik</i> | -0,4389 | <i>Cep95</i> | 0,7151 | <i>Cxcl3</i> | 2,1699 |
| <i>Igsf3</i> | -0,7805 | <i>Celsr1</i> | -0,4387 | <i>Trp53inp2</i> | 0,7165 | <i>Cxcl10</i> | 2,1707 |
| <i>Nadsyn1</i> | -0,7796 | <i>Mrpl50</i> | -0,4383 | <i>Vgll4</i> | 0,7166 | <i>Srgap3</i> | 2,1782 |
| <i>Ghr</i> | -0,7794 | <i>Chmp4c</i> | -0,4382 | <i>Rgl3</i> | 0,7174 | <i>Itgb3</i> | 2,1852 |
| <i>Gdpd5</i> | -0,7788 | <i>Tuba1c</i> | -0,4378 | <i>Apoe</i> | 0,7183 | <i>Gm7329</i> | 2,1926 |
| <i>Alg3</i> | -0,7785 | <i>Mcm10</i> | -0,4371 | <i>Sfxn2</i> | 0,7187 | <i>Ccno</i> | 2,1975 |
| <i>Rps25</i> | -0,7780 | <i>Irak1bp1</i> | -0,4370 | <i>Samd4</i> | 0,7201 | <i>Rnf43</i> | 2,2042 |
| <i>Rpl32</i> | -0,7774 | <i>2700029M09Rik</i> | -0,4370 | <i>Stxbp1</i> | 0,7205 | <i>Ggt7</i> | 2,2101 |
| <i>Ehd2</i> | -0,7763 | <i>Rnf219</i> | -0,4370 | <i>Cdc42se1</i> | 0,7205 | <i>Gm5082</i> | 2,2130 |
| <i>Rps7</i> | -0,7756 | <i>Nudt4</i> | -0,4357 | <i>Rc3h2</i> | 0,7208 | <i>Tnf</i> | 2,2278 |
| <i>Rpl5</i> | -0,7753 | <i>Cct4</i> | -0,4355 | <i>Ppp2r5b</i> | 0,7209 | <i>Phyhipl</i> | 2,2288 |
| <i>Scd2</i> | -0,7733 | <i>Eif3f</i> | -0,4354 | <i>Gm21967</i> | 0,7209 | <i>Cmpk2</i> | 2,2321 |
| <i>Nif3l1</i> | -0,7720 | <i>Wnt7a</i> | -0,4348 | <i>Gylt1b</i> | 0,7211 | <i>Mxra8</i> | 2,2353 |
| <i>Pgk1-rs7</i> | -0,7719 | <i>Gm11847</i> | -0,4346 | <i>Rundc3a</i> | 0,7215 | <i>Adh7</i> | 2,2479 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|-----------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Elk3</i> | -0,7715 | <i>Cltb</i> | -0,4345 | <i>Sardh</i> | 0,7221 | <i>Spock2</i> | 2,2587 |
| <i>Bsg</i> | -0,7715 | <i>Pitrm1</i> | -0,4338 | <i>Junb</i> | 0,7224 | <i>Gm14057</i> | 2,2599 |
| <i>9130008F23Rik</i> | -0,7707 | <i>Shisa5</i> | -0,4333 | <i>Nol4</i> | 0,7240 | <i>Car2</i> | 2,2650 |
| <i>Map3k7cl</i> | -0,7692 | <i>Eif3h</i> | -0,4327 | <i>Kctd2</i> | 0,7242 | <i>Was</i> | 2,2709 |
| <i>Pcolce2</i> | -0,7691 | <i>Eefsec</i> | -0,4324 | <i>Rgmb</i> | 0,7244 | <i>Otoa</i> | 2,2854 |
| <i>Gm14648</i> | -0,7683 | <i>Wfdc2</i> | -0,4322 | <i>Cd14</i> | 0,7245 | <i>Plagl1</i> | 2,3198 |
| <i>Cc2d2a</i> | -0,7631 | <i>Tubb5</i> | -0,4321 | <i>Hexim1</i> | 0,7252 | <i>Syt12</i> | 2,3219 |
| <i>Neil3</i> | -0,7612 | <i>Ddx56</i> | -0,4303 | <i>Arhgap32</i> | 0,7256 | <i>C1s1</i> | 2,3219 |
| <i>Casp6</i> | -0,7610 | <i>Prmt7</i> | -0,4294 | <i>Bok</i> | 0,7257 | <i>Tmprss6</i> | 2,3219 |
| <i>Pla2g7</i> | -0,7608 | <i>Rell1</i> | -0,4288 | <i>Slc4a7</i> | 0,7258 | <i>Spon2</i> | 2,3334 |
| <i>Gm13192</i> | -0,7603 | <i>Cpsf3</i> | -0,4287 | <i>Mrps6</i> | 0,7308 | <i>Cobl1</i> | 2,3366 |
| <i>Rpl11</i> | -0,7582 | <i>Cks2</i> | -0,4281 | <i>Fcho2</i> | 0,7317 | <i>Ptprr</i> | 2,3366 |
| <i>Fosl1</i> | -0,7578 | <i>Bace1</i> | -0,4279 | <i>Lmbrd2</i> | 0,7321 | <i>Pinlyp</i> | 2,3370 |
| <i>Gm14586</i> | -0,7554 | <i>Alg5</i> | -0,4276 | <i>Btg2</i> | 0,7325 | <i>1700016C15Rik</i> | 2,3370 |
| <i>Rps26-ps1</i> | -0,7552 | <i>Uqcrh</i> | -0,4269 | <i>Prob1</i> | 0,7332 | <i>Irgm2</i> | 2,3394 |
| <i>Acp1</i> | -0,7550 | <i>Naa50</i> | -0,4252 | <i>Nmrk1</i> | 0,7338 | <i>Nacad</i> | 2,3450 |
| <i>Tnfaip3</i> | -0,7545 | <i>Xxylt1</i> | -0,4249 | <i>Slc7a4</i> | 0,7351 | <i>Lrp2</i> | 2,3479 |
| <i>E330009J07Rik</i> | -0,7525 | <i>Slc25a12</i> | -0,4241 | <i>Slc7a1</i> | 0,7357 | <i>Slc46a2</i> | 2,3576 |
| <i>Rab31</i> | -0,7522 | <i>Edem2</i> | -0,4237 | <i>Ahcyl2</i> | 0,7362 | <i>Pde1c</i> | 2,3599 |
| <i>Dusp7</i> | -0,7518 | <i>Clasp2</i> | -0,4234 | <i>Spag1</i> | 0,7370 | <i>Aqp6</i> | 2,3717 |
| <i>Isg20</i> | -0,7514 | <i>Ctbp1</i> | -0,4234 | <i>Elf1</i> | 0,7374 | <i>S100g</i> | 2,3720 |
| <i>Hdhd3</i> | -0,7507 | <i>Memo1</i> | -0,4233 | <i>Klhdc8a</i> | 0,7379 | <i>Scube3</i> | 2,3720 |
| <i>Vamp5</i> | -0,7506 | <i>Tmem209</i> | -0,4226 | <i>Gaa</i> | 0,7383 | <i>Atp10b</i> | 2,3767 |
| <i>Gm4366</i> | -0,7504 | <i>Naca</i> | -0,4210 | <i>C4a</i> | 0,7385 | <i>Cdk11</i> | 2,3814 |
| <i>Chid1</i> | -0,7491 | <i>Sar1b</i> | -0,4208 | <i>Arap2</i> | 0,7388 | <i>Fam53b</i> | 2,3837 |
| <i>Apln</i> | -0,7482 | <i>Ebna1bp2</i> | -0,4204 | <i>D930015E06Rik</i> | 0,7408 | <i>Gm9959</i> | 2,3890 |
| <i>Gm3756</i> | -0,7465 | <i>AW209491</i> | -0,4203 | <i>Steap1</i> | 0,7412 | <i>Gm43162</i> | 2,3923 |
| <i>Gm12918</i> | -0,7450 | <i>Ppib</i> | -0,4201 | <i>Dusp8</i> | 0,7426 | <i>Maf</i> | 2,3923 |
| <i>Avpi1</i> | -0,7448 | <i>Haus1</i> | -0,4200 | <i>Gm29170</i> | 0,7452 | <i>Gm15411</i> | 2,3945 |
| <i>Rps19</i> | -0,7445 | <i>Gm15210</i> | -0,4189 | <i>Dag1</i> | 0,7472 | <i>Ctgf</i> | 2,3948 |
| <i>Il17rd</i> | -0,7437 | <i>Nsf</i> | -0,4184 | <i>Cdc42bpg</i> | 0,7475 | <i>Sema7a</i> | 2,3968 |
| <i>Stoml2</i> | -0,7428 | <i>Mrpl13</i> | -0,4179 | <i>Pip5k1b</i> | 0,7483 | <i>Cyp2d9</i> | 2,4021 |
| <i>Frm4a</i> | -0,7428 | <i>Gpc4</i> | -0,4178 | <i>2410131K14Rik</i> | 0,7485 | <i>Papln</i> | 2,4025 |
| <i>Dll1</i> | -0,7427 | <i>Nqo2</i> | -0,4173 | <i>Slc35b4</i> | 0,7502 | <i>Lgals7</i> | 2,4060 |
| <i>Abhd14a</i> | -0,7419 | <i>Hdgfrp3</i> | -0,4166 | <i>Usp20</i> | 0,7516 | <i>Pmepa1</i> | 2,4067 |
| <i>Rplp2</i> | -0,7417 | <i>Cnbp</i> | -0,4162 | <i>Gm37795</i> | 0,7517 | <i>Tas1r3</i> | 2,4086 |
| <i>Sirt5</i> | -0,7403 | <i>Ndufb10</i> | -0,4159 | <i>Rilpl1</i> | 0,7519 | <i>Nadk2</i> | 2,4212 |
| <i>Tjp1</i> | -0,7398 | <i>Atic</i> | -0,4153 | <i>Rab11fip2</i> | 0,7542 | <i>Mir681</i> | 2,4330 |
| <i>Rps8</i> | -0,7387 | <i>Sap30</i> | -0,4152 | <i>Gpsm1</i> | 0,7557 | <i>Pga5</i> | 2,4406 |
| <i>Rps2-ps10</i> | -0,7387 | <i>Pkig</i> | -0,4149 | <i>Wwc1</i> | 0,7565 | <i>Slc16a12</i> | 2,4406 |
| <i>Txnrd1</i> | -0,7385 | <i>Ppp1r2</i> | -0,4145 | <i>Epn3</i> | 0,7565 | <i>Abi3bp</i> | 2,4412 |
| <i>Rhoc</i> | -0,7377 | <i>Eif5a</i> | -0,4145 | <i>Vwa5a</i> | 0,7571 | <i>Lypd2</i> | 2,4535 |
| <i>D8Erd82e</i> | -0,7370 | <i>Ddah1</i> | -0,4143 | <i>Mfsd11</i> | 0,7595 | <i>Akap4</i> | 2,4594 |
| <i>Trdmt1</i> | -0,7370 | <i>Cdc20</i> | -0,4113 | <i>St3gal1</i> | 0,7607 | <i>Alcam</i> | 2,4594 |
| <i>Sec61g</i> | -0,7363 | <i>Dctpp1</i> | -0,4108 | <i>Nav2</i> | 0,7615 | <i>Cd79b</i> | 2,4594 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|-----------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Trpm4</i> | -0,7346 | <i>Utp11l</i> | -0,4103 | <i>Tmem2</i> | 0,7617 | <i>Nrip3</i> | 2,4767 |
| <i>Gm10736</i> | -0,7340 | <i>Vamp3</i> | -0,4083 | <i>Peli1</i> | 0,7650 | <i>4921506M07Rik</i> | 2,4814 |
| <i>Gm3788</i> | -0,7333 | <i>Dusp14</i> | -0,4079 | <i>Tle2</i> | 0,7656 | <i>1700039E22Rik</i> | 2,4854 |
| <i>9530053A07Rik</i> | -0,7331 | <i>Snx5</i> | -0,4069 | <i>Mybl1</i> | 0,7666 | <i>Clec2l</i> | 2,4948 |
| <i>Snrpe</i> | -0,7327 | <i>Sgpp1</i> | -0,4064 | <i>Ppp1r10</i> | 0,7672 | <i>Edar</i> | 2,4975 |
| <i>Mthfd11</i> | -0,7324 | <i>Sash1</i> | -0,4046 | <i>Xbp1</i> | 0,7708 | <i>Gm6736</i> | 2,4983 |
| <i>P2rx4</i> | -0,7319 | <i>Prps1</i> | -0,4040 | <i>Rcan1</i> | 0,7713 | <i>Tnfsf15</i> | 2,4996 |
| <i>Marc2</i> | -0,7309 | <i>Hmgn5</i> | -0,4040 | <i>Gpr157</i> | 0,7718 | <i>Ffar4</i> | 2,5004 |
| <i>Tspo</i> | -0,7293 | <i>Atr</i> | -0,4035 | <i>Arhgef12</i> | 0,7723 | <i>Clstn3</i> | 2,5004 |
| <i>Dusp4</i> | -0,7289 | <i>C1qbp</i> | -0,4021 | <i>E030030I06Rik</i> | 0,7724 | <i>Slc45a3</i> | 2,5025 |
| <i>Hint2</i> | -0,7288 | <i>Nup43</i> | -0,4019 | <i>Mthfd2</i> | 0,7726 | <i>Itgb2l</i> | 2,5078 |
| <i>Nipal4</i> | -0,7273 | <i>Nbeal2</i> | -0,4001 | <i>Dfna5</i> | 0,7738 | <i>Gm6445</i> | 2,5146 |
| <i>Eif3s6-ps2</i> | -0,7267 | <i>Psmab6</i> | -0,3996 | <i>Slc24a5</i> | 0,7748 | <i>Gal3st1</i> | 2,5239 |
| <i>Rpl37a</i> | -0,7267 | <i>Bckdk</i> | -0,3973 | <i>Ehf</i> | 0,7752 | <i>38231</i> | 2,5366 |
| <i>Got2</i> | -0,7259 | <i>Tpm3</i> | -0,3955 | <i>Fam102a</i> | 0,7767 | <i>Col27a1</i> | 2,5443 |
| <i>Rpl39-ps</i> | -0,7256 | <i>Map7d1</i> | -0,3951 | <i>Ptch1</i> | 0,7768 | <i>Cfap46</i> | 2,5443 |
| <i>Wdr54</i> | -0,7225 | <i>Atp5d</i> | -0,3949 | <i>Mppe1</i> | 0,7782 | <i>Tg</i> | 2,5489 |
| <i>Fmn1l</i> | -0,7224 | <i>Cct2</i> | -0,3944 | <i>Sema4c</i> | 0,7789 | <i>Cdh16</i> | 2,5519 |
| <i>Yif1b</i> | -0,7222 | <i>Sod2</i> | -0,3940 | <i>Gm527</i> | 0,7795 | <i>Bmf</i> | 2,5539 |
| <i>Rps18</i> | -0,7218 | <i>Tra2b</i> | -0,3939 | <i>Arhgef25</i> | 0,7803 | <i>Dusp6</i> | 2,5755 |
| <i>Gm11361</i> | -0,7217 | <i>Serpinh1</i> | -0,3938 | <i>Rgs2</i> | 0,7805 | <i>Car5b</i> | 2,5760 |
| <i>Vat1</i> | -0,7213 | <i>Ndufv2</i> | -0,3937 | <i>Furin</i> | 0,7808 | <i>Irf7</i> | 2,5772 |
| <i>Reep4</i> | -0,7196 | <i>Pebp1</i> | -0,3937 | <i>App</i> | 0,7820 | <i>Pth2r</i> | 2,5850 |
| <i>Prss23</i> | -0,7190 | <i>Galnt3</i> | -0,3918 | <i>Snx30</i> | 0,7836 | <i>Ifit1</i> | 2,5911 |
| <i>Anp32a</i> | -0,7187 | <i>Taf1d</i> | -0,3917 | <i>Kif5a</i> | 0,7845 | <i>Lect1</i> | 2,5943 |
| <i>Chchd10</i> | -0,7180 | <i>Smn1</i> | -0,3912 | <i>Sh3tc2</i> | 0,7855 | <i>Igfbp7</i> | 2,6003 |
| <i>Rpl7a-ps5</i> | -0,7174 | <i>Ddx49</i> | -0,3911 | <i>Dqx1</i> | 0,7863 | <i>Rasl11b</i> | 2,6034 |
| <i>Syng2</i> | -0,7169 | <i>Ccnf</i> | -0,3908 | <i>Sipa1l2</i> | 0,7878 | <i>Gja5</i> | 2,6082 |
| <i>Xrcc6bp1</i> | -0,7165 | <i>Drg2</i> | -0,3908 | <i>Tmco3</i> | 0,7883 | <i>Arc</i> | 2,6219 |
| <i>Foxn1</i> | -0,7164 | <i>Prdx3</i> | -0,3899 | <i>Rbbp9</i> | 0,7900 | <i>Crlf1</i> | 2,6242 |
| <i>Trim16</i> | -0,7162 | <i>Ehbp1l1</i> | -0,3887 | <i>Nbeal1</i> | 0,7900 | <i>Abcc6</i> | 2,6323 |
| <i>Rps13</i> | -0,7161 | <i>Ola1</i> | -0,3883 | <i>Grk5</i> | 0,7909 | <i>Rap1gap</i> | 2,6375 |
| <i>Lactb2</i> | -0,7151 | <i>Cct6a</i> | -0,3875 | <i>Slc22a15</i> | 0,7915 | <i>Gm42528</i> | 2,6410 |
| <i>Rps15</i> | -0,7143 | <i>Dpy30</i> | -0,3860 | <i>Leng9</i> | 0,7923 | <i>Xaf1</i> | 2,6420 |
| <i>Slc25a17</i> | -0,7139 | <i>Dcun1d5</i> | -0,3850 | <i>Ngfrap1</i> | 0,7924 | <i>Ip6k3</i> | 2,6630 |
| <i>Gbe1</i> | -0,7131 | <i>Pmpcb</i> | -0,3844 | <i>Mocos</i> | 0,7931 | <i>Plb1</i> | 2,6630 |
| <i>Gjb3</i> | -0,7125 | <i>Llph</i> | -0,3832 | <i>Zcchc2</i> | 0,7937 | <i>Ccl2</i> | 2,6738 |
| <i>Rpl13</i> | -0,7117 | <i>Nsfl1c</i> | -0,3824 | <i>Stap2</i> | 0,7945 | <i>Cyp4a12a</i> | 2,6910 |
| <i>Ptk2b</i> | -0,7111 | <i>Rpl36al</i> | -0,3823 | <i>Mfsd6l</i> | 0,7950 | <i>Nqo1</i> | 2,6977 |
| <i>Eepd1</i> | -0,7109 | <i>Slc11a2</i> | -0,3814 | <i>5930420M18Rik</i> | 0,7959 | <i>Rsad2</i> | 2,6979 |
| <i>Atp5k</i> | -0,7099 | <i>Ap2a2</i> | -0,3794 | <i>Efnb3</i> | 0,7970 | <i>Oas1b</i> | 2,7337 |
| <i>Sh3bp5</i> | -0,7091 | <i>Tex10</i> | -0,3770 | <i>Pla2g6</i> | 0,7985 | <i>Gm13986</i> | 2,7370 |
| <i>Rpl19</i> | -0,7089 | <i>Ndufa10</i> | -0,3757 | <i>Fbxo2</i> | 0,7998 | <i>Stard8</i> | 2,7442 |
| <i>Rps17</i> | -0,7085 | <i>Dlst</i> | -0,3757 | <i>Stradb</i> | 0,8015 | <i>Ppap2b</i> | 2,7526 |
| <i>Tigd2</i> | -0,7078 | <i>Xrcc6</i> | -0,3756 | <i>Six5</i> | 0,8017 | <i>Klhl14</i> | 2,7631 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | | |
|---|---------|----------------------|---------|---|--------|----------------------|--------|
| <i>Rps24</i> | -0,7057 | <i>2700060E02Rik</i> | -0,3753 | <i>Crebzf</i> | 0,8025 | <i>Cxcl11</i> | 2,7655 |
| <i>Vrk2</i> | -0,7049 | <i>Crcp</i> | -0,3740 | <i>Znfx1</i> | 0,8026 | <i>Gmpr</i> | 2,8024 |
| <i>Kdelr3</i> | -0,7037 | <i>Eif3m</i> | -0,3720 | <i>Col4a2</i> | 0,8034 | <i>Keg1</i> | 2,8074 |
| <i>Bbs7</i> | -0,7037 | <i>Magoh</i> | -0,3720 | <i>Cdkl5</i> | 0,8039 | <i>Rph3a</i> | 2,8074 |
| <i>Hmga2</i> | -0,7019 | <i>Ndufc2</i> | -0,3718 | <i>Efna4</i> | 0,8047 | <i>Slc4a5</i> | 2,8301 |
| <i>Gm15772</i> | -0,7019 | <i>Tmem109</i> | -0,3716 | <i>Tulp3</i> | 0,8057 | <i>Uckl1os</i> | 2,8413 |
| <i>Rundc3b</i> | -0,7017 | <i>Pmf1</i> | -0,3715 | <i>Mecom</i> | 0,8078 | <i>Pax2</i> | 2,8809 |
| <i>2700094K13Rik</i> | -0,7016 | <i>Spcs3</i> | -0,3707 | <i>Nuak1</i> | 0,8079 | <i>Cdh5</i> | 2,8845 |
| <i>Gm10154</i> | -0,7012 | <i>Ascc3</i> | -0,3703 | <i>Nol4l</i> | 0,8095 | <i>Trim30a</i> | 2,9143 |
| <i>2810025M15Rik</i> | -0,7012 | <i>Tars2</i> | -0,3694 | <i>Asic1</i> | 0,8100 | <i>Slc6a19</i> | 2,9210 |
| <i>Plekha2</i> | -0,7009 | <i>Agps</i> | -0,3694 | <i>Krit1</i> | 0,8105 | <i>Sod3</i> | 2,9260 |
| <i>Ddx19b</i> | -0,7006 | <i>Slk</i> | -0,3682 | <i>Gcnt1</i> | 0,8106 | <i>Pou2f3</i> | 2,9307 |
| <i>Rps6</i> | -0,7000 | <i>Pdcd6</i> | -0,3676 | <i>Dmd</i> | 0,8112 | <i>Adgrg3</i> | 2,9313 |
| <i>Necap1</i> | -0,6998 | <i>Gmps</i> | -0,3609 | <i>Zswim8</i> | 0,8119 | <i>Camk2b</i> | 2,9537 |
| <i>Pcnx14</i> | -0,6993 | <i>Rwdd1</i> | -0,3602 | <i>Smoc1</i> | 0,8141 | <i>Ifit3b</i> | 2,9652 |
| <i>Gm11249</i> | -0,6978 | <i>Fam98b</i> | -0,3567 | <i>Ifitm3</i> | 0,8152 | <i>Akr1b3</i> | 2,9841 |
| <i>S100a11</i> | -0,6972 | <i>Mrpl47</i> | -0,3558 | <i>Dcaf11</i> | 0,8169 | <i>Pabpn11</i> | 3,0000 |
| <i>Eif2b3</i> | -0,6969 | <i>Fkbp9</i> | -0,3546 | <i>Spns3</i> | 0,8170 | <i>Oas1e</i> | 3,0000 |
| <i>Il1rap</i> | -0,6969 | <i>Cfl2</i> | -0,3503 | <i>Myo9a</i> | 0,8173 | <i>Sec1</i> | 3,0000 |
| <i>Pa2g4</i> | -0,6945 | <i>Rcn2</i> | -0,3477 | <i>Snx9</i> | 0,8177 | <i>Ifi27</i> | 3,0020 |
| <i>Eno1b</i> | -0,6942 | <i>Cops4</i> | -0,3476 | <i>Npnt</i> | 0,8186 | <i>2210406O10Rik</i> | 3,0051 |
| <i>Cdsn</i> | -0,6932 | <i>Uqcrc2</i> | -0,3470 | <i>Nrip2</i> | 0,8189 | <i>Ifi44</i> | 3,0064 |
| <i>Tmem231</i> | -0,6926 | <i>Erh</i> | -0,3438 | <i>Zfp438</i> | 0,8205 | <i>Meox2</i> | 3,0444 |
| | -0,6921 | <i>Eif4e</i> | -0,3336 | <i>Mex3a</i> | 0,8207 | <i>Tgtp2</i> | 3,0589 |
| | | | | <i>Dvl1</i> | 0,8222 | <i>2410004I01Rik</i> | 3,0635 |
| | | | | <i>Pax8</i> | 0,8224 | <i>Gm43011</i> | 3,0661 |
| | | | | <i>H6pd</i> | 0,8225 | <i>Chdh</i> | 3,0783 |
| | | | | <i>Zfp651</i> | 0,8233 | <i>Lax1</i> | 3,0797 |
| | | | | <i>Gm16536</i> | 0,8235 | <i>Masp1</i> | 3,0875 |
| | | | | <i>Wfs1</i> | 0,8246 | <i>Eddm3b</i> | 3,0969 |
| | | | | <i>Uba7</i> | 0,8254 | <i>Nr1h4</i> | 3,1012 |
| | | | | <i>5430405H02Rik</i> | 0,8255 | <i>Fxyd6</i> | 3,1043 |
| | | | | <i>Ampd2</i> | 0,8262 | <i>Gm12138</i> | 3,1455 |
| | | | | <i>Met</i> | 0,8263 | <i>Gm42586</i> | 3,1699 |
| | | | | <i>Pgm211</i> | 0,8265 | <i>Gm13594</i> | 3,1699 |
| | | | | <i>Eps8l2</i> | 0,8265 | <i>Lifr</i> | 3,1809 |
| | | | | <i>Fam234a</i> | 0,8269 | <i>Nupr1</i> | 3,1881 |
| | | | | <i>Hic2</i> | 0,8271 | <i>Alox12e</i> | 3,2016 |
| | | | | <i>Myo5c</i> | 0,8293 | <i>Apon</i> | 3,2141 |
| | | | | <i>Arl15</i> | 0,8301 | <i>Cyp2d22</i> | 3,2150 |
| | | | | <i>Cited4</i> | 0,8305 | <i>Adgrb1</i> | 3,2150 |
| | | | | <i>Ncor2</i> | 0,8317 | <i>Angptl4</i> | 3,2200 |
| | | | | <i>Gsel</i> | 0,8342 | <i>Lgals3bp</i> | 3,2288 |
| | | | | <i>Slc2a1</i> | 0,8350 | <i>Tgtp1</i> | 3,2479 |
| | | | | <i>Gm20045</i> | 0,8353 | <i>Hpgds</i> | 3,2789 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | |
|---|---|----------------------|--------|
| <i>Lrch1</i> | 0,8362 | <i>Gm11374</i> | 3,2854 |
| <i>Rab3a</i> | 0,8391 | <i>Usp18</i> | 3,2914 |
| <i>Ggt6</i> | 0,8397 | <i>Il17rb</i> | 3,2919 |
| <i>Selo</i> | 0,8400 | <i>Ifit3</i> | 3,2973 |
| <i>Rassf6</i> | 0,8414 | <i>1700054A03Rik</i> | 3,3219 |
| <i>Gm12319</i> | 0,8420 | <i>Lta</i> | 3,3286 |
| <i>Trpv4</i> | 0,8452 | <i>Cacna1d</i> | 3,3877 |
| <i>Rusc2</i> | 0,8476 | <i>Sectm1a</i> | 3,3923 |
| <i>Kank1</i> | 0,8478 | <i>Gm11373</i> | 3,4594 |
| <i>Gm7120</i> | 0,8480 | <i>Iqgap2</i> | 3,4594 |
| <i>Cebpd</i> | 0,8516 | <i>Rtp4</i> | 3,4825 |
| <i>Inpp5j</i> | 0,8520 | <i>Mks1</i> | 3,5305 |
| <i>Cnksr3</i> | 0,8527 | <i>Cnnm1</i> | 3,5677 |
| <i>3110056K07Rik</i> | 0,8532 | <i>Mx1</i> | 3,5699 |
| <i>Smarca1</i> | 0,8541 | <i>Thbs1</i> | 3,6172 |
| <i>Tle4</i> | 0,8543 | <i>Gbp2</i> | 3,6477 |
| <i>Rfk</i> | 0,8546 | <i>Mx2</i> | 3,6503 |
| <i>Cnnm2</i> | 0,8550 | <i>Fry</i> | 3,6941 |
| <i>Fes</i> | 0,8554 | <i>Aqp1</i> | 3,6965 |
| <i>Tmem171</i> | 0,8559 | <i>9130409J20Rik</i> | 3,7079 |
| <i>Slc16a8</i> | 0,8564 | <i>RP23-132J21.5</i> | 3,7162 |
| <i>Slc26a10</i> | 0,8600 | <i>Afap111</i> | 3,8018 |
| <i>Ccdc68</i> | 0,8617 | <i>Obscn</i> | 3,8176 |
| <i>Cyp4a12b</i> | 0,8622 | <i>Scn4a</i> | 3,8244 |
| <i>Casz1</i> | 0,8635 | <i>Ifi47</i> | 3,8244 |
| <i>Shb</i> | 0,8636 | <i>Gm38244</i> | 3,8329 |
| <i>Pon3</i> | 0,8643 | <i>Slco4a1</i> | 3,8437 |
| <i>Cln3</i> | 0,8648 | <i>Foxq1</i> | 3,8467 |
| <i>Tssk4</i> | 0,8651 | <i>Oas3</i> | 3,8580 |
| <i>Slc9a5</i> | 0,8664 | <i>Sult1d1</i> | 3,8715 |
| <i>Cacna1g</i> | 0,8688 | <i>Gbp3</i> | 3,9372 |
| <i>Nipal3</i> | 0,8697 | <i>Gucy2g</i> | 3,9542 |
| <i>Sowahb</i> | 0,8711 | <i>Krt23</i> | 3,9827 |
| <i>Rassf2</i> | 0,8714 | <i>Zbp1</i> | 4,0100 |
| <i>Hspa11</i> | 0,8745 | <i>Plat</i> | 4,0268 |
| <i>Socs7</i> | 0,8750 | <i>Rnf183</i> | 4,0271 |
| <i>N4bp2os</i> | 0,8754 | <i>Tmem61</i> | 4,0404 |
| <i>Gm14321</i> | 0,8769 | <i>Ifit1bl1</i> | 4,0492 |
| <i>Cacna1a</i> | 0,8781 | <i>Sgk1</i> | 4,0496 |
| <i>Erich1</i> | 0,8794 | <i>Slc6a19os</i> | 4,1155 |
| <i>Zbtb20</i> | 0,8816 | <i>Sost</i> | 4,1293 |
| <i>Letm2</i> | 0,8826 | <i>Fam107a</i> | 4,1353 |
| <i>Spaca6</i> | 0,8842 | <i>Clcnka</i> | 4,1699 |
| <i>Gm43681</i> | 0,8845 | <i>Iigp1</i> | 4,2288 |
| <i>Smtn</i> | 0,8851 | <i>Tmem252</i> | 4,3038 |

| signifikant herunterregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | | signifikant hochregulierte Gene mpkCCD 300 vs. 600 | |
|---|--------|---|--------|
| <i>Wbp5</i> | 0,8856 | <i>Sema3d</i> | 4,3083 |
| <i>Mef2a</i> | 0,8871 | <i>Mroh4</i> | 4,3219 |
| <i>Kazn</i> | 0,8896 | <i>Gm7631</i> | 4,3219 |
| <i>Eya1</i> | 0,8905 | <i>C4bp</i> | 4,3615 |
| <i>Tspan12</i> | 0,8918 | <i>Rbm20</i> | 4,4051 |
| <i>Fam129c</i> | 0,8931 | <i>Adgrf1</i> | 4,4195 |
| <i>Rnf19b</i> | 0,8959 | <i>Ptprb</i> | 4,5110 |
| <i>Rasl10a</i> | 0,8981 | <i>Veph1</i> | 4,6310 |
| <i>Ss18l1</i> | 0,8989 | <i>Soga1</i> | 4,6743 |
| <i>Parp10</i> | 0,9006 | <i>Gper1</i> | 4,7827 |
| <i>Lamb1</i> | 0,9009 | <i>Ghrhr</i> | 5,0444 |
| <i>Dhcr24</i> | 0,9012 | <i>Kcnj16</i> | 5,1651 |
| <i>Nckap5l</i> | 0,9012 | <i>Oas2</i> | 5,2605 |
| <i>Plac8</i> | 0,9017 | <i>Bsnd</i> | 5,3461 |
| <i>Cpeb4</i> | 0,9019 | <i>Gm567</i> | 5,4263 |
| <i>Wwc2</i> | 0,9023 | <i>Inmt</i> | 5,4419 |
| <i>Noxo1</i> | 0,9027 | <i>Slc17a1</i> | 5,4919 |
| <i>P3h1</i> | 0,9030 | <i>Dnm3</i> | 5,7500 |
| <i>Greb1l</i> | 0,9031 | <i>Slc1a3</i> | 5,8517 |
| <i>Cryab</i> | 0,9037 | <i>Npy4r</i> | 5,8621 |
| <i>Slc31a2</i> | 0,9089 | <i>Kcnj1</i> | 6,1799 |
| <i>Fasn</i> | 0,9103 | <i>Slc6a12</i> | 7,6795 |
| <i>Sh3d19</i> | 0,9116 | <i>Tlhc2</i> | 7,7795 |
| <i>Spefl</i> | 0,9135 | <i>Fxyd2</i> | 7,9012 |
| <i>Nedd9</i> | 0,9149 | <i>Prss35</i> | 8,4998 |
| <i>Il7</i> | 0,9161 | <i>Ranbp3l</i> | 8,9542 |
| <i>Gstm1</i> | 0,9168 | | |

Tabelle 27: Log₂ fold changes gemeinsamer differenziell exprimierte Gene unter Hyperosmolalität in Maus IMCDs und mpkCCD.

Aufgelistet sind die am stärksten signifikant-regulierten-Gene unter Hyperosmolalität in Maus-IMCDs und mpkCCD-Zellen mit einem log₂ fold change von < -1/> 1. Die hier gelisteten Gene sind in Abbildung 20B dargestellt.

| Genname | Log ₂ fold change IMCD 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 | Genname | Log ₂ fold change Maus 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 |
|----------------------|---|---|------------------|---|---|
| <i>1700016C15Rik</i> | 2,1802 | 2,3370 | <i>Gm8318</i> | 1,8073 | -1,0589 |
| <i>1700027F09Rik</i> | 1,8073 | -1,3219 | <i>Gm8935</i> | -1,1699 | -1,1375 |
| <i>1700036G14Rik</i> | 2,8073 | 1,3219 | <i>Gm8989</i> | -1,1699 | -1,4594 |
| <i>1700039E22Rik</i> | 2,5187 | 2,4854 | <i>Gm9772</i> | -1,9386 | -1,0875 |
| <i>2010110E17Rik</i> | -1,2630 | 1,7004 | <i>Gm9955</i> | -1,7370 | 1,8074 |
| <i>2210406O10Rik</i> | 1,2928 | 3,0051 | <i>Gm9968</i> | 1,9635 | 1,2730 |
| <i>2310007B03Rik</i> | -1,2754 | -1,4839 | <i>Gpbar1</i> | 1,1375 | -1,7162 |
| <i>2410004I01Rik</i> | 1,1275 | 3,0635 | <i>Gpr153</i> | -1,0375 | 1,7370 |
| <i>2410004P03Rik</i> | 1,1699 | 1,5850 | <i>Gpr61</i> | 1,5850 | 1,1699 |
| <i>2600006K01Rik</i> | 1,0000 | 1,3870 | <i>Gpr65</i> | -1,2895 | -1,4594 |
| <i>2610528A11Rik</i> | 1,7004 | -4,5593 | <i>Gprc5b</i> | 1,1503 | 1,3188 |
| <i>2810407A14Rik</i> | 1,5850 | -2,0000 | <i>Gpx2</i> | 2,4448 | 2,1197 |
| <i>4632428C04Rik</i> | 1,4926 | 1,2199 | <i>Gpx2-ps1</i> | 2,3219 | 1,2630 |
| <i>4930426D05Rik</i> | 1,5482 | 1,8074 | <i>Grin3b</i> | 1,0875 | 1,4558 |
| <i>4930500F10Rik</i> | 1,2224 | 1,2630 | <i>Gsap</i> | -1,2902 | -1,0466 |
| <i>4930512B01Rik</i> | 1,4938 | 2,0561 | <i>Gsdmc2</i> | 3,9686 | 2,9069 |
| <i>4930513D17Rik</i> | 2,0000 | 1,5850 | <i>Gsdmc4</i> | 3,6476 | 2,1293 |
| <i>4930578I06Rik</i> | 1,3219 | -1,4594 | <i>Gsdmc12</i> | 2,2966 | 1,1375 |
| <i>4930580E04Rik</i> | -1,5850 | 1,1699 | <i>Gsdmc1-ps</i> | 3,4500 | 1,3785 |
| <i>4933408B17Rik</i> | 1,7549 | 1,6194 | <i>Gsg1</i> | -1,3219 | -1,7004 |
| <i>4933421A08Rik</i> | -2,1699 | -1,0275 | <i>Gsta1</i> | 2,4739 | -1,8365 |
| <i>4933429H19Rik</i> | -1,5850 | 1,1699 | <i>Guca2b</i> | 2,9814 | 1,6521 |
| <i>5031414D18Rik</i> | -2,0875 | -2,3785 | <i>Gucy2g</i> | 3,2039 | 3,9542 |
| <i>5730420D15Rik</i> | -1,3219 | 2,0000 | <i>H2-M2</i> | -1,5850 | -2,6781 |
| <i>5830416I19Rik</i> | -1,7004 | -1,6521 | <i>Hal</i> | 1,3785 | 1,4030 |
| <i>5930403N24Rik</i> | -1,7549 | -1,1844 | <i>Has2</i> | -1,0224 | -1,2127 |
| <i>9330161L09Rik</i> | 1,2095 | 1,0275 | <i>Hif1a</i> | 1,0117 | 1,0233 |
| <i>Abcc2</i> | -1,0995 | 1,3785 | <i>Hist1h1c</i> | 1,0244 | 1,9619 |
| <i>Abcc6</i> | 2,0000 | 2,6323 | <i>Hist1h2be</i> | 1,7634 | 1,1375 |
| <i>Abhd11os</i> | 1,5607 | 1,1540 | <i>Hist1h3c</i> | 1,0000 | -1,3219 |
| <i>Abi3bp</i> | 1,4044 | 2,4412 | <i>Hist1h4i</i> | 1,0171 | 1,0790 |
| <i>Acox1</i> | -1,0589 | 1,1783 | <i>Hist1h4k</i> | 1,8613 | 1,0952 |
| <i>Act110</i> | -1,3219 | 1,2081 | <i>Hnmt</i> | 1,4427 | 2,9069 |
| <i>Adam4</i> | -1,0356 | 1,2955 | <i>Homer2</i> | 1,0755 | 1,3219 |
| <i>Adcyap1r1</i> | 2,3735 | 1,8074 | <i>Hp</i> | -1,7312 | 1,2479 |
| <i>Adgrb1</i> | -1,9553 | 3,2150 | <i>Hpgds</i> | -1,4948 | 3,2789 |
| <i>Adgrfl</i> | 3,0221 | 4,4195 | <i>Hs3st1</i> | 1,4488 | 1,7853 |
| <i>Adra2a</i> | -1,3283 | 1,6041 | <i>Hsd11b2</i> | -2,4464 | 1,3020 |
| <i>Adssl1</i> | -1,1180 | -1,4894 | <i>Hspa1a</i> | 1,5013 | 1,1234 |

| Genname | Log ₂ fold change IMCD 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 | Genname | Log ₂ fold change Maus 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 |
|----------------------|---|---|------------------|---|---|
| <i>Agmo</i> | 1,1481 | 1,9018 | <i>Hspa1b</i> | 1,6108 | 1,3601 |
| <i>A1118078</i> | -1,5850 | -1,3536 | <i>Hspa4l</i> | 1,6482 | 1,7021 |
| <i>Akr1b3</i> | 1,3833 | 2,9841 | <i>Hsph1</i> | 1,4545 | 1,0055 |
| <i>Akr1b8</i> | 1,2077 | 1,5801 | <i>Htr5b</i> | 3,2410 | 1,2224 |
| <i>Akr1c19</i> | -1,2381 | -1,2208 | <i>Htr6</i> | -1,1375 | 1,3785 |
| <i>Aldoc</i> | 1,2884 | -1,6200 | <i>Idh1</i> | 1,3285 | 1,2559 |
| <i>Ano1</i> | -2,0566 | -1,0721 | <i>Ifi47</i> | -1,0719 | 3,8244 |
| <i>Apela</i> | 1,9303 | 1,3219 | <i>Ifit1</i> | 2,1553 | 2,5911 |
| <i>Apoc2</i> | -1,2016 | 2,0875 | <i>Ifit1b1</i> | 1,9260 | 4,0492 |
| <i>Apol9a</i> | 1,4594 | 1,7221 | <i>Ifit1b2</i> | 1,3344 | 1,3626 |
| <i>Apom</i> | 1,4330 | 1,2880 | <i>Ifit2</i> | 1,6131 | 1,3701 |
| <i>Apon</i> | 1,1926 | 3,2141 | <i>Ifit3</i> | 1,5042 | 3,2973 |
| <i>Aqp1</i> | 2,1841 | 3,6965 | <i>Ifit3b</i> | 1,6423 | 2,9652 |
| <i>Aqp10-ps</i> | 1,3923 | 1,1699 | <i>Il11</i> | -1,1625 | 2,1414 |
| <i>Aqp2</i> | 5,9813 | 2,2224 | <i>Il1f9</i> | 1,4594 | -1,0589 |
| <i>Aqp6</i> | 2,0000 | 2,3717 | <i>Il1rn</i> | -1,1201 | -2,6040 |
| <i>Arhgap24</i> | 1,1644 | 1,7535 | <i>Inmt</i> | 2,2039 | 5,4419 |
| <i>Arhgef37</i> | 1,0875 | 1,6538 | <i>Irf7</i> | 1,0316 | 2,5772 |
| <i>Atp1b1</i> | 1,4618 | 1,3946 | <i>Irs2</i> | 1,2005 | 1,1254 |
| <i>Avil</i> | -1,1651 | 1,0722 | <i>Irs3</i> | 2,2461 | 1,4854 |
| <i>B230303O12Rik</i> | -1,5850 | -2,4288 | <i>Isg15</i> | 1,1832 | 1,7601 |
| <i>B230312C02Rik</i> | 2,4190 | 2,0780 | <i>Itih4</i> | -1,1699 | 1,2479 |
| <i>Baiap3</i> | 1,4406 | 1,7264 | <i>Kbtbd11</i> | 1,0992 | 2,1699 |
| <i>BC006965</i> | -1,8073 | 1,2630 | <i>Kcnj1</i> | 2,9260 | 6,1799 |
| <i>Bhlha9</i> | -1,4263 | -1,6215 | <i>Kcnj16</i> | 1,3245 | 5,1651 |
| <i>Bnip3</i> | 1,0814 | -1,5118 | <i>Kcnn4</i> | -1,8480 | -1,1024 |
| <i>Bpi</i> | -1,1375 | 2,1155 | <i>Kif21b</i> | -1,0436 | 1,3219 |
| <i>Bpifb6</i> | -1,8073 | 1,1699 | <i>Kif26a</i> | -1,3833 | -2,8074 |
| <i>Bsnd</i> | 1,7583 | 5,3461 | <i>Klhl14</i> | 1,4522 | 2,7631 |
| <i>Btbd11</i> | -1,8504 | -1,7847 | <i>Klk11</i> | -2,9386 | -1,5850 |
| <i>C920009B18Rik</i> | -1,3219 | -1,4764 | <i>Klra14-ps</i> | 1,5850 | -1,2801 |
| <i>Cacna1h</i> | -2,1898 | 1,3219 | <i>Krt14</i> | -1,3187 | -3,0255 |
| <i>Cacna2d1</i> | -1,0080 | -2,2479 | <i>Krt16</i> | -2,0000 | -3,5443 |
| <i>Calml3</i> | 3,6439 | 1,3785 | <i>Krt4</i> | 2,1677 | -1,8159 |
| <i>Caly</i> | 1,3219 | -1,3219 | <i>Krt5</i> | 1,3293 | -4,0692 |
| <i>Capn8</i> | -2,6668 | -1,1699 | <i>Krt79</i> | 1,0704 | -1,9740 |
| <i>Car2</i> | 1,5353 | 2,2650 | <i>Lax1</i> | -1,2274 | 3,0797 |
| <i>Card14</i> | 1,3585 | -2,2429 | <i>Lcp1</i> | -1,7101 | -1,4475 |
| <i>Casp14</i> | -1,1333 | 1,9381 | <i>Lect1</i> | 1,6215 | 2,5943 |
| <i>Casr</i> | -1,5850 | -1,3626 | <i>Lifr</i> | 1,1015 | 3,1809 |
| <i>Cbr2</i> | 1,5106 | 1,3252 | <i>Lincenc1</i> | -1,1520 | -1,6630 |
| <i>Ccdc121</i> | 1,3219 | 1,5850 | <i>Lrp2</i> | -1,2655 | 2,3479 |
| <i>Ccl2</i> | -1,0299 | 2,6738 | <i>Lrp2bp</i> | 1,4150 | -1,2630 |
| <i>Ccl9</i> | -2,1908 | 1,8074 | <i>Ltbp1</i> | -1,4315 | 1,7059 |

| Genname | Log ₂ fold change IMCD 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 | Genname | Log ₂ fold change Maus 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 |
|----------------------|---|---|----------------|---|---|
| <i>Ccnd2</i> | -1,5057 | -1,4150 | <i>Ltp2</i> | -1,0348 | -1,3013 |
| <i>Ccno</i> | -1,1844 | 2,1975 | <i>Lypd2</i> | 2,7753 | 2,4535 |
| <i>Cd109</i> | -1,0728 | -1,3219 | <i>Lzts3</i> | 1,3477 | 1,4614 |
| <i>Cd36</i> | -1,3479 | -1,8074 | <i>Maf</i> | -1,4719 | 2,3923 |
| <i>Cd6</i> | -1,3219 | 1,6630 | <i>Mafb</i> | -2,1783 | -1,5850 |
| <i>Cd79b</i> | 1,9652 | 2,4594 | <i>Marcks</i> | -1,6790 | -1,0453 |
| <i>Cda</i> | -1,3653 | -1,9664 | <i>Me1</i> | 1,1994 | 1,4187 |
| <i>Cdh16</i> | 1,0778 | 2,5519 | <i>Meox2</i> | 5,7944 | 3,0444 |
| <i>Cdhr2</i> | 1,5361 | -1,3219 | <i>Mill1</i> | 2,5850 | 1,1699 |
| <i>Cdkl1</i> | 3,1394 | 2,3814 | <i>Mir5100</i> | -1,4854 | -1,3219 |
| <i>Cdkn1c</i> | -1,1828 | 1,5850 | <i>Mir5135</i> | -2,0000 | 1,1699 |
| <i>Cemip</i> | 1,0395 | 1,9475 | <i>Mir681</i> | 2,0000 | 2,4330 |
| <i>Cfap53</i> | 1,1339 | 1,1699 | <i>Mir7213</i> | -1,4406 | -1,4594 |
| <i>Clca3a2</i> | 1,0350 | -1,4594 | <i>Mir8102</i> | 1,5850 | 2,1699 |
| <i>Clca3b</i> | -2,1120 | -3,2653 | <i>Mirt1</i> | -1,2630 | -2,0559 |
| <i>Clcnka</i> | 1,6041 | 4,1699 | <i>Mmp15</i> | -1,9328 | 1,5719 |
| <i>Cldn11</i> | -1,1844 | 1,4594 | <i>Mmp24</i> | -1,5146 | -1,7814 |
| <i>Cldn15</i> | 1,9769 | 1,2224 | <i>Moxd1</i> | -1,3844 | 1,2701 |
| <i>Clec10a</i> | -2,7370 | 1,3219 | <i>Mroh4</i> | 1,0668 | 4,3219 |
| <i>Clec2l</i> | 1,2928 | 2,4948 | <i>Muc1</i> | 1,1844 | 1,9522 |
| <i>Cnfn</i> | 2,3219 | -1,4406 | <i>Muc16</i> | -2,3219 | -1,5850 |
| <i>Cnnm1</i> | 2,2367 | 3,5677 | <i>Muc20</i> | 1,3323 | 1,4737 |
| <i>Cntfr</i> | -1,6391 | -2,8301 | <i>Muc4</i> | 2,4303 | -1,1268 |
| <i>Cobll1</i> | 1,5037 | 2,3366 | <i>Mx1</i> | 3,8580 | 3,5699 |
| <i>Col27a1</i> | -1,1633 | 2,5443 | <i>Mx2</i> | 1,4150 | 3,6503 |
| <i>Crb2</i> | -1,3587 | 2,0995 | <i>Mybph</i> | 1,8073 | -1,1699 |
| <i>Creb3l3</i> | -1,8073 | 1,2801 | <i>Mycbpap</i> | 1,4365 | 1,0144 |
| <i>Crispld2</i> | 1,3311 | 2,3692 | <i>Myh15</i> | -1,6845 | 1,3785 |
| <i>Crocc2</i> | 1,0435 | -2,8365 | <i>Myl7</i> | 1,3219 | -1,6630 |
| <i>Csdc2</i> | -1,6818 | -1,3608 | <i>Myoc</i> | -1,2224 | 1,7655 |
| <i>Csrp2</i> | -1,0096 | -1,3698 | <i>Myom3</i> | 2,0000 | 1,9938 |
| <i>Cst6</i> | -2,3219 | -1,6090 | <i>Naip1</i> | 1,4406 | -1,3785 |
| <i>Cwh43</i> | 1,2479 | -1,4060 | <i>Nptx1</i> | 3,2479 | 1,3626 |
| <i>Cyp2d34</i> | 2,0000 | 1,3219 | <i>Npy4r</i> | 3,7682 | 5,8621 |
| <i>Cyp2d9</i> | 2,0000 | 2,4021 | <i>Nqo1</i> | 2,6106 | 2,6977 |
| <i>Cyp4a12a</i> | -1,1110 | 2,6910 | <i>Nrep</i> | -1,2150 | 1,6439 |
| <i>Cytip</i> | -1,1766 | 1,6415 | <i>Nrip3</i> | 1,7830 | 2,4767 |
| <i>D130052B06Rik</i> | -1,7162 | -1,0704 | <i>Nts</i> | -1,0641 | -3,4594 |
| <i>D630024D03Rik</i> | 2,1375 | 1,5220 | <i>Nupr1</i> | 1,2642 | 3,1881 |
| <i>D630029K05Rik</i> | 1,1699 | -1,3536 | <i>Nxf3</i> | -1,5850 | 1,1699 |
| <i>D630039A03Rik</i> | 1,1459 | 1,1192 | <i>Nxn1l</i> | 2,5236 | 1,2955 |
| <i>D830025C05Rik</i> | -2,0000 | 1,1699 | <i>Oas2</i> | 1,3893 | 5,2605 |
| <i>D830044D21Rik</i> | 1,3785 | -1,2955 | <i>Oas3</i> | 2,0875 | 3,8580 |
| <i>Dab2</i> | -1,3911 | -1,9411 | <i>Oaz3</i> | -1,7776 | 1,5850 |

| Genname | Log ₂ fold change IMCD 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 | Genname | Log ₂ fold change Maus 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 |
|----------------|---|---|------------------|---|---|
| <i>Dao</i> | 1,4770 | 2,0082 | <i>Obscn</i> | 1,6944 | 3,8176 |
| <i>Dbp</i> | 1,3744 | -1,3098 | <i>Ogdhl</i> | -1,4257 | 1,3626 |
| <i>Defb1</i> | 1,5280 | 1,5850 | <i>Oit1</i> | 1,9386 | 1,8389 |
| <i>Dhx58os</i> | 2,3219 | 2,0000 | <i>Olfm4</i> | 2,6586 | 1,2994 |
| <i>Dio1</i> | 2,7885 | 2,7549 | <i>Omp</i> | 1,0317 | 1,1918 |
| <i>Dio2</i> | 1,7580 | -1,1699 | <i>Opn5</i> | 1,2630 | 1,1721 |
| <i>Dkk3</i> | -2,0302 | -1,3785 | <i>Oprd1</i> | 1,8073 | -1,2630 |
| <i>Dmkn</i> | 1,1047 | -2,5629 | <i>Orm2</i> | -1,4150 | 2,4594 |
| <i>Dnajc5b</i> | 1,3219 | 2,0000 | <i>P2rx2</i> | -2,7570 | 1,5185 |
| <i>Dnm3</i> | 1,1592 | 5,7500 | <i>P2ry6</i> | -1,3090 | -1,3219 |
| <i>Dock3</i> | -1,0740 | 1,1155 | <i>Pabpn11</i> | 3,3219 | 3,0000 |
| <i>Draxin</i> | -1,5850 | 1,2895 | <i>Palmd</i> | -1,6614 | 1,1926 |
| <i>Dsc1</i> | 1,8073 | 1,4594 | <i>Paqr5</i> | 1,4833 | 1,0107 |
| <i>Dusp15</i> | -1,9260 | 1,8074 | <i>Pax2</i> | 1,1969 | 2,8809 |
| <i>Edar</i> | 1,8688 | 2,4975 | <i>Pck1</i> | 1,6630 | 2,0875 |
| <i>Eddm3b</i> | -1,0444 | 3,0969 | <i>Pcsk5</i> | -1,4873 | 1,1699 |
| <i>Elf5</i> | 1,5387 | 1,3219 | <i>Pcx</i> | 2,2872 | 1,4403 |
| <i>Entpd3</i> | -1,3384 | -1,9639 | <i>Pde1c</i> | 1,1367 | 2,3599 |
| <i>Epor</i> | 1,6930 | 1,1944 | <i>Pecr</i> | -1,1399 | -1,4695 |
| <i>Espnl</i> | -2,5850 | 1,6605 | <i>Pgap1</i> | 1,1647 | 1,0121 |
| <i>Fa2h</i> | 2,2495 | 1,0576 | <i>Phf20-ps</i> | -1,2630 | 1,1468 |
| <i>Fabp3</i> | 1,7411 | 1,8667 | <i>Phyhd1</i> | -1,6195 | 1,8074 |
| <i>Fam107a</i> | 2,0704 | 4,1353 | <i>Phyhipl</i> | 1,2758 | 2,2288 |
| <i>Fam163a</i> | -1,8480 | -1,4529 | <i>Pinlyp</i> | 1,8413 | 2,3370 |
| <i>Fam65c</i> | 1,1975 | -1,0098 | <i>Pkp1</i> | -2,4044 | -2,3692 |
| <i>Fam83e</i> | 1,8745 | 1,0973 | <i>Plat</i> | 2,6235 | 4,0268 |
| <i>Fbln1</i> | 2,0641 | 1,2224 | <i>Plb1</i> | 2,0000 | 2,6630 |
| <i>Fbln2</i> | -1,8838 | -2,0036 | <i>Plbd1</i> | -1,8260 | 1,1699 |
| <i>Fbxo41</i> | 1,3913 | 2,0875 | <i>Plet1</i> | 2,0629 | 1,1752 |
| <i>Fbxw26</i> | -1,7472 | 2,5850 | <i>Pltp</i> | -1,7824 | -1,2526 |
| <i>Fcer1g</i> | -1,4176 | 1,3785 | <i>Pmepalos</i> | -1,8606 | 1,5850 |
| <i>Fcgr2b</i> | -2,1293 | -1,1699 | <i>Podxl</i> | -1,3305 | -1,7326 |
| <i>Fcna</i> | -3,4150 | -1,1926 | <i>Pou2f2</i> | -1,7162 | 1,5146 |
| <i>Fer1l6</i> | 1,0525 | -1,9594 | <i>Pou2f3</i> | 3,6724 | 2,9307 |
| <i>Ffar4</i> | -2,0875 | 2,5004 | <i>Pou6f2</i> | 1,8073 | 1,7225 |
| <i>Fgf5</i> | -1,3219 | -1,4658 | <i>Ppap2b</i> | 1,3762 | 2,7526 |
| <i>Fgfbp1</i> | 1,5850 | -1,7051 | <i>Ppp1r14d</i> | -1,0231 | -1,1293 |
| <i>Fgl1</i> | -1,8480 | 1,1699 | <i>Ppp1r3fos</i> | 1,0780 | 1,1699 |
| <i>Figf</i> | 1,9027 | -1,9827 | <i>Ppp1r42</i> | -1,3785 | -2,4021 |
| <i>Fndc9</i> | 1,9974 | 1,2895 | <i>Ppp4r4</i> | 1,6699 | 1,5850 |
| <i>Folr1</i> | 1,0942 | 1,7370 | <i>Prkar2b</i> | 1,5939 | 1,6895 |
| <i>Frem2</i> | 1,1243 | 1,0608 | <i>Prl2c3</i> | 1,4739 | -1,1575 |
| <i>Fxyd2</i> | 4,4892 | 7,9012 | <i>Prss27</i> | -1,2918 | -2,0395 |
| <i>Fxyd3</i> | 1,1520 | -1,1155 | <i>Prss35</i> | 5,8200 | 8,4998 |

