

Zusammenfassung

Störung der Aktin-Dynamik sowie Veränderungen des Zytoskelets führen zur Schädigung von Podozyten, einer wichtigen Ursache von glomerulären Nierenerkrankungen. Zusammen mit dem fenestrierten Endothel und der glomerulären Basalmembran bilden Podozyten den Nierenfilter. Sie sind hochspezialisierte Epithelzellen, die mit ihren Zellfortsätzen die Kapillargefäße im Glomerulum umwickeln. Dabei bilden Podozyten einen einzigartigen hochspezialisierten Zell-Zell-Kontakt aus, die sogenannte Schlitzmembran. Diese sichert nicht nur die Integrität des glomerulären Filters, der den Verlust von Plasmaproteinen vom Blut in den Primärharn verhindert, sondern dient auch als Signalübertragungsplattform für zelluläre Signalwege. Wichtige Signalwege, die an der Regulation des Aktinzytoskelets beteiligt sind, sind das Polaritäts- und Ca^{2+} - Signaling. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, deren Bedeutung in Podozyten *in vivo* in zwei unabhängigen Ansätzen zu untersuchen. Zuerst wurde ein podozyten-spezifische Knockout des Polaritätsproteins Par3A generiert. Interessanterweise führt der Verlust von Par3A sowohl basal, als auch im Krankheitsmodell nicht zur Entstehung einer glomerulären Erkrankung. Zusätzliche Analysen zeigten, dass ein weiteres Par3 Protein, Par3B, eine wesentlich höhere Expression im Podozyten sowie eine Lokalisation an der Schlitzmembran aufwies. Überraschenderweise führte weder der Verlust von Par3B, noch der Doppelknockout von Par3A/B zu einer glomerulären Erkrankung. Diese Daten zeichnen ein neues Bild des Polaritätssignalwegs in Podozyten. Um die zugrunde liegenden Mechanismen des Polaritätssignalweges in Podozyten besser zu verstehen, wurde der Proteinkomplex um ein zentrales Polaritätsprotein, die Kinase aPKC, charakterisiert. Diese Interaktomdaten zeigen, dass aPKC iota hauptsächlich mit Par6 und Lgl2 einen Komplex bildet und deuten darauf hin, dass Podozyten als hochspezialisierte Epithelzellen über einen sehr spezifisch aufgebauten Polaritätskomplex verfügen. In einem zweiten Ansatz wurde die Rolle des Ca^{2+} - Signalwegs für zytoskeletale Veränderungen im Podozyten untersucht. Dafür wurde eine neue transgene Maus generiert, in der podozyten-spezifisch ein modifizierter Rezeptor exprimiert ist, der nur nach Bindung eines chemisch inerten synthetischen Liganden die Freisetzung interner Ca^{2+} Vorräte aus dem ER bewirkt. In diesem Modell wurde erwartungsgemäß nach Gabe des Liganden CNO ein Anstieg der

intrazellulären Ca^{2+} Level in Podozyten *in vivo* gemessen. Trotz der erhöhten Ca^{2+} Konzentration wurden keine Auswirkungen auf die glomeruläre Perfusion und Filtration festgestellt. Weiterhin konnte durch CNO Gabe keine glomeruläre Erkrankung hervorgerufen werden. Dies deutet daraufhin, dass offenbar ein chronische erhöhte Calciumkonzentration und nicht transiente Ca^{2+} Peaks im Podozyten nötig ist, um zytoskeletale Veränderungen und somit glomeruläre Erkrankungen hervorzurufen. Um solche regulatorischen Signalwege im Detail zu verstehen, werden neue, verbesserte *in vivo* Modelle von großer Bedeutung sein. Deshalb wurde in einem unabhängigen Ansatz eine neue Knockin Maus generiert, welche mittels T2A-Peptiden die Expression einer Cre Rekombinase und eines fluoreszierenden Markerproteins unter der Kontrolle des endogenen *Nphs2* Promoters kombiniert. Im Vergleich zu etablierten podozyten-spezifischen Cre Linien zeigt das neue Mausmodell eine höhere Cre-Effizienz und bietet die Möglichkeit einer effektiveren Isolation von primären Podozyten mittels FAC Sortierung. Dieses neue, hocheffiziente Podozyten-Cre-Modell mit integriertem Marker wird künftige genetische Mausstudien in Podozyten sowie die Analyse von podozyten-spezifischen Signaltransduktionsnetzwerken deutlich verbessern.