

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>Rhbd2</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 <i>Knockdown</i> 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>Rhbd2</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 <i>Vav-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