

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG	1
1.1 Knochen	1
1.1.1 Osteoklasten	1
1.1.2 Knochenresorption	3
1.2 Inflammation	5
1.2.1 Entzündliche Knochenerkrankungen	5
1.2.2 Regulation der Entzündungsreaktion durch <i>Shedding</i>	7
1.2.3 ADAM10 und ADAM17	8
1.2.4 ADAM-Substrate in der Osteoklastendifferenzierung	10
2 ZIELSETZUNG	12
3 MATERIAL UND METHODEN	13
3.1 Material	13
3.1.1 Geräte	13
3.1.2 Verbrauchsmaterialien	14
3.1.3 Chemikalien und Substanzen	14
3.1.4 Puffer und Lösungen	15
3.1.5 Inhibitoren	16
3.1.6 Kits	16
3.1.7 Zelllinien	16
3.1.8 Primer	17
3.1.9 Plasmide und shRNA Sequenzen	19
3.1.10 Antikörper	19
3.1.11 Software	20
3.2 Methoden	21
3.2.1 Zelllinien	21
3.2.2 Transduktion von RAW 264.7 mit shRNA	22
3.2.3 Primärzellen	22
3.2.4 Osteoklastendifferenzierung	25
3.2.5 Morphologische Darstellung der Osteoklasten	25

3.2.6 Molekularbiologische Methoden -----	27
3.2.7 Proteinbiochemische Methoden-----	31
3.2.8 Gewinnung von Biomaterialien -----	32
3.2.9 Mäuse -----	33
3.2.10 Statistische Auswertung -----	36
4 ERGEBNISSE -----	38
4.1 RAW 264.7 -----	38
4.1.1 Etablierung der Osteoklastendifferenzierung -----	38
4.1.2 Verifizierung der Osteoklastendifferenzierung -----	41
4.1.3 Expression von <i>Adam10</i> , <i>Adam17</i> und <i>Rhbdf2</i> während der Osteoklastendifferenzierung -----	43
4.1.4 Inhibition von ADAM10 und ADAM17 -----	45
4.1.5 Potenzielle ADAM-Substrate im Rahmen der Osteoklastendifferenzierung -----	49
4.1.6 Etablierung eines lentiviralen Knockdown von <i>Adam10</i> und <i>Adam17</i> -----	51
4.2 Murine BMDMs -----	54
4.2.1 Etablierung der Osteoklastendifferenzierung -----	54
4.2.2 Verifizierung der Osteoklastendifferenzierung -----	56
4.2.3 Expression von <i>Adam10</i> , <i>Adam17</i> und <i>Rhbdf2</i> während der Osteoklastendifferenzierung -----	57
4.2.4 Inhibition von ADAM10 und ADAM17 -----	58
4.2.5 Potenzielle ADAM-Substrate im Rahmen der Osteoklastendifferenzierung -----	60
4.2.6 Explorative Versuche mit murinen Vav- <i>Adam10</i> ^{-/-} BMDMs -----	63
4.3 Humane PBMCs -----	65
4.3.1 Etablierung der Osteoklastendifferenzierung -----	65
4.3.2 Verifizierung der Osteoklastendifferenzierung -----	67
4.3.3 Vergleichbarkeit verschiedener Spender:innen -----	69
4.3.4 Inhibition von ADAM10 und ADAM17 -----	70
4.4 Analyse gesunder und entzündlich veränderter Gingiva-----	71
5 DISKUSSION -----	73

5.1 Etablierung der Methodik -----	73
5.2 RAW 264.7 -----	74
5.2.1 ADAM17-----	74
5.2.2 ADAM10-----	77
5.3 Primärzellen-----	78
5.4 Gingivaproben -----	80
5.5 Limitationen, Ausblick und Fazit -----	81
6 ZUSAMMENFASSUNG -----	86
7 LITERATUR-----	87
8 ANHANG-----	103
8.1 Ergänzende Abbildungen -----	103
8.1.1 Vektorkarte -----	103
8.1.2 SAS-Code -----	103
8.1.3 Genotypisierung von <i>Vav Cre</i> und <i>Adam10</i> -----	105
8.1.4 Mikroskopiebilder -----	106
8.2 Abbildungsverzeichnis-----	106
8.3 Tabellenverzeichnis-----	107
9 DANKSAGUNG-----	109
10 ERKLÄRUNG § 5 ABS. 1 ZUR DATENAUFBEWAHRUNG -----	110
11 EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG GEMÄß § 5 ABS. (1) UND § 11 ABS. (3) 12. DER PROMOTIONSORDNUNG-----	111