

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV
Klinik der Universität München
Arbeitsgruppe Klinische Biochemie
Direktor: Prof. Dr. med. Martin Reincke**

**Modulation embryonaler Signalkaskaden durch infiltrierende
mononukleäre Zellen während der Entstehung von IgA-
Nephritis**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanmedizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Nadja Marina Ehni
aus Augsburg
2022**

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Peter Jon Nelson

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Heiko Adler

Prof. Dr. Christian Ries

**Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:**

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 07.07.2022

Inhaltsverzeichnis

I. Zusammenfassung	7
II. Abstract	8
1. Einleitung	9
1.1. Aufbau und Physiologie der menschlichen Niere	9
1.2. Chronisch-Fibrosierende Nierenerkrankung (CKD)	10
1.2.1. Glomeruläre Schädigung als Auslöser von CKD	12
1.2.2. IgA-Nephritis, eine Unterform der Autoimmun-GN	12
1.3. Pathomechanismen der Fibrose	14
1.3.1. Fehlregulation molekularer Signaltransduktionswege	17
1.3.1.1. Der Hippo-Signalweg	18
1.3.1.2. Der AP-1-Transkriptionsfaktor-Komplex	21
1.3.1.3. Der Osmosensitive Transkriptionsfaktor NFAT5	22
1.3.2. Die Rolle des Immunsystems in der Entstehung von Fibrose	25
1.3.2.1. Das Angeborene Immunsystem	26
1.3.2.1.1. Das Komplement-System	27
1.3.2.1.2. Monozyten	27
1.3.2.1.3. Makrophagen (MΦ)	27
1.3.2.1.4. Dendritische Zellen (DC)	28
1.3.2.1.5. Natürliche Killer Zellen (NK)	29
1.3.2.2. Das Adaptive Immunsystem	29
1.3.2.2.1. T-Zellen	29
1.3.2.2.2. B-Zellen	30
1.3.2.3. Das Immunsystem in der Niere	31
1.3.2.4. Das Immunsystem und Fibrose	31
1.4. Hypothesen	31
2. Material	33
2.1. Zellkultur	33
2.1.1. Zelllinien	33
2.1.2. Medien	33
2.1.3. Antibiotika	34
2.1.4. Stimulation	34

2.1.5. Zusätze und weitere Chemikalien	34
2.2. Mikrobiologie	35
2.2.1. Bakterienstämme	35
2.2.2. Medien und Lösungen	35
2.2.3. Agarplatten	36
2.2.4. Antibiotika	37
2.3. Klonierung	37
2.3.1. Enzyme	37
2.3.2. Puffer und Lösungen	38
2.3.3. Nukleotide, Ladder	39
2.3.4. Primer	40
2.3.5. Vektoren	40
2.4. Kits	41
2.5. Chemikalien	41
2.6. Weiteres Labor-Equipment	41
2.7. Software	42
3. Methoden:	43
3.1. Microarray-Analyse	43
3.2. Zellkultur:	44
3.2.1. Grundlagen	44
3.2.2. Zellen Einfrieren und Auftauen	45
3.2.3. Zellen Zählen	45
3.3. Mikrobiologie:	45
3.3.1. Herstellung von LB-Medium und Agar-Platten	45
3.3.2. Herstellung kompetenter E. Coli MACH 1	46
3.3.3. Transformation kompetenter E. Coli MACH-1	46
3.3.4. Bakterien Einfrieren und Auftauen	46
3.3.5. Extraktion der Plasmid-DNA aus den Transformaten E. Coli MACH 1	47
3.4. Grundlagen der Klonierung:	47
3.4.1. Bestimmung der DNA-Konzentration	47
3.4.2. Verdau von DNA mittels Restriktionsenzyme	47

3.4.3. Gelelektrophorese	47
3.4.4. DNA-Gelextraktion	48
3.4.5. Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	48
3.4.6. DNA-Sequenzierung	49
3.5. Klassische Klonierung	49
3.5.1. Vorbereitung der DNA-Fragmente für die Ligation	49
3.5.2. Dephosphorylierung des Vektor-Backbones	50
3.5.3. Ligation	50
3.6. „Gateway“-Klonierung:	50
3.6.1. Generierung von „Entry“-Klonen (BP-Reaktion)	51
3.6.2. Generierung von „Expressions“-Vektoren (LR-Reaktion)	52
3.7. Konstrukte	53
3.7.1. CMV _{Min} Promoter	54
3.7.2. Gaussia-Luciferase	54
3.7.3. TET-Repressor	55
3.7.4. Sleeping-Beauty-Transposase (SB100)	56
3.7.5. Transkriptionsfaktor-Sequenzen für Reporter-Systeme	57
3.7.6. Transkriptionsfaktor-Sequenzen für Überexpressions-Modelle	58
3.8. Myeloide Zelllinie – Mono-Mac 6 (MM6), akute monozytische Leukämie Zelllinie	59
3.8.1. Mono-Mac 6-Konditioniertes Medium	59
3.8.2. Isolierung mononukleärer Zellen (PBMC) aus Vollblut	59
3.8.3. Positive Isolierung von Monozyten aus PBMC	60
3.8.4. In-Vitro-Generierung von myeloischen Zelltypen aus Monozyten	60
3.9. In-Vitro-Experimente	61
3.9.1. Elektroporation zur stabilen Transfektion von Zellkultur-Linien	61
3.9.2. Antibiotika-Selektion	61
3.9.3. Stimulations-Versuche	62
3.9.4. Überexpressions-Modelle	62
3.9.5. Co-Kultur-Experimente	63
3.9.6. Luciferase-Messung	63
3.10. Statistische Auswertung	63

4. Ergebnisse	64
4.1. Microarray	64
4.2. Klonierung und Etablierung einer stabilen Vektor-Plattform	66
4.2.1. Reporter-Vektoren für den Aktivitätszustand Transkriptionsfaktor-abhängiger Signalwege	67
4.2.2. Klonierung von Transkriptionsfaktor-Überexpressions-Vektoren	68
4.2.3. Stabile Transfektion von HEK293 mittels Elektroporation und SB100 Transposase	68
4.2.4. Überprüfung des Systems („Proof-of-Principle“-Experimente)	69
4.3. Aktivierung von Signalwegen durch Myeloide Immunzellen	70
4.3.1. Aktivierung von Signalwegen durch direkten Zell-Zell-Kontakt	70
4.3.2. Einfluss sekretorischer Faktoren von Immunzellen auf die Aktivität der Signalwege	71
4.3.3. Effekt bestimmter Immunzell-Subtypen auf die Aktivität	72
4.4. „Crosstalk“ zwischen verschiedenen Signalwegen	74
5. Diskussion	77
5.1. Deregulation von Signalwegen während der Fibrosierung	77
5.2. Klonierung und Etablierung einer stabilen Vektor-Plattform	80
5.3. Myeloide Zellen als treibende Kraft hinter der Fibrosierung	81
5.4. Fehlender „Crosstalk“ zwischen einzelnen Signalwegen	84
5.5. Weitere Mechanismen wichtig für Deregulation der Signalwege	86
5.6. Abschluss	87
6. Anhang	89
6.1. Liste der differentiell exprimierten Targetgene	89
6.2. Liste der Funktionalen Cluster	97
6.3. „Proof-of-Principle“-Experimente	240
7. Quellenverzeichnis	241
8. Abkürzungsverzeichnis	246
9. Abbildungsverzeichnis	250
10. Tabellenverzeichnis	251
11. Danksagungen	254
12. Affidavit	255

1. Zusammenfassung

IgA-Nephritis (IgAN) ist die häufigste bekannte Form der Glomerulonephritis und nach diabetischer und hypertensiver Nephropathie die dritthäufigste Ursache eines chronisch-progredienten Nierenversagens. Während die Erkrankung fortschreitet, kommt es zur Ablagerung von Immunkomplexen aus fehlerhaft glykosyliertem IgA1 und Komplementfaktoren im Mesangium der Nierenglomeruli. Diese Ablagerungen triggern eine chronisch voranschreitende entzündliche Fibrosierungs-Reaktion, die zum Umbau der Nierenarchitektur und letztlich zum Verlust der Nierenfunktion führt. Die genauen Pathomechanismen hinter der Erkrankung sind zum jetzigen Zeitpunkt noch weitestgehend unbekannt. Man geht jedoch davon aus, dass die Überaktivierung von Signalwegen in Zusammenhang mit Nierenentstehung und Gewebsreparaturprozessen einige wichtige Aspekte progressiver Nierenfibrose bewirken.

Immunzellen, insbesondere Makrophagen und Dendritische Zellen, werden ebenfalls mit fibrotischen Umwandlungen, die während der Entzündung auftreten, in Verbindung gebracht. Im Nierenparenchym wurden verschiedene Subtypen myeloider Zellen identifiziert. Einer dieser Subtypen, von uns als 2⁺-MoPhs bezeichnet, wurde initial bei Patienten mit Nierenzell-Karzinom identifiziert. Ähnliche Subtypen fanden sich jedoch anschließend auch in den Tubulointerstitiellen Regionen gesunder Nieren.

Wir verwendeten cDNA-Microarray-Analysen von IgAN-Patienten-Proben um eine Reihe von Signalwegen zu identifizieren, die während des Fortschreitens von IgAN aktiviert werden. Es zeigte sich, dass es während des Fortschreitens der Erkrankung zu einer Deregulation wichtiger embryonaler Signalwege, unter anderem Hippo, AP-1 und NFAT5, kommt.

Anschließend entwickelten wir auf der Basis einer effizienten, stabilen Transfektion multipler Plasmide, ein in-vitro-Modell-System, das es uns ermöglichte die Aktivierung der Signalwege in experimentell veränderten Parenchymzellen zu verfolgen, indem wir die Sekretion der Reporter in Wachstumsmedium verfolgten. Wir entwickelten Reporter-Zellen für den AP-1, NFAT5- und Hippo-Signalweg.

Als nächstes versuchten wir die möglichen Effekte zu untersuchen, die Immunzellen auf die Aktivität dieser drei Signalwege hatten. Hierzu führten wir Kokultur-Experimente mit in-vitro-polarisierten 2⁺MoPhs und anderen Immunzellen durch. Die Ergebnisse wiesen darauf hin, dass einige myeloide Zellen die Aktivität von AP-1- und NFAT5-Signalwegen beeinflussen könnten. Dieser Effekt scheint teilweise auf direkten Zell-Zell-Kontakt zurückzugehen.

Abschließend untersuchten wir mithilfe eigens kreierter Überexpressionsmodelle, wie sich die drei Signalwege gegenseitig beeinflussen könnten. Es konnte kein signifikanter Effekt nachgewiesen werden, was auf begrenzten Crosstalk zwischen den drei Signalwegen hindeutet.

Zusammenfassend deuten die Ergebnisse auf eine ausgeprägte Mutationsaktivität in fibrotischen Geweben hin, die sich zumindest teilweise durch die Anwesenheit myeloider Immunzellen in diesen Geweben erklären lässt.

I. Abstract

IgA-nephropathy is the most common form of glomerulonephritis and the third most common cause of chronic progressive kidney failure after diabetic and hypertensive nephropathy. During progression of this disease deposits of immune complexes of faultily glycosylated IgA1 and complement factors accumulate in the mesangium of the renal glomeruli. These deposits trigger a chronically progressing inflammatory fibrotic reaction, leading to the remodeling of the kidney architecture and eventually the loss of kidney function. The exact pathophysiologic mechanisms underlying the progression of this disease are still largely unknown but the overactivation of signaling pathways linked to renal development and tissue repair are thought to underlie important aspects of progressive renal fibrosis.

Immune cells, especially macrophages and dendritic cells, have also been strongly linked to the fibrotic changes that occur during inflammation. Subtypes of myeloid cells have been identified in the renal parenchyma. One of these subtypes, here referred to as 2⁺MoPh, was originally identified in renal cell carcinoma, but similar subtypes were subsequently found in the renal tubular interstitial regions of normal kidneys.

Here we used cDNA-Microarray analysis of IgA patient samples to first identify the activation of a series of signaling pathways during the progression of IgAN. Amongst others, the important embryonic signaling pathways Hippo AP-1 and NFAT5 were found to be deregulated during disease progression.

We then developed an in vitro model system based on the efficient stable transfection of multiple plasmids that allowed the analysis of pathway activation in engineered experimental parenchymal cells by monitoring reporter secretion into the growth medium. Reporter cells were developed for the AP-1, NFAT5 and Hippo signaling pathways.

As a next step, we sought to examine the potential effects of immune cells on the activity of these three signaling pathways. To this end, we carried out co-culture experiments with in-vitro-polarized 2⁺MoPhs and other immune cells. The results suggested that some myeloid cells could effect activation of the AP-1 and NFAT5 signaling pathways. This effect appears to be partly due to direct cell to cell contact.

Finally we used an specially created Overexpression-Model to examine how the three signaling pathways could potentially influence each other. No significant effect could be detected, suggesting a limited amount of crosstalk between the three pathways.

In conclusion the results indicate a pronounced mutation activity in fibrotic tissues, which can at least in part be explained by the presence of myeloid immune cells in this tissues.

1. Einleitung

1.1. Aufbau und Physiologie der menschlichen Niere

Die menschliche Niere ist ein paariges Organ im oberen Retroperitoneum [1a]. Beim Erwachsenen enthält sie, je nach Geburtsgewicht, zwischen 225.000 und 900.000 Glomeruli [2a], komplexe, kapilläre, mit Podozyten ausgekleidete Filterstrukturen aus fenestriertem Endothel, die die erste Barriere für im Blut gelöste Stoffe und Moleküle darstellen. Die glomerulären Kapillaren liegen dem kontraktilen Matrix-Gefüge des Mesangiums auf und werden von parietalen und proximalen Tubulus-Epithel-Zellen umgeben, die gemeinsam die sogenannte Bowman-Kapsel bilden [1a, 2b].

Die Nierentubuli segmentieren sich während der embryonalen Entwicklung in einen proximalen Tubulus, einen ab- und aufsteigenden Ast der Henle-Schleife, einen distalen Tubulus und ein Sammelrohr. Jedes dieser Segmente hat seine eigene Epithelauskleidung und seine eigene physiologische Funktion [1a, 2b].

Zwischen den einzelnen Nephronen, die sich aus einem Glomerulum und den dazugehörigen tubulären Strukturen zusammensetzen, befindet sich das Interstitium [1a, 2b]. Es bildet ein einzigartiges bindegewebiges Gefüge mit Fibroblasten, Immunzellen und den Kapillarstrukturen, die die Rückresorption und Sekretion filtrierter Teilchen in den Harn vermitteln.

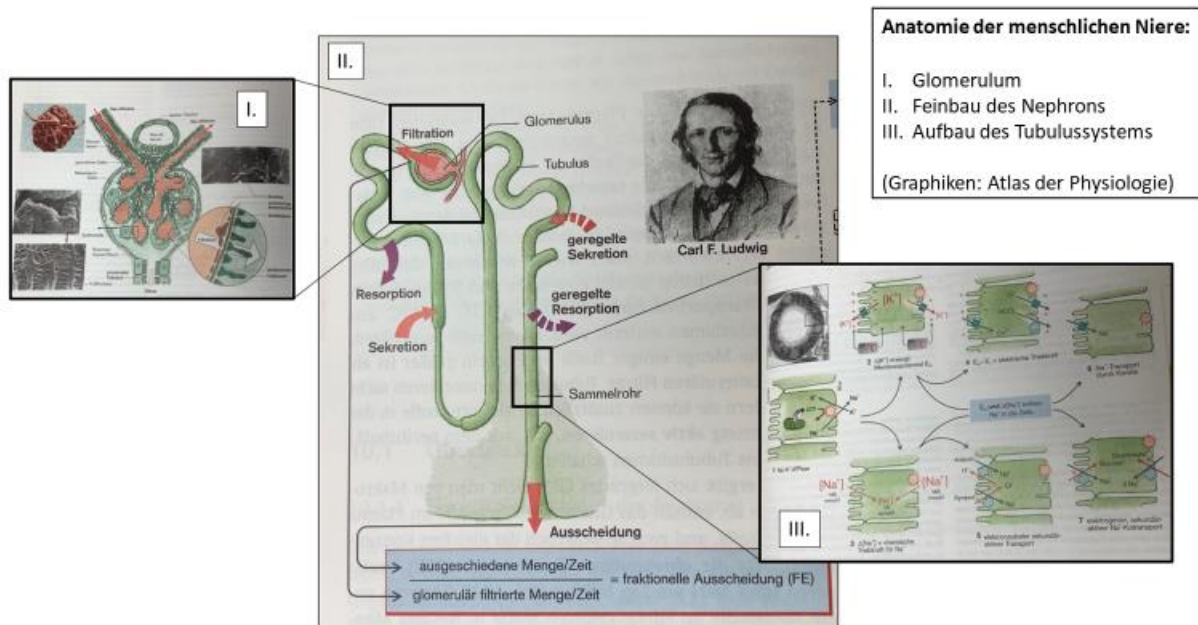
Eine Übersicht über die einzelnen anatomischen Strukturen und ihre Funktionen liefert Abbildung 1.

Die Nieren übernehmen wichtige Funktionen in nahezu allen Teilgebieten:

Knapp 20% des Herz-Zeit-Volumens erreichen die Nieren jede Minute über die afferenten Arteriolen und werden in den Glomeruli filtriert [3a]. Harnpflichtige, potentiell toxische Stoffe können auf diese Weise entfernt werden, während wichtige Stoffe wie Mineralien oder Salze resorbiert werden [3b]. Über die Rückresorption oder Sekretion von Natrium-Chlorid (NaCl) kontrollieren die Nieren nicht nur den Stoffwechsel wichtiger Elektrolyte (z.B. Kalium), sondern auch den Wasserhaushalt des Körpers [2c]. Über die Regulation der Bikarbonat-Menge kommt ihnen eine bedeutende Rolle in der Regulation des Säure-Basen-Haushalts zu [3c].

Neben ihren umfangreichen metabolischen Funktionen hat die Niere auch bedeutende endokrine Aufgaben. Im Juxtaglomerulären Apparat des Mesangiums wird Renin produziert [3d]. Dieses bildet zusammen mit dem ubiquitär-exprimierten Angiotensin-II und dem in den Nebennieren produziertem Aldosteron ein regulatorisches System (Renin-Angiotensin-Aldosteron-System = RAAS), das die Menge an rückresorbiertem Salz und Wasser und damit die Höhe des Blutdrucks beeinflusst [2b]. Die Peritubulären Fibroblasten synthetisieren Erythropoietin (EPO) [3e], das es den Erythrozyten-Vorstufen im Knochenmark ermöglicht, zu Erythrozyten heranzureifen. 25-Hydroxycholecalciferol aus der Leber wird in der Niere zu 1,25 Dihydroxycholecalciferol, der aktiven Form von Vitamin D₃, überführt [3e]. Dieses reguliert unter anderem den Calcium- und Phosphathaushalt, fördert die Knochenhärte und schützt vor Osteoporose.

Abbildung 1



Feinbau des Nephrons:

Funktionelle Baueinheiten der Niere stellen die rund 1-1,4 Millionen Nephrone dar. Diese bestehen aus dem Nierenkörperchen bestehend aus Bowman-Kapsel und Glomerulum und dem Tubulussystem. Das Blut erreicht die als Glomerulum bezeichneten Kapillarknäuel, wird filtrierte und gelangt als Primärharn ins Tubulussystem, bestehend aus Proximalem Tubulus, ab- und aufsteigendem Ast der Henle-Schleife, Distalem Tubulus und Sammelrohr. Dort finden sich zahlreiche aktive und passive Transportsysteme über die gelöste Stoffe (Glukose, Elektrolyte...) rückresorbiert oder sezerniert werden können.

1.2. Chronisch-Fibrosierende Nierenerkrankungen (CKD)

Über das filtrierte Blut gelangen auch zahllose, potentiell schädliche Substanzen in die Nieren, sei es in Form von übermäßiger Glukose, Syntheseprodukten des Immunsystems oder toxischen Metaboliten. Auch Erkrankungen mit systemischer Manifestation, wie Diabetes mellitus, chronische Hyper- oder auch Hypotonie fordern über kurz oder lang ihren Zoll an den Nieren.

Laut Angaben des „National Center For Health Statistics“ leiden mehr als 37 Millionen Erwachsene in den USA an Nierenerkrankungen. Das entspricht 15% der erwachsenen Population [5]. In Deutschland sind ca. 2 % der Todesfälle auf Nierenversagen zurückzuführen [6].

Nierenschädigungen lassen sich generell in akute (Englisch: „Acute Kidney Injury“ = AKI) und chronische (Englisch: „Chronic Kidney Disease“ = CKD) unterteilen.

AKI entsteht meist durch akute Ereignisse, die den gesamten Körper befallen, wie bakterielle Toxine, Sepsis, schockbedingte Ischämie oder Medikamente. Diese führen meist relativ schnell zu einem kompletten Verlust der Nierenfunktion (Englisch: „End Stage Renal Disease“ = ESRD), der bis zur Dialysepflicht führen kann [7]. Sobald das auslösende

Ereignis überstanden ist, können sich die Nieren wieder vollständig erholen. Sie können jedoch auch in ein chronisches Stadium, ähnlich einer CKD, übergehen [2d, 4a].

CKD [2e, 4b] entsteht meist als Komplikation systemischer Erkrankungen, wie Diabetes mellitus, Hypertonie, Adipositas oder systemischer Autoimmunerkrankungen [8]. Darüber hinaus gibt es auch sehr spezifische Erkrankungen, sogenannte Glomerulonephritiden, die vor allem die Nieren betreffen. Im Gegensatz zur AKI schreitet sie eher langsam voran und kann sich über Jahre oder Jahrzehnte hinziehen. In ihrem Verlauf kommt es zu histologisch verifizierbaren, fibrotischen Umbauprozessen in Glomerulum und Tubulointerstitium, die das Fortschreiten praktisch irreversibel machen. Am Ende der Erkrankung steht der völlige Verlust der Nierenfunktion. Sie betrifft ungefähr 10-20% der Weltbevölkerung [8].

Im klinischen Alltag verwendet man zur Definition der Nierenfunktion häufig Parameter, die ihre Filtrier- oder Resorptionsfähigkeiten wiedergeben. Solche Parameter sind beispielsweise die Glomeruläre Filtrationsrate (Englisch: „Glomerular Filtration Rate“ = GFR), die Kreatinin-Clearance oder die Menge an Albumin im Urin (Proteinurie). Die GFR ist dabei eine fiktive Größe, die das Flüssigkeitsvolumen wiedergibt, das von den Nierenkapillaren in einer bestimmten Zeiteinheit filtriert wird. Sie wird über die Kreatinin-Clearance berechnet. Diese lässt sich direkt über die Urinkonzentration im 24h-Sammelurin erheben oder indirekt mithilfe der Cockcroft-Gault- oder MDRD-Formel (Englisch: „Modification of Diet in Renal Disease“) aus der Serum-Kreatinin-Konzentration berechnen [4c].

Die gängige KDOQI-Klassifikation (Englisch: „Kidney Dialysis Outcomes Quality Initiative“) unterteilt die CKD anhand der GFR in 5 Stadien. Neuere Klassifikationssysteme berücksichtigen zusätzlich die Höhe der Proteinurie [4c, 9].

Nierenerkrankte in frühen Stadien haben meist, neben Symptomen der Grundkrankheit und auffälligen Laborparametern, kaum Beschwerden, während solche in höheren Stadien den Ausfall der renalen Funktionen zu spüren bekommen.

Infolge der inadäquaten Wasserausscheidung entwickeln sie initial periphere, später auch zentrale Ödeme (Lungenödem, Aszites). Die Störungen des Elektrolythaushalts beeinflussen die Rhythmusregulation des Herzens. Flüssigkeitsüberladung und Aktivierung des RAAS bewirken einen Hypertonus, EPO-Mangel eine Anämie und der Mangel an funktionstüchtigem Vitamin D3 führt zu Osteoporose und Phosphatüberladung. Zuletzt versagen auch die letzten, noch verbliebenen Nierenfunktionen. Die Patienten entwickeln eine metabolische Azidose und akkumulieren toxische Metabolite, wie Harnstoff. Dieses sogenannte Urämische Syndrom kann zu Peritonitis, Perikardergüssen und Enzephalopathie führen [2e].

Bekanntere Therapieansätze konzentrieren sich vor allem darauf, die Symptome des renalen Funktionsausfalls auszugleichen und das Fortschreiten der Grundkrankheit hinauszuzögern. In fortgeschrittenen Stadien wird die Nierenfunktion vollständig durch Hämodialyse ersetzt [4c]. Bisweilen kann durch Nierentransplantation eine vollständige Heilung erreicht werden, häufig tritt jedoch die Grundkrankheit in den Transplantatnieren wieder auf [93].

Von einem tieferen Verständnis für die zugrundeliegenden Pathomechanismen verspricht man sich gezieltere Therapieansätze, die zum Beispiel bestimmte Signale auf molekularer

Ebene angreifen und dadurch den Krankheitsprozess aufhalten oder zumindest hinauszögern.

1.2.1. Glomeruläre Schädigung als Auslöser von CKD

Das auslösende Ereignis, das letztlich zur CKD führt, kann ebenso variieren, wie der Ort, an dem es initial angreift.

Einige Medikamente und Viren schädigen direkt das Tubulussystem und führen zu einem Krankheitsbild, das als Toxische Tubulus-Nekrose (TTS) bezeichnet wird [2f, 4d].

Die meisten chronischen Nierenerkrankungen nehmen ihren Ausgang jedoch im Glomerulum und breiten sich von dort auf das Tubulussystem aus. Sie lassen sich grob in zwei Hauptgruppen unterteilen: Nephrotische und Nephritische Syndrome.

Beim Nephrotischen Syndrom [2g, 4e] kommt es durch permanente Noxen-Wirkung, meist infolge einer systemischen Grundkrankheit, wie Diabetes mellitus oder Hypertonie, zur Schädigung der die Glomeruläre Filtrationsbarriere bildenden Podozyten. Proteine, die normalerweise nicht durch die Filtrationsbarriere passen, gelangen in den Primärharn und führen zu ausgeprägter Proteinurie. Der Verlust von Albumin bedingt ausgeprägte Ödeme, der Verlust von Immunglobulinen eine schwere Beeinträchtigung des Immunsystems und der Verlust von Antithrombin-III eine starke Thromboseneigung. Durch den Versuch, Proteine neu zu synthetisieren, wird überschüssiges Cholesterin gebildet, das sich in Form atheromatöser Plaques in den Gefäßen absetzt.

Das Nephritische Syndrom (Nephritis) [2h, 4f] beschreibt eine Gruppe von Erkrankungen mit entzündlichen Veränderungen der glomerulären Kapillaren, die sogenannten Glomerulonephritiden (GN). Sie stellt weltweit einen Hauptrisikofaktor für ESRD dar (ca. 10-15% der ESRD-Fälle in den USA gehen auf GN zurück [5]). Klinische Symptome sind vorwiegend Hämaturie und Hypertonie. Proteinurie und Ödeme sind schwächer ausgeprägt als beim Nephrotischen Syndrom. GN können als Folge systemischer Autoimmunerkrankungen (z.B. ANCA-assoziierte Vaskulitis) auftreten oder isoliert die Nieren betreffen.

Einige Erkrankungen (z.B. Systemischer Lupus Erythematodes) lassen sich keiner der beiden Hauptkategorien zuteilen.

1.2.2. IgA-Nephritis, eine Unterform der Autoimmun-GN

Die häufigste Form der GN ist die IgA-Nephritis (IgAN) [2i, 4g, 10] (ca. 20% der GN in Europa [11] und 50% in Asien [12]). Hierbei kommt es zu Ablagerungen von Immunkomplexen im Mesangium der Glomeruli. Diese enthalten u.a. IgA und Komplementfaktor C3 und bewirken die Proliferation des glomerulären Mesangiums und der extrazellulären Matrix [13]. Eine immunkomplex-bedingte Aktivierung des Immunsystems setzt die Prozesse in Gang, die letztlich zu CKD führen,

IgAN betrifft vor allem junge Erwachsene und schreitet langsam aber stetig voran. Zum Nierenversagen kommt es in ca. 30-40% der Fälle, 20-30 Jahre nach der Erstdiagnose [13].

Die genauen Pathomechanismen sind weitestgehend unbekannt. Man geht allerdings davon aus, dass es zu Fehlregulationen der Glykosylierung des O-verbundenen Glykans der sogenannten „Hinge-Region“ von IgA1 kommt [14]. Fehlerhaft glykosyliertes, untergalaktosyliertes IgA1 findet sich in den Immunkomplexen.

Verschiedene Studien geben Hinweise auf eine starke hereditäre Komponente bei der Entstehung von IgAN:

Es finden sich zwei Formen von IgAN, eine sporadische und eine hereditäre. Bei Patienten mit familiärer IgAN finden sich galaktose-defiziente, makromolekulare IgA1-Moleküle, die besser an Mesangium-Zellen binden [11]. Als verantwortliches Gen wurde unter anderem das IGAN1-Gen auf Chromosom 6q22-23 [15] identifiziert, das in einem autosomal-dominanten Erbgang mit unvollständiger Penetranz (ca. 40-50%) vererbt wird. Weitere Veränderungen finden sich beispielsweise im Bereich der einzelnen Ketten des MHC-Komplexes [16]. Patienten mit familiärer IgAN haben eine schlechtere Gesamtprognose und ein höheres Risiko für Nierenversagen als solche mit einer sporadischen Form.

Darüber hinaus finden sich erhebliche Inzidenz- und Prävalenz-Unterschiede zwischen verschiedenen Bevölkerungsgruppen mit unterschiedlicher ethnischer Herkunft. Über die gesamte Welt betrachtet findet sich ein Ost-West und ein Süd-Nord-Gefälle [17]. IgAN findet sich vor allem bei ost-asiatischen Bevölkerungsgruppen und selten bei Afrikanern [12]. Dies ändert sich nicht, wenn diese ihre Heimat verlassen und sich in einem anderen Land ansiedeln, wie dies zum Beispiel bei afrikanisch-stämmigen US-Amerikanern der Fall ist [17].

Verschiedene Gene, die mit IgAN in Verbindung stehen, lassen sich in drei Gruppen unterteilen: Gene, die der Antigen-Prozessierung und -Präsentation dienen [12], solche, die die Mukosa-Immunität und IgA-Produktion regulieren [18] und solche, die der alternativen Komplement-Aktivierung dienen [19]. Die Verteilung der Risiko-Allele spiegelt hierbei erstaunlich-genau den Ost-West und Süd-Nord-Gradienten der Inzidenz und Prävalenz wider.

Klinische Kriterien können erste Hinweise auf die Erkrankung liefern. Hierbei finden sich vor allem rezidivierende Episoden makroskopischer Hämaturie oder persistierende, mikroskopische Hämaturie beziehungsweise Proteinurie. Für die eigentliche Diagnose wird allerdings eine Nieren-Biopsie verlangt [2i, 4g, 13].

Da die Ursache mit einer Nierentransplantation nicht behoben werden kann, ist auch nach einer solchen häufig mit Rezidiven zu rechnen [13].

1.3. Pathomechanismen der Fibrose (siehe Abbildung 2)

Unabhängig vom auslösenden Ereignis kommt es im Verlauf bei allen Formen der CKD zu den gleichen histopathologischen Veränderungen, die sich unter dem Begriff „Fibrose“ subsumieren lassen. Sie betrifft die Glomeruli, das Interstitium und die Gefäßarchitektur. Dort kommt es zur unkontrollierten Anhäufung von Bindegewebs-Bestandteilen (Kollagene, Proteoglykane), zur graduell-fortschreitenden Atrophie von Tubulus-Zellen, zur Infiltration von Zellen des Immunsystems (v.a. Mononukleäre Phagozyten) und schließlich zur progredienten Vernarbung des Interstitiums. Dieser Prozess mündet im kompletten Verlust der Nierenfunktion [20 – 23]. Studien haben gezeigt, dass dieser am ehesten mit der Progression der tubulointerstitiellen Fibrose korreliert [24].

Diese Umbauprozesse laufen grob betrachtet in einem stadienhaften Verlauf ab:

Durch eine Vielzahl auslösender Mechanismen kommt es zu einer Schädigung der Glomerulären Filtrations-Barriere. Bei IgAN sind hierfür beispielsweise Immunkomplexe aus fehl-glykosyliertem IgA1 und Komplementfaktoren (C3a, C5a, Properdin) verantwortlich [10]. Diese lagern sich im glomerulären Mesangium ab, wo sie, da sie vom Immunsystem nicht abgebaut werden können, zu einer schwelenden, lokalen Entzündungsreaktion führen. Immer mehr glomeruläres Gewebe wird geschädigt, Filtrationsfläche geht verloren, der Druck in den glomerulären Kapillaren steigt und es kommt zur Proteinurie [24]. Außerdem werden Zellen im Mesangium der Glomeruli aktiviert und produzieren Substanzen, die die Gewebsschädigung weiter vorantreiben, Zytokine, die Zellen des Immunsystems anlocken und fibrotische Faktoren, die zur Glomerulosklerose führen.

Im Zuge der Proteinurie gelangen immer mehr lösliche Schadstoffe aus dem renalen Ultrafiltrat oder den entzündeten Glomeruli zu den Tubuluszellen und aktivieren sie [25]. Aktivierte Tubulus-Zellen gehen in die Apoptose oder produzieren ihrerseits Faktoren, die die Fibrose weiter vorantreiben, indem sie Entzündungszellen (v.a. Makrophagen und Dendritische Zellen) anlocken und ihnen den Übertritt ins Interstitium erleichtern [26], Fibroblasten anlocken und dazu anregen, zu Myofibroblasten zu differenzieren oder direkt zur Anhäufung extrazellulärer Matrix-Proteine beitragen [27].

Spezielle Zytokine (sog. Chemokine), die von aktivierten Mesangium- und Tubulus-Epithel-Zellen produziert werden, tragen entscheidend zur Infiltration mononukleärer Zellen bei [26]. Ein kleiner Teil geht dabei aus der Proliferation residenter Makrophagen hervor, der größte Teil jedoch aus migratorischen Immunzellen im Blutstrom, die durch das peritubuläre Kapillar-Endothel angelockt werden [28].

Adhäsionsmoleküle auf den Oberflächen peritubulärer Kapillar-Endothelien erleichtern den angelockten Immunzellen den Übertritt ins Interstitium. Dort stimulieren sie ihrerseits die Tubuluszellen zur Produktion weiterer Zytokine oder sezernieren selbst profibrotische Faktoren [27].

Weitere der sezernierten Zytokine begünstigen die Entstehung von Myofibroblasten [21]. Dabei handelt es sich um eine besondere Form von Fibroblasten, die α -SMA (Englisch: „ α smooth muscle protein“) exprimieren und insgesamt stärkere profibrotische Eigenschaften aufweisen als ihre nicht-aktivierten Pendanten [22,23,27]. Weitestgehend unklar ist bisher,

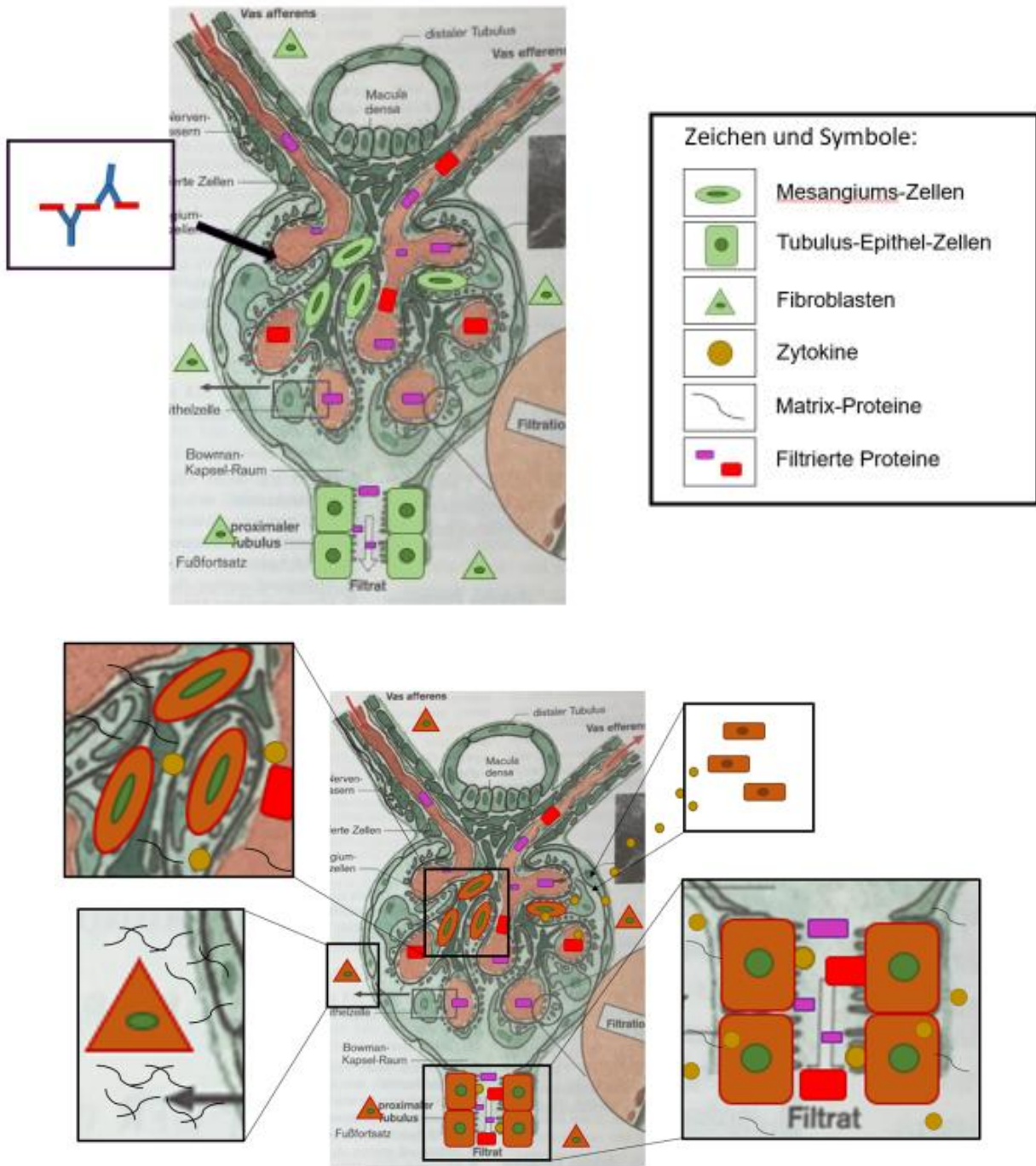
ob sich diese aus residenten Fibroblasten entwickeln, ob sie aus perivaskulären Gebieten an den Ort des Geschehens migrieren oder in einem Prozess, der an die EMT (Englisch: „epithelial to mesenchymal transition“) erinnert, der es Tumorzellen ermöglicht, Metastasen auszubilden, aus Tubulus-Epithel-Zellen hervorgehen [20,23,27]. Ihr Auftreten korreliert mit dem Risiko für CKD [27].

Sezernierte Wachstumsfaktoren und andere profibrotische Zytokine bewirken letztlich eine Akkumulation extrazellulärer Matrix (EZM) entlang der Basalmembran und im Interstitium. Dies geschieht auf zwei verschiedenen Wegen: indem Myofibroblasten, Epithelzellen und andere interstitielle Zellen angeregt werden, EZM-Proteine zu bilden, und indem Matrix abbauende Enzyme, wie Matrix-Metalloproteinasen, gehemmt werden [9].

Die neu-synthetisierten Proteine enthalten Proteine der physiologischen Matrix (Kollagen I/III/V/VII/XV, Fibronectin) und Proteine, die sich gewöhnlich in der Basalmembran von Tubuluszellen finden (Kollagen IV, Laminin). Sie werden durch posttranslationale, enzymatische Modifikation (Glykosylierung, Oxidation, Transglutaminierung) zusätzlich verändert und durch sogenannte „Crosslinks“ weiter verstärkt. Auf diese Weise wird aus den anfänglich Abbau-Prozessen gegenüber empfindlichen Gebilden eine stabile, nahezu Proteasen-resistente Narbe. Einige der Komponenten der neugebildeten Matrix tragen ihrerseits durch Zytokin-Sekretion dazu bei, Entzündung und Fibrosierung weiter zu unterhalten [9].

Durch die Masse der angehäuften Matrix-Proteine werden die noch funktionstüchtigen Nierenzellen allmählich von ihrer Blutzufuhr isoliert [20,23]. Im Rahmen der Hypoxie, die durch von einigen Faktoren bewirkte Vasokonstriktion noch verstärkt wird, entstehen reaktive Sauerstoffspezies [22]. Diese bewirken eine weitere Schädigung der betroffenen Zellen. Apoptotische Programme werden ausgelöst, und es kommt zu einer vollständigen Schädigung von Glomeruli, Tubuli und Peritubulären Kapillaren.

Abbildung 2



Pathomechanismen der Fibrose am Beispiel der IgA-Nephritis:

Immunkomplexe aus fehlglykosyliertem IgA1 und Komplementfaktoren führen zu einer lokalen Entzündung im Bereich der Nieren-Glomeruli. Immunzellen (u.a. Makrophagen, Dendritische Zellen) werden angelockt und Mesangiumszellen aktiviert. Die anglockten Immunzellen sezernieren Zytokine, die weitere Zellen aktivieren und Chemokine, die weitere Immunzellen anlocken. Die Podozyten der Glomeruli werden durchgängiger für Proteine.

Proteine im Primärharn und Zytokine erreichen Tubulusepithelzellen und aktivieren diese. Aktivierte Tubulusepithel- und Mesangiumszellen produzieren Extrazelluläre Matrix, aktivieren Fibroblasten und transdifferenzieren zu Myofibroblasten.

Es kommt zu einer Anhäufung von EZM.

1.3.1. Fehlregulation molekularer Signaltransduktionswege

Viele der während der Fibrose auftretenden Vorgänge (s. 1.3.) finden sich auch während des weitestgehend physiologischen Vorgangs der Wundheilung. Kommt es zu einer Schädigung intakten Gewebes, werden Epithelzellen aktiviert, Immunzellen zum Ort der Schädigung gelockt und Myofibroblasten gebildet, die durch Synthese von Bindegewebe den Schaden verschließen und auf diese Weise zur Wahrung der Gewebshomöostase beitragen [29 – 31].

Damit diese Prozesse möglich sind, werden verschiedene intrazelluläre Signaltransduktions-Programme aus der Embryonalperiode wieder aktiviert, wo sie die Entstehung menschlicher Gewebe, die Migration der Stammzellen zu ihren Zielorganen und die Regulation von Größe und Zusammensetzung der späteren Gewebe kontrollieren. Viele dieser Signalwege spielen auch später im erwachsenen Organismus eine Rolle, beim Gewebs-„Turnover“ und dem damit assoziierten Erhalt der Gewebshomöostase.

Während der Wundheilung ermöglichen sie es Immunzellen und Fibroblasten zu wachsen und zu proliferieren, ihren angestammten Platz zu verlassen, zum Ort der Schädigung zu migrieren und dort Chemokine, Wachstumsfaktoren, Zytotoxische Substanzen oder Proteasen-Inhibitoren zu synthetisieren. Zur Entstehung von Myofibroblasten trägt unter anderem ein Prozess bei, den man als EMT bezeichnet. EMT ermöglicht es epithelialen Zellen (z.B. Tubuluszellen) Eigenschaften mesenchymaler Zellen (z.B. Fibroblasten) anzunehmen, wie die Fähigkeit zu migrieren oder EZM-Proteine zu synthetisieren. Auf diese Weise ist es auch Tumoren möglich, Metastasen auszubilden [27].

Zu den in diesem Zusammenhang am weitesten untersuchten Signalwegen zählen sicherlich der TGF- β und der Wnt-Signalweg. Sie konnten beide mit vielen der oben beschriebenen (s. 1.3.) Vorgänge in Zusammenhang gebracht werden. Darüber hinaus jedoch gibt es noch weitere embryonale Signalwege, deren Rolle in der Entstehung fibrotischer Erkrankungen weniger gut untersucht ist. Mit ihnen und ihrer Rolle in der Entstehung und Progression vor allem bei IgA-Nephritis beschäftigt sich diese Arbeit.

Hippo und AP-1 spielen eine bedeutende Rolle während der Embryogenese. Im erwachsenen Körper tragen sie zum Erhalt der Homöostase und zu Wundheilungsprozessen bei. Sobald sie außer Kontrolle geraten, sind sie mit der Entstehung mehrerer Tumoren assoziiert.

NFAT5 dient der Osmoprotektion, das heißt es schützt die Nieren-Epithelzellen vor dem Einfluss stark schwankender osmotischer Kräfte. Darüber hinaus beeinflusst es mehrere Reaktionen des Immunsystems.

Der maßgebliche Unterschied zwischen der physiologischen Wundheilung und der pathologischen Fibrosierung besteht in der Zeit, die dieser Prozess andauert. Ist eine Verletzung beseitigt oder eine Narbe entstanden, werden physiologischerweise die aktivierten Signaltransduktions-Programme wieder inaktiviert, Immunzellen und Myofibroblasten werden abgetragen, gewebeeigene Zellen können sich bilden und das betroffene Gewebe kehrt in den funktionstüchtigen Zustand zurück [30,31].

In fibrosierenden Geweben jedoch unterbleibt diese Inaktivierung, Entzündung und Matrix-Expansion dauern an und funktionstüchtiges Gewebe wird durch fibrotisches Narbengewebe ersetzt. Die Signalwege innerhalb der Zellen werden mehr und mehr der Kontrolle physiologischer Regulationsmechanismen entzogen. Proliferationsfördernde Signale werden daueraktiviert, bei gleichzeitiger Unterdrückung apoptotischer Signale. Es kommt zu einer Veränderung der zellulären Expressionsprofile, die in vielerlei Hinsicht an die Entstehung maligner Tumoren erinnert [31].

In dieser Arbeit werden daher Gewebeproben aus Nierenbiopsien von Patienten mit IgAN hinsichtlich ihrer Expressionsprofile untersucht.

1.3.1.1. Der Hippo-Signalweg

Der Hippo-Signalweg wurde zunächst in der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* identifiziert. Im Rahmen eines Screenings nach Tumorsuppressor-Genen fiel auf, dass „Loss of Function“-Mutationen in bestimmten Genen (Warts, Hippo, Salvador, Mats) alle zu einem ähnlichen Phänotyp mit stark überschießendem Gewebewachstum führten [32]. Die einzelnen Komponenten des Hippo-Signalwegs wurden vor allem bei Fruchtfliegen untersucht. Für die meisten Gene gibt es jedoch mindestens ein Homolog bei Säugetieren.

Die Effektor-Funktion des Signalwegs wird über die Koaktivatoren YAP/TAZ (Yorkie) vermittelt. Diese haben keine eigenen DNA-Binde-Domänen, sondern regulieren die Transkription ihrer Targetgene, indem sie mit Transkriptionsfaktoren interagieren. Die wichtigsten Transkriptionsfaktoren sind in diesem Zusammenhang TEAD1-4 (Scalloped). Sie können jedoch auch mit anderen Transkriptionsfaktoren zusammenarbeiten. Hierbei haben YAP und TAZ bisweilen unterschiedliche Bindungspartner [32,33].

Um ihrer Aufgabe nachkommen zu können, müssen YAP/TAZ im Zellkern lokalisiert sein. Dies ist ihnen nur im nicht-phosphorylierten Zustand möglich. Phosphoryliertes YAP/TAZ wird vom Zellkern ins Zytoplasma sequestriert. Überdies rekrutiert die Phosphorylierung spezielle Ubiquitin-Ligasen, die den Abbau fördern [34].

Die Phosphorylierung von YAP/TAZ wird durch eine Kaskade hintereinander geschalteter Proteinkinasen reguliert.

Unter physiologischen Bedingungen phosphoryliert die Protein-Kinase MST1/2 (Hippo) mit Hilfe des Adaptor-Proteins Sav1 (Salvador) die Tyrosin-Kinase Lats1/2 (Warts). Lats1/2

wird durch Phosphorylierung aktiviert und phosphoryliert nun ihrerseits YAP/TAZ. Für diese Phosphorylierung wird in einigen, jedoch nicht allen, Geweben das Adaptor-Protein Mob1 (Mats) benötigt. Dieses phosphoryliert Lats1/2 und steigert dessen Aktivität [32].

Verschiedene äußere Stimuli inaktivieren Hippo und die nachfolgende Signaltransduktionskaskade. Die Phosphorylierung von YAP/TAZ unterbleibt, und das nicht-mehr-phosphorylierte YAP/TAZ kann im Zellkern gemeinsam mit TEAD1-4 die Transkription seiner Target-Gene regulieren [32,33]. (Für eine Übersicht der Signalkaskade siehe auch Abbildung 3)

Dem Hippo-Signalweg kommen während aller Entwicklungsstadien und in gesundem sowie pathologisch verändertem Gewebe bedeutende Aufgaben zu.

Während der Embryonalperiode ermöglichen YAP/TAZ Wachstum und Entwicklung von Geweben und Organen. Sie fördern Proliferation und hemmen Differenzierung, kontrollieren die Größe gebildeter Gewebe, die Anzahl der Zellen in einem Gewebe und die Morphologie der Organe. Überdies sind sie wichtig für die Orientierung und Anordnung der Zellen entsprechend der späteren Körperachse [32 – 39].

Bei Erwachsenen sind sie maßgeblich an der Gewebshomöostase und dem Zell-„Turnover“ beteiligt. Gealterte oder geschädigte Zellen werden in den programmierten Zelltod geschickt und erwachsene Stammzellen zur Proliferation und Differenzierung angeregt, um die gealterten Zellen zu ersetzen [32].

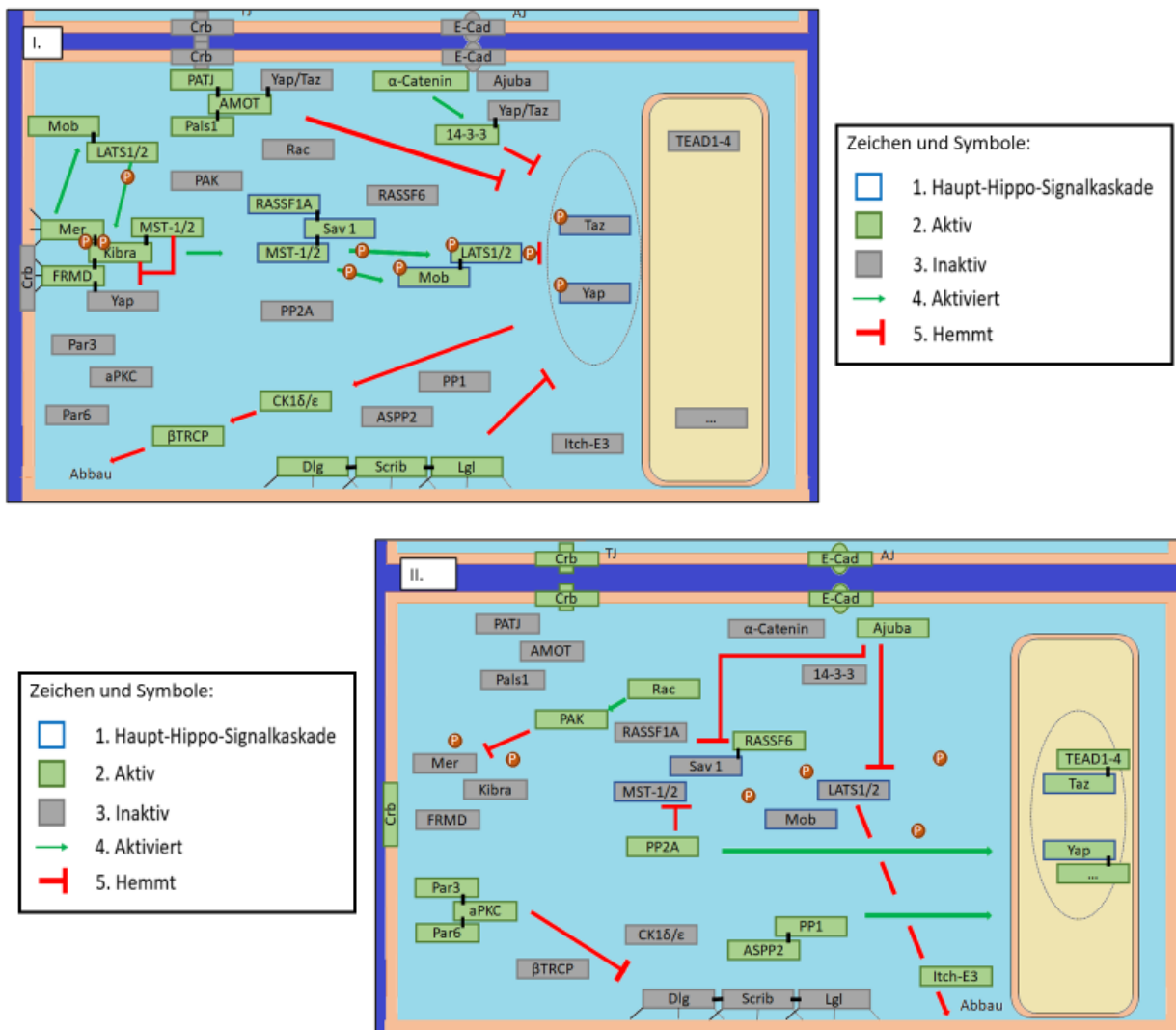
Im Falle einer Gewebsschädigung ist der Hippo-Signalweg wichtig für Einleitung und Aufrechterhaltung der Wundheilung durch Proliferation und Differenzierung gewebsspezifischer Vorläuferzellen [33,34].

Um seinen Aufgaben dahingehend nachgehen zu können erhält der Hippo-Signalweg über verschiedene Umweltfaktoren kontinuierlich Aufschluss über die Integrität des Gewebes und die Notwendigkeit der Zellregeneration.

In Zellkultur-Experimenten beobachtet man in diesem Zusammenhang beispielsweise eine differentielle Aktivierung je nach Abstand benachbarter Zellen, nach Oberfläche, auf der kultiviert wird oder Steifigkeit des umgebenden Gewebes. Viele der Regulatoren des Hippo-Signalwegs sind hierbei Bestandteile von Zell-Zell-Kontakten („Tight“-/„Adherens“-Junction, Desmosomen) oder auf andere Weise am Erhalt der Gewebshomöostase beteiligt. Die entscheidenden Signale werden dem Hippo-Signalweg vermutlich direkt über das Aktin-Zytoskelett vermittelt [36 – 39].

Kommt es zu Mutationen in Komponenten des Hippo-Signalwegs oder seiner Regulationsmechanismen, führt eine verstärkte Aktivierung zu unkontrollierter Proliferation von Zellen, die nicht mehr zur Differenzierung fähig sind [34]. Er wurde bereits mit vielen verschiedenen Krebsformen in Verbindung gebracht (z.B. Brust- [34,38], Lungenkrebs [32,34]). Auch bei der Metastasierung scheint er durch seine Fähigkeit EMT und Zellmigration auszulösen eine entscheidende Rolle beizutragen.

Abbildung 3



Der Hippo-Signalweg:

1. „Steady-State“:

Die Tyrosin-Kinase MST1/2 phosphoryliert und aktiviert LATS1/2. Dieses wiederum phosphoryliert und inhibiert Yap/Taz. MST1/2 interagiert mit dem Adaptor-Protein Sav1, LATS1/2 mit dem Adaptor-Protein Mob. Der Mer/Kibra/FRMD-Komplex rekrutiert Mob an die Zellmembran, wo es aktiviert werden kann. Außerdem bindet FRMD Yap direkt und inhibiert es so. RASSF1A, der membranständige Komplex Dlg/Scrib/Lgl, sowie Moleküle aus „Tight-Junctions“ (PATJ, AMOT, Pals1) und „Adherens-Junctions“ (α -Catenin) führen zu einer direkten Hemmung von Yap und Taz. Der Abbau wird von CK1 δ/ϵ und β TRCP vermittelt

2. Gewebsschädigung:

Die Phosphorylierung von Yap/Taz entfällt. Diese können in den Zellkern wandern, wo sie mit Transkriptionsfaktoren der TEAD-Familie interagieren. Das in „Adherens-Junctions“ lokalisierte Ajuba hemmt Sav1 und LATS1/2. PP2A hemmt MST1/2, der Komplex aus Par und aPKC hemmt den Dlg/Scrib/Lgl-Komplex und der Komplex aus PP1/ASPP2 fördert Yap/Taz. Der Abbau von LATS1/2 wird von Itch-E3 vermittelt.

1.3.1.2. Der AP-1-Transkriptionsfaktor-Komplex

AP-1 (Englisch: „activating protein 1“) bezeichnet eine Familie von Transkriptionsfaktoren, die alle dieselben Bindestellen in der DNA haben [40,41]. Sie wurden 1987 identifiziert, als Transkriptionsfaktor, der ein Element des humanen Metallothionein-IIa-Promoters (hMTIIa) bindet [40].

Die wichtigsten Transkriptionsfaktoren dieser Familie sind die Jun- (c-Jun, JunB, JunD) und Fos (c-Fos, FosB, Fra1/2)-Proteine. Es gibt jedoch noch weitere Transkriptionsfaktoren, wie die ATF- (ATF2, LRF1/ATF3, B-ATF), JDP- (JDP1/2), Maf- (c-Maf, MafB, MafA, MafG, MafF, MafK) und Nrl-Proteine, die ebenfalls zur AP-1-Familie gehören. Darüber hinaus können Mitglieder der AP-1-Familie auch mit anderen Transkriptionsfaktoren (NFAT, ETS, SMAD) interagieren [40,41].

Diese Transkriptionsfaktoren binden als Dimere an ihre DNA-Binde-Domäne. Dabei ist es einigen Familienmitgliedern (wie Jun-Proteinen) möglich, sowohl Mitglieder der eigenen Familie als Homodimere, als auch Mitglieder anderer Familien (wie Fos-Proteine) als Heterodimere zu binden. Andere Familien (wie Fos-Proteine) sind nur als Heterodimere wirksam [40,41]. (Siehe auch Abbildung 4)

Mitglieder aller AP-1-Familien nehmen eine bedeutende Rolle in der embryonalen Entwicklung des menschlichen Organismus ein. So wird von AP-1 beispielsweise die Differenzierung zu Fettzellen oder die Entstehung der Brustdrüse gehemmt, die neuronale Differenzierung oder die Differenzierung von Myeloiden Vorläuferzellen zu Makrophagen hingegen gefördert [40].

Beim Erwachsenen sind sie maßgeblich an regenerativen und entzündlichen Vorgängen, wie der Funktion des Immunsystems, der Initiierung und Aufrechterhaltung der Wundheilung und der Entstehung von Granulationsgewebe, beteiligt. Sie beeinflussen Migration, Proliferation und Differenzierung zahlreicher Zellformen [40,41].

AP-1 vermittelt seine Wirkung häufig über Aktivierung der Proteinkinase-C (PKC). Seine eigene Aktivität wird über Phosphorylierung durch verschiedene Proteinkinasen wie GSK3 (Glykogen Synthase Kinase 3) oder MAP-Kinase (Mitogen aktivierte Proteinkinase) JNK, die vor allem Jun-Proteine phosphoryliert, reguliert. Phosphorylierung durch GSK3 inhibiert hierbei seine Aktivität, während Phosphorylierung durch JNK sie stimuliert [40].

AP-1 weist in den meisten Zellen eine relativ hohe basale Aktivität auf, was die basale Expression einiger AP-1-abhängiger Genprodukte auch in ruhenden Zellen erklärt [40].

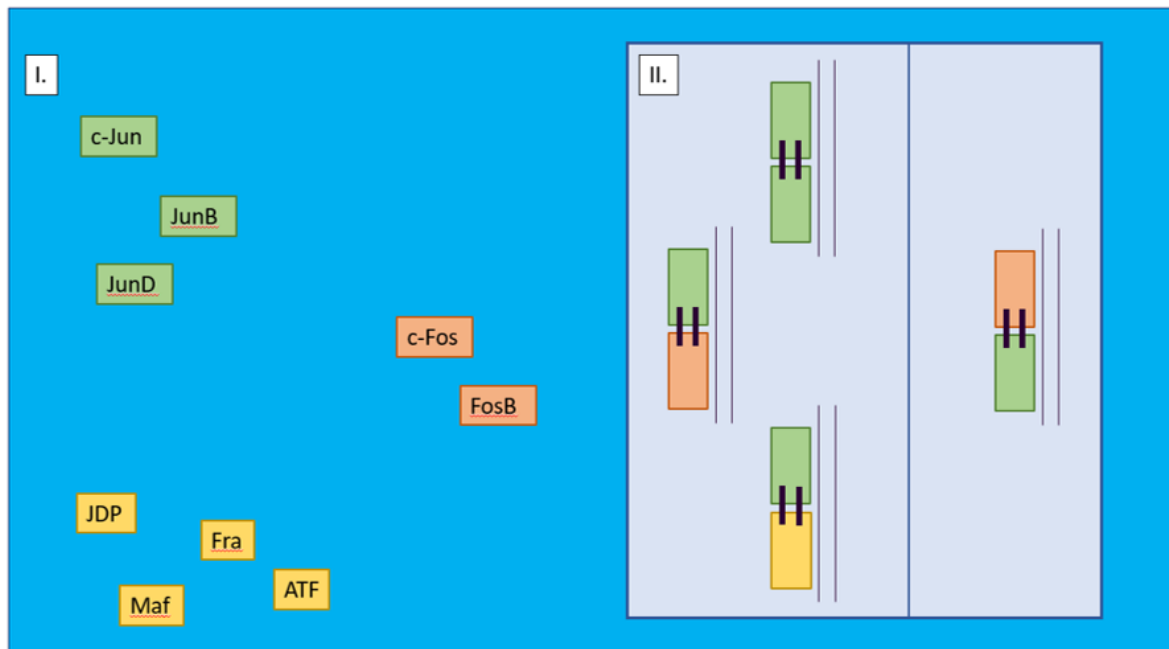
Die einzelnen Mitglieder der AP-1-Familie können durchaus unterschiedliche Wirkung auf die Transkription der AP-1-abhängigen Gene ausüben. Dies gilt auch bei Angehörigen derselben Proteinfamilie. Während die Aktivität der meisten Gene zum Beispiel von cJun und cFos stimuliert wird, kann sie zum Beispiel von JunB oder JunD, beides weniger starke Expressions-Stimulatoren, inhibiert werden [40,41].

Fehlregulierte AP-1-Transkriptionsfaktoren werden mit der Entstehung verschiedener Neoplasien (z.B. Maligne Hauttumoren [40], Sarkome [40], Lymphome [40], Leber- [40] und Darmkrebs [40]) in Verbindung gebracht. Vor allem die Fähigkeit maligner Tumoren,

Metastasen auszubilden, wird von AP-1 und seiner Rolle in EMT und Migration maßgeblich vorangetrieben. Außerdem sind sie an Neoangiogenese beteiligt [40,41].

Hierbei ist die Wirkung bestimmter AP-1-Transkriptionsfaktoren teilweise gewebsspezifisch. Während cJun beispielsweise in den meisten Fällen, die Entstehung verschiedener Malignome fördert, verhindert es auf der anderen Seite die die Krebsentstehung nach UV-Schädigung der DNA, indem es Reparaturmechanismen induziert oder die Apoptose einleitet [40].

Abbildung 4



Der Transkriptionsfaktorkomplex AP-1:

I.: AP-1 besteht aus verschiedenen Transkriptionsfaktorenfamilie, die alle dieselbe DNA-Sequenz binden. Die wichtigsten Vertreter sind hierbei die Jun (c-Jun, JunB, JunD) und Fos (c-Fos, FosB) Proteine.

II.: Sie binden die DNA stets als Dimer. Jun-Proteine können hierbei sowohl Homo-Dimere mit anderen Jun-Proteinen als auch Hetero-Dimere mit Fos-Proteinen oder anderen Familienmitgliedern bilden. Fos-Proteine benötigen ein Jun-Protein als Dimerisierungs-Partner.

1.3.1.3. Der Osmosensitive Transkriptionsfaktor NFAT5

Wie bereits beschrieben (s.1.) kommt den Nieren eine bedeutende Rolle in der Ausscheidung von Schadstoffen und der Regulation des Wasser- und Elektrolyt-Haushalts zu. Viele dieser Aufgaben erfüllen sie über Kontrolle der Menge (Volumen) und Zusammensetzung (pH, Ionen) des Körperwassers [42].

Hierfür wird der Urin entweder verdünnt (überschüssiges Wasser wird aus dem Körper entfernt) oder konzentriert (Wasser wird reteniert). Dafür werden Filter- und Resorptions-Vorgänge in Glomeruli, Tubuli und Sammelrohren benötigt.

Triebkraft der Wasserresorption im Sammelrohr ist die hohe Osmolarität des Interstitiums. Diese liegt zum Beispiel im inneren Nierenmark von Ratten zwischen 2.500-4.000 mosmol/kg [43]. Sie wird von zwei löslichen Faktoren bestimmt, Salz (NaCl) und Harnstoff. Diese haben aufgrund der unterschiedlichen Permeabilität der Nierenmembran für diese Stoffe verschiedene Wirkungen auf das Zellvolumen.

Die Harnstoff-Konzentration schwankt stark zwischen 100-4.000 mM [42]. Steigt sie zu stark an (> 300 mM), hat dies, im Gegensatz zu einem Anstieg der Salzkonzentration, keinen Effekt auf die Gesamt-Osmolarität, da die Membranpermeabilität der Nieren für Harnstoff in etwa der für Wasser entspricht, und sich dieser daher frei verteilen kann. Durch hohe Harnstoffkonzentrationen im Zellinneren werden jedoch Signalwege aktiviert, die letztlich zur Apoptose der Zellen führen [42].

Salzkonzentrationen > 150 mM führen zu einem merklichen Anstieg der Osmolarität, das Interstitium wird hypertön. Wasser strömt aus den Zellen, um die hohe Konzentration auszugleichen, die Zellen schrumpfen und die Ionenkonzentration innerhalb der Zellen steigt schlagartig an [44]. Die steigende Ionenkonzentration führt zu DNA-Doppelstrangbrüchen [45], die wiederum eine Einleitung der Apoptose bewirken. NaCl-Konzentrationen > 650 mosmol/kg führen direkt zur Einleitung der Apoptose [45]. (s. Abbildung 5)

Treten die Osmolaritäts-Änderungen jedoch nicht schlagartig auf, sondern entwickeln sich langsam über einen längeren Zeitraum hinweg, können die Zellen sich adaptieren.

Diese Adaptation erfolgt, indem Enzyme und Transporter synthetisiert werden, die zu einer Anhäufung osmotisch-wirksamer Substanzen im Zellinneren führen, sogenannter „Organischer Osmolyte“ [45]. Die bedeutendsten Organischen Osmolyte sind Myoinositol [45], Betain [45], Sorbitol [45], Taurin [45] und Glycerophosphorylcholin. Sie wirken der erhöhten Osmolarität außerhalb der Zellen entgegen und verhindern so den Wasserausstrom [44]. (s. Abbildung 5)

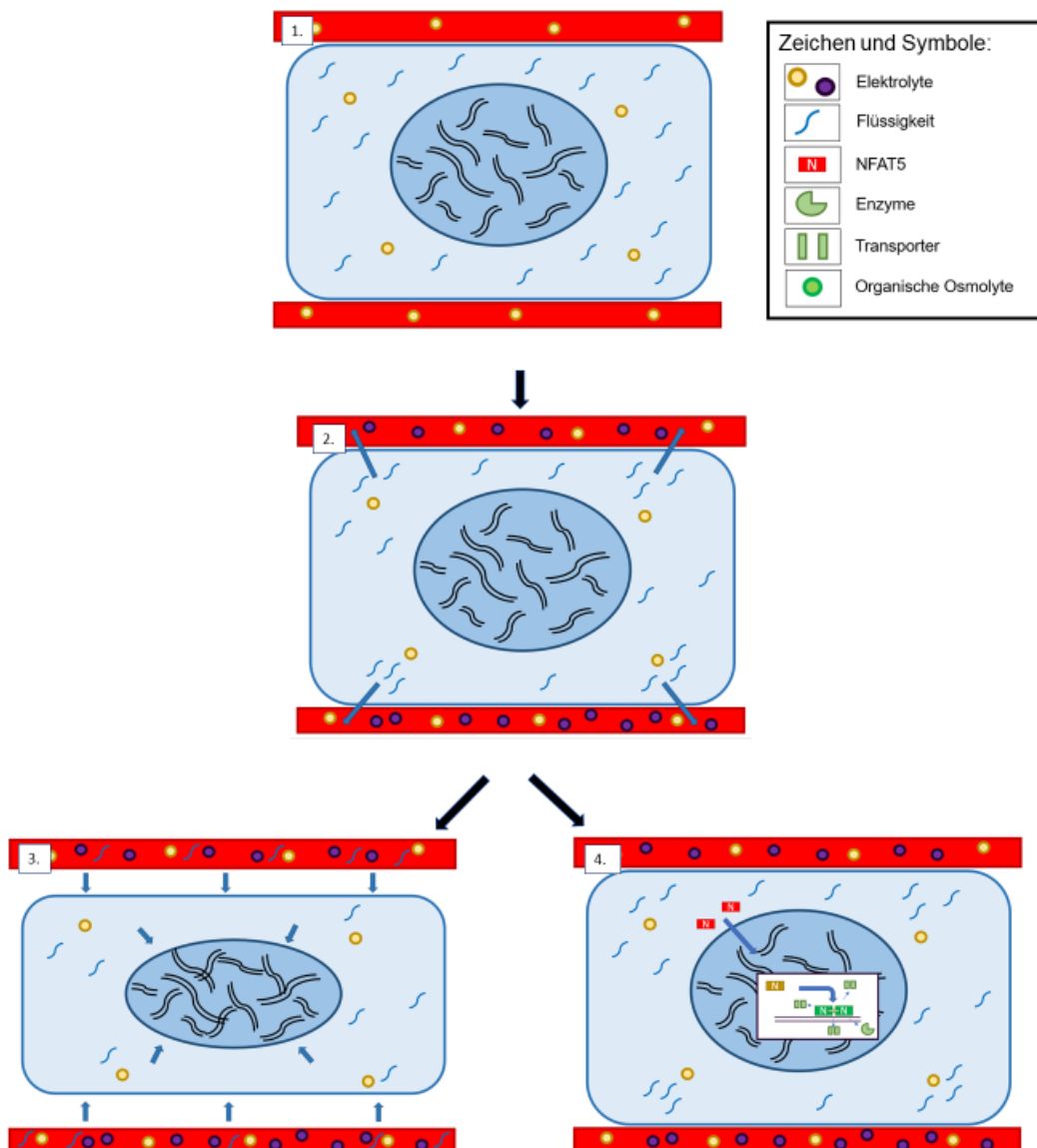
TonEBP (Englisch: „transcriptionfactor tonicity responsive enhancer binding protein“) oder auch NFAT5 (Englisch: „nuclear factor of activated T-cells 5“) ist ein Transkriptionsfaktor im Zytoplasma und Zellkern vieler verschiedener Gewebe, darunter auch der Niere. Er gehört der Familie der Rel-Like-Transkriptionsfaktoren an, zu denen auch NFκB [43] und die Calcineurin-abhängigen Transkriptionsfaktoren NFAT1-4 [44] gehören. Sie binden alle an dieselbe DNA-Binde-Domäne, die als RHD bezeichnet wird [44]. Um effektiv an DNA binden zu können, bildet NFAT5 Dimere [46]. Seine Aktivierung kann entweder durch Stress (v.a. Hypertonizität) [42] oder Rezeptor-abhängig [43] erfolgen und wird über vermehrte Expression [47], Anstieg der nukleären Fraktion [47] und Phosphorylierung [46] vermittelt. Verschiedene Kinasen (MAPK1, Tyrosin-Kinasen, PI3K) sind in die Induktion von Genen durch Hypertonizität involviert [45].

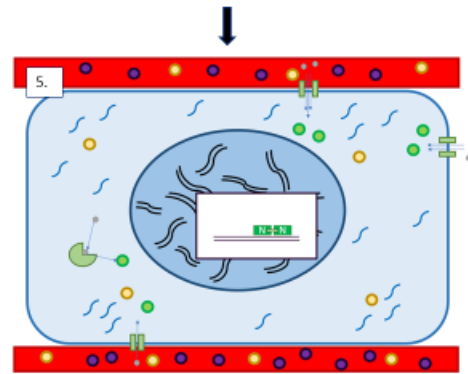
In den menschlichen Nieren übernimmt NFAT5 zwei wichtige Funktionen: es trägt zur „Osmoprotektion“ bei, indem es für Transporter für Myoinositol [43], Betain [43] und Taurin [43], sowie die Aldose-Reduktase [43] kodiert, die die Synthese von Sorbitol aus Glukose katalysiert, und es nimmt aktiv an der Urin-Konzentrierung teil, indem es Harnstoff- und Wasser-Permeabilität reguliert [43,44].

Gewebe, die nicht in der Lage sind NFAT5 zu exprimieren, sind anfällig gegenüber Apoptose. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass die renale Medulla von Mäusen nach NFAT5-Knockout atrophiert. Dieser Atrophie geht eine dramatische Reduktion der Myoinositol, Betain und Taurin-Transporter sowie der Aldose-Reduktase voraus [43].

Neben seiner osmoprotektiven Funktion ist NFAT5 auch bedeutend an einer reibungslosen Funktion des menschlichen Immunsystems beteiligt. So fördert es beispielsweise die Transkription verschiedener Zytokine (TNF- α [42], Lymphotoxin- β [42]), sowie die Zellmigration und Aktivierung von T-Zellen als Reaktion auf TLR-Induktion [42,44], v.a. in hypertonen aber auch in isotonen Geweben.

Abbildung 5





Osmoprotektion und NFAT5:

1.-3. Osmotischer Stress:

Werden Zellen hypertonen (hyperosmolaren) Umgebungsbedingungen ausgesetzt, strömt Flüssigkeit heraus, Zellen und Zellkern schrumpfen, die Makromoleküle v.a. im Zellkern werden aneinandergedrückt und es kommt zu DNA-Schädigungen.

4.-5. Gegenregulation durch NFAT5 („Osmoprotektion“):

Um dies (s.1-3.) zu verhindern werden verschiedene Signalwege (u.a. NFAT5) aktiviert. Diese führen zur Synthese von Transportern (u.a. Myoinositol, Betain) und Enzymen (u.a. Aldose-Reduktase für die Synthese von Sorbitol), die zu einem intrazellulären Anstieg sogenannter „Organischer Osmolyte“ (osmotisch wirksamer Substanzen) im Zellinneren führen. Diese wiederum wirken einem Ausstrom von Flüssigkeit entgegen.

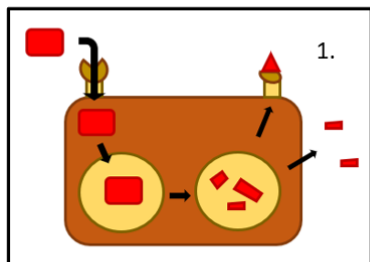
1.3.2. Die Rolle des Immunsystems bei der Entstehung von Fibrose

Das menschliche Immunsystem [2j, 3f] ist ein komplexes Netzwerk aus Organen, Zellen und löslichen Faktoren, die allesamt darauf hinarbeiten, den Wirtsorganismus vor Eindringlingen zu schützen. Ihre Hauptleistung besteht darin, Fremdorganismen zu erkennen und unschädlich zu machen, ohne den Wirtsorganismus anzugreifen [48,49]. Werden potentiell schädliche Fremdkörper (Antigene, Faktoren) erkannt, wird eine umfassende Immunantwort eingeleitet.

Das menschliche Immunsystem setzt sich aus zwei großen Gruppen zusammen, dem angeborenen und dem erworbenen (adaptiven) Immunsystem. Diese beiden großen Gruppen arbeiten eng zusammen, um eine effektive Immunantwort zu garantieren [48,49].

Abbildung 6

Grundlegende Mechanismen des Immunsystems

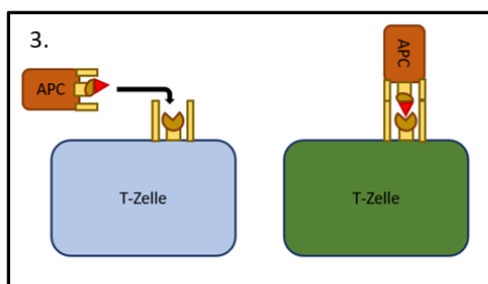
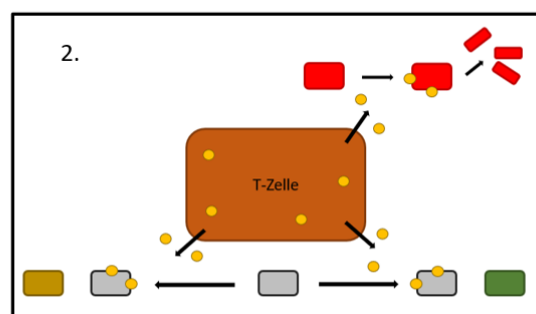


1. Phagozytose:

Immunzellen können Eindringlinge über Endozytose aufnehmen. Dort verschmelzen sie mit Lysosomen und werden u.a. von Proteasen oder Ribonukleasen zersetzt. Die Fragmente werden z.B. ausgeschieden oder an spezifischen Rezeptoren präsentiert. Dieser Vorgang kann verstärkt werden, wenn die Eindringlinge „opsoniert“, also z.B. von Immunglobulinen oder Komplementfaktoren markiert, werden

2. Sekretion von Zytokinen:

Zytokine sind kleine Proteine, die u.a. von Lymphozyten und MoPhs gebildet werden und über Oberflächenrezeptoren auf andere Zellen einwirken. Sie können diese aktivieren, inaktivieren oder zerstören, indem sie z.B. die Apoptose einleiten.



3. Antigenpräsentation zu T-Zellen:

Der T-Zell-Rezeptor erkennt Proteinfragmente in Verbindung mit MHC-Molekülen. CD-8-T-Zellen erkennen MHC-I-Moleküle, CD-4-T-Zellen MHC-II. MHC-I kommen auf allen kernhaltigen Zellen vor und präsentieren endogene Antigene. MHC-II kommen v.a. auf APC vor und präsentieren exogene Antigene.

1.3.2.1. Das Angeborene Immunsystem

Das angeborene Immunsystem [2k, 3g] ist evolutionär betrachtet das weitaus ältere Immunsystem [48]. Es geht beim ersten Kontakt direkt gegen Pathogene vor und löst eine entsprechende Immunantwort aus. Zum angeborenen Immunsystem zählen unter anderem Monozyten, Dendritische Zellen (Englisch: „dendritic cells“ = DC), Makrophagen (MΦ), Granulozyten, Mastzellen, Natürliche Killer-Zellen (NK) und das Komplement-System [49].

Sobald ihre spezifischen Rezeptoren (Englisch: „pattern recognition receptor“ = PRR) Antigene oder Bestandteile von Pathogenen (Englisch: „pathogen associated molecular pattern“ = PAMP) oder Gefahrensignale aus nekrotischen Geweben (Englisch: „damage associated molecular pattern“ = DAMP) binden, werden die Zellen über intrazelluläre Signalkaskaden aktiviert [48]. Aktivierte Immunzellen produzieren proinflammatorische Zytokine, die gegen Pathogene vorgehen und Chemokine, die weitere Immunzellen anlocken. (Zytokinproduktion s. Abbildung 6)

1.3.2.1.1. Das Komplement-System

Das Komplement-System [2l, 3h] besteht aus einer Reihe löslicher Faktoren, die in der Leber synthetisiert und in einer hintereinandergeschalteten Signalkaskade aktiviert werden [48,49]. Aktiviertes C3 oder C5 bilden entweder einen Membran-Angriffs-Komplex (Englisch: „membrane attack complex“ = MAC), der die Zellen direkt lysiert oder tragen zur sogenannten „Opsonierung“ angegriffener Zellen bei. „Opsonierte“ Zellen werden markiert und damit anderen Immunzellen „schmackhaft“ gemacht [48,49]. Bestandteile des Komplementsystems finden sich zum Beispiel in den Immunkomplexen im Mesangium von IgAN-Patienten [12].

1.3.2.1.2. Monozyten

Monozyten, M Φ und DC gehören dem Mononukleären Phagozytensystem (MoPh) [1b, 2m, 50] an, was bedeutet, dass sie die Fähigkeit besitzen, Zellen über Endozytose aufzunehmen und in ihrem Inneren zu zersetzen [51]. Dieser Vorgang wird als Phagozytose bezeichnet. (s. Abbildung 6)

Monozyten stellen die Hauptgruppe der Mononukleären Phagozyten im Blut dar [52]. Sie werden entsprechend der Oberflächenmarker CD14 und CD16 in drei Untergruppen eingeteilt. Diese stellen ein funktionelles Kontinuum dar [52].

Klassische (CD14⁺⁺CD16⁻) Monozyten machen mit 90% den Hauptteil aus. Sie sind wichtig für Angiogenese, Wundheilung, Koagulation. Außerdem regulieren sie über die Synthese regulatorischer Zytokine die T-Zell-Aktivität. Sie exprimieren viele AP-1-abhängige Faktoren [52].