| Genname | Log ₂ fold change IMCD 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 | Genname | Log ₂ fold change Maus 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 |
|----------------|---|---|----------------------|---|---|
| <i>Fxyd4</i> | 2,7316 | 1,5377 | <i>Prtn3</i> | 1,6534 | 1,5564 |
| <i>Fyb</i> | -2,1553 | -1,5850 | <i>Pscs</i> | 2,3290 | 1,1904 |
| <i>Gabrp</i> | -1,4566 | -2,3140 | <i>Ptafr</i> | -1,5850 | -1,7370 |
| <i>Gabbr2</i> | 1,3219 | 1,5850 | <i>Ptges</i> | 1,5172 | -1,1024 |
| <i>Gap43</i> | 1,3219 | -1,4695 | <i>Pth2r</i> | 1,5361 | 2,5850 |
| <i>Gbp3</i> | 1,0749 | 3,9372 | <i>Ptpn7</i> | -2,7776 | 2,0000 |
| <i>Gbp4</i> | 1,1476 | 1,3996 | <i>Ptprh</i> | 1,7058 | 1,1375 |
| <i>Gek</i> | 1,2303 | -2,0919 | <i>Ptprq</i> | -1,1027 | 1,2955 |
| <i>Gdnf</i> | -2,0780 | -2,0563 | <i>Ptprr</i> | 2,4838 | 2,3367 |
| <i>Gem</i> | 1,4766 | 1,9441 | <i>R3hdml</i> | 2,7004 | 1,6477 |
| <i>Ghrhr</i> | 2,4854 | 5,0444 | <i>Ranbp3l</i> | 4,6227 | 8,954,191 |
| <i>Gipc3</i> | 2,2224 | 1,2538 | <i>Rasl11b</i> | 1,7614 | 2,6034 |
| <i>Glrp1</i> | -1,8745 | -1,2895 | <i>Rbfox3</i> | 2,0444 | 1,4854 |
| <i>Glt28d2</i> | 1,1528 | 1,2887 | <i>Rgs9</i> | 1,0562 | 1,2224 |
| <i>Gm10129</i> | 1,4150 | 1,4854 | <i>Rgs11</i> | 1,2224 | 1,6630 |
| <i>Gm10305</i> | -1,2630 | -1,5850 | <i>Rimbp3</i> | 1,1375 | 1,1988 |
| <i>Gm11189</i> | 1,1155 | 1,0780 | <i>Rnf183</i> | 2,9023 | 4,0271 |
| <i>Gm11373</i> | 1,5850 | 3,4594 | <i>RP23-132J215</i> | 2,0356 | 3,7162 |
| <i>Gm11534</i> | -1,5850 | -1,0995 | <i>RP23-142A1412</i> | 3,1699 | 2,9542 |
| <i>Gm11725</i> | 1,0995 | -1,1699 | <i>RP23-200M57</i> | 1,1008 | -1,9652 |
| <i>Gm12089</i> | 1,7370 | 1,9069 | <i>RP23-470G184</i> | -1,3334 | -1,3410 |
| <i>Gm12138</i> | 1,5207 | 3,1455 | <i>RP24-363O213</i> | -1,1561 | -1,7975 |
| <i>Gm12349</i> | -2,7004 | -1,2224 | <i>Rpl7a-ps10</i> | -1,3219 | -1,0704 |
| <i>Gm12527</i> | -1,1926 | 1,2578 | <i>Rps12-ps1</i> | -1,3219 | 1,2224 |
| <i>Gm12788</i> | 1,3219 | 1,3026 | <i>Rpsa-ps1</i> | -1,3923 | -1,7162 |
| <i>Gm12868</i> | 1,7526 | 1,4594 | <i>Rsad2</i> | 1,0055 | 2,6979 |
| <i>Gm12932</i> | 1,4150 | 1,3081 | <i>Rsf1os2</i> | 1,3219 | -1,6881 |
| <i>Gm12974</i> | 1,2224 | 1,1699 | <i>Runx2</i> | -1,3468 | 1,2453 |
| <i>Gm13418</i> | 3,3750 | 1,7078 | <i>S100a7a</i> | 1,6859 | -1,7318 |
| <i>Gm13532</i> | 1,2224 | -1,5850 | <i>S100g</i> | 2,3219 | 2,3720 |
| <i>Gm13594</i> | 1,1926 | 3,1699 | <i>Sbsn</i> | 1,5040 | -1,1674 |
| <i>Gm14005</i> | -1,0737 | -1,2829 | <i>Scara5</i> | -2,5850 | -2,7305 |
| <i>Gm14057</i> | 1,0000 | 2,2599 | <i>Scn4a</i> | 2,4594 | 3,8244 |
| <i>Gm15384</i> | -1,0995 | 1,3219 | <i>Scube2</i> | 1,2854 | 1,7004 |
| <i>Gm15410</i> | 2,6439 | 1,1699 | <i>Selenbp1</i> | 1,6360 | -1,6843 |
| <i>Gm15513</i> | -1,8073 | 1,8301 | <i>Sema3d</i> | -1,6071 | 4,3083 |
| <i>Gm15562</i> | -1,4150 | 1,3219 | <i>Serpina3h</i> | -1,2064 | -2,3219 |
| <i>Gm15687</i> | 1,2224 | 1,2630 | <i>Serpina3i</i> | -1,5850 | -1,2801 |
| <i>Gm15753</i> | 2,0943 | 1,7485 | <i>Serpina3j</i> | -1,1605 | -2,5236 |
| <i>Gm15775</i> | -1,1829 | 1,4448 | <i>Serpina3k</i> | -1,7731 | -3,7769 |
| <i>Gm15900</i> | 1,3219 | 1,0995 | <i>Serpine1</i> | -1,1399 | 1,1803 |
| <i>Gm15998</i> | 1,4919 | 1,5850 | <i>Sfta2</i> | 1,0375 | -2,1155 |
| <i>Gm16090</i> | 1,5850 | 1,3049 | <i>Sgcd</i> | 1,1155 | -2,3923 |
| <i>Gm16170</i> | -1,0106 | -1,4150 | <i>Sgkl</i> | 1,2202 | 4,0496 |

| Genname | Log ₂ fold change IMCD 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 | Genname | Log ₂ fold change Maus 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 |
|----------------|---|---|------------------|---|---|
| <i>Gm16178</i> | 1,1247 | -1,2224 | <i>Sgk2</i> | 1,3134 | -1,6911 |
| <i>Gm16253</i> | 1,8480 | 1,1575 | <i>Shd</i> | -1,6698 | 1,4594 |
| <i>Gm16351</i> | -1,5850 | -1,7004 | <i>Slc16a5</i> | 1,1234 | 1,8179 |
| <i>Gm16546</i> | -1,3219 | 1,1699 | <i>Slc17a1</i> | 3,7732 | 5,4919 |
| <i>Gm16599</i> | -2,9069 | 1,1699 | <i>Slc17a4</i> | 1,3794 | 1,1699 |
| <i>Gm17382</i> | 1,5850 | 1,4150 | <i>Slc1a3</i> | 1,7065 | 5,8517 |
| <i>Gm17545</i> | -1,5850 | -1,0780 | <i>Slc25a48</i> | 1,9777 | 1,9344 |
| <i>Gm17833</i> | -1,0704 | 1,0875 | <i>Slc35f1</i> | -1,9787 | -1,3785 |
| <i>Gm19552</i> | 1,4150 | 1,5850 | <i>Slc45a3</i> | 1,7695 | 2,5025 |
| <i>Gm19791</i> | 1,4150 | 1,6781 | <i>Slc46a2</i> | 1,1822 | 2,3576 |
| <i>Gm21859</i> | -1,7004 | 2,0000 | <i>Slc4a5</i> | 1,5514 | 2,8301 |
| <i>Gm21963</i> | -1,1699 | -1,1375 | <i>Slc5a3</i> | 2,6868 | 1,2731 |
| <i>Gm23171</i> | -1,2224 | -1,3219 | <i>Slc5a9</i> | -1,0531 | 2,0704 |
| <i>Gm23966</i> | -1,0780 | 1,0506 | <i>Slc6a12</i> | 2,4670 | 7,6795 |
| <i>Gm24289</i> | -1,4150 | -1,0641 | <i>Slc6a18</i> | 3,1751 | 1,8931 |
| <i>Gm25493</i> | 1,1699 | -1,1375 | <i>Slc6a19</i> | 1,8698 | 2,9210 |
| <i>Gm25520</i> | -1,3219 | 1,1699 | <i>Slc6a19os</i> | 1,7370 | 4,1155 |
| <i>Gm26446</i> | -2,0000 | 1,1699 | <i>Slc6a20a</i> | 1,7549 | 1,4594 |
| <i>Gm26640</i> | -1,2224 | -2,0875 | <i>Slc9a9</i> | -1,1019 | -1,0740 |
| <i>Gm26681</i> | 1,3626 | 1,0875 | <i>Slco1a5</i> | -1,1876 | 1,4371 |
| <i>Gm26710</i> | 1,0000 | 1,0489 | <i>Slco4a1</i> | 1,4672 | 3,8437 |
| <i>Gm27206</i> | 1,3985 | -1,2895 | <i>Slfn4</i> | 1,1699 | 1,4854 |
| <i>Gm27271</i> | 1,4150 | 1,1375 | <i>Slfn8</i> | -1,3126 | 1,2895 |
| <i>Gm27343</i> | 1,3536 | 1,6540 | <i>Slpi</i> | -2,4330 | -1,3675 |
| <i>Gm28119</i> | -1,1553 | -1,2768 | <i>Snora69</i> | -1,8073 | -1,2224 |
| <i>Gm28198</i> | -1,7162 | -1,0704 | <i>Snord83b</i> | -1,9069 | 1,1043 |
| <i>Gm2885</i> | 2,1375 | -1,0931 | <i>Sobp</i> | -1,2630 | -1,1699 |
| <i>Gm29155</i> | 1,5025 | 1,1155 | <i>Sod3</i> | 2,1418 | 2,9260 |
| <i>Gm29480</i> | -2,0000 | -1,1375 | <i>Sorcs2</i> | -1,1278 | 1,8701 |
| <i>Gm34240</i> | -1,2224 | 1,5850 | <i>Sost</i> | 1,3219 | 4,1293 |
| <i>Gm36551</i> | -1,5850 | -1,1110 | <i>Spata20</i> | 1,3890 | 1,4687 |
| <i>Gm36938</i> | 1,3219 | -1,1699 | <i>Spata25</i> | -1,2224 | 1,8074 |
| <i>Gm36955</i> | 1,4594 | 1,1375 | <i>Spink10</i> | 1,1699 | 2,2224 |
| <i>Gm37012</i> | -1,2224 | 1,3219 | <i>Spon1</i> | 1,6265 | 1,0095 |
| <i>Gm37078</i> | 1,3785 | 1,5850 | <i>Sprr1a</i> | 1,4441 | -2,7957 |
| <i>Gm37145</i> | -1,4854 | -1,5850 | <i>Sprr2a3</i> | -1,5361 | -2,8745 |
| <i>Gm37691</i> | 1,4594 | 1,0641 | <i>Sprr2e</i> | 1,1699 | -1,3476 |
| <i>Gm37800</i> | -1,4150 | -1,2377 | <i>Sptb</i> | 1,0443 | 1,6652 |
| <i>Gm38056</i> | 1,5194 | 1,8231 | <i>Stra6</i> | -1,6218 | 1,1315 |
| <i>Gm38218</i> | 1,2410 | 1,5850 | <i>Strip2</i> | 1,6668 | 1,6556 |
| <i>Gm38220</i> | 1,8745 | -1,1155 | <i>Sult1d1</i> | 2,1949 | 3,8715 |
| <i>Gm38244</i> | 2,2730 | 3,8329 | <i>Sumo2</i> | -1,9319 | 1,0477 |
| <i>Gm4134</i> | -1,8073 | 1,5850 | <i>Syna</i> | 1,0000 | 1,4475 |
| <i>Gm4211</i> | 1,5025 | 1,0589 | <i>Tal2</i> | 1,3479 | 1,1575 |

| Genname | Log ₂ fold change IMCD 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 | Genname | Log ₂ fold change Maus 300 vs. 600 | Log ₂ fold change mpkCCD 300 vs. 600 |
|----------------|---|---|------------------|---|---|
| <i>Gm42504</i> | 1,3219 | 1,5850 | <i>Tas1r3</i> | 1,2773 | 2,4086 |
| <i>Gm42507</i> | 1,2224 | 1,1155 | <i>Tenm2</i> | 1,4594 | 1,6147 |
| <i>Gm42528</i> | 1,9117 | 2,6410 | <i>Tert</i> | 1,3453 | 1,0073 |
| <i>Gm42586</i> | 2,6889 | 3,1699 | <i>Tg</i> | -1,1009 | 2,5489 |
| <i>Gm42889</i> | 1,5025 | 1,3785 | <i>Tlhc2</i> | 4,1699 | 7,7795 |
| <i>Gm42922</i> | -1,1699 | -1,3219 | <i>Tmeff1</i> | -1,0131 | -1,7018 |
| <i>Gm43070</i> | -1,5850 | 1,1699 | <i>Tmem145</i> | 1,1155 | 1,4854 |
| <i>Gm43137</i> | 1,3626 | 1,5546 | <i>Tmem179</i> | -1,5850 | -1,6630 |
| <i>Gm43336</i> | -1,6521 | 1,1699 | <i>Tmem61</i> | 1,3219 | 4,0404 |
| <i>Gm43460</i> | 1,2718 | 1,2184 | <i>Tmprss11e</i> | -1,4300 | -2,1468 |
| <i>Gm43571</i> | 1,1375 | 1,3219 | <i>Tmprss4</i> | 1,3070 | -1,3630 |
| <i>Gm43652</i> | 1,9069 | 1,1155 | <i>Tnfrsf9</i> | -1,1015 | -1,1339 |
| <i>Gm43684</i> | 1,4739 | 1,1699 | <i>Tnni1</i> | 1,4594 | 1,2630 |
| <i>Gm43693</i> | 1,4150 | 1,7078 | <i>Tnxb</i> | 1,7935 | 1,0000 |
| <i>Gm43742</i> | 2,0000 | -1,3559 | <i>Trabd2b</i> | 1,4550 | 1,9709 |
| <i>Gm43800</i> | 1,4713 | 1,4594 | <i>Trank1</i> | -1,4541 | -1,8074 |
| <i>Gm4631</i> | 2,3923 | -2,8413 | <i>Trim75</i> | 1,5850 | 1,2224 |
| <i>Gm4825</i> | 1,5850 | -1,3626 | <i>Tspan1</i> | 1,1108 | 1,0245 |
| <i>Gm5043</i> | 5,1293 | 2,9069 | <i>Tspan11</i> | 1,0875 | 1,4800 |
| <i>Gm5210</i> | 4,9773 | 2,0875 | <i>Tssk1</i> | 1,1926 | 1,1699 |
| <i>Gm5432</i> | -1,3219 | -1,1375 | <i>Tubb3</i> | -1,0444 | 1,0000 |
| <i>Gm553</i> | -1,1926 | 1,3219 | <i>Unc79</i> | 1,7370 | -1,1699 |
| <i>Gm5615</i> | -2,4594 | -1,1444 | <i>Upk3bl</i> | 1,0969 | -2,3265 |
| <i>Gm567</i> | 3,3897 | 5,4263 | <i>Uroc1</i> | 1,3626 | -1,9156 |
| <i>Gm6445</i> | 1,7105 | 2,5146 | <i>Vcam1</i> | -1,9218 | -2,7600 |
| <i>Gm6736</i> | 1,3276 | 2,4983 | <i>Veph1</i> | 1,7873 | 4,6310 |
| <i>Gm6811</i> | -1,3219 | -1,2224 | <i>Vgll1</i> | 1,5911 | -1,5850 |
| <i>Gm7452</i> | 1,8745 | -1,5850 | <i>Vstm5</i> | 1,3726 | 1,4219 |
| <i>Gm7535</i> | 1,5850 | -1,0780 | <i>Wnt4</i> | 1,2324 | -1,2544 |
| <i>Gm7631</i> | 1,3785 | 4,3219 | <i>Zbtb7c</i> | -2,1964 | -1,4330 |
| <i>Gm7832</i> | 1,1255 | -1,4406 | <i>Zcwpw2</i> | 1,2538 | 1,2224 |
| <i>Gm7893</i> | 3,2977 | 2,4330 | <i>Zdhc2</i> | -1,6593 | -1,2917 |
| <i>Gm8225</i> | 1,4594 | -1,7776 | | | |

8.5 Immunfluoreszenzfärbung von NFAT5 in HEK293-T-Zellen

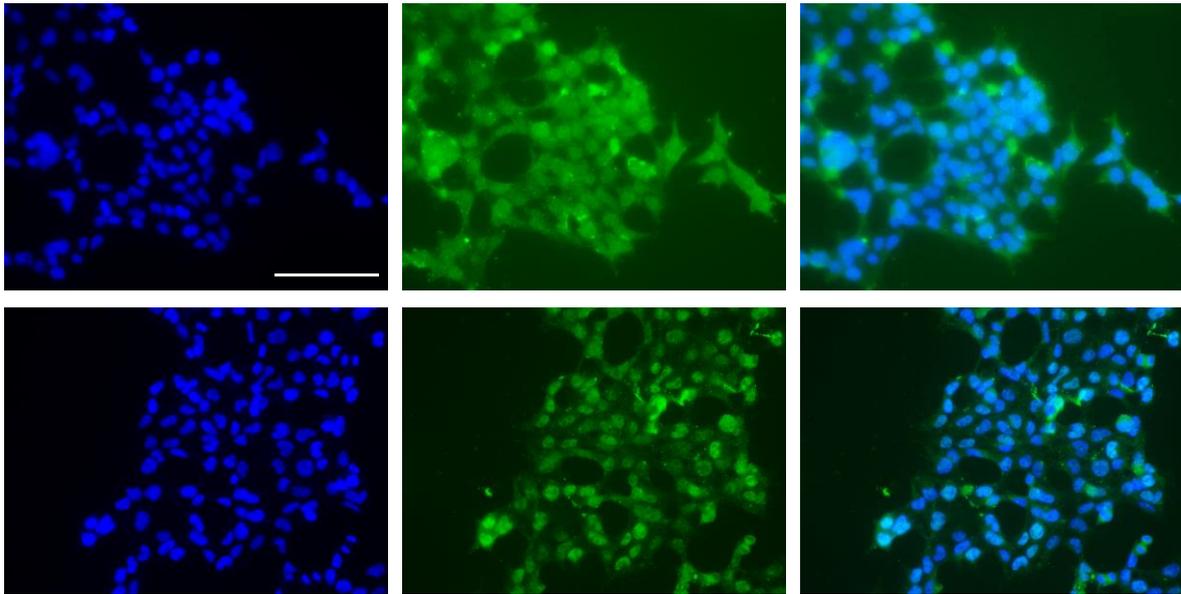


Abbildung 58: Immunfluoreszenzaufnahmen von HEK-293T-Zellen unter 300 und 450 mosmol/kg für NFAT5.

Die HEK293-T Zellen wurden auf Deckgläsern in 24-well Platten ausgesetzt. Nach 24 h Inkubation wurde das Medium von 300 mosmol/kg auf 450 mosmol/kg hochgesetzt. Nach weiteren 24 h Inkubation erfolgte die Fixierung der Zellen in 5 %iger Formaldehydlösung. Die Zellen wurden mittels Immunfluoreszenz auf NFAT5 gefärbt. DAPI diente als Kernmarker (Oben = Zellen unter 300 mosmol/kg, Unten = Zellen unter 450 mosmol/kg, Maßstabsleiste: 100 μ m).

8.6 NFAT5 putative Bindesequenz

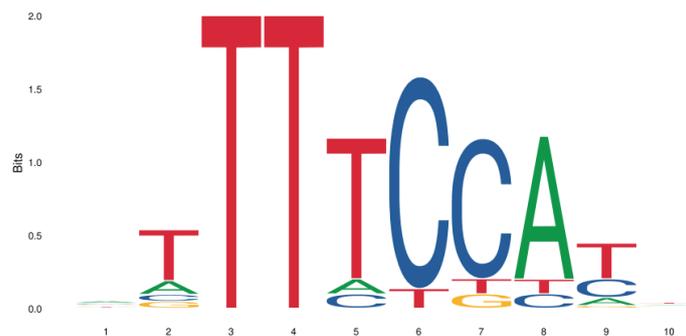


Abbildung 59: Putative Bindesequenz von NFAT5 laut JASPAR

Die putative Bindesequenz von NFAT5 wurde aus der online Datenbank JASPAR bezogen [104] (Datenstand: 14.07.2022). Für die Analysen wurde somit die Sequenz N T T T C C A T verwendet.

8.7 Differentiell exprimierte Gene in NFAT5-defizienten-IMCD-Primärzellen vs. Wildtyp-Kontrollen

Tabelle 28: Log₂ fold change von differentiell exprimierten, hyperosmolalitäts-regulierten-Genen in NFAT5 defizienten-IMCD-Primärzellen unter 600 mosmol/kg im Vergleich zur Kontrolle.

| Genname | Log ₂ fold change Kontrolle 300 vs. 600 | Log ₂ fold change +4-OH-TM 600 vs. Kontrolle 600 | Genname | Log ₂ fold change Kontrolle 300 vs. 600 | Log ₂ fold change +4-OH-TM 600 vs. Kontrolle 600 |
|----------------------|--|---|-----------------|--|---|
| <i>1700016C15Rik</i> | 2,1802 | -4,6341 | <i>Hspa4l</i> | 1,6482 | -2,1198 |
| <i>4932438A13Rik</i> | 0,9514 | -1,6410 | <i>Hsph1</i> | 1,4545 | -1,7000 |
| <i>9530052E02Rik</i> | 2,7279 | -3,4060 | <i>Ifi202b</i> | -3,1098 | 1,6807 |
| <i>A330023F24Rik</i> | 1,4480 | -1,8603 | <i>Irs3</i> | 2,2461 | -2,2232 |
| <i>Acer2</i> | 1,1654 | -1,4681 | <i>Kbtbd11</i> | 1,0992 | -2,3369 |
| <i>Adam12</i> | -1,2786 | 1,3142 | <i>Kcnj1</i> | 2,9260 | -4,5560 |
| <i>Adcy1</i> | -1,5258 | 2,0301 | <i>Klhl14</i> | 1,4522 | -2,8307 |
| <i>Adgrfl</i> | 3,0221 | -2,1171 | <i>Lect1</i> | 1,6215 | -4,3219 |
| <i>Akr1b3</i> | 1,3833 | -2,5216 | <i>Lgals3bp</i> | 0,9333 | -1,4611 |
| <i>Ampd3</i> | 0,9534 | -1,3753 | <i>Lpar1</i> | 1,1629 | -1,5368 |
| <i>Ano1</i> | -2,0566 | 1,6478 | <i>Lypd2</i> | 2,7753 | -3,8908 |
| <i>Apela</i> | 1,9303 | -2,8720 | <i>Muc20</i> | 1,3323 | -1,4127 |
| <i>Aqp1</i> | 2,1841 | -1,7206 | <i>Muc4</i> | 2,4303 | -2,5877 |
| <i>Aqp2</i> | 5,9813 | -5,5702 | <i>Neur11b</i> | 2,1393 | -2,7849 |
| <i>Aqp4</i> | 1,6196 | -2,0566 | <i>Nipal4</i> | 1,4166 | 1,7066 |
| <i>Arhgef37</i> | 1,0875 | -1,7218 | <i>Nkain1</i> | -1,7697 | 1,7938 |
| <i>B230312C02Rik</i> | 2,4190 | -2,4831 | <i>Npnt</i> | 1,1773 | -2,2155 |
| <i>Bsnd</i> | 1,7583 | -2,1836 | <i>Nptx1</i> | 3,2479 | -2,8494 |
| <i>Cab39l</i> | 1,2398 | -1,9376 | <i>Nqo1</i> | 2,6106 | -1,8714 |
| <i>Calml3</i> | 3,6439 | -2,7694 | <i>Nupr1</i> | 1,2642 | -1,6359 |
| <i>Ccl6</i> | -3,5899 | -2,6303 | <i>Oas2</i> | 1,3893 | -2,6650 |
| <i>Cd14</i> | 0,9170 | -1,5421 | <i>Ociad2</i> | 1,1222 | -1,9869 |
| <i>Cd59b</i> | 1,4699 | -1,9587 | <i>P2rx2</i> | -2,7570 | 2,4436 |
| <i>Cdh16</i> | 1,0778 | -1,6153 | <i>Pabpn1l</i> | 3,3219 | -2,7142 |
| <i>Cdh2</i> | -1,0616 | 1,8192 | <i>Pcx</i> | 2,2872 | -1,5497 |
| <i>Cdkl1</i> | 3,1394 | -3,2119 | <i>Pde1a</i> | 1,4090 | -2,0800 |
| <i>Cdkn1c</i> | -1,1828 | 2,1929 | <i>Pfkfb3</i> | 1,1236 | -1,3896 |
| <i>Ckmt1</i> | 1,9986 | -1,9929 | <i>Phyhipl</i> | 1,2758 | -1,9808 |
| <i>Clca2</i> | 2,2224 | -3,0704 | <i>Pik3c2g</i> | 2,4150 | -3,7370 |
| <i>Clca3a2</i> | 1,0350 | -1,8573 | <i>Plat</i> | 2,6235 | -2,2800 |
| <i>Cldn1</i> | -0,9917 | 1,8944 | <i>Plet1</i> | 2,0629 | -2,1187 |
| <i>Cldn15</i> | 1,9769 | -2,7254 | <i>Plet1os</i> | 1,5985 | -2,4343 |
| <i>Cldn19</i> | 1,5947 | -1,6386 | <i>Plin2</i> | -1,1676 | 1,6407 |
| <i>Cnnm1</i> | 2,2367 | -3,4173 | <i>Pmp22</i> | -1,2116 | 2,8216 |
| <i>Cobll1</i> | 1,5037 | -1,3271 | <i>Podn</i> | 1,8153 | -3,0986 |
| <i>Cyp4a12b</i> | -1,5185 | 4,4962 | <i>Pou2f3</i> | 3,6724 | -3,3505 |
| <i>Cys1</i> | 1,0616 | -1,4989 | <i>Ppp4r4</i> | 1,6699 | -1,9334 |
| <i>Defb1</i> | 1,5280 | -3,0144 | <i>Prkar2b</i> | 1,5939 | -1,7701 |

| Genname | Log ₂ fold change Kontrolle 300 vs. 600 | Log ₂ fold change +4-OH-TM 600 vs. Kontrolle 600 | Genname | Log ₂ fold change Kontrolle 300 vs. 600 | Log ₂ fold change +4-OH-TM 600 vs. Kontrolle 600 |
|------------------|--|---|------------------|--|---|
| <i>Dgkg</i> | 2,5707 | -3,8509 | <i>Prom2</i> | 1,7626 | -1,7447 |
| <i>Dgkk</i> | -3,0589 | 1,7092 | <i>Psca</i> | 2,3290 | -1,8990 |
| <i>Diol1</i> | 2,7885 | -3,9260 | <i>Ptges</i> | 1,5172 | -1,6212 |
| <i>Dnase1l2</i> | 1,7934 | -1,5455 | <i>Ptprh</i> | 1,7058 | -1,4975 |
| <i>Egln3</i> | 0,9888 | -2,1178 | <i>Ptpr</i> | 2,4838 | -2,2359 |
| <i>Fa2h</i> | 2,2495 | -2,1093 | <i>Ranbp3l</i> | 4,6226 | -5,2205 |
| <i>Fam163a</i> | -1,8480 | 2,0790 | <i>Rasal1</i> | 1,8979 | -2,1622 |
| <i>Fam20c</i> | 0,8513 | -2,0931 | <i>Rasd1</i> | 2,0041 | -1,8342 |
| <i>Fcgbp</i> | 1,5573 | -2,5384 | <i>Rasl11b</i> | 1,7614 | -2,0714 |
| <i>Flrt1</i> | 1,9260 | -1,6107 | <i>Rassf6</i> | 1,4358 | -2,0542 |
| <i>Fndc1</i> | 3,3373 | -4,3373 | <i>Rnf183</i> | 2,9023 | -3,3034 |
| <i>Foxl2os</i> | -3,7347 | 2,5078 | <i>Ros1</i> | 1,4876 | -3,1239 |
| <i>Frem2</i> | 1,1243 | -1,8584 | <i>Rtn1</i> | 1,0065 | -1,4085 |
| <i>Fut2</i> | 1,7952 | -2,9758 | <i>Scg5</i> | 2,3262 | -1,7698 |
| <i>Fut9</i> | 1,3867 | -1,6101 | <i>Serpina10</i> | 1,7959 | -2,2445 |
| <i>Fxyd2</i> | 4,4892 | -4,4811 | <i>Serpina6</i> | 1,7987 | -2,2138 |
| <i>Fxyd4</i> | 2,7316 | -2,8379 | <i>Shisa7</i> | 1,7822 | -2,0057 |
| <i>Gcnt4</i> | 1,4704 | -1,9982 | <i>Slc12a1</i> | 2,9500 | -2,4552 |
| <i>Gjb1</i> | 1,5794 | -1,7095 | <i>Slc14a2</i> | 1,8090 | -4,1984 |
| <i>Gm11749</i> | 3,8826 | -4,2977 | <i>Slc17a1</i> | 3,7732 | -4,1623 |
| <i>Gm12138</i> | 1,5207 | -2,2277 | <i>Slc17a4</i> | 1,3794 | -1,9821 |
| <i>Gm15753</i> | 2,0943 | -2,0184 | <i>Slc1a3</i> | 1,7065 | -3,0284 |
| <i>Gm16310</i> | 2,3129 | -2,4060 | <i>Slc25a48</i> | 1,9777 | -1,3860 |
| <i>Gm37320</i> | 3,5166 | -2,5166 | <i>Slc38a11</i> | 3,2167 | -5,3866 |
| <i>Gm42586</i> | 2,6889 | -3,0875 | <i>Slc45a3</i> | 1,7695 | -1,4537 |
| <i>Gm43003</i> | 2,9475 | 1,9351 | <i>Slc4a5</i> | 1,5514 | -2,0518 |
| <i>Gm5043</i> | 5,1293 | -4,5443 | <i>Slc5a3</i> | 2,6868 | -2,4558 |
| <i>Gm5210</i> | 4,9773 | -4,3923 | <i>Slc6a12</i> | 2,4670 | -2,8279 |
| <i>Gm567</i> | 3,3897 | -2,9003 | <i>Slco4a1</i> | 1,4672 | -2,8253 |
| <i>Gm6665</i> | 1,7360 | -2,0628 | <i>Sod3</i> | 2,1418 | -3,5061 |
| <i>Gpr50</i> | -1,8662 | 2,4207 | <i>Sorcs3</i> | 1,8580 | -2,0990 |
| <i>Gprc5b</i> | 1,1503 | -1,3769 | <i>Spon1</i> | 1,6265 | -2,5455 |
| <i>Grand1b</i> | 1,0466 | -1,3481 | <i>Srpx2</i> | 1,4536 | -2,3251 |
| <i>Gsdmc2</i> | 3,9686 | -5,8687 | <i>St8sia2</i> | -2,0834 | 1,5160 |
| <i>Gsdmc3</i> | 3,7325 | -6,3502 | <i>Sult1a1</i> | 1,4015 | -1,9678 |
| <i>Gsdmc4</i> | 3,6476 | -4,5568 | <i>Sumo2</i> | -1,9319 | 2,0070 |
| <i>Gsdmc1-ps</i> | 3,4500 | -3,9355 | <i>Syndig1</i> | -3,0100 | 2,5443 |
| <i>Gstm2</i> | 1,5002 | -2,0755 | <i>Tas1r3</i> | 1,2773 | -1,5384 |
| <i>Gucy2g</i> | 3,2039 | -3,6189 | <i>Tmem45b</i> | 1,7003 | -1,6350 |
| <i>Hacd4</i> | 1,2170 | -2,3358 | <i>Tmprss2</i> | 1,0335 | -1,5669 |
| <i>Hsd11b2</i> | -2,4464 | 1,5932 | <i>Tspan1</i> | 1,1108 | -2,3337 |
| <i>Hspa1a</i> | 1,5013 | -2,4690 | <i>Veph1</i> | 1,7873 | -1,6201 |
| <i>Hspa1b</i> | 1,6108 | -2,9620 | | | |

8.8 Nierenzellkarzinom - Klassifikation, Einteilung und Therapieentwicklung

8.8.1 Histologische Beispiele der häufigsten Nierenzellkarzinom Entitäten

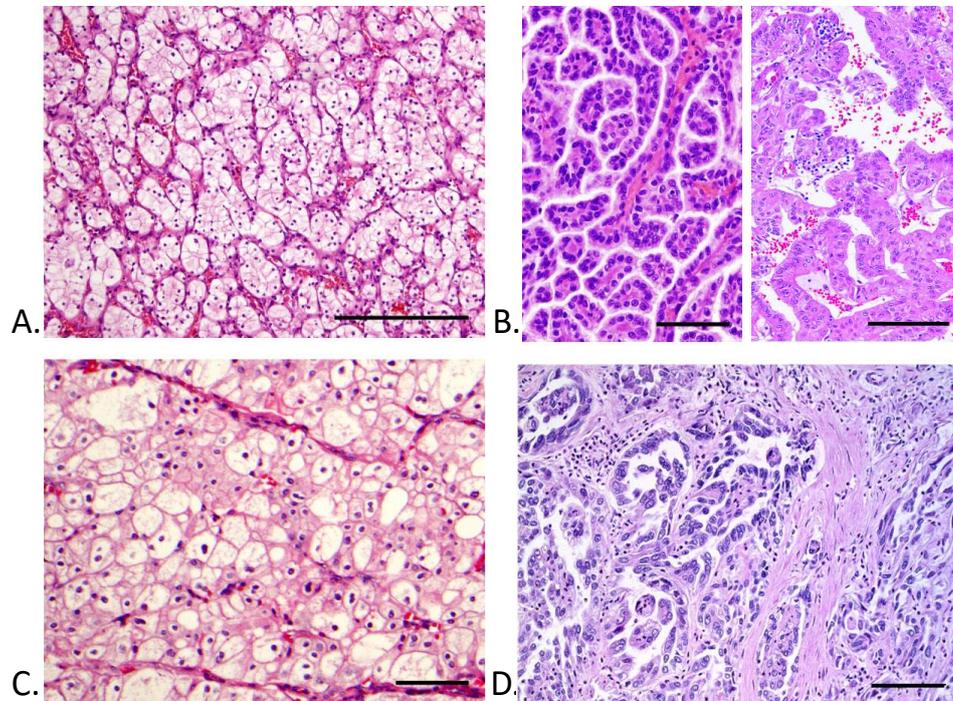


Abbildung 60: Pathohistologie des Nierenzellkarzinoms.

Typische histomorphologische Erscheinungsbilder von klarzelligem (A), papillärem (B, Typ 1 und Typ 2), chromophobem (C) Nierenzellkarzinom und Sammelrohrkarzinom (D). HE-Färbungen, (Maßstabsleiste: 100 µm) (Verändert nach [228])

8.8.2 Nierenzellkarzinom-Stadien Einteilung

Tabelle 29: Einteilung der Stadien des Nierenzellkarzinoms

| Stadium | Primärtumor | Lymphknoten | Fernmetastasen |
|------------|-------------|-------------|----------------|
| I | T1 | N0 | M0 |
| | T1a | | |
| | T1b | | |
| II | T2a | N0 | M0 |
| | T2b | | |
| III | T3a | N0 | M0 |
| | T3b | | |
| | T3c | | |
| | T1-3 | | |
| IV | T4 | N0, N1 | M0 |
| | alle T | | |

8.8.3 Medikamentöse Therapie-Entwicklung beim Nierenzellkarzinom

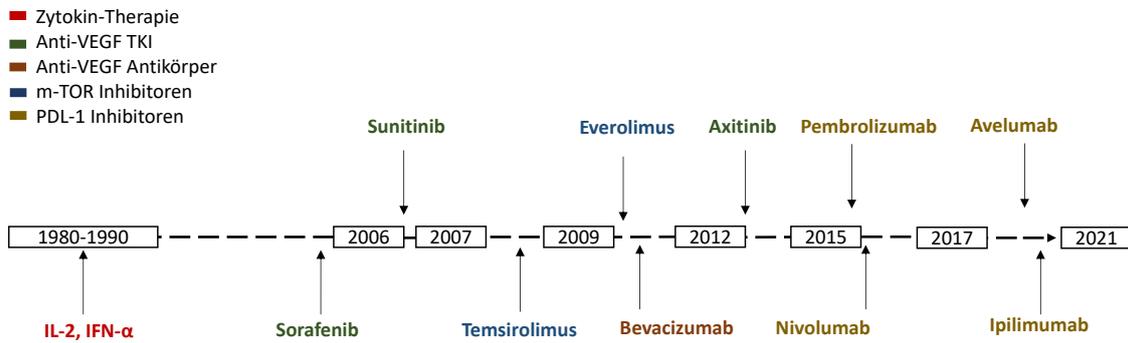


Abbildung 61: Medikamentöse Therapie-Entwicklung beim Nierenzellkarzinom.

Innerhalb der letzten 40 Jahre hat sich die medikamentöse Therapie des Nierenzellkarzinoms stark verändert. Während in den 1980er und 90er Jahren eine Zytokintherapie mit IFN- α und IL-2 das Standardverfahren war, wurde in den frühen 2000er Jahren das Nierenzellkarzinom durch gezieltere Angiogenese- und Proliferationshemmung mittels Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) sowie m-TOR Inhibitoren behandelt. Seit 2015 werden zusätzlich Immun-Check-Point-Inhibitoren bei der Behandlung eingesetzt. Erstlinientherapie ist derzeit eine Kombination aus Axitinib und Avelumab oder Axitinib mit Pembrolizumab (Verändert nach [71, 212, 213])

8.9 GEPIA2 Tumorentitäten

Tabelle 30: Auflistung aller in GEPIA2 enthaltenen Tumorentitäten mit den jeweiligen Abkürzungen

| TCGA Name | Tumorentität |
|------------------|---|
| ACC | <i>Adrenocortical carcinoma</i> |
| BLCA | <i>Bladder Urothelial Carcinoma</i> |
| BRCA | <i>Breast invasive carcinoma</i> |
| CESC | <i>Cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma</i> |
| CHOL | <i>Cholangio carcinoma</i> |
| COAD | <i>Colon adenocarcinoma</i> |
| DLBC | <i>Lymphoid Neoplasm Diffuse Large B-cell Lymphoma</i> |
| ESCA | <i>Esophageal carcinoma</i> |
| GBM | <i>Glioblastoma multiforme</i> |
| HNSC | <i>Head and Neck squamous cell carcinoma</i> |
| KICH | <i>Kidney Chromophobe</i> |
| KIRC | <i>Kidney renal clear cell carcinoma</i> |
| KIRP | <i>Kidney renal papillary cell carcinoma</i> |
| LAML | <i>Acute Myeloid Leukemia</i> |
| LGG | <i>Brain Lower Grade Glioma</i> |
| LIHC | <i>Liver hepatocellular carcinoma</i> |
| LUAD | <i>Lung adenocarcinoma</i> |
| LUSC | <i>Lung squamous cell carcinoma</i> |
| MESO | <i>Mesothelioma</i> |
| OV | <i>Ovarian serous cystadenocarcinoma</i> |
| PAAD | <i>Pancreatic adenocarcinoma</i> |
| PCPG | <i>Pheochromocytoma and Paraganglioma</i> |
| PRAD | <i>Prostate adenocarcinoma</i> |
| READ | <i>Rectum adenocarcinoma</i> |
| SARC | <i>Sarcoma</i> |
| SKCM | <i>Skin Cutaneous Melanoma</i> |
| STAD | <i>Stomach adenocarcinoma</i> |
| TGCT | <i>Testicular Germ Cell Tumors</i> |
| THCA | <i>Thyroid carcinoma</i> |
| THYM | <i>Thymoma</i> |
| UCEC | <i>Uterine Corpus Endometrial Carcinoma</i> |
| UCS | <i>Uterine Carcinosarcoma</i> |
| UVM | <i>Uveal Melanoma</i> |

8.10 Expasy-Analyse

8.10.1 NFAT5

NFAT5-WT-Proteinsequenz-Q9WV30:

MGGACSSFTTSSSPTIYSTSVTDSKAMQVESCSSAVGVSNRGVSEKQLTGNVQHPSTPKRHTVLYISPPPELDDNSRMSCQDEGCGLSEQSCSMWEDSPSNFNSMS
TSSYNDNTEVPRKSRKRNPKQRPGVKRRDCEESNMDIFDADSAKAPHYVLSQLTDTDNKNSKAGNGLTDSQKGTGVKKSFLCQGYPVKSEKELKIVVQPETQHRARYLT
EGSRGSKVDRTRQGGFPTVKLEGHNEPVVLQVFGNDSGRVKGPHFYQACRVTRNTTCKEVDIEGTTVIEVGLDPSNNMTLAVDCVGIKLRNADVEARIGIAGSKKST
RARLVFRVNI TRKDGSTLTLPSSPILCTQPAGVPEILKKSLSHSCSVKGEVEVFLI GKNFLKGTQVIFQENVSDENSWKSEAEIDMELFHQNHLIVKVPYHDQHI TLPV
SVGIYVVTNAGRSHDQPFPTYTPDPAAGALNVNVKKEISSPARPCSFEEMKAMKTTGCNVDKVTILPNALITPLISSMIKTEDVTPMEVTSSEKRSPIFQTTKISGSTQ
QTLETISNIAGGAPFSSPSSSSHLTPESENQQQLQPKAYNPETLTTIQTQDISQPGTFPAVSAASQLPSSDALLQQTQFQTRQAQSRDTIQSDTVVNLSQLTEASQQQSS
PLQEQATLQQQIPSNIFPSPSSVSQLQSTIQQLQAGSFTGSAAGGRSGSVDLVQVLEAQQQLSSVLFSTPDGNENVQEQNLADIFQVSIQNSVSPGMFSSAESAVHTR
PDNLLPGRADSVHQQTENTLSNQQQQQQQQVMESAAAMVMEMQOSICQAAAQIQSELFPSSAASAGSLQOSPVYQPPSHMMSALPTNEDMQMCELFSPPAASGNETS
TTTTPQVATPGSTMFTQPSGDEEETGAQAKQIQNSVFQTMVQMRSGDSQPQVNLFSSTKNIMSVQNNGTQQGNSLQGGSEMMSLQSGNLFQQSSHSQAQLFHPQNP
ADAQNLSETQGSIFHSPNPIVHSQTSASSEQLQPSMFHSQNTIAVLQSSVPQDQSPNIFLSQSSINNLQNTVAQEEQISFFAAQNSISPLQSTSNTEQQAFAQQQP
PISHIQTPILSQEQAPSQQGLFQPVQVALGSLPPNMPQNGQPIFQTRPIVGMQSNPSQEQQQQQQQQQQQQQQQQQSILFSNQNAMATMASQKPPPNMFSFN
QNPMAEQEQNQSI FHQSNMAMPNQEQPMQFNQPTVSSLQNPQPTQSESPQSLFHSSPQIQLVQGSPPSSDQVQVTLFLSPASMSALQTSINQPDQQSPLYSPQNNI
PGIQGSTSSPQATLPHNTTGGTINQIQNSPGSSQTSGMFLFGIQNNCSQLLTSGPATLPDQLMANTQQGQPNQEGQSSVTTLLSQMPETSPLASSVNSSQNMKIDL
LVSLQSQGNLTSF

NFAT-N1-Proteinsequenz:

MGGACSSFTTSSSPTIYSTSVTDSKAMQVESCSSAVGVSNRGVSEKQLTGNVQHPSTPKRHTVLYISPPPELDDNSRMSCQDEGCGLSEQSCSMWEDSPSNFNSMS
TSSYNDNTEVPRKSRKRNPKQRPGSNDEIVKNLIWIYLMPTVPKHLTMCFLSLPRTTKATQKLEMEHWTAKRELE-

NFAT5 -N3-Proteinsequenz:

MGGACSSFTTSSSPTIYSTSVTDSKAMQVESCSSRGGK-
MGGACSSFTTSSSPTIYSTSVTDSKAMQVESCSSWG-

8.10.2 RANBP3L

RANBP3L-WT-Proteinsequenz-Q6PDH4:

MSTTQRKDDSHLFTSSCTRQLQVQEDRQQQEKYVIAQPIFVFEKGEHNFKRAEDSLEETAPEFTGFLRKRVRSSSVTLHTTDPQSQGVATLSQTRLRSSSFTDVPTFPPC
RFVRRKNNVMTSRLLRSDDMNNVEQGPMPRSSEQLVLRPAVLQPSQTQSCQKAGTTFGPGALKSYKTKKAEHEISEVGSSSSLLSENLPNARSISQLSTDPICISEAPSGCQ
PKEDKCSFTSCSSDFVGENMVERVLGTQKLTQPPQLNLSYAKEKTFKSVLKFNPNAVSNDSIENISLVESAFAAFSSKPSQKCLEKIDVITGEETEHNVLKINCKIFVFNK
ATESWSEGGIIRLNDTAGRECGTLQSRILMRNQSRLVLSRSLWAQMKIQASQKNLRITATDLEDGKIIFLIQASAKDTGFLYAATHHRLVALRSLAKQDGGPAES
QSDTALPQLNGESCEDEDEIAQVTKNGSDPSRWSHRQSI VCS

RANBP3L-R1-Proteinsequenz:

MSTTQRKDDSHLFTSSCTRQLQVQEDRQQQEKYVIAQPIFVFEKGEHNFKRAEDSLEETAPEFTGFLRKRVRSSSVTLHTTDPQSQGVATLSQTRLEVLVIH-
MSTTQRKDDSHLFTSSCTRQLQVQEDRQQQEKYVIAQPIFVFEKGEHNFKRAEDSLEETAPEFTGFLRKRVRSSSVTLHTTDPQSQGVATLSQTRLEVLVIH-

RANBP3L-R3-Proteinsequenz:

MSTTQRKDDSHLFTSSRVSCRRIKNSKKNMSSLQYLFLRKENTILRDLQKTAWKKRQSLNSLVS-
MSTTQRKDDSHLFTSSARVSCRRIKNSKKNMSSLQYLFLRKENTILRDLQKTAWKKRQSLNSLVS-

8.10.3 SPARC

SPARC-WT-Proteinsequenz-P07214:

MRAWIFFLLLAGRALAAPQQTVEAEIEVEEETVVEETGVVPGANPVQVEMGEFEDGAEETVEEVVADNPNQNHCKHGKVCLEDESNTPMCVCQDPTSCPAPIGEFEKVC
NDNKTFDSSCHFFATKCTLEGTKKGHKLHLDYIGPCKYIAPCLDSELETFPLMRDLDKLVNLTLYERDEGNLLTEKQKLRVKKIHENEKRLBAGDHPVEILLARDFEKNY
MYIFPVHWQFGQLDQH PIDGYLSHTELAPLAPLIPMEHCTTRFFETCDLNDNKYIALEEWAFCGFIKEQDINKDLVI

SPARC-S2-Proteinsequenz:

MRAWIFFLLPGREGGSPSD-
MRAWIFFLLGREGGSPSD-

8.11 RANBP3L-Knockout-Analysen

8.11.1 1771 regulierte Gene in RANBP3L-defizienten-mpkCCD-Zellen im Vergleich zu Scr-Kontrollen

Tabelle 31: Log₂ fold change von 1771 differentiell-regulierten-Genen in RANBP3L-defizienten-Zellen unter 300 und 600 mosmol/kg

