

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Charakterisierung des Proteoms der Retina und Arteria Ophthalmica der Maus bei  
Angiotensin II-induziertem oxidativen Stress

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der  
Zahnmedizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität

Vorgelegt von

Lars Christoph Straßburger  
aus Kirchheimbolanden

Mainz, 2020

Wissenschaftlicher Vorstand:

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion:

06. Juli 2021

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	5
Tabellenverzeichnis.....	8
Bildverzeichnis.....	8
1. Einleitung/Ziel der Dissertation .....	11
2. Literaturdiskussion .....	13
2.1 Glaukom.....	13
2.1.1 Ätiologie und Klassifikation .....	13
2.1.2 Beitrag lokaler Durchblutungsstörungen an der Krankheitsentwicklung....	15
2.2 Arteria Ophthalmica.....	17
2.3 Retina.....	21
2.4 Renin-Angiotensin-System (RAS) .....	25
2.4.1 Angiotensin II-induzierter oxidativer Stress .....	28
2.5 Proteomik .....	31
2.5.1 Massenspektrometrie-basierende Proteomik.....	31
2.5.2 Proteomische Analysen der Retina.....	33
2.5.3 Proteomische Analysen von Blutgefäßen .....	35
3. Material und Methoden .....	37
3.1 Geräte, Verbrauchsmaterial, Chemikalien und Software.....	37
3.1.1 Geräte.....	37
3.1.2 Verbrauchsmaterial .....	38
3.1.3 Chemikalien .....	38
3.1.4 Software .....	40
3.2 Versuchstiere .....	40
3.3 Vorgehensweise der proteomischen Experimente .....	41
3.3.1 Probenvorbereitung.....	41
3.3.2 Eindimensionale Gelelektrophorese (1DE) .....	43
3.3.3 In-Gel-Verdauung und Extraktion.....	44
3.3.4 ZipTip-Aufbereitung.....	45
3.3.5 Flüssigkeitschromatographie (LC) – Electrospray-Ionisation (ESI) – MS/MS-Analyse .....	46
3.3.6 Markierungsfreie massenspektrometrische Untersuchung (LFQ-Analyse)	47
3.3.7 Statistische und bioinformatische Analyse der proteomischen Daten .....	48
3.3.8 Validierung von ausgewählten Biomarkern auf mRNA-Level mittels RT- qPCR .....	49

4. Ergebnisse .....	51
4.1 Optimierung der Probenvorbereitung .....	51
4.1.1 Homogenisierung durch Zirkonoxid-Beads .....	51
4.1.2 Pellet-Verdauung .....	54
4.1.3 Probenaufreinigung durch Filtrierung .....	55
4.1.4 Eindimensionale Gelelektrophorese (1DE) ohne Optimierungsschritte.....	56
4.1.5 Eindimensionale Gelelektrophorese (1DE) der Vorstudie .....	57
4.2 Auswertung der tatsächlichen experimentellen Studie .....	58
4.2.1 Arteria Ophthalmica .....	58
4.2.2 Retina.....	69
4.2.3 Ergebnisse der RT-qPCR .....	82
5. Diskussion.....	85
6. Zusammenfassung.....	95
Literaturverzeichnis .....	97
Anhang .....	108
Danksagung .....	145

## Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
(v/v)	Volumen pro Volumen
<	weniger als
>	mehr als
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
µM	Mikromolar
1DE	eindimensionale Gelelektrophorese
ABC	Ammoniumbicarbonat
Ang II	Angiotensin II
ACE	<i>angiotensin converting enzyme</i>
ACN	Acetonitril
AIMS	<i>Accurate Inclusion Mass Screening</i>
BCA	<i>bicinchoninic acid</i>
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cDNA	<i>complementary deoxyribonucleic acid</i>
CTRL	Kontrollgruppe
Da	Dalton
DAG	Diacylglycerol
DMEM	<i>Dulbecco's modified Eagle's medium</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
DTT	Dithiothreitol
eNOS	endotheliale NO-Synthase
ESI	Elektrosprayionisation
FDR	<i>false discovery rate</i>
g	mittlere Erdbeschleunigung
GOBP	<i>gene ontology biological process</i>
GOCC	<i>gene ontology cellular components</i>
GOMF	<i>gene ontology molecular functions</i>

## Abkürzungsverzeichnis

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HPLC	<i>high pressure liquid chromatography</i>
IAA	Iodoacetamid
iBAQ	<i>intensity-based absolute quantification</i>
IPA	<i>Ingenuity Pathway Analysis</i>
IP <sub>3</sub>	Inositoltriphosphat
kDa	Kilodalton
K-H-Puffer	Krebs-Henseleit-Puffer
kV	Kilovolt
LC	<i>liquid chromatography</i>
LFQ	<i>label-free quantitative</i>
LTQ	<i>linear trap quadropole</i>
M	Molar
MALDI	Matrix-assistierte Laser-Desorption-Ionisation
mM	Millimolar
<i>m/z</i>	Masse zu Ladung-Verhältnis
MES	2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
MOPS	3-(N-Morpholino)propansulfonsäure
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i>
ms	Millisekunde
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
NAION	nicht-arteriitische anteriore ischämische Optikusneuropathie
NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NTG	<i>normal tension glaucoma</i>
O <sup>2-</sup>	Superoxid
OA	Arteria Ophthalmica

OAG	<i>open angle glaucoma</i>
OH <sup>-</sup>	Hydroxylradikal
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrit
PAGE	Polyacrylamid Gelelektrophorese
PBS	<i>phosphate-buffered saline</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
Pen-Strep	Penicillin Streptomycin
POAG	<i>primary open angle glaucoma</i>
PPI	Protein-Protein-Interaktion
ppm	<i>parts per million</i>
RAS	Renin-Angiotensin-System
RIN	<i>RNA integrity number</i>
RNA	<i>ribonucleic acid</i>
ROS	<i>reactive oxygen species</i>
RT-qPCR	<i>real-time quantitative polymerase chain reaction</i>
SD	Standard Deviation
SDS	<i>sodium dodecyl sulfate</i>
SOD	Superoxid-Dismutase
sPCA	<i>short posterior ciliary arteries</i>
TFA	Trifluoressigsäure
TOF	<i>time of flight</i>
T-PER	<i>Tissue Protein Extraction Reagent</i>
V	Volt
VE	vollentsalzt
z. B.	zum Beispiel

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der Ergebnisse verschiedener Studien bezüglich der proteomischen Analyse der Retina.....	35
Tabelle 2: Übersicht der Ergebnisse verschiedener Studien bezüglich der proteomischen Analyse von Arterien.....	36
Tabelle 3: Liste der signifikant hoch- oder herunterregulierten Proteine der Arteria Ophthalmica.....	60
Tabelle 4: Liste der signifikant hoch- oder herunterregulierten Proteine der Retina.....	71
Tabelle 5: Liste aller identifizierten Proteine der Arteria Ophthalmica.....	108
Tabelle 6: Liste aller identifizierten Proteine der Retina.....	121
Tabelle 7: Auflistung der verwendeten MaxQuant-Parameter.....	143

## Bildverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Anatomie des Auges mit Abflussweg des Kammerwassers (roter Pfeil).....	14
Abbildung 2: Schematische Darstellung beider Glaukomformen mit unterschiedlicher Gestaltung des Kammerwinkels [23].....	15
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Anatomie der Arteria Ophthalmica und ihrer Äste [35].....	18
Abbildung 4: Schematische Darstellung des dreigliedrigen Wandaufbaus von Arterien [36].....	19
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Netzhautschichten [48].....	22
Abbildung 6: Lichtmikroskopischer Schnitt durch die Arteria (A) und Vena centralis retinae (V) innerhalb des Nervus Opticus der Maus auf Höhe der Retina in 200facher Vergrößerung, gefärbt mit Toluidinblau [34].....	23
Abbildung 7: Schematische Darstellung der arteriellen Blutversorgung des Nervus Opticus (ON) (links) und sagittaler Schnitt durch den Sehnervkopf der Maus in 80facher Vergrößerung, gefärbt mit Toluidinblau (rechts) [34].....	24
Abbildung 8: Schematische Kaskade des Renin-Angiotensin-Systems mit Wirkung am AT1- und AT2-Rezeptor [52-55].....	25
Abbildung 9: Vereinfachte schematische Darstellung der Signalkaskade der Wirkung von Angiotensin II auf Endothel (blau) und glatte Muskulatur (rot) in den Blutgefäßen [66].....	27
Abbildung 10: Schematische Darstellung zur Wirkung von Ang II am AT1-Rezeptor in Zellen des Herzens [53].....	30
Abbildung 11: Schematischer Aufbau des in der Studie verwendeten LTQ-Orbitrap-XL™-Systems von Thermo Fisher Scientific Inc. [94].....	33
Abbildung 12: Schematische Darstellung der Einteilung der Proben in die zwei Gruppen.....	42
Abbildung 13: Schematische Darstellung des Homogenisierungsvorgangs mit Hilfe des BBY24M Bullet Blenders Storm.....	42
Abbildung 14: Fotos der verwendeten Zirkonoxid-Beads.....	52
Abbildung 15: Einstellungen am verwendeten BBY24M Bullet Blender Storm während des Homogenisierungsvorgangs.....	52
Abbildung 16: Foto des Befüllens der Tubes mit Zirkonoxid-Beads, Probe der sPCA und T-PER vor (A) und nach (B) dem Homogenisierungsvorgang.....	53

## Bildverzeichnis

Abbildung 17: Foto der Proben nach dem Zentrifugieren, bei dem ein Überstand (links) und ein Pellet (rechts) voneinander getrennt werden können .....	53
Abbildung 18: Einstellungen am verwendeten Labsonic M während des Pellet-Homogenisierungsvorgangs .....	54
Abbildung 19: Foto vor (A) und nach (B) dem Filtriervorgang.....	55
Abbildung 20: Beispielhafte Gelbanden von 1DE-Gelen von Proben der Retina des Schweins für zwei Replikate des Überstands zu je 50 µg, bei denen die Optimierungsschritte weggelassen wurden .....	56
Abbildung 21: Gelbanden des 1DE-Gels beispielhaft von Proben der Retina des Schweins für Überstand und Pellet zu je 50 µg .....	57
Abbildung 22: Gelbanden des 1DE-Gels der Arteria Ophthalmica für die Kontroll- und die Angiotensin II (ANG II)-Gruppe mit den biologischen Replikaten (R) 1 bis 3 zu je 50 µg .....	58
Abbildung 23: Venn-Diagramm für die Arteria Ophthalmica nach Abgleich mit den Datenbanken für die Hausmaus (blau) und Mensch (grün) .....	59
Abbildung 24: <i>Heat Map</i> für die Arteria Ophthalmica der unterschiedlich exprimierten Proteine von Kontroll- gegenüber Angiotensin II-Gruppe .....	62
Abbildung 25: Balkendiagramm von stark unterschiedlich exprimierten Proteinen der Arteria Ophthalmica .....	63
Abbildung 26: Netzwerkanalyse ( <i>ingenuity pathway analysis</i> ) für die Arteria Ophthalmica der unterschiedlich exprimierten Proteine von Kontroll- gegenüber Angiotensin II-Gruppe eingeteilt nach Lokalisation im Zellkompartiment.....	65
Abbildung 27: Balkendiagramm der signifikant beeinflussten Signalwege der unterschiedlich exprimierten Proteine der Arteria Ophthalmica .....	66
Abbildung 28: Balkendiagramm der signifikant beeinflussten Funktionen, welche den unterschiedlich exprimierten Proteinen der Arteria Ophthalmica zugeordnet sind....	67
Abbildung 29: Ausgewählte prognostizierte <i>Upstream</i> -Regulatoren, welche in der Arteria Ophthalmica entweder aktiviert (A) oder gehemmt (B) wurden [121].....	68
Abbildung 30: Gelbanden des 1DE-Gels der Retina für die Kontroll- und die Angiotensin II (ANG II)-Gruppe mit den biologischen Replikaten (R) 1 bis 3 zu je 50 µg .....	69
Abbildung 31: Venn-Diagramm für die Retina nach Abgleich mit den Datenbanken für die Hausmaus (blau) und Mensch (grün).....	70
Abbildung 32: <i>Heat Map</i> für die Retina der unterschiedlich exprimierten Proteine von Kontroll- gegenüber Angiotensin II-Gruppe .....	74
Abbildung 33: Balkendiagramm von stark herunterregulierten Proteinen der Retina	75
Abbildung 34: Netzwerkanalyse ( <i>ingenuity pathway analysis</i> ) für die Retina der unterschiedlich exprimierten Proteine von Kontroll- gegenüber Angiotensin II-Gruppe eingeteilt nach Lokalisation im Zellkompartiment .....	76
Abbildung 35: Kuchendiagramm der Verteilung der unterschiedlich exprimierten Proteine der Retina in ihre jeweiligen Proteintypen .....	77
Abbildung 36: Balkendiagramm der signifikant beeinflussten Signalwege der unterschiedlich exprimierten Proteine der Retina .....	79
Abbildung 37: Balkendiagramm der signifikant beeinflussten Funktionen, welche den unterschiedlich exprimierten Proteinen der Retina zugeordnet sind.....	80
Abbildung 38: Ausgewählte prognostizierte <i>Upstream</i> -Regulatoren, welche in der Retina entweder gehemmt (A) oder aktiviert (B) wurden [121].....	81

## Bildverzeichnis

Abbildung 39: Balkendiagramme der Ergebnisse der RT-qPCR von ausgewählten, signifikant unterschiedlich exprimierten Proteinen.....	83
Abbildung 40: Balkendiagramme der Ergebnisse der RT-qPCR von Retina-spezifischen Proteinen in der Arteria Ophthalmica und von Arteria Ophthalmica-spezifischen Proteinen in der Retina sowie von Cryaa in der Retina obere Reihe rechts.....	84
Abbildung 41: Top 10-Signalwege der Retina und der Arteria Ophthalmica (OA) im direkten Vergleich.....	87
Abbildung 42: Häufigste biologische Funktionen der Retina und der Arteria Ophthalmica (OA) im direkten Vergleich.....	88

## 1. Einleitung/Ziel der Dissertation

Beim Glaukom, im Volksmund auch als Grüner Star bezeichnet, handelt es sich um ein neuropathisches Erkrankungsbild, welches durch eine strukturelle Schädigung der retinalen Ganglienzellen und typischen damit einhergehenden irreversiblen Gesichtsfeldausfällen charakterisiert ist [1]. Allgemein lassen sich Offenwinkelglaukome von Engwinkelglaukomen unterscheiden. Ca. 60 Millionen Menschen weltweit sind am Glaukom erkrankt, drei Viertel davon am Offenwinkelglaukom, wobei Frauen häufiger betroffen sind als Männer [2]. Die Erkrankung verläuft zunächst lange asymptomatisch und klinisch stumm, was die Einleitung einer rechtzeitigen Therapie oftmals hinauszögern kann [3]. Häufig führt dies zur totalen Erblindung des betroffenen Auges. Bei ca. 8,4 Millionen Menschen konnte eine Erblindung infolge eines Glaukom ausgemacht werden, was die Erkrankung zur zweithäufigsten Erblindungsursache weltweit macht - direkt nach der Katarakt, dem Grauen Star [4]. Als ein Hauptrisikofaktor für das Glaukom gilt ein erhöhter Augeninnendruck, jedoch werden auch lokale Durchblutungsstörungen im Gefäßsystem des Auges als entscheidende Risikofaktoren in der Ätiopathogenese der Erkrankung diskutiert [5]. Bis heute ist die genaue Krankheitsentstehung des Normaldruck-Glaukoms (*normal tension glaucoma*, NTG), bei dem im Gegensatz zum konventionellen Glaukom kein erhöhter Augeninnendruck vorliegt, nicht abschließend verstanden. Es wird allerdings als sehr wahrscheinlich betrachtet, dass die Schädigung des Sehnervkopfes in diesem Fall eine vaskulären Ursache hat [6]. Hypertonie [7] und in Folge Atherosklerose sowie auch oxidativer Stress [8] stehen in starkem Zusammenhang mit Umgestaltungen im Gefäßsystem, welche mit endothelialer Dysfunktion, Veränderungen der vasomotorischen Funktion, vaskulärer Entzündung und strukturellen Umbauvorgängen einhergehen. Daran ist auch das Peptidhormon Angiotensin II unter pathologischen Bedingungen beteiligt. In den letzten Jahren ist das Interesse an der Rolle von Angiotensin II in der Pathogenese des Glaukoms zunehmend größer geworden. Trotz seiner extrem wichtigen (patho)physiologischen Funktionen muss unterstrichen werden, dass die konkreten molekularen Mechanismen von Angiotensin II-induziertem oxidativen Stress sowie dessen genaue Wirkung auf die Zellen von Retina und Augenarterie weitestgehend unaufgeklärt sind und somit die Gelegenheit der tiefgreifenden Untersuchung auf diesem Feld bieten. Einige Studien haben bereits die Effekte von Angiotensin II und die Rolle von oxidativem Stress auf verschiedene Gefäßsysteme beschrieben [8-13].

## Einleitung/Ziel der Dissertation

Bisher wurde aber der Einfluss von Angiotensin II auf das Gefäßbett im Auge in keiner Studie untersucht. Vor wenigen Jahren konnten mit Hilfe von pharmakologischen und immunhistochemischen Ansätzen die physiologischen Mechanismen der Vasodilatation der Arteria Ophthalmica der Maus genau entschlüsselt werden [14, 15]. Auf der Ebene der Proteine und zellulärer Signalwege wurde dieser Aspekt aber tatsächlich noch nie näher beleuchtet. Diese Studie könnte als einfaches aber reproduzierbares *in vitro*-Glaukommodell an der Maus die besondere Wichtigkeit und Beteiligung von zwei wesentlich unterschiedlichen Gefäßbetten im Auge, nämlich Arteria Ophthalmica als retrobulbäres Gefäß und die intraokuläre Retina, an der Krankheitsentstehung hervorheben, um die Pathomechanismen der glaukomatösen Sehnervschädigung bei nicht erhöhtem Augeninnendruck eingehend zu verstehen sowie dazu beitragen, die Mechanismen der Umbauvorgänge auf Proteinebene zu entschlüsseln und Signalwege als direkte Antwort auf Angiotensin II-induzierten oxidativen Stress gezielt aufzudecken. Es wird unmittelbar die Hypothese getestet, dass die Retina anfälliger gegenüber Angiotensin II-induziertem oxidativen Stress ist als die Arteria Ophthalmica.

Dementsprechend verfolgt die Studie kurzum folgende Ziele:

1. Etablierung eines effizienten und soliden experimentellen Protokolls zur Probenvorbereitung insbesondere für die nachfolgende MS-basierte Analyse von speziell geringen Mengen Gewebeproben von okulären Mikrogefäßen
2. Massenspektrometrische Charakterisierung des Proteoms von
  - a. Arteria Ophthalmica und
  - b. Retina der Maus bei Angiotensin II-induziertem oxidativen Stress
3. Validierung von ausgewählten Biomarkern auf mRNA-Level mittels RT-qPCR

## **2. Literaturdiskussion**

### **2.1 Glaukom**

Der Begriff „Glaukom“ definiert allgemein eine heterogene Gruppe von multifaktoriellen Augenerkrankungen, die mit einer optischen Neuropathie einhergehen sowie durch den voranschreitenden Zelluntergang der retinalen Ganglienzellen charakterisiert sind und letztendlich zu einem irreversiblen Gesichtsfeldausfall führen, sollten sie nicht rechtzeitig diagnostiziert und therapiert werden [1, 16]. Die Erkrankung weist weltweit eine Prävalenz bei ca. 60 Millionen Menschen auf, perspektivisch mit einer Steigerung auf geschätzt 80 Millionen Menschen bis zum Jahr 2020, wobei allgemein Frauen statistisch häufiger betroffen sind als Männer [2]. Offenwinkelglaukome treten deutlich häufiger, nämlich bei schätzungsweise drei Viertel aller Glaukompatienten, auf. Das Glaukom ist in Deutschland der zweithäufigste Grund zu erblinden [17], wohingegen als Hauptursache die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) [18] angegeben wird, bei der nicht die Netzhaut, sondern ihre umgebenden Strukturen, nämlich das retinale Pigmentepithel, die Bruch-Membran und die Choroidea beeinträchtigt sind [19]. Auch weltweit wird das Glaukom als zweithäufigste Erblindungsursache angegeben, während hierbei aber die Hauptursache die Katarakt darstellt [2], bei der es auf Grund unterschiedlicher Faktoren zu einer Eintrübung der Augenlinse kommt [20].

#### **2.1.1 Ätiologie und Klassifikation**

Glaukome lassen sich zunächst allgemein anatomisch betrachtet in Offen- und Engwinkel- oder auch Winkelblockglaukome unterscheiden [21], was sich auf den Kammerwinkel bezieht, der von der Regenbogenhaut (Iris) und der Hornhaut (Kornea) gebildet wird. Im Kammerwinkel befindet sich das Trabekelwerk, durch welches das Kammerwasser im Schlemm-Kanal abfließen kann. Bildungsort des Kammerwassers ist der Ziliarkörper, an dem auch die Augenlinse über die Zonulafasern aufgehängt ist. Das Kammerwasser fließt von der hinteren Augenkammer durch die Pupille in die vordere Augenkammer, wie es als roter Pfeil in Abbildung 1 dargestellt ist.