Nicht-Klassische (CD14⁺CD16⁺⁺) Monozyten weisen den höchsten Reifungs- und Differenzierungsgrad auf. Sie patrouillieren gesunde Gewebe, reagieren stark auf Nukleinsäuren und Viren und vermitteln vor allem Fc-Rezeptor-gesteuerte Phagozytose. Von allen Monozyten-Subgruppen exprimieren sie die meisten inflammatorischen Zytokine. Ihre Zahl steigt während Entzündungen stark an [52].

Intermediäre (CD14⁺⁺CD16⁺) Monozyten stellen eine Brücke zwischen Klassischen und Nicht-Klassischen Monozyten dar. Sie exprimieren viele der Oberflächenproteine in Leveln zwischen denen der anderen Subgruppen. Sie sind vor allem auf Antigen-Prozessierung und -Präsentation spezialisiert und weisen unter den Monozyten-Subpopulationen das höchste Potential zur Induktion Antigenunabhängiger T-Zell-Antworten auf [52].

1.3.2.1.3. Makrophagen (M Φ)

M Φ [1b, 2m] entwickeln sich aus Monozyten und kommen vor allem in peripheren, nicht-lymphatischen Geweben vor [51,53]. Sie enthalten viele Lysosomen, in denen sie phagozytirtes Material zersetzen können [50]. Auf diese Weise beseitigen sie auch zellulären Debris und tragen apoptotische Zellen ab. Zusätzlich sezernieren sie proinflammatorische Faktoren (z.B. IL-1, IL-6, TNF- α) und Reaktive Sauerstoff-/Stickstoff-Spezies [28], spielen aber auch eine wichtige Rolle bei Gewebshomöostase und

Wundheilung. Es gibt verschiedene Subpopulationen, die häufig in M1- und M2-M Φ unterteilt werden.

Klassisch-aktivierte, inflammatorische M1-M Φ werden durch inflammatorische Zytokine (IFN- γ , TNF- α) aktiviert und produzieren ihrerseits Zytokine und Oxidantien [49,53]. Ihre Zahlen steigen während der frühen Phasen von AKI [20] und CKD [29].

Alternativ-aktivierte M2-M Φ wirken immunmodulatorisch. Sie sezernieren Wachstumsfaktoren und sind an Wundheilungs-Vorgängen beteiligt [49,53].

1.3.2.1.4. Dendritische Zellen (DC)

DC [1c, 2n] sind zirkulierende („migratorische“) oder ortsständige („residente“) Zellen mit dendritischen Ausläufern und ausgeprägten migratorischen Fähigkeiten [54]. Sie finden sich in Blut und verschiedenen Geweben, wie den Nieren. Ihre Hauptaufgabe besteht darin, Antigene für B- und T-Zellen in den Lymphknoten zu präsentieren. Sie sind die potentesten Antigen-präsentierenden Zellen des menschlichen Organismus [48,50]. Außerdem sezernieren sie Zytokine und Chemokine, die umgebende Parenchym- und Immunzellen (v.a. Neutrophile, M Φ) beeinflussen. Residente Gewebe-DCs erfüllen wichtige Aufgaben bei der Gewebsregeneration und -homöostase. Sie werden anhand ihrer Oberflächenmarker in verschiedene Kategorien eingeteilt.

„Klassische“, Myeloide DC (cDC) exprimieren die typischen myeloiden Marker: CD11c, CD13, CD33, CD11b. Sie kommen ubiquitär vor [54]. Anhand der Oberflächenmarker CD1c und CD141 werden sie weiter unterteilt.

CD1c⁺-cDC stellen die Hauptgruppe der cDC und ca. 1% der gesamten Mononukleären Zellen dar. Sie interagieren effektiv mit CD4⁺-T-Zellen und sezernieren unter anderem TNF- α , IL-1 β , IL-6 und IL-12. Sie können jedoch auch immunmodulatorische Faktoren (z.B. IL-10) produzieren [54].

CD141⁺-cDC machen ca. 10% der Blut-cDC aus und stellen v.a. residente DC in lymphatischen und nicht-lymphatischen Geweben dar. Sie sind darauf spezialisiert Antigen zu CD8⁺-T-Zellen zu präsentieren. Außerdem tragen sie apoptotische oder nekrotische Zellen ab und gehen effektiv gegen Viren vor. Sie sezernieren unter anderem TNF- α und IFN- λ , jedoch kein IL-12 [54].

CD14⁺-DC finden sich in moderaten Mengen in lymphatischen und nicht-lymphatischen Geweben und wurden ursprünglich als „interstitielle“ DC beschrieben. Sie haben viele M Φ -ähnliche Eigenschaften und exprimieren die M Φ -Marker CD209 (DC-SIGN), FXIIA und CD163. Unstimuliert nehmen sie eher regulatorische, antiinflammatorische Funktionen wahr. In den Lymphknoten unterstützen sie die Heranreifung von B-Zellen, indem sie die Funktionen follikulärer Helfer-Zellen fördern [54].

Plasmazytoide DC (pDC) bilden die Haupt-DC-Population im Blut. In ruhenden Geweben findet man sie kaum. Sie exprimieren keine der typischen myeloiden Marker. Obwohl sie nicht direkt mit Plasmazellen verwandt sind, weisen sie viele Ähnlichkeiten mit diesen auf, wie T-Zell-Rezeptoren, Immunglobulin-Rearrangements und gesteigerte sekretorische Fähigkeiten. Als Reaktion auf Viren sezernieren sie IFN-1. Ihre Fähigkeiten zur T-Zell-

Stimulation sind begrenzt. Insgesamt erfüllen sie eher regulatorische, antiinflammatorische Aufgaben [54].

1.3.2.1.5. Natürliche Killer-Zellen (NK)

NK-Zellen [1*d*, 2*o*] tragen infizierte und anomale Zellen (z.B. Zellen ohne MHC-Klasse-I-Komplex) ab. Sie aktivieren Makrophagen durch Produktion von IFN- γ [49]. In der Niere sind sie v.a. mit der Entstehung von AKI assoziiert, wo sie maßgeblich zur Apoptose tubulärer Epithelzellen beitragen. Sie können jedoch auch autoreaktive T-Zellen abtragen [49].

1.3.2.2. Das Adaptive Immunsystem

Das adaptive Immunsystem [2*p*, 3*i*] reguliert meist die zweite Welle der Infektabwehr, nachdem das angeborene Immunsystem den Angriff bereits begonnen hat. Es verdankt den Namen „adaptives“ Immunsystem der Fähigkeit eine Antigen-spezifische Antwort einzuleiten, „abzuspeichern“ und bei erneutem Angriff derselben Pathogene rasch und effizient reaktivieren zu können. Es besteht v.a. aus B- und T-Zellen, die beide über Antigen-Kontakt aktiviert werden müssen und bestimmte Gedächtnis-Zellen ausbilden können [48,49].

1.3.2.2.1. T-Zellen

T-Zellen [2*q*, 3*i*] exprimieren einen spezifischen T-Zell-Rezeptor (Englisch: „T-cell receptor“ = TCR) [49]. Sie benötigen die Antigen-Präsentation auf MHC-Molekülen (Englisch: „major histocompatibility complex“) Antigen-Präsentierender Zellen (Englisch: „antigen presenting cell“ = APC) [55]. (s. Abbildung 6) Als APC kommen nahezu alle Zellen des Körpers infrage. Gewöhnlich übernehmen diese Aufgaben Immunzellen (DC, M Φ , B-Zellen), jedoch auch „infizierte“ Zellen können Antigene auf ihrem MHC-Komplex präsentieren [50]. T-Zellen werden gemäß der Oberflächenmarker CD4 und CD8 in Subklassen unterteilt.

CD8⁺-T-Zellen nehmen mithilfe ihrer CD8-Corezeptoren Antigene wahr, die APC auf MHC-Klasse-I-Molekülen präsentieren. Nach Aktivierung lösen sie durch Ausschüttung spezieller Zytotoxine die Apoptose infizierter Zellen aus. Sie werden auch zytotoxische- oder Killer-T-Zellen genannt [49].

CD4⁺-T-Zellen erkennen Antigene, die von MHC-II-Molekülen auf der Oberfläche von APC präsentiert werden. Sie sind selbst nicht zytotoxisch, sezernieren jedoch Zytokine, die CD8⁺-T-Zellen und Makrophagen aktivieren. Außerdem besitzen sie die nötigen Oberflächenmoleküle um B-Zellen zu aktivieren. Sie werden T-Helfer-Zellen genannt. In Anlehnung an das Zytokin, das sie vorwiegend produzieren, werden sie in Th1, Th2 und Th17 unterteilt [49].

Th1 produzieren inflammatorische Zytokine und fördern die Aktivierung von M Φ und CD8⁺-T-Zellen [48,49].

Th2 sezernieren antiinflammatorische Zytokine, inhibieren die Th1- und M Φ -Aktivierung und fördern die B-Zell-Reifung [48,49].

Th17 produzieren Zytokine, die die TNF- α -Expression fördern und Chemokine, die Immunzellen in die Nieren locken [49].

Neben zytotoxischen und T-Helfer-Zellen gibt es auch T-Zellen, die Entzündungsreaktionen unterdrücken und Gewebetoleranz fördern. Sie werden als Regulatorische T-Zellen (Treg) bezeichnet.

1.3.2.2.2. B-Zellen

B-Zellen [2r, 3j] erkennen Pathogene über Antikörper (Ak) an ihrer Oberfläche. Der Antigen-Antikörper-Komplex wird aufgenommen, von intrazellulären Proteasen zerlegt und an der Zelloberfläche an MHC-II-Molekülen präsentiert. CD4⁺-T-Zellen erkennen den Antigen-MHC-II-Komplex und aktivieren die B-Zellen. Aktivierte B-Zellen differenzieren zu Plasmazellen, die große Mengen des spezifischen Ak bilden [49].

Das adaptive Immunsystem ist in der Lage, eine Art „Immun-Gedächtnis“ zu bilden. Sobald B- und T-Zellen aktiviert werden, entwickeln sich einige von ihnen zu langlebigen Gedächtniszellen [49]. Diese führen – sobald der Körper mit einem bekannten Pathogen in Kontakt kommt – zu einer raschen, hoch-effizienten Immunantwort.

1.3.2.3. Das Immunsystem in der Niere

In gesunden Nieren finden sich v.a. im Tubulointerstitium viele Immunzellen, darunter am prominentesten DC und M Φ . DC finden sich hierbei vor allem im kortikalen Tubulointerstitium, selten in den Glomeruli, während sich M Φ vor allem in den Glomeruli und in den subkapsulären, periarteriellen Bindegeweben finden [56].

Beide Immunzellformen gehören dem Mononukleären Phagozytensystem (MoPh) an. In gesunden Nieren nehmen sie vor allem „Sentinel“-Funktionen ein, überwachen die Gewebe und reinigen sie von abgestorbenen Zellen. Hierbei ist anzumerken, dass lediglich 5% der tubulointerstitiellen DC ausschließlich DC-Funktionen zeigen [56].

Anders als die klassische Kategorisierung von Immunzellen vermuten lässt (s. 1.3.2.2.) lassen sich die renalen Phagozyten hierbei anhand ihrer Oberflächenmarker nur bedingt einer festen Kategorie zuordnen. Stattdessen finden sich vermehrt Immunzellen mit dendritischer Morphologie, die auf ihrer Oberfläche sowohl DC- (CD14) als auch Makrophagen-Marker (CD209/DC-SIGN) exprimieren [57].

Sie wurden initial in Proben von Patienten mit klarzelligem Nierenzellkarzinom entdeckt und als „ercDC“ (Englisch: „enriched in renal carcinoma DC“) bezeichnet [58]. Neure Studien belegen jedoch, dass diese spezielle Subklasse von Phagozyten auch in gesunden Nieren unter homöostatischen Bedingungen und vermehrt bei CKD-Patienten auftritt [59]. In dieser

Arbeit werden sie aufgrund ihrer Oberflächenmarker als 2⁺MoPh (doppelt-positive, CD209⁺/CD14⁺ MoPh) bezeichnet.

2⁺MoPh exprimieren zwar T-Zell-Aktivierungs-Marker (IL-12, Faszin) und sind damit in der Lage naive T-Zellen zu aktivieren, ihre Level bleiben dabei jedoch weit hinter denen unreifer DC (imDC) zurück und ihre Arbeit ist weitaus ineffektiver. IL-12 und Faszin werden für die Aktivierung von T-Zellen, ihre Differenzierung sowie für die Ausbildung immunologischer Synapsen benötigt [57].

Unsere Kollegin, Frau Prof. Dr. Elfriede Nößner, untersuchte jüngst das Transkriptom von ex-vivo-isolierten 2⁺MoPh und führte verschiedene Funktions-Studien durch.

Diese Arbeit verwendet zur Untersuchung ihrer Funktion Zellen mit 2⁺MoPh-ähnlichem Phänotyp, die in-vitro durch Co-Kultur mit Nieren-Zell-Karzinom-konditioniertem Medium gewonnen werden. Ihre konkrete Funktion beim Erhalt der Gewebshomöostase oder der Reparatur von Geweben unter physiologischen Bedingungen haben wir zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vollständig erfasst.

1.3.2.4. Das Immunsystem und Fibrose

Unter physiologischen Bedingungen werden die einzelnen Komponenten des Immunsystems von löslichen Faktoren (z.B. TGF- β , IL-10), die von gesunden Zellen oder Tregs gebildet werden und an spezifische Oberflächen-Rezeptoren (z.B. CD200R, SIRP- α , MARCO, TREM2) binden, in einem ruhenden Zustand gehalten, der als „Anergie“ bezeichnet wird [28]. Kommt es zur Verletzung von Gewebestrukturen und Epithelien, gehen wichtige Liganden verloren, ihre modulierende Wirkung auf das Immunsystem entfällt, und eine lokale Entzündungsreaktion wird eingeleitet.

Im Rahmen dieser Entzündungsreaktion kommt es zu einer starken Zytokin-Ausschüttung. Bedeutend sind in diesem Zusammenhang IFN- γ [48] und IL-12 [49]. Sie führen zu einer Hochregulation endothelialer Zell-Adhäsions-Moleküle und zur Chemokin-Produktion [29]. Andere Zytokine (z.B. TNF- α [53], TGF- β [27], Interleukine) beeinflussen Salz-Exkretion, renalen Blutfluss und GFR, indem sie die Autoregulation afferenter Arteriolen behindern oder vasokonstriktorisch wirksam werden [24,25].

Epithelzellen werden direkt geschädigt oder nehmen Schaden durch lokalen, oxidativen Stress. Als Folge der reduzierten Nierendurchblutung kommt es zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und zu weitreichenden Modellierungen und hämodynamischen Veränderungen [25].

1.4. Hypothesen

Wir vermuteten, dass es während des Fortschreitens fibrosierender Nierenerkrankungen (z.B. IgA-Nephritis) zu einer Reaktivierung embryonaler Signalwege kommt. Diese werden der physiologischen Kontrolle entzogen und über- oder unterproportional exprimiert. Bedeutend in Zusammenhang mit IgA-Nephritis sind u.a. Hippo-, AP-1- und NFAT5-assoziierte Signalwege.

Wir vermuteten weiterhin, dass diese Änderung der Expressionsaktivität durch Immunzellen ausgelöst wird, die das Glomerulointerstitium infiltrieren.

Außerdem vermuteten wir, dass sich der Hippo-, AP-1- und NFAT5-Signalweg in einem direkten „Crosstalk“, der mit der Zerstörung der Gewebshomöostase und dem konsekutiven Voranschreiten der Erkrankung in Zusammenhang steht, gegenseitig beeinflussen.

Um diese Hypothesen zu überprüfen entschieden wir uns für verschiedene Experimente:

- Untersuchung von Nierenbiopsien bezüglich differentiell exprimierter Gene mittels Microarray-Analyse
- Etablierung einer induzierbaren Vektorplattform mit Hilfe der Gateway-Klonierungstechnologie
- Zellkulturexperimente:
 - Koninkubation mit myeloiden Zellen
 - Gezielte Induktion der verschiedenen Signalwege zur Untersuchung von Crosstalk

2. Material

2.1. Zellkultur

2.1.1. Zelllinien

Zelllinie	Ursprung	Medium
HEK293 ("human embryonic kidney cells", adherent)	ATCC CRL-1573, Manassas, Virginia (USA)	DMEM + 10 % FCS + 1% PS
RCC26 ("human renal cell carcinoma", adherent, weniger aggressiver Primärtumor)	Isoliert von D. Schendel, München (Germany)	RPMI 1604 + 15% FBS + 1% NEAA + 1% Natrium Pyruvat + 1% PS
33MM6 ("Mono-Mac-6", Akute Monozytäre Leukämie)	Leibnitz Institut DSMZ ACC124, Braunschweig (Germany)	RPMI 1604 + 10% FCS + 1% NEAA + 1% Natrium Pyruvat + 900µg/ml Insulin + 1mM Oxalessigsäure + 1 % PS
MCSF (Makrophagen aus PBMCs)	Prof. Dr. Noessner, Zentrum für Immunanalytik, Helmholtz Zentrum München (Germany)	RPMI 1640 + 10% FCS + 1% NEAA + 1% Natrium Pyruvat
M1 (M1-Makrophagen aus PBMCs)	Prof. Dr. Noessner, Zentrum für Immunanalytik, Helmholtz Zentrum München (Germany)	RPMI 1640 + 10% FCS + 1% NEAA + 1% Natrium Pyruvat
M2 (M2-Makrophagen aus PBMCs)	Prof. Dr. Noessner, Zentrum für Immunanalytik, Helmholtz Zentrum München (Germany)	RPMI 1640 + 10% FCS + 1% NEAA + 1% Natrium Pyruvat
cDC (Klassische DC aus PBMCs)	Prof. Dr. Noessner, Zentrum für Immunanalytik, Helmholtz Zentrum München (Germany)	RPMI 1640 + 10% FCS + 1% NEAA + 1% Natrium Pyruvat
2 ⁺ MoPhs (2-fach positive Mononukleäre Phagozyten, aus PBMCs)	Prof. Dr. Noessner, Zentrum für Immunanalytik, Helmholtz Zentrum München (Germany)	RPMI 1640 + 10% FCS + 1% NEAA + 1% Natrium Pyruvat

Tabelle 1

2.1.2. Medien

Zellkultur-Medien:

RPMI 1604 Medium + GlutaMAX	Gibco, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
Dulbeccos Modified Eagle Medium (DMEM) + GlutaMAX	Gibco, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
AIM-V-Medium (3% HS)	Prof. Dr. Noessner, Zentrum für Immunanalytik, Helmholtz Zentrum München (Germany)

VLE-Medium (6% HS)	Prof. Dr. Noessner, Zentrum für Immunanalytik, Helmholtz Zentrum München (Germany)
--------------------	--

Tabelle 2

Einfrier-Medium:

Zutaten	Menge
DMEM	30%
FCS	60%
DMSO	10%

Tabelle 3

2.1.3. Antibiotika

Hygromycin B	Roche Diagnostik, Mannheim (Germany)
Zeocin	Invivogen, SanDiego (USA)
Blasticidin	Invivogen, SanDiego (USA)
Geneticin / G418	Merck/Sigma-Aldrich GmbH, München (Germany)
Doxycyclin Hyclate	Santa Cruz Biotechnology, Dallas (USA)

Tabelle 4

2.1.4. Stimulation

Natrium-Chlorid	Sigma Aldrich, Taufkirchen (Germany)
PMA	Sigma Aldrich, Taufkirchen (Germany)
PD98059	Merck/Sigma-Aldrich GmbH, München (Germany)
Wortmannin	Merck KGaA, Darmstadt (Germany)
rhEGF	Bio-Tech GmbH, Wiesbaden (Germany)
GM-CSF	R&D Systems GmbH, Germany
rhu-IL-4	R&D Systems GmbH, Germany
rhu M-CSF	R&D Systems GmbH, Germany
rhu-IFN- γ	R&D Systems GmbH, Germany
LPS	Enzo, Farmingdale (USA)

Tabelle 5

2.1.5. Zusätze und Weitere ChemikalienZusätze:

FCS (Bovines Kälberserum)	Merck/Biochrom GmbH, Berlin (Germany)
PS (Penicillin/Streptomycin)	Merck/Biochrom GmbH, Berlin (Germany)
NEAA ("Non Essential Amino Acids", Minimum Essenzielles Medium)	Gibco, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
Natrium-Pyruvat 100mM (100X)	Gibco, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
Humane Insulin Lösung	Merck/Sigma-Aldrich GmbH, München (Germany)
Oxalessigsäure	Merck/Sigma-Aldrich GmbH, München (Germany)

Tabelle 6

Weitere Chemikalien:

Dulbeccos Phosphate Buffered Saline (DPBS)	PAN-Biotech GmbH, Aidenbach (Germany)
TE (Trypsin-EDTA)	PAN-Biotech GmbH, Aidenbach (Germany)
Trypan Blau 0.4% Lösung	Lonza AG, Basel (Switzerland)
DMSO (Dimethyl Sulfoxid)	Merck, Darmstadt (Germany)

Tabelle 7

2.2. Mikrobiologie**2.2.1. Bakterienstämme**

Linie	Ursprung	Genotyp
MACH-1 T1R	Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)	F- Φ 80lacZ Δ M15 Δ lacX74 hsdR(rK-, mK+) Δ recA1398 endA1 tonA
DB3.1	Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)	F- gyrA462 endA1 Δ (sr1-recA) mcrB mrr hsdS20(rB-, mB-) supE44 ara-14 galK2 lacY1 proA2 rpsL20(SmR) xyl-5 λ - leu mtl1

Tabelle 8

2.2.2. Medien und LösungenLB-Medium

Zutaten	Menge (pro Liter)
Bacto Tryptone	10 g
NaCl	10 g
Hefeextrakt	5 g

Tabelle 9

SOC-Medium

Zutaten	Menge (pro Liter)
Hefeextrakt	5 g
Bacto Tryptone	20 g
NaCl	10 mM
KCl	1,5 mM
MgCl	10 mM
MgSO ₄	10 mM
Glukose	20 mM

Tabelle 10

Einfriermedium

Zutaten	Menge
KH_2PO_4	132.3 mM
Natrium-Zitrat x $2\text{H}_2\text{O}$	21 mM
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	3.7 mM
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	68.1 mM
$\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$	459.3 mM
Glycerol	35.2 %
H_2O	

Tabelle 11

CaCl₂-Lösung (für kompetente Bakterien)

Zutaten	Menge
CaCl_2	60 mM
Glycerol	15 %
PIPES, pH7	10 mM
H_2O	

Tabelle 12

Zutaten

Bacto Tryptone	BD, Franklin Lakes (USA)
NaCl	Roth, Karlsruhe (Germany)
Hefeextrakt	BD, Franklin Lakes (USA)
KCl	Roth, Karlsruhe (Germany)
MgCl	Roth, Karlsruhe (Germany)
MgSO_4	Roth, Karlsruhe (Germany)
Glukose	Roth, Karlsruhe (Germany)
KH_2PO_4	Merck, Darmstadt, (Germany)
Natrium-Zitrat x $2\text{H}_2\text{O}$	Merck/Sigma-Aldrich GmbH, München (Germany)
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	Roth, Karlsruhe (Germany)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Roth, Karlsruhe (Germany)
$\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$	Merck, Darmstadt, (Germany)
Glycerol	Roth, Karlsruhe (Germany)
CaCl_2	Merck, Darmstadt, (Germany)
PIPES, pH7	Merck, Darmstadt, (Germany)

Tabelle 13

2.2.3. AgarplattenLB-Agarplatten

Zutaten	Menge (pro Liter)
Bacto Tryptone	10 g
NaCl	10 g
Bacto Yeast Extract	5 g
Bacto Agar	15 g

Tabelle 14

Zutaten (s. Medien)

Bacto Agar	BD, Franklin Lakes (USA)
------------	--------------------------

Tabelle 15

2.2.4. AntibiotikaAmpicillin

Zutaten	Menge
Ampicillin	50 mg/ml
Ethanol	70 %
H ₂ O	30 %

Tabelle 16

Kanamycin

Zutaten	Menge
Kanamycin	10 mg/ml
H ₂ O	100 %

Tabelle 17

Chloramphenicol

Zutaten	Menge
Chloramphenicol	34 mg/ml
Ethanol	100 %

Tabelle 18

Zutaten

Ampicillin	Roth, Karlsruhe (Germany)
Ethanol	Merck, Darmstadt, (Germany)
Kanamycin	Roth, Karlsruhe (Germany)
Chloramphenicol	Serva, Heidelberg (Germany)

Tabelle 19

2.3. Klonierung**2.3.1. Enzyme**

Restriktionsenzyme: New England Biolabs, Ipswich (USA)

AccI, AgeI-HF, AclI, ApaI, ApaLI, AvrII, BsrGI, BamHI, BglII, BstBI, ClaI, EcoRI, Eco53KI, EcoRV, FspI, KpnI-HF, MfeI, HindIII, MluI, NcoI, NdeI, NheI, NotI-HF, PaeI, PciI, PmlI, PvuI, SacII, Sall, SapI, Scal-HF, SfiI, XbaI, XhoI

Tabelle 20

Weitere Enzyme:

DNase I	Qiagen, Hilden, (Germany)
RNase A	Roche, Basel (Switzerland)
T4 DNA Ligase	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Taq DNA-Polymerase (5 U/µl)	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Phusion DNA-Polymerase	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Intestinale Kälber Phosphatase	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Antarktische Phosphatase	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Gateway LR Clonase II Plus	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
Gateway BP Clonase II	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
Proteinase K	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
BioLux Gaussia Luciferase	New England Biolabs, Ipswich (USA)

Tabelle 21

2.3.2. Puffer und Lösungen

Puffer für Restriktionsenzyme: New England Biolabs, Ipswich (USA)

1.1, 2.1, 3.1, Cutsmart

Tabelle 22

5x TBE (Tris Borat EDTA)

Zutaten	Menge (pro Liter)
Tris	54 g
Borat	27,5 g
EDTA (0.5 ml)	20 ml
H ₂ O	

Tabelle 23

TE (Tris-EDTA)

Zutaten	Menge
Tris-HCL	10 mM
EDTA	1 mM
H ₂ O	

Tabelle 24

6x Ladepuffer für Agarose-Gele

Zutaten	Menge
Bromphenol Blau	0.25 % (w/v)
Xylen-Zyanol FF	0.25 % (w/v)
Glycerol	30 %
H ₂ O	

Tabelle 25

Elektroporationspuffer

Zutaten	Menge
KCl	5 mM
MgCl	15 mM
Na ₂ HPO ₄ /NaH ₂ PO ₄ pH7.2	120 mM
Mannitol	50 mM

Tabelle 26

Weitere Puffer

T4 DNA Ligase Puffer	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Antarctic Phosphatase Puffer	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Phusion HF Puffer	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Phusion GC Puffer	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Thermo Pol Puffer	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Ligations Puffer	New England Biolabs, Ipswich (USA)
Oligo-Annealing-Puffer	New England Biolabs, Ipswich (USA)
MACs-Puffer	Milenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany

Tabelle 27

Zutaten

Tris	Roth, Karlsruhe (Germany)
Borat	Merck, Darmstadt, (Germany)
EDTA	Roth, Karlsruhe (Germany)
Bromphenol Blau	Roth, Karlsruhe (Germany)
Xylen-Zyanol FF	Merck, Darmstadt, (Germany)
Glycerol	Roth, Karlsruhe (Germany)
KCl	Merck, Darmstadt, (Germany)
MgCl	Roth, Karlsruhe (Germany)
Na ₂ HPO ₄ /NaH ₂ PO ₄ pH7.2	Merck, Darmstadt, (Germany)
Mannitol	Merck/Sigma-Aldrich GmbH, München (Germany)

Tabelle 28

2.3.3. Nukleotide, LadderNukleotide

dATP 100 mM	Fermentas, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
dGTP 100 mM	Fermentas, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
dTTP 100 mM	Fermentas, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
dCTP 100 mM	Fermentas, Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)

Tabelle 29

Größenstandard für Elektrophorese (Ladder)

1 kb ladder	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
2 log Ladder	New England Biolabs, Ipswich (USA)

Tabelle 30

2.3.4. Primer

Yap1WT_FW_P5P2	GGGGACAACCTTTGTATACAAAAGTTGTAAGCTCGGATCCACTAGTAC
Yap1WT_RV_P5P2	GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTTAGCGAGCTCTAGCATT TAGG
TAZ_FW_P5P2	GGGGACAACCTTTGTATACAAAAGTTGTAGTGAACCGTCAGAATTGATC
TAZ_RV_P5P2	GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTTCACTGGAGTGGCAAC TTC
NFAT5_CDS_Gateway_fw	GGGGACAACCTTTGTATACAAAAGTTGTACGCCAAGCTCGAAATTAA C
NFAT5_CDS_Gateway_rv	GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTTATAGGGCGAATTGGG TACAC
AP-1 Bindeelement	6x Multimer: TGA CTCA, Linker-Sequenz: TCAAGCA
TEAD-Bindeelement	8x Multimer: ACATTCC, Linker-Sequenz variiert
sGFP_fw_GW_2f	GGGGACAACCTTTGTATACAAAAGTTGTACGGGTACCGAGCTCGAAT TC
sGFP_rv_GW_2f	GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTTCCGCTCGAGAGCTTAG TGA
CMV_pro_FW	GGGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTTACGATGTACGGGCCA GATA
CMV_Pro_RV	GGGGACAACCTTTTGTATACAAAAGTTGTAGCAGTGGGTTCTCTAGTT AGC
CMVTO-fw	GGGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTTAAGGCCCTTTCCTCA TTAG
CMVTO-rv	GGGGACAACCTTTTGTATACAAAAGTTGTCCGGTGTCTTCTATGGAG
Gaussia_P5P2_FW	GGGGACAACCTTTGTATACAAAAGTTGTAATCCAGCCACCATGGGAG TC
Gaussia_P5P2_rv	GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTTGGCCGCTTAGTCACC ACC

Tabelle 31

2.3.5. Vektoren

pcDNA6.2/V5-PL-DEST	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
pcDNA6/TR	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
pENTR/H1/TO	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
pDONR/221	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
pGL3-Promoter	Promega, Fitchburg (USA)
pN3 Bar-Gluc	Gift from Peter Neth, LMU Munich
Luciferase-pcDNA3	#18964, Addgene, Cambridge (USA)

Tabelle 32

2.4. Kits

InnuPREP Plasmid Mini Prep	Analytik Jena AG, Jena (Germany)
InnuPREP Plasmid Midi Prep	Analytik Jena AG, Jena (Germany)
ZymoPURE Plasmid Maxiprep Kit	Zymo Research Corp, Irvine (USA)
MultiSite Gateway Pro Plus	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
BioLux Gaussia Luciferase Assay Kit	New England Biolabs, Ipswich (USA)
QIAquick-Extraktions-Kit	QIAGEN

Tabelle 33

2.5. Chemikalien

Agarose ultrapure	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
Aqua ad injectabilia	Braun, Melsungen (Germany)
β -Mercaptoethanol	Roth, Karlsruhe (Germany)
Bromphenolblau	Sigma Aldrich, Taufkirchen (Germany)
Calciumchlorid (CaCl_2)	Merck, Darmstadt (Germany)
Ethylenediaminetetraessigsäure (EDTA)	Merck, Darmstadt (Germany)
Essigsäure	Merck, Darmstadt (Germany)
Ethanol, absolut	Merck, Darmstadt (Germany)
Ethidiumbromid 1%	Merck, Darmstadt (Germany)
Isopropanol	Merck, Darmstadt (Germany)
Methanol, absolut	Merck, Darmstadt (Germany)
Magnesiumchlorid	Merck, Darmstadt (Germany)
MOPS (3-(N-morpholino)propanschwefelsäure)	Roth, Karlsruhe (Germany)
MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromid	Sigma Aldrich, Taufkirchen (Germany)
Natrium Acetat	Merck, Darmstadt (Germany)
Natrium Chlorid	Sigma Aldrich, Taufkirchen (Germany)
Trishydroxymethylaminomethan (Tris)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Salzsäure	Roth, Karlsruhe (Germany)

Tabelle 34

2.6. Weiteres Labor-Equipment

vapo.protect thermocycler	Eppendorf, Hamburg (Germany)
Thermomixer comfort	Eppendorf, Hamburg (Germany)
Megafuge 1.0R	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
Biofuge pico	Thermo Fisher Scientific, Waltham (USA)
Rotanta 460R	Hettich, Tuttlingen (Germany)
Lumat LB 9507	Berthold, Bad Wildbad (Germany)
GENios plate reader	Tecan, Männedorf (Switzerland)
Amaxa-Nucleofactor IIB	Lonza, Basel (Switzerland)
NEON-Transfektions-System	Thermo-Fisher, Waltham (USA)
Zellkultur Platten/Flaschen/Equipment	TPP, Trasadingen (Switzerland)
Zentrifugen Tubes (15 ml/50 ml)	BD Bioscience, Franklin Lakes (USA)

Tabelle 35

2.7. Software

Prism	Graphpad Software, La Jolla (USA)	Statistische Tests (t-Test) Graphiken
R-Paket	„Open source“ Projekte: https://www.bioconductor.org/ https://www.r-project.org/	WGCNA-Analyse Heatmaps
Analysis Wizard	DAVID Bioinformatic Resources 6.8., NIAID/NIH	Funktionale Analyse

Tabelle 36

3. Methoden

3.1. Microarray-Analyse

Microarray-Analysen ermöglichen die Identifizierung von Genen, deren Expressions-Level sich zwischen zwei Vergleichsgruppen, zum Beispiel IgA-Nephritis Patienten und gesunden Kontrollen, unterscheiden.

Die Analyse basiert auf dem Prinzip der Hybridisierung komplementärer Oligonukleotid-Stränge. Hierfür wird die gesamte RNA der Tubulointerstitiellen Kompartimente isoliert, mithilfe der reversen Transkription in cDNA umgeschrieben, linearisiert, mit einem fluoreszierenden Farbstoff gelabelt und auf einem Affymetrix-Microarray-Chip hybridisiert. Ein solcher Array-Chip enthält ein Probenet aus 16-20 Einzelsequenzen, sogenannten „Spots“, die alle unterschiedliche Sequenzen des zu untersuchenden Gens darstellen. Jeder dieser Spots besteht aus zwei Proben, einer PM- (Englisch: „perfect match“) und einer MM- (Englisch: „mismatch“) Probe. In der MM-Probe wird hierbei die mittlere Base ausgetauscht. Sie dient dazu, nicht-spezifische Bindungen festzustellen. Die Intensität bezeichnet die Menge der Hybridisierungen zwischen der Gen-Vorlage auf dem Array-Chip und dem Pool der isolierten RNA aus der Gewebeprobe [60]. (s. Abbildung 7)

Die Gewebeproben entstammen 17 Patienten (eGFR berechnet über MDRD 44, Mittelwert 46, Standard-Abweichung 25) und 30 Lebend-Nierenspendern, die als Kontrollen dienten. Sie wurden der Europäischen Nieren-cDNA-Bank (Englisch: „European Renal cDNA Bank“ = ERCB) entnommen. Dies geschah in Zusammenarbeit mit Prof. M. Kretzler [University of Michigan, Ann – Arbor (USA)].

Die auf diese Weise erhaltenen Rohdaten der einzelnen Gen-Expressions-Intensitäten wurden normalisiert, bezüglich unphysiologischer material- und durchführungsabhängiger, sogenannter „Batch“-Effekte korrigiert und log-transformiert [61]. Für die Normalisierung wurde hierbei der RMA-Algorithmus (Englisch: „Robust Multichip Average“ herangezogen, für die Korrektur der „Batch-Effekte“ die GenePattern-Pipeline [62]. Wir verwendeten das Programm RMAExpress [63]. Ein Cutoff-Wert für die Signifikanz der beobachteten Gen-Expressions-Level wurde über die folgende Formel berechnet:

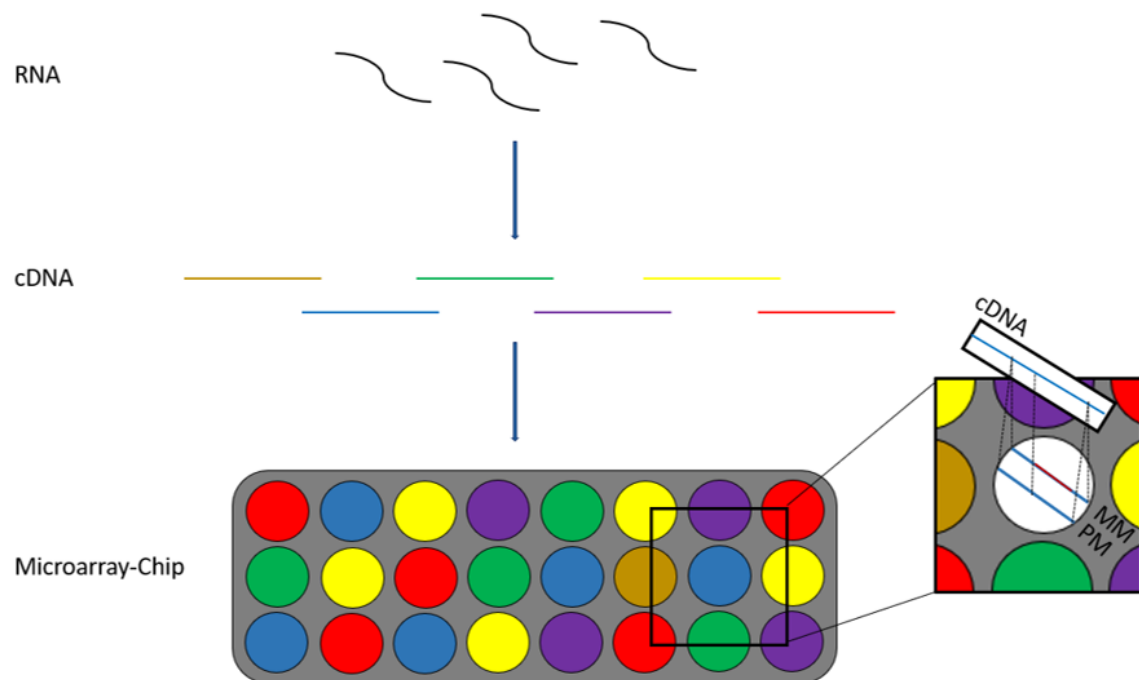
$$\text{Mittelwert der Affymetrix-Kontroll-Probesets (nicht-menschlich) + 2 SD}$$

Die Chipdaten wurde mithilfe der Custom-CDF-Daten von Brainarray (<http://brainarray.mbni.med.umich.edu/Brainarray/>) auf EntrezGene-Level überführt und bestimmten Genen zugewiesen. Die hierdurch erstellte Genliste wurde mithilfe der David-Software und WGCNA-Analysen weiter untersucht.

Die David-Software (GSEA) ermöglicht es Gene in verschiedene Cluster einzuteilen, die sich biologische Funktionen teilen oder im selben Signalweg vorkommen. Hierfür werden biologische Kenntnisse in die Untersuchung miteinbezogen [64].

WGCNA (Englisch: „Weighted Gene Correlation Network Analysis“) integriert, die einzelnen Signalwege in ein Koexpressions-Netzwerk. Zusätzlich können die Expressionslevel der einzelnen Gene mit klinischen Parametern wie der GFR korreliert werden [65]. Hierfür dient die R-Statistik-Software. Diese enthält „Default Parameter“ und eine Minimum-Modul-Größe von 30.

Abbildung 7



Prinzipien der Microarray-Analyse:

Die gesamte RNA der Tubulointerstitiellen Kompartimente wird entnommen, in cDNA umgeschrieben, linearisiert, gelabelt und mit Microarray-Chips hybridisiert. Ein Gen setzt sich zusammen aus mehreren Basenpaaren. Jedes Paar besteht aus einem Perfect-Match (PM) und einem Mismatch (MM), in dem die mittleren Basenpaare ausgetauscht wurden. Die Intensität gibt die Anzahl der Hybridisierungen an einem Spot wider.

3.2. Zellkultur

3.2.1. Grundlagen

Um mögliche Verunreinigungen auszuschließen wurden alle Zellkultur-Versuche unter einer „Hood“ durchgeführt.

Die Zellen wurden in Brutschränken bei einer Temperatur von 37°C und einem CO₂-Gehalt von 5% herangezogen. Als Medium wurde eine Mischung aus DMEM-Medium, 10% Bovinem Kälber-Serum (FCS) und 1% Penicillin + Streptomycin (PS) verwendet. Sie wurden jeden Tag so gesplittet, dass maximal eine Fläche von 70% von ihnen bedeckt wurde. So konnten mögliche Beeinflussungen über Zell-Zell-Kontakte und dabei übertragene Botenstoffe ausgeschlossen werden.

Hierfür wurde sämtliches Medium aus den Flaschen entfernt. Anschließend wurden die Flaschen in einer PBS-Mischung geschwenkt und diese abgesaugt. Gelöst wurden die Zellen mithilfe einer Trypsin-EDTA-Mischung (TE) (in PBS, ohne Ca²⁺/Mg²⁺). Bei Trypsin handelt es sich um eine aus bovinem Pankreas gewonnene unspezifische Protease, die die

Verbindungsproteine der Zellen löst und die Zellmembranen schädigt, weshalb es wichtig ist, die Zellen möglichst geringe Zeit der Lösung auszusetzen. Das beigefügte EDTA neutralisiert als Calcium-Chelator die Calcium-Ionen des Mediums und verhindert die Inaktivierung des Trypsins [66]. Die Wirkung des Trypsins wurde anschließend mit der doppelten Menge an Medium neutralisiert, das Gemisch in ein Falcon überführt und bei 220 x g (rt) 3 min lang zentrifugiert, bis sich die Zellen vollständig pelletiert hatten. Das Zell-Pellet wurde in frischem Medium resuspendiert.

3.2.2. Zellen Einfrieren und Auftauen

Um die Zellen über einen längeren Zeitraum aufbewahren zu können wurden sie eingefroren. Durch die Kryokonservierung werden alle Stoffwechselforgänge soweit heruntergefahren, dass sie unbeschädigt einen längeren Zeitraum überstehen können. Das Hierbei verwendete Einfriermedium setzte sich zu 30% aus DMEM-Medium, zu 60% aus FCS und zu 10% aus Dimethylsulfoxid (DMSO) zusammen, wobei DMSO als Frostschutzmittel diente. Das Einfriermedium wurde mit einer Zellsuspension im Verhältnis von 2 : 1 gemischt. Die Zellen wurden zunächst 24h in einem Isopropanol-Container bei -80°C gekühlt und anschließend in einen Container mit flüssigem Stickstoff transferiert.

Beim Auftauen wurden die Tubes in einem Wasserbad bei 37°C angewärmt und rasch in Zellkulturflaschen mit vorgewärmtem Medium überführt. Nach 18h wurde das Medium durch frisches ersetzt, um die letzten Reste von DMSO zu beseitigen.

3.2.3. Zellen Zählen

Vor den Versuchen wurden die Zellen zunächst in Neubauer-Zählkammern gezählt.

Die Zellen wurden verdünnt und mit Trypan-Blau eingefärbt. Dieser Farbstoff färbt nur abgestorbene Zellen an und ermöglicht auf diese Weise eine Unterscheidung zwischen toten und lebenden Zellen. 10 µl der verdünnten Suspension wurden in die Zellkammer überführt. Die lebenden Zellen wurden ausgezählt.

Für jede Zelllinie wurden vier große Quadrate ausgezählt und die Zellzahl pro Milliliter entsprechend der folgenden Formel ermittelt:

Zellen/ml = Mittelwert der 4 Quadrate x Verdünnungsfaktor x 10⁴

3.3. Mikrobiologie

3.3.1. Herstellung von LB-Medium und Agarplatten

Als Nährmedium für E. Coli Bakterien wurde LB-Medium verwendet. Für dessen Herstellung wurden 10 g Trypton, 10 g NaCl, 5g Hefeextrakt und 1l Wasser gemischt und anschließend 20 min bei 121 °C autoklaviert.

Für die Herstellung von Agarplatten wurde der LB-Lösung vor der Autoklavierung noch 1,5% Agar als Geliermittel zugesetzt. Die Lösung wurde zusammen mit Selektiv-Antibiotika

noch heiß in eine Standard-10cm-Petrischale gegossen, sodass diese etwa 50% gefüllt war. Die fertigen Platten wurden in Plastiktüten bei ca. 4 °C aufbewahrt.

Zur Selektion wurden folgende Antibiotika verwendet:

Ampicillin	Kanamycin	Chloramphenicol
100 µg/ml	50 µg/ml	25 µg/ml

Tabelle 37

3.3.2. Herstellung kompetenter E. Coli MACH-1

DNA-Konstrukte wurden zunächst in spezifischen Vektoren vervielfältigt. Als Vektoren wurden MACH-1-kompetente E. Coli-Stämme verwendet. Diese zeichnen sich durch besonders hohe Proliferationsraten aus. Die verwendeten E. Coli-Stämme wurden im Haus hergestellt. Für das Erlangen der Kompetenz wurde CaCl₂ verwendet.

Hierfür wurde LB-Medium mit E. Coli beimpft und über Nacht inkubiert. 4 ml der Bakterien-Kultur wurden entnommen, im Verhältnis 1 : 100 mit frischem LB-Medium gemischt und bei 37°C und 250 rpm schüttelinkubiert. Die Schüttelinkubation wurde fortgesetzt, bis die Lösung eine Optische Dichte (OD_{600 nm}) von 0,375 erreicht hatte. Dann wurden die Bakterien zu je 50 ml in Falcons auf Eis inkubiert und anschließend 10 min bei 4°C und 1.600 x g zentrifugiert, bis sich Bakterien-Pellets gebildet hatten. Diese wurden in 10 ml frischer, eiskalter CaCl₂-Lösung (s. Material) resuspendiert und 30 min lang auf Eis gelegt. Anschließend wurden sie nochmals wie oben beschrieben zentrifugiert, in 2 ml CaCl₂ resuspendiert und in 50 µl-Aliquots bei -80°C gelagert.

3.3.3. Transformation kompetenter E. Coli MACH-1

Für die Transformation wurde jeweils ein Aliquot aus dem Gefrierschrank entnommen und sofort auf Eis gelegt. Die Bakterien wurden mit 10-100 ng der zu transformierenden DNA-Suspension sanft gemischt (kein Schütteln) und 30 min auf Eis inkubiert. Anschließend wurden sie 45 s auf 42°C erhitzt und sofort zurück auf Eis transferiert. Der Mischung wurden 250 µl S.O.C.-Medium zugesetzt und das Ganze 60 min bei 37°C und 500 rpm schüttelinkubiert. 200 µl der Kultur wurden auf einer Selektiv-Agarplatte ausplattiert und über Nacht bei 37°C inkubiert. Am nächsten Tag wurden einzelne Kolonien herausgepickt und in flüssigem LB-Medium über Nacht bei 37°C inkubiert.

3.3.4. Bakterien Einfrieren und Auftauen

Für den späteren Gebrauch wurden die Bakterien bei -80°C kryokonserviert. Hierfür wurden die flüssigen LB-Bakterien-Kulturen im Verhältnis 10 : 1 mit 10-fach-konzentriertem Einfriermedium (s. Material) gemischt (900 µl Bakterien-Kultur : 100 µl Medium).

Für die Weiterverwendung wurde dem gefrorenen Aliquot eine geringe Menge entnommen, auf einer Selektiv-Agarplatte ausplattiert und über Nacht bei 37°C inkubiert. Anschließend wurden einzelne Kolonien gepickt und in flüssigem LB-Medium bei 37°C über Nacht inkubiert. Von den einzelnen Kulturen wurde eine „Backup-Platte“ erstellt.

3.3.5. Extraktion der Plasmid-DNA aus den Transformierten E. Coli MACH-1

Zur weiteren Verwendung wurde die Plasmid-DNA aus den transformierten Bakterien extrahiert. Hierfür wurden die Bakterien-Kulturen unter Verwendung kommerziell-erhältlicher Kits entsprechend der Herstellerangaben durch NaOH-Zugabe alkalisch lysiert und die DNA an einer positiv-geladenen Säule gebunden isoliert. Hierfür wurden das Plasmid-Mini- [*Innuprep, Analytic Jena AG*] (2-10µg DNA) und Maxi-Kit [*ZymoPURE, Zymo Research*] (100-200 µg DNA) verwendet.

Die isolierte DNA wurde einem Testverdau unterzogen (s. 3.4.2.) und die entstandenen DNA-Fragmente mittels Gelelektrophorese (s. 3.4.2.) analysiert. Um mögliche Punktmutationen auszuschließen wurde der ausgewählte Klon sequenziert (s. 3.4.6.).

3.4. Grundlagen der Klonierung

3.4.1. Bestimmung der DNA-Konzentration

Die DNA-Konzentration der Lösungen wurde wahlweise mithilfe des Qubit-Fluorometers entsprechend der Herstellerangaben oder mittels Nanodrop-ND-100-Spektrophotometer bestimmt.

3.4.2. Verdau von DNA mittels Restriktionsenzymen

Zur weiteren Verwendung wurde die isolierte DNA zunächst mittels Restriktionsendonukleasen in Fragmente geschnitten. Dabei handelt es sich um ursprünglich bakterielle Enzyme, die ihre Träger vor Bakteriophagen schützen sollten. Sie schneiden DNA spezifisch an dafür vorgesehenen Stellen. Zum Schutz vor Autolyse ist die bakterielle DNA an den entsprechenden Stellen methyliert und wird nicht geschnitten. Die DNA-Stränge können dabei entweder an der gleichen Stelle („Blunt-Ends“) oder um einige Basenpaare versetzt („Sticky-Ends“) geschnitten werden. Die verwendeten Restriktionsenzyme sind kommerziell erhältlich. Für den Verdau wurden die vom Hersteller vorgesehenen Puffer mit der für die Enzyme optimalen Salzkonzentration verwendet.

Pro Enzymeinheit wurde 1 µg DNA eingesetzt. Um ein mögliches Gefrieren während der Lagerung zu verhindern, werden die Enzyme in Glycin gelöst. Dieses kann in höheren Mengen zu unspezifischen Effekten führen. Um dies zu verhindern, wurde nicht mehr als 10% Enzym verwendet. Das DNA-Restriktionsenzym-Gemisch wurde bei der vom Hersteller empfohlenen Temperatur (37-65°C) 60 min inkubiert. Die Enzyme wurden stets auf Eis gelagert.

3.4.3. Gelelektrophorese

Die DNA-Fragmente wurden mittels Gelelektrophorese aufgetrennt. Hierbei wandern DNA-Fragmente entsprechend ihrer Länge zur rotgekennzeichneten Kathode. Größere Fragmente wandern langsamer und kommen weiter entfernt zu liegen. Je gesuchter Fragment-Länge wurde eine Agarose-Gel-Mischung aus 0,6%, 1% oder 3% Agarose und 0,5 x TBE-Puffer (s. Material) verwendet. Zur Färbung der DNA diente Ethidiumbromid.

Die Gele wurden aus der vorgefertigten Agarose-Gel-Mischung gegossen. Hierfür wurden sie ca. 2 min in einer Mikrowelle bei 800 W erhitzt, bis die Flüssigkeit vollständig durchsichtig geworden war, und in Elektrophorese-Kammern gegossen. Nach vollständigem Erkalten wurden die Proben hinzugefügt. Diese (2 µl) wurden vorher mit Farbstoff (3 µl) gemischt und mit TE-Puffer auf ca. 20 µl ergänzt. Um die Fragmentlängen besser beurteilen zu können, ließen wir einen Standard [2 log ladder, *New England Biolabs, Ipswich(USA)*] mitlaufen.

Die Elektrophorese wurde unter Verwendung von 0,5 x TBE-Puffer bei 170 V durchgeführt und die Gele anschließend unter schwachem UV-Licht ausgewertet und fotografiert. Ethidiumbromid interkaliert mit DNA.

Die Gelelektrophorese wurde entweder als Testverdau oder zur Aufreinigung von DNA verwendet.

3.4.4. DNA-Gelextraktion

Die Bande mit den gewünschten DNA-Fragmenten wurde mit einem Skalpell unter UV-Licht herausgeschnitten und mittels QIAquick®-Extraktions-Kit nach Herstellerangaben extrahiert. Dazu wurde das DNA-Fragment zunächst mithilfe verschiedener Puffer (Xylen-Cyanol, Bromophenol-Blau, Organ-G) mit pH-Indikator wieder in Lösung gebracht und anschließend an einer Anionen-Austauscher-Säule (Silikon) isoliert.

3.4.5. Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die gewonnenen DNA-Fragmente wurde mithilfe der Polymerase-Ketten-Reaktion (Englisch: „Polymerase Chain Reaction“ = PCR), einem Standardverfahren, vervielfältigt. Dabei werden kurzkettige DNA-Fragmente mithilfe einer thermostabilen DNA-Polymerase in kontrollierten Zyklen mit wechselndem Erhitzen und Erkalten verlängert und vermehrt. Die hierbei benötigten Primer (20-30 bp) wurden kommerziell erworben. Die verwendete DNA-Polymerase [*Phusion – High – Fidelity, New England Biolabs, Ipswich(USA)*] hatte eine 3'-5'-Exonuklease-Funktion, eine zusätzliche Kontrollfunktion, die Fehlpaarungen erkennen und ausschneiden soll.

Die einzelnen Zyklen der PCR setzten sich jeweils aus drei verschiedenen Schritten zusammen. Während eines ersten Schritts, der „Denaturierung“, wurde die Reaktionsmischung auf > 94°C erhitzt. Während eines zweiten Schrittes des „Annealings“, wurde die Temperatur wieder gesenkt. Auf diese Weise hatten die Einzelstränge der Template-DNA- und die zugegebenen Primer die Möglichkeit zu hybridisieren. Der letzte Schritt, die „Elongation“, wurde im Temperatur-Optimum der DNA-Polymerase (ca. 72°C) durchgeführt. Sie führte zur Verlängerung der komplementären DNA-Stränge. Diese Zyklen wurden mehrfach (ca. 30x) wiederholt. Vor dem ersten Zyklus wurde eine weitere, verlängerte (2-5 min) Denaturierungszeit angefügt, um zu gewährleisten, dass das Template vollständig denaturierte. Nach Abschluss des Zyklus schloss sich eine „finale Elongation“ an (10 min, 72°C), während derer sichergestellt wurde, dass alle DNA-Produkte vollständig verlängert wurden.

Die verwendeten Zeiten und Temperaturen wurden für jedes Primer- und DNA-Konstrukt angepasst. Eine grobe Übersicht über die standardmäßig verwendeten Parameter liefert die folgende Tabelle:

PCR-Schritt	Temperatur	Zeit
Initiale Denaturierung	98°C	5 min
Denaturierung	98°C	30 s
Annealing	verschieden	30 s
Elongation	72°C	30s/kBase
Finale Elongation	72°C	10 min

Tabelle 38

Alle Reaktionen wurden in einem PCR-Thermocycler, einem programmierbaren Heizblock mit beheiztem Deckel, durchgeführt.

Die PCR-Produkte wurden anschließend in einer Gelelektrophorese (S. 3.4.3.) von möglichen übriggebliebenen Primern oder fehlerhaft zusammengesetzten DNA-Fragmenten befreit und die Gele anschließend aufgereinigt (s. 3.4.4.).

3.4.6. DNA-Sequenzierung

Zur endgültigen Kontrolle wurden die DNA-Konstrukte GATC-Biotech in Konstanz zugesandt. Dort wurden Sequenzierungen entsprechend der Sanger-Abbruch-Methode durchgeführt. Hierbei werden komplementäre DNA-Stränge, vergleichbar einer PCR, *in vitro* synthetisiert. Zusätzlich zu den herkömmlichen Zutaten, enthält das Gemisch 2', 3'-Dideoxy-Analoga eines Nukleotid-Triphosphats mit fluoreszierenden Markierungen. Der Einbau dieses Analogons blockiert die weitere Verlängerung des DNA-Strangs (ihm fehlt ein 3'-Hydroxyl-Ende für die Phosphodiester-Bindung). So entstehen Fragmente unterschiedlicher Länge. Diese können auf einem Gel aufgetrennt werden. Eine Liste der verwendeten Primer findet sich im Abschnitt Material.

3.5. Klassische Klonierung

3.5.1. Vorbereitung der DNA-Fragmente für die Ligation

Für die Erstellung der „Reporter“-Konstrukte (s. 3.7.5.) verwendeten wir die Klassische Klonierung. Primer für kurzkettige DNA-Inserts (ca. 200 bp) waren bei Thermo Fisher [Waltham (USA)] erhältlich. Diese waren so konstruiert, dass sie zu einem vorher mittels Restriktionsendonukleasen geschnittenen Vektor-Backbone kompatibel waren. Da es sich hierbei um einzelsträngige DNA-Fragmente handelte, für die Klonierung jedoch doppelsträngige DNA benötigt wird, wurden sie zunächst in doppelsträngige DNA überführt („Annealing“).

Hierfür wurden je 5 µl TOP- und BOTTOM-Primer, 2 µl Oligo-Annealing-Puffer (10x) und 8 µl DNase/RNase-freies Wasser 4 min bei 95°C inkubiert. Anschließend wurde das Gemisch 5-10 min bei Raumtemperatur inkubiert, bis die Lösung abgekühlt war. Dadurch erhielten die einzelsträngigen DNA-Fragmente die Möglichkeit, sich miteinander zu verbinden. Die gekühlte Mischung wurde kurz in einer Mikrozentrifuge zentrifugiert. Das

Gemisch mit doppelsträngigen DNA-Fragmenten wurde auf eine Endkonzentration von 5 nM verdünnt.

3.5.2. Dephosphorylierung des Vektor-Backbones

Wir versuchten Restriktionsenzyme zu verwenden, die den Vektor-Backbone so schnitten, dass dabei „Sticky-Ends“ entstanden. War dies nicht möglich, wurde der Vektor vorher am 5'-Ende dephosphoryliert, um die mögliche Ligation eines „leeren“ Vektors zu verhindern. Hierfür wurde die Antarktik-Phosphatase verwendet (5 Einheiten Phosphatase : 5 pmol 5' Enden). Das Gemisch wurde 60 min bei 37°C inkubiert und die Reaktion 15 min lang durch Hitze-Inaktivierung bei 65°C gestoppt.

3.5.3. Ligation

Die DNA-Fragmente wurden in pENTRTMH1/TO-Vektoren ligiert. Für die Reaktion wurden 500 mg des Bockbone-Vektors (ca. 2 µl) mit doppelsträngigen Inserts (10 : 1) ca. 1-5 µl), 4 µl Ligations-Puffer (5x) und 1 µl T4-DNA-Ligase (mit H₂O auf 20 µl ergänzen) 60 min inkubiert.

Die fertigen Plasmide wurden in kompetente E. Coli MACH-1-Stämme transformiert, vervielfältigt und mittels kommerziell erhältlicher Kits isoliert.

Der verwendete Backbone enthielt Sequenzen für den Replikationsstart (Englisch: „origin of replication“), multiple Klonierungsstellen (Englisch: „multiple cloning site“) mit Bindestellen für entsprechende Restriktionsenzyme, und für die Antibiotika-Selektion (Ampicillin, Kanamycin). Unsere Konstrukte enthielten zusätzlich Bindestellen für die Gateway-Reaktion und die Sleeping-Beauty-Transposase.

3.6. „Gateway“-Klonierung

Anders als die Klassische Klonierung benötigt die Gateway-Klonierung keine Restriktionsenzyme. Stattdessen werden Rekombinasen der Bakteriophagen Lambda verwendet. Diese dienen physiologischerweise dazu, Bakteriophagen-DNA in E. Coli Bakterien zu integrieren. Das relevante DNA-Fragment wird mit Rekombinase-Erkennungssequenzen („att-sites“) flankiert, die mit entsprechenden Sequenzen im Backbone interagieren [67]. Die Reaktion wird mittels spezifischer Rekombinationsenzyme („Clonasen“) in Gang gesetzt. Die Entstehung des fertigen DNA-Konstrukts erfordert zwei Teilschritte, eine BP- (s. Abbildung 8) und eine LR-Reaktion (s. Abbildung 9). Diese Technik ermöglicht es ein Insert relativ leicht und schnell in verschiedene Vektoren zu übertragen.

Um die Anzahl unerwünschter DNA-Fragmente möglichst gering zu halten, greift das Gateway-Klonierungssystem auf zwei Selektionsmethoden zurück. Zum einen enthalten die gewünschten Produkte Antibiotika-Resistenz-Gene (Kanamycin, Ampicillin) zum anderen werden die unerwünschten Konstrukte mit dem ccdB-Gen ausgestattet. Dieses interferiert mit der DNA-Gyrase der E. Coli Bakterienstämme und verhindert so ihr Wachstum [67]. Die

entsprechenden „Donor“/„Destinations“-Vektoren werden in E. Coli Stämmen herangezogen, die gegenüber der Wirkung des ccdB-Gens resistent sind (z.B. DB3.1TM).

3.6.1. Generierung von „Entry“-Klonen (BP-Reaktion)

Im ersten Reaktionsschritt interagieren die attB-Sequenzen des DNA-Inserts mit den attP-Sequenzen des „Donor“-Vektors. Die Reaktion wird von der BP-Clonase™ katalysiert.

Für die BP-Reaktion wurde zunächst das zu inserierende Gen-Produkt mit flankierenden attB-Sequenzen ausgestattet. Dies geschah über eine PCR. Die Primer wurden hierfür so modifiziert, dass sie die gewünschten Sequenzen in das fertige Produkt übertrugen. Ein solcher Primer musste die folgenden Elemente enthalten: 4 Guanin-Basen am 5'-Ende, die attB1/B2-Sequenz (25 bp), Template (18-25 bp). Als „Donor“-Vektor diente der von invitrogen gelieferte Vektor pDONR™221.

Für die Reaktion wurden DNA-Insert und Vektor-Backbone in äquimolarer Konzentration zusammen mit der BP-Clonase™ II von invitrogen in einem Eppendorf-Gefäß gemischt und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert.

Die genauen Mengen der einzelnen Komponenten finden sich in der folgenden Tabelle:

Reagenz	Menge
Insert	150 ng (7 µl)
pDONR™221	150 ng (1 µl)
BP-Clonase™ II (5x)	2µl
TE-Puffer (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 8)	

Tabelle 39

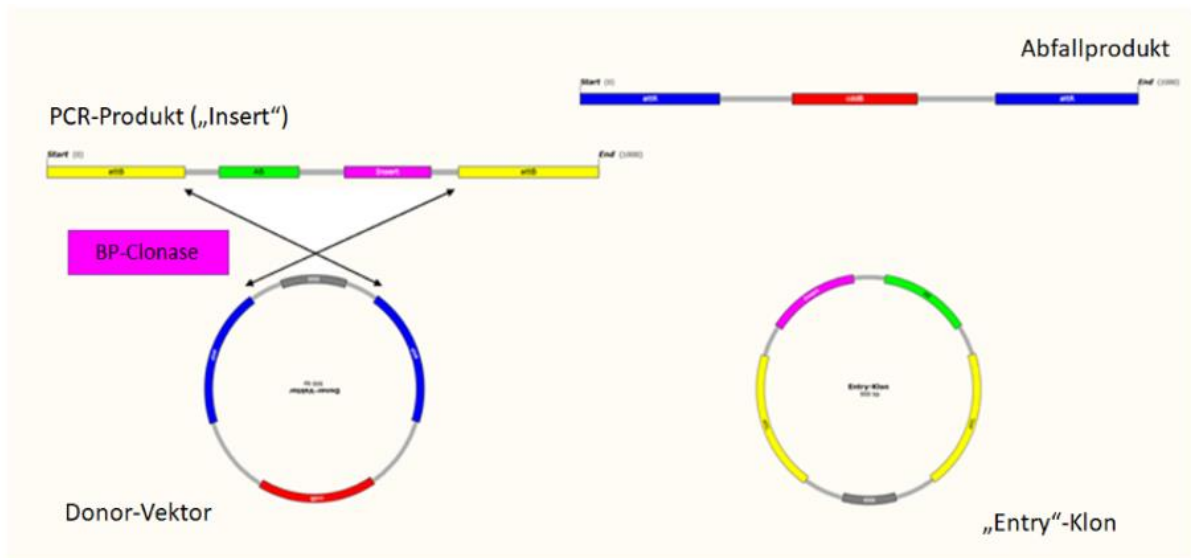
Die BP-Clonase™ II wurde bei -80°C aufbewahrt und während der Reaktion auf Eis gelagert. Die gemessene DNA-Konzentration wurde mithilfe der folgenden Formel umgerechnet:

$$\text{Menge (ng)} = \text{Anzahl der bp} \times 6,6^{-4} \left(\text{Originalformel: } \text{ng} = (\text{fmol})(N) \left(\frac{660 \text{ fg}}{\text{fmol}} \right) \left(\frac{1 \text{ ng}}{10^6 \text{ fg}} \right) \right)$$

Um die Reaktion zu beenden, wurde dem Reaktionsgemisch Proteinase K (1 µl) beigefügt und das Ganze 10 min lang bei 37°C inkubiert.

Der fertige Entry-Klon wurde anschließend in MACH 1-kompetente E. Coli transformiert und mittels Gelelektrophorese und Sequenzierung ausgewertet.

Abbildung 8



Generierung von Gateway-„Entry“-Klonen:

Die Gateway-Technologie nutzt spezifische attB-Bindestellen (hier gelb bzw. blau). In einem ersten Schritt reagieren PCR-Produkte mit dem gewünschten „Insert“, das von attB-Sequenzen flankiert wird, mit dem kommerziellen Donor-Vektor. Nach Zugabe der BP-Clonase werden die DNA-Sequenzen zwischen den attB-Stellen ausgetauscht. Es entstehen ein „Entry“-Klon und Abfallprodukte.

3.6.2. Generierung von „Expressions“-Vektoren (LR-Reaktion)

In der abschließenden LR-Reaktion reagieren die attL-Sequenzen des „Entry“-Klons (s. 3.6.1.) mit den attR-Sequenzen des „Destinations“-Vektors. Die Reaktion wird von der LR-ClonaseTM katalysiert.

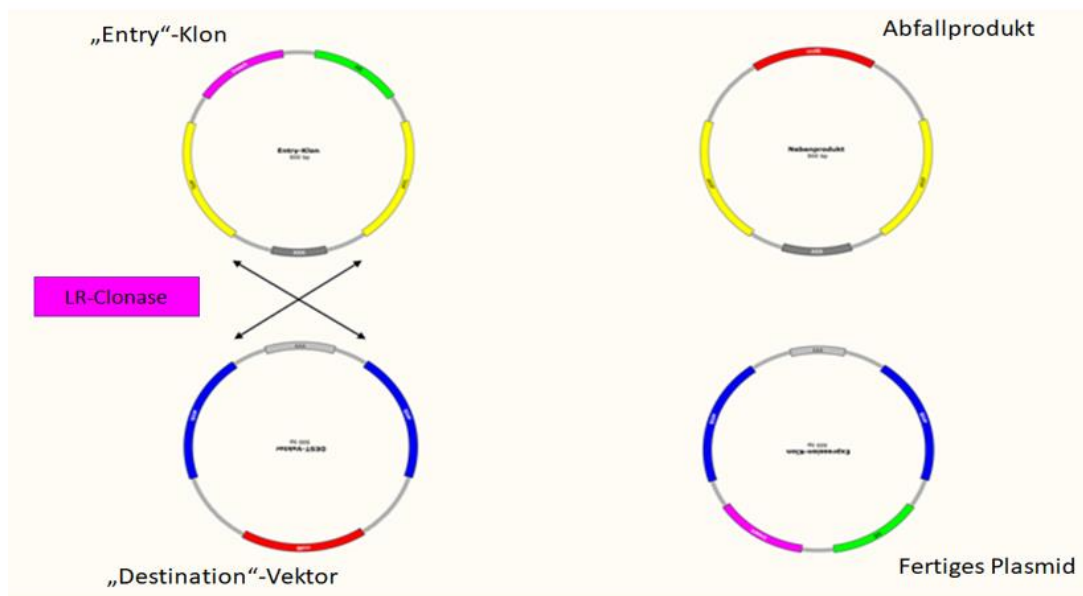
Hierfür wurden in einem Eppendorf-Gefäß „Entry“-Klon und „Destinations“-Vektor im Verhältnis 1 : 2 gemischt und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert. Die genauen Mengenangaben finden sich in der folgenden Tabelle:

Reagenz	Menge
„Entry“-Klon	10 fmol (7 µl)
„Destinations“-Vektor	20 fmol (1 µl)
LR-Clonase TM -II-Plus	2µl
TE-Puffer	auf 10 µl ergänzen

Tabelle 40

Anschließend wurde die Reaktion durch die Proteinase K beendet (s. 3.6.1.).

Abbildung 9

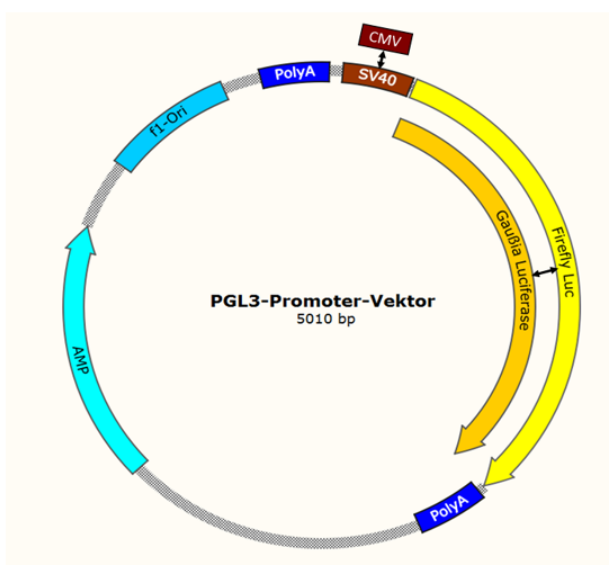


Generierung von Gateway-Plasmiden:

Die Gateway-Technologie verwendet spezifische *attB*-Sequenzen (hier gelb bzw. blau), um DNA-Sequenzen in ihre Plasmide einzufügen. Nach Zugabe der *LR-Clonase* werden die DNA-Sequenzen, die sich zwischen den *attB*-Stellen befinden, ausgetauscht. In einem 2. Schritt reagieren die aus der BP-Reaktion gewonnenen „Entry“-Klone (s.o.) mit kommerziell-erhältlichen „Destinations“-Vektoren zu fertigen Plasmiden. Die dabei entstehenden Abfallprodukte werden mittels Selektion beseitigt.

3.7. Konstrukte

Abbildung 10



Generierung von pGL3-CMV_{min}-GLuc:

Als Ausgangspunkt für den Backbone der „Reporter“-Vektoren dient der pGL3-Promoter-Vektor (links). Dieser enthält einen SV40-Promoter und ein Firefly-Luciferase-Konstrukt. Der SV40-Promoter wird durch einen CMV-Promoter ersetzt, das Firefly-Fluciferase-Konstrukt durch ein Konstrukt mit *Gaussia-Luciferase*.

Der fertige Vektor wird als pGL3-CMV_{min} bezeichnet.

3.7.1. CMV_{min}-Promoter

Als Ausgangspunkt für den Backbone der „Reporter“-Vektoren diente der pGL3-Promoter-Vector [Promega, Fitchburg (USA)]. Dieser wurde so verändert, dass er den Ansprüchen der Arbeit gerecht wurde. Das Originalprodukt verwendete einen Minimal-Promoter des Simian-Virus 40 (SV40), der bereits im Vorfeld auf bis zu 197 bp reduziert worden war. Nach einigen Experimenten erwies sich jedoch selbst diese reduzierte Aktivität als zu stark und der SV40-Vektor wurde durch den Zytomegalie-Virus-Promoter (CMV_{min}) mit gerade mal 35 bp ersetzt. (s. Abbildung 10)

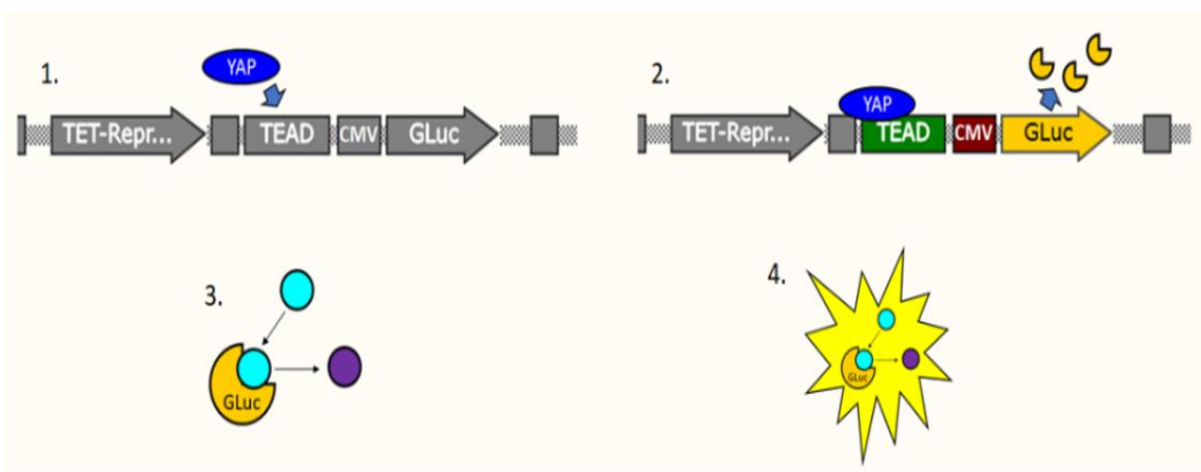
3.7.2. Gaussia Luciferase

Um die Stärke der Aktivität der Signalwege messen zu können, erhielt der „Reporter“-Vektor eine Gensequenz zur Kodierung der Gaussia Luciferase. Luciferasen sind physiologischerweise in verschiedenen Bakterien, Pilzen, Insekten oder Krebsen vorkommende Enzyme, die durch Umsetzung spezifischer Substrate Licht erzeugen. Diesen Vorgang bezeichnet man als Biolumineszenz [68]. Die Intensität des Lichts kann man mit einem speziellen Luminometer messen. (s. Abbildung 11)

Das Originalprodukt enthielt als Signaleinheit die Firefly-Luciferase. Da diese jedoch nur intrazellulär produziert wird, setzt die Auswertung ihrer Aktivität die Lyse der verwendeten Zellen voraus. Für unsere Experimente verwendeten wir stattdessen die Gaussia-Luciferase. Diese wird vom Ruderflusskrebs (Copepods) *Gaussia princeps* produziert und genetisch so verändert, dass sie sezerniert wird [69]. So konnte die Aktivität direkt aus dem Überstand bestimmt werden, ohne die Zellen vorher zu lysieren. (s. Abbildung 10)

Der veränderte „Reporter“-Vektor-Backbone wurde als pGL3-CMV_{min}-GLuc bezeichnet.

Abbildung 11

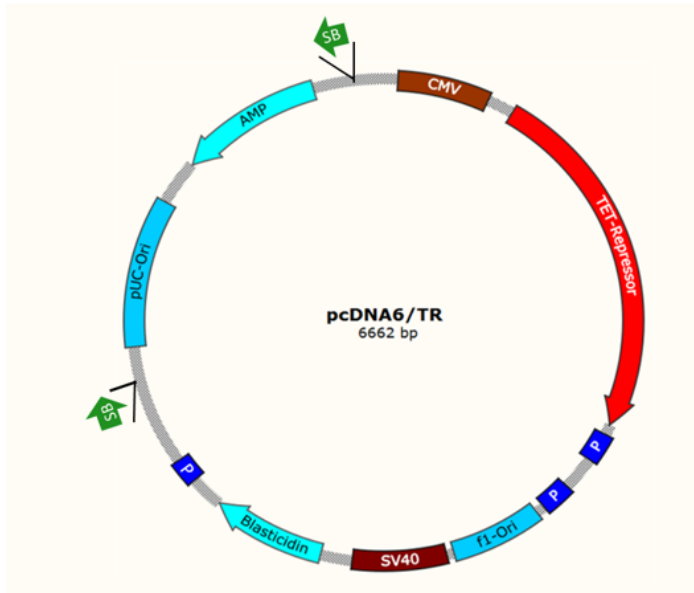


Prinzip der „Luciferase“-Messung:

Der Promoter der Gaussia-Luciferase wird mit einem Reporterkonstrukt (hier stellvertretend TEAD) gekoppelt. Wird dieses Reporter-Konstrukt aktiviert (hier durch die Bindung von YAP), wird Gaussia Luciferase produziert und in den Überstand abgegeben. Will man die Aktivität der Gaussia Luciferase bestimmen, setzt man dem Überstand Substrat (Coelenterazin) zu. Dieses wird von der Luciferase umgesetzt (in Coelenteramid). Dabei entsteht Licht. Dieses kann mithilfe eines Luminometers gemessen werden.

3.7.3. TET-Repressor

Abbildung 12



Produktion von pCDNA6TR/ITR:

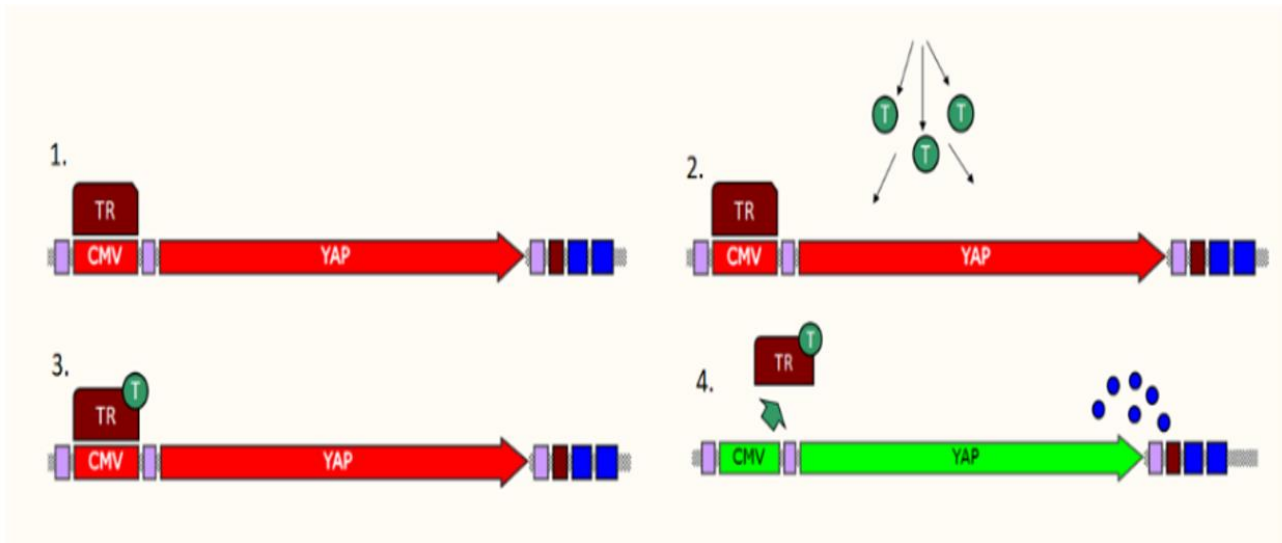
Als weiterer Ausgangspunkt für den Backbone der „Reporter“-Vektoren dient der pcDNA6/TR-Vektor. Dieser enthält das TET-Repressor-Konstrukt. Um eine effektivere stabile Transfektion ins Wirtsgenom zu ermöglichen, werden ITTR-Sequenzen als Bindestellen für die Transposase SB100 hinzugefügt.

Außerdem wurde für die Erstellung des „Reporter“-Vektor-Backbones der pcDNA6/TR-Vektor herangezogen. Dieser enthielt eine Sequenz für die Expression des TET-Repressor-Proteins aus dem Tn10-Transposon in E. Coli. (s. Abbildung 12)

Mitglieder der TET-Repressor-Protein-Familie dienen Bakterien in der Natur dazu, sich an physiologische (Nahrungs-/Wasser-Knappheit) und unphysiologische (Toxine, inkl. toxische Stoffwechselprodukte) Widrigkeiten anzupassen. TetR-Proteine, die Grundlage unserer Konstrukte, vermitteln wichtige Aufgaben im Bereich der Tetrazyklin-Resistenz. Ohne Anwesenheit eines „Inducer“-Moleküls (in diesem Fall Tetrazyklin) binden sie kovalent an die entsprechenden DNA-Sequenzen und verhindern so eine Transkription der Gene. Tetrazyklin führt zu einer Konformationsänderung innerhalb des Moleküls, und zu einem Abdriften des Repressors. Das Gen kann transkribiert werden [70]. (s. Abbildung 13)

Für die Versuchsanordnung modifizierten wir das Konstrukt so, dass das regulierte Gen nicht mehr für eine Tetrazyklin-Resistenz sondern für Überexpressions-Konstrukte kodierte. So war es möglich, den Start-Zeitpunkt der Versuche durch die Zugabe von Tetrazyklinen genau festzulegen. Da Tetrazyklin eine vergleichsweise geringe Halbwertszeit (ca. 9h) hat, verwendeten wir stattdessen das Tetrazyklin-Derivat Doxycyclin (HWZ: 24h).

Abbildung 13



Prinzip des „TET-Repressors“

Im Ruhezustand wird der Promotor des zu untersuchenden Gens (hier das YAP-Überexpressions-Konstrukt) vom TET-Repressor blockiert. Setzt man dem Medium das gewünschte Substrat bei (Tetrazyklin), diffundiert der TET-Repressor ab, die Hemmung des YAP-Promoters wird aufgehoben und YAP kann produziert werden. Auf diese Weise kann man über die Zugabe von Tetrazyklin den genauen Zeitpunkt der Überexpression bestimmen.