| Genname | log ₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log ₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log ₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Hoxa10</i> | -9,9189 | -8,5906 | -9,2547 |
| <i>Zfp422</i> | -9,2877 | -9,1072 | -9,1975 |
| <i>Hoxa9</i> | -10,2363 | -8,1408 | -9,1886 |
| <i>Sh3gl2</i> | -8,7756 | -8,7108 | -8,7432 |
| <i>Atp6v0e2</i> | -8,8098 | -8,4402 | -8,6250 |
| <i>Epdr1</i> | -9,3939 | -7,8073 | -8,6006 |
| <i>Hdgfrp3</i> | -9,3106 | -7,5721 | -8,4414 |
| <i>Phactr2</i> | -8,6493 | -7,9805 | -8,3149 |
| <i>Galnt11</i> | -7,9527 | -8,3891 | -8,1709 |
| <i>Smoc1</i> | -7,7392 | -8,1383 | -7,9387 |
| <i>Inmt</i> | -7,8486 | -7,8643 | -7,8565 |
| <i>Asb4</i> | -6,9578 | -8,4498 | -7,7038 |
| <i>Plag11</i> | -6,4998 | -8,8196 | -7,6597 |
| <i>Eif5a2</i> | -8,3320 | -6,7574 | -7,5447 |
| <i>Aldh2</i> | -7,4998 | -7,5780 | -7,5389 |
| <i>Hebp2</i> | -7,6635 | -7,3685 | -7,5160 |
| <i>Ccdc91</i> | -7,4892 | -7,3912 | -7,4402 |
| <i>Slc9a7</i> | -7,2621 | -7,1472 | -7,2046 |
| <i>Hoxd9</i> | -7,4625 | -6,8503 | -7,1564 |
| <i>Sim1</i> | -7,2503 | -7,0458 | -7,1480 |
| <i>Arrb1</i> | -5,8745 | -8,3185 | -7,0965 |
| <i>Enox2</i> | -6,9692 | -6,9986 | -6,9839 |
| <i>Tspan13</i> | -7,0279 | -6,7781 | -6,9030 |
| <i>Sipa1l2</i> | -7,1510 | -6,6169 | -6,8840 |
| <i>Nrk</i> | -6,6653 | -7,0075 | -6,8364 |
| <i>Neil3</i> | -6,3808 | -7,2046 | -6,7927 |
| <i>Kitl</i> | -6,5999 | -6,9009 | -6,7504 |
| <i>Hoxa7</i> | -6,6214 | -6,6408 | -6,6311 |
| <i>Hoxd8</i> | -7,2940 | -5,9122 | -6,6031 |
| <i>Adgra1</i> | -6,0821 | -7,0875 | -6,5848 |
| <i>Prdm5</i> | -6,6865 | -6,3129 | -6,4997 |
| <i>Myb</i> | -6,5812 | -6,3837 | -6,4824 |
| <i>Zfhx4</i> | -5,8857 | -7,0389 | -6,4623 |
| <i>Rnf217</i> | -7,7275 | -5,0497 | -6,3886 |
| <i>Kcnq1</i> | -6,5288 | -6,1137 | -6,3213 |
| <i>Delk2</i> | -6,5999 | -6,0371 | -6,3185 |
| <i>Olfm4</i> | -6,5709 | -5,9447 | -6,2578 |
| <i>3830403n18rik</i> | -5,5721 | -6,5242 | -6,0482 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Hoxd10</i> | -6,7347 | -5,3438 | -6,0393 |
| <i>Tmem159</i> | -6,4703 | -5,5546 | -6,0125 |
| <i>Pank1</i> | -6,0639 | -5,8743 | -5,9691 |
| <i>Epha7</i> | -6,6110 | -5,1699 | -5,8905 |
| <i>Beckdhb</i> | -7,0580 | -4,7074 | -5,8827 |
| <i>Gm13394</i> | -6,5323 | -5,1279 | -5,8301 |
| <i>Ust</i> | -5,9600 | -5,6935 | -5,8267 |
| <i>Bbs7</i> | -5,9658 | -5,6771 | -5,8215 |
| <i>Rgs20</i> | -5,6439 | -5,8887 | -5,7663 |
| <i>Tet2</i> | -6,5999 | -4,9069 | -5,7534 |
| <i>Slmo1</i> | -6,2479 | -5,2432 | -5,7455 |
| <i>Smarca1</i> | -6,2969 | -5,0636 | -5,6802 |
| <i>Fzd8</i> | -6,0056 | -5,3458 | -5,6757 |
| <i>Pdlim1</i> | -6,6830 | -4,5131 | -5,5980 |
| <i>Ano9</i> | -5,7987 | -5,3820 | -5,5904 |
| <i>Rorb</i> | -5,3663 | -5,8009 | -5,5836 |
| <i>Tex101</i> | -6,0056 | -5,0444 | -5,5250 |
| <i>Dapk1</i> | -5,3923 | -5,5480 | -5,4702 |
| <i>Cbs</i> | -6,0625 | -4,8009 | -5,4317 |
| <i>Ugt8a</i> | -6,2117 | -4,5973 | -5,4045 |
| <i>Thsd7a</i> | -6,3193 | -4,4831 | -5,4012 |
| <i>Gstt1</i> | -5,3322 | -5,4553 | -5,3938 |
| <i>Nat2</i> | -5,1548 | -5,5850 | -5,3699 |
| <i>Samd12</i> | -5,3219 | -5,3750 | -5,3485 |
| <i>Hoxd3os1</i> | -5,0804 | -5,5799 | -5,3302 |
| <i>Scara5</i> | -5,8413 | -4,6958 | -5,2686 |
| <i>Pcdh19</i> | -5,6366 | -4,8269 | -5,2317 |
| <i>9130019o22rik</i> | -4,8988 | -5,5025 | -5,2007 |
| <i>Slc39a8</i> | -4,0768 | -6,1649 | -5,1209 |
| <i>Ai429214</i> | -5,5924 | -4,6439 | -5,1182 |
| <i>Mtus1</i> | -4,7248 | -5,3840 | -5,0544 |
| <i>Zfp493</i> | -4,6795 | -5,4150 | -5,0473 |
| <i>Gk5</i> | -5,2946 | -4,7495 | -5,0221 |
| <i>Serpina3g</i> | -5,9341 | -4,0531 | -4,9936 |
| <i>St6galnac6</i> | -4,5392 | -5,4094 | -4,9743 |
| <i>Gm773</i> | -5,1241 | -4,8202 | -4,9721 |
| <i>Traf1</i> | -5,0987 | -4,8402 | -4,9694 |
| <i>A730020e08rik</i> | -5,7814 | -4,0149 | -4,8982 |
| <i>Fam92a</i> | -5,3651 | -4,4305 | -4,8978 |
| <i>Tmeff1</i> | -5,4207 | -4,3038 | -4,8622 |
| <i>Ptp4a3</i> | -5,5495 | -4,1744 | -4,8619 |
| <i>Fsd11</i> | -4,7004 | -5,0224 | -4,8614 |
| <i>Hoxd4</i> | -5,1293 | -4,5546 | -4,8419 |
| <i>Lrtn3</i> | -4,1015 | -5,5314 | -4,8165 |
| <i>Opn5</i> | -4,2288 | -5,4009 | -4,8148 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Gm28230</i> | -4,9658 | -4,6438 | -4,8048 |
| <i>Stox2</i> | -5,6600 | -3,8875 | -4,7738 |
| <i>Lect1</i> | -3,6818 | -5,8611 | -4,7715 |
| <i>Gpr153</i> | -3,8704 | -5,6073 | -4,7388 |
| <i>Htr1b</i> | -4,9864 | -4,4827 | -4,7345 |
| <i>Ccl5</i> | -4,5978 | -4,8315 | -4,7146 |
| <i>Zfp941</i> | -5,3398 | -4,0875 | -4,7137 |
| <i>Trim12a</i> | -3,7279 | -5,6582 | -4,6931 |
| <i>Capsl</i> | -4,5699 | -4,7814 | -4,6756 |
| <i>Apol9b</i> | -3,8074 | -5,4958 | -4,6516 |
| <i>Tmprss4</i> | -4,7977 | -4,4346 | -4,6161 |
| <i>Clca1</i> | -5,0732 | -4,1565 | -4,6149 |
| <i>Apol9a</i> | -4,0000 | -5,2075 | -4,6037 |
| <i>Gm14295</i> | -4,2682 | -4,9248 | -4,5965 |
| <i>Asrg11</i> | -4,2808 | -4,7655 | -4,5232 |
| <i>Sytl4</i> | -4,9542 | -4,0589 | -4,5065 |
| <i>Hoxd3</i> | -4,2094 | -4,7682 | -4,4888 |
| <i>Xlr</i> | -4,3910 | -4,4535 | -4,4222 |
| <i>Ccser1</i> | -4,6448 | -4,1350 | -4,3899 |
| <i>Fmo1</i> | -5,0541 | -3,7004 | -4,3772 |
| <i>Tenm4</i> | -4,6724 | -4,0732 | -4,3728 |
| <i>Tnc</i> | -4,4703 | -4,2250 | -4,3476 |
| <i>Oas1g</i> | -3,3692 | -5,3189 | -4,3441 |
| <i>Sycp1</i> | -4,1155 | -4,5546 | -4,3350 |
| <i>Celsr2</i> | -5,0196 | -3,6323 | -4,3259 |
| <i>Lpar1</i> | -4,5353 | -4,0000 | -4,2676 |
| <i>Aldh5a1</i> | -4,1170 | -4,3452 | -4,2311 |
| <i>Lppr4</i> | -3,9542 | -4,4757 | -4,2150 |
| <i>Nlr1</i> | -3,7415 | -4,5546 | -4,1480 |
| <i>Nfix</i> | -3,4102 | -4,8329 | -4,1216 |
| <i>Arhgef38</i> | -3,6639 | -4,5622 | -4,1131 |
| <i>Lifr</i> | -4,8580 | -3,2840 | -4,0710 |
| <i>Gm20559</i> | -2,8908 | -5,2416 | -4,0662 |
| <i>C130071c03rik</i> | -4,5698 | -3,5236 | -4,0467 |
| <i>Dnaic2</i> | -3,8580 | -4,1898 | -4,0239 |
| <i>Il33</i> | -5,4071 | -2,6333 | -4,0202 |
| <i>Tmem45b</i> | -4,4101 | -3,5843 | -3,9972 |
| <i>Zfp870</i> | -4,2288 | -3,7549 | -3,9918 |
| <i>Kenj15</i> | -3,6147 | -4,3575 | -3,9861 |
| <i>Rtp4</i> | -2,7188 | -5,2013 | -3,9601 |
| <i>2010300c02rik</i> | -5,0924 | -2,8225 | -3,9575 |
| <i>Slc9a2</i> | -3,8771 | -3,9396 | -3,9084 |
| <i>Cfap74</i> | -4,1293 | -3,6818 | -3,9055 |
| <i>Bnc2</i> | -3,9069 | -3,8826 | -3,8948 |
| <i>Sytl2</i> | -3,5236 | -4,2605 | -3,8920 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Myt1l</i> | -4,6771 | -3,0976 | -3,8874 |
| <i>Wdr72</i> | -4,0444 | -3,6438 | -3,8441 |
| <i>Rsad2</i> | -2,6118 | -5,0467 | -3,8292 |
| <i>Oas1a</i> | -3,0771 | -4,5763 | -3,8267 |
| <i>Fkbp11</i> | -4,9773 | -2,5942 | -3,7857 |
| <i>Il15</i> | -2,9696 | -4,5949 | -3,7823 |
| <i>1700011h14rik</i> | -4,4811 | -3,0719 | -3,7765 |
| <i>Fggy</i> | -4,3038 | -3,2479 | -3,7758 |
| <i>Pof1b</i> | -3,8329 | -3,6865 | -3,7597 |
| <i>Nr1h4</i> | -3,4263 | -4,0680 | -3,7472 |
| <i>Dnajc12</i> | -4,0258 | -3,4556 | -3,7407 |
| <i>Aqp11</i> | -4,7142 | -2,7655 | -3,7399 |
| <i>5830444b04rik</i> | -3,5236 | -3,9542 | -3,7389 |
| <i>Klhl14</i> | -4,7004 | -2,6562 | -3,6783 |
| <i>Cxcl10</i> | -2,6766 | -4,6740 | -3,6753 |
| <i>Vsnl1</i> | -4,0780 | -3,2288 | -3,6534 |
| <i>Zc4h2</i> | -3,4790 | -3,8093 | -3,6442 |
| <i>Il17rb</i> | -3,0149 | -4,2479 | -3,6314 |
| <i>Ifi205</i> | -3,4179 | -3,8413 | -3,6296 |
| <i>Ppp1r1b</i> | -3,7347 | -3,5036 | -3,6192 |
| <i>Nipal2</i> | -3,4342 | -3,7415 | -3,5878 |
| <i>Slc18b1</i> | -3,6834 | -3,4578 | -3,5706 |
| <i>Slc5a1</i> | -3,5850 | -3,5443 | -3,5646 |
| <i>Trps1</i> | -3,3219 | -3,8073 | -3,5646 |
| <i>Cmpk2</i> | -2,7090 | -4,4191 | -3,5640 |
| <i>Rnf43</i> | -4,0149 | -3,1037 | -3,5593 |
| <i>Inpp4b</i> | -4,8497 | -2,2479 | -3,5488 |
| <i>Il7</i> | -3,8826 | -3,1743 | -3,5284 |
| <i>Aldh1a1</i> | -4,4263 | -2,6041 | -3,5152 |
| <i>Zdhhc14</i> | -2,9740 | -4,0356 | -3,5048 |
| <i>Heyl</i> | -3,2977 | -3,6630 | -3,4803 |
| <i>Dagla</i> | -3,4795 | -3,4594 | -3,4694 |
| <i>Accs</i> | -3,5443 | -3,3923 | -3,4683 |
| <i>9130409j20rik</i> | -3,8826 | -3,0360 | -3,4593 |
| <i>Ai662270</i> | -3,7814 | -3,1293 | -3,4553 |
| <i>Adams7</i> | -3,7300 | -3,1516 | -3,4408 |
| <i>Flrt1</i> | -2,4391 | -4,4263 | -3,4327 |
| <i>Has2</i> | -4,0371 | -2,8244 | -3,4308 |
| <i>Gm43742</i> | -3,6647 | -3,1832 | -3,4240 |
| <i>Ntpcr</i> | -3,0318 | -3,7965 | -3,4142 |
| <i>Il1f5</i> | -2,3985 | -4,4263 | -3,4124 |
| <i>Cp</i> | -2,8898 | -3,9273 | -3,4086 |
| <i>Tgfbr3</i> | -2,9413 | -3,8670 | -3,4042 |
| <i>Slc26a1</i> | -4,0189 | -2,7814 | -3,4001 |
| <i>Clstn3</i> | -3,5850 | -3,1593 | -3,3721 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Tprg</i> | -4,2844 | -2,4368 | -3,3606 |
| <i>Ppp1r9a</i> | -3,1175 | -3,5844 | -3,3510 |
| <i>Cntn4</i> | -3,8073 | -2,8480 | -3,3277 |
| <i>Gabrp</i> | -2,9920 | -3,5662 | -3,2791 |
| <i>Tet1</i> | -4,1085 | -2,4330 | -3,2707 |
| <i>Dtna</i> | -3,8455 | -2,6765 | -3,2610 |
| <i>Fam171b</i> | -3,2479 | -3,2730 | -3,2605 |
| <i>Ggt7</i> | -2,9773 | -3,5435 | -3,2604 |
| <i>E430018j23rik</i> | -3,6273 | -2,8893 | -3,2583 |
| <i>Cep126</i> | -3,4703 | -3,0000 | -3,2352 |
| <i>Slc22a18</i> | -3,5484 | -2,8074 | -3,1779 |
| <i>Naip2</i> | -2,3559 | -3,9619 | -3,1589 |
| <i>Kbtbd6</i> | -3,8074 | -2,5096 | -3,1585 |
| <i>Ifit1</i> | -1,8166 | -4,4964 | -3,1565 |
| <i>Slc16a10</i> | -2,8751 | -3,4244 | -3,1497 |
| <i>Ankrd35</i> | -4,3923 | -1,9005 | -3,1464 |
| <i>Nxpe4</i> | -3,0179 | -3,2695 | -3,1437 |
| <i>C1qtmf6</i> | -2,3219 | -3,8861 | -3,1040 |
| <i>Rassf4</i> | -3,2895 | -2,8826 | -3,0861 |
| <i>D630039a03rik</i> | -4,3219 | -1,7781 | -3,0500 |
| <i>Cd81</i> | -2,9275 | -3,1226 | -3,0250 |
| <i>Dbn1</i> | -2,8215 | -3,2082 | -3,0148 |
| <i>Tfpi</i> | -2,7395 | -3,2882 | -3,0139 |
| <i>Psre1</i> | -4,0753 | -1,9320 | -3,0036 |
| <i>Veph1</i> | -2,8220 | -3,1729 | -2,9974 |
| <i>Lypd2</i> | -2,0031 | -3,9395 | -2,9713 |
| <i>Limch1</i> | -3,7430 | -2,1922 | -2,9676 |
| <i>Il5ra</i> | -3,2599 | -2,6743 | -2,9671 |
| <i>Fcgrt</i> | -2,1259 | -3,8074 | -2,9666 |
| <i>Map3k7cl</i> | -4,0822 | -1,7796 | -2,9309 |
| <i>Chadl</i> | -3,0000 | -2,8365 | -2,9182 |
| <i>Gm43305</i> | -2,4405 | -3,3826 | -2,9115 |
| <i>Smim6</i> | -3,3385 | -2,4493 | -2,8939 |
| <i>Synpo</i> | -3,5416 | -2,2126 | -2,8771 |
| <i>Steap3</i> | -3,2143 | -2,5361 | -2,8752 |
| <i>Epsti1</i> | -2,9635 | -2,7334 | -2,8484 |
| <i>Car13</i> | -2,3431 | -3,3491 | -2,8461 |
| <i>Fhod3</i> | -3,4594 | -2,1323 | -2,7959 |
| <i>Renbp</i> | -2,7460 | -2,8329 | -2,7894 |
| <i>Nfkbid</i> | -2,6491 | -2,8554 | -2,7522 |
| <i>Tas1r3</i> | -2,3773 | -3,1197 | -2,7485 |
| <i>Chdh</i> | -3,1149 | -2,3279 | -2,7214 |
| <i>Sgsm1</i> | -3,0948 | -2,3404 | -2,7176 |
| <i>Parp14</i> | -1,7241 | -3,7024 | -2,7133 |
| <i>Gstm7</i> | -3,2192 | -2,1883 | -2,7037 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Zfp28</i> | -2,7643 | -2,6333 | -2,6988 |
| <i>Bcl2l14</i> | -3,3825 | -2,0000 | -2,6912 |
| <i>Aqp1</i> | -4,1890 | -1,1673 | -2,6782 |
| <i>Fkbp14</i> | -2,7655 | -2,5236 | -2,6445 |
| <i>9330182l06rik</i> | -3,0603 | -2,2180 | -2,6392 |
| <i>Loxl3</i> | -2,7370 | -2,5090 | -2,6230 |
| <i>Gpr182</i> | -2,9449 | -2,2962 | -2,6205 |
| <i>Akap17b</i> | -2,0601 | -3,1766 | -2,6184 |
| <i>Gmfg</i> | -2,1553 | -3,0661 | -2,6107 |
| <i>Ramp3</i> | -2,9281 | -2,2587 | -2,5934 |
| <i>Il13ra1</i> | -2,5003 | -2,6855 | -2,5929 |
| <i>Hsf2bp</i> | -2,5850 | -2,5916 | -2,5883 |
| <i>Matn2</i> | -3,3785 | -1,7901 | -2,5843 |
| <i>5730596b20rik</i> | -2,6135 | -2,5311 | -2,5723 |
| <i>Ifim3</i> | -1,9064 | -3,2055 | -2,5559 |
| <i>Tmem173</i> | -2,4162 | -2,6915 | -2,5539 |
| <i>Spaca7</i> | -2,6724 | -2,3770 | -2,5247 |
| <i>Hoxa6</i> | -2,5157 | -2,5236 | -2,5196 |
| <i>Vcam1</i> | -3,0191 | -2,0199 | -2,5195 |
| <i>Tmem121</i> | -2,8224 | -2,2155 | -2,5190 |
| <i>Fer1l4</i> | -3,1799 | -1,8248 | -2,5023 |
| <i>6330403k07rik</i> | -2,7472 | -2,2172 | -2,4822 |
| <i>Rasl10b</i> | -2,7279 | -2,1876 | -2,4578 |
| <i>Dok3</i> | -2,7051 | -2,1744 | -2,4397 |
| <i>Ppm1e</i> | -2,1468 | -2,7318 | -2,4393 |
| <i>Tbc1d30</i> | -2,7549 | -2,0896 | -2,4223 |
| <i>Ly6e</i> | -1,4285 | -3,3977 | -2,4131 |
| <i>Cxcl5</i> | -1,9454 | -2,8726 | -2,4090 |
| <i>Chd9</i> | -2,4423 | -2,3746 | -2,4085 |
| <i>Il1rl1</i> | -2,9469 | -1,8692 | -2,4080 |
| <i>Ppp2r2c</i> | -2,5767 | -2,2285 | -2,4026 |
| <i>Hoxa5</i> | -2,4658 | -2,3238 | -2,3948 |
| <i>Cxcl2</i> | -1,5295 | -3,2412 | -2,3853 |
| <i>Tnfrsf9</i> | -2,5668 | -2,1699 | -2,3684 |
| <i>Dgat2</i> | -1,9919 | -2,7116 | -2,3517 |
| <i>Fat2</i> | -2,1699 | -2,5131 | -2,3415 |
| <i>Oasl1</i> | -1,6567 | -3,0170 | -2,3368 |
| <i>Ppbp</i> | -2,6269 | -2,0297 | -2,3283 |
| <i>Ntn4</i> | -2,7815 | -1,8717 | -2,3266 |
| <i>Hpca</i> | -1,9260 | -2,7258 | -2,3259 |
| <i>Peg13</i> | -2,4529 | -2,1979 | -2,3254 |
| <i>Gna15</i> | -1,9175 | -2,7162 | -2,3169 |
| <i>Vtn1</i> | -2,3665 | -2,2479 | -2,3072 |
| <i>Stra6</i> | -2,4535 | -2,1375 | -2,2955 |
| <i>Aoc3</i> | -2,0310 | -2,5535 | -2,2922 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Flrt3</i> | -2,5729 | -2,0078 | -2,2904 |
| <i>Fgf9</i> | -2,6818 | -1,8969 | -2,2894 |
| <i>Snx32</i> | -2,9149 | -1,6280 | -2,2715 |
| <i>Cyp4v3</i> | -2,3448 | -2,1979 | -2,2714 |
| <i>Tspyl4</i> | -1,9943 | -2,5382 | -2,2663 |
| <i>Tgfb3</i> | -2,7673 | -1,7549 | -2,2611 |
| <i>Slc16a11</i> | -2,7694 | -1,7513 | -2,2604 |
| <i>Rltpr</i> | -2,1806 | -2,3355 | -2,2580 |
| <i>Rps19-ps7</i> | -2,2278 | -2,2780 | -2,2529 |
| <i>Sult1c2</i> | -2,4334 | -2,0402 | -2,2368 |
| <i>Mroh6</i> | -2,8278 | -1,5997 | -2,2138 |
| <i>D630045j12rik</i> | -2,0458 | -2,3624 | -2,2041 |
| <i>Gm43719</i> | -3,0806 | -1,3190 | -2,1998 |
| <i>Slc5a5</i> | -2,2574 | -2,1273 | -2,1924 |
| <i>C1qtnf1</i> | -2,3883 | -1,9542 | -2,1712 |
| <i>Zfp111</i> | -2,2907 | -2,0319 | -2,1613 |
| <i>P2rx2</i> | -2,3350 | -1,9553 | -2,1452 |
| <i>Rp23-263b18.5</i> | -2,1592 | -2,1115 | -2,1354 |
| <i>Cgrefl</i> | -2,9206 | -1,3489 | -2,1347 |
| <i>Ifih1</i> | -1,4944 | -2,7706 | -2,1325 |
| <i>Itga1</i> | -2,5575 | -1,7045 | -2,1310 |
| <i>Fbp2</i> | -2,1155 | -2,1210 | -2,1182 |
| <i>Vax2</i> | -2,1352 | -2,0952 | -2,1152 |
| <i>Akap6</i> | -2,7914 | -1,4330 | -2,1122 |
| <i>Fbxl22</i> | -2,4964 | -1,7030 | -2,0997 |
| <i>5930403n24rik</i> | -1,7179 | -2,4594 | -2,0886 |
| <i>Gpr155</i> | -2,2261 | -1,9115 | -2,0688 |
| <i>Adam8</i> | -2,0704 | -2,0483 | -2,0593 |
| <i>Lrpap1</i> | -1,9290 | -2,1817 | -2,0554 |
| <i>Phyhipl</i> | -1,7668 | -2,3158 | -2,0413 |
| <i>Megf6</i> | -2,1618 | -1,9163 | -2,0391 |
| <i>S100a1</i> | -2,2393 | -1,8284 | -2,0339 |
| <i>Amdhd1</i> | -1,6029 | -2,4594 | -2,0312 |
| <i>Pclo</i> | -1,8931 | -2,1526 | -2,0229 |
| <i>Isg15</i> | -1,0367 | -3,0015 | -2,0191 |
| <i>Nap113</i> | -1,8365 | -2,1822 | -2,0094 |
| <i>Mt-rnr2</i> | -2,4282 | -1,5719 | -2,0000 |
| <i>Dill1</i> | -2,1932 | -1,8020 | -1,9976 |
| <i>Man2a1</i> | -2,1796 | -1,8148 | -1,9972 |
| <i>Rnf225</i> | -1,9758 | -2,0086 | -1,9922 |
| <i>Kif12</i> | -2,5006 | -1,4799 | -1,9903 |
| <i>Nrg2</i> | -2,5850 | -1,3864 | -1,9857 |
| <i>Cdh16</i> | -2,5979 | -1,3600 | -1,9790 |
| <i>Eya4</i> | -1,8406 | -2,1124 | -1,9765 |
| <i>Eid1</i> | -2,1246 | -1,8143 | -1,9694 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Plet1</i> | -1,3469 | -2,5837 | -1,9653 |
| <i>Muc1</i> | -2,0047 | -1,9125 | -1,9586 |
| <i>Rundc3b</i> | -2,3422 | -1,5741 | -1,9581 |
| <i>Kalrn</i> | -2,0439 | -1,8712 | -1,9575 |
| <i>Smim5</i> | -2,1626 | -1,7370 | -1,9498 |
| <i>Fuz</i> | -2,0943 | -1,7942 | -1,9443 |
| <i>Cnp</i> | -2,0295 | -1,8534 | -1,9415 |
| <i>Vcan</i> | -2,4150 | -1,4507 | -1,9328 |
| <i>Gm15347</i> | -1,8638 | -1,9932 | -1,9285 |
| <i>Mylk</i> | -2,8496 | -1,0055 | -1,9276 |
| <i>Ada</i> | -2,4248 | -1,4048 | -1,9148 |
| <i>Nipa1</i> | -1,6421 | -2,1848 | -1,9134 |
| <i>Hist3h2ba</i> | -2,3219 | -1,4792 | -1,9005 |
| <i>Cpe</i> | -2,2393 | -1,5496 | -1,8944 |
| <i>1700024p16rik</i> | -1,7896 | -1,9862 | -1,8879 |
| <i>Cd93</i> | -2,6920 | -1,0667 | -1,8794 |
| <i>Aa474331</i> | -1,6090 | -2,0303 | -1,8197 |
| <i>Tanc2</i> | -2,1229 | -1,5160 | -1,8195 |
| <i>Slfn9</i> | -1,7584 | -1,8730 | -1,8157 |
| <i>Ptger1</i> | -2,0931 | -1,5356 | -1,8143 |
| <i>Nup210l</i> | -2,2026 | -1,4014 | -1,8020 |
| <i>Gyg</i> | -1,9002 | -1,7037 | -1,8020 |
| <i>Pctp</i> | -1,8177 | -1,7706 | -1,7941 |
| <i>Lta</i> | -1,6323 | -1,9455 | -1,7889 |
| <i>St6galnac2</i> | -1,8621 | -1,7097 | -1,7859 |
| <i>Sptb</i> | -2,4141 | -1,1574 | -1,7857 |
| <i>Ildr1</i> | -1,9040 | -1,6542 | -1,7791 |
| <i>Sema3a</i> | -2,1427 | -1,4122 | -1,7774 |
| <i>Gstt3</i> | -1,7667 | -1,7855 | -1,7761 |
| <i>Cbfa2t3</i> | -1,6802 | -1,8691 | -1,7747 |
| <i>Lynx1</i> | -1,3200 | -2,2066 | -1,7633 |
| <i>Dnajc22</i> | -1,8901 | -1,5642 | -1,7271 |
| <i>Tmem86a</i> | -2,2755 | -1,1781 | -1,7268 |
| <i>Abhd3</i> | -1,8413 | -1,6110 | -1,7262 |
| <i>Tpd52l1</i> | -2,5660 | -0,8689 | -1,7174 |
| <i>Immmp21</i> | -1,5410 | -1,8841 | -1,7125 |
| <i>Sgk2</i> | -1,8034 | -1,6171 | -1,7103 |
| <i>Gltd2</i> | -1,8188 | -1,5954 | -1,7071 |
| <i>Tmc4</i> | -1,9267 | -1,4730 | -1,6998 |
| <i>Dll4</i> | -2,0685 | -1,3159 | -1,6922 |
| <i>Coll1a2</i> | -1,1806 | -2,1988 | -1,6897 |
| <i>Fermt1</i> | -1,5832 | -1,7884 | -1,6858 |
| <i>Ptch1</i> | -1,3409 | -2,0103 | -1,6756 |
| <i>Poln</i> | -2,3083 | -1,0412 | -1,6748 |
| <i>Ccrl2</i> | -1,4525 | -1,8791 | -1,6658 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Nsmaf</i> | -1,8457 | -1,4763 | -1,6610 |
| <i>Ptprcap</i> | -2,0179 | -1,3038 | -1,6609 |
| <i>Mppe1</i> | -1,8346 | -1,4862 | -1,6604 |
| <i>Plscr4</i> | -2,2038 | -1,1155 | -1,6596 |
| <i>Esrp2</i> | -1,5776 | -1,7265 | -1,6521 |
| <i>Hoxb5os</i> | -1,7497 | -1,5486 | -1,6492 |
| <i>Ier5l</i> | -1,7693 | -1,5266 | -1,6480 |
| <i>Gm13237</i> | -1,5694 | -1,7188 | -1,6441 |
| <i>Skap1</i> | -1,8256 | -1,4622 | -1,6439 |
| <i>Atp11a</i> | -1,5583 | -1,7269 | -1,6426 |
| <i>Cd14</i> | -1,6304 | -1,6397 | -1,6351 |
| <i>Wnk4</i> | -1,7736 | -1,4798 | -1,6267 |
| <i>Serpinb5</i> | -1,4505 | -1,7975 | -1,6240 |
| <i>Eno2</i> | -2,1158 | -1,1155 | -1,6156 |
| <i>Inpp5j</i> | -1,4169 | -1,8027 | -1,6098 |
| <i>Vash2</i> | -1,1329 | -2,0866 | -1,6098 |
| <i>Tssk6</i> | -1,8220 | -1,3962 | -1,6091 |
| <i>Ophn1</i> | -1,8719 | -1,3281 | -1,6000 |
| <i>Sh3bgrl</i> | -1,4782 | -1,7183 | -1,5982 |
| <i>S100a16</i> | -1,6764 | -1,5185 | -1,5974 |
| <i>Agpat3</i> | -1,5994 | -1,5838 | -1,5916 |
| <i>Slc3a1</i> | -1,7078 | -1,4690 | -1,5884 |
| <i>1700052k11rik</i> | -1,6197 | -1,5571 | -1,5884 |
| <i>Fam171a2</i> | -1,7179 | -1,4499 | -1,5839 |
| <i>Lurap1l</i> | -0,9790 | -2,1885 | -1,5838 |
| <i>Hspb1</i> | -1,8364 | -1,3282 | -1,5823 |
| <i>Serpini1</i> | -1,9918 | -1,1721 | -1,5819 |
| <i>Rundc3a</i> | -2,0185 | -1,1386 | -1,5786 |
| <i>Palld</i> | -1,7419 | -1,4144 | -1,5781 |
| <i>Map2</i> | -1,7766 | -1,3741 | -1,5754 |
| <i>Syn3</i> | -1,9584 | -1,1833 | -1,5709 |
| <i>Creb3l2</i> | -1,6108 | -1,5289 | -1,5699 |
| <i>Adgrg6</i> | -1,5996 | -1,5318 | -1,5657 |
| <i>Tnfsf15</i> | -2,2095 | -0,9212 | -1,5653 |
| <i>Galnt12</i> | -1,5192 | -1,6030 | -1,5611 |
| <i>Tbc1d2b</i> | -1,5023 | -1,6194 | -1,5608 |
| <i>Dmpk</i> | -2,1191 | -0,9929 | -1,5560 |
| <i>Mapre2</i> | -1,3303 | -1,7726 | -1,5514 |
| <i>Hmgb2</i> | -1,7439 | -1,3516 | -1,5478 |
| <i>Ttc30a1</i> | -1,9180 | -1,1772 | -1,5476 |
| <i>Aoc2</i> | -1,4479 | -1,6283 | -1,5381 |
| <i>Bicc1</i> | -1,8999 | -1,1616 | -1,5307 |
| <i>Bahcc1</i> | -1,3642 | -1,6961 | -1,5302 |
| <i>Cldn15</i> | -1,7549 | -1,3049 | -1,5299 |
| <i>Myo15b</i> | -1,3089 | -1,7429 | -1,5259 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|-----------------|---|---|---|
| <i>Zfp759</i> | -1,3594 | -1,6818 | -1,5206 |
| <i>Fjx1</i> | -1,8186 | -1,2211 | -1,5198 |
| <i>Lor</i> | -1,7023 | -1,3285 | -1,5154 |
| <i>Pcyox11</i> | -1,2309 | -1,7954 | -1,5131 |
| <i>Adamtsl4</i> | -1,5676 | -1,4218 | -1,4947 |
| <i>Matk</i> | -1,5055 | -1,4739 | -1,4897 |
| <i>Pter</i> | -1,5361 | -1,4425 | -1,4893 |
| <i>Fzd1</i> | -1,9793 | -0,9913 | -1,4853 |
| <i>Mmd</i> | -1,5222 | -1,4316 | -1,4769 |
| <i>Cmtr1</i> | -1,5185 | -1,4238 | -1,4711 |
| <i>Grb14</i> | -1,9343 | -0,9934 | -1,4638 |
| <i>Dnase1l2</i> | -1,7179 | -1,2087 | -1,4633 |
| <i>Gprc5b</i> | -1,3207 | -1,6034 | -1,4620 |
| <i>Slc24a5</i> | -1,9556 | -0,9674 | -1,4615 |
| <i>Tyro3</i> | -1,4375 | -1,4786 | -1,4581 |
| <i>Vash1</i> | -1,2262 | -1,6794 | -1,4528 |
| <i>Gdf15</i> | -1,0982 | -1,8052 | -1,4517 |
| <i>Crlf1</i> | -1,5948 | -1,3028 | -1,4488 |
| <i>Pstpip2</i> | -1,6807 | -1,2108 | -1,4457 |
| <i>Dmrt2</i> | -1,3299 | -1,5594 | -1,4447 |
| <i>Creb3l4</i> | -1,8699 | -1,0138 | -1,4419 |
| <i>Kifc3</i> | -1,6680 | -1,2141 | -1,4410 |
| <i>Asah2</i> | -1,1696 | -1,7094 | -1,4395 |
| <i>Rasl11b</i> | -1,3969 | -1,4813 | -1,4391 |
| <i>Usp20</i> | -1,3312 | -1,5245 | -1,4279 |
| <i>Sphk1</i> | -1,3405 | -1,5096 | -1,4251 |
| <i>Samd9l</i> | -1,5470 | -1,3023 | -1,4247 |
| <i>Rasl11a</i> | -1,1608 | -1,6818 | -1,4213 |
| <i>Itga7</i> | -1,8240 | -1,0093 | -1,4167 |
| <i>Pgm2l1</i> | -1,3999 | -1,4317 | -1,4158 |
| <i>Eme2</i> | -1,4254 | -1,4021 | -1,4138 |
| <i>Sh2d4b</i> | -1,7027 | -1,1245 | -1,4136 |
| <i>Phf19</i> | -1,5178 | -1,2967 | -1,4072 |
| <i>S100a14</i> | -1,2877 | -1,5268 | -1,4072 |
| <i>Ngf</i> | -1,3347 | -1,4734 | -1,4040 |
| <i>Bach2</i> | -1,3585 | -1,4342 | -1,3963 |
| <i>Phyh</i> | -1,3256 | -1,4618 | -1,3937 |
| <i>Fut10</i> | -1,8120 | -0,9675 | -1,3897 |
| <i>Hoxa2</i> | -1,5162 | -1,2602 | -1,3882 |
| <i>Rnf130</i> | -1,5256 | -1,2465 | -1,3860 |
| <i>Naprt</i> | -1,9314 | -0,8343 | -1,3829 |
| <i>S100a13</i> | -1,2595 | -1,4977 | -1,3786 |
| <i>Ankrd1</i> | -1,2257 | -1,5245 | -1,3751 |
| <i>Nt5c3b</i> | -1,4716 | -1,2713 | -1,3714 |
| <i>Stat5a</i> | -1,2085 | -1,5278 | -1,3682 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Lrrc8e</i> | -1,6555 | -1,0746 | -1,3651 |
| <i>Sep 04</i> | -1,7732 | -0,9534 | -1,3633 |
| <i>Fndc4</i> | -1,4408 | -1,2800 | -1,3604 |
| <i>Rp24-174g2.1</i> | -1,9662 | -0,7424 | -1,3543 |
| <i>Tacc1</i> | -1,4573 | -1,2504 | -1,3538 |
| <i>Trmt11</i> | -1,8146 | -0,8773 | -1,3460 |
| <i>Sgcb</i> | -1,3819 | -1,3014 | -1,3417 |
| <i>2610005107rik</i> | -1,2945 | -1,3872 | -1,3409 |
| <i>Car5b</i> | -1,5105 | -1,1587 | -1,3346 |
| <i>Trpm6</i> | -1,8101 | -0,8586 | -1,3343 |
| <i>Tal1</i> | -1,8160 | -0,8416 | -1,3288 |
| <i>Zfp239</i> | -1,3858 | -1,2688 | -1,3273 |
| <i>Scin</i> | -1,7116 | -0,9311 | -1,3214 |
| <i>Itga2</i> | -1,5305 | -1,1003 | -1,3154 |
| <i>Agtrap</i> | -1,3826 | -1,2380 | -1,3103 |
| <i>Tm6sf2</i> | -1,3899 | -1,2269 | -1,3084 |
| <i>Gm17201</i> | -1,2640 | -1,3500 | -1,3070 |
| <i>Ankrd52</i> | -1,3659 | -1,2401 | -1,3030 |
| <i>Zdhhc1</i> | -1,4673 | -1,1354 | -1,3013 |
| <i>Gm6548</i> | -1,1476 | -1,4494 | -1,2985 |
| <i>Hmgn5</i> | -1,4825 | -1,1123 | -1,2974 |
| <i>Gm21769</i> | -1,4406 | -1,1526 | -1,2966 |
| <i>Stat5b</i> | -1,4398 | -1,1500 | -1,2949 |
| <i>Greb11</i> | -1,5405 | -1,0406 | -1,2906 |
| <i>Mme</i> | -1,2124 | -1,3563 | -1,2844 |
| <i>Slc9a3r1</i> | -1,5056 | -1,0595 | -1,2825 |
| <i>Hspa1b</i> | -1,6520 | -0,9095 | -1,2808 |
| <i>Golm1</i> | -1,2615 | -1,2989 | -1,2802 |
| <i>Prr7</i> | -1,4487 | -1,1068 | -1,2777 |
| <i>Gm10557</i> | -1,2419 | -1,3047 | -1,2733 |
| <i>Gca</i> | -1,1523 | -1,3937 | -1,2730 |
| <i>Mylip</i> | -1,4770 | -1,0462 | -1,2616 |
| <i>Smarcc2</i> | -1,2779 | -1,2382 | -1,2581 |
| <i>Irf9</i> | -0,8640 | -1,6500 | -1,2570 |
| <i>Gm11914</i> | -1,4978 | -1,0031 | -1,2504 |
| <i>Kcnj14</i> | -1,2599 | -1,2410 | -1,2504 |
| <i>Tmem40</i> | -1,4508 | -1,0395 | -1,2452 |
| <i>D8ertd82e</i> | -1,1290 | -1,3416 | -1,2353 |
| <i>Dph7</i> | -1,3187 | -1,1516 | -1,2352 |
| <i>Gm13160</i> | -1,2701 | -1,1859 | -1,2280 |
| <i>Neur11b</i> | -1,8159 | -0,6361 | -1,2260 |
| <i>Usp36</i> | -1,2007 | -1,2492 | -1,2249 |
| <i>Gpc4</i> | -1,5411 | -0,8971 | -1,2191 |
| <i>Spin4</i> | -1,2401 | -1,1909 | -1,2155 |
| <i>Tysnd1</i> | -1,3587 | -1,0714 | -1,2151 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>St5</i> | -1,1003 | -1,3289 | -1,2146 |
| <i>Dtx3l</i> | -1,1259 | -1,3018 | -1,2138 |
| <i>Tob2</i> | -1,3939 | -1,0297 | -1,2118 |
| <i>Nek3</i> | -1,4374 | -0,9780 | -1,2077 |
| <i>Zik1</i> | -1,1662 | -1,2479 | -1,2071 |
| <i>Man1a</i> | -1,4161 | -0,9963 | -1,2062 |
| <i>Ptpn22</i> | -1,3704 | -1,0301 | -1,2003 |
| <i>Ctsh</i> | -1,5341 | -0,8630 | -1,1986 |
| <i>Arl6ip1</i> | -1,1376 | -1,2582 | -1,1979 |
| <i>Serinc5</i> | -1,1051 | -1,2835 | -1,1943 |
| <i>D030028a08rik</i> | -0,9813 | -1,4071 | -1,1942 |
| <i>Rnf213</i> | -0,6430 | -1,7448 | -1,1939 |
| <i>Pak3</i> | -1,2905 | -1,0872 | -1,1888 |
| <i>Smpd3</i> | -1,1633 | -1,2114 | -1,1873 |
| <i>Camkmt</i> | -1,2299 | -1,1442 | -1,1871 |
| <i>Blnk</i> | -0,8452 | -1,5284 | -1,1868 |
| <i>Col18a1</i> | -1,2424 | -1,1298 | -1,1861 |
| <i>Uba7</i> | -1,0393 | -1,3261 | -1,1827 |
| <i>Fbxw17</i> | -0,8636 | -1,4896 | -1,1766 |
| <i>Gjc1</i> | -1,2367 | -1,1129 | -1,1748 |
| <i>Cst6</i> | -1,4433 | -0,8968 | -1,1701 |
| <i>Tspyl1</i> | -1,3096 | -1,0217 | -1,1656 |
| <i>Kifc2</i> | -1,1026 | -1,2282 | -1,1654 |
| <i>Cstb</i> | -1,2792 | -1,0417 | -1,1605 |
| <i>Camkk2</i> | -0,8673 | -1,4501 | -1,1587 |
| <i>Acox1</i> | -1,2935 | -1,0237 | -1,1586 |
| <i>Naaladl2</i> | -1,3612 | -0,9543 | -1,1577 |
| <i>Gm21811</i> | -1,1408 | -1,1745 | -1,1576 |
| <i>Top2a</i> | -1,2208 | -1,0822 | -1,1515 |
| <i>Rasef</i> | -1,0399 | -1,2623 | -1,1511 |
| <i>Kenh7</i> | -1,1850 | -1,1172 | -1,1511 |
| <i>Rhbdl2</i> | -1,5882 | -0,7137 | -1,1509 |
| <i>Coa3</i> | -1,3124 | -0,9873 | -1,1498 |
| <i>Ank3</i> | -1,5589 | -0,7355 | -1,1472 |
| <i>Foxn1</i> | -0,9875 | -1,3061 | -1,1468 |
| <i>Sh2d3c</i> | -1,1254 | -1,1661 | -1,1457 |
| <i>Fam20c</i> | -1,4542 | -0,8352 | -1,1447 |
| <i>Eeal</i> | -1,0048 | -1,2763 | -1,1406 |
| <i>Aamdc</i> | -1,3519 | -0,9260 | -1,1389 |
| <i>Crip1</i> | -1,6812 | -0,5946 | -1,1379 |
| <i>Itga2b</i> | -1,2770 | -0,9963 | -1,1367 |
| <i>Dcbl1</i> | -0,9632 | -1,3090 | -1,1361 |
| <i>Stat3</i> | -1,0136 | -1,2571 | -1,1353 |
| <i>Fam195b</i> | -1,0950 | -1,1722 | -1,1336 |
| <i>Dusp14</i> | -1,3273 | -0,9355 | -1,1314 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Zfp862-ps</i> | -1,1237 | -1,1355 | -1,1296 |
| <i>Dennd1a</i> | -1,2833 | -0,9747 | -1,1290 |
| <i>Hoxb3</i> | -1,3630 | -0,8883 | -1,1257 |
| <i>Emx2os</i> | -1,4139 | -0,8280 | -1,1209 |
| <i>Ehf</i> | -1,3399 | -0,8987 | -1,1193 |
| <i>Hexim1</i> | -1,2840 | -0,9538 | -1,1189 |
| <i>A630095e13rik</i> | -0,9158 | -1,3114 | -1,1136 |
| <i>Tor1b</i> | -1,1875 | -1,0370 | -1,1122 |
| <i>Fzd7</i> | -1,1534 | -1,0650 | -1,1092 |
| <i>Morf4l1</i> | -1,2995 | -0,9144 | -1,1070 |
| <i>Gpr157</i> | -1,1365 | -1,0769 | -1,1067 |
| <i>Ids</i> | -1,0012 | -1,2077 | -1,1044 |
| <i>Hddc2</i> | -1,5376 | -0,6705 | -1,1041 |
| <i>Pccb</i> | -1,2059 | -0,9980 | -1,1019 |
| <i>Lrch1</i> | -1,0120 | -1,1914 | -1,1017 |
| <i>Ifngr1</i> | -1,1659 | -1,0348 | -1,1004 |
| <i>Glt28d2</i> | -1,5816 | -0,6182 | -1,0999 |
| <i>Slc16a8</i> | -1,1993 | -0,9904 | -1,0949 |
| <i>Gm4524</i> | -1,2269 | -0,9621 | -1,0945 |
| <i>Epcam</i> | -1,1922 | -0,9950 | -1,0936 |
| <i>Irgq</i> | -0,6485 | -1,5350 | -1,0918 |
| <i>Tpgs1</i> | -1,3659 | -0,8159 | -1,0909 |
| <i>Endov</i> | -0,8235 | -1,3506 | -1,0871 |
| <i>Zfp324</i> | -1,1049 | -1,0686 | -1,0867 |
| <i>4632415105rik</i> | -1,0598 | -1,1114 | -1,0856 |
| <i>Ube2d1</i> | -0,8151 | -1,3370 | -1,0761 |
| <i>Slc39a11</i> | -1,2178 | -0,9342 | -1,0760 |
| <i>Ric8b</i> | -1,0500 | -1,0950 | -1,0725 |
| <i>Arl2bp</i> | -1,1814 | -0,9633 | -1,0723 |
| <i>Fam171a1</i> | -1,1054 | -1,0327 | -1,0691 |
| <i>Mkrm2os</i> | -0,9789 | -1,1526 | -1,0657 |
| <i>Zfpm2</i> | -1,0621 | -1,0690 | -1,0655 |
| <i>Parp9</i> | -0,7443 | -1,3859 | -1,0651 |
| <i>Ezh1</i> | -1,0818 | -1,0420 | -1,0619 |
| <i>Hoxa3</i> | -1,4065 | -0,7146 | -1,0606 |
| <i>D3ertd254e</i> | -1,1717 | -0,9468 | -1,0593 |
| <i>Herc6</i> | -1,1107 | -1,0050 | -1,0579 |
| <i>H2-d1</i> | -0,9558 | -1,1589 | -1,0574 |
| <i>Gm5860</i> | -1,2757 | -0,8373 | -1,0565 |
| <i>Rbms3</i> | -1,3846 | -0,7280 | -1,0563 |
| <i>Slc7a7</i> | -1,0623 | -1,0497 | -1,0560 |
| <i>Tll3</i> | -1,0547 | -1,0555 | -1,0551 |
| <i>Dtx4</i> | -0,9655 | -1,1399 | -1,0527 |
| <i>Syde1</i> | -1,3074 | -0,7958 | -1,0516 |
| <i>1700019g17rik</i> | -0,9309 | -1,1679 | -1,0494 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|-----------------|---|---|---|
| <i>Gm17435</i> | -1,0324 | -1,0589 | -1,0457 |
| <i>Tmem64</i> | -1,3671 | -0,7242 | -1,0457 |
| <i>Bc021891</i> | -1,2543 | -0,8302 | -1,0422 |
| <i>Arf2</i> | -1,0250 | -1,0582 | -1,0416 |
| <i>Ehhadh</i> | -1,0978 | -0,9847 | -1,0412 |
| <i>Mob3b</i> | -1,0218 | -1,0585 | -1,0402 |
| <i>Il17rc</i> | -1,0144 | -1,0641 | -1,0393 |
| <i>Npnt</i> | -1,1782 | -0,8975 | -1,0379 |
| <i>Srd5a1</i> | -1,4490 | -0,6190 | -1,0340 |
| <i>Fasn</i> | -0,7600 | -1,3079 | -1,0339 |
| <i>Zbtb39</i> | -1,0533 | -1,0141 | -1,0337 |
| <i>Sesn1</i> | -1,0577 | -1,0064 | -1,0320 |
| <i>Lmnb2</i> | -1,0236 | -1,0404 | -1,0320 |
| <i>Grk5</i> | -1,2157 | -0,8483 | -1,0320 |
| <i>Arpin</i> | -1,1845 | -0,8778 | -1,0312 |
| <i>Tbk1</i> | -1,0693 | -0,9914 | -1,0303 |
| <i>Cisd3</i> | -1,4074 | -0,6511 | -1,0292 |
| <i>Cds1</i> | -1,0350 | -1,0218 | -1,0284 |
| <i>Lman2</i> | -1,1892 | -0,8635 | -1,0264 |
| <i>Ndufa8</i> | -1,1547 | -0,8978 | -1,0262 |
| <i>Ssbp4</i> | -1,1636 | -0,8887 | -1,0261 |
| <i>Mroh2a</i> | -1,3367 | -0,7145 | -1,0256 |
| <i>Zfp319</i> | -1,0669 | -0,9841 | -1,0255 |
| <i>Rad51c</i> | -1,1791 | -0,8709 | -1,0250 |
| <i>Ttc7</i> | -1,3197 | -0,7282 | -1,0239 |
| <i>Rassf3</i> | -0,9460 | -1,1002 | -1,0231 |
| <i>Cradd</i> | -1,0753 | -0,9664 | -1,0209 |
| <i>Gm6483</i> | -0,9750 | -1,0627 | -1,0188 |
| <i>Arhgap6</i> | -1,1953 | -0,8376 | -1,0164 |
| <i>Ilvbl</i> | -1,1302 | -0,9007 | -1,0154 |
| <i>Cdc14b</i> | -0,9667 | -1,0573 | -1,0120 |
| <i>Ncln</i> | -1,1090 | -0,9079 | -1,0084 |
| <i>Gm21092</i> | -1,0623 | -0,9539 | -1,0081 |
| <i>Rhbd11</i> | -1,0089 | -1,0046 | -1,0067 |
| <i>Mfn1</i> | -1,0944 | -0,9158 | -1,0051 |
| <i>Fancc</i> | -1,1418 | -0,8678 | -1,0048 |
| <i>Iars</i> | -0,6570 | -1,3411 | -0,9990 |
| <i>Pard6a</i> | -1,0769 | -0,9178 | -0,9974 |
| <i>Strada</i> | -0,8768 | -1,1127 | -0,9948 |
| <i>Baiap2</i> | -1,3270 | -0,6583 | -0,9927 |
| <i>Ercc6l2</i> | -1,0138 | -0,9697 | -0,9918 |
| <i>Cd59a</i> | -1,1391 | -0,8420 | -0,9905 |
| <i>Gins3</i> | -1,0641 | -0,9164 | -0,9903 |
| <i>Gprc5c</i> | -0,8889 | -1,0840 | -0,9865 |
| <i>Snf8</i> | -1,0841 | -0,8884 | -0,9862 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Cklf</i> | -1,1122 | -0,8593 | -0,9858 |
| <i>Krt4</i> | -3,1279 | 1,1610 | -0,9834 |
| <i>Il17re</i> | -0,9081 | -1,0588 | -0,9834 |
| <i>Clmn</i> | -1,2144 | -0,7516 | -0,9830 |
| <i>Rbl2</i> | -1,2598 | -0,7054 | -0,9826 |
| <i>Cltb</i> | -1,1234 | -0,8408 | -0,9821 |
| <i>Mxd3</i> | -1,2148 | -0,7477 | -0,9813 |
| <i>Hnmph3</i> | -0,9562 | -1,0029 | -0,9796 |
| <i>Ncoa7</i> | -0,8977 | -1,0605 | -0,9791 |
| <i>1810019d21rik</i> | -0,8702 | -1,0859 | -0,9780 |
| <i>Ern1</i> | -0,9687 | -0,9867 | -0,9777 |
| <i>Syne2</i> | -0,7396 | -1,2101 | -0,9749 |
| <i>Caskin2</i> | -0,9202 | -1,0281 | -0,9741 |
| <i>Ptprm</i> | -1,1446 | -0,8026 | -0,9736 |
| <i>Vps37a</i> | -1,0394 | -0,9069 | -0,9732 |
| <i>Psen2</i> | -0,9529 | -0,9931 | -0,9730 |
| <i>Itgb2</i> | -1,2984 | -0,6465 | -0,9725 |
| <i>Unk</i> | -1,0590 | -0,8854 | -0,9722 |
| <i>Cutal</i> | -1,3372 | -0,6067 | -0,9720 |
| <i>Sap30</i> | -1,2517 | -0,6916 | -0,9716 |
| <i>Esy1</i> | -0,9055 | -1,0332 | -0,9694 |
| <i>B2m</i> | -0,7594 | -1,1790 | -0,9692 |
| <i>Txnrd3</i> | -1,1640 | -0,7738 | -0,9689 |
| <i>Plscr2</i> | -0,8888 | -1,0482 | -0,9685 |
| <i>Psme3</i> | -1,0283 | -0,9032 | -0,9657 |
| <i>2700099c18rik</i> | -1,1994 | -0,7307 | -0,9651 |
| <i>Dennd4b</i> | -0,8213 | -1,1088 | -0,9651 |
| <i>Rnd2</i> | -1,2522 | -0,6745 | -0,9634 |
| <i>Zfp358</i> | -1,1422 | -0,7835 | -0,9628 |
| <i>Mkl</i> | -1,0226 | -0,9026 | -0,9626 |
| <i>L1cam</i> | -0,9600 | -0,9630 | -0,9615 |
| <i>Phb</i> | -1,1576 | -0,7653 | -0,9614 |
| <i>Abca2</i> | -1,0504 | -0,8708 | -0,9606 |
| <i>Mau2</i> | -0,9659 | -0,9543 | -0,9601 |
| <i>Aktip</i> | -0,8255 | -1,0946 | -0,9600 |
| <i>Ell</i> | -1,0597 | -0,8602 | -0,9600 |
| <i>Slc7a6</i> | -1,2475 | -0,6688 | -0,9582 |
| <i>Gm10039</i> | -1,0241 | -0,8906 | -0,9574 |
| <i>Zfp866</i> | -1,1167 | -0,7955 | -0,9561 |
| <i>Slc25a16</i> | -0,9337 | -0,9765 | -0,9551 |
| <i>Tor2a</i> | -1,1766 | -0,7293 | -0,9529 |
| <i>Btg1</i> | -0,9752 | -0,9301 | -0,9527 |
| <i>Traf3ip2</i> | -0,9946 | -0,9085 | -0,9515 |
| <i>Tcf19</i> | -1,0587 | -0,8425 | -0,9506 |
| <i>Grb7</i> | -1,2934 | -0,6073 | -0,9504 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>2810428i15rik</i> | -1,1188 | -0,7813 | -0,9501 |
| <i>Ppp1r21</i> | -0,9827 | -0,9169 | -0,9498 |
| <i>Agtpbp1</i> | -0,8933 | -1,0060 | -0,9496 |
| <i>Gm6485</i> | -1,0618 | -0,8339 | -0,9478 |
| <i>Atf3</i> | -0,8361 | -1,0509 | -0,9435 |
| <i>Prpsap1</i> | -1,1417 | -0,7399 | -0,9408 |
| <i>Plekhh3</i> | -0,8799 | -1,0016 | -0,9408 |
| <i>Hcfc2</i> | -1,0627 | -0,8178 | -0,9402 |
| <i>Pomgnt2</i> | -0,8100 | -1,0704 | -0,9402 |
| <i>Hoxb6</i> | -0,9775 | -0,9000 | -0,9388 |
| <i>Pfn2</i> | -1,0368 | -0,8363 | -0,9365 |
| <i>Cpeb3</i> | -0,8129 | -1,0569 | -0,9349 |
| <i>Helz</i> | -1,0789 | -0,7887 | -0,9338 |
| <i>Zfp639</i> | -0,9980 | -0,8682 | -0,9331 |
| <i>Sh3glb2</i> | -1,0729 | -0,7923 | -0,9326 |
| <i>Gm11808</i> | -1,0013 | -0,8634 | -0,9323 |
| <i>Zdhhc17</i> | -0,9429 | -0,9217 | -0,9323 |
| <i>Nle1</i> | -1,1738 | -0,6899 | -0,9318 |
| <i>Gstm5</i> | -1,2626 | -0,5997 | -0,9311 |
| <i>Evpl</i> | -1,0129 | -0,8481 | -0,9305 |
| <i>Pax9</i> | -1,1514 | -0,7087 | -0,9301 |
| <i>Galnt4</i> | -0,8738 | -0,9834 | -0,9286 |
| <i>Garem</i> | -0,8161 | -1,0372 | -0,9266 |
| <i>Amfr</i> | -0,9704 | -0,8736 | -0,9220 |
| <i>Akap1</i> | -0,9828 | -0,8607 | -0,9217 |
| <i>Nup85</i> | -1,0991 | -0,7393 | -0,9192 |
| <i>Sep09</i> | -0,8991 | -0,9376 | -0,9184 |
| <i>Acaca</i> | -0,7834 | -1,0521 | -0,9178 |
| <i>Bex1</i> | -1,3888 | -0,4433 | -0,9160 |
| <i>Exosc2</i> | -1,0175 | -0,8127 | -0,9151 |
| <i>Unc13d</i> | -1,0136 | -0,8122 | -0,9129 |
| <i>Eya2</i> | -1,0313 | -0,7937 | -0,9125 |
| <i>Psmc3</i> | -1,0752 | -0,7472 | -0,9112 |
| <i>Rbms2</i> | -0,9705 | -0,8517 | -0,9111 |
| <i>Tprm</i> | -0,9964 | -0,8216 | -0,9090 |
| <i>Prrc2b</i> | -0,8806 | -0,9370 | -0,9088 |
| <i>Zfp213</i> | -0,9870 | -0,8291 | -0,9080 |
| <i>Nt5dc1</i> | -0,7594 | -1,0542 | -0,9068 |
| <i>L3mbtl3</i> | -0,7860 | -1,0262 | -0,9061 |
| <i>Cdc40</i> | -1,0761 | -0,7356 | -0,9058 |
| <i>Slc25a10</i> | -0,9442 | -0,8664 | -0,9053 |
| <i>2010111i01rik</i> | -0,7958 | -1,0142 | -0,9050 |
| <i>Rrp1</i> | -1,0816 | -0,7275 | -0,9045 |
| <i>Smarce1</i> | -1,0503 | -0,7545 | -0,9024 |
| <i>Ano10</i> | -0,8731 | -0,9301 | -0,9016 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Atp5g1</i> | -1,0353 | -0,7667 | -0,9010 |
| <i>Irs2</i> | -0,8152 | -0,9832 | -0,8992 |
| <i>Ubr3</i> | -0,8957 | -0,9010 | -0,8984 |
| <i>Gm5141</i> | -0,9584 | -0,8349 | -0,8966 |
| <i>Rnf128</i> | -1,1240 | -0,6675 | -0,8958 |
| <i>Lgals1</i> | -1,1252 | -0,6647 | -0,8950 |
| <i>Ulk2</i> | -0,7260 | -1,0610 | -0,8935 |
| <i>Ddhd2</i> | -0,8113 | -0,9740 | -0,8927 |
| <i>Pkn1</i> | -0,9876 | -0,7962 | -0,8919 |
| <i>Prpsap2</i> | -0,8530 | -0,9301 | -0,8916 |
| <i>Pcnt</i> | -0,9355 | -0,8419 | -0,8887 |
| <i>Scoc</i> | -0,8128 | -0,9641 | -0,8885 |
| <i>Fbxo7</i> | -1,0197 | -0,7572 | -0,8885 |
| <i>Fnbp1</i> | -0,8679 | -0,9087 | -0,8883 |
| <i>Kat6a</i> | -0,9624 | -0,8139 | -0,8882 |
| <i>Fbxw5</i> | -0,9595 | -0,8156 | -0,8875 |
| <i>Slc6a17</i> | -0,9731 | -0,8016 | -0,8873 |
| <i>Armc6</i> | -0,8676 | -0,9069 | -0,8872 |
| <i>Uimc1</i> | -0,9869 | -0,7875 | -0,8872 |
| <i>Rufy2</i> | -0,9429 | -0,8314 | -0,8872 |
| <i>Slc27a4</i> | -0,8130 | -0,9606 | -0,8868 |
| <i>Lrp5</i> | -1,0728 | -0,6999 | -0,8864 |
| <i>Sec24d</i> | -0,7301 | -1,0423 | -0,8862 |
| <i>Mfsd7b</i> | -1,0979 | -0,6729 | -0,8854 |
| <i>Ap3d1</i> | -1,0139 | -0,7551 | -0,8845 |
| <i>Tmco3</i> | -0,7974 | -0,9710 | -0,8842 |
| <i>Lrrc59</i> | -0,9318 | -0,8352 | -0,8835 |
| <i>Msh6</i> | -1,0935 | -0,6723 | -0,8829 |
| <i>Trim25</i> | -0,6242 | -1,1392 | -0,8817 |
| <i>Rnfi1</i> | -0,9111 | -0,8520 | -0,8815 |
| <i>Tmbim4</i> | -0,9867 | -0,7759 | -0,8813 |
| <i>Cept1</i> | -0,7723 | -0,9891 | -0,8807 |
| <i>Rev3l</i> | -0,9587 | -0,7998 | -0,8793 |
| <i>Cyth1</i> | -0,7654 | -0,9915 | -0,8785 |
| <i>Sirt1</i> | -0,9758 | -0,7799 | -0,8778 |
| <i>Etl4</i> | -0,7273 | -1,0269 | -0,8771 |
| <i>Nenf</i> | -0,8410 | -0,9035 | -0,8723 |
| <i>Slc39a3</i> | -0,8762 | -0,8677 | -0,8719 |
| <i>Appl2</i> | -0,9112 | -0,8316 | -0,8714 |
| <i>H3f3b</i> | -0,9764 | -0,7662 | -0,8713 |
| <i>Slc7a6os</i> | -1,0006 | -0,7418 | -0,8712 |
| <i>Lrrc14</i> | -0,8112 | -0,9300 | -0,8706 |
| <i>Ggh</i> | -1,0160 | -0,7236 | -0,8698 |
| <i>Sppl2b</i> | -0,8552 | -0,8787 | -0,8670 |
| <i>3830406c13rik</i> | -1,0776 | -0,6536 | -0,8656 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Cox11</i> | -1,0388 | -0,6917 | -0,8653 |
| <i>Gm12715</i> | -1,0630 | -0,6670 | -0,8650 |
| <i>Nacc1</i> | -0,9711 | -0,7588 | -0,8649 |
| <i>Map3k14</i> | -1,0646 | -0,6653 | -0,8649 |
| <i>Cenpb</i> | -0,7667 | -0,9629 | -0,8648 |
| <i>Cdr2l</i> | -0,9214 | -0,8076 | -0,8645 |
| <i>Itgb4</i> | -0,8946 | -0,8332 | -0,8639 |
| <i>Amigo1</i> | -0,9358 | -0,7916 | -0,8637 |
| <i>Serinc1</i> | -0,7389 | -0,9874 | -0,8631 |
| <i>Mettl23</i> | -1,2305 | -0,4953 | -0,8629 |
| <i>Tma16</i> | -1,0809 | -0,6431 | -0,8620 |
| <i>Cc2d1a</i> | -0,9150 | -0,8062 | -0,8606 |
| <i>Hook3</i> | -0,9075 | -0,8128 | -0,8601 |
| <i>Med26</i> | -0,8671 | -0,8509 | -0,8590 |
| <i>Hap1</i> | -0,9274 | -0,7905 | -0,8589 |
| <i>Nup210</i> | -0,6726 | -1,0415 | -0,8570 |
| <i>Tmem62</i> | -0,9933 | -0,7203 | -0,8568 |
| <i>Crem</i> | -0,9610 | -0,7524 | -0,8567 |
| <i>Mtfr2</i> | -0,8590 | -0,8518 | -0,8554 |
| <i>Syng2</i> | -1,0640 | -0,6462 | -0,8551 |
| <i>Gm13092</i> | -1,0433 | -0,6663 | -0,8548 |
| <i>Gpsm1</i> | -0,8100 | -0,8985 | -0,8543 |
| <i>Foxn2</i> | -0,8706 | -0,8360 | -0,8533 |
| <i>Ghdc</i> | -0,7662 | -0,9402 | -0,8532 |
| <i>D10wsu102e</i> | -0,9575 | -0,7469 | -0,8522 |
| <i>Samhd1</i> | -0,7439 | -0,9605 | -0,8522 |
| <i>Ppm1d</i> | -0,9297 | -0,7746 | -0,8521 |
| <i>Slc35e1</i> | -0,9718 | -0,7319 | -0,8519 |
| <i>Cog1</i> | -0,9316 | -0,7721 | -0,8519 |
| <i>Sh3kbp1</i> | -1,1313 | -0,5706 | -0,8509 |
| <i>Ext2</i> | -0,9337 | -0,7678 | -0,8508 |
| <i>Fnta</i> | -1,0612 | -0,6401 | -0,8506 |
| <i>Pcyt1b</i> | -1,0343 | -0,6646 | -0,8494 |
| <i>Asb6</i> | -0,9091 | -0,7888 | -0,8490 |
| <i>Trim47</i> | -0,9351 | -0,7618 | -0,8484 |
| <i>Tmem19</i> | -0,7926 | -0,8988 | -0,8457 |
| <i>Rundc1</i> | -1,0058 | -0,6823 | -0,8441 |
| <i>Cenpu</i> | -0,8731 | -0,8129 | -0,8430 |
| <i>E130307a14rik</i> | -1,0214 | -0,6643 | -0,8428 |
| <i>Nme1</i> | -1,0464 | -0,6374 | -0,8419 |
| <i>Atp13a1</i> | -0,9266 | -0,7562 | -0,8414 |
| <i>6820431f20rik</i> | -0,8037 | -0,8787 | -0,8412 |
| <i>Oaz1</i> | -1,1623 | -0,5159 | -0,8391 |
| <i>Hmgn3</i> | -1,0873 | -0,5890 | -0,8382 |
| <i>6430548m08rik</i> | -0,9573 | -0,7189 | -0,8381 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Pgs1</i> | -0,8777 | -0,7937 | -0,8357 |
| <i>Grk6</i> | -0,8044 | -0,8633 | -0,8339 |
| <i>Itpr1</i> | -0,7801 | -0,8875 | -0,8338 |
| <i>Gna11</i> | -0,9339 | -0,7334 | -0,8337 |
| <i>Aspscr1</i> | -0,9000 | -0,7672 | -0,8336 |
| <i>Prosc</i> | -1,0230 | -0,6433 | -0,8331 |
| <i>2210011c24rik</i> | -1,1624 | -0,5033 | -0,8328 |
| <i>Crat</i> | -1,0311 | -0,6333 | -0,8322 |
| <i>Tfdp1</i> | -0,9674 | -0,6958 | -0,8316 |
| <i>Rnf170</i> | -0,8087 | -0,8531 | -0,8309 |
| <i>D8ertd738e</i> | -1,0637 | -0,5979 | -0,8308 |
| <i>Hgsnat</i> | -0,7970 | -0,8608 | -0,8289 |
| <i>Mb21d1</i> | -0,7937 | -0,8618 | -0,8277 |
| <i>Lactb</i> | -1,0715 | -0,5828 | -0,8271 |
| <i>Rab5b</i> | -0,8211 | -0,8331 | -0,8271 |
| <i>Tll7</i> | -0,9422 | -0,7104 | -0,8263 |
| <i>Ankle1</i> | -1,0561 | -0,5948 | -0,8254 |
| <i>Pip5k1c</i> | -0,8431 | -0,8070 | -0,8250 |
| <i>Traf2</i> | -1,0137 | -0,6343 | -0,8240 |
| <i>Mrm1</i> | -0,7997 | -0,8467 | -0,8232 |
| <i>Fadd</i> | -0,7977 | -0,8485 | -0,8231 |
| <i>Sin3b</i> | -0,9076 | -0,7363 | -0,8220 |
| <i>Mcm5</i> | -0,9733 | -0,6698 | -0,8216 |
| <i>Cdk2</i> | -0,9481 | -0,6943 | -0,8212 |
| <i>Ddx42</i> | -0,8857 | -0,7547 | -0,8202 |
| <i>Acd</i> | -1,0364 | -0,6032 | -0,8198 |
| <i>Kif1bp</i> | -0,9988 | -0,6380 | -0,8184 |
| <i>Tsen54</i> | -0,9526 | -0,6827 | -0,8176 |
| <i>Rwdd1</i> | -1,1118 | -0,5202 | -0,8160 |
| <i>Tmem5</i> | -0,9769 | -0,6544 | -0,8156 |
| <i>Scx</i> | -0,8340 | -0,7944 | -0,8142 |
| <i>Zwint</i> | -0,7967 | -0,8305 | -0,8136 |
| <i>Pomt1</i> | -0,8185 | -0,8084 | -0,8134 |
| <i>Tmem161a</i> | -0,7368 | -0,8900 | -0,8134 |
| <i>Tnip2</i> | -0,6690 | -0,9562 | -0,8126 |
| <i>Prim1</i> | -0,8875 | -0,7350 | -0,8113 |
| <i>Timeless</i> | -0,9255 | -0,6962 | -0,8109 |
| <i>Prdx2</i> | -0,9171 | -0,7043 | -0,8107 |
| <i>Gm7335</i> | -0,8121 | -0,8084 | -0,8103 |
| <i>2310036o22rik</i> | -0,9176 | -0,7006 | -0,8091 |
| <i>Tecr</i> | -0,8428 | -0,7725 | -0,8077 |
| <i>Hoxb8</i> | -0,7698 | -0,8451 | -0,8074 |
| <i>Rffl</i> | -0,8741 | -0,7379 | -0,8060 |
| <i>Scepep1</i> | -0,9102 | -0,7010 | -0,8056 |
| <i>Dhrs11</i> | -0,8210 | -0,7896 | -0,8053 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Mpv17l2</i> | -0,8146 | -0,7953 | -0,8050 |
| <i>Casc3</i> | -0,9066 | -0,7033 | -0,8049 |
| <i>Brip1</i> | -0,8392 | -0,7705 | -0,8048 |
| <i>Lbhd1</i> | -1,0429 | -0,5660 | -0,8044 |
| <i>Heatr3</i> | -0,9574 | -0,6511 | -0,8042 |
| <i>Usp38</i> | -0,9127 | -0,6939 | -0,8033 |
| <i>Tmc6</i> | -0,8632 | -0,7415 | -0,8023 |
| <i>Gm43737</i> | -0,7973 | -0,8052 | -0,8013 |
| <i>Arhgap42</i> | -0,9457 | -0,6565 | -0,8011 |
| <i>Madd</i> | -0,8263 | -0,7753 | -0,8008 |
| <i>Urm1</i> | -0,9052 | -0,6962 | -0,8007 |
| <i>Brca2</i> | -0,7563 | -0,8444 | -0,8003 |
| <i>Grb2</i> | -0,9220 | -0,6776 | -0,7998 |
| <i>Pcm1</i> | -0,9937 | -0,6052 | -0,7995 |
| <i>Ap2b1</i> | -0,9453 | -0,6504 | -0,7979 |
| <i>Gm26917</i> | -0,9020 | -0,6929 | -0,7975 |
| <i>Trappc10</i> | -0,7975 | -0,7969 | -0,7972 |
| <i>Cul4a</i> | -0,9390 | -0,6546 | -0,7968 |
| <i>Apba3</i> | -0,8978 | -0,6912 | -0,7945 |
| <i>Cpd</i> | -0,6598 | -0,9278 | -0,7938 |
| <i>Bicd1</i> | -0,7838 | -0,8028 | -0,7933 |
| <i>Myo5c</i> | -0,8056 | -0,7809 | -0,7932 |
| <i>Pkp3</i> | -0,8982 | -0,6877 | -0,7930 |
| <i>1110051m20rik</i> | -0,9885 | -0,5900 | -0,7892 |
| <i>Slc43a2</i> | -0,6781 | -0,9001 | -0,7891 |
| <i>Rab8a</i> | -0,8998 | -0,6778 | -0,7888 |
| <i>Ormdl3</i> | -0,7003 | -0,8773 | -0,7888 |
| <i>Gpr107</i> | -0,8107 | -0,7666 | -0,7887 |
| <i>Sap30bp</i> | -0,9114 | -0,6625 | -0,7869 |
| <i>Myo19</i> | -0,7630 | -0,8083 | -0,7856 |
| <i>Dcxr</i> | -0,8349 | -0,7363 | -0,7856 |
| <i>Ppp2r4</i> | -0,8869 | -0,6828 | -0,7848 |
| <i>Dcaf7</i> | -0,7850 | -0,7831 | -0,7840 |
| <i>Farsa</i> | -0,9024 | -0,6638 | -0,7831 |
| <i>Tnrc6c</i> | -0,8160 | -0,7502 | -0,7831 |
| <i>Naaa</i> | -0,8813 | -0,6847 | -0,7830 |
| <i>Gga3</i> | -0,8367 | -0,7290 | -0,7828 |
| <i>Aatf</i> | -0,8728 | -0,6923 | -0,7826 |
| <i>Gadd45g</i> | -0,9086 | -0,6553 | -0,7819 |
| <i>H2-k1</i> | -0,7225 | -0,8410 | -0,7818 |
| <i>Cant1</i> | -0,6931 | -0,8703 | -0,7817 |
| <i>Psmb3</i> | -0,9151 | -0,6469 | -0,7810 |
| <i>2310067b10rik</i> | -0,8792 | -0,6817 | -0,7805 |
| <i>Pla2g15</i> | -0,6926 | -0,8680 | -0,7803 |
| <i>Chpt1</i> | -0,9872 | -0,5732 | -0,7802 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|-----------------|---|---|---|
| <i>Micul</i> | -0,8855 | -0,6732 | -0,7793 |
| <i>Cstf2t</i> | -0,7562 | -0,8015 | -0,7789 |
| <i>Mum1</i> | -0,8584 | -0,6993 | -0,7788 |
| <i>Dip2a</i> | -0,7522 | -0,8028 | -0,7775 |
| <i>Fzd2</i> | -0,9743 | -0,5803 | -0,7773 |
| <i>Sptan1</i> | -0,7724 | -0,7811 | -0,7768 |
| <i>Mrps7</i> | -0,9603 | -0,5901 | -0,7752 |
| <i>Gm9824</i> | -0,7177 | -0,8326 | -0,7752 |
| <i>Vmp1</i> | -0,6695 | -0,8807 | -0,7751 |
| <i>Smarcd2</i> | -0,8356 | -0,7133 | -0,7744 |
| <i>Arl16</i> | -0,9333 | -0,6150 | -0,7742 |
| <i>Pigf</i> | -0,8033 | -0,7447 | -0,7740 |
| <i>Slc25a42</i> | -0,8266 | -0,7210 | -0,7738 |
| <i>Neur13</i> | -0,6358 | -0,9111 | -0,7735 |
| <i>Fn3krp</i> | -0,9237 | -0,6232 | -0,7735 |
| <i>E2f4</i> | -1,0034 | -0,5434 | -0,7734 |
| <i>Slc25a15</i> | -1,0197 | -0,5268 | -0,7732 |
| <i>Rab3ip</i> | -0,9003 | -0,6459 | -0,7731 |
| <i>Vps53</i> | -0,8187 | -0,7269 | -0,7728 |
| <i>Dolk</i> | -0,7192 | -0,8260 | -0,7726 |
| <i>Mast3</i> | -1,0587 | -0,4844 | -0,7716 |
| <i>Zc3h10</i> | -0,9294 | -0,6123 | -0,7708 |
| <i>Map1s</i> | -0,9175 | -0,6239 | -0,7707 |
| <i>St71</i> | -0,7117 | -0,8276 | -0,7696 |
| <i>Phc3</i> | -0,8419 | -0,6934 | -0,7677 |
| <i>Ccdc53</i> | -1,0279 | -0,5071 | -0,7675 |
| <i>Ralgds</i> | -0,7963 | -0,7384 | -0,7674 |
| <i>Rps6kb1</i> | -0,9671 | -0,5656 | -0,7663 |
| <i>Uck1</i> | -0,8307 | -0,7012 | -0,7660 |
| <i>Nfatc3</i> | -0,7455 | -0,7852 | -0,7653 |
| <i>Zbtb24</i> | -0,9604 | -0,5684 | -0,7644 |
| <i>Rab33b</i> | -0,6633 | -0,8633 | -0,7633 |
| <i>Polr3h</i> | -0,9243 | -0,6015 | -0,7629 |
| <i>Heatr6</i> | -0,7801 | -0,7451 | -0,7626 |
| <i>Nploc4</i> | -0,8048 | -0,7162 | -0,7605 |
| <i>Cactin</i> | -0,9840 | -0,5351 | -0,7596 |
| <i>Mrps28</i> | -1,0279 | -0,4907 | -0,7593 |
| <i>Tmem263</i> | -0,8835 | -0,6339 | -0,7587 |
| <i>Pip4k2b</i> | -0,7448 | -0,7705 | -0,7576 |
| <i>Caml</i> | -0,6654 | -0,8492 | -0,7573 |
| <i>Ath11</i> | -0,6547 | -0,8589 | -0,7568 |
| <i>Dus11</i> | -0,9722 | -0,5352 | -0,7537 |
| <i>Tbcel</i> | -0,7899 | -0,7166 | -0,7532 |
| <i>Fam32a</i> | -0,8131 | -0,6923 | -0,7527 |
| <i>Actg1</i> | -0,8518 | -0,6528 | -0,7523 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Ston1</i> | -0,8624 | -0,6418 | -0,7521 |
| <i>1700030k09rik</i> | -0,8175 | -0,6865 | -0,7520 |
| <i>Pax8</i> | -0,9219 | -0,5794 | -0,7507 |
| <i>Mta3</i> | -0,8218 | -0,6795 | -0,7506 |
| <i>Alg5</i> | -0,8622 | -0,6388 | -0,7505 |
| <i>Nol11</i> | -0,8205 | -0,6804 | -0,7504 |
| <i>Uqcr11</i> | -0,9808 | -0,5188 | -0,7498 |
| <i>Rad51d</i> | -0,9007 | -0,5965 | -0,7486 |
| <i>Cherp</i> | -0,7781 | -0,7164 | -0,7473 |
| <i>Fam160a1</i> | -0,9091 | -0,5850 | -0,7470 |
| <i>Sik1</i> | -0,7668 | -0,7272 | -0,7470 |
| <i>Nmt1</i> | -0,9146 | -0,5776 | -0,7461 |
| <i>1190002n15rik</i> | -0,8055 | -0,6853 | -0,7454 |
| <i>Rabepk</i> | -0,8374 | -0,6534 | -0,7454 |
| <i>Cd82</i> | -0,9457 | -0,5437 | -0,7447 |
| <i>Jund</i> | -0,6719 | -0,8163 | -0,7441 |
| <i>Slc16a13</i> | -0,7398 | -0,7483 | -0,7440 |
| <i>Tor1a</i> | -0,7869 | -0,6987 | -0,7428 |
| <i>Rexo1</i> | -0,8604 | -0,6251 | -0,7427 |
| <i>Tob1</i> | -1,0285 | -0,4569 | -0,7427 |
| <i>Cenpt</i> | -0,7586 | -0,7262 | -0,7424 |
| <i>Slc22a15</i> | -0,7493 | -0,7354 | -0,7423 |
| <i>Mknk2</i> | -0,9113 | -0,5729 | -0,7421 |
| <i>Tlk2</i> | -0,7665 | -0,7176 | -0,7421 |
| <i>Sptlc1</i> | -0,5651 | -0,9171 | -0,7411 |
| <i>Mtmr1</i> | -0,7944 | -0,6870 | -0,7407 |
| <i>Eftud2</i> | -0,8408 | -0,6404 | -0,7406 |
| <i>Ndufb7</i> | -0,9337 | -0,5471 | -0,7404 |
| <i>Recq15</i> | -0,7420 | -0,7386 | -0,7403 |
| <i>Arhgdia</i> | -0,7989 | -0,6786 | -0,7388 |
| <i>Aldh9a1</i> | -0,7284 | -0,7474 | -0,7379 |
| <i>Dgke</i> | -0,7893 | -0,6858 | -0,7375 |
| <i>Sf3a2</i> | -0,8880 | -0,5840 | -0,7360 |
| <i>Pnpo</i> | -0,6684 | -0,8020 | -0,7352 |
| <i>Nt5c</i> | -0,8214 | -0,6484 | -0,7349 |
| <i>Med22</i> | -0,8434 | -0,6249 | -0,7342 |
| <i>Pgrmc2</i> | -0,8392 | -0,6274 | -0,7333 |
| <i>Dhx40</i> | -0,8728 | -0,5933 | -0,7331 |
| <i>Gm10232</i> | -0,8797 | -0,5862 | -0,7329 |
| <i>Zfp398</i> | -0,6479 | -0,8173 | -0,7326 |
| <i>Gosr2</i> | -0,7831 | -0,6810 | -0,7320 |
| <i>Coasy</i> | -0,7754 | -0,6881 | -0,7318 |
| <i>Dohh</i> | -0,8314 | -0,6302 | -0,7308 |
| <i>Itga5</i> | -0,8606 | -0,6005 | -0,7306 |
| <i>Pcsk7</i> | -0,7282 | -0,7326 | -0,7304 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Psmd12</i> | -0,9562 | -0,5039 | -0,7301 |
| <i>Fbf1</i> | -0,7659 | -0,6925 | -0,7292 |
| <i>Gm15920</i> | -0,9109 | -0,5471 | -0,7290 |
| <i>Nedd1</i> | -0,6765 | -0,7813 | -0,7289 |
| <i>Borcs8</i> | -0,7773 | -0,6759 | -0,7266 |
| <i>Tspan33</i> | -0,8241 | -0,6289 | -0,7265 |
| <i>Mrpl23</i> | -0,7584 | -0,6945 | -0,7264 |
| <i>Sema4d</i> | -0,6859 | -0,7661 | -0,7260 |
| <i>Slc10a7</i> | -0,7351 | -0,7164 | -0,7257 |
| <i>Vdac3-ps1</i> | -0,7881 | -0,6633 | -0,7257 |
| <i>Mbd3</i> | -0,9395 | -0,5115 | -0,7255 |
| <i>Atp6v1b2</i> | -0,7111 | -0,7384 | -0,7247 |
| <i>Zhx3</i> | -0,8181 | -0,6312 | -0,7247 |
| <i>Ints2</i> | -0,6357 | -0,8134 | -0,7246 |
| <i>Atp11b</i> | -0,9386 | -0,5101 | -0,7243 |
| <i>Ccdc47</i> | -0,8122 | -0,6337 | -0,7230 |
| <i>Abca3</i> | -0,6466 | -0,7986 | -0,7226 |
| <i>Dynll2</i> | -0,8622 | -0,5796 | -0,7209 |
| <i>Gps1</i> | -0,8869 | -0,5531 | -0,7200 |
| <i>Snrpd3</i> | -0,8764 | -0,5635 | -0,7199 |
| <i>Tmem243</i> | -0,7282 | -0,7103 | -0,7192 |
| <i>Ttc14</i> | -0,8592 | -0,5781 | -0,7186 |
| <i>Nhsl1</i> | -0,9336 | -0,5024 | -0,7180 |
| <i>H2afy</i> | -0,9522 | -0,4832 | -0,7177 |
| <i>Mgat4a</i> | -0,8441 | -0,5877 | -0,7159 |
| <i>Mecom</i> | -0,8848 | -0,5461 | -0,7155 |
| <i>Tlr3</i> | -0,6677 | -0,7619 | -0,7148 |
| <i>ErbB2</i> | -0,7887 | -0,6402 | -0,7144 |
| <i>Twf2</i> | -0,6123 | -0,8161 | -0,7142 |
| <i>Ippk</i> | -0,6717 | -0,7566 | -0,7142 |
| <i>Aes</i> | -0,9617 | -0,4666 | -0,7141 |
| <i>Vps26a</i> | -0,8766 | -0,5510 | -0,7138 |
| <i>D11wsu47e</i> | -0,7929 | -0,6340 | -0,7134 |
| <i>Socs7</i> | -0,6603 | -0,7645 | -0,7124 |
| <i>Vdac3</i> | -0,8283 | -0,5940 | -0,7112 |
| <i>Usb1</i> | -0,7200 | -0,7006 | -0,7103 |
| <i>Ptprk</i> | -0,5526 | -0,8659 | -0,7092 |
| <i>Hexdc</i> | -0,8429 | -0,5733 | -0,7081 |
| <i>Glo1</i> | -0,8766 | -0,5394 | -0,7080 |
| <i>Jtb</i> | -0,6602 | -0,7557 | -0,7080 |
| <i>Inpp5e</i> | -0,6797 | -0,7354 | -0,7075 |
| <i>Dnajb1</i> | -0,8630 | -0,5501 | -0,7066 |
| <i>2310011j03rik</i> | -0,7309 | -0,6815 | -0,7062 |
| <i>Acly</i> | -0,6884 | -0,7237 | -0,7061 |
| <i>Rspryl</i> | -0,7178 | -0,6941 | -0,7060 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Exoc7</i> | -0,8333 | -0,5746 | -0,7039 |
| <i>Vps36</i> | -0,7693 | -0,6379 | -0,7036 |
| <i>Cnep1r1</i> | -0,6403 | -0,7650 | -0,7027 |
| <i>Kpna2</i> | -0,8090 | -0,5961 | -0,7025 |
| <i>D230025d16rik</i> | -0,7417 | -0,6628 | -0,7022 |
| <i>Prkar2a</i> | -0,8186 | -0,5853 | -0,7020 |
| <i>Wdr83os</i> | -0,8675 | -0,5363 | -0,7019 |
| <i>Tsc22d1</i> | -0,5215 | -0,8810 | -0,7013 |
| <i>Poc1b</i> | -0,8343 | -0,5672 | -0,7008 |
| <i>Polrmt</i> | -0,7296 | -0,6673 | -0,6985 |
| <i>Parp3</i> | -0,7991 | -0,5971 | -0,6981 |
| <i>Psd</i> | -0,7270 | -0,6685 | -0,6978 |
| <i>Slc35b1</i> | -0,6799 | -0,7152 | -0,6975 |
| <i>Tmem259</i> | -0,7434 | -0,6504 | -0,6969 |
| <i>Hdac1</i> | -0,8553 | -0,5379 | -0,6966 |
| <i>Rsu1</i> | -0,7856 | -0,6072 | -0,6964 |
| <i>Spcs3</i> | -0,8932 | -0,4988 | -0,6960 |
| <i>Erlin1</i> | -0,7799 | -0,6120 | -0,6960 |
| <i>Dhx32</i> | -0,6072 | -0,7833 | -0,6952 |
| <i>Abhd2</i> | -0,5957 | -0,7928 | -0,6942 |
| <i>Cc2d1b</i> | -0,6481 | -0,7392 | -0,6936 |
| <i>Dazap1</i> | -0,7512 | -0,6358 | -0,6935 |
| <i>Zbtb43</i> | -0,8559 | -0,5306 | -0,6932 |
| <i>Abhd16a</i> | -0,7673 | -0,6188 | -0,6930 |
| <i>Atp5h</i> | -0,9369 | -0,4488 | -0,6928 |
| <i>Tmed9</i> | -0,7476 | -0,6369 | -0,6923 |
| <i>Dcun1d2</i> | -0,7384 | -0,6447 | -0,6916 |
| <i>U2af1</i> | -0,8109 | -0,5691 | -0,6900 |
| <i>Usp44</i> | -0,7328 | -0,6471 | -0,6900 |
| <i>Psmc5</i> | -0,7888 | -0,5901 | -0,6894 |
| <i>Homer3</i> | -0,6423 | -0,7313 | -0,6868 |
| <i>B3gnt3</i> | -0,7031 | -0,6696 | -0,6863 |
| <i>Tubb2a</i> | -0,6437 | -0,7286 | -0,6861 |
| <i>Ftsj3</i> | -0,7680 | -0,6042 | -0,6861 |
| <i>Bmp2k</i> | -0,7357 | -0,6350 | -0,6854 |
| <i>Abcb10</i> | -0,6764 | -0,6918 | -0,6841 |
| <i>Ipmk</i> | -0,6189 | -0,7475 | -0,6832 |
| <i>Fpgs</i> | -0,7560 | -0,6100 | -0,6830 |
| <i>Dhx8</i> | -0,7161 | -0,6487 | -0,6824 |
| <i>Sbno2</i> | -0,7252 | -0,6394 | -0,6823 |
| <i>Ocell1</i> | -0,7581 | -0,6051 | -0,6816 |
| <i>Btd3</i> | -0,7508 | -0,6095 | -0,6801 |
| <i>Scrn2</i> | -0,6563 | -0,7031 | -0,6797 |
| <i>Nr2f6</i> | -0,7885 | -0,5697 | -0,6791 |
| <i>Fto</i> | -0,8097 | -0,5476 | -0,6786 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|------------------|---|---|---|
| <i>Mif4gd</i> | -0,8053 | -0,5518 | -0,6785 |
| <i>Paics</i> | -0,8364 | -0,5205 | -0,6785 |
| <i>Ubqln1</i> | -0,8392 | -0,5171 | -0,6781 |
| <i>Rab15</i> | -0,7959 | -0,5598 | -0,6779 |
| <i>Gfod2</i> | -0,7745 | -0,5811 | -0,6778 |
| <i>Ranbp10</i> | -0,8134 | -0,5417 | -0,6776 |
| <i>Gm53</i> | -0,7015 | -0,6522 | -0,6769 |
| <i>Lemd3</i> | -0,7382 | -0,6140 | -0,6761 |
| <i>Crtap</i> | -0,8823 | -0,4680 | -0,6751 |
| <i>St14</i> | -0,7967 | -0,5525 | -0,6746 |
| <i>Gipc1</i> | -0,7184 | -0,6301 | -0,6743 |
| <i>Zswim4</i> | -0,6928 | -0,6532 | -0,6730 |
| <i>Edfl</i> | -0,8112 | -0,5322 | -0,6717 |
| <i>Myo9b</i> | -0,6979 | -0,6432 | -0,6706 |
| <i>Ddx28</i> | -0,8410 | -0,4969 | -0,6689 |
| <i>Gm10146</i> | -0,6958 | -0,6418 | -0,6688 |
| <i>Mocs2</i> | -0,8438 | -0,4931 | -0,6684 |
| <i>Nae1</i> | -0,6799 | -0,6567 | -0,6683 |
| <i>Ccdc59</i> | -0,7696 | -0,5666 | -0,6681 |
| <i>Afap1l2</i> | -0,8205 | -0,5153 | -0,6679 |
| <i>Akap11</i> | -0,6835 | -0,6523 | -0,6679 |
| <i>Capn7</i> | -0,6665 | -0,6688 | -0,6677 |
| <i>Kat2a</i> | -0,7382 | -0,5971 | -0,6677 |
| <i>Eif2ak3</i> | -0,7072 | -0,6260 | -0,6666 |
| <i>Wdr83</i> | -0,6686 | -0,6644 | -0,6665 |
| <i>Larp1b</i> | -0,7949 | -0,5373 | -0,6661 |
| <i>Prkca</i> | -0,7817 | -0,5502 | -0,6659 |
| <i>D10jhu81e</i> | -0,8056 | -0,5240 | -0,6648 |
| <i>Tnpo2</i> | -0,7526 | -0,5761 | -0,6644 |
| <i>Plekhj1</i> | -0,8144 | -0,5143 | -0,6643 |
| <i>Dapk3</i> | -0,8533 | -0,4733 | -0,6633 |
| <i>Ap1m1</i> | -0,5764 | -0,7501 | -0,6633 |
| <i>Tubgcp3</i> | -0,7683 | -0,5582 | -0,6633 |
| <i>Dctn2</i> | -0,7260 | -0,6002 | -0,6631 |
| <i>Alyref</i> | -0,8641 | -0,4615 | -0,6628 |
| <i>Brca1</i> | -0,7627 | -0,5624 | -0,6626 |
| <i>Sash1</i> | -0,8568 | -0,4681 | -0,6625 |
| <i>Tubg1</i> | -0,7373 | -0,5872 | -0,6623 |
| <i>Rfng</i> | -0,6446 | -0,6793 | -0,6620 |
| <i>Cabin1</i> | -0,6978 | -0,6248 | -0,6613 |
| <i>Ptrf</i> | -0,7986 | -0,5229 | -0,6608 |
| <i>Recql</i> | -0,8053 | -0,5160 | -0,6607 |
| <i>Isca1</i> | -0,6942 | -0,6264 | -0,6603 |
| <i>Ranbp2</i> | -0,7180 | -0,6006 | -0,6593 |
| <i>Mcfid2</i> | -0,7687 | -0,5499 | -0,6593 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|-----------------|---|---|---|
| <i>Yipf6</i> | -0,6722 | -0,6453 | -0,6587 |
| <i>McpH1</i> | -0,7423 | -0,5740 | -0,6582 |
| <i>Pbx3</i> | -0,7824 | -0,5335 | -0,6579 |
| <i>Stx17</i> | -0,5712 | -0,7447 | -0,6579 |
| <i>Rbm17</i> | -0,8060 | -0,5098 | -0,6579 |
| <i>Msh2</i> | -0,7671 | -0,5481 | -0,6576 |
| <i>Mon2</i> | -0,6903 | -0,6246 | -0,6575 |
| <i>Psmc3ip</i> | -0,7157 | -0,5981 | -0,6569 |
| <i>Rnf146</i> | -0,7154 | -0,5973 | -0,6563 |
| <i>Sar1a</i> | -0,8009 | -0,5116 | -0,6562 |
| <i>Dcun1d1</i> | -0,8057 | -0,5059 | -0,6558 |
| <i>Fanca</i> | -0,7016 | -0,6093 | -0,6554 |
| <i>Ppp2r3a</i> | -0,7581 | -0,5526 | -0,6554 |
| <i>Ndfip1</i> | -0,6756 | -0,6339 | -0,6548 |
| <i>Spns2</i> | -0,8116 | -0,4978 | -0,6547 |
| <i>P4hb</i> | -0,8150 | -0,4940 | -0,6545 |
| <i>Wrn</i> | -0,7001 | -0,6085 | -0,6543 |
| <i>Taok2</i> | -0,7555 | -0,5508 | -0,6532 |
| <i>Gm9816</i> | -0,7363 | -0,5691 | -0,6527 |
| <i>Pxdn</i> | -0,7356 | -0,5686 | -0,6521 |
| <i>Asf1a</i> | -0,7890 | -0,5142 | -0,6516 |
| <i>Zzef1</i> | -0,6089 | -0,6933 | -0,6511 |
| <i>Mcu</i> | -0,7216 | -0,5781 | -0,6498 |
| <i>Mrps2</i> | -0,7228 | -0,5744 | -0,6486 |
| <i>Plk4</i> | -0,7277 | -0,5695 | -0,6486 |
| <i>Smarca5</i> | -0,8592 | -0,4363 | -0,6478 |
| <i>Tom111</i> | -0,7710 | -0,5224 | -0,6467 |
| <i>Man2b2</i> | -0,6620 | -0,6311 | -0,6465 |
| <i>Rab14</i> | -0,7182 | -0,5732 | -0,6457 |
| <i>Gm10093</i> | -0,7705 | -0,5174 | -0,6439 |
| <i>Hn1</i> | -0,7162 | -0,5688 | -0,6425 |
| <i>Stard3</i> | -0,6910 | -0,5931 | -0,6420 |
| <i>Med24</i> | -0,7421 | -0,5402 | -0,6411 |
| <i>Snx3</i> | -0,8199 | -0,4620 | -0,6410 |
| <i>Cdk4</i> | -0,8011 | -0,4797 | -0,6404 |
| <i>Bc017643</i> | -0,7045 | -0,5756 | -0,6401 |
| <i>Phf2</i> | -0,7156 | -0,5643 | -0,6399 |
| <i>Mtfr1</i> | -0,6468 | -0,6327 | -0,6397 |
| <i>B4galnt1</i> | -0,6779 | -0,6007 | -0,6393 |
| <i>Ormdl2</i> | -0,5875 | -0,6874 | -0,6374 |
| <i>Tmem147</i> | -0,7381 | -0,5364 | -0,6372 |
| <i>Stxbp4</i> | -0,6931 | -0,5801 | -0,6366 |
| <i>Prepl</i> | -0,6834 | -0,5894 | -0,6364 |
| <i>Thoc3</i> | -0,6774 | -0,5947 | -0,6361 |
| <i>Stk11</i> | -0,7360 | -0,5341 | -0,6350 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|------------------|---|---|---|
| <i>Samd14</i> | -0,6728 | -0,5955 | -0,6341 |
| <i>Cbfb</i> | -0,6070 | -0,6582 | -0,6326 |
| <i>Lgals8</i> | -0,6543 | -0,6088 | -0,6315 |
| <i>Smg8</i> | -0,6543 | -0,6077 | -0,6310 |
| <i>Pwp1</i> | -0,7463 | -0,5148 | -0,6305 |
| <i>Os9</i> | -0,6059 | -0,6545 | -0,6302 |
| <i>Rab5c</i> | -0,6846 | -0,5731 | -0,6288 |
| <i>Wdr41</i> | -0,5806 | -0,6769 | -0,6288 |
| <i>Trnt1</i> | -0,6747 | -0,5823 | -0,6285 |
| <i>Tusc3</i> | -0,7733 | -0,4836 | -0,6285 |
| <i>Vps4a</i> | -0,6581 | -0,5962 | -0,6272 |
| <i>Nup188</i> | -0,6613 | -0,5908 | -0,6260 |
| <i>Llph</i> | -0,7604 | -0,4846 | -0,6225 |
| <i>Trappc11</i> | -0,6927 | -0,5513 | -0,6220 |
| <i>Anapc11</i> | -0,6530 | -0,5903 | -0,6217 |
| <i>Stim1</i> | -0,7343 | -0,5080 | -0,6212 |
| <i>Fam120a</i> | -0,8128 | -0,4290 | -0,6209 |
| <i>Fzd6</i> | -0,6587 | -0,5829 | -0,6208 |
| <i>Hoxb4</i> | -0,6212 | -0,6188 | -0,6200 |
| <i>Zdhhc12</i> | -0,5813 | -0,6585 | -0,6199 |
| <i>Supt4a</i> | -0,8045 | -0,4349 | -0,6197 |
| <i>Vps35</i> | -0,7560 | -0,4809 | -0,6185 |
| <i>Cs</i> | -0,8103 | -0,4266 | -0,6185 |
| <i>Cdk1</i> | -0,7765 | -0,4599 | -0,6182 |
| <i>Smim12</i> | -0,6859 | -0,5506 | -0,6182 |
| <i>Sephs2</i> | -0,7196 | -0,5163 | -0,6179 |
| <i>Eogt</i> | -0,5876 | -0,6461 | -0,6169 |
| <i>Setd7</i> | -0,6855 | -0,5476 | -0,6165 |
| <i>Hace1</i> | -0,6546 | -0,5783 | -0,6164 |
| <i>Bc005624</i> | -0,6518 | -0,5809 | -0,6163 |
| <i>Slc30a7</i> | -0,6884 | -0,5425 | -0,6154 |
| <i>Nrbf2</i> | -0,6640 | -0,5631 | -0,6136 |
| <i>Prmt2</i> | -0,5745 | -0,6523 | -0,6134 |
| <i>Atxn7l3</i> | -0,7275 | -0,4916 | -0,6095 |
| <i>Thap11</i> | -0,7009 | -0,5167 | -0,6088 |
| <i>Cd164</i> | -0,7303 | -0,4870 | -0,6086 |
| <i>Ube2n</i> | -0,8343 | -0,3828 | -0,6085 |
| <i>Mus81</i> | -0,4923 | -0,7230 | -0,6077 |
| <i>D17h6s53e</i> | -0,6580 | -0,5572 | -0,6076 |
| <i>Polr2e</i> | -0,7499 | -0,4632 | -0,6066 |
| <i>Mtmr4</i> | -0,7189 | -0,4941 | -0,6065 |
| <i>Selk</i> | -0,7442 | -0,4682 | -0,6062 |
| <i>Nup93</i> | -0,7540 | -0,4564 | -0,6052 |
| <i>Faf2</i> | -0,6152 | -0,5950 | -0,6051 |
| <i>Tex2</i> | -0,7157 | -0,4939 | -0,6048 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|-----------------|---|---|---|
| <i>Ash2l</i> | -0,6329 | -0,5764 | -0,6046 |
| <i>Slc35b4</i> | -0,5864 | -0,6213 | -0,6039 |
| <i>Zc3h7b</i> | -0,7170 | -0,4897 | -0,6033 |
| <i>Rtcb</i> | -0,7014 | -0,5020 | -0,6017 |
| <i>Arl1</i> | -0,7406 | -0,4628 | -0,6017 |
| <i>Pym1</i> | -0,6763 | -0,5254 | -0,6009 |
| <i>Synrg</i> | -0,5926 | -0,6087 | -0,6006 |
| <i>Abl1</i> | -0,7132 | -0,4875 | -0,6003 |
| <i>Swi5</i> | -0,7426 | -0,4542 | -0,5984 |
| <i>Whsc111</i> | -0,7062 | -0,4897 | -0,5979 |
| <i>Atp2b1</i> | -0,6870 | -0,5074 | -0,5972 |
| <i>Fam207a</i> | -0,6024 | -0,5910 | -0,5967 |
| <i>Mrpl38</i> | -0,7232 | -0,4695 | -0,5964 |
| <i>Lsr</i> | -0,5746 | -0,6180 | -0,5963 |
| <i>Yeats4</i> | -0,7699 | -0,4227 | -0,5963 |
| <i>Mfge8</i> | -0,7937 | -0,3981 | -0,5959 |
| <i>Appbp2</i> | -0,7109 | -0,4804 | -0,5956 |
| <i>Cbx1</i> | -0,7424 | -0,4485 | -0,5954 |
| <i>Acad9</i> | -0,7178 | -0,4716 | -0,5947 |
| <i>Zbtb7a</i> | -0,6887 | -0,4996 | -0,5942 |
| <i>Nup214</i> | -0,6335 | -0,5543 | -0,5939 |
| <i>Fam96b</i> | -0,6875 | -0,5001 | -0,5938 |
| <i>Spag9</i> | -0,7110 | -0,4763 | -0,5937 |
| <i>Gpatch8</i> | -0,6292 | -0,5580 | -0,5936 |
| <i>Calm2</i> | -0,7924 | -0,3918 | -0,5921 |
| <i>Fam107b</i> | -0,7435 | -0,4398 | -0,5917 |
| <i>Sgta</i> | -0,6778 | -0,5049 | -0,5913 |
| <i>Zmpste24</i> | -0,5655 | -0,6169 | -0,5912 |
| <i>Cdc16</i> | -0,7084 | -0,4723 | -0,5903 |
| <i>Hgs</i> | -0,6241 | -0,5560 | -0,5901 |
| <i>Thada</i> | -0,6415 | -0,5367 | -0,5891 |
| <i>Gna13</i> | -0,6205 | -0,5571 | -0,5888 |
| <i>Map2k2</i> | -0,7050 | -0,4711 | -0,5881 |
| <i>Prkci</i> | -0,7229 | -0,4520 | -0,5875 |
| <i>Eif4ebp2</i> | -0,7418 | -0,4310 | -0,5864 |
| <i>Mcm3ap</i> | -0,6493 | -0,5225 | -0,5859 |
| <i>Abce1</i> | -0,7168 | -0,4534 | -0,5851 |
| <i>Gopc</i> | -0,6168 | -0,5461 | -0,5815 |
| <i>Dcakd</i> | -0,6695 | -0,4929 | -0,5812 |
| <i>Tpm4</i> | -0,6216 | -0,5403 | -0,5810 |
| <i>Lamp1</i> | -0,6378 | -0,5211 | -0,5795 |
| <i>Llgl2</i> | -0,6476 | -0,5071 | -0,5773 |
| <i>Mpc2</i> | -0,6031 | -0,5491 | -0,5761 |
| <i>Gtf3c6</i> | -0,6630 | -0,4880 | -0,5755 |
| <i>Eps15l1</i> | -0,6209 | -0,5291 | -0,5750 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|-----------------|---|---|---|
| <i>Ppapdc1b</i> | -0,6081 | -0,5389 | -0,5735 |
| <i>Ythdf3</i> | -0,7210 | -0,4254 | -0,5732 |
| <i>Sirt7</i> | -0,5869 | -0,5591 | -0,5730 |
| <i>Hint1</i> | -0,6025 | -0,5398 | -0,5711 |
| <i>Tmem184c</i> | -0,5211 | -0,6195 | -0,5703 |
| <i>Cdc123</i> | -0,6794 | -0,4610 | -0,5702 |
| <i>Golga7</i> | -0,6500 | -0,4903 | -0,5702 |
| <i>Herc4</i> | -0,6899 | -0,4502 | -0,5700 |
| <i>Zmynd19</i> | -0,5598 | -0,5769 | -0,5683 |
| <i>Spop</i> | -0,6742 | -0,4597 | -0,5670 |
| <i>Cep83</i> | -0,6081 | -0,5228 | -0,5655 |
| <i>Gpat4</i> | -0,6147 | -0,5099 | -0,5623 |
| <i>Fucal</i> | -0,6686 | -0,4538 | -0,5612 |
| <i>Zfp280b</i> | -0,5899 | -0,5290 | -0,5594 |
| <i>Aco1</i> | -0,6225 | -0,4950 | -0,5588 |
| <i>Slc35c1</i> | -0,5323 | -0,5806 | -0,5565 |
| <i>Fam134c</i> | -0,6535 | -0,4579 | -0,5557 |
| <i>Abhd13</i> | -0,6084 | -0,5023 | -0,5554 |
| <i>Ube2g2</i> | -0,6316 | -0,4789 | -0,5552 |
| <i>Cdan1</i> | -0,5953 | -0,5151 | -0,5552 |
| <i>Ddx49</i> | -0,6280 | -0,4819 | -0,5550 |
| <i>Arhgef7</i> | -0,5266 | -0,5805 | -0,5536 |
| <i>Atxn7l3b</i> | -0,6030 | -0,5027 | -0,5528 |
| <i>Ccdc43</i> | -0,6629 | -0,4419 | -0,5524 |
| <i>Mpp1</i> | -0,5526 | -0,5494 | -0,5510 |
| <i>Gins4</i> | -0,6520 | -0,4475 | -0,5497 |
| <i>Amd1</i> | -0,6601 | -0,4385 | -0,5493 |
| <i>Gfer</i> | -0,5794 | -0,5175 | -0,5485 |
| <i>Psmb4</i> | -0,5825 | -0,5134 | -0,5480 |
| <i>Nus1</i> | -0,6336 | -0,4606 | -0,5471 |
| <i>Dnajb12</i> | -0,6944 | -0,3956 | -0,5450 |
| <i>Taf5</i> | -0,5743 | -0,5140 | -0,5441 |
| <i>Cipc</i> | -0,5998 | -0,4848 | -0,5423 |
| <i>Foxk2</i> | -0,6073 | -0,4594 | -0,5333 |
| <i>Fbxo3</i> | -0,6003 | -0,4627 | -0,5315 |
| <i>Hiat1</i> | -0,5976 | -0,4611 | -0,5294 |
| <i>Tspan31</i> | -0,6172 | -0,4352 | -0,5262 |
| <i>Cers5</i> | -0,5814 | -0,4654 | -0,5234 |
| <i>Rfk</i> | -0,5934 | -0,4498 | -0,5216 |
| <i>Map2k7</i> | -0,5633 | -0,4613 | -0,5123 |
| <i>Itgb1</i> | -0,5162 | -0,5048 | -0,5105 |
| <i>Cyb5b</i> | -0,5753 | -0,4349 | -0,5051 |
| <i>Hacd3</i> | -0,4649 | -0,5320 | -0,4985 |
| <i>Smpdl3b</i> | -0,5090 | -0,4807 | -0,4948 |
| <i>Chd3</i> | -0,4828 | -0,4685 | -0,4757 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Slc35a4</i> | -0,4905 | -0,4396 | -0,4651 |
| <i>Lgr6</i> | -1,2168 | 0,6729 | -0,2719 |
| <i>Cyp1b1</i> | 0,8899 | -1,0349 | -0,0725 |
| <i>Fxyd5</i> | -0,9143 | 0,8855 | -0,0144 |
| <i>Ppp1r12b</i> | 0,7648 | -0,6735 | 0,0457 |
| <i>Blcap</i> | 0,5536 | 0,5153 | 0,5345 |
| <i>Kctd3</i> | 0,5578 | 0,5271 | 0,5425 |
| <i>Stk4</i> | 0,5543 | 0,5340 | 0,5442 |
| <i>Wfdc2</i> | 0,6412 | 0,4717 | 0,5564 |
| <i>Rbck1</i> | 0,5703 | 0,5584 | 0,5644 |
| <i>Strn3</i> | 0,6348 | 0,4955 | 0,5651 |
| <i>Rrp36</i> | 0,5008 | 0,6332 | 0,5670 |
| <i>Dgkd</i> | 0,5684 | 0,5821 | 0,5753 |
| <i>Lrig1</i> | 0,5483 | 0,6101 | 0,5792 |
| <i>Rrn3</i> | 0,6098 | 0,5557 | 0,5827 |
| <i>Ephb3</i> | 0,6618 | 0,5250 | 0,5934 |
| <i>Rtel1</i> | 0,5928 | 0,5983 | 0,5955 |
| <i>Basp1</i> | 0,5678 | 0,6391 | 0,6034 |
| <i>Polh</i> | 0,6205 | 0,6457 | 0,6331 |
| <i>Kpna1</i> | 0,5908 | 0,6825 | 0,6367 |
| <i>Ai661453</i> | 0,6522 | 0,6254 | 0,6388 |
| <i>Cenpq</i> | 0,6356 | 0,6445 | 0,6401 |
| <i>Pitrm1</i> | 0,5096 | 0,7824 | 0,6460 |
| <i>Slc39a10</i> | 0,6594 | 0,6370 | 0,6482 |
| <i>Kif3b</i> | 0,7225 | 0,5765 | 0,6495 |
| <i>Rras2</i> | 0,4776 | 0,8331 | 0,6553 |
| <i>Sep02</i> | 0,5569 | 0,7704 | 0,6636 |
| <i>Pea15a</i> | 0,7366 | 0,5921 | 0,6644 |
| <i>Hspa13</i> | 0,5372 | 0,7926 | 0,6649 |
| <i>Src</i> | 0,6402 | 0,6970 | 0,6686 |
| <i>Ptbp2</i> | 0,6070 | 0,7408 | 0,6739 |
| <i>Abcc1</i> | 0,7488 | 0,6023 | 0,6755 |
| <i>Stambpl1</i> | 0,6624 | 0,6936 | 0,6780 |
| <i>Ctsl</i> | 0,5396 | 0,8198 | 0,6797 |
| <i>Wars</i> | 0,6836 | 0,6806 | 0,6821 |
| <i>Ets2</i> | 0,8930 | 0,4778 | 0,6854 |
| <i>Qk</i> | 0,5675 | 0,8094 | 0,6885 |
| <i>Tti1</i> | 0,6368 | 0,7409 | 0,6889 |
| <i>Nif3l1</i> | 0,6071 | 0,7766 | 0,6918 |
| <i>Gpc1</i> | 0,9026 | 0,4946 | 0,6986 |
| <i>Rbmx</i> | 0,8588 | 0,5437 | 0,7012 |
| <i>Tnk2</i> | 0,6880 | 0,7192 | 0,7036 |
| <i>Rbm38</i> | 0,5976 | 0,8108 | 0,7042 |
| <i>Atp13a3</i> | 0,7165 | 0,6922 | 0,7043 |
| <i>9130008f23rik</i> | 0,7164 | 0,6955 | 0,7060 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|------------------|---|---|---|
| <i>Thoc6</i> | 0,5861 | 0,8307 | 0,7084 |
| <i>Rab23</i> | 0,7810 | 0,6361 | 0,7086 |
| <i>Lrrfip1</i> | 0,5932 | 0,8302 | 0,7117 |
| <i>Trip10</i> | 0,5846 | 0,8413 | 0,7129 |
| <i>Snx18</i> | 0,6946 | 0,7320 | 0,7133 |
| <i>Psd3</i> | 0,9174 | 0,5280 | 0,7227 |
| <i>Klc1</i> | 0,6545 | 0,7915 | 0,7230 |
| <i>Slc25a33</i> | 0,7314 | 0,7239 | 0,7276 |
| <i>Tm9sf2</i> | 0,7234 | 0,7320 | 0,7277 |
| <i>Wdr70</i> | 0,5335 | 0,9307 | 0,7321 |
| <i>Uqcc1</i> | 0,7300 | 0,7390 | 0,7345 |
| <i>Lama5</i> | 0,5558 | 0,9185 | 0,7371 |
| <i>Rab5a</i> | 0,7168 | 0,7620 | 0,7394 |
| <i>Dock8</i> | 0,7834 | 0,6965 | 0,7400 |
| <i>Zfp462</i> | 0,7241 | 0,7639 | 0,7440 |
| <i>Gprc5a</i> | 0,7829 | 0,7066 | 0,7448 |
| <i>Prkaa1</i> | 0,6201 | 0,8786 | 0,7494 |
| <i>Klhdc3</i> | 0,7365 | 0,7685 | 0,7525 |
| <i>Lpp</i> | 0,8600 | 0,6503 | 0,7552 |
| <i>Lmbrd2</i> | 0,8386 | 0,6785 | 0,7585 |
| <i>Mbp</i> | 0,5954 | 0,9238 | 0,7596 |
| <i>Smurf1</i> | 0,6731 | 0,8467 | 0,7599 |
| <i>Prdx6</i> | 0,6832 | 0,8503 | 0,7667 |
| <i>Pvrl2</i> | 0,8997 | 0,6373 | 0,7685 |
| <i>Med20</i> | 0,6576 | 0,8806 | 0,7691 |
| <i>Bmp1</i> | 0,5629 | 0,9888 | 0,7758 |
| <i>Crebbp</i> | 0,6843 | 0,8752 | 0,7797 |
| <i>Phldb2</i> | 1,0279 | 0,5327 | 0,7803 |
| <i>Chpf</i> | 0,7490 | 0,8132 | 0,7811 |
| <i>Tbc1d5</i> | 0,5796 | 0,9872 | 0,7834 |
| <i>Gtf3c3</i> | 0,7387 | 0,8288 | 0,7837 |
| <i>Trp53inp2</i> | 0,8867 | 0,6811 | 0,7839 |
| <i>Efna5</i> | 0,7966 | 0,7748 | 0,7857 |
| <i>Il4ra</i> | 0,6459 | 0,9291 | 0,7875 |
| <i>Znrf2</i> | 1,0394 | 0,5360 | 0,7877 |
| <i>Coq10b</i> | 0,7089 | 0,8701 | 0,7895 |
| <i>Supt3</i> | 0,8039 | 0,7857 | 0,7948 |
| <i>Dus3l</i> | 0,6101 | 0,9807 | 0,7954 |
| <i>Pard6b</i> | 0,7010 | 0,8913 | 0,7961 |
| <i>Lamc2</i> | 0,6447 | 0,9497 | 0,7972 |
| <i>Igsf9</i> | 0,6866 | 0,9087 | 0,7976 |
| <i>Ldlrap1</i> | 0,6502 | 0,9518 | 0,8010 |
| <i>Nup155</i> | 0,7036 | 0,9070 | 0,8053 |
| <i>Igfbp7</i> | 1,0570 | 0,5537 | 0,8054 |
| <i>Pdia4</i> | 0,7209 | 0,8915 | 0,8062 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Rassf5</i> | 0,7283 | 0,8861 | 0,8072 |
| <i>Dnajc21</i> | 0,6534 | 0,9635 | 0,8084 |
| <i>Cflar</i> | 0,6053 | 1,0314 | 0,8183 |
| <i>Fkbp5</i> | 0,8586 | 0,7792 | 0,8189 |
| <i>Dpy19l1</i> | 0,5425 | 1,1100 | 0,8263 |
| <i>Snx5</i> | 0,6283 | 1,0304 | 0,8293 |
| <i>Eepd1</i> | 0,8120 | 0,8480 | 0,8300 |
| <i>Cables2</i> | 0,7298 | 0,9350 | 0,8324 |
| <i>Tead4</i> | 0,6505 | 1,0171 | 0,8338 |
| <i>Prpf6</i> | 0,7069 | 0,9666 | 0,8368 |
| <i>Brix1</i> | 0,6821 | 0,9923 | 0,8372 |
| <i>Kdm7a</i> | 1,0944 | 0,5800 | 0,8372 |
| <i>Wtip</i> | 0,8537 | 0,8260 | 0,8399 |
| <i>Fytd1</i> | 0,6230 | 1,0575 | 0,8403 |
| <i>Nipbl</i> | 0,7051 | 0,9813 | 0,8432 |
| <i>Itm2c</i> | 0,8372 | 0,8503 | 0,8438 |
| <i>Dock9</i> | 0,9632 | 0,7273 | 0,8453 |
| <i>Klhl28</i> | 0,9637 | 0,7342 | 0,8489 |
| <i>Foxp4</i> | 0,7588 | 0,9414 | 0,8501 |
| <i>Etohi1</i> | 0,8247 | 0,8914 | 0,8581 |
| <i>Mrgbp</i> | 0,8165 | 0,9018 | 0,8591 |
| <i>Stk11ip</i> | 0,7893 | 0,9432 | 0,8662 |
| <i>Gstz1</i> | 0,8103 | 0,9411 | 0,8757 |
| <i>Baiap212</i> | 0,6996 | 1,0526 | 0,8761 |
| <i>Utp14b</i> | 0,9284 | 0,8293 | 0,8788 |
| <i>Syt12</i> | 0,8571 | 0,9022 | 0,8796 |
| <i>Maff</i> | 0,8282 | 0,9395 | 0,8839 |
| <i>Nfkbiz</i> | 1,1422 | 0,6263 | 0,8843 |
| <i>Rab31</i> | 0,7399 | 1,0287 | 0,8843 |
| <i>Epb41l1</i> | 0,6557 | 1,1166 | 0,8861 |
| <i>Ube2v2</i> | 0,5474 | 1,2306 | 0,8890 |
| <i>Tmem63b</i> | 0,8122 | 0,9678 | 0,8900 |
| <i>5730559c18rik</i> | 1,1340 | 0,6474 | 0,8907 |
| <i>Rpl36</i> | 0,5511 | 1,2346 | 0,8928 |
| <i>Tnfrsf22</i> | 0,8381 | 0,9485 | 0,8933 |
| <i>Fez2</i> | 0,7769 | 1,0116 | 0,8943 |
| <i>Gas5</i> | 0,8132 | 0,9783 | 0,8958 |
| <i>Morc4</i> | 0,7779 | 1,0157 | 0,8968 |
| <i>Anxa3</i> | 0,5504 | 1,2456 | 0,8980 |
| <i>Pdzk1ip1</i> | 1,1324 | 0,6695 | 0,9009 |
| <i>Prkch</i> | 0,8474 | 0,9620 | 0,9047 |
| <i>Esyt2</i> | 0,8540 | 0,9614 | 0,9077 |
| <i>Dcbl2</i> | 0,7925 | 1,0294 | 0,9110 |
| <i>Ttc33</i> | 0,7953 | 1,0277 | 0,9115 |
| <i>Adgrl2</i> | 1,0007 | 0,8245 | 0,9126 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Igf2r</i> | 0,8876 | 0,9394 | 0,9135 |
| <i>Dmxl2</i> | 0,8469 | 0,9887 | 0,9178 |
| <i>Tns1</i> | 0,7768 | 1,0602 | 0,9185 |
| <i>Lrrc58</i> | 0,7811 | 1,0576 | 0,9193 |
| <i>Rictor</i> | 0,6793 | 1,1687 | 0,9240 |
| <i>Emp1</i> | 0,8682 | 0,9808 | 0,9245 |
| <i>Dyrk3</i> | 0,9855 | 0,8703 | 0,9279 |
| <i>Drosha</i> | 0,8417 | 1,0450 | 0,9433 |
| <i>Mcam</i> | 0,9706 | 0,9239 | 0,9472 |
| <i>Rpl37rt</i> | 0,7559 | 1,1416 | 0,9488 |
| <i>Stk24</i> | 0,8135 | 1,0922 | 0,9528 |
| <i>C79130</i> | 0,9678 | 0,9416 | 0,9547 |
| <i>Ubac2</i> | 0,8304 | 1,0800 | 0,9552 |
| <i>Tgjf2</i> | 1,0776 | 0,8381 | 0,9578 |
| <i>Tbc1d2</i> | 0,9260 | 0,9926 | 0,9593 |
| <i>Ggt1</i> | 0,5562 | 1,3700 | 0,9631 |
| <i>Bbs1</i> | 0,8556 | 1,0798 | 0,9677 |
| <i>Ptger4</i> | 1,1405 | 0,8043 | 0,9724 |
| <i>Arhgef3</i> | 0,9521 | 0,9962 | 0,9742 |
| <i>Bcat1</i> | 1,0052 | 0,9438 | 0,9745 |
| <i>Bcl2l1</i> | 1,0354 | 0,9197 | 0,9776 |
| <i>Nox1</i> | 0,7272 | 1,2310 | 0,9791 |
| <i>Afap1</i> | 1,0912 | 0,8735 | 0,9824 |
| <i>Ghr</i> | 1,0012 | 0,9636 | 0,9824 |
| <i>Fam49b</i> | 0,9050 | 1,0709 | 0,9879 |
| <i>Plekhh1</i> | 0,8505 | 1,1350 | 0,9928 |
| <i>A130014a01rik</i> | 1,1114 | 0,8972 | 1,0043 |
| <i>Sep 05</i> | 1,2405 | 0,7704 | 1,0055 |
| <i>Slc4a4</i> | 1,1070 | 0,9087 | 1,0079 |
| <i>Dlg1</i> | 1,0953 | 0,9271 | 1,0112 |
| <i>Rpl37</i> | 0,7379 | 1,2888 | 1,0133 |
| <i>Inf2</i> | 0,9030 | 1,1251 | 1,0141 |
| <i>Rad1</i> | 0,9106 | 1,1180 | 1,0143 |
| <i>Gm13655</i> | 0,8111 | 1,2216 | 1,0163 |
| <i>6030458c11rik</i> | 0,9614 | 1,0746 | 1,0180 |
| <i>Psmg1</i> | 0,8755 | 1,1660 | 1,0207 |
| <i>Lrp12</i> | 1,1335 | 0,9105 | 1,0220 |
| <i>Stom</i> | 0,8859 | 1,1650 | 1,0254 |
| <i>Rbm25</i> | 0,9682 | 1,0857 | 1,0269 |
| <i>Gtf2a2</i> | 0,8255 | 1,2290 | 1,0273 |
| <i>Sox12</i> | 0,8970 | 1,1689 | 1,0330 |
| <i>Kdm5b</i> | 0,8556 | 1,2204 | 1,0380 |
| <i>Ddah1</i> | 0,8256 | 1,2560 | 1,0408 |
| <i>Asap2</i> | 0,9814 | 1,1038 | 1,0426 |
| <i>Runx2</i> | 1,4913 | 0,6091 | 1,0502 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Syne3</i> | 0,9672 | 1,1336 | 1,0504 |
| <i>2810408i11rik</i> | 1,0726 | 1,0397 | 1,0562 |
| <i>Wnt9a</i> | 1,1022 | 1,0265 | 1,0644 |
| <i>Creg1</i> | 1,0256 | 1,1164 | 1,0710 |
| <i>Ripk4</i> | 0,8480 | 1,3043 | 1,0761 |
| <i>Foxn3</i> | 1,1513 | 1,0067 | 1,0790 |
| <i>Cul7</i> | 1,1779 | 0,9823 | 1,0801 |
| <i>Cd68</i> | 1,2649 | 0,8976 | 1,0813 |
| <i>1700025g04rik</i> | 0,8006 | 1,3703 | 1,0854 |
| <i>Mrpl48-ps</i> | 0,7502 | 1,4251 | 1,0877 |
| <i>Fam101b</i> | 0,8129 | 1,3677 | 1,0903 |
| <i>Ppp1r18</i> | 1,1025 | 1,0968 | 1,0996 |
| <i>Lsm14b</i> | 1,0053 | 1,2102 | 1,1078 |
| <i>Atxn7l1</i> | 0,8439 | 1,3752 | 1,1095 |
| <i>Fblim1</i> | 0,9386 | 1,2813 | 1,1100 |
| <i>Ntn1</i> | 1,4497 | 0,7773 | 1,1135 |
| <i>Trim16</i> | 0,9339 | 1,2957 | 1,1148 |
| <i>Slc9a3r2</i> | 0,9153 | 1,3152 | 1,1153 |
| <i>Flot1</i> | 1,4431 | 0,7904 | 1,1168 |
| <i>Fermt2</i> | 0,9271 | 1,3064 | 1,1168 |
| <i>Rabl3</i> | 0,9529 | 1,2855 | 1,1192 |
| <i>Sumf1</i> | 0,9851 | 1,2606 | 1,1228 |
| <i>9530053a07rik</i> | 0,9092 | 1,3528 | 1,1310 |
| <i>Rfx2</i> | 1,1525 | 1,1113 | 1,1319 |
| <i>Hk2</i> | 0,9182 | 1,3491 | 1,1337 |
| <i>Rbpsuh-rs3</i> | 1,0546 | 1,2182 | 1,1364 |
| <i>Rbpj</i> | 0,9835 | 1,2894 | 1,1364 |
| <i>Ier3</i> | 0,8685 | 1,4184 | 1,1434 |
| <i>Prss22</i> | 1,2107 | 1,0762 | 1,1435 |
| <i>Ptk7</i> | 1,1331 | 1,1590 | 1,1461 |
| <i>Hcfc1r1</i> | 1,0521 | 1,2411 | 1,1466 |
| <i>Fbln2</i> | 0,6125 | 1,6814 | 1,1469 |
| <i>Ulbp1</i> | 1,3559 | 0,9428 | 1,1494 |
| <i>Cyp4a12b</i> | 1,4285 | 0,8721 | 1,1503 |
| <i>Mttp</i> | 0,8522 | 1,4572 | 1,1547 |
| <i>Pcdh1</i> | 1,0425 | 1,2700 | 1,1562 |
| <i>Plek2</i> | 1,0044 | 1,3356 | 1,1700 |
| <i>Snora28</i> | 1,2047 | 1,1361 | 1,1704 |
| <i>Kenj10</i> | 1,5887 | 0,7604 | 1,1745 |
| <i>Aim1l</i> | 1,2974 | 1,0605 | 1,1790 |
| <i>St3gal4</i> | 1,1494 | 1,2087 | 1,1790 |
| <i>Slc4a3</i> | 1,0122 | 1,3486 | 1,1804 |
| <i>Tnfrsf23</i> | 1,0731 | 1,2914 | 1,1822 |
| <i>Vgll3</i> | 1,3201 | 1,0456 | 1,1829 |
| <i>Wrb</i> | 1,1902 | 1,1820 | 1,1861 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|------------------|---|---|---|
| <i>Bc022687</i> | 1,2904 | 1,0914 | 1,1909 |
| <i>Bst1</i> | 1,0591 | 1,3302 | 1,1946 |
| <i>Zbtb21</i> | 1,0822 | 1,3079 | 1,1950 |
| <i>Sub1</i> | 0,7772 | 1,6162 | 1,1967 |
| <i>Dock5</i> | 1,3483 | 1,0516 | 1,2000 |
| <i>Cdsn</i> | 1,4693 | 0,9380 | 1,2036 |
| <i>Krt20</i> | 1,0254 | 1,3842 | 1,2048 |
| <i>Ikbke</i> | 1,4754 | 0,9399 | 1,2076 |
| <i>Mlh3</i> | 0,9720 | 1,4504 | 1,2112 |
| <i>Me3</i> | 1,5352 | 0,8985 | 1,2169 |
| <i>Clybl</i> | 1,0101 | 1,4265 | 1,2183 |
| <i>Bc034090</i> | 0,8612 | 1,5824 | 1,2218 |
| <i>Pdpf</i> | 0,9698 | 1,4749 | 1,2224 |
| <i>Cald1</i> | 1,1500 | 1,3038 | 1,2269 |
| <i>Hmga1-rs1</i> | 0,8050 | 1,6522 | 1,2286 |
| <i>Gm20544</i> | 1,3028 | 1,1575 | 1,2302 |
| <i>Aw549877</i> | 1,0665 | 1,4035 | 1,2350 |
| <i>Ipo5</i> | 1,0042 | 1,4696 | 1,2369 |
| <i>Asap1</i> | 1,2523 | 1,2283 | 1,2403 |
| <i>Pxdc1</i> | 0,8955 | 1,5897 | 1,2426 |
| <i>Lmo7</i> | 1,5829 | 0,9044 | 1,2437 |
| <i>Ss18l1</i> | 1,1628 | 1,3330 | 1,2479 |
| <i>Sema3b</i> | 0,9619 | 1,5407 | 1,2513 |
| <i>Amacr</i> | 1,1113 | 1,4056 | 1,2584 |
| <i>Mycl</i> | 1,5757 | 0,9488 | 1,2622 |
| <i>Ablim2</i> | 1,6490 | 0,8839 | 1,2664 |
| <i>Rap1gap2</i> | 1,5819 | 0,9608 | 1,2714 |
| <i>Apobr</i> | 1,2095 | 1,3362 | 1,2728 |
| <i>Rilpl2</i> | 0,9402 | 1,6140 | 1,2771 |
| <i>Susd4</i> | 1,0600 | 1,4959 | 1,2780 |
| <i>Csf3</i> | 1,6523 | 0,9064 | 1,2793 |
| <i>Rps6ka5</i> | 1,3561 | 1,2086 | 1,2824 |
| <i>C2cd2</i> | 1,2255 | 1,3456 | 1,2856 |
| <i>Prkcd</i> | 1,3837 | 1,1899 | 1,2868 |
| <i>Gm7862</i> | 1,3744 | 1,2056 | 1,2900 |
| <i>Nxpe3</i> | 1,0696 | 1,5195 | 1,2946 |
| <i>Dusp4</i> | 0,8461 | 1,7551 | 1,3006 |
| <i>Cldn6</i> | 1,1051 | 1,4998 | 1,3025 |
| <i>Brwd1</i> | 1,3526 | 1,2579 | 1,3052 |
| <i>Glrx</i> | 1,4277 | 1,1839 | 1,3058 |
| <i>Cep170</i> | 1,3658 | 1,2466 | 1,3062 |
| <i>Ai467606</i> | 1,2656 | 1,3622 | 1,3139 |
| <i>Padi2</i> | 0,8670 | 1,7625 | 1,3147 |
| <i>Plcx2</i> | 1,2300 | 1,4085 | 1,3192 |
| <i>Myo1e</i> | 1,1926 | 1,4466 | 1,3196 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Gsto1</i> | 1,2549 | 1,4019 | 1,3284 |
| <i>Aa414768</i> | 0,9581 | 1,7035 | 1,3308 |
| <i>Wnt7a</i> | 1,2233 | 1,4608 | 1,3420 |
| <i>Tmtc4</i> | 1,3274 | 1,3617 | 1,3446 |
| <i>Tcf7</i> | 1,4295 | 1,2702 | 1,3498 |
| <i>Tcn2</i> | 1,6015 | 1,1125 | 1,3570 |
| <i>Dusp10</i> | 1,5106 | 1,2147 | 1,3627 |
| <i>Mex3b</i> | 1,6620 | 1,0679 | 1,3649 |
| <i>Inhbb</i> | 1,0543 | 1,6817 | 1,3680 |
| <i>Arhgap40</i> | 0,6705 | 2,0695 | 1,3700 |
| <i>Sdcbp2</i> | 1,3845 | 1,3559 | 1,3702 |
| <i>Cpeb2</i> | 1,7427 | 1,0000 | 1,3714 |
| <i>Bdnf</i> | 1,8130 | 0,9433 | 1,3782 |
| <i>Sgk1</i> | 1,9445 | 0,8421 | 1,3933 |
| <i>Gm4262</i> | 1,2276 | 1,5609 | 1,3942 |
| <i>Sema3e</i> | 1,6400 | 1,1707 | 1,4053 |
| <i>Evl</i> | 1,3157 | 1,4964 | 1,4061 |
| <i>Axl</i> | 1,0384 | 1,8089 | 1,4237 |
| <i>Mical2</i> | 1,3561 | 1,4979 | 1,4270 |
| <i>Hmgn1</i> | 1,2114 | 1,6456 | 1,4285 |
| <i>Olfir1372-ps1</i> | 1,3112 | 1,5465 | 1,4288 |
| <i>F730043m19rik</i> | 1,1167 | 1,7838 | 1,4502 |
| <i>Dock4</i> | 1,5711 | 1,3449 | 1,4580 |
| <i>Ankrd44</i> | 1,6689 | 1,2602 | 1,4646 |
| <i>Bnip2</i> | 1,2898 | 1,6407 | 1,4653 |
| <i>Zbtb46</i> | 1,3758 | 1,5574 | 1,4666 |
| <i>Farp1</i> | 1,5456 | 1,3930 | 1,4693 |
| <i>Prss23</i> | 1,4091 | 1,5386 | 1,4739 |
| <i>Arvcf</i> | 1,4154 | 1,5541 | 1,4847 |
| <i>Crabp2</i> | 2,0022 | 0,9685 | 1,4854 |
| <i>Hmha1</i> | 1,4843 | 1,5135 | 1,4989 |
| <i>Zc3hav11</i> | 1,4722 | 1,5403 | 1,5062 |
| <i>Ephb2</i> | 1,6401 | 1,3725 | 1,5063 |
| <i>Tgfb2</i> | 1,3904 | 1,6460 | 1,5182 |
| <i>Ppargc1b</i> | 1,3183 | 1,7244 | 1,5213 |
| <i>Etv5</i> | 1,0231 | 2,0393 | 1,5312 |
| <i>Vangl2</i> | 1,4337 | 1,6391 | 1,5364 |
| <i>Rex2</i> | 1,7370 | 1,3479 | 1,5424 |
| <i>Gm14286</i> | 1,4557 | 1,6374 | 1,5466 |
| <i>Dlk2</i> | 1,1699 | 1,9447 | 1,5573 |
| <i>Wnt10a</i> | 1,5446 | 1,5733 | 1,5590 |
| <i>Slc16a5</i> | 1,5475 | 1,6110 | 1,5792 |
| <i>Camta1</i> | 1,3500 | 1,8179 | 1,5840 |
| <i>B230208h11rik</i> | 1,8634 | 1,3386 | 1,6010 |
| <i>Hist2h2be</i> | 1,2166 | 1,9891 | 1,6028 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Pdlim2</i> | 0,7386 | 2,5065 | 1,6225 |
| <i>4930556m19rik</i> | 1,4512 | 1,7971 | 1,6242 |
| <i>B930095g15rik</i> | 1,6805 | 1,5688 | 1,6247 |
| <i>Pmepa1</i> | 2,5025 | 0,7486 | 1,6256 |
| <i>Nr4a1</i> | 1,6336 | 1,6464 | 1,6400 |
| <i>Tsku</i> | 1,9596 | 1,3344 | 1,6470 |
| <i>Arap1</i> | 1,5150 | 1,7897 | 1,6524 |
| <i>2410004i01rik</i> | 2,1324 | 1,1753 | 1,6538 |
| <i>Tmem144</i> | 1,5046 | 1,8084 | 1,6565 |
| <i>Coro6</i> | 1,4150 | 1,9008 | 1,6579 |
| <i>Prkg2</i> | 1,1158 | 2,2328 | 1,6743 |
| <i>Eno3</i> | 1,9656 | 1,4158 | 1,6907 |
| <i>Guca1a</i> | 1,1976 | 2,1993 | 1,6985 |
| <i>Gpsm3</i> | 1,6688 | 1,7521 | 1,7104 |
| <i>Slc26a9</i> | 1,2528 | 2,1790 | 1,7159 |
| <i>Pglyrp3</i> | 1,9054 | 1,5525 | 1,7290 |
| <i>Plekho1</i> | 1,8350 | 1,6453 | 1,7401 |
| <i>Padi1</i> | 0,9536 | 2,5536 | 1,7536 |
| <i>Il34</i> | 1,0796 | 2,4319 | 1,7557 |
| <i>Bmp7</i> | 1,2267 | 2,3078 | 1,7672 |
| <i>Nkain1</i> | 2,1220 | 1,4192 | 1,7706 |
| <i>Ybx2</i> | 1,7370 | 1,8090 | 1,7730 |
| <i>Tnfrsf21</i> | 1,8896 | 1,6583 | 1,7740 |
| <i>Klk10</i> | 1,2575 | 2,2962 | 1,7769 |
| <i>Adgrg3</i> | 2,3112 | 1,2468 | 1,7790 |
| <i>Gm13056</i> | 0,9848 | 2,5965 | 1,7906 |
| <i>Gm14230</i> | 1,7546 | 1,8705 | 1,8125 |
| <i>Zfp9</i> | 1,9275 | 1,7244 | 1,8259 |
| <i>Tekt5</i> | 1,2806 | 2,3760 | 1,8283 |
| <i>Prss27</i> | 1,1800 | 2,4835 | 1,8318 |
| <i>Chd7</i> | 1,6452 | 2,0287 | 1,8369 |
| <i>Fuom</i> | 1,8205 | 1,8689 | 1,8447 |
| <i>Ikzf2</i> | 1,9701 | 1,7240 | 1,8470 |
| <i>Sh2b2</i> | 2,3591 | 1,3474 | 1,8532 |
| <i>Serpinh1</i> | 1,7112 | 2,0378 | 1,8745 |
| <i>Serpine1</i> | 2,5602 | 1,2314 | 1,8958 |
| <i>Mb21d2</i> | 1,7145 | 2,0788 | 1,8967 |
| <i>Rai14</i> | 1,9003 | 1,9414 | 1,9209 |
| <i>Col8a1</i> | 1,0485 | 2,8150 | 1,9317 |
| <i>Spo11</i> | 1,0766 | 2,7914 | 1,9340 |
| <i>Abcc3</i> | 1,9717 | 1,9042 | 1,9379 |
| <i>Ttc7b</i> | 1,9023 | 2,0000 | 1,9511 |
| <i>Gja5</i> | 2,0687 | 1,8383 | 1,9535 |
| <i>Plat</i> | 1,9036 | 2,0119 | 1,9577 |
| <i>Zan</i> | 1,5002 | 2,4634 | 1,9818 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>C130074g19rik</i> | 1,5887 | 2,3963 | 1,9925 |
| <i>Bdh1</i> | 2,0194 | 2,0175 | 2,0184 |
| <i>Col7a1</i> | 2,5406 | 1,5017 | 2,0211 |
| <i>Cenpv</i> | 2,1892 | 1,8598 | 2,0245 |
| <i>Tmem151a</i> | 1,8360 | 2,2709 | 2,0534 |
| <i>Gm42835</i> | 1,6408 | 2,4908 | 2,0658 |
| <i>Crocc2</i> | 1,3674 | 2,8651 | 2,1162 |
| <i>Abcb1a</i> | 1,6197 | 2,6477 | 2,1337 |
| <i>Emp3</i> | 1,2417 | 3,0442 | 2,1429 |
| <i>Irf8</i> | 1,8727 | 2,4217 | 2,1472 |
| <i>Sdc3</i> | 2,5223 | 1,8194 | 2,1709 |
| <i>Zbtb32</i> | 2,2451 | 2,1101 | 2,1776 |
| <i>Rin2</i> | 1,8656 | 2,5005 | 2,1831 |
| <i>Hvcn1</i> | 2,1699 | 2,2548 | 2,2123 |
| <i>Adam12</i> | 2,0800 | 2,3605 | 2,2203 |
| <i>Foxl2os</i> | 1,7063 | 2,7370 | 2,2216 |
| <i>Man1c1</i> | 2,2924 | 2,1553 | 2,2238 |
| <i>Gm37855</i> | 2,3512 | 2,0969 | 2,2240 |
| <i>Rps6ka2</i> | 2,0044 | 2,4475 | 2,2259 |
| <i>R74862</i> | 2,1290 | 2,3410 | 2,2350 |
| <i>Dlx3</i> | 2,0962 | 2,3831 | 2,2396 |
| <i>Gpr132</i> | 2,1623 | 2,3785 | 2,2704 |
| <i>Slc2a4</i> | 2,1375 | 2,4429 | 2,2902 |
| <i>Gm1045</i> | 1,9584 | 2,7325 | 2,3454 |
| <i>Rab19</i> | 2,1506 | 2,5670 | 2,3588 |
| <i>Srgap3</i> | 2,9411 | 1,8016 | 2,3714 |
| <i>Gm14317</i> | 2,3597 | 2,4824 | 2,4210 |
| <i>Rp23-143j24.4</i> | 2,2224 | 2,6294 | 2,4259 |
| <i>Rapgef5</i> | 2,7070 | 2,1579 | 2,4324 |
| <i>Nbl1</i> | 2,6714 | 2,1982 | 2,4348 |
| <i>Lama3</i> | 2,1130 | 2,7954 | 2,4542 |
| <i>Ereg</i> | 2,3591 | 2,6234 | 2,4913 |
| <i>Nol4l</i> | 2,5594 | 2,4516 | 2,5055 |
| <i>Trap1a</i> | 2,8863 | 2,1444 | 2,5154 |
| <i>Sox11</i> | 2,4235 | 2,6077 | 2,5156 |
| <i>H2-m3</i> | 2,3747 | 2,6731 | 2,5239 |
| <i>Fst</i> | 2,6972 | 2,3540 | 2,5256 |
| <i>Jph1</i> | 2,7279 | 2,3521 | 2,5400 |
| <i>Col16a1</i> | 2,5531 | 2,5850 | 2,5690 |
| <i>Platr21</i> | 2,6630 | 2,4824 | 2,5727 |
| <i>Slc2a3</i> | 2,3692 | 2,8301 | 2,5997 |
| <i>Gm8909</i> | 2,9621 | 2,2801 | 2,6211 |
| <i>Tmem37</i> | 2,1995 | 3,0854 | 2,6425 |
| <i>Synpo2l</i> | 2,2249 | 3,0809 | 2,6529 |
| <i>Eva1c</i> | 2,4775 | 2,8707 | 2,6741 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|----------------------|---|---|---|
| <i>Ii24</i> | 2,1244 | 3,2614 | 2,6929 |
| <i>Nlrc3</i> | 3,0544 | 2,3410 | 2,6977 |
| <i>Heg1</i> | 2,3720 | 3,0488 | 2,7104 |
| <i>Acap1</i> | 2,7932 | 2,6467 | 2,7200 |
| <i>Gm15894</i> | 2,2210 | 3,2224 | 2,7217 |
| <i>B3gnt7</i> | 2,9175 | 2,6699 | 2,7937 |
| <i>Asb2</i> | 3,3458 | 2,2563 | 2,8011 |
| <i>Gm6650</i> | 2,5842 | 3,0919 | 2,8380 |
| <i>Tigit</i> | 2,0338 | 3,6672 | 2,8505 |
| <i>4930461g14rik</i> | 2,4627 | 3,2528 | 2,8578 |
| <i>Tuba8</i> | 2,9175 | 2,9133 | 2,9154 |
| <i>Igf2os</i> | 3,2016 | 2,6323 | 2,9170 |
| <i>Padi3</i> | 2,8707 | 3,0753 | 2,9730 |
| <i>Casp14</i> | 3,5995 | 2,3488 | 2,9741 |
| <i>Arap3</i> | 2,4911 | 3,5760 | 3,0336 |
| <i>Igf2</i> | 3,7127 | 2,3704 | 3,0415 |
| <i>Elfn1</i> | 3,3219 | 2,8382 | 3,0801 |
| <i>Ccdc114</i> | 2,8164 | 3,3530 | 3,0847 |
| <i>Tmem130</i> | 2,5850 | 3,5850 | 3,0850 |
| <i>Camk2n1</i> | 3,1793 | 3,0232 | 3,1013 |
| <i>Card14</i> | 2,5961 | 3,6323 | 3,1142 |
| <i>Sp8</i> | 2,6316 | 3,6283 | 3,1300 |
| <i>Spon2</i> | 3,1926 | 3,1075 | 3,1501 |
| <i>Slc15a3</i> | 3,2606 | 3,0478 | 3,1542 |
| <i>Fam198b</i> | 2,7802 | 3,7695 | 3,2748 |
| <i>Tgm2</i> | 3,5236 | 3,0704 | 3,2970 |
| <i>Itgb7</i> | 4,6378 | 1,9696 | 3,3037 |
| <i>Cntfr</i> | 1,7625 | 4,8509 | 3,3067 |
| <i>Als2cr12</i> | 3,0940 | 3,6215 | 3,3577 |
| <i>Lypd5</i> | 2,7033 | 4,0324 | 3,3678 |
| <i>Ly6f</i> | 3,2612 | 3,4854 | 3,3733 |
| <i>Glipr2</i> | 3,8270 | 3,1119 | 3,4695 |
| <i>Speer3</i> | 3,1783 | 3,8625 | 3,5204 |
| <i>Trim54</i> | 3,2410 | 3,8365 | 3,5388 |
| <i>Serpinb9b</i> | 3,2424 | 4,1699 | 3,7061 |
| <i>Adgra2</i> | 3,7965 | 3,6304 | 3,7134 |
| <i>Dmkn</i> | 4,5971 | 2,8443 | 3,7207 |
| <i>Dhrs9</i> | 3,3219 | 4,1699 | 3,7459 |
| <i>Nid1</i> | 3,3528 | 4,1430 | 3,7479 |
| <i>Cpt1c</i> | 3,6439 | 3,9117 | 3,7778 |
| <i>Cbr3</i> | 3,7689 | 3,8598 | 3,8144 |
| <i>Inhba</i> | 4,1226 | 3,5110 | 3,8168 |
| <i>Ociad2</i> | 3,6577 | 4,1155 | 3,8866 |
| <i>Lrrc61</i> | 4,3621 | 3,4330 | 3,8975 |
| <i>Col4a4</i> | 4,1814 | 3,7970 | 3,9892 |