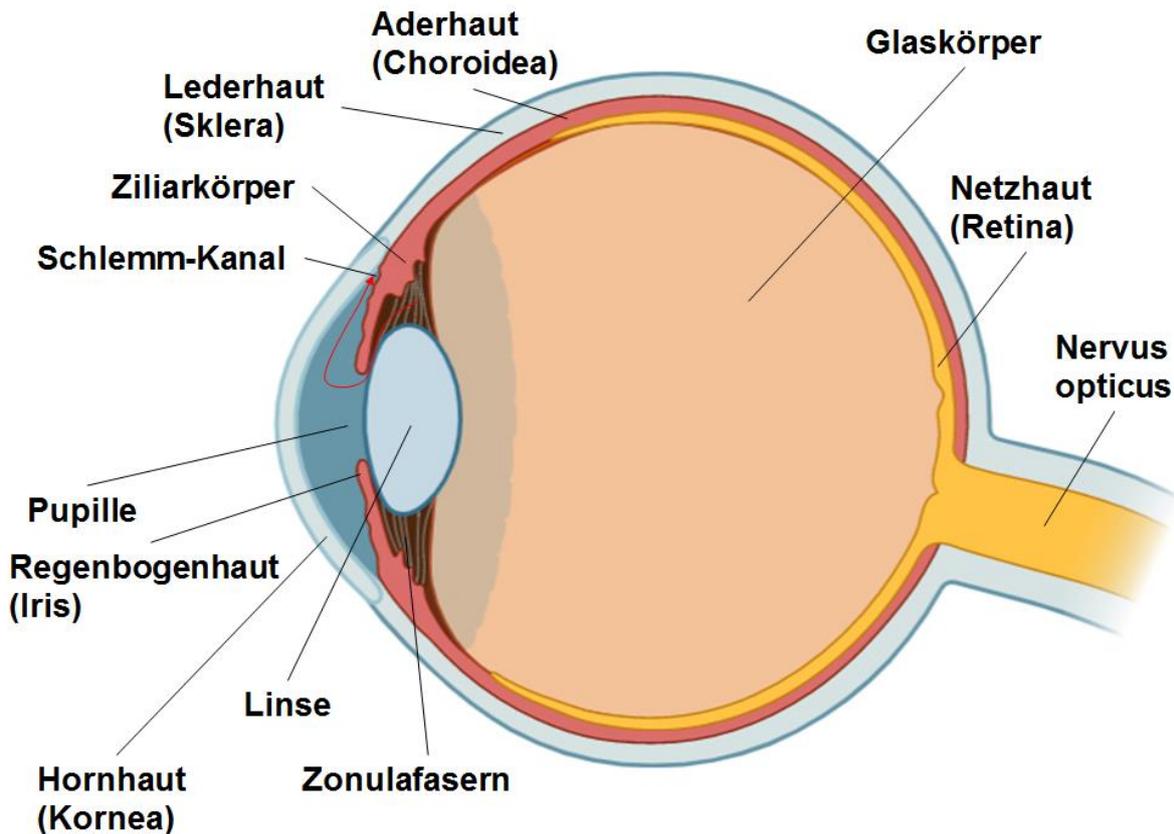


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Anatomie des Auges mit Abflussweg des Kammerwassers (roter Pfeil)

Offenwinkelglaukome treten deutlich häufiger auf [17] und verlaufen meist eher chronisch und klinisch stumm. Bei Engwinkelglaukomen kann ganz akut ein sogenannter Glaukomanfall auftreten, bei dem das Kammerwasser durch Verlegung des Kammerwinkels durch die Iris kaum noch abfließen kann, was eine dramatische Steigerung des intraokulären Drucks zur Folge hat und auch als Winkelblock bezeichnet wird. Hierbei können in schwerwiegenden Fällen Augen- und Kopfschmerzen sowie Übelkeit und Erbrechen auftreten, was eine medizinische Notfallsituation darstellt, die eine schnelle Therapie unabdingbar macht. Zumeist ist allerdings nur ein Auge betroffen. Abbildung 2 zeigt schematisch beide Glaukomformen mit jeweils unterschiedlicher Gestaltung des Kammerwinkels. Weiterhin werden primäre Offenwinkelglaukome nochmal von den sekundären Offenwinkelglaukomen unterschieden. Bei Letzteren entsteht das Glaukom als Folge einer anderen Augenerkrankung wie beispielsweise intraokulären Tumoren oder Uveitis. Beim konventionellen primären Offenwinkel-Glaukom ist ein entscheidender, aber beherrschbarer Risikofaktor ein erhöhter Augeninnendruck [22].

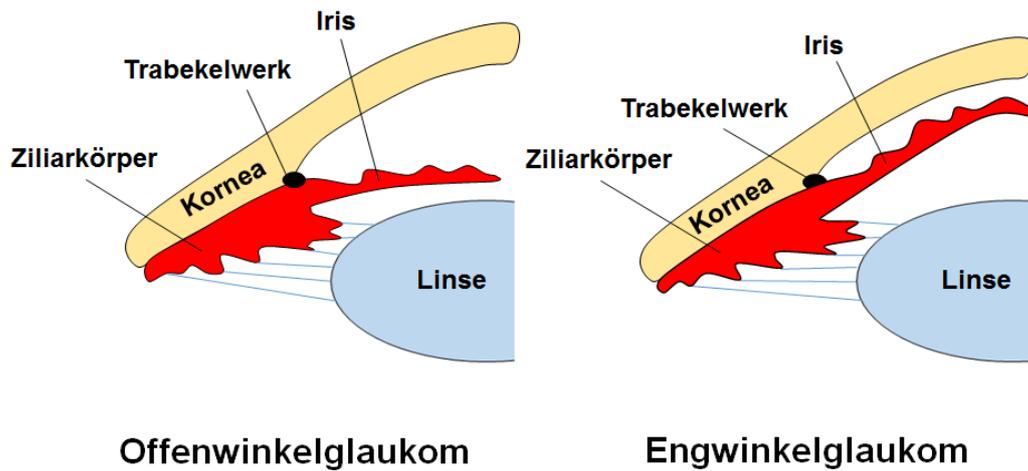


Abbildung 2: Schematische Darstellung beider Glaukomformen mit unterschiedlicher Gestaltung des Kammerwinkels [23]

### 2.1.2 Beitrag lokaler Durchblutungsstörungen an der Krankheitsentwicklung

Obwohl Pharmaka, die vorwiegend als Augentropfen verabreicht werden, zum Senken dieses Drucks etabliert werden konnten wie z. B. Betablocker, Alpha-Sympathomimetika und Carboanhydrasehemmer, die die Produktion des Kammerwassers aus dem Ziliarkörper verringern oder Cholinergika, die durch Kontraktion des Ziliarkörpers das Trabekelwerk öffnen und zusätzlich durch Verengung der Pupille den Kammerwinkel öffnen [21, 24], was besonders beim Engwinkelglaukom von Vorteil ist, schreitet bei manchen Glaukompatienten die Erkrankung weiter voran, was oftmals zu einem irreversiblen Gesichtsfeldausfall führt. Bei diesen Patienten geht man davon aus, dass eine beeinträchtigte Autoregulation im okulären Gefäßbett verantwortlich für den Krankheitsfortschritt ist. Dies kann durch Atherosklerose, Vasospasmus und endotheliale Dysfunktion bedingt sein [22]. Als Konsequenz wird der Sehnervkopf zunehmend anfälliger gegenüber Perfusionsdefiziten, erhöhtem intraokulärem Druck und den anfallenden lokalen metabolischen Anforderungen. Dadurch entsteht ein ischämischer Schaden, der die vaskuläre Autoregulation wiederum weiter schädigt, wodurch sich die Morphologie der Zellstruktur des Sehnervkopfes verändert, was ein typisches Diagnosekriterium eines Glaukoms darstellt. Die spezifische Atrophie des Sehnervs in Form von Ausdünnung des neuroretinalen Randes des Sehnervkopfes und Verlust der retinalen Nervenzellfaserschicht bezeichnet man als glaukomatöse optische Neuropathie [25]. Die klinische Entität dieser in Kombination mit einem Augeninnendruck, der sich in den normalen Grenzen bewegt (nicht über 22 mmHG), wird dann als Normaldruck-Glaukom (*normal tension glaucoma*, NTG) als Untergruppe der primären

Offenwinkelglaukome bezeichnet. Es zeigt in der Regel keine auffälligen Symptome. Perfusionsdefizite am Sehnervkopf, in der Retina und Choroidea ausgelöst durch Vasospasmus, *small vessel disease* oder autoregulatorische Dysfunktionen ohne Anstieg des Augeninnendrucks sind signifikante Faktoren in der Pathogenese des NTG [26]. Dafür, dass in der Pathogenese dieses Glaukoms eine vaskuläre Insuffizienz involviert ist, spricht, dass man besonders beim NTG häufig eine kleine Blutung am Sehnervkopf beobachten kann [27]. Verschlusskrankheiten wie z. B. der retinale Zentralarterienverschluss (*central retinal artery occlusion*) der Arteria centralis retinae werden bei Patienten mit NTG ungefähr acht Mal häufiger beobachtet als bei sonst gesunden Patienten [28]. Auch die Migräne, ausgelöst durch Vasospasmus in Hirngefäßen, wurde häufiger bei Patienten mit NTG beobachtet als bei Patienten mit konventionellem primärem Offenwinkelglaukom oder Kontrollgruppen [29]. Die Mechanismen, die zum abnormalen Blutfluss beim NTG führen, bleiben ungeklärt, aber oxidativer Stress, Vasospasmus und endotheliale Dysfunktion scheinen Risikofaktoren dafür zu sein [26]. Es konnte in vorigen Studien gezeigt werden, dass die beeinträchtigte vaskuläre Autoregulation bei NTG-Patienten im Vergleich zu Patienten mit erhöhtem Augeninnendruck deutlich ausgeprägter war [30]. Während eine gestörte Durchblutung im Auge als Risikofaktor des Glaukoms kein völlig neues Konzept ist, kommen ständig neue Erkenntnisse auf, welche weitere Studien ermöglichen, um die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen aufzudecken, die den Krankheitsverlauf regulieren. Obwohl erhebliche Bemühungen zur Untersuchung der intraokulären Blutgefäße unternommen wurden, insbesondere der Retina, wird die funktionelle Relevanz und Bedeutung der retrobulbären Blutgefäße, welche ja hauptsächlich für die Blutversorgung am Sehnervkopf verantwortlich sind, häufig übersehen. Es gibt zunehmend mehr Hinweise, dass Anomalien im Blutkreislauf der retrobulbären Gefäße, also Arteria Ophthalmica und den Ziliararterien, mit der Pathophysiologie eines progressiven Glaukoms assoziiert sind [31-33].

### 2.2 Arteria Ophthalmica

Die gesamte arterielle Blutversorgung des Augapfels und der Augenhöhle der Maus wird durch die Arteria Ophthalmica gewährleistet. Sie besitzt einen inneren Durchmesser zwischen 80 und 150  $\mu\text{m}$  [14, 15], entspringt der Arteria Carotis interna unmittelbar nachdem diese den Sinus Cavernosus verlassen hat und passiert die Orbita durch den Canalis Opticus in Richtung der Lederhaut (Sklera) [26, 34]. Dort zweigt sich die Arteria centralis retinae ab (siehe auch schematische Darstellung in Abbildung 7 links). Diese tritt dann schräg durch einen Skleraring direkt in den Nervus Opticus ein und ist unmittelbar für die Gefäßversorgung der Netzhaut (Retina) verantwortlich. Zusammen mit den hinteren Ziliararterien stellt sie das Blut für den hinteren Augenanteil bereit. Die entsprechende Vene verläuft näher am Nerv als die Arterie. Danach teilt sich die Arteria Ophthalmica noch auf Höhe der Sklera in eine temporale und eine nasale Ziliararterie, welche wiederum die stark vaskularisierte Aderhaut (Choroidea) versorgen. Diese zählt ebenso wie die Regenbogenhaut (Iris) und der Ziliarkörper zur Uvea und liegt zwischen Retina und Sklera. Wie in Abbildung 3 dargestellt versorgen die Äste der Arteria Ophthalmica beim Menschen sämtliche anatomische Strukturen der Orbita wie z. B. die Tränendrüse, aber auch andere wichtige anatomische Strukturen außerhalb der Orbita wie Teile der Hirnhäute, der Nase und des Gesichts, wie z. B. die Muskeln der äußeren Augenmuskulatur, nämlich der Musculus levator palpebrae superioris, der Musculus obliquus inferior und obliquus superior, der Musculus rectus inferior, rectus superior, rectus lateralis und rectus medialis sowie der Musculus frontalis, der Musculus nasalis und der Musculus procerus, welche zur mimischen Muskulatur zählen, erhalten ihre Blutversorgung durch die Arteria Ophthalmica [35].

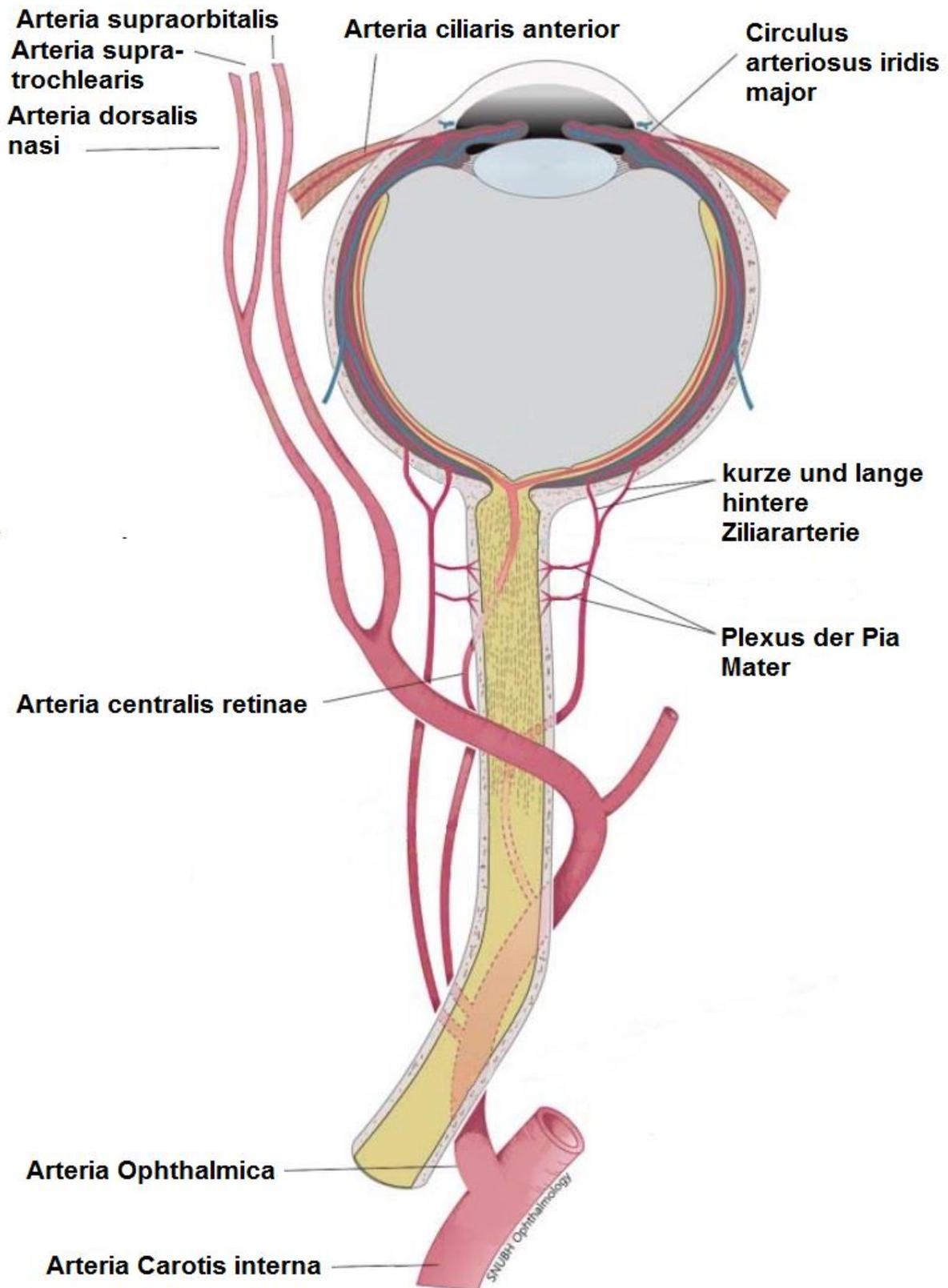


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Anatomie der Arteria Ophthalmica und ihrer Äste [35]

Histologisch ist die Arteria Ophthalmica wie jede andere Arterie auch mit einem dreigliedrigen Wandaufbau ausgestattet: Nach einer äußeren Schicht von lockerem kollagenem Bindegewebe (Tunica externa oder adventitia), in dem Nerven und Gefäße verlaufen, welche die Arterie wiederum selbst versorgen (Vasa vasorum), befindet sich in der Mitte des arteriellen Wandaufbaus eine dicke ringförmige Schicht an glatter Muskulatur (Tunica media). Wie bei allen Blutgefäßen befindet sich zum Lumen hin eine einschichtige Endothelzellschicht (Tunica intima), welche über diffusible vasoaktive Substanzen maßgeblich an der Aufrechterhaltung des vaskulären Muskeltonus beteiligt ist [15]. Zwischen den einzelnen Wandschichten befindet sich jeweils eine interne bzw. externe elastische Membran. Abbildung 4 zeigt schematisch den für Arterien typischen dreigliedrigen histologischen Wandaufbau.

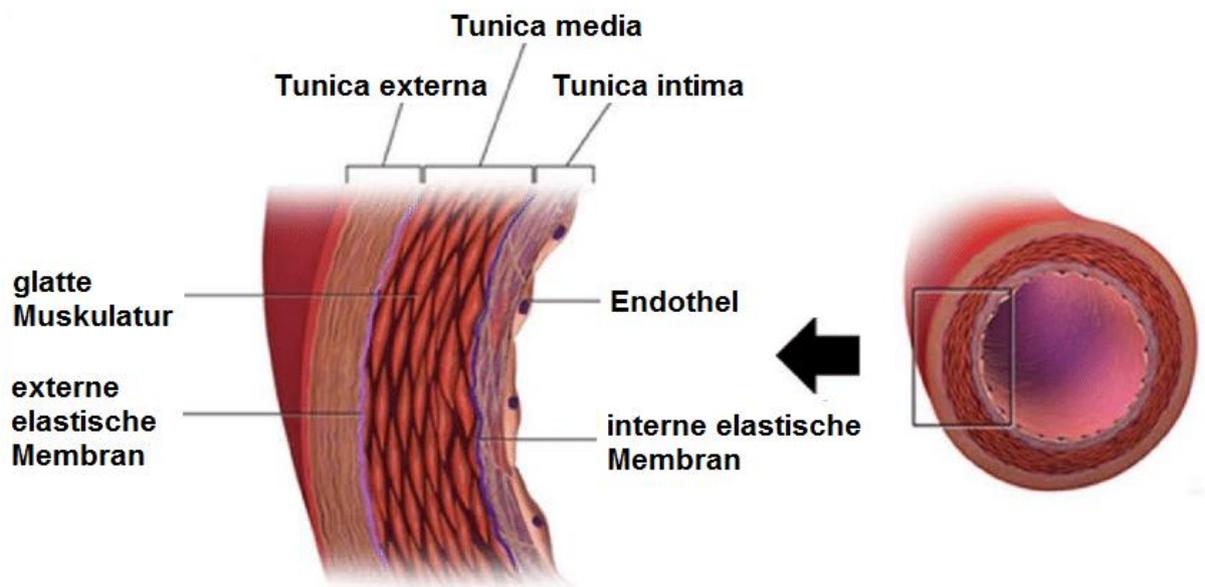


Abbildung 4: Schematische Darstellung des dreigliedrigen Wandaufbaus von Arterien [36]

Hauptmechanismus für die Vasodilatation ist hierbei die Freisetzung von gasförmigem Stickstoffmonoxid (NO) durch die endotheliale NO-Synthetase (eNOS), welches durch die Doppellipidschichten in die glatte Muskelzelle diffundieren kann und dort über eine Erhöhung des cGMP-Spiegels und die Aktivierung der Proteinkinase G den intrazellulären Calcium-Spiegel erniedrigt und so die Vasodilatation einleitet. In den meisten Arterien geschieht dies über die Aktivierung des muskarinischen Acetylcholinrezeptors, woraufhin NO vom Endothel freigesetzt wird [37, 38]. Dieser Rezeptor tritt in 5 verschiedenen Isoformen auf ( $M_1 - M_5$ ). Dabei spielt der  $M_3$ -Subtyp eine besondere Rolle: Er vermittelt Acetylcholin-abhängige Vasodilatation in den Blutgefäßen des Auges von Mäusen bei intaktem Endothel [39, 40] und unter

Bedingungen von endothelialer Dysfunktion sogar Vasokonstriktion [41]. Somit stellt dieser ein sinnvolles pharmakologisches Ziel dar, um in den okulären Blutfluss einzugreifen, wenn dieser beeinträchtigt ist wie z. B. bei der diabetischen Retinopathie, der altersabhängigen Makuladegeneration, der nicht-arteriitischen anterioren Optikusneuropathie oder dem POAG [42-45]. Der Beitrag von NO an der Vasodilatation von okulären Blutgefäßen ist somit lange bekannt und gut erforscht [46, 47]. Bei Hemmung der NO-Synthese wird die Acetylcholin-induzierte Vasodilatation allerdings nur abgemildert, nicht aber gänzlich aufgehoben. Manicam et al. konnten 2016 nachweisen, dass dafür Arachidonsäuremetaboliten in enger Zusammenarbeit mit den *gap junctions* verantwortlich sind, da erst das kombinierte Blocken der Cytochrom-P450-Oxygenase (CYP450) und der Lipoxygenase (LOX), genauso wie das kombinierte Blocken von CYP450 und den *gap junctions*, die Vasodilatation komplett aufhebt [15]. Außerdem wurde in dieser Studie der spannungsabhängige Kalium-Kanal Kv1.6, der ausschließlich in der glatten Muskulatur vorkommt, als funktionell relevant für die Vasodilatation ausgemacht. Man hofft den Kv1.6-Kanal als mögliches therapeutisches Ziel bei kompromittierter NO-Synthese etablieren zu können. In einer weiteren Studie konnten Manicam et al. 2017 an den vorigen Ergebnissen anknüpfen, indem sogar an einem eNOS-Knockout-Mausmodell dilatatorische Antworten nachgewiesen wurden, was bedeutet, dass ein endothelialer Adaptivmechanismus als Backup-System vorhanden ist, um bei chronischem Fehlen der eNOS die Vasorelaxation zu erhalten [14]. Hierfür wurden sogenannte *endothelium-derived hyperpolarizing factors (EDHFs)* verantwortlich gemacht. Ebenfalls konnten Arachidonsäuremetaboliten, vor allem vom 12-Lipoxygenase-Signalweg, als Schlüsselmoleküle in der Aktivierung der Kaliumkanäle ausgemacht werden, um das chronische Fehlen der eNOS zu kompensieren.

### 2.3 Retina

Die Innenfläche des Auges wird von der Netzhaut ausgekleidet. An der Ora serrata geht sie nach anterior als „blinder“ Teil der Retina in den Ziliarkörper über. Sie besteht aus einer mehrschichtigen Ansammlung von hochspezialisierten Nervenzellen, welche den „optischen“ Teil der Netzhaut repräsentieren und visuelle Lichtreize in Aktionspotentiale umwandeln, die wiederum zum Corpus geniculatum laterale im Thalamus weitergeleitet werden. Die Retina lässt sich histologisch nach morphologischen Gesichtspunkten von außen nach innen in 10 Schichten unterteilen, wie schematisch in Abbildung 5 dargestellt:

1. Pigmentepithelschicht (liegt mit der Bruch-Membran als Grenzschicht der Choroidea direkt an)
2. Photorezeptorenschicht mit Außen- und Innensegmenten der Stäbchen und Zapfen
3. äußere Grenzmembran mit Müllerzellen
4. äußere Körnerschicht mit den Perikaryen der Stäbchen und Zapfen
5. äußere plexiforme Schicht als Umschaltstation zwischen Photorezeptoren und Bipolarzellen
6. innere Körnerschicht mit den Perikaryen der Bipolarzellen mit Amakrin- und Horizontalzellen
7. innere plexiforme Schicht als Umschaltstation zwischen Bipolarzellen und Ganglienzellen
8. Ganglienzellschicht mit den Perikaryen der Ganglienzellen
9. Nervenfaserschicht mit den Axonen der Ganglienzellen
10. innere Grenzmembran mit Müllerzellen

Die innerste Schicht grenzt direkt an den Glaskörper. Die Schichten 2 – 10 können nochmal als neurosensorische Retina zusammengefasst werden, um sie vom retinalen Pigmentepithel abzugrenzen. Interessant ist, dass das Licht als Erstes auf die innersten Netzhautschichten trifft, obwohl die erste Station in der Verarbeitung dieses Reizes die Photorezeptorenschicht ist, die ja ganz außen liegt.