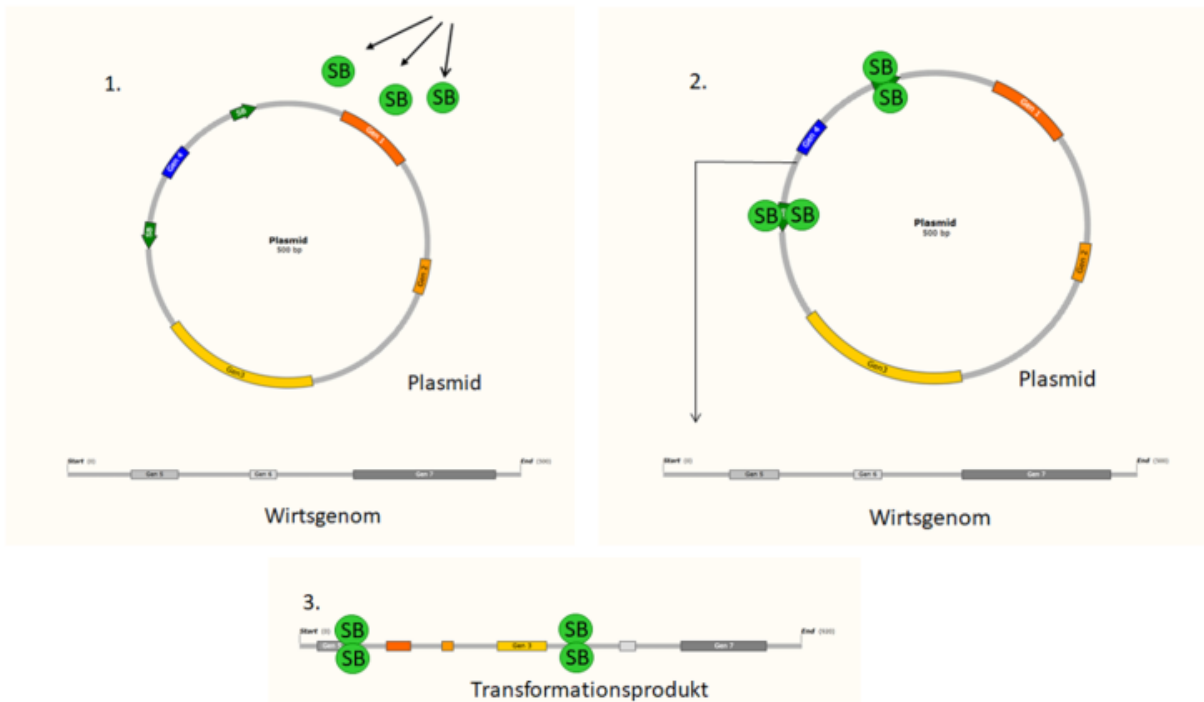
3.7.4. Sleeping-Beauty-Transposase (SB100)

Für eine effektivere Transfektion der Plasmide integrierten wir die Sleeping-Beauty-Transposase-Variante SB100. Transposons sind DNA-Sequenzen, die sich physiologischerweise innerhalb des Genoms fortbewegen. Die zu übertragende Gensequenz wird dabei von spezifischen ITRs (Englisch: „inverted-terminal-repeats“) flankiert. Diese stellen eine Bindestelle für die Transposase (SB100) dar. Die Region zwischen den ITRs wird effektiver ins Wirtsgenom integriert [71]. (s. Abbildung 14)

Die Sleeping-Beauty-Transposase wurde ursprünglich in Fischen als defekte Kopie eines Tc1/Mariner-Like Transposons entdeckt [71], mithilfe von „Reverse-Engineering“ isoliert und durch verschiedene Mutationen in ihrer Effektivität gesteigert. Die SB100-Variante weist gegenüber ihren Vorläufern eine 100 Mal höhere Effektivität auf [72]. Das zu übertragende Gensegment enthielt den TET-Repressor (s. 3.7.3.) und eine Blasticidin-Resistenz zur positiven Selektion.

Der entsprechende Vektor wurde als pCDNA6TR/ITR bezeichnet (s. Abbildung 12)

Abbildung 14



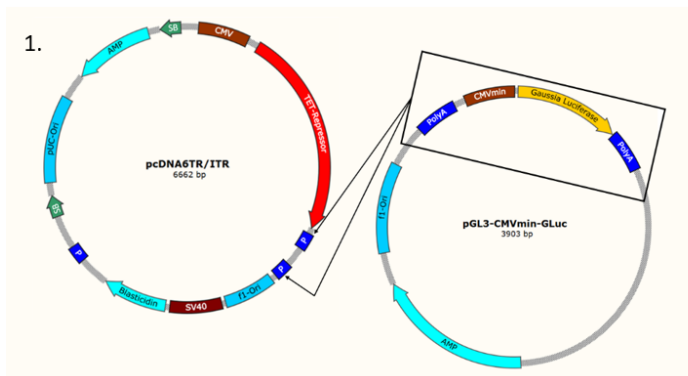
Funktionsweise der „Sleeping-Beauty-Transposase“:

Die „Sleeping-Beauty“-Transposase ermöglicht eine effizientere Transfektion der gewünschten Gensequenz. Diese wird im Plasmid mit den entsprechenden ITR-Sequenzen als Bindestellen der SB100 flankiert. Für die Transfektion wird SB100 beigefügt. Diese bindet an die ITR-Sequenzen. Diese werden einfacher ins Wirtsgenom integriert.

3.7.5. Transkriptionsfaktor-Sequenzen für Reporter-Systeme

In einem letzten Schritt wurden die beiden Vektoren pGL3-CMVmin-GLuc (s. 3.7.1.-3.7.2.) und pCDNA6TR/ITR (s. 3.7.3.-3.7.4.) zu einem Vektor-Backbone mit TET-Repressor, SB100-Bindestellen, Gaussia Luciferase und Blasticidin-Resistenz ligiert. (s. Abbildung 15) Dieser Vektor wurde als pSBTET.reporter bezeichnet. Er diente als Ausgangspunkt für die Konstruktion von Reporter-Vektoren. Die Transkriptionsfaktoren der zu untersuchenden Signalwege (AP-1, TEAD, NFAT5) wurden mittels „Klassischer Klonierung“ (s. 3.5.) eingefügt. (s. Abbildung 16) Die fertigen Plasmide wurden in MACH1-E-Coli vermehrt, aufgereinigt, mittels Testverdau und Sequenzierung überprüft und ihre Funktion mittels Luciferase-Messung verifiziert.

Abbildung 15

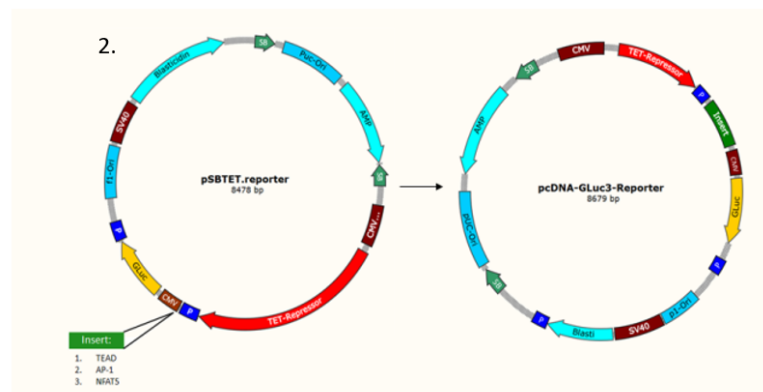


1. Klonierung des Reporter-Vektor-Backbones (pSBTET.reporter):

In einem letzten Schritt werden die beiden Teilkonstrukte pcDNA6TR/ITR (s. 3.8.3-3.8.4) und pGL3-CMV_{min}-GLuc (s. 3.8.1.-3.8.2.) zu einem Vektor zusammengefügt.

Der fertige Vektor wird als pSBTET.reporter bezeichnet.

Abbildung 16



2. Klonierung der „Reporter-Vektoren“:

Der pSBTET.reporter Vektor dient als Backbone für klassische Klonierungen. In den Vektor werden die Reporter-Sequenzen TEAD (Hippo), AP-1 und NFAT5 ligiert.

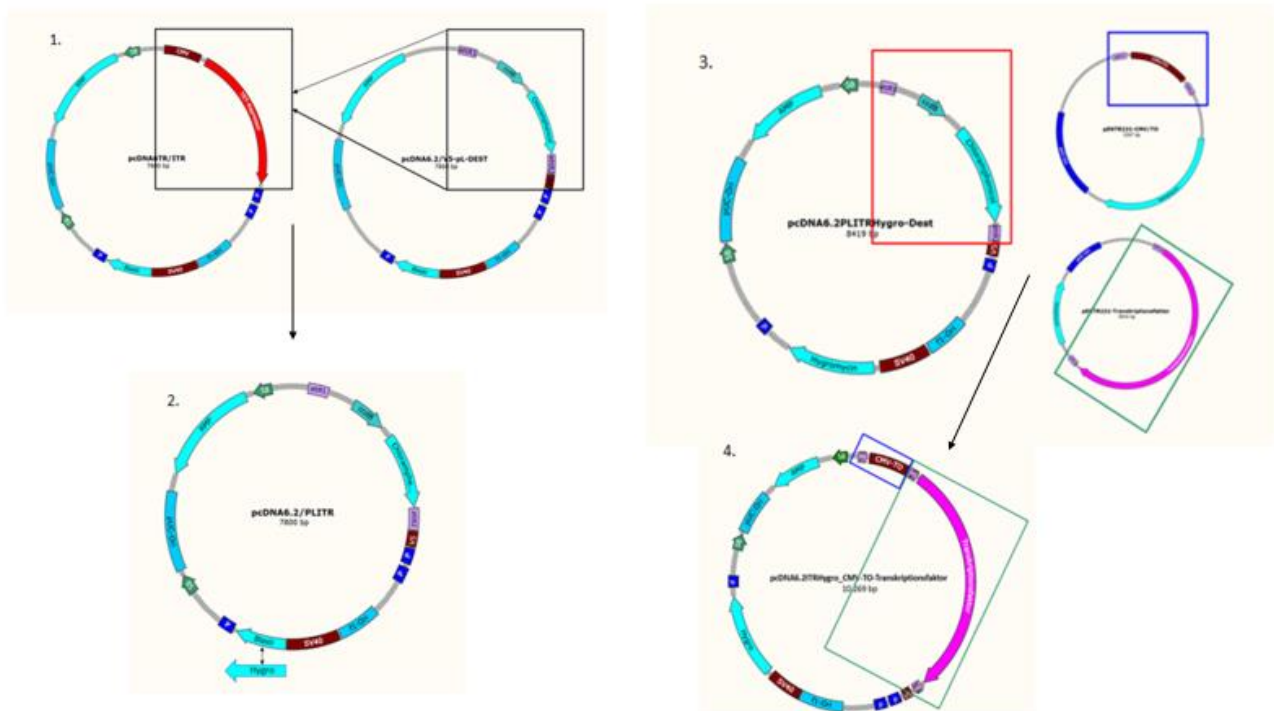
3.7.6. Transkriptionsfaktor-Sequenzen für Überexpressions-Modelle (s. Abbildung 17)

Der Backbone für Überexpressions-Modelle erhielt eine modifizierte Version des pCDNA6TR/ITR-Vektors (s. 3.7.3-3.7.4.). Dieser und der kommerziell erhältliche Destinations-Vektor (pCDNA6.2/V5-PL-DEST) wurden mit dem Restriktionsenzym BglII geschnitten und die TET-Repressor-Kassette des pCDNA6TR/ITR-Vektors durch die Gateway-Kassette des pCDNA6.2/V5-PL-DEST-Vektors ersetzt. Der fertige Vektor-Backbone enthielt weiterhin die SB100-Bindestellen und die Blastocidin-Resistenz-Kassette. Er wurde als pSBDEST.B bezeichnet.

Die Blastocidin-Resistenz-Kassette wurde durch Hygromycin- (pSBDEST.H), G418- (pSBDEST.G) oder Zeocin- (pSBDEST.Z) Resistenz-Kassetten ersetzt.

Überexpressionsmodelle der Signalwege (Yap/Taz, NFAT5) unter dem Einfluss des TET-Repressors wurden mittels Gateway-Klonierung (s. 3.6.) eingefügt. Die fertigen Plasmide wurden auf dieselbe Weise überprüft, wie für die Reporter-Plasmide beschrieben (s. 4.2.1).

Abbildung 17



Klonierung von „Überexpressions-Vektoren“:

Als Backbone wurde der pCDNA6TR/ITR-Vektor (s. 3.8.3-3.8.4) herangezogen. Die TET-Repressor-Kassette wurde herausgeschnitten und durch eine „Gateway“-Kassette des pCDNA6.2/V5-PL-DEST-Vektors ersetzt (1.). Der ursprüngliche Vektor enthielt eine Blasticidin-Resistenz-Kassette. Diese wurde durch eine Hygromycin-Resistenz-Kassette ersetzt (2.). Der CMV-TO-Promotor und das Überexpressionskonstrukt wurden mittels Gateway-Klonierung eingefügt (3.-4.).

3.8. Myeloide Zelllinie – Mono-Mac 6 (MM6), akute monozytische Leukämie Zelllinie

3.8.1. Mono-Mac 6-Konditioniertes Medium

MM6-Konditioniertes Medium wurde als Überstand der Tumorzell-Linie RCC-26 gewonnen. Hierfür wurden in einer 75 ml Zellkultur-Flasche 2 mal 10^6 RCC-26-Zellen in 10 ml AIM-V-Medium über 10 Tage kultiviert. Der Überstand wurde 10 min bei 2000 rpm zentrifugiert, steril-filtriert (0,2 μ m) und bei -20°C gelagert.

3.8.2. Isolierung mononukleärer Zellen (PBMC) aus Vollblut

Für die Isolation der PBMCs wurde gesunden Spendern venöses Blut abgenommen. Hierfür wurden die 50 ml Plastik-Spritzen mit 1.000 U Heparin (100 μ l pro Spritze) versehen, um eine Gerinnung zu verhindern. Das abgenommene Blut wurde im Verhältnis 1 : 1 mit RPMI-Medium gemischt. 35 ml des Gemisches wurden auf 15 ml Ficoll® in einem 50 ml Röhrchen überschichtet. Die einzelnen Blutbestandteile wurden in einer Dichte-Gradienten-Zentrifugation (2.000 rpm, 20 min, ohne Bremse) voneinander getrennt.

Dabei fanden sich Erythrozyten und Granulozyten in der Ficoll®-Schicht, PMBCs in der mittleren Schicht und Thrombozyten im oberen Plasma-Medium-Gemisch. Die PBMCs wurden vorsichtig entnommen, in ein 50 ml Röhrchen überführt, 1 : 1 mit RPMI-Medium gemischt und schließlich 12 min bei 1.999 rpm zentrifugiert. Auf diese Weise wurde das Ficoll entfernt. Das Zellpellet wurde mit eiskaltem MACs-Puffer resuspendiert. Die Zell-Suspension wurde durch ein Zellsieb (Porengröße: 100 µM) filtriert und anschließend die Zellzahl bestimmt. Die Ausbeute betrug ca. 15-30 x 10⁷ Zellen/100 ml Vollblut.

3.8.3. Positive Isolierung von Monozyten aus PBMCs

Um aus den isolierten PBMCs die Monozyten zu gewinnen wurde die MACS (Englisch: „magnetic cell sorting“) Technologie angewandt. Alle Arbeitsschritte wurden bei 4°C entsprechend des Mitty-Biotec-Protokolls durchgeführt. Die Monozyten wurden hierbei in CD14 Microbeads positiv-selektioniert. Entgegen dem Protokoll wurde das Zell-Pellet in 10 µl statt 20 µl CD14-Microbeads/10⁷ Zellen aufgenommen. Die Ausbeute an CD14⁺-Monozyten betrug ca. 5-20% der PBMCs (15-30 x 10⁶ Monozyten/100 ml Vollblut

3.8.4. In-vitro-Generierung Myeloischer Zelltypen aus Monozyten

Die CD14⁺-Monozyten wurden zu verschiedenen myeloischen Zelltypen differenziert. Die Differenzierung erfolgte in 6-Loch-Flach-Boden-Platten.

Für die Differenzierung zu 2⁺MoPhs wurden 7 x 10⁶ Monozyten in 3 ml AIM-V-Medium (3% HS) bzw. 3 ml VLE-Medium (6% HS) mit 1 ml RCC-26-CM pro Vertiefung vermischt. Die cDC wurden klassisch durch Differenzierung von 5 x 10⁶ Monozyten in 4 ml AIM-V-Medium (1% HS) supplementiert mit 80 ng/ml GM-CSF und 80 ng/ml rhu IL-4 kultiviert. Für die Differenzierung zu unpolarisierten Makrophagen wurden 5 x 10⁶ Monozyten in 4 ml AIM-V-Medium (1% HS) mit 50 ng/ml rhu M-CSF kultiviert. Diese wurden am 7. Tag polarisiert. Hierfür wurden sie 18 h mit 20 ng/ml rhu IFN-γ und 100 ng/ml LPS (M1) oder mit 20 ng/ml rhu IL-4 (M2) behandelt. GM-CSF-Makrophagen erhielten 80 ng/ml rhu GM-CSF. Die Zusatzmedien (RCC-26-CM, M-CSF, GM-CSF, IL-4) wurden jeweils an Tag 1, 2 und 5 hinzugegeben. 2⁺MoPhs und cDC wurden an Tag 7 geerntet, GM-CSF, M1 und M2 an Tag 8.

In der folgenden Tabelle sind die einzelnen Differenzierungsschritte zusammengefasst:

Zelltyp	Tag 2 + 5	Tag 7	Tag 8
2 ⁺ MoPh	RCC-26-CM	Ernten	
cDC	IL-4, GM-CSF	Ernten	
GM-CSF	GM-CSF	---	Ernten
M1	M-CSF	IFN-γ, LPS	Ernten
M2	M-CSF	IL-4	Ernten

Tabelle 41

3.9. In-Vitro-Experimente

3.9.1. Elektroporation zur stabilen Transfektion von Zellkultur-Linien

Für Zellkultur-Experimente wurden HEK293-Linien verwendet. Diese wurden mittels Elektroporation mit einem Reporter- (s. 3.7.5.) und teilweise einem Überexpressions-Plasmid (s. 3.7.6.) versehen.

Für die Elektroporationen wurden der Amaxa-Nucleofactor IIB [Lonza, Basel (Schweiz)] und das NEON-Transfektions-System [Thermo – Fisher, Waltham (USA)] verwendet.

Bei AMAXA wurden die für HEK293-optimierten Protokolle (Q-030) verwendet. Für NEON wurden die optimalen Energien und Zeitdauern in einer Versuchsreihe ermittelt. Hierfür wurden die Zellen mit einem konstitutiv-aktiven Gaussia-Luciferase Konstrukt transfiziert und die Aktivität jeweils nach 48h gemessen.

Die ermittelten Zeiten und Energien finden sich in der folgenden Tabelle:

Volumen	Energie	Zeit
10 µl	950 V	30 ms
100 µl	1050 V	30 ms

Tabelle 42

Für die Elektroporation wurden jeweils ca. 1×10^6 Zellen verwendet. Diese wurden so gesplittet, dass sie am Tag der Transfektion eine Fläche von ca. 80% bedeckten.

Für eine weitere Effektivitäts-Steigerung der Transfektion wurde zusätzlich SB100 im Verhältnis 1 : 2 zugesetzt.

Die Zellen wurden anschließend in frisches Medium überführt. Nach 24 h wurde das Medium durch Selektions-Medium ersetzt.

3.9.2. Antibiotika-Selektion

Im Anschluss an die Elektroporation wurden die transfizierten Zellen einer 7-10 -tägigen Selektion unterzogen. Auf diese Weise konnte sichergestellt werden, dass sie das gewünschte Plasmid aufgenommen hatten.

Die hierfür benötigte Antibiotika-Konzentration wurde vorher in einer separaten Versuchsreihe ermittelt. Die HEK293-Zellen wurden steigenden Konzentrationen des entsprechenden Antibiotikums ausgesetzt und täglich bezüglich Aussehen und Sterblichkeit unter dem Lichtmikroskop untersucht. Die Antibiotika-Medien wurden jeden 2.-3. Tag erneuert und der Versuch solange weitergeführt, bis die Konzentration sicher ermittelt werden konnte. Aus Sicherheitsgründen wurden von jeder Konzentration drei Proben verwendet. In Fällen, in denen die Entscheidung nicht eindeutig gefällt werden konnte, entschieden wir uns für die höhere Konzentration.

Die für die einzelnen Antibiotika ermittelten Konzentrationen finden sich in der folgenden Tabelle:

Blasticidin	Hygromycin	Zeocin	G418
8 µg/ml	150 µg/ml	150 µg/ml	600 µg/ml

Tabelle 43

3.9.3. Stimulations-Versuche

Alle Zell-Kultur-Versuche wurden in 96-Loch-Platten durchgeführt. Für jede Versuchsvariante wurden mindestens Triplets verwendet. Die Zellen wurden so ausgesät, dass sie am Versuchstag ca. 70% der Gesamtfläche einnahmen. In jedes Loch wurden ca. 10.000 Zellen in 50 µl Nährmedium gefüllt. Nach 2h wurden jeweils 50 µl doppelt-konzentrierten Stimulationsmediums hinzugefügt. Die Negativ-Kontrollen erhielten 50 µl leeres Medium. Nach 48 h wurden die Überstände entnommen und die Aktivität der *Gaussia* Luciferase bestimmt.

Die verwendeten Stimulationsmedien finden sich in der folgenden Tabelle:

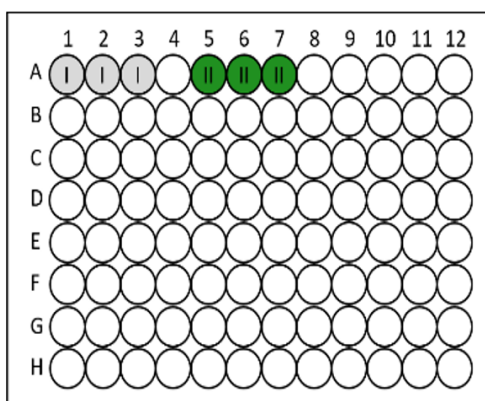
PMA	EGF	PD98059	Wortmannin (WT)	NaCl
25 ng/µl	20 ng/ml	25 µM	200 nM	50 M

Tabelle 44

3.9.4. Überexpressions-Modelle

Für Überexpressions-Versuche wurden HEK293-Zellen verwendet, die mit Reporter- und Überexpressions-Konstrukten transfiziert worden waren. Es wurde derselbe Versuchsaufbau wie in 3.9.4. beschrieben verwendet. Als Stimulans wurde Doxycyclin (1 µg/ml) verwendet. Dieses aktivierte die Expression des Überexpressions-Konstrukts über den TET-Repressor. (s. Abbildung 18)

Abbildung 18



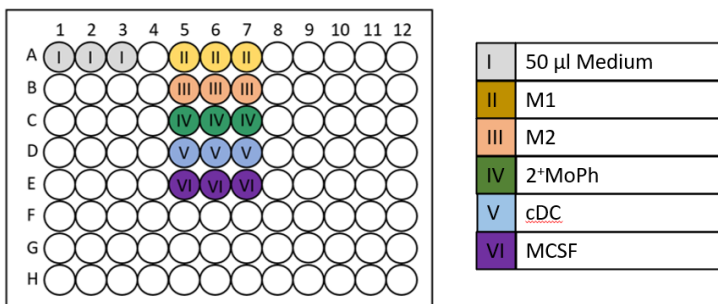
Versuchsaufbau von Überexpressionsmodellen:

Es werden HEK293-Zellen mit „Reporter“- (TEAD, AP-1, NFAT5) und „Überexpressions“-Konstrukten (YAP/TAZ, NFAT5) verwendet. Diese werden gezählt und zu jeweils 20.000 Zellen in 50 µl auf 96-Well-Platten verteilt. Kontrollen ohne Stimulation erhalten 50 µl Medium ohne Zusätze, Überexpressionszellen erhalten 50 µl Doxycyclin-Medium (2 µg/ml). Die Aktivität der Reporterkonstrukte wird mittels Gaussia-Luciferase bestimmt.

3.9.5. Co-Kultur-Experimente

Der Versuchsaufbau von Co-Kultur-Experimenten gestaltete sich ähnlich wie in 3.9.4. beschrieben. Das Stimulationsmedium enthielt je 10.000 Zellen der myeloiden Linien MM6, cDC, 2⁺MoPh, MCSF, M1, M2 (s. 3.9). Hierbei war es wichtig, darauf zu achten, dass sie dasselbe Medium hatten wie HEK293. (s. Abbildung 19)

Abbildung 19



Versuchsaufbau von

Koinkubationsexperimenten:

Es werden HEK293-Zellen mit „Reporter“-Konstrukten verwendet.

Der weitere Versuchsaufbau entspricht im Wesentlichen dem von Überexpressionsversuchen.

Die Stimulationsmedien enthalten je 50 µl mit ca. 20.000 myeloiden Zellen.

3.9.6. Luciferase-Messung

Als Maß für die Aktivität der zu untersuchenden Signalwege diente die Aktivität der Gaussia Luciferase. Diese setzt das Substrat Coelenterazin in Coelenteramid um. Die dabei in Form von Licht freiwerdende Energie wurde im Luminometer [Berthold Lumat LB 9507] gemessen. Die Messzeit betrug 10 s. Für die Reaktionen verwendeten wir das BioLux Gaussia Luciferase Assay Kit [New England Biolabs, Ipswich (USA)]. Da sich die Aktivität der Gaussia Luciferase gewöhnlich innerhalb von 50s nach Zugabe des Substrates um ca. 75% reduziert, enthielt dieses einen zusätzlichen Stabilisator, der die Aktivität über mehrere Proben hinweg stabilisierte. Die Reaktionen wurden entsprechend der Herstellerangaben durchgeführt.

3.10. Statistische Auswertung

Alle Ergebnisse wurden abschließend bezüglich ihrer Signifikanz ausgewertet. Hierfür wurde der t-Test mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,5$ herangezogen. Alle Berechnungen wurden mithilfe des Prism-Programms durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1. Microarray-Analyse

Während chronisch-fibrosierender Nierenerkrankungen (Englisch: „chronic kidney disease“ = CKD) werden verschiedene Signalkaskaden und Programme aus der Embryonalentwicklung reaktiviert, von denen viele eine bedeutende Rolle in der Wundheilung spielen. Mein Kollege, Carsten Jaeckel, untersuchte in seiner Arbeit die Rolle, die weitverbreitete Signalwege wie TGF- β , Wnt und Hedgehog bei der Entstehung von Diabetischer Nephropathie einnehmen. Ziel dieser Arbeit ist die Rolle zu untersuchen, die weniger untersuchten Signalwegen, wie Hippo, NFAT5 und AP-1, bei der Entstehung von IgA-Nephritis (IgAN) zukommt.

Wir stellten die Hypothese auf, dass während der Entstehung von CKD verschiedene Signalwege, die während der Embryonalentwicklung aktiv und im Erwachsenen Körper inaktiv sind, dauerhaft aktiviert werden (in unserem Fall Hippo, NFAT5, AP-1). Um diese Hypothese zu überprüfen verglichen wir die Expressions-Profile von CKD-Patienten (in unserem Fall IgA-Nephritis) mit denen gesunder Kontrollen (Lebendnieren-Spender) und erstellten eine Liste unterschiedlich-exprimierter Gene. Stellvertretend für unsere Signalwege verwendeten wir sog. „Target-Gene“, deren Expression von den jeweiligen Signalwegen kontrolliert wird.

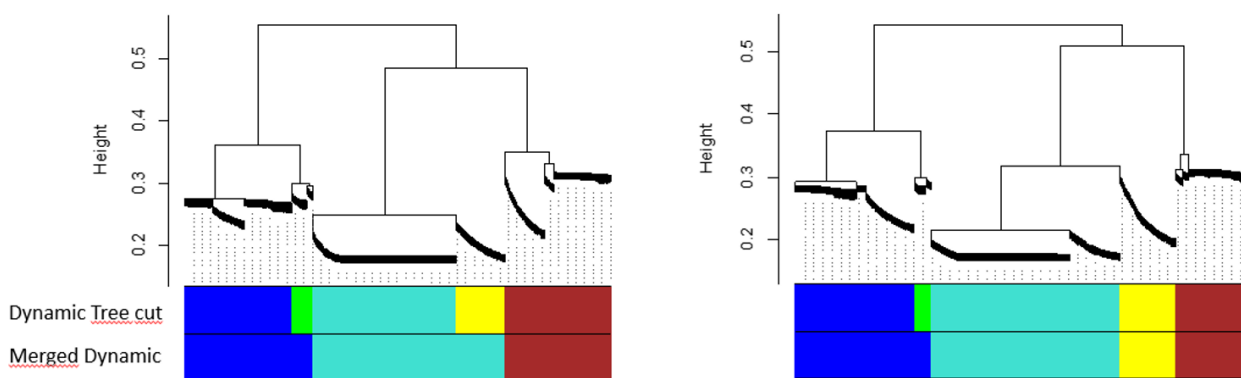
Transkriptom-Analysen wurden mithilfe der Affymetrix-Microarray-Technologie durchgeführt. Gewebeproben von IgA-Nephritis Patienten und Lebendniere spendern wurden während Routine-Biopsien entnommen und von der Europäischen Nieren-cDNA-Bank (Englisch: „European Renal cDNA Bank“ = ERCB) zur Verfügung gestellt. Die Analyse der Transkriptom-Daten wurde in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. M. Kretzler und V. Nair [*University of Michigan, Ann Arbor (USA)*] durchgeführt. Die genauen Vorgänge werden im Methoden-Teil beschrieben (3.1.).

Für die Analysen wurde die RNA der Tubulointerstitiellen Kompartimente von 17 IgA-Nephritis Patienten und 30 Kontroll-Nieren isoliert, mittels reverser Transkription in cDNA umgeschrieben und mit Affymetrix-cDNA-Microarrays hybridisiert. Als Einschlusskriterium wurde die geschätzte GFR nach der MDRD-Formel herangezogen (Durchschnitt: 44, Median: 46, Standard-Abweichung: 25). Die Expressions-Profile wurden hinsichtlich ihrer Qualität geprüft, mittels Normalisierung und „Batch“-Korrektur vergleichbar gemacht und mithilfe der Custom-CDF-Daten von Brainarray auf EntrezGene-Level überführt. Insgesamt wurden 12.872 unterschiedlich-exprimierte Gene gefunden.

Diese Liste wurde eingegrenzt, indem in einem zweiten Schritt ein Schwellenwert von 1.3 festgesetzt wurde. Es fanden sich 9.839 unterschiedlich-exprimierte Gene.

Die Genliste wurde einer WGCNA-Analyse (Englisch: „Weighted Gene Correlation Network Analysis“) unterzogen [65]. Diese teilt die Gene anhand ihrer Expressionsmuster in ein Netzwerk aus ähnlich-exprimierten „Modulen“ ein. Zusätzlich ermöglicht sie eine Korrelation zwischen den veränderten Genen und klinischen Parametern (z.B. GFR). Es fanden sich insgesamt 5 Module („blau“, „gelb“, „braun“, „türkis“, „grün“) (s. Abbildung 20).

Abbildung 20



Cluster-Dendrogramm:

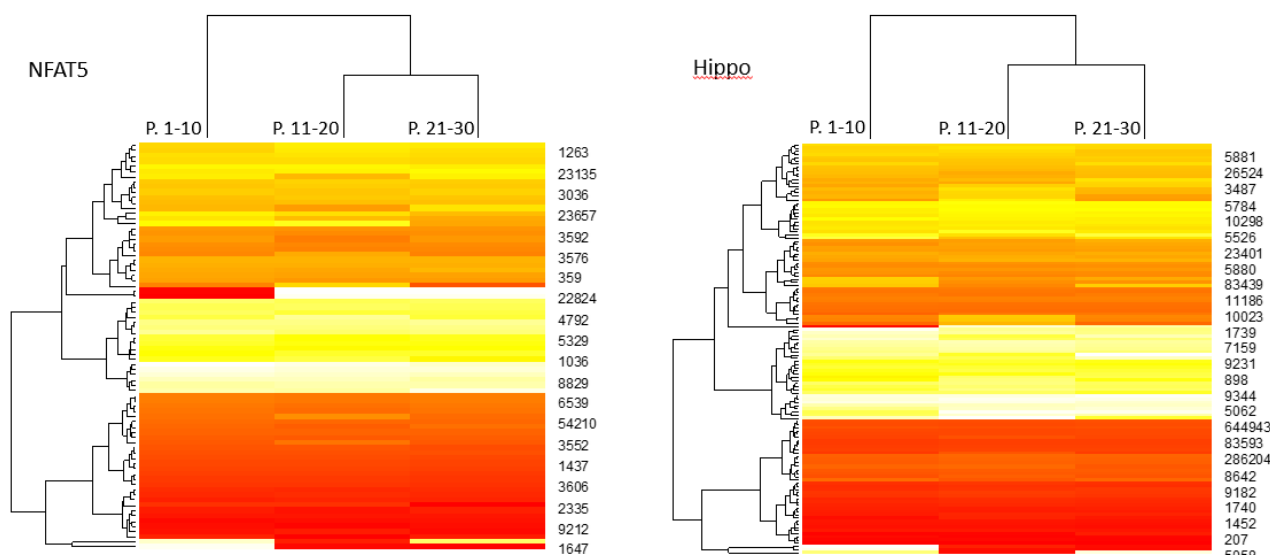
WGCNA-Analysen unterteilen die Gene in Module ähnlich-exprimierter Gene (hier „Blau“, „Gelb“, „Braun“, „Türkis“).

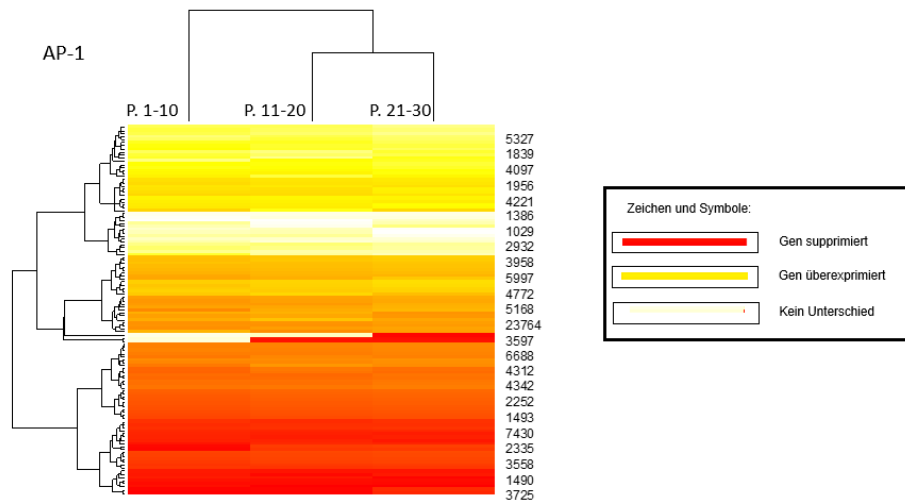
Sehr ähnliche Module werden zu einem Modul zusammengefasst (z.B. „Grün“ und „Blau“). Die einzelnen Gene werden nochmals zu Clustern zusammengefasst und als Zweige des Dendrogramms dargestellt.

Die einzelnen Module wurden weiter mithilfe der David-Software untersucht [64]. Dieses Programm weist den einzelnen Genen sogenannte „Functional Annotation-Terms“, also biologische Funktionen, GO-Terms (Englisch: „Gene Ontology) oder Signalwege zu und unterteilt sie in „Cluster“ von Genen mit ähnlicher Funktion. Eine Übersicht der einzelnen Annotation-Terms findet sich im Anhang.

Abschließend konzentrierten wir uns auf mögliche Veränderungen spezifischer regulatorischer Signalwege. Wir untersuchten die Genliste bezüglich der „Target-Gene“ von Hippo, NFAT5 und AP-1 (s. Anhang und Abbildung 21)

Abbildung 21





Microarray-Analysen:

Für die Analyse wurden Nierenbiopsien von 30 IgAN-Patienten und 17 Lebendnierenspendern als Kontrollen untersucht. Die Graphik stellt die Unterschiede in der Genexpression zwischen IgAN-Patienten und Kontrollen farbkodiert dar (rot: Gen schwächer exprimiert, gelb: Gen stärker exprimiert, weiß: kein Unterschied in der Genexpression). Für eine übersichtliche Darstellung wurden die IgAN-Patienten in Gruppen zu je 10 Patienten zusammengefasst.

4.2. Klonierung und Etablierung einer stabilen Vektor-Plattform

Nachdem wir in Gen-Expressions-Analysen etabliert hatten, dass sowohl Hippo als auch NFAT5 und AP-1 bei IgA-Nephritis-Patienten gegenüber gesunden Kontrollen signifikant-unterschieden exprimiert werden, wollten wir in weiteren Versuchen untersuchen, wie es zu diesen Unterschieden des Aktivierungszustands kommt.

Wir stellten die Hypothesen auf, dass die Aktivierung entweder durch einströmende Immunzellen hervorgerufen wurde, oder sich die Signalwege gegenseitig beeinflussten.

Um diese Hypothesen zu überprüfen entwickelten wir ein Zellkultur-Modell mit selbst generierten Plasmiden.

Als Modellzellen entschieden wir uns für HEK293-Zellen (Englisch: „human embryonic kidney cells“). Dabei handelt es sich um menschliche embryonale Nierenzellen, die mithilfe von DNA-Teilen des menschlichen Adenovirus 5 transformiert wurden [73]. Sie schienen uns gut geeignet, die Prozesse in menschlichen Nierenzellen unter verschiedenen Bedingungen widerzuspiegeln. Darüber hinaus weisen sie einige Eigenschaften, wie schnelles Wachstum und unkomplizierte Transfizierbarkeit auf, die sie zu idealen Versuchszellen machen.

Damit die Versuche präzise Aussagen lieferten, waren einige Plasmid-Eigenschaften unerlässlich:

Um den Aktivierungszustand einer Signalkaskade bestimmen zu können und vor allem seine Veränderung als Reaktion auf bestimmte Stimuli nachvollziehen zu können, benötigten wir einen Messwert, der es uns erlaubte diesen abstrakten Begriff zu konkretisieren. Wir entschieden uns für die Gaussia Luciferase. Luciferasen erzeugen proportional zu ihrer Aktivität durch Umsetzung spezifischer Substrate Licht [68]. Die

Intensität des Lichts kann mithilfe von Luminometern gemessen werden. Die Gaußia Luciferase hat gegenüber anderen Luciferasen den entscheidenden Vorteil, dass sie nach extrazellulär sezerniert wird [69]. Für uns bedeutete dies, dass wir die Aktivität direkt aus dem Zell-Überstand bestimmen konnten, und die Zellen nicht lysieren mussten, was es uns ermöglichte, den selben Versuchsaufbau über mehrere Tage hinweg zu beobachten.

Um den Effekt der verschiedenen Signalwege aufeinander zu untersuchen, verwendeten wir Überexpressions-Modelle. Da es uns hierbei ganz konkret darum ging, den Aktivierungszustand von Signalweg A vor und nach Aktivierung eines weiteren Signalwegs B zu vergleichen, wählten wir ein integriertes Reporter-System. Hierzu diente der TET-Repressor. In Abwesenheit von Tetrazyklin, bindet ein Repressor kovalent an die entsprechenden DNA-Sequenzen und verhindert deren Transkription. Tetrazyklin verdrängt den Repressor und aktiviert die Gen-Expression [70]. Dieses System veränderten wir so, dass es uns eine Induktion der Überexpression ermöglichte. Da Tetrazyklin eine vergleichsweise geringe Halbwertszeit (ca. 9h) hat, verwendeten wir stattdessen sein Derivat Doxycyclin (ca. 24h).

Da die klassische Klonierung vergleichsweise zeitaufwendig ist, veränderten wir unsere Gensequenzen so, dass sie mit der „Gateway-Klonierung“ kompatibel waren. Diese verwendet Rekombinasen der Bakteriophagen Lambda, die physiologischerweise den Bakteriophagen dazu dienen, ihre DNA in E-Coli-Bakterien zu integrieren [67]. Hierfür wurden an beide Seiten des zu übertragenden DNA-Fragments Rekombinase-Erkennungssequenzen („att-sites“) angefügt, die mit den entsprechenden Sequenzen interagieren. Die Reaktion wird mittels „Clonasen“ (Rekombinationsenzyme) eingeleitet. Dieses Klonierungssystem ermöglicht eine hocheffektive Integration von bis zu vier Konstrukten in einem einzelnen Schritt.

Um unsere Plasmide stabil in die Zellen transfizieren zu können, verwendeten wir die Sleeping-Beauty-Transposase SB100. Diese wurde ursprünglich in Fischen entdeckt und durch verschiedene Mutationen in ihrer Effektivität gesteigert [72]. Bei Transposons handelt es sich um DNA-Sequenzen, die physiologischerweise innerhalb des Genoms von Stelle zu Stelle springen [71]. Wir flankierten die zu transfizierenden Gen-Sequenzen mit Transposase-Bindestellen („ITRs“). Nach Zugabe des SB100-Plasmids wurden diese stabil in unsere Zellen transfiziert. Durch die Verwendung stabil-transfizierter Zellreihen konnten wir die häufig bei transient-transfizierten Zellen beobachteten, inter-Versuch-Schwankungen deutlich reduzieren.

4.2.1. Reporter-Vektoren für den Aktivierungs-Zustand Transkriptions-abhängiger Signalwege

Spezifische Reporter-Vektoren lieferten hierbei die gewünschten Informationen über den Aktivitätszustand bestimmter Signalwege. Wir kreierte Reporter-Plasmide, mit den DNA-Bindesequenzen der Transkriptionsfaktoren AP-1 und NFAT5. Da die Effektoren des Hippo-Signalwegs Yap und Taz selbst keine DNA-Binde-Domänen besitzen [32], sondern lediglich mit Transkriptionsfaktoren interagieren, verwendeten wir als Reporter für die Aktivität des Hippo-Signalwegs stattdessen Mitglieder der TEAD-Transkriptionsfamilie, in diesem Fall TEAD2.

Die einzelnen Elemente des fertigen Backbones (pSBTET-Reporter) wurden aus drei verschiedenen Vektoren entnommen, dem pGL3-Promoter, pN3-Bar-Gluc und pcDNA6.2/V5-PL-DEST. Der fertige modifizierte Vektor-Backbone enthielt gegenüber der Ausgangsversion einige entscheidende Vorteile:

Im Gegensatz zum Ausgangsvektor enthielt er beispielsweise den TET-Repressor, mit dessen Hilfe, die Genproduktion in die selben Zellen transfizierter Überexpressions-Plasmide zielgenau induziert werden konnte.

Als Aktivitäts-Messer nutzten wir die Gaussia Luciferase (s.3.7.2.), die so modifiziert worden war, dass sie von den Zellen sezerniert wurde.

Schließlich wurde der fertige Backbone noch mit ITRs (Englisch: „inverted terminal repeats“) als Bindestellen für die „Sleeping-Beauty“-Variante SB100 versehen (s.3.7.4). Diese ermöglichten eine zuverlässige und stabile Integration in das Wirtsgenom.

In den Backbone wurden AP-1, NFAT5 und TEAD2 mittels „klassischer“ Klonierung eingefügt.

4.2.2. Klonierung von Transkriptionsfaktor-Überexpressions-Vektoren

Neben den oben beschriebenen Reporter-Plasmiden (s. 4.2.1) verwendeten wir auch induzierbare Überexpressions-Plasmide mit dem Transkriptionsfaktor NFAT5 und den Transkriptions-Koaktivatoren Yap und Taz. Fos und Jun als Repräsentanten des AP-1 Signalwegs waren zum Zeitpunkt der Doktorarbeit nicht verfügbar.

Um die Überexpressions-Plasmide unter die Kontrolle des TET-Repressors der Reporter-Plasmide zu stellen, wurde hierbei der ursprüngliche SV40-Promoter durch einen CMV-TO-Promoter ersetzt. Dieser konnte durch Zugabe von Tetrazyklin oder seines Derivats Doxycyclin spezifisch aktiviert werden.

Der Backbone (pSB.DEST) wurde so modifiziert, dass er mit dem Gateway-Klonierungssystem kompatibel war (s.3.6.).

Zusätzlich wurden ITRs für eine stabile Transfektion mittels SB100 und spezifische Sequenzen für Antibiotika-Resistenzen (Blasticidin, Hygromycin, G418, Zeocin) für die Vorabselektion hinzugefügt.

In der abschließenden LR-Reaktion wurden NFAT5, YAP/TAZ in die Plasmide integriert.

4.2.3. Stabile Transfektion von HEK293 mittels Elektroporation und SB100 Transposase

Um das Verhalten unserer Signalwege besser untersuchen zu können, transfizierten wir die entsprechenden Reporter- (s. 4.2.2) und teilweise Überexpressions-Plasmide (s. 4.2.3) stabil in HEK293-Zellen. Hierfür verwendeten wir „Next-Generation“-Elektroporation und die integrierte SB100-Transposase.

Um die effizienteste Transfektions-Methode zu ermitteln, testeten wir zunächst verschiedene Transfektions-Protokolle von AMAXA und NEON.

AMAXA [*Lonza, Basel (Schweiz)*] ermöglicht eine höhere Elektroporations-Rate als herkömmliche Elektroporations-Systeme. Im Gegensatz zu NEON bedient sie sich dabei weitestgehend der üblichen Elektroporations-Küvetten. Dabei ist es jedoch nahezu unmöglich kleinere Volumina zu verwenden, da sich diese unten in der Küvette verlieren, wo die Pipettenspitze nicht heranreicht. Außerdem lassen sich bei dieser Technologie die einzelnen Parameter, wie Puls-Entladung, nicht individuell einstellen und damit optimieren, sondern die Elektroporation ist an feste Protokolle gebunden.

NEON [*Thermo Fisher, Waltham (USA)*] nutzt spezielle „Pipetten-Tips“, die gleichzeitig als Elektroporations-Kammer und als Pipettier-Hilfe dienen. Auf diese Weise ist es möglich, auch kleine Volumina bis 10 µl relativ unproblematisch zu pipettieren. So können hohe Zellzahlen in einem geringen Volumen einer hohen Plasmid-Konzentration ausgesetzt werden. Die einzelnen Transfektions-Parameter lassen sich individuell einstellen und damit optimieren.

Um zu prüfen, welches System am besten für unsere Zellkultur-Experimente geeignet war, transfizierten wir Zellen auf einer 24-Well-Platte versuchsweise mit GFP. Für die Transfektion verwendeten wir entweder AMAXA oder NEON. Die mit NEON transfizierten Zellen zeigten ausnahmslos bessere Transfektions-Ergebnisse. (Daten nicht gezeigt)

4.2.4. Überprüfen des Systems („Proof-of-Principle“-Experimente)

Die Funktion unserer Reporter- und Überexpressions-Plasmide wurde im Funktionstest evaluiert. Hierfür wurden diese stabil in HEK293-Zellen transfiziert.

Das TEAD2-Plasmid transfizierten wir gemeinsam mit den Transkriptions-Koaktivatoren des Hippo-Signalwegs YAP und TAZ gemeinsam in eine Zelllinie. Die Plasmide ließen sich gut stimulieren.

Das NFAT5-Reporter-Plasmid testeten wir initial durch NaCl. Die Zellen waren ausgezeichnet stimulierbar. Allerdings zeigten nachfolgende Experimente, dass NaCl eine generelle unspezifische Stimulation bewirkt, weshalb wir uns für die spezifischere Variante mittels NFAT5-Überexpressions-Plasmids entschieden.

Den Transkriptionsfaktor AP-1 testeten wir zunächst mithilfe von PMA. Allerdings zeigten auch in diesem Fall alle Zellen unabhängig von ihrem Reporter-Konstrukt eine Stimulation. Wir entschieden uns daher für die spezifischere Stimulation mit EGF und eine Inhibition mit Wortmannin (WT) und PD98059. Auch in diesem Fall ließ sich eine ausgezeichnete Funktion nachweisen.

Die einzelnen Graphiken finden sich im Anhang.

4.3. Aktivierung von Signalwegen durch Myeloide Immunzellen

Mithilfe unseres neu geschaffenen Zellkultur-Systems (s. 4.2.) untersuchten wir nun, welche Faktoren, die an der Entstehung chronisch-fibrosierender Erkrankungen, darunter auch IgAN beteiligt sind, zur Deregulation und Aktivierung von Hippo, NFAT5 und AP-1 führen.

4.3.1. Aktivierung von Signalwegen durch direkten Zell-Zell-Kontakt

Als wir die verschiedenen Signalwege untersuchten, die bei IgAN-Patienten dereguliert werden, fanden sich darunter wie bereits erwähnt (s. 4.1.) Hippo, AP-1 und NFAT5. Zusätzlich fanden sich jedoch auch zahlreiche Signalwege, die in irgendeiner Weise mit der Regulation des Immunsystems in Verbindung standen.

In einem nächsten Schritt gingen wir also dazu über die Beziehung zwischen diesen beiden Faktoren genauer zu untersuchen.

Wir vermuteten, dass Immunzellen - vor allem myeloide Zellen - um ihre Aufgaben bezüglich Wundheilung und Pathogenabwehr effektiv erfüllen zu können, die Expressionsprofile intrazellulärer Signalwege verändern, darunter auch die von Hippo, NFAT5 und AP-1.

Wir testeten diese Hypothese an einem Zellkultur-Modell:

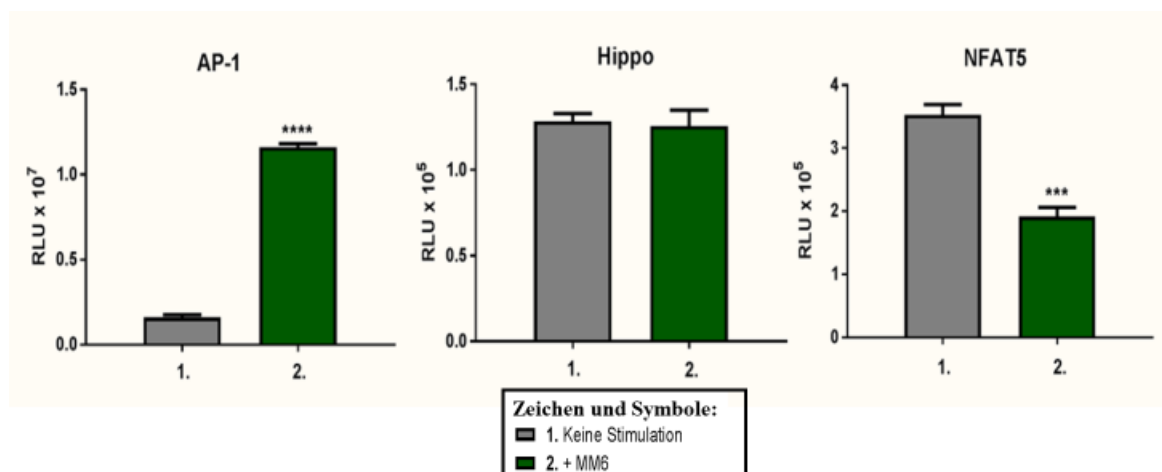
Zu diesem Zweck verwendeten wir die selbstkreierten „Reporter“-HEK293-Zelllinien (s. 4.2.1), für NFAT5, AP-1 und Hippo. Diese wurden auf einer 96-Well-Platte mit 20.000 Zellen pro Well ausgesät. Hierbei wurden für jede Zellreihe je drei stimulierte und drei nicht-stimulierte Wells verwendet. Die stimulierten Zellen wurden über 48 h mit Myeloiden Zellen (MM6) zusammen inkubiert. Nach 48h wurde der Überstand aller Zellen entnommen und die Aktivität der Gaussia Luciferase zwischen stimulierten und unstimulierten Zellen verglichen. (s. Abbildung 22)

Die Ergebnisse wurden mithilfe des t-Tests auf ihre Signifikanz hin überprüft, wobei ein Signifikanz-Niveau von $p < 0,05$ angenommen wurde.

Tatsächlich ließen sich bei „Reporter“-Zellen der Transkriptionsfaktoren AP-1 und NFAT5 signifikante Unterschiede zwischen nicht-stimulierten Zellen und Zellen, die mit Myeloiden Zellen gemeinsam inkubiert wurden, beobachten. Die Aktivität von AP-1 wurde durch die Anwesenheit dieser Zellen signifikant stimuliert, während die basale Aktivität von NFAT5 eher gehemmt wurde. Diese Veränderungen entsprechen weitestgehend jenen, die bei progressiver IgA-Nephritis in den Expressions-Profilen ihrer Target-Gene beobachtet wurden.

Anders verhielt es sich mit den „Reporter“-Zellen des Hippo-Signalwegs. Die basale Aktivität, die auch in nicht-stimulierten Zellen beobachtet werden konnte, ließ sich durch die Anwesenheit Myeloider Stammzellen nur geringfügig steigern. Die Unterschiede blieben durchweg unterhalb des Signifikanz-Niveaus.

Abbildung 22



Koinkubation mit Myeloiden Stammzellen:

Reporter HEK293-Zellen werden mit myeloiden Stammzellen (MM6) über 24h koinkubiert. Die Aktivität wird mittels Gaussia-Luciferase-Messung bestimmt. Pro Versuchsreihe werden Triplets (n = 3) mit jeweils 20.000 unstimulierten (links) und stimulierten Zellen (rechts) verwendet. Die Höhe der Balken gibt die durchschnittliche Aktivität der Gaussia Luciferase in den Proben wieder, die Höhe der Fehlerbalken die Standardabweichung. Die Anzahl der Sternchen (*) über den Balken gibt die statistische Signifikanz des Ergebnisses wieder. Hierfür wird der t-Test herangezogen (* p = < 0,05, ** p = < 0,01, *** p = < 0,005, **** p = < 0,001)

4.3.2. Einfluss sekretorischer Faktoren von Immunzellen auf die Aktivität der Signalwege

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, wie Immunzellen ihren Effekt auf andere Zellen und die Aktivität bestimmter Signalwege in diesen Zellen vermitteln. So können sie diese beispielsweise direkt über bestimmte Oberflächenrezeptoren und direkten Zell-Zell-Kontakt regulieren oder indirekt, über die Sekretion löslicher Faktoren, wie Zytokine, die ihrerseits die Effektorzellen beeinflussen.

Um herauszufinden, welcher dieser Wege für den von uns beobachteten Effekt verantwortlich war, führten wir eine neuerliche Versuchsreihe durch:

Wir verteilten die „Reporter“-Zelllinien wie oben beschrieben (s. 4.3.1.) auf 96-Well-Platten und verglichen nach 48h die Aktivität der stimulierten und nicht-stimulierten Signalwege über die Aktivität der Gaussia-Luciferase. Für die Stimulation verwendeten wir jedoch dieses Mal nicht die tatsächlichen MM6-Zellen, sondern lediglich ein Medium, das wir vorher von aktivierten MM6-Zellen konditioniert hatten. Es enthielt alle löslichen Faktoren, die aktivierte MM6 Zellen sezernierten, jedoch keine Zellen. (s. Abbildung 23)

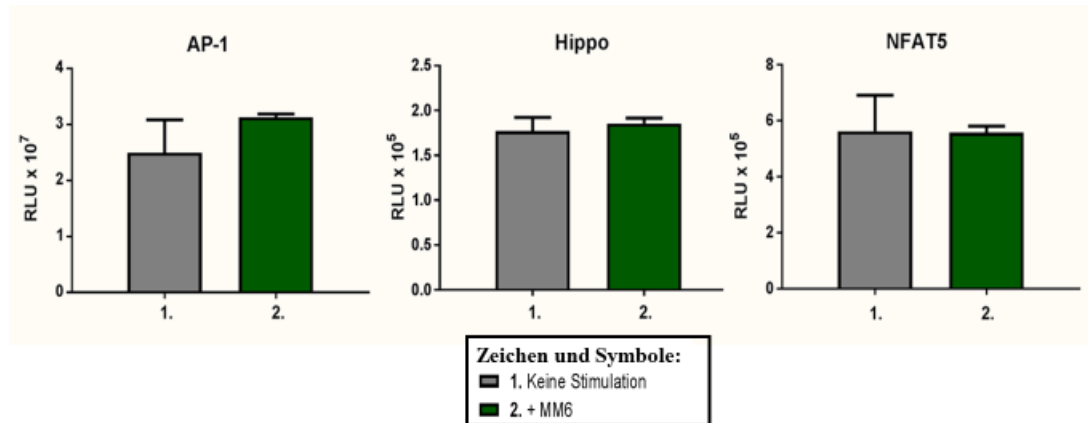
Die von MM6-Zellen sezernierten Faktoren hatten ebenso wie die eigentlichen Zellen keinen Effekt auf die Aktivität des Hippo-Signalwegs.

Die basale Aktivität des AP-1-Signalwegs ließ sich von diesen Faktoren zwar steigern, doch war die beobachtete Aktivitäts-Steigerung nicht signifikant.

Der suppressive Effekt, den die Anwesenheit myeloider Zellen auf die Aktivität von NFAT5 ausübte, entfiel in Abwesenheit der Zellen vollständig.

Von ihnen sezernierte Faktoren scheinen nicht ausreichend dazu in der Lage zu sein, die Aktivität von NFAT5 zu beeinflussen.

Abbildung 23



Stimulation mit MM6-Überstand:

Reporter HEK293-Zellen werden mit dem Überstand myeloider Stammzellen (MM6) über 24h koinkubiert. Die Aktivität wird mittels Gaussia-Luciferase-Messung bestimmt. Pro Versuchsreihe werden Triplets (n = 3) mit jeweils 20.000 unstimulierten (links) und stimulierten Zellen (rechts) verwendet. Die Höhe der Balken gibt die durchschnittliche Aktivität der Gaussia Luciferase in den Proben wider, die Höhe der Fehlerbalken die Standardabweichung. Die Anzahl der Sternchen (*) über den Balken gibt die statistische Signifikanz des Ergebnisses wieder. Hierfür wird der t-Test herangezogen (* p = < 0,05, ** p = < 0,01, *** p = < 0,005, **** p = < 0,001)

4.3.3. Effekt bestimmter Immunzell-Subtypen auf die Aktivität

In Vorangehenden Experimenten haben wir gezeigt, dass es bei IgAN zu einer Veränderung der Expression embryonaler Signalwege, u.a. Hippo, NFAT5 und AP-1 kommt. Außerdem konnten wir zeigen, dass myeloide Zellen die Aktivität von AP-1 und NFAT5 beeinflussen und dass hierfür, zumindest teilweise, direkter Zell-Zell-Kontakt notwendig ist.

In einem nächsten Schritt versuchten wir zu evaluieren, welche Untergruppe myeloider Zellen hierfür führend verantwortlich ist.

Hierfür entnahmen wir Vollblut gesunder Spender, isolierten daraus die PBMCs und differenzierten sie in-vitro zu verschiedenen Subgruppen Dendritischer Zellen und Makrophagen:

„Klassische“ Myeloide DC (cDC) kommen ubiquitär im Körper vor. Sie exprimieren die traditionellen „myeloiden“ Oberflächenproteine (CD11c, CD13, CD33, CD11b). Die Hauptgruppe dieser Zellpopulation und ca. 1% der gesamten Mononukleären Zellen stellen CD11c⁺-cDC dar. Diese interagieren sehr effektiv mit CD4⁺-T-Zellen und sezernieren u.a. TNF- α , IL-1 β , IL-6 und IL-12. Sie können jedoch auch immunmodulatorische Faktoren wie IL-10 produzieren. CD141⁺-cDCs machen etwa 10% der cDCs im Blut aus. Sie finden sich v.a. in lymphatischen und nicht-lymphatischen Geweben, wo sie auf die Antigen-

Präsentation für CD8⁺-T-Zellen spezialisiert sind. Außerdem tragen sie apoptotische Zellen ab und gehen effektiv gegen Viren vor. Alle cDCs werden aus PBMCs mittels IL-4 und GM-CSF differenziert.

Makrophagen werden in M1 und M2-Makrophagen unterteilt. Klassisch-aktivierte inflammatorische M1 produzieren Zytokine und Oxidantien. Sie werden von inflammatorischen Zytokinen (IFN- γ , TNF- α) aktiviert. In unseren Versuchen wurden sie mittels IFN- γ und LPS differenziert. Nicht-klassisch-aktivierte M2 hingegen wirken immunmodulatorisch, sezernieren Wachstumsfaktoren und sind an Wundheilungsvorgängen beteiligt. Sie werden mittels IL-4 differenziert (s. 1.3.2.1.3.). Unpolarisierte MCSF-Makrophagen wurden aus PBMCs unter Zuhilfenahme von GM-CSF gezüchtet.

2⁺MoPh exprimieren sowohl DC- als auch M Φ -Marker. Sie wurden initial bei Patienten mit klarzelligem Nierenzellkarzinom beschrieben und als „ercDC“ (Englisch: „enriched in renal carcinoma DC“) bezeichnet, finden sich jedoch auch in gesunden Nieren unter physiologischen, homöostatischen Bedingungen. Sie exprimieren zwar T-Zell-Aktivierungs-Marker, die von ihnen vermittelte Aktivierung naiver T-Zellen ist jedoch eher ineffektiv (s. 1.3.2.3.). Sie werden mithilfe von RCC-konditioniertem Medium (Englisch: „renal cell carcinoma“) herangezüchtet.

Um den Effekt der jeweiligen myeloiden Subpopulation auf die Aktivität von Hippo, NFAT5 und AP-1 zu untersuchen, wiederholten wir den oben beschriebenen Versuchsaufbau (s. 4.3.1.) und stimulieren die „Reporter“-Konstrukte jeweils abwechselnd mit klassischen DCs (cDC), unpolarisierten M Φ (MCSF), M1- und M2-polarisierten M Φ und 2⁺MoPhs. (s. Abbildung 24)

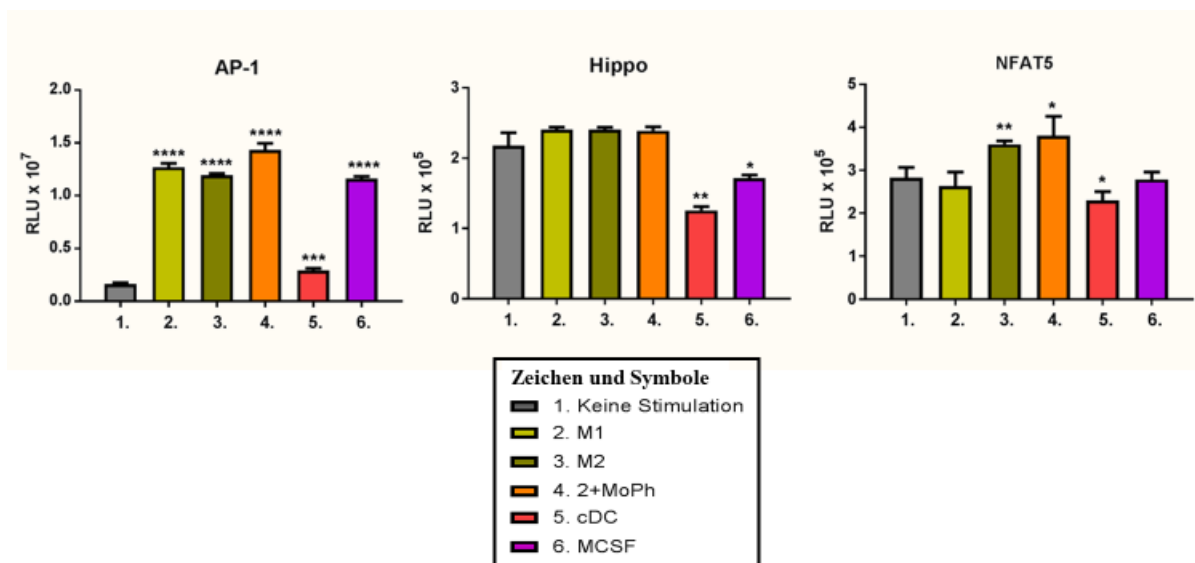
Lediglich AP-1 wurde von allen Immunzell-Subpopulationen stimuliert. Den stärksten Effekt hatten hierbei 2⁺MoPhs, den geringsten cDCs.

Sowohl auf die Aktivität des Hippo-Signalwegs als auch auf die von NFAT5 übten verschiedene Immunzell-Subpopulationen verschiedene Effekte aus.

Die Aktivität des Hippo-Signalwegs ließ sich weder durch M1- noch durch M2-polarisierte Makrophagen beeinflussen. Nierentypische 2⁺MoPhs, cDCs und auch unpolarisierte MCSF konnten die basale Aktivität jedoch signifikant unterdrücken.

M1-polarisierte und unpolarisierte Makrophagen hatten keinen Einfluss auf die Aktivität von NFAT5. M2-polarisierte Makrophagen und 2⁺-MoPhs führten zu einer signifikanten Stimulation und cDCs zu einer signifikanten Inhibition der NFAT5-Aktivität

Abbildung 24



Koinkubation mit verschiedenen Formen myeloider Stammzellen:

Reporter HEK293-Zellen werden mit verschiedenen myeloiden Zellen über 24h koinkubiert. Bei den myeloiden Zellen handelt es sich um M1-Makrophagen (M1), M2-Makrophagen (M2), 2⁺MoPhs, klassische dendritische Zellen (cDC) und undifferenzierte Makrophagen (MCSF). Die Aktivität wird mittels Gaussia-Luciferase-Messung bestimmt. Pro Versuchsreihe werden Triplets (n = 3) mit jeweils 20.000 unstimulierten (links) und stimulierten Zellen (rechts) verwendet. Die Höhe der Balken gibt die durchschnittliche Aktivität der Gaussia Luciferase in den Proben wieder, die Höhe der Fehlerbalken die Standardabweichung. Die Anzahl der Sternchen (*) über den Balken gibt die statistische Signifikanz des Ergebnisses wieder. Hierfür wird der t-Test herangezogen (* p = < 0,05, ** p = < 0,01, *** p = < 0,005, **** p = < 0,001)

4.4. „Crosstalk“ zwischen verschiedenen Signalwegen

Vor allem auf intrazellulärer Ebene wird der menschliche Bioorganismus häufig als ein „Netzwerk“ direkt oder indirekt interagierender Signalwege und Programme beschrieben, deren Aktivität oder Inaktivität die Aktivität anderer umgebender Signalwege beeinflusst.

Eine besonders ausgeprägte Beteiligung an diesen Signal-„Netzwerken“ wird dem Hippo-Signalweg nachgesagt, der häufig als „Major-Regulator“ bezeichnet wird.

Wir vermuteten daher, dass auch die von uns untersuchten Signalwege, Hippo, NFAT5 und AP-1, miteinander interagieren und sich somit in ihrer Aktivität auf irgendeine Weise gegenseitig beeinflussen würden. Um diese Hypothese zu überprüfen entschieden wir uns für ein weiteres Zellkultur-Modell:

Wir verwendeten abermals die „Reporter“-HEK293-Zelllinien für Hippo, AP-1 und NFAT5. In diesen überexprimierten wir die Transkriptionsfaktoren YAP/TAZ (Hippo) und NFAT5.

Diese säten wir wie vorbeschrieben in einer 96-Well-Platte aus (s. 4.3.1.) und werteten die Ergebnisse nach 48h aus. Der in den Konstrukten enthaltene TET-Repressor ermöglichte es hierbei die Überexpression durch Zugabe von Doxycyclin gezielt einzuleiten. (s. Abbildung 25 + 26)

Da wir zum Zeitpunkt der Experimente weder Fos noch Jun-Konstrukte zugänglich hatten, nutzten wir zur Stimulation des AP-1-Signalwegs initial PMA. Nachfolgende Versuche

zeigten jedoch, dass PMA entweder zu einer unspezifischen Aktivierung aller Zell-Signale führte oder aber unspezifische Effekte auf unsere Luciferase-Konstrukte ausübte. In jedem Fall war es für unsere Experimente ungeeignet.

Bevor wir mit unseren Überexpressions-Konstrukten begannen, nutzten wir zur Evaluation der NFAT5-Aktivität zunächst dessen Aktivität als Osmoregulator und stimulierten Hippo und AP-1 mit NaCl (50 mM). Tatsächlich konnten wir in allen untersuchten Signalwegen eine signifikante Steigerung der Signal-Aktivität nachweisen (Ergebnisse nicht gezeigt).

Um zu überprüfen, ob diese Aktivitätssteigerung tatsächlich auf NFAT5 zurückzuführen war, oder ob andere, unspezifische, osmotische Wirkungen dafür verantwortlich waren, verwendeten wir das NFAT5-Überexpressions-Modell.

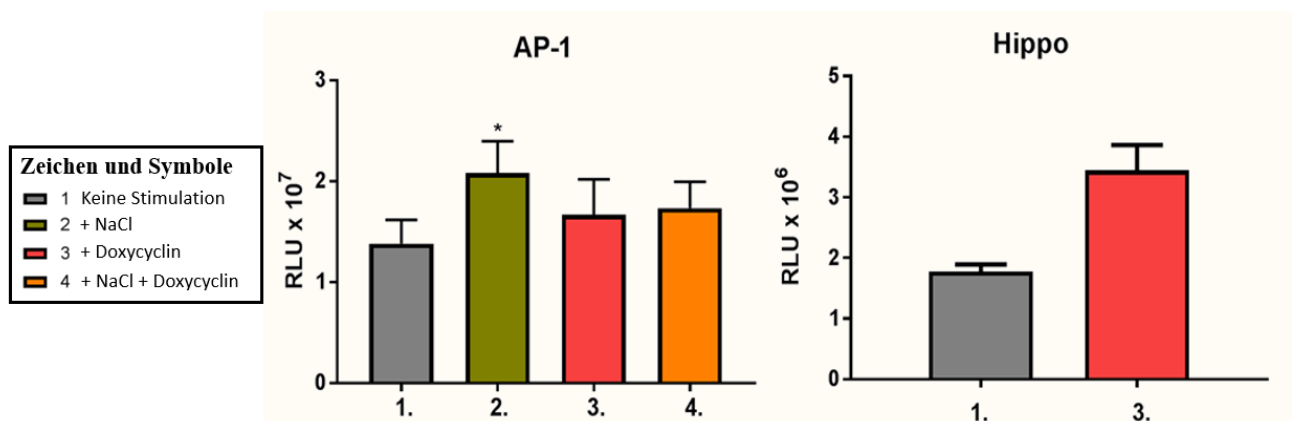
Weder die Aktivität von Hippo noch die von AP-1 zeigten einen Effekt auf die Überexpression von NFAT5.

Auch die Überexpression von YAP/TAZ hatte keinen Effekt auf die Aktivität von AP-1 oder NFAT5. Dies änderte sich auch nicht, als wir das NFAT5-Reporter-Konstrukt zusätzlich mit NaCl stimulierten, um auf diese Weise jene Genkopien zu aktivieren, die zwar exprimiert, jedoch nicht aktiv waren. Inwiefern AP-1 die Aktivität anderer Signalwege beeinflusst, muss in weiteren Experimenten evaluiert werden.

Crosstalk-Experimente (Abbildung 25 + 26)

HEK293-Reporterzellen werden zusätzlich mit Überexpressionskonstrukten (YAP/TAZ, NFAT5) transfiziert. Die Überexpression wird mit Hilfe von Doxycyclin gestartet. Die Aktivität wird mittels Gaussia-Luciferase-Messung bestimmt. Pro Versuchsreihe werden Triplets (n = 3) mit jeweils 10.000 unstimulierten und stimulierten Zellen verwendet. Die Höhe der Balken gibt die durchschnittliche Aktivität der Gaussia Luciferase in den Proben wieder, die Höhe der Fehlerbalken die Standardabweichung. Die Anzahl der Sternchen (*) über den Balken gibt die statistische Signifikanz des Ergebnisses wieder. Hierfür wird der t-Test herangezogen (* p = < 0,05, ** p = < 0,01, *** p = < 0,005, **** p = < 0,001)

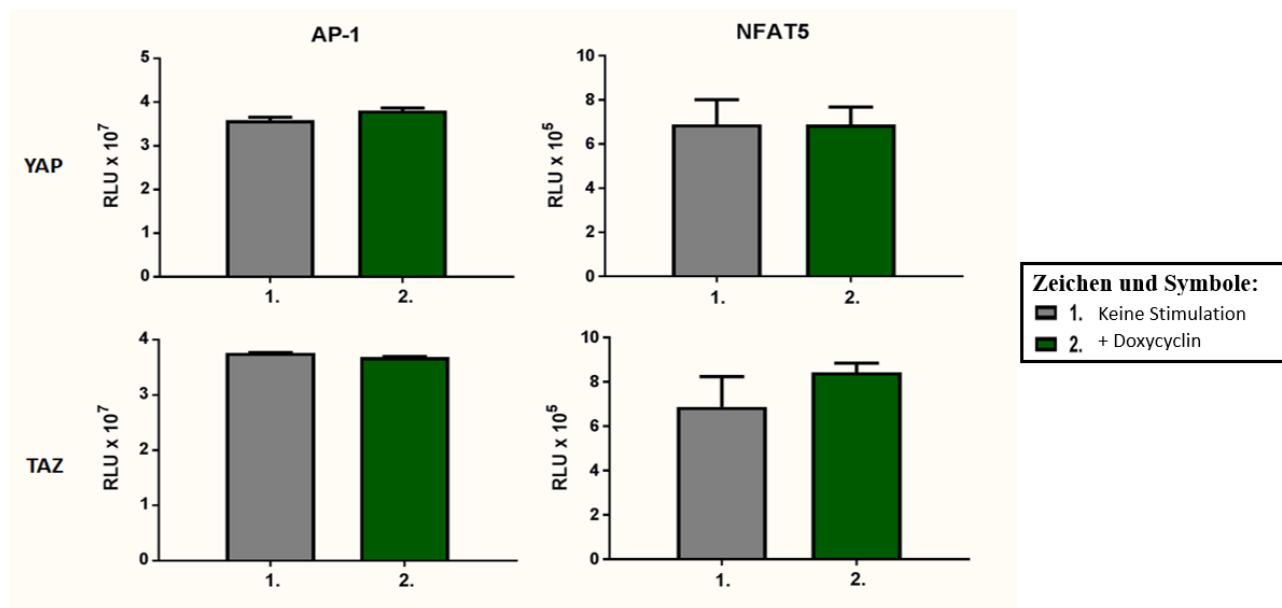
Abbildung 25



NFAT5-Überexpressionskonstrukte:

1. unstimulierte Zellen, 2. Zellen nach Zugabe von NaCl, 3. NFAT5-Überexpression, 4. NFAT5-Überexpression und NaCl

Abbildung 26

**Yap/Taz-Überexpressionskonstrukte:**

1. unstimulierte Zellen, 2. Yap- bzw. Taz-Überexpression

5. Diskussion

5.1. Deregulation von Signalwegen während der Fibrosierung

Unter dem Begriff der Chronisch-Fibrosierenden Nieren-Erkrankungen (Englisch: „chronic kidney disease“ = CKD) wird eine Gruppe langsam aber stetig voranschreitender Erkrankungen bezeichnet, die zum irreversiblen Funktionsverlust der Nieren führen. Für diese Gruppe von Erkrankungen sind verschiedene Auslöser, wie chronische Hypertonie, Diabetes mellitus oder auch entzündliche Erkrankungen der Nieren, Glomerulonephritiden (GN), bekannt (s. 1.2). Die häufigste bekannte GN ist die IgA-Nephritis (IgAN).

Bei dieser vermutlich idiopathischen Form der GN kommt es zur Ablagerung von Immunkomplexen aus fehlerhaft-glykosyliertem IgA1 und Komplementfaktoren (z.B. C3a, C5a, Properdin) im Mesangium der Nieren-Glomeruli (s. 1.2.2.). Diese Ablagerungen setzen dann die Vorgänge der schrittweisen Fibrosierung in Gang.

Diese Vorgänge wiederum unterliegen einem komplexen Zusammenspiel mehrerer Faktoren, die sich vereinfachend folgendermaßen beschreiben lassen: eine Gewebsschädigung führt zur Aktivierung von Epithel- und Mesangial-Zellen. Aktivierte Epithel- und Mesangial-Zellen produzieren Zytokine, die Immunzellen anlocken und Fibroblasten aktivieren. Aktivierte Fibroblasten transdifferenzieren zu Myofibroblasten und produzieren Extrazelluläre Matrix, die nach und nach funktionstüchtiges Gewebe verdrängt (s.1.3.).

Untersucht man die molekularen Prozesse, die der chronischen Fibrosierung zugrunde liegen, genauer, findet man viele intrazelluläre Signalwege, die während der Embryonalentwicklung eine entscheidende Rolle spielen und im Erwachsenen meist inaktiv sind. Zu einer Reaktivierung dieser Signalwege, kommt es beim Erwachsenen v.a. dann, wenn gesteigerte Proliferation und Differenzierung benötigt wird. Zu diesen Vorgängen gehören u.a. die Regeneration von Geweben aus Vorläuferzellen, die Heilung geschädigter Gewebe und die Aktivierung des Immunsystems bei Entzündungsprozessen.

Der entscheidende Unterschied zwischen den oben beschriebenen physiologischen Vorgängen und dem pathologischen Prozess der Fibrosierung besteht v.a. in der Dauer des Aktivierungsvorgangs. Während es bei physiologischen Vorgängen nach Beseitigung der Verletzung oder der Pathogene zu einer Inaktivierung der embryonalen Programme kommt [28], unterbleibt diese bei der Fibrosierung, ähnlich wie bei Tumorerkrankungen beschrieben. Die Signalwege bleiben daueraktiviert.

Unter dieser Annahme stellten wir die Hypothese auf, dass Gen-Produkte, die unter der Kontrolle dieser Signalwege stehen, in den Nierengeweben von CKD-Patienten, in unserem Fall am Beispiel der IgA-Nephritis untersucht, vermehrt oder auch vermindert exprimiert werden. Um diese Hypothese zu testen, untersuchten wir mithilfe der Microarray-Genexpressions-Analysen die Expressions-Profile von IgAN-Patienten und verglichen sie mit denen gesunder Kontrollen. Die Signalwege, die wir in diesem Zusammenhang näher betrachteten, waren der Hippo-Signalweg, sowie die Transkriptionsfaktoren AP-1 und NFAT5.

Der Hippo-Signalweg (s. 1.3.1.1.) wurde ursprünglich während eines Mosaik-Screenings nach Tumorsuppressor-Genen in der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* entdeckt. Sein

Herz bildet eine Reihe hintereinandergeschalteter Tyrosin-Kinasen, die die Expression der Transkriptions-Koaktivatoren YAP und TAZ regulieren. Diese interagieren mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren, v.a. der TEAD-Familie, um die Expression bestimmter Gene zu kontrollieren.

Dieser Signalweg ist maßgeblich an Proliferation und Organwachstum während der Embryogenese beteiligt und kontrolliert Organgröße und -zusammensetzung beim Erwachsenen. Außerdem ist er wichtig für Einleitung und Aufrechterhaltung der Wundheilung.

Entzieht er sich der natürlichen Regulation und bleibt daueraktiv, kommt es im Körper zu einem Prozess, in dessen Folge Wachstum unkontrolliert gefördert, Differenzierung und Zelltod hingegen unterdrückt werden. Je nachdem, in welchem Gewebe, diese Dysregulation auftritt, kann es zur Entstehung verschiedener Tumorerkrankungen oder zur Anhäufung fibrotischen Gewebes und zur progressiven Sklerosierung des betroffenen Organs kommen. Neuere Studien bringen den Hippo-Signalweg nicht nur mit der Entstehung verschiedener Tumoren, sondern auch mit der Genese fibrotischer Nierenerkrankungen [36 – 38] in Zusammenhang.

Unsere Untersuchungen konnten zeigen, dass Genprodukte, die unter dem Einfluss des Hippo-Signalwegs stehen, auch bei Patienten mit IgA-Nephritis signifikant verändert exprimiert werden. Wir folgerten daraus, dass dieser Signalweg auch an der Entstehung von IgA-Nephritis beteiligt ist.

Als wir die veränderten Signalwege genauer untersuchten, fiel darüber hinaus auf, dass sich viele Veränderungen in Proteinen der Extrazellulären Matrix, des Aktin-Zytoskeletts oder in Proteinen fanden, die mit Mechanotransduktion in Verbindung standen.

Darüber hinaus fanden sich viele Veränderungen in Verbindung mit Wundheilung und Gewebshomöostase. In gewisser Weise entsteht Fibrose durch eine Überaktivierung dieser Signale.

Ähnlich wie der Hippo-Signalweg nehmen auch die Mitglieder der AP-1-Familie (s. 1.3.1.2.) eine bedeutende Rolle in physiologischen und pathologischen Wachstumsprozessen ein. Dabei handelt es sich um eine Gruppe verschiedener Protein-Familien, die alle dieselbe DNA-Bindesequenz erkennen. Die bedeutendsten Protein-Familien sind hierbei die Jun- und die Fos-Proteine. Sie binden die DNA als Jun-Jun-Homodimere oder als Jun-Fos-Heterodimere und initiieren so die Transkription wichtiger Gene.