| Genname | log₂ fold change – R1 vs. Scr 300 | log₂ fold change – R1 vs. Scr 600 | mittlerer log₂ fold change – R1 vs. Scr |
|-----------------|---|---|---|
| <i>Sfpd</i> | 3,7324 | 4,2479 | 3,9902 |
| <i>Parvg</i> | 3,4330 | 4,7726 | 4,1028 |
| <i>Mcpt8</i> | 3,6304 | 4,6356 | 4,1330 |
| <i>Myo7b</i> | 4,4263 | 4,2297 | 4,3280 |
| <i>Lrrc32</i> | 5,5546 | 3,2801 | 4,4173 |
| <i>Col4a2</i> | 5,1525 | 4,1369 | 4,6447 |
| <i>Col4a1</i> | 5,3219 | 4,0565 | 4,6892 |
| <i>Cbr1</i> | 4,5502 | 4,8428 | 4,6965 |
| <i>Gstk1</i> | 5,2094 | 4,3458 | 4,7776 |
| <i>Parvb</i> | 4,6242 | 4,9682 | 4,7962 |
| <i>Parm1</i> | 4,8908 | 4,9157 | 4,9032 |
| <i>Col4a3</i> | 5,0398 | 4,8047 | 4,9223 |
| <i>Acp5</i> | 5,3557 | 4,8260 | 5,0908 |
| <i>Gent3</i> | 5,5131 | 5,0875 | 5,3003 |
| <i>Sparc</i> | 5,8540 | 5,0887 | 5,4714 |
| <i>Siglecg</i> | 4,7138 | 6,4757 | 5,5948 |
| <i>Gnao1</i> | 5,8413 | 5,8606 | 5,8509 |
| <i>Ical</i> | 5,6630 | 6,6390 | 6,1510 |
| <i>Bc025446</i> | 6,0813 | 6,5512 | 6,3163 |
| <i>Syt17</i> | 6,1974 | 7,5353 | 6,8663 |
| <i>Tmem30b</i> | 6,8421 | 7,4142 | 7,1281 |
| <i>Pmp22</i> | 7,5644 | 7,6553 | 7,6099 |
| <i>Unc5b</i> | 7,3540 | 8,8877 | 8,1209 |