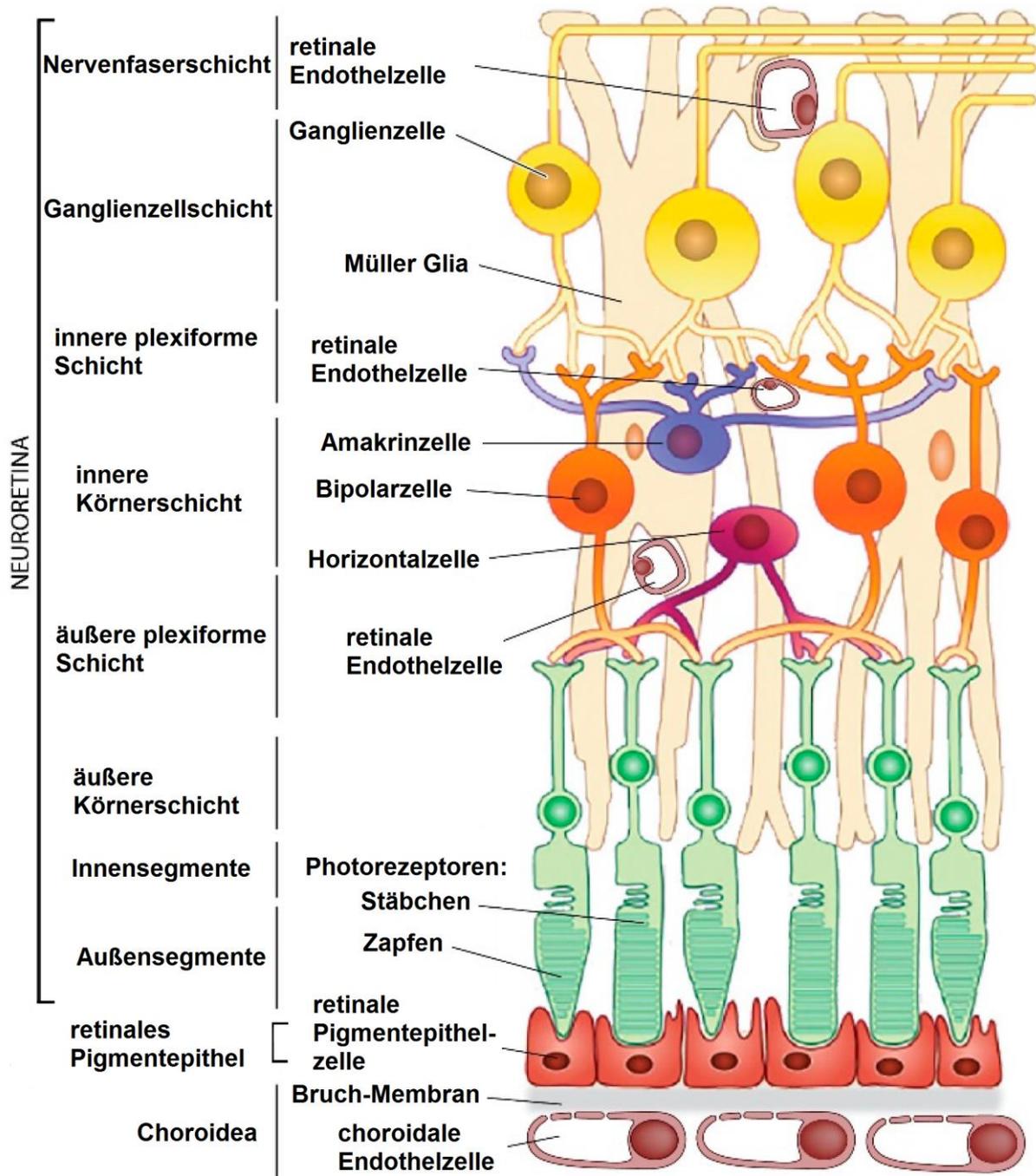


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Netzhautschichten [48]

An der Macula lutea (gelber Fleck) befindet sich ein gefäßarmes und im Zentrum freies Gebiet, indem die Dichte der farbempfindlichen Zapfen besonders hoch ist. Die gelbliche Färbung wird durch eingelagerte Carotinoide verursacht, welche besonders energiereiches Licht filtern und so die Zellen besonders vor UV-Schäden schützen. Mitten in der Macula lutea liegt die Fovea centralis, die Stelle des schärfsten Sehens. Dort, wo sich die Axone der retinalen Ganglienzellen zum Nervus Opticus vereinigen,

## Literaturdiskussion

die Sehnervpapille bilden und schließlich den Augapfel verlassen, befindet sich der sogenannte blinde Fleck, an welchem sich keine Photorezeptoren befinden.

Die Netzhaut wird hauptsächlich über die Arteria centralis retinae mit arteriellem Blut versorgt, welche selbst wiederum wie vorher bereits genannt ein Ast der Arteria Ophthalmica ist. Sie verläuft im Nervus Opticus bis zur Sehnervpapille. Von dort sendet sie in großer Zahl ihre Endäste aus. Bei einem Verschluss dieses Gefäßes durch Thromben oder atherosklerotischen Veränderungen spricht man vom retinalen Zentralarterienverschluss, der zum sofortigen Sehverlust des entsprechenden Auges führt [49]. Abbildung 6 zeigt einen Schnitt durch den Sehnerv der Maus mit Arteria und Vena centralis retinae auf Höhe der Retina. Die Photorezeptoren hingegen werden per Diffusion über die Choroidea versorgt, über welche auch die Fovea centralis ihre Blutversorgung erhält.

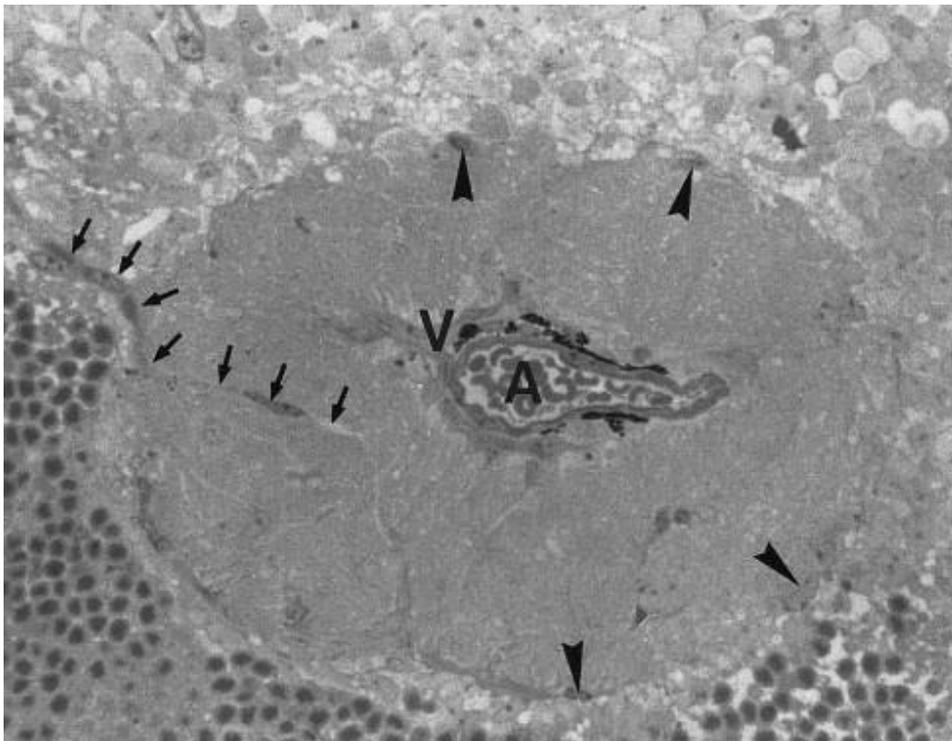


Abbildung 6: Lichtmikroskopischer Schnitt durch die Arteria (A) und Vena centralis retinae (V) innerhalb des Nervus Opticus der Maus auf Höhe der Retina in 200facher Vergrößerung, gefärbt mit Toluidinblau [34]. Die Pfeilspitzen zeigen auf Astrozyten, die kleinen Pfeile auf Kapillaren aus der Arteria centralis retinae

Ein großer Unterschied zu anderen Spezies besteht darin, dass bei der Maus die arterielle Versorgung am Sehnervkopf allein über die Arteria centralis retinae sichergestellt wird [34]. Beim Nervus Opticus des Menschen beispielsweise wird der Sehnervkopf zusätzlich auch über die Choroidea ernährt. Abbildung 7 zeigt den Sehnervkopf der Maus im sagittalen Schnitt. Die Myelinisierung des Sehnervs beginnt ca. 0,6 – 0,8 mm hinter dem Bulbus (siehe Pfeil in Abbildung 7 rechts) und im Bereich der Sklera ziehen keine Kollagenfasern zum neuronalen Gewebe als weiterer Unterschied zu anderen Spezies, wo Letztere dort ein siebartiges Netzwerk (Lamina cribrosa) formen. Stattdessen wird im Auge der Maus der Sehnerv von der Sklera durch einen Ring an dicht gepackten Kollagenfasern getrennt.

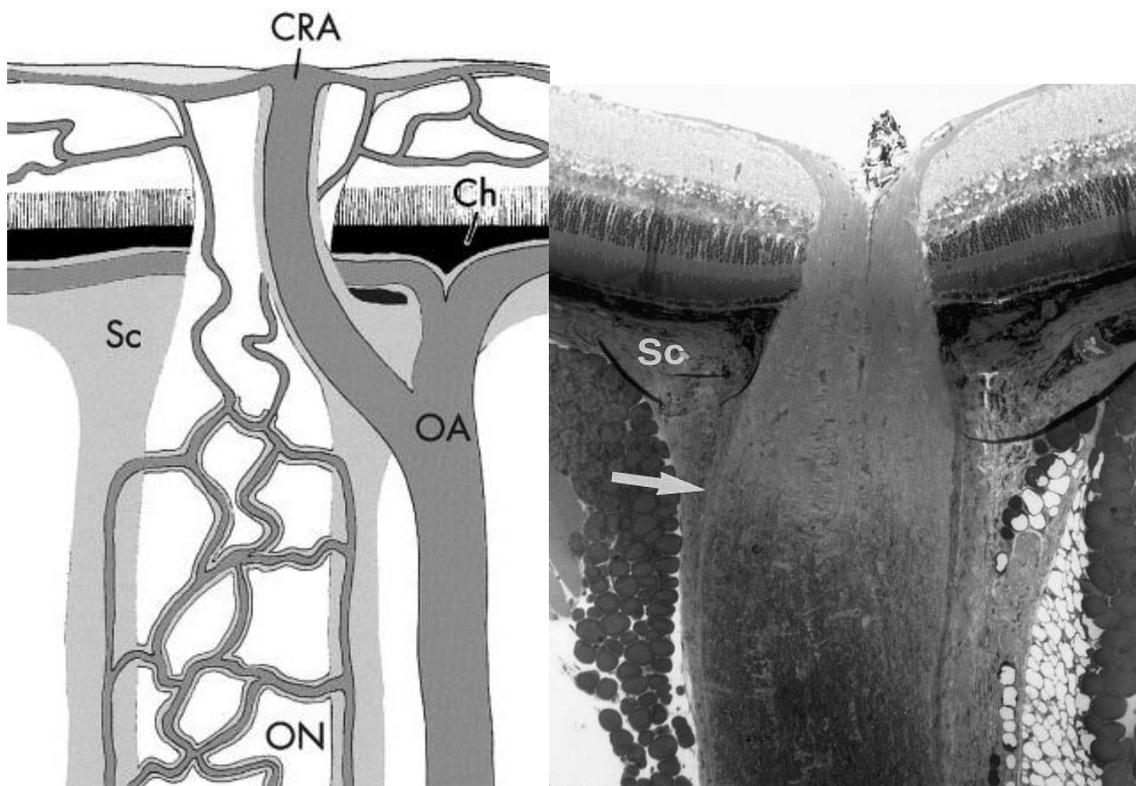


Abbildung 7: Schematische Darstellung der arteriellen Blutversorgung des Nervus Opticus (ON) (links) und sagittaler Schnitt durch den Sehnervkopf der Maus in 80facher Vergrößerung, gefärbt mit Toluidinblau (rechts) [34]; OA = Arteria Ophthalmica, CRA = Arteria centralis retinae, Sc = Sklera, Ch = Choroidea

## 2.4 Renin-Angiotensin-System (RAS)

Angiotensin II spielt die zentrale Rolle im sogenannten Renin-Angiotensin-System (RAS) und ist ein Peptidhormon, welches an einer Vielzahl von zellulären Prozessen wie der Regulation der Gefäßfunktion, Zellwachstum, Apoptose, Zellmigration, Entzündung und Fibrose beteiligt ist [50, 51]. Seine Primärstruktur besteht aus insgesamt acht Aminosäuren (H<sub>2</sub>N-Asparaginsäure-Arginin-Valin-Tyrosin-Isoleucin-Histidin-Prolin-Phenylalanin-COOH), weswegen es als Oktapeptid bezeichnet wird (siehe Abbildung 8).

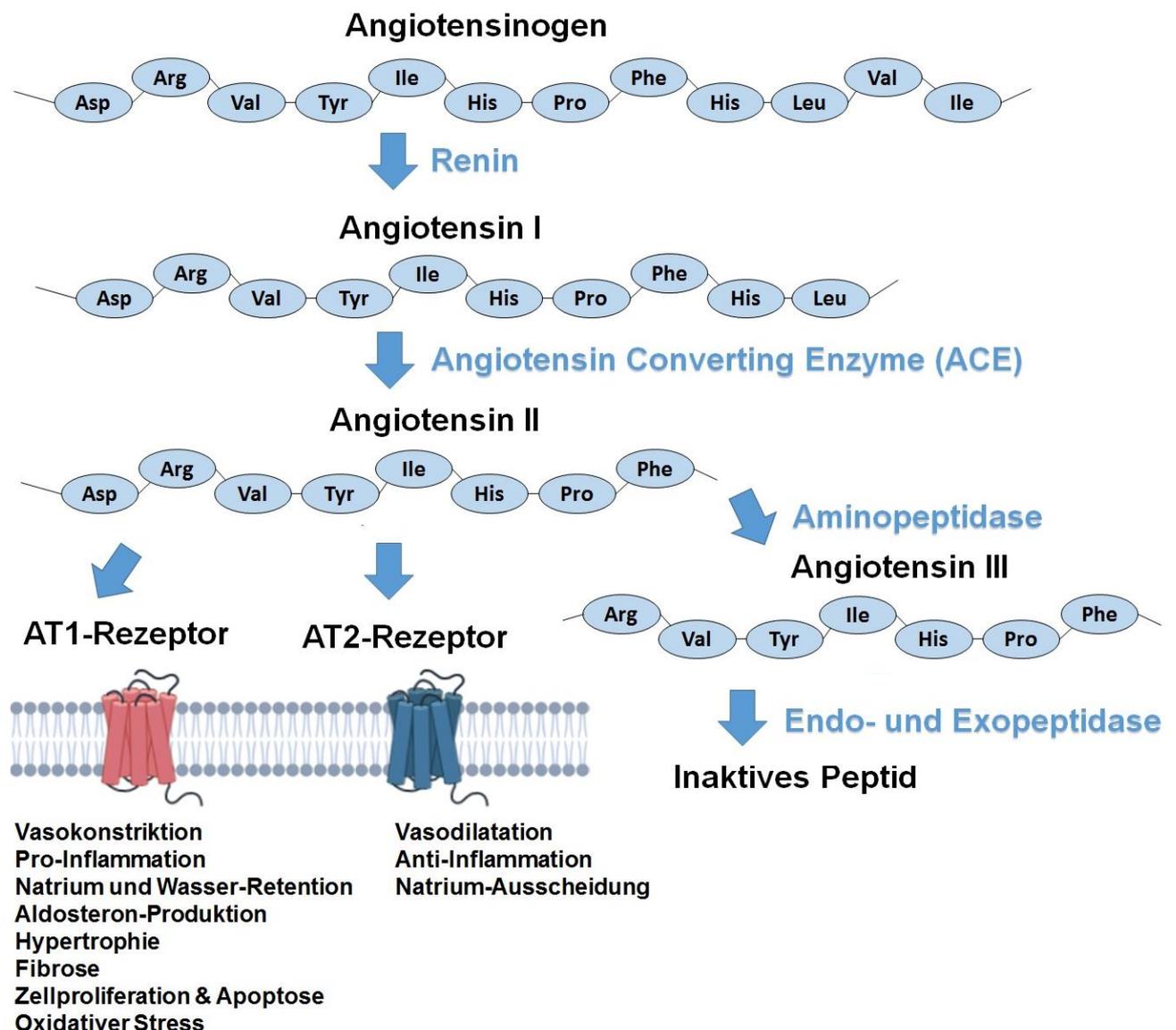


Abbildung 8: Schematische Kaskade des Renin-Angiotensin-Systems mit Wirkung am AT1- und AT2-Rezeptor [52-55]

Die Endopeptidase Renin wird in der Niere von spezialisierten Zellen des juxtaglomerulären Apparates, den sogenannten granulierten oder juxtaglomerulären Zellen, synthetisiert. Die Sekretion wird durch drei Faktoren stimuliert: Bei einem Abfall des arteriellen Blutdrucks, was von den Barorezeptoren der arteriellen Blutgefäße registriert wird sowie des Weiteren bei einem Abfall von Natriumchlorid in der Niere, was von der Macula densa im juxtaglomerulären Apparat detektiert wird sowie letztlich durch eine Stimulation des sympathischen Nervensystems an den  $\beta_1$ -Adrenorezeptoren. Renin spaltet das in der Leber synthetisierte Prohormon Angiotensinogen [56] enzymatisch, woraufhin das Dekapeptid Angiotensin I entsteht. Das aus der Lunge stammende *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) wandelt Angiotensin I durch Abspaltung zweier Aminosäurereste in Angiotensin II (Ang II) um, dessen Wirkung deutlich potenter ist als die von Angiotensin I. Ang II bindet an den AT<sub>1</sub>-Rezeptor [7, 57], was dazu führt, dass die NADPH-Oxidase das Sauerstoffradikal Superoxid ( $O_2^-$ ) bildet. Chemisch gesehen entsteht das Anion Superoxid, indem ein Elektron von einem Molekül wie z. B. NADPH auf molekularen Sauerstoff übertragen wird [58]. Sauerstoff wird also reduziert. Dabei wird NADPH zu NADP<sup>+</sup> oxidiert, katalysiert durch die NADPH-Oxidase. Bei Hypertonie, Atherosklerose und Diabetes mellitus wird das System der Ang II-stimulierten Produktion von Superoxid über die NADPH-Oxidase hochreguliert [59]. Superoxid besitzt ein freies Elektron, welches eine hohe Reaktivität vermittelt und das Molekül instabil und kurzlebig macht. Es ist löslich in Wasser und daher für die Zellmembranen nicht permeabel, wird aber über Anion-Kanäle über die Membranen transportiert [60]. Superoxid kann dann durch die Superoxid-Dismutase (SOD) zu viel stabilerem Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) umgewandelt werden. Es existieren drei Isoformen der SOD: die Kupfer-Zink-Isoform (CuZnSOD), die Mangan-Isoform (MnSOD) und die extrazelluläre SOD [58]. Wasserstoffperoxid ist kein freies Radikal, des Weiteren fettlöslich, also somit permeabel für die Zellmembran und kann wiederum in verschiedenen chemischen Reaktionen zu anderen oxidativ wirksamen Molekülen wie z. B. Hydroxyl-Radikale ( $OH^\cdot$ ), Peroxinitrit ( $ONOO^-$ ) oder hypochlorige Säure (HClO) umgewandelt werden [61]. All diese Sauerstoffradikale oder auch reaktive Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*, ROS) können Signalmoleküle durch oxidative Modifikation der Proteine und Veränderung des intrazellulären Redox-Zustands beeinflussen [7, 62]. Hydroxyl-Radikale beispielsweise entstehen in Anwesenheit von Molekülen, die zweiwertiges Eisen ( $Fe^{2+}$ ) enthalten [58], und sind extrem reaktionsfreudig, indem sie

sofort lokale Schäden anrichten direkt dort, wo sie gebildet werden [7]. Das Enzym Katalase kann Wasserstoffperoxid wiederum zu Wasser und Sauerstoff entgiften. Auch der Glutathion-Peroxidase ist es möglich Wasserstoffperoxid zu entgiften [63]. In den arteriellen Blutgefäßen reagiert nun das durch die Bindung von Ang II an den AT<sub>1</sub>-Rezeptor gebildete Superoxid mit Stickstoffmonoxid (NO) als zentrales Molekül der Vasodilatation [15] zum hochtoxischen Peroxynitrit (ONOO<sup>-</sup>) [64] und vermindert somit die Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid [8]. Außerdem führt die Bindung von Ang II an den AT<sub>1</sub>-Rezeptor dazu, dass die Phospholipase C aktiviert wird und dadurch Inositoltriphosphat (IP<sub>3</sub>) und Diacylglycerol (DAG) produziert werden, welche beide verschiedene Proteinkinasen (z. B. die Myosin-leichte-Ketten-Kinase und die Rho-Kinase) aktivieren, was zur Kontraktion der glatten Muskulatur führt [65]. Somit hemmt Ang II nicht nur die Vasodilatation, sondern ist auch ein hochpotenter Vasokonstriktor, was folglich zu einem Blutdruckanstieg und einer gesteigerten Durchblutung in verschiedenen Organen einschließlich der Niere zur Aufrechthaltung der glomerulären Filtrationsrate führt. Abbildung 9 zeigt schematisch die Signalkaskade der Wirkung von Ang II in Blutgefäßen, welche unter anderem die Hemmung der Vasodilatation in der glatten Muskulatur zur Folge hat.