Sie sind essenziell an der Entstehung menschlicher Gewebe während der Embryonalentwicklung beteiligt, darunter auch der Differenzierung myeloider Vorläuferzellen zu Makrophagen [54]. Beim Erwachsenen regulieren sie zahlreiche regenerative und inflammatorische Vorgänge. Hierbei kommt ihnen besonders ihre Fähigkeit zugute, Migration, Proliferation und Differenzierung zu beeinflussen.

Ähnlich wie YAP und TAZ fördern auch Mitglieder der AP-1-Familie, wenn sie daueraktiv sind, die Entstehung zahlreicher Neoplasien. Insbesondere für die Ausbildung von Metastasen [41] sind sie bedeutend.

Zahlreiche Gene, die unter der Kontrolle von AP-1 stehen, sind auch bei IgA-Nephritis-Patienten fehlreguliert.

Der Osmosensitive Transkriptionsfaktor NFAT5 (s. 1.3.1.3.) gehört der Familie der Rel-Like-Transkriptionsfaktoren an, der auch NF κ B und NFAT1-4 angehören. Im Gegensatz zu Hippo und AP-1 wird er nicht primär mit der Entstehung von Neoplasien, sondern vielmehr mit der „Osmoprotektion“ in Verbindung gebracht. Dabei handelt es sich um ein festes Programm, das die Nieren-Epithelzellen vor dem schädlichen Einfluss stark-schwankender Osmolaritäten schützt.

Die menschliche Niere ist osmotischen Schwankungen zwischen 100-2.000 mM ausgesetzt. Salz-Konzentrationen > 150 mosmol/kg würden ohne die Hilfe von NFAT5 zu einem Ausstrom von Wasser, einem Schrumpfen der Zellen und über die Entstehung von Doppelstrang-Brüchen zu einer osmotischen Destruktion der Zellen führen. Diesem Vorgang kann NFAT5 entgegenwirken, indem es zur Synthese von Transportern und Enzymen führt, die es ermöglichen „organische Osmolyte“, also osmotisch-wirksame Substanzen, ins Zellinnere zu schaffen, wo sie der steigenden Osmolarität entgegenwirken. Tubulus- und Mesangiums-Zellen, die kein NFAT5 exprimieren können, sind anfälliger für die schädlichen Einflüsse der Proteinurie [43].

Neben seiner Hauptfunktion als Osmoprotektor erfüllt NFAT5 auch andere wichtige Funktionen im menschlichen Organismus, wie zum Beispiel die Funktion des Immunsystems, v.a. der T-Zellen [74 – 77].

Interessanterweise finden sich bei Patienten mit diabetischer Nephropathie [78] oder bei Urämischen Patienten vor und nach Einleitung der Peritoneal-Dialyse [79] erhöhte NFAT5-Level.

Bei IgA-Nephritis-Patienten finden sich auffällige Veränderungen in der Expression diverser Transporter-Systeme für Elektrolyte (Natrium, Kalium, Chlorid...), Metabolite (Kohlenhydrate, Aminosäuren) und andere Proteine. Hierunter finden sich zahlreiche NFAT5-Targetgene. Interessanterweise sind hierbei v.a. jene, die mit Osmoprotektion in Zusammenhang stehen, erniedrigt, während andere, v.a. jene, die mit Entzündungsreaktionen in Zusammenhang stehen, erhöht sind. Auf diese Weise verlieren die Epithelzellen bei IgA-Nephritis einen wichtigen Schutzfaktor gegenüber der Proteinurie, während gleichzeitig lokale inflammatorische Prozesse zusätzlich gefördert werden.

Ein interessanter Nebenaspekt ergab sich in diesem Zusammenhang, als wir nicht nur die Target-Gene der jeweiligen Signalwege, sondern auch die Hauptmitglieder ihrer jeweiligen Familien mit der Liste unterschiedlich-exprimierter Gene verglichen. Während nämlich verschiedene Mitglieder der AP-1-Familie in erkrankten Geweben vermehrt exprimiert wurden, unterschieden sich die Expressions-Level der Mitglieder der Haupt-Hippo-Signalkaskade, sowie des Transkriptionsfaktors NFAT5 nicht signifikant von denen gesunder Kontrollen.

Da jedoch Gene unter der Kontrolle aller drei Signalwege bei IgA-Patienten signifikant anders exprimiert wurden, folgerten wir daraus, dass die vermehrte oder verminderte Aktivität von Hippo und NFAT5 nicht über Gen-Expressions-Level, sondern über andere Mechanismen vermittelt wird.

Neben der Höhe der Protein-Level gibt es noch weitere Möglichkeiten, die Aktivität bestimmter Transkriptionsfaktoren zu regulieren. Zunächst können die entsprechenden Proteine selbst, mittels posttranslationaler Modifikation, verändert und so aktiviert bzw.

inaktiviert werden. Das wohl am weitesten verbreitete Beispiel hierfür ist die Phosphorylierung bzw. Dephosphorylierung. Der Haupt-Hippo-Signalweg besteht aus einer Reihe hintereinandergeschalteter Kinasen, deren Aktivität maßgeblich von ihrem Phosphorylierungszustand abhängt [32,33]. Auch die Aktivität von NFAT5 wird von Phosphorylierung beeinflusst [43,45]. Die genauen Sequenzen sind allerdings bisher nicht bekannt [42].

Ob ein Transkriptionsfaktor oder ein anderes Molekül aktiv werden kann, hängt außerdem von seiner Position im Gewebe ab. Transkriptionsfaktoren wie NFAT5 oder Fos und Jun oder Transkriptions-Coaktivatoren wie YAP/TAZ können nur aktiv werden, wenn sie die DNA erreichen, die sich im Zellkern befindet. Mitglieder der Hippo-Signaltransduktions-Kaskade müssen an die Zellmembran gebracht werden, um aktiviert zu werden [33].

Häufig wird die Transkription der Targetgene von Interaktionen mit anderen Proteinen maßgeblich beeinflusst. Repressoren hemmen die Transkription, während Koaktivatoren sie fördern. YAP und TAZ können nur in Zusammenarbeit mit Transkriptionsfaktoren aktiv werden [32], NFAT5 [46] und AP-1 [41] nur als Dimer.

Zuletzt muss die DNA-Gen-Sequenz zugänglich sein. Epigenetische Veränderungen tragen dazu bei, dass bestimmte DNA-Sequenzen vermehrt und andere vermindert ausgelesen werden.

Um zu untersuchen, auf welcher dieser zahlreichen Ebenen eine Dysregulation von Hippo oder NFAT5 stattfindet, wäre es sinnvoll weitere Untersuchungen durchzuführen. Diese würden jedoch den Rahmen der Arbeit sprengen. Es wäre sinnvoll sie in weiterführenden Arbeiten zu untersuchen.

5.2. Klonierung und Etablierung einer stabilen Vektor-Plattform

Nachdem wir festgestellt hatten, dass es während des fortschreitenden Prozesses der Fibrosierung zur Fehlregulation bestimmter embryonaler Signalwege kommt und sich unter diesen auch Hippo, AP-1 und NFAT5 befinden, ging es uns in einem weiteren Schritt darum festzustellen, auf welche Weise diese Fehlregulation herbeigeführt wird.

In diesem Zusammenhang vertraten wir v.a. zwei Hypothesen: zum einen vermuteten wir, dass die in den Biopsien identifizierten Infiltrate von Immunzellen die Aktivität der Signalwege beeinflussen, zum anderen, dass die einzelnen Signalwege in einem gewaltigen Netzwerk miteinander kommunizieren.

Um diese beiden Hypothesen zu überprüfen, benötigten wir ein Versuchs-Modell, das es uns ermöglichte, verschiedene Begebenheiten auszutesten. Wir entschieden uns für ein Zellkultur-Modell. Die Zellen transfizierten wir mit selbst-generierten Plasmiden.

Als Modell-Zellen verwendeten wir HEK293-Zellen, die uns aufgrund ihrer Entstehung aus menschlichen embryonalen Nierenzellen besonders geeignet schienen, die Prozesse in menschlichen Nierenzellen widerzuspiegeln.

Diese veränderten wir so, dass sie uns den Aktivitätszustand der zu untersuchenden Signalwege, also von Hippo, AP-1 und NFAT5, wiedergaben. Als messbares Maß hierfür verwendeten wir die Gaußia Luciferase.

Den Effekt der einzelnen Signalwege untereinander untersuchten wir mithilfe eines induzierbaren Überexpressionsmodells. Dazu stellten wir die jeweiligen Signalweg-basierten Überexpressionsmodelle unter den Einfluss des TET-Repressors, einem Enzym, dass in Bakterien die Gene für Tetrazyklin-Resistenz solange unterdrückt, bis Tetrazyklin anwesend ist. So konnten wir den Startzeitpunkt unserer Induktion durch Zugabe des Tetrazyklin-Derivats Doxycyclin genau bestimmen (s. 1.5.3.).

Die Gateway-Klonierungs-Technologie erlaubte die rasche und effektive Konstruktion einer Vektor-Plattform mit den einzelnen Reporter- und Überexpressions-Plasmiden (s. 1.4.). Mithilfe der Sleeping-B Beauty-Konstruktion konnten sie schnell und hocheffektiv in die Zielzellen transfiziert werden (s. 1.5.4.).

Diese Zelllinien ermöglichten es uns, die Bedeutung des intrazellulären „Crosstalk“ verschiedener Signalwege für die Entstehung der genetischen Veränderungen zu untersuchen.

5.3. Myeloide Zellen als treibende Kraft hinter der Fibrosierung

Zunächst widmeten wir uns also der ersten Hypothese, dass Zellen des Immunsystems, genauer myeloide Zellen maßgeblich an den Veränderungen beteiligt sind.

In der Literatur finden sich zahlreiche Verbindungen zwischen diesen und den pathophysiologischen Vorgängen bei der Entstehung von Fibrose (s. 1.2.2.).

Auch unter physiologischen Bedingungen finden sich besonders im Tubulointerstitium der Nieren zahlreiche Immunzellen [53]. Viele dieser Immunzellen lassen sich anhand ihrer Oberflächenmarker dem Mononukleären Phagozytensystem (MoPh) zuordnen. Es handelt sich dabei vornehmlich um Dendritische Zellen (DC) und Makrophagen (MΦ) [53]. Es findet sich jedoch auch eine weitere Subpopulation unter ihnen, die sowohl DC- (CD14) als auch MΦ- (CD209/DC-SIGN) Marker exprimieren [58]. In dieser Arbeit werden sie vereinfachend als 2⁺MoPhs (doppelt-positive, CD209⁺/CD14⁺ MoPhs) bezeichnet.

Alle MoPhs sind in der Lage, sich andere Zellen mittels Endozytose einzuverleiben, in ihrem Innern zu zersetzen und auf diese Weise unschädlich zu machen.

Monozyten (s. 1.3.2.1.2.) stellen die Hauptgruppe der myeloiden Zellen im Blut dar. Sie lassen sich anhand ihrer Oberflächenmarker CD14 und CD16 in drei Untergruppen unterteilen, die ein Kontinuum verschiedener Entwicklungsstadien darstellen: „Klassische“ CD14⁺⁺CD16-Monozyten machen den Hauptteil von 90% aus. Sie erfüllen wichtige Funktionen in Angiogenese, Wundheilung, Koagulation und der Regulation der T-Zell-Aktivität. „Nicht-klassische“ CD14⁺CD16⁺⁺ Monozyten patrouillieren gesunde Gewebe und vermitteln die antivirale Abwehr. Intermediäre Monozyten sind v.a. auf Antigen-Präsentation spezialisiert. In Geweben differenzieren Monozyten meist zu DC und MΦ und spielen daher für diese Arbeit eine eher untergeordnete Rolle.

Makrophagen (s. 1.3.2.1.2.) finden sich vorwiegend in peripheren, nicht-lymphatischen Geweben, wie der Niere. Aufgrund ihrer zahlreichen Lysosomen sind sie besonders gut für Phagozytose geeignet.

Klassisch-aktivierte Inflammatorische M1 werden durch inflammatorische Zytokine aktiviert und tragen ihrerseits durch Sekretion proinflammatorischer Zytokine zum Fortbestehen der Entzündung bei.

Alternativ-aktivierte M2 erfüllen eher immunmodulatorische Funktionen, sezernieren Wachstumsfaktoren und fördern die Wundheilung.

Die dritte Subpopulation der MoPhs stellen DCs (s. 1.3.2.1.4.) dar. Dabei handelt es sich um zirkulierende („migratorische“) oder ortsständige („residente“) Zellen mit dendritischen Ausläufern, die ubiquitär vorkommen.

„Klassische“ Myeloide DC (cDC) exprimieren die klassischen myeloiden Markergene (CD11c, CD13, CD33, CD11b). Sie sind die potentesten Antigen-Präsentierenden Zellen des menschlichen Organismus und damit unerlässlich für die Aktivierung von T-Zellen. Die Hauptgruppe machen hierbei CD1c⁺-cDC aus. Diese interagieren besonders effektiv mit CD4⁺-T-Zellen und sezernieren viele proinflammatorische (z.B. TNF- α , IL-6), aber auch immunmodulatorische (z.B. IL-10) Zytokine. CD141⁺-cDC finden sich vor allem in peripheren Geweben, wie der Niere. Sie interagieren mit CD8⁺-T-Zellen, tragen apoptotische und nekrotische Zellen ab und bilden den Hauptpfeiler der antiviralen Abwehr. Sie sezernieren ebenfalls proinflammatorische Zytokine (z.B. TNF- α), jedoch kein IL-12.

Plasmazytoide DC (pDC) finden sich vor allem im Blut und eher selten in peripheren Geweben, weshalb sie für diese Arbeit eher unbedeutend sind. Sie weisen viele Gemeinsamkeiten mit Plasmazellen, wie T-Zell-Rezeptoren, Immunglobulin-Rearrangements und gesteigerte sekretorische Fähigkeiten, auf. Insgesamt erfüllen sie eher regulatorische Funktionen.

In peripheren Geweben finden sich zusätzlich CD14⁺-DCs. Dabei handelt es sich um eine Unterform der DC mit makrophagen-ähnlichen Eigenschaften, die auch Makrophagen-Marker exprimieren. Hierzu zählen auch die renalen 2⁺MoPhs. Sie erfüllen ebenfalls eher regulatorische Funktionen.

Unter physiologischen Bedingungen erfüllen die Immunzellen vor allem Sentinel-Funktionen, was bedeutet, sie patrouillieren die Nieren auf der Suche nach Eindringlingen und beseitigen abgestorbene Zellen [29,56].

Lösliche Faktoren, wie TGF- β oder IL-10, die von gesunden Epithelzellen oder regulatorischen Immunzellen gebildet werden, halten sie in einem Zustand der „Anergie“ [28,50]. Kommt es durch einen wie auch immer gearteten Auslöser zur Gewebeschädigung, entfallen die modulierenden Einflüsse, die Immunzellen werden aktiviert und verändern ihre Eigenschaften und damit ihren Einfluss auf das umgebende Gewebe. Dieser Prozess wird durch proinflammatorische Faktoren aus den geschädigten Geweben noch verstärkt.

Bei IgA-Nephritis wird diese Gewebeschädigung durch Immunkomplexe aus fehl-glykosyliertem IgA1 und Komplementfaktoren ausgelöst [13,80]. Diese lagern sich im glomerulären Mesangium ab, werden von ortsständigen M Φ phagozytiert, können jedoch nicht zersetzt werden. Die M Φ werden aktiviert und bewirken eine lokale Entzündungsreaktion, die sich langsam, aber stetig über die gesamten Nieren ausbreitet. Weitere Immunzellen werden angelockt.

Der Entzündungsprozess lässt sich insgesamt in zwei Phasen einteilen, eine Akut-Phase, während derer es zu einer raschen, prinzipiell reversiblen Schädigung von Nierengewebe kommt, und einer chronischen Phase, die von einer langsam voranschreitenden, irreversiblen Fibrosierung und damit einhergehend einem vollständigen Verlust der Nierenfunktion begleitet wird.

Die Akutphase der Entzündung wird besonders von Neutrophilen Granulozyten [29] und T-Zellen [25] dominiert. In der chronischen Phase der irreversiblen Fibrosierung jedoch tritt ihre Bedeutung immer weiter in den Hintergrund. Diese Phase wird vor allem von myeloiden Zellen, also DC, M Φ und 2⁺MoPhs dominiert [52].

In diesen Phasen kommt es auch zu einer bleibenden Veränderung intrazellulärer Signalwege. In Tubulusepithelzellen, Mesangiums-Zellen, Immunzellen und Fibrozyten werden Programme aktiviert, die bereits während der Embryonalperiode bedeutende Aufgaben in der Entstehung menschlicher Gewebe, der Migration von Stammzellen zu ihren Zielorganen und der Regulation von Größe und Zusammensetzung der späteren Gewebe spielen. Zu diesen embryonalen Programmen gehören auch Hippo, AP-1 und NFAT5 (s.4.1.).

Bis zu einem gewissen Grad lassen sich diese Veränderungen auch auf die Anwesenheit von Immunzellen zurückführen:

Aus der Literatur geht hervor, dass sowohl AP-1 [81 – 83] als auch NFAT5 [74 – 77] physiologischerweise an zahlreichen Immunreaktionen beteiligt sind. Beide sind wichtig für die Synthese und Sekretion von Zytokinen und Chemokinen, die Stimulation unreifer Immunzellen und die Ausbildung ihrer inflammatorischen Pendanten. AP-1 vermittelt überdies die meisten Funktionen klassischer Monozyten [84]. So ist es auch nicht weiter verwunderlich, dass sich die Aktivität beider Signalwege signifikant durch die Anwesenheit myeloider Stammzellen beeinflussen lässt.

Betrachtet man in diesem Zusammenhang die Diversität der Funktionen verschiedener Immunzell-Subpopulationen, so wird rasch ersichtlich, dass auch der Effekt, den die einzelnen Immunzellformen auf die Aktivität der beobachteten Signalwege haben, divers ist. So tragen zum Beispiel cDC und M1-polarisierte Makrophagen traditionell zur Entstehung von Entzündungsreaktionen bei, während M2-polarisierte Makrophagen und 2⁺-MoPhs eher einen immunmodulatorischen, wachstumsfördernden Effekt ausüben. Diese Rollen können sich jedoch, während die Entzündung fortschreitet, durchaus verändern.

Die Aktivität von AP-1 ließ sich durch die Anwesenheit aller untersuchten myeloiden Immunzellformen signifikant steigern, wobei nierenständige 2⁺MoPhs den stärksten und klassische cDC den schwächsten Effekt ausüben. Dies lässt sich gut mit den vielfältigen Aufgabengebieten von AP-1, sowohl bezüglich Wachstum und Proliferation als auch bezüglich diverser Wundheilungsprozesse in Einklang bringen.

Komplizierter verhält es sich mit NFAT5. Dessen basale Aktivität wurde durch die Anwesenheit myeloider Stammzellen signifikant gehemmt. Dieser Effekt scheint vor allem von gewissermaßen proinflammatorischen cDCs getragen zu werden. Im Gegensatz dazu führten M2-Makrophagen und 2⁺MoPhs, also Zellen mit eher immunmodulatorischer Funktion, zu einer signifikanten Stimulation von NFAT5. M1-M Φ s und unpolarisierte M Φ s hatten keinen signifikanten Effekt. Neben seiner bedeutenden Aufgabe in der Unterstützung

des Immunsystems kommt NFAT5 auch eine bedeutende Rolle im Schutz der Epithelzellen vor schädlichen Einflüssen des renalen Ultrafiltrats zu [43]. Durch Herabregulation von NFAT5 entfällt dieser Schutz und die Epithelzellen werden anfälliger gegenüber äußeren Stressoren.

Die Aktivität des Hippo-Signalwegs ließ sich durch die Anwesenheit myeloider Stammzellen nicht signifikant beeinflussen, ebenso wenig wie durch die Anwesenheit M1- oder M2-polarisierter MΦs. 2⁺MoPhs, cDCs und unpolarierte MCSF hingegen übten einen hemmenden Einfluss auf seine Aktivität aus. Es scheinen also vor allem Zellen mit DC-Eigenschaften zu sein, die die Aktivität von Hippo unterdrücken.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten wie der Effekt, den Immunzellen auf die Aktivität intrazellulärer Signalwege in Epithelzellen haben, vermittelt wird. Manche dieser Möglichkeiten setzen hierbei direkten Zell-Zell-Kontakt voraus. So können Immunzellen zum Beispiel direkt an bestimmte Oberflächenrezeptoren oder gemeinsam mit anderen Faktoren an sogenannte Korezeptoren andocken. Eine andere Möglichkeit, die keinen direkten Zell-Kontakt voraussetzt, ist beispielsweise die Sekretion löslicher Faktoren, wie Zytokine und Chemokine. Chemokine locken andere Immunzellen an den Ort der Entzündung. Zytokine haben unterschiedliche Einflüsse auf die Effektorzellen. Sie können diese anregen zu proliferieren, zu differenzieren oder Bestandteile der extrazellulären Matrix zu synthetisieren.

Für die Beeinflussung der Aktivität von Hippo, NFAT5 oder AP-1 scheint die Sekretion von Zytokinen allein nicht ausreichend zu sein. Stattdessen scheint diese Beeinflussung eine Form von Zell-Zell-Interaktion vorauszusetzen. Ob diese auf direkter Zell-Rezeptor-Interaktion oder auf einer Kostimulation beruht, lässt sich aus den Experimenten nicht herauslesen und sollte näher abgeklärt werden.

5.4. Fehlender „Crosstalk“ zwischen den einzelnen Signalwegen

Der menschliche Bioorganismus wird häufig als ein „Netzwerk“ verschiedener Signalwege und Programme beschrieben, deren Aktivität oder Inaktivität andere Signalwege in ihrer Umgebung beeinflusst. Es kommt zu einem Vorgang den man gemeinhin als Signaltransduktion bezeichnet.

Vereinfachend betrachtet versteht man darunter einen Vorgang, in dem ein externer oder interner Stimulus einen Rezeptor aktiviert, der wiederum einen Signalweg in Gang setzt, der das Signal verstärkt oder eine physiologische Reaktion hervorruft. Der Stimulus kann hierbei ein Molekül, ein Protein, ein Hormon oder eine andere Zelle sein, während sich die physiologische Reaktion häufig in einer Veränderung der Gen-Expression oder Veränderung der intrazellulären Ionenkonzentration niederschlägt [85,86].

Innerhalb dieses Prozesses können Signale auf den verschiedensten Leveln direkt oder indirekt miteinander interagieren.

Von direktem „Crosstalk“ spricht man hierbei, wenn sich beide Signalwege ein oder mehrere Proteine teilen oder ein Signalweg direkt von Enzymen des anderen modifiziert wird [85,86].

Von indirektem „Crosstalk“ spricht man, wenn die Aktivität eines Signalwegs für die Aktivierung des zweiten Signalwegs benötigt wird, ohne dass beide Signalwege direkt kommunizieren. Dies ist zum Beispiel der Fall, wenn der erste Signalweg einen Transkriptionsfaktor aktiviert, der für die Biosynthese, den Abbau oder die Bindesensitivität eines zweiten Hormons oder Liganden benötigt wird [85,86].

Dafür, dass auch Hippo, NFAT5 und AP-1 auf irgendeine Weise direkt oder indirekt miteinander kommunizierten gab es in der Literatur mehrere Hinweise.

Ein Beispiel liefern hierbei die Proteinkinasen der MAP-Familie, v.a. die c-Jun-Protein Kinase JNK. Sie sind an der Aktivierung aller drei Signalwege beteiligt [87].

Insbesondere dem Hippo-Signalweg wird häufig eine Rolle als „Major-Regulator“ in diesem Netzwerk nachgesagt. Einer Studie zufolge finden sich innerhalb des Promoters von YAP-Targetgenen häufig auch AP-1-Bindestellen [88]. Die Interaktion wird hierbei von TEAD vermittelt. Die hierbei betroffenen Targetgene stehen häufig mit Zelladhäsion, Motilität oder Migration in Verbindung.

Auch zwischen Hippo und NFAT5 sind Interaktionen beschrieben. Beispielsweise behindert NFAT5 in hypertonen Geweben die DNA-Binde- und Aktivierungs-Fähigkeit von TAZ [44]. Außerdem agieren sowohl Hippo als auch NFAT5 in seiner Rolle als Osmoregulator häufig über Veränderungen des Zytoskeletts [45].

Weniger eindeutig äußert sich die Literatur bezüglich der Verbindung von NFAT5 und AP-1. Im Gegensatz zu NFAT1-4 besitzt NFAT5 nämlich keine AP-1-Bindestellen [44,89]. Allerdings gibt es in der Literatur durchaus Hinweise auf Interaktionen, zum Beispiel bei der Aktivierung des proinflammatorischen Chemokins MCP-1/CCL2 [90]. Dieses wird in hyperosmolaren Geweben vermehrt exprimiert und seine Expression korreliert mit den dort gemessenen NFAT5-Leveln. Für seine Expression wird zusätzlich die Anwesenheit von NF- κ B benötigt. Diese NF- κ B abhängige Stimulation wiederum benötigt AP-1.

Wider Erwarten ließen sich in unseren Experimenten keinerlei Interaktionen zwischen den untersuchten Signalwegen nachweisen.

Hierfür wären theoretisch mehrfache Erklärungen denkbar. Zum einen ist es möglich, dass es tatsächlich keine Interaktion zwischen den Signalwegen gibt. Andererseits ist es jedoch auch denkbar, dass für die Interaktion weitere Faktoren, beispielsweise in Form von Bindeproteinen notwendig sind, die in unserem Versuchsaufbau nicht vorhanden sind. Oder es ist möglich, dass es keinen „direkten“ Crosstalk gibt, sondern die Signalwege wie oben beschrieben „indirekt“ miteinander kommunizieren, zum Beispiel auf Ebene des Aktin-Zytoskeletts oder von MCP-1/CCL2.

Inwiefern der AP-1 Signalweg weitere Signalwege beeinflusst, konnte in unseren Experimenten nicht überprüft werden.

Interessanterweise ließen sich jedoch durch osmotischen Stress in Form von NaCl sämtliche untersuchten Signalwege stimulieren, auch jene, die nicht auf NFAT5-Aktivität reagierten. Obwohl NFAT5 ein bedeutender Osmoregulator ist, gibt es im menschlichen Körper auch weitere NFAT5-unabhängige Faktoren, die durch osmotischen Stress aktiviert werden. Diese reagieren meist auch auf weitere Arten von Stress, wie Hitze oder UV-

Strahlung. Es ist durchaus möglich, dass diese Signalwege über einen anderen dieser Faktoren unabhängig von NFAT5 aktiviert werden.

5.5. Weitere Mechanismen wichtig für Deregulation der Signalwege

Insgesamt betrachtet kommt es während des Fortschreitens chronisch fibrosierender Erkrankungen also ähnlich wie bei fortschreitenden Tumorerkrankungen auch zu einer persistierenden Deregulation embryonal-bedeutsamer Signaltransduktionswege, darunter auch Hippo, AP-1 und NFAT5. Diese Entwicklung lässt sich teilweise jedoch nicht vollends durch die Anwesenheit vor allem myeloider Immunzellen in den Geweben erklären.

Unabhängig von unseren Experimenten gibt es jedoch Modelle, in denen eine Mitwirkung des Immunsystems durch bestimmte Medikamente nahezu ausgeschlossen wird und es dennoch zu einer fortschreitenden Fibrosierung der Gewebe kommt, wie es beispielsweise während der chronischen Transplantat-Abstoßung der Fall ist [91]. In anderen Modellen wurde die Wirkung immunsuppressiver Therapie auf das Fortschreiten fibrosierender Nierenerkrankungen untersucht. Immunsuppressiva konnten das Fortschreiten der Erkrankungen zwar hinauszögern, jedoch nicht vollständig unterdrücken [92]. Mit dieser Erkenntnis decken sich auch unsere Versuche, die eindeutig belegen, dass zumindest für eine Überaktivierung des Hippo-Signalwegs, die Anwesenheit myeloider Zellen nicht ausreichend ist.

Dieser Weg lässt sich bekanntermaßen in besonderem Maße von den ihn umgebenden Geweben und ihrer Integrität regulieren.

Zum Beispiel müssen die Hippo-Signalweg-Kinasen und ihre Adaptor-Proteine zunächst an die apikale Domäne gelenkt werden, wo sie aktiviert werden [33]. YAP/TAZ hingegen werden dort ins Zytoplasma sequestriert und inaktiviert [34]. Viele der Faktoren, die für diesen Weg verantwortlich sind, befinden sich in Zell-Zell-Kontakt-Komplexen („Tight“-/“Adherens“-Junctions, Desmosomen, Proteinkomplexe der Apikal-Basalen-Polarität) [33] und werden direkt reguliert, wenn die Integrität des Gewebes gestört wird und die entsprechenden Gewebe auseinanderweichen.

Zwei dieser Membran-assoziierten Proteine sind zum Beispiel Mer (Merlin, NF2) und Ex (Expanded). Sie sind Verbinde-Proteine zwischen der apikalen Plasmamembran und dem Aktin-Zytoskelett. Sie rekrutieren die Hippo-Kinasen an die Zelloberfläche und vermitteln die Sequestration von YAP/TAZ [32,33].

Epithelzellen werden durch Zell-Zell-Kontakt-Komplexe in eine apikale und eine basale Domäne unterteilt. Darüber hinaus jedoch richten sie sich so aus, dass Zell-Cluster in einem Epithel-Verband immer in derselben Richtung koordiniert, ausgerichtet und orientiert werden. Diese planare Zell-Ordnung wird als PCP (Englisch: „planar cell polarity“) bezeichnet und von zwei Paaren gesteuert: Frizzled und Flamingo, sowie Fat (Ft) und Dachsous (Ds) [33].

Ft und Ds sind große, atypische Cadherine und wichtige Bestandteile von Adhärens-Verbindungen und Desmosomen, wo sie Zell-Zell-Adhäsionen vermitteln. Außerdem sind sie wichtig für die intrazelluläre Positionierung von Proteinen, z.B. Ex. Sie werden in

Gewebe in entgegengesetzten Gradienten produziert. Hippo wird dabei aktiviert, wenn Nachbarzellen Ft- oder Ds-Level produzieren, die sich stark von den eigenen unterscheiden [33].

Menschliche Zellen erfahren viele Signale von Nachbarzellen, der EZM oder sie umgebenden Flüssigkeiten. Auch Zellform, Geometrie und mechanische Kräfte, die auf Zellen einwirken, können deren Verhalten beeinflussen.

Auch extrazelluläre Signale, wie Thrombin [34], LPA [32] beeinflussen den Hippo-Signalweg, vermutlich über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren [36 – 38] an der Zelloberfläche.

In der Zellkultur beobachtet man eine stärkere Aktivierung des Hippo-Signalwegs in dünn ausgesäten Zellen mit wenigen Zell-Zell-Kontakten oder auf hartem Untergrund [32,37]. Steigende Spannung, wie sie zum Beispiel bei der Narbenbildung in fibrotischem Gewebe entsteht, aktiviert YAP/TAZ.

Viele dieser Signale werden dem Hippo-Signalweg über das Aktin-Zytoskelett und die Mikrotubuli – vermutlich durch Rho-GTPase vermittelt – mitgeteilt [37]. Diese befinden sich größtenteils in der extrazellulären Matrix, die während der Fibrose vermehrt gebildet wird.

Auf diese Weise wird der Hippo-Signalweg durch Gewebedestruktion und die körpereigene Gegenregulation in einem Teufelskreis immer weiter aktiviert.

NFAT5 wiederum fungiert wie bereits mehrfach erwähnt als „Osmoprotektor“. Dies bedeutet einerseits, dass er die Zellen vor zu ausgeprägten osmotischen Schwankungen schützt, andererseits jedoch auch, dass er von Schwankungen der Salz-Konzentration in den Geweben aktiviert wird.

Während fortschreitender Fibrosierung kommt es zu einer progredienten Minderperfusion der geschädigten Nephrone. Um eine ausreichende Perfusion zu gewährleisten aktivieren sie das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS). Dieses wiederum bedingt eine Zunahme der Natrium-Rückresorption und eine Hypertonie [24,25,75]. Die Gewebsflüssigkeit wird zunehmend hyperten und führt so letztlich zu einer weiteren Aktivierung von NFAT5.

Welche Faktoren im Einzelnen für eine weitere Aktivierung von AP-1 verantwortlich sind, gilt es in weiteren Studien zu eruieren.

5.6. Abschluss

In dieser Arbeit wurde ein Blick auf die Pathophysiologischen Vorgänge bei der Entstehung Chronisch-Fibrosierender Nierenerkrankungen am Beispiel der IgA-Nephritis geworfen.

Bei CKD, wie auch bei anderen fibrosierenden Erkrankungen, kommt es im Verlauf zu tiefgreifenden Histologischen Veränderungen in den betroffenen Gebieten. Zusammenfassend führen diese zu einer Zunahme der Extrazellulären Matrix und zu einer Abnahme funktionsfähigen Nierengewebes. Begleitet werden diese Veränderungen von einem ausgeprägten Infiltrat, v.a. mononukleärer Immunzellen.

Mithilfe von vergleichender Microarray-Analysen der Genexpressionsprofile von IgA-Nephritis Patienten und gesunden Lebendnierenspendern gelang es aufzuzeigen, dass diese histologischen Veränderungen auf molekularer Ebene von einer Veränderung der Aktivität bestimmter Signaltransduktionswege begleitet wird.

Hierbei finden sich Veränderungen in der Aktivität embryonaler Signaltransduktionskaskaden, die bei Erwachsenen u.a. wichtige Aufgaben in der Wundheilung erfüllen, wie z.B. nicht-kanonisches Wnt, AP-1 oder Hippo. Betroffen sind jedoch auch Signalwege, denen eine wichtige Schutzfunktion zukommt, wie z.B. NFAT5.

Die hierbei beobachteten Aktivitätsänderungen konnten nur teilweise auf eine Veränderung der Expressionsmenge der Hauptakteure zurückgeführt werden. Zumindest im Hinblick auf Hippo und NFAT5 scheinen hierfür weitere Regulationsmechanismen, z.B. eine Veränderung des Phosphorylierungszustands oder der Lokalisation im Gewebe, verantwortlich zu sein.

Wie es zu diesen molekularen Veränderungen kommt untersuchten wir mithilfe eines Zellkulturmodells. Hierfür kreierten wir ein induzierbares Überexpressions- und Reporter-Plasmid-System mit Gaussia Luciferase als Aktivitätsindikator.

Im Falle von AP-1- und NFAT5-Target-Genen scheinen sich diese molekularen Veränderungen, zumindest bis zu einem gewissen Grad, auf die Anwesenheit myeloider Zellen in den fibrotischen Geweben zurückzuführen zu lassen. Die AP-1-Aktivität im Modell-Parenchymzellen wird von sämtlichen untersuchten Formen myeloider Zellformen (M1, M2, cDC, undifferenzierte M Φ , 2⁺MoPh) stimuliert, am stärksten jedoch von cDC. NFAT5 wird von cDC eher gehemmt, von eher immunmodulatorisch wirksamen Zellen wie M2 und 2⁺MoPhs, hingegen stimuliert. In beiden Fällen ist für die Entfaltung der Wirkung der Immunzellen eine Form direkten Zell-Zell-Kontakt notwendig.

Auf die Aktivität des Hippo-Signalwegs haben myeloide Zellen (MM6) in diesem Kontext keinen erkennbaren Effekt, einzelne Unterformen, wie 2⁺MoPhs, cDC und unpolarisierte M Φ , jedoch üben einen hemmenden Einfluss aus.

Entgegen unserer Vermutungen konnten wir keinen direkten Crosstalk zwischen den Signalwegen nachweisen. NFAT5- und AP-1-Signalwege ließen sich nicht durch YAP/TAZ stimulieren und TEAD und AP-1 ließen sich nicht von NFAT5 beeinflussen.

In weiteren Arbeiten muss noch erforscht werden, welche Regulationsmechanismen im Einzelnen für die Deregulation unserer Signaltransduktionskaskaden verantwortlich sind. Außerdem sollte weiter untersucht werden, welche Rezeptoren für die Interaktion zwischen Immunzellen und AP-1- bzw. NFAT5-Aktivität verantwortlich sind, beziehungsweise, ob für diese Interaktion zusätzlich zu Zell-Zell-Kontakt Zytokine notwendig sind.

Leider konnte der Effekt von AP-1-Signalwegs auf Hippo- und NFAT5-Signalwege mangels entsprechender Überexpressions-Konstrukte nicht untersucht werden. Weitere Arbeiten sollten sich zum Beispiel eines cJun- oder cFos-Überexpressions-Konstrukts auf diese Signalwege widmen.

Unsere Arbeit verdeutlichte ebenfalls, dass es neben den untersuchten Mechanismen (Einfluss des Immunsystems, Crosstalk) noch weitere Mechanismen geben muss, die die molekularen Veränderungen herbeiführen.

6. Anhang

6.1. Liste der differentiell exprimierten Targetgene

Hippo:

EntrezGene_ID	Probe 1-10	Probe 11-20	Probe 21-30
4485	6.045.877	5.909.977	6.238.562
60485	9.599.085	9.599.085	9.459.751
9113	9.471.797	8.971.398	9.512.004
26524	7.919.792	7.919.792	7.919.792
55233	11.126.771	11.072.694	11.061.216
10413	9.469.959	9.685.606	9.162.782
6901	7.557.245	7.676.721	7.557.245
7003	9.096.857	9.096.857	9.096.857
8463	8.212.899	7.977.298	8.283.941
7005	8.471.299	7.951.849	9.092.157
7004	8.181.344	8.324.691	8.244.366
57551	10.078.579	10.078.579	10.113.511
9344	8.894.021	9.061.033	9.169.954
51347	7.945.389	7.951.221	7.945.389
11186	7.026.259	7.061.257	7.026.259
9770	7.569.968	7.511.199	7.264.358
283349	6.785.658	6.785.658	6.785.658
83937	4.831.607	4.831.607	4.831.607
83593	4.831.607	4.831.607	4.831.607
166824	4.594.467	4.594.467	4.514.025
8045	6.986.666	6.986.666	6.986.666
9182	4.661.168	4.166.437	4.166.437
644943	5.036.628	5.036.628	5.036.628
83737	9.379.906	9.379.906	9.355.082
1452	10.746.365	10.746.365	10.746.365
8945	8.505.708	8.505.708	8.505.708
4254	7.676.767	7.805.925	7.476.489
5468	7.059.109	712.385	7.059.109
4771	9.858.741	9.858.741	9.858.741
23286	7.762.586	8.210.732	7.856.754
2195	9.476.471	9.001.011	9.206.776
2196	4.302.138	4.302.138	4.302.138
120114	6.282.114	6.282.114	6.282.114
79633	7.318.644	7.318.644	7.318.644
5058	9.799.374	10.172.306	9.300.328
5062	9.721.437	9.669.752	9.351.365
5063	5.149.053	5.149.053	5.149.053
10298	8.535.621	8.565.378	8.757.356

57144	4.914.424	4.890.612	4.914.424
56924	7.166.044	7.166.044	7.166.044
5880	7.239.892	7.239.892	7.239.892
286204	6.010.501	6.010.501	6.010.501
92359	7.450.117	7.457.798	7.457.798
84869	8.412.643	7.933.626	7.557.993
3996	8.195.254	8.121.469	8.350.436
1740	3.413.898	3.413.898	3.413.898
1741	7.638.693	7.638.693	7.638.693
1742	6.002.805	6.002.805	6.002.805
9231	8.780.777	8.840.553	8.979.851
29119	3.892.217	3.892.217	3.892.217
5784	8.634.218	8.647.582	8.647.582
84962	8.617.697	8.631.609	8.702.028
126374	7.784.563	7.784.563	7.784.563
999	6.228.577	7.918.154	6.228.577
6794	8.597.593	8.597.593	8.597.593
261734	6.697.974	6.749.368	6.773.742
7082	9.812.427	9.965.647	9.812.427
9414	10.122.598	10.316.361	9.888.768
8642	5.973.208	5.973.208	5.973.208
24147	8.639.603	8.639.603	8.586.063
167410	4.325.383	4.325.383	4.325.383
7791	9.452.307	9.737.792	10.191.799
832	11.198.187	11.198.187	11.198.187
27113	7.231.026	7.231.026	7.286.842
63970	4.857.338	4.857.338	4.857.338
898	9.082.705	9.095.306	8.632.655
1729	9.686.715	9.860.312	9.882.045
6927	5.455.326	5.455.326	5.580.006
59343	8.600.439	8.573.633	8.554.148
1459	10.574.741	10.574.741	10.574.741
4092	8.332.522	8.369.142	8.574.237
8928	5.931.278	6.152.909	6.152.909
10207	8.516.966	8.690.043	8.428.246
4040	9.324.604	9.350.502	9.350.502
154796	9.862.894	8.758.304	9.361.911
207	10.086.343	1.014.159	10.235.099
5054	7.363.371	8.463.791	7.427.571
1457	9.203.321	9.203.321	9.009.709
4087	9.450.419	9.450.419	9.450.419
22881	8.539.763	8.370.079	8.496.107
23401	7.415.399	7.415.399	7.457.646

23499	9.189.377	9.189.377	9.189.377
7088	9.365.934	9.373.501	9.686.108
4086	7.652.149	7.445.264	7.339.823
7159	9.427.521	9.427.521	9.427.521
3716	10.403.524	10.502.389	10.479.465
8323	8.996.626	8.996.626	8.996.626
2239	8.881.081	8.881.081	9.027.098
6422	7.909.828	7.672.085	7.909.828
7050	7.249.405	7.249.405	7.249.405
6774	10.822.883	10.856.534	10.810.697
960	10.861.625	11.718.458	10.336.819
1958	9.333.944	9.022.135	9.765.182
2274	8.731.408	9.160.774	8.715.936
2353	7.016.687	7.016.687	7.016.687
3694	4.824.473	5.593.143	4.807.193

Tabelle 45

NFAT5

EntrezGen-ID	Probe 1	Probe 2	Probe 3
6533	7.978.171	7.978.171	7.978.171
6539	5.397.658	5.397.658	5.397.658
367	7.320.674	6.745.935	7.487.752
359	6.173.043	6.173.043	6.173.043
231	10.672.708	10.905.587	10.579.913
9957	5.864.274	5.864.274	5.864.274
5327	8.584.979	8.706.111	8.842.912
54829	2.744.971	2.744.971	2.744.971
1410	3.830.486	3.830.486	3.798.143
3488	6.696.412	6.115.793	7.390.721
3490	8.637.127	8.483.674	8.483.674
5168	6.793.572	6.793.572	6.793.572
6446	6.587.725	6.587.725	6.587.725
1036	7.879.822	8.276.072	7.525.583
54407	11.542.242	11.542.242	11.541.455
3308	10.782.004	10.782.004	10.782.004
4050	7.795.428	7.795.428	7.795.428
7124	4.874.791	4.874.791	4.874.791
3552	4.449.076	5.261.448	4.449.076
3553	3.892.217	3.892.217	3.892.217
3569	4.166.437	4.166.437	4.166.437
3576	5.828.389	6.275.921	5.576.064
3592	5.973.208	5.973.208	5.973.208
3593	5.215.515	5.185.241	5.215.515
3606	2.504.298	2.504.298	2.504.298
23529	6.909.241	6.909.241	6.909.241
6354	4.033.038	4.033.038	4.033.038
6361	6.058.617	6.058.617	6.058.617
6367	5.934.416	5.934.416	5.934.416
1437	3.990.291	3.990.291	3.990.291
1440	7.121.159	7.121.159	7.121.159
2921	5.157.723	5.157.723	5.157.723
3371	8.874.466	8.783.976	9.591.273
7076	11.527.553	11.646.306	11.527.553
2335	12.306.191	12.235.999	1.226.618
1462	9.589.585	9.347.303	9.589.585
894	10.802.145	10.698.551	11.234.129
7298	11.374.058	11.389.774	11.405.224
1263	7.011.134	7.508.932	7.286.842
1647	9.854.543	10.495.384	10.251.667
1164	10.459.759	10.569.019	10.699.074

123879	7.239.892	7.239.892	7.239.892
1026	8.511.051	8.680.653	8.680.653
9212	10.514.636	10.473.185	10.685.775
4843	4.780.993	4.780.993	4.780.993
384	8.223.126	8.413.728	8.306.801
6542	8.229.097	8.229.097	8.229.097
23516	8.374.895	8.374.895	8.374.895
445	9.140.802	9.093.375	9.093.375
3164	7.035.285	7.509.029	7.405.425
1154	6.412.346	6.232.937	6.672.422
4502	10.144.634	9.996.384	9.924.563
2672	6.855.416	6.906.538	6.906.538
2355	7.769.549	8.005.003	8.005.003
23135	7.310.035	7.518.954	7.721.237
6887	5.397.658	5.397.658	5.397.658
54210	5.021.902	5.021.902	5.021.902
342125	4.127.401	4.127.401	4.185.955
23657	7.427.126	7.221.067	6.745.064
5029	6.667.531	6.667.531	6.613.791
5743	7.267.381	6.755.843	6.430.038
4792	8.051.594	8.782.484	8.180.684
6347	7.432.252	7.578.605	7.432.252
22824	10.078.068	9.911.127	9.621.359

Tabelle 46

AP-1:

EntrezGen-ID	Probe 1-10	Probe 11-20	Probe 21-30
3726	8.016.703	8.151.258	8.151.258
3727	8.268.038	8.184.331	8.950.444
2353	7.016.687	7.016.687	7.016.687
2354	6.354.137	6.808.362	6.769.699
8061	7.768.792	7.912.285	7.835.981
2355	7.769.549	8.005.003	8.005.003
466	9.272.604	9.272.604	8.825.638
1386	9.923.559	9.923.559	9.923.559
467	7.592.603	7.951.209	7.951.209
468	8.000.878	8.000.878	8.003.742
22809	7.146.624	7.146.624	7.146.624
22926	10.190.017	10.190.017	10.090.846
10538	5.900.798	5.900.798	6.043.291
56521	8.768.473	8.768.473	8.552.912
122953	6.646.102	6.743.566	6.768.447
4094	7.192.816	6.900.589	6.869.322
389692	6.354.424	6.354.424	6.449.829
9935	7.191.363	7.191.363	7.248.764
23764	6.402.565	6.466.888	6.347.393
4097	8.282.191	8.282.191	8.346.393
7957	7.502.194	7.502.194	7.502.194
5327	8.584.979	8.706.111	8.842.912
7124	4.874.791	4.874.791	4.874.791
5154	7.790.851	7.790.851	7.790.851
5155	6.626.767	6.626.767	6.626.767
7040	10.348.209	10.236.201	9.890.794
4342	5.004.829	4.713.874	4.713.874
3569	4.166.437	4.166.437	4.166.437
4803	6.515.327	6.612.093	6.324.081
1440	7.121.159	7.121.159	7.121.159
4312	4.514.025	5.601.181	4.514.025
4320	6.173.043	6.173.043	6.173.043
3565	3.579.668	3.579.668	3.579.668
890	10.750.279	10.147.883	10.365.183
1032	7.821.933	7.821.933	7.873.377
3091	10.754.125	10.754.125	10.754.125
1019	10.767.098	10.740.172	10.740.172
1021	8.928.148	8.750.766	8.752.592
4221	7.961.456	8.088.131	8.088.131
338339	3.739.615	3.739.615	3.739.615
3597	10.336.492	10.492.666	9.855.111

3558	2.370.411	2.370.411	2.370.411
1493	3.513.213	3.513.213	3.513.213
59067	3.202.382	3.202.382	3.202.382
50616	3.904.098	3.904.098	3.904.098
149233	2.706.517	2.706.517	2.706.517
1490	10.109.787	10.502.553	10.641.891
3164	7.035.285	7.509.029	7.405.425
4929	6.447.489	6.313.725	7.072.243
822	6.551.197	7.192.918	6.899.757
960	10.861.625	11.718.458	10.336.819
1786	9.780.045	9.793.082	9.925.944
5094	11.882.966	11.882.966	11.724.848
6678	10.462.321	10.772.606	10.687.506
6778	7.446.993	8.330.136	7.596.245
1839	8.326.042	9.157.579	8.789.067
4772	7.416.942	7.427.571	7.537.781
7431	12.008.849	12.054.827	12.054.827
10097	12.164.582	12.164.582	12.020.275
10096	11.903.822	11.861.048	11.861.048
5168	6.793.572	6.793.572	6.793.572
1514	9.758.506	9.758.506	9.784.949
1956	7.751.471	7.903.242	7.751.471
7430	11.383.518	11.293.819	11.284.594
23705	9.652.527	9.791.596	9.443.126
10324	3.873.473	3.873.473	3.873.473
3958	7.243.707	7.284.453	7.243.707
4318	5.021.902	5.021.902	5.021.902
6275	6.097.802	6.097.802	6.097.802
5098	8.069.352	8.062.933	8.131.051
5588	7.455.238	7.455.238	7.359.296
11167	10.183.824	9.632.609	9.896.623
7157	10.206.659	10.212.888	10.212.888
356	4.573.173	4.524.644	4.573.173
10018	7.435.927	7.435.927	7.435.927
596	6.681.379	6.563.191	6.681.379
598	7.680.784	7.680.784	7.680.784
983	9.589.976	9.324.189	8.525.115
1437	3.990.291	3.990.291	3.990.291
5434	10.409.234	10.408.211	10.407.541
2252	3.953.411	3.953.411	3.953.411
2277	4.687.132	4.432.692	4.687.132
2932	9.142.939	9.098.527	9.222.521
5599	8.376.489	8.376.489	8.198.801

6688	5.881.402	5.881.402	5.881.402
1649	8.247.998	9.301.852	8.441.171
83737	9.379.906	9.379.906	9.355.082
355	7.972.094	8.687.088	8.074.667
6925	8.342.026	8.525.982	8.342.026
1499	11.982.093	11.935.973	11.806.203
4609	8.363.173	8.363.173	8.363.173
8313	7.245.959	7.245.959	7.245.959
8549	8.431.038	8.542.382	8.796.783
1855	8.328.626	8.328.626	8.328.626

Tabelle 47

6.2. Liste der Funktionalen Cluster:

Blaues Modul:

Gene Group 1		Enrichment Score: 1.47
1	8629	Jrk helix-turn-helix protein(JRK)
2	91151	tigger transposable element derived 7(TIGD7)
3	10473	high mobility group nucleosomal binding domain 4(HMGN4)
4	29942	purine rich element binding protein G(PURG)
5	4213	Meis homeobox 3 pseudogene 1(MEIS3P1)
Gene Group 2		Enrichment Score: 1.46
1	23177	centrosomal protein 68(CEP68)
2	55665	upregulator of cell proliferation(URGCP)
3	152185	spindle and centriole associated protein 1(SPICE1)
4	1039	cerebellar degeneration related protein 2(CDR2)
5	348262	MAPK regulated corepressor interacting protein 1(MCRIP1)
6	9587	MAD2L1 binding protein(MAD2L1BP)
7	29911	hook microtubule tethering protein 2(HOOK2)
8	5116	pericentrin(PCNT)
9	54801	HAUS augmin like complex subunit 6(HAUS6)
10	8629	Jrk helix-turn-helix protein(JRK)
11	112464	protein kinase C delta binding protein(PRKCDBP)
12	27244	sestrin 1(SESN1)
13	9859	centrosomal protein 170(CEP170)
14	55837	E2F associated phosphoprotein(EAPP)
15	257236	coiled-coil domain containing 96(CCDC96)
16	84331	MAPK regulated corepressor interacting protein 2(MCRIP2)
17	9851	KIAA0753(KIAA0753)
18	84140	family with sequence similarity 161 member A(FAM161A)
19	9659	phosphodiesterase 4D interacting protein(PDE4DIP)
20	342538	nascent polypeptide associated complex alpha subunit 2(NACA2)
21	55352	coordinator of PRMT5 and differentiation stimulator(COPRS)
22	283254	harbinger transposase derived 1(HARBI1)
23	8988	heat shock protein family B (small) member 3(HSPB3)
24	375307	ciliogenesis associated TTC17 interacting protein(CATIP)
25	11076	tubulin polymerization promoting protein(TPPP)
26	84984	centrosomal protein 19(CEP19)
27	57718	protein phosphatase 4 regulatory subunit 4(PPP4R4)
28	164592	coiled-coil domain containing 116(CCDC116)
29	170954	protein phosphatase 1 regulatory subunit 18(PPP1R18)

30	201255	leucine rich repeat containing 45(LRRC45)
31	29970	schwannomin interacting protein 1(SCHIP1)
32	126393	heat shock protein family B (small) member 6(HSPB6)
33	100316904	Sin3A associated protein 25(SAP25)
34	79649	MAP7 domain containing 3(MAP7D3)
35	26353	heat shock protein family B (small) member 8(HSPB8)
36	10962	myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia; translocated to, 11(MLLT11)
37	22832	centrosomal protein 162(CEP162)
38	135114	histidine triad nucleotide binding protein 3(HINT3)
39	134728	interleukin 1 receptor associated kinase 1 binding protein 1(IRAK1BP1)
40	9802	DAZ associated protein 2(DAZAP2)
41	29087	thymocyte nuclear protein 1(THYN1)
42	159989	deuterosome assembly protein 1(DEUP1)
43	7798	leucine zipper protein 1(LUZP1)
44	153241	centrosomal protein 120(CEP120)
45	55771	proline rich 11(PRR11)
46	113146	AHNAK nucleoprotein 2(AHNAK2)
47	29070	coiled-coil domain containing 113(CCDC113)
Gene Group 3		Enrichment Score: 1.38
1	4084	MAX dimerization protein 1(MXD1)
2	3228	homeobox C12(HOXC12)
3	147912	SIX homeobox 5(SIX5)
4	219541	mediator complex subunit 19(MED19)
5	8545	CGG triplet repeat binding protein 1(CGGBP1)
6	83595	SRY-box 7(SOX7)
7	8544	pirin(PIR)
8	84164	activating signal cointegrator 1 complex subunit 2(ASCC2)
9	440695	ETS variant 3 like(ETV3L)
10	153222	CREB3 regulatory factor(CREBRF)
11	664701	zinc finger protein 826, pseudogene(ZNF826P)
12	10813	UTP14A small subunit processome component(UTP14A)
13	92129	rippy transcriptional repressor 1(RIPPLY1)
14	9095	T-box 19(TBX19)
15	7004	TEA domain transcription factor 4(TEAD4)
16	3298	heat shock transcription factor 2(HSF2)
17	6619	small nuclear RNA activating complex polypeptide 3(SNAPC3)
18	6617	small nuclear RNA activating complex polypeptide 1(SNAPC1)
19	727857	basic helix-loop-helix family member a9(BHLHA9)
20	55352	coordinator of PRMT5 and differentiation stimulator(COPRS)
21	7469	negative elongation factor complex member A(NELFA)

22	80237	elongation factor for RNA polymerase II 3(ELL3)
23	11166	SRY-box 21(SOX21)
24	64651	cysteine and serine rich nuclear protein 1(CSRNP1)
25	10214	SSX family member 3(SSX3)
26	80034	cysteine and serine rich nuclear protein 3(CSRNP3)
27	84498	family with sequence similarity 120B(FAM120B)
28	23412	COMM domain containing 3(COMMD3)
29	345462	zinc finger protein 879(ZNF879)
30	84969	TOX high mobility group box family member 2(TOX2)
31	6689	Spi-B transcription factor(SPIB)
32	84684	INSM transcriptional repressor 2(INSM2)
33	100316904	Sin3A associated protein 25(SAP25)
34	7069	thyroid hormone responsive(THRSP)
35	342892	zinc finger protein 850(ZNF850)
36	9439	mediator complex subunit 23(MED23)
37	51523	CXXC finger protein 5(CXXC5)
38	2120	ETS variant 6(ETV6)
39	79447	PAXIP1 associated glutamate rich protein 1(PAGR1)
40	55791	ligand dependent nuclear receptor interacting factor 1(LRIF1)
41	2115	ETS variant 1(ETV1)
42	2114	ETS proto-oncogene 2, transcription factor(ETS2)
43	135112	nuclear receptor coactivator 7(NCOA7)
44	55787	taxilin gamma(TXLNG)
45	2301	forkhead box E3(FOXE3)
46	51224	transcription elongation factor B subunit 3B(TCEB3B)
47	55689	YEATS domain containing 2(YEATS2)
48	134728	interleukin 1 receptor associated kinase 1 binding protein 1(IRAK1BP1)
49	9328	general transcription factor IIIC subunit 5(GTF3C5)
50	388567	zinc finger protein 749(ZNF749)
51	389136	vestigial like family member 3(VGLL3)
52	64426	SDS3 homolog, SIN3A corepressor complex component(SUDS3)
53	60436	TGFB induced factor homeobox 2(TGIF2)
54	25855	breast cancer metastasis suppressor 1(BRMS1)
55	3149	high mobility group box 3(HMGB3)
56	56252	YLP motif containing 1(YLPM1)
57	2005	ELK4, ETS transcription factor(ELK4)
58	112869	SAGA complex associated factor 29(SGF29)
59	8463	TEA domain transcription factor 2(TEAD2)
60	3237	homeobox D11(HOXD11)
61	51497	negative elongation factor complex member C/D(NELFCD)
62	170622	COMM domain containing 6(COMMD6)

Gene Group 4		Enrichment Score: 1.34	
1	3448	interferon alpha 14(IFNA14)	
2	3447	interferon alpha 13(IFNA13)	
3	3446	interferon alpha 10(IFNA10)	
4	3444	interferon alpha 7(IFNA7)	
5	3443	interferon alpha 6(IFNA6)	
Gene Group 5		Enrichment Score: 1.21	
1	6775	signal transducer and activator of transcription 4(STAT4)	
2	6773	signal transducer and activator of transcription 2(STAT2)	
3	6778	signal transducer and activator of transcription 6(STAT6)	
4	6776	signal transducer and activator of transcription 5A(STAT5A)	
Gene Group 6		Enrichment Score: 1.2	
1	114026	zinc finger imprinted 3(ZIM3)	
2	55769	zinc finger protein 83(ZNF83)	
3	7637	zinc finger protein 84(ZNF84)	
4	400713	zinc finger protein 880(ZNF880)	
5	57677	ZFP14 zinc finger protein(ZFP14)	
6	90338	zinc finger protein 160(ZNF160)	
7	26152	zinc finger protein 337(ZNF337)	
8	6667	Sp1 transcription factor(SP1)	
9	64919	B-cell CLL/lymphoma 11B(BCL11B)	
10	54796	basonuclin 2(BNC2)	
11	5134	programmed cell death 2(PDCD2)	
12	5324	PLAG1 zinc finger(PLAG1)	
13	8187	zinc finger protein 239(ZNF239)	
14	163087	zinc finger protein 383(ZNF383)	
15	23081	lysine demethylase 4C(KDM4C)	
16	374900	zinc finger protein 568(ZNF568)	
17	84765	zinc finger protein 577(ZNF577)	
18	7789	zinc finger, X-linked, duplicated A(ZXDA)	
19	727857	basic helix-loop-helix family member a9(BHLHA9)	
20	9314	Kruppel like factor 4(KLF4)	
21	144348	zinc finger protein 664(ZNF664)	
22	10838	zinc finger protein 275(ZNF275)	
23	51710	zinc finger protein 44(ZNF44)	
24	59348	zinc finger protein 350(ZNF350)	
25	374879	zinc finger protein 699(ZNF699)	
26	163059	zinc finger protein 433(ZNF433)	
27	221504	zinc finger and BTB domain containing 9(ZBTB9)	
28	345462	zinc finger protein 879(ZNF879)	
29	148156	zinc finger protein 558(ZNF558)	
30	57621	zinc finger and BTB domain containing 2(ZBTB2)	
31	79776	zinc finger homeobox 4(ZFH4)	
32	23429	RING1 and YY1 binding protein(RYBP)	

33	163049	zinc finger protein 791(ZNF791)
34	23619	zinc finger imprinted 2(ZIM2)
35	6619	small nuclear RNA activating complex polypeptide 3(SNAPC3)
36	9668	zinc finger protein 432(ZNF432)
37	23036	zinc finger protein 292(ZNF292)
38	90649	zinc finger protein 486(ZNF486)
39	162655	zinc finger protein 519(ZNF519)
40	7753	zinc finger protein 202(ZNF202)
41	7556	zinc finger protein 10(ZNF10)
42	84146	zinc finger protein 644(ZNF644)
43	7745	zinc finger with KRAB and SCAN domains 8(ZKSCAN8)
44	81851	keratin associated protein 1-1(KRTAP1-1)
45	79750	zinc finger protein 385D(ZNF385D)
46	284306	zinc finger protein 547(ZNF547)
47	221656	lysine demethylase 1B(KDM1B)
48	147929	zinc finger protein 565(ZNF565)
49	10214	SSX family member 3(SSX3)
50	147923	zinc finger protein 420(ZNF420)
51	11166	SRY-box 21(SOX21)
52	51276	zinc finger protein 571(ZNF571)
53	9063	protein inhibitor of activated STAT 2(PIAS2)
54	51274	Kruppel like factor 3(KLF3)
55	80110	zinc finger protein 614(ZNF614)
56	280659	SSX family member 8(SSX8)
57	728361	ovo like zinc finger 3(OVOL3)
58	10009	zinc finger and BTB domain containing 33(ZBTB33)
59	7716	vascular endothelial zinc finger 1(VEZF1)
60	55274	PHD finger protein 10(PHF10)
61	100316904	Sin3A associated protein 25(SAP25)
62	23567	zinc finger protein 346(ZNF346)
63	388567	zinc finger protein 749(ZNF749)
64	134728	interleukin 1 receptor associated kinase 1 binding protein 1(IRAK1BP1)
65	84684	INSM transcriptional repressor 2(INSM2)
66	80095	zinc finger protein 606(ZNF606)
67	25850	zinc finger protein 345(ZNF345)
68	6941	transcription factor 19(TCF19)
69	84295	PHD finger protein 6(PHF6)
70	388558	zinc finger protein 808(ZNF808)
71	342908	zinc finger protein 404(ZNF404)
72	333929	snail family transcriptional repressor 3(SNAI3)
73	7699	zinc finger protein 140(ZNF140)
74	90592	zinc finger protein 700(ZNF700)
75	619279	zinc finger protein 704(ZNF704)

76	57547	zinc finger protein 624(ZNF624)
77	58500	zinc finger protein 250(ZNF250)
78	7694	zinc finger protein 135(ZNF135)
79	7693	zinc finger protein 134(ZNF134)
80	148268	zinc finger protein 570(ZNF570)
81	51621	Kruppel like factor 13(KLF13)
82	79698	zinc finger matrin-type 4(ZMAT4)
83	342892	zinc finger protein 850(ZNF850)
84	53335	B-cell CLL/lymphoma 11A(BCL11A)
85	58491	zinc finger protein 71(ZNF71)
86	6920	transcription elongation factor A3(TCEA3)
87	147687	zinc finger protein 417(ZNF417)
88	126295	zinc finger protein 57(ZNF57)
89	51230	PHD finger protein 20(PHF20)
90	3096	human immunodeficiency virus type I enhancer binding protein 1(HIVEP1)
91	7678	zinc finger protein 124(ZNF124)
92	55422	zinc finger protein 331(ZNF331)
93	344787	zinc finger protein 860(ZNF860)
94	92285	zinc finger protein 585B(ZNF585B)
95	92283	zinc finger protein 461(ZNF461)
96	57711	zinc finger protein 529(ZNF529)
97	84449	zinc finger protein 333(ZNF333)
98	91133	l(3)mbt-like 4 (Drosophila)(L3MBTL4)
99	340385	zinc finger protein 517(ZNF517)
100	10336	polycomb group ring finger 3(PCGF3)
101	5178	paternally expressed 3(PEG3)
102	664701	zinc finger protein 826, pseudogene(ZNF826P)
103	64763	zinc finger protein 574(ZNF574)
104	126070	zinc finger protein 440(ZNF440)
105	284406	ZFP82 zinc finger protein(ZFP82)
106	220992	zinc finger protein 485(ZNF485)
Gene Group 7		Enrichment Score: 1.06
1	727857	basic helix-loop-helix family member a9(BHLHA9)
2	150921	transcription factor 23(TCF23)
3	6939	transcription factor 15 (basic helix-loop-helix)(TCF15)
4	390992	hes family bHLH transcription factor 3(HES3)
5	474	atonal bHLH transcription factor 1(ATO1)
6	4084	MAX dimerization protein 1(MXD1)
7	54937	spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix 2(SOHLH2)
8	7942	transcription factor EB(TFEB)
9	6492	single-minded family bHLH transcription factor 1(SIM1)
10	6925	transcription factor 4(TCF4)

Gene Group 8		Enrichment Score: 1.05
1	94027	chorionic gonadotropin beta subunit 7(CGB7)
2	6013	relaxin 1(RLN1)
3	11172	insulin like 6(INSL6)
4	389383	colipase like 2(CLPSL2)
5	284013	vitelline membrane outer layer 1 homolog(VMO1)
6	6019	relaxin 2(RLN2)
7	10022	insulin like 5(INSL5)
Gene Group 9		Enrichment Score: 1.04
1	8347	histone cluster 1 H2B family member c(HIST1H2BC)
2	8345	histone cluster 1 H2B family member h(HIST1H2BH)
3	3008	histone cluster 1 H1 family member e(HIST1H1E)
4	8343	histone cluster 1 H2B family member f(HIST1H2BF)
5	3006	histone cluster 1 H1 family member c(HIST1H1C)
6	8342	histone cluster 1 H2B family member m(HIST1H2BM)
7	8340	histone cluster 1 H2B family member l(HIST1H2BL)
8	92815	histone cluster 3 H2A(HIST3H2A)
9	94239	H2A histone family member V(H2AFV)
10	3021	H3 histone family member 3B(H3F3B)
11	8356	histone cluster 1 H3 family member j(HIST1H3J)
12	8332	histone cluster 1 H2A family member l(HIST1H2AL)
13	3014	H2A histone family member X(H2AFX)
Gene Group 10		Enrichment Score: 1.03
1	84504	NK6 homeobox 2(NKX6-2)
2	5449	POU class 1 homeobox 1(POU1F1)
3	2016	empty spiracles homeobox 1(EMX1)
4	60436	TGFB induced factor homeobox 2(TGIF2)
5	3237	homeobox D11(HOXD11)
6	6619	small nuclear RNA activating complex polypeptide 3(SNAPC3)
7	5396	paired related homeobox 1(PRRX1)
8	3228	homeobox C12(HOXC12)
9	4213	Meis homeobox 3 pseudogene 1(MEIS3P1)
10	145258	goosecoid homeobox(GSC)
11	3223	homeobox C6(HOXC6)
12	3221	homeobox C4(HOXC4)
13	4488	msh homeobox 2(MSX2)
14	3219	homeobox B9(HOXB9)
15	257	ALX homeobox 3(ALX3)
16	3218	homeobox B8(HOXB8)
17	170302	aristaless related homeobox(ARX)
18	127343	diencephalon/mesencephalon homeobox 1(DMBX1)
19	727857	basic helix-loop-helix family member a9(BHLHA9)
20	80712	ESX homeobox 1(ESX1)
21	644524	NK2 homeobox 4(NKX2-4)

22	3206	homeobox A10(HOXA10)
23	100316904	Sin3A associated protein 25(SAP25)
24	3205	homeobox A9(HOXA9)
25	1745	distal-less homeobox 1(DLX1)
26	3202	homeobox A5(HOXA5)
27	284355	tetrapeptide repeat homeobox 1(TPRX1)
28	147912	SIX homeobox 5(SIX5)
29	5453	POU class 3 homeobox 1(POU3F1)
30	10481	homeobox B13(HOXB13)
Gene Group 11		Enrichment Score: 0.98
1	3662	interferon regulatory factor 4(IRF4)
2	3661	interferon regulatory factor 3(IRF3)
3	3659	interferon regulatory factor 1(IRF1)
4	2115	ETS variant 1(ETV1)
Gene Group 12		Enrichment Score: 0.97
1	85444	leucine rich repeat and coiled-coil centrosomal protein 1(LRRCC1)
2	79187	fibronectin type III and SPRY domain containing 1(FSD1)
3	642273	family with sequence similarity 110 member C(FAM110C)
4	22974	TPX2, microtubule nucleation factor(TPX2)
5	9587	MAD2L1 binding protein(MAD2L1BP)
6	152185	spindle and centriole associated protein 1(SPICE1)
7	113130	cell division cycle associated 5(CDCA5)
8	22832	centrosomal protein 162(CEP162)
9	54801	HAUS augmin like complex subunit 6(HAUS6)
10	10615	sperm associated antigen 5(SPAG5)
11	22897	centrosomal protein 164(CEP164)
12	201255	leucine rich repeat containing 45(LRRC45)
13	201161	centromere protein V(CENPV)
Gene Group 13		Enrichment Score: 0.92
1	4201	male-enhanced antigen 1(MEA1)
2	54558	spermatogenesis associated 6(SPATA6)
3	83893	spermatogenesis associated 16(SPATA16)
4	199720	gametogenetin(GGN)
5	84073	MYCBP associated protein(MYCBPAP)
Gene Group 14		Enrichment Score: 0.9
1	85407	naked cuticle homolog 1(NKD1)
2	828	calcyphosine(CAPS)
3	85021	RALBP1 associated Eps domain containing 1(REPS1)
4	9185	RALBP1 associated Eps domain containing 2(REPS2)
Gene Group 15		Enrichment Score: 0.89
1	85313	peptidylprolyl isomerase like 4(PPI4)
2	653505	peptidylprolyl isomerase A like 4A(PPIAL4A)
3	10465	peptidylprolyl isomerase H(PPIH)

4	5478	peptidylprolyl isomerase A(PPIA)
5	51645	peptidylprolyl isomerase like 1(PPIL1)
Gene Group 16		Enrichment Score: 0.85
1	22832	centrosomal protein 162(CEP162)
2	22897	centrosomal protein 164(CEP164)
3	95681	centrosomal protein 41(CEP41)
4	84140	family with sequence similarity 161 member A(FAM161A)
5	196383	Rab interacting lysosomal protein like 2(RILPL2)
6	8481	OFD1, centriole and centriolar satellite protein(OFD1)
Gene Group 17		Enrichment Score: 0.81
1	8710	serpin family B member 7(SERPINB7)
2	388007	serpin family A member 13, pseudogene(SERPINA13P)
3	5272	serpin family B member 9(SERPINB9)
4	5271	serpin family B member 8(SERPINB8)
Gene Group 18		Enrichment Score: 0.81
1	386674	keratin associated protein 10-6(KRTAP10-6)
2	388697	homerin(HRNR)
3	439915	keratin associated protein 5-5(KRTAP5-5)
4	653240	keratin associated protein 4-11(KRTAP4-11)
5	139189	diacylglycerol kinase kappa(DGKK)
6	285464	cysteine rich PAK1 inhibitor(CRIPAK)
7	85291	keratin associated protein 4-2(KRTAP4-2)
8	729359	perilipin 4(PLIN4)
9	80712	ESX homeobox 1(ESX1)
10	386679	keratin associated protein 10-2(KRTAP10-2)
11	9500	MAGE family member D1(MAGED1)
12	7936	negative elongation factor complex member E(NELFE)
13	84203	thioredoxin domain containing 2(TXNDC2)
Gene Group 19		Enrichment Score: 0.79
1	83851	synaptotagmin 16(SYT16)
2	23208	synaptotagmin 11(SYT11)
3	401135	synaptotagmin 14 pseudogene 1(SYT14P1)
4	54843	synaptotagmin like 2(SYTL2)
5	94122	synaptotagmin like 5(SYTL5)
6	255928	synaptotagmin 14(SYT14)
7	148281	synaptotagmin 6(SYT6)
Gene Group 20		Enrichment Score: 0.78
1	6277	S100 calcium binding protein A6(S100A6)
2	826	calpain small subunit 1(CAPNS1)
3	360132	FK506 binding protein 9 pseudogene 1(FKBP9P1)
4	5816	parvalbumin(PVALB)
5	103910	myosin light chain 12B(MYL12B)
6	6274	S100 calcium binding protein A3(S100A3)
7	7447	visinin like 1(VSNL1)

8	823	calpain 1(CAPN1)
9	84698	calcyphosine 2(CAPS2)
10	1070	centrin 3(CETN3)
11	51440	hippocalcin like 4(HPCAL4)
12	151651	EF-hand domain family member B(EFHB)
13	10016	programmed cell death 6(PDCD6)
14	10590	secretagogin, EF-hand calcium binding protein(SCGN)
15	3936	lymphocyte cytosolic protein 1(LCP1)
16	5475	protein phosphatase with EF-hand domain 1(PPEF1)
17	828	calcyphosine(CAPS)
Gene Group 21		Enrichment Score: 0.78
1	10383	tubulin beta 4B class IVb(TUBB4B)
2	7280	tubulin beta 2A class IIa(TUBB2A)
3	112714	tubulin alpha 3e(TUBA3E)
4	203068	tubulin beta class I(TUBB)
5	347733	tubulin beta 2B class IIb(TUBB2B)
Gene Group 22		Enrichment Score: 0.74
1	340547	V-set and immunoglobulin domain containing 1(VSIG1)
2	100506144	transmembrane protein 35B(TMEM35B)
3	78999	leucine rich repeat and fibronectin type III domain containing 4(LRFN4)
4	5365	plexin B3(PLXNB3)
5	9966	tumor necrosis factor superfamily member 15(TNFSF15)
6	9963	solute carrier family 23 member 1(SLC23A1)
7	9194	solute carrier family 16 member 7(SLC16A7)
8	757	transmembrane protein 50B(TMEM50B)
9	3824	killer cell lectin like receptor D1(KLRD1)
10	23765	interleukin 17 receptor A(IL17RA)
11	753	low density lipoprotein receptor class A domain containing 4(LDLRAD4)
12	10723	solute carrier family 12 member 7(SLC12A7)
13	9956	heparan sulfate-glucosamine 3-sulfotransferase 2(HS3ST2)
14	57508	integrator complex subunit 2(INTS2)
15	747	diacylglycerol lipase alpha(DAGLA)
16	91252	solute carrier family 39 member 13(SLC39A13)
17	130367	sphingosine-1-phosphate phosphatase 2(SGPP2)
18	780776	trans-golgi network vesicle protein 23 homolog A(TVP23A)
19	9172	myomesin 2(MYOM2)
20	84336	transmembrane protein 101(TMEM101)
21	9936	CD302 molecule(CD302)
22	1497	cystinosin, lysosomal cystine transporter(CTNS)
23	23732	ferric chelate reductase 1 like(FRRS1L)
24	26032	sushi domain containing 5(SUSD5)

25	29095	ORMDL sphingolipid biosynthesis regulator 2(ORMDL2)
26	10686	claudin 16(CLDN16)
27	343563	olfactory receptor family 2 subfamily T member 29(OR2T29)
28	256892	olfactory receptor family 51 subfamily F member 1 (gene/pseudogene)(OR51F1)
29	79714	coiled-coil domain containing 51(CCDC51)
30	121130	olfactory receptor family 10 subfamily P member 1(OR10P1)
31	9143	synaptogyrin 3(SYNGR3)
32	9142	transmembrane protein 257(TMEM257)
33	10675	chondroitin sulfate proteoglycan 5(CSPG5)
34	29850	transient receptor potential cation channel subfamily M member 5(TRPM5)
35	83539	carbohydrate sulfotransferase 9(CHST9)
36	79701	2-oxoglutarate and iron dependent oxygenase domain containing 3(OGFOD3)
37	9902	mannose receptor C type 2(MRC2)
38	440955	transmembrane protein 89(TMEM89)
39	1463	neurocan(NCAN)
40	113444	small integral membrane protein 12(SMIM12)
41	3763	potassium voltage-gated channel subfamily J member 6(KCNJ6)
42	79694	mannosidase endo-alpha(MANEA)
43	26002	monooxygenase DBH like 1(MOXD1)
44	9122	solute carrier family 16 member 4(SLC16A4)
45	683	bone marrow stromal cell antigen 1(BST1)
46	79683	zinc finger DHHC-type containing 14(ZDHHC14)
47	682	basigin (Ok blood group)(BSG)
48	374977	maestro heat like repeat family member 7(MROH7)
49	388015	retrotransposon-like 1(RTL1)
50	255324	epithelial mitogen(EPGN)
51	51301	glucosaminyl (N-acetyl) transferase 4, core 2(GCNT4)
52	51299	neuritin 1(NRN1)
53	5277	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class A(PIGA)
54	399512	solute carrier family 25 member 35(SLC25A35)
55	56660	potassium two pore domain channel subfamily K member 12(KCNK12)
56	146395	GSG1 like(GSG1L)
57	117247	solute carrier family 16 member 10(SLC16A10)
58	50515	carbohydrate sulfotransferase 11(CHST11)
59	26737	olfactory receptor family 1 subfamily L member 1(OR1L1)
60	85027	small integral membrane protein 3(SMIM3)

61	8326	frizzled class receptor 9(FZD9)
62	54346	unc-93 homolog A (C. elegans)(UNC93A)
63	9854	C2CD2 like(C2CD2L)
64	221545	chromosome 6 open reading frame 136(C6orf136)
65	51267	C-type lectin domain family 1 member A(CLEC1A)
66	51266	C-type lectin domain family 1 member B(CLEC1B)
67	10610	ST6 N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 2(ST6GALNAC2)
68	9075	claudin 2(CLDN2)
69	54328	G protein-coupled receptor 173(GPR173)
70	6006	Rh blood group CcEe antigens(RHCE)
71	283659	protogenin(PRTG)
72	390271	olfactory receptor family 8 subfamily B member 3(OR8B3)
73	350383	G protein-coupled receptor 142(GPR142)
74	26707	olfactory receptor family 2 subfamily J member 2(OR2J2)
75	1395	corticotropin releasing hormone receptor 2(CRHR2)
76	83464	aph-1 homolog B, gamma-secretase subunit(APH1B)
77	123346	HIG1 hypoxia inducible domain family member 2B(HIGD2B)
78	165530	C-type lectin domain family 4 member F(CLEC4F)
79	134083	olfactory receptor family 2 subfamily Y member 1(OR2Y1)
80	79623	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 14(GALNT14)
81	9058	solute carrier family 13 member 2(SLC13A2)
82	6754	somatostatin receptor 4(SSTR4)
83	22859	adhesion G protein-coupled receptor L1(ADGRL1)
84	26693	olfactory receptor family 2 subfamily V member 1(OR2V1)
85	100132463	claudin 24(CLDN24)
86	6745	signal sequence receptor subunit 1(SSR1)
87	121793	testis expressed 29(TEX29)
88	2907	glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit associated protein 1(GRINA)
89	84976	dispatched RND transporter family member 1(DISP1)
90	2905	glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 2C(GRIN2C)
91	79605	piggyBac transposable element derived 5(PGBD5)
92	5205	ATPase phospholipid transporting 8B1(ATP8B1)
93	7504	X-linked Kx blood group(XK)
94	8269	transmembrane protein 187(TMEM187)
95	219960	olfactory receptor family 10 subfamily Q member 1(OR10Q1)

96	2898	glutamate ionotropic receptor kainate type subunit 2(GRIK2)
97	404037	hyaluronan and proteoglycan link protein 4(HAPLN4)
98	219957	olfactory receptor family 9 subfamily Q member 2(OR9Q2)
99	219956	olfactory receptor family 9 subfamily Q member 1(OR9Q1)
100	2892	glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 3(GRIA3)
101	9028	rhomboid like 1(RHBDL1)
102	2124	ecotropic viral integration site 2B(EVI2B)
103	57348	tweety family member 1(TTYH1)
104	5956	opsin 1 (cone pigments), long-wave-sensitive(OPN1LW)
105	84957	RELT tumor necrosis factor receptor(RELT)
106	51208	claudin 18(CLDN18)
107	84187	transmembrane protein 164(TMEM164)
108	221477	chromosome 6 open reading frame 89(C6orf89)
109	387914	shisa family member 2(SHISA2)
110	60401	ectodysplasin A2 receptor(EDA2R)
111	64232	membrane spanning 4-domains A5(MS4A5)
112	79572	ATPase 13A3(ATP13A3)
113	26648	olfactory receptor family 7 subfamily E member 24(OR7E24)
114	25880	transmembrane protein 186(TMEM186)
115	390199	olfactory receptor family 4 subfamily D member 9(OR4D9)
116	284353	NTPase, KAP family P-loop domain containing 1(NKPD1)
117	80328	UL16 binding protein 2(ULBP2)
118	390195	olfactory receptor family 5 subfamily AN member 1(OR5AN1)
119	64218	semaphorin 4A(SEMA4A)
120	81855	sideroflexin 3(SFXN3)
121	81853	transmembrane protein 14B(TMEM14B)
122	139378	adhesion G protein-coupled receptor G4(ADGRG4)
123	84920	ALG10, alpha-1,2-glucosyltransferase(ALG10)
124	9751	syntaphilin(SNPH)
125	136306	SVOP like(SVOPL)
126	23556	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class N(PIGN)
127	23553	hyaluronoglucosaminidase 4(HYAL4)
128	200728	transmembrane protein 17(TMEM17)
129	2841	G protein-coupled receptor 18(GPR18)
130	84910	transmembrane protein 87B(TMEM87B)
131	80307	fer-1 like family member 4, pseudogene(FER1L4)
132	285093	receptor transporter protein 5 (putative)(RTP5)
133	3604	TNF receptor superfamily member 9(TNFRSF9)