8.11.2 Weitere angereicherte Gensets

Tabelle 32: Top 20 angereicherte Gensets aus der Klasse *Hallmarks*

| Nummer | Name | Enrichment Score (ES) | FDR |
|--------|--|-----------------------|-------|
| 1 | HALLMARK_EPITHELIAL_MESENCHYMAL_TRANSITION | 0,44 | 1 |
| 2 | HALLMARK_TGF_BETA_SIGNALING | 0,36 | 1 |
| 3 | HALLMARK_IL2_STAT5_SIGNALING | 0,5 | 1 |
| 4 | HALLMARK_MYOGENESIS | 0,28 | 1 |
| 5 | HALLMARK_APICAL_JUNCTION | 0,28 | 1 |
| 6 | HALLMARK_UV_RESPONSE_DN | 0,26 | 1 |
| 7 | HALLMARK_COAGULATION | 0,25 | 1 |
| 8 | HALLMARK_MITOTIC_SPINDLE | 0,20 | 1 |
| 9 | HALLMARK_FATTY_ACID_METABOLISM | 0,21 | 1 |
| 10 | HALLMARK_KRAS_SIGNALING_UP | 0,22 | 1 |
| 11 | HALLMARK_XENOBIOTIC_METABOLISM | 0,21 | 1 |
| 12 | HALLMARK_COMPLEMENT | 0,21 | 1 |
| 13 | HALLMARK_HYPOXIA | 0,20 | 1 |
| 14 | HALLMARK_INFLAMMATORY_RESPONSE | 0,20 | 1 |
| 15 | HALLMARK_TNFA_SIGNALING_VIA_NFKB | 0,16 | 1 |
| 16 | HALLMARK_ESTROGEN_RESPONSE_EARLY | 0,13 | 1 |
| 17 | HALLMARK_MTORC1_SIGNALING | 0,16 | 1 |
| 18 | HALLMARK_GLYCOLYSIS | 0,18 | 1 |
| 19 | HALLMARK_ALLOGRAFT_REJECTION | 0,09 | 1 |
| 20 | HALLMARK_HEME_METABOLISM | 0,07 | 0,998 |

Tabelle 33: Top 20 angereicherte Gensets aus der Klasse *Reactome*

| Nummer | Name | Enrichment Score (ES) | FDR |
|--------|---|-----------------------|-----|
| 1 | REACTOME_LAMININ_INTERACTIONS | 0,64 | 1 |
| 2 | REACTOME_SIGNALING_BY_PDGF | 0,52 | 1 |
| 3 | REACTOME_NON_INTEGRIN_MEMBRANE_ECM_INTERACTIONS | 0,53 | 1 |
| 4 | REACTOME_DEGRADATION_OF_THE_EXTRACELLULAR_MATRIX | 0,62 | 1 |
| 5 | REACTOME_CELL_CELL_COMMUNICATION | 0,46 | 1 |
| 6 | REACTOME_ASSEMBLY_OF_COLLAGEN_FIBRILS_AND_OTHER_MULTIMERIC_STRUCTURES | 0,61 | 1 |
| 7 | REACTOME_ECM_PROTEOGLYCANS | 0,53 | 1 |
| 8 | REACTOME_COLLAGEN_FORMATION | 0,54 | 1 |
| 9 | REACTOME_EXTRACELLULAR_MATRIX_ORGANIZATION | 0,39 | 1 |
| 10 | REACTOME_INTEGRIN_CELL_SURFACE_INTERACTIONS | 0,41 | 1 |
| 11 | REACTOME_COLLAGEN_DEGRADATION | 0,61 | 1 |
| 12 | REACTOME_CELL_JUNCTION_ORGANIZATION | 0,46 | 1 |
| 13 | REACTOME_COLLAGEN_BIOSYNTHESIS_AND_MODIFYING_ENZYMES | 0,59 | 1 |
| 14 | REACTOME_NUCLEAR_EVENTS_KINASE_AND_TRANSCRIPTION_FACTOR_ACTIVATION | 0,52 | 1 |
| 15 | REACTOME_CELL_CELL_JUNCTION_ORGANIZATION | 0,38 | 1 |
| 16 | REACTOME_COSTIMULATION_BY_THE_CD28_FAMILY | 0,42 | 1 |
| 17 | REACTOME_NEGATIVE_REGULATION_OF_MAPK_PATHWAY | 0,43 | 1 |
| 18 | REACTOME_SIGNALING_BY_VEGF | 0,38 | 1 |
| 19 | REACTOME_FCGAMMA_RECEPTOR_FCGR_DEPENDENT_PHAGOCYTOSIS | 0,34 | 1 |
| 20 | REACTOME_ACTIVATION_OF_NMDA_RECEPTORS_AND_POSTSYNAPTIC_EVENTS | 0,28 | 1 |

8.11.3 qPCR weiterer RANBP3L-Knockout Klone

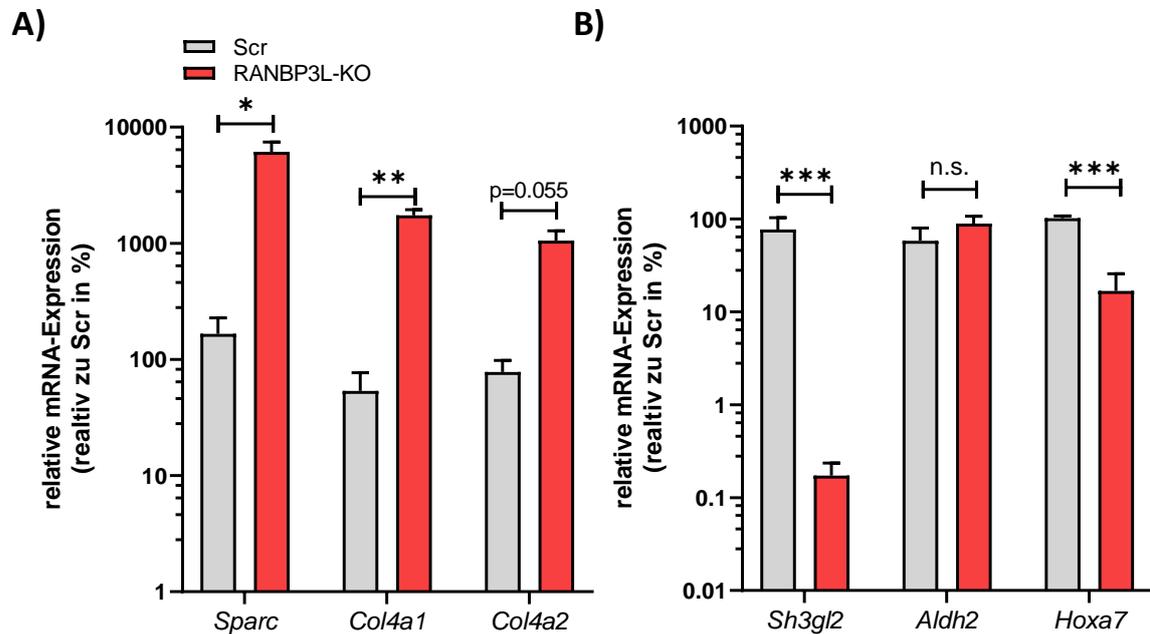


Abbildung 62: qPCR Analyse weiterer RANBP3L-KO-Klone für ausgewählte Zielgene.

Zusätzlich zu den in dieser Arbeit näher beschriebenen R1 und R3 Klonen wurden weitere RANBP3L defiziente Klone generiert, die nach der bioinformatischen Analyse von Klon R1 ebenfalls auf ausgewählte Zielgene untersucht wurden. Es wurde von 4 weiteren Klonen RNA isoliert und cDNA umschrieben, welche nachfolgend für die qPCR-Analyse verwendet wurde. **A)** Als hochregulierte Transkripte wurden *Sparc*, *Col4a1* und *Col4a2* analysiert. **B)** Für die herunterregulierten Gene dienen *Sh3gl2*, *Aldh2* und *Hoxa7* als Zielgene. Als *housekeeping gene* wurde *Gapdh* benutzt (Primer siehe 3.11.4) (Mittelwerte \pm SEM (Fehlerbalken), n = 15 (je Klon 3 Replikate inklusive R1), n.s., p > 0,05, *, p < 0,05, **, p < 0,01, ***, p < 0,001. Student's-T-Test [85]).

8.11.4 Prognostische Gene des Nierenzellkarzinoms laut Protein-Atlas

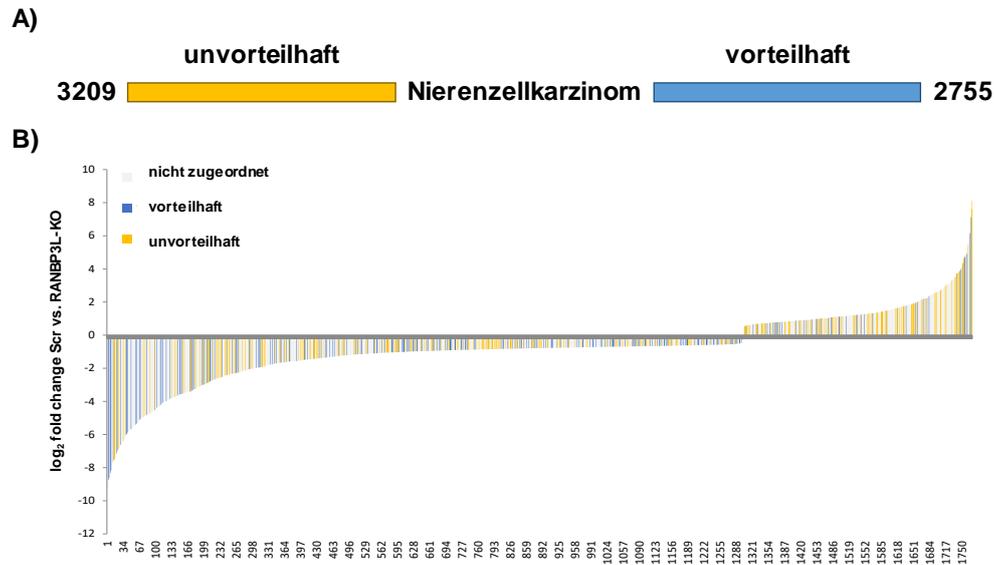


Abbildung 63: Regulation prognostische Gene im Nierenzellkarzinom nach RANBP3L-Defizienz.

A) Alle im Protein-Atlas hinterlegten prognostischen Gene [106]. **B)** Einordnung der 1771 deregulierten Gene nach RANBP3L-Defizienz als prognostisch vorteilhaft oder unvorteilhaft. Vorteilhafte Gene (blau) zeigen stärkste Herunterregulation, während unvorteilhafte (gelb) Gene stärkste Hochregulation aufweisen [85].

Tabelle 34: Liste aller prognostisch unvorteilhaften und vorteilhaften Gene im Nierenzellkarzinom aus dem Humanen Protein Atlas

| prognostisch unvorteilhaft im RCC | | | | | prognostisch vorteilhaft im RCC | | | |
|-----------------------------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <i>ANLN</i> | <i>ALDOC</i> | <i>CLDND1</i> | <i>COL8A2</i> | <i>CD4</i> | <i>GNG7</i> | <i>C9orf78</i> | <i>MRPS18C</i> | <i>PGAP3</i> |
| <i>CEP55</i> | <i>NUDT1</i> | <i>RBM26</i> | <i>FAM89B</i> | <i>MGST1</i> | <i>KIF13B</i> | <i>HDHD3</i> | <i>ITPRID2</i> | <i>PPDPF</i> |
| <i>TPX2</i> | <i>B3GNT5</i> | <i>RARRES1</i> | <i>PCSK5</i> | <i>PSMG4</i> | <i>CRB3</i> | <i>UBAC1</i> | <i>VPS9D1</i> | <i>IRGQ</i> |
| <i>CCNB2</i> | <i>YJEFN3</i> | <i>CAPN12</i> | <i>APLN</i> | <i>DRAM2</i> | <i>PAFAH2</i> | <i>FDX1</i> | <i>PEX19</i> | <i>TMEM200A</i> |
| <i>PRR11</i> | <i>COL4A1</i> | <i>ANKRD13B</i> | <i>PLEKHH3</i> | <i>HCN3</i> | <i>ACAT1</i> | <i>PRMT9</i> | <i>ABHD14B</i> | <i>CEP68</i> |
| <i>CCNA2</i> | <i>BAZIA</i> | <i>RPL11</i> | <i>TSPAN8</i> | <i>DMXL2</i> | <i>CRAT</i> | <i>MRPS25</i> | <i>RORC</i> | <i>ZNF845</i> |
| <i>CDK1</i> | <i>CRLF3</i> | <i>CBR3</i> | <i>TRIM47</i> | <i>MEF2D</i> | <i>SLC25A4</i> | <i>ZMIZ1</i> | <i>GMPR</i> | <i>TACSTD2</i> |
| <i>CDCA5</i> | <i>RBMS1</i> | <i>IGLV5-45</i> | <i>U2AF1L4</i> | <i>SEMA5B</i> | <i>CDS1</i> | <i>PDZRN3</i> | <i>MARCHF9</i> | <i>PLPP6</i> |
| <i>FOXM1</i> | <i>CRTC2</i> | <i>SNX20</i> | <i>MUC13</i> | <i>KIF3C</i> | <i>ACO2</i> | <i>CIRBP</i> | <i>CDKN2AIP</i> | <i>FUT1</i> |
| <i>PLK1</i> | <i>HNRNPAB</i> | <i>MAPK11</i> | <i>TTYH2</i> | <i>GUCY1A1</i> | <i>ACSS3</i> | <i>ABHD11</i> | <i>STOML2</i> | <i>ZNF704</i> |
| <i>TRIP13</i> | <i>TAF12</i> | <i>TMEM150B</i> | <i>ZNF385A</i> | <i>TMEM67</i> | <i>AUH</i> | <i>WLS</i> | <i>PLCH1</i> | <i>RSPH14</i> |
| <i>TOP2A</i> | <i>EED</i> | <i>SSB</i> | <i>ATF4</i> | <i>HSF2</i> | <i>C1orf210</i> | <i>SLC3A1</i> | <i>GLYATL1</i> | <i>CTCF</i> |
| <i>KIF11</i> | <i>PDLIM2</i> | <i>H4C8</i> | <i>PRDM1</i> | <i>PRKCSH</i> | <i>HADH</i> | <i>IGF1R</i> | <i>JMY</i> | <i>GFER</i> |
| <i>COLGALT1</i> | <i>IGLV2-11</i> | <i>C20orf27</i> | <i>ERGIC3</i> | <i>CCDC91</i> | <i>IMPA2</i> | <i>PDSS2</i> | <i>MPP6</i> | <i>CFAP410</i> |
| <i>SPC24</i> | <i>CXCR4</i> | <i>FCHSD1</i> | <i>CD86</i> | <i>RTN4RL1</i> | <i>IRF6</i> | <i>TMEM82</i> | <i>THAP10</i> | <i>REPS2</i> |
| <i>MELK</i> | <i>REC8</i> | <i>CBLN3</i> | <i>BOLA3</i> | <i>TMA16</i> | <i>METTL7A</i> | <i>LIMCH1</i> | <i>TMEM139</i> | <i>SMIM6</i> |
| <i>KIF20A</i> | <i>IGHV4-59</i> | <i>SACS</i> | <i>LARP6</i> | <i>STARD3</i> | <i>PCCA</i> | <i>PLCL1</i> | <i>GSPT1</i> | <i>TMEM178B</i> |
| <i>RIPK2</i> | <i>UPF3B</i> | <i>NAT9</i> | <i>TLDC2</i> | <i>TRNP1</i> | <i>TMEM25</i> | <i>KIAA1549</i> | <i>GTPBP8</i> | <i>DAO</i> |
| <i>FKBP10</i> | <i>KIN</i> | <i>SLC7A7</i> | <i>PDCD7</i> | <i>LLRA5</i> | <i>ZNF844</i> | <i>SUGCT</i> | <i>RENBP</i> | <i>UPRT</i> |
| <i>TNNT1</i> | <i>DIPK1A</i> | <i>RNASEH2A</i> | <i>CCR1</i> | <i>KIF26A</i> | <i>TOLLIP</i> | <i>ZNF468</i> | <i>CAMSAP1</i> | <i>B9D1</i> |
| <i>CDCA8</i> | <i>RAN</i> | <i>PHLDB1</i> | <i>PLS3</i> | <i>TRAM1</i> | <i>PINK1</i> | <i>ALPK3</i> | <i>SDSL</i> | <i>PET117</i> |

| prognostisch unvorteilhaft im RCC | | | | | prognostisch vorteilhaft im RCC | | | |
|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|---------------------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| <i>MKI67</i> | <i>GXYLT2</i> | <i>IGHV4-31</i> | <i>ZDHHHC20</i> | <i>BRD8</i> | <i>SYNJ2BP</i> | <i>ZSCAN18</i> | <i>HACD3</i> | <i>PPP2R5E</i> |
| <i>CDC20</i> | <i>DNAH11</i> | <i>C3orf70</i> | <i>ZNF121</i> | <i>FAM207A</i> | <i>DHRS12</i> | <i>POMGNT2</i> | <i>ARHGEF18</i> | <i>ARPIN</i> |
| <i>CENPF</i> | <i>IGHV3-15</i> | <i>FOSL1</i> | <i>IGHV3-73</i> | <i>NECAB3</i> | <i>BAG1</i> | <i>PLEKHH1</i> | <i>GDE1</i> | <i>TSPAN14</i> |
| <i>SNRPA1</i> | <i>PANX1</i> | <i>LSM10</i> | <i>MEF2C</i> | <i>KPTN</i> | <i>LRBA</i> | <i>APIAR</i> | <i>HID1</i> | <i>PLG</i> |
| <i>RRM2</i> | <i>IGLV2-23</i> | <i>TTLL3</i> | <i>EHD3</i> | <i>RASSF2</i> | <i>WDR72</i> | <i>EPM2A</i> | <i>NME6</i> | <i>UBL3</i> |
| <i>PRC1</i> | <i>EDNRA</i> | <i>LAMP5</i> | <i>CEP350</i> | <i>PGBD2</i> | <i>RBM47</i> | <i>TTC39B</i> | <i>SOSTDC1</i> | <i>C9orf64</i> |
| <i>KIFC1</i> | <i>ASAP1</i> | <i>ELF4</i> | <i>RBM4B</i> | <i>ADH1B</i> | <i>AP3S2</i> | <i>DHDDS</i> | <i>P4HTM</i> | <i>RHOB</i> |
| <i>BIRC5</i> | <i>C1RL</i> | <i>HSH2D</i> | <i>CDKN2B</i> | <i>NRAS</i> | <i>ASTN2</i> | <i>CLSTN1</i> | <i>ADAMTS16</i> | <i>FNDC3A</i> |
| <i>PAEP</i> | <i>ANGPT2</i> | <i>DYRK4</i> | <i>TNFSF9</i> | <i>LIMS1</i> | <i>CLYBL</i> | <i>LIAS</i> | <i>MANSC1</i> | <i>ASH2L</i> |
| <i>CKAP4</i> | <i>TMEM87B</i> | <i>SRSF11</i> | <i>JUNB</i> | <i>TAX1BP3</i> | <i>ANK3</i> | <i>XPC</i> | <i>HDAC5</i> | <i>KLF7</i> |
| <i>KIF2C</i> | <i>ABCB6</i> | <i>F13A1</i> | <i>UBE2Z</i> | <i>VIRMA</i> | <i>PTPN3</i> | <i>HSDL1</i> | <i>NDUFB5</i> | <i>AASDHPTT</i> |
| <i>UBE2C</i> | <i>TOP1MT</i> | <i>BIRC3</i> | <i>LMOD1</i> | <i>RNF113A</i> | <i>ATP5F1A</i> | <i>FOXI2</i> | <i>TRMT10C</i> | <i>AMD1</i> |
| <i>MYBL2</i> | <i>ATG12</i> | <i>NRARP</i> | <i>VPS45</i> | <i>RC3H1</i> | <i>NNT</i> | <i>C17orf113</i> | <i>MRPL1</i> | <i>SSTR1</i> |
| <i>DONSON</i> | <i>SAP30</i> | <i>SEPTIN5</i> | <i>TYROBP</i> | <i>CROCC</i> | <i>SOWAHB</i> | <i>ASRGL1</i> | <i>RAB9A</i> | <i>C6</i> |
| <i>RAPGEFL1</i> | <i>DUSP12</i> | <i>PNRC1</i> | <i>RBM33</i> | <i>ZNF587</i> | <i>SPRYD3</i> | <i>NR1D2</i> | <i>ST7</i> | <i>CTSL</i> |
| <i>CDKN3</i> | <i>IRF3</i> | <i>TRMT13</i> | <i>RPS12</i> | <i>HTATIP2</i> | <i>TMEM8B</i> | <i>SPTLC3</i> | <i>CLDN3</i> | <i>C15orf40</i> |
| <i>PSRC1</i> | <i>CENPT</i> | <i>IL1R1</i> | <i>IF144L</i> | <i>KCTD20</i> | <i>SETD3</i> | <i>MAT2B</i> | <i>FBXW4</i> | <i>KLF3</i> |
| <i>P3H1</i> | <i>NMI</i> | <i>RPS3</i> | <i>PFN1</i> | <i>UBA2</i> | <i>PLEKHA7</i> | <i>ZNF669</i> | <i>NDUFB9</i> | <i>BCL7B</i> |
| <i>PTTG1</i> | <i>MRTFA</i> | <i>HEPH</i> | <i>GZMK</i> | <i>RAP2A</i> | <i>ALDH6A1</i> | <i>MICU1</i> | <i>LRP2</i> | <i>NEO1</i> |
| <i>CAPZA1</i> | <i>UBE2F</i> | <i>MDM4</i> | <i>SMOX</i> | <i>PRAM1</i> | <i>GPD1L</i> | <i>FNBP1L</i> | <i>RARB</i> | <i>ANGPT1</i> |
| <i>INTS8</i> | <i>NME4</i> | <i>STAC3</i> | <i>CSF1R</i> | <i>RAP1B</i> | <i>DGLUCY</i> | <i>ZMYND11</i> | <i>HMGCS2</i> | <i>CIAPIN1</i> |
| <i>IQGAP3</i> | <i>PREX2</i> | <i>CD8B</i> | <i>NCK1</i> | <i>SPNS3</i> | <i>DAB2IP</i> | <i>SUOX</i> | <i>COX7A2</i> | <i>ANKEF1</i> |
| <i>C1QTNF6</i> | <i>LPAR2</i> | <i>ARHGEF2</i> | <i>PKP3</i> | <i>HECA</i> | <i>MRPL49</i> | <i>SUMF1</i> | <i>ANKS6</i> | <i>ADGRL1</i> |
| <i>CENPW</i> | <i>RAB34</i> | <i>ENY2</i> | <i>ARHGDIB</i> | <i>ZMYM4</i> | <i>GRAMD1C</i> | <i>FAM53B</i> | <i>ATP5F1D</i> | <i>RNF167</i> |
| <i>AURKB</i> | <i>ASPEN</i> | <i>MIER2</i> | <i>IGLV7-46</i> | <i>S100A9</i> | <i>TCTA</i> | <i>NDUFS7</i> | <i>DUS2</i> | <i>SEC16A</i> |
| <i>IL20RB</i> | <i>IGHV3-30</i> | <i>CHD1</i> | <i>ARGLU1</i> | <i>SIPA1L2</i> | <i>CRY2</i> | <i>GPR160</i> | <i>THAP9</i> | <i>DCTN5</i> |
| <i>MSTO1</i> | <i>TNFRSF25</i> | <i>PTPN12</i> | <i>UBE2J1</i> | <i>SH3BP5</i> | <i>NEDD4L</i> | <i>KCNK5</i> | <i>SF3B2</i> | <i>ZNF823</i> |
| <i>SLC7A5</i> | <i>MT1G</i> | <i>HLX</i> | <i>TLR2</i> | <i>KCTD13</i> | <i>CDKL2</i> | <i>SYNGR1</i> | <i>ABTB2</i> | <i>UBE2D3</i> |
| <i>PDCD5</i> | <i>TGM2</i> | <i>PRIM2</i> | <i>POLR2G</i> | <i>AFAP1</i> | <i>ZNF433</i> | <i>MAP7</i> | <i>DENND4C</i> | <i>TSC22D1</i> |
| <i>TACC3</i> | <i>SIRT7</i> | <i>AKT1S1</i> | <i>CLIC3</i> | <i>PCDHGC3</i> | <i>AP5M1</i> | <i>PPFIBP1</i> | <i>HDHD2</i> | <i>IST1</i> |
| <i>CARS1</i> | <i>STX10</i> | <i>ZEB1</i> | <i>GIMAP4</i> | <i>NDE1</i> | <i>AKTIP</i> | <i>TSPYL4</i> | <i>FAM13B</i> | <i>RAB36</i> |
| <i>FKBP11</i> | <i>CCDC74A</i> | <i>MCUB</i> | <i>TJAP1</i> | <i>NCAM1</i> | <i>OGDHL</i> | <i>BPHL</i> | <i>LZIC</i> | <i>ARHGEF35</i> |
| <i>EIF4EBP1</i> | <i>CCDC167</i> | <i>APOL1</i> | <i>ZNF511</i> | <i>SEMA4A</i> | <i>PDPK1</i> | <i>TM9SF2</i> | <i>CACNB2</i> | <i>FBXO33</i> |
| <i>PDGFRL</i> | <i>DDR2</i> | <i>AP2M1</i> | <i>ABTB1</i> | <i>TMPRSS3</i> | <i>PAQR5</i> | <i>ZNF618</i> | <i>SOWAHC</i> | <i>TBL1X</i> |
| <i>RBIS</i> | <i>SF3B4</i> | <i>SFN</i> | <i>FMO3</i> | <i>HDAC7</i> | <i>ZCCHC14</i> | <i>ACOX1</i> | <i>SNX19</i> | <i>PLPP3</i> |
| <i>SRPX2</i> | <i>C19orf38</i> | <i>LSM8</i> | <i>PTCD1</i> | <i>AP4M1</i> | <i>PPARGC1A</i> | <i>SIM1</i> | <i>RHOU</i> | <i>TMEM106C</i> |
| <i>STEAP3</i> | <i>JPT1</i> | <i>ZNF746</i> | <i>TBXAS1</i> | <i>OSBPL7</i> | <i>TJP2</i> | <i>ATPAF1</i> | <i>RBL2</i> | <i>HSPA1L</i> |
| <i>MTHFD2</i> | <i>ABL2</i> | <i>IGHA2</i> | <i>RPL37A</i> | <i>PPAT</i> | <i>ENAM</i> | <i>FAM71E1</i> | <i>PEX12</i> | <i>PTAR1</i> |
| <i>CCNB1</i> | <i>CDON</i> | <i>SLC15A4</i> | <i>NAPB</i> | <i>CSNK1D</i> | <i>DLAT</i> | <i>DUSP15</i> | <i>SLC25A39</i> | <i>TUBB2A</i> |
| <i>CALR</i> | <i>IGHV3-23</i> | <i>CSPG4</i> | <i>WIPF1</i> | <i>SENP1</i> | <i>OGDH</i> | <i>ZC3H7B</i> | <i>ALG12</i> | <i>EXOC6</i> |
| <i>STX16</i> | <i>ME1</i> | <i>PROCR</i> | <i>PDCD1LG2</i> | <i>ST6GALNAC4</i> | <i>TMEM192</i> | <i>CYP17A1</i> | <i>RCHY1</i> | <i>FRAS1</i> |
| <i>PPP1R18</i> | <i>NUDT17</i> | <i>RPL10</i> | <i>PHETA1</i> | <i>CDKN1B</i> | <i>ERBB2</i> | <i>MFSD3</i> | <i>WDFY3</i> | <i>LGMN</i> |
| <i>IFI16</i> | <i>IGHA1</i> | <i>RLF</i> | <i>CDH24</i> | <i>CD34</i> | <i>BEX4</i> | <i>SACM1L</i> | <i>EPB41L4A</i> | <i>SLC27A1</i> |
| <i>ASF1B</i> | <i>POSTN</i> | <i>NXPH4</i> | <i>SYT7</i> | <i>MFSD13A</i> | <i>MPP7</i> | <i>TSPAN7</i> | <i>SBF2</i> | <i>FBXW5</i> |
| <i>NOP56</i> | <i>UCN</i> | <i>NXPE3</i> | <i>THRSP</i> | <i>LMAN2</i> | <i>FAHD1</i> | <i>ADGRG1</i> | <i>HADHA</i> | <i>CBR1</i> |
| <i>RFC4</i> | <i>IGLV2-18</i> | <i>PRRC2C</i> | <i>TXNDC5</i> | <i>TFPI2</i> | <i>SLC30A9</i> | <i>TMEM213</i> | <i>SLC22A11</i> | <i>CTSC</i> |

| prognostisch unvorteilhaft im RCC | | | | | prognostisch vorteilhaft im RCC | | | |
|-----------------------------------|----------|----------|----------|-----------|---------------------------------|---------|----------|---------|
| UBE2T | TLNRD1 | LTBP1 | C5AR1 | TRBV19 | LDHD | NLN | BCAT2 | PRAG1 |
| SHC1 | DNMT3B | UCP2 | CACNA2D1 | FAM204A | RAI2 | TRIM35 | CTTNBP2 | OXAIL |
| SEC61A2 | PFKFB3 | FBXO6 | GSTA2 | RAB32 | CBR4 | HERC3 | TOM1 | KAT6B |
| SLC38A5 | INAFM2 | CARM1 | VEGFC | FBLIM1 | NMNAT1 | EIF5 | ITM2B | GGT1 |
| CERCAM | LAMP3 | POLD3 | LICAM | MGAT1 | BSPRY | VAPA | RALGAPA2 | AQR |
| LMNB1 | TOX | S1PR3 | RABL2A | PTGS1 | AFG3L2 | CUX1 | CREB3 | SS18 |
| GTPBP2 | SUV39H1 | SLC4A7 | MARCKSL1 | SLC35C2 | MUL1 | SLC2A11 | GATD1 | CLN6 |
| CDC7 | EFNA5 | TMEM237 | LY6D | RPS14 | CTDSPL | KITLG | G6PC | PLCG2 |
| SLC17A9 | RNF2 | BRSK1 | ATP2B4 | PSENE1 | VWA8 | PPP2CB | ATOH8 | TTC8 |
| SERPINH1 | BTG1 | PLEC | GZMM | ATG5 | TRIM2 | PTGES2 | CCDC96 | GLRB |
| LTB4R | TMC8 | UBE2D1 | RPL18 | TRIAP1 | DENND1C | F2RL1 | CRTC1 | DCAF4 |
| RUNX1 | KRBOX4 | RPL31 | CNRIP1 | ATIC | SUCLA2 | ZNF79 | IRF2BP1 | HAO2 |
| PABPC1L | PTMA | TAF1C | DTYMK | TNFRSF12A | OVOL1 | SLC41A3 | DISP1 | PMVK |
| RAD51AP1 | KCNE4 | TPST1 | SRC | SBSPON | PACSIN2 | ALAS1 | TIMM13 | PIK3C3 |
| SKP2 | MT1F | CCT5 | AKR1C3 | FCGR2B | KAT5 | COX5A | WDR25 | PCGF5 |
| CENPH | RPS6KB2 | GNPAT | STARD13 | RBM6 | FBXO34 | UGT2A3 | GAB1 | LYPLA2 |
| C1S | TBC1D7 | MAP3K7CL | NKIRAS2 | TPPP3 | MYORG | YLPM1 | GGA2 | TGFBR3 |
| NUMBL | P2RY1 | CNOT11 | KCNC3 | CDK9 | TSPYL1 | RAB3A | KLF4 | ZNF839 |
| ATAD2 | HILPDA | ANGEL2 | SLC52A2 | PJVK | SHROOM3 | ARFGEF2 | ZNF135 | FRMD4B |
| PRCC | IGHV1-24 | KPNB1 | TMEM97 | DTX4 | CAB39L | BTBD1 | BICDL1 | WDR11 |
| PCLAF | RFC2 | ITGB3BP | TSPAN15 | MAN2A2 | PEBP1 | MPPE1 | ENTPD5 | SLC39A5 |
| KCNN4 | TAGLN | RPIA | CACYBP | PFDN6 | MFSD4A | PCCB | SLK | MCU |
| CTHRC1 | IL1RAP | MAP7D1 | ALG3 | DDX59 | EMX2 | C3orf33 | DHRS7B | CPNE3 |
| RNASET2 | POLR1H | SFRP2 | TMCO1 | S100PBP | COL4A4 | HIP1R | MIEF1 | NCOA2 |
| FAM83D | DNAJC10 | DENR | GRK2 | RGS5 | FAAH2 | COX6A1 | MRPS18B | ZBTB6 |
| C1R | F2R | IGKV5-2 | LRWD1 | TAF9 | MARVELD2 | OTUD1 | PDE4D | SMARCA1 |
| CDCA2 | CHST15 | NUDCD1 | ASPSR1 | ISYNA1 | KDF1 | ENDOD1 | EPG5 | ANGPTL1 |
| ADAM12 | CA9 | RAB37 | RAB4B | DDX42 | BEX2 | THEM6 | PCNX1 | AGMAT |
| GFPT2 | BOP1 | CRKL | FBXO4 | HGFAC | RAB17 | RAPGEF3 | ZNF570 | SKP1 |
| JAK3 | CHAC1 | CTSW | FRMD6 | KHDRBS1 | DCAF11 | LONP2 | DMAC2 | TNS3 |
| ADA | ZNF783 | DUSP7 | SPAG4 | GRIK5 | GOT1 | DNAAF2 | MTRES1 | BAMBI |
| BCL3 | ST3GAL5 | KCTD3 | ABLIM3 | DCHS1 | BTBD9 | FBP1 | ATP5MG | CCDC68 |
| B4GALNT1 | CGAS | PMM2 | CAV1 | TMPO | ENPP5 | DHCR7 | FAM151A | SRP14 |
| CNTNAP1 | IL2RG | ENGASE | GIMAP2 | TRBJ2-1 | BDH2 | ZNF627 | SLC35A5 | CHMP3 |
| NUSAP1 | EMP3 | FRZB | TNK2 | TMEM256 | ZC2HC1C | ENPP4 | TMEM101 | ZNF189 |
| PLCXD1 | C12orf57 | ADRM1 | CEMIP2 | CD55 | OSBPL1A | SLC5A1 | DENND1A | TBC1D15 |
| COL6A2 | BICD1 | GMFG | RHOJ | FILIP1L | COBLL1 | ATP1B1 | TRPV4 | VSTM2A |
| MSC | TMED2 | POLR3D | CLEC7A | PSMC31P | RAB31P | GSTO2 | RASSF10 | ZBTB45 |
| KPNA2 | KCNK3 | RUSC1 | ELL2 | EIF1 | FUCA1 | SYNGR3 | ADAP1 | LYRM9 |
| PSMD13 | GRK5 | GLRX3 | TMEM100 | PRDX6 | CDC42BPG | CTNNA1 | MAVS | DCTN6 |
| TRIB3 | FANCG | TRAFD1 | BET1 | SLX4IP | PPP1R26 | VAV2 | TC2N | COX6B1 |
| SCNM1 | PSTPIP2 | LZTS1 | HOOK3 | TARS1 | PRR15L | MTM1 | USP11 | RHOT2 |
| TF | PGM3 | ISM1 | KRT20 | ILF3 | LNX2 | UNC45A | LAMP1 | EIF3K |
| RCN1 | SEPTIN1 | ZBTB2 | PSMB9 | BUD31 | ZNF132 | NTSDC1 | ANKRD33B | PALM |
| FANCI | PABPN1 | HIC1 | FSTL1 | TRBJ2-7 | APBB1 | CAMSAP3 | NDFIP2 | RABGGTA |
| GALNT2 | MTF2 | NAB2 | MKS1 | SREK11P1 | ATP6VID | PIGV | OSBPL2 | FAM174A |