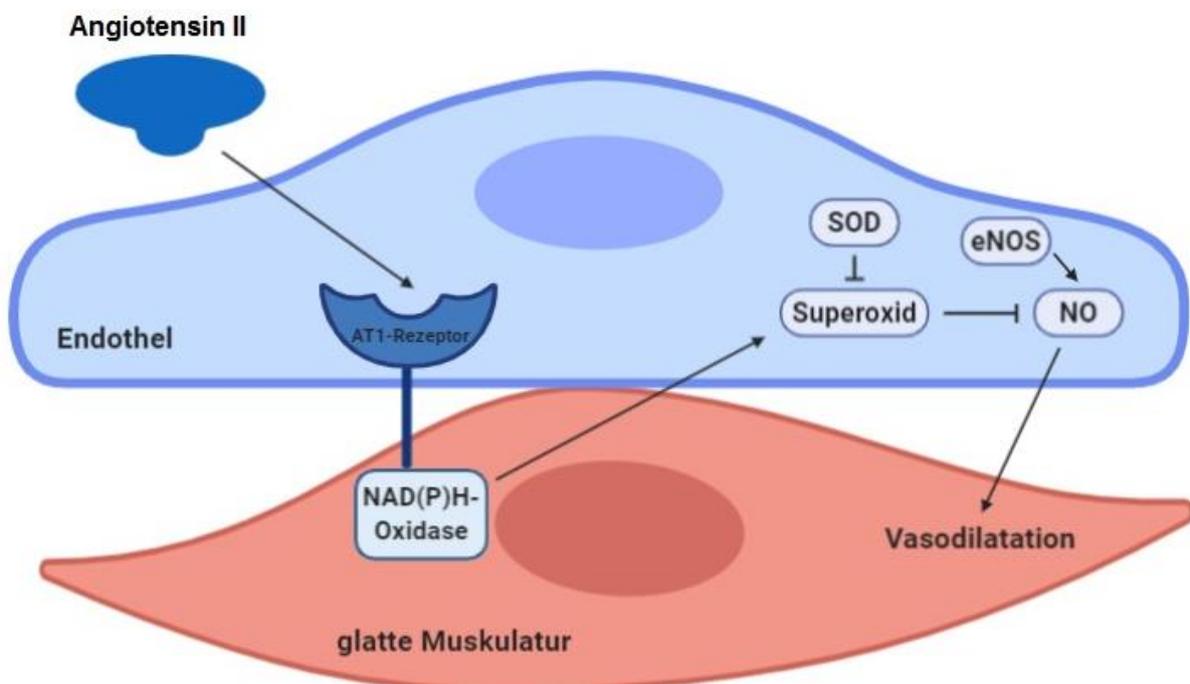


Abbildung 9: Vereinfachte schematische Darstellung der Signalkaskade der Wirkung von Angiotensin II auf Endothel (blau) und glatte Muskulatur (rot) in den Blutgefäßen [66]; ACE = *angiotensin converting enzyme*, SOD = Superoxid-Dismutase, eNOS = endotheliale NO-Synthase, NO = Stickstoffmonoxid

Zudem vermittelt Ang II eine vermehrte Ausschüttung des Steroidhormons Aldosteron aus der Nebennierenrinde, was wiederum die Rückresorption von Natrium- und Chloridionen sowie die Ausscheidung von Kaliumionen und Protonen im Tubulussystem der Niere fördert. Als Konsequenz kommt es osmotisch zu einer erhöhten Aufnahme von Wasser, was das Volumen des Blutes zusätzlich und folgend den arteriellen Blutdruck erhöht. Daneben wird durch die Wirkung von Ang II zusätzlich auch der Hypophysenhinterlappen, die sogenannte Neurohypophyse, stimuliert vermehrt das antidiuretische Hormon (ADH oder auch Vasopressin) freizusetzen, was gleichermaßen eine gesteigerte Wasserrückresorption durch den Einbau von Aquaporinen in die Sammelrohre der Niere zur Folge hat und vom zuvor beschriebenen Mechanismus unabhängig auch zu einer Vasokonstriktion führt. Zentral löst die Bindung von Ang II an die AT<sub>1</sub>-Rezeptoren im Hypothalamus „Durstgefühl“ und „Salzappetit“ aus. Neben dem AT<sub>1</sub>-Rezeptor, kann Ang II auch an den AT<sub>2</sub>-Rezeptor binden, welcher die Effekte des AT<sub>1</sub>-Rezeptors in einer Art negativem Feedback-Mechanismus wiederum eher antagonisiert [67]. Es konnte nachgewiesen werden, dass die selektive Stimulation des AT<sub>2</sub>-Rezeptors die NO-Freisetzung in der Schleimhaut des Jejunums von Schweinen fördert [68]. In Mikrogefäßen konnte gezeigt werden, dass die Stimulation des AT<sub>2</sub>-Rezeptors zu einer Senkung des Blutdrucks führt, sofern der AT<sub>1</sub>-Rezeptor blockiert wird [69]. Pharmakologisch konnten in der Therapie der arteriellen Hypertonie ACE-Hemmer (z. B. Ramipril) und selektive AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten (z. B. Candesartan) etabliert werden, welche an zwei Hauptpunkten in diesen Kreislauf eingreifen und somit den arteriellen Blutdruck senken. Abgebaut wird Ang II durch Aminopeptidasen über die weniger aktiven Zwischenprodukte Angiotensin III und IV schließlich zu inaktiven Stoffwechselprodukten.

### **2.4.1 Angiotensin II-induzierter oxidativer Stress**

Es ist genau erforscht, dass Ang II eine kritische Rolle in Bezug auf das Hervorrufen von oxidativem Stress im Gefäßsystem spielt: Es konnte gezeigt werden, dass Ang II für die Bildung von Sauerstoffradikalen in Hirnarterien von Mäusen [11, 70, 71] und Ratten [72] sowie somit für die Veränderung der vasomotorischen Funktion, eine beeinträchtigte neurovaskuläre Kopplung, Entzündung und vaskuläres *Remodelling* verantwortlich ist [8]. Oxidativer Stress trägt allgemein zur Pathogenese von kardiovaskulären Erkrankungen bei [73] und ist charakterisiert als ein zelluläres Milieu, wo die Erzeugung von endogenen Antioxidantien (wie z. B. SOD, Glutathion-

Peroxidase, Katalase, Thioredoxin, antioxidative Vitamine [74]) zu Gunsten der Erzeugung von Sauerstoffradikalen verschoben ist. Hingegen sind unter physiologischen Bedingungen die Produktion von ROS und deren Beseitigung ausbalanciert. Alle Zelltypen des Gefäßsystems, also Endothelzellen, glatte Muskelzellen, Fibroblasten der Adventitia [75] und Makrophagen/neutrophile Granulozyten [76], produzieren Sauerstoffradikale [77]. Letztere verwenden die erzeugten Sauerstoffradikale für die intrazelluläre Verdauung von phagozytierten Fremdkörpern beziehungsweise Krankheitserregern. Die besondere Rolle dieses sogenannten oxidativen *Bursts* wird unterstrichen, wenn man sich mit der Erkrankungen der septischen Granulomatose beschäftigt [78]. Hierbei ist die Funktion der NADPH-Oxidase in den neutrophilen Granulozyten gestört, was zur Folge hat, dass sich bestimmte Bakterien und Pilze ungehindert ausbreiten und Granulome in verschiedenen Organen bilden können. Unbehandelt führt dieses Krankheitsbild schnell zum Tod. Oxidativer Stress ist in der Pathogenese von vielen Erkrankungen wie z. B. Hypertonie, Hypercholesterinämie, Atherosklerose, Diabetes, Schlaganfall und Morbus Alzheimer beteiligt [8]. Darüber hinaus trägt oxidativer Stress zu Entzündungen sowie Schäden an Proteinen, DNA und anderen Makromolekülen bei. Obwohl ein erhöhtes Level an Sauerstoffradikalen zu Schäden im Gefäßsystem und zu vaskulärer Dysfunktion führt, wurde beschrieben, dass niedrige Level auch förderliche Effekte auf das Gefäßsystem im Gehirn haben und gerade dort als Vasodilatoren unter physiologischen Bedingungen fungieren können [79]. Verschiedene Enzyme, die im Gefäßsystem vorkommen, können ROS bilden – entweder als Nebenprodukt ihrer normalen Enzymaktivität oder wenn sich das Enzym in einem fehlerhaften Zustand befindet. Die NADPH-Oxidasen (Nox) sind die einzige Enzymfamilie, von denen man weiß, dass deren Hauptprodukt ROS ist als physiologisches Signalmolekül [80]. Es existieren nach aktuellem Forschungsstand 7 Isoenzyme: Nox1 – 5 sowie duale Oxidasen (DUOX1 und DUOX2). Davon werden Nox1, Nox2, Nox4 und Nox5 im Gefäßsystem exprimiert. Im Gefäßsystem des Hirns konnten lediglich Nox1, Nox2 und Nox4 nachgewiesen werden [81]. Über Nox5 hingegen ist nicht viel bekannt. Ebenso ist unser aktuelles Verständnis bezüglich DUOX1/2 stark begrenzt. Nox1 [71] und Nox2 [11, 70] tragen beide zu Ang II-induziertem oxidativen Stress in Hirnarterien bei. In Arterien von Nox1-Knockout-Mäusen konnten keine AT<sub>1</sub>-Rezeptoren in der Zellmembran nachgewiesen werden, was andeutet, dass Nox1-abhängige Sauerstoffradikale die Expression von AT<sub>1</sub>-

Rezeptoren an der Zelloberfläche regulieren könnten [82]. Die NADPH-Oxidasen werden neben Ang II von vasoaktiven Substanzen (wie Endothelin 1, Thrombin oder Serotonin), von Zytokinen (wie Interleukin 1, dem Tumornekrosefaktor- $\alpha$ ), von Wachstumsfaktoren oder mechanischen Kräften (wie Schubspannung und zyklische Dehnung) reguliert [59]. Auch im Herzen besteht der Hauptmechanismus im Hervorrufen von ROS in der Aktivierung der Nox, welche durch Bindung von Ang II an den AT1-Rezeptor über die Proteinkinase C stimuliert wird [53]. Über die entstehenden ROS wird mitochondriale Dysfunktion über das Herunterregulieren von Sirtuin-3 induziert wie es in Abbildung 10 schematisch dargestellt ist.

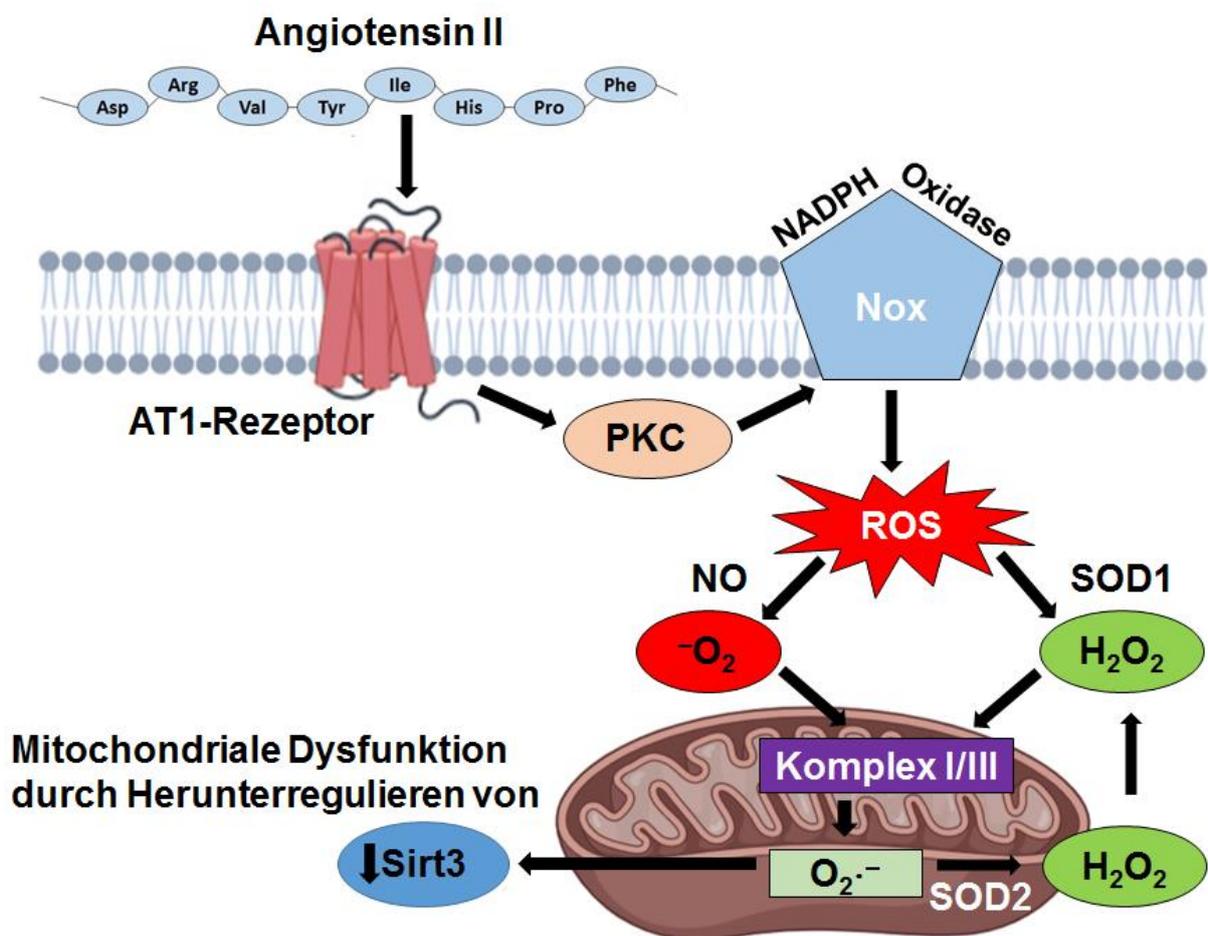


Abbildung 10: Schematische Darstellung zur Wirkung von Ang II am AT1-Rezeptor in Zellen des Herzens [53]; PKC = Proteinkinase C, ROS = reaktive Sauerstoffspezies, NO = Stickstoffmonoxid, SOD1/2 = Superoxid-Dismutase-1/2, Sirt3 = Sirtuin-3

## 2.5 Proteomik

### 2.5.1 Massenspektrometrie-basierende Proteomik

Die Erforschung der Gesamtheit aller Proteine in einem bestimmten Gewebe oder in einer bestimmten Körperflüssigkeit unter standardisierten Bedingungen wird unter dem Begriff „Proteomik“ zusammengefasst [83] und ist in den letzten Jahren zunehmend wichtiger für das Verständnis von Erkrankungen geworden [84]. Im Gegensatz zum Genom, welches statisch unverändert bleibt, verändert sich das Proteom beispielsweise durch krankhafte Zustände oder Medikamente fortlaufend und reflektiert den tatsächlichen physiologischen Status eines Gewebes [85]. Durch das Aufzeichnen dieses dynamischen Prozesses können entscheidende Hinweise auf involvierte Signalwege gewonnen werden. Zur Identifikation der Proteine werden heutzutage hauptsächlich Methoden verwendet die auf Massenspektrometrie (MS) basieren. So können Proteine oder auch andere Makromoleküle in Laborproben durch die Analyse der Masse einzelner Ionen in einem Ionengas identifiziert und quantifiziert werden. Bei der *Discovery*-Proteomik soll die größtmögliche Anzahl von Proteinen identifiziert werden. Beim anschließenden Vergleich von Kontroll- zu Krankheitsgruppen können erste Hinweise auf Signalmoleküle als mögliche Biomarker gewonnen werden. Mit der *Targeted*-Proteomik können gezielt Proteine gegebenenfalls als Markermoleküle identifiziert werden. Ein massenspektrometrisches System benötigt eine Ionenquelle zum Ionisieren der zu untersuchenden Proben, einen Analysator zur Auftrennung der Ionen entsprechend ihres Masse-Ladungs-Verhältnisses ( $m/z$ ) und einen Detektor, welcher Informationen über die Intensität der Ionen liefert [86]. Zur Ionenerzeugung kann zum Beispiel das Verfahren der Matrix-assistierten Laser-Desorption-Ionisierung (MALDI) [87] zum Einsatz kommen. Dieses Verfahren wird häufig mit der Flugzeitanalyse (*time of flight*, TOF) freigesetzter Ionen kombiniert. Die Probe wird hierfür mit einer Matrixlösung gemischt und auf einem Träger fixiert. Danach werden die Moleküle mit Hilfe eines Pulslasers als heißes Gas aus der Probe gelöst, was auch als Desorption bezeichnet wird. Schließlich werden die herausgelösten Moleküle durch Abgabe von Protonen ionisiert [88]. Die Ionen werden anschließend in einem Massenspektrometer durch ein elektrisches Feld in einem Vakuum beschleunigt und ihre Flugzeit bestimmt. Diese ist proportional zum Verhältnis von Masse zu Ladung ( $m/z$ ) [89]. In dieser Studie wurde das LTQ-Orbitrap-XL™-System mit Elektrospray-Ionisation (ESI) als Ionenquelle verwendet, welches sich besonders durch hohe Sensitivität, Messgenauigkeit und

Auflösungsvermögen hervorhebt. Wie in Abbildung 11 schematisch gezeigt, wandern die von der Ionenquelle erzeugten Ionen hierbei zuerst in die Ionenfalle, die sogenannte C-Trap, in der sie durch elektromagnetische Felder entweder festgehalten oder durchgelassen werden. Danach gelangen sie nacheinander gebündelt in die Orbitrap, wo die Ionen um eine spindelförmige Elektrode eingefangen werden [90]. Innerhalb des elektromagnetischen Feldes oszillieren sie auf einer Umlaufbahn. Durch Aufzeichnung ihrer Frequenz kann nun der  $m/z$ -Wert ermittelt werden [90, 91]. Dieses System verwendet zwei Analysatoren hintereinander, was dann als Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) bezeichnet wird. Dadurch können zusätzliche Daten gewonnen werden, die bei Verwendung eines einzigen Analysators verloren gegangen wären. Es existieren zwei unterschiedliche Ansätze bei der Proteinidentifikation: Mit der *bottom-up* Methode werden die Proteine vor der MS-Analyse gelelektrophoretisch aufgetrennt und beispielsweise mit Trypsin verdaut. Meist ist dieses Verfahren mit einer Flüssigkeitschromatographie (LC) kombiniert, welche die verdauten Proteine nochmal auftrennt, bevor sie im MS-System analysiert werden [92]. Bei der *top-down* Methode hingegen werden Proteine analysiert, ohne sie vorher chemisch aufzutrennen [93]. Die gewonnen MS/MS-Spektren werden im nachfolgenden Schritt mit bereits bekannten Proteinsequenz-Datenbanken abgeglichen. Die Proteinidentifikation ist also dahingehend limitiert, dass solche Datenbanken umfassend vorhanden sein müssen [86]. Dennoch stellt die Kombination von ESI, LC und MS/MS-System ein sehr gut anwendbares Verfahren in der *Discovery*-Proteomik dar, weil komplexe biologische Proteingemisch-Proben mit überschaubarem Zeitaufwand und gleichzeitig hoher Effizienz gerade durch die vorige Fraktionierung durch das LC-Verfahren analysiert werden können.

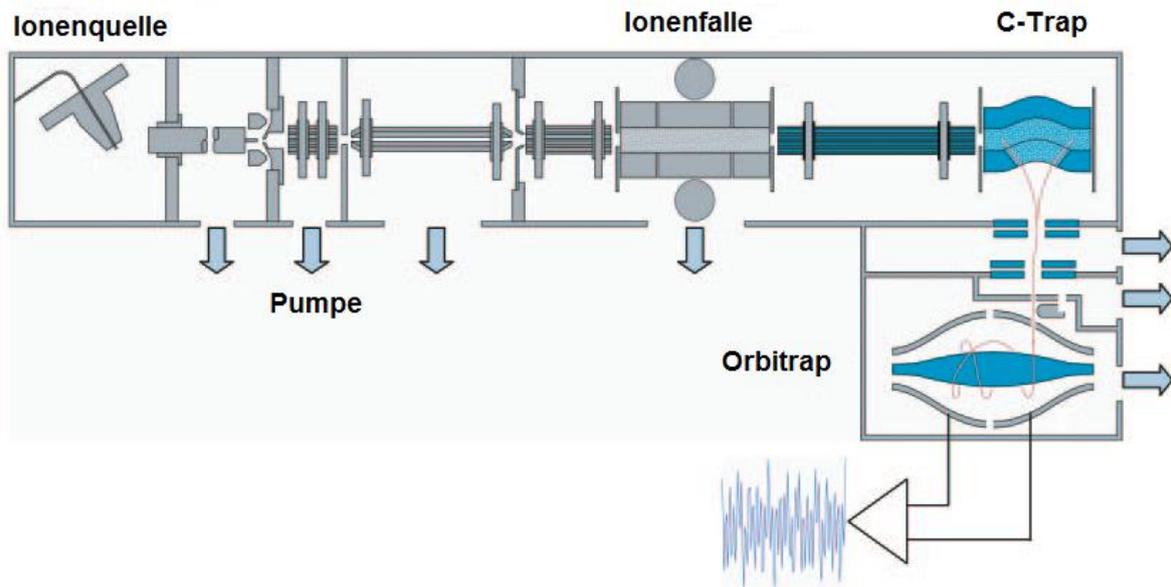


Abbildung 11: Schematischer Aufbau des in der Studie verwendeten LTQ-Orbitrap-XL™-Systems von Thermo Fisher Scientific Inc. [94]

### 2.5.2 Proteomische Analysen der Retina

Zur Analyse von retinalem Gewebe fanden zunächst Verfahren basierend auf der Microarray-Technik Anwendung [95]. Hierbei wird eine interessierende mRNA einer Probe auf einen Glaträger, auf welchem sich eine bekannte DNA-Sequenz befindet, aufgebracht. Diese ist wiederum mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert und bindet komplementär an bestimmte DNA-Sequenzen, was über die Intensität der Fluoreszenz messbar ist. So können relative Änderungen der Genexpression nachgewiesen werden. Allerdings können durch die Expression eines einzelnen Gens über posttranslationale Modifikationen häufig mehrere unterschiedliche Proteine entstehen [96]. Zur genauen Charakterisierung der Proteine eines Gewebes haben in den letzten Jahren Verfahren, die auf Massenspektrometrie basieren, zunehmend an Bedeutung gewonnen [84] und konnten die retinale Gewebsanalyse revolutionieren. Im Gegensatz zur Ionisation durch MALDI besteht der große Vorteil der ESI-Ionisation in der Kopplung an ein LC-System. So können nun auch komplexere Gewebeproben analysiert werden, die zunächst durch ein LC aufgereinigt werden müssen. Tabelle 1 zeigt ausgewählte Studien, die das Proteom der Retina verschiedener Spezies unter unterschiedlichen Bedingungen bzw. Krankheitsmodellen charakterisiert haben. 2012 konnten Kim et al. mit Hilfe von nano-LC-ESI-Tandem-Massenspektrometrie 1074 Proteine an einem Mausmodell der Sauerstoff-induzierten Retinopathie nachweisen

und in einem Folgeversuch, der auf einer *Targeted*-Proteomikstrategie basierte, sogar validieren [97]. In einem ähnlichen Modell, allerdings an der Ratte, konnten Tu et al. 2015 durch nano-LC-Massenspektrometrie 1325 Netzhautproteine identifizieren [98]. Die 32 signifikant unterschiedlich exprimierten Proteine wurden anschließend durch Western Blot validiert. 2013 gelang Skeie et al. durch LC-Tandem-Massenspektrometrie der Nachweis von 1680 Proteinen in der Retina der Maus [99]. In dieser Studie wurde vor allen Dingen die Interaktion zwischen Retina und dem Glaskörper näher beleuchtet. Hervorzuheben ist, dass sich generell viele Studien mit der diabetischen Retinopathie als gefürchtete Komplikation eines entgleisten Diabetes mellitus beschäftigen. So wurden in einem Diabetes Typ 2-Mausmodell von Zhang et al. 2013, bei dem der Effekt des Glykosids Phlorizin auf das Proteom der Retina der Maus untersucht wurde, 1636 Retinaproteine durch LC-Tandem-Massenspektrometrie nachgewiesen [100]. 2014 wurden von Ly et al. in einem ähnlichen Diabetes Typ 2-Mausmodell, allerdings unter genauer Betrachtung des Effekts des oralen Antidiabetikums Metformin, 844 retinale Proteine identifiziert [101]. Schließlich unterstrichen Saddala et al. 2018 die besondere Rolle des PIGF (*placental growth factor*) im Hervorrufen der diabetischen Retinopathie, indem 794 Retinaproteine [102] proteomisch nachgewiesen wurden. Die Anzahl an Tier-Glaukommodellen, welche mit MS-basierender Forschung untersucht wurden, ist stark begrenzt. Vor allen Dingen sind gerade proteomische Studien, die menschliche Netzhautproben untersuchen, extrem selten. Vor dieser Studie konnten lediglich Funke et al. 2016 mehr als 600 glaukomatöse Netzhautproteine am Menschen identifizieren [103]. Anschließend wurden die potentiellen Glaukom-Biomarker ANT3, DFS70 und MeCp2 über AIMS (*Accurate Inclusion Mass Screening*) validiert und immunhistochemisch angefärbt. 2017 wiesen Anders et al. 931 Proteine der Retina an Ratten nach, deren episkleralen Venen durch Kautern verschlossen wurden, um den intraokulären Druck im Sinne eines Glaukommodells zu erhöhen. Außerdem konnten durch Anfärben morphologische Unterschiede des Nervus opticus auf Zelllevel ausgemacht werden [104]. Akt und Mapk1 sowie die Proteine des NF- $\kappa$ B-Komplexes konnten als mögliche Biomarker in der Früherkennung des Glaukoms benannt werden. Alle Glaukommodelle sind in Tabelle 1 hervorgehoben und fettgedruckt.