134	25844	Yip1 domain family member 3(YIPF3)
135	94107	transmembrane protein 203(TMEM203)
136	126321	major facilitator superfamily domain containing 12(MFSD12)
137	11270	nurim (nuclear envelope membrane protein)(NRM)
138	283554	G protein-coupled receptor 137C(GPR137C)
139	7433	vasoactive intestinal peptide receptor 1(VIPR1)
140	55754	transmembrane protein 30A(TMEM30A)
141	2823	glycoprotein M6A(GPM6A)
142	255928	synaptotagmin 14(SYT14)
143	390151	olfactory receptor family 8 subfamily H member 2(OR8H2)
144	54972	transmembrane protein 132A(TMEM132A)
145	139341	FUN14 domain containing 1(FUNDC1)
146	219875	olfactory receptor family 4 subfamily D member 5(OR4D5)
147	2813	glycoprotein 2(GP2)
148	136263	serine rich single-pass membrane protein 1(SSMEM1)
149	2804	golgin B1(GOLGB1)
150	3570	interleukin 6 receptor(IL6R)
151	27346	transmembrane protein 97(TMEM97)
152	27345	potassium calcium-activated channel subfamily M regulatory beta subunit 4(KCNMB4)
153	5101	protocadherin 9(PCDH9)
154	81034	solute carrier family 25 member 32(SLC25A32)
155	133957	coiled-coil domain containing 127(CCDC127)
156	3566	interleukin 4 receptor(IL4R)
157	146225	CKLF like MARVEL transmembrane domain containing 2(CMTM2)
158	81796	solute carrier organic anion transporter family member 5A1(SLCO5A1)
159	219855	solute carrier family 37 member 2(SLC37A2)
160	3561	interleukin 2 receptor subunit gamma(IL2RG)
161	51114	zinc finger DHHC-type containing 9(ZDHHC9)
162	9695	ER degradation enhancing alpha-mannosidase like protein 1(EDEM1)
163	10461	MER proto-oncogene, tyrosine kinase(MERTK)
164	11226	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 6(GALNT6)
165	56479	potassium voltage-gated channel subfamily Q member 5(KCNQ5)
166	7379	uropod 2(UPOD2)
167	91749	major facilitator superfamily domain containing 4B(MFSD4B)
168	11211	frizzled class receptor 10(FZD10)

169	23480	Sec61 translocon gamma subunit(SEC61G)
170	8140	solute carrier family 7 member 5(SLC7A5)
171	9671	WSC domain containing 2(WSCD2)
172	25775	chromosome 22 open reading frame 24(C22orf24)
173	284254	dynactin associated protein(DYNAP)
174	7365	UDP glucuronosyltransferase family 2 member B10(UGT2B10)
175	26539	olfactory receptor family 10 subfamily H member 1(OR10H1)
176	26534	olfactory receptor family 10 subfamily G member 2(OR10G2)
177	84826	SFT2 domain containing 3(SFT2D3)
178	7357	UDP-glucose ceramide glucosyltransferase(UGCG)
179	159989	deuterosome assembly protein 1(DEUP1)
180	6588	sarcolipin(SLN)
181	57210	solute carrier family 45 member 4(SLC45A4)
182	388551	carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 16(CEACAM16)
183	5817	poliovirus receptor(PVR)
184	64109	cytokine receptor-like factor 2(CRLF2)
185	25758	KIAA1549 like(KIAA1549L)
186	8884	solute carrier family 5 member 6(SLC5A6)
187	6582	solute carrier family 22 member 2(SLC22A2)
188	339456	transmembrane protein 52(TMEM52)
189	387775	solute carrier family 22 member 10(SLC22A10)
190	51062	atlastin GTPase 1(ATL1)
191	51061	thioredoxin domain containing 11(TXNDC11)
192	64866	CUB domain containing protein 1(CDCP1)
193	285761	discoïdin, CUB and LCCL domain containing 1(DCBLD1)
194	199857	ALG14, UDP-N-acetylglucosaminyltransferase subunit(ALG14)
195	6573	solute carrier family 19 member 1(SLC19A1)
196	130827	transmembrane protein 182(TMEM182)
197	84804	major facilitator superfamily domain containing 9(MFSD9)
198	5801	protein tyrosine phosphatase, receptor type R(PTPRR)
199	26509	myoferlin(MYOF)
200	390067	olfactory receptor family 52 subfamily H member 1(OR52H1)
201	9635	chloride channel accessory 2(CLCA2)
202	390066	olfactory receptor family 52 subfamily D member 1(OR52D1)
203	388531	regulator of G-protein signaling 9 binding protein(RGS9BP)
204	54886	phospholipid phosphatase related 1(PLPPR1)
205	6564	solute carrier family 15 member 1(SLC15A1)

206	427	N-acylsphingosine amidohydrolase 1(ASAH1)
207	5796	protein tyrosine phosphatase, receptor type K(PTPRK)
208	54881	testis expressed 10(TEX10)
209	387758	fin bud initiation factor homolog (zebrafish)(FIBIN)
210	83259	protocadherin 11 Y-linked(PCDH11Y)
211	390058	olfactory receptor family 51 subfamily B member 6(OR51B6)
212	5021	oxytocin receptor(OXTR)
213	390054	olfactory receptor family 52 subfamily A member 5(OR52A5)
214	26494	olfactory receptor family 8 subfamily G member 1 (gene/pseudogene)(OR8G1)
215	55640	feline leukemia virus subgroup C cellular receptor family member 2(FLVCR2)
216	26493	olfactory receptor family 8 subfamily B member 8(OR8B8)
217	10385	butyrophilin subfamily 2 member A2(BTN2A2)
218	23423	transmembrane p24 trafficking protein 3(TMED3)
219	4248	mannosyl (beta-1,4-)-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase(MGAT3)
220	100528032	KLRC4-KLRK1 readthrough(KLRC4-KLRK1)
221	27253	protocadherin 17(PCDH17)
222	100507321	endogenous retrovirus group K13 member 1(ERVK13-1)
223	57165	gap junction protein gamma 2(GJC2)
224	54863	torsin family 4 member A(TOR4A)
225	93210	post-GPI attachment to proteins 3(PGAP3)
226	6538	solute carrier family 6 member 11(SLC6A11)
227	7305	TYRO protein tyrosine kinase binding protein(TYROBP)
228	5768	quiescin sulfhydryl oxidase 1(QSOX1)
229	4232	mesoderm specific transcript(MEST)
230	81696	olfactory receptor family 5 subfamily V member 1(OR5V1)
231	6529	solute carrier family 6 member 1(SLC6A1)
232	57150	small integral membrane protein 8(SMIM8)
233	442184	olfactory receptor family 2 subfamily B member 3(OR2B3)
234	2690	growth hormone receptor(GHR)
235	57146	transmembrane protein 159(TMEM159)
236	255798	single-pass membrane protein with coiled-coil domains 1(SMCO1)
237	147650	sperm acrosome associated 6(SPACA6)
238	4987	opioid related nociceptin receptor 1(OPRL1)
239	6519	solute carrier family 3 member 1(SLC3A1)

240	10351	ATP binding cassette subfamily A member 8(ABCA8)
241	9583	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 4(ENTPD4)
242	120796	olfactory receptor family 56 subfamily A member 1(OR56A1)
243	219738	chromosome 10 open reading frame 35(C10orf35)
244	28755	T-cell receptor alpha constant(TRAC)
245	1143	cholinergic receptor nicotinic beta 4 subunit(CHRNB4)
246	4973	oxidized low density lipoprotein receptor 1(OLR1)
247	8807	interleukin 18 receptor accessory protein(IL18RAP)
248	57127	Rh family B glycoprotein (gene/pseudogene)(RHBG)
249	387700	solute carrier family 16 member 12(SLC16A12)
250	1129	cholinergic receptor muscarinic 2(CHRM2)
251	5731	prostaglandin E receptor 1(PTGER1)
252	1128	cholinergic receptor muscarinic 1(CHRM1)
253	5729	prostaglandin D2 receptor(PTGDR)
254	8794	TNF receptor superfamily member 10c(TNFRSF10C)
255	201305	sphingolipid transporter 3 (putative)(SPNS3)
256	6480	ST6 beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase 1(ST6GAL1)
257	57864	solute carrier family 46 member 2(SLC46A2)
258	83941	TM2 domain containing 1(TM2D1)
259	285659	olfactory receptor family 2 subfamily V member 2(OR2V2)
260	4935	G protein-coupled receptor 143(GPR143)
261	221223	carboxylesterase 5A(CES5A)
262	4162	melanoma cell adhesion molecule(MCAM)
263	343172	olfactory receptor family 2 subfamily T member 8(OR2T8)
264	338567	potassium two pore domain channel subfamily K member 18(KCNK18)
265	81622	unc-93 homolog B1 (C. elegans)(UNC93B1)
266	1084	carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 3(CEACAM3)
267	50937	cell adhesion associated, oncogene regulated(CDON)
268	6448	N-sulfoglucosamine sulfohydrolase(SGSH)
269	79310	olfactory receptor family 5 subfamily H member 2(OR5H2)
270	145270	proline rich membrane anchor 1(PRIMA1)
271	8741	tumor necrosis factor superfamily member 13(TNFSF13)
272	399909	pecanex homolog 3 (Drosophila)(PCNX3)
273	127623	olfactory receptor family 2 subfamily B member 11(OR2B11)
274	154467	coiled-coil domain containing 167(CCDC167)
275	57823	SLAM family member 7(SLAMF7)

276	10268	receptor activity modifying protein 3(RAMP3)
277	80830	apolipoprotein L6(APOL6)
278	79295	olfactory receptor family 5 subfamily H member 6 (gene/pseudogene)(OR5H6)
279	283316	CD163 molecule like 1(CD163L1)
280	3360	5-hydroxytryptamine receptor 4(HTR4)
281	11027	leukocyte immunoglobulin like receptor A2(LILRA2)
282	57047	phospholipid scramblase 2(PLSCR2)
283	27133	potassium voltage-gated channel subfamily H member 5(KCNH5)
284	114569	mal, T-cell differentiation protein 2 (gene/pseudogene)(MAL2)
285	4121	mannosidase alpha class 1A member 1(MAN1A1)
286	4886	neuropeptide Y receptor Y1(NPY1R)
287	128371	olfactory receptor family 6 subfamily K member 6(OR6K6)
288	1816	dopamine receptor D5(DRD5)
289	1815	dopamine receptor D4(DRD4)
290	85414	solute carrier family 45 member 3(SLC45A3)
291	55501	carbohydrate sulfotransferase 12(CHST12)
292	23284	adhesion G protein-coupled receptor L3(ADGRL3)
293	283297	olfactory receptor family 10 subfamily A member 4(OR10A4)
294	11010	GLI pathogenesis related 1(GLIPR1)
295	4107	MAGE family member A8(MAGEA8)
296	63933	mitochondrial calcium uniporter regulator 1(MCUR1)
297	2570	gamma-aminobutyric acid type A receptor rho2 subunit(GABRR2)
298	11006	leukocyte immunoglobulin like receptor B4(LILRB4)
299	8705	beta-1,3-galactosyltransferase 4(B3GALT4)
300	6403	selectin P(SELP)
301	92305	transmembrane protein 129(TMEM129)
302	84634	KISS1 receptor(KISS1R)
303	26339	olfactory receptor family 5 subfamily K member 1(OR5K1)
304	116843	solute carrier family 18 member B1(SLC18B1)
305	7162	trophoblast glycoprotein(TPBG)
306	644538	small integral membrane protein 10(SMIM10)
307	256435	ST6 N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 3(ST6GALNAC3)
308	53947	alpha 1,4-galactosyltransferase(A4GALT)
309	26333	olfactory receptor family 7 subfamily A member 17(OR7A17)
310	2556	gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha3 subunit(GABRA3)

311	7922	solute carrier family 39 member 7(SLC39A7)
312	84620	ST6 beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase 2(ST6GAL2)
313	9452	integral membrane protein 2A(ITM2A)
314	139065	SLIT and NTRK like family member 4(SLITRK4)
315	56996	solute carrier family 12 member 9(SLC12A9)
316	81539	solute carrier family 38 member 1(SLC38A1)
317	80003	pecanex homolog 2 (Drosophila)(PCNX2)
318	10972	transmembrane p24 trafficking protein 10(TMED10)
319	8671	solute carrier family 4 member 4(SLC4A4)
320	1000	cadherin 2(CDH2)
321	10970	cytoskeleton associated protein 4(CKAP4)
322	999	cadherin 1(CDH1)
323	284021	mast cell immunoglobulin like receptor 1(MILR1)
324	2531	3-ketodihydrosphingosine reductase(KDSR)
325	27074	lysosomal associated membrane protein 3(LAMP3)
326	222658	potassium channel tetramerization domain containing 20(KCTD20)
327	4063	lymphocyte antigen 9(LY9)
328	80759	KH homology domain containing 1(KHDC1)
329	2524	fucosyltransferase 2(FUT2)
330	50840	taste 2 receptor member 14(TAS2R14)
331	343066	arylamide deacetylase like 4(AADACL4)
332	50836	taste 2 receptor member 8(TAS2R8)
333	10184	lipoma HMGIC fusion partner-like 2(LHFPL2)
334	51599	lipolysis stimulated lipoprotein receptor(LSR)
335	8643	patched 2(PTCH2)
336	80740	lymphocyte antigen 6 complex, locus G6C(LY6G6C)
337	80739	chromosome 6 open reading frame 25(C6orf25)
338	10941	UDP glucuronosyltransferase family 2 member A1 complex locus(UGT2A1)
339	6339	sodium channel epithelial 1 delta subunit(SCNN1D)
340	79971	wntless Wnt ligand secretion mediator(WLS)
341	339983	N-acetyltransferase 8 like(NAT8L)
342	81502	histocompatibility minor 13(HM13)
343	965	CD58 molecule(CD58)
344	8635	ribonuclease T2(RNASET2)
345	8633	unc-5 netrin receptor C(UNC5C)
346	138255	chromosome 9 open reading frame 135(C9orf135)
347	79962	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C22(DNAJC22)
348	6329	sodium voltage-gated channel alpha subunit 4(SCN4A)
349	57717	protocadherin beta 16(PCDHB16)
350	27036	sialic acid binding Ig like lectin 7(SIGLEC7)
351	958	CD40 molecule(CD40)

352	84561	solute carrier family 12 member 8(SLC12A8)
353	81490	phosphatidylserine synthase 2(PTDSS2)
354	953	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1(ENTPD1)
355	9389	solute carrier family 22 member 14(SLC22A14)
356	125206	solute carrier family 5 member 10(SLC5A10)
357	51573	glycerophosphodiester phosphodiesterase 1(GDE1)
358	10149	adhesion G protein-coupled receptor G2(ADGRG2)
359	654429	leucine rich repeats and transmembrane domains 2(LRTM2)
360	10913	ectodysplasin A receptor(EDAR)
361	653659	transmembrane protein 183B(TMEM183B)
362	125962	olfactory receptor family 7 subfamily G member 1(OR7G1)
363	79173	chromosome 19 open reading frame 57(C19orf57)
364	79939	solute carrier family 35 member E1(SLC35E1)
365	9374	palmitoyl-protein thioesterase 2(PPT2)
366	125958	olfactory receptor family 7 subfamily D member 4(OR7D4)
367	349152	DPY19L2 pseudogene 2(DPY19L2P2)
368	317705	vomer nasal 1 receptor 5 (gene/pseudogene)(VN1R5)
369	81469	olfactory receptor family 2 subfamily G member 3(OR2G3)
370	284723	solute carrier family 25 member 34(SLC25A34)
371	283189	olfactory receptor family 9 subfamily G member 4(OR9G4)
372	56923	neuromedin U receptor 2(NMUR2)
373	928	CD9 molecule(CD9)
374	56144	protocadherin alpha 4(PCDHA4)
375	56143	protocadherin alpha 5(PCDHA5)
376	643664	solute carrier family 35 member G6(SLC35G6)
377	56138	protocadherin alpha 11(PCDHA11)
378	89886	SLAM family member 9(SLAMF9)
379	53836	G protein-coupled receptor 87(GPR87)
380	84513	phospholipid phosphatase 5(PLPP5)
381	3977	leukemia inhibitory factor receptor alpha(LIFR)
382	26219	olfactory receptor family 1 subfamily J member 4(OR1J4)
383	441932	olfactory receptor family 2 subfamily W member 5 (gene/pseudogene)(OR2W5)
384	283160	olfactory receptor family 8 subfamily D member 2 (gene/pseudogene)(OR8D2)
385	53827	FXFD domain containing ion transport regulator 5(FXYD5)

386	56895	1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 4(AGPAT4)
387	152002	xyloside xylosyltransferase 1(XXYLT1)
388	26212	olfactory receptor family 2 subfamily B member 6(OR2B6)
389	56125	protocadherin beta 11(PCDHB11)
390	145864	hyaluronan and proteoglycan link protein 3(HAPLN3)
391	63027	solute carrier family 22 member 23(SLC22A23)
392	56123	protocadherin beta 13(PCDHB13)
393	10100	tetraspanin 2(TSPAN2)
394	171169	sperm acrosome associated 4(SPACA4)
395	441151	transmembrane protein 151B(TMEM151B)
396	345274	solute carrier family 10 member 6(SLC10A6)
397	222553	solute carrier family 35 member F1(SLC35F1)
398	887	cholecystokinin B receptor(CCKBR)
399	886	cholecystokinin A receptor(CCKAR)
400	3953	leptin receptor(LEPR)
401	54575	UDP glucuronosyltransferase family 1 member A10(UGT1A10)
402	56108	protocadherin gamma subfamily A, 7(PCDHGA7)
403	56107	protocadherin gamma subfamily A, 9(PCDHGA9)
404	4717	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit C1(NDUFC1)
405	7784	zona pellucida glycoprotein 3(ZP3)
406	56104	protocadherin gamma subfamily B, 1(PCDHGB1)
407	56097	protocadherin gamma subfamily C, 5(PCDHGC5)
408	402778	interferon induced transmembrane protein 10(IFITM10)
409	339883	chromosome 3 open reading frame 35(C3orf35)
410	219464	olfactory receptor family 5 subfamily T member 2(OR5T2)
411	374395	transmembrane protein 179B(TMEM179B)
412	284656	EPH receptor A10(EPHA10)
413	92126	dermatan sulfate epimerase-like(DSEL)
414	6988	T-cell leukemia translocation altered(TCTA)
415	374378	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 18(GALNT18)
416	9283	G protein-coupled receptor 37 like 1(GPR37L1)
417	201799	transmembrane protein 154(TMEM154)
418	400451	family with sequence similarity 174 member B(FAM174B)
419	219437	olfactory receptor family 5 subfamily L member 1 (gene/pseudogene)(OR5L1)
420	219436	olfactory receptor family 5 subfamily D member 14(OR5D14)
421	3140	major histocompatibility complex, class I-related(MR1)
422	51458	Rh family C glycoprotein(RHCG)

423	127391	transmembrane and coiled-coil domains 2(TMCO2)
424	143496	olfactory receptor family 52 subfamily B member 4 (gene/pseudogene)(OR52B4)
425	55281	transmembrane protein 140(TMEM140)
426	100529209	RNASEK-C17orf49 readthrough(RNASEK-C17orf49)
427	51439	family with sequence similarity 8 member A1(FAM8A1)
428	79050	nucleolar complex associated 4 homolog(NOC4L)
429	144245	ALG10B, alpha-1,2-glucosyltransferase(ALG10B)
430	154215	Na+/K+ transporting ATPase interacting 2(NKAIN2)
431	8482	semaphorin 7A (John Milton Hagen blood group)(SEMA7A)
432	256987	serine incorporator 5(SERINC5)
433	29954	protein O-mannosyltransferase 2(POMT2)
434	150372	NFAT activating protein with ITAM motif 1(NFAM1)
435	390442	olfactory receptor family 11 subfamily H member 4(OR11H4)
436	259285	taste 2 receptor member 39(TAS2R39)
437	100130348	transmembrane protein 262(TMEM262)
438	79799	UDP glucuronosyltransferase family 2 member A3(UGT2A3)
439	154197	PARN like, ribonuclease domain containing 1(PNLDC1)
440	143458	low density lipoprotein receptor class A domain containing 3(LDLRAD3)
441	390431	olfactory receptor family 4 subfamily K member 2(OR4K2)
442	391196	olfactory receptor family 2 subfamily M member 7(OR2M7)
443	59084	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 5 (putative)(ENPP5)
444	391192	olfactory receptor family 2 subfamily L member 3(OR2L3)
445	151888	B and T lymphocyte associated(BTLA)
446	65983	GRAM domain containing 3(GRAMD3)
447	169522	potassium voltage-gated channel modifier subfamily V member 2(KCNV2)
448	57535	KIAA1324(KIAA1324)
449	4608	myosin binding protein H(MYBPH)
Gene Group 23		Enrichment Score: 0.73
1	55304	serine palmitoyltransferase long chain base subunit 3(SPTLC3)
2	211	5'-aminolevulinate synthase 1(ALAS1)
3	9517	serine palmitoyltransferase long chain base subunit 2(SPTLC2)
4	84680	1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase homolog (inactive)(ACCS)

Gene Group 24		Enrichment Score: 0.73
1	57584	Rho GTPase activating protein 21(ARHGAP21)
2	9743	Rho GTPase activating protein 32(ARHGAP32)
3	58504	Rho GTPase activating protein 22(ARHGAP22)
4	10928	ralA binding protein 1(RALBP1)
5	9901	SLIT-ROBO Rho GTPase activating protein 3(SRGAP3)
6	4983	oligophrenin 1(OPHN1)
Gene Group 25		Enrichment Score: 0.72
1	64283	Rho guanine nucleotide exchange factor 28(ARHGEF28)
2	10276	neuroepithelial cell transforming 1(NET1)
3	84904	Rho guanine nucleotide exchange factor 39(ARHGEF39)
4	23101	MCF.2 cell line derived transforming sequence-like 2(MCF2L2)
5	25791	neuronal guanine nucleotide exchange factor(NGEF)
6	9459	Rac/Cdc42 guanine nucleotide exchange factor 6(ARHGEF6)
7	27237	Rho guanine nucleotide exchange factor 16(ARHGEF16)
8	57480	pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G1(PLEKHG1)
9	23370	Rho/Rac guanine nucleotide exchange factor 18(ARHGEF18)
Gene Group 26		Enrichment Score: 0.71
1	26519	translocase of inner mitochondrial membrane 10(TIMM10)
2	26517	translocase of inner mitochondrial membrane 13(TIMM13)
3	1678	translocase of inner mitochondrial membrane 8 homolog A (yeast)(TIMM8A)
4	26521	translocase of inner mitochondrial membrane 8 homolog B(TIMM8B)
Gene Group 27		Enrichment Score: 0.69
1	6387	C-X-C motif chemokine ligand 12(CXCL12)
2	6846	X-C motif chemokine ligand 2(XCL2)
3	9560	C-C motif chemokine ligand 4 like 2(CCL4L2)
4	414062	C-C motif chemokine ligand 3 like 3(CCL3L3)
5	6369	C-C motif chemokine ligand 24(CCL24)
Gene Group 28		Enrichment Score: 0.68
1	9129	pre-mRNA processing factor 3(PRP3)
2	6626	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide A(SNRPA)
3	57819	LSM2 homolog, U6 small nuclear RNA and mRNA degradation associated(LSM2)
4	9716	aquarius intron-binding spliceosomal factor(AQR)
5	6636	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide F(SNRPF)
6	22913	RALY heterogeneous nuclear ribonucleoprotein(RALY)

Gene Group 29		Enrichment Score: 0.67
1	91442	Fanconi anemia core complex associated protein 24(FAAP24)
2	2187	Fanconi anemia complementation group B(FANCB)
3	201254	centromere protein X(CENPX)
4	387103	centromere protein W(CENPW)
5	378708	centromere protein S(CENPS)
Gene Group 30		Enrichment Score: 0.67
1	254394	minichromosome maintenance 9 homologous recombination repair factor(MCM9)
2	85441	helicase with zinc finger 2(HELZ2)
3	4172	minichromosome maintenance complex component 3(MCM3)
4	8438	RAD54-like (<i>S. cerevisiae</i>)(RAD54L)
Gene Group 31		Enrichment Score: 0.65
1	2274	four and a half LIM domains 2(FHL2)
2	22885	actin binding LIM protein family member 3(ABLIM3)
3	401262	cysteine rich protein 3(CRIP3)
4	3985	LIM domain kinase 2(LIMK2)
5	3983	actin binding LIM protein 1(ABLIM1)
6	26136	testin LIM domain protein(TES)
Gene Group 32		Enrichment Score: 0.64
1	7225	transient receptor potential cation channel subfamily C member 6(TRPC6)
2	29850	transient receptor potential cation channel subfamily M member 5(TRPM5)
3	7220	transient receptor potential cation channel subfamily C member 1(TRPC1)
4	8989	transient receptor potential cation channel subfamily A member 1(TRPA1)
Gene Group 33		Enrichment Score: 0.64
1	11174	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 6(ADAMTS6)
2	11173	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 7(ADAMTS7)
3	9719	ADAMTS like 2(ADAMTSL2)
4	9510	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 1(ADAMTS1)
5	11096	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 5(ADAMTS5)
6	11095	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 8(ADAMTS8)
7	170690	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 16(ADAMTS16)

8	11093	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 13(ADAMTS13)
9	51200	carboxypeptidase A4(CPA4)
Gene Group 34		Enrichment Score: 0.63
1	10643	insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 3(IGF2BP3)
2	399664	mex-3 RNA binding family member D(MEX3D)
3	3069	high density lipoprotein binding protein(HDLBP)
4	5093	poly(rC) binding protein 1(PCBP1)
Gene Group 35		Enrichment Score: 0.62
1	10204	nuclear transport factor 2(NUTF2)
2	9961	major vault protein(MVP)
3	23039	exportin 7(XPO7)
4	64901	RAN binding protein 17(RANBP17)
Gene Group 36		Enrichment Score: 0.61
1	1847	dual specificity phosphatase 5(DUSP5)
2	8556	cell division cycle 14A(CDC14A)
3	1849	dual specificity phosphatase 7(DUSP7)
4	51657	serine/threonine/tyrosine interacting like 1(STYXL1)
Gene Group 37		Enrichment Score: 0.6
1	4112	MAGE family member B1(MAGEB1)
2	4111	MAGE family member A12(MAGEA12)
3	4107	MAGE family member A8(MAGEA8)
4	28986	MAGE family member H1(MAGEH1)
Gene Group 38		Enrichment Score: 0.6
1	93099	dermokine(DMKN)
2	51297	BPI fold containing family A member 1(BPIFA1)
3	414196	CELF2 antisense RNA 1(CELF2-AS1)
4	140689	cerebellin 4 precursor(CBLN4)
5	8635	ribonuclease T2(RNASET2)
6	283659	protogenin(PRTG)
7	64109	cytokine receptor-like factor 2(CRLF2)
8	163479	fibronectin type III domain containing 7(FNDC7)
9	340654	lipase family member M(LIPM)
10	643418	lipase family member N(LIPN)
11	64866	CUB domain containing protein 1(CDCP1)
12	84624	fibronectin type III domain containing 1(FNDC1)
13	389383	colipase like 2(CLPSL2)
14	94027	chorionic gonadotropin beta subunit 7(CGB7)
15	10047	cystatin 8(CST8)
16	64856	von Willebrand factor A domain containing 1(VWA1)
17	387758	fin bud initiation factor homolog (zebrafish)(FIBIN)
18	221223	carboxylesterase 5A(CES5A)
19	170680	psoriasis susceptibility 1 candidate 2(PSORS1C2)
20	284013	vitelline membrane outer layer 1 homolog(VMO1)
21	2813	glycoprotein 2(GP2)

22	145501	isthmin 2(ISM2)
23	1379	complement C3b/C4b receptor 1 like(CR1L)
24	27123	dickkopf WNT signaling pathway inhibitor 2(DKK2)
25	10877	complement factor H related 4(CFHR4)
26	387263	chromosome 6 open reading frame 120(C6orf120)
27	162681	chromosome 18 open reading frame 54(C18orf54)
28	128859	BPI fold containing family B member 6(BPIFB6)
29	25966	C2 calcium dependent domain containing 2(C2CD2)
30	390664	C1q and tumor necrosis factor related protein 8(C1QTNF8)
31	131408	family with sequence similarity 131 member A(FAM131A)
32	9235	interleukin 32(IL32)
33	79625	neuron derived neurotrophic factor(NDNF)
34	83989	family with sequence similarity 172 member A(FAM172A)
35	728276	C-type lectin domain family 19 member A(CLEC19A)
36	387695	chromosome 10 open reading frame 99(C10orf99)
Gene Group 39		Enrichment Score: 0.59
1	11091	WD repeat domain 5(WDR5)
2	164781	dynein assembly factor with WD repeats 1(DAW1)
3	1643	damage specific DNA binding protein 2(DDB2)
4	83743	glutamate rich WD repeat containing 1(GRWD1)
5	27339	pre-mRNA processing factor 19(PRPF19)
6	8208	chromatin assembly factor 1 subunit B(CHAF1B)
7	6468	F-box and WD repeat domain containing 4(FBXW4)
8	79269	DDB1 and CUL4 associated factor 10(DCAF10)
9	55626	autophagy and beclin 1 regulator 1(AMBRA1)
10	64743	WD repeat domain 13(WDR13)
11	57175	coronin 1B(CORO1B)
12	134957	syntaxin binding protein 5(STXBP5)
13	54584	G protein subunit beta 1 like(GNB1L)
14	79728	partner and localizer of BRCA2(PALB2)
15	79446	WD repeat domain 25(WDR25)
16	26100	WD repeat domain, phosphoinositide interacting 2(WIPI2)
17	14	angio associated migratory cell protein(AAMP)
18	126820	WD repeat domain 63(WDR63)
19	84942	WD repeat domain 73(WDR73)
20	11152	WD repeat domain 45(WDR45)
21	11151	coronin 1A(CORO1A)
22	54014	bromodomain and WD repeat domain containing 1(BRWD1)
23	79816	transducin like enhancer of split 6(TLE6)
24	26094	DDB1 and CUL4 associated factor 4(DCAF4)

25	728554	THO complex 3 pseudogene(LOC728554)
26	84135	UTP15, small subunit processome component(UTP15)
27	10391	coronin 2B(CORO2B)
28	139170	DDB1 and CUL4 associated factor 12 like 1(DCAF12L1)
29	51514	denticleless E3 ubiquitin protein ligase homolog(DTL)
30	23312	Dmx like 2(DMXL2)
Gene Group 40		Enrichment Score: 0.57
1	5594	mitogen-activated protein kinase 1(MAPK1)
2	5604	mitogen-activated protein kinase kinase 1(MAP2K1)
3	23533	phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 5(PIK3R5)
4	5294	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma(PIK3CG)
Gene Group 41		Enrichment Score: 0.55
1	284656	EPH receptor A10(EPHA10)
2	2044	EPH receptor A5(EPHA5)
3	55359	serine/threonine/tyrosine kinase 1(STYK1)
4	2048	EPH receptor B2(EPHB2)
5	9625	apoptosis associated tyrosine kinase(AATK)
6	10461	MER proto-oncogene, tyrosine kinase(MERTK)
Gene Group 42		Enrichment Score: 0.55
1	6037	ribonuclease A family member 3(RNASE3)
2	6035	ribonuclease A family member 1, pancreatic(RNASE1)
3	1774	deoxyribonuclease 1 like 1(DNASE1L1)
4	8635	ribonuclease T2(RNASET2)
Gene Group 43		Enrichment Score: 0.53
1	1361	carboxypeptidase B2(CPB2)
2	51200	carboxypeptidase A4(CPA4)
3	79841	ATP/GTP binding protein like 2(AGBL2)
4	56265	carboxypeptidase X, M14 family member 1(CPXM1)
Gene Group 44		Enrichment Score: 0.53
1	7006	tec protein tyrosine kinase(TEC)
2	4067	LYN proto-oncogene, Src family tyrosine kinase(LYN)
3	55359	serine/threonine/tyrosine kinase 1(STYK1)
4	3932	LCK proto-oncogene, Src family tyrosine kinase(LCK)
5	7535	zeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70(ZAP70)
Gene Group 45		Enrichment Score: 0.51
1	201255	leucine rich repeat containing 45(LRRC45)
2	115399	leucine rich repeat containing 56(LRRC56)
3	143570	X-ray radiation resistance associated 1(XRRA1)
4	83938	chromosome 10 open reading frame 11(C10orf11)
5	85444	leucine rich repeat and coiled-coil centrosomal protein 1(LRRCC1)
6	23520	acidic nuclear phosphoprotein 32 family member C(ANP32C)

Gene Group 46		Enrichment Score: 0.51
1	6231	ribosomal protein S26(RPS26)
2	6132	ribosomal protein L8(RPL8)
3	2197	FAU, ubiquitin like and ribosomal protein S30 fusion(FAU)
4	3921	ribosomal protein SA(RPSA)
5	6169	ribosomal protein L38(RPL38)
6	6143	ribosomal protein L19(RPL19)
7	6189	ribosomal protein S3A(RPS3A)
8	6235	ribosomal protein S29(RPS29)
9	11224	ribosomal protein L35(RPL35)
Gene Group 47		Enrichment Score: 0.51
1	64284	RAB17, member RAS oncogene family(RAB17)
2	5908	RAP1B, member of RAS oncogene family(RAP1B)
3	28954	RRAD and GEM like GTPase 1(REM1)
4	57381	ras homolog family member J(RHOJ)
5	85004	RAS like estrogen regulated growth inhibitor(RERG)
6	58480	ras homolog family member U(RHOU)
7	401409	RAB19, member RAS oncogene family(RAB19)
8	403	ADP ribosylation factor like GTPase 3(ARL3)
9	339122	RAB43, member RAS oncogene family(RAB43)
10	80117	ADP ribosylation factor like GTPase 14(ARL14)
11	83452	RAB33B, member RAS oncogene family(RAB33B)
12	10633	RAS like family 10 member A(RASL10A)
13	6009	Ras homolog enriched in brain(RHEB)
14	5870	RAB6A, member RAS oncogene family(RAB6A)
Gene Group 48		Enrichment Score: 0.5
1	85015	ubiquitin specific peptidase 45(USP45)
2	84101	ubiquitin specific peptidase 44(USP44)
3	9100	ubiquitin specific peptidase 10(USP10)
4	25862	ubiquitin specific peptidase 49(USP49)
Gene Group 49		Enrichment Score: 0.5
1	219931	two pore segment channel 2(TPCN2)
2	10369	calcium voltage-gated channel auxiliary subunit gamma 2(CACNG2)
3	8912	calcium voltage-gated channel subunit alpha1 H(CACNA1H)
4	93589	calcium voltage-gated channel auxiliary subunit alpha2delta 4(CACNA2D4)
5	169522	potassium voltage-gated channel modifier subfamily V member 2(KCNV2)
Gene Group 50		Enrichment Score: 0.47
1	5603	mitogen-activated protein kinase 13(MAPK13)
2	3985	LIM domain kinase 2(LIMK2)
3	81788	NUAK family kinase 2(NUAK2)

4	9113	large tumor suppressor kinase 1(LATS1)
5	728642	cyclin dependent kinase 11A(CDK11A)
6	369	A-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase(ARAF)
7	55561	CDC42 binding protein kinase gamma(CDC42BPG)
8	139728	pregnancy up-regulated nonubiquitous CaM kinase(PNCK)
9	5681	protein serine kinase H1(PSKH1)
10	1025	cyclin dependent kinase 9(CDK9)
11	7006	tec protein tyrosine kinase(TEC)
12	55359	serine/threonine/tyrosine kinase 1(STYK1)
13	11184	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1(MAP4K1)
14	225689	mitogen-activated protein kinase 15(MAPK15)
15	27231	nicotinamide riboside kinase 2(NMRK2)
16	415116	Pim-3 proto-oncogene, serine/threonine kinase(PIM3)
17	156	G protein-coupled receptor kinase 2(GRK2)
18	22858	intestinal cell kinase(ICK)
19	23235	salt inducible kinase 2(SIK2)
20	814	calcium/calmodulin dependent protein kinase IV(CAMK4)
21	23139	microtubule associated serine/threonine kinase 2(MAST2)
22	64080	ribokinase(RBKS)
23	57144	p21 (RAC1) activated kinase 5(PAK5)
24	51347	TAO kinase 3(TAOK3)
25	23604	death associated protein kinase 2(DAPK2)
26	4217	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5(MAP3K5)
27	4216	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4(MAP3K4)
28	9625	apoptosis associated tyrosine kinase(AATK)
29	1455	casein kinase 1 gamma 2(CSNK1G2)
30	25865	protein kinase D2(PRKD2)
31	23678	serum/glucocorticoid regulated kinase family member 3(SGK3)
32	4296	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 11(MAP3K11)
33	23387	SIK family kinase 3(SIK3)
34	2011	microtubule affinity regulating kinase 2(MARK2)
35	132158	glycerate kinase(GLYCTK)
36	23097	cyclin dependent kinase 19(CDK19)
37	5608	mitogen-activated protein kinase kinase 6(MAP2K6)
Gene Group 51		Enrichment Score: 0.47
1	1462	versican(VCAN)
2	404037	hyaluronan and proteoglycan link protein 4(HAPLN4)
3	7056	thrombomodulin(THBD)

4	145864	hyaluronan and proteoglycan link protein 3(HAPLN3)
5	22795	nidogen 2(NID2)
6	222663	signal peptide, CUB domain and EGF like domain containing 3(SCUBE3)
7	1463	neurocan(NCAN)
Gene Group 52		Enrichment Score: 0.46
1	1583	cytochrome P450 family 11 subfamily A member 1(CYP11A1)
2	1591	cytochrome P450 family 24 subfamily A member 1(CYP24A1)
3	1579	cytochrome P450 family 4 subfamily A member 11(CYP4A11)
4	54905	cytochrome P450 family 2 subfamily W member 1(CYP2W1)
5	1565	cytochrome P450 family 2 subfamily D member 6(CYP2D6)
6	1553	cytochrome P450 family 2 subfamily A member 13(CYP2A13)
7	260293	cytochrome P450 family 4 subfamily X member 1(CYP4X1)
Gene Group 53		Enrichment Score: 0.46
1	79869	cleavage and polyadenylation specific factor 7(CPSF7)
2	6429	serine and arginine rich splicing factor 4(SRSF4)
3	22827	poly(U) binding splicing factor 60(PUF60)
4	85313	peptidylprolyl isomerase like 4(PPI4)
5	22913	RALY heterogeneous nuclear ribonucleoprotein(RALY)
6	9295	serine and arginine rich splicing factor 11(SRSF11)
7	6626	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide A(SNRPA)
8	375316	RNA binding motif protein 44(RBM44)
9	10949	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A0(HNRNPA0)
10	55131	RNA binding motif protein 28(RBM28)
Gene Group 54		Enrichment Score: 0.46
1	3502	immunoglobulin heavy constant gamma 3 (G3m marker)(IGHG3)
2	100423062	immunoglobulin lambda like polypeptide 5(IGLL5)
3	563	alpha-2-glycoprotein 1, zinc-binding(AZGP1)
4	3543	immunoglobulin lambda like polypeptide 1(IGLL1)
Gene Group 55		Enrichment Score: 0.45
1	390928	acid phosphatase 7, tartrate resistant (putative)(ACP7)
2	340075	arylsulfatase family member I(ARSI)
3	416	arylsulfatase F(ARSF)
4	59084	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 5 (putative)(ENPP5)
5	6448	N-sulfoglucosamine sulfohydrolase(SGSH)

Gene Group 56		Enrichment Score: 0.41
1	5657	proteinase 3(PRTN3)
2	11330	chymotrypsin C(CTRC)
3	146547	protease, serine 36(PRSS36)
4	5624	protein C, inactivator of coagulation factors Va and VIIIa(PROC)
5	6768	suppression of tumorigenicity 14(ST14)
6	440387	chymotrypsinogen B2(CTRB2)
7	8492	protease, serine 12(PRSS12)
8	84000	transmembrane protease, serine 13(TMPRSS13)
9	51200	carboxypeptidase A4(CPA4)
Gene Group 57		Enrichment Score: 0.4
1	3673	integrin subunit alpha 2(ITGA2)
2	3694	integrin subunit beta 6(ITGB6)
3	3672	integrin subunit alpha 1(ITGA1)
4	3690	integrin subunit beta 3(ITGB3)
Gene Group 58		Enrichment Score: 0.38
1	3834	kinesin family member 25(KIF25)
2	285643	kinesin family member 4B(KIF4B)
3	3800	kinesin family member 5C(KIF5C)
4	24137	kinesin family member 4A(KIF4A)
5	3797	kinesin family member 3C(KIF3C)
Gene Group 59		Enrichment Score: 0.36
1	90957	DExH-box helicase 57(DHX57)
2	91351	DEAD-box helicase 60-like(DDX60L)
3	8449	DEAH-box helicase 16(DHX16)
4	8438	RAD54-like (<i>S. cerevisiae</i>)(RAD54L)
5	55661	DEAD-box helicase 27(DDX27)
Gene Group 60		Enrichment Score: 0.36
1	51633	OTU domain containing 6B(OTUD6B)
2	139562	OTU deubiquitinase 6A(OTUD6A)
3	220213	OTU deubiquitinase 1(OTUD1)
4	54629	family with sequence similarity 63 member B(FAM63B)
Gene Group 61		Enrichment Score: 0.36
1	29088	mitochondrial ribosomal protein L15(MRPL15)
2	51650	mitochondrial ribosomal protein S33(MRPS33)
3	51373	mitochondrial ribosomal protein S17(MRPS17)
4	55168	mitochondrial ribosomal protein S18A(MRPS18A)
5	51258	mitochondrial ribosomal protein L51(MRPL51)
6	64963	mitochondrial ribosomal protein S11(MRPS11)
7	6150	mitochondrial ribosomal protein L23(MRPL23)
8	9553	mitochondrial ribosomal protein L33(MRPL33)
9	92259	mitochondrial ribosomal protein S36(MRPS36)
10	64979	mitochondrial ribosomal protein L36(MRPL36)

Gene Group 62		Enrichment Score: 0.35
1	1340	cytochrome c oxidase subunit 6B1(COX6B1)
2	4717	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit C1(NDUFC1)
3	4706	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit AB1(NDUFAB1)
4	1351	cytochrome c oxidase subunit 8A(COX8A)
5	9377	cytochrome c oxidase subunit 5A(COX5A)
6	7386	ubiquinol-cytochrome c reductase, Rieske iron-sulfur polypeptide 1(UQCRFS1)
7	4701	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A7(NDUFA7)
8	1355	COX15, cytochrome c oxidase assembly homolog(COX15)
Gene Group 63		Enrichment Score: 0.34
1	23008	kelch domain containing 10(KLHDC10)
2	84541	kelch repeat and BTB domain containing 8(KBTBD8)
3	122773	kelch domain containing 1(KLHDC1)
4	116138	kelch domain containing 3(KLHDC3)
Gene Group 64		Enrichment Score: 0.34
1	7706	tripartite motif containing 25(TRIM25)
2	92305	transmembrane protein 129(TMEM129)
3	10336	polycomb group ring finger 3(PCGF3)
4	127544	ring finger protein 19B(RNF19B)
5	153769	SH3 domain containing ring finger 2(SH3RF2)
6	6048	ring finger protein 5(RNF5)
7	84675	tripartite motif containing 55(TRIM55)
8	51257	membrane associated ring-CH-type finger 2(MARCH2)
9	220972	membrane associated ring-CH-type finger 8(MARCH8)
10	399664	mex-3 RNA binding family member D(MEX3D)
11	55905	ring finger protein 114(RNF114)
12	81847	ring finger protein 146(RNF146)
13	64219	praja ring finger ubiquitin ligase 1(PJA1)
14	55521	tripartite motif containing 36(TRIM36)
15	441061	membrane associated ring-CH-type finger 11(MARCH11)
16	154214	ring finger protein 217(RNF217)
17	51283	bifunctional apoptosis regulator(BFAR)
18	10346	tripartite motif containing 22(TRIM22)
19	10626	tripartite motif containing 16(TRIM16)
20	4281	midline 1(MID1)
21	493829	tripartite motif containing 72(TRIM72)
Gene Group 65		Enrichment Score: 0.32
1	3892	keratin 86(KRT86)
2	3881	keratin 31(KRT31)
3	8687	keratin 38(KRT38)
4	3880	keratin 19(KRT19)
5	3889	keratin 83(KRT83)

6	3885	keratin 34(KRT34)
Gene Group 66		Enrichment Score: 0.15
1	26223	F-box and leucine rich repeat protein 21 (gene/pseudogene)(FBXL21)
2	84125	leucine rich repeats and IQ motif containing 1(LRRIQ1)
3	139065	SLIT and NTRK like family member 4(SLITRK4)
4	4974	oligodendrocyte myelin glycoprotein(OMG)
5	78999	leucine rich repeat and fibronectin type III domain containing 4(LRFN4)
6	376132	leucine rich repeat containing 10(LRRC10)
7	10234	leucine rich repeat containing 17(LRRC17)
8	6050	ribonuclease/angiogenin inhibitor 1(RNH1)
9	143570	X-ray radiation resistance associated 1(XRRA1)
10	55203	leucine rich repeat LGI family member 2(LGI2)
11	23194	F-box and leucine rich repeat protein 7(FBXL7)
12	633	biglycan(BGN)
13	7162	trophoblast glycoprotein(TPBG)
14	60506	nyctalopin(NYX)
15	10541	acidic nuclear phosphoprotein 32 family member B(ANP32B)
16	199713	NLR family pyrin domain containing 7(NLRP7)
17	26235	F-box and leucine rich repeat protein 4(FBXL4)
18	51284	toll like receptor 7(TLR7)
19	55604	capping protein regulator and myosin 1 linker 1(CARMIL1)
20	201255	leucine rich repeat containing 45(LRRC45)
21	654429	leucine rich repeats and transmembrane domains 2(LRTM2)
Gene Group 67		Enrichment Score: 0.12
1	22881	ankyrin repeat domain 6(ANKRD6)
2	51239	ankyrin repeat domain 39(ANKRD39)
3	340441	POTE ankyrin domain family member A(POTEA)
4	140456	ankyrin repeat and SOCS box containing 11(ASB11)
5	55608	ankyrin repeat domain 10(ANKRD10)
6	57513	CASK interacting protein 2(CASKIN2)
7	92565	fibronectin type III and ankyrin repeat domains 1(FANK1)
8	284615	ankyrin repeat domain 34A(ANKRD34A)
9	150709	ankyrin and armadillo repeat containing(ANKAR)
10	25841	ankyrin repeat and BTB domain containing 2(ABTB2)
11	25998	inhibitor of Bruton tyrosine kinase(IBTK)
12	56311	ankyrin repeat domain 7(ANKRD7)
13	257629	ankyrin repeat and sterile alpha motif domain containing 4B(ANKS4B)

Gene Group 68		Enrichment Score: 0.08
1	439996	interferon induced protein with tetratricopeptide repeats 1B(IFIT1B)
2	158219	tetratricopeptide repeat domain 39B(TTC39B)
3	80018	N(alpha)-acetyltransferase 25, NatB auxiliary subunit(NAA25)
4	54970	tetratricopeptide repeat domain 12(TTC12)
5	199223	tetratricopeptide repeat domain 21A(TTC21A)
6	146862	unc-45 myosin chaperone B(UNC45B)
7	23508	tetratricopeptide repeat domain 9(TTC9)
8	63943	FK506 binding protein like(FKBPL)
Gene Group 69		Enrichment Score: 0.01
1	6983	T cell receptor gamma variable 9(TRGV9)
2	28904	immunoglobulin kappa variable 1D-8(IGKV1D-8)
3	1084	carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 3(CEACAM3)
4	28666	T cell receptor alpha variable 17(TRAV17)
5	28655	T cell receptor alpha variable 27(TRAV27)

Tabelle 48

Grünes Modul:

Gene Group 1		Enrichment Score: 5.83
1	79441	HAUS augmin like complex subunit 3(HAUS3)
2	57405	SPC25, NDC80 kinetochore complex component(SPC25)
3	80817	centrosomal protein 44(CEP44)
4	23063	WAPL cohesin release factor(WAPL)
5	9055	protein regulator of cytokinesis 1(PRC1)
6	25936	NSL1, MIS12 kinetochore complex component(NSL1)
7	4085	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast)(MAD2L1)
8	79892	minichromosome maintenance complex binding protein(MCMBP)
9	84445	leucine zipper tumor suppressor 2(LZTS2)
10	11258	dynactin subunit 3(DCTN3)
11	23397	non-SMC condensin I complex subunit H(NCAPH)
12	79884	microtubule associated protein 9(MAP9)
13	64151	non-SMC condensin I complex subunit G(NCAPG)
14	25764	huntingtin interacting protein K(HYPK)
15	90417	kinetochore localized astrin/SPAG5 binding protein(KNSTRN)
16	57179	KIAA1191(KIAA1191)
17	29901	SAC3 domain containing 1(SAC3D1)
Gene Group 2		Enrichment Score: 5.49
1	132660	lin-54 DREAM MuvB core complex component(LIN54)
2	79921	transcription elongation factor A like 4(TCEAL4)
3	122953	Jun dimerization protein 2(JDP2)
4	84312	breast cancer metastasis-suppressor 1-like(BRMS1L)
5	10865	AT-rich interaction domain 5A(ARID5A)
6	23741	EP300 interacting inhibitor of differentiation 1(EID1)
7	55249	YY1 associated protein 1(YY1AP1)
8	81628	TSC22 domain family member 4(TSC22D4)
9	29969	MyoD family inhibitor domain containing(MDFIC)
10	55269	paraspeckle component 1(PSPC1)
Gene Group 3		Enrichment Score: 5.44
1	55269	paraspeckle component 1(PSPC1)
2	9584	RNA binding motif protein 39(RBM39)
3	6432	serine and arginine rich splicing factor 7(SRSF7)
4	85437	zinc finger CCHC-type and RNA binding motif containing 1(ZCRB1)
5	3187	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1 (H)(HNRNPH1)
6	10236	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R(HNRNPR)
7	6426	serine and arginine rich splicing factor 1(SRSF1)

8	92906	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L like(HNRNPLL)
9	54033	RNA binding motif protein 11(RBM11)
10	9987	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D like(HNRNPDL)
11	6741	Sjogren syndrome antigen B(SSB)
12	4670	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M(HNRNPM)
13	343069	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C-like 1(HNRNPCL1)
14	5937	RNA binding motif single stranded interacting protein 1(RBMS1)
15	5936	RNA binding motif protein 4(RBM4)
16	2926	G-rich RNA sequence binding factor 1(GRSF1)
17	27316	RNA binding motif protein, X-linked(RBMX)
18	26986	poly(A) binding protein cytoplasmic 1(PABPC1)
19	11052	cleavage and polyadenylation specific factor 6(CPSF6)
20	29896	transformer 2 alpha homolog(TRA2A)
Gene Group 4		Enrichment Score: 4.87
1	65083	nucleolar protein 6(NOL6)
2	57050	UTP3, small subunit processome component homolog (S. cerevisiae)(UTP3)
3	51096	UTP18, small subunit processome component(UTP18)
4	8602	NOP14 nucleolar protein(NOP14)
Gene Group 5		Enrichment Score: 4.76
1	253635	G-patch domain containing 11(GPATCH11)
2	57405	SPC25, NDC80 kinetochore complex component(SPC25)
3	284058	KAT8 regulatory NSL complex subunit 1(KANSL1)
4	64769	MYST/Esa1 associated factor 6(MEAF6)
Gene Group 6		Enrichment Score: 4.46
1	10393	anaphase promoting complex subunit 10(ANAPC10)
2	8697	cell division cycle 23(CDC23)
3	4085	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast)(MAD2L1)
4	29945	anaphase promoting complex subunit 4(ANAPC4)
Gene Group 7		Enrichment Score: 4.28
1	5718	proteasome 26S subunit, non-ATPase 12(PSMD12)
2	5707	proteasome 26S subunit, non-ATPase 1(PSMD1)
3	5717	proteasome 26S subunit, non-ATPase 11(PSMD11)
4	5684	proteasome subunit alpha 3(PSMA3)
5	5683	proteasome subunit alpha 2(PSMA2)
6	5704	proteasome 26S subunit, ATPase 4(PSMC4)

7	9861	proteasome 26S subunit, non-ATPase 6(PSMD6)
8	10213	proteasome 26S subunit, non-ATPase 14(PSMD14)
Gene Group 8		Enrichment Score: 4.22
1	6159	ribosomal protein L29(RPL29)
2	6223	ribosomal protein S19(RPS19)
3	6122	ribosomal protein L3(RPL3)
4	6152	ribosomal protein L24(RPL24)
5	6194	ribosomal protein S6(RPS6)
6	6160	ribosomal protein L31(RPL31)
Gene Group 9		Enrichment Score: 3.92
1	10910	SGT1 homolog, MIS12 kinetochore complex assembly cochaperone(SUGT1)
2	80155	N(alpha)-acetyltransferase 15, NatA auxiliary subunit(NAA15)
3	23383	MAU2 sister chromatid cohesion factor(MAU2)
4	8697	cell division cycle 23(CDC23)
5	55656	integrator complex subunit 8(INTS8)
6	9652	tetratricopeptide repeat domain 37(TTC37)
7	83857	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 1(TMTC1)
Gene Group 10		Enrichment Score: 2.91
1	22884	WD repeat domain 37(WDR37)
2	64397	zinc finger protein 106(ZNF106)
3	11171	serine/threonine kinase receptor associated protein(STRAP)
4	84219	WD repeat domain 24(WDR24)
5	23246	block of proliferation 1(BOP1)
6	51096	UTP18, small subunit processome component(UTP18)
7	23335	WD repeat domain 7(WDR7)
8	25886	POC1 centriolar protein A(POC1A)
9	1161	ERCC excision repair 8, CSA ubiquitin ligase complex subunit(ERCC8)
10	254065	bromodomain and WD repeat domain containing 3(BRWD3)
11	222229	leucine rich repeats and WD repeat domain containing 1(LRWD1)
12	112840	WD repeat domain 89(WDR89)
13	55339	WD repeat domain 33(WDR33)
14	23001	WD repeat and FYVE domain containing 3(WDFY3)

15	79718	transducin beta like 1 X-linked receptor 1(TBL1XR1)
16	2783	G protein subunit beta 2(GNB2)
17	55844	protein phosphatase 2 regulatory subunit Bdelta(PPP2R2D)
Gene Group 11		Enrichment Score: 2.87
1	29083	GTP binding protein 8 (putative)(GTPBP8)
2	26284	Era like 12S mitochondrial rRNA chaperone 1(ERAL1)
3	84273	nitric oxide associated 1(NOA1)
4	7284	Tu translation elongation factor, mitochondrial(TUFM)
Gene Group 12		Enrichment Score: 2.73
1	79009	DEAD-box helicase 50(DDX50)
2	10521	DEAD-box helicase 17(DDX17)
3	1665	DEAH-box helicase 15(DHX15)
4	79039	DEAD-box helicase 54(DDX54)
5	56916	SWI/SNF-related, matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin, subfamily a, containing DEAD/H box 1(SMARCAD1)
6	9879	DEAD-box helicase 46(DDX46)
7	83479	DEAD-box helicase 59(DDX59)
Gene Group 13		Enrichment Score: 2.7
1	55819	ring finger protein 130(RNF130)
2	81844	tripartite motif containing 56(TRIM56)
3	25898	ring finger and CHY zinc finger domain containing 1(RCHY1)
4	23321	tripartite motif containing 2(TRIM2)
5	57630	SH3 domain containing ring finger 1(SH3RF1)
Gene Group 14		Enrichment Score: 2.63
1	11200	checkpoint kinase 2(CHEK2)
2	5585	protein kinase N1(PKN1)
3	5584	protein kinase C iota(PRKCI)
4	10733	polo like kinase 4(PLK4)
5	1024	cyclin dependent kinase 8(CDK8)
6	4750	NIMA related kinase 1(NEK1)
7	57787	microtubule affinity regulating kinase 4(MARK4)
8	5597	mitogen-activated protein kinase 6(MAPK6)
9	9344	TAO kinase 2(TAOK2)

10	55872	PDZ binding kinase(PBK)
11	1613	death associated protein kinase 3(DAPK3)
12	9088	protein kinase, membrane associated tyrosine/threonine 1(PKMYT1)
Gene Group 15		Enrichment Score: 2.01
1	7398	ubiquitin specific peptidase 1(USP1)
2	84640	ubiquitin specific peptidase 38(USP38)
3	9960	ubiquitin specific peptidase 3(USP3)
4	57478	ubiquitin specific peptidase 31(USP31)
Gene Group 16		Enrichment Score: 2.01
1	11328	FK506 binding protein 9(FKBP9)
2	4925	nucleobindin 2(NUCB2)
3	654231	oncomodulin(OCM)
4	60681	FK506 binding protein 10(FKBP10)
5	23413	neuronal calcium sensor 1(NCS1)
6	83988	neurocalcin delta(NCALD)
7	5589	protein kinase C substrate 80K-H(PRKCSH)
Gene Group 17		Enrichment Score: 1.81
1	63931	mitochondrial ribosomal protein S14(MRPS14)
2	57129	mitochondrial ribosomal protein L47(MRPL47)
3	51023	mitochondrial ribosomal protein S18C(MRPS18C)
4	28957	mitochondrial ribosomal protein S28(MRPS28)
5	28977	mitochondrial ribosomal protein L42(MRPL42)
6	11222	mitochondrial ribosomal protein L3(MRPL3)
Gene Group 18		Enrichment Score: 1.66
1	1040	CDP-diacylglycerol synthase 1(CDS1)
2	10400	phosphatidylethanolamine N-methyltransferase(PEMT)
3	84803	glycerol-3-phosphate acyltransferase 3(GPAT3)
4	56994	choline phosphotransferase 1(CHPT1)
Gene Group 19		Enrichment Score: 1.45
1	4698	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A5(NDUFA5)
2	27069	growth hormone inducible transmembrane protein(GHITM)
3	83985	sphingolipid transporter 1 (putative)(SPNS1)
4	55972	solute carrier family 25 member 40(SLC25A40)
5	57380	MRS2, magnesium transporter(MRS2)

6	55967	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A12(NDUFA12)
7	1353	COX11, cytochrome c oxidase copper chaperone(COX11)
8	131118	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C19(DNAJC19)
9	1349	cytochrome c oxidase subunit 7B(COX7B)
10	56901	NDUFA4, mitochondrial complex associated like 2(NDUFA4L2)
11	55486	presenilin associated rhomboid like(PARL)
12	28977	mitochondrial ribosomal protein L42(MRPL42)
13	54968	transmembrane protein 70(TMEM70)
14	55013	mitochondrial calcium uniporter dominant negative beta subunit(MCUB)
15	4711	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B5(NDUFB5)
16	89874	solute carrier family 25 member 21(SLC25A21)
17	4710	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B4(NDUFB4)
18	55744	cytochrome c oxidase assembly factor 1 homolog(COA1)
Gene Group 20		Enrichment Score: 1.17
1	79986	zinc finger protein 702, pseudogene(ZNF702P)
2	22882	zinc fingers and homeoboxes 2(ZHX2)
3	79027	zinc finger protein 655(ZNF655)
4	65251	zinc finger protein 649(ZNF649)
5	7581	zinc finger protein 33A(ZNF33A)
6	58499	zinc finger protein 462(ZNF462)
7	342357	zinc finger with KRAB and SCAN domains 2(ZKSCAN2)
8	7576	zinc finger protein 28(ZNF28)
9	23060	zinc finger protein 609(ZNF609)
10	4152	methyl-CpG binding domain protein 1(MBD1)
11	80816	additional sex combs like 3, transcriptional regulator(ASXL3)
12	9658	zinc finger protein 516(ZNF516)
13	64376	IKAROS family zinc finger 5(IKZF5)
14	6615	snail family transcriptional repressor 1(SNAI1)
15	10127	zinc finger protein 263(ZNF263)
16	85460	zinc finger protein 518B(ZNF518B)
17	170960	zinc finger protein 721(ZNF721)
18	51545	zinc finger protein 581(ZNF581)
19	79759	zinc finger protein 668(ZNF668)
20	55628	zinc finger protein 407(ZNF407)
21	401898	zinc finger protein 833, pseudogene(ZNF833P)
22	126017	zinc finger protein 813(ZNF813)
23	7552	zinc finger protein 711(ZNF711)

24	30827	CXXC finger protein 1(CXXC1)
25	9925	zinc finger and BTB domain containing 5(ZBTB5)
26	55713	zinc finger protein 334(ZNF334)
27	137209	zinc finger protein 572(ZNF572)
28	51042	zinc finger protein 593(ZNF593)
29	130557	zinc finger protein 513(ZNF513)
30	57786	RB associated KRAB zinc finger(RBAK)
31	170261	zinc finger CCHC-type containing 12(ZCCHC12)
32	7711	zinc finger protein 155(ZNF155)
33	284349	zinc finger protein 283(ZNF283)
34	136051	zinc finger protein 786(ZNF786)
35	5326	PLAG1 like zinc finger 2(PLAGL2)
36	161882	zinc finger protein, FOG family member 1(ZFPM1)
37	56242	zinc finger protein 253(ZNF253)
Gene Group 21		Enrichment Score: 1.16
1	317754	POTE ankyrin domain family member D(POTED)
2	54776	protein phosphatase 1 regulatory subunit 12C(PPP1R12C)
3	29123	ankyrin repeat domain 11(ANKRD11)
4	63035	BCL6 corepressor-like 1(BCORL1)
5	64332	NFKB inhibitor zeta(NFKBIZ)
6	92591	ankyrin repeat and SOCS box containing 16(ASB16)
7	140461	ankyrin repeat and SOCS box containing 8(ASB8)
Gene Group 22		Enrichment Score: 1
1	282808	RAB40A, member RAS oncogene family-like(RAB40AL)
2	10123	ADP ribosylation factor like GTPase 4C(ARL4C)
3	55684	RAB, member RAS oncogene family-like 6(RABL6)
4	26225	ADP ribosylation factor like GTPase 5A(ARL5A)
5	91608	RAS like family 10 member B(RASL10B)
Gene Group 23		Enrichment Score: 0
1	1527	testis expressed 28(TEX28)
2	114789	solute carrier family 25 member 25(SLC25A25)
3	29985	solute carrier family 39 member 3(SLC39A3)
4	1525	coxsackie virus and adenovirus receptor(CXADR)
5	6098	ROS proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase(ROS1)
6	23478	SEC11 homolog A, signal peptidase complex subunit(SEC11A)
7	51363	carbohydrate sulfotransferase 15(CHST15)
8	10871	CD300c molecule(CD300C)
9	11253	mannosidase alpha class 1B member 1(MAN1B1)
10	4756	neogenin 1(NEO1)

11	81537	sphingosine-1-phosphate phosphatase 1(SGPP1)
12	285525	Yip1 domain family member 7(YIPF7)
13	283232	transmembrane protein 80(TMEM80)
14	9528	transmembrane protein 59(TMEM59)
15	90701	SEC11 homolog C, signal peptidase complex subunit(SEC11C)
16	199953	transmembrane protein 201(TMEM201)
17	138065	ring finger protein 183(RNF183)
18	55744	cytochrome c oxidase assembly factor 1 homolog(COA1)
19	57462	KIAA1161(KIAA1161)
20	90313	tumor protein p53 inducible protein 13(TP53I13)
21	64327	limb development membrane protein 1(LMBR1)
22	54968	transmembrane protein 70(TMEM70)
23	51528	JNK1/MAPK8-associated membrane protein(JKAMP)
24	256471	major facilitator superfamily domain containing 8(MFSD8)
25	138050	heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase(HGSNAT)
26	90488	transmembrane protein 263(TMEM263)
27	79982	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member B14(DNAJB14)
28	6443	sarcoglycan beta(SGCB)
29	66035	solute carrier family 2 member 11(SLC2A11)
30	386724	adhesion molecule with Ig like domain 3(AMIGO3)
31	7779	solute carrier family 30 member 1(SLC30A1)
32	27069	growth hormone inducible transmembrane protein(GHITM)
33	153129	solute carrier family 38 member 9(SLC38A9)
34	83985	sphingolipid transporter 1 (putative)(SPNS1)
35	10066	secretory carrier membrane protein 2(SCAMP2)
36	83982	interferon alpha inducible protein 27 like 2(IFI27L2)
37	64881	protocadherin 20(PCDH20)
38	116068	LysM domain containing 3(LYSMD3)
39	8534	carbohydrate sulfotransferase 1(CHST1)
40	401994	olfactory receptor family 14 subfamily I member 1(OR14I1)
41	79586	chondroitin polymerizing factor(CHPF)
42	440957	small integral membrane protein 4(SMIM4)
43	220158	Gilles de la Tourette syndrome chromosome region, candidate 1 (non-protein coding)(GTSCR1)
44	60482	solute carrier family 5 member 7(SLC5A7)
45	221303	family with sequence similarity 162 member B(FAM162B)
46	80148	PQ loop repeat containing 1(PQLC1)

47	53407	syntaxin 18(STX18)
48	28959	transmembrane protein 176B(TMEM176B)
49	10430	transmembrane protein 147(TMEM147)
50	347735	serine incorporator 2(SERINC2)
51	388799	family with sequence similarity 209 member B(FAM209B)
52	9091	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class Q(PIGQ)
53	117195	MAS related GPR family member X3(MRGPRX3)
54	26470	seizure related 6 homolog like 2(SEZ6L2)
55	1829	desmoglein 2(DSG2)
56	10424	progesterone receptor membrane component 2(PGRMC2)
57	201232	solute carrier family 16 member 13(SLC16A13)
58	1825	desmocollin 3(DSC3)
59	390892	olfactory receptor family 7 subfamily A member 10(OR7A10)
60	89874	solute carrier family 25 member 21(SLC25A21)
61	92737	delta/notch like EGF repeat containing(DNER)
62	293	solute carrier family 25 member 6(SLC25A6)
63	374462	protein tyrosine phosphatase, receptor type Q(PTPRQ)
64	133418	embigin(EMB)
65	64849	solute carrier family 13 member 3(SLC13A3)
66	166647	adhesion G protein-coupled receptor A3(ADGRA3)
67	131118	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C19(DNAJC19)
68	730094	chromosome 16 open reading frame 52(C16orf52)
69	9069	claudin 12(CLDN12)
70	5819	nectin cell adhesion molecule 2(NECTIN2)
71	84892	protein O-linked mannose N-acetylglucosaminyltransferase 2 (beta 1,4-)(POMGNT2)
72	55858	transmembrane protein 165(TMEM165)
73	55283	mucolipin 3(MCOLN3)
74	8869	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 5(ST3GAL5)
75	27013	cyclin Pas1/PHO80 domain containing 1(CNPPD1)
76	391059	ferric chelate reductase 1(FRRS1)
77	83930	STARD3 N-terminal like(STARD3NL)
78	284098	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class W(PIGW)
79	55089	solute carrier family 38 member 4(SLC38A4)
80	57380	MRS2, magnesium transporter(MRS2)
81	402135	olfactory receptor family 5 subfamily K member 2(OR5K2)

82	25864	abhydrolase domain containing 14A(ABHD14A)
83	460	astrotactin 1(ASTN1)
84	124222	progesterin and adipoQ receptor family member 4(PAQR4)
85	55652	solute carrier family 48 member 1(SLC48A1)
86	10384	butyrophilin subfamily 3 member A3(BTN3A3)
87	25849	prostate androgen-regulated mucin-like protein 1(PARM1)
88	134145	family with sequence similarity 173 member B(FAM173B)
89	390648	olfactory receptor family 4 subfamily F member 6(OR4F6)
90	11320	mannosyl (alpha-1,3-)-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase, isozyme A(MGAT4A)
91	6540	solute carrier family 6 member 13(SLC6A13)
92	54480	chondroitin polymerizing factor 2(CHPF2)
93	55244	solute carrier family 47 member 1(SLC47A1)
94	57722	immunoglobulin superfamily DCC subclass member 4(IGDCC4)
95	54664	transmembrane protein 106B(TMEM106B)
96	123041	solute carrier family 24 member 4(SLC24A4)
97	84650	emopamil binding protein like(EBPL)
98	54471	mitochondrial elongation factor 1(MIEF1)
99	727936	glucoside xylosyltransferase 2(GXYLT2)
100	2135	exostosin like glycosyltransferase 2(EXTL2)
101	163720	cytochrome P450 family 4 subfamily Z member 2, pseudogene(CYP4Z2P)
102	7095	SEC62 homolog, preprotein translocation factor(SEC62)
103	55032	solute carrier family 35 member A5(SLC35A5)
104	219482	olfactory receptor family 5 subfamily M member 3(OR5M3)
105	977	CD151 molecule (Raph blood group)(CD151)
106	84061	magnesium transporter 1(MAGT1)
107	85013	transmembrane protein 128(TMEM128)
108	131616	transmembrane protein 42(TMEM42)
109	254428	solute carrier family 41 member 1(SLC41A1)
110	27328	protocadherin 11 X-linked(PCDH11X)
111	5362	plexin A2(PLXNA2)
112	51201	zinc finger DHHC-type containing 2(ZDHHC2)
113	84243	zinc finger DHHC-type containing 18(ZDHHC18)
114	57121	lysophosphatidic acid receptor 5(LPAR5)
115	79086	small integral membrane protein 7(SMIM7)
116	84623	kin of IRRE like 3 (Drosophila)(KIRREL3)
117	55972	solute carrier family 25 member 40(SLC25A40)
118	3062	hypocretin receptor 2(HCRTR2)

119	64755	chromosome 16 open reading frame 58(C16orf58)
120	51192	chemokine like factor(CKLF)
Gene Group 24		Enrichment Score: 0
1	29989	odorant binding protein 2B(OBP2B)
2	51148	cerebral endothelial cell adhesion molecule(CERCAM)
3	79709	collagen beta(1-O)galactosyltransferase 1(COLGALT1)
4	56914	otoraplin(OTOR)
5	80167	abhydrolase domain containing 18(ABHD18)
6	205327	chromosome 2 open reading frame 69(C2orf69)
7	374739	testis, prostate and placenta expressed(TEPP)
8	10143	C-type lectin domain family 3 member A(CLEC3A)
9	146556	chromosome 16 open reading frame 89(C16orf89)
10	81926	abhydrolase domain containing 17A(ABHD17A)

Tabelle 49

Türkises Modul Teil 1:

Gene Group 1		Enrichment Score: 1.61
1	4184	sperm mitochondria associated cysteine rich protein(SMCP)
2	400566	chromosome 17 open reading frame 97(C17orf97)
3	100132476	keratin associated protein 4-7(KRTAP4-7)
4	353323	keratin associated protein 12-2(KRTAP12-2)
5	4134	microtubule associated protein 4(MAP4)
6	387267	keratin associated protein 5-4(KRTAP5-4)
7	387266	keratin associated protein 5-3(KRTAP5-3)
8	10618	trans-golgi network protein 2(TGOLN2)
9	2055	ceroid-lipofuscinosis, neuronal 8(CLN8)
10	440021	keratin associated protein 5-2(KRTAP5-2)
11	3550	IK cytokine, down-regulator of HLA II(IK)
12	353333	keratin associated protein 10-10(KRTAP10-10)
13	386683	keratin associated protein 12-3(KRTAP12-3)
14	386678	keratin associated protein 10-11(KRTAP10-11)
15	386676	keratin associated protein 10-9(KRTAP10-9)
Gene Group 2		Enrichment Score: 1.51
1	1655	DEAD-box helicase 5(DDX5)
2	1654	DEAD-box helicase 3, X-linked(DDX3X)
3	23020	small nuclear ribonucleoprotein U5 subunit 200(SNRNP200)
4	375748	ERCC excision repair 6 like 2(ERCC6L2)
5	1974	eukaryotic translation initiation factor 4A2(EIF4A2)
6	23132	RAD54-like 2 (S. cerevisiae)(RAD54L2)
7	11056	DExD-box helicase 52(DDX52)
8	10847	Snf2 related CREBBP activator protein(SRCAP)
9	317781	DEAD-box helicase 51(DDX51)
10	23517	Ski2 like RNA helicase 2(SKIV2L2)
11	3070	helicase, lymphoid-specific(HELLS)
12	11325	DEAD-box helicase 42(DDX42)
13	170506	DEAH-box helicase 36(DHX36)
14	1659	DEAH-box helicase 8(DHX8)
15	1105	chromodomain helicase DNA binding protein 1(CHD1)
16	10212	DExD-box helicase 39A(DDX39A)
Gene Group 3		Enrichment Score: 1.31
1	24148	pre-mRNA processing factor 6(PRP6)
2	23524	serine/arginine repetitive matrix 2(SRRM2)
3	25962	KIAA1429(KIAA1429)
4	26121	pre-mRNA processing factor 31(PRP31)

5	140890	splicing regulatory glutamic acid and lysine rich protein 1(SREK1)
6	10250	serine and arginine repetitive matrix 1(SRRM1)
7	10594	pre-mRNA processing factor 8(PRP8)
8	3185	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F(HNRNPF)
9	10291	splicing factor 3a subunit 1(SF3A1)
10	10286	breast carcinoma amplified sequence 2(BCAS2)
11	10147	SURP and G-patch domain containing 2(SUGP2)
12	10929	serine and arginine rich splicing factor 8(SRSF8)
13	10262	splicing factor 3b subunit 4(SF3B4)
Gene Group 4		Enrichment Score: 1.31
1	22887	forkhead box J3(FOXJ3)
2	466	activating transcription factor 1(ATF1)
3	29841	grainyhead like transcription factor 1(GRHL1)
4	2299	forkhead box I1(FOXI1)
5	23635	single stranded DNA binding protein 2(SSBP2)
6	4223	mesenchyme homeobox 2(MEOX2)
7	22926	activating transcription factor 6(ATF6)
8	1628	D-box binding PAR bZIP transcription factor(DBP)
9	116071	basic leucine zipper ATF-like transcription factor 2(BATF2)
10	195828	zinc finger protein 367(ZNF367)
11	1389	cAMP responsive element binding protein like 2(CREBL2)
12	11016	activating transcription factor 7(ATF7)
13	389692	MAF bZIP transcription factor A(MAFA)
14	3727	JunD proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit(JUND)
15	4149	MYC associated factor X(MAX)
16	10538	basic leucine zipper ATF-like transcription factor(BATF)
17	2077	ETS2 repressor factor(ERF)
18	3299	heat shock transcription factor 4(HSF4)
19	4097	MAF bZIP transcription factor G(MAFG)
20	339488	transcription factor AP-2 epsilon(TFAP2E)
Gene Group 5		Enrichment Score: 1.28
1	2108	electron transfer flavoprotein alpha subunit(ETFA)
2	26275	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase(HIBCH)
3	1666	2,4-dienoyl-CoA reductase 1, mitochondrial(DEC1)
4	1632	enoyl-CoA delta isomerase 1(EC11)
5	36	acyl-CoA dehydrogenase, short/branched chain(ACADSB)
6	28976	acyl-CoA dehydrogenase family member 9(ACAD9)

7	34	acyl-CoA dehydrogenase, C-4 to C-12 straight chain(ACADM)
8	33	acyl-CoA dehydrogenase, long chain(ACADL)
Gene Group 6		Enrichment Score: 1.17
1	23582	cyclin D1 binding protein 1(CCNDBP1)
2	158405	KIAA1958(KIAA1958)
3	29903	coiled-coil domain containing 106(CCDC106)
4	150678	COP9 signalosome subunit 9(COPS9)
Gene Group 7		Enrichment Score: 1.16
1	4713	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B7(NDUFB7)
2	1537	cytochrome c1(CYC1)
3	1329	cytochrome c oxidase subunit 5B(COX5B)
4	1352	COX10, heme A:farnesyltransferase cytochrome c oxidase assembly factor(COX10)
5	125965	cytochrome c oxidase subunit 6B2(COX6B2)
6	1327	cytochrome c oxidase subunit 4I1(COX4I1)
7	4708	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B2(NDUFB2)
8	374291	NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit S7(NDUFS7)
9	1345	cytochrome c oxidase subunit 6C(COX6C)
10	4702	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A8(NDUFA8)
11	1339	cytochrome c oxidase subunit 6A2(COX6A2)
12	1337	cytochrome c oxidase subunit 6A1(COX6A1)
13	4695	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A2(NDUFA2)
14	4694	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A1(NDUFA1)
Gene Group 8		Enrichment Score: 1.11
1	23543	RNA binding protein, fox-1 homolog 2(RBFOX2)
2	3188	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2 (H')(HNRNPH2)
3	23350	U2 snRNP associated SURP domain containing(U2SURP)
4	125950	ribonucleoprotein, PTB binding 1(RAVER1)
5	3185	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F(HNRNPF)
6	3182	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B(HNRNPAB)
7	140890	splicing regulatory glutamic acid and lysine rich protein 1(SREK1)
8	27336	HIV-1 Tat specific factor 1(HTATSF1)
9	27288	RNA binding motif protein, X-linked like 2(RBML2)
10	10929	serine and arginine rich splicing factor 8(SRSF8)
11	373863	DND microRNA-mediated repression inhibitor 1(DND1)

12	4440	musashi RNA binding protein 1(MSI1)
13	1995	ELAV like RNA binding protein 3(ELAVL3)
14	1993	ELAV like RNA binding protein 2(ELAVL2)
15	129831	RNA binding motif protein 45(RBM45)
16	10262	splicing factor 3b subunit 4(SF3B4)
17	27037	tRNA methyltransferase 2 homolog A(TRMT2A)
18	155435	RNA binding motif protein 33(RBM33)
19	11189	CUGBP, Elav-like family member 3(CELF3)
Gene Group 9		Enrichment Score: 1.06
1	10732	transcription factor like 5(TCFL5)
2	112950	mediator complex subunit 8(MED8)
3	3225	homeobox C9(HOXC9)
4	22887	forkhead box J3(FOXJ3)
5	147807	zinc finger protein 524(ZNF524)
6	2077	ETS2 repressor factor(ERF)
7	221336	BEN domain containing 6(BEND6)
8	100289678	zinc finger family member 783(ZNF783)
9	22877	MLX interacting protein(MLXIP)
10	10716	T-box, brain 1(TBR1)
11	116071	basic leucine zipper ATF-like transcription factor 2(BATF2)
12	3399	inhibitor of DNA binding 3, HLH protein(ID3)
13	26959	HMG-box transcription factor 1(HBP1)
14	26292	MYC binding protein(MYCBP)
15	284312	zinc finger and SCAN domain containing 1(ZSCAN1)
16	2636	gastrulation brain homeobox 1(GBX1)
17	166	amino-terminal enhancer of split(AES)
18	256380	sex comb on midleg-like 4 (Drosophila)(SCML4)
19	10138	YY1 associated factor 2(YAF2)
20	26098	erythroid differentiation regulatory factor 1(EDRF1)
21	23152	capicua transcriptional repressor(CIC)
22	117581	twist family bHLH transcription factor 2(TWIST2)
23	11179	zinc finger protein 277(ZNF277)
24	10608	MAX dimerization protein 4(MXD4)
25	399823	forkhead box I2(FOXI2)
26	151871	developmental pluripotency associated 2(DPPA2)
27	3196	T-cell leukemia homeobox 2(TLX2)
28	4335	MAX network transcriptional repressor(MNT)
29	22955	sex comb on midleg homolog 1 (Drosophila)(SCMH1)
30	347853	T-box 10(TBX10)
31	30836	deoxynucleotidyltransferase terminal interacting protein 2(DNNTIP2)
32	152815	THAP domain containing 6(THAP6)
33	124790	hexamethylene bisacetamide inducible 2(HEXIM2)

34	10215	oligodendrocyte lineage transcription factor 2(OLIG2)
35	283150	forkhead box R1(FOXR1)
36	114049	Williams-Beuren syndrome chromosome region 22(WBSCR22)
37	245806	vestigial like family member 2(VGLL2)
38	200014	coiled-coil and C2 domain containing 1B(CC2D1B)
39	1936	eukaryotic translation elongation factor 1 delta(EEF1D)
40	3170	forkhead box A2(FOXA2)
41	10389	sex comb on midleg-like 2 (Drosophila)(SCML2)
42	3169	forkhead box A1(FOXA1)
43	195828	zinc finger protein 367(ZNF367)
44	10957	proline rich nuclear receptor coactivator 1(PNRC1)
45	10001	mediator complex subunit 6(MED6)
46	222894	Fer3 like bHLH transcription factor(FERD3L)
47	2304	forkhead box E1(FOXE1)
48	4298	MLLT1, super elongation complex subunit(MLLT1)
49	2302	forkhead box J1(FOXJ1)
50	26145	interferon regulatory factor 2 binding protein 1(IRF2BP1)
51	2300	forkhead box L1(FOXL1)
52	2299	forkhead box I1(FOXI1)
53	153443	serum response factor binding protein 1(SRFBP1)
54	221937	forkhead box K1(FO XK1)
55	1822	atrophin 1(ATN1)
56	28991	COMM domain containing 5(COMMD5)
57	23099	zinc finger and BTB domain containing 43(ZBTB43)
58	1628	D-box binding PAR bZIP transcription factor(DBP)
59	29080	coiled-coil domain containing 59(CCDC59)
60	10745	putative homeodomain transcription factor 1(PHTF1)
61	442425	forkhead box B2(FOX B2)
62	10362	high mobility group 20B(HMG20B)
63	118472	zinc finger protein 511(ZNF511)
64	148203	zinc finger protein 738(ZNF738)
65	116092	deoxynucleotidyltransferase terminal interacting protein 1(DNTTIP1)
66	23466	chromobox 6(CBX6)
Gene Group 10		Enrichment Score: 1.04
1	10436	EMG1, N1-specific pseudouridine methyltransferase(EMG1)
2	27340	UTP20, small subunit processome component(UTP20)
3	11103	KRR1, small subunit processome component homolog(KRR1)
4	10199	M-phase phosphoprotein 10(MPHOSPH10)