| prognostisch unvorteilhaft im RCC | | | | | prognostisch vorteilhaft im RCC | | | | |
|-----------------------------------|-----------------|---------------------|----------------|-----------------|---------------------------------|------------------|------------------|---------------|--|
| <i>CDC25B</i> | <i>P2RY6</i> | <i>GOLGA8B</i> | <i>MMP14</i> | <i>IRAG1</i> | <i>MTURN</i> | <i>NDUFB2</i> | <i>ANTKMT</i> | <i>RC3H2</i> | |
| <i>CRABP2</i> | <i>NOTCH3</i> | <i>IGHV2-70</i> | <i>STRADB</i> | <i>RAI14</i> | <i>NKIRAS1</i> | <i>RPUSD2</i> | <i>BRD3OS</i> | <i>DOLK</i> | |
| <i>RNASE2</i> | <i>AXL</i> | <i>EOMES</i> | <i>PDE7A</i> | <i>COMT</i> | <i>RGP1</i> | <i>ARFGAP2</i> | <i>RTCB</i> | <i>PTGR1</i> | |
| <i>BID</i> | <i>RAB24</i> | <i>RNF166</i> | <i>TTC21B</i> | <i>COX4I2</i> | <i>MMUT</i> | <i>H1-0</i> | <i>FAAH</i> | <i>CDKL5</i> | |
| <i>SLC43A3</i> | <i>TMEM74B</i> | <i>USP21</i> | <i>CCAR1</i> | <i>ARHGAP30</i> | <i>COX16</i> | <i>ZFP3</i> | <i>TMEM9B</i> | <i>FER</i> | |
| <i>HAPLN3</i> | <i>OTULIN</i> | <i>CPNE7</i> | <i>HK2</i> | <i>PTGS2</i> | <i>SLC25A23</i> | <i>DEGS2</i> | <i>GET3</i> | <i>REPIN1</i> | |
| <i>CCSAP</i> | <i>PRIMA1</i> | <i>C1QB</i> | <i>ITGAX</i> | <i>PPOX</i> | <i>DYNLL2</i> | <i>RBM18</i> | <i>XPA</i> | <i>POLR2L</i> | |
| <i>STAT2</i> | <i>TONSL</i> | <i>QSOX2</i> | <i>RBM15</i> | <i>HSP90AB1</i> | <i>DLST</i> | <i>SLC25A3</i> | <i>USP4</i> | <i>LACTB2</i> | |
| <i>UCK2</i> | <i>SNAI1</i> | <i>PRELID2</i> | <i>ACTR5</i> | <i>SMARCD2</i> | <i>MYO6</i> | <i>COX18</i> | <i>ERG28</i> | <i>CCAR2</i> | |
| <i>SPAG5</i> | <i>LPCAT1</i> | <i>EIF3B</i> | <i>BCAT1</i> | <i>ANKRD49</i> | <i>APOOL</i> | <i>FUT3</i> | <i>C3orf14</i> | <i>NMRK1</i> | |
| <i>CLEC2B</i> | <i>MEIS2</i> | <i>SEMA4F</i> | <i>RASGRP2</i> | <i>NDRG2</i> | <i>ATP6V0E2</i> | <i>SCAP</i> | <i>KIT</i> | | |
| <i>CENPO</i> | <i>C2</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>CCN1</i> | <i>KIF3B</i> | <i>LRFN3</i> | <i>SUPT6H</i> | <i>CENPC</i> | | |
| <i>RHNO1</i> | <i>SLC7A2</i> | <i>CNPY3</i> | <i>JCHAIN</i> | <i>CPT2</i> | <i>HHAT</i> | <i>FXVD6</i> | <i>SWT1</i> | | |
| <i>LTV1</i> | <i>RNF24</i> | <i>ILKAP</i> | <i>SMCHD1</i> | <i>NDUFS1</i> | <i>CX3CL1</i> | <i>RNF19B</i> | <i>ARHGEF10</i> | | |
| <i>TNFSF14</i> | <i>PQBP1</i> | <i>CD247</i> | <i>PNISR</i> | <i>MPP5</i> | <i>TUSC2</i> | <i>FUBP3</i> | <i>MCOLN1</i> | | |
| <i>NAP1L1</i> | <i>CD248</i> | <i>IGKV1OR2-108</i> | <i>PILRB</i> | <i>SPTAN1</i> | <i>DGCR2</i> | <i>MERTK</i> | <i>EPHA4</i> | | |
| <i>YBX3</i> | <i>TNFRSF1A</i> | <i>GPATCH2</i> | <i>CIP2A</i> | <i>HSD17B8</i> | <i>GLYR1</i> | <i>WFDC2</i> | <i>TTC19</i> | | |
| <i>TMEM44</i> | <i>ZNF703</i> | <i>ZNF579</i> | <i>ERII</i> | <i>PNPLA4</i> | <i>SNX2</i> | <i>C1orf226</i> | <i>OGFOD3</i> | | |
| <i>SMN1</i> | <i>VNN2</i> | <i>TMEM39A</i> | <i>WRAP73</i> | <i>HTT</i> | <i>AKR7A3</i> | <i>CYFIP1</i> | <i>LRSAM1</i> | | |
| <i>MAST2</i> | <i>XAF1</i> | <i>SRSF10</i> | <i>GSDMD</i> | <i>LARGE2</i> | <i>NICN1</i> | <i>PPTC7</i> | <i>TSTD2</i> | | |
| <i>HP</i> | <i>STXBP5</i> | <i>MZT1</i> | <i>FYN</i> | <i>TOX3</i> | <i>FZD1</i> | <i>WWOX</i> | <i>PWWP2B</i> | | |
| <i>DERL3</i> | <i>P4HA2</i> | <i>MXII</i> | <i>TLCD3A</i> | <i>CYFIP2</i> | <i>CTSF</i> | <i>ZNF502</i> | <i>FTCD</i> | | |
| <i>SRPX</i> | <i>IGHV1-69</i> | <i>NOL8</i> | <i>TXNDC15</i> | <i>VTI1B</i> | <i>TNFRSF19</i> | <i>WDR6</i> | <i>MGAT4B</i> | | |
| <i>APOBEC3G</i> | <i>GPRIN1</i> | <i>C11orf86</i> | <i>EHBPL1</i> | <i>CISH</i> | <i>HSDL2</i> | <i>ADHFE1</i> | <i>EVA1A</i> | | |
| <i>OLFML2B</i> | <i>SNF8</i> | <i>CLEC11A</i> | <i>TBXA2R</i> | <i>ATP6V1A</i> | <i>TRIM50</i> | <i>SLC35A4</i> | <i>CFAP53</i> | | |
| <i>PBK</i> | <i>LGI4</i> | <i>EPSTI1</i> | <i>PIP4K2A</i> | <i>NCR3LG1</i> | <i>GGT6</i> | <i>ZNF649</i> | <i>PDCD10</i> | | |
| <i>IL15RA</i> | <i>CEBPD</i> | <i>SMIM13</i> | <i>BUD23</i> | <i>MBP</i> | <i>KCNJ16</i> | <i>NAXD</i> | <i>ABCB8</i> | | |
| <i>TXNDC12</i> | <i>PMEPA1</i> | <i>NFATC2IP</i> | <i>PIGL</i> | <i>SLC16A12</i> | <i>VCP</i> | <i>ARHGAP12</i> | <i>VAT1</i> | | |
| <i>IMPDH1</i> | <i>PRELID1</i> | <i>CADM3</i> | <i>VAV1</i> | <i>PTGR2</i> | <i>FRK</i> | <i>KAT14</i> | <i>MSLN</i> | | |
| <i>PLOD1</i> | <i>MBNL1</i> | <i>OSM</i> | <i>RPL18A</i> | <i>SCOC</i> | <i>SCO1</i> | <i>POMT1</i> | <i>GMDS</i> | | |
| <i>COL5A1</i> | <i>SKA2</i> | <i>KCNK6</i> | <i>FLOT1</i> | <i>ZFYVE1</i> | <i>PDP2</i> | <i>ACBD5</i> | <i>RSF1</i> | | |
| <i>THBS3</i> | <i>TRBC2</i> | <i>RPP21</i> | <i>RAB31L1</i> | <i>COBL</i> | <i>ZYG11B</i> | <i>ZNF136</i> | <i>ZNF510</i> | | |
| <i>XPOT</i> | <i>LOXL2</i> | <i>CPOX</i> | <i>MLPH</i> | <i>GPHN</i> | <i>NECTIN3</i> | <i>TDRD7</i> | <i>DNAJB1</i> | | |
| <i>CEBPB</i> | <i>DIPK2A</i> | <i>HDAC1</i> | <i>BTBD16</i> | <i>MTFR1L</i> | <i>SULT1C4</i> | <i>PURA</i> | <i>MDP1</i> | | |
| <i>TUBA1B</i> | <i>RPS25</i> | <i>UBA7</i> | <i>GNLY</i> | <i>ACADSB</i> | <i>SRSF8</i> | <i>ATG2A</i> | <i>HNF1B</i> | | |
| <i>FNTA</i> | <i>SKIV2L</i> | <i>NOCT</i> | <i>DSE</i> | <i>SOX6</i> | <i>RWDD4</i> | <i>MAPK11P1L</i> | <i>CNKSR3</i> | | |
| <i>MOCOS</i> | <i>RPS2</i> | <i>RBM38</i> | <i>ZBTB12</i> | <i>SH3GL2</i> | <i>KTN1</i> | <i>RNF185</i> | <i>FAM120AOS</i> | | |
| <i>LBP</i> | <i>RTN4RL2</i> | <i>IGKV1-16</i> | <i>PIDD1</i> | <i>PRKN</i> | <i>DCAF10</i> | <i>ABCD3</i> | <i>MKRN2</i> | | |
| <i>ZWINT</i> | <i>EIF3E</i> | <i>FLVCR1</i> | <i>FBXW7</i> | <i>PAIP2B</i> | <i>NUDT16L1</i> | <i>LPCAT3</i> | <i>KDM6B</i> | | |
| <i>ADAM19</i> | <i>PHTF2</i> | <i>CSNK2B</i> | <i>KCNS3</i> | <i>PHYH</i> | <i>ZNF772</i> | <i>CTSD</i> | <i>EIF3L</i> | | |
| <i>HIKESHI</i> | <i>IER3</i> | <i>WWC3</i> | <i>SLC6A8</i> | <i>VPS13D</i> | <i>ZADH2</i> | <i>CDKN1A</i> | <i>PDF</i> | | |
| <i>MLLT11</i> | <i>IGKV3-15</i> | <i>TRIM3</i> | <i>TCF3</i> | <i>MIPEP</i> | <i>AGFG2</i> | <i>PRKAA2</i> | <i>GAS2</i> | | |
| <i>SAA1</i> | <i>MRPL17</i> | <i>PRF1</i> | <i>CZIB</i> | <i>LMO7</i> | <i>LANCL2</i> | <i>CMTR2</i> | <i>NOX4</i> | | |
| <i>HM13</i> | <i>TAF1D</i> | <i>STAMBPL1</i> | <i>SUPT7L</i> | <i>MTMR10</i> | <i>EPCAM</i> | <i>NDUFC2</i> | <i>ABI3BP</i> | | |
| <i>MYDGF</i> | <i>ADGRA2</i> | <i>FBXO41</i> | <i>DAGLB</i> | <i>COQ7</i> | <i>NDUFA6</i> | <i>SNX4</i> | <i>HMGB3</i> | | |

| prognostisch unvorteilhaft im RCC | | | | prognostisch vorteilhaft im RCC | | | |
|-----------------------------------|------------|----------|-----------|---------------------------------|-----------|----------|-----------|
| KCTD17 | SCNN1G | CAMLG | RFLNB | DBT | PHF7 | MYCBP2 | CIB2 |
| RPL22L1 | ITGA11 | C3 | RPS13 | FITM2 | SLC39A9 | PIGR | ZNF462 |
| SH2D2A | MSANTD3 | NEMP1 | LRRC45 | OPA3 | GKAP1 | PLGRKT | MCC |
| UNC13D | LINGO1 | HSPA14 | UNC5B | IQGAP2 | COQ6 | ASAP3 | MRTFB |
| IL1R2 | SEPTIN4 | ZNF22 | TMEM132E | TBC1D4 | HINT3 | LARP1B | DNAJC4 |
| PABPC1 | EPHA3 | TRBV20-1 | CCDC74B | ABHD6 | SLC44A4 | MED29 | F2RL3 |
| NUP62 | LENG8 | CD3E | SERPING1 | ESRRG | ATP6V0C | DMXL1 | NAPRT |
| RCN3 | GLRX2 | REFX7 | FEM1C | HOMER | DYNC1H1 | ACTN4 | GPRC5B |
| USF1 | IGHV5-51 | COA6 | H1-2 | MAPK8IP1 | METTL27 | LRRC8A | INO80 |
| TTLA4 | LTB | SYTL1 | CHIC2 | GBA2 | HEATR5A | ZNF287 | YJU2 |
| NFKB2 | ATF5 | DNAJC2 | NFATC2 | PPA2 | SCAMP2 | PAK4 | ATP8B1 |
| F2 | SLC6A3 | LEMD2 | MX1 | SLC2A9 | STN1 | FAM168B | SCGB2A1 |
| NUDT5 | FAM189B | RABGGTB | DERL1 | LARS2 | RCAN2 | C15orf61 | BPNT1 |
| COL1A1 | IGKV1-17 | ADTRP | NECAB2 | CRPPA | RAP1GAP | SLC43A2 | EMC8 |
| PYCR1 | EXOSC5 | CD68 | MARS1 | MYO5B | EPHA1 | CPQ | TNK1 |
| NFE2L3 | IGKV6D-21 | LPIN3 | GFUS | MPV17L | CDIP1 | WWP1 | STUM |
| HMGB2 | LHFPL2 | TXNDC17 | ADGRL4 | GNA11 | STX3 | UQCR10 | CSDC2 |
| RPLP0 | CEBPZOS | FAM111A | CXCL1 | C4orf19 | SLC25A35 | HPN | BCAS2 |
| GORAB | PDCD1 | CD209 | SP100 | HYAL1 | DMRTA1 | TADA3 | CALM1 |
| GRAMD1A | SH3BP1 | TRNAU1AP | PILRA | ACADL | SMARCB1 | ANO4 | ETNK2 |
| EZH2 | ARFGAP1 | NCKAP5L | MED15 | LIN7A | RAB11FIP1 | DUSP3 | SLIT2 |
| MCM6 | IL2RB | PGS1 | IGKV1D-16 | ARHGAP24 | TXN2 | MVP | UBE2D4 |
| POFUT2 | RPS11 | POLG2 | UACA | SPRING1 | TOB2 | CTDP1 | RIPK4 |
| APOBEC3H | TMEM91 | SP110 | EMILIN2 | DMAC1 | KAZN | AP5S1 | ARIH2 |
| DIMT1 | AKAP17A | ANAPC4 | TRIM11 | CWH43 | MRPS28 | MFSD1 | RGL3 |
| DDX55 | CSGALNACT2 | C1QC | OFD1 | ITGA6 | HECTD1 | USP20 | IL17RB |
| CSF1 | TNFAIP8L2 | TRPC4AP | ATP13A3 | SESTD1 | DNAL4 | TTC28 | COA3 |
| SLC2A6 | NPAS2 | HACE1 | RPS9 | USP2 | TSR2 | ATP9A | TMEM141 |
| YARS1 | FOXC2 | MSX1 | STK10 | NR3C2 | CHL1 | ACO1 | FAM155B |
| VAMP1 | GAS2L3 | ECT2 | GTPBP3 | PPP1R13B | NARS2 | DACT2 | FAIM |
| IL6 | YBX1 | C10orf99 | P3H3 | GNB5 | PARS2 | IP6K1 | MARCHF8 |
| ATP6V1C2 | HMCN1 | TXNRD1 | HCK | FYCO1 | RABEP2 | C6orf89 | KDM3B |
| PIM2 | SLC5A6 | EWSR1 | RAB27A | TEF | FARS2 | SLC10A2 | CHCHD6 |
| CALU | CCL5 | STAT1 | CPSF4 | MED22 | KLHL26 | SPAG7 | FAM161B |
| MITD1 | HSPA12A | CREM | ERN1 | FNIP2 | SMARCA2 | OXR1 | TM6SF1 |
| MOV10 | SLC16A3 | PDCD2L | CCL4 | TMCO4 | SMG6 | TMEM30B | TNFRSF11B |
| TCIRG1 | CCDC142 | APOL3 | MEIS1 | UNC13B | ESRP2 | MTHFD1 | TXNDC16 |
| PAD3 | PROSER3 | IL4R | SEC23A | SIAE | SPX | TTC12 | ATMIN |
| TTC13 | APOBEC3D | DARS1 | PCGF1 | LRPAP1 | GLYAT | SEMA6D | CMC1 |
| HNRNPL | IGLV3-25 | PHF12 | CD47 | MPC1 | ATP6V0A4 | PIP | DPEP1 |
| PIIB | SLC39A14 | PPP1R14A | XXYL1 | ST14 | SCAMP5 | ATPAF2 | ARHGEF37 |
| ZNF117 | BUB3 | CCNT2 | ATG16L1 | ZER1 | FMO5 | APTX | SCEL |
| ARPC3 | CUTC | IGKV3-7 | DLG4 | NUDT7 | SLC48A1 | TAPBPL | MEF2A |
| P4HB | SLC50A1 | VAMP5 | NT5C3A | MEGF9 | ZBTB7A | AOX1 | TLE4 |
| RCC1 | STAB1 | ZNF608 | SERTAD2 | HIBADH | VPS50 | NSDHL | ZNF41 |
| SEMA7A | MPHOSPH10 | ATP1B3 | PTPRS | PRDX2 | DPP4 | DTWD2 | FMO4 |

| prognostisch unvorteilhaft im RCC | | | | prognostisch vorteilhaft im RCC | | | |
|-----------------------------------|-----------------|------------------|-----------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| <i>TNFSF13B</i> | <i>GRIPAP1</i> | <i>GBP4</i> | <i>RGS16</i> | <i>DCTN3</i> | <i>ZFYVE28</i> | <i>BTC</i> | <i>LRRC4</i> |
| <i>GNL2</i> | <i>METTL23</i> | <i>ZNF354B</i> | <i>LCAT</i> | <i>WWP2</i> | <i>VPS37B</i> | <i>HS6ST3</i> | <i>NR4A1</i> |
| <i>TIMP1</i> | <i>ACTG2</i> | <i>ETS1</i> | <i>SDC3</i> | <i>RALGPS1</i> | <i>HERC1</i> | <i>MARS2</i> | <i>PDCL</i> |
| <i>MZT2A</i> | <i>MPZL1</i> | <i>ANXA6</i> | <i>SMG9</i> | <i>OCLN</i> | <i>RAP1GAP2</i> | <i>MGAM</i> | <i>NFIA</i> |
| <i>MAD2L1</i> | <i>FAAP24</i> | <i>H4C9</i> | <i>SOD2</i> | <i>TADA2B</i> | <i>SPTLC1</i> | <i>CYB561D2</i> | <i>STX18</i> |
| <i>WDR75</i> | <i>TGFB3</i> | <i>SLC7A1</i> | <i>PMP22</i> | <i>CCDC106</i> | <i>DHX30</i> | <i>FBXL5</i> | <i>ARSG</i> |
| <i>CASP4</i> | <i>ACBD6</i> | <i>ANGPTL4</i> | <i>DDX27</i> | <i>NUDT9</i> | <i>CGNL1</i> | <i>ZNF697</i> | <i>MPND</i> |
| <i>PLBD2</i> | <i>USP39</i> | <i>TRBV7-9</i> | <i>CSK</i> | <i>MMP24</i> | <i>PRUNE2</i> | <i>CREBBP</i> | <i>PGP</i> |
| <i>DOK3</i> | <i>PPP1R3B</i> | <i>DCAF15</i> | <i>SF3B6</i> | <i>SLC49A4</i> | <i>FBXW2</i> | <i>SPG11</i> | <i>CRYBG3</i> |
| <i>RHBDF2</i> | <i>RASGEF1A</i> | <i>HAX1</i> | <i>EIF2D</i> | <i>CLDN7</i> | <i>RAB25</i> | <i>C1QL3</i> | <i>ZC3H14</i> |
| <i>PSMA1</i> | <i>PARP12</i> | <i>PARP1</i> | <i>PLK3</i> | <i>COQ9</i> | <i>FN3K</i> | <i>FBXO44</i> | <i>SLC12A2</i> |
| <i>GABRE</i> | <i>IGKV1-8</i> | <i>SFRP4</i> | <i>C2CD2L</i> | <i>PLCD1</i> | <i>FAN1</i> | <i>LTF</i> | <i>MACO1</i> |
| <i>RELT</i> | <i>PIP5K1A</i> | <i>NDUFA4L2</i> | <i>IGKV2D-40</i> | <i>GNE</i> | <i>GLUD1</i> | <i>LRP10</i> | <i>POLR2B</i> |
| <i>VTN</i> | <i>ARHGEF25</i> | <i>SLC38A6</i> | <i>AP1M1</i> | <i>MEPCE</i> | <i>LMBR1</i> | <i>AOPEP</i> | <i>KIAA0586</i> |
| <i>NVL</i> | <i>BAAT</i> | <i>ZBED6CL</i> | <i>TNFRSF10 B</i> | <i>HIBCH</i> | <i>ARAF</i> | <i>FRAT1</i> | <i>TLN1</i> |
| <i>FHL3</i> | <i>GRAMD1B</i> | <i>CCDC3</i> | <i>MMRN1</i> | <i>GATB</i> | <i>CLASP2</i> | <i>PARD6B</i> | <i>DNAJC16</i> |
| <i>TNFRSF18</i> | <i>HGS</i> | <i>TCP11L1</i> | <i>RPS17</i> | <i>MRPL50</i> | <i>PTCHD4</i> | <i>CYB5B</i> | <i>FRMD3</i> |
| <i>NACA</i> | <i>ANKRD16</i> | <i>IGLV1-51</i> | <i>RND3</i> | <i>ARHGEF16</i> | <i>EFL1</i> | <i>ADNP2</i> | <i>RALGAPB</i> |
| <i>LAG3</i> | <i>TMEM79</i> | <i>NR1H3</i> | <i>PARP14</i> | <i>BAHD1</i> | <i>PCIF1</i> | <i>B4GALT6</i> | <i>RNF146</i> |
| <i>TCERG1</i> | <i>TBC1D10C</i> | <i>FMOD</i> | <i>GAL3ST1</i> | <i>ACAA2</i> | <i>SAMD12</i> | <i>FAM168A</i> | <i>TBL3</i> |
| <i>HDAC10</i> | <i>ADAMTSL4</i> | <i>ALKBH2</i> | <i>AP1G2</i> | <i>CPLANE2</i> | <i>PELI2</i> | <i>ETFB</i> | <i>HNRNPH2</i> |
| <i>PLOD2</i> | <i>ZC3H3</i> | <i>INTS7</i> | <i>CD6</i> | <i>CD59</i> | <i>OPLAH</i> | <i>CD9</i> | <i>ATP11A</i> |
| <i>NIFK</i> | <i>PDE10A</i> | <i>ATP23</i> | <i>CCDC34</i> | <i>FAM210B</i> | <i>EMX1</i> | <i>BTBD6</i> | <i>ZSCAN2</i> |
| <i>PTP4A2</i> | <i>LMBR1L</i> | <i>RPL13A</i> | <i>BICRA</i> | <i>PANK1</i> | <i>ZFYVE26</i> | <i>AGAP1</i> | <i>AGXT2</i> |
| <i>GSDMB</i> | <i>PHF11</i> | <i>MRPL9</i> | <i>ZNF266</i> | <i>CNPPD1</i> | <i>BCL7A</i> | <i>BRMS1L</i> | <i>ARNT2</i> |
| <i>BASP1</i> | <i>PSMD3</i> | <i>IL10RA</i> | <i>CAD</i> | <i>STRBP</i> | <i>ZDHHC1</i> | <i>G3BP2</i> | <i>RANBP10</i> |
| <i>LIMD2</i> | <i>RNF122</i> | <i>MAGOH</i> | <i>IGLV8-61</i> | <i>DLG3</i> | <i>VAC14</i> | <i>TMEM127</i> | <i>PNPLA6</i> |
| <i>GINS1</i> | <i>FOXJ3</i> | <i>DCN</i> | <i>CLIP4</i> | <i>AGL</i> | <i>WBP1L</i> | <i>LIMD1</i> | <i>MOCOS3</i> |
| <i>COL6A3</i> | <i>ADPGK</i> | <i>HOXC8</i> | <i>CYBA</i> | <i>CIPC</i> | <i>SLMAP</i> | <i>ZMYND10</i> | <i>TFDP1</i> |
| <i>AQP9</i> | <i>CBX3</i> | <i>MYEOV</i> | <i>SLC16A2</i> | <i>PEX7</i> | <i>VPS18</i> | <i>GTPBP10</i> | <i>ZNF91</i> |
| <i>PEDS1</i> | <i>PA2G4</i> | <i>AP2S1</i> | <i>LSM5</i> | <i>DHRS7</i> | <i>TBC1D9</i> | <i>R3HCC1</i> | <i>MAGEF1</i> |
| <i>CLEC2D</i> | <i>LGALS12</i> | <i>IGLV10-54</i> | <i>MARCHF7</i> | <i>RETSAT</i> | <i>RNF20</i> | <i>UBIAD1</i> | <i>MLST8</i> |
| <i>ZNF706</i> | <i>SRGAP2</i> | <i>ZFC3H1</i> | <i>TRABD</i> | <i>EPHX2</i> | <i>BTBD7</i> | <i>RNF180</i> | <i>APPL2</i> |
| <i>C8orf76</i> | <i>CHST1</i> | <i>SCARB1</i> | <i>RBMS3</i> | <i>SDHD</i> | <i>GAK</i> | <i>PCNX4</i> | <i>C2orf194</i> |
| <i>TMEM45A</i> | <i>TTC9C</i> | <i>PAXBP1</i> | <i>CHORDC1</i> | <i>CYB5D2</i> | <i>ZKSCAN2</i> | <i>EXOC4</i> | <i>SH3YL1</i> |
| <i>LY96</i> | <i>ODF2L</i> | <i>MKNK1</i> | <i>ZC3H8</i> | <i>WDR61</i> | <i>FGF9</i> | <i>COQ3</i> | <i>TLE5</i> |
| <i>PLEKHO1</i> | <i>CNN2</i> | <i>LTO1</i> | <i>CSE1L</i> | <i>PRSS8</i> | <i>ARL3</i> | <i>DIXDC1</i> | <i>C2orf88</i> |
| <i>TK1</i> | <i>ZNF239</i> | <i>NRGN</i> | <i>SH3PXD2B</i> | <i>JUP</i> | <i>SLC45A4</i> | <i>STK24</i> | <i>TOMM40L</i> |
| <i>CYBC1</i> | <i>UBE2Q1</i> | <i>LGALS9</i> | <i>ABCC10</i> | <i>DDX28</i> | <i>CHMP2B</i> | <i>KCTD14</i> | <i>TEK</i> |
| <i>IGFBP1</i> | <i>RPS27</i> | <i>LRP1</i> | <i>UVSSA</i> | <i>ABCC4</i> | <i>SMIM19</i> | <i>GIGYF2</i> | <i>FBXL15</i> |
| <i>MELTF</i> | <i>LRR1</i> | <i>IGHV3-11</i> | <i>OGN</i> | <i>GHITM</i> | <i>USF3</i> | <i>EIF4E3</i> | <i>SINHCAF</i> |
| <i>PLPPR2</i> | <i>LGALS8</i> | <i>DPH7</i> | <i>RNF207</i> | <i>MOB3B</i> | <i>NCOA7</i> | <i>FCHO2</i> | <i>IMPACT</i> |
| <i>POU2F2</i> | <i>MRC2</i> | <i>SLC26A6</i> | <i>ARHGAP25</i> | <i>UQCRC1</i> | <i>TRIP11</i> | <i>HERC6</i> | <i>TSC1</i> |
| <i>CHST11</i> | <i>PDLIM3</i> | <i>CFB</i> | <i>MOB3A</i> | <i>FECH</i> | <i>HAGH</i> | <i>FGD4</i> | <i>NUMA1</i> |
| <i>CD7</i> | <i>DEDD</i> | <i>MTMR4</i> | <i>PERM1</i> | <i>TACC2</i> | <i>TLN2</i> | <i>EDNRB</i> | <i>TMEM38B</i> |
| <i>ENO2</i> | <i>ZNF600</i> | <i>PLEKHF1</i> | <i>PLEK</i> | <i>FBXO7</i> | <i>PRR15</i> | <i>ANKRD29</i> | <i>RAB11FIP3</i> |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <i>PDIA5</i> | <i>DLCLRE1B</i> | <i>CFAP298</i> | <i>ENPP3</i> |
| <i>PADI1</i> | <i>CCM2</i> | <i>DSN1</i> | <i>CCDC130</i> |
| <i>IGHG3</i> | <i>IGFBP3</i> | <i>PHKA2</i> | <i>ORC2</i> |
| <i>RPL36A</i> | <i>RPS6KB1</i> | <i>AFAP1L2</i> | <i>KCNN3</i> |
| <i>SHFL</i> | <i>IFT20</i> | <i>INO80B</i> | <i>S100A13</i> |
| <i>CERS5</i> | <i>CDK2AP1</i> | <i>ARNTL2</i> | <i>CDCA7L</i> |
| <i>GEMIN7</i> | <i>SLC38A10</i> | <i>PHF10</i> | <i>PRR7</i> |
| <i>KRTCAP2</i> | <i>IKBKE</i> | <i>GEM</i> | <i>SAP30BP</i> |
| <i>HSP90B1</i> | <i>CBX8</i> | <i>CHKB</i> | <i>IQSEC2</i> |
| <i>SLC19A1</i> | <i>SPINK1</i> | <i>ASPH</i> | <i>UBE2J2</i> |
| <i>RPS24</i> | <i>LILRB2</i> | <i>ROCK2</i> | <i>LAMA4</i> |
| <i>IFNGR2</i> | <i>ZFAND2A</i> | <i>USP15</i> | <i>MYRF</i> |
| <i>RPS18</i> | <i>CYP2J2</i> | <i>NLRP1</i> | <i>USB1</i> |
| <i>CXCL13</i> | <i>SLC9A9</i> | <i>MSN</i> | <i>IGHV1-2</i> |
| <i>LGALS1</i> | <i>IGLN5</i> | <i>CSTF3</i> | <i>SRSF3</i> |
| <i>H2AC20</i> | <i>SYDE1</i> | <i>PPM1M</i> | <i>CHTOP</i> |
| <i>ARPC5</i> | <i>FNDC3B</i> | <i>PUSL1</i> | <i>PRPF38B</i> |
| <i>IL4I1</i> | <i>IGHV1-3</i> | <i>EIF5A</i> | <i>GEMIN5</i> |
| <i>TPM4</i> | <i>SLC35B1</i> | <i>IGLV1-36</i> | <i>EVI2B</i> |
| <i>FAM104A</i> | <i>IGLV2-14</i> | <i>BAK1</i> | <i>HPS5</i> |
| <i>C17orf58</i> | <i>CORO1A</i> | <i>DGKA</i> | <i>TCF7L1</i> |
| <i>ZDHHHC18</i> | <i>CDKN2A</i> | <i>KCNT2</i> | <i>IRAK1</i> |
| <i>RPN2</i> | <i>IFITM3</i> | <i>HECTD2</i> | <i>PAFAH1B3</i> |
| <i>CDK2</i> | <i>SMCO4</i> | <i>PCOLCE</i> | <i>SF3A2</i> |
| <i>PFDN4</i> | <i>GTF2E2</i> | <i>IGHV4-4</i> | <i>PLK2</i> |
| <i>NARF</i> | <i>ALPK1</i> | <i>GARS1</i> | <i>TRAF2</i> |
| <i>DDX39A</i> | <i>R3HDM1</i> | <i>PPP3R1</i> | <i>SYTL4</i> |
| <i>COL5A2</i> | <i>IGHV1-18</i> | <i>PHIP</i> | <i>MRPL58</i> |
| <i>CLIP3</i> | <i>CD99</i> | <i>GPR132</i> | <i>CSTB</i> |
| <i>HCST</i> | <i>VASP</i> | <i>P2RY14</i> | <i>CERKL</i> |
| <i>ACAP1</i> | <i>PLXND1</i> | <i>FAM229A</i> | <i>IGHV3-20</i> |
| <i>POLR2H</i> | <i>CENPM</i> | <i>CLIC2</i> | <i>RAC1</i> |
| <i>CDKN2C</i> | <i>PSAT1</i> | <i>H2BC4</i> | <i>CPSF6</i> |
| <i>IRF7</i> | <i>IGLV3-9</i> | <i>FAM89A</i> | <i>CSRP1</i> |
| <i>MT1X</i> | <i>CKS1B</i> | <i>SIT1</i> | <i>GSTO1</i> |
| <i>TDG</i> | <i>FAM126A</i> | <i>CENPJ</i> | <i>CYGB</i> |
| <i>GMPPA</i> | <i>CASP10</i> | <i>VEGFA</i> | <i>ARL6IP6</i> |
| <i>TAGLN2</i> | <i>STRADA</i> | <i>CKS2</i> | <i>COA4</i> |
| <i>HSD11B1</i> | <i>CHRD</i> | <i>WDR27</i> | <i>RPS23</i> |
| <i>DNAJC12</i> | <i>PYCARD</i> | <i>CACNA1H</i> | <i>ACSF2</i> |
| <i>SPACA6</i> | <i>PIR</i> | <i>AOC3</i> | <i>GDF6</i> |
| <i>SSBP4</i> | <i>ASNS</i> | <i>ALOX5</i> | <i>CUL7</i> |
| <i>PPDPFL</i> | <i>TUBA1C</i> | <i>PTP4A3</i> | <i>CCT6A</i> |
| <i>VKORC1</i> | <i>DAXX</i> | <i>AGO2</i> | <i>FLT1</i> |
| <i>GBP2</i> | <i>SEC31B</i> | <i>TRIM65</i> | <i>DOK2</i> |
| <i>SH3BGR3</i> | <i>DBF4</i> | <i>DNAAF3</i> | <i>SPRY4</i> |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|
| <i>PARD3B</i> | <i>NSMF</i> | <i>PI4KA</i> | <i>DENND11</i> |
| <i>KLHDC2</i> | <i>PNPLA8</i> | <i>APPL1</i> | <i>H2AZ2</i> |
| <i>SUCLG2</i> | <i>PRKACB</i> | <i>VTG1A</i> | <i>DYNC1I2</i> |
| <i>ARFIP1</i> | <i>ARHGEF28</i> | <i>SURF6</i> | <i>TLE1</i> |
| <i>CDC14B</i> | <i>GORASP1</i> | <i>MT-ND5</i> | <i>CTTNBP2N</i> <i>L</i> |
| <i>PLCL2</i> | <i>SHANK2</i> | <i>TRAK2</i> | <i>PIM3</i> |
| <i>TMEM38A</i> | <i>BSG</i> | <i>PJA1</i> | <i>LSR</i> |
| <i>PIGO</i> | <i>CHMP4C</i> | <i>EP300</i> | <i>AURKAIP1</i> |
| <i>RPP14</i> | <i>BCL2L2</i> | <i>DCAF1</i> | <i>CCNC</i> |
| <i>DSG2</i> | <i>PLEKHB1</i> | <i>BIK</i> | <i>NAPG</i> |
| <i>TIMM10B</i> | <i>GHDC</i> | <i>CLDN10</i> | <i>TNPO2</i> |
| <i>DDR1</i> | <i>GRPEL1</i> | <i>HUNK</i> | <i>FIG4</i> |
| <i>APEH</i> | <i>FOXRED1</i> | <i>ZNF48</i> | <i>PELI3</i> |
| <i>CLDN4</i> | <i>PICALM</i> | <i>PCDH1</i> | <i>SLC3A2</i> |
| <i>LRP5</i> | <i>ECI2</i> | <i>BSCL2</i> | <i>RAB38</i> |
| <i>KIAA0232</i> | <i>WIPI2</i> | <i>MAML3</i> | <i>DBN1</i> |
| <i>TMEM171</i> | <i>PIP4K2C</i> | <i>MICOS13</i> | <i>NUDT18</i> |
| <i>PXMP4</i> | <i>SH3BP4</i> | <i>UTRN</i> | <i>SPACA9</i> |
| <i>KCNJ15</i> | <i>MRPL46</i> | <i>SLC44A3</i> | <i>GPRIN3</i> |
| <i>SMIM24</i> | <i>GSTK1</i> | <i>C4orf36</i> | <i>KIAA2026</i> |
| <i>PSKH1</i> | <i>AKAP9</i> | <i>HBP1</i> | <i>PDPR</i> |
| <i>EPB41L1</i> | <i>GIPC2</i> | <i>PIN1</i> | <i>SLC22A5</i> |
| <i>AIFM1</i> | <i>DNAJB14</i> | <i>MBLAC1</i> | <i>DSCAML1</i> |
| <i>ZNF629</i> | <i>PMPCA</i> | <i>NCOR1</i> | <i>ATP7A</i> |
| <i>ADH5</i> | <i>TK2</i> | <i>METTL15</i> | <i>TOGARAM1</i> |
| <i>TRMO</i> | <i>OSCP1</i> | <i>ZBTB47</i> | <i>ATP6V1B2</i> |
| <i>ZNF684</i> | <i>NUDT22</i> | <i>MAP2K5</i> | <i>RGS12</i> |
| <i>RGN</i> | <i>GLOD4</i> | <i>ANKS1A</i> | <i>LYG1</i> |
| <i>RETREG1</i> | <i>EVI5L</i> | <i>EPS15L1</i> | <i>GAS2L1</i> |
| <i>TBC1D14</i> | <i>ATRN</i> | <i>TMEM159</i> | <i>ARHGAP31</i> |
| <i>BCKDHA</i> | <i>ATP6V0D2</i> | <i>ARHGAP10</i> | <i>TAB3</i> |
| <i>KLHL36</i> | <i>SLC31A1</i> | <i>MYL12B</i> | <i>BPTF</i> |
| <i>ATP8A1</i> | <i>TRAPPC6A</i> | <i>PLRG1</i> | <i>CUEDC1</i> |
| <i>TRUB2</i> | <i>EAPP</i> | <i>PC</i> | <i>RMDN1</i> |
| <i>ETFDH</i> | <i>GALNT11</i> | <i>GRB7</i> | <i>TAPT1</i> |
| <i>ERMP1</i> | <i>THSD7A</i> | <i>NACC2</i> | <i>VPS26C</i> |
| <i>CGN</i> | <i>ATXN7L3B</i> | <i>NAIF1</i> | <i>TTC5</i> |
| <i>ZNF821</i> | <i>SLC12A4</i> | <i>MED18</i> | <i>ZXDA</i> |
| <i>PHYHD1</i> | <i>NDUFAF5</i> | <i>TOX4</i> | <i>TAF1B</i> |
| <i>ACAD8</i> | <i>EPB41L5</i> | <i>TKFC</i> | <i>XYLB</i> |
| <i>UNC119B</i> | <i>ACOT2</i> | <i>ZNF229</i> | <i>RAB20</i> |
| <i>MARVELD3</i> | <i>CADM4</i> | <i>ACOT4</i> | <i>GPX4</i> |
| <i>NDUFB6</i> | <i>DHFR2</i> | <i>INTS5</i> | <i>KCTD6</i> |
| <i>NDUFV1</i> | <i>ZNF853</i> | <i>CAVIN2</i> | <i>GFOD2</i> |
| <i>GLRX5</i> | <i>ATP5MC3</i> | <i>SLC51B</i> | <i>MAPK8</i> |
| <i>HDAC11</i> | <i>NUMB</i> | <i>DNAJC27</i> | <i>TRAPPC13</i> |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| <i>NOP2</i> | <i>FCGR2A</i> | <i>CALD1</i> | <i>IGLV7-43</i> |
| <i>TMEM214</i> | <i>PEA15</i> | <i>MAML1</i> | <i>MRPL36</i> |
| <i>IL27RA</i> | <i>GLIPR2</i> | <i>SLC5A9</i> | <i>FPR1</i> |
| <i>CPNE1</i> | <i>MICAL1</i> | <i>TAF10</i> | <i>OLFM2</i> |
| <i>KHDC4</i> | <i>S1PR5</i> | <i>STK4</i> | <i>SERPINB6</i> |
| <i>RPL27A</i> | <i>PPRC1</i> | <i>POLR3C</i> | <i>ARID4B</i> |
| <i>PSMB4</i> | <i>EME2</i> | <i>ABCC9</i> | <i>SFR1</i> |
| <i>TRAF5</i> | <i>MTG1</i> | <i>LXN</i> | <i>TM4SF1</i> |
| <i>PABPC4</i> | <i>DEGS1</i> | <i>QSOX1</i> | <i>RHBDD3</i> |
| <i>FBLN1</i> | <i>MFAP4</i> | <i>CASP8AP2</i> | <i>FYB1</i> |
| <i>CYRIB</i> | <i>NPLOC4</i> | <i>TBL2</i> | <i>ITGA1</i> |
| <i>TCF19</i> | <i>SH2B2</i> | <i>IGLV4-69</i> | <i>NMB</i> |
| <i>COL3A1</i> | <i>POGLUT1</i> | <i>CKAP2</i> | <i>ZNF248</i> |
| <i>TSEN15</i> | <i>PCSK6</i> | <i>CD8A</i> | <i>PWP1</i> |
| <i>SRP19</i> | <i>B4GALT3</i> | <i>CCN4</i> | <i>LGALS4</i> |
| <i>GABBR1</i> | <i>TXLNA</i> | <i>CWC15</i> | <i>DNAJB4</i> |
| <i>AMPD2</i> | <i>ADAMTS4</i> | <i>CD300A</i> | <i>TOR1AIP2</i> |
| <i>ADAM8</i> | <i>RPS15A</i> | <i>HSPB6</i> | <i>RFC5</i> |
| <i>SPINK13</i> | <i>UPK2</i> | <i>HEG1</i> | <i>SNX3</i> |
| <i>NMU</i> | <i>RPL12</i> | <i>VEZT</i> | <i>PTRHD1</i> |
| <i>CRP</i> | <i>IFFO1</i> | <i>ABCC2</i> | <i>ZNF37A</i> |
| <i>FAM216A</i> | <i>IFNAR2</i> | <i>MAN2B1</i> | <i>RPL36</i> |
| <i>RGS10</i> | <i>JMJD6</i> | <i>LEPROTL1</i> | <i>BLZF1</i> |
| <i>S1PR2</i> | <i>RASA2</i> | <i>GAS1</i> | <i>PHC2</i> |
| <i>LYAR</i> | <i>NRP2</i> | <i>PCOLCE2</i> | <i>ORM1</i> |
| <i>ANAPC7</i> | <i>MYADM</i> | <i>HSPA6</i> | <i>CHRD1</i> |
| <i>FBXL6</i> | <i>ST8SIA4</i> | <i>APOLA</i> | <i>NRBF2</i> |
| <i>C12orf45</i> | <i>PRR3</i> | <i>NRBP2</i> | <i>IER5</i> |
| <i>CPXM1</i> | <i>MORF4L2</i> | <i>ZNF700</i> | <i>EEF2K</i> |
| <i>FABP5</i> | <i>UBC</i> | <i>SRF</i> | <i>SLC22A23</i> |
| <i>GOLT1B</i> | <i>HTRA1</i> | <i>PODN</i> | <i>NOL3</i> |
| <i>SRD5A3</i> | <i>MYL9</i> | <i>FOXJ1</i> | <i>GUCY1B1</i> |
| <i>KRI1</i> | <i>DYNLL1</i> | <i>IGHV3-53</i> | <i>PTPRC</i> |
| <i>CEP83</i> | <i>ATXN2L</i> | <i>GPR4</i> | <i>TSPAN13</i> |
| <i>SP140L</i> | <i>NES</i> | <i>SPI1</i> | <i>C1orf54</i> |
| <i>ISG15</i> | <i>SMC4</i> | <i>UBE2D2</i> | <i>TRAPPC12</i> |
| <i>TARBP1</i> | <i>TIA1</i> | <i>SYCE1L</i> | <i>NLRC5</i> |
| <i>FTSJ1</i> | <i>NGF</i> | <i>FERMT3</i> | <i>RAB8B</i> |
| <i>AVEN</i> | <i>FSCN1</i> | <i>CD1D</i> | <i>CCDC40</i> |
| <i>MAP3K12</i> | <i>TSPYL2</i> | <i>SENP5</i> | <i>NSMCE4A</i> |
| <i>UGDH</i> | <i>NABP1</i> | <i>CD79A</i> | <i>RAB51F</i> |
| <i>PLP2</i> | <i>MIIP</i> | <i>POLB</i> | <i>ADAMTS5</i> |
| <i>ANKRD13D</i> | <i>EXOSC8</i> | <i>MCTP2</i> | <i>ERFE</i> |
| <i>KDEL3</i> | <i>SAMD9</i> | <i>FXR1</i> | <i>GPR173</i> |
| <i>PDLIM7</i> | <i>DDX56</i> | <i>BNIP2</i> | <i>FAM162B</i> |
| <i>GAPDH</i> | <i>LUC7L3</i> | <i>MED10</i> | <i>DLGAP4</i> |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|----------------|----------------|-----------------|
| <i>MITF</i> | <i>SEC24B</i> | <i>DYNC2H1</i> | <i>PTPRN2</i> |
| <i>CDC42BPB</i> | <i>TREH</i> | <i>RILP</i> | <i>SMYD2</i> |
| <i>SIRT5</i> | <i>SLC24A1</i> | <i>UGT8</i> | <i>ZBTB43</i> |
| <i>BCR</i> | <i>SRR</i> | <i>SLC40A1</i> | <i>FAM229B</i> |
| <i>KLHL9</i> | <i>DIP2C</i> | <i>USP7</i> | <i>JHY</i> |
| <i>FAXDC2</i> | <i>PTPN9</i> | <i>ECHS1</i> | <i>TSFM</i> |
| <i>L2HGDH</i> | <i>COX8A</i> | <i>FZD4</i> | <i>DYRK1B</i> |
| <i>PIP5K1B</i> | <i>PIGQ</i> | <i>IPO8</i> | <i>UTP20</i> |
| <i>MFAP1</i> | <i>PACRG</i> | <i>CHCHD4</i> | <i>LETM1</i> |
| <i>ZNF385B</i> | <i>CROT</i> | <i>TMED1</i> | <i>FCSK</i> |
| <i>EDA</i> | <i>SLC16A9</i> | <i>DDO</i> | <i>NCBP2AS2</i> |
| <i>BOK</i> | <i>APOO</i> | <i>MED7</i> | <i>SLC22A7</i> |
| <i>SIK2</i> | <i>ZNF426</i> | <i>ERCC6L2</i> | <i>THAP5</i> |
| <i>DNAJA2</i> | <i>ZFYVE21</i> | <i>TES</i> | <i>SLC13A2</i> |
| <i>SYPL1</i> | <i>NAGLU</i> | <i>TSPAN33</i> | <i>MAPK13</i> |
| <i>KL</i> | <i>NLRX1</i> | <i>TINAG</i> | <i>CPXM2</i> |
| <i>GPR108</i> | <i>MIOX</i> | <i>NCOA6</i> | <i>TMEM135</i> |
| <i>TNFSF13</i> | <i>NDUFS3</i> | <i>ADGRF5</i> | <i>SLC39A4</i> |
| <i>APLP2</i> | <i>AP3D1</i> | <i>SLC16A7</i> | <i>HOGA1</i> |
| <i>HADHB</i> | <i>RUNDC3B</i> | <i>SEMA3G</i> | <i>SLC25A13</i> |
| <i>TIMM21</i> | <i>GPN3</i> | <i>CLINT1</i> | <i>NUDCD3</i> |
| <i>HERPUD1</i> | <i>PRCP</i> | <i>BCL2L1</i> | <i>MSMO1</i> |
| <i>ATP5F1B</i> | <i>GUF1</i> | <i>SLC13A1</i> | <i>DIRAS3</i> |
| <i>ECSIT</i> | <i>TUFM</i> | <i>SMIM20</i> | <i>SLC18B1</i> |
| <i>CLN5</i> | <i>SLC6A12</i> | <i>KLHL7</i> | <i>LYSMD3</i> |
| <i>DSP</i> | <i>RNF121</i> | <i>GALM</i> | <i>ATP5F1C</i> |
| <i>ELOVL7</i> | <i>DUSP8</i> | <i>EPN2</i> | <i>CDHR2</i> |
| <i>DDFA</i> | <i>APP</i> | <i>TIGD5</i> | <i>WWC2</i> |
| <i>PPM1A</i> | <i>CHP1</i> | <i>ABHD5</i> | <i>ATP5PO</i> |
| <i>CPPED1</i> | <i>TAX1BP1</i> | <i>LIPH</i> | <i>PITPNA</i> |
| <i>PRKCZ</i> | <i>EMC3</i> | <i>ETFRF1</i> | <i>SWI5</i> |
| <i>ZBTB4</i> | <i>SH2B1</i> | <i>GAB2</i> | <i>CA13</i> |
| <i>THTPA</i> | <i>BBS2</i> | <i>PTPRK</i> | <i>USH1C</i> |
| <i>IBA57</i> | <i>GJB1</i> | <i>FAM185A</i> | <i>AGPS</i> |
| <i>LAMTOR3</i> | <i>SLC30A2</i> | <i>SOWAHA</i> | <i>ZNF277</i> |
| <i>TPRG1L</i> | <i>IGSF3</i> | <i>SNRK</i> | <i>PAOX</i> |
| <i>PEX11G</i> | <i>AP4S1</i> | <i>MON1B</i> | <i>CRIM1</i> |
| <i>TRAPPC8</i> | <i>RNF38</i> | <i>CHCHD7</i> | <i>MISP3</i> |
| <i>WDR31</i> | <i>KIF1B</i> | <i>GMFB</i> | <i>PHOSPHO2</i> |
| <i>CLPX</i> | <i>ADCYAP1</i> | <i>REST</i> | <i>ARFIP2</i> |
| <i>EXD2</i> | <i>CLEC16A</i> | <i>HSD11B2</i> | <i>ATG7</i> |
| <i>KIF1C</i> | <i>RAB40B</i> | <i>NUPR2</i> | <i>PGRMC2</i> |
| <i>CRYL1</i> | <i>UPF1</i> | <i>FOXN3</i> | <i>NXNL2</i> |
| <i>ZBTB42</i> | <i>ARSJ</i> | <i>PDK2</i> | <i>FRY</i> |
| <i>SMDT1</i> | <i>LRRK2</i> | <i>DNAI4</i> | <i>STRN3</i> |
| <i>TMEM170A</i> | <i>POLR2C</i> | <i>TRMT61B</i> | <i>DDX1</i> |