## Literaturdiskussion

Tabelle 1: Übersicht der Ergebnisse verschiedener Studien bezüglich der proteomischen Analyse der Retina

Gruppe	Spezies, Modell	MS-System	Identifizierte Schlüsselproteine	Identifizierte Proteine	Unterschiedlich exprimierte Proteine
Kim et al. 2012 [97]	Maus, Sauerstoff-induzierte Retinopathie	LTQ Velos	keine Angabe	1074	77
Skeie et al. 2013 [99]	Maus	LTQ Velos	keine Angabe	1680	951
Zhang et al. 2013 [100]	Maus, diabetische Retinopathie	LTQ Velos	keine Angabe	1636	348
Ly et al. 2014 [101]	Maus, diabetische Retinopathie	LTQ Velos	VGLUT1	844	98
Tu et al. 2015 [98]	Ratte, Sauerstoff-induzierte Retinopathie	LTQ/Orbitrap XL-ETD	Stat1, GFAP	1325	32
<b>Funke et al. 2016 [103]</b>	<b>Mensch, Glaukom</b>	<b>LTQ Orbitrap XL</b>	<b>ANT3, DFS70, MeCp2</b>	<b>Mehr als 600</b>	<b>keine Angabe</b>
<b>Anders et al. 2017 [104]</b>	<b>Ratte, Glaukom</b>	<b>LTQ Orbitrap XL</b>	<b>Akt, Mapk1</b>	<b>931</b>	<b>32</b>
Saddala et al. 2018 [102]	Maus, diabetische Retinopathie	Q-Exactive hybrid Quadrupole-Orbitrap	Gnb1, Gnb2, Gnb4, Gnai2, Gnao1, Snap2, Gngt1	794	31
<b>Diese Studie</b>	<b>Maus, Normaldruck-glaukom</b>	<b>LTQ Orbitrap XL</b>	<b>Cryab, Crybb2, Cryaa</b>	<b>985</b>	<b>107</b>

### 2.5.3 Proteomische Analysen von Blutgefäßen

Nur eine limitierte, überschaubare Anzahl von Studien hat sich bisher mit dem Proteom von Arterien beschäftigt. Badhwar et al. konnten 2014 als Erstes die Arterien des Circulus arteriosus Willisii und dessen Äste im Hirn von Mäusen charakterisieren [105]. Durch die Kombination eines gelfreien und gelbasierten Versuchsansatzes konnten mit Hilfe von nano-LC-ESI-Tandem-Massenspektrometrie insgesamt 2188 Proteine

## Literaturdiskussion

proteomisch identifiziert werden. Manicam et al. folgten 2016 mit der ersten proteomischen Charakterisierung von Arterien eines Gefäßbetts innerhalb des Auges. Es konnte das Proteom der kurzen hinteren Ziliararterien von Schweinen mit einer *Discovery*-Proteomikstrategie charakterisiert werden [106]. Diese stellen den Hauptanteil des Blutes für den Sehnervkopf bereit. Obwohl die funktionelle Relevanz dieses Gefäßbettes, insbesondere in Bezug auf die Pathogenese des NTG und NAION, gut bekannt ist, war dies die erste Studie, die das Proteom der kurzen hinteren Ziliararterien von Schweinen genau aufschlüsselte. Es wurde erstmals ein Eindruck der komplexen Proteinlandschaft dieses Gefäßbettes unter normalen physiologischen Bedingungen gewonnen. Insgesamt wurden 1742 Proteine und 10527 Peptide identifiziert.

Dementsprechend ist diese Studie die erste, welche das Proteom der Arteria Ophthalmica von Mäusen im Rahmen eines Normaldruckglaukom-Modells charakterisiert. Tabelle 2 zeigt die Anzahl an insgesamt identifizierten Proteinen der jeweiligen Studien, die sich mit der proteomischen Analyse von Arterien mittels Massenspektrometrie beschäftigt haben. Die Ergebnisse bieten die Möglichkeit in Zukunft viele weitere Studien zu etablieren, so z. B. auf *Targeted*-Proteomikstrategien basierende Studien, um die komplexen Prozesse des Glaukoms näher und eingehender zu verstehen.

Tabelle 2: Übersicht der Ergebnisse verschiedener Studien bezüglich der proteomischen Analyse von Arterien

<b>Gruppe</b>	<b>Spezies, Modell</b>	<b>MS-System</b>	<b>Identifizierte Schlüsselproteine</b>	<b>Identifizierte Proteine</b>	<b>Unterschiedlich exprimierte Proteine</b>
Badhwar et al. 2014 [105]	Maus, Hirnarterien	LTQ Orbitrap XL	keine Angabe	2188	keine Angabe
Manicam et al. 2016 [106]	Schwein, kurze hintere Ziliararterien	LTQ Orbitrap XL	keine Angabe	1742	keine Angabe
Diese Studie	Maus, Arteria Ophthalmica	LTQ Orbitrap XL	Sept7, Sod1, Tnnt2, Tnnt3, Tpm3	592	34

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Geräte, Verbrauchsmaterial, Chemikalien und Software

##### 3.1.1 Geräte

BBY24M Bullet Blender Storm	Next Advance Inc., Averill Park, NY, USA
Bioanalyser	Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA
BioBasic C18 column	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
BioBasic Phenyl column	Phenomenex, Torrance, CA, USA
Biofuge primo R	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
Concentrator 5301	Eppendorf, Hamburg, Germany
ESI-LTQ-Orbitrap-XL MS	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
Heizblock KTMR133	Haep Labor Consult, Bovenden, Germany
HTS PAL Autosampler	CTC Analytics AG, Zwingen, Switzerland
Intelli Mixer	neoLab, Heidelberg, Germany
Jupiter C4 column	Phenomenex, Torrance, CA, USA
Labsonic M	Sartorius Labortechnik AG, Göttingen, Germany
Mikroskop	Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany
Multiskan Ascent V1.24	MTX Lab Systems Inc., Bradenton, FL, USA
Perfection V600 Photo Scanner	Seiko Epson Corporation, Suwa, Nagano, Japan
Rheos Allegro Pump	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
StepOnePlus qPCR-Gerät	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
Sonorex RK31	Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Germany

### 3.1.2 Verbrauchsmaterial

Abdeckfolie PCR, selbstklebend, PP	Ratiolab GmbH, Dreieich, Germany
Amicon Ultra-0.5 Centrifugal Filter Devices	Merck KGaA, Darmstadt, Germany
C18 ZipTip® Pipette Tips	Merck Millipore, Merck KGaA, Darmstadt, Germany
Cellstar 96 Well Cell Culture Plate, v-bottom	Greiner bio-one, Frickenhausen, Germany
Costar 3595 96 well cell culture cluster	Corning Inc., Corning, NY, USA
Eppendorf 0,5, 1,5, 2,0 ml Mikroreaktionsgefäße	Eppendorf, Hamburg, Germany
Eppendorf Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg, Germany
NuPAGE 4 - 12 % Bis-Tris Gel, 10 Wells	Novex, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
Parafilm M Laboratory Film	Bemis Company, Neenah, WI, USA
Phase Lock Gel-Heavy tubes	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
PP-Röhrchen, 15 ml	Greiner bio-one, Frickenhausen, Germany
Sempercare® examination gloves nitrile Latex-Free Powder-Free	Sempermed, Semperit AG, Wien, Österreich
ZrOB10 1,0 mm und ZrOB05 0,5 mm Zirconium Oxide Beads	Next Advance Inc., Averill Park, NY, USA

### 3.1.3 Chemikalien

Acetonitril (ACN) für LC-MS grade	AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany
Ameisensäure für LC-MS grade	AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany
Ammoniumbicarbonat	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany
Angiotensin II human	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany
Dulbecco's modified Eagle's medium without phenol red	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany
Essigsäure	Carl Roth GmbH & CoKG, Karlsruhe, Germany

## Material und Methoden

Krebs-Henseleit (K-H)-Puffer	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Germany
Methanol für LC-MS	AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany
NuPAGE Antioxidant	Novex , Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
NuPAGE Colloidal Blue Staining Kit (Stainer A, Stainer B)	Novex , Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
NuPAGE LDS Sample Buffer (4x)	Novex , Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
NuPAGE MES-buffer	Novex , Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
NuPAGE MOPS-buffer	Novex , Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
NuPAGE Reducing Agent (10x)	Novex , Life Technologies, Carlsbad, CA, USA
Penicillin Streptomycin (Pen-Strep)	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
Pierce BCA-Protein Assay Kit	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
PrimeScript™ RT Master Mix	Takara Bio Inc., Japan
Qubit®	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
RNeasy Kit	Qiagen Bioinformatics, QIAGEN N.V., Venlo, Netherlands
Seebule Plus2 Prestained Standard	Invitrogen AG, Carlsbad, CA, USA
Sequencing Grade Modified Trypsin	Promega Corporation, Madison, WI, USA
SYBR® Green PCR Master Mix	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA USA
Tissue protein extraction reagent (T-PER)	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA USA
Trifluoressigsäure (TFA)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany
TRizol®	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
Wasser für LC-MS grade	AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany
Wasser für HPLC	AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany

### 3.1.4 Software

Endnote X9	Thomson Reuters, New York City, NY, USA
Ingenuity Pathway Analysis (IPA)	Qiagen Bioinformatics, QIAGEN N.V., Venlo, Netherlands
MaxQuant 1.6.1.0	Max Planck Institute of Biochemistry (Cox und Mann 2008)
Microsoft® Excel 2016	Microsoft Cooperation ©, Redmond, WA, USA
Microsoft® Word 2016	Microsoft Cooperation ©, Redmond, WA, USA
Perseus 1.6.2.3	Max Planck Institute of Biochemistry (Cox und Mann 2012)
Proteome Discoverer 1.1.0.263	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA
Prism 5	GraphPad Software Inc., CA, USA
Statistica 13	StatSoft, Tulsa, OK, USA

### 3.2 Versuchstiere

Die Experimente wurden entsprechend der Erklärung der *Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)* über den Umgang mit Versuchstieren in der ophthalmologischen Forschung und entsprechend den Richtlinien des Instituts sowie der EU-Direktive 2010/63/EU für Tierversuche durchgeführt. Die Studie wurde vom *Translational Animal Research Centre (TARC)* der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz genehmigt. Der Einsatz der Tiere in diesem Experiment war stets im Einklang mit dem 3R-Prinzip (*replacement, reduction, refinement*). Fünfzehn männliche Mäuse (C57B1/6J) aus dem Jackson-Labor (Bar Harbour, ME, USA), die unter standardisierten Bedingungen (12 Stunden Zyklus von Licht/Dunkelheit, Temperatur  $23 \pm 2$  °C, Luftfeuchtigkeit  $55 \pm 10\%$  sowie ad Libitum-Bereitstellung von Wasser und Standardmausfutter) gehalten wurden und ungefähr 3 – 5 Monate alt waren, wurden über die Inhalation von Kohlenstoffdioxid getötet. Das Gas strömte ohne Geräusch in den Käfig ein, um die Tiere nicht zu ängstigen. Der Tod wurde stets durch Kontrolle des Herzstillstandes bestätigt. Danach wurde das Tier umgehend dekapitiert und die Augen mitsamt Nervus opticus und extraokulären Geweben enukleiert.

### 3.3 Vorgehensweise der proteomischen Experimente

#### 3.3.1 Probenvorbereitung

Unter dem Mikroskop wurde zunächst die Arteria Ophthalmica in kaltem Krebs-Henseleit-Puffer bei einem pH-Wert von 7,4 (mit Komposition folgender Ionen in mM: 118,3 NaCl, 4,7 KCl, 2,5 CaCl<sub>2</sub>, 1,2 MgSO<sub>4</sub>, 1,2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub> und 11 Glukose) unter Verwendung von mikrochirurgischen Pinzetten (*Extra Fine-Tipped Type 5 Precision Tweezer*) präpariert und von Bindegewebe und Muskulatur getrennt. Es wurde besonders darauf geachtet, die Blutgefäße und retinalen Gewebe während der Isolierung weder zu quetschen noch in irgendeiner anderen Form zu schädigen. Danach wurden die isolierten Blutgefäße behutsam mit kaltem PBS abgespült, um Verunreinigungen von Blut zu beseitigen. Mithilfe einer Kanüle wurde ein kleines Loch in die Cornea der Augen gestochen, welches durch eine mikrochirurgische Schere (*Vannas Capsulotomy Scissor*) vergrößert wurde. Durch vorsichtiges Zupfen mit der Pinzette konnten zunächst Linse und Glaskörper entfernt werden und schließlich die Retina von den umgebenden anderen intraokulären Augenanteilen isoliert werden. Alle 20 bis 30 Minuten wurde der Krebs-Henseleit-Puffer durch frischen kalten Puffer ausgetauscht, um zu gewährleisten, dass das Gewebe ausreichend gekühlt wird. Retina und Arteria Ophthalmica von jeweils fünf Mäusen wurden gepoolt, was einem biologischen Replikat entspricht. Es wurden dementsprechend insgesamt drei biologische Replikate in dieser Studie verwendet. Die Proben wurden in ihrer Menge halbiert und somit in 2 Gruppen eingeteilt: die ANG-Gruppe wurde für 22 Stunden bei 37 °C in einem Medium bestehend aus DMEM ohne Phenolrot (1,6 ml), 120 U/ml Penicillin (100 µl), 10 mg/ml Streptomycin (100 µl) und 0,1 µM Angiotensin II-Lösung (200 µl) inkubiert. Über den gleichen Zeitraum wurde die CTRL-Gruppe inkubiert, allerdings wurde in deren Medium die Angiotensin II-Lösung durch 200 µl Wasser ersetzt. Verwendet wurden *6-well cell culture plates*. Abbildung 12 zeigt schematisch die Aufteilung der Replikate in die beiden Gruppen. Die Methode der in vitro-Inkubation von Gefäßen mit Angiotensin II entspricht grundsätzlich Didion et al [13] mit leichten Modifikationen.

## Material und Methoden

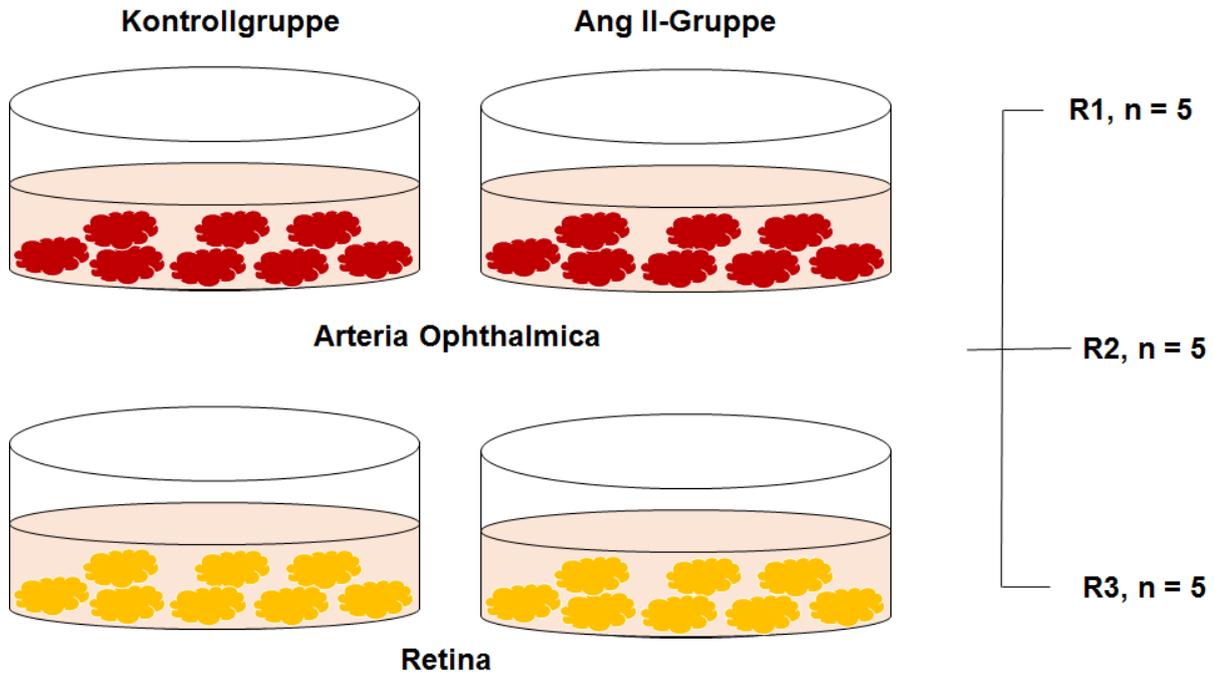


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Einteilung der Proben in die zwei Gruppen

Nach der Inkubation wurden die Proben entsprechend der Gruppeneinteilung in 2 ml Mikroreaktionsgefäße überführt, in welche 200  $\mu$ l T-PER sowie eine Mischung aus 0,5 mm und 1,0 mm Zirkoniumoxid-Beads hinzugefügt wurden. Mithilfe des BBY24M Bullet Blenders Storm wurden die Proben homogenisiert. Während des Homogenisierungsvorganges wurden die Proben immer wieder im Eis kalt gehalten, um die Proteindenaturierung zu minimieren. Abbildung 13 zeigt schematisch den Laborschritt des Homogenisierens. Diese Proteinextraktion entspricht einer von Manicam et al etablierten Methode gezielt für kleine Blutgefäße [106, 107].

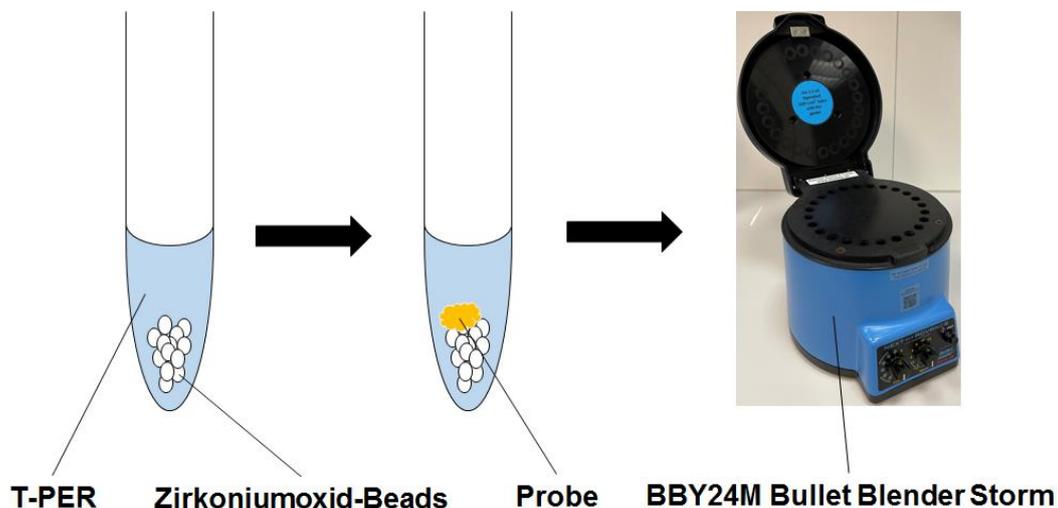


Abbildung 13: Schematische Darstellung des Homogenisierungsvorgangs mit Hilfe des BBY24M Bullet Blenders Storm

## Material und Methoden

Die homogenisierten Proben wurden dann für 20 Minuten bei 10000 x g und 4 °C zentrifugiert. Dadurch lagerten sich alle unlöslichen Proteine als Pellet zusammen und konnten vom flüssigen Überstand (*supernatant*), der alle löslichen Proteine enthielt, getrennt werden. Der Überstand wurde in *Amicon Ultra-0.5 Centrifugal Filter Devices* überführt und in 4 Zyklen für jeweils 15 Minuten bei 14000 x g und 4 °C zentrifugiert, um alle Moleküle unter 3 kDa aus den Proben zu entfernen (*desalting* und *buffer exchange*), um diese also aufzureinigen. Die Proteinkonzentration des entstandenen Eluats wurde über das *BCA Protein Assay Kit* und die Messung der Absorption bei 562 nm mit dem *Multiskan Ascent V1.24* bestimmt.