Gene Group 11		Enrichment Score: 1.03
1	126003	trafficking protein particle complex 5(TRAPPC5)
2	10282	Bet1 golgi vesicular membrane trafficking protein(BET1)
3	1315	coatomer protein complex subunit beta 1(COPB1)
4	122553	trafficking protein particle complex 6B(TRAPPC6B)
5	10484	Sec23 homolog A, coat complex II component(SEC23A)
6	10483	Sec23 homolog B, coat complex II component(SEC23B)
Gene Group 12		Enrichment Score: 0.97
1	23178	PAS domain containing serine/threonine kinase(PASK)
2	11113	citron rho-interacting serine/threonine kinase(CIT)
3	124923	uncharacterized serine/threonine-protein kinase SgK494(SGK494)
4	1326	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 8(MAP3K8)
5	3984	LIM domain kinase 1(LIMK1)
6	149420	PDLIM1 interacting kinase 1 like(PDIK1L)
7	27148	serine/threonine kinase 36(STK36)
8	283455	kinase suppressor of ras 2(KSR2)
9	255239	ankyrin repeat and kinase domain containing 1(ANKK1)
10	157285	homolog of rat pragma of Rnd2(SGK223)
11	388228	SH3 domain binding kinase 1(SBK1)
12	389840	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 15(MAP3K15)
13	25989	unc-51 like kinase 3(ULK3)
14	22853	lemur tyrosine kinase 2(LMTK2)
15	169436	serine/threonine kinase like domain containing 1(STKLD1)
16	10595	endoplasmic reticulum to nucleus signaling 2(ERN2)
17	1760	dystrophia myotonica protein kinase(DMPK)
18	22848	AP2 associated kinase 1(AAK1)
19	10110	SGK2, serine/threonine kinase 2(SGK2)
20	10298	p21 (RAC1) activated kinase 4(PAK4)
21	4215	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3(MAP3K3)
22	1457	casein kinase 2 alpha 1(CSNK2A1)
23	30811	hormonally up-regulated Neu-associated kinase(HUNK)
24	1456	casein kinase 1 gamma 3(CSNK1G3)
25	1454	casein kinase 1 epsilon(CSNK1E)
26	10000	AKT serine/threonine kinase 3(AKT3)
27	202374	serine/threonine kinase 32A(STK32A)
28	10188	tyrosine kinase non receptor 2(TNK2)
29	28996	homeodomain interacting protein kinase 2(HIPK2)

30	2870	G protein-coupled receptor kinase 6(GRK6)
31	2868	G protein-coupled receptor kinase 4(GRK4)
32	4293	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 9(MAP3K9)
33	29941	protein kinase N3(PKN3)
34	140901	serine/threonine kinase 35(STK35)
35	2580	cyclin G associated kinase(GAK)
36	140609	NIMA related kinase 7(NEK7)
Gene Group 13		Enrichment Score: 0.96
1	10478	solute carrier family 25 member 17(SLC25A17)
2	284439	solute carrier family 25 member 42(SLC25A42)
3	4694	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A1(NDUFA1)
4	253512	solute carrier family 25 member 30(SLC25A30)
5	100287932	translocase of inner mitochondrial membrane 23(TIMM23)
6	29928	translocase of inner mitochondrial membrane 22(TIMM22)
7	140707	BRI3 binding protein(BRI3BP)
8	347411	mitochondrial pyruvate carrier 1-like(MPC1L)
9	1537	cytochrome c1(CYC1)
10	284427	solute carrier family 25 member 41(SLC25A41)
11	1345	cytochrome c oxidase subunit 6C(COX6C)
12	29957	solute carrier family 25 member 24(SLC25A24)
13	133308	solute carrier family 9 member B2(SLC9B2)
14	10166	solute carrier family 25 member 15(SLC25A15)
15	140823	reactive oxygen species modulator 1(ROMO1)
16	291	solute carrier family 25 member 4(SLC25A4)
17	10440	translocase of inner mitochondrial membrane 17 homolog A (yeast)(TIMM17A)
18	23787	mitochondrial carrier 1(MTCH1)
19	25994	HIG1 hypoxia inducible domain family member 1A(HIGD1A)
Gene Group 14		Enrichment Score: 0.94
1	10943	male-specific lethal 3 homolog (Drosophila)(MSL3)
2	23492	chromobox 7(CBX7)
3	1105	chromodomain helicase DNA binding protein 1(CHD1)
4	23466	chromobox 6(CBX6)
Gene Group 15		Enrichment Score: 0.91
1	124790	hexamethylene bisacetamide inducible 2(HEXIM2)
2	29903	coiled-coil domain containing 106(CCDC106)
3	388324	inhibitor of CDK, cyclin A1 interacting protein 1(INCA1)

4	4676	nucleosome assembly protein 1 like 4(NAP1L4)
Gene Group 16		Enrichment Score: 0.87
1	22823	metal response element binding transcription factor 2(MTF2)
2	11083	death inducer-obliterator 1(DIDO1)
3	112885	PHD finger protein 21B(PHF21B)
4	23774	bromodomain containing 1(BRD1)
Gene Group 17		Enrichment Score: 0.82
1	10382	tubulin beta 4A class IVa(TUBB4A)
2	10381	tubulin beta 3 class III(TUBB3)
3	27175	tubulin gamma 2(TUBG2)
4	113457	tubulin alpha 3d(TUBA3D)
5	347688	tubulin beta 8 class VIII(TUBB8)
Gene Group 18		Enrichment Score: 0.82
1	440560	PRAME family member 11(PRAMEF11)
2	391003	PRAME family member 18(PRAMEF18)
3	390999	PRAME family member 12(PRAMEF12)
4	343071	PRAME family member 10(PRAMEF10)
5	23532	preferentially expressed antigen in melanoma(PRAME)
6	202500	t-complex-associated-testis-expressed 1(TCTE1)
Gene Group 19		Enrichment Score: 0.8
1	10735	stromal antigen 2(STAG2)
2	11130	ZW10 interacting kinetochore protein(ZWINT)
3	151246	shugoshin 2(SGO2)
4	11004	kinesin family member 2C(KIF2C)
5	1060	centromere protein C(CENPC)
6	23047	PDS5 cohesin associated factor B(PDS5B)
7	151648	shugoshin 1(SGO1)
8	119504	anaphase promoting complex subunit 16(ANAPC16)
Gene Group 20		Enrichment Score: 0.79
1	23303	kinesin family member 13B(KIF13B)
2	124602	kinesin family member 19(KIF19)
3	146909	kinesin family member 18B(KIF18B)
4	11004	kinesin family member 2C(KIF2C)
5	3799	kinesin family member 5B(KIF5B)
6	10749	kinesin family member 1C(KIF1C)
7	3796	kinesin family member 2A(KIF2A)

Gene Group 21		Enrichment Score: 0.78
1	10240	mitochondrial ribosomal protein S31(MRPS31)
2	29093	mitochondrial ribosomal protein L22(MRPL22)
3	116541	mitochondrial ribosomal protein L54(MRPL54)
4	116540	mitochondrial ribosomal protein L53(MRPL53)
5	118487	coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 1(CHCHD1)
6	10884	mitochondrial ribosomal protein S30(MRPS30)
7	10573	mitochondrial ribosomal protein L28(MRPL28)
8	26589	mitochondrial ribosomal protein L46(MRPL46)
Gene Group 22		Enrichment Score: 0.75
1	155051	crystallin gamma N(CRYGN)
2	1414	crystallin beta B1(CRYBB1)
3	1421	crystallin gamma D(CRYGD)
4	1419	crystallin gamma B(CRYGB)
Gene Group 23		Enrichment Score: 0.69
1	3196	T-cell leukemia homeobox 2(TLX2)
2	1746	distal-less homeobox 2(DLX2)
3	344191	even-skipped homeobox 2(EVX2)
4	340784	H6 family homeobox 3(HMX3)
5	3166	H6 family homeobox 1(HMX1)
6	2636	gastrulation brain homeobox 1(GBX1)
7	4223	mesenchyme homeobox 2(MEOX2)
8	2128	even-skipped homeobox 1(EVX1)
9	360030	NANOG neighbor homeobox(NANOGNB)
10	10660	ladybird homeobox 1(LBX1)
11	1045	caudal type homeobox 2(CDX2)
12	401	paired like homeobox 2a(PHOX2A)
13	3229	homeobox C13(HOXC13)
14	4010	LIM homeobox transcription factor 1 beta(LMX1B)
15	3225	homeobox C9(HOXC9)
16	153572	iroquois homeobox 2(IRX2)
Gene Group 24		Enrichment Score: 0.69
1	1515	cathepsin V(CTSV)
2	1075	cathepsin C(CTSC)
3	1514	cathepsin L(CTSL)
4	1519	cathepsin O(CTSO)
Gene Group 25		Enrichment Score: 0.66
1	23461	ATP binding cassette subfamily A member 5(ABCA5)
2	20	ATP binding cassette subfamily A member 2(ABCA2)
3	10347	ATP binding cassette subfamily A member 7(ABCA7)

4	10257	ATP binding cassette subfamily C member 4(ABCC4)
5	23457	ATP binding cassette subfamily B member 9(ABCB9)
Gene Group 26		Enrichment Score: 0.64
1	23637	RAB GTPase activating protein 1(RABGAP1)
2	26000	TBC1 domain family member 10B(TBC1D10B)
3	115704	ecotropic viral integration site 5 like(EVI5L)
4	23216	TBC1 domain family member 1(TBC1D1)
5	23061	TBC1 domain family member 9B(TBC1D9B)
Gene Group 27		Enrichment Score: 0.64
1	10668	cell growth regulator with ring finger domain 1(CGRRF1)
2	25893	tripartite motif containing 58(TRIM58)
3	166655	tripartite motif containing 60(TRIM60)
4	10425	ariadne RBR E3 ubiquitin protein ligase 2(ARIH2)
5	201292	tripartite motif containing 65(TRIM65)
6	130507	ubiquitin protein ligase E3 component n-recognin 3 (putative)(UBR3)
7	27246	ring finger protein 115(RNF115)
8	4591	tripartite motif containing 37(TRIM37)
9	117854	tripartite motif containing 6(TRIM6)
10	339976	tripartite motif family like 1(TRIML1)
11	10739	ret finger protein like 2(RFPL2)
12	10738	ret finger protein like 3(RFPL3)
13	140691	tripartite motif containing 69(TRIM69)
14	22954	tripartite motif containing 32(TRIM32)
15	25820	ariadne RBR E3 ubiquitin protein ligase 1(ARIH1)
16	11342	ring finger protein 13(RNF13)
17	391712	tripartite motif containing 61(TRIM61)
18	10401	protein inhibitor of activated STAT 3(PIAS3)
19	26145	interferon regulatory factor 2 binding protein 1(IRF2BP1)
20	440730	tripartite motif containing 67(TRIM67)
21	286053	NSE2/MMS21 homolog, SMC5-SMC6 complex SUMO ligase(NSMCE2)
22	23087	tripartite motif containing 35(TRIM35)
23	152006	ring finger protein 38(RNF38)
24	285671	ring finger protein 180(RNF180)
25	11237	ring finger protein 24(RNF24)
26	11236	ring finger protein 139(RNF139)
27	254225	ring finger protein 169(RNF169)
28	149603	ring finger protein 187(RNF187)

Gene Group 28		Enrichment Score: 0.62
1	23636	nucleoporin 62(NUP62)
2	129401	nucleoporin 35(NUP35)
3	23225	nucleoporin 210(NUP210)
4	23511	nucleoporin 188(NUP188)
Gene Group 29		Enrichment Score: 0.58
1	3695	integrin subunit beta 7(ITGB7)
2	3655	integrin subunit alpha 6(ITGA6)
3	3688	integrin subunit beta 1(ITGB1)
4	3696	integrin subunit beta 8(ITGB8)
5	3674	integrin subunit alpha 2b(ITGA2B)
Gene Group 30		Enrichment Score: 0.56
1	1286	collagen type IV alpha 4 chain(COL4A4)
2	1296	collagen type VIII alpha 2 chain(COL8A2)
3	1295	collagen type VIII alpha 1 chain(COL8A1)
4	131149	otolin 1(OTOL1)
5	1292	collagen type VI alpha 2 chain(COL6A2)
6	136227	collagen type XXVI alpha 1 chain(COL26A1)
7	1289	collagen type V alpha 1 chain(COL5A1)
Gene Group 31		Enrichment Score: 0.56
1	285172	family with sequence similarity 126 member B(FAM126B)
2	171177	ras homolog family member V(RHOV)
3	114787	G protein regulated inducer of neurite outgrowth 1(GPRIN1)
4	22979	EFR3 homolog B(EFR3B)
Gene Group 32		Enrichment Score: 0.56
1	200765	tigger transposable element derived 1(TIGD1)
2	1059	centromere protein B(CENPB)
3	360030	NANOG neighbor homeobox(NANOGNB)
4	166815	tigger transposable element derived 2(TIGD2)
Gene Group 33		Enrichment Score: 0.52
1	11016	activating transcription factor 7(ATF7)
2	112950	mediator complex subunit 8(MED8)
3	389114	zinc finger protein 662(ZNF662)
4	26974	zinc finger protein 285(ZNF285)
5	23361	zinc finger protein 629(ZNF629)
6	147808	zinc finger protein 784(ZNF784)
7	284323	zinc finger protein 780A(ZNF780A)
8	463	zinc finger homeobox 3(ZFH3)

9	221527	zinc finger and BTB domain containing 12(ZBTB12)
10	147807	zinc finger protein 524(ZNF524)
11	26205	glucocorticoid modulatory element binding protein 2(GMEB2)
12	100289678	zinc finger family member 783(ZNF783)
13	2738	GLI family zinc finger 4(GLI4)
14	339318	zinc finger protein 181(ZNF181)
15	22873	DAZ interacting zinc finger protein 1(DZIP1)
16	284312	zinc finger and SCAN domain containing 1(ZSCAN1)
17	10522	DEAF1, transcription factor(DEAF1)
18	1877	E4F transcription factor 1(E4F1)
19	374655	zinc finger protein 710(ZNF710)
20	10138	YY1 associated factor 2(YAF2)
21	29803	replication initiator 1(REPIN1)
22	2063	nuclear receptor subfamily 2 group F member 6(NR2F6)
23	221037	jumonji domain containing 1C(JMJD1C)
24	201181	zinc finger protein 385C(ZNF385C)
25	403341	zinc finger and BTB domain containing 34(ZBTB34)
26	11179	zinc finger protein 277(ZNF277)
27	1959	early growth response 2(EGR2)
28	140467	zinc finger protein 358(ZNF358)
29	390980	zinc finger protein 805(ZNF805)
30	121274	zinc finger protein 641(ZNF641)
31	162979	zinc finger protein 296(ZNF296)
32	27033	zinc finger and BTB domain containing 32(ZBTB32)
33	10308	zinc finger protein 267(ZNF267)
34	23512	SUZ12 polycomb repressive complex 2 subunit(SUZ12)
35	25792	CDKN1A interacting zinc finger protein 1(CIZ1)
36	162968	zinc finger protein 497(ZNF497)
37	200014	coiled-coil and C2 domain containing 1B(CC2D1B)
38	162963	zinc finger protein 610(ZNF610)
39	162962	zinc finger protein 836(ZNF836)
40	27300	zinc finger protein 544(ZNF544)
41	158399	zinc finger protein 483(ZNF483)
42	11244	zinc fingers and homeoboxes 1(ZHX1)
43	203523	zinc finger protein 449(ZNF449)
44	195828	zinc finger protein 367(ZNF367)
45	2122	MDS1 and EVI1 complex locus(MECOM)
46	27107	zinc finger and BTB domain containing 11(ZBTB11)
47	121536	AE binding protein 2(AEBP2)
48	158586	zinc finger, X-linked, duplicated B(ZXDB)
49	147660	zinc finger protein 578(ZNF578)
50	339559	ZFP69 zinc finger protein(ZFP69)
51	113835	zinc finger protein 257(ZNF257)

52	10664	CCCTC-binding factor(CTCF)
53	155061	zinc finger protein 746(ZNF746)
54	26145	interferon regulatory factor 2 binding protein 1(IRF2BP1)
55	388569	zinc finger protein 324B(ZNF324B)
56	125893	zinc finger protein 816(ZNF816)
57	26048	zinc finger protein 500(ZNF500)
58	23099	zinc finger and BTB domain containing 43(ZBTB43)
59	2104	estrogen related receptor gamma(ESRRG)
60	168544	zinc finger protein 467(ZNF467)
61	148213	zinc finger protein 681(ZNF681)
62	163223	zinc finger protein 676(ZNF676)
63	26137	zinc finger and BTB domain containing 20(ZBTB20)
64	388561	zinc finger protein 761(ZNF761)
65	118472	zinc finger protein 511(ZNF511)
66	148203	zinc finger protein 738(ZNF738)
67	390927	zinc finger protein 793(ZNF793)
68	116092	deoxynucleotidyltransferase terminal interacting protein 1(DNTTIP1)
69	127396	zinc finger protein 684(ZNF684)
Gene Group 34		Enrichment Score: 0.5
1	11015	KDEL endoplasmic reticulum protein retention receptor 3(KDEL3)
2	203062	t-SNARE domain containing 1(TSNARE1)
3	121457	IKBKB interacting protein(IKBIP)
4	124491	transmembrane protein 170A(TMEM170A)
5	10960	lectin, mannose binding 2(LMAN2)
6	10959	transmembrane p24 trafficking protein 2(TMED2)
7	389791	PTGES2 antisense RNA 1 (head to head)(PTGES2-AS1)
8	11230	PRA1 domain family member 2(PRAF2)
9	23673	syntaxin 12(STX12)
10	26984	SEC22 homolog A, vesicle trafficking protein(SEC22A)
11	222068	transmembrane p24 trafficking protein 4(TMED4)
12	23256	sec1 family domain containing 1(SCFD1)
13	10282	Bet1 golgi vesicular membrane trafficking protein(BET1)
14	219995	membrane spanning 4-domains A15(MS4A15)
15	11316	coatamer protein complex subunit epsilon(COPE)
Gene Group 35		Enrichment Score: 0.49
1	153396	transmembrane protein 161B(TMEM161B)
2	22990	pecanex homolog 1 (Drosophila)(PCNX1)
3	22987	synaptic vesicle glycoprotein 2C(SV2C)

4	3811	killer cell immunoglobulin like receptor, three Ig domains and long cytoplasmic tail 1(KIR3DL1)
5	284532	olfactory receptor family 14 subfamily A member 16(OR14A16)
6	10712	family with sequence similarity 189 member B(FAM189B)
7	3805	killer cell immunoglobulin like receptor, two Ig domains and long cytoplasmic tail 4(KIR2DL4)
8	256144	olfactory receptor family 4 subfamily C member 3(OR4C3)
9	200150	phospholipase D family member 5(PLD5)
10	347411	mitochondrial pyruvate carrier 1-like(MPC1L)
11	26035	glucuronic acid epimerase(GLCE)
12	401097	chromosome 3 open reading frame 80(C3orf80)
13	286046	XK related 6(XKR6)
14	26033	attractin like 1(ATRNL1)
15	29100	transmembrane protein 208(TMEM208)
16	124975	gamma-glutamyltransferase 6(GGT6)
17	23731	transmembrane protein 245(TMEM245)
18	26025	protocadherin gamma subfamily A, 12(PCDHGA12)
19	255349	transmembrane protein 211(TMEM211)
20	162540	signal peptide peptidase like 2C(SPPL2C)
21	353514	leukocyte immunoglobulin like receptor A5(LILRA5)
22	29071	C1GALT1 specific chaperone 1(C1GALT1C1)
23	374986	mitoguardin 1(MIGA1)
24	167127	UDP glycosyltransferase family 3 member A2(UGT3A2)
25	147184	transmembrane protein 99(TMEM99)
26	285242	5-hydroxytryptamine receptor 3E(HTR3E)
27	26762	hepatitis A virus cellular receptor 1(HAVCR1)
28	25994	HIG1 hypoxia inducible domain family member 1A(HIGD1A)
29	196264	myelin protein zero like 3(MPZL3)
30	1441	colony stimulating factor 3 receptor(CSF3R)
31	137964	glycerol-3-phosphate acyltransferase 4(GPAT4)
32	220032	glycerophosphodiester phosphodiesterase domain containing 4(GDPD4)
33	253012	HEPACAM family member 2(HEPACAM2)
34	22908	SAC1 suppressor of actin mutations 1-like (yeast)(SACM1L)
35	117248	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 15(GALNT15)
36	115704	ecotropic viral integration site 5 like(EVI5L)
37	152519	NIPA like domain containing 1(NIPAL1)
38	440138	ALG11, alpha-1,2-mannosyltransferase(ALG11)
39	10618	trans-golgi network protein 2(TGOLN2)

40	23657	solute carrier family 7 member 11(SLC7A11)
41	441670	olfactory receptor family 4 subfamily M member 1(OR4M1)
42	151742	protein phosphatase, Mg ²⁺ /Mn ²⁺ dependent 1L(PPM1L)
43	154807	vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 like 1(VKORC1L1)
44	22883	calsyntenin 1(CLSTN1)
45	284427	solute carrier family 25 member 41(SLC25A41)
46	100862671	transmembrane protein 265(TMEM265)
47	3703	STT3A, catalytic subunit of the oligosaccharyltransferase complex(STT3A)
48	25945	nectin cell adhesion molecule 3(NECTIN3)
49	219995	membrane spanning 4-domains A15(MS4A15)
50	255275	myeloid associated differentiation marker like 2(MYADML2)
51	390265	olfactory receptor family 10 subfamily G member 7(OR10G7)
52	390261	olfactory receptor family 6 subfamily M member 1(OR6M1)
53	2152	coagulation factor III, tissue factor(F3)
54	2917	glutamate metabotropic receptor 7(GRM7)
55	22856	chondroitin sulfate synthase 1(CHSY1)
56	2913	glutamate metabotropic receptor 3(GRM3)
57	2912	glutamate metabotropic receptor 2(GRM2)
58	26689	olfactory receptor family 4 subfamily D member 1(OR4D1)
59	219972	macrophage expressed 1(MPEG1)
60	2911	glutamate metabotropic receptor 1(GRM1)
61	203859	anoctamin 5(ANO5)
62	28982	feline leukemia virus subgroup C cellular receptor 1(FLVCR1)
63	2137	exostosin like glycosyltransferase 3(EXTL3)
64	25912	chromosome 1 open reading frame 43(C1orf43)
65	346517	olfactory receptor family 6 subfamily V member 1(OR6V1)
66	115650	TNF receptor superfamily member 13C(TNFRSF13C)
67	403273	olfactory receptor family 5 subfamily H member 14(OR5H14)
68	2131	exostosin glycosyltransferase 1(EXT1)
69	10567	Rab acceptor 1(RABAC1)
70	25907	transmembrane protein 158 (gene/pseudogene)(TMEM158)
71	160897	G protein-coupled receptor 180(GPR180)
72	2891	glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 2(GRIA2)

73	124842	transmembrane protein 132E(TMEM132E)
74	374882	transmembrane protein 205(TMEM205)
75	441608	olfactory receptor family 5 subfamily B member 3(OR5B3)
76	158584	fatty acid amide hydrolase 2(FAAH2)
77	117166	WAP, follistatin/kazal, immunoglobulin, kunitz and netrin domain containing 1(WFIKKN1)
78	338821	solute carrier organic anion transporter family member 1B7 (putative)(SLCO1B7)
79	203062	t-SNARE domain containing 1(TSNARE1)
80	100049587	sialic acid binding Ig like lectin 14(SIGLEC14)
81	284361	ER membrane protein complex subunit 10(EMC10)
82	153201	solute carrier family 36 member 2(SLC36A2)
83	347252	insulin like growth factor binding protein like 1(IGFBPL1)
84	128653	chromosome 20 open reading frame 141(C20orf141)
85	2864	free fatty acid receptor 1(FFAR1)
86	348013	transmembrane protein 255B(TMEM255B)
87	2862	motilin receptor(MLNR)
88	122509	interferon alpha inducible protein 27 like 1(IFI27L1)
89	114836	SLAM family member 6(SLAMF6)
90	1318	solute carrier family 31 member 2(SLC31A2)
91	2850	G protein-coupled receptor 27(GPR27)
92	2849	G protein-coupled receptor 26(GPR26)
93	149345	shisa family member 4(SHISA4)
94	2846	lysophosphatidic acid receptor 4(LPAR4)
95	2843	G protein-coupled receptor 20(GPR20)
96	2837	urotensin 2 receptor(UTS2R)
97	387104	SOGA family member 3(SOGA3)
98	440026	transmembrane protein 41B(TMEM41B)
99	147798	transmembrane channel like 4(TMC4)
100	222962	solute carrier family 29 member 4(SLC29A4)
101	390168	olfactory receptor family 5 subfamily M member 1(OR5M1)
102	10501	semaphorin 6B(SEMA6B)
103	28908	immunoglobulin kappa variable 4-1(IGKV4-1)
104	10500	semaphorin 6C(SEMA6C)
105	3595	interleukin 12 receptor subunit beta 2(IL12RB2)
106	2827	G protein-coupled receptor 3(GPR3)
107	11264	peroxisomal membrane protein 4(PXMP4)
108	2826	C-C motif chemokine receptor 10(CCR10)
109	2825	G protein-coupled receptor 1(GPR1)
110	23531	monocyte to macrophage differentiation associated(MMD)
111	25829	transmembrane protein 184B(TMEM184B)
112	114801	transmembrane protein 200A(TMEM200A)

113	283537	solute carrier family 46 member 3(SLC46A3)
114	3581	interleukin 9 receptor(IL9R)
115	11251	prostaglandin D2 receptor 2(PTGDR2)
116	400120	serine rich and transmembrane domain containing 1(SERTM1)
117	25823	tryptase gamma 1(TPSG1)
118	390148	olfactory receptor family 5 subfamily W member 2(OR5W2)
119	338755	olfactory receptor family 2 subfamily AG member 2(OR2AG2)
120	255919	CTD nuclear envelope phosphatase 1 regulatory subunit 1(CNEP1R1)
121	3572	interleukin 6 signal transducer(IL6ST)
122	387836	C-type lectin domain family 2 member A(CLEC2A)
123	221395	adhesion G protein-coupled receptor F5(ADGRF5)
124	221393	adhesion G protein-coupled receptor F4(ADGRF4)
125	219858	olfactory receptor family 8 subfamily B member 12(OR8B12)
126	252839	transmembrane protein 9(TMEM9)
127	25807	rhomboid domain containing 3(RHBDD3)
128	3563	interleukin 3 receptor subunit alpha(IL3RA)
129	219854	transmembrane protein 218(TMEM218)
130	11230	PRA1 domain family member 2(PRAF2)
131	147744	transmembrane protein 190(TMEM190)
132	284266	sialic acid binding Ig like lectin 15(SIGLEC15)
133	23484	leptin receptor overlapping transcript-like 1(LEPROTL1)
134	143903	layilin(LAYN)
135	1240	chemerin chemokine-like receptor 1(CMKLR1)
136	126259	transmembrane and immunoglobulin domain containing 2(TMIGD2)
137	27315	post-GPI attachment to proteins 2(PGAP2)
138	140823	reactive oxygen species modulator 1(ROMO1)
139	169200	transmembrane protein 64(TMEM64)
140	23467	neuronal pentraxin receptor(NPTXR)
141	151556	G protein-coupled receptor 155(GPR155)
142	392390	olfactory receptor family 1 subfamily L member 6(OR1L6)
143	347902	adhesion molecule with Ig like domain 2(AMIGO2)
144	253559	cell adhesion molecule 2(CADM2)
145	283471	transmembrane protease, serine 12(TMPRSS12)
146	200634	keratinocyte associated protein 3(KRTCAP3)
147	3514	immunoglobulin kappa constant(IGKC)
148	145407	chromosome 14 open reading frame 37(C14orf37)
149	1209	CLPTM1, transmembrane protein(CLPTM1)
150	283464	glucoside xylosyltransferase 1(GXYLT1)
151	440699	leucine rich repeat containing 52(LRRC52)

152	2741	glycine receptor alpha 1(GLRA1)
153	113189	carbohydrate sulfotransferase 14(CHST14)
154	392376	olfactory receptor family 13 subfamily C member 2(OR13C2)
155	116255	monoacylglycerol O-acyltransferase 1(MOGAT1)
156	1203	ceroid-lipofuscinosis, neuronal 5(CLN5)
157	433	asialoglycoprotein receptor 2(ASGR2)
158	23443	solute carrier family 35 member A3(SLC35A3)
159	3495	immunoglobulin heavy constant delta(IGHD)
160	390063	olfactory receptor family 51 subfamily I member 1(OR51I1)
161	145389	solute carrier family 38 member 6(SLC38A6)
162	344807	CD200 receptor 1 like(CD200R1L)
163	147685	chromosome 19 open reading frame 18(C19orf18)
164	26496	olfactory receptor family 10 subfamily A member 3(OR10A3)
165	1951	cadherin EGF LAG seven-pass G-type receptor 3(CELSR3)
166	1949	ephrin B3(EFNB3)
167	414	arylsulfatase D(ARSD)
168	343263	myosin binding protein H like(MYBPHL)
169	1947	ephrin B1(EFNB1)
170	255057	CACN beta subunit associated regulatory protein(CBARP)
171	4247	mannosyl (alpha-1,6-)-glycoprotein beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase(MGAT2)
172	388512	C-type lectin domain family 17 member A(CLEC17A)
173	128497	spermatogenesis associated 25(SPATA25)
174	222068	transmembrane p24 trafficking protein 4(TMED4)
175	347088	adhesion G protein-coupled receptor D2(ADGRD2)
176	4238	microfibrillar associated protein 3(MFAP3)
177	11141	interleukin 1 receptor accessory protein like 1(IL1RAPL1)
178	137695	transmembrane protein 68(TMEM68)
179	255043	transmembrane protein 86B(TMEM86B)
180	27239	G protein-coupled receptor 162(GPR162)
181	2693	growth hormone secretagogue receptor(GHSR)
182	3454	interferon alpha and beta receptor subunit 1(IFNAR1)
183	11122	protein tyrosine phosphatase, receptor type T(PTPRT)
184	255027	MPV17 mitochondrial inner membrane protein like(MPV17L)
185	2681	glycoprotein, alpha-galactosyltransferase 1 pseudogene(GGTA1P)
186	1146	cholinergic receptor nicotinic gamma subunit(CHRNG)
187	23385	nicastrin(NCSTN)

188	1909	endothelin receptor type A(EDNRA)
189	120793	olfactory receptor family 56 subfamily A member 4(OR56A4)
190	2674	GDNF family receptor alpha 1(GFRA1)
191	1138	cholinergic receptor nicotinic alpha 5 subunit(CHRNA5)
192	24146	claudin 15(CLDN15)
193	353189	solute carrier organic anion transporter family member 4C1(SLCO4C1)
194	1903	sphingosine-1-phosphate receptor 3(S1PR3)
195	150696	prominin 2(PROM2)
196	360	aquaporin 3 (Gill blood group)(AQP3)
197	10329	transmembrane protein 5(TMEM5)
198	27201	G protein-coupled receptor 78(GPR78)
199	441381	leucine rich repeat containing 24(LRRC24)
200	2651	glucosaminyl (N-acetyl) transferase 2, I-branching enzyme (I blood group)(GCNT2)
201	140707	BRI3 binding protein(BRI3BP)
202	284129	solute carrier family 26 member 11(SLC26A11)
203	400709	sialic acid binding Ig like lectin 16 (gene/pseudogene)(SIGLEC16)
204	116151	family with sequence similarity 210 member B(FAM210B)
205	202052	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C18(DNAJC18)
206	146059	codanin 1(CDAN1)
207	4159	melanocortin 3 receptor(MC3R)
208	152189	CKLF like MARVEL transmembrane domain containing 8(CMTM8)
209	116135	leucine rich repeat containing 3B(LRRC3B)
210	199731	cell adhesion molecule 4(CADM4)
211	165215	family with sequence similarity 171 member B(FAM171B)
212	11046	solute carrier family 35 member D2(SLC35D2)
213	11041	beta-1,4-glucuronyltransferase 1(B4GAT1)
214	115352	Fc receptor like 3(FCRL3)
215	1834	dentin sialophosphoprotein(DSPP)
216	131450	CD200 receptor 1(CD200R1)
217	388394	reprimin like(RPRML)
218	203547	VMA21 vacuolar H ⁺ -ATPase homolog (<i>S. cerevisiae</i>)(VMA21)
219	1826	DS cell adhesion molecule(DSCAM)
220	3359	5-hydroxytryptamine receptor 3A(HTR3A)
221	1823	desmocollin 1(DSC1)
222	3354	5-hydroxytryptamine receptor 1E(HTR1E)
223	11024	leukocyte immunoglobulin like receptor A1(LILRA1)

224	3351	5-hydroxytryptamine receptor 1B(HTR1B)
225	347731	leucine rich repeat transmembrane neuronal 3(LRRTM3)
226	284069	family with sequence similarity 171 member A2(FAM171A2)
227	285601	G protein-coupled receptor 150(GPR150)
228	26355	family with sequence similarity 162 member A(FAM162A)
229	285598	ADP ribosylation factor like GTPase 10(ARL10)
230	121457	IKBKB interacting protein(IKBIP)
231	353091	retinoic acid early transcript 1G(RAET1G)
232	116085	solute carrier family 22 member 12(SLC22A12)
233	27112	family with sequence similarity 155 member B(FAM155B)
234	2567	gamma-aminobutyric acid type A receptor gamma3 subunit(GABRG3)
235	1798	dolichyl-phosphate N-acetylglucosaminophosphotransferase 1(DPAGT1)
236	2563	gamma-aminobutyric acid type A receptor delta subunit(GABRD)
237	116844	leucine rich alpha-2-glycoprotein 1(LRG1)
238	26338	olfactory receptor family 5 subfamily L member 2(OR5L2)
239	135250	retinoic acid early transcript 1E(RAET1E)
240	127579	DC-STAMP domain containing 2(DCST2)
241	251	alkaline phosphatase, placental like 2(ALPPL2)
242	389118	cadherin related family member 4(CDHR4)
243	4074	mannose-6-phosphate receptor, cation dependent(M6PR)
244	4072	epithelial cell adhesion molecule(EPCAM)
245	124491	transmembrane protein 170A(TMEM170A)
246	126792	beta-1,3-galactosyltransferase 6(B3GALT6)
247	4070	tumor-associated calcium signal transducer 2(TACSTD2)
248	165140	oxoeicosanoid receptor 1(OXER1)
249	388335	transmembrane protein 220(TMEM220)
250	27075	tetraspanin 13(TSPAN13)
251	26301	globoside alpha-1,3-N-acetylgalactosaminyltransferase 1(GBGT1)
252	130612	transmembrane protein 198(TMEM198)
253	23231	SEL1L family member 3(SEL1L3)
254	389090	olfactory receptor family 6 subfamily B member 2(OR6B2)
255	4055	lymphotoxin beta receptor(LTBR)
256	254863	transmembrane protein 256(TMEM256)
257	408263	fibronectin type III domain containing 9(FNDC9)
258	140578	chondrolectin(CHODL)
259	283238	solute carrier family 22 member 24(SLC22A24)

260	23225	nucleoporin 210(NUP210)
261	214	activated leukocyte cell adhesion molecule(ALCAM)
262	4045	limbic system-associated membrane protein(LSAMP)
263	151306	G protein-coupled bile acid receptor 1(GPBAR1)
264	339221	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 7(ENPP7)
265	201158	trans-golgi network vesicle protein 23 homolog C(TVP23C)
266	100130519	transmembrane protein 221(TMEMP221)
267	4037	LDL receptor related protein 3(LRP3)
268	126755	leucine rich repeat containing 38(LRRC38)
269	151295	solute carrier family 23 member 3(SLC23A3)
270	338442	hydroxycarboxylic acid receptor 2(HCAR2)
271	125981	alkaline ceramidase 1(ACER1)
272	124446	transmembrane protein 219(TMEMP219)
273	112936	VPS26, retromer complex component B(VPS26B)
274	10158	PDZK1 interacting protein 1(PDZK1IP1)
275	187	apelin receptor(APLNR)
276	117532	transmembrane channel like 2(TMC2)
277	389816	leucine rich repeat containing 26(LRRC26)
278	386746	MAS related GPR family member G(MRGPRG)
279	121364	olfactory receptor family 10 subfamily A member 7(OR10A7)
280	10908	patatin like phospholipase domain containing 6(PNPLA6)
281	26248	olfactory receptor family 2 subfamily K member 2(OR2K2)
282	220296	hepatic and glial cell adhesion molecule(HEPACAM)
283	120586	olfactory receptor family 8 subfamily I member 2(OR8I2)
284	348378	family with sequence similarity 159 member A(FAM159A)
285	135152	beta-1,3-glucuronyltransferase 2(B3GAT2)
286	389791	PTGES2 antisense RNA 1 (head to head)(PTGES2-AS1)
287	153	adrenoceptor beta 1(ADRB1)
288	10888	G protein-coupled receptor 83(GPR83)
289	10887	prokineticin receptor 1(PROKR1)
290	125170	mitochondrial elongation factor 2(MIEF2)
291	147	adrenoceptor alpha 1B(ADRA1B)
292	283162	olfactory receptor family 8 subfamily B member 4 (gene/pseudogene)(OR8B4)
293	136	adenosine A2b receptor(ADORA2B)
294	10099	tetraspanin 3(TSPAN3)
295	100131211	nuclear envelope integral membrane protein 2(NEMP2)
296	10098	tetraspanin 5(TSPAN5)

297	219487	olfactory receptor family 5 subfamily M member 11(OR5M11)
298	10861	solute carrier family 26 member 1(SLC26A1)
299	219484	olfactory receptor family 5 subfamily M member 8(OR5M8)
300	23129	plexin D1(PLXND1)
301	123606	non imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome 1(NIPA1)
302	441911	olfactory receptor family 10 subfamily J member 3(OR10J3)
303	123591	transmembrane protein 266(TMEM266)
304	158866	zinc finger DHHC-type containing 15(ZDHHC15)
305	23105	folliculin like 4(FSTL4)
306	26173	integrator complex subunit 1(INTS1)
307	151188	ADP ribosylation factor like GTPase 6 interacting protein 6(ARL6IP6)
308	219447	olfactory receptor family 5 subfamily AS member 1(OR5AS1)
309	283870	BRICHOS domain containing 5(BRICD5)
310	28457	immunoglobulin heavy variable 2-5(IGHV2-5)
311	29988	solute carrier family 2 member 8(SLC2A8)
312	143502	olfactory receptor family 52 subfamily I member 2(OR52I2)
313	283093	olfactory receptor family 4 subfamily C member 12(OR4C12)
314	23080	AVL9 cell migration associated(AVL9)
315	3136	major histocompatibility complex, class I, H (pseudogene)(HLA-H)
316	3902	lymphocyte activating 3(LAG3)
317	134285	transmembrane protein 171(TMEM171)
318	286148	dpy-19 like 4 (C. elegans)(DPY19L4)
319	284613	cytochrome b561 family member D1(CYB561D1)
320	259295	taste 2 receptor member 20(TAS2R20)
321	259294	taste 2 receptor member 19(TAS2R19)
322	26123	tectonic family member 3(TCTN3)
323	29956	ceramide synthase 2(CERS2)
324	342125	transmembrane channel like 3(TMC3)
325	253152	epoxide hydrolase 4(EPHX4)
326	41	acid sensing ion channel subunit 1(ASIC1)
327	121227	leucine rich repeats and immunoglobulin like domains 3(LRIG3)
328	390439	olfactory receptor family 11 subfamily G member 2(OR11G2)

329	10004	N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase like 1(NAALADL1)
330	10003	N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase 2(NAALAD2)
331	28	ABO blood group (transferase A, alpha 1-3-N-acetylgalactosaminyltransferase; transferase B, alpha 1-3-galactosyltransferase)(ABO)
332	113540	CKLF like MARVEL transmembrane domain containing 1(CMTM1)
333	151887	coiled-coil domain containing 80(CCDC80)
334	29933	G protein-coupled receptor 132(GPR132)
335	2321	fms related tyrosine kinase 1(FLT1)
336	122740	olfactory receptor family 4 subfamily K member 14(OR4K14)
337	124274	G protein-coupled receptor 139(GPR139)
338	142680	solute carrier family 34 member 3(SLC34A3)
339	342865	V-set and transmembrane domain containing 2B(VSTM2B)
340	29928	translocase of inner mitochondrial membrane 22(TIMM22)
341	405754	endogenous retrovirus group FRD member 1(ERVFRD-1)
342	29923	hypoxia inducible lipid droplet associated(HILPDA)
343	404217	cortixin 1(CTXN1)
344	200959	gamma-aminobutyric acid type A receptor rho3 subunit (gene/pseudogene)(GABRR3)
345	4604	myosin binding protein C, slow type(MYBPC1)
Gene Group 36		Enrichment Score: 0.49
1	134548	sosondowah ankyrin repeat domain family member A(SOWAHA)
2	26287	ankyrin repeat domain 2(ANKRD2)
3	140459	ankyrin repeat and SOCS box containing 6(ASB6)
4	124149	ankyrin repeat domain 26 pseudogene 1(ANKRD26P1)
5	142685	ankyrin repeat and SOCS box containing 15(ASB15)
6	347454	sosondowah ankyrin repeat domain family member D(SOWAHD)
7	283373	ankyrin repeat domain 52(ANKRD52)
8	23243	ankyrin repeat domain 28(ANKRD28)
9	203286	ankyrin repeat and sterile alpha motif domain containing 6(ANKS6)
10	339768	espin-like(ESPNL)
11	286	ankyrin 1(ANK1)
12	26115	tetratricopeptide repeat, ankyrin repeat and coiled-coil containing 2(TANC2)

13	440482	ankyrin repeat domain 20 family member A5, pseudogene(ANKRD20A5P)
14	255239	ankyrin repeat and kinase domain containing 1(ANKK1)
Gene Group 37		Enrichment Score: 0.49
1	4311	membrane metalloendopeptidase(MME)
2	11085	ADAM metallopeptidase domain 30(ADAM30)
3	10004	N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase like 1(NAALADL1)
4	10003	N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase 2(NAALAD2)
5	2028	glutamyl aminopeptidase(ENPEP)
Gene Group 38		Enrichment Score: 0.48
1	2251	fibroblast growth factor 6(FGF6)
2	2250	fibroblast growth factor 5(FGF5)
3	2249	fibroblast growth factor 4(FGF4)
4	2248	fibroblast growth factor 3(FGF3)
5	2256	fibroblast growth factor 11(FGF11)
6	2069	epiregulin(EREG)
Gene Group 39		Enrichment Score: 0.46
1	390790	ADP ribosylation factor like GTPase 5C(ARL5C)
2	127829	ADP ribosylation factor like GTPase 8A(ARL8A)
3	148252	DIRAS family GTPase 1(DIRAS1)
4	142684	RAB40A, member RAS oncogene family(RAB40A)
5	28512	NFKB inhibitor interacting Ras like 1(NKIRAS1)
6	171177	ras homolog family member V(RHOV)
7	376267	RAB15, member RAS oncogene family(RAB15)
8	4218	RAB8A, member RAS oncogene family(RAB8A)
9	400	ADP ribosylation factor like GTPase 1(ARL1)
10	25837	RAB26, member RAS oncogene family(RAB26)
11	285598	ADP ribosylation factor like GTPase 10(ARL10)
12	11021	RAB35, member RAS oncogene family(RAB35)
13	22931	RAB18, member RAS oncogene family(RAB18)
14	391	ras homolog family member G(RHOG)
15	3266	ES cell expressed Ras(ERAS)
Gene Group 40		Enrichment Score: 0.45
1	1845	dual specificity phosphatase 3(DUSP3)
2	11072	dual specificity phosphatase 14(DUSP14)
3	1852	dual specificity phosphatase 9(DUSP9)

4	26469	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 18(PTPN18)
Gene Group 41		Enrichment Score: 0.43
1	4311	membrane metalloendopeptidase(MME)
2	27299	ADAM like decysin 1(ADAMDEC1)
3	11085	ADAM metallopeptidase domain 30(ADAM30)
4	170692	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 18(ADAMTS18)
5	102	ADAM metallopeptidase domain 10(ADAM10)
6	101	ADAM metallopeptidase domain 8(ADAM8)
Gene Group 42		Enrichment Score: 0.39
1	259232	sodium leak channel, non-selective(NALCN)
2	3770	potassium voltage-gated channel subfamily J member 14(KCNJ14)
3	3746	potassium voltage-gated channel subfamily C member 1(KCNC1)
4	3768	potassium voltage-gated channel subfamily J member 12(KCNJ12)
5	3765	potassium voltage-gated channel subfamily J member 9(KCNJ9)
6	3788	potassium voltage-gated channel modifier subfamily S member 2(KCNS2)
7	3786	potassium voltage-gated channel subfamily Q member 3(KCNQ3)
8	3761	potassium voltage-gated channel subfamily J member 4(KCNJ4)
9	145389	solute carrier family 38 member 6(SLC38A6)
10	152519	NIPA like domain containing 1(NIPAL1)
11	10861	solute carrier family 26 member 1(SLC26A1)
12	123606	non imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome 1(NIPA1)
13	117532	transmembrane channel like 2(TMC2)
14	147798	transmembrane channel like 4(TMC4)
15	342125	transmembrane channel like 3(TMC3)
Gene Group 43		Enrichment Score: 0.38
1	116135	leucine rich repeat containing 3B(LRRC3B)
2	389816	leucine rich repeat containing 26(LRRC26)
3	126755	leucine rich repeat containing 38(LRRC38)
4	255252	leucine rich repeat containing 57(LRRC57)
5	10333	toll like receptor 6(TLR6)

6	1634	decorin(DCN)
7	23768	fibronectin leucine rich transmembrane protein 2(FLRT2)
8	440699	leucine rich repeat containing 52(LRRC52)
9	347731	leucine rich repeat transmembrane neuronal 3(LRRTM3)
10	202500	t-complex-associated-testis-expressed 1(TCTE1)
11	116064	leucine rich repeat containing 58(LRRC58)
12	115353	leucine rich repeat containing 42(LRRC42)
13	121227	leucine rich repeats and immunoglobulin like domains 3(LRIG3)
14	126206	NLR family pyrin domain containing 5(NLRP5)
15	347902	adhesion molecule with Ig like domain 2(AMIGO2)
16	401387	leucine rich repeats and death domain containing 1(LRRD1)
17	197358	NLR family CARD domain containing 3(NLRC3)
18	122769	leucine rich repeat protein 1(LRR1)
19	441381	leucine rich repeat containing 24(LRRC24)
20	116844	leucine rich alpha-2-glycoprotein 1(LRG1)
Gene Group 44		Enrichment Score: 0.37
1	1519	cathepsin O(CTSO)
2	1991	elastase, neutrophil expressed(ELANE)
3	377047	protease, serine 45(PRSS45)
4	283471	transmembrane protease, serine 12(TMPRSS12)
5	1511	cathepsin G(CTSG)
6	140686	WAP four-disulfide core domain 3(WFDC3)
7	23452	angiopoietin like 2(ANGPTL2)
8	1504	chymotrypsinogen B1(CTRB1)
9	25823	tryptase gamma 1(TPSG1)
10	11098	protease, serine 23(PRSS23)
11	26577	procollagen C-endopeptidase enhancer 2(PCOLCE2)
12	284402	secretoglobin family 2B member 2(SCGB2B2)
13	347862	Parkinson disease 7 domain containing 1(PDDC1)
14	23436	chymotrypsin like elastase family member 3B(CELA3B)
15	23430	tryptase delta 1(TPSD1)
16	389558	family with sequence similarity 180 member A(FAM180A)
17	118427	olfactomedin 3(OLFM3)
18	124220	zymogen granule protein 16B(ZG16B)
19	10218	angiopoietin like 7(ANGPTL7)
20	200879	lipase H(LIPH)
21	131149	otolin 1(OTOL1)
22	10875	fibrinogen like 2(FGL2)
23	3083	HGF activator(HGFAC)
24	140832	WAP four-disulfide core domain 10A(WFDC10A)

25	359710	BPI fold containing family B member 3(BPIFB3)
26	11247	neurexophilin 4(NXP4)
27	169611	olfactomedin like 2A(OLFML2A)
28	2219	ficolin 1(FCN1)
29	113177	IZUMO family member 4(IZUMO4)
30	284366	kallikrein related peptidase 9(KLK9)
31	29952	dipeptidyl peptidase 7(DPP7)
32	284361	ER membrane protein complex subunit 10(EMC10)
33	23491	carboxylesterase 3(CES3)
34	24147	four jointed box 1(FJX1)
35	10086	HERV-H LTR-associating 1(HHLA1)
36	118670	family with sequence similarity 24 member A(FAM24A)
37	10747	mannan binding lectin serine peptidase 2(MASP2)
38	3240	haptoglobin(HP)
39	3426	complement factor I(CFI)
40	196463	phospholipase B domain containing 2(PLBD2)
41	253935	angiopoietin like 5(ANGPTL5)
Gene Group 45		Enrichment Score: 0.36
1	23403	F-box protein 46(FBXO46)
2	26273	F-box protein 3(FBXO3)
3	254170	F-box protein 33(FBXO33)
4	26224	F-box and leucine rich repeat protein 3(FBXL3)
Gene Group 46		Enrichment Score: 0.31
1	1608	diacylglycerol kinase gamma(DGKG)
2	1607	diacylglycerol kinase beta(DGKB)
3	25801	grancalcin(GCA)
4	29957	solute carrier family 25 member 24(SLC25A24)
5	158158	RAS and EF-hand domain containing(RASEF)
6	1068	centrin 1(CETN1)
7	221154	mitochondrial calcium uptake 2(MICU2)
8	140465	myosin light chain 6B(MYL6B)
9	286097	mitochondrial calcium uptake family member 3(MICU3)
Gene Group 47		Enrichment Score: 0.3
1	10761	placenta specific 1(PLAC1)
2	118670	family with sequence similarity 24 member A(FAM24A)
3	390940	phospholipase A2 inhibitor and LY6/PLAUR domain containing(PINLYP)
4	253935	angiopoietin like 5(ANGPTL5)
5	1446	casein alpha s1(CSN1S1)
6	3700	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain family member 4(ITIH4)

7	254773	lysozyme g2(LYG2)
8	117579	relaxin 3(RLN3)
9	441549	cerebral dopamine neurotrophic factor(CDNF)
10	245934	defensin beta 121(DEFB121)
11	2797	gonadotropin releasing hormone 2(GNRH2)
12	27189	interleukin 17C(IL17C)
13	140881	defensin beta 129(DEFB129)
14	389558	family with sequence similarity 180 member A(FAM180A)
15	140832	WAP four-disulfide core domain 10A(WFDC10A)
16	10218	angiopoietin like 7(ANGPTL7)
17	140686	WAP four-disulfide core domain 3(WFDC3)
18	140870	WAP four-disulfide core domain 6(WFDC6)
19	285016	family with sequence similarity 150 member B(FAM150B)
20	284402	secretoglobin family 2B member 2(SCGB2B2)
21	113177	IZUMO family member 4(IZUMO4)
Gene Group 48		Enrichment Score: 0.23
1	3859	keratin 12(KRT12)
2	3891	keratin 85(KRT85)
3	3890	keratin 84(KRT84)
4	25900	intermediate filament family orphan 1(IFFO1)
5	3884	keratin 33B(KRT33B)
6	192666	keratin 24(KRT24)
Gene Group 49		Enrichment Score: 0.06
1	161436	echinoderm microtubule associated protein like 5(EML5)
2	197335	WD repeat domain 90(WDR90)
3	10552	actin related protein 2/3 complex subunit 1A(ARPC1A)
4	23291	F-box and WD repeat domain containing 11(FBXW11)
5	26118	WD repeat and SOCS box containing 1(WSB1)
6	149465	cilia and flagella associated protein 57(CFAP57)
7	29888	striatin 4(STRN4)
8	23218	neurobeachin like 2(NBEAL2)
9	1477	cleavage stimulation factor subunit 1(CSTF1)
10	11137	PWP1 homolog, endonuclease(PWP1)
11	11180	WD repeat domain 6(WDR6)
12	2784	G protein subunit beta 3(GNB3)
13	126248	WD repeat domain 88(WDR88)

Tabelle 50

Türkises Modul Teil 2:

Gene Group 1		Enrichment Score: 12.55
1	54939	COMM domain containing 4(COMMD4)
2	54985	host cell factor C1 regulator 1(HCFC1R1)
3	64431	ARP6 actin-related protein 6 homolog(ACR6)
4	8498	RAN binding protein 3(RANBP3)
5	51501	Hikeshi, heat shock protein nuclear import factor(HIKESHI)
6	5204	prefoldin subunit 5(PFDN5)
7	55916	nuclear transport factor 2 like export factor 2(NXT2)
8	8539	apoptosis inhibitor 5(API5)
9	51213	leucine zipper protein 4(LUZP4)
10	79833	gem nuclear organelle associated protein 6(GEMIN6)
11	51068	NMD3 ribosome export adaptor(NMD3)
12	51397	COMM domain containing 10(COMMD10)
13	84955	NudC domain containing 1(NUDCD1)
14	84296	GINS complex subunit 4(GINS4)
15	51441	YTH N6-methyladenosine RNA binding protein 2(YTHDF2)
16	90355	chromosome 5 open reading frame 30(C5orf30)
17	84808	PPARGC1 and ESRR induced regulator, muscle 1(PERM1)
18	54540	family with sequence similarity 193 member B(FAM193B)
19	55291	protein phosphatase 6 regulatory subunit 3(PPP6R3)
20	8991	selenium binding protein 1(SELENBP1)
21	54906	family with sequence similarity 208 member B(FAM208B)
22	50628	gem nuclear organelle associated protein 4(GEMIN4)
23	84138	solute carrier family 7 member 6 opposite strand(SLC7A6OS)
24	79719	alpha- and gamma-adaptin binding protein(AAGAB)
25	9592	immediate early response 2(IER2)
26	79763	isochorismatase domain containing 2(ISOC2)
27	51608	golgi to ER traffic protein 4(GET4)
28	79760	gem nuclear organelle associated protein 7(GEMIN7)
Gene Group 2		Enrichment Score: 12.36
1	8214	DiGeorge syndrome critical region gene 6(DGCR6)
2	9147	nuclear export mediator factor(NEMF)
3	9552	sperm associated antigen 7(SPAG7)

4	54540	family with sequence similarity 193 member B(FAM193B)
Gene Group 3		Enrichment Score: 9.77
1	51213	leucine zipper protein 4(LUZP4)
2	50628	gem nuclear organelle associated protein 4(GEMIN4)
3	51013	exosome component 1(EXOSC1)
4	51441	YTH N6-methyladenosine RNA binding protein 2(YTHDF2)
5	55421	nuclear cap binding subunit 3(NCBP3)
6	57532	NUFIP2, FMR1 interacting protein 2(NUFIP2)
7	84271	DNA polymerase delta interacting protein 3(POLDIP3)
8	79882	zinc finger CCCH-type containing 14(ZC3H14)
Gene Group 4		Enrichment Score: 8.6
1	83540	NUF2, NDC80 kinetochore complex component(NUF2)
2	51530	zinc finger C3HC-type containing 1(ZC3HC1)
3	55038	cell division cycle associated 4(CDCA4)
4	51550	cyclin dependent kinase 2 interacting protein(CINP)
Gene Group 5		Enrichment Score: 8.15
1	55571	CCR4-NOT transcription complex subunit 11(CNOT11)
2	50628	gem nuclear organelle associated protein 4(GEMIN4)
3	55090	mediator complex subunit 9(MED9)
4	84441	mastermind like transcriptional coactivator 2(MAML2)
5	7110	TATA element modulatory factor 1(TMF1)
6	8725	URI1, prefoldin like chaperone(URI1)
7	9580	SRY-box 13(SOX13)
8	55082	arginine and glutamate rich 1(ARGLU1)
9	51377	ubiquitin C-terminal hydrolase L5(UCHL5)
10	54891	INO80 complex subunit D(INO80D)
11	80063	activating transcription factor 7 interacting protein 2(ATF7IP2)
12	84717	hepatoma-derived growth factor-related protein 2(HDGFRP2)
13	84808	PPARGC1 and ESRR induced regulator, muscle 1(PERM1)
14	84330	zinc finger protein 414(ZNF414)
15	57727	nuclear receptor coactivator 5(NCOA5)
16	84232	MAF1 homolog, negative regulator of RNA polymerase III(MAF1)
17	55635	DEP domain containing 1(DEPDC1)
18	84324	SAP domain containing ribonucleoprotein(SARNP)
19	55536	cell division cycle associated 7 like(CDCA7L)

20	53635	prostate tumor overexpressed 1(PTOV1)
21	80709	AT-hook transcription factor(AKNA)
22	83463	MAX dimerization protein 3(MXD3)
23	85457	CLOCK interacting pacemaker(CIPC)
24	9643	mortality factor 4 like 2(MORF4L2)
25	84313	vacuolar protein sorting 25 homolog(VPS25)
26	51535	periphilin 1(PPHLN1)
27	8880	far upstream element binding protein 1(FUBP1)
28	9541	corepressor interacting with RBPJ, 1(CIR1)
29	55893	zinc finger protein 395(ZNF395)
30	54939	COMM domain containing 4(COMMD4)
31	57215	THAP domain containing 11(THAP11)
32	79913	ARP5 actin-related protein 5 homolog(ACTR5)
33	8848	TSC22 domain family member 1(TSC22D1)
34	54540	family with sequence similarity 193 member B(FAM193B)
35	6944	vacuolar protein sorting 72 homolog(VPS72)
36	51593	serrate, RNA effector molecule(SRRT)
37	9603	nuclear factor, erythroid 2 like 3(NFE2L3)
38	5990	regulatory factor X2(RFX2)
39	51397	COMM domain containing 10(COMMD10)
40	5036	proliferation-associated 2G4(PA2G4)
41	54531	MIER family member 2(MIER2)
42	81606	limb bud and heart development(LBH)
43	6936	GC-rich sequence DNA-binding factor 2(GCFC2)
Gene Group 6		Enrichment Score: 7.81
1	79848	centrosome and spindle pole associated protein 1(CSPP1)
2	653784	mitotic spindle organizing protein 2A(MZT2A)
3	55700	MAP7 domain containing 1(MAP7D1)
4	57701	NCK associated protein 5 like(NCKAP5L)
5	57664	pleckstrin homology domain containing A4(PLEKHA4)
6	54540	family with sequence similarity 193 member B(FAM193B)
7	56243	KIAA1217(KIAA1217)
Gene Group 7		Enrichment Score: 7.78
1	91107	tripartite motif containing 47(TRIM47)
2	54815	GATA zinc finger domain containing 2A(GATAD2A)
3	55596	zinc finger CCHC-type containing 8(ZCCHC8)
4	54540	family with sequence similarity 193 member B(FAM193B)

5	64207	interferon regulatory factor 2 binding protein like(IRF2BPL)
6	79871	RNA polymerase II associated protein 2(RPAP2)
Gene Group 8		Enrichment Score: 7.54
1	79142	PHD finger protein 23(PHF23)
2	51538	zinc finger CCHC-type containing 17(ZCCHC17)
3	55596	zinc finger CCHC-type containing 8(ZCCHC8)
4	5930	RB binding protein 6, ubiquitin ligase(RBBP6)
5	79882	zinc finger CCCH-type containing 14(ZC3H14)
Gene Group 9		Enrichment Score: 6.28
1	5202	prefoldin subunit 2(PFDN2)
2	7411	VHL binding protein 1(VBP1)
3	5204	prefoldin subunit 5(PFDN5)
4	5203	prefoldin subunit 4(PFDN4)
Gene Group 10		Enrichment Score: 6.21
1	79003	MIS12, kinetochore complex component(MIS12)
2	6990	dynein light chain Tctex-type 3(DYNLT3)
3	55726	asunder, spermatogenesis regulator(ASUN)
4	93323	HAUS augmin like complex subunit 8(HAUS8)
5	55165	centrosomal protein 55(CEP55)
6	54820	nudE neurodevelopment protein 1(NDE1)
7	55142	HAUS augmin like complex subunit 2(HAUS2)
8	79980	DSN1 homolog, MIS12 kinetochore complex component(DSN1)
9	54908	spindle apparatus coiled-coil protein 1(SPDL1)
10	54930	HAUS augmin like complex subunit 4(HAUS4)
11	9183	zw10 kinetochore protein(ZW10)
12	55320	MIS18 binding protein 1(MIS18BP1)
13	83540	NUF2, NDC80 kinetochore complex component(NUF2)
Gene Group 11		Enrichment Score: 6.04
1	55127	HEAT repeat containing 1(HEATR1)
2	51077	FCF1 rRNA-processing protein(FCF1)
3	84294	UTP23, small subunit processome component(UTP23)
4	51118	UTP11, small subunit processome component homolog (<i>S. cerevisiae</i>)(UTP11)

Gene Group 12		Enrichment Score: 5.97
1	63893	ubiquitin conjugating enzyme E2 O(UBE2O)
2	79876	ubiquitin like modifier activating enzyme 5(UBA5)
3	51493	RNA 2',3'-cyclic phosphate and 5'-OH ligase(RTCB)
4	7332	ubiquitin conjugating enzyme E2 L3(UBE2L3)
5	7329	ubiquitin conjugating enzyme E2 I(UBE2I)
6	55284	ubiquitin conjugating enzyme E2 W (putative)(UBE2W)
7	65264	ubiquitin conjugating enzyme E2 Z(UBE2Z)
8	7324	ubiquitin conjugating enzyme E2 E1(UBE2E1)
9	9807	inositol hexakisphosphate kinase 1(IP6K1)
10	51619	ubiquitin conjugating enzyme E2 D4 (putative)(UBE2D4)
Gene Group 13		Enrichment Score: 5.96
1	56902	partner of NOB1 homolog(PNO1)
2	4858	NOVA alternative splicing regulator 2(NOVA2)
3	8880	far upstream element binding protein 1(FUBP1)
4	5094	poly(rC) binding protein 2(PCBP2)
5	8570	KH-type splicing regulatory protein(KHSRP)
Gene Group 14		Enrichment Score: 5.88
1	64431	ARP6 actin-related protein 6 homolog(ACTR6)
2	84517	actin related protein T3(ACTRT3)
3	57180	ARP3 actin related protein 3 homolog B(ACTR3B)
4	55860	actin-related protein 10 homolog(ACTR10)
Gene Group 15		Enrichment Score: 5.76
1	51160	VPS28, ESCRT-I subunit(VPS28)
2	51699	VPS29, retromer complex component(VPS29)
3	89853	multivesicular body subunit 12B(MVB12B)
4	8991	selenium binding protein 1(SELENBP1)
5	9559	VPS26, retromer complex component A(VPS26A)
Gene Group 16		Enrichment Score: 5.73
1	84271	DNA polymerase delta interacting protein 3(POLDIP3)
2	8761	poly(A) binding protein cytoplasmic 4(PABPC4)
3	54502	RNA binding motif protein 47(RBM47)
4	6431	serine and arginine rich splicing factor 6(SRSF6)
5	6430	serine and arginine rich splicing factor 5(SRSF5)
6	7073	TIA1 cytotoxic granule associated RNA binding protein like 1(TIAL1)
7	8683	serine and arginine rich splicing factor 9(SRSF9)

8	7072	TIA1 cytotoxic granule associated RNA binding protein(TIA1)
9	8106	poly(A) binding protein nuclear 1(PABPN1)
10	55323	La ribonucleoprotein domain family member 6(LARP6)
11	64062	RNA binding motif protein 26(RBM26)
12	5939	RNA binding motif single stranded interacting protein 2(RBMS2)
13	6625	small nuclear ribonucleoprotein U1 subunit 70(SNRNP70)
Gene Group 17		Enrichment Score: 5.64
1	9470	eukaryotic translation initiation factor 4E family member 2(EIF4E2)
2	8664	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit D(EIF3D)
3	51386	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit L(EIF3L)
4	8662	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B(EIF3B)
5	8669	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit J(EIF3J)
6	7458	eukaryotic translation initiation factor 4H(EIF4H)
7	8668	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I(EIF3I)
Gene Group 18		Enrichment Score: 5.6
1	57528	potassium channel tetramerization domain containing 16(KCTD16)
2	51133	potassium channel tetramerization domain containing 3(KCTD3)
3	54793	potassium channel tetramerization domain containing 9(KCTD9)
4	79047	potassium channel tetramerization domain containing 15(KCTD15)
Gene Group 19		Enrichment Score: 5.38
1	9580	SRY-box 13(SOX13)
2	83463	MAX dimerization protein 3(MXD3)
3	7181	nuclear receptor subfamily 2 group C member 1(NR2C1)
4	4782	nuclear factor I C(NFIC)
5	5813	purine rich element binding protein A(PURA)
6	6936	GC-rich sequence DNA-binding factor 2(GCFC2)
7	7029	transcription factor Dp-2(TFDP2)
8	5993	regulatory factor X5(RFX5)
9	7027	transcription factor Dp-1(TFDP1)
10	79733	E2F transcription factor 8(E2F8)

11	5990	regulatory factor X2(RFX2)
12	7022	transcription factor AP-2 gamma(TFAP2C)
13	9935	MAF bZIP transcription factor B(MAFB)
14	9603	nuclear factor, erythroid 2 like 3(NFE2L3)
15	80709	AT-hook transcription factor(AKNA)
16	55893	zinc finger protein 395(ZNF395)
17	4802	nuclear transcription factor Y subunit gamma(NFYC)
18	4801	nuclear transcription factor Y subunit beta(NFYB)
19	55090	mediator complex subunit 9(MED9)
20	5452	POU class 2 homeobox 2(POU2F2)
Gene Group 20		Enrichment Score: 5.24
1	54108	chromatin accessibility complex 1(CHRAC1)
2	54107	DNA polymerase epsilon 3, accessory subunit(POLE3)
3	5980	REV3 like, DNA directed polymerase zeta catalytic subunit(REV3L)
4	56655	DNA polymerase epsilon 4, accessory subunit(POLE4)
5	5427	DNA polymerase epsilon 2, accessory subunit(POLE2)
6	5426	DNA polymerase epsilon, catalytic subunit(POLE)
7	5424	DNA polymerase delta 1, catalytic subunit(POLD1)
Gene Group 21		Enrichment Score: 5.13
1	81629	testis specific serine kinase 3(TSSK3)
2	4956	outer dense fiber of sperm tails 1(ODF1)
3	51298	theg spermatid protein(THEG)
4	55815	translin associated factor X interacting protein 1(TSNAXIP1)
5	9724	UTP14, small subunit processome component homolog C (S. cerevisiae)(UTP14C)
Gene Group 22		Enrichment Score: 5.09
1	51177	pleckstrin homology domain containing O1(PLEKHO1)
2	54477	pleckstrin homology domain containing A5(PLEKHA5)
3	59339	pleckstrin homology domain containing A2(PLEKHA2)
4	59338	pleckstrin homology domain containing A1(PLEKHA1)
5	57664	pleckstrin homology domain containing A4(PLEKHA4)
6	7262	pleckstrin homology like domain family A member 2(PHLDA2)
7	55803	ArfGAP with dual PH domains 2(ADAP2)

Gene Group 23		Enrichment Score: 5.05
1	84896	ATPase family, AAA domain containing 1(ATAD1)
2	84056	katanin catalytic subunit A1 like 1(KATNAL1)
3	4931	nuclear VCP-like(NVL)
4	617	BCS1 homolog, ubiquinol-cytochrome c reductase complex chaperone(BCS1L)
5	55210	ATPase family, AAA domain containing 3A(ATAD3A)
Gene Group 24		Enrichment Score: 5.04
1	91607	schlafen family member 11(SLFN11)
2	5982	replication factor C subunit 2(RFC2)
3	5001	origin recognition complex subunit 5(ORC5)
4	5000	origin recognition complex subunit 4(ORC4)
5	4931	nuclear VCP-like(NVL)
6	63922	chromosome transmission fidelity factor 18(CHTF18)
7	81620	chromatin licensing and DNA replication factor 1(CDT1)
8	990	cell division cycle 6(CDC6)
Gene Group 25		Enrichment Score: 4.49
1	8368	histone cluster 1 H4 family member l(HIST1H4L)
2	8294	histone cluster 1 H4 family member i(HIST1H4I)
3	55766	H2A histone family member J(H2AFJ)
4	8338	histone cluster 2 H2A family member c(HIST2H2AC)
5	9555	H2A histone family member Y(H2AFY)
6	8336	histone cluster 1 H2A family member m(HIST1H2AM)
7	55506	H2A histone family member Y2(H2AFY2)
8	8355	histone cluster 1 H3 family member g(HIST1H3G)
9	8353	histone cluster 1 H3 family member e(HIST1H3E)
10	8350	histone cluster 1 H3 family member a(HIST1H3A)
11	8971	H1 histone family member X(H1FX)
Gene Group 26		Enrichment Score: 4.33
1	57122	nucleoporin 107(NUP107)
2	4927	nucleoporin 88(NUP88)
3	55746	nucleoporin 133(NUP133)
4	9818	nucleoporin 58(NUP58)
5	8021	nucleoporin 214(NUP214)
6	81929	SEH1 like nucleoporin(SEH1L)
7	8086	aladin WD repeat nucleoporin(AAAS)

Gene Group 27		Enrichment Score: 4.27
1	5287	phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase catalytic subunit type 2 beta(PIK3C2B)
2	5298	phosphatidylinositol 4-kinase beta(PI4KB)
3	5286	phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase catalytic subunit type 2 alpha(PIK3C2A)
4	5297	phosphatidylinositol 4-kinase alpha(PI4KA)
5	8396	phosphatidylinositol-5-phosphate 4-kinase type 2 beta(PIP4K2B)
6	8395	phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase type 1 beta(PIP5K1B)
Gene Group 28		Enrichment Score: 4.25
1	83694	ribosomal protein S6 kinase like 1(RPS6KL1)
2	9212	aurora kinase B(AURKB)
3	5602	mitogen-activated protein kinase 10(MAPK10)
4	9020	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 14(MAP3K14)
5	5600	mitogen-activated protein kinase 11(MAPK11)
6	5599	mitogen-activated protein kinase 8(MAPK8)
7	8445	dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 2(DYRK2)
8	8536	calcium/calmodulin dependent protein kinase I(CAMK1)
9	5588	protein kinase C theta(PRKCQ)
10	57172	calcium/calmodulin dependent protein kinase IG(CAMK1G)
11	7867	mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 3(MAPKAPK3)
12	5587	protein kinase D1(PRKD1)
13	57551	TAO kinase 1(TAOK1)
14	646643	SH3 domain binding kinase family member 2(SBK2)
15	9943	oxidative stress responsive 1(OXSR1)
16	818	calcium/calmodulin dependent protein kinase II gamma(CAMK2G)
17	9748	STE20 like kinase(SLK)
18	85366	myosin light chain kinase 2(MYLK2)
19	7465	WEE1 G2 checkpoint kinase(WEE1)
20	5563	protein kinase AMP-activated catalytic subunit alpha 2(PRKAA2)
21	6416	mitogen-activated protein kinase kinase 4(MAP2K4)
22	6795	aurora kinase C(AURKC)
23	57143	aarF domain containing kinase 1(ADCK1)
24	9262	serine/threonine kinase 17b(STK17B)

25	6790	aurora kinase A(AURKA)
26	65975	serine/threonine kinase 33(STK33)
27	9448	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4(MAP4K4)
28	50488	misshapen like kinase 1(MINK1)
29	90956	aarF domain containing kinase 2(ADCK2)
30	9064	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 6(MAP3K6)
31	53904	myosin IIIA(MYO3A)
32	80122	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 19(MAP3K19)
33	5261	phosphorylase kinase catalytic subunit gamma 2(PHKG2)
34	701	BUB1 mitotic checkpoint serine/threonine kinase B(BUB1B)
35	983	cyclin dependent kinase 1(CDK1)
36	9149	dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 1B(DYRK1B)
37	5062	p21 (RAC1) activated kinase 2(PAK2)
38	8576	serine/threonine kinase 16(STK16)
39	8859	serine/threonine kinase 19(STK19)
40	81629	testis specific serine kinase 3(TSSK3)
41	6195	ribosomal protein S6 kinase A1(RPS6KA1)
42	57396	CDC like kinase 4(CLK4)
43	55781	RIO kinase 2(RIOK2)
44	65268	WNK lysine deficient protein kinase 2(WNK2)
45	4752	NIMA related kinase 3(NEK3)
46	4751	NIMA related kinase 2(NEK2)
47	51776	sterile alpha motif and leucine zipper containing kinase AZK(ZAK)
48	8550	mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 5(MAPKAPK5)
Gene Group 29		Enrichment Score: 4.19
1	55693	lysine demethylase 4D(KDM4D)
2	7799	PR/SET domain 2(PRDM2)
3	79142	PHD finger protein 23(PHF23)
4	58508	lysine methyltransferase 2C(KMT2C)
5	54556	inhibitor of growth family member 3(ING3)
6	55870	ASH1 like histone lysine methyltransferase(ASH1L)
7	56950	SET and MYND domain containing 2(SMYD2)
8	64324	nuclear receptor binding SET domain protein 1(NSD1)
9	57649	PHD finger protein 12(PHF12)
10	90780	pygopus family PHD finger 2(PYGO2)
11	51111	lysine methyltransferase 5B(KMT5B)

12	55904	lysine methyltransferase 2E(KMT2E)
13	7862	bromodomain and PHD finger containing 1(BRPF1)
14	8284	lysine demethylase 5D(KDM5D)
15	93166	PR/SET domain 6(PRDM6)
16	9739	SET domain containing 1A(SETD1A)
17	9031	bromodomain adjacent to zinc finger domain 1B(BAZ1B)
18	5927	lysine demethylase 5A(KDM5A)
Gene Group 30		Enrichment Score: 4.12
1	5356	pleiotropic regulator 1(PLRG1)
2	6907	transducin beta like 1X-linked(TBL1X)
3	51133	potassium channel tetramerization domain containing 3(KCTD3)
4	83939	eukaryotic translation initiation factor 2A(EIF2A)
5	91833	WD repeat domain 20(WDR20)
6	9391	cytosolic iron-sulfur assembly component 1(CIAO1)
7	55827	DDB1 and CUL4 associated factor 6(DCAF6)
8	7088	transducin like enhancer of split 1(TLE1)
9	84261	F-box and WD repeat domain containing 9(FBXW9)
10	6801	striatin(STRN)
11	89849	autophagy related 16 like 2(ATG16L2)
12	57560	intraflagellar transport 80(IFT80)
13	59345	G protein subunit beta 4(GNB4)
14	7260	tumor suppressing subtransferable candidate 1(TSSC1)
15	55294	F-box and WD repeat domain containing 7(FBXW7)
16	64223	MTOR associated protein, LST8 homolog(MLST8)
17	8668	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I(EIF3I)
18	51343	fizzy/cell division cycle 20 related 1(FZR1)
19	9184	BUB3, mitotic checkpoint protein(BUB3)
20	55054	autophagy related 16 like 1(ATG16L1)
21	55759	WD repeat domain 12(WDR12)
22	8662	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B(EIF3B)
23	56270	WD repeat domain 45B(WDR45B)
24	5931	RB binding protein 7, chromatin remodeling factor(RBBP7)
25	81929	SEH1 like nucleoporin(SEH1L)
26	79954	nucleolar protein 10(NOL10)
27	55605	kinesin family member 21A(KIF21A)
28	55135	WD repeat containing antisense to TP53(WRAP53)
29	8086	aladin WD repeat nucleoporin(AAAS)
Gene Group 31		Enrichment Score: 4.07
1	6208	ribosomal protein S14(RPS14)
2	6139	ribosomal protein L17(RPL17)

3	6207	ribosomal protein S13(RPS13)
4	6137	ribosomal protein L13(RPL13)
5	6203	ribosomal protein S9(RPS9)
6	6156	ribosomal protein L30(RPL30)
7	6224	ribosomal protein S20(RPS20)
8	6130	ribosomal protein L7a(RPL7A)
9	6217	ribosomal protein S16(RPS16)
10	6171	ribosomal protein L41(RPL41)
11	6146	ribosomal protein L22(RPL22)
12	6166	ribosomal protein L36a like(RPL36AL)
Gene Group 32		Enrichment Score: 3.76
1	57062	DEAD-box helicase 24(DDX24)
2	60625	DEAH-box helicase 35(DHX35)
3	57680	chromodomain helicase DNA binding protein 8(CHD8)
4	57634	E1A binding protein p400(EP400)
5	54505	DExH-box helicase 29(DHX29)
6	79665	DEAH-box helicase 40(DHX40)
7	57697	Fanconi anemia complementation group M(FANCM)
8	57696	DEAD-box helicase 55(DDX55)
9	9557	chromodomain helicase DNA binding protein 1 like(CHD1L)
10	9785	DEAH-box helicase 38(DHX38)
11	9416	DEAD-box helicase 23(DDX23)
12	8886	DEAD-box helicase 18(DDX18)
13	51202	DEAD-box helicase 47(DDX47)
14	84181	chromodomain helicase DNA binding protein 6(CHD6)
Gene Group 33		Enrichment Score: 3.71
1	5358	plastin 3(PLS3)
2	5357	plastin 1(PLS1)
3	51150	stromal cell derived factor 4(SDF4)
4	5955	reticulocalbin 2(RCN2)
5	5954	reticulocalbin 1(RCN1)
6	6273	S100 calcium binding protein A2(S100A2)
7	54550	N-terminal EF-hand calcium binding protein 2(NECAB2)
8	55033	FK506 binding protein 14(FKBP14)
9	57010	calcium binding protein 4(CABP4)
10	553115	penta-EF-hand domain containing 1(PEF1)
11	793	calbindin 1(CALB1)
12	810	calmodulin like 3(CALML3)
13	7134	troponin C1, slow skeletal and cardiac type(TNNC1)
14	4924	nucleobindin 1(NUCB1)
15	83698	calneuron 1(CALN1)

Gene Group 34		Enrichment Score: 3.7
1	8454	cullin 1(CUL1)
2	8453	cullin 2(CUL2)
3	8452	cullin 3(CUL3)
4	8450	cullin 4B(CUL4B)
Gene Group 35		Enrichment Score: 3.6
1	54765	tripartite motif containing 44(TRIM44)
2	644353	zinc finger CCHC-type containing 18(ZCCHC18)
3	57688	zinc finger SWIM-type containing 6(ZSWIM6)
4	56157	testis expressed 13A(TEX13A)
Gene Group 36		Enrichment Score: 3.58
1	57636	Rho GTPase activating protein 23(ARHGAP23)
2	55635	DEP domain containing 1(DEPDC1)
3	94134	Rho GTPase activating protein 12(ARHGAP12)
4	90627	StAR related lipid transfer domain containing 13(STARD13)
5	85360	synapse defective Rho GTPase homolog 1(SYDE1)
6	91614	DEP domain containing 7(DEPDC7)
7	9824	Rho GTPase activating protein 11A(ARHGAP11A)
8	89839	Rho GTPase activating protein 11B(ARHGAP11B)
9	51291	GEM interacting protein(GMIP)
Gene Group 37		Enrichment Score: 3.49
1	7188	TNF receptor associated factor 5(TRAF5)
2	7844	ring finger protein 103(RNF103)
3	80128	tripartite motif containing 46(TRIM46)
4	6478	siah E3 ubiquitin protein ligase 2(SIAH2)
5	51127	tripartite motif containing 17(TRIM17)
6	55167	male-specific lethal 2 homolog (Drosophila)(MSL2)
7	90933	tripartite motif containing 41(TRIM41)
8	80263	tripartite motif containing 45(TRIM45)
9	6049	ring finger protein 6(RNF6)
10	9666	DAZ interacting zinc finger protein 3(DZIP3)
11	64844	membrane associated ring-CH-type finger 7(MARCH7)
12	494470	ring finger protein 165(RNF165)
13	9618	TNF receptor associated factor 4(TRAF4)
14	84767	tripartite motif-containing 51(TRIM51)
15	55298	ring finger protein 121(RNF121)
16	51255	ring finger protein 181(RNF181)
17	56658	tripartite motif containing 39(TRIM39)
18	54778	ring finger protein 111(RNF111)
19	54542	ring finger and CCCH-type domains 2(RC3H2)
20	91107	tripartite motif containing 47(TRIM47)
21	79872	Cbl proto-oncogene like 1(CBLL1)
22	63891	ring finger protein 123(RNF123)