| prognostisch unvorteilhaft im RCC | | | | prognostisch vorteilhaft im RCC | | | |
|-----------------------------------|----------|----------|----------|---------------------------------|----------|-----------|---------|
| RNF215 | TSPAN2 | ZNF133 | SEC22A | KLF13 | SORBS2 | AMN | GTF2F1 |
| PRRX1 | TMSB10 | IGFBP2 | DNMT3A | VPS51 | PTPRG | NUBP2 | TFDP2 |
| PSMD4 | CHI3L2 | RASD2 | ARHGAP4 | FBXO3 | CBLC | CERS4 | RTN3 |
| PSMA4 | CCL19 | OAS3 | NDUFAF2 | PLA2G12A | MOAP1 | CYSTM1 | ALDH8A1 |
| SCG2 | DGUOK | TADA2A | MSANTD2 | BTB | EYA3 | RAB11FIP2 | MRPS24 |
| C1orf216 | HMG1 | GPX7 | EGLN3 | SCAPER | EARS2 | ZNF253 | TMEM102 |
| KXD1 | MAP3K8 | PCNX2 | VNN1 | GPAT3 | NPM2 | ADCK2 | MDH1 |
| TGFBI | U2SURP | AIF1 | GABPB1 | GRSF1 | KIAA1671 | VPS35 | SNX9 |
| MAP4K1 | MARVELD1 | CASP3 | JCAD | KRT7 | TTC7B | RALGAPA1 | NDUFC1 |
| PLPP5 | PIEZO1 | SCN9A | PCDH12 | C3orf18 | RHOA | UBR7 | HIPK2 |
| TPM2 | SI00A8 | QKI | KHSRP | MED9 | POLR2E | GOLGA2 | |
| TRBV9 | KIAA0930 | WFDC5 | ZWILCH | SLC25A11 | KIAA1143 | ZNF407 | |
| APOBEC3C | ERICH2 | C11orf96 | NUTF2 | MRPS30 | MIOS | CIAO3 | |
| ACTN1 | AGER | ATAD2B | LUC7L | GOT2 | PTPRA | TSPAN31 | |
| FAM20A | SSTR2 | MYO1B | CD53 | IVD | TMEM174 | KIAA1191 | |
| CALHM6 | DDOST | GTPBP4 | CPE | TMEM125 | SLC12A6 | USP10 | |
| IGLV3-19 | IGLV3-16 | LY75 | ZNF444 | IL17RD | ACADS | CNTN4 | |
| EIF2S2 | PLIN3 | IGHV3-43 | MCM4 | HINT2 | NDUFAF1 | TMEM72 | |
| EFNA3 | ANXA5 | UBD | MMP11 | RPP25L | ELP6 | PIP4P1 | |
| AGAP6 | RIN1 | COL4A5 | ZNF107 | DDX24 | POC1B | SLC20A2 | |
| MMP1 | GPR176 | ZNF182 | CD109 | ADRB2 | FLNB | SOCS6 | |
| SLFN11 | DYRK3 | BTN3A3 | SGSH | PTPN21 | RNF26 | PTPRB | |
| IGLC3 | CDK7 | CXCR6 | HLA-F | MGST2 | FBXO2 | THUMPD3 | |
| CKLF | POC1A | LAMB3 | IL7 | FXYD2 | BOD1L1 | LRCH1 | |
| CENPU | SEMA4C | RFFL | NELFE | GK | CNDP2 | MFS6 | |
| ORM2 | FAM171B | KLHL23 | RPS6KC1 | WDR20 | ENTPD2 | LIN54 | |
| PTK6 | FIGNL1 | CXCL5 | TOE1 | ATP5PB | IMMT | API5 | |
| BCL6 | HNRNPA3 | IDH1 | ACER3 | CC2D2A | NATD1 | NBPF1 | |
| CEP170 | PIEZO2 | SLIT3 | CD93 | CDS2 | HLF | CSRNP1 | |
| CHD1L | CORO6 | SP3 | PPME1 | SYNE2 | IQSEC1 | UBB | |
| ADCY3 | EBF1 | HEBP2 | PAN2 | CHTF8 | GOLGA4 | NFAT5 | |
| CRELD2 | ROR2 | HENMT1 | CNOT3 | SPATA18 | ATP6V0B | MAG12 | |
| TAF5 | TRMT1 | RRP36 | MAP3K14 | MKKS | SUSD1 | TMEM116 | |
| RPL30 | ZNF202 | RHBDF1 | APOBEC3B | HSPA4L | CTR9 | LIN7C | |
| TRAM2 | IPMK | CARS2 | TRMT112 | PRRG2 | CAPZA2 | CLCN3 | |
| ZNF251 | FGG | EPS8L3 | SEPTIN7 | CPEB3 | TINAGL1 | TMEM251 | |
| DKC1 | CMTM7 | TRANK1 | POLR2D | DMTN | MROH1 | TPMT | |
| FADS3 | RPP30 | RRP12 | DAAM2 | PHKB | TMLHE | C16orf91 | |
| COL1A2 | CCNL1 | TPT1 | SNRPB2 | PDCD6IP | MOCS2 | FNDC10 | |
| ECM1 | SRRT | AKNA | ATG4B | UQCRRFS1 | ACAD10 | IPP | |
| RRAS | NNMT | PDCL3 | CCDC88C | DAZAP2 | AP1M2 | CSTF2 | |
| RNF7 | ZP3 | HOXA11 | SRSF6 | MAL | WDR24 | SMIM5 | |
| TMEM132A | HSPB11 | TTYH3 | ATP5F1E | NDUFA5 | OSBP2 | SLCO4C1 | |
| C11orf24 | NR2C1 | EEF1D | SSR3 | CRADD | SCFD2 | CUBN | |
| HTRA3 | PNCK | DUSP23 | DCAF13 | ZNF57 | TOM1L1 | OARD1 | |
| COL12A1 | RAC2 | GPR35 | TMEM267 | OXSM | GCLC | BRF1 | |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|---------------------|-----------------|------------------|
| <i>DTL</i> | <i>RNF181</i> | <i>TTC39C</i> | <i>MMD</i> |
| <i>RPL39</i> | <i>IGKV3-20</i> | <i>LCK</i> | <i>CYP2R1</i> |
| <i>L3HYPDH</i> | <i>LGALS3BP</i> | <i>ZNF281</i> | <i>IPO9</i> |
| <i>C5orf46</i> | <i>SNRPG</i> | <i>RAB1F</i> | <i>TMX3</i> |
| <i>PIIH</i> | <i>SOCS1</i> | <i>TIMELESS</i> | <i>S1PR4</i> |
| <i>EIF2B1</i> | <i>SPSB1</i> | <i>TCOF1</i> | <i>ATXN7L3</i> |
| <i>PTHLH</i> | <i>ELMOD3</i> | <i>MRNIP</i> | <i>FATE1</i> |
| <i>NPEPL1</i> | <i>CDK17</i> | <i>RP9</i> | <i>ARHGAP40</i> |
| <i>GATA6</i> | <i>LAMTOR2</i> | <i>ODF3B</i> | <i>TUBA1A</i> |
| <i>FADS1</i> | <i>APOH</i> | <i>DCP2</i> | <i>S100A4</i> |
| <i>ANAPC5</i> | <i>ALG13</i> | <i>NKD2</i> | <i>TSHZ3</i> |
| <i>RGS19</i> | <i>C2orf68</i> | <i>NAGPA</i> | <i>MLXIP</i> |
| <i>NME1</i> | <i>DDX39B</i> | <i>ITGAL</i> | <i>P2RX7</i> |
| <i>IL2RA</i> | <i>CCNL2</i> | <i>NABP2</i> | <i>AAAS</i> |
| <i>NRDC</i> | <i>IGKV3OR2-268</i> | <i>OSCAR</i> | <i>GIT2</i> |
| <i>IGKC</i> | <i>QTRT1</i> | <i>IGFBP4</i> | <i>DDX60L</i> |
| <i>RPLP1</i> | <i>TMEM92</i> | <i>RPL24</i> | <i>GEMIN6</i> |
| <i>IFITM2</i> | <i>DENND5A</i> | <i>TRPC1</i> | <i>SLC29A1</i> |
| <i>CDH11</i> | <i>FXYD3</i> | <i>SMTN</i> | <i>CREB3L1</i> |
| <i>IGHG1</i> | <i>CDK11A</i> | <i>HYI</i> | <i>IGKV2D-29</i> |
| <i>C1orf131</i> | <i>SMOC2</i> | <i>EMB</i> | <i>KLHL42</i> |
| <i>AP2A1</i> | <i>UTP6</i> | <i>ZNF335</i> | <i>GPSM2</i> |
| <i>STX4</i> | <i>RASAL3</i> | <i>BCL2A1</i> | <i>INHBB</i> |
| <i>MT2A</i> | <i>CXCL10</i> | <i>SSPN</i> | <i>RBM41</i> |
| <i>CLK2</i> | <i>RANBP1</i> | <i>RBM39</i> | <i>NOVA2</i> |
| <i>RRP1B</i> | <i>DOCK5</i> | <i>SCARF2</i> | <i>INAFM1</i> |
| <i>SNRPA</i> | <i>TRPV2</i> | <i>WASF1</i> | <i>HSPA5</i> |
| <i>AUP1</i> | <i>LRRC59</i> | <i>CDC42EP5</i> | <i>C15orf39</i> |
| <i>BRX1</i> | <i>CD27</i> | <i>FOXP2</i> | <i>PRSS23</i> |
| <i>MSL3</i> | <i>H3-3A</i> | <i>RAD9A</i> | <i>MYO7A</i> |
| <i>P4HA3</i> | <i>ZSCAN9</i> | <i>IGKV2-24</i> | <i>PPP1R14D</i> |
| <i>BMP1</i> | <i>PHTF1</i> | <i>CCDC80</i> | <i>GATAD2B</i> |
| <i>NOP58</i> | <i>RASSF5</i> | <i>TMEM273</i> | <i>TAF4B</i> |
| <i>DNAJB11</i> | <i>STC1</i> | <i>REEP4</i> | <i>S100A1</i> |
| <i>COP2</i> | <i>OR51E1</i> | <i>CEP164</i> | <i>SORCS2</i> |
| <i>SLN</i> | <i>ZNF558</i> | <i>UBAP2L</i> | <i>IGHV2-70D</i> |
| <i>BST2</i> | <i>PAG1</i> | <i>RGS2</i> | <i>GNGT2</i> |
| <i>ALDH18A1</i> | <i>CABLES2</i> | <i>CENATAC</i> | <i>CASP1</i> |
| <i>OASL</i> | <i>ANKRD10</i> | <i>KLF16</i> | <i>ZBED1</i> |
| <i>FXYD5</i> | <i>GZMA</i> | <i>NFASC</i> | <i>GATA3</i> |
| <i>CRYGS</i> | <i>CASP8</i> | <i>TNIP2</i> | <i>EFNA4</i> |
| <i>BATF</i> | <i>NUP107</i> | <i>SRSF1</i> | <i>AMZ2</i> |
| <i>ITPKA</i> | <i>MEA1</i> | <i>ENC1</i> | <i>G0S2</i> |
| <i>DPYSL3</i> | <i>FOLH1</i> | <i>SLC43A1</i> | <i>SMC6</i> |
| <i>EXOSC1</i> | <i>ICAM1</i> | <i>KRT19</i> | <i>JMJD4</i> |
| <i>BLOC1S3</i> | <i>PRDX4</i> | <i>POU2F1</i> | <i>IFIT3</i> |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | |
|-----------------|-----------------|------------------|
| <i>AMOT</i> | <i>SAV1</i> | <i>C21orf62</i> |
| <i>NAPA</i> | <i>NDUFS4</i> | <i>AK7</i> |
| <i>PPARA</i> | <i>HMGCS1</i> | <i>KCTD12</i> |
| <i>TMEM245</i> | <i>ATAD1</i> | <i>MID1IP1</i> |
| <i>CMTM4</i> | <i>FAM50B</i> | <i>CCDC12</i> |
| <i>ABHD10</i> | <i>TMEM47</i> | <i>CHCHD3</i> |
| <i>SIRT3</i> | <i>ORC4</i> | <i>ZNF561</i> |
| <i>TPRN</i> | <i>SLC6A19</i> | <i>SF3A1</i> |
| <i>INSYN1</i> | <i>TRIM68</i> | <i>CS</i> |
| <i>GRHPR</i> | <i>PEX10</i> | <i>MED20</i> |
| <i>PRKAB1</i> | <i>NDUFA8</i> | <i>FBRSL1</i> |
| <i>BCKDHB</i> | <i>RASGEF1B</i> | <i>LDAH</i> |
| <i>EVC</i> | <i>GULP1</i> | <i>ZNF440</i> |
| <i>LCMT2</i> | <i>MYOM3</i> | <i>SLC4A4</i> |
| <i>MACC1</i> | <i>PCYT2</i> | <i>SLC26A1</i> |
| <i>ILDR1</i> | <i>MRPL34</i> | <i>NMRK2</i> |
| <i>VPS37D</i> | <i>NELFB</i> | <i>FCER1A</i> |
| <i>RNF43</i> | <i>COX10</i> | <i>PPP2R1A</i> |
| <i>AK3</i> | <i>STARD7</i> | <i>USP38</i> |
| <i>LLGL2</i> | <i>PIK3R4</i> | <i>POLR3B</i> |
| <i>PLLP</i> | <i>PPP6C</i> | <i>NAPSA</i> |
| <i>TOM1L2</i> | <i>GPAM</i> | <i>ZNF516</i> |
| <i>STUB1</i> | <i>DHRS4</i> | <i>C2orf15</i> |
| <i>PEPD</i> | <i>SMPD1</i> | <i>VPS4B</i> |
| <i>TECPR2</i> | <i>PPP1R21</i> | <i>NFYC</i> |
| <i>UQCRC2</i> | <i>TMEM150C</i> | <i>GTF3C1</i> |
| <i>FDFT1</i> | <i>MPP1</i> | <i>MYO7B</i> |
| <i>CLTRN</i> | <i>GPRASP2</i> | <i>MBIP</i> |
| <i>MAGIX</i> | <i>SLC25A25</i> | <i>SLC4A2</i> |
| <i>SURF1</i> | <i>AREL1</i> | <i>CHUK</i> |
| <i>MRPS2</i> | <i>MACROD1</i> | <i>NUDT4</i> |
| <i>ACAA1</i> | <i>CABLES1</i> | <i>KIAA0319L</i> |
| <i>C11orf71</i> | <i>NFS1</i> | <i>RABGEF1</i> |
| <i>USP19</i> | <i>ARL8B</i> | <i>ARMC7</i> |
| <i>MECP2</i> | <i>VDR</i> | <i>SGPP2</i> |
| <i>DLD</i> | <i>STK33</i> | <i>BEX3</i> |
| <i>ADAL</i> | <i>MYO1D</i> | <i>SNX24</i> |
| <i>VEPH1</i> | <i>FA2H</i> | <i>TRAPPC2B</i> |
| <i>KLHDC7A</i> | <i>KYAT3</i> | <i>SMTNL2</i> |
| <i>AKAP1</i> | <i>C11orf68</i> | <i>ATP6V0A1</i> |
| <i>ACTR8</i> | <i>MRPS36</i> | <i>PRXL2B</i> |
| <i>CAAP1</i> | <i>AMOTL1</i> | <i>FAM219B</i> |
| <i>TEX264</i> | <i>C11orf54</i> | <i>ZDHC21</i> |
| <i>AKR1C1</i> | <i>TRAPPC9</i> | <i>ZNF75D</i> |
| <i>RBM23</i> | <i>RAVER2</i> | <i>LYPLAL1</i> |
| <i>NTN4</i> | <i>HIRA</i> | <i>TM7SF3</i> |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| <i>RUNX2</i> | <i>PGF</i> | <i>IGLV2-8</i> | <i>IPO4</i> |
| <i>COL16A1</i> | <i>FAM136A</i> | <i>WTAP</i> | <i>PCDH18</i> |
| <i>AH11</i> | <i>VMO1</i> | <i>GUCY1A2</i> | <i>ARID3A</i> |
| <i>CHFR</i> | <i>SYNGAP1</i> | <i>DTX1</i> | <i>PMF1-BGLAP</i> |
| <i>UBE2O</i> | <i>INTS3</i> | <i>AGAP9</i> | <i>SV2A</i> |
| <i>FABP6</i> | <i>OSTM1</i> | <i>C1QL4</i> | <i>CD70</i> |
| <i>IGLC2</i> | <i>ZCRB1</i> | <i>TENT5A</i> | <i>PI4KB</i> |
| <i>SCG5</i> | <i>NFKBIE</i> | <i>CD3D</i> | <i>RSL1D1</i> |
| <i>PCGF6</i> | <i>GPR162</i> | <i>ITGA4</i> | <i>IGHJ3</i> |
| <i>SLC2A1</i> | <i>RPL35A</i> | <i>TRIO</i> | <i>NDNF</i> |
| <i>ADAMTS10</i> | <i>GNB4</i> | <i>TPM3</i> | <i>SLC26A2</i> |
| <i>TBX19</i> | <i>CCDC59</i> | <i>ZNF83</i> | <i>MYO1F</i> |
| <i>IKBIP</i> | <i>ADRA1B</i> | <i>HAUS6</i> | <i>EFHC1</i> |
| <i>NSMAF</i> | <i>PYCR2</i> | <i>CDK4</i> | <i>GPSM1</i> |
| <i>CNOT9</i> | <i>EIF5B</i> | <i>HLA-DOB</i> | <i>PLIN2</i> |
| <i>TUBA3D</i> | <i>IGHV3-49</i> | <i>EDRF1</i> | <i>G3BP1</i> |
| <i>AKR1B10</i> | <i>KRT13</i> | <i>GPR180</i> | <i>SEC22B</i> |
| <i>ATP8B3</i> | <i>ACAN</i> | <i>SRGN</i> | <i>SLC41A2</i> |
| <i>HAPLN1</i> | <i>CDCA4</i> | <i>LIX1L</i> | <i>CD48</i> |
| <i>MICB</i> | <i>SIRPG</i> | <i>PRPF3</i> | <i>ZNF276</i> |
| <i>IGLV3-27</i> | <i>MCHR1</i> | <i>FARSB</i> | <i>ATG16L2</i> |
| <i>RESF1</i> | <i>PIK3R6</i> | <i>HHEX</i> | <i>MTX1</i> |
| <i>TMEM39B</i> | <i>COPS7B</i> | <i>ELK1</i> | <i>LZTS2</i> |
| <i>GBP1</i> | <i>CCDC112</i> | <i>PRXL2C</i> | <i>GGA3</i> |
| <i>GPX8</i> | <i>COMP</i> | <i>ELMO1</i> | <i>DNER</i> |
| <i>PDIA4</i> | <i>SYNPO</i> | <i>ZBTB17</i> | <i>LYN</i> |
| <i>RBM45</i> | <i>SLC25A32</i> | <i>SEMA6B</i> | <i>C12orf29</i> |
| <i>TMEM158</i> | <i>NENF</i> | <i>SUSD2</i> | <i>NLGN2</i> |
| <i>NPTX2</i> | <i>FLNA</i> | <i>MEDAG</i> | <i>DEK</i> |
| <i>H2AX</i> | <i>PFDN5</i> | <i>MFNG</i> | <i>HNRNPH1</i> |
| <i>ATAD3B</i> | <i>PROM2</i> | <i>PCDH17</i> | <i>GYS1</i> |
| <i>LSM2</i> | <i>ABCC1</i> | <i>SERPINB8</i> | <i>TRIM52</i> |
| <i>IL10RB</i> | <i>NME2</i> | <i>ANGPTL2</i> | <i>NR2F1</i> |
| <i>ADAM15</i> | <i>GALK1</i> | <i>DCBLD2</i> | <i>PRUNE1</i> |
| <i>IFITM1</i> | <i>IGHV1-46</i> | <i>SAMD11</i> | <i>TUBG2</i> |
| <i>ORMDL1</i> | <i>ZNF267</i> | <i>TRAC</i> | <i>GNAS</i> |
| <i>GDPD3</i> | <i>C1QA</i> | <i>GPS2</i> | <i>PTGER3</i> |
| <i>MFGE8</i> | <i>GLT8D2</i> | <i>SLC20A1</i> | <i>GSAP</i> |
| <i>EFHD2</i> | <i>FASLG</i> | <i>OLFML3</i> | <i>PLAU</i> |
| <i>MICALL2</i> | <i>ARAP3</i> | <i>GBGT1</i> | <i>RASL11A</i> |
| <i>ERO1A</i> | <i>HSD3B7</i> | <i>PSME2</i> | <i>KLHL6</i> |
| <i>GDPD5</i> | <i>CYP2S1</i> | <i>COL4A2</i> | <i>MRPS15</i> |
| <i>TMEM81</i> | <i>S100A3</i> | <i>CAPRN2</i> | <i>SMIM10L1</i> |
| <i>JTB</i> | <i>IGLC7</i> | <i>KCNAB2</i> | <i>ZNF789</i> |
| <i>PLEKHG4</i> | <i>MRPL55</i> | <i>SPARC</i> | <i>ADARB1</i> |
| <i>ANKRD39</i> | <i>KCNJ8</i> | <i>TET3</i> | <i>CAPZB</i> |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| <i>PDP1</i> | <i>CCNB1IP1</i> | <i>ZNF551</i> |
| <i>ZNF329</i> | <i>DDAH1</i> | <i>IFT88</i> |
| <i>SYNE4</i> | <i>COPS4</i> | <i>C17orf75</i> |
| <i>C18orf32</i> | <i>USP30</i> | <i>HS3ST2</i> |
| <i>SECISBP2</i> | <i>GALNT16</i> | <i>PTN</i> |
| <i>CCDC71</i> | <i>ALDH2</i> | <i>SMCR8</i> |
| <i>DCTPP1</i> | <i>ABCB7</i> | <i>JKAMP</i> |
| <i>RPH3AL</i> | <i>JADE2</i> | <i>FHIT</i> |
| <i>AR</i> | <i>DMKN</i> | <i>PCSK1N</i> |
| <i>UFSP2</i> | <i>RALBP1</i> | <i>TRAF6</i> |
| <i>VAPB</i> | <i>TPPP</i> | <i>AAGAB</i> |
| <i>RNF208</i> | <i>RORA</i> | <i>DBR1</i> |
| <i>RNF152</i> | <i>NPR3</i> | <i>TMED4</i> |
| <i>ELMOD2</i> | <i>ARHGEF12</i> | <i>SGMS2</i> |
| <i>MYL3</i> | <i>GAREM1</i> | <i>SREBF2</i> |
| <i>RHPN2</i> | <i>TSG101</i> | <i>GATM</i> |
| <i>NAA30</i> | <i>SGCB</i> | <i>PEX26</i> |
| <i>PARP3</i> | <i>AIF1L</i> | <i>MYH10</i> |
| <i>TP53INP2</i> | <i>CA2</i> | <i>C11orf1</i> |
| <i>BCL2</i> | <i>QARS1</i> | <i>BICD2</i> |
| <i>VPS35L</i> | <i>IDH3G</i> | <i>TIMM22</i> |
| <i>AQP1</i> | <i>COQ4</i> | <i>LRRC20</i> |
| <i>RNF123</i> | <i>RAD17</i> | <i>RREB1</i> |
| <i>KLHL22</i> | <i>NFE2L1</i> | <i>FBXO25</i> |
| <i>MFAP3L</i> | <i>MECR</i> | <i>SH2D3A</i> |
| <i>TBC1D1</i> | <i>ADCK1</i> | <i>NEK1</i> |
| <i>DDB1</i> | <i>CYC1</i> | <i>ZNF260</i> |
| <i>PSEN1</i> | <i>NEK11</i> | <i>VPS11</i> |
| <i>TMC4</i> | <i>BCAM</i> | <i>ZNF24</i> |
| <i>BPGM</i> | <i>KIF9</i> | <i>C22orf39</i> |
| <i>ARHGAP6</i> | <i>ACSF3</i> | <i>PIFO</i> |
| <i>PGAP4</i> | <i>SNX13</i> | <i>WARS2</i> |
| <i>BAG5</i> | <i>FANCC</i> | <i>THAP4</i> |
| <i>PPARG</i> | <i>RABGAP1</i> | <i>IDI1</i> |
| <i>STK32B</i> | <i>SLC4A11</i> | <i>RBPMS2</i> |
| <i>PLEKHB2</i> | <i>GALT</i> | <i>PLEKHF2</i> |
| <i>UMAD1</i> | <i>IGIP</i> | <i>SLAIN2</i> |
| <i>ATP6V0D1</i> | <i>GCSH</i> | <i>TIMP3</i> |
| <i>SVIP</i> | <i>HSD17B4</i> | <i>OSBPL10</i> |
| <i>RAB14</i> | <i>TRIP4</i> | <i>GSK3B</i> |
| <i>ZDHHC3</i> | <i>SLC39A8</i> | <i>SLC25A51</i> |
| <i>OXCT1</i> | <i>GTF2I</i> | <i>AZGP1</i> |
| <i>CHDH</i> | <i>ANO10</i> | <i>SHISA9</i> |
| <i>MAPKAPK3</i> | <i>PTER</i> | <i>ABRAXAS1</i> |
| <i>ILVBL</i> | <i>SLC2A8</i> | <i>ATP2C1</i> |
| <i>TMEM186</i> | <i>ASB8</i> | <i>BRD7</i> |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|------------------|-----------------|----------------|
| <i>SEC61A1</i> | <i>ARPC1B</i> | <i>MCM5</i> | <i>USE1</i> |
| <i>YEATS2</i> | <i>LIN37</i> | <i>PSMG1</i> | <i>SFT2D1</i> |
| <i>GPSM3</i> | <i>EDEM3</i> | <i>FMNL3</i> | <i>LPAR6</i> |
| <i>DUSP14</i> | <i>FABP7</i> | <i>RBM22</i> | <i>NAT14</i> |
| <i>RAD51D</i> | <i>SERPINB9</i> | <i>CNPY4</i> | <i>NOS3</i> |
| <i>PSTPIP1</i> | <i>AARSD1</i> | <i>CDK5RAP3</i> | <i>P2RY10</i> |
| <i>RBCK1</i> | <i>CXCR3</i> | <i>B4GALT2</i> | <i>IAH1</i> |
| <i>PRAME</i> | <i>MED30</i> | <i>MICAL2</i> | <i>MDFIC</i> |
| <i>ZNF692</i> | <i>NDUFAF8</i> | <i>RAD18</i> | <i>THOC5</i> |
| <i>NCSTN</i> | <i>PSMB3</i> | <i>RHOC</i> | <i>MAK16</i> |
| <i>CHEK2</i> | <i>MASTL</i> | <i>TRERF1</i> | <i>FUT11</i> |
| <i>PLAUR</i> | <i>NR3C1</i> | <i>HGH1</i> | <i>PHLDA3</i> |
| <i>KNSTRN</i> | <i>PDE3A</i> | <i>OLFML2A</i> | <i>DUSP10</i> |
| <i>ARHGAP9</i> | <i>CDH13</i> | <i>DRAP1</i> | <i>GPATCH4</i> |
| <i>GNRH1</i> | <i>METTL26</i> | <i>DBI</i> | <i>PWWP2A</i> |
| <i>EMILIN1</i> | <i>GZMH</i> | <i>DCAF8</i> | <i>ADPRS</i> |
| <i>NPHP3</i> | <i>EPB41</i> | <i>DHRS2</i> | <i>GSTA1</i> |
| <i>XCL2</i> | <i>LUM</i> | <i>TCEA1</i> | <i>GPCPD1</i> |
| <i>RBMX2</i> | <i>ACKR3</i> | <i>SPOCK1</i> | <i>JAM3</i> |
| <i>MMP19</i> | <i>SH3D21</i> | <i>CCDC85B</i> | <i>MIA3</i> |
| <i>GLIPR1</i> | <i>C1orf159</i> | <i>ACTB</i> | <i>TMED3</i> |
| <i>RPS8</i> | <i>TMCC1</i> | <i>KMT2E</i> | <i>MAF</i> |
| <i>IGLV3-1</i> | <i>MEIS3</i> | <i>KIF2A</i> | <i>XPO1</i> |
| <i>C1QTNF1</i> | <i>H3C4</i> | <i>RAP2C</i> | <i>LRRC8C</i> |
| <i>FJX1</i> | <i>C1orf35</i> | <i>ACTR3</i> | <i>RPL10A</i> |
| <i>DENND4B</i> | <i>TRA2A</i> | <i>PHYKPL</i> | <i>KPNA3</i> |
| <i>AEBP1</i> | <i>THOC1</i> | <i>HERC4</i> | <i>MTDH</i> |
| <i>SOCS3</i> | <i>NFATC4</i> | <i>ORAI3</i> | <i>NOTCH4</i> |
| <i>P4HA1</i> | <i>IGKV3D-15</i> | <i>ACHE</i> | <i>HLA-E</i> |
| <i>LDHA</i> | <i>SLC36A1</i> | <i>SI00A16</i> | <i>NRP1</i> |
| <i>TEAD4</i> | <i>FCER1G</i> | <i>CCNH</i> | <i>RAPGEF6</i> |
| <i>PTRH2</i> | <i>CYRIA</i> | <i>POGZ</i> | <i>SPAG1</i> |
| <i>DEF6</i> | <i>REM1</i> | <i>LRRC32</i> | <i>LYL1</i> |
| <i>PUS7</i> | <i>ANGPTL8</i> | <i>IGHV3-64</i> | <i>BRAT1</i> |
| <i>CHEK1</i> | <i>PMS1</i> | <i>CPSF3</i> | <i>DIAPH2</i> |
| <i>EBI3</i> | <i>IGLV4-60</i> | <i>EFEMP2</i> | <i>DRAM1</i> |
| <i>KMT5C</i> | <i>ADGRE5</i> | <i>NUCB2</i> | <i>HMG2</i> |
| <i>COL6A1</i> | <i>FAM118A</i> | <i>GABPA</i> | <i>HAUS7</i> |
| <i>STAT4</i> | <i>E2F5</i> | <i>GMIP</i> | <i>ERG</i> |
| <i>NTM</i> | <i>DNTTIP1</i> | <i>MRPL24</i> | <i>SPRN</i> |
| <i>FOXS1</i> | <i>HOXD10</i> | <i>PDE6D</i> | <i>TRIM66</i> |
| <i>PDK1</i> | <i>CFH</i> | <i>INHA</i> | <i>CRLF1</i> |
| <i>IGLV9-49</i> | <i>CSAD</i> | <i>IFI35</i> | <i>RGS4</i> |
| <i>KIRREL1</i> | <i>FNDC1</i> | <i>BTAF1</i> | <i>PTGFRN</i> |
| <i>ITGAE</i> | <i>ELOVL5</i> | <i>MMP9</i> | <i>FCN1</i> |
| <i>DTX2</i> | <i>VSIG4</i> | <i>ASPHD2</i> | <i>EHD2</i> |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | |
|-----------------|-----------------|------------------|
| <i>WWC1</i> | <i>KLF9</i> | <i>MMAB</i> |
| <i>DEF8</i> | <i>SETMAR</i> | <i>TUNAR</i> |
| <i>ITFG1</i> | <i>EMC10</i> | <i>PACS2</i> |
| <i>LRATD2</i> | <i>TOPORS</i> | <i>KCNJ11</i> |
| <i>BCL2L13</i> | <i>LRPPRC</i> | <i>EIF4ENIF1</i> |
| <i>ESRP1</i> | <i>CA5B</i> | <i>MUC20</i> |
| <i>CAT</i> | <i>ERLIN2</i> | <i>SNX18</i> |
| <i>INIP</i> | <i>EIF4EBP2</i> | <i>EVC2</i> |
| <i>RNF13</i> | <i>PTH1R</i> | <i>TATDN3</i> |
| <i>SLC38A11</i> | <i>COX7B</i> | <i>PDE7B</i> |
| <i>FBXO21</i> | <i>MAGEE1</i> | <i>AK8</i> |
| <i>CLCN5</i> | <i>SELENOP</i> | <i>AMBRA1</i> |
| <i>TTC9</i> | <i>KLC4</i> | <i>ACVR2A</i> |
| <i>HSD17B12</i> | <i>KHDRBS3</i> | <i>GIN1</i> |
| <i>MRRF</i> | <i>ABCG1</i> | <i>SMIM4</i> |
| <i>SUCLG1</i> | <i>TNFRSF21</i> | <i>ALAD</i> |
| <i>MFN2</i> | <i>MAPKAP1</i> | <i>UQCR11</i> |
| <i>RAB19</i> | <i>AP1B1</i> | <i>PIK3C2A</i> |
| <i>DMAC2L</i> | <i>ZNF330</i> | <i>ACTR3B</i> |
| <i>CNNM2</i> | <i>GSS</i> | <i>EIF4G2</i> |
| <i>ALDH1L1</i> | <i>NAPEPLD</i> | <i>TLL1</i> |
| <i>COX4I1</i> | <i>TRIM4</i> | <i>ZBED3</i> |
| <i>CGRRF1</i> | <i>URM1</i> | <i>SLC16A4</i> |
| <i>MAGI3</i> | <i>PTPRD</i> | <i>TIMM8A</i> |
| <i>NSUN7</i> | <i>ADCY5</i> | <i>CNOT6L</i> |
| <i>NEBL</i> | <i>SLC27A2</i> | <i>CTBP2</i> |
| <i>PDHB</i> | <i>UBAP1</i> | <i>NAA80</i> |
| <i>CACFD1</i> | <i>LCMT1</i> | <i>RNF14</i> |
| <i>SLC1A1</i> | <i>TST</i> | <i>KLHL21</i> |
| <i>SLC25A12</i> | <i>SIGIRR</i> | <i>SAP30L</i> |
| <i>PMPCB</i> | <i>KIF16B</i> | <i>TJP1</i> |
| <i>APIG1</i> | <i>ZNF718</i> | <i>ARPP19</i> |
| <i>MINDY2</i> | <i>CNOT4</i> | <i>METAP1</i> |
| <i>NIPSNAP2</i> | <i>DNAJC5</i> | <i>MCCD1</i> |
| <i>ACOT11</i> | <i>TFCP2L1</i> | <i>DARS2</i> |
| <i>ASAH1</i> | <i>DENND6A</i> | <i>SLC25A15</i> |
| <i>FOCAD</i> | <i>ALKBH7</i> | <i>CPTP</i> |
| <i>FUT6</i> | <i>QDPR</i> | <i>RCBTB1</i> |
| <i>LMTK3</i> | <i>TMPRSS2</i> | <i>SIRT4</i> |
| <i>NDUFS8</i> | <i>AP3B1</i> | <i>BMERB1</i> |
| <i>MTFMT</i> | <i>SETD2</i> | <i>NME5</i> |
| <i>VPS41</i> | <i>KMT2C</i> | <i>NFKB1</i> |
| <i>MINDY1</i> | <i>SCGB1D2</i> | <i>TRAPPC6B</i> |
| <i>USP53</i> | <i>NCOA4</i> | <i>VPS4A</i> |
| <i>PDE12</i> | <i>GLIS2</i> | <i>ITGB8</i> |
| <i>NUBPL</i> | <i>SLC25A5</i> | <i>MSH3</i> |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|------------------|-----------------|----------------|
| <i>MZB1</i> | <i>PLEKHA2</i> | <i>NCAPG2</i> | <i>ADAM9</i> |
| <i>SMIM3</i> | <i>CEP250</i> | <i>PTPRE</i> | <i>ESM1</i> |
| <i>MRPL53</i> | <i>CRISPLD2</i> | <i>EFS</i> | <i>YWHAG</i> |
| <i>TMEM165</i> | <i>RASA3</i> | <i>PHLDB3</i> | <i>AGBL3</i> |
| <i>TGFB1</i> | <i>H4C5</i> | <i>NBPF15</i> | <i>SULF2</i> |
| <i>IL13RA1</i> | <i>YY1AP1</i> | <i>TMEM234</i> | <i>BCL6B</i> |
| <i>ATXN7L2</i> | <i>ANKZF1</i> | <i>TMEM255B</i> | <i>ZDHC8</i> |
| <i>PTPN2</i> | <i>CD96</i> | <i>AATF</i> | <i>HEATR1</i> |
| <i>RPS20</i> | <i>YWHAZ</i> | <i>SLFN12</i> | <i>METTL18</i> |
| <i>IGFN1</i> | <i>SPIDR</i> | <i>BTN3A1</i> | <i>RNF125</i> |
| <i>IGHMBP2</i> | <i>MYLK</i> | <i>SIDT2</i> | <i>AGPAT4</i> |
| <i>SAA2</i> | <i>SH3PXD2A</i> | <i>RPL23</i> | <i>GTF2H4</i> |
| <i>C1QL1</i> | <i>TMEM119</i> | <i>DESI2</i> | <i>LAT2</i> |
| <i>ITGA5</i> | <i>APBB3</i> | <i>TBLIXR1</i> | <i>TNFAIP2</i> |
| <i>NAA25</i> | <i>RPF2</i> | <i>PLCB3</i> | <i>PLN</i> |
| <i>RPS7</i> | <i>CXCL2</i> | <i>RBM17</i> | <i>PLSCR4</i> |
| <i>WDR76</i> | <i>SLAMF6</i> | <i>MCTS1</i> | <i>NDRG1</i> |
| <i>IFI44</i> | <i>IGHV2-5</i> | <i>IGHV3-7</i> | <i>GAL3ST4</i> |
| <i>ACTA2</i> | <i>SCNN1B</i> | <i>TLCD2</i> | <i>TBPL1</i> |
| <i>GORASP2</i> | <i>SH3KBP1</i> | <i>SNRPE</i> | <i>SPAST</i> |
| <i>SERPINF1</i> | <i>TP53I13</i> | <i>DMTF1</i> | <i>C2CD4A</i> |
| <i>KAT2A</i> | <i>DNAJB13</i> | <i>FTL</i> | <i>SNRNP48</i> |
| <i>UTP11</i> | <i>SNRPF</i> | <i>USP31</i> | <i>PTGER2</i> |
| <i>CHTF18</i> | <i>ANXA2</i> | <i>TIGD1</i> | <i>POLR1C</i> |
| <i>PIGC</i> | <i>IGKV1D-8</i> | <i>TRAF1</i> | <i>ATP1B2</i> |
| <i>TIPRL</i> | <i>SPDL1</i> | <i>FST</i> | <i>DUSP4</i> |
| <i>AURKA</i> | <i>H2AZ1</i> | <i>EGFLAM</i> | <i>GRPEL2</i> |
| <i>DVL3</i> | <i>GOLGA8A</i> | <i>CSRP2</i> | <i>NIT1</i> |
| <i>TCN1</i> | <i>FEZ1</i> | <i>CLSTN3</i> | <i>PAPOLG</i> |
| <i>ZRANB2</i> | <i>EPO</i> | <i>C1orf198</i> | <i>PSMC3</i> |
| <i>PAQR6</i> | <i>HSF4</i> | <i>ZNF343</i> | <i>BTN3A2</i> |
| <i>CARD8</i> | <i>RPLP2</i> | <i>UBE2V1</i> | <i>SETDB1</i> |
| <i>E2F3</i> | <i>CDC42SE1</i> | <i>RNF217</i> | <i>RBM25</i> |
| <i>APOA1</i> | <i>IGKV3D-11</i> | <i>KATNB1</i> | <i>ENG</i> |
| <i>CLASRP</i> | <i>UBE2A</i> | <i>VRK2</i> | <i>DPY30</i> |
| <i>H2BC8</i> | <i>DDX41</i> | <i>GNA12</i> | <i>SETD5</i> |
| <i>ADAMTS2</i> | <i>RAD52</i> | <i>CDK19</i> | <i>SRSF4</i> |
| <i>PPFIA4</i> | <i>HEYL</i> | <i>DGKZ</i> | <i>PEAR1</i> |
| <i>TPD52L2</i> | <i>CCDC57</i> | <i>DPT</i> | <i>TCEAL7</i> |
| <i>TPSG1</i> | <i>DEPP1</i> | <i>SIGLEC10</i> | <i>GNAI3</i> |
| <i>EIF4A1</i> | <i>IGLV6-57</i> | <i>NRN1</i> | <i>NAGK</i> |
| <i>CD44</i> | <i>TPST2</i> | <i>EVA1B</i> | <i>AK4</i> |
| <i>FHOD1</i> | <i>CES4A</i> | <i>ISG20L2</i> | <i>AIDA</i> |
| <i>ANKLE2</i> | <i>ADAP2</i> | <i>ACTL6A</i> | <i>SMIM29</i> |
| <i>NASP</i> | <i>OGT</i> | <i>ZRSR2</i> | <i>HPS3</i> |
| <i>FNBP4</i> | <i>BRD9</i> | <i>RGS1</i> | <i>PRKRIP1</i> |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | |
|-----------------|------------------|-----------------|
| <i>SEMA5A</i> | <i>GADD45A</i> | <i>ZFP90</i> |
| <i>PGPEP1</i> | <i>ZNF14</i> | <i>DNAJA3</i> |
| <i>MED21</i> | <i>JADE1</i> | <i>GSR</i> |
| <i>ACADM</i> | <i>ATP5MC1</i> | <i>ALKBH1</i> |
| <i>ALDH3A2</i> | <i>RIN2</i> | <i>DCTD</i> |
| <i>AMT</i> | <i>ANXA3</i> | <i>PTPN23</i> |
| <i>MYRIP</i> | <i>SHMT1</i> | <i>TTC33</i> |
| <i>MYH14</i> | <i>RTN4IP1</i> | <i>PRKAG1</i> |
| <i>ARHGAP5</i> | <i>PPP1R9A</i> | <i>ZNF420</i> |
| <i>HIGD1A</i> | <i>RHBDD2</i> | <i>VRK3</i> |
| <i>CKB</i> | <i>SPIN1</i> | <i>RPS6KA1</i> |
| <i>ICAI</i> | <i>ANXA9</i> | <i>OPA1</i> |
| <i>SCIN</i> | <i>PLS1</i> | <i>MLLT3</i> |
| <i>FAM110B</i> | <i>NIPSNAP1</i> | <i>CHD9</i> |
| <i>ACAD9</i> | <i>TMEM238</i> | <i>TENT4B</i> |
| <i>KIAA1109</i> | <i>MT-ND6</i> | <i>CRTAC1</i> |
| <i>ZNF880</i> | <i>COLCA2</i> | <i>ART5</i> |
| <i>SEPHS2</i> | <i>HMOX2</i> | <i>SLC44A1</i> |
| <i>VWA7</i> | <i>FBXL14</i> | <i>BBS9</i> |
| <i>CLN8</i> | <i>CAB39</i> | <i>CYP39A1</i> |
| <i>SAMM50</i> | <i>MTCH2</i> | <i>FBXL16</i> |
| <i>WASL</i> | <i>MCF2L</i> | <i>COMTD1</i> |
| <i>BCAR1</i> | <i>UBE3C</i> | <i>FAT4</i> |
| <i>MAG11</i> | <i>DOCK8</i> | <i>PCYOX1</i> |
| <i>FBXL17</i> | <i>COX15</i> | <i>MAEA</i> |
| <i>KCTD1</i> | <i>PBXIP1</i> | <i>URGCP</i> |
| <i>VAV3</i> | <i>TSPAN1</i> | <i>MAML2</i> |
| <i>NDUFA4</i> | <i>KIDINS220</i> | <i>SCAMP1</i> |
| <i>CASKIN2</i> | <i>ZNF768</i> | <i>CCDC198</i> |
| <i>TRAK1</i> | <i>FAM131C</i> | <i>SERP2</i> |
| <i>DNAJC30</i> | <i>NOP9</i> | <i>RAD50</i> |
| <i>CPEB4</i> | <i>HMGCR</i> | <i>ATG14</i> |
| <i>ATP10D</i> | <i>NDUFB10</i> | <i>UBAP2</i> |
| <i>ETFA</i> | <i>TLE2</i> | <i>SLC39A13</i> |
| <i>HMGCL</i> | <i>KDSR</i> | <i>PLIN5</i> |
| <i>ACOT1</i> | <i>LYRM7</i> | <i>SLC5A8</i> |
| <i>DNAL1</i> | <i>ACSM3</i> | <i>BEX5</i> |
| <i>ADCY9</i> | <i>SNX1</i> | <i>ZNF503</i> |
| <i>ATP6AP1</i> | <i>BBS12</i> | <i>SLU7</i> |
| <i>ATXN1L</i> | <i>ZC3H12C</i> | <i>TEKT2</i> |
| <i>PHLPP1</i> | <i>VPS36</i> | <i>ANXA7</i> |
| <i>SATB2</i> | <i>MRPL35</i> | <i>GLUD2</i> |
| <i>RAB21</i> | <i>TMBIM6</i> | <i>PHACTR2</i> |
| <i>PPF1BP2</i> | <i>C1orf116</i> | <i>HNRNPA0</i> |
| <i>ABAT</i> | <i>TMEM53</i> | <i>RAP1GDS1</i> |
| <i>SH3RF1</i> | <i>ARHGEF9</i> | <i>MRPL44</i> |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------|----------|----------|----------|
| STX6 | THY1 | FBXO45 | THOC6 |
| PI3 | ANK2 | SELL | IGHV3-72 |
| F3 | CDC123 | PLEKHN1 | DCLK1 |
| MYBL1 | LEF1 | DUSP2 | FAM110A |
| RNF149 | LEFTY1 | IGHV2-26 | TYK2 |
| PTGIR | THPO | LAIR1 | FAM172A |
| PDIA3 | IGHV6-1 | UGT1A9 | CD40 |
| TNKS1BP1 | MRGBP | LIME1 | SOGA1 |
| BYSL | NAMPT | PPIE | CCL2 |
| QPCTL | PDIA6 | MT1E | MTARC1 |
| ARHGAP22 | EBF2 | PPHLN1 | NDN |
| C2orf76 | RBL1 | C2orf49 | IL18R1 |
| TFE3 | IGKV4-1 | PAMR1 | BNIP3 |
| IGKV3-11 | HOXA3 | HYOU1 | PPIG |
| OPN1SW | GJB2 | UAP1 | LDLRAD4 |
| SNCG | CCDC71L | PNKD | CPN2 |
| OSTC | DDIT4 | F10 | FLI1 |
| CNPY2 | IGHV4-34 | STX2 | CENPX |
| RPS19 | FLAD1 | TRAF3IP2 | FOXJ2 |
| CYTH4 | ACOT7 | HECW2 | RNF34 |
| PTPN7 | SELENOM | FTH1 | TP53111 |
| CD72 | NOL12 | RPL4 | DDX58 |
| MFAP2 | RPS10 | IGHM | PSMD8 |
| RNASEH2B | IGHV4-39 | TCF12 | TRIP10 |
| SLC11A1 | CSTA | MAPK8IP3 | SHROOM4 |
| PHF21A | RPS27A | UBXN8 | MOB4 |
| TUBB | UFC1 | LYST | LCA5 |
| TNFRSF9 | EVI2A | CLDN15 | STON1 |
| IGHV1-69D | PHLDA2 | ENTPD1 | SSC4D |
| VMP1 | ALG6 | ARHGAP23 | SLC5A3 |
| MOGS | HDAC3 | TRBV6-5 | MYCT1 |
| METTL22 | IL1RN | LAGE3 | POGLUT2 |
| TSKU | RPL37 | SPINDOC | C2orf72 |
| MZF1 | CDT1 | SLAMF8 | C4orf47 |
| EMP2 | KLHL17 | SLC2A5 | RPS5 |
| CBFB | SLC35A1 | MT1H | WDR46 |
| SAA2-SAA4 | MBD4 | MED26 | LYRM1 |
| TRMT2A | C1orf174 | SLC29A3 | SRRM2 |
| ZAP70 | TANK | FAM219A | CXCL6 |
| METTL5 | PSMB2 | NSUN6 | POP5 |
| ARHGAP33 | EMG1 | RUNX3 | MARCKS |
| EML3 | MDF1 | PIGZ | CENPN |
| SRSF7 | ROM1 | PLXNA1 | SLC1A4 |
| POLE | ZNF337 | SAC3D1 | CPED1 |
| NAA10 | IGHV3-66 | SYNPO2 | NEFL |
| SEMA4B | NPM1 | MFS10 | SLC12A9 |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | |
|-----------|----------|----------|
| ARHGAP35 | BCDIN3D | MOB2 |
| SECISBP2L | NINL | HOXA6 |
| RIPOR1 | PAQR7 | ZNF480 |
| LZTS3 | TACC1 | ACSS2 |
| GABARAPL2 | SLC47A1 | GATA2 |
| HS3ST1 | TFEB | MTHFS |
| SH2D4A | CUL5 | ALDH1B1 |
| THRA | UBQLN1 | CCNDBP1 |
| HCCS | CCDC110 | CDH1 |
| SETBP1 | EIF1B | RAB11B |
| MCCC2 | RAB1B | PRKAR2A |
| IDH3A | ENOX2 | SMIM14 |
| SPTLC2 | TMEM42 | SPTY2D1 |
| ANXA11 | PLEKHJ1 | RDH13 |
| RMDN3 | CCDC28A | CCNI |
| IDH3B | PABPC4L | SDHAF1 |
| GCDH | ZMYND12 | AKT1 |
| SIPA1L1 | MED16 | MTHFR |
| UBE2QL1 | ZDHHC7 | DCXR |
| PHLDB2 | SIK3 | SDAD1 |
| CAPN1 | PHF2 | MYO9A |
| LRR19 | PTPRJ | LRR19 |
| BDH1 | WDR7 | SUSD6 |
| PIIP5K1 | CRACDL | MCAT |
| RMND5B | GLB1 | GPT |
| CHMP1B | SMIM12 | CAPN2 |
| PLEKHG3 | PPP2R3A | RSPH3 |
| NUBP1 | ACACB | DNASE1L1 |
| PUM1 | SCRN1 | SDHC |
| CCDC186 | HOXA7 | ZBTB16 |
| ATP6V1E1 | SNRNP25 | PLD3 |
| RAB11FIP4 | DMGDH | ABR |
| SCP2 | RAPGEF1 | CCDC160 |
| NBEA | NUDT14 | LSM4 |
| LMF1 | HSP90AA1 | CYB51D1 |
| KIF21A | HAGHL | PNP |
| RNF40 | ZNF165 | SMAGP |
| HTATSF1 | CDADC1 | SH3BGR2 |
| BEX1 | FHOD3 | EMCN |
| TMEM51 | NCKIPSD | APH1B |
| FASTKD5 | ZNF416 | NFE2L2 |
| GABARAPL1 | PARP4 | FCF1 |
| NPNT | PMS2 | GOSR1 |
| SMIM10L2A | COX7C | FAM76A |
| CACNA1D | PRDX5 | STRN |
| CLPB | CERT1 | KLF6 |