### 3.3.2 Eindimensionale Gelelektrophorese (1DE)

Im Gegensatz zu Körperflüssigkeiten, wie zum Beispiel Tränen oder Kammerwasser, bestehen Gewebeproben aus einer noch komplexeren Proteinzusammensetzung. Um Proteine in einem Gemisch ihrer Größe nach aufzutrennen, wurde das Verfahren der eindimensionalen Gelelektrophorese entwickelt. Dabei werden die Proteine zunächst durch Natriumdodecylsulfat (SDS) denaturiert und laufen danach in einem Polyacrylamid-Gel, welches unter einer elektrischen Spannung steht, entsprechend ihrer Masse unterschiedlich weit. Ein Gemisch aus *NuPAGE LDS Sample Buffer (4x)*, *NuPAGE Reducing Agent (10x)* und 50 µg von der jeweiligen Probe wurden im Heizblock KTM133 für 15 Minuten bei 80 °C erhitzt. Zur Herstellung des Laufpuffers wurden 50 ml *NuPAGE MES-buffer* und 950 ml VE-Wasser gemischt. Dabei wurden 600 ml in die äußere Gelkammer (Anode) und 200 ml in die innere (Kathode) gegeben. Danach konnte das erhitzte Gemisch in die Schächte eines *10-well NuPAGE 4 - 12 % Bis-Tris Gels* pipettiert werden. Dem ersten Schacht des Gels wurden stets 10 µl des *Seebblue Plus2 Prestained Standard*, ein Protein-Marker, zugesetzt. Außerdem wurde in die innere Gelkammer 500 µl des *NuPAGE Antioxidant* hinzugegeben. Insgesamt gab es zwei Gele mit den jeweils unterschiedlichen Gewebeproben (Retina und Arteria Ophthalmica). Die Gele liefen für ca. eine Stunde konstant bei 150 V und 4 °C. Nach Herauslösen der Gele aus dem Rahmen wurden sie in eine Plastikschiene überführt und mit dem *NuPAGE Colloidal Blue Staining Kit* gefärbt. Hierfür wurde ihnen zunächst die Fixierlösung bestehend aus 40 ml H<sub>2</sub>O, 50 ml Methanol und 10 ml Essigsäure zugesetzt. Nach 10 Minuten auf dem Schüttler wurde die Fixierlösung verworfen und durch die Färbelösung bestehend aus 55 ml H<sub>2</sub>O, 20 ml Methanol und 20 ml *Stainer A* ersetzt. Nach erneuten 10 Minuten auf dem Schüttler wurden schließlich 5 ml von *Stainer B* hinzugegeben. Alles in allem wurden die Gele für ca. 15 Stunden gefärbt.

Zum Entfärben wurde die Färbelösung verworfen und die Gele immer wieder in frischem VE-Wasser inkubiert. Danach konnten sie in Folie gelegt mit dem *Epson Perfection V600 Photo Scanner* eingescannt werden.

### 3.3.3 In-Gel-Verdauung und Extraktion

Die jedem Replikat entsprechenden Gel-Lanes wurden basierend auf der Dicke und Farbtintensität der zu sehenden Banden in 20 Slices eingeteilt. Entsprechend diesem Schnittmuster wurden die einzelnen Lanes mit einem Mikrotommesser und einem Skalpell geschnitten, danach nochmal auf Würfel mit einer Größe von ca. 1 mm<sup>3</sup> zerkleinert und schließlich in 2,0 mm Eppendorf Mikroreaktionsgefäße überführt. Die Gelstückchen wurden im Großen und Ganzen basierend auf der Methode nach Shevchenko et al [108] modifiziert von Manicam et al [106, 107] verdaut. Zunächst erfolgte das Entfärben. Den Gelstücken wurden 500 µl des Entfärbungspuffers bestehend aus 100 mM (0,39 g ABC in 50 ml entionisiertem Wasser) ABC/ACN (1:1, vol/vol) zugesetzt. Direkt nach Beimischen des Puffers sowie nach weiteren 15 Minuten wurden alle Mikroreaktionsgefäße geschüttelt. Nach 30 Minuten erschienen alle Gelstücke farblos und der Entfärbungspuffer konnte aus den Gefäßen heraus pipettiert und verworfen werden. Er wurde durch 400 µl DTT-Lösung (0,06 g DTT in 40 ml entionisiertem Wasser) ersetzt. Um die Reduktion der Proben zu starten, wurden sie für 30 Minuten bei 56 °C inkubiert. Danach wurde die DTT-Lösung wieder heraus pipettiert und zum Zweck der Alkylierung durch die IAA-Lösung (0,4 g in 40 ml entionisiertem Wasser) ersetzt. Hierfür mussten die Proben 30 Minuten in absoluter Dunkelheit verbleiben. Nach erneutem Entfernen der Flüssigkeit, wurden noch einmal 500 µl ACN hinzugefügt. Durch kräftiges Schütteln der Proben schrumpften die Gelstücke und färbten sich weißlich. Nach 10 Minuten wurde auch das ACN wieder entfernt. Die Proben wurden nun für 10 Minuten an der Luft getrocknet. Danach kamen 50 µl der Trypsin-Lösung bestehend aus 1,5 ml Trypsin-Puffer (10mM ABC und 10 % (vol/ vol) ACN) und zwei Phiolen von 20 µg *Sequencing Grade Modified Trypsin* hinzu, welche die Gelstücke komplett bedeckte. Nach 30 Minuten Inkubation in 4 °C wurde sorgfältig überprüft, ob die Trypsin-Lösung von den Gelstückchen absorbiert wurde. Falls notwendig wurden 50 - 100 µl des Trypsin-Puffers hinzugefügt, sodass wirklich alle Gelstücke komplett mit Flüssigkeit bedeckt waren. Schließlich wurden alle Proben bei 37 °C für 16 Stunden inkubiert.

Am nächsten Tag erfolgte die Peptid-Extraktion. Hierfür wurde die extrahierte Peptid-Lösung aus den einzelnen Eppendorf Gefäßen in frische PCR-Tubes überführt. Der Überstand wurde mithilfe des Eppendorf *Concentrator 5301* eingedampft. Den verbliebenen Gelstücken wurden nun 100 µl Extraktions-Puffer bestehend aus 1:2 (vol/vol) von 5% Ameisensäure/ACN zugesetzt. Daraufhin wurden sie für eine Stunde bei Raumtemperatur mit dem Intelli Mixer gerüttelt. Dieser Überstand wurde danach in dieselbe PCR-Tube entsprechend den einzelnen Banden überführt und ebenfalls eingedampft. Zuletzt wurden die Proben bei -20 °C gelagert.

### 3.3.4 ZipTip-Aufbereitung

Gereinigte Proben sind für eine exakte massenspektrometrische Analyse unabdingbar. Die Reinigung der extrahierten Peptide von z. B. Natriumdodecylsulfat erfolgte bei dieser Studie mittels C18 ZipTip® Pipette Tips entsprechend der Herstelleranweisung. An die C18-Kohlenstoffketten der Pipettenspitzen können nämlich lediglich die verdauten Peptide binden. Durch Elution mit einem Lösungsmittel verbleibt die salz- und schadstofffreie Probe. Da die Proben nach der Peptid-Extraktion eingedampft wurden, mussten diese für die ZipTip-Aufbereitung zunächst wieder mit 10 µl 0,1% TFA (10 µl TFA in 10 ml entionisiertem Wasser) im mit Eis und Wasser befüllten Ultraschallbad Sonorex RK31 lösbar gemacht werden. Anschließend wurden die Proben mit einer Minizentrifuge zentrifugiert. Der erste Schritt in der Aufbereitung bestand darin die C18-Kohlenstoffketten in der Pipettenspitze mit einer 10 µl-Pipette dreimal mit 100% ACN zu aktivieren. Dabei wurden die 10 µl ACN jeweils stets verworfen. Im Anschluss erfolgte ein dreimaliges Equilibrieren durch 0,1% TFA. Erneut wurden die 10 µl TFA jeweils verworfen. Durch das darauffolgende zehnmalige Auf- und Abpipettieren der Probe konnten die Peptide an die C18-Kohlenstoffketten binden. Danach erfolgte ein dreimaliges Waschen mit 0,1% TFA. Schließlich wurden die Peptide durch den Elutionspuffer bestehend aus 0,1% TFA und 60% ACN (10 µl TFA und 6 ml ACN in 4 ml entionisiertem Wasser) in neue PCR-Tubes eluiert. Im ersten Zyklus wurden sogar zweimal 10 µl des Elutionspuffers in die neue Tube pipettiert; im zweiten Zyklus nur einmal 10 µl Puffers. Das Endvolumen waren dementsprechend 30 µl. Für die besonders dicken und farbintensiven Banden wurde noch ein dritter Zyklus durchgeführt, bei dem allerdings kein weiterer Elutionspuffer hinzugefügt wurde, sondern lediglich die Peptide nach Absättigen der Pipettenspitze mit diesen und dem anschließenden Waschen mit 0,1% TFA direkt in die mit 30 µl Elutionspuffer befüllte neue PCR-Tube abgelassen wurden. Nach jeder Probe wurde selbstverständlich die

ZipTip® Pipettenspitze ausgetauscht. Nach der Aufreinigung wurden die Proben wieder eingedampft und bei -20 °C gelagert. Für die massenspektrometrische Analyse mussten die Proben wieder wie oben bereits beschrieben mit 10 µl 0,1% TFA verflüssigt werden. Diese gesamten 10 µl an Probe wurden dann in die ersten Reihen einer *V-Bottom-Plate* mittig und ohne die Seitenwände eines Schachts zu berühren pipettiert. Die letzte Reihe wurde dann noch mit 100 µl einer Waschlösung bestehend aus 60 % ACN befüllt. Schließlich wurde die Platte mit einer Abdeckfolie versiegelt.

### **3.3.5 Flüssigkeitschromatographie (LC) – Electro Spray-Ionisation (ESI) – MS/MS-Analyse**

Nach vollendeter Verdauung und Aufreinigung konnten die Peptide letztlich in das System der Flüssigkeitschromatographie (LC) geleitet werden. Dieses umfasste eine Rheos Allegro Pumpe und ein HTS PAL Autosampler, dem wiederum eine BioBasic C18 30 x 0,5 mm Vorsäule und eine BioBasic Phenyl 150 x 0,5 mm Analytiksäule bereitgestellt war. Die C18-Kohlenstoffketten gehen auch hier wieder reversible, hydrophobe Wechselwirkungen mit den Peptiden ein. Die Umkehrphase des LC-Systems bestand aus einem wässrigen Lösungsmittel A (bestehend aus Wasser für LC-MS Grade mit 0,1 % (v/v) Ameisensäure) und einem organischen Lösungsmittel B (bestehend aus ACN für LC-MS Grade mit 0,1% (v/v) Ameisensäure). Das Verhältnis der Lösungsmittel wurde in 90 Minuten pro Probe folgendermaßen verändert: 0 - 50 min: 10 – 35% Lösungsmittel B, 50 - 70 min: 35 – 55% Lösungsmittel B, 70 - 75 min: 55 – 90 % Lösungsmittel B, 75 - 80 min: 90 % Lösungsmittel B, 80 - 83 min: 90 – 10 % Lösungsmittel B, 83 - 90 min: 10 % Lösungsmittel B. Die massenspektrometrischen Daten wurden mit einem ESI-LTQ-Orbitrap-XL-MS-System erfasst, welche sich für die Aufzeichnung der Ergebnisse im datenabhängigen Modus befand, um automatisch zwischen Orbitrap-MS- und LTQ-MS/MS-Erfassung umschalten zu können. Die Einstellungen der Parameter des Gerätes waren: *Positive ion electrospray ionization mode*, *Spray voltage*: 2,15 kV und *Capillary temperature*: 220°C. Die *Normalized Collision Energy (NCE)* betrug 35 % mit einem *Repeat Count* von 3, einer Aktivierungszeit von 30 ms und einer *Dynamic Exclusion Duration* von 600 ms. Die Massenspektren (*m/z* 300 bis 1600) wurden mit einer Orbitrapauflösung von 30000 bei *m/z* 400 aufgenommen. Die *Automatic Gain Control (AGC)* lag bei  $1.0 \times 10^6$  Ionen. Die *Lock mass*-Option wurde im MS Modus aktiviert. Polydimethylcyclsiloxan (PCM)-Ionen mit *m/z* 445,120025 dienten zur internen Rekalibrierung in Echtzeit. Die Tandem-Daten wurden erstellt, indem man die ersten fünf intensivsten Vorläuferionen,

welche durch den hochauflösenden MS-Scan des *Orbitrap-Fourier transform mass spectrometry (FTMS) analyser* bereitgestellt wurden, sequenziell isolierte und sie durch eine *Collision-induced Dissociation (CID)* fragmentierte. Dabei wurde Heliumgas verwendet. Die fertig fragmentierten Ionen wurden im LTQ aufgezeichnet. Die angewandten Parameter des Systems entsprechen der Methode von Manicam et al [106, 107]. Um die Rohdaten auswerten zu können, wurde das Programm *Proteome Discoverer* in der Version 1.1.0.263 benutzt, mit dessen Hilfe allgemein das Vorhandensein von Peptiden/Proteinen in den einzelnen Proben evaluiert werden konnte.

### **3.3.6 Markierungsfreie massenspektrometrische Untersuchung (LFQ-Analyse)**

Um die aufgezeichneten Daten bioinformatisch zu verarbeiten, wurden die MaxQuant Software in der Version 1.6.1.0 und die im Programm integrierte Suchmaschine Andromeda für die Peptid- und Proteinidentifikation [109-111] sowie die Swissprot-Datenbanken *Mouse* und *Human* von UniProt (beide abgerufen am 19.09.2018 mit 16991 gelisteten Proteinen für *Mus Musculus* und 20394 gelisteten Proteinen für *Homo Sapiens*) zum Abgleich verwendet. Die Suche und Quantifizierung wurde mittels LFQ- und Intensitäts-basierter absoluter Quantifizierung (iBAQ) durchgeführt. Die Einstellungen für das Programm waren standardmäßig: Peptidmasse-Toleranz von  $\pm 30$  ppm, eine Fragmentmasse-Toleranz von  $\pm 0,5$  Da mit einem Rückstand von  $\geq 6$  Aminosäuren, nur „*unique plus razor peptides*“, die zu einem Protein gehören, wurden ausgewählt und eine *False discovery rate* (FDR) für die Identifizierung der Proteine und Peptide  $< 1\%$  sowie fixierte Modifikationen auf Carbamidomethylierung von Cystein, variable Modifikationen der Oxidation von Methionin und Acetylierung von N-Termini, proteolytisches Enzym als Trypsin und maximale Anzahl der verpassten Spaltstellen 2. Das *Matching time window* war auf 5 Minuten und die *Alignment time* auf 20 Minuten eingestellt. *Match between* wurde so eingestellt, dass der Transfer nicht-sequenzierter oder nicht-identifizierter MS-Features in anderen LC-MS Durchläufen ermöglicht wurde. Die Suche für die Peptididentifikation wurde mit beiden verschiedenen Datenbanken durchgeführt, da in der Datenbank für die Maus eine deutlich geringere Anzahl an Proteinen vorhanden war im Vergleich zur Datenbank der Proteine des Menschen. Somit konnte die Identifizierung der Peptide maximiert werden, was förderlich für die nachfolgende funktionelle Charakterisierung war [112-115].

### 3.3.7 Statistische und bioinformatische Analyse der proteomischen Daten

Die generierten Daten aus MaxQuant („proteingroups.text“) wurden in ein Excel-Workbook-Format (Microsoft Office Excel 2016) exportiert und dabei Kontaminierungen ausgefiltert. Diese Excel-Datei wurde daraufhin in die Perseus-Software in der Version 1.6.2.3 überführt. Hier wurden als Erstes die Koeffizienten der *Pearson's Correlation* analysiert und dabei der normalisierte LFQ-Datensatz verwendet, um die experimentelle Reproduzierbarkeit und die Homogenität der festgelegten Gruppen zu beurteilen. Als Nächstes wurden mithilfe einer  $\log(2)$ -Transformation alle LFQ-Intensitäten umgewandelt, um Ab- und Aufregulierungen der Proteine in gleicher Größe und in gleichen Abständen auf einer grafischen Darstellung abzubilden. Fehlende Werte wurden durch Werte ersetzt, die aus einer Normalverteilung generiert wurden (*imputation*). Es wurde nachfolgend ein zweiseitiger t-Test mit  $p < 0,05$  durchgeführt, um eine signifikante Ab- und Aufregulierung der Proteine in einer bestimmten Gruppe nachzuweisen. Zur Erzeugung der *Heat Maps* wurde eine unkontrollierte hierarchische Clustering-Analyse entsprechend des Euklidischen Abstands durchgeführt.

Im allerletzten Schritt der experimentellen Auswertung wurden die Daten aus der statistischen Analyse der unterschiedlichen Expressionsprofile mithilfe von drei bioinformatischen Analyse-Softwares untersucht. Drei unabhängige Gruppen wurden in der Annotation verwendet: *molecular function* (GOMF), *biological processes* (GOBP) und *cellular component* (GOCC). Als Erstes wurde die Ingenuity Pathway Analysis-Software verwendet, um Begriffe aus der GOCC, die Molekültypen und das PPI-Netzwerk der identifizierten Proteine zu interpretieren. IPA basiert auf einem Wissenspool, der sich auf anerkannte Datenbanken, publizierte Studien und Reviews sowie Wissen aus Lehrbüchern bezieht. Durch Auswertung mit der Software wurden wichtige Informationen über Beziehungen, Mechanismen, Funktionen und Signalwege der einzelnen Proteine gewonnen, was im Anschluss durch eine visuelle Darstellung des Proteintyps, der Interaktionen zwischen den einzelnen Proteinen, ihrer Lokalisation in den verschiedenen Zellkompartimenten oder dem Extrazellularraum und ihrer Expressionsprofile verdeutlicht wurde. Außerdem konnte Aufschluss über die biologischen Funktionen der einzelnen Proteine gegeben werden und man konnte einen Überblick gewinnen, in welche biologischen Systeme und Prozesse sowie sogar in welche Erkrankungen die Proteine involviert sind. Die IPA-Analyse basiert auf den Veröffentlichungen von Krämer et al [116] mit Modifikationen von Manicam et al [106,

117]. Als Nächstes wurde das Netzwerk aus molekularen Interaktionen zwischen den Proteinen assoziiert mit Erkrankungen und Funktionen im PANTHER Klassifizierungssystem begutachtet, welches 13096 Proteinfamilien mit 78442 funktionellen Subfamilien enthält [118]. Als Letztes wurde DAVID verwendet, um die GOBP und GOMF Begriffe zu interpretieren [119, 120].

### **3.3.8 Validierung von ausgewählten Biomarkern auf mRNA-Level mittels RT-qPCR**

RNA wurde zunächst aus den Proben der Arteria Ophthalmica und Retina durch eine Kombination aus RNeasy Mico Kit und TRIzol® extrahiert. Die Homogenisierung der unterschiedlichen Gewebetypen wurde wie folgt durchgeführt: die Proben wurden in flüssigem Stickstoff schockgefrostet, lysiert und in 800 µl kaltem TRIzol® mithilfe von Spritzen homogenisiert. Danach wurden sie für 30 Sekunden gevortext und für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Für die Phasentrennung wurden *Phase Lock Gel (PLG)-Heavy tubes* verwendet. Es wurde 160 µl Chloroform zu den Tubes hinzugefügt, welche darauffolgend 15 Sekunden lang kräftig geschüttelt und für 3 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert wurden. Die Phasentrennung wurde dann letztlich durch die Zentrifugation bei 12000 x g für 15 Minuten bei 4°C erreicht. Die klare, flüssige Phase an der Oberfläche, welche die RNA enthielt, wurde in frische Tubes überführt. Die nachfolgende RNA-Extraktion wurde entsprechend dem Herstellerprotokoll des RNeasy Micro Kits durchgeführt. Eine Qualitätskontrolle der RNA-Proben wurde durch Konzentrationsbestimmung mittels Qubit und dem Bioanalyser durchgeführt. Die Konzentrationen lagen > 65 ng/µl mit RIN-Werten > 6,2 für die Arteria Ophthalmica sowie > 400 ng/µl mit RIN-Werten > 7,9 für die Retina. 500 ng der RNA wurden genutzt, um cDNA entsprechend den Herstellervorgaben des *PrimeScript™ RT Master Mix* zu erzeugen.

Es wurde eine quantitative Polymerase Kettenreaktion (qPCR) mittels SYBR® Green PCR Master Mix und einem StepOnePlus qPCR-Gerät durchgeführt. Die Primerpaare wurden mit Hilfe von primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) angepasst und von Sigma Aldrich (Germany) bestellt. Die Spezifität der Primer wurde vor dem Gebrauch mit Schmelzkurven und Agarosegelen getestet. Die Bedingungen der PCR-Zyklen waren folgendermaßen: 15 Minuten bei 95 °C; [15 Sekunden bei 94°C, 30 Sekunden bei 55°C, 30 Sekunden bei 72°C] x 40 Zyklen. Zwei Gene (HPRT1 und GAPDH) wurden angewandt, um die mRNA der interessierenden Gene mittels

## Material und Methoden

Delta-Delta-ct-Methode zu normalisieren. Die Daten wurden normalisiert und mit Kontrollwerten verglichen.

Die Daten wurden grafisch dargestellt und deskriptive Statistiken angewandt, um die Daten auf Normalverteilung zu überprüfen (D'Agostino & Pearson omnibus normality test). Die normalverteilten Daten wurden mittels unpaarem *two-tailed* t-Test mit der Prism 5-Software analysiert. Alpha wurde auf 5% gesetzt mit p-Werten < 0,05, was als statistisch signifikant angesehen wurde.

### 4. Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in zwei Abschnitte eingeteilt. Der erste Abschnitt beleuchtet mehrere Optimierungsschritte im Labor, welche dann für die nachfolgende Analyse der tatsächlichen, von Verunreinigungen befreiten Gewebeproben des Angiotensin II-Experiments im zweiten Abschnitt angewandt wurden und die exakte Auswertung der Laborergebnisse erst möglich gemacht haben.

#### 4.1 Optimierung der Probenvorbereitung

In einer Vorstudie wurde ein effizientes, solides und schnell durchführbares Protokoll speziell für die MS-basierte Analyse von okulären Mikrogefäßen geschaffen [107]. Bei den Proben handelte es sich in diesem Fall beispielhaft um die kurzen posterioren Ziliararterien (*short posterior ciliary arteries*, sPCA) aus Schweinen, welche dem retrobulbären Gefäßbett entstammen. Das Proteom der sPCA von Schweinen konnte bereits von Manicam et al charakterisiert werden [106]. Basierend auf dieser Studie wurde die Methode weiter optimiert. Drei Laborschritte, die für die reproduzierbaren Ergebnisse und die gründliche Aufklärung des komplexen Proteoms von Retina und Arteria Ophthalmica unter dem Einfluss von Angiotensin II im zweiten Abschnitt notwendig waren, werden hier besonders hervorgehoben. Diese Schritte waren vor allem auch deshalb unabdingbar, weil die Probenmenge für die MS-Analyse bei Mikrogefäßen oft stark limitiert ist und somit die optimale Proteinextraktion vor eine schwere Aufgabe stellt. Obwohl diese Methode spezifisch für die proteomische Analyse von okulären Mikrogefäßen entwickelt wurde, konnte auch der Nachweis erbracht werden, dass das Protokoll ebenfalls für Proben, die auf anderen Geweben beruhen, verwendet werden kann.