23	84851	tripartite motif containing 52(TRIM52)
24	9604	ring finger protein 14(RNF14)
25	84282	ring finger protein 135(RNF135)
26	54765	tripartite motif containing 44(TRIM44)
27	81790	ring finger protein 170(RNF170)
28	50862	ring finger protein 141(RNF141)
29	5930	RB binding protein 6, ubiquitin ligase(RBBP6)
30	84937	zinc and ring finger 1(ZNRF1)
31	9830	tripartite motif containing 14(TRIM14)
32	727800	ring finger protein 208(RNF208)
Gene Group 38		Enrichment Score: 3.48
1	54816	zinc finger protein 280D(ZNF280D)
2	54815	GATA zinc finger domain containing 2A(GATAD2A)
3	92822	zinc finger protein 276(ZNF276)
4	6299	spalt like transcription factor 1(SALL1)
5	6297	spalt like transcription factor 2(SALL2)
6	54811	zinc finger protein 562(ZNF562)
7	81931	zinc finger protein 93(ZNF93)
8	57673	BEN domain containing 3(BEND3)
9	90333	zinc finger protein 468(ZNF468)
10	56906	THAP domain containing 10(THAP10)
11	6670	Sp3 transcription factor(SP3)
12	84215	zinc finger protein 541(ZNF541)
13	6668	Sp2 transcription factor(SP2)
14	7620	zinc finger protein 69(ZNF69)
15	79818	zinc finger protein 552(ZNF552)
16	90321	zinc finger protein 766(ZNF766)
17	57659	zinc finger and BTB domain containing 4(ZBTB4)
18	7227	transcriptional repressor GATA binding 1(TRPS1)
19	7799	PR/SET domain 2(PRDM2)
20	57649	PHD finger protein 12(PHF12)
21	7988	zinc finger protein 212(ZNF212)
22	79230	zinc finger protein 557(ZNF557)
23	51535	periphilin 1(PPHLN1)
24	57645	pogo transposable element with KRAB domain(POGK)
25	51341	zinc finger and BTB domain containing 7A(ZBTB7A)
26	92595	zinc finger protein 764(ZNF764)
27	93166	PR/SET domain 6(PRDM6)
28	7594	zinc finger protein 43(ZNF43)
29	6827	SPT4 homolog, DSIF elongation factor subunit(SUPT4H1)
30	79788	zinc finger protein 665(ZNF665)
31	7589	zinc finger and SCAN domain containing 21(ZSCAN21)
32	63934	zinc finger protein 667(ZNF667)
33	642280	zinc finger protein 876, pseudogene(ZNF876P)

34	55145	THAP domain containing 1(THAP1)
35	7584	zinc finger protein 35(ZNF35)
36	53615	methyl-CpG binding domain protein 3(MBD3)
37	57616	teashirt zinc finger homeobox 3(TSHZ3)
38	90850	zinc finger protein 598(ZNF598)
39	7762	zinc finger protein 215(ZNF215)
40	7761	zinc finger protein 214(ZNF214)
41	55893	zinc finger protein 395(ZNF395)
42	55892	myoneurin(MYNN)
43	93134	zinc finger protein 561(ZNF561)
44	89887	zinc finger protein 628(ZNF628)
45	7756	zinc finger protein 207(ZNF207)
46	7755	zinc finger protein 205(ZNF205)
47	7181	nuclear receptor subfamily 2 group C member 1(NR2C1)
48	7561	zinc finger protein 14(ZNF14)
49	57215	THAP domain containing 11(THAP11)
50	84337	elongation factor 1 homolog(ELOF1)
51	7554	zinc finger protein 8(ZNF8)
52	51101	zinc finger C2HC-type containing 1A(ZC2HC1A)
53	90827	zinc finger protein 479(ZNF479)
54	84905	zinc finger protein 341(ZNF341)
55	80320	Sp6 transcription factor(SP6)
56	84330	zinc finger protein 414(ZNF414)
57	6591	snail family transcriptional repressor 2(SNAI2)
58	7544	zinc finger protein, Y-linked(ZFY)
59	7543	zinc finger protein, X-linked(ZFX)
60	9070	ASH2 like histone lysine methyltransferase complex subunit(ASH2L)
61	65986	zinc finger and BTB domain containing 10(ZBTB10)
62	473	arginine-glutamic acid dipeptide repeats(RERE)
63	7539	ZFP37 zinc finger protein(ZFP37)
64	9640	zinc finger protein 592(ZNF592)
65	84891	zinc finger and SCAN domain containing 10(ZSCAN10)
66	58525	widely interspaced zinc finger motifs(WIZ)
67	7718	zinc finger protein 165(ZNF165)
68	58524	doublesex and mab-3 related transcription factor 3(DMRT3)
69	79724	zinc finger protein 768(ZNF768)
70	84878	zinc finger and BTB domain containing 45(ZBTB45)
71	55079	FEZ family zinc finger 2(FEZF2)
72	85446	zinc finger homeobox 2(ZFH2)
73	57178	zinc finger MIZ-type containing 1(ZMIZ1)
74	6944	vacuolar protein sorting 72 homolog(VPS72)
75	7703	polycomb group ring finger 2(PCGF2)
76	7702	zinc finger protein 143(ZNF143)

77	7701	zinc finger protein 142(ZNF142)
78	6936	GC-rich sequence DNA-binding factor 2(GCFC2)
79	56978	PR/SET domain 8(PRDM8)
80	84858	zinc finger protein 503(ZNF503)
81	84662	GLIS family zinc finger 2(GLIS2)
82	51043	zinc finger and BTB domain containing 7B(ZBTB7B)
83	6919	transcription elongation factor A2(TCEA2)
84	90576	zinc finger protein 799(ZNF799)
85	7490	Wilms tumor 1(WT1)
86	58486	zinc finger BED-type containing 5(ZBED5)
87	9014	TATA-box binding protein associated factor, RNA polymerase I subunit B(TAF1B)
88	9586	cAMP responsive element binding protein 5(CREB5)
89	51222	zinc finger protein 219(ZNF219)
90	79871	RNA polymerase II associated protein 2(RPAP2)
91	8819	Sin3A associated protein 30(SAP30)
92	7862	bromodomain and PHD finger containing 1(BRPF1)
93	604	B-cell CLL/lymphoma 6(BCL6)
94	84256	FLYWCH-type zinc finger 1(FLYWCH1)
95	79862	zinc finger protein 669(ZNF669)
96	8427	zinc finger protein 282(ZNF282)
97	9189	zinc finger BED-type containing 1(ZBED1)
98	84627	zinc finger protein 469(ZNF469)
99	91120	zinc finger protein 682(ZNF682)
100	64375	IKAROS family zinc finger 4(IKZF4)
101	55778	zinc finger protein 839(ZNF839)
102	83855	Kruppel like factor 16(KLF16)
103	51193	zinc finger protein 639(ZNF639)
104	7071	Kruppel like factor 10(KLF10)
105	79842	zinc finger and BTB domain containing 3(ZBTB3)
106	7643	zinc finger protein 90(ZNF90)
Gene Group 39		Enrichment Score: 3.46
1	4751	NIMA related kinase 2(NEK2)
2	55582	kinesin family member 27(KIF27)
3	6990	dynein light chain Tctex-type 3(DYNLT3)
4	9585	kinesin family member 20B(KIF20B)
5	51143	dynein cytoplasmic 1 light intermediate chain 1(DYNC1LI1)
6	57576	kinesin family member 17(KIF17)
7	55605	kinesin family member 21A(KIF21A)
8	9493	kinesin family member 23(KIF23)

Gene Group 40		Enrichment Score: 3.23
1	898	cyclin E1(CCNE1)
2	896	cyclin D3(CCND3)
3	9133	cyclin B2(CCNB2)
4	894	cyclin D2(CCND2)
Gene Group 41		Enrichment Score: 3.15
1	5013	orthodenticle homeobox 1(OTX1)
2	4782	nuclear factor I C(NFIC)
3	5307	paired like homeodomain 1(PITX1)
4	84839	retina and anterior neural fold homeobox 2(RAX2)
5	8538	BARX homeobox 2(BARX2)
6	5456	POU class 3 homeobox 4(POU3F4)
7	9480	one cut homeobox 2(ONECUT2)
8	5455	POU class 3 homeobox 3(POU3F3)
9	79192	iroquois homeobox 1(IRX1)
10	80709	AT-hook transcription factor(AKNA)
11	5452	POU class 2 homeobox 2(POU2F2)
12	83881	Mix paired-like homeobox(MIXL1)
Gene Group 42		Enrichment Score: 3.14
1	5686	proteasome subunit alpha 5(PSMA5)
2	5682	proteasome subunit alpha 1(PSMA1)
3	5714	proteasome 26S subunit, non-ATPase 8(PSMD8)
4	5687	proteasome subunit alpha 6(PSMA6)
5	5709	proteasome 26S subunit, non-ATPase 3(PSMD3)
Gene Group 43		Enrichment Score: 3.05
1	89846	FYVE, RhoGEF and PH domain containing 3(FGD3)
2	5924	Ras protein specific guanine nucleotide releasing factor 2(RASGRF2)
3	57580	phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate dependent Rac exchange factor 1(PREX1)
4	9826	Rho guanine nucleotide exchange factor 11(ARHGEF11)
5	55200	pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G6(PLEKHG6)
6	64857	pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G2(PLEKHG2)
Gene Group 44		Enrichment Score: 2.99
1	83463	MAX dimerization protein 3(MXD3)
2	79365	basic helix-loop-helix family member e41(BHLHE41)

3	56938	aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator like 2(ARNTL2)
4	9603	nuclear factor, erythroid 2 like 3(NFE2L3)
5	4862	neuronal PAS domain protein 2(NPAS2)
6	7391	upstream transcription factor 1(USF1)
7	57801	hes family bHLH transcription factor 4(HES4)
8	4808	nescient helix-loop-helix 2(NHLH2)
9	4762	neurogenin 1(NEUROG1)
10	4807	nescient helix-loop-helix 1(NHLH1)
Gene Group 45		Enrichment Score: 2.96
1	6391	succinate dehydrogenase complex subunit C(SDHC)
2	514	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, epsilon subunit(ATP5E)
3	513	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, delta subunit(ATP5D)
4	509	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, gamma polypeptide 1(ATP5C1)
5	51079	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A13(NDUFA13)
6	51300	translocase of inner mitochondrial membrane domain containing 1(TIMMDC1)
7	4722	NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit S3(NDUFS3)
8	4720	NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit S2(NDUFS2)
9	4719	NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit S1(NDUFS1)
10	54539	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B11(NDUFB11)
11	4718	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit C2(NDUFC2)
12	4716	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B10(NDUFB10)
13	51103	NADH:ubiquinone oxidoreductase complex assembly factor 1(NDUF AF1)
14	9551	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial Fo complex subunit F2(ATP5J2)
15	7388	ubiquinol-cytochrome c reductase hinge protein(UQCRH)
16	84233	transmembrane protein 126A(TMEM126A)
17	522	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial Fo complex subunit F6(ATP5J)
18	9167	cytochrome c oxidase subunit 7A2 like(COX7A2L)

Gene Group 46		Enrichment Score: 2.87
1	6599	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin subfamily c member 1(SMARCC1)
2	6602	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily d, member 1(SMARCD1)
3	6601	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin subfamily c member 2(SMARCC2)
4	473	arginine-glutamic acid dipeptide repeats(RERE)
Gene Group 47		Enrichment Score: 2.84
1	79735	TBC1 domain family member 17(TBC1D17)
2	64786	TBC1 domain family member 15(TBC1D15)
3	4943	TBC1 domain family member 25(TBC1D25)
4	7813	ecotropic viral integration site 5(EVI5)
Gene Group 48		Enrichment Score: 2.83
1	7181	nuclear receptor subfamily 2 group C member 1(NR2C1)
2	7101	nuclear receptor subfamily 2 group E member 1(NR2E1)
3	9572	nuclear receptor subfamily 1 group D member 1(NR1D1)
4	4929	nuclear receptor subfamily 4 group A member 2(NR4A2)
Gene Group 49		Enrichment Score: 2.82
1	80222	threonyl-tRNA synthetase 2, mitochondrial (putative)(TARS2)
2	5859	glutamyl-tRNA synthetase(QARS)
3	51067	tyrosyl-tRNA synthetase 2(YARS2)
4	6897	threonyl-tRNA synthetase(TARS)
Gene Group 50		Enrichment Score: 2.78
1	7265	tetratricopeptide repeat domain 1(TTC1)
2	79573	tetratricopeptide repeat domain 13(TTC13)
3	9330	general transcription factor IIIC subunit 3(GTF3C3)
4	6731	signal recognition particle 72(SRP72)
5	83894	tetratricopeptide repeat domain 29(TTC29)
6	79657	RNA polymerase II associated protein 3(RPAP3)
7	55622	tetratricopeptide repeat domain 27(TTC27)
8	996	cell division cycle 27(CDC27)
9	8100	intraflagellar transport 88(IFT88)

Gene Group 51		Enrichment Score: 2.74
1	79711	importin 4(IPO4)
2	9670	importin 13(IPO13)
3	9989	protein phosphatase 4 regulatory subunit 1(PPP4R1)
4	51194	importin 11(IPO11)
Gene Group 52		Enrichment Score: 2.5
1	5924	Ras protein specific guanine nucleotide releasing factor 2(RASGRF2)
2	85442	kinase non-catalytic C-lobe domain containing 1(KNDC1)
3	5923	Ras protein specific guanine nucleotide releasing factor 1(RASGRF1)
4	5900	ral guanine nucleotide dissociation stimulator(RALGDS)
5	9649	Ral GEF with PH domain and SH3 binding motif 1(RALGPS1)
6	64857	pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G2(PLEKHG2)
7	51195	Rap guanine nucleotide exchange factor like 1(RAPGEFL1)
Gene Group 53		Enrichment Score: 2.48
1	523	ATPase H+ transporting V1 subunit A(ATP6V1A)
2	51606	ATPase H+ transporting V1 subunit H(ATP6V1H)
3	9550	ATPase H+ transporting V1 subunit G1(ATP6V1G1)
4	529	ATPase H+ transporting V1 subunit E1(ATP6V1E1)
Gene Group 54		Enrichment Score: 2.27
1	9456	homer scaffolding protein 1(HOMER1)
2	80725	SRC kinase signaling inhibitor 1(SRCIN1)
3	9455	homer scaffolding protein 2(HOMER2)
4	9762	leucine zipper tumor suppressor family member 3(LZTS3)
Gene Group 55		Enrichment Score: 2.27
1	64951	mitochondrial ribosomal protein S24(MRPS24)
2	55037	pentatricopeptide repeat domain 3(PTCD3)
3	64949	mitochondrial ribosomal protein S26(MRPS26)
4	56945	mitochondrial ribosomal protein S22(MRPS22)
5	6182	mitochondrial ribosomal protein L12(MRPL12)
6	84311	mitochondrial ribosomal protein L45(MRPL45)
7	64965	mitochondrial ribosomal protein S9(MRPS9)

8	51116	mitochondrial ribosomal protein S2(MRPS2)
9	51069	mitochondrial ribosomal protein L2(MRPL2)
10	64983	mitochondrial ribosomal protein L32(MRPL32)
11	64960	mitochondrial ribosomal protein S15(MRPS15)
12	51318	mitochondrial ribosomal protein L35(MRPL35)
13	64976	mitochondrial ribosomal protein L40(MRPL40)
14	54534	mitochondrial ribosomal protein L50(MRPL50)
Gene Group 56		Enrichment Score: 2.16
1	80184	centrosomal protein 290(CEP290)
2	57545	coiled-coil and C2 domain containing 2A(CC2D2A)
3	55212	Bardet-Biedl syndrome 7(BBS7)
4	91147	transmembrane protein 67(TM67)
Gene Group 57		Enrichment Score: 1.98
1	8689	keratin 36(KRT36)
2	5630	peripherin(PRPH)
3	81493	syncoilin, intermediate filament protein(SYNC)
4	631	beaded filament structural protein 1(BFSP1)
5	84823	lamin B2(LMNB2)
6	51350	keratin 76(KRT76)
7	4741	neurofilament, medium polypeptide(NEFM)
Gene Group 58		Enrichment Score: 1.95
1	8654	phosphodiesterase 5A(PDE5A)
2	5142	phosphodiesterase 4B(PDE4B)
3	5152	phosphodiesterase 9A(PDE9A)
4	5140	phosphodiesterase 3B(PDE3B)
Gene Group 59		Enrichment Score: 1.95
1	89845	ATP binding cassette subfamily C member 10(ABCC10)
2	5243	ATP binding cassette subfamily B member 1(ABCB1)
3	5825	ATP binding cassette subfamily D member 3(ABCD3)
4	55210	ATPase family, AAA domain containing 3A(ATAD3A)
Gene Group 60		Enrichment Score: 1.49
1	57611	immunoglobulin superfamily containing leucine rich repeat 2(ISLR2)
2	55631	leucine rich repeat containing 40(LRRC40)
3	8549	leucine rich repeat containing G protein-coupled receptor 5(LGR5)
4	7098	toll like receptor 3(TLR3)
5	4958	osteomodulin(OMD)
6	5510	protein phosphatase 1 regulatory subunit 7(PPP1R7)

7	7096	toll like receptor 1(TLR1)
8	65078	reticulon 4 receptor(RTN4R)
9	57554	leucine rich repeat containing 7(LRRC7)
10	57622	leucine rich repeat and fibronectin type III domain containing 1(LRFN1)
11	54839	leucine rich repeat containing 49(LRRC49)
12	5549	proline and arginine rich end leucine rich repeat protein(PRELP)
13	55366	leucine rich repeat containing G protein-coupled receptor 4(LGR4)
14	55914	erbb2 interacting protein(ERBIN)
Gene Group 61		Enrichment Score: 1.31
1	5290	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha(PIK3CA)
2	4893	neuroblastoma RAS viral oncogene homolog(NRAS)
3	5296	phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 2(PIK3R2)
4	5291	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit beta(PIK3CB)
Gene Group 62		Enrichment Score: 1.21
1	5864	RAB3A, member RAS oncogene family(RAB3A)
2	5862	RAB2A, member RAS oncogene family(RAB2A)
3	57403	RAB22A, member RAS oncogene family(RAB22A)
4	6016	Ras like without CAAX 1(RIT1)
5	5878	RAB5C, member RAS oncogene family(RAB5C)
6	9230	RAB11B, member RAS oncogene family(RAB11B)
7	5872	RAB13, member RAS oncogene family(RAB13)
8	6237	related RAS viral (r-ras) oncogene homolog(RRAS)
9	5868	RAB5A, member RAS oncogene family(RAB5A)
10	5912	RAP2B, member of RAS oncogene family(RAP2B)
11	57799	RAB40C, member RAS oncogene family(RAB40C)
12	9545	RAB3D, member RAS oncogene family(RAB3D)
Gene Group 63		Enrichment Score: 1.01
1	8139	gigaxonin(GAN)
2	9920	kelch repeat and BTB domain containing 11(KBTBD11)
3	54800	kelch like family member 24(KLHL24)
4	57626	kelch like family member 1(KLHL1)
5	55709	kelch repeat and BTB domain containing 4(KBTBD4)
6	90293	kelch like family member 13(KLHL13)
7	51088	kelch like family member 5(KLHL5)

Gene Group 64		Enrichment Score: 0.9
1	85465	selenoprotein I(SELENOI)
2	79888	lysophosphatidylcholine acyltransferase 1(LPCAT1)
3	54675	cardiolipin synthase 1(CRLS1)
4	55500	ethanolamine kinase 1(ETNK1)
5	9926	lysophosphatidylglycerol acyltransferase 1(LPGAT1)
Gene Group 65		Enrichment Score: 0.8
1	7477	Wnt family member 7B(WNT7B)
2	7476	Wnt family member 7A(WNT7A)
3	7475	Wnt family member 6(WNT6)
4	80326	Wnt family member 10A(WNT10A)
5	7471	Wnt family member 1(WNT1)
Gene Group 66		Enrichment Score: 0.57
1	5069	pappalysin 1(PAPPA)
2	56999	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 9(ADAMTS9)
3	9508	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 3(ADAMTS3)
4	9507	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 4(ADAMTS4)
5	54507	ADAMTS like 4(ADAMTSL4)
6	8745	ADAM metallopeptidase domain 23(ADAM23)
Gene Group 67		Enrichment Score: 0.34
1	56899	ankyrin repeat and sterile alpha motif domain containing 1B(ANKS1B)
2	554226	ankyrin repeat domain 30B like(ANKRD30BL)
3	651746	ankyrin repeat domain 33B(ANKRD33B)
4	91074	ankyrin repeat domain 30A(ANKRD30A)
5	81573	ankyrin repeat domain 13C(ANKRD13C)
6	51281	ankyrin repeat and MYND domain containing 1(ANKMY1)
7	9627	synuclein alpha interacting protein(SNCAIP)
8	54522	ankyrin repeat domain 16(ANKRD16)
9	57763	ankyrin repeat family A member 2(ANKRA2)
10	4794	NFKB inhibitor epsilon(NFKBIE)
11	55139	ankyrin repeat and zinc finger domain containing 1(ANKZF1)
12	55527	fem-1 homolog A(FEM1A)
13	56929	fem-1 homolog C(FEM1C)
14	84988	protein phosphatase 1 regulatory subunit 16A(PPP1R16A)

15	84320	acyl-CoA binding domain containing 6(ACBD6)
16	51130	ankyrin repeat and SOCS box containing 3(ASB3)
17	57730	ankyrin repeat domain 36B(ANKRD36B)
Gene Group 68		Enrichment Score: 0.18
1	5553	proteoglycan 2, pro eosinophil major basic protein(PRG2)
2	78989	collectin subfamily member 11(COLEC11)
3	6320	C-type lectin domain family 11 member A(CLEC11A)
4	729238	surfactant protein A2(SFTPA2)
Gene Group 69		Enrichment Score: 0.16
1	81871	keratin associated protein 4-6(KRTAP4-6)
2	84616	keratin associated protein 4-4(KRTAP4-4)
3	8661	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A(EIF3A)
4	83900	keratin associated protein 9-3(KRTAP9-3)
5	5545	proline rich protein BstNI subfamily 4(PRB4)
6	6238	ribosome binding protein 1(RRBP1)
7	5544	proline rich protein BstNI subfamily 3(PRB3)
Gene Group 70		Enrichment Score: 0.15
1	8425	latent transforming growth factor beta binding protein 4(LTBP4)
2	8788	delta like non-canonical Notch ligand 1(DLK1)
3	7060	thrombospondin 4(THBS4)
4	79174	cysteine rich with EGF like domains 2(CRELD2)
5	5627	protein S (alpha)(PROS1)
6	51162	EGF like domain multiple 7(EGFL7)
7	65989	delta like non-canonical Notch ligand 2(DLK2)
Gene Group 71		Enrichment Score: 0.04
1	51279	complement C1r subcomponent like(C1RL)
2	64699	transmembrane protease, serine 3(TMPRSS3)
3	7113	transmembrane protease, serine 2(TMPRSS2)
4	729756	protease, serine 44(PRSS44)
5	51032	chymotrypsin like elastase family member 2B(CELA2B)
6	5645	protease, serine 2(PRSS2)
7	5655	kallikrein related peptidase 10(KLK10)
8	5126	proprotein convertase subtilisin/kexin type 2(PCSK2)

Gene Group 72		Enrichment Score: 0
1	5364	plexin B1(PLXNB1)
2	9196	potassium voltage-gated channel subfamily A regulatory beta subunit 3(KCNAB3)
3	50614	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 9(GALNT9)
4	64417	transmembrane protein 267(TMEM267)
5	6892	TAP binding protein(TAPBP)
6	754	pituitary tumor-transforming 1 interacting protein(PTTG1IP)
7	5355	proteolipid protein 2(PLP2)
8	79751	solute carrier family 25 member 22(SLC25A22)
9	55973	B-cell receptor associated protein 29(BCAP29)
10	54437	semaphorin 5B(SEMA5B)
11	9951	heparan sulfate-glucosamine 3-sulfotransferase 4(HS3ST4)
12	746	transmembrane protein 258(TMEM258)
13	64403	cadherin 24(CDH24)
14	55194	eva-1 homolog B(EVA1B)
15	9170	lysophosphatidic acid receptor 2(LPAR2)
16	728	complement C5a receptor 1(C5AR1)
17	84329	hydrogen voltage gated channel 1(HVCN1)
18	6091	roundabout guidance receptor 1(ROBO1)
19	8392	olfactory receptor family 3 subfamily A member 3(OR3A3)
20	9926	lysophosphatidylglycerol acyltransferase 1(LPGAT1)
21	6856	synaptophysin like 1(SYPL1)
22	719	complement C3a receptor 1(C3AR1)
23	57476	GRAM domain containing 1B(GRAMD1B)
24	54407	solute carrier family 38 member 2(SLC38A2)
25	84314	transmembrane protein 107(TMEM107)
26	9145	synaptogyrin 1(SYNGR1)
27	92736	otopetrin 2(OTOP2)
28	55151	transmembrane protein 38B(TMEM38B)
29	51312	solute carrier family 25 member 37(SLC25A37)
30	493869	glutathione peroxidase 8 (putative)(GPX8)
31	51308	receptor accessory protein 2(REEP2)
32	93492	transmembrane phosphoinositide 3-phosphatase and tensin homolog 2(TPTE2)
33	84287	zinc finger DHHC-type containing 16(ZDHHC16)
34	51305	potassium two pore domain channel subfamily K member 9(KCNK9)
35	5281	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class F(PIGF)

36	51300	translocase of inner mitochondrial membrane domain containing 1(TIMMDC1)
37	5279	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class C(PIGC)
38	56666	pannexin 2(PANX2)
39	91179	scavenger receptor class F member 2(SCARF2)
40	55129	anoctamin 10(ANO10)
41	671	bactericidal/permeability-increasing protein(BPI)
42	51293	CD320 molecule(CD320)
43	79669	chromosome 3 open reading frame 52(C3orf52)
44	84270	caspase recruitment domain family member 19(CARD19)
45	9870	apoptosis resistant E3 ubiquitin protein ligase 1(AREL1)
46	58191	C-X-C motif chemokine ligand 16(CXCL16)
47	91937	T-cell immunoglobulin and mucin domain containing 4(TIMD4)
48	56654	neural proliferation, differentiation and control 1(NPDC1)
49	662	BCL2 interacting protein 1(BNIP1)
50	55116	transmembrane protein 39B(TMEM39B)
51	51280	golgi membrane protein 1(GOLM1)
52	65084	transmembrane protein 135(TMEM135)
53	8324	frizzled class receptor 7(FZD7)
54	54344	dolichyl-phosphate mannosyltransferase subunit 3(DPM3)
55	55107	anoctamin 1(ANO1)
56	84249	pleckstrin and Sec7 domain containing 2(PSD2)
57	85014	transmembrane protein 141(TMEM141)
58	79644	steroid 5 alpha-reductase 3(SRD5A3)
59	79642	arylsulfatase family member J(ARSJ)
60	6005	Rh-associated glycoprotein(RHAG)
61	81168	olfactory receptor family 8 subfamily J member 3(OR8J3)
62	8303	stannin(SNN)
63	83468	glycosyltransferase 8 domain containing 2(GLT8D2)
64	84233	transmembrane protein 126A(TMEM126A)
65	79629	occludin/ELL domain containing 1(OCEL1)
66	83460	ER membrane protein complex subunit 6(EMC6)
67	606553	chromosome 8 open reading frame 49(C8orf49)
68	9057	solute carrier family 7 member 6(SLC7A6)
69	9823	armadillo repeat containing, X-linked 2(ARMCX2)
70	5986	RFNG O-fucosylpeptide 3-beta-N-acetylglucosaminyltransferase(RFNG)
71	84987	COX14, cytochrome c oxidase assembly factor(COX14)
72	80380	programmed cell death 1 ligand 2(PDCD1LG2)
73	51234	ER membrane protein complex subunit 4(EMC4)
74	79613	transport and golgi organization 6 homolog(TANGO6)

75	57369	gap junction protein delta 2(GJD2)
76	5979	ret proto-oncogene(RET)
77	6746	signal sequence receptor subunit 2(SSR2)
78	55831	ER membrane protein complex subunit 3(EMC3)
79	55061	sushi domain containing 4(SUSD4)
80	9037	semaphorin 5A(SEMA5A)
81	9804	translocase of outer mitochondrial membrane 20(TOMM20)
82	7499	Xg blood group(XG)
83	91869	RFT1 homolog(RFT1)
84	9022	chloride intracellular channel 3(CLIC3)
85	55041	pleckstrin homology domain containing B2(PLEKHB2)
86	80346	receptor accessory protein 4(REEP4)
87	729993	shisa family member 9(SHISA9)
88	5175	platelet and endothelial cell adhesion molecule 1(PECAM1)
89	55028	chromosome 17 open reading frame 80(C17orf80)
90	79570	Na ⁺ /K ⁺ transporting ATPase interacting 1(NKAIN1)
91	92609	translocase of inner mitochondrial membrane 50(TIMM50)
92	84168	anthrax toxin receptor 1(ANTXR1)
93	60386	solute carrier family 25 member 19(SLC25A19)
94	84929	fibrinogen C domain containing 1(FIBCD1)
95	558	AXL receptor tyrosine kinase(AXL)
96	56548	carbohydrate sulfotransferase 7(CHST7)
97	553	arginine vasopressin receptor 1B(AVPR1B)
98	55009	chromosome 19 open reading frame 24(C19orf24)
99	55007	family with sequence similarity 118 member A(FAM118A)
100	550	ancient ubiquitous protein 1(AUP1)
101	8987	starch binding domain 1(STBD1)
102	51172	N-acetylglucosamine-1-phosphodiester alpha-N-acetylglucosaminidase(NAGPA)
103	81849	ST6 N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 5(ST6GALNAC5)
104	9746	calsyntenin 3(CLSTN3)
105	81831	neuropilin and tolloid like 2(NETO2)
106	55751	transmembrane protein 184C(TMEM184C)
107	94101	ORMDL sphingolipid biosynthesis regulator 1(ORMDL1)
108	84895	mitoguardin 2(MIGA2)
109	94097	sideroflexin 5(SFXN5)
110	54977	solute carrier family 25 member 38(SLC25A38)
111	9723	semaphorin 3E(SEMA3E)
112	84885	zinc finger DHHC-type containing 12(ZDHHC12)
113	54965	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class X(PIGX)

114	94081	sideroflexin 1(SFXN1)
115	91012	ceramide synthase 5(CERS5)
116	8174	mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1(MADCAM1)
117	5099	protocadherin 7(PCDH7)
118	54953	chromosome 1 open reading frame 27(C1orf27)
119	5098	protocadherin gamma subfamily C, 3(PCDHGC3)
120	64924	solute carrier family 30 member 5(SLC30A5)
121	5097	protocadherin 1(PCDH1)
122	493	ATPase plasma membrane Ca ²⁺ transporting 4(ATP2B4)
123	54946	solute carrier family 41 member 3(SLC41A3)
124	81790	ring finger protein 170(RNF170)
125	51109	retinol dehydrogenase 11 (all-trans/9-cis/11-cis)(RDH11)
126	54933	rhomboid like 2(RHBDL2)
127	8910	sarcoglycan epsilon(SGCE)
128	51093	ribosomal RNA adenine dimethylase domain containing 1(RRNAD1)
129	9674	KIAA0040(KIAA0040)
130	9672	syndecan 3(SDC3)
131	54923	Lck interacting transmembrane adaptor 1(LIME1)
132	7368	UDP glycosyltransferase 8(UGT8)
133	7367	UDP glucuronosyltransferase family 2 member B17(UGT2B17)
134	64116	solute carrier family 39 member 8(SLC39A8)
135	5818	nectin cell adhesion molecule 1(NECTIN1)
136	57205	ATPase phospholipid transporting 10D (putative)(ATP10D)
137	55669	mitofusin 1(MFN1)
138	54900	lymphocyte transmembrane adaptor 1(LAX1)
139	51063	calcium homeostasis modulator 2(CALHM2)
140	6576	solute carrier family 25 member 1(SLC25A1)
141	57198	ATPase phospholipid transporting 8B2(ATP8B2)
142	57194	ATPase phospholipid transporting 10A (putative)(ATP10A)
143	6567	solute carrier family 16 member 2(SLC16A2)
144	94005	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class S(PIGS)
145	6566	solute carrier family 16 member 1(SLC16A1)
146	80195	transmembrane protein 254(TMEM254)
147	5029	purinergic receptor P2Y2(P2RY2)
148	5792	protein tyrosine phosphatase, receptor type F(PTPRF)
149	64084	calsyntenin 2(CLSTN2)
150	54112	G protein-coupled receptor 88(GPR88)
151	56413	leukotriene B4 receptor 2(LTB4R2)
152	90161	heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 2(HS6ST2)

153	54868	transmembrane protein 104(TMEM104)
154	643155	small integral membrane protein 15(SMIM15)
155	6543	solute carrier family 8 member A2(SLC8A2)
156	8843	hydroxycarboxylic acid receptor 3(HCAR3)
157	51026	golgi transport 1B(GOLT1B)
158	57161	pellino E3 ubiquitin protein ligase family member 2(PELI2)
159	55625	zinc finger DHHC-type containing 7(ZDHHC7)
160	5002	solute carrier family 22 member 18(SLC22A18)
161	84002	UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 5(B3GNT5)
162	7301	TYRO3 protein tyrosine kinase(TYRO3)
163	4995	olfactory receptor family 3 subfamily A member 2(OR3A2)
164	4994	olfactory receptor family 3 subfamily A member 1(OR3A1)
165	81693	amnion associated transmembrane protein(AMN)
166	51009	derlin 2(DERL2)
167	51006	solute carrier family 35 member C2(SLC35C2)
168	8818	dolichyl-phosphate mannosyltransferase subunit 2, regulatory(DPM2)
169	646962	histidine rich carboxyl terminus 1(HRCT1)
170	80146	UDP-glucuronate decarboxylase 1(UXS1)
171	93185	immunoglobulin superfamily member 8(IGSF8)
172	50999	transmembrane p24 trafficking protein 5(TMED5)
173	8813	dolichyl-phosphate mannosyltransferase subunit 1, catalytic(DPM1)
174	6511	solute carrier family 1 member 6(SLC1A6)
175	8811	galanin receptor 2(GALR2)
176	64801	ARV1 homolog, fatty acid homeostasis modulator(ARV1)
177	8809	interleukin 18 receptor 1(IL18R1)
178	57130	ATPase 13A1(ATP13A1)
179	51754	transmembrane protein 8B(TMEM8B)
180	5734	prostaglandin E receptor 4(PTGER4)
181	8034	solute carrier family 25 member 16(SLC25A16)
182	5732	prostaglandin E receptor 2(PTGER2)
183	9556	chromosome 14 open reading frame 2(C14orf2)
184	8788	delta like non-canonical Notch ligand 1(DLK1)
185	9551	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial Fo complex subunit F2(ATP5J2)
186	57104	patatin like phospholipase domain containing 2(PNPLA2)
187	8778	sialic acid binding Ig like lectin 5(SIGLEC5)
188	54788	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member B12(DNAJB12)
189	8764	TNF receptor superfamily member 14(TNFRSF14)

190	51714	selenoprotein T(SELENOT)
191	9527	golgi SNAP receptor complex member 1(GOSR1)
192	9526	mannose-P-dolichol utilization defect 1(MPDU1)
193	64748	phospholipid phosphatase related 2(PLPPR2)
194	81621	Kazal type serine peptidase inhibitor domain 1(KAZALD1)
195	85455	dispatched RND transporter family member 2(DISP2)
196	9522	secretory carrier membrane protein 1(SCAMP1)
197	55540	interleukin 17 receptor B(IL17RB)
198	4915	neurotrophic receptor tyrosine kinase 2(NTRK2)
199	7982	suppression of tumorigenicity 7(ST7)
200	81614	non imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome 2(NIPA2)
201	9514	galactose-3-O-sulfotransferase 1(GAL3ST1)
202	8745	ADAM metallopeptidase domain 23(ADAM23)
203	54762	GRAM domain containing 1C(GRAMD1C)
204	81607	nectin cell adhesion molecule 4(NECTIN4)
205	80067	DDB1 and CUL4 associated factor 17(DCAF17)
206	9497	solute carrier family 4 member 7(SLC4A7)
207	9488	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class B(PIGB)
208	8720	membrane bound transcription factor peptidase, site 1(MBTPS1)
209	9487	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class L(PIGL)
210	64711	heparan sulfate-glucosamine 3-sulfotransferase 6(HS3ST6)
211	80045	G protein-coupled receptor 157(GPR157)
212	83877	TM2 domain containing 2(TM2D2)
213	81575	apolipoprotein L domain containing 1(APOLD1)
214	84641	major facilitator superfamily domain containing 14B(MFSD14B)
215	5639	proline rich and Gla domain 2(PRRG2)
216	85406	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C14(DNAJC14)
217	56255	thioredoxin related transmembrane protein 4(TM4)
218	80031	semaphorin 6D(SEMA6D)
219	9466	interleukin 27 receptor subunit alpha(IL27RA)
220	81562	lectin, mannose binding 2 like(LMAN2L)
221	80023	neurensin 2(NRSN2)
222	51643	transmembrane BAX inhibitor motif containing 4(TMBIM4)
223	81556	von Willebrand factor A domain containing 9(VWA9)
224	81555	Yip1 domain family member 5(YIPF5)
225	56241	sushi domain containing 2(SUSD2)
226	57003	coiled-coil domain containing 47(CCDC47)

227	80008	transmembrane protein 156(TMEM156)
228	7905	receptor accessory protein 5(REEP5)
229	56993	translocase of outer mitochondrial membrane 22(TOMM22)
230	81533	integrin alpha FG-GAP repeat containing 1(ITFG1)
231	63892	THADA, armadillo repeat containing(THADA)
232	85365	ALG2, alpha-1,3/1,6-mannosyltransferase(ALG2)
233	80761	uropod 3B(UPO3B)
234	59285	calcium voltage-gated channel auxiliary subunit gamma 6(CACNG6)
235	80758	proline rich 7, synaptic(PRR7)
236	54675	cardiolipin synthase 1(CRLS1)
237	4818	natural killer cell granule protein 7(NKG7)
238	59272	angiotensin I converting enzyme 2(ACE2)
239	50833	taste 2 receptor member 16(TAS2R16)
240	7113	transmembrane protease, serine 2(TMPS2)
241	970	CD70 molecule(CD70)
242	969	CD69 molecule(CD69)
243	6338	sodium channel epithelial 1 beta subunit(SCNN1B)
244	7105	tetraspanin 6(TSPAN6)
245	7102	tetraspanin 7(TSPAN7)
246	6330	sodium voltage-gated channel beta subunit 4(SCN4B)
247	89932	papilin, proteoglycan like sulfated glycoprotein(PAPLN)
248	80727	tweety family member 3(TTYH3)
249	6326	sodium voltage-gated channel alpha subunit 2(SCN2A)
250	57715	semaphorin 4G(SEMA4G)
251	79957	progesterone and adiponectin receptor family member 6(PAQR6)
252	56947	mitochondrial fission factor(MFF)
253	79188	transmembrane protein 43(TMEM43)
254	7087	intercellular adhesion molecule 5(ICAM5)
255	56937	prostate transmembrane protein, androgen induced 1(PMEPA1)
256	56926	nicalin(NCLN)
257	932	membrane spanning 4-domains A3(MS4A3)
258	79932	KIAA0319 like(KIAA0319L)
259	54621	V-set and immunoglobulin domain containing 10(VSIG10)
260	79161	transmembrane protein 243(TMEM243)
261	924	CD7 molecule(CD7)
262	56147	protocadherin alpha 1(PCDHA1)
263	56146	protocadherin alpha 2(PCDHA2)
264	56913	core 1 synthase, glycoprotein-N-acetylgalactosamine 3-beta-galactosyltransferase 1(C1GALT1)
265	56145	protocadherin alpha 3(PCDHA3)

266	64582	G protein-coupled receptor 135(GPR135)
267	9356	solute carrier family 22 member 6(SLC22A6)
268	84522	jagunal homolog 1(JAGN1)
269	56139	protocadherin alpha 10(PCDHA10)
270	57670	KIAA1549(KIAA1549)
271	56135	protocadherin alpha subfamily C, 1(PCDHAC1)
272	53833	interleukin 20 receptor subunit beta(IL20RB)
273	909	CD1a molecule(CD1A)
274	55366	leucine rich repeat containing G protein-coupled receptor 4(LGR4)
275	53831	G protein-coupled receptor 84(GPR84)
276	8577	transmembrane protein with EGF like and two follistatin like domains 1(TMEFF1)
277	56130	protocadherin beta 6(PCDHB6)
278	83742	MARVEL domain containing 1(MARVELD1)
279	79137	family with sequence similarity 134 member A(FAM134A)
280	53822	FXYD domain containing ion transport regulator 7(FXYD7)
281	56890	Mdm1 nuclear protein(MDM1)
282	57657	hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated potassium channel 3(HCN3)
283	56889	transmembrane 9 superfamily member 3(TM9SF3)
284	57650	KIAA1524(KIAA1524)
285	6259	receptor-like tyrosine kinase(RYK)
286	56113	protocadherin gamma subfamily A, 2(PCDHGA2)
287	56112	protocadherin gamma subfamily A, 3(PCDHGA3)
288	56110	protocadherin gamma subfamily A, 5(PCDHGA5)
289	56109	protocadherin gamma subfamily A, 6(PCDHGA6)
290	4718	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit C2(NDUFC2)
291	7782	solute carrier family 30 member 4(SLC30A4)
292	8549	leucine rich repeat containing G protein-coupled receptor 5(LGR5)
293	54567	delta like canonical Notch ligand 4(DLL4)
294	55334	solute carrier family 39 member 9(SLC39A9)
295	9311	acid sensing ion channel subunit 3(ASIC3)
296	57622	leucine rich repeat and fibronectin type III domain containing 1(LRFN1)
297	83698	calneuron 1(CALN1)
298	56851	ER membrane protein complex subunit 7(EMC7)
299	57611	immunoglobulin superfamily containing leucine rich repeat 2(ISLR2)
300	79853	transmembrane 4 L six family member 20(TM4SF20)

301	89822	potassium two pore domain channel subfamily K member 17(KCNK17)
302	51471	N-acetyltransferase 8B (putative, gene/pseudogene)(NAT8B)
303	54539	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B11(NDUFB11)
304	54538	roundabout guidance receptor 4(ROBO4)
305	79844	zinc finger DHHC-type containing 11(ZDHHC11)
306	55298	ring finger protein 121(RNF121)
307	79073	transmembrane protein 109(TMEM109)
308	79827	CXADR like membrane protein(CLMP)
309	79056	proline rich and Gla domain 4(PRRG4)
310	79053	ALG8, alpha-1,3-glucoyltransferase(ALG8)
311	5420	podocalyxin like(PODXL)
312	8484	galanin receptor 3(GALR3)
313	54503	zinc finger DHHC-type containing 13(ZDHHC13)
314	81341	olfactory receptor family 10 subfamily W member 1(OR10W1)
315	57556	semaphorin 6A(SEMA6A)
316	91304	transmembrane protein 259(TMEM259)
317	55254	transmembrane protein 39A(TMEM39A)
318	65991	FUN14 domain containing 2(FUNDC2)
319	65990	family with sequence similarity 173 member A(FAM173A)
320	79796	ALG9, alpha-1,2-mannosyltransferase(ALG9)
321	65989	delta like non-canonical Notch ligand 2(DLK2)
322	727910	TLC domain containing 2(TLCD2)
323	8460	tyrosylprotein sulfotransferase 1(TPST1)
324	57540	dispatched RND transporter family member 3(DISP3)
325	50636	anoctamin 7(ANO7)
326	54470	armadillo repeat containing, X-linked 6(ARMCX6)
327	79777	acyl-CoA binding domain containing 4(ACBD4)
328	5376	peripheral myelin protein 22(PMP22)
329	54463	family with sequence similarity 134 member B(FAM134B)
330	60598	potassium two pore domain channel subfamily K member 15(KCNK15)
331	79770	thioredoxin domain containing 15(TXNDC15)
332	768	carbonic anhydrase 9(CA9)
333	64429	zinc finger DHHC-type containing 6(ZDHHC6)
Gene Group 73		Enrichment Score: 0
1	6906	serpin family A member 7(SERPINA7)
2	90187	elastin microfibril interfacier 3(EMILIN3)
3	643797	uncharacterized LOC643797(AGVR6190)

4	81533	integrin alpha FG-GAP repeat containing 1(ITFG1)
5	79794	chromosome 12 open reading frame 49(C12orf49)
6	91775	neurexophilin and PC-esterase domain family member 3(NXPE3)
7	729330	otoconin 90(OC90)
8	78991	prenylcysteine oxidase 1 like(PCYOX1L)
9	90693	coiled-coil domain containing 126(CCDC126)
10	58496	lymphocyte antigen 6 complex, locus G5B(LY6G5B)
11	84439	HHIP like 1(HHIPL1)
12	79879	coiled-coil domain containing 134(CCDC134)
13	6414	selenoprotein P(SELENOP)
14	9703	KIAA0100(KIAA0100)
15	6694	secreted phosphoprotein 2(SPP2)
16	5047	progesterone associated endometrial protein(PAEP)
17	770	carbonic anhydrase 11(CA11)
18	85319	B melanoma antigen family member 2(BAGE2)
19	57212	TP73 antisense RNA 1(TP73-AS1)
20	80099	chromosome 7 open reading frame 69(C7orf69)
21	728464	methyltransferase like 24(METTL24)

Tabelle 51

Gelbes Modul:

Gene Group 1		Enrichment Score: 5.83
1	79441	HAUS augmin like complex subunit 3(HAUS3)
2	57405	SPC25, NDC80 kinetochore complex component(SPC25)
3	80817	centrosomal protein 44(CEP44)
4	23063	WAPL cohesin release factor(WAPL)
5	9055	protein regulator of cytokinesis 1(PRC1)
6	25936	NSL1, MIS12 kinetochore complex component(NSL1)
7	4085	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast)(MAD2L1)
8	79892	minichromosome maintenance complex binding protein(MCMBP)
9	84445	leucine zipper tumor suppressor 2(LZTS2)
10	11258	dynactin subunit 3(DCTN3)
11	23397	non-SMC condensin I complex subunit H(NCAPH)
12	79884	microtubule associated protein 9(MAP9)
13	64151	non-SMC condensin I complex subunit G(NCAPG)
14	25764	huntingtin interacting protein K(HYPK)
15	90417	kinetochore localized astrin/SPAG5 binding protein(KNSTRN)
16	57179	KIAA1191(KIAA1191)
17	29901	SAC3 domain containing 1(SAC3D1)
Gene Group 2		Enrichment Score: 5.49
1	132660	lin-54 DREAM MuvB core complex component(LIN54)
2	79921	transcription elongation factor A like 4(TCEAL4)
3	122953	Jun dimerization protein 2(JDP2)
4	84312	breast cancer metastasis-suppressor 1-like(BRMS1L)
5	10865	AT-rich interaction domain 5A(ARID5A)
6	23741	EP300 interacting inhibitor of differentiation 1(EID1)
7	55249	YY1 associated protein 1(YY1AP1)
8	81628	TSC22 domain family member 4(TSC22D4)
9	29969	MyoD family inhibitor domain containing(MDFIC)
10	55269	paraspeckle component 1(PSPC1)
Gene Group 3		Enrichment Score: 5.44
1	55269	paraspeckle component 1(PSPC1)
2	9584	RNA binding motif protein 39(RBM39)
3	6432	serine and arginine rich splicing factor 7(SRSF7)
4	85437	zinc finger CCHC-type and RNA binding motif containing 1(ZCRB1)
5	3187	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1 (H)(HNRNPH1)
6	10236	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R(HNRNPR)
7	6426	serine and arginine rich splicing factor 1(SRSF1)
8	92906	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L like(HNRNPLL)

9	54033	RNA binding motif protein 11(RBM11)
10	9987	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D like(HNRNPDL)
11	6741	Sjogren syndrome antigen B(SSB)
12	4670	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M(HNRNPM)
13	343069	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C-like 1(HNRNPCL1)
14	5937	RNA binding motif single stranded interacting protein 1(RBMS1)
15	5936	RNA binding motif protein 4(RBM4)
16	2926	G-rich RNA sequence binding factor 1(GRSF1)
17	27316	RNA binding motif protein, X-linked(RBMX)
18	26986	poly(A) binding protein cytoplasmic 1(PABPC1)
19	11052	cleavage and polyadenylation specific factor 6(CPSF6)
20	29896	transformer 2 alpha homolog(TRA2A)
Gene Group 4		Enrichment Score: 4.87
1	65083	nucleolar protein 6(NOL6)
2	57050	UTP3, small subunit processome component homolog (S. cerevisiae)(UTP3)
3	51096	UTP18, small subunit processome component(UTP18)
4	8602	NOP14 nucleolar protein(NOP14)
Gene Group 5		Enrichment Score: 4.76
1	253635	G-patch domain containing 11(GPATCH11)
2	57405	SPC25, NDC80 kinetochore complex component(SPC25)
3	284058	KAT8 regulatory NSL complex subunit 1(KANSL1)
4	64769	MYST/Esa1 associated factor 6(MEAF6)
Gene Group 6		Enrichment Score: 4.46
1	10393	anaphase promoting complex subunit 10(ANAPC10)
2	8697	cell division cycle 23(CDC23)
3	4085	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast)(MAD2L1)
4	29945	anaphase promoting complex subunit 4(ANAPC4)
Gene Group 7		Enrichment Score: 4.28
1	5718	proteasome 26S subunit, non-ATPase 12(PSMD12)
2	5707	proteasome 26S subunit, non-ATPase 1(PSMD1)
3	5717	proteasome 26S subunit, non-ATPase 11(PSMD11)
4	5684	proteasome subunit alpha 3(PSMA3)
5	5683	proteasome subunit alpha 2(PSMA2)
6	5704	proteasome 26S subunit, ATPase 4(PSMC4)
7	9861	proteasome 26S subunit, non-ATPase 6(PSMD6)
8	10213	proteasome 26S subunit, non-ATPase 14(PSMD14)
Gene Group 8		Enrichment Score: 4.22
1	6159	ribosomal protein L29(RPL29)
2	6223	ribosomal protein S19(RPS19)
3	6122	ribosomal protein L3(RPL3)

4	6152	ribosomal protein L24(RPL24)
5	6194	ribosomal protein S6(RPS6)
6	6160	ribosomal protein L31(RPL31)
Gene Group 9		Enrichment Score: 3.92
1	10910	SGT1 homolog, MIS12 kinetochore complex assembly cochaperone(SUGT1)
2	80155	N(alpha)-acetyltransferase 15, NatA auxiliary subunit(NAA15)
3	23383	MAU2 sister chromatid cohesion factor(MAU2)
4	8697	cell division cycle 23(CDC23)
5	55656	integrator complex subunit 8(INTS8)
6	9652	tetratricopeptide repeat domain 37(TTC37)
7	83857	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 1(TMTC1)
Gene Group 10		Enrichment Score: 2.91
1	22884	WD repeat domain 37(WDR37)
2	64397	zinc finger protein 106(ZNF106)
3	11171	serine/threonine kinase receptor associated protein(STRAP)
4	84219	WD repeat domain 24(WDR24)
5	23246	block of proliferation 1(BOP1)
6	51096	UTP18, small subunit processome component(UTP18)
7	23335	WD repeat domain 7(WDR7)
8	25886	POC1 centriolar protein A(POC1A)
9	1161	ERCC excision repair 8, CSA ubiquitin ligase complex subunit(ERCC8)
10	254065	bromodomain and WD repeat domain containing 3(BRWD3)
11	222229	leucine rich repeats and WD repeat domain containing 1(LRWD1)
12	112840	WD repeat domain 89(WDR89)
13	55339	WD repeat domain 33(WDR33)
14	23001	WD repeat and FYVE domain containing 3(WDFY3)
15	79718	transducin beta like 1 X-linked receptor 1(TBL1XR1)
16	2783	G protein subunit beta 2(GNB2)
17	55844	protein phosphatase 2 regulatory subunit Bdelta(PPP2R2D)
Gene Group 11		Enrichment Score: 2.87
1	29083	GTP binding protein 8 (putative)(GTPBP8)
2	26284	Era like 12S mitochondrial rRNA chaperone 1(ERAL1)
3	84273	nitric oxide associated 1(NOA1)
4	7284	Tu translation elongation factor, mitochondrial(TUFM)

Gene Group 12		Enrichment Score: 2.73
1	79009	DEAD-box helicase 50(DDX50)
2	10521	DEAD-box helicase 17(DDX17)
3	1665	DEAH-box helicase 15(DHX15)
4	79039	DEAD-box helicase 54(DDX54)
5	56916	SWI/SNF-related, matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin, subfamily a, containing DEAD/H box 1(SMARCAD1)
6	9879	DEAD-box helicase 46(DDX46)
7	83479	DEAD-box helicase 59(DDX59)
Gene Group 13		Enrichment Score: 2.7
1	55819	ring finger protein 130(RNF130)
2	81844	tripartite motif containing 56(TRIM56)
3	25898	ring finger and CHY zinc finger domain containing 1(RCHY1)
4	23321	tripartite motif containing 2(TRIM2)
5	57630	SH3 domain containing ring finger 1(SH3RF1)
Gene Group 14		Enrichment Score: 2.63
1	11200	checkpoint kinase 2(CHEK2)
2	5585	protein kinase N1(PKN1)
3	5584	protein kinase C iota(PRKCI)
4	10733	polo like kinase 4(PLK4)
5	1024	cyclin dependent kinase 8(CDK8)
6	4750	NIMA related kinase 1(NEK1)
7	57787	microtubule affinity regulating kinase 4(MARK4)
8	5597	mitogen-activated protein kinase 6(MAPK6)
9	9344	TAO kinase 2(TAOK2)
10	55872	PDZ binding kinase(PBK)
11	1613	death associated protein kinase 3(DAPK3)
12	9088	protein kinase, membrane associated tyrosine/threonine 1(PKMYT1)
Gene Group 15		Enrichment Score: 2.01
1	7398	ubiquitin specific peptidase 1(USP1)
2	84640	ubiquitin specific peptidase 38(USP38)
3	9960	ubiquitin specific peptidase 3(USP3)
4	57478	ubiquitin specific peptidase 31(USP31)
Gene Group 16		Enrichment Score: 2.01
1	11328	FK506 binding protein 9(FKBP9)
2	4925	nucleobindin 2(NUCB2)
3	654231	oncomodulin(OCM)
4	60681	FK506 binding protein 10(FKBP10)
5	23413	neuronal calcium sensor 1(NCS1)
6	83988	neurocalcin delta(NCALD)

7	5589	protein kinase C substrate 80K-H(PRKCSH)
Gene Group 17		Enrichment Score: 1.81
1	63931	mitochondrial ribosomal protein S14(MRPS14)
2	57129	mitochondrial ribosomal protein L47(MRPL47)
3	51023	mitochondrial ribosomal protein S18C(MRPS18C)
4	28957	mitochondrial ribosomal protein S28(MRPS28)
5	28977	mitochondrial ribosomal protein L42(MRPL42)
6	11222	mitochondrial ribosomal protein L3(MRPL3)
Gene Group 18		Enrichment Score: 1.66
1	1040	CDP-diacylglycerol synthase 1(CDS1)
2	10400	phosphatidylethanolamine N-methyltransferase(PEMT)
3	84803	glycerol-3-phosphate acyltransferase 3(GPAT3)
4	56994	choline phosphotransferase 1(CHPT1)
Gene Group 19		Enrichment Score: 1.45
1	4698	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A5(NDUFA5)
2	27069	growth hormone inducible transmembrane protein(GHITM)
3	83985	sphingolipid transporter 1 (putative)(SPNS1)
4	55972	solute carrier family 25 member 40(SLC25A40)
5	57380	MRS2, magnesium transporter(MRS2)
6	55967	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit A12(NDUFA12)
7	1353	COX11, cytochrome c oxidase copper chaperone(COX11)
8	131118	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C19(DNAJC19)
9	1349	cytochrome c oxidase subunit 7B(COX7B)
10	56901	NDUFA4, mitochondrial complex associated like 2(NDUFA4L2)
11	55486	presenilin associated rhomboid like(PARL)
12	28977	mitochondrial ribosomal protein L42(MRPL42)
13	54968	transmembrane protein 70(TMEM70)
14	55013	mitochondrial calcium uniporter dominant negative beta subunit(MCUB)
15	4711	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B5(NDUFB5)
16	89874	solute carrier family 25 member 21(SLC25A21)
17	4710	NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B4(NDUFB4)
18	55744	cytochrome c oxidase assembly factor 1 homolog(COA1)
Gene Group 20		Enrichment Score: 1.17
1	79986	zinc finger protein 702, pseudogene(ZNF702P)
2	22882	zinc fingers and homeoboxes 2(ZHX2)
3	79027	zinc finger protein 655(ZNF655)
4	65251	zinc finger protein 649(ZNF649)

5	7581	zinc finger protein 33A(ZNF33A)
6	58499	zinc finger protein 462(ZNF462)
7	342357	zinc finger with KRAB and SCAN domains 2(ZKSCAN2)
8	7576	zinc finger protein 28(ZNF28)
9	23060	zinc finger protein 609(ZNF609)
10	4152	methyl-CpG binding domain protein 1(MBD1)
11	80816	additional sex combs like 3, transcriptional regulator(ASXL3)
12	9658	zinc finger protein 516(ZNF516)
13	64376	IKAROS family zinc finger 5(IKZF5)
14	6615	snail family transcriptional repressor 1(SNAI1)
15	10127	zinc finger protein 263(ZNF263)
16	85460	zinc finger protein 518B(ZNF518B)
17	170960	zinc finger protein 721(ZNF721)
18	51545	zinc finger protein 581(ZNF581)
19	79759	zinc finger protein 668(ZNF668)
20	55628	zinc finger protein 407(ZNF407)
21	401898	zinc finger protein 833, pseudogene(ZNF833P)
22	126017	zinc finger protein 813(ZNF813)
23	7552	zinc finger protein 711(ZNF711)
24	30827	CXXC finger protein 1(CXXC1)
25	9925	zinc finger and BTB domain containing 5(ZBTB5)
26	55713	zinc finger protein 334(ZNF334)
27	137209	zinc finger protein 572(ZNF572)
28	51042	zinc finger protein 593(ZNF593)
29	130557	zinc finger protein 513(ZNF513)
30	57786	RB associated KRAB zinc finger(RBAK)
31	170261	zinc finger CCHC-type containing 12(ZCCHC12)
32	7711	zinc finger protein 155(ZNF155)
33	284349	zinc finger protein 283(ZNF283)
34	136051	zinc finger protein 786(ZNF786)
35	5326	PLAG1 like zinc finger 2(PLAGL2)
36	161882	zinc finger protein, FOG family member 1(ZFPM1)
37	56242	zinc finger protein 253(ZNF253)
Gene Group 21		Enrichment Score: 1.16
1	317754	POTE ankyrin domain family member D(POTED)
2	54776	protein phosphatase 1 regulatory subunit 12C(PPP1R12C)
3	29123	ankyrin repeat domain 11(ANKRD11)
4	63035	BCL6 corepressor-like 1(BCORL1)
5	64332	NFKB inhibitor zeta(NFKBIZ)
6	92591	ankyrin repeat and SOCS box containing 16(ASB16)
7	140461	ankyrin repeat and SOCS box containing 8(ASB8)

Gene Group 22		Enrichment Score: 1
1	282808	RAB40A, member RAS oncogene family-like(RAB40AL)
2	10123	ADP ribosylation factor like GTPase 4C(ARL4C)
3	55684	RAB, member RAS oncogene family-like 6(RABL6)
4	26225	ADP ribosylation factor like GTPase 5A(ARL5A)
5	91608	RAS like family 10 member B(RASL10B)
Gene Group 23		Enrichment Score: 0
1	1527	testis expressed 28(TEX28)
2	114789	solute carrier family 25 member 25(SLC25A25)
3	29985	solute carrier family 39 member 3(SLC39A3)
4	1525	coxsackie virus and adenovirus receptor(CXADR)
5	6098	ROS proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase(ROS1)
6	23478	SEC11 homolog A, signal peptidase complex subunit(SEC11A)
7	51363	carbohydrate sulfotransferase 15(CHST15)
8	10871	CD300c molecule(CD300C)
9	11253	mannosidase alpha class 1B member 1(MAN1B1)
10	4756	neogenin 1(NEO1)
11	81537	sphingosine-1-phosphate phosphatase 1(SGPP1)
12	285525	Yip1 domain family member 7(YIPF7)
13	283232	transmembrane protein 80(TMEM80)
14	9528	transmembrane protein 59(TMEM59)
15	90701	SEC11 homolog C, signal peptidase complex subunit(SEC11C)
16	199953	transmembrane protein 201(TMEM201)
17	138065	ring finger protein 183(RNF183)
18	55744	cytochrome c oxidase assembly factor 1 homolog(COA1)
19	57462	KIAA1161(KIAA1161)
20	90313	tumor protein p53 inducible protein 13(TP53I13)
21	64327	limb development membrane protein 1(LMBR1)
22	54968	transmembrane protein 70(TMEM70)
23	51528	JNK1/MAPK8-associated membrane protein(JKAMP)
24	256471	major facilitator superfamily domain containing 8(MFSD8)
25	138050	heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase(HGSNAT)
26	90488	transmembrane protein 263(TMEM263)
27	79982	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member B14(DNAJB14)
28	6443	sarcoglycan beta(SGCB)
29	66035	solute carrier family 2 member 11(SLC2A11)
30	386724	adhesion molecule with Ig like domain 3(AMIGO3)
31	7779	solute carrier family 30 member 1(SLC30A1)

32	27069	growth hormone inducible transmembrane protein(GHITM)
33	153129	solute carrier family 38 member 9(SLC38A9)
34	83985	sphingolipid transporter 1 (putative)(SPNS1)
35	10066	secretory carrier membrane protein 2(SCAMP2)
36	83982	interferon alpha inducible protein 27 like 2(IFI27L2)
37	64881	protocadherin 20(PCDH20)
38	116068	LysM domain containing 3(LYSMD3)
39	8534	carbohydrate sulfotransferase 1(CHST1)
40	401994	olfactory receptor family 14 subfamily I member 1(OR14I1)
41	79586	chondroitin polymerizing factor(CHPF)
42	440957	small integral membrane protein 4(SMIM4)
43	220158	Gilles de la Tourette syndrome chromosome region, candidate 1 (non-protein coding)(GTSCR1)
44	60482	solute carrier family 5 member 7(SLC5A7)
45	221303	family with sequence similarity 162 member B(FAM162B)
46	80148	PQ loop repeat containing 1(PQLC1)
47	53407	syntaxin 18(STX18)
48	28959	transmembrane protein 176B(TMEM176B)
49	10430	transmembrane protein 147(TMEM147)
50	347735	serine incorporator 2(SERINC2)
51	388799	family with sequence similarity 209 member B(FAM209B)
52	9091	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class Q(PIGQ)
53	117195	MAS related GPR family member X3(MRGPRX3)
54	26470	seizure related 6 homolog like 2(SEZ6L2)
55	1829	desmoglein 2(DSG2)
56	10424	progesterone receptor membrane component 2(PGRMC2)
57	201232	solute carrier family 16 member 13(SLC16A13)
58	1825	desmocollin 3(DSC3)
59	390892	olfactory receptor family 7 subfamily A member 10(OR7A10)
60	89874	solute carrier family 25 member 21(SLC25A21)
61	92737	delta/notch like EGF repeat containing(DNER)
62	293	solute carrier family 25 member 6(SLC25A6)
63	374462	protein tyrosine phosphatase, receptor type Q(PTPRQ)
64	133418	embigin(EMB)
65	64849	solute carrier family 13 member 3(SLC13A3)
66	166647	adhesion G protein-coupled receptor A3(ADGRA3)
67	131118	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C19(DNAJC19)
68	730094	chromosome 16 open reading frame 52(C16orf52)

69	9069	claudin 12(CLDN12)
70	5819	nectin cell adhesion molecule 2(NECTIN2)
71	84892	protein O-linked mannose N-acetylglucosaminyltransferase 2 (beta 1,4-)(POMGNT2)
72	55858	transmembrane protein 165(TMEM165)
73	55283	mucolipin 3(MCOLN3)
74	8869	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 5(ST3GAL5)
75	27013	cyclin Pas1/PHO80 domain containing 1(CNPPD1)
76	391059	ferric chelate reductase 1(FRRS1)
77	83930	STARD3 N-terminal like(STARD3NL)
78	284098	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class W(PIGW)
79	55089	solute carrier family 38 member 4(SLC38A4)
80	57380	MRS2, magnesium transporter(MRS2)
81	402135	olfactory receptor family 5 subfamily K member 2(OR5K2)
82	25864	abhydrolase domain containing 14A(ABHD14A)
83	460	astrotactin 1(ASTN1)
84	124222	progesterone and adiponectin receptor family member 4(PAQR4)
85	55652	solute carrier family 48 member 1(SLC48A1)
86	10384	butyrophilin subfamily 3 member A3(BTN3A3)
87	25849	prostate androgen-regulated mucin-like protein 1(PARM1)
88	134145	family with sequence similarity 173 member B(FAM173B)
89	390648	olfactory receptor family 4 subfamily F member 6(OR4F6)
90	11320	mannosyl (alpha-1,3-)-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase, isozyme A(MGAT4A)
91	6540	solute carrier family 6 member 13(SLC6A13)
92	54480	chondroitin polymerizing factor 2(CHPF2)
93	55244	solute carrier family 47 member 1(SLC47A1)
94	57722	immunoglobulin superfamily DCC subclass member 4(IGDCC4)
95	54664	transmembrane protein 106B(TMEM106B)
96	123041	solute carrier family 24 member 4(SLC24A4)
97	84650	emopamil binding protein like(EBPL)
98	54471	mitochondrial elongation factor 1(MIEF1)
99	727936	glucosyl xylosyltransferase 2(GXYLT2)
100	2135	exostosin like glycosyltransferase 2(EXTL2)
101	163720	cytochrome P450 family 4 subfamily Z member 2, pseudogene(CYP4Z2P)

102	7095	SEC62 homolog, preprotein translocation factor(SEC62)
103	55032	solute carrier family 35 member A5(SLC35A5)
104	219482	olfactory receptor family 5 subfamily M member 3(OR5M3)
105	977	CD151 molecule (Raph blood group)(CD151)
106	84061	magnesium transporter 1(MAGT1)
107	85013	transmembrane protein 128(TMEM128)
108	131616	transmembrane protein 42(TMEM42)
109	254428	solute carrier family 41 member 1(SLC41A1)
110	27328	protocadherin 11 X-linked(PCDH11X)
111	5362	plexin A2(PLXNA2)
112	51201	zinc finger DHHC-type containing 2(ZDHHC2)
113	84243	zinc finger DHHC-type containing 18(ZDHHC18)
114	57121	lysophosphatidic acid receptor 5(LPAR5)
115	79086	small integral membrane protein 7(SMIM7)
116	84623	kin of IRRE like 3 (Drosophila)(KIRREL3)
117	55972	solute carrier family 25 member 40(SLC25A40)
118	3062	hypocretin receptor 2(HCRTR2)
119	64755	chromosome 16 open reading frame 58(C16orf58)
120	51192	chemokine like factor(CKLF)
Gene Group 24		Enrichment Score: 0
1	29989	odorant binding protein 2B(OBP2B)
2	51148	cerebral endothelial cell adhesion molecule(CERCAM)
3	79709	collagen beta(1-O)galactosyltransferase 1(COLGALT1)
4	56914	otoraplin(OTOR)
5	80167	abhydrolase domain containing 18(ABHD18)
6	205327	chromosome 2 open reading frame 69(C2orf69)
7	374739	testis, prostate and placenta expressed(TEPP)
8	10143	C-type lectin domain family 3 member A(CLEC3A)
9	146556	chromosome 16 open reading frame 89(C16orf89)
10	81926	abhydrolase domain containing 17A(ABHD17A)

Braunes Modul:

Gene Group 1		Enrichment Score: 4.92
1	4299	AF4/FMR2 family member 1(AFF1)
2	80011	family with sequence similarity 192 member A(FAM192A)
3	118924	FRA10A associated CGG repeat 1(FRA10AC1)
4	23587	elongator acetyltransferase complex subunit 5(ELP5)
5	9825	spermatogenesis associated 2(SPATA2)
6	64864	regulatory factor X7(RFX7)
7	51155	hematological and neurological expressed 1(HN1)
8	60491	NGG1 interacting factor 3 like 1(NIF3L1)
9	54763	rhopilin associated tail protein 1(ROPN1)
Gene Group 2		Enrichment Score: 4.21
1	55119	pre-mRNA processing factor 38B(PRPF38B)
2	80011	family with sequence similarity 192 member A(FAM192A)
3	151903	coiled-coil domain containing 12(CCDC12)
4	56850	GRIP1 associated protein 1(GRIPAP1)
Gene Group 3		Enrichment Score: 3.95
1	8533	COP9 signalosome subunit 3(COPS3)
2	112942	cilia and flagella associated protein 36(CFAP36)
3	50813	COP9 signalosome subunit 7A(COPS7A)
4	10421	CD2 cytoplasmic tail binding protein 2(CD2BP2)
5	22950	solute carrier family 4 member 1 adaptor protein(SLC4A1AP)
6	60491	NGG1 interacting factor 3 like 1(NIF3L1)
7	79004	CUE domain containing 2(CUEDC2)
Gene Group 4		Enrichment Score: 3.58
1	22950	solute carrier family 4 member 1 adaptor protein(SLC4A1AP)
2	79091	methyltransferase like 22(METT22)
3	283742	family with sequence similarity 98 member B(FAM98B)
4	23587	elongator acetyltransferase complex subunit 5(ELP5)
5	51647	family with sequence similarity 96 member B(FAM96B)
6	112942	cilia and flagella associated protein 36(CFAP36)
7	93621	Morf4 family associated protein 1(MRFAP1)
8	54841	basic, immunoglobulin-like variable motif containing(BIVM)
9	157695	testis development related protein(TDRP)
10	63901	family with sequence similarity 111 member A(FAM111A)
11	25950	RWD domain containing 3(RWDD3)
12	60491	NGG1 interacting factor 3 like 1(NIF3L1)

13	90529	sperm tail PG-rich repeat containing 1(STPG1)
Gene Group 5		Enrichment Score: 2.92
1	79998	ankyrin repeat domain 53(ANKRD53)
2	221150	spindle and kinetochore associated complex subunit 3(SKA3)
3	2029	endosulfine alpha(ENSA)
4	10982	microtubule associated protein RP/EB family member 2(MAPRE2)
5	23354	HAUS augmin like complex subunit 5(HAUS5)
6	22924	microtubule associated protein RP/EB family member 3(MAPRE3)
Gene Group 6		Enrichment Score: 2.59
1	9774	BCL2 associated transcription factor 1(BCLAF1)
2	55035	nucleolar protein 8(NOL8)
3	199746	U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1 like 4(U2AF1L4)
4	132864	cytoplasmic polyadenylation element binding protein 2(CPEB2)
5	220988	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3(HNRNPA3)
6	3189	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H3(HNRNPH3)
7	4691	nucleolin(NCL)
8	6428	serine and arginine rich splicing factor 3(SRSF3)
9	3184	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D(HNRNPD)
10	144983	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1-like 2(HNRNPA1L2)
11	9904	RNA binding motif protein 19(RBM19)
12	440563	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C-like 2(HNRNPCL2)
13	3181	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1(HNRNPA2B1)
14	3178	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1(HNRNPA1)
15	135295	serine and arginine rich splicing factor 12(SRSF12)
16	23435	TAR DNA binding protein(TARDBP)
17	11066	small nuclear ribonucleoprotein U11/U12 subunit 35(SNRNP35)
18	8666	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit G(EIF3G)
19	23658	LSM5 homolog, U6 small nuclear RNA and mRNA degradation associated(LSM5)
20	84991	RNA binding motif protein 17(RBM17)
21	10492	synaptotagmin binding cytoplasmic RNA interacting protein(SYNCRIP)
22	221662	RNA binding motif protein 24(RBM24)
23	80004	epithelial splicing regulatory protein 2(ESRP2)

24	10772	serine and arginine rich splicing factor 10(SRSF10)
25	6635	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide E(SNRPE)
26	5411	pinin, desmosome associated protein(PNN)
27	6632	small nuclear ribonucleoprotein D1 polypeptide(SNRPD1)
28	494115	RNA binding motif protein, X-linked like 1(RBML1)
29	22985	apoptotic chromatin condensation inducer 1(ACIN1)
30	91746	YTH domain containing 1(YTHDC1)
31	6629	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide B2(SNRPB2)
32	55696	RNA binding motif protein 22(RBM22)
33	51747	LUC7 like 3 pre-mRNA splicing factor(LUC7L3)
Gene Group 7		Enrichment Score: 2.53
1	85403	ELL associated factor 1(EAF1)
2	6837	mediator complex subunit 22(MED22)
3	140597	transcription elongation factor A like 2(TCEAL2)
4	57658	calcium binding and coiled-coil domain 1(CALCOCO1)
5	9774	BCL2 associated transcription factor 1(BCLAF1)
6	51003	mediator complex subunit 31(MED31)
7	647219	achaete-scute family bHLH transcription factor 5(ASCL5)
8	2070	EYA transcriptional coactivator and phosphatase 4(EYA4)
9	26009	zinc finger ZZ-type containing 3(ZZZ3)
10	79682	centromere protein U(CENPU)
11	85474	ladybird homeobox 2(LBX2)
12	7570	zinc finger protein 22(ZNF22)
13	340543	transcription elongation factor A like 5(TCEAL5)
14	57157	putative homeodomain transcription factor 2(PHTF2)
15	26471	nuclear protein 1, transcriptional regulator(NUPR1)
16	493861	EP300 interacting inhibitor of differentiation 3(EID3)
17	400569	mediator complex subunit 11(MED11)
18	8409	ubiquitously expressed prefoldin like chaperone(UXT)
19	145873	mesoderm posterior bHLH transcription factor 2(MESP2)
20	54862	coiled-coil and C2 domain containing 1A(CC2D1A)
21	9921	ring finger protein 10(RNF10)
22	56849	transcription elongation factor A like 7(TCEAL7)
23	100129654	transcription factor 24(TCF24)
24	83444	INO80 complex subunit B(INO80B)
25	23587	elongator acetyltransferase complex subunit 5(ELP5)
26	29950	SERTA domain containing 1(SERTAD1)
27	54458	proline rich 13(PRR13)
28	90843	transcription elongation factor A like 8(TCEAL8)
29	51322	WW domain containing adaptor with coiled-coil(WAC)

30	83714	nuclear receptor interacting protein 2(NRIP2)
31	222698	NFKB activating protein like(NKAPL)
32	126272	EP300 interacting inhibitor of differentiation 2B(EID2B)
33	112495	general transcription factor IIIC subunit 6(GTF3C6)
34	9988	cyclin D binding myb like transcription factor 1(DMTF1)
35	55588	mediator complex subunit 29(MED29)
36	51122	COMM domain containing 2(COMMD2)
37	730087	zinc finger protein 726(ZNF726)
38	8939	far upstream element binding protein 3(FUBP3)
39	4664	NGFI-A binding protein 1(NAB1)
40	23379	interactor of little elongation complex ELL subunit 1(ICE1)
41	1810	down-regulator of transcription 1(DR1)
42	3899	AF4/FMR2 family member 3(AFF3)
43	1998	E74 like ETS transcription factor 2(ELF2)
44	84456	l(3)mbt-like 3 (Drosophila)(L3MBTL3)
Gene Group 8		Enrichment Score: 2.36
1	150468	cytoskeleton associated protein 2 like(CKAP2L)
2	27145	filamin A interacting protein 1(FILIP1)
3	9662	centrosomal protein 135(CEP135)
4	64770	coiled-coil domain containing 14(CCDC14)
5	10198	M-phase phosphoprotein 9(MPHOSPH9)
Gene Group 9		Enrichment Score: 2.26
1	11339	Opa interacting protein 5(OIP5)
2	54069	MIS18 kinetochore protein A(MIS18A)
3	64946	centromere protein H(CENPH)
4	54892	non-SMC condensin II complex subunit G2(NCAPG2)
5	23244	PDS5 cohesin associated factor A(PDS5A)
6	147841	SPC24, NDC80 kinetochore complex component(SPC24)
Gene Group 10		Enrichment Score: 2.21
1	7334	ubiquitin conjugating enzyme E2 N(UBE2N)
2	29089	ubiquitin conjugating enzyme E2 T(UBE2T)
3	51465	ubiquitin conjugating enzyme E2 J1(UBE2J1)
4	10477	ubiquitin conjugating enzyme E2 E3(UBE2E3)
5	7323	ubiquitin conjugating enzyme E2 D3(UBE2D3)
6	997	cell division cycle 34(CDC34)
7	7320	ubiquitin conjugating enzyme E2 B(UBE2B)
8	54926	ubiquitin conjugating enzyme E2 R2(UBE2R2)
9	9040	ubiquitin conjugating enzyme E2 M(UBE2M)
Gene Group 11		Enrichment Score: 2.11
1	9326	zinc finger HIT-type containing 3(ZNHIT3)
2	23503	zinc finger FYVE-type containing 26(ZFYVE26)
3	285180	RUN and FYVE domain containing 4(RUFY4)

4	55785	FYVE, RhoGEF and PH domain containing 6(FGD6)
5	79666	pleckstrin homology and FYVE domain containing 2(PLEKHF2)
6	389072	pleckstrin homology domain containing M3(PLEKHM3)
7	79443	FYVE and coiled-coil domain containing 1(FYCO1)
Gene Group 12		Enrichment Score: 2.04
1	9774	BCL2 associated transcription factor 1(BCLAF1)
2	467	activating transcription factor 3(ATF3)
3	1876	E2F transcription factor 6(E2F6)
4	79656	BEN domain containing 5(BEND5)
5	4784	nuclear factor I X(NFIX)
6	4779	nuclear factor, erythroid 2 like 1(NFE2L1)
7	1390	cAMP responsive element modulator(CREM)
8	7030	transcription factor binding to IGHM enhancer 3(TFE3)
9	29777	activator of basal transcription 1(ABT1)
10	1998	E74 like ETS transcription factor 2(ELF2)
11	112495	general transcription factor IIIC subunit 6(GTF3C6)
12	1810	down-regulator of transcription 1(DR1)
13	81566	cysteine and serine rich nuclear protein 2(CSRNP2)
14	10923	SUB1 homolog, transcriptional regulator(SUB1)
15	26009	zinc finger ZZ-type containing 3(ZZZ3)
16	22807	IKAROS family zinc finger 2(IKZF2)
17	4899	nuclear respiratory factor 1(NRF1)
18	4286	melanogenesis associated transcription factor(MITF)
19	8939	far upstream element binding protein 3(FUBP3)
20	2969	general transcription factor Iii(GTF2I)
21	100129654	transcription factor 24(TCF24)
22	4094	MAF bZIP transcription factor(MAF)
23	2355	FOS like 2, AP-1 transcription factor subunit(FOSL2)
24	2354	FosB proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit(FOSB)
Gene Group 13		Enrichment Score: 1.87
1	57109	REX4 homolog, 3'-5' exonuclease(REXO4)
2	64782	apoptosis enhancing nuclease(AEN)
3	57455	RNA exonuclease 1 homolog(REXO1)
4	254958	REX1, RNA exonuclease 1 homolog-like 1, pseudogene(REXO1L1P)
Gene Group 14		Enrichment Score: 1.74
1	6138	ribosomal protein L15(RPL15)
2	6135	ribosomal protein L11(RPL11)
3	6158	ribosomal protein L28(RPL28)
4	6181	ribosomal protein lateral stalk subunit P2(RPLP2)
5	51121	ribosomal protein L26 like 1(RPL26L1)

6	9349	ribosomal protein L23(RPL23)
7	6175	ribosomal protein lateral stalk subunit P0(RPLP0)
8	6218	ribosomal protein S17(RPS17)
9	6123	ribosomal protein L3 like(RPL3L)
10	6164	ribosomal protein L34(RPL34)
Gene Group 15		Enrichment Score: 1.66
1	65987	potassium channel tetramerization domain containing 14(KCTD14)
2	283518	potassium channel regulator(KCNRG)
3	54442	potassium channel tetramerization domain containing 5(KCTD5)
4	253980	potassium channel tetramerization domain containing 13(KCTD13)
Gene Group 16		Enrichment Score: 1.64
1	5705	proteasome 26S subunit, ATPase 5(PSMC5)
2	5694	proteasome subunit beta 6(PSMB6)
3	5693	proteasome subunit beta 5(PSMB5)
4	5713	proteasome 26S subunit, non-ATPase 7(PSMD7)
5	5711	proteasome 26S subunit, non-ATPase 5(PSMD5)
6	5721	proteasome activator subunit 2(PSME2)
Gene Group 17		Enrichment Score: 1.48
1	2947	glutathione S-transferase mu 3(GSTM3)
2	221357	glutathione S-transferase alpha 5(GSTA5)
3	1937	eukaryotic translation elongation factor 1 gamma(EEF1G)
4	2948	glutathione S-transferase mu 4(GSTM4)
Gene Group 18		Enrichment Score: 1.44
1	84708	ligand of numb-protein X 1(LNX1)
2	6047	ring finger protein 4(RNF4)
3	55658	ring finger protein 126(RNF126)
4	165918	ring finger protein 168(RNF168)
5	55148	ubiquitin protein ligase E3 component n-recognin 7 (putative)(UBR7)
6	221687	ring finger protein 182(RNF182)
7	57674	ring finger protein 213(RNF213)
8	10616	RANBP2-type and C3HC4-type zinc finger containing 1(RBCK1)
9	10293	TRAF interacting protein(TRAIP)
10	64320	ring finger protein 25(RNF25)
11	9810	ring finger protein 40(RNF40)
12	57534	mindbomb E3 ubiquitin protein ligase 1(MIB1)
13	7737	ring finger protein 113A(RNF113A)
14	89870	tripartite motif containing 15(TRIM15)
15	9921	ring finger protein 10(RNF10)