| prognostisch unvorteilhaft im RCC | | | | prognostisch vorteilhaft im RCC | | |
|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|
| <i>SFSWAP</i> | <i>CCDC102B</i> | <i>GNL3</i> | <i>LUC7L2</i> | <i>ELAC1</i> | <i>EEF2</i> | <i>ZNRF2</i> |
| <i>C1orf21</i> | <i>IL18BP</i> | <i>NSUN2</i> | <i>FAR2</i> | <i>RRAGD</i> | <i>ACSL1</i> | <i>AGPAT3</i> |
| <i>ARHGEF1</i> | <i>ELK4</i> | <i>ZNF395</i> | <i>SFXN3</i> | <i>SOS2</i> | <i>GPC4</i> | <i>MPV17L2</i> |
| <i>DPP9</i> | <i>ERCC5</i> | <i>SUV39H2</i> | <i>TLR5</i> | <i>ACTR10</i> | <i>MSANTD4</i> | <i>LEMD3</i> |
| <i>FN1</i> | <i>RELB</i> | <i>LRRK1</i> | <i>PLAT</i> | <i>TM7SF2</i> | <i>CYS1</i> | <i>HS1BP3</i> |
| <i>AHCTF1</i> | <i>SFTPFB</i> | <i>CTSZ</i> | <i>STT3A</i> | <i>THUMPD1</i> | <i>EHHADH</i> | <i>STPG1</i> |
| <i>PUS1</i> | <i>NEURL1B</i> | <i>FGF3</i> | <i>PGBD1</i> | <i>PATZ1</i> | <i>B4GALNT2</i> | <i>SH3GLB2</i> |
| <i>CCDC14</i> | <i>VAT1L</i> | <i>H3C10</i> | <i>GPR65</i> | <i>MMP15</i> | <i>PGAP6</i> | <i>NDUFS2</i> |
| <i>TYMP</i> | <i>PAQR4</i> | <i>PAM16</i> | <i>ADSS1</i> | <i>LURAP1</i> | <i>USP8</i> | <i>DNAJC1</i> |
| <i>NRM</i> | <i>ATPIA3</i> | <i>C12orf76</i> | <i>BCORL1</i> | <i>WDTC1</i> | <i>KIAA1522</i> | <i>SGTA</i> |
| <i>IL34</i> | <i>PCNA</i> | <i>LIG1</i> | <i>CEP126</i> | <i>SNRPN</i> | <i>DIAPH1</i> | <i>SLC7A6OS</i> |
| <i>GJC1</i> | <i>CALHM2</i> | <i>CEP95</i> | <i>TAF3</i> | <i>ATPIA1</i> | <i>CYCS</i> | <i>VAMP3</i> |
| <i>STING1</i> | <i>DENND2A</i> | <i>H2BC12</i> | <i>NKTR</i> | <i>ECI1</i> | <i>NDUFB1</i> | <i>ZNF471</i> |
| <i>KCTD15</i> | <i>KIF20B</i> | <i>SAALI</i> | <i>S100A12</i> | <i>N4BP1</i> | <i>ELP3</i> | <i>NOA1</i> |
| <i>ARL4C</i> | <i>MSL1</i> | <i>COL14A1</i> | <i>PDE4B</i> | <i>BORCS7</i> | <i>VGLL4</i> | <i>N4BP3</i> |
| <i>FAM193B</i> | <i>ZNF18</i> | <i>OPTN</i> | <i>IGKV6-21</i> | <i>TMEM187</i> | <i>FHDC1</i> | <i>ACMSD</i> |
| <i>PLEKHG2</i> | <i>MDK</i> | <i>GC</i> | <i>IL6ST</i> | <i>C6orf136</i> | <i>GFM2</i> | <i>SEPTIN11</i> |
| <i>SRM</i> | <i>RARG</i> | <i>NRBP1</i> | <i>CCPG1</i> | <i>C19orf25</i> | <i>FOXO1</i> | <i>NDUFB7</i> |
| <i>S100A10</i> | <i>LILRB1</i> | <i>RIOK1</i> | <i>CLNS1A</i> | <i>SCNN1A</i> | <i>FAM122A</i> | <i>SHISA2</i> |
| <i>ANP32E</i> | <i>NAV1</i> | <i>PAICS</i> | <i>GAB3</i> | <i>AQP7</i> | <i>ADGRF1</i> | <i>EXPH5</i> |
| <i>HK3</i> | <i>PSMD14</i> | <i>TMED9</i> | <i>CHN1</i> | <i>MSI2</i> | <i>PDGFC</i> | <i>TOP2B</i> |
| <i>EFEMP1</i> | <i>PSMC5</i> | <i>MTERF3</i> | <i>DES</i> | <i>TJP3</i> | <i>TMEM33</i> | <i>ZSWIM9</i> |
| <i>PFKFB4</i> | <i>CXCL8</i> | <i>DUS1L</i> | <i>SAMHD1</i> | <i>THRB</i> | <i>PECR</i> | <i>ILK</i> |
| <i>CHMP4A</i> | <i>C1orf162</i> | <i>LAPTM5</i> | <i>RNF220</i> | <i>SDHA</i> | <i>CCDC134</i> | <i>RCBTB2</i> |
| <i>LOX</i> | <i>PMAIP1</i> | <i>STARD4</i> | <i>MCAM</i> | <i>EZR</i> | <i>ZFHX3</i> | <i>TMEM80</i> |
| <i>RACGAP1</i> | <i>DHX34</i> | <i>BTN2A1</i> | <i>CDH5</i> | <i>TMEM129</i> | <i>AIMP2</i> | <i>ARFGEF1</i> |
| <i>RCC2</i> | <i>INTS13</i> | <i>IL12RB1</i> | <i>MAZ</i> | <i>CLDN23</i> | <i>SH3D19</i> | <i>IFRD2</i> |
| <i>DGKD</i> | <i>DOK1</i> | <i>BNIP3L</i> | <i>PPIL3</i> | <i>PKHD1</i> | <i>FARP1</i> | <i>PTBP3</i> |
| <i>POLA2</i> | <i>ZNF300</i> | <i>ZC3H12A</i> | <i>VCAN</i> | <i>VAMP2</i> | <i>ALG5</i> | <i>LDHB</i> |
| <i>KIZ</i> | <i>CEP290</i> | <i>CCDC127</i> | <i>WEE1</i> | <i>SLC25A30</i> | <i>TSPYL5</i> | <i>IQCA1</i> |
| <i>MRT04</i> | <i>FCGR3A</i> | <i>EID3</i> | <i>MTCL1</i> | <i>OXNAD1</i> | <i>MCRIP2</i> | <i>FRAT2</i> |
| <i>GABRD</i> | <i>NFIL3</i> | <i>LST1</i> | <i>CDK2AP2</i> | <i>CADPS2</i> | <i>GOLM2</i> | <i>ABHD17B</i> |
| <i>HAUS5</i> | <i>S100A11</i> | <i>CPNE5</i> | <i>SPATS2</i> | <i>SNX30</i> | <i>BBOX1</i> | <i>DAG1</i> |
| <i>STC2</i> | <i>LRRC37A3</i> | <i>PPM1F</i> | <i>KDM3A</i> | <i>CDH16</i> | <i>METTL14</i> | <i>KIFBP</i> |
| <i>ZNF207</i> | <i>CXCL11</i> | <i>ZEB2</i> | <i>GIMAP6</i> | <i>TMEM115</i> | <i>RAB11A</i> | <i>RNF141</i> |
| <i>BTBD19</i> | <i>WDR26</i> | <i>INPP5B</i> | <i>EGFL7</i> | <i>ANKMY2</i> | <i>UTP14C</i> | <i>AGO1</i> |
| <i>FMNL1</i> | <i>NUP85</i> | <i>SNRNP70</i> | <i>VPS33A</i> | <i>NUDT16</i> | <i>PCK1</i> | <i>ZNF134</i> |
| <i>ARID5A</i> | <i>NKG7</i> | <i>SIGLEC9</i> | <i>ZNF224</i> | <i>ZNF610</i> | <i>PATJ</i> | <i>AP2B1</i> |
| <i>ARRDC3</i> | <i>KISS1R</i> | <i>PTMS</i> | <i>FBXO46</i> | <i>DNASE1L3</i> | <i>CLIC4</i> | <i>SLC22A12</i> |
| <i>SSC5D</i> | <i>ST3GAL2</i> | <i>MEST</i> | <i>DIABLO</i> | <i>ENDOG</i> | <i>MTOR</i> | <i>EPAS1</i> |
| <i>INTS6L</i> | <i>ANTXR2</i> | <i>LCP2</i> | <i>ZCCHC8</i> | <i>LMBRD1</i> | <i>MDH2</i> | <i>NOXA1</i> |
| <i>OLFML1</i> | <i>MAP3K20</i> | <i>RRP1</i> | <i>SYNGR2</i> | <i>SC5D</i> | <i>CES2</i> | <i>OGG1</i> |
| <i>PON2</i> | <i>SEC24D</i> | <i>CD276</i> | <i>ZNF302</i> | <i>FAM120A</i> | <i>GRTP1</i> | <i>REXO4</i> |
| <i>IGHG2</i> | <i>PARVG</i> | <i>DKK3</i> | <i>SNAPIN</i> | <i>AHCYL2</i> | <i>FUZ</i> | <i>JAK1</i> |
| <i>NFKBIZ</i> | <i>GTF3A</i> | <i>CHSY1</i> | <i>METTL21A</i> | <i>DNAJA4</i> | <i>TMEM203</i> | <i>ATE1</i> |
| <i>IGKV1-5</i> | <i>MXRA8</i> | <i>GOLT1A</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>FIS1</i> | <i>MRPS35</i> | <i>AKR7A2</i> |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| <i>PFDN2</i> | <i>ZNF354A</i> | <i>GGT5</i> | <i>IFNGR1</i> |
| <i>ITIH3</i> | <i>USP13</i> | <i>CDC27</i> | <i>TMTC1</i> |
| <i>UFD1</i> | <i>FAM102B</i> | <i>FHL2</i> | <i>E4F1</i> |
| <i>MTCP1</i> | <i>TRIM27</i> | <i>REN</i> | <i>ABCD1</i> |
| <i>ETV6</i> | <i>B3GNT4</i> | <i>GOLGA3</i> | <i>COTL1</i> |
| <i>SNAI2</i> | <i>SIPA1</i> | <i>TUBG1</i> | <i>PCDHB6</i> |
| <i>PTGIS</i> | <i>CREB3L3</i> | <i>SASH3</i> | <i>CRIP1</i> |
| <i>TOR3A</i> | <i>HOXC6</i> | <i>CPSF1</i> | <i>SLC12A8</i> |
| <i>FCGR1A</i> | <i>METTL1</i> | <i>RAB8A</i> | <i>ILF2</i> |
| <i>SHMT2</i> | <i>ZBTB25</i> | <i>TAP1</i> | <i>MAX</i> |
| <i>ISG20</i> | <i>ZNF841</i> | <i>MAP1A</i> | <i>ZC3H11A</i> |
| <i>IGHV3-48</i> | <i>SPIN4</i> | <i>ATP10A</i> | <i>MRPL38</i> |
| <i>ISLR</i> | <i>IGKV3D-20</i> | <i>RPL28</i> | <i>RXRA</i> |
| <i>MGAT3</i> | <i>C8orf58</i> | <i>MBOAT7</i> | <i>HGF</i> |
| <i>MAGOHB</i> | <i>MAP4K4</i> | <i>SAMD9L</i> | <i>TNFAIP6</i> |
| <i>LDLRAD3</i> | <i>EEF1B2</i> | <i>SCNN1D</i> | <i>SSRP1</i> |
| <i>SLC25A43</i> | <i>FAM114A1</i> | <i>FKBP1A</i> | <i>AFF3</i> |
| <i>IGLV1-47</i> | <i>LRG1</i> | <i>GFOD1</i> | <i>WFDC12</i> |
| <i>TAP2</i> | <i>SMIM10</i> | <i>TRBV29-1</i> | <i>RELA</i> |
| <i>DDX11</i> | <i>AP4B1</i> | <i>POC5</i> | <i>DGCR8</i> |
| <i>NID1</i> | <i>NEDD4</i> | <i>ZSCAN26</i> | <i>ALOX5AP</i> |
| <i>EIF2B4</i> | <i>PSMB1</i> | <i>CD14</i> | <i>FLNC</i> |
| <i>MYC</i> | <i>ERGIC2</i> | <i>RPL5</i> | <i>SQLE</i> |
| <i>GBP5</i> | <i>THBS2</i> | <i>APOC3</i> | <i>CSF3R</i> |
| <i>TBX15</i> | <i>GNG2</i> | <i>STK26</i> | <i>SORCS3</i> |
| <i>INHBE</i> | <i>THG1L</i> | <i>RPL19</i> | <i>KRT17</i> |
| <i>STK17B</i> | <i>GART</i> | <i>SLPI</i> | <i>SREK1</i> |
| <i>PDGFRB</i> | <i>OSMR</i> | <i>ITGAM</i> | <i>TSC22D2</i> |
| <i>SERPINE1</i> | <i>OR211P</i> | <i>ARHGAP15</i> | <i>CD52</i> |
| <i>GLMN</i> | <i>FAM160B1</i> | <i>SEPTIN8</i> | <i>SELPLG</i> |
| <i>IGLL5</i> | <i>SYNJ2</i> | <i>MINPP1</i> | <i>C5orf24</i> |
| <i>CCDC88A</i> | <i>C11orf98</i> | <i>LYVE1</i> | <i>PRPF40A</i> |
| <i>BGN</i> | <i>ECM2</i> | <i>HCN2</i> | <i>CASP7</i> |
| <i>IGKV1-9</i> | <i>ANO1</i> | <i>UBA6</i> | <i>LTBR</i> |
| <i>TGFB111</i> | <i>IGHV3-33</i> | <i>UBE2G2</i> | <i>LDLR</i> |
| <i>RPL38</i> | <i>INSIG2</i> | <i>ZMYND8</i> | <i>SLC6A9</i> |
| <i>PML</i> | <i>LRRC17</i> | <i>TRIM62</i> | <i>PSMB6</i> |
| <i>ANXA2R</i> | <i>TMEM138</i> | <i>ITGB1BP1</i> | <i>RPGRIP1L</i> |
| <i>SLC2A3</i> | <i>IGHV4-61</i> | <i>ZDHHC17</i> | <i>MYBBP1A</i> |
| <i>RWDD3</i> | <i>KCNMB1</i> | <i>CTSK</i> | <i>POP1</i> |
| <i>KMO</i> | <i>DAP3</i> | <i>FASN</i> | <i>BZW2</i> |
| <i>MORC2</i> | <i>EVL</i> | <i>FAM76B</i> | <i>POP7</i> |
| <i>IGLV1-44</i> | <i>MGP</i> | <i>RASL12</i> | <i>TAF1</i> |
| <i>IGKV1-12</i> | <i>TCAF2</i> | <i>PLCB2</i> | <i>PPP4R3B</i> |
| <i>SEC61G</i> | <i>KCMF1</i> | <i>IGHV3-13</i> | <i>TNFAIP3</i> |
| <i>LIMK1</i> | <i>TBK1</i> | <i>TCF4</i> | <i>ANXA4</i> |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | |
|----------------|-----------------|------------------|
| <i>GAS8</i> | <i>BAIAP3</i> | <i>C17orf107</i> |
| <i>HABP4</i> | <i>SLC25A40</i> | <i>EXOSC7</i> |
| <i>TXNRD2</i> | <i>EPN3</i> | <i>ZC3H13</i> |
| <i>CCDC25</i> | <i>KLHL8</i> | <i>TAL2</i> |
| <i>GNAQ</i> | <i>ZNF112</i> | <i>MCRS1</i> |
| <i>LMTK2</i> | <i>SLC6A20</i> | <i>TXNRD3</i> |
| <i>GSTZ1</i> | <i>TMX2</i> | <i>MTMR14</i> |
| <i>INPP5J</i> | <i>VWA5A</i> | <i>LRRC47</i> |
| <i>PDHA1</i> | <i>ARMCX3</i> | <i>PXMP2</i> |
| <i>MTCH1</i> | <i>PANK4</i> | <i>MYO10</i> |
| <i>GFM1</i> | <i>SLC25A38</i> | <i>CHIC1</i> |
| <i>ANKRD9</i> | <i>GPRC5C</i> | <i>HELQ</i> |
| <i>ZDHHC4</i> | <i>STX17</i> | <i>MTUS1</i> |
| <i>TBC1D19</i> | <i>ZBTB3</i> | <i>SLC29A2</i> |
| <i>PLCXD2</i> | <i>SMU1</i> | <i>LIMA1</i> |
| <i>KATNAL2</i> | <i>C12orf75</i> | <i>CMTM8</i> |
| <i>CLCNKB</i> | <i>KANK3</i> | <i>MIA2</i> |
| <i>ADD1</i> | <i>C8orf82</i> | <i>DNAJC6</i> |
| <i>FBXO8</i> | <i>CEP104</i> | <i>FMO1</i> |
| <i>MTMR12</i> | <i>RBBP8</i> | <i>LYNX1</i> |
| <i>RDH11</i> | <i>PCBP1</i> | <i>VAMP7</i> |
| <i>HOXB8</i> | <i>RAD54L2</i> | <i>ZNF775</i> |
| <i>ESRRA</i> | <i>SLC44A2</i> | <i>NEMF</i> |
| <i>RANBP6</i> | <i>SLC35F5</i> | <i>ANKRD28</i> |
| <i>ZNF324</i> | <i>CCDC8</i> | <i>SLC38A7</i> |
| <i>SHROOM2</i> | <i>WDR1</i> | <i>PODXL</i> |
| <i>SEC22C</i> | <i>BCAS3</i> | <i>UQCRB</i> |
| <i>SPINT1</i> | <i>SLC25A26</i> | <i>SPCS1</i> |
| <i>SNX29</i> | <i>FAM189A2</i> | <i>ACY1</i> |
| <i>MICU2</i> | <i>ZNF837</i> | <i>CABIN1</i> |
| <i>LIFR</i> | <i>SPIN2B</i> | <i>EIF2B2</i> |
| <i>HERC2</i> | <i>SP2</i> | <i>ABCBI</i> |
| <i>EPS8</i> | <i>PDHX</i> | <i>CAPG</i> |
| <i>LUZP1</i> | <i>PGM5</i> | <i>RHOBTB2</i> |
| <i>ATP6V1H</i> | <i>SNN</i> | <i>GTF3C4</i> |
| <i>ZDHHC23</i> | <i>RBM15B</i> | <i>PRR14L</i> |
| <i>FLRT3</i> | <i>NDUFAF3</i> | <i>PIP5K1C</i> |
| <i>CYP4V2</i> | <i>CCDC121</i> | <i>MRM3</i> |
| <i>SNX12</i> | <i>GPR107</i> | <i>C4orf33</i> |
| <i>ZNF304</i> | <i>GALK2</i> | <i>SYPL2</i> |
| <i>TMEM143</i> | <i>DEFB1</i> | <i>ALDH7A1</i> |
| <i>USP22</i> | <i>INTS9</i> | <i>GON7</i> |
| <i>TRHDE</i> | <i>SMAD4</i> | <i>ALKBH4</i> |
| <i>FABP3</i> | <i>CLUH</i> | <i>MTARC2</i> |
| <i>GLG1</i> | <i>PNMA6A</i> | <i>QRFPFR</i> |
| <i>TBC1D13</i> | <i>FIBIN</i> | <i>ST13</i> |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| <i>CARD11</i> | <i>MFSD2A</i> | <i>MUTYH</i> | <i>TUBD1</i> |
| <i>LY6E</i> | <i>FGA</i> | <i>THUMP2</i> | <i>IP6K3</i> |
| <i>SLA2</i> | <i>PCID2</i> | <i>MAP7D2</i> | <i>SENP6</i> |
| <i>LIF</i> | <i>GNA15</i> | <i>SLC25A28</i> | <i>PCDHB14</i> |
| <i>SLC16A1</i> | <i>CNIH4</i> | <i>HNRNPC</i> | <i>GTF2H5</i> |
| <i>KDELR2</i> | <i>ERCC3</i> | <i>ALG9</i> | <i>SEC63</i> |
| <i>IGLV3-10</i> | <i>OAS2</i> | <i>ADAR</i> | <i>MCMBP</i> |
| <i>VOPP1</i> | <i>TFAP4</i> | <i>OST4</i> | <i>SH2B3</i> |
| <i>PAK11P1</i> | <i>ADGRE2</i> | <i>SPRED1</i> | <i>TMSB4X</i> |
| <i>NCF4</i> | <i>SLC25A37</i> | <i>PRPF38A</i> | <i>CANT1</i> |
| <i>TRIT1</i> | <i>CST7</i> | <i>PLEKHA5</i> | <i>PLPPR5</i> |
| <i>ZBTB80S</i> | <i>IGKV1-6</i> | <i>FBN1</i> | <i>DYNLT2B</i> |
| <i>COL5A3</i> | <i>CYP1B1</i> | <i>DDX49</i> | <i>IRAK3</i> |
| <i>EBPL</i> | <i>TRPM2</i> | <i>COPZ1</i> | <i>RPP38</i> |
| <i>TEPSIN</i> | <i>HPCAL1</i> | <i>MRPL14</i> | <i>UROS</i> |
| <i>TOX2</i> | <i>CMTM3</i> | <i>ARHGAP19</i> | <i>HES4</i> |
| <i>TRBV28</i> | <i>BTF3L4</i> | <i>IL1B</i> | <i>C1QTNF3</i> |
| <i>RPP40</i> | <i>P3H4</i> | <i>NOL10</i> | <i>KLHL29</i> |
| <i>IRF9</i> | <i>RPS4X</i> | <i>RNF135</i> | <i>ADM</i> |
| <i>FXYD1</i> | <i>FBL</i> | <i>SCD</i> | <i>SLC27A3</i> |
| <i>ST20</i> | <i>SAMS1</i> | <i>CCDC88B</i> | <i>CCT3</i> |
| <i>PRR5L</i> | <i>TNFRSF4</i> | <i>TRDC</i> | <i>LRRC41</i> |
| <i>RPL27</i> | <i>IGKV2-30</i> | <i>C2CD2</i> | <i>RNASEH2C</i> |
| <i>KNTC1</i> | <i>PCED1B</i> | <i>CWC22</i> | <i>UGGT1</i> |
| <i>INHBA</i> | <i>LIMK2</i> | <i>ATAT1</i> | <i>TMCO6</i> |
| <i>DACT3</i> | <i>MAPKAPK2</i> | <i>DNTTIP2</i> | <i>NEMP2</i> |
| <i>LOXL3</i> | <i>FKBP7</i> | <i>GMNN</i> | <i>IRF2BP2</i> |
| <i>SBNO2</i> | <i>OSGEP</i> | <i>TSPAN5</i> | <i>SPPL2B</i> |
| <i>PARP6</i> | <i>CSNK1E</i> | <i>SMS</i> | <i>TRIM54</i> |
| <i>UTP14A</i> | <i>ABCC3</i> | <i>ZSWIM4</i> | <i>ZNF432</i> |
| <i>UBE2S</i> | <i>IGHV3-74</i> | <i>CD69</i> | <i>DAPK3</i> |
| <i>SMPD4</i> | <i>PSMD12</i> | <i>IDUA</i> | <i>DERL2</i> |
| <i>RER1</i> | <i>TARBP2</i> | <i>EPHB3</i> | <i>EXOSC9</i> |
| <i>ZNF7</i> | <i>TTC17</i> | <i>ZNF195</i> | <i>CLASP1</i> |
| <i>DCBLD1</i> | <i>EDEM2</i> | <i>CLTB</i> | <i>ATP13A1</i> |
| <i>VIM</i> | <i>DXO</i> | <i>ZYX</i> | <i>CSRNP2</i> |
| <i>KCNK1</i> | <i>PDE1B</i> | <i>SAMD1</i> | <i>SLC44A5</i> |
| <i>MYO1G</i> | <i>TPD52</i> | <i>TENT4A</i> | <i>FRRS1</i> |
| <i>CBX4</i> | <i>IGHV4-28</i> | <i>RNF19A</i> | <i>KSR1</i> |
| <i>MSRB3</i> | <i>EIF31</i> | <i>HNRNPA2B1</i> | <i>TP11</i> |
| <i>DCLRE1C</i> | <i>CD2</i> | <i>VPS16</i> | <i>CORO2A</i> |
| <i>IGHG4</i> | <i>PLAGL1</i> | <i>SNX10</i> | <i>IL11RA</i> |
| <i>PLXDC1</i> | <i>SH2D1A</i> | <i>KLHL4</i> | <i>GTDC1</i> |
| <i>CCL20</i> | <i>UBE2V2</i> | <i>TTPAL</i> | <i>NPL</i> |
| <i>IGHV3-21</i> | <i>OB11</i> | <i>CLIC1</i> | <i>RPL13</i> |
| <i>SH3GL1</i> | <i>ZFP69</i> | <i>SAE1</i> | <i>LSM6</i> |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | |
|-----------------|------------------|-----------------|
| <i>PHYHIPL</i> | <i>MMGT1</i> | <i>PRKCI</i> |
| <i>WDR48</i> | <i>SDHAF4</i> | <i>EIF4EBP3</i> |
| <i>ISCA2</i> | <i>NMNAT3</i> | <i>MAPK10</i> |
| <i>NARS1</i> | <i>ARSD</i> | <i>SPON1</i> |
| <i>ATP6V1G1</i> | <i>ZNF554</i> | <i>PDXDC1</i> |
| <i>MIEF2</i> | <i>NBR1</i> | <i>CFAP94</i> |
| <i>TBC1D5</i> | <i>DDRKG1</i> | <i>COG7</i> |
| <i>TMEM252</i> | <i>ATP6AP2</i> | <i>RNF11</i> |
| <i>RAPGEF2</i> | <i>C19orf71</i> | <i>INPP5A</i> |
| <i>TMEM61</i> | <i>ZNF543</i> | <i>DHDH</i> |
| <i>DECR1</i> | <i>REEP5</i> | <i>ALCAM</i> |
| <i>SORL1</i> | <i>FMC1</i> | <i>UTP3</i> |
| <i>NRXN3</i> | <i>ACE2</i> | <i>PAFAH1B1</i> |
| <i>SLC22A2</i> | <i>CDK20</i> | <i>GMPPB</i> |
| <i>PCP4</i> | <i>RNH1</i> | <i>ACOT8</i> |
| <i>AJAP1</i> | <i>DDX10</i> | <i>CTIF</i> |
| <i>SALL1</i> | <i>TERF2IP</i> | <i>MYO18A</i> |
| <i>SETDB2</i> | <i>ZSCAN31</i> | <i>TBCK</i> |
| <i>GCNT4</i> | <i>PER3</i> | <i>HPGD</i> |
| <i>NDUFAB1</i> | <i>GMPR2</i> | <i>TANGO6</i> |
| <i>SGMS1</i> | <i>MBTPS1</i> | <i>GID8</i> |
| <i>SATB1</i> | <i>TFAM</i> | <i>RBMS2</i> |
| <i>ARHGEF3</i> | <i>MMAA</i> | <i>ZDHH2</i> |
| <i>LGR4</i> | <i>RAB11FIP5</i> | <i>GALNT12</i> |
| <i>PRRG1</i> | <i>TRIM69</i> | <i>DHRS11</i> |
| <i>NDUFA10</i> | <i>CREBL2</i> | <i>LETMD1</i> |
| <i>MTSS1</i> | <i>SFXN2</i> | <i>TPD52L1</i> |
| <i>C16orf86</i> | <i>AP5B1</i> | <i>CEP170B</i> |
| <i>CHCHD10</i> | <i>SCD5</i> | <i>HOOK2</i> |
| <i>FAM200A</i> | <i>TUB</i> | <i>FTCDNL1</i> |
| <i>MEGF8</i> | <i>AFTPH</i> | <i>CLDN8</i> |
| <i>ABHD2</i> | <i>ATP5PF</i> | <i>MCUR1</i> |
| <i>TCAIM</i> | <i>NUP214</i> | <i>ZNF611</i> |
| <i>LRRC1</i> | <i>STAT5B</i> | <i>FBXL2</i> |
| <i>UCK1</i> | <i>MAL2</i> | <i>C6orf226</i> |
| <i>FREM2</i> | <i>SMIM10L2B</i> | <i>POLDIP3</i> |
| <i>PFKM</i> | <i>DBP</i> | <i>TIMD4</i> |
| <i>ALG2</i> | <i>PRKD1</i> | <i>TMBIM1</i> |
| <i>ANKDD1B</i> | <i>CBX7</i> | <i>CITED2</i> |
| <i>TRMT2B</i> | <i>GPR143</i> | <i>DNAJA1</i> |
| <i>TMEM184C</i> | <i>DEPDC5</i> | <i>SPINT2</i> |
| <i>DCTN1</i> | <i>EXTL3</i> | <i>ECHDC3</i> |
| <i>VPS37C</i> | <i>CCNG2</i> | <i>DHTKD1</i> |
| <i>NDFIPI</i> | <i>MYO5C</i> | <i>COQ10A</i> |
| <i>ATG4D</i> | <i>ATP6V1F</i> | <i>SMIM27</i> |
| <i>RCL1</i> | <i>UBE3B</i> | <i>FAM135A</i> |

prognostisch unvorteilhaft im RCC

| | | | |
|-----------|----------|----------|---------|
| MZT2B | MAPK12 | SNRPC | NOD1 |
| COL8A1 | CASP2 | ALPK2 | TERF1 |
| RHOG | SLC6A1 | IGHV1-58 | COPS6 |
| PLTP | CDK18 | TNFRSF1B | PPWD1 |
| IGLV3-21 | MILR1 | NCLN | HEATR6 |
| AP3S1 | SPHK1 | FNBP1 | FBXO32 |
| FADS2 | CXCL9 | HSD17B7 | METTL8 |
| SSR2 | HEATR3 | THBS1 | HACD4 |
| FAAP100 | RPL23A | ENTR1 | ZNF143 |
| TEAD3 | PDCD6 | SLAMF7 | VCPKMT |
| WSB1 | CAVIN3 | RASSF1 | RETREG3 |
| HMG3 | SUMO2 | SNRPD2 | RARRES2 |
| CIR1 | STK32C | AGAP3 | QSER1 |
| SRSF2 | IGHJ2 | CNOT2 | AGFG1 |
| CCL8 | ZCCHC24 | SHISA5 | RPL6 |
| SULF1 | EXT2 | COPS3 | PCDHB2 |
| MSH6 | DCUN1D3 | LMCD1 | IFIT2 |
| RNF128 | VAMP4 | SIGLEC1 | ADCY4 |
| ARPC2 | CNN1 | NADSYN1 | CFD |
| AKAP8L | EIF2S3 | KANK2 | F12 |
| IRF1 | IGLV1-40 | BHLHE41 | BACH1 |
| GZMB | TTC32 | PPP1R15B | MCL1 |
| MED8 | FGD6 | BCL2L12 | KLC1 |
| FANCL | PHACTR1 | AGR2 | TULP3 |
| IDO1 | IGKJ5 | NAT10 | SEM1 |
| NCAPD2 | SSR4 | IGKV1-27 | NSD2 |
| MGME1 | SLC25A14 | GUK1 | CMAS |
| CP | NETO2 | ARHGEF19 | ELFN2 |
| NXT1 | RTN2 | CD5 | SMIM30 |
| SLC35G2 | WAS | EOGT | CEBPG |
| CCDC137 | PRELP | PECAM1 | ORC3 |
| PHF19 | TRMU | E2F1 | DR1 |
| C1orf52 | MYO9B | ERCC1 | KDR |
| LSM12 | PEL1 | GPRC5A | TTC27 |
| SLC1A5 | NT5DC3 | MRPL18 | CEP43 |
| SKIL | SHROOM1 | TLCD1 | RPL9 |
| PTGDS | PSMD11 | NOLC1 | PTEN |
| LHFPL6 | FEN1 | PRTFDC1 | BTG3 |
| PIAS3 | PRICKLE3 | NFYB | IKZF3 |
| APOL2 | H4C3 | CUL2 | ACAT2 |
| TAZ | NOP16 | KRT10 | UNC93B1 |
| TUBB6 | ZNF580 | RSU1 | ERVK3-1 |
| TNFAIP8L1 | SSR1 | CD3G | CYTL1 |
| RFTN1 | PRAF2 | LMNB2 | GJA4 |

prognostisch vorteilhaft im RCC

| | | |
|----------|----------|---------|
| ZNF250 | SPATA7 | C4orf3 |
| SDC4 | RYBP | MNAT1 |
| COG8 | RNF41 | FOXO4 |
| PKIB | YWHAB | DTNB |
| ANO5 | FLVCR2 | NDUFA1 |
| COL4A3 | ZHX3 | CD83 |
| ARL6 | PROM1 | DCAF7 |
| TRPM4 | FGF1 | GLDC |
| PDZK1 | SPHK2 | RNF183 |
| NDUFA9 | SPTBN1 | ZBTB10 |
| MLYCD | TMX4 | NFIB |
| PRKCE | CCDC85C | CTNND1 |
| DTNA | SLC27A4 | SCAMP4 |
| ANAPC13 | HACL1 | ARRDC1 |
| CDC37L1 | USP51 | MANBAL |
| CPT1A | DNAJC11 | SPOPL |
| PIGH | CMC2 | DZIP3 |
| CLMN | GDA | TAOK2 |
| KBTBD4 | SLC49A3 | MYLIP |
| BRD3 | TRAPPC11 | ANAPC2 |
| ISCU | ROGDI | ALDH5A1 |
| ZNF443 | OCIAD2 | MCCC1 |
| DBNDD1 | SLC19A2 | ZC3H18 |
| FH | FAM171A1 | PMEL |
| TRMT9B | COMMD8 | NUDT8 |
| MAP1LC3B | ABLIM1 | LENG1 |
| CHMP5 | PPM1H | PPFIA1 |
| MRFAP1 | DYNC2LI1 | ERICH5 |
| EFHD1 | ZFPL1 | KLHL2 |
| SDHB | CYP2U1 | PHB |
| NIPAL3 | KRAS | DAAM1 |
| LNXI | DYM | ZNF836 |
| BCAR3 | PLXNB1 | UGT2B7 |
| OSBP | ELMO3 | PEX3 |
| PARD6A | TENT5C | ASH1L |
| PRDM4 | MACF1 | HSPA8 |
| SLC16A11 | UBXN6 | SPAG16 |
| CREBRF | RABL3 | PCMTD2 |
| PFKFB2 | DALRD3 | QRSL1 |
| KLF15 | MRFAP1L1 | ISCA1 |
| ARHGEF5 | TMTC2 | TMEM98 |
| PKP4 | NUDT12 | ESYT1 |
| BAP1 | RPS6KA2 | ZFP30 |
| KBTBD3 | NF2 | FAM200B |

8.11.5 Mutationen im RANBP3L-Genom

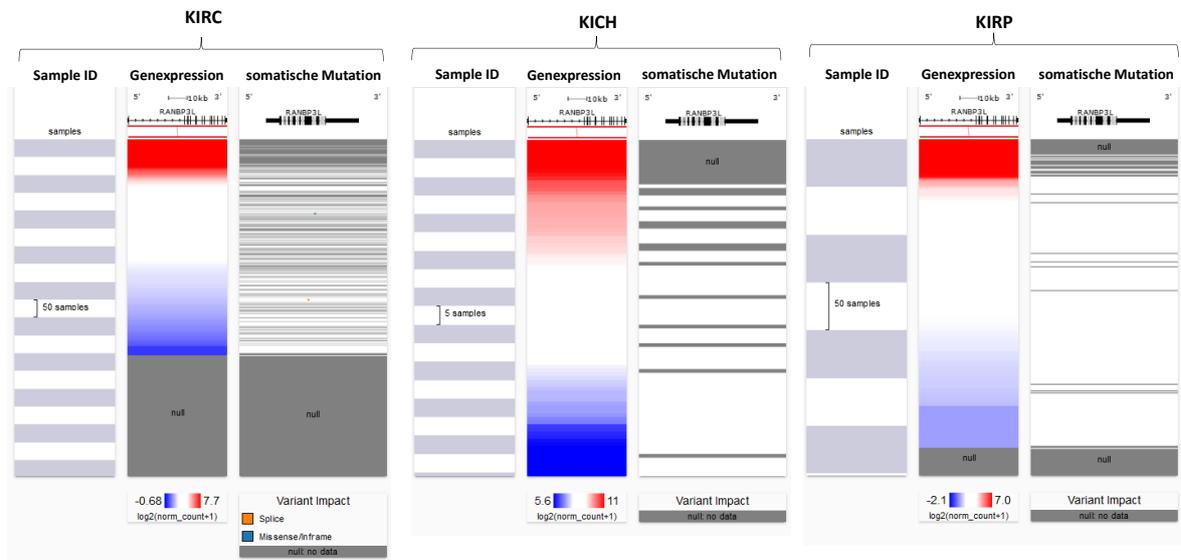


Abbildung 64: Mutationsprofil von *RANBP3L* im RCC.

Mittels der TCGA-Datenbank wurde das Mutationsprofil von *RANBP3L* in KIRC (A), KICH (B) und KIRP (C) untersucht [82, 84] [85] (Datenstand: 1.08.2022).

8.12 Expressionsanalysen in anderen RCC-Datensets

8.12.1 Expression ausgewählter Gene in einem KIRC-ähnlichen Mausmodell

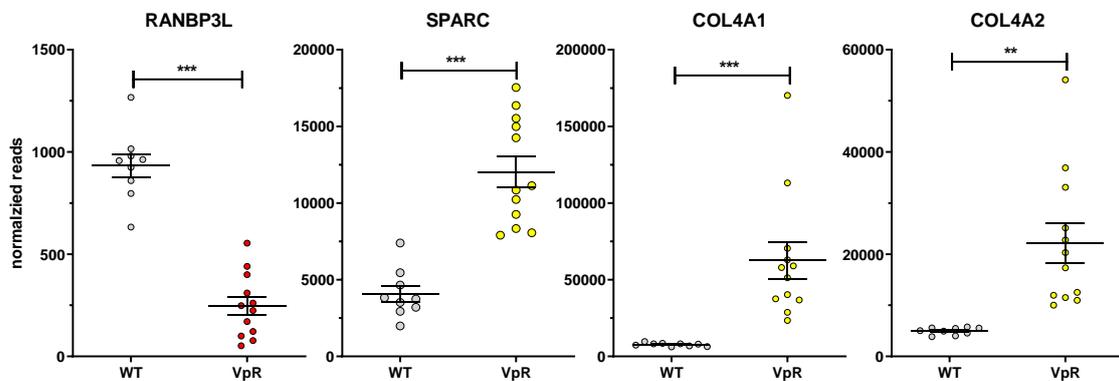


Abbildung 65: Expression von *Ranbp3l*, *Sparc*, *Col4a1* und *Col4a2* in WT und *Vhl*^{Δ/Δ} *Trp53*^{Δ/Δ} *Rb1*^{Δ/Δ} Mäusen (VpR).

Die NGS-Analysen aus einem KIRC-induzierenden-Mausmodell zeigen im Vergleich zu WT-Kontrolltieren eine signifikante Herabregulierung von *Ranbp3l* sowie eine Hochregulierung von *Sparc*, *Col4a1* und *Col4a2* (Mittelwerte ± SEM (Fehlerbalken), n = 7-12, **, p<0,01, ***, p<0,001, Student's-T-Test, Daten bezogen aus aus [77, 148] [85]).

8.12.2 RANBP3L-Expression im CDC

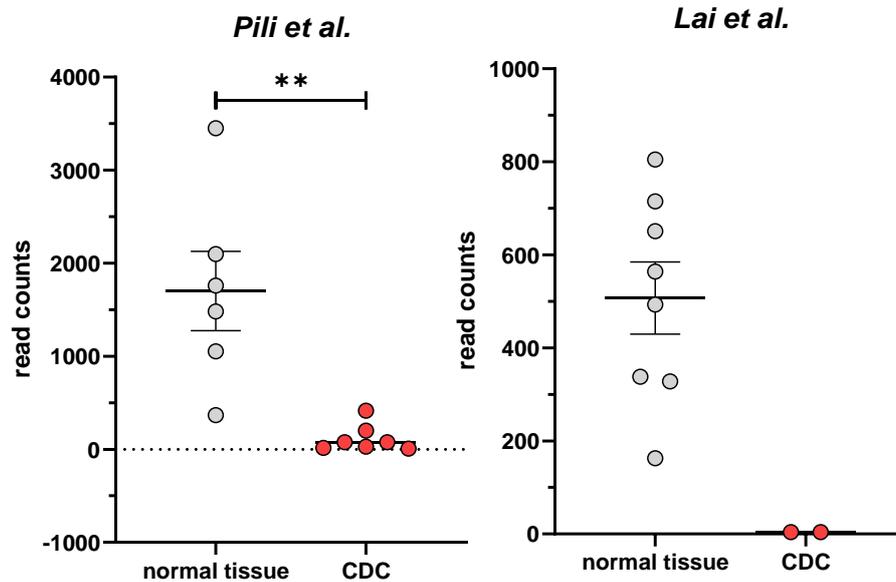


Abbildung 66: Expression von RANBP3L in zwei unabhängigen CDC-Datensätzen.

Die Genexpressionsanalysen beider Studien, links [178] und rechts [229], zeigen eine Herunterregulation von RANBP3L in dem Nieren-Sammelrohrkarzinom-Subtyp (CDC = *Collecting duct carcinoma*) (Mittelwerte \pm SEM (Fehlerbalken), $n = 2-8$, **, $p < 0,01$, Student's-T-Test).

8.13 RANBP3L überexprimierende mpkCCD-Zellen

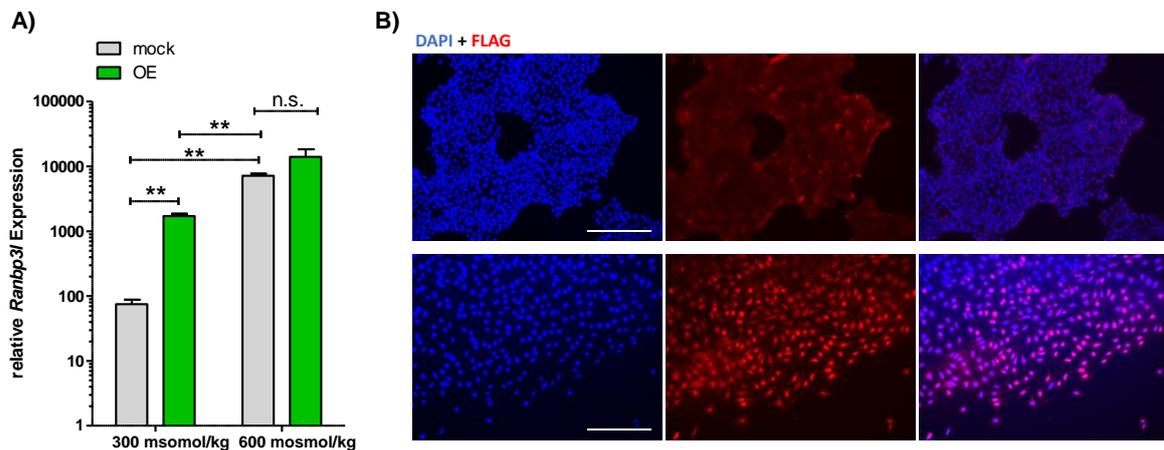


Abbildung 67: Überexpression von RANBP3L in mpkCCD-Zellen.

A) qPCR Analyse bei 300 mosmol/kg sowie 600 mosmol/kg von Kontrollzellen (mock, grau) und RANBP3L überexprimierenden (OE, grün) mpkCCD-Zellen. Mittelwerte \pm SEM (Fehlerbalken), $n = 3$, n.s., $p > 0,05$, **, $p < 0,01$, 1-Weg-ANOVA. **B)** Die mpkCCD-Zellen (mock und OE) wurden auf Deckgläsern in 24-well Platten ausgesetzt. Bei gewünschter Konfluenz erfolgte die Fixierung der Zellen in 5 %iger Formaldehydlösung. Immunfluoreszenzaufnahmen nach Flag-Färbung, gekoppelt mit Alexa Fluor-568, zeigt spezifisches Kernsignal in RANBP3L-überexprimierenden-Zellen. DAPI diente als Kernmarker. Die Färbung der Zellen mit dem FLAG-Antikörper sowie die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die mock- und OE-Probe (OE = *over expression*, unten) aber nicht in Kontrollzellen (mock, oben) (Maßstabsleiste: 500 μm).

8.14 Immunfluoreszenzanalyse von c-JUN und Smad2

8.14.1 c-JUN-Färbung

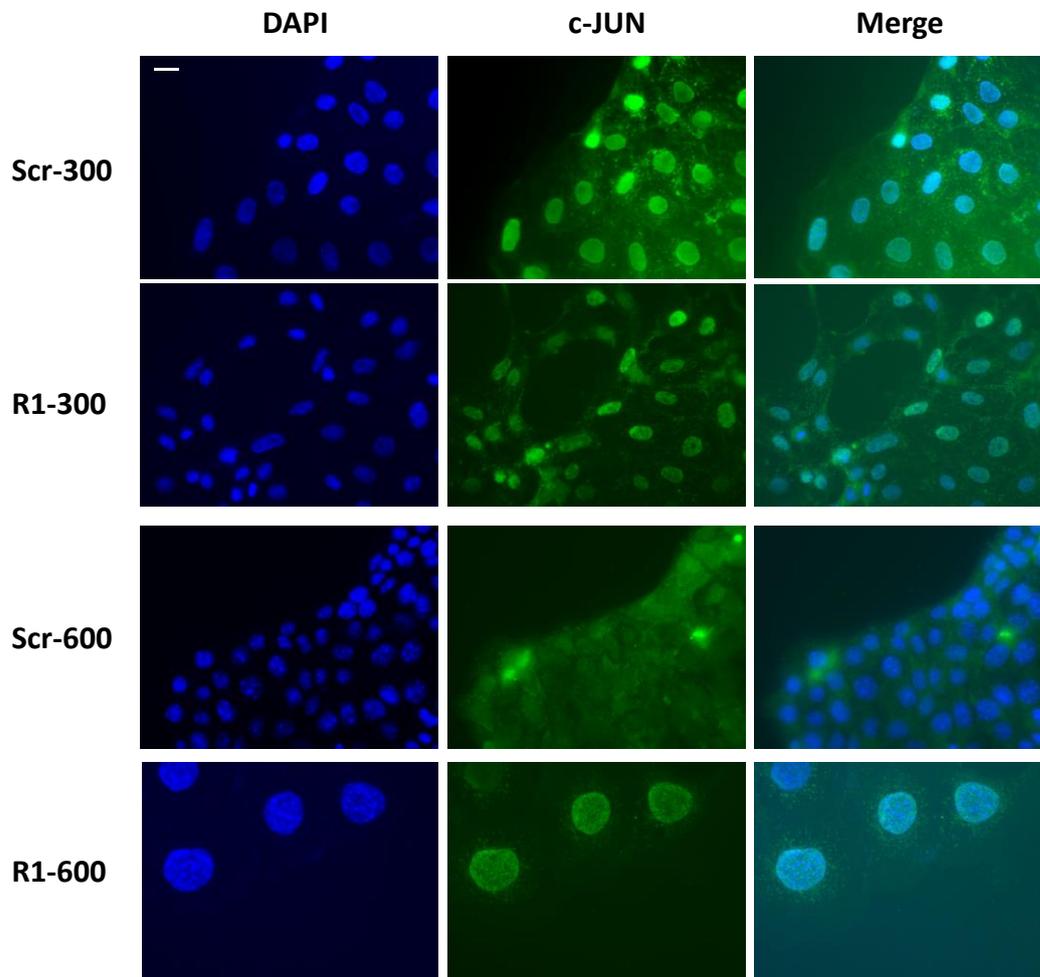


Abbildung 68: Immunfluoreszenzanalyse von c-JUN in Scr- und R1-mpkCCD-Zellen.

Die mpkCCD-Zellen (Scr und R1) wurden auf Deckgläsern in 24-well Platten ausgesetzt. Bei gewünschter Konfluenz erfolgte die Fixierung der Zellen in 5 %iger Formaldehydlösung. Immunfluoreszenzaufnahmen nach Färbung von Scr- und R1-mpkCCD-Zellen mit c-JUN Antikörper. Bei 300 mosmol/kg ist eine starke Kernlokalisierung beider Signale zu erkennen. Dieses ist unter 600 mosmol/kg in Scr-Zellen allerdings nicht mehr nachweisbar. Allerdings zeigen R1-mpkCCD-Zellen auch bei 600 mosmol/kg weiterhin eine starke Kernlokalisierung des c-Jun-Signals. Die Färbung der Zellen mit dem c-JUN-Antikörper sowie die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die Scr- und R1-Probe.

8.14.2 Phospho c-JUN-Färbung

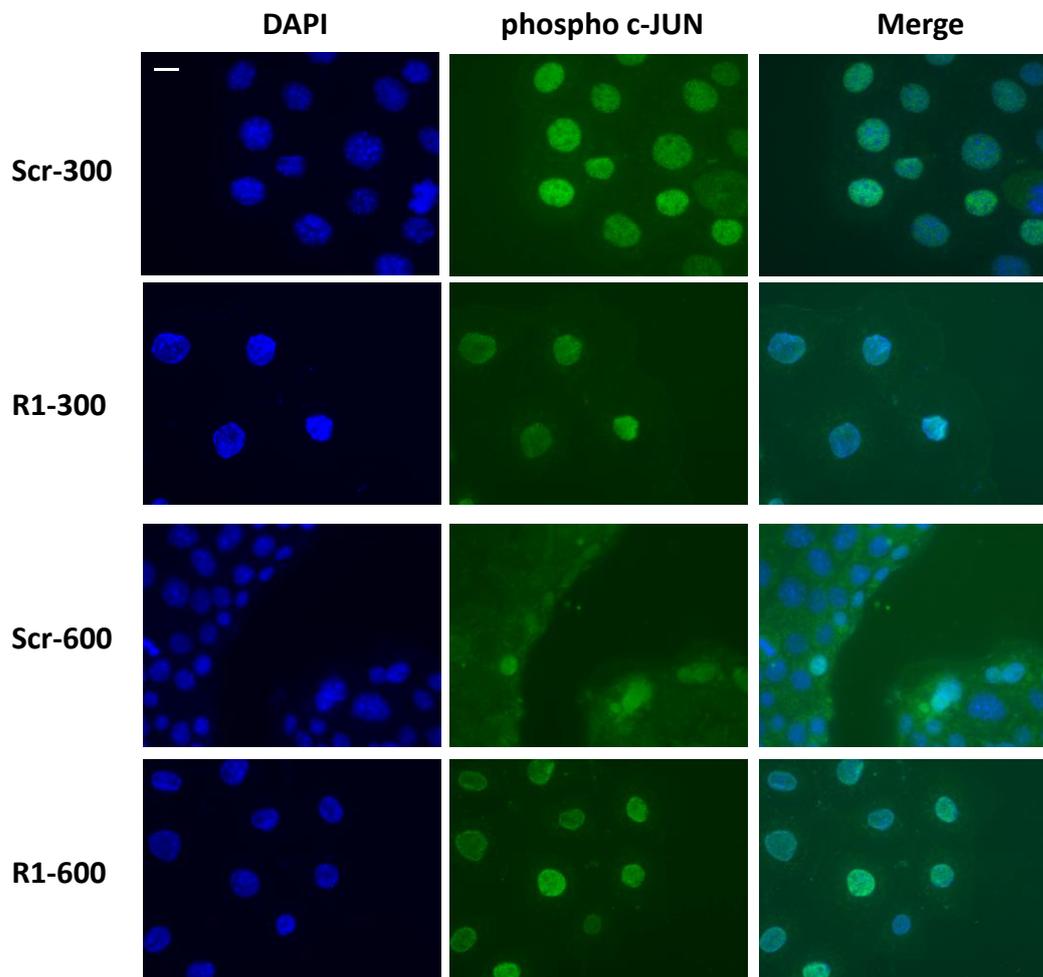


Abbildung 69: Immunfluoreszenzanalyse von phosphoryliertem c-JUN in Scr- und R1-mpkCCD-Zellen.

Die mpkCCD-Zellen (Scr und R1) wurden auf Deckgläsern in 24-well Platten ausgesetzt. Bei gewünschter Konfluenz erfolgte die Fixierung der Zellen in 5 % iger Formaldehydlösung. Immunfluoreszenzaufnahmen nach Färbung von Scr- und R1-mpkCCD-Zellen mit phosphoryliertem c-JUN (Antikörper). Bei 300 mosmol/kg ist eine starke Kernlokalisierung beider Signale zu erkennen. Dieses ist unter 600 mosmol/kg in Scr-Zellen allerdings nicht mehr nachweisbar. Allerdings zeigen R1-mpkCCD-Zellen auch bei 600 mosmol/kg weiterhin eine starke Kernlokalisierung des phospho-cJun-Signals. Die Färbung der Zellen mit dem phospho-c-JUN-Antikörper sowie die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die Scr- und R1-Probe.

8.14.3 SMAD2-Färbung

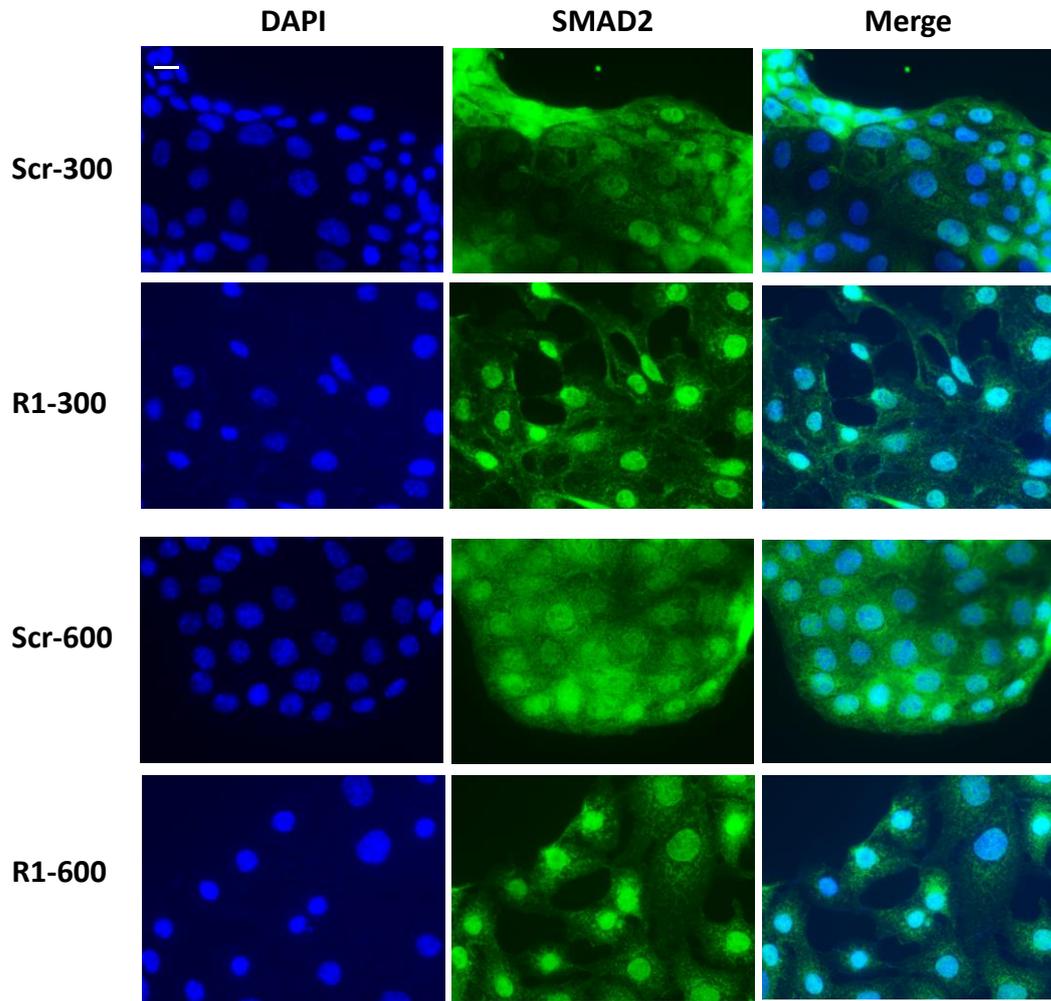


Abbildung 70: Immunfluoreszenzanalyse von SMAD2 in Scr- und R1-mpkCCD-Zellen.

Die mpkCCD-Zellen (Scr und R1) wurden auf Deckgläsern in 24-well Platten ausgesetzt. Bei gewünschter Konfluenz erfolgte die Fixierung der Zellen in 5 % iger Formaldehydlösung. Immunfluoreszenzaufnahmen nach Färbung von Scr- und R1-mpkCCD-Zellen mit SMAD2 Antikörper. Bei 300 mosmol/kg ist eine starke Kernlokalisierung beider Signale zu erkennen. Dieses ist unter 600 mosmol/kg in Scr-Zellen allerdings nicht mehr nachweisbar. Allerdings zeigen R1-mpkCCD-Zellen auch bei 600 mosmol/kg weiterhin eine starke Kernlokalisierung des SMAD2-Signals. Die Färbung der Zellen mit dem SMAD2-Antikörper sowie die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die Scr- und R1-Probe.

8.14.4 Phospho SMAD2-Färbung

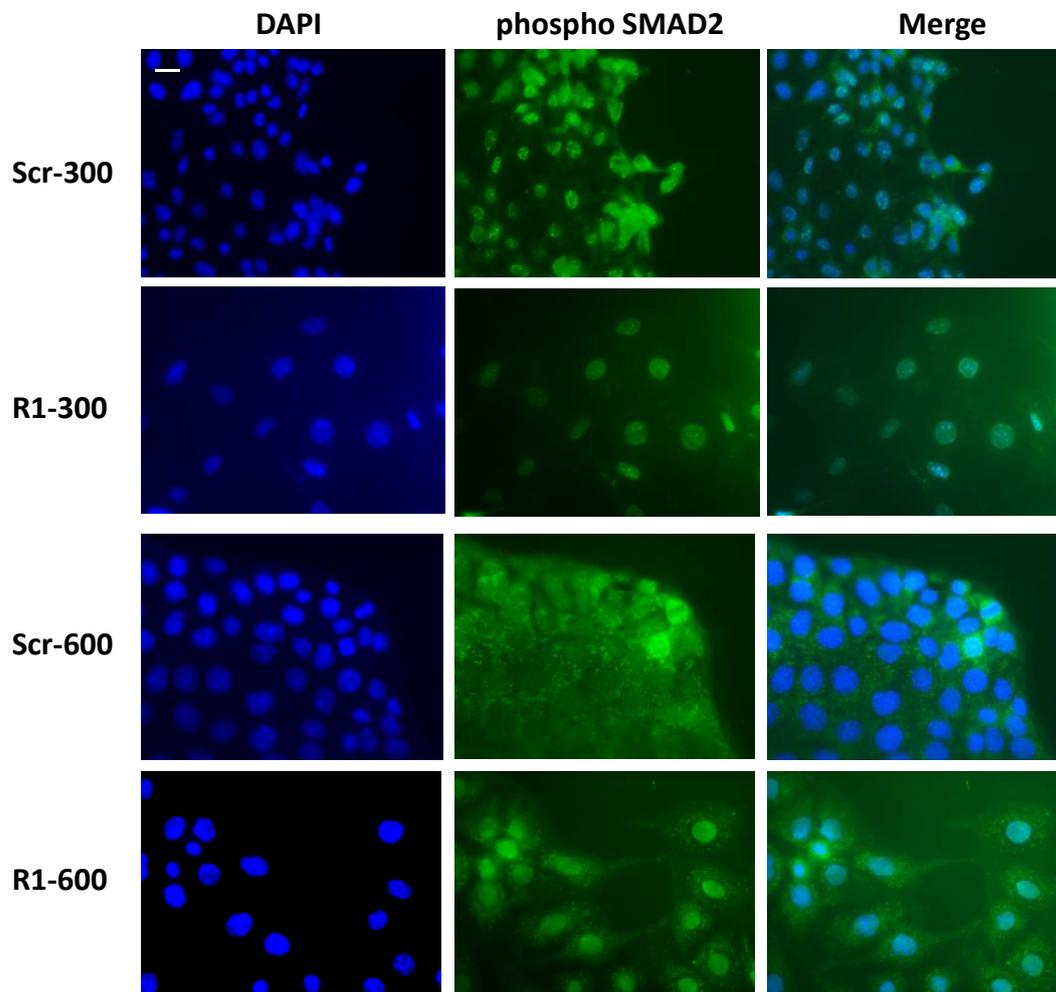


Abbildung 71: Immunfluoreszenzanalyse von phosphoryliertem SMAD2 in Scr- und R1-mpkCCD-Zellen.

Die mpkCCD-Zellen (Scr und R1) wurden auf Deckgläsern in 24-well Platten ausgesetzt. Bei gewünschter Konfluenz erfolgte die Fixierung der Zellen in 5 % iger Formaldehydlösung. Immunfluoreszenzaufnahmen nach Färbung von Scr- und R1-mpkCCD-Zellen mit phosphoryliertem SMAD2 Antikörper. Bei 300 mosmol/kg ist eine starke Kernlokalisierung beider Signale zu erkennen. Dieses ist unter 600 mosmol/kg in Scr-Zellen allerdings nicht mehr nachweisbar. Allerdings zeigen R1-mpkCCD-Zellen auch bei 600 mosmol/kg weiterhin eine starke Kernlokalisierung des phospho-SMAD2-Signals. Die Färbung der Zellen mit dem phospho-SMAD2-Antikörper sowie die Generierung der Immunfluoreszenzbilder erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit gleicher Beleuchtungsdauer für die Scr- und R1-Probe.

8.15 Analyse der Mausklirik

| Screens | Methods | Age [weeks] | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|---|-------------|---|---|----|----|----|----|----|----|----|--|---|---|---|
| | | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | | | | |
| Behaviour | Openfield | | ■ | | | | | | | | | | | | |
| | Acoustic startle response & PPI | | | | ■ | | | | | | | | | | |
| Neurology | Modified SHIRPA, grip strength | | | ■ | | | | | | | | | | | |
| | Rotarod | | | | ■ | | | | | | | | | | |
| Dysmorphology | Anatomical observation | | | ■ | | | | | | | | | | | |
| Energy Metabolism | Indirect calorimetry | | | | | ■ | | | | | | | | | |
| Cardiovascular | Awake ECG / Echo cardiography | | | | | | ■ | | | | | | | | |
| Clinical Chemistry | IpGTT | | | | | | | ■ | | | | | | | |
| Neurology | Auditory brain stem response (ABR) | | | | | | | | ■ | | | | | | |
| Dysmorphology | X-Ray, DEXA | | | | | | | | | ■ | | | | | |
| Eye | Scheimpflug imaging, Laser-interference-biometry (LIB), Optical coherence tomography (OCT), Virtual drum test | | | | | | | | | | ■ | | | | |
| Clinical Chemistry | Clinical Chemical analysis, hematology | | | | | | | | | | | | ■ | | |
| Immunology | Flow cytometry, plasma (IgE, IL6, TNF, insulin) | | | | | | | | | | | | | ■ | |
| Pathology | Macro & microscopic analysis | | | | | | | | | | | | | | ■ |

Screening Pipeline

Abbildung 72: Möglicher Analyse-Screen der RANBP3L-defizienten-Maus in der German Mouse Clinic Pipeline der Charakterisierung einer neuen *Knockout*-Mauslinie der German Mouse Clinic [181], Datenstand: 1.08.2022.

Eigenständigkeitserklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die im Literaturverzeichnis angegebenen Quellen benutzt habe.

Alle Stellen, die wortwörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder noch nicht veröffentlichten Quellen entnommen sind, sind als solche kenntlich gemacht.

Die Zeichnungen oder Abbildungen in dieser Arbeit sind von mir selbst erstellt worden oder mit einem entsprechenden Quellennachweis versehen.

Teile der vorliegenden Arbeit sind in Publikationen und Kongress-Poster eingegangen.

Diese Arbeit ist in gleicher oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Prüfungsbehörde eingereicht worden.

Halle (Saale), den

Dmitry Chernyakov

Danksagung

Zum Schluss möchte ich mich noch bei allen Personen bedanken, die mich auf unterschiedliche Art und Weise während der Anfertigung dieser Doktorarbeit unterstützt haben.

Zuerst möchte ich meinen Dank PD. Dr. Frank Erdmann aussprechen, der relativ spontan und sehr bereitwillig die Betreuung dieser naturwissenschaftlichen Arbeit übernommen hat. Danke für die konstruktiven Gespräche, die diese Arbeit deutlich aufgewertet haben!

Mein größter Dank gilt Prof. Dr. Bayram Edemir für die direkte Betreuung dieser Arbeit mit sehr viel Empathie und Geduld. Ebenfalls bedanken will ich mich bei Ihm für sein Vertrauen und die vielen Freiheiten, die ich in der Zeit genießen durfte. Danke für die Offenheit immer neue Sachen ausprobieren zu dürfen. Ebenfalls vielen Dank für die Hilfe beim Schreiben meiner ersten Publikation. Ich habe sehr viel bei dir gelernt. Danke!

Weiterhin möchte ich mich bei allen Bachelor-, Masterstudenten sowie medizinischen Doktoranden bedanken, die während meiner Zeit Teil der AG waren. Alle konstruktiven und auch nicht konstruktiven Gespräche haben viel Spaß gemacht!

Auch bedanken will ich mich bei meinen Ko-Autoren Dr. Dennis Gerloff und Dr. Christoph Schultheiß, die viel Zeit in die Korrekturen des *Papers* gesteckt haben und ohne die es bestimmt länger gedauert hätte es zu publizieren. Danke euch!

Weiterhin Vielen Dank an die gesamte Arbeitsgruppe der KIM IV, die mir stets bei Fragen zur Seite standen und mit denen es immer viel Spaß gemacht hat, im Labor zusammen zu arbeiten.

Ebenfalls gilt mein Dank meiner Familie und allen meinen Freunden, dass ihr mich zu den richtigen Momenten abgelenkt habt, um den Kopf freizubekommen.

Ein besonderer Dank gilt meiner Freundin Anne. Danke fürs zur Seite stehen seit über 5 Jahren und all dem was über diese Arbeit hinausgeht und wirklich zählt.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Vorname/ Nachname: Dmitry Chernyakov
Geburtsdatum: 11.03.1994
Geburtsort: Brjansk, Russische Föderation
Nationalität: deutsch

Werdegang

- 03/2021 - aktuell** **Universitätsklinikum Halle (Saale)**
wissenschaftlicher Mitarbeiter
Schwerpunkt: Etablierung einer CART-Zell-Therapie im
anaplastischen Schilddrüsenkarzinom
Klinik für Innere Medizin IV
AG molekulare Krebstherapie/ Dierks
- 12/2017 – 03/2021** **Universitätsklinikum Halle (Saale)**
wissenschaftlicher Mitarbeiter/ Doktorand (Dr. rer. nat.)
Doktorarbeit: Untersuchung der Expression und
phänotypischen Bedeutung des *Ran-binding protein 3-like* in
innermedullären Sammelrohrzellen der Niere
Klinik für Innere Medizin IV
AG zelluläre und molekulare Tumorbilogie/ Edemir
- 10/2015 – 09/2017** **Universität Leipzig**
Master of Science in Biochemie/ Biomedizin
Notenschnitt: 1,4
Masterarbeit: Veränderung von Mikroglia-Zelllinien bei
GPR34-Verlust (1,0)
Abteilung Molekulare Biochemie, AG Schulz
- 10/2012 – 08/2015** **Martin-Luther-Universität, Halle (Saale)**
Bachelor of Science in Biochemie
Notenschnitt: 1,9
Thema: Synthese und biologische Evaluierung potenzieller
antiprotozoaler Wirkstoffe (1,2)
Abteilung Medizinische Chemie, AG Schmidt
- 08/2004 – 07/2012** **Geschwister-Scholl-Gymnasium Magdeburg**
Abitur
Notenschnitt: 2,0
-

Halle (Saale), den

Dmitry Chernyakov

Publikationsliste

Publikationen

Münz, S., Wolf, L., Hoelzle, L., **Chernyakov, D.**, Edemir, B. & Föller, M. Impact of cytotoxic agents or apoptosis stimulants on α klotro in MDCK and NRK-52E and HK2 kidney cells. *Aging*, akzeptiert zur Publikation: 09.08.2022

Chernyakov, D., Groß, A., Fischer, A., Bornkessel, N., Schultheiss, C., Gerloff, D. & Edemir, B. Loss of RANBP3L leads to transformation of renal epithelial cells towards a renal clear cell carcinoma like phenotype. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, DOI: 10.1186/s13046-021-01982-y

Groß, A., **Chernyakov, D.**, Gallwitz, L., Bornkessel, N. & Edemir, B. Deletion of von hippel–lindau interferes with hyper osmolality induced gene expression and induces an unfavorable gene expression pattern. *Cancers*, DOI: 10.3390/cancers12020420

Manuskripte

Chernyakov, D., Fischer, A., Petrillo, F., Fenton, R. & Edemir, B. The nuclear factor of activated T cells 5 (NFAT5) contributes to the renal cortico-medullary differences in gene expression. *Scientific Reports*, Submission ID: 3120be8b-e121-4aa3-ad0a-040a4cece2c9, eingereicht am 12.08.2022

Petrillo, F., **Chernyakov, D.**, Esteva-Font1 C., Edemir B. & Fenton R. The nuclear factor of activated T cells 5 (NFAT5) contributes to the renal corticomedullary differences in gene expression. *FASEB*, Submission ID: 202200859, in Revision seit 26.07.2022

Kongresse

9th Immunotherapy of Cancer Conference (ITOC9) – 2022

Chernyakov, D. Skorobohatko, O., Edemir, B, Müller T., Alb, M., Trojanowitzsch B., Hudezeck M., Binder, M., Kerstin Lorenz K., Christine Dierks C. ROR1-CAR T-cells as novel treatment strategy for anaplastic thyroid carcinoma, als Poster zugelassen

7. Forschungstag der Universitätsmedizin Halle – 2022

Chernyakov, D. & Edemir, B. SPARC-Defizienz mildert den onkogenen Phänotyp eines RANBP3L-KOs in Sammelrohrzellen der Niere ab

Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Medizinische Onkologie – 2019

Chernyakov, D., Gallwitz, L., Groß, A., Bornkessel, N. & Edemir, B. RANBP3L deficiency promotes tumorigenic phenotype (**Posterpreis**)

6. Forschungstag der Universitätsmedizin Halle – 2019

Chernyakov, D. & Edemir, B. Verlust von RANBP3L in Sammelrohrzellen der Niere, führt zu einem Nierenkrebs-assoziierten-Phänotyp (**Posterpreis**)

5. Forschungstag der Universitätsmedizin Halle – 2018

Chernyakov, D. & Edemir, B. Charakterisierung von RANBP3L, einem nierenspezifischen Protein

Abstracts

Edemir, B., Petrillo, F., **Chernyakov, D.** & Fenton R. Comprehensive analysis of NFAT5 associated gene expression in the renal collecting duct, *FASEB*, DOI: 10.1096/fasebj.2022.36.S1.0R507

Edemir, B., **Chernyakov, D.**, Fischer, A., Becker F., Gallwitz L., Bornkessel N. & Groß, A. Loss of von Hippel-Lindau protein in renal collecting duct cells is associated with massive changes in gene expression and induces a mesenchymal phenotype, *FASB*, DOI: 10.1096/fasebj.2020.34.s1.02856

Chernyakov, D., Bornkessel N., Fischer, A., Groß, A. & Edemir, B. RanBP3L is a NFAT5 target gene and its deficiency in principal cells promotes epithelial mesenchymal transition through MAPK signalling, *FASEB*, DOI: 10.1096/fasebj.2020.34.s1.00455

Bornkessel N., **Chernyakov, D.**, Groß, A., Gallwitz L., Becker F., Fischer, A. & Edemir, B. Deletion of Elavl1 in renal collecting duct cells is associated with a specific gene expression pattern resulting in major functional changes. *FASEB*, DOI: 10.1096/fasebj.2020.34.s1.02857

**Nice to know my kind will be on my side,
I don't believe the hype.**

twenty one pilots - The Hype