##### 4.1.1 Homogenisierung durch Zirkonoxid-Beads

Zu jeder Probe wurde für den Homogenisierungsvorgang eine Mischung aus 0,5 mm und 1,0 mm Zirkonoxid-Beads, dargestellt in Abbildung 14, sowie *tissue protein extraction reagent* (T-PER) hinzugefügt. Die Menge des verwendeten T-PERs ist dabei generell abhängig vom Gewicht der jeweiligen Tube mit einem Verhältnis von etwa 1 ml T-PER pro 50 mg Probe. Eine Faustregel für das Füllen der Tubes bei der Homogenisierung ist ein Volumenverhältnis von 1 : 1 : 2 = Probe : Beads : T-PER wie es in Abbildung 16A zu sehen ist. Um eine ineffektive Homogenisierung zu verhindern, darf nicht zu viel T-PER und zu wenig Beads verwendet werden.

## Ergebnisse

Für die korrekten Einstellungen am Gerät zur Homogenisierung musste die Zeit auf 2 Minuten und das Geschwindigkeitslevel auf Level 6 eingestellt werden wie es in Abbildung 15 dargestellt ist. Nach jedem erfolgten Homogenisierungszyklus mussten die einzelnen Proben darauf geprüft werden, ob sie vollständig homogenisiert wurden. Falls nicht mussten so viele weitere Zyklen durchgeführt werden bis eine vollständige Homogenisierung erreicht wurde wie es in Abbildung 16B dargestellt ist. Insgesamt konnten gleichzeitig 24 Tubus homogenisiert werden innerhalb eines Zyklus. Es war besonders wichtig die Proben während diesem Vorgang immer wieder kalt zu halten, um Proteindenaturierungen zu vermeiden. Der hier verwendete Bullet Blender besitzt eine extra dafür eingebaute Kühlfunktion.



0,5 mm Zirkonoxid-Beads

1,0 mm Zirkonoxid-Beads

Abbildung 14: Fotos der verwendeten Zirkonoxid-Beads



Zeiteinstellung Geschwindigkeitslevel

Abbildung 15: Einstellungen am verwendeten BBY24M Bullet Blender Storm während des Homogenisierungsvorgangs

## Ergebnisse

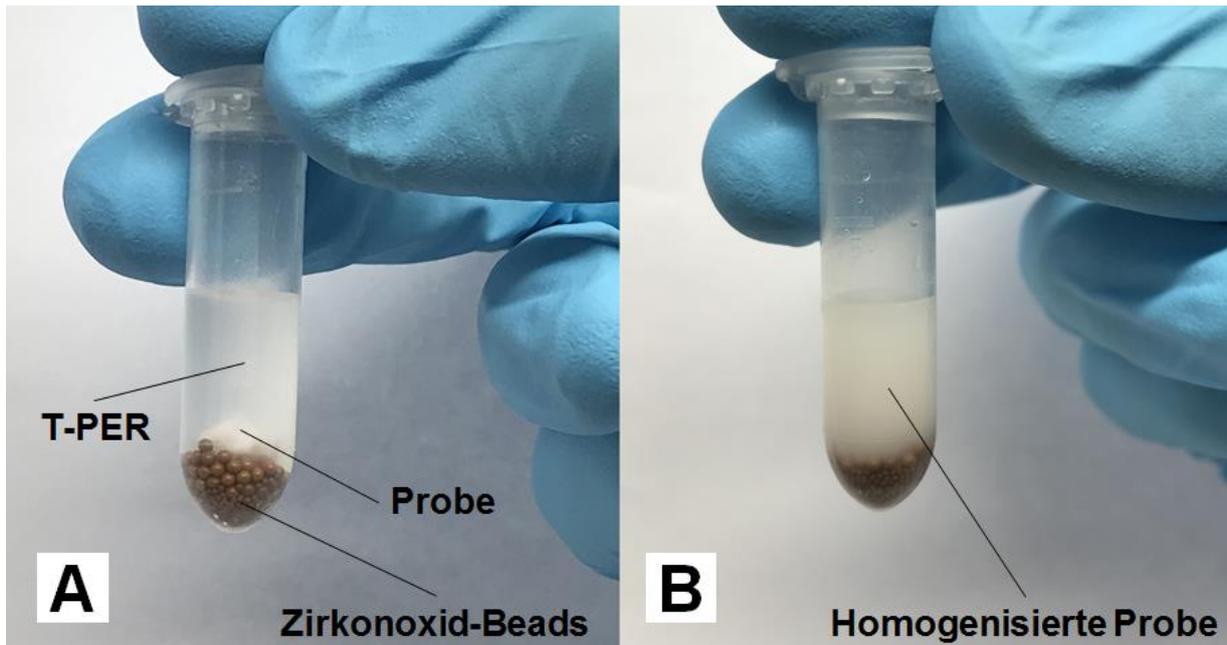


Abbildung 16: Foto des Befüllens der Tubes mit Zirkonoxid-Beads, Probe der sPCA und T-PER vor (A) und nach (B) dem Homogenisierungsvorgang

Nach Überführen der homogenisierten Proben in frische Tubes und Zentrifugation bei 10000 x g und 4 °C für 20 Minuten war in den Tubes ein flüssiger Überstand an der Oberfläche mit hauptsächlich wasserlöslichen Proteinen sowie ein festes Pellet am Boden mit nicht löslichen Transmembranproteinen erkennbar, welche vorsichtig in 2 neue Tubes überführt wurden (siehe Abbildung 17). Dabei musste beim Pipettieren besonders darauf geachtet werden, dass die Oberfläche des Pellets nicht berührt wird.

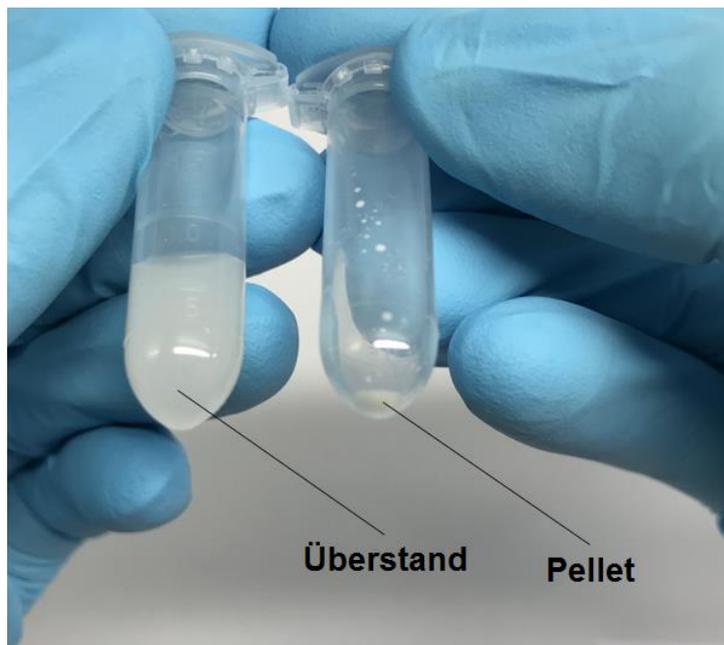


Abbildung 17: Foto der Proben nach dem Zentrifugieren, bei dem ein Überstand (links) und ein Pellet (rechts) voneinander getrennt werden können

### 4.1.2 Pellet-Verdauung

Damit die Proteine, die im Pellet enthalten sind, nicht verloren gehen, sondern in der MS-Analyse erfasst werden, wurde in der Vorstudie das Pellet anhand des nachfolgenden Protokolls verdaut: Dem Pellet wurden 200 µl des Extraktionspuffers 2A sowie 5 µl des Proteaseinhibitor-Cocktails hinzugefügt und durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren eine Suspension gebildet. Beide Reagenzien mussten zuvor gut durchmischt werden, bevor sie dem Pellet zugesetzt wurden. Für die darauffolgende Homogenisierung wurde der auf Ultraschall basierende Labsonic M verwendet. *Amplitude* wurde hierbei auf 60 und *cycle* auf 1 gesetzt wie es in Abbildung 18 erkennbar ist. Wichtig ist generell, dass die Sondenspitze aus Titan besteht sowie einen Durchmesser von ca. 0,5 mm hat und 80 mm lang ist, um Proben kleiner Volumina homogenisieren zu können. Durch Eintauchen der Suspension in die Spitze und Drücken des Startknopfs wurde die jeweilige Probe Ultraschallwellen ausgesetzt, was einen Homogenisierungszyklus startet. Analog zum vorigen Schritt mussten nach jedem erfolgten Zyklus die einzelnen Proben darauf geprüft werden, ob sie vollständig homogenisiert wurden. Falls nicht wurden so viele weitere Zyklen durchgeführt bis eine vollständige Homogenisierung erreicht wurde. Wichtig war es auch hier wieder die Proben während diesem Vorgang immer wieder kalt zu halten, um Proteindenaturierungen zu vermeiden, die durch die Hitze auftreten können, die beim Homogenisieren mithilfe von Ultraschall entsteht.

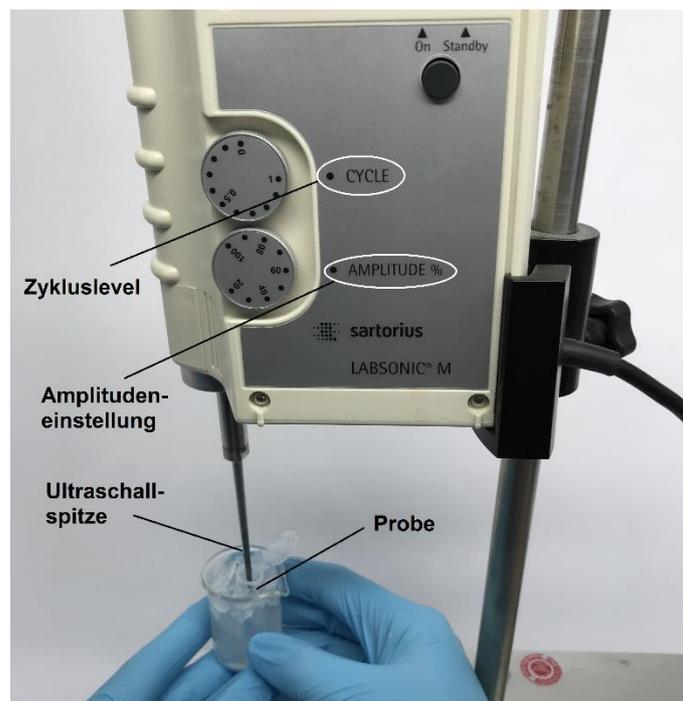


Abbildung 18: Einstellungen am verwendeten Labsonic M während des Pellet-Homogenisierungsvorgangs

#### 4.1.3 Probenaufreinigung durch Filtrierung

Danach wurden die Proben mit dem Ziel eines Pufferwechsels und Entsalzens filtriert, um alle Moleküle unter 3 kDa aus den Proben zu entfernen. Dafür mussten 200 µl der Probe und 200 µl entionisiertes Wasser in die Filter pipettiert werden. Diese wurden darauffolgend bei 14000 x g und 4 °C für 15 Minuten zentrifugiert. Abbildung 19 zeigt den Filter vor und nach dem Filtrieren. Für diesen Laborschritt wurden *Amicon Ultra-0.5 Centrifugal Filter Devices* verwendet. Nach Entfernen des Filtrats wurden dem Filter erneut 400 µl entionisiertes Wasser zugeführt und alles erneut zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde noch zwei weitere Male wiederholt. Die aufgereinigten Proben wurden anschließend in frische Tubes überführt.

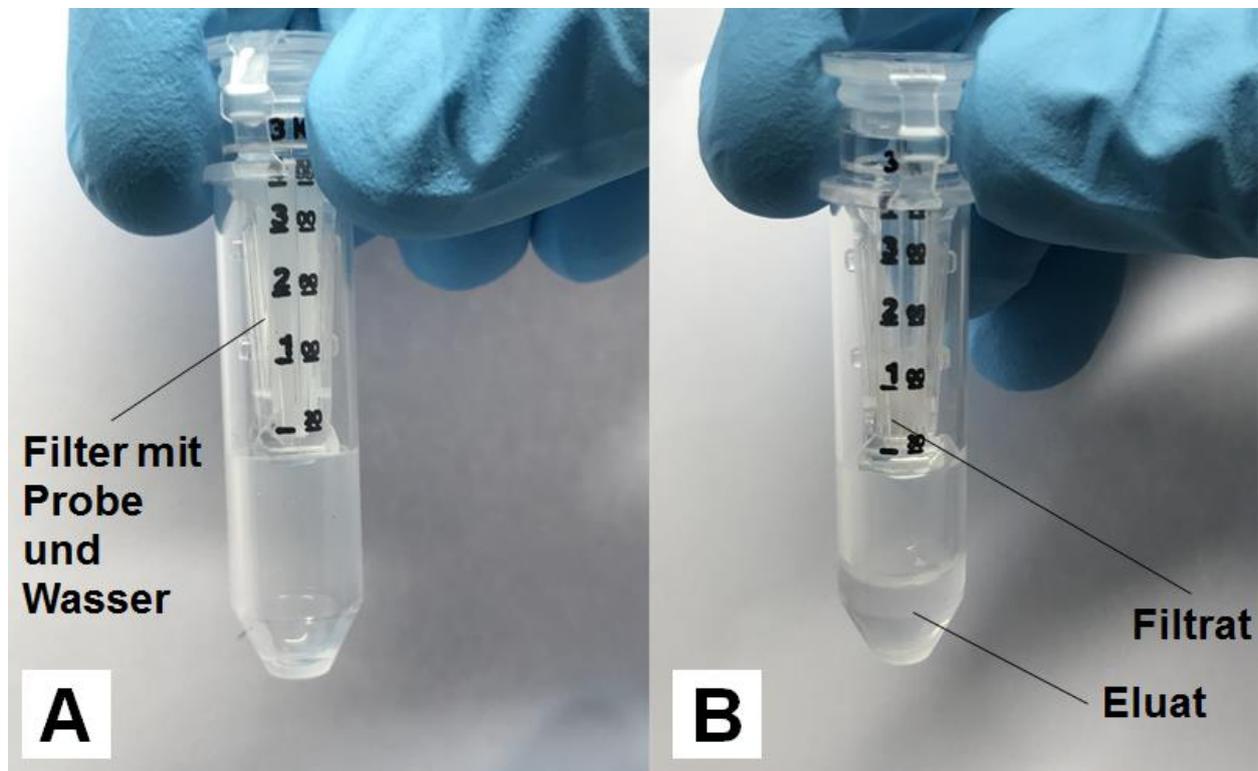


Abbildung 19: Foto vor (A) und nach (B) dem Filtriervorgang

## Ergebnisse

### 4.1.4 Eindimensionale Gelelektrophorese (1DE) ohne Optimierungsschritte

Abbildung 20 zeigt zwei beispielhafte 1DE-Gele von Proben der Retina des Schweins, bei welchen die Optimierungsschritte, welche in den Kapiteln 4.1.1 – 4.1.3 dargestellt wurden, nicht durchgeführt wurden. In allen dargestellten Gelbanden zeigt sich eine vertikale Spur von Verunreinigungen, welche auf eine Kontamination der Proben hindeutet. Daher ist es unabdingbar die Methode um die zuvor dargestellten Optimierungsschritte zu erweitern, also die Verunreinigungen zu beseitigen.

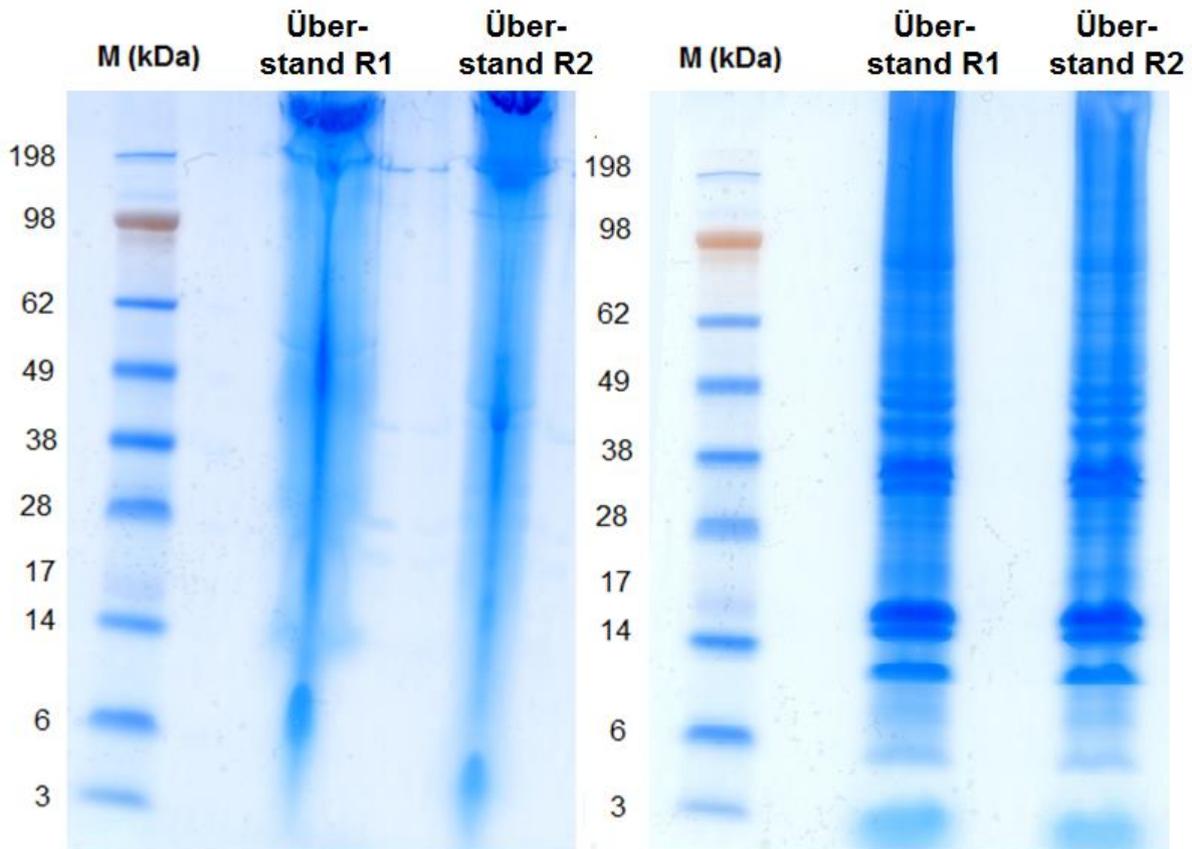


Abbildung 20: Beispielhafte Gelbanden von 1DE-Gelen von Proben der Retina des Schweins für zwei Replikate des Überstands zu je 50 µg, bei denen die Optimierungsschritte weggelassen wurden. Ganz links befindet sich der Referenzmarker (M)

#### 4.1.5 Eindimensionale Gelelektrophorese (1DE) der Vorstudie

Nach der Proteinbestimmung konnte analog zur Methode unter „3.3.2 Eindimensionale Gelelektrophorese (1DE)“ ein 1DE-Gel gewonnen werden, welches sich in Abbildung 21 dargestellt. Für dieses Gel wurden exemplarisch Proben aus der Retina von Schweinen verwendet. Es sind bereits hier vor der konkreten MS-Analyse markante Unterschiede der Gelbanden zwischen dem Überstand und dem Pellet sichtbar, was die Hypothese belegt, dass viele Proteine unentdeckt bleiben, sofern man das Pellet verwirft und nicht verdaut. Bei der ersten Bande ganz links handelt es sich um den Referenzmarker (M).

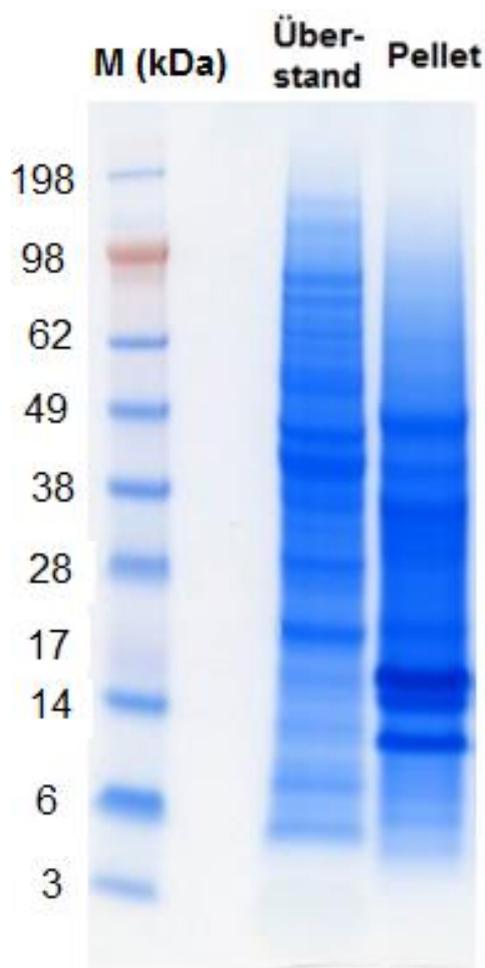


Abbildung 21: Gelbanden des 1DE-Gels beispielhaft von Proben der Retina des Schweins für Überstand und Pellet zu je 50 µg. Ganz links befindet sich der Referenzmarker (M)

## 4.2 Auswertung der tatsächlichen experimentellen Studie

Die Proteinexpressionen der Angiotensin II-Gruppe (ANG II-Gruppe) wurden im direkten Vergleich zur Kontrollgruppe der zwei unterschiedlichen Gewebetypen ermittelt und sind in den nachfolgenden Kapiteln getrennt voneinander beschrieben.

### 4.2.1 Arteria Ophthalmica

Die Proteinprofile der Arteria Ophthalmica sind als 1DE-Gelbanden in Abbildung 22 dargestellt. Bei der ersten Bande ganz links handelt es sich um den Referenzmarker (M), wohingegen die sechs Banden rechts davon die drei biologischen Replikate der jeweiligen Gruppe darstellen, welche die genetischen Variationen so gering wie möglich halten sollen. Bei der Betrachtung der zwei Ansichten im Vergleich lässt sich sagen, dass augenscheinlich keine wesentlichen Unterschiede vorhanden sind.

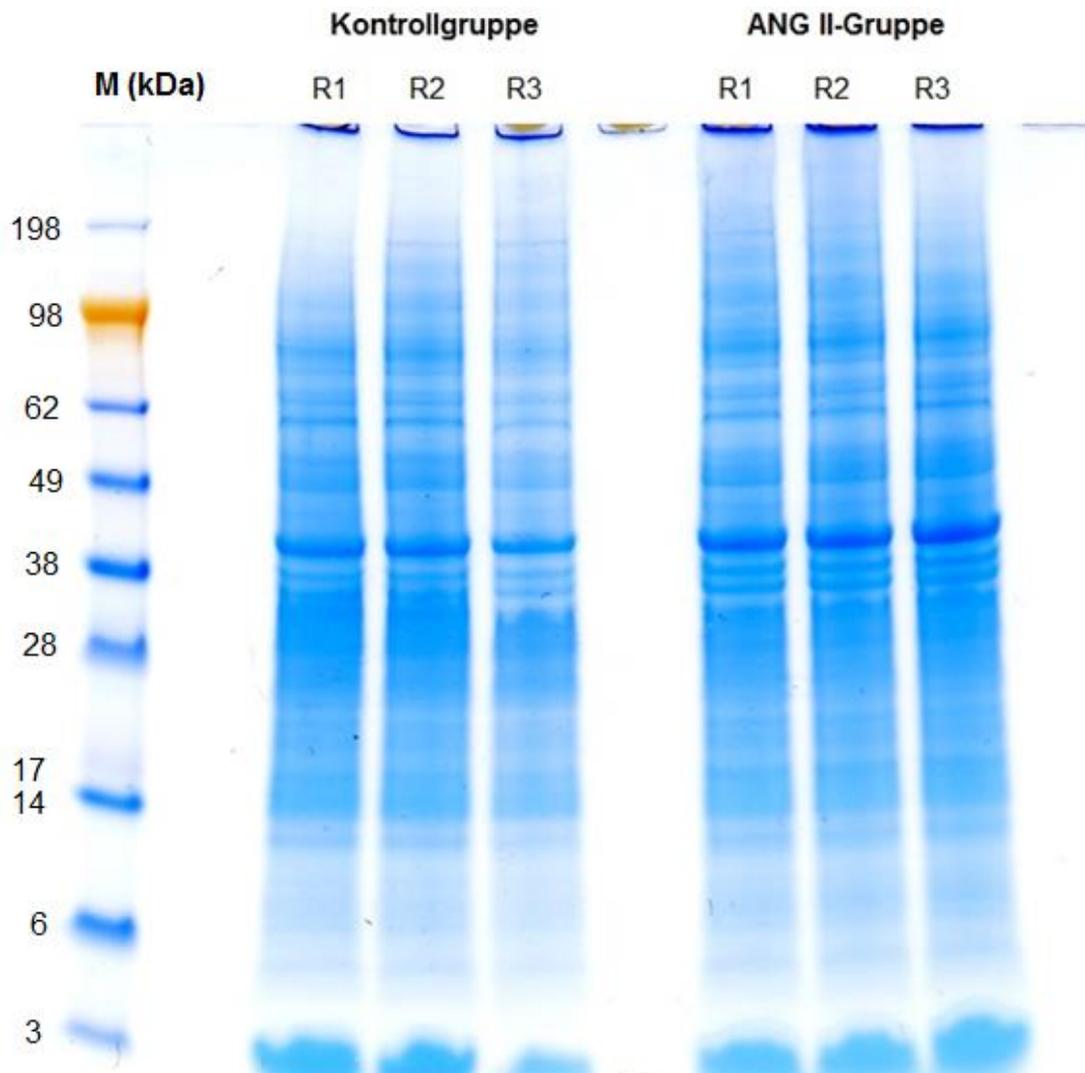


Abbildung 22: Gelbanden des 1DE-Gels der Arteria Ophthalmica für die Kontroll- und die Angiotensin II (ANG II)-Gruppe mit den biologischen Replikaten (R) 1 bis 3 zu je 50 µg. Ganz links befindet sich der Referenzmarker (M)

## Ergebnisse

Durch die proteomische Analyse nach dem Konzept der *bottom-up* LC-MS/MS-Methode der Triplikate beider Gruppen konnten mittels MaxQuant insgesamt 592 Proteine in der Arteria Ophthalmica mit einer FDR < 1% identifiziert werden (siehe Anhang). Es wurden die UniProt Datenbanken von sowohl Maus als auch Mensch für die Suche der Tandem-Massenspektrometrie verwendet, um die Proteinidentifikation zu maximieren, da die Datenbank für „*Mus Musculus*“ lediglich 16991 Proteine und die Datenbank für „*Homo Sapiens*“ im Gegensatz dazu 20394 Proteine zum Zeitpunkt des Abrufs (19.09.2018) enthielt. Das Verwenden von multiplen Datenbanken kann nachweislich signifikant detailliertere Informationen liefern, die nicht auf Sequenzen beschränkt sind, die nur in dem interessierenden Organismus enthalten sind [112-115]. Die Anzahl der identifizierten Proteine in beiden Datenbanken für Arteria Ophthalmica ist in Abbildung 23 dargestellt. Die große Mehrzahl der identifizierten Proteine wurden in den Datenbanken für beide Spezies gefunden mit 52,7%, eine höhere Prozentzahl von Proteinen in der Datenbank der Hausmaus (*Mus Musculus*) mit 39% und eine geringere Anzahl an Proteinen in der Datenbank des Menschen (*Homo Sapiens*) mit 8,3%.

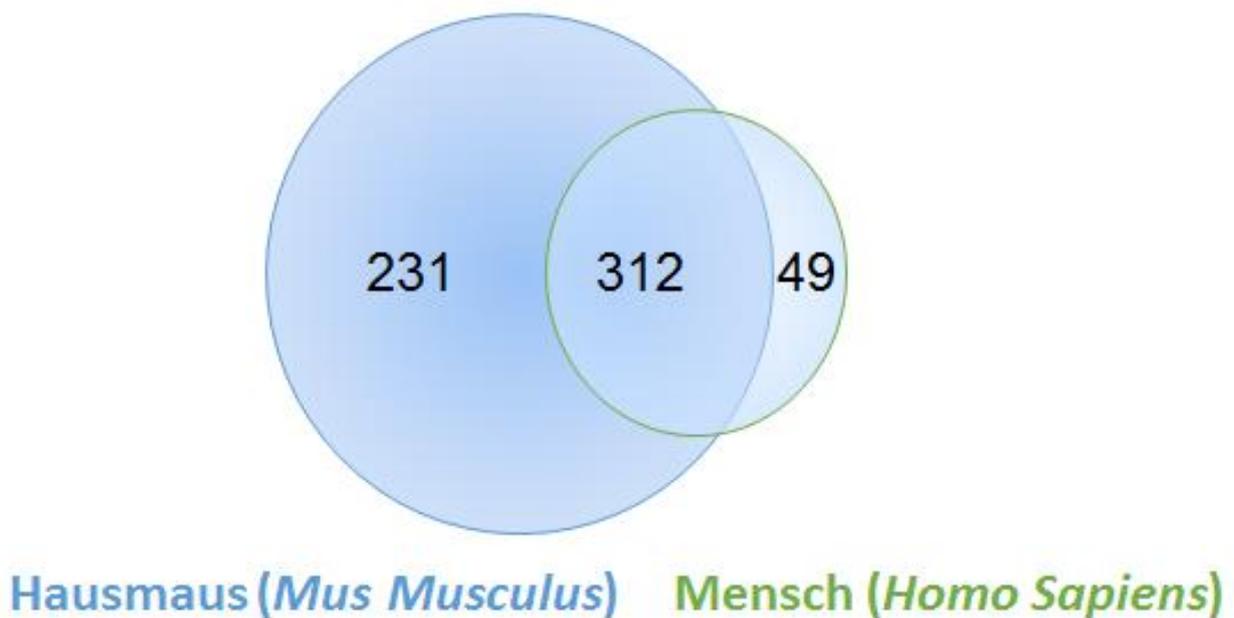


Abbildung 23: Venn-Diagramm für die Arteria Ophthalmica nach Abgleich mit den Datenbanken für die Hausmaus (blau) und Mensch (grün)

## Ergebnisse

Anschließend erfolgte die statistische Auswertung der Proteinverteilungen in den einzelnen Gruppen. Hierfür wurde ein zweiseitiger t-Test mittels der Perseus-Software und LFQ-Werten durchgeführt, der feststellte, ob die Proteine innerhalb der Gruppen signifikant ( $p < 0,01$ ) erhöht, erniedrigt oder gar nicht signifikant reguliert wurden. In der Arteria Ophthalmica wurde das vaskuläre Proteom durch Angiotensin II dahingehend verändert, dass 34 Proteine unterschiedlich exprimiert wurden, davon wurden 21 hoch und 13 herunterreguliert. Tabelle 3 zeigt die unterschiedlich regulierten Proteine der Arteria Ophthalmica-Gruppe mit deren Gennamen und Protein ID sowie p-Wert und diesen mit  $\log_2$ -Transformation. Abbildung 24 stellt diese Verteilung wiederum grafisch als *Heat Map* dar.

Tabelle 3: Liste der signifikant hoch- oder herunterregulierten Proteine der Arteria Ophthalmica

Nummer	Protein ID	Gename	p-Wert	$\log_2$ -fach
<b>Hochregulierte Proteine</b>				
1	P21107	Tpm3	2.26E-02	29.2
2	P11055	MYH3	5.24E-03	285.16
3	Q9QZ47	Tnnt3	1.45E-02	273.42
4	Q9UKX3	MYH13	4.31E-02	257.88
5	P30049	ATP5D	3.68E-02	218.68
6	Q9CQJ8	Ndufb9	2.65E-02	177.14
7	Q71DI3	HIST2H3A	2.37E-02	158.79
8	P84244	H3f3a	2.54E-02	154.92
9	P12883	MYH7	1.09E-02	146.83
10	Q86TD4	SRL	3.05E-02	140.61
11	Q8R429	Atp2a1	1.15E-02	13.74
12	Q5SX39	Myh4	5.36E-03	137.43
13	P12882	MYH1	7.46E-03	124.82
14	P05976	MYL1	3.88E-02	114.97
15	P07942	LAMB1	3.61E-02	106.09
16	P00338	LDHA	4.07E-02	100.15
17	Q64727	Vcl	1.12E-02	0.97
18	Q80X19	Col14a1	1.70E-02	0.92
19	Q9UKX2	MYH2	4.97E-02	0.89
20	P31040	SDHA	1.82E-02	0.62
21	Q61830	Mrc1	3.95E-02	0.51
<b>Herunterregulierte Proteine</b>				
22	Q80XI7	Bpifb9a	3.70E-04	-644.22
23	Q61114	Bpifb1	1.34E-02	-405.15
24	P06880	Gh1	1.47E-02	-391.58

## Ergebnisse

25	O55131	Sept7	4.83E-02	-172.61
26	Q61490	Alcam	4.48E-02	-154.61
27	P08228	Sod1	2.38E-02	-151.16
28	Q99MN9	Pccb	4.62E-03	-125.91
29	Q8VCT4	Ces1d	3.15E-03	-107.39
30	Q9CQ54	Ndufc2	2.72E-02	-103.23
31	P68871	HBB	4.76E-02	-10.03
32	P16330	Cnp	4.66E-02	-0.94
33	P27573	Mpz	2.49E-02	-0.63
34	P30041	PRDX6	3.90E-02	-0.37

## Ergebnisse

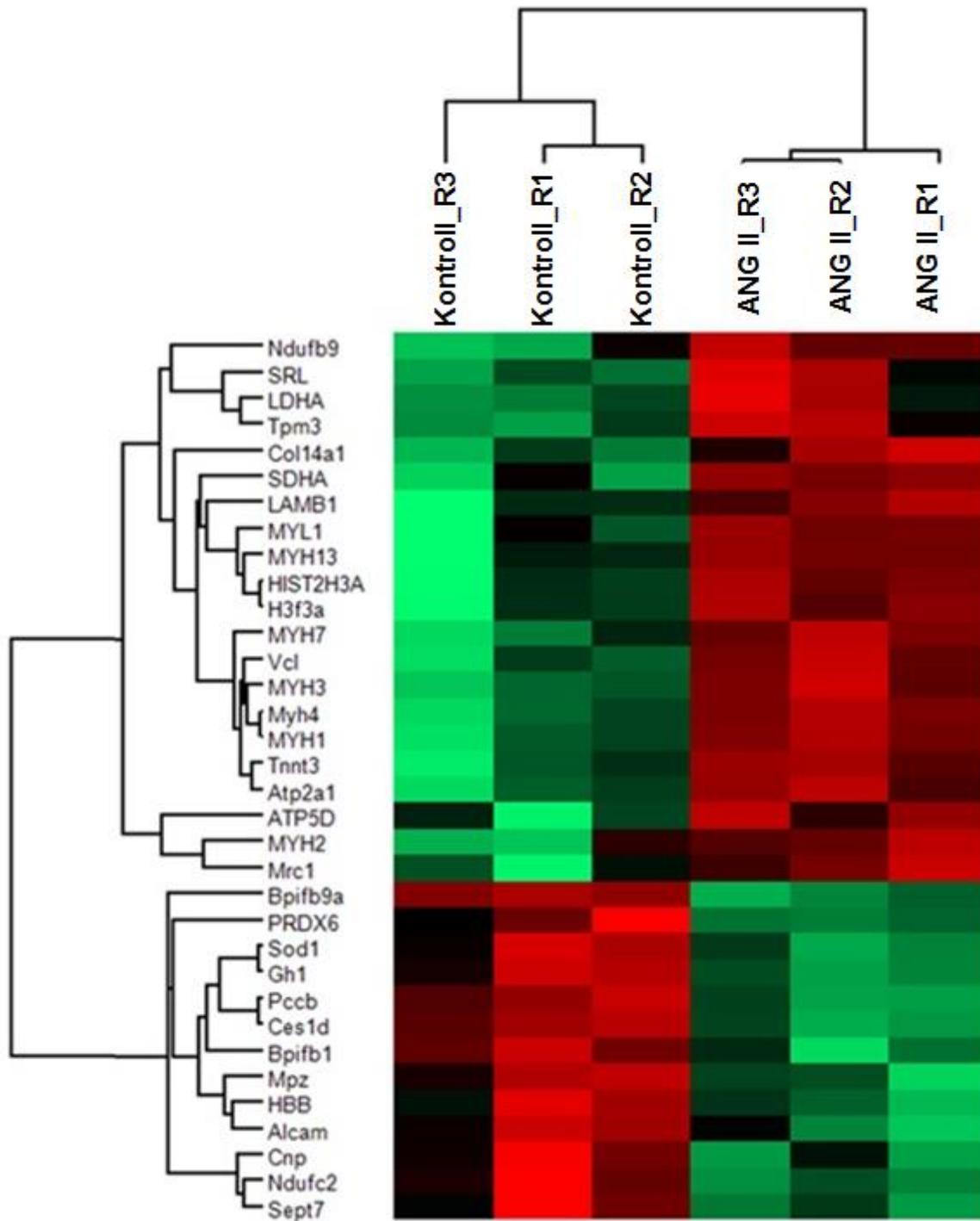


Abbildung 24: *Heat Map* für die Arteria Ophthalmica der unterschiedlich exprimierten Proteine von Kontroll- gegenüber Angiotensin II-Gruppe; rot = hochreguliert, grün = herunterreguliert; je heller die Farbe desto intensiver die Abundanz

## Ergebnisse

Exemplarisch werden in Abbildung 25 die Regulationsprofile von einigen stark unterschiedlich exprimierten Proteinen in beiden Gruppen als Balkendiagramm gezeigt, wo Septin-7 (Sept7) und die Superoxid-Dismutase (Sod1) signifikant herunterreguliert wurden, während *fast skeletal muscle troponin T* (Tnnt3) und *tropomyosin alpha 3-chain* (Tpm3) signifikant hochreguliert wurden mit einem jeweiligen p-Wert < als 0,05.

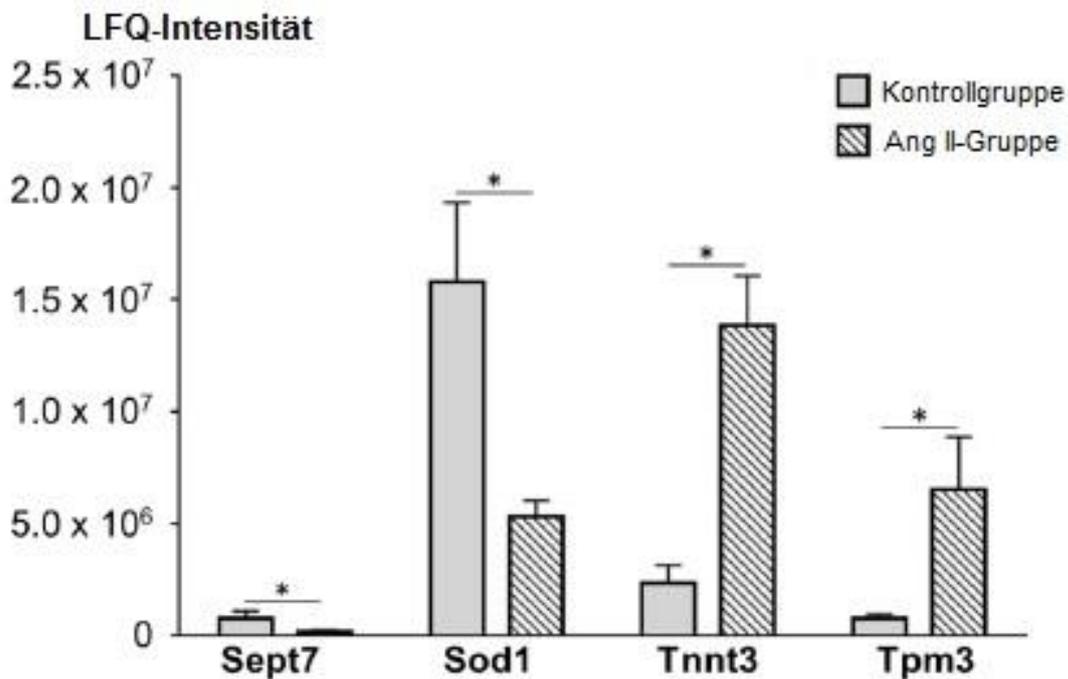


Abbildung 25: Balkendiagramm von stark unterschiedlich exprimierten Proteinen der Arteria Ophthalmica

Danach wurden die unterschiedlich stark exprimierten Proteine mit der Ingenuity Pathway Analyse-Software (IPA) untersucht. Diese ergab Informationen über Erkrankungen und Signalwege, in welche die jeweiligen Proteine involviert sind. Die darauffolgende Netzwerkanalyse zeigt die Wechselwirkungen zwischen den Proteinen in Form von direkten und indirekten Verbindungen. Hierbei werden außerdem der Proteintyp als Form von unterschiedlichen Symbolen sowie die Lokalisation im Zellkompartiment dargestellt. Abbildung 26 zeigt, dass es sich bei der Mehrzahl der identifizierten Proteine aus den Proben der Arteria Ophthalmica um Enzyme handelt, welche im Zytoplasma lokalisiert sind. An diesem Ort wurden MYH3 (p-Wert = 0.00524), Ndufb9 (p-Wert = 0.0265), MYH7 (p-Wert = 0.0109), Myh4 (p-Wert = 0.00536), MYH2 (p-Wert = 0.0497), LDHA (p-Wert = 0.0407), MYH13 (p-Wert = 0.0431), Tnnt3 (p-Wert = 0.0145), Tpm3 (p-Wert = 0.0226), MYL1 (p-Wert = 0.0388), SRL (p-Wert = 0.0305), ATP5D (p-Wert = 0.0368), Atp2a1 (p-Wert = 0.0115) und

## Ergebnisse

SDHA (p-Wert = 0.0182) als hochreguliert und Sod1 (p-Wert = 0.0238), PRDX6 (p-Wert = 0.039), Ces1d (p-Wert = 0.00315), Cnp (p-Wert = 0.0466), Pccb (p-Wert = 0.00462), Ndufc2 (p-Wert = 0.0272), Sept7 (p-Wert = 0.0483) und HBB (p-Wert = 0.0476) als herunterreguliert identifiziert. Die nächstgrößere Gruppe an Proteinen befindet sich innerhalb der Plasmamembran. Hier konnte ein Hochregulieren von Mrc1 (p-Wert = 0.0395), MYH1 (p-Wert = 0.00746) und Vcl (p-Wert = 0.0112) sowie ein Herunterregulieren von Alcam (p-Wert = 0.0448) und Mpz (p-Wert = 0.0249) nachgewiesen werden. Im Nukleus befinden sich lediglich HIST2H3A (p-Wert = 0.0237) und H3f3a (p-Wert = 0.0254), welche hochreguliert wurden. Im Extrazellularraum wurden LAMB1 (p-Wert = 0.0361) und Col14a1 (p-Wert = 0.017) als hochreguliert und Bpifb1 (p-Wert = 0.0134) als herunterreguliert nachgewiesen. An „anderen Orten“ taucht nur Bpifb9a (p-Wert = 0.00037) als herunterreguliert auf. Dessen Zuordnung in ein Zellkompartiment ist demnach noch nicht eindeutig.

## Ergebnisse

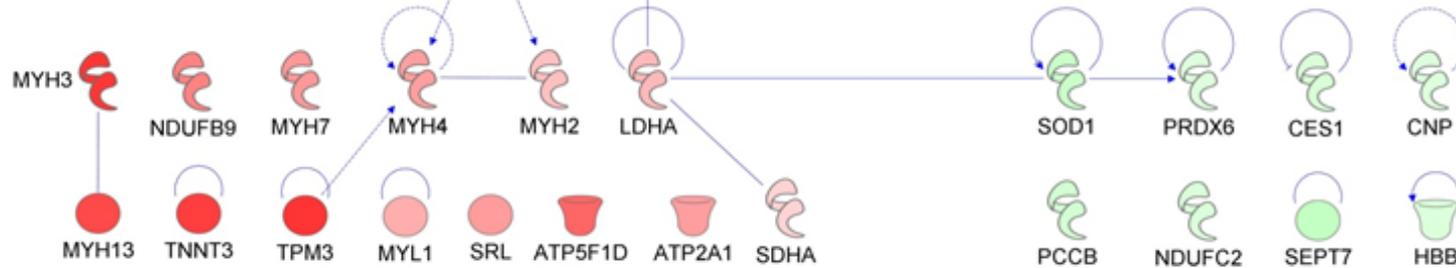
### Extrazellularraum



### Plasmamembran



### Zytoplasma



### Nukleus



### anderer Ort



Abbildung 26: Netzwerkanalyse (*ingenuity pathway analysis*) für die Arteria Ophthalmica der unterschiedlich exprimierten Proteine von Kontroll- gegenüber Angiotensin II-Gruppe eingeteilt nach Lokalisation im Zellkompartiment. Interaktionen zwischen Proteinen werden mit Linien dargestellt. Die unterschiedlich regulierten Expressionsprofile sind farblich gekennzeichnet: So sind rot gefärbte Proteine höher und grün gefärbte niedriger reguliert. Außerdem lässt sich die Signifikanz der Ergebnisse an der Intensität der Färbung ablesen: je intensiver die Farbe, desto höher die Signifikanz

## Ergebnisse

Weitere Analysen mit der Ingenuity Pathway Analyse-Software (IPA) ergaben, dass die meisten Signalwege, die signifikant beeinflusst wurden, hauptsächlich *calcium signaling* (p-Wert = 2.09E-13), *epithelial adherens junction* (p-Wert = 3.93E-11), *tight junction signaling* (p-Wert = 8