Gene Group 19		Enrichment Score: 1.44
1	142689	ankyrin repeat and SOCS box containing 12(ASB12)
2	9881	tetratricopeptide repeat and ankyrin repeat containing 1(TRANK1)
3	65124	sosondowah ankyrin repeat domain family member C(SOWAHC)
4	4793	NFKB inhibitor beta(NFKBIB)
5	23189	KN motif and ankyrin repeat domains 1(KANK1)
6	400986	ankyrin repeat domain 36C(ANKRD36C)
7	79998	ankyrin repeat domain 53(ANKRD53)
8	57182	ankyrin repeat domain 50(ANKRD50)
9	729171	ankyrin repeat domain 20 family member A8, pseudogene(ANKRD20A8P)
10	25831	HECT domain E3 ubiquitin protein ligase 1(HECTD1)
11	200539	ankyrin repeat domain 23(ANKRD23)
12	140462	ankyrin repeat and SOCS box containing 9(ASB9)
Gene Group 20		Enrichment Score: 1.41
1	29899	G-protein signaling modulator 2(GPSM2)
2	7266	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C7(DNAJC7)
3	118491	cilia and flagella associated protein 70(CFAP70)
4	160418	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 3(TMTC3)
5	91694	LON peptidase N-terminal domain and ring finger 1(LONRF1)
6	9881	tetratricopeptide repeat and ankyrin repeat containing 1(TRANK1)
7	84899	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 4(TMTC4)
8	64427	tetratricopeptide repeat domain 31(TTC31)
9	8881	cell division cycle 16(CDC16)
10	160335	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 2(TMTC2)
11	10811	NADPH oxidase activator 1(NOXA1)
12	729515	transmembrane protein 242(TMEM242)
Gene Group 21		Enrichment Score: 1.37
1	57337	SUMO1/sentrin specific peptidase 7(SEN7)
2	64854	ubiquitin specific peptidase 46(USP46)
3	10869	ubiquitin specific peptidase 19(USP19)
4	57602	ubiquitin specific peptidase 36(USP36)
5	54726	OTU deubiquitinase 4(OTUD4)
6	8239	ubiquitin specific peptidase 9, X-linked(USP9X)
7	219333	ubiquitin specific peptidase 12(USP12)
8	8237	ubiquitin specific peptidase 11(USP11)
9	55593	OTU deubiquitinase 5(OTUD5)

Gene Group 22		Enrichment Score: 1.32	
1	4641	myosin IC(MYO1C)	
2	4651	myosin X(MYO10)	
3	4430	myosin IB(MYO1B)	
4	4646	myosin VI(MYO6)	
5	79784	myosin heavy chain 14(MYH14)	
Gene Group 23		Enrichment Score: 1.27	
1	3801	kinesin family member C3(KIFC3)	
2	11127	kinesin family member 3A(KIF3A)	
3	3832	kinesin family member 11(KIF11)	
4	3798	kinesin family member 5A(KIF5A)	
5	347240	kinesin family member 24(KIF24)	
Gene Group 24		Enrichment Score: 1.27	
1	3622	inhibitor of growth family member 2(ING2)	
2	83746	L3MBTL2 polycomb repressive complex 1 subunit(L3MBTL2)	
3	80853	lysine demethylase 7A(KDM7A)	
4	10771	zinc finger MYND-type containing 11(ZMYND11)	
Gene Group 25		Enrichment Score: 1.21	
1	9118	internexin neuronal intermediate filament protein alpha(INA)	
2	4000	lamin A/C(LMNA)	
3	7431	vimentin(VIM)	
4	144501	keratin 80(KRT80)	
5	319101	keratin 73(KRT73)	
Gene Group 26		Enrichment Score: 1.1	
1	7638	zinc finger protein 221(ZNF221)	
2	2672	growth factor independent 1 transcriptional repressor(GFI1)	
3	374928	zinc finger protein 773(ZNF773)	
4	7633	zinc finger protein 79(ZNF79)	
5	9923	zinc finger and BTB domain containing 40(ZBTB40)	
6	222696	zinc finger and SCAN domain containing 23(ZSCAN23)	
7	54807	zinc finger protein 586(ZNF586)	
8	9921	ring finger protein 10(RNF10)	
9	196528	AT-rich interaction domain 2(ARID2)	
10	80012	polyhomeotic homolog 3(PHC3)	
11	92999	zinc finger and BTB domain containing 47(ZBTB47)	
12	83444	INO80 complex subunit B(INO80B)	
13	643836	ZFP62 zinc finger protein(ZFP62)	
14	90317	zinc finger protein 616(ZNF616)	
15	80764	THAP domain containing 7(THAP7)	
16	286075	zinc finger protein 707(ZNF707)	
17	115509	zinc finger protein 689(ZNF689)	

18	7776	zinc finger protein 236(ZNF236)
19	134218	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C21(DNAJC21)
20	7771	zinc finger protein 112(ZNF112)
21	146434	zinc finger protein 597(ZNF597)
22	6239	ras responsive element binding protein 1(RREB1)
23	7766	zinc finger protein 223(ZNF223)
24	146050	zinc finger and SCAN domain containing 29(ZSCAN29)
25	404281	YY2 transcription factor(YY2)
26	221302	zinc finger with UFM1 specific peptidase domain(ZUFSP)
27	7570	zinc finger protein 22(ZNF22)
28	100289635	zinc finger protein 605(ZNF605)
29	3174	hepatocyte nuclear factor 4 gamma(HNF4G)
30	22847	zinc finger protein 507(ZNF507)
31	256051	zinc finger protein 549(ZNF549)
32	7746	zinc finger and SCAN domain containing 9(ZSCAN9)
33	22835	ZFP30 zinc finger protein(ZFP30)
34	84527	zinc finger protein 559(ZNF559)
35	91975	zinc finger protein 300(ZNF300)
36	7741	zinc finger and SCAN domain containing 26(ZSCAN26)
37	284309	zinc finger protein 776(ZNF776)
38	57209	zinc finger protein 248(ZNF248)
39	9841	zinc finger and BTB domain containing 24(ZBTB24)
40	219749	zinc finger protein 25(ZNF25)
41	79364	ZXD family zinc finger C(ZXDC)
42	284307	zinc finger protein interacting with K protein 1(ZIK1)
43	862	RUNX1 translocation partner 1(RUNX1T1)
44	85474	ladybird homeobox 2(LBX2)
45	7733	zinc finger protein 180(ZNF180)
46	158431	zinc finger protein 782(ZNF782)
47	653121	zinc finger and BTB domain containing 8A(ZBTB8A)
48	83746	L3MBTL2 polycomb repressive complex 1 subunit(L3MBTL2)
49	342933	zinc finger and SCAN domain containing 5B(ZSCAN5B)
50	730087	zinc finger protein 726(ZNF726)
51	10780	zinc finger protein 234(ZNF234)
52	146198	ZFP90 zinc finger protein(ZFP90)
53	79155	TNFAIP3 interacting protein 2(TNIP2)
54	162239	ZFP1 zinc finger protein(ZFP1)
55	80108	ZFP2 zinc finger protein(ZFP2)
56	654254	zinc finger protein 732(ZNF732)
57	22807	IKAROS family zinc finger 2(IKZF2)
58	55659	zinc finger protein 416(ZNF416)
59	152485	zinc finger protein 827(ZNF827)
60	84107	Zic family member 4(ZIC4)

61	387032	zinc finger with KRAB and SCAN domains 4(ZKSCAN4)
62	6940	zinc finger protein 354A(ZNF354A)
63	26036	zinc finger protein 451(ZNF451)
64	57167	spalt like transcription factor 4(SALL4)
65	90589	zinc finger protein 625(ZNF625)
66	7690	zinc finger protein 131(ZNF131)
67	58495	ovo like zinc finger 2(OVOL2)
68	3104	zinc finger and BTB domain containing 48(ZBTB48)
69	169841	zinc finger protein 169(ZNF169)
70	27164	spalt like transcription factor 3(SALL3)
71	85416	Zic family member 5(ZIC5)
72	255403	zinc finger protein 718(ZNF718)
73	221785	zinc finger and SCAN domain containing 25(ZSCAN25)
74	93624	transcriptional adaptor 2B(TADA2B)
75	26009	zinc finger ZZ-type containing 3(ZZZ3)
76	401509	zinc finger protein 658B (pseudogene)(ZNF658B)
77	79673	zinc finger protein 329(ZNF329)
78	55786	zinc finger protein 415(ZNF415)
79	8609	Kruppel like factor 7(KLF7)
80	440077	zinc finger protein 705A(ZNF705A)
81	115950	zinc finger protein 653(ZNF653)
82	23119	HIC ZBTB transcriptional repressor 2(HIC2)
83	26747	NUFIP1, FMR1 interacting protein 1(NUFIP1)
84	100129654	transcription factor 24(TCF24)
85	353355	zinc finger protein 233(ZNF233)
86	400720	zinc finger protein 772(ZNF772)
87	252884	zinc finger protein 396(ZNF396)
Gene Group 27		Enrichment Score: 1.09
1	6047	ring finger protein 4(RNF4)
2	153830	ring finger protein 145(RNF145)
3	50626	cysteine and histidine rich 1(CYHR1)
4	221687	ring finger protein 182(RNF182)
5	84447	synoviolin 1(SYVN1)
Gene Group 28		Enrichment Score: 1.09
1	9975	nuclear receptor subfamily 1 group D member 2(NR1D2)
2	5915	retinoic acid receptor beta(RARB)
3	3164	nuclear receptor subfamily 4 group A member 1(NR4A1)
4	3174	hepatocyte nuclear factor 4 gamma(HNF4G)
Gene Group 29		Enrichment Score: 1.09
1	1660	DEAH-box helicase 9(DHX9)
2	6596	helicase like transcription factor(HLTF)
3	57647	DEAH-box helicase 37(DHX37)
4	56919	DEAH-box helicase 33(DHX33)
5	64794	DEAD-box helicase 31(DDX31)

Gene Group 30		Enrichment Score: 1.08
1	10922	Fas activated serine/threonine kinase(FASTK)
2	7786	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 12(MAP3K12)
3	84451	mixed lineage kinase 4(MLK4)
4	9874	tousled like kinase 1(TLK1)
5	11011	tousled like kinase 2(TLK2)
6	7016	testis-specific kinase 1(TESK1)
7	9201	doublecortin like kinase 1(DCLK1)
8	91754	NIMA related kinase 9(NEK9)
9	269	anti-Mullerian hormone receptor type 2(AMHR2)
10	4919	receptor tyrosine kinase like orphan receptor 1(ROR1)
11	4916	neurotrophic receptor tyrosine kinase 3(NTRK3)
12	1021	cyclin dependent kinase 6(CDK6)
13	2065	erb-b2 receptor tyrosine kinase 3(ERBB3)
14	1019	cyclin dependent kinase 4(CDK4)
15	4342	v-mos Moloney murine sarcoma viral oncogene homolog(MOS)
16	10420	testis-specific kinase 2(TESK2)
17	8899	pre-mRNA processing factor 4B(PRP4B)
18	23049	SMG1, nonsense mediated mRNA decay associated PI3K related kinase(SMG1)
19	130399	activin A receptor type 1C(ACVR1C)
20	1196	CDC like kinase 2(CLK2)
21	283629	testis specific serine kinase 4(TSSK4)
22	7272	TTK protein kinase(TTK)
23	6793	serine/threonine kinase 10(STK10)
24	238	anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase(ALK)
25	2042	EPH receptor A3(EPHA3)
26	6789	serine/threonine kinase 4(STK4)
27	3654	interleukin 1 receptor associated kinase 1(IRAK1)
28	8780	RIO kinase 3(RIOK3)
29	83732	RIO kinase 1(RIOK1)
30	699	BUB1 mitotic checkpoint serine/threonine kinase(BUB1)
31	1263	polo like kinase 3(PLK3)
32	23683	protein kinase D3(PRKD3)
33	2872	MAP kinase interacting serine/threonine kinase 2(MKNK2)
34	1445	c-src tyrosine kinase(CSK)
35	11040	Pim-2 proto-oncogene, serine/threonine kinase(PIM2)
36	55589	BMP2 inducible kinase(BMP2K)
37	1436	colony stimulating factor 1 receptor(CSF1R)
38	375449	microtubule associated serine/threonine kinase family member 4(MAST4)
39	5607	mitogen-activated protein kinase kinase 5(MAP2K5)

Gene Group 31		Enrichment Score: 1.06
1	8354	histone cluster 1 H3 family member i(HIST1H3I)
2	8970	histone cluster 1 H2B family member j(HIST1H2BJ)
3	8363	histone cluster 1 H4 family member j(HIST1H4J)
4	3015	H2A histone family member Z(H2AFZ)
Gene Group 32		Enrichment Score: 0.97
1	54658	UDP glucuronosyltransferase family 1 member A1(UGT1A1)
2	54657	UDP glucuronosyltransferase family 1 member A4(UGT1A4)
3	54600	UDP glucuronosyltransferase family 1 member A9(UGT1A9)
4	54578	UDP glucuronosyltransferase family 1 member A6(UGT1A6)
5	54490	UDP glucuronosyltransferase family 2 member B28(UGT2B28)
Gene Group 33		Enrichment Score: 0.91
1	10625	influenza virus NS1A binding protein(IVNS1ABP)
2	56062	kelch like family member 4(KLHL4)
3	9817	kelch like ECH associated protein 1(KEAP1)
4	59349	kelch like family member 12(KLHL12)
5	11275	kelch like family member 2(KLHL2)
Gene Group 34		Enrichment Score: 0.9
1	390	Rho family GTPase 3(RND3)
2	389	ras homolog family member C(RHOC)
3	84084	RAB6C, member RAS oncogene family(RAB6C)
4	10966	RAB40B, member RAS oncogene family(RAB40B)
5	54734	RAB39A, member RAS oncogene family(RAB39A)
6	151011	septin 10(SEPT10)
7	382	ADP ribosylation factor 6(ARF6)
8	28511	NFKB inhibitor interacting Ras like 2(NKIRAS2)
9	285282	RAB, member of RAS oncogene family like 3(RABL3)
10	379	ADP ribosylation factor like GTPase 4D(ARL4D)
11	27289	Rho family GTPase 1(RND1)
12	377	ADP ribosylation factor 3(ARF3)
13	56681	secretion associated Ras related GTPase 1A(SAR1A)
14	5412	ubiquitin like 3(UBL3)
15	9364	RAB28, member RAS oncogene family(RAB28)
16	5867	RAB4A, member RAS oncogene family(RAB4A)
17	5865	RAB3B, member RAS oncogene family(RAB3B)

Gene Group 35		Enrichment Score: 0.84
1	10239	adaptor related protein complex 3 sigma 2 subunit(AP3S2)
2	8905	adaptor related protein complex 1 sigma 2 subunit(AP1S2)
3	23431	adaptor related protein complex 4 epsilon 1 subunit(AP4E1)
4	11154	adaptor related protein complex 4 sigma 1 subunit(AP4S1)
Gene Group 36		Enrichment Score: 0.76
1	285429	DDB1 and CUL4 associated factor 4 like 1(DCAF4L1)
2	51362	cell division cycle 40(CDC40)
3	7464	coronin 2A(CORO2A)
4	23160	WD repeat domain 43(WDR43)
5	80217	cilia and flagella associated protein 43(CFAP43)
6	54461	F-box and WD repeat domain containing 5(FBXW5)
7	10607	transducin beta like 3(TBL3)
8	55255	WD repeat domain 41(WDR41)
9	151790	WD repeat domain 49(WDR49)
10	114987	WD repeat domain 31(WDR31)
11	5521	protein phosphatase 2 regulatory subunit Bbeta(PPP2R2B)
12	5191	peroxisomal biogenesis factor 7(PEX7)
13	348995	nucleoporin 43(NUP43)
14	9277	WD repeat domain 46(WDR46)
15	55100	WD repeat domain 70(WDR70)
16	55003	PAK1 interacting protein 1(PAK1IP1)
17	80335	WD repeat domain 82(WDR82)
18	7011	telomerase associated protein 1(TEP1)
19	284403	WD repeat domain 62(WDR62)
20	80232	WD repeat domain 26(WDR26)
21	25853	DDB1 and CUL4 associated factor 12(DCAF12)
22	55884	WD repeat and SOCS box containing 2(WSB2)
23	987	LPS responsive beige-like anchor protein(LRBA)
Gene Group 37		Enrichment Score: 0.63
1	28973	mitochondrial ribosomal protein S18B(MRPS18B)
2	51081	mitochondrial ribosomal protein S7(MRPS7)
3	64432	mitochondrial ribosomal protein S25(MRPS25)
4	79590	mitochondrial ribosomal protein L24(MRPL24)
5	65003	mitochondrial ribosomal protein L11(MRPL11)
6	64969	mitochondrial ribosomal protein S5(MRPS5)
7	51263	mitochondrial ribosomal protein L30(MRPL30)
8	29074	mitochondrial ribosomal protein L18(MRPL18)

Gene Group 38		Enrichment Score: 0.55
1	30012	T-cell leukemia homeobox 3(TLX3)
2	3239	homeobox D13(HOXD13)
3	2020	engrailed homeobox 2(EN2)
4	5078	paired box 4(PAX4)
5	56917	Meis homeobox 3(MEIS3)
6	139324	highly divergent homeobox(HDX)
7	1044	caudal type homeobox 1(CDX1)
8	85474	ladybird homeobox 2(LBX2)
9	5316	PBX/knotted 1 homeobox 1(PKNOX1)
10	1750	distal-less homeobox 6(DLX6)
11	79190	iroquois homeobox 6(IRX6)
12	1749	distal-less homeobox 5(DLX5)
Gene Group 39		Enrichment Score: 0.42
1	386682	keratin associated protein 10-3(KRTAP10-3)
2	386681	keratin associated protein 10-8(KRTAP10-8)
3	140258	keratin associated protein 13-1(KRTAP13-1)
4	7840	ALMS1, centrosome and basal body associated protein(ALMS1)
5	5430	RNA polymerase II subunit A(POLR2A)
6	4582	mucin 1, cell surface associated(MUC1)
7	337959	keratin associated protein 13-2(KRTAP13-2)
8	100132386	keratin associated protein 4-9(KRTAP4-9)
Gene Group 40		Enrichment Score: 0.4
1	1360	carboxypeptidase B1(CPB1)
2	1358	carboxypeptidase A2(CPA2)
3	60676	pappalysin 2(PAPPA2)
4	4224	meprin A subunit alpha(MEP1A)
Gene Group 41		Enrichment Score: 0.39
1	1572	cytochrome P450 family 2 subfamily F member 1(CYP2F1)
2	1548	cytochrome P450 family 2 subfamily A member 6(CYP2A6)
3	199974	cytochrome P450 family 4 subfamily Z member 1(CYP4Z1)
4	1543	cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1(CYP1A1)
5	1564	cytochrome P450 family 2 subfamily D member 7 (gene/pseudogene)(CYP2D7)
6	1573	cytochrome P450 family 2 subfamily J member 2(CYP2J2)
Gene Group 42		Enrichment Score: 0.33
1	10350	ATP binding cassette subfamily A member 9(ABCA9)
2	21	ATP binding cassette subfamily A member 3(ABCA3)

3	4363	ATP binding cassette subfamily C member 1(ABCC1)
4	225	ATP binding cassette subfamily D member 2(ABCD2)
Gene Group 43		Enrichment Score: 0.27
1	9547	C-X-C motif chemokine ligand 14(CXCL14)
2	6360	C-C motif chemokine ligand 16(CCL16)
3	6370	C-C motif chemokine ligand 25(CCL25)
4	6348	C-C motif chemokine ligand 3(CCL3)
Gene Group 44		Enrichment Score: 0.18
1	64800	EF-hand calcium binding domain 6(EFCAB6)
2	49860	cornulin(CRNN)
3	170591	S100 calcium binding protein Z(S100Z)
4	79180	EF-hand domain family member D2(EFHD2)
5	10627	myosin light chain 12A(MYL12A)
6	6271	S100 calcium binding protein A1(S100A1)
7	4951	oncomodulin 2(OCM2)
8	84766	calcium release activated channel regulator 2A(CRACR2A)
Gene Group 45		Enrichment Score: 0.17
1	3748	potassium voltage-gated channel subfamily C member 3(KCNC3)
2	378807	cation channel sperm associated 4(CATSPER4)
3	3764	potassium voltage-gated channel subfamily J member 8(KCNJ8)
4	3738	potassium voltage-gated channel subfamily A member 3(KCNA3)
5	3760	potassium voltage-gated channel subfamily J member 3(KCNJ3)
6	27012	potassium voltage-gated channel modifier subfamily V member 1(KCNV1)
7	117144	cation channel sperm associated 1(CATSPER1)
8	93107	potassium voltage-gated channel modifier subfamily G member 4(KCNG4)
9	140738	transmembrane protein 37(TMEM37)
Gene Group 46		Enrichment Score: 0.12
1	65999	leucine rich repeat containing 61(LRRC61)
2	90506	leucine rich repeat containing 46(LRRC46)
3	55227	leucine rich repeat containing 1(LRRC1)
4	57470	leucine rich repeat containing 47(LRRC47)
5	151827	leucine rich repeat containing 34(LRRC34)
6	10233	leucine rich repeat containing 23(LRRC23)
7	6251	Ras suppressor protein 1(RSU1)
8	286187	protein phosphatase 1 regulatory subunit 42(PPP1R42)

Gene Group 47		Enrichment Score: 0.05
1	8434	reversion inducing cysteine rich protein with kazal motifs(RECK)
2	3061	hypocretin receptor 1(HCRTR1)
3	64420	sushi domain containing 1(SUSD1)
4	57515	serine incorporator 1(SERINC1)
5	64418	transmembrane protein 168(TMEM168)
6	51374	all-trans retinoic acid induced differentiation factor(ATRAID)
7	9953	heparan sulfate-glucosamine 3-sulfotransferase 3B1(HS3ST3B1)
8	64405	cadherin 22(CDH22)
9	26050	SLIT and NTRK like family member 5(SLITRK5)
10	138799	olfactory receptor family 13 subfamily C member 5(OR13C5)
11	259215	lymphocyte antigen 6 complex, locus G6F(LY6G6F)
12	57493	heart development protein with EGF like domains 1(HEG1)
13	9934	purinergic receptor P2Y14(P2RY14)
14	29097	cornichon family AMPA receptor auxiliary protein 4(CNIH4)
15	8387	olfactory receptor family 1 subfamily E member 1(OR1E1)
16	64377	carbohydrate sulfotransferase 8(CHST8)
17	79713	IGF like family receptor 1(IGFLR1)
18	29090	translocase of inner mitochondrial membrane 21(TIMM21)
19	57468	solute carrier family 12 member 5(SLC12A5)
20	51330	TNF receptor superfamily member 12A(TNFRSF12A)
21	4543	melatonin receptor 1A(MTNR1A)
22	6843	vesicle associated membrane protein 1(VAMP1)
23	152573	shisa family member 3(SHISA3)
24	114990	vasorin(VASN)
25	9144	synaptogyrin 2(SYNGR2)
26	55161	transmembrane protein 33(TMEM33)
27	113452	transmembrane protein 54(TMEM54)
28	9906	solute carrier family 35 member E2(SLC35E2)
29	6836	surfeit 4(SURF4)
30	57458	transmembrane and coiled-coil domain family 3(TMCC3)
31	407975	miR-17-92a-1 cluster host gene(MIR17HG)
32	57452	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 16(GALNT16)
33	116511	MAS1 proto-oncogene like, G protein-coupled receptor(MAS1L)

34	154091	solute carrier family 2 member 12(SLC2A12)
35	79690	galactose-3-O-sulfotransferase 4(GAL3ST4)
36	390323	olfactory receptor family 6 subfamily C member 75(OR6C75)
37	2217	Fc fragment of IgG receptor and transporter(FCGRT)
38	84283	transmembrane protein 79(TMEM79)
39	2214	Fc fragment of IgG receptor IIIa(FCGR3A)
40	201633	T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains(TIGIT)
41	2212	Fc fragment of IgG receptor IIa(FCGR2A)
42	55901	thrombospondin type 1 domain containing 1(THSD1)
43	84277	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C30(DNAJC30)
44	2208	Fc fragment of IgE receptor II(FCER2)
45	2205	Fc fragment of IgE receptor Ia(FCER1A)
46	23676	small muscle protein, X-linked(SMPX)
47	2195	FAT atypical cadherin 1(FAT1)
48	25972	unc-50 inner nuclear membrane RNA binding protein(UNC50)
49	55117	solute carrier family 6 member 15(SLC6A15)
50	60484	hyaluronan and proteoglycan link protein 2(HAPLN2)
51	85025	transmembrane protein 60(TMEM60)
52	29800	zinc finger DHHC-type containing 1(ZDHHC1)
53	85019	transmembrane protein 241(TMEM241)
54	349633	placenta expressed transcript 1(PLET1)
55	57406	abhydrolase domain containing 6(ABHD6)
56	23654	plexin B2(PLXNB2)
57	114926	small integral membrane protein 19(SMIM19)
58	9080	claudin 9(CLDN9)
59	55867	solute carrier family 22 member 11(SLC22A11)
60	10613	ER lipid raft associated 1(ERLIN1)
61	9076	claudin 1(CLDN1)
62	403313	phospholipid phosphatase 6(PLPP6)
63	638	BCL2 interacting killer(BIK)
64	55862	ethylmalonyl-CoA decarboxylase 1(ECHDC1)
65	112616	CKLF like MARVEL transmembrane domain containing 7(CMTM7)
66	8302	killer cell lectin like receptor C4(KLRC4)
67	22875	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 4 (putative)(ENPP4)
68	55851	presenilin enhancer gamma-secretase subunit(PSENEN)
69	284415	V-set and transmembrane domain containing 1(VSTM1)
70	624	bradykinin receptor B2(BDKRB2)
71	28234	solute carrier organic anion transporter family member 1B3(SLCO1B3)
72	28231	solute carrier organic anion transporter family member 4A1(SLCO4A1)

73	84216	transmembrane protein 117(TMEM117)
74	6748	signal sequence receptor subunit 4(SSR4)
75	10581	interferon induced transmembrane protein 2(IFITM2)
76	51232	cysteine rich transmembrane BMP regulator 1(CRIM1)
77	84975	major facilitator superfamily domain containing 5(MFSD5)
78	55824	phosphoprotein membrane anchor with glycosphingolipid microdomains 1(PAG1)
79	2901	glutamate ionotropic receptor kainate type subunit 5(GRIK5)
80	1364	claudin 4(CLDN4)
81	222256	cadherin related family member 3(CDHR3)
82	200008	CUB domain containing protein 2(CDCP2)
83	22829	neuroligin 4, Y-linked(NLGN4Y)
84	1350	cytochrome c oxidase subunit 7C(COX7C)
85	28962	osteopetrosis associated transmembrane protein 1(OSTM1)
86	7485	tryptophan rich basic protein(WRB)
87	9777	transmembrane 9 superfamily member 4(TM9SF4)
88	341116	membrane spanning 4-domains A10(MS4A10)
89	390201	olfactory receptor family 10 subfamily V member 1(OR10V1)
90	55788	LMBR1 domain containing 1(LMBRD1)
91	9766	sushi domain containing 6(SUSD6)
92	388662	solute carrier family 6 member 17(SLC6A17)
93	84162	KIAA1109(KIAA1109)
94	84928	transmembrane protein 209(TMEM209)
95	9761	malectin(MLEC)
96	55780	ER membrane associated RNA degradation(ERMARD)
97	199974	cytochrome P450 family 4 subfamily Z member 1(CYP4Z1)
98	554	arginine vasopressin receptor 2(AVPR2)
99	23563	carbohydrate sulfotransferase 5(CHST5)
100	11285	beta-1,4-galactosyltransferase 7(B4GALT7)
101	64208	popeye domain containing 3(POPDC3)
102	55002	transmembrane and coiled-coil domains 3(TMCO3)
103	199964	transmembrane protein 61(TMEM61)
104	84912	solute carrier family 35 member B4(SLC35B4)
105	137835	transmembrane protein 71(TMEM71)
106	9741	lysosomal protein transmembrane 4 alpha(LAPTM4A)
107	114815	sortilin related VPS10 domain containing receptor 1(SORCS1)
108	84899	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 4(TMTC4)
109	94103	ORMDL sphingolipid biosynthesis regulator 3(ORMDL3)

110	84898	plexin domain containing 2(PLXDC2)
111	4358	MPV17, mitochondrial inner membrane protein(MPV17)
112	114805	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 13(GALNT13)
113	390157	olfactory receptor family 8 subfamily K member 1(OR8K1)
114	3588	interleukin 10 receptor subunit beta(IL10RB)
115	282770	olfactory receptor family 10 subfamily AG member 1(OR10AG1)
116	2814	glycoprotein V platelet(GP5)
117	219874	olfactory receptor family 6 subfamily T member 1(OR6T1)
118	219873	olfactory receptor family 10 subfamily S member 1(OR10S1)
119	127066	olfactory receptor family 14 subfamily C member 36(OR14C36)
120	84879	major facilitator superfamily domain containing 2A(MFSD2A)
121	84109	pyroglutamylated RFamide peptide receptor(QRFPR)
122	1272	contactin 1(CNTN1)
123	81035	collectin subfamily member 12(COLEC12)
124	643236	transmembrane protein 72(TMEM72)
125	196074	methyltransferase like 15(METTL15)
126	51108	methyltransferase like 9(METTL9)
127	284274	small integral membrane protein 21(SMIM21)
128	9687	growth regulation by estrogen in breast cancer 1(GREB1)
129	25789	transmembrane protein 59 like(TMEM59L)
130	1235	C-C motif chemokine receptor 6(CCR6)
131	1233	C-C motif chemokine receptor 4(CCR4)
132	84068	solute carrier family 10 member 7(SLC10A7)
133	152330	contactin 4(CNTN4)
134	205251	long intergenic non-protein coding RNA 116(LINC00116)
135	80228	ORAI calcium release-activated calcium modulator 2(ORAI2)
136	113201	cancer susceptibility candidate 4(CASC4)
137	390083	olfactory receptor family 56 subfamily A member 3(OR56A3)
138	129303	transmembrane protein 150A(TMEM150A)
139	7348	uropod 1B(UPL1B)
140	64106	neuropeptide FF receptor 1(NPFFR1)
141	84814	phospholipid phosphatase 7 (inactive)(PLPP7)
142	768211	RELT like 1(RELL1)
143	54896	PQ loop repeat containing 2(PQLC2)
144	390075	olfactory receptor family 52 subfamily N member 5(OR52N5)

145	170712	cytochrome c oxidase subunit 7B2(COX7B2)
146	6574	solute carrier family 20 member 1(SLC20A1)
147	641649	transmembrane protein 91(TMEM91)
148	116254	glycoprotein integral membrane 1(GINM1)
149	55654	transmembrane protein 127(TMEM127)
150	153830	ring finger protein 145(RNF145)
151	64091	popeye domain containing 2(POPDC2)
152	113178	secretory carrier membrane protein 4(SCAMP4)
153	338675	olfactory receptor family 5 subfamily AP member 2(OR5AP2)
154	338674	olfactory receptor family 5 subfamily F member 1(OR5F1)
155	5794	protein tyrosine phosphatase, receptor type H(PTPRH)
156	340205	triggering receptor expressed on myeloid cells like 1(TREML1)
157	3490	insulin like growth factor binding protein 7(IGFBP7)
158	131578	leucine rich repeat containing 15(LRRC15)
159	120071	LARGE xylosyl- and glucuronyltransferase 2(LARGE2)
160	64840	porcupine homolog (Drosophila)(PORCN)
161	64834	ELOVL fatty acid elongase 1(ELOVL1)
162	81706	protein phosphatase 1 regulatory inhibitor subunit 14C(PPP1R14C)
163	6536	solute carrier family 6 member 9(SLC6A9)
164	221294	5'-nucleotidase domain containing 1(NT5DC1)
165	57156	transmembrane protein 63C(TMEM63C)
166	28775	immunoglobulin lambda variable 7-46 (gene/pseudogene)(IGLV7-46)
167	337876	chondroitin sulfate synthase 3(CHSY3)
168	195977	anthrax toxin receptor-like(ANTXRL)
169	6527	solute carrier family 5 member 4(SLC5A4)
170	3459	interferon gamma receptor 1(IFNGR1)
171	27235	coenzyme Q2, polyprenyltransferase(COQ2)
172	4224	mepripin A subunit alpha(MEP1A)
173	23399	CTD nuclear envelope phosphatase 1(CTDNEP1)
174	11126	CD160 molecule(CD160)
175	339398	leucine rich repeat and Ig domain containing 4(LINGO4)
176	83986	family with sequence similarity 234 member A(FAM234A)
177	11120	butyrophilin subfamily 2 member A1(BTN2A1)
178	84750	fucosyltransferase 10(FUT10)
179	10350	ATP binding cassette subfamily A member 9(ABCA9)
180	51000	solute carrier family 35 member B3(SLC35B3)
181	5746	parathyroid hormone 2 receptor(PTH2R)
182	140738	transmembrane protein 37(TMEM37)
183	151473	solute carrier family 16 member 14(SLC16A14)

184	6509	solute carrier family 1 member 4(SLC1A4)
185	8038	ADAM metallopeptidase domain 12(ADAM12)
186	55591	vezatin, adherens junctions transmembrane protein(VEZT)
187	340146	solute carrier family 35 member D3(SLC35D3)
188	401505	translocase of outer mitochondrial membrane 5(TOMM5)
189	1131	cholinergic receptor muscarinic 3(CHRM3)
190	9568	gamma-aminobutyric acid type B receptor subunit 2(GABBR2)
191	10332	C-type lectin domain family 4 member M(CLEC4M)
192	8797	TNF receptor superfamily member 10a(TNFRSF10A)
193	8795	TNF receptor superfamily member 10b(TNFRSF10B)
194	120776	olfactory receptor family 2 subfamily D member 2(OR2D2)
195	1889	endothelin converting enzyme 1(ECE1)
196	8792	TNF receptor superfamily member 11a(TNFRSF11A)
197	10326	signal regulatory protein beta 1(SIRPB1)
198	6490	premelanosome protein(PMEL)
199	10321	cysteine rich secretory protein 3(CRISP3)
200	338596	ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 6(ST8SIA6)
201	57105	cysteinyl leukotriene receptor 2(CYSLTR2)
202	124599	CD300 molecule like family member b(CD300LB)
203	128434	V-set and transmembrane domain containing 2 like(VSTM2L)
204	55568	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 10(GALNT10)
205	643853	transmembrane protein with metallophosphoesterase domain(TMPPE)
206	283358	beta-1,4-N-acetyl-galactosaminyltransferase 3(B4GALNT3)
207	55558	plexin A3(PLXNA3)
208	389203	small integral membrane protein 20(SMIM20)
209	11070	transmembrane protein 115(TMEM115)
210	133022	translocation associated membrane protein 1-like 1(TRAM1L1)
211	57085	angiotensin II receptor associated protein(AGTRAP)
212	8763	CD164 molecule(CD164)
213	64753	coiled-coil domain containing 136(CCDC136)
214	4158	melanocortin 2 receptor(MC2R)
215	92359	crumbs 3, cell polarity complex component(CRB3)
216	81619	tetraspanin 14(TSPAN14)
217	4919	receptor tyrosine kinase like orphan receptor 1(ROR1)
218	8751	ADAM metallopeptidase domain 15(ADAM15)
219	91584	plexin A4(PLXNA4)

220	118429	anthrax toxin receptor 2(ANTXR2)
221	124565	solute carrier family 38 member 10(SLC38A10)
222	10279	protease, serine 16(PRSS16)
223	5669	pregnancy specific beta-1-glycoprotein 1(PSG1)
224	8733	glycosylphosphatidylinositol anchor attachment 1(GPAA1)
225	1828	desmoglein 1(DSG1)
226	2590	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 2(GALNT2)
227	80055	post-GPI attachment to proteins 1(PGAP1)
228	11025	leukocyte immunoglobulin like receptor B3(LILRB3)
229	55508	solute carrier family 35 member E3(SLC35E3)
230	55507	G protein-coupled receptor class C group 5 member D(GPRC5D)
231	4118	mal, T-cell differentiation protein(MAL)
232	51669	store-operated calcium entry associated regulatory factor(SARAF)
233	90019	synaptotagmin 8(SYT8)
234	128367	olfactory receptor family 10 subfamily X member 1 (gene/pseudogene)(OR10X1)
235	7179	transmembrane phosphatase with tensin homology(TPTE)
236	286365	olfactory receptor family 13 subfamily D member 1(OR13D1)
237	51660	mitochondrial pyruvate carrier 1(MPC1)
238	54726	OTU deubiquitinase 4(OTUD4)
239	2564	gamma-aminobutyric acid type A receptor epsilon subunit(GABRE)
240	387597	immunoglobulin like domain containing receptor 2(ILDR2)
241	643008	small integral membrane protein 5(SMIM5)
242	57020	chromosome 16 open reading frame 62(C16orf62)
243	10228	syntaxin 6(STX6)
244	401397	long intergenic non-protein coding RNA 998(LINC00998)
245	80024	solute carrier family 8 member B1(SLC8B1)
246	375318	aquaporin 12A(AQP12A)
247	80789	integrator complex subunit 5(INTS5)
248	3321	immunoglobulin superfamily member 3(IGSF3)
249	250	alkaline phosphatase, placental(ALPP)
250	248	alkaline phosphatase, intestinal(ALPI)
251	6383	syndecan 2(SDC2)
252	390649	olfactory receptor family 4 subfamily F member 15(OR4F15)
253	548645	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C25(DNAJC25)
254	1006	cadherin 8(CDH8)

255	58530	lymphocyte antigen 6 complex, locus G6D(LY6G6D)
256	115286	solute carrier family 25 member 26(SLC25A26)
257	4071	transmembrane 4 L six family member 1(TM4SF1)
258	254879	olfactory receptor family 2 subfamily T member 6(OR2T6)
259	23240	KIAA0922(KIAA0922)
260	145957	neuregulin 4(NRG4)
261	4829	neuromedin B receptor(NMBR)
262	4059	basal cell adhesion molecule (Lutheran blood group)(BCAM)
263	10195	ALG3, alpha-1,3- mannosyltransferase(ALG3)
264	9427	endothelin converting enzyme like 1(ECEL1)
265	50838	taste 2 receptor member 13(TAS2R13)
266	50834	taste 2 receptor member 1(TAS2R1)
267	976	adhesion G protein-coupled receptor E5(ADGRE5)
268	10175	cornichon family AMPA receptor auxiliary protein 1(CNIH1)
269	3269	histamine receptor H1(HRH1)
270	285521	COX18, cytochrome c oxidase assembly factor(COX18)
271	9399	stomatin like 1(STOML1)
272	2492	follicle stimulating hormone receptor(FSHR)
273	135948	olfactory receptor family 2 subfamily F member 2(OR2F2)
274	950	scavenger receptor class B member 2(SCARB2)
275	56172	ANKH inorganic pyrophosphate transport regulator(ANKH)
276	945	CD33 molecule(CD33)
277	56928	signal peptide peptidase like 2B(SPPL2B)
278	79168	leukocyte immunoglobulin like receptor A6(LILRA6)
279	192683	secretory carrier membrane protein 5(SCAMP5)
280	926	CD8b molecule(CD8B)
281	7059	thrombospondin 3(THBS3)
282	79157	major facilitator superfamily domain containing 11(MFSD11)
283	389015	solute carrier family 9 member A4(SLC9A4)
284	912	CD1d molecule(CD1D)
285	157378	transmembrane protein 65(TM65)
286	221806	von Willebrand factor D and EGF domains(VWDE)
287	23151	GRAM domain containing 4(GRAMD4)
288	56132	protocadherin beta 3(PCDHB3)
289	56129	protocadherin beta 7(PCDHB7)
290	30817	adhesion G protein-coupled receptor E2(ADGRE2)
291	56128	protocadherin beta 8(PCDHB8)
292	9340	glucagon like peptide 2 receptor(GLP2R)
293	56127	protocadherin beta 9(PCDHB9)

294	79901	cytochrome b reductase 1(CYBRD1)
295	89872	aquaporin 10(AQP10)
296	135886	Williams-Beuren syndrome chromosome region 28(WBSCR28)
297	221786	family with sequence similarity 200 member A(FAM200A)
298	55345	zinc finger GRF-type containing 1(ZGRF1)
299	56111	protocadherin gamma subfamily A, 4(PCDHGA4)
300	6253	reticulon 2(RTN2)
301	1650	dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase non-catalytic subunit(DDOST)
302	219477	olfactory receptor family 8 subfamily J member 1(OR8J1)
303	160418	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 3(TMTC3)
304	26184	olfactory receptor family 1 subfamily F member 2 pseudogene(OR1F2P)
305	253982	aspartate beta-hydroxylase domain containing 1(ASPHD1)
306	57620	stromal interaction molecule 2(STIM2)
307	6997	teratocarcinoma-derived growth factor 1(TDGF1)
308	51478	hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 7(HSD17B7)
309	57614	KIAA1468(KIAA1468)
310	10826	fatty acid hydroxylase domain containing 2(FAXDC2)
311	57613	family with sequence similarity 234 member B(FAM234B)
312	29986	solute carrier family 39 member 2(SLC39A2)
313	3133	major histocompatibility complex, class I, E(HLA-E)
314	6967	T cell receptor gamma constant 2(TRGC2)
315	3897	L1 cell adhesion molecule(L1CAM)
316	3127	major histocompatibility complex, class II, DR beta 5(HLA-DRB5)
317	79057	proline rich and Gla domain 3(PRRG3)
318	23065	ER membrane protein complex subunit 1(EMC1)
319	29967	LDL receptor related protein 12(LRP12)
320	54510	protocadherin 18(PCDH18)
321	10791	vesicle associated membrane protein 5(VAMP5)
322	3119	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1(HLA-DQB1)
323	57575	protocadherin 10(PCDH10)
324	54504	carboxypeptidase, vitellogenic like(CPVL)
325	51435	scavenger receptor class A member 3(SCARA3)
326	3113	major histocompatibility complex, class II, DP alpha 1(HLA-DPA1)
327	55266	transmembrane protein 19(TMEM19)

328	79041	transmembrane protein 38A(TMEM38A)
329	54490	UDP glucuronosyltransferase family 2 member B28(UGT2B28)
330	92840	receptor accessory protein 6(REEP6)
331	160335	transmembrane and tetratricopeptide repeat containing 2(TMTC2)
332	132720	chromosome 4 open reading frame 32(C4orf32)
333	81327	olfactory receptor family 4 subfamily A member 16(OR4A16)
334	79024	small integral membrane protein 2(SMIM2)
335	79789	calmin(CLMN)
336	9986	Ras converting CAAX endopeptidase 1(RCE1)
337	128869	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class U(PIGU)
338	26090	abhydrolase domain containing 12(ABHD12)
339	401152	chromosome 4 open reading frame 3(C4orf3)
340	9214	Fc fragment of IgM receptor(FCMR)
341	81309	olfactory receptor family 4 subfamily C member 15(OR4C15)
342	9976	C-type lectin domain family 2 member B(CLEC2B)
343	79772	multiple C2 and transmembrane domain containing 1(MCTP1)
344	55227	leucine rich repeat containing 1(LRRC1)
345	64430	pecanex homolog 4 (Drosophila)(PCNX4)
346	29914	UbiA prenyltransferase domain containing 1(UBIAD1)
347	51390	androgen induced 1(AIG1)
Gene Group 48		Enrichment Score: 0
1	28775	immunoglobulin lambda variable 7-46 (gene/pseudogene)(IGLV7-46)
2	28676	T cell receptor alpha variable 10(TRAV10)
3	128434	V-set and transmembrane domain containing 2 like(VSTM2L)
4	6982	T cell receptor gamma variable 8(TRGV8)
5	28670	T cell receptor alpha variable 13-2(TRAV13-2)
6	28669	T cell receptor alpha variable 14/delta variable 4(TRAV14DV4)
7	28468	immunoglobulin heavy variable 1-18(IGHV1-18)
8	6974	T cell receptor gamma variable 2(TRGV2)
Gene Group 49		Enrichment Score: 0
1	4885	neuronal pentraxin 2(NPTX2)
2	157869	somatomedin B and thrombospondin type 1 domain containing(SBSPON)
3	83888	fibroblast growth factor binding protein 2(FGF2)
4	93145	olfactomedin 2(OLFM2)
5	5669	pregnancy specific beta-1-glycoprotein 1(PSG1)

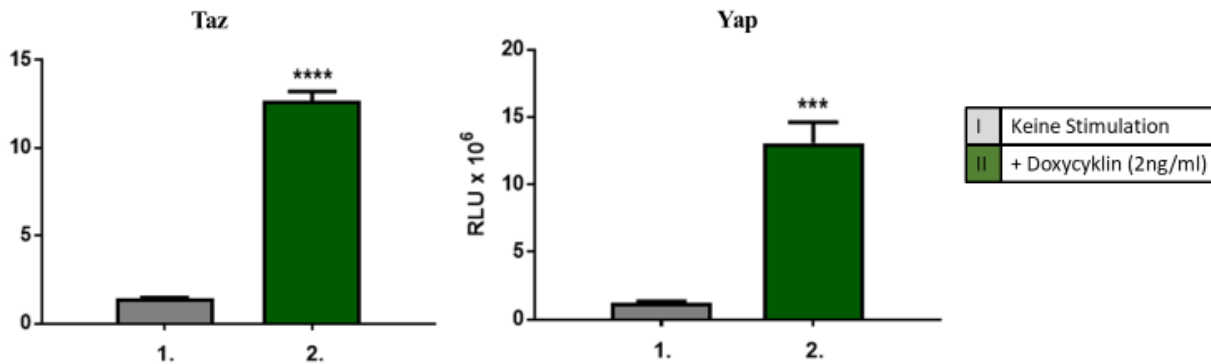
6	11167	follistatin like 1(FSTL1)
7	10321	cysteine rich secretory protein 3(CRISP3)
8	170589	glycoprotein hormone alpha 2(GPHA2)
9	200008	CUB domain containing protein 2(CDCP2)
10	5005	orosomuroid 2(ORM2)
11	5004	orosomuroid 1(ORM1)
12	10406	WAP four-disulfide core domain 2(WFDC2)
13	55901	thrombospondin type 1 domain containing 1(THSD1)
14	284415	V-set and transmembrane domain containing 1(VSTM1)
15	283848	carboxylesterase 4A(CES4A)
16	83716	cysteine rich secretory protein LCCL domain containing 2(CRISPLD2)
17	116379	interleukin 22 receptor subunit alpha 2(IL22RA2)
18	10437	IFI30, lysosomal thiol reductase(IFI30)
Gene Group 50		Enrichment Score: 0
1	245915	defensin beta 112(DEFB112)
2	375704	energy homeostasis associated(ENHO)
3	170589	glycoprotein hormone alpha 2(GPHA2)
4	254240	BPI fold containing family C(BPIFC)
5	83716	cysteine rich secretory protein LCCL domain containing 2(CRISPLD2)
6	10321	cysteine rich secretory protein 3(CRISP3)
7	388533	keratinocyte differentiation associated protein(KRTDAP)
8	389658	family with sequence similarity 150 member A(FAM150A)
9	5005	orosomuroid 2(ORM2)
10	6039	ribonuclease A family member k6(RNASE6)
11	51716	carboxylesterase 1 pseudogene 1(CES1P1)
12	389812	lipocalin 15(LCN15)
13	83888	fibroblast growth factor binding protein 2(FGFBP2)
14	283848	carboxylesterase 4A(CES4A)
15	196792	family with sequence similarity 24 member B(FAM24B)
16	644414	defensin beta 131(DEFB131)
17	200008	CUB domain containing protein 2(CDCP2)

Tabelle 53

„Proof-of-Principle“-Experimente

Hippo:

Abbildung 27

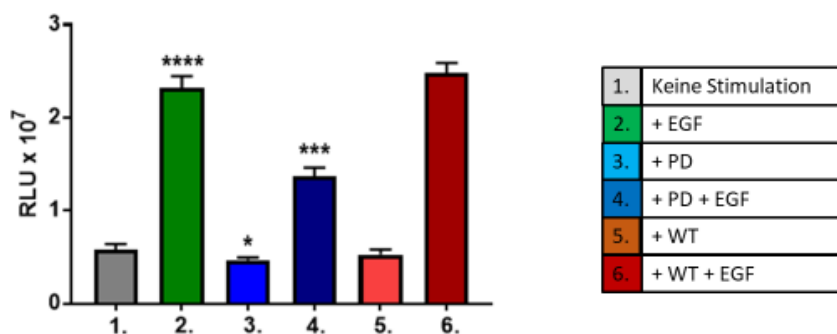


„Proof-of-Principle-Experimente“ für Hippo

HEK293-Reporterzellen für den Hippo-Signalweg werden zusätzlich mit Überexpressionskonstrukten von YAP/TAZ transfiziert. Die Überexpression wird mit Hilfe von Doxycyclin gestartet. Die Aktivität wird mittels Gaussia-Luciferase-Messung bestimmt. Pro Versuchsreihe werden Triplets (n = 3) mit jeweils 10.000 Zellen verwendet. Die Höhe der Balken gibt die durchschnittliche Aktivität der Gaussia Luciferase in den Proben wieder, die Höhe der Fehlerbalken die Standardabweichung. Die Anzahl der Sternchen (*) über den Balken gibt die statistische Signifikanz des Ergebnisses wieder. Hierfür wird der t-Test herangezogen (* p = < 0,05, ** p = < 0,01, *** p = < 0,005, **** p = < 0,001)

AP-1:

Abbildung 28

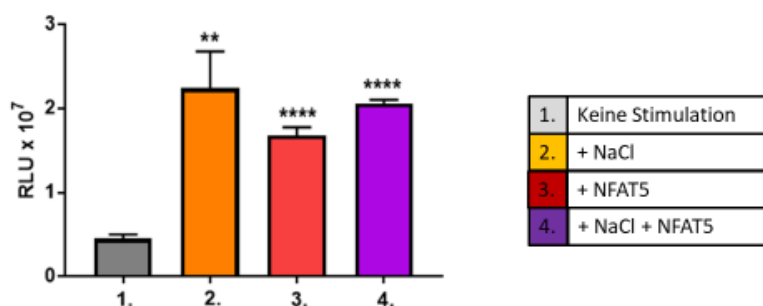


„Proof-of-Principle-Experimente“ für AP-1

HEK293-Reporterzellen für AP-1 werden mit EGF (20 ng/ml) stimuliert und mit PD98059 (25 mM) und Wortmannin (200 mM) supprimiert. Die Aktivität wird mittels Gaussia-Luciferase-Messung bestimmt. Pro Versuchsreihe werden Triplets (n = 3) mit jeweils 10.000 Zellen verwendet. Die Höhe der Balken gibt die durchschnittliche Aktivität der Gaussia Luciferase in den Proben wieder, die Höhe der Fehlerbalken die Standardabweichung. Die Anzahl der Sternchen (*) über den Balken gibt die statistische Signifikanz des Ergebnisses wieder. Hierfür wird der t-Test herangezogen (* p = < 0,05, ** p = < 0,01, *** p = < 0,005, **** p = < 0,001)

NFAT5:

Abbildung 29

**„Proof-of-Principle-Experimente“ für NFAT5**

HEK293-Reporterzellen für NFAT5 werden zusätzlich mit einem NFAT5-Überexpressionskonstrukt transfiziert. Die Überexpression wird mithilfe von Doxycyclin gestartet. Die Aktivität wird mittels Gaussia-Luciferase-Messung bestimmt. Pro Versuchsreihe werden Triplets (n = 3) mit jeweils 10.000 Zellen verwendet. Bei Balken 2 und 4 erfolgt zusätzlich eine Stimulation mit NaCl (50 mM). Die Höhe der Balken gibt die durchschnittliche Aktivität der Gaussia Luciferase in den Proben wieder, die Höhe der Fehlerbalken die Standardabweichung. Die Anzahl der Sternchen (*) über den Balken gibt die statistische Signifikanz des Ergebnisses wieder. Hierfür wird der t-Test herangezogen (* p = < 0,05, ** p = < 0,01, *** p = < 0,005, **** p = < 0,001)

7. Quellenverzeichnis

1. „Duale Reihe Anatomie“, 2. Auflage, Gerhard Aumüller et al., Thieme, a: 684-694, b: 142-143, c: 143, d: 143-145
2. „Harrisons Innere Medizin“, Band 3, 18. Auflage, Longo et al., Charitè, a: 1472-2474, b: 2463-2469, c: 2470-2471, d: 2477-2492, e: 2493-2508, f: 2561, g: 2538, h: 2532, i: 2535-2536, j: 2865-2866, k: 2866-2870, l: 2880-2881, m: 2870-2871, n: 2871-2872, o: 2877-2879, p: 2882-2883, q: 2883-2886, r: 2886-2888
3. „Physiologie“, 6. Auflage, Rainer Klinke et al., Thieme, a: 335-339, b: 339-359, c: 370-375, d: 375-376, e: 376, f: 234-235, g: 235-236, h: 237-239, i: 241-244, j: 244-247
4. „Herold Innere Medizin“, 2019, a: 635-639, b: 639-649, c: 603-604, d: 624-625, e: 611-612, f: 605-606, g: 606-607
5. „Chronic Kidney Disease in the United States, 2019 – CDC“, Centers for Disease Control and Prevention, Chronic Kidney Disease Initiative
6. „Todesursachen in Deutschland – Fachserie 12 Reihe 4 – 2015“, Statistisches Bundesamt
7. „Wound Healing in Patients With Impaired Kidney Function“, Natallia Maroz, Richard Simman, Journal of the American College of Clinical Wound Specialists (2014) 5, 2-7
8. „Chronic Kidney disease and end-stage renal disease – a review produced to contribute to the report ‚the status of health in the European union: towards a healthier Europe‘“, Carmine Zoccali, Anneke Kramer, Kitty J. Jager, NDT Plus (2010), 3: 213-224
9. „Molecular Insight Into Renal Interstitial Fibrosis“, Allison A. Eddy, JASN December 1996, 7 (12) 2495-2508
10. „A candidate gene approach to genetic contributors to the development of IgA nephropathy“, Ryohei Yamamoto et al., Nephrol Dial Transplant (2012), 27: 1020-1030
11. „Urine protein patterns can serve as diagnostic tools in patients with IgA nephropathy“, Marion Haubitz et al., Kidney International, vol. 67 (2005), pp. 2313-2320
12. „Evidence for genetic factors in the development and progression of IgA nephropathy“, Stephen I-Hong Hsu et al., Kidney International, Vol. 57 (2000), pp. 1818-1835
13. „Urinary biomarkers of IgA nephropathy and other IgA-associated renal diseases“, Bruce A. Julian et al., World J Urol (2007), 25: 467-476
14. „Genetic studies of IgA nephropathy: past, present, and future“, Krzysztof Kiryluk et al., Pediatr Nephrol (2010), 25: 2257-2268
15. „The IgA nephropathy Biobank. An important starting point for the genetic dissection of a complex trait“, Francesco P Schena et al., BMC Nephrology December 2005, Kapitel 14
16. „HLA has Strongest Association with IgA Nephropathy in Genome-Wide Analysis“, John Feehally et al., J Am Soc Nephrol. 2010 Oct, 21(10): 1791-1797
17. „Race/ethnicity and disease severity in IgA nephropathy“, Yoshio N Hall et al., BMC Nephrology, 02. September 2004, Article 10
18. „Discovery of new risk loci for IgA nephropathy implicates genes involved in immunity against intestinal pathogens“, Krzysztof Kiryluk et al., Nat Genet. 2014 Nov; 46(11): 1187-1196
19. „Role of complement in IgA nephropathy“, Mohamed R. Daha, Cees van Kooten, J Nephrol. 2016, 29: 1-4
20. „Mechanismen der renalen Fibrose“, R. Schmitt, Nephrologe 2012; 7:10-17

21. „Matrix Producing Cells in Chronic Kidney Disease: Origin, Regulation, and Activation“, Rafael Kramann et al., *Curr Pathobiol Rep.* 2013 December; 1(4)
22. „Mechanisms of Tubulointerstitial Injury in the Kidney: Final Common Pathways to End-stage Renal Failure“, Masaomi Nangaku, *Internal Medicine*, February 2004, 43(1): 9-17
23. „Renal fibrosis: New insights into the pathogenesis and therapeutics“, Youhua Liu, *Kidney Int.* 2006 Jan; 69(2):213-7
24. „The Role of Tubulointerstitial Inflammation in the Progression of Chronic Renal Failure“, Bernardo Rodriguez-Iturbe, Guillermo Garcia Garcia, *Nephron Clin Pract* 2010; 116:c81-c88
25. „The immune system and kidney disease: basic concepts and clinical implications“, Christian Kurts et al., *Nat Rev Immunol.* 2013 Oct; 13(10):738-53
26. „Chemokine Receptor CCR1 But Not CCR5 Mediates Leukocyte Recruitment and Subsequent Renal Fibrosis after Unilateral Ureteral Obstruction“, Vaclav Eis et al., *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15: 337-347
27. „Inflammation and EMT: an alliance towards organ fibrosis and cancer progression“, Jose Miguel Lopez-Nouoa, M. Angela Nieto, *EMBO Molecular Medicine*, Sep. 2009, 1(6-7):303-14
28. „Origins and Hallmarks of Macrophages: Development; Homeostasis, and Disease“, Thomas A Wynn, Ajay Chawla, Jeffrey W. Pollard, *Nature.* 2013 April 25, 496(7446): 445-455
29. „Renal microenvironments and macrophage phenotypes determine progression or resolution of renal inflammation and fibrosis“, Hans-Joachim Anders, Mi Ryu, Elsevier, *Kidney International*, November 2011, 915-925
30. „Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation“, Sabine A. Eming, Paul Martin, Marjana Tomic-Canic, *Sci Transl Med.* 2014, December 3; 6(265):265rs6
31. „Tumors: Wounds that do not heal—Redux“, Harold F. Dvorak, *Cancer Immunol Res.* 2015 January; 3(1): 1-11
32. „Mechanisms of Hippo pathway regulation“, Zhipeng Meng, Toshiro Moroishi, Kun-Liang Guan, *Genes Dev.* 2016 Jan 1; 30(1):1-17
33. „The Hippo pathway: regulators and regulations“, Fa-Xing Yu, Kun-Liang Guan, *Genes Dev.* 2013 Feb 15; 27(4):355-71
34. „Targeting the Hippo Signaling Pathway for Tissue Regeneration and Cancer Therapy“, Wen Chun Juan, Wanjin Hong, *Genes(Basel)*, 2016 Aug 30; 7(9), pii: E55.
35. „Signal integration in TGF- β , WNT, and Hippo pathways“, Liliana Attisano, Jeffrey L. Wrana, *F1000Prime Rep.* 2013 Jun 3; 5:17
36. „Mechanosignaling through YAP and TAZ drives fibroblast activation and fibrosis“, Fei Liu et al., *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2015 Feb 15; 208(4): L344-L357
37. „Role of YAP/TAZ in cell-matrix adhesion-mediated signalling and mechanotransduction“, Sirio Dupont, Elsevier, *Experimental Cell Research* 343(2016) 42-53
38. „Role of YAP/TAZ in mechanotransduction“, Sirio Dupont et al., *Nature* 2011 Jun 8; 474(7350):179-83
39. „The Hippo-Salvador signaling pathway regulates renal tubulointerstitial fibrosis“, Eunjeong Seo et al., *Sci Rep.* 2016 Aug 23; 6:31931

40. „The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation“, Peter Angel, Michael Karin, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1072(1991)129-157
41. „AP-1 subunits: quarrel and harmony among siblings“, Jochen Hess, Peter Angel, Marina Schorpp-Kistner, *Journal of Cell science* 117, 2004, 5965-5973
42. „Hypertonic Stress in the Kidney: A Necessary Evil“, Min Seong Kwon, Sun Woo Lim, H. Moo Kwon, *PHYSIOLOGY* 24: 186-191, 2009
43. „Loss of NFAT5 results in renal atrophy and lack of tonicity-responsive gene Expression“, Cristina Lopez-Rodriguez et al., *PNAS* February 24, 2004 101(8)2392-2397
44. „NFAT5 in cellular adaptation to hypertonic stress – regulations and functional significance“, Chris YK Cheung, Ben CB Ko, *Journal of Molecular Signaling* 2013, 8:5
45. „The role of hyperosmotic stress in inflammation and disease“, Chad Brocker, David C. Thompson, Vasilis Vasiliou, *BioMol Concepts*, Vol. 3(2012), pp. 345-364
46. „Bridging the NFAT and NF-κB Families: NFAT5 Dimerization Regulates Cytokine Gene Transcription in Response to Osmotic Stress“, Cristina Lopez-Rodriguez et al., *Immunity*, 2001, Vol. 15, 47-58
47. „A combinatorial role for NFAT5 in both myoblast migration and differentiation during skeletal muscle myogenesis“, Roddy S. O'Connor et al., *Journal of Cell Science* 120, 2007, 149-159
48. „The Art of War: Innate and adaptive immune responses“, P.W. Dempsey, S.A. Vaidya, G. Cheng, *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 60(2003) 2604-2621
49. „Overview of the Immune Response“, David D. Chaplin, *J Allergy Clin Immunol.* 2010 February; 125(2 Suppl 2): S3-23
50. „Macrophages as APC and the Dendritic Cell Myth“, David A. Hume, *J Immunol* 2008; 181:5829-5835
51. „Protective and pathogenic functions of macrophage subsets“, Peter J. Murray, Thomas A. Wynn, *Nat Rev Immunol.*; 11(11): 723-737
52. „MONOCYTE AND MACROPHAGE HETEROGENITY“, Siamon Gordon, Philip R. Taylor, *Nat Rev Immunol.* 2005 Dec; 5(12):953-64
53. „Macrophages in Kidney Injury, Inflammation, Fibrosis“, Qi Cao, David C. H. Harris, Yiping Wang, *PHYSIOLOGY* 30: 183-194, 2015
54. „Re(de)fining the dendritic cell lineage“, Ansuman T. Satpathy et al., *Nat Immunol.* 2012 December; 13(12): 1145-1154
55. „The Changing Landscape of Renal Inflammation“, Thomas Hernandez, Tanya Norton Mayadas, *Trends in Molecular Medicine* 22(2), January 2016
56. „Resident renal mononuclear phagocytes comprise five discrete populations with distinct phenotypes and functions“, Takahisa Kawakami et al., *J Immunol.* 2013 September 15, 191(6)
57. „The Renal Mononuclear Phagocytic System“, Peter J. Nelson et al., *J Am Soc Nephrol.* 2012 Feb, 23(2): 194-203
58. „Human Renal Cell Carcinoma Induces a Dendritic Cell Subset That Uses T-Cell Crosstalk for Tumor-Permissive Milieu Alterations“, Ainhua-M. Figel et al., *The American Journal of Pathology*, Vol. 179, No 1., July 2011
59. „Compartment specific expression of dendritic cell markers in human glomerulonephritis“, S. Segerer et al. *Elsevier, Kidney International* Volume 74, Issue 1, 1 July 2008, Pages 37-46

60. „Analysis of microarray experiments of gene expression profiling“, Adi L. Tarca, Roberto Romero, Sorin Draghici, *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Aug; 195(2): 373-388
61. „Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data“, Irizarry RA et al., *Biostatistics.* 2003 Apr; 4(2):249-64
62. „GenePattern 2.0“, Stephen J Chapman et al. *Nat Genet.* 2006 May; 38(5):500-1
63. „RMAExpress Users Guide“ (<http://rmaexpress.bmbolstad.com>), 1.1.0 Release, August 2014
64. „Systematic and Integrative Analysis of Large Gene Lists Using DAVID Bioinformatics Resources“, Da Wie Huang, Brad T. Sherman, Richard A. Lempicki, *Nature Protocols* 4,44-57 (2009)
65. „WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis“, Peter Langfelder, Steve Horvath, *BMC Bioinformatics* 2008, 9:559
66. „Mechanism of cell dissociation with trypsin and EDTA“, Tokiwa T, Hoshika T, Shiraishi M, Sato J, *Acta Medica Okayama*, 01 Feb 1979, 33(1):1-4
67. „A vector platform for the rapid and efficient engineering of stable complex transgenes“, Carsten Jäckel et al. *Scientific Reports* 2006 Oct 3; 6:34365
68. „LUCIFERASE REPORTER ASSAYS: POWERFUL, ADAPTABLE TOOLS FOR CELL BIOLOGY RESEARCH“, Simon T.M. Allard, Devin Kopish, *Cell Notes* 21, 23-26, 2008
69. „Biotechnological Advances in Luciferase Enzymes“, Andrew Kirkpatrick et al. *Chemistry*, 2019, DOI: 10.5772/intechopen.85313
70. „Tetracyclin-gesteuerte Genregulation: Vom bakteriellen Ursprung zum eukaryotischen Werkzeug“, Wolfgang Hillen, Christian Berens, *Biospektrum-Heidelberg*; 8; 355-359,2002
71. „Molecular reconstruction of Sleeping Beauty, a Tc1-like Transposon from Fish, and Its Transposition in Human Cells“, Zoltan Ivics et al., *Cell*, Vol.91, 501-510, November 14, 1997
72. „Hyperactive Transposase Mutants of the Sleeping Beauty Transposon“, James Baus et al. , *Mol Ther.* 2005 Dec; 12(6): 1148-56
73. „HEK293 cell line: A vehicle for the expression of recombinant proteins“, Philip Thomas, Trevor G. Smart, Elsevier, *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2005 May-Jun; 51(3):187-200, Abstract
74. „Lymphocyte Responses – NFAT5: helping out in stressful times“, Lucy Bird, *Nature Reviews Immunology* 4, 581(2004)
75. „Role of NFAT5 in Inflammatory Disorders Associated with Osmotic Stress“, Wolfgang Neuhofer, *Curr Genomics* 2010 dec; 11(8): 584-590
76. „The NFAT-Related Protein NFATL1 (TonEBP/NFAT5) Is Induced Upon T Cell Activation in a Calcineurin-Dependent Manner“, Trama J et al., *J Immunol.* 200 nov 1; 165(9):4884-94
77. „The Osmoprotective Function of the NFAT5 Transcription Factor in T Cell Development and Activation“, Trama J, GoWY, Ho SN, *J Immunol.* 2002 Nov 15; 169(10):5477-88
78. „Elevated Activity of Transcription Factor Nuclear Factor of Activated T-Cells 5 (NFAT5) and Diabetic Nephropathy“, Bingmei Yang et al., *Diabetes* 55:1450-1455, 2006
79. „The Potential Role of NFAT5 and Osmolarity in Peritoneal Injury“, Harald Seeger et al., *Hindawi, BioMed Research International* Volume 2015, Article ID 578453, 6 pages

80. „Fca Receptor (CD89) Mediates the Development of Immunoglobulin A (IgA) Nephropathy (Berger’s Disease): Evidence for Pathogenic Soluble Receptor-IgA Complexes in Patients and CD89 Transgenic Mice“, Launay P et al., J Exp Med. 2000 Jun 5; 191(11):1999-2009
81. „Activator protein 1 (Fos/Jun) functions in inflammatory bone and skin disease“, Rainer Zenz et al., Arthritis Res Ther. 2008; 10(1):201
82. „Transcription Factor Complex AP-1 Mediates Inflammation Initiated by Chlamydia pneumoniae Infection“, Anyou Wang et al. Cell Microbiol. 2013 May; 15(5): 779-794
83. „Inflammatory regulatory network mediated by the joint action of NF-κB, STAT3, and AP-1 factors is involved in many human cancers“, Zhe Ji et al., Proc Natl Acad sci USA, 2019 May 7; 116(19):9453-9462
84. „Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets“, Kok Loon Wong et al., Blood (2011) 118(5): e16-e31
85. „Three habits of highly effective signaling pathways: principles of transcriptional control by developmental cell signaling“, Scott Barolo, James W. Posakony, Genes Dev. 2002 May 15; 16(10): 1167-81
86. „The dynamic control of signal transduction networks in cancer cells“, Kolch W et al., Nat Rev Cancer 2015 Sep; 15(9):515-27
87. „Crosstalk and signaling switches in mitogen-activated protein kinase cascades“, Dirk Fey et al., Front Physiol. 2012 Sep 18; 3:355
88. „Tead and AP1 Coordinate Transcription and Motility“, Liu X et al., Cell Rep. 2016 Feb 9; 14(5): 1169-1180
89. „NFAT5, a constitutively nuclear NFAT protein that does not cooperate with Fos and Jun“, Lopez-Rodriguez C et al., Proc Natl Acad Sci USA 1999 Jun 22; 96(13):7214-9
90. „Hypertonicity-induced expression of monocyte chemoattractant protein-1 through a novel cis-acting element and MAPK signaling pathways“, Kojima R et al., J Immunol: 2010 May 1, 184(9): 5253-62
91. „Chronic kidney disease progression in kidney transplant recipients: A focus on traditional risk factors“, Moises Carminatti et al., Nephrology 24(2019) 141-147
92. „Treatment of chronic kidney disease“, Turner JM et al., Kidney Int. 2012 Feb; 81(4):351-62
93. „119. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V.“, Der Internist 2013, 54:1-152

8. Abkürzungsverzeichnis

Ak: Antikörper

AKI: Akute Nierenschädigung (Englisch: „acute kidney injury“)

AP-1: „Activating Protein 1“

APC: Antigenpräsentierende Zelle (Englisch: „antigen presenting cell“)

ATF: „Activating Transcriptionfactor 1“

bp: Basenpaare

CKD: Chronische Nierenkrankheit (Englisch: „chronic kidney disease“)

CMV: Zytomegalie-Virus

CRP: „C-reaktives Protein“

DAMP: „Damage Associated Molecular Pattern“

DC: Dendritische Zelle (Englisch: „dendritic cell“)

cDC: Klassische DC (Englisch: „classic dendritic cell“)

ercDC: „enriched in renal carcinoma DC“

imDC: unreife DC (Englisch: „immature dendritic cell“)

pDC: Plasmazytoide DC (Englisch: „plasmacytic dendritic cell“)

DMEM: „Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium“

DMSO: Dimethylsulfoxid

DNA: Desoxyribonukleinsäure (Englisch: „desoxyribonucleic acid“)

Ds: „Dachsaus“

EDTA: Ethylendiamintetraessigsäure

EGF: „epidermal growth factor“

EMT: Epithelio-Mesenchymale Transition (Englisch: „epithelial to mesenchymal transition“)

ERCB: Europäische Nieren-cDNA-Bank (Englisch: „European Renal cDNA Bank“)

Ex: „Expanded“

EZM: Extrazelluläre Matrix

FCS: Bovines Kälber-Serum (Englisch: „fetal calf serum“)

Ft: „Fat“

GFP: „green fluorescent protein“

GFR: Glomeruläre Filtrationsrate

GM-CSF: „Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor“
GN: Glomerulonephritis
GSK3: „Glykogen-Synthase-Kinase-3“
IFN: Interferon
IgAN: IgA-Nephritis
IL: Interleukin
JDP: „Jun-Dimerization-Protein“
JNK: „c-Jun N-Terminal-Kinase 1“
Lats1/2: „Large-Tumor-Suppressor-1/-2“
LB: „Lysogeny broth“
LPA: Lysophosphatidsäure
MΦ: Makrophage
MAPK: „Mitogen Activated Protein-Kinase“
MARCO: „Macrophage Receptor With Collagenous Structure“
M-CSF: „Macrophage Colony Stimulating Factor“
MDRD: „Modification of Diet in Renal Disease“
Mer: Merlin
MHC: „Major Histocompatibility Complex“
MOB: „Mps One Binder Kinase Activator“
MoPh: Mononukleäre Phagozyten
2⁺MoPh: doppelt-positive (CD209⁺,CD14⁺) Mononukleäre Phagozyten
MST1/2: „Macrophage-Stimulation-1/-2“
NaCl: Natriumchlorid
NaOH: Natriumhydroxid
NEAA: „Non Essential Amino Acids“
NF2: Neurofibromatose 2
NFAT: „Nuclear Factor Of Activated T Cells“
NF-κB: „Nuclear Factor Kappa B“
NRL: „Neural Retina Leucine Zipper“
NK: Natürliche Killerzellen

PAMP: „Pathogen Associated Molecular Pattern“

PBMCs: Periphere Blut Mononukleäre Zellen (Englisch: „Peripheral Blood Mononuclear Cells“)

PBS: „Phosphate buffered saline“

PCP: Planare Zellpolarität (Englisch: „planar cell polarity“)

PCR: Polymerase-Ketten-Reaktion (Englisch: „Polymerase Chain Reaction“)

PIK3: „Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate-3-Kinase“

PKC: Proteinkinase C

PMA: Phorbol-12-myristat-13-acetat

PPR: „Pattern-Recognition-Receptor“

PS: Penicillin + Streptomycin

RAAS: Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

RMA: „Robust Multichip Average“

RNA: Ribonukleinsäure (Englisch: „ribonucleic acid“)

rpm: Umdrehungen pro Minute (Englisch: „revolutions per minute“)

SAV1: „Salvador-Family WW-Domain Containing Protein 1“

SIRP α : „Signal Regulatory Protein Alpha“

S.O.C.: „Super Optimal broth with Catabolite repression“

SV40: Simian-Virus 40

TBE: TRIS-Borat-EDTA-Puffer

TCR: T-Zell-Rezeptor (Englisch: T-cell receptor“)

TE: Trypsin-EDTA/Tris-EDTA

TEAD: „TEA-Domain Transcription-Factor“

Th1/-2/-17: T-Helfer-Zelle

TLR: „Toll-like Receptor“

TNF: „Tumor Necrosis Factor“

TGF: „Transforming Growth Factor“

TonEBP: „Transcriptionfactor Tonicity Responsive Enhancer Binding Protein“

Treg: Regulatorische T-Zelle

TREM2: „Triggering Receptor Expressed On Myeloid Cells 2“

u.a.: unter anderem

YAP: „Yes associated protein“

Wnt: „Wingless“

WT: Wortmannin

z.B.: zum Beispiel

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Feinbau des Nephrons	10
Abbildung 2: Pathomechanismen der Fibrose am Beispiel der IgA-Nephritis	16
Abbildung 3: Der Hippo-Signalweg.....	20
Abbildung 4: Der Transkriptionsfaktorkomplex AP-1.....	22
Abbildung 5: Osmoprotektion und NFAT5	24
Abbildung 6: Grundlegende Mechanismen des Immunsystems.....	26
Abbildung 7: Prinzipien der Microarray-Analyse.....	44
Abbildung 8: Generierung von Gateway-„Entry“-Klonen.....	52
Abbildung 9: Generierung von Gateway-Plasmiden	53
Abbildung 10: Generierung von pGL3-CMVmin-GLuc	53
Abbildung 11: Prinzip der „Luciferase“-Messung.....	54
Abbildung 12: Produktion von pCDNA6TR/ITR	55
Abbildung 13: Prinzip des „TET-Repressors“	56
Abbildung 14: Funktionsweise der „Sleeping-Beauty-Transposase“	57
Abbildung 15: Klonierung des Reporter-Vektor-Backbones	58
Abbildung 16: Klonierung der „Reporter-Vektoren“	58
Abbildung 17: Klonierung von „Überexpressions-Vektoren“	59
Abbildung 18: Versuchsaufbau von Überexpressionsmodellen.....	62
Abbildung 19: Versuchsaufbau von Koinkubationsexperimenten	63
Abbildung 20: Cluster-Dendrogramm	65
Abbildung 21: Microarray-Analysen.....	65
Abbildung 22: Koinkubation mit Myeloiden Stammzellen.....	71
Abbildung 23: Stimulation mit MM6-Überstand.....	72
Abbildung 24: Koinkubation mit verschiedenen Formen myeloider Stammzellen	74
Abbildung 25: Crosstalk-Experimente-NFAT5	75
Abbildung 26: Crosstalk-Experimente-Hippo	76
Abbildung 27: „Proof-of-Principle“-Experimente - Hippo	240
Abbildung 28: „Proof-of-Principle“-Experimente-AP-1.....	240
Abbildung 29: „Proof-of-Principle“-Experimente-NFAT5.....	241

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zelllinien.....	33
Tabelle 2: Zellkultur-Medien	34
Tabelle 3: Einfrier-Medium.....	34
Tabelle 4: Antibiotika.....	34
Tabelle 5: Stimulation.....	34
Tabelle 6: Zusätze	34
Tabelle 7: Weitere Chemikalien	35
Tabelle 8: Bakterienstämme.....	35
Tabelle 9: LB-Medium.....	35
Tabelle 10: SOC-Medium	35
Tabelle 11: Einfriermedium	36
Tabelle 12: CaCl ₂ -Lösung (für kompetente Bakterien)	36
Tabelle 13: Zutaten.....	36
Tabelle 14: LB-Agarplatten	36
Tabelle 15: Zutaten für Agarplatten	37
Tabelle 16: Ampicillin	37
Tabelle 17: Kanamycin.....	37
Tabelle 18: Chloramphenicol.....	37
Tabelle 19: Zutaten für Antibiotika	37
Tabelle 20: Restriktionsenzyme.....	37
Tabelle 21: Weitere Enzyme.....	38
Tabelle 22: Puffer für Restriktionsenzyme	38
Tabelle 23: 5x TBE (Tris Borat EDTA)	38
Tabelle 24: TE (Tris-EDTA)	38
Tabelle 25: 6x Ladepuffer für Agarose-Gele.....	38
Tabelle 26: Elektroporationspuffer	39
Tabelle 27: weitere Puffer	39
Tabelle 28: Zutaten für Puffer	39
Tabelle 29: Nukleotide.....	39
Tabelle 30: Größenstandard für Elektrophorese (Ladder)	40
Tabelle 31: Primer	40
Tabelle 32: Vektoren	40
Tabelle 33: Kits	41
Tabelle 34: Chemikalien	41
Tabelle 35: weiteres Labor-Equipment	41
Tabelle 36: Software.....	42
Tabelle 37: Antibiotika-Selektion zur Herstellung von LB-Medium und Agarplatten	46
Tabelle 38: Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	49
Tabelle 39: Generierung von „Entry“-Klonen (BP-Reaktion).....	51
Tabelle 40: Generierung von „Expressions“-Vektoren (LR-Reaktion)	52
Tabelle 41: In-vitro-Generierung Myeloischer Zelltypen aus Monozyten	60
Tabelle 42: Elektroporation zur stabilen Transfektion von Zellkultur-Linien	61
Tabelle 43: Antibiotika-Selektion	62
Tabelle 44: Stimulations-Versuche.....	62
Tabelle 45: Liste der differentiell exprimierten Targetgene - Hippo.....	91

Tabelle 46: Liste der differentiell exprimierten Targetgene – NFAT5	93
Tabelle 47: Liste der differentiell exprimierten Targetgene – AP-1	96
Tabelle 48: Liste der Funktionalen Cluster – Blaues Modul	97
Tabelle 49: Liste der Funktionalen Cluster – Grünes Modul	131
Tabelle 50: Liste der Funktionalen Cluster – Türkises Modul Teil 1	142
Tabelle 51: Liste der Funktionalen Cluster – Türkises Modul Teil 2	170
Tabelle 52: Liste der Funktionalen Cluster – Gelbes Modul	204
Tabelle 53: Liste der Funktionalen Cluster – Braunes Modul	214

11. Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich all jenen danken, die diese Arbeit möglich gemacht haben:

Meinem Doktorvater, Prof. Dr. Peter Nelson, der mich mit sehr viel Geduld und immer wieder einer helfenden Hand durch meine Arbeit begleitet hat.

Prof. Dr. Hermann-Josef Gröne, Prof. Dr. Elfriede Nößner und Dr. Dorothee Brech, ohne die viele Experimente nicht möglich gewesen wären.

Kathie Witte, die uns bürokratische Pfade geebnet hat.

PD Dr. Bruno Luckow, der uns mit stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

Allen MTAs, die uns mit viel Geduld die Grundlagen vermittelt haben und unsere Arbeit in die richtige Richtung gelenkt.

Meinen Mit-Doktoranten, die mich immer wieder, wo es ging unterstützt haben, insbesondere Carsten, der uns vor allem die technischen Aspekte so viel näher gebracht hat.

Meinen Eltern, die immer ein offenes Ohr für meine Schwierigkeiten hatten.

Meinem Bruder und meiner Schwägerin, ohne die diese Arbeit vermutlich nie gedruckt worden wäre.

Meinen Freunden, vor allem Angelika, die mich unterstützt und motiviert haben.

12. Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Ehni, Nadja Marina

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

"Modulation embryonaler Signalkaskaden durch infiltrierende mononukleäre Zellen während der Entstehung von IgA-Nephritis"

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Augsburg, 14.11.2021

Ort, Datum

Ehni, Nadja Marina

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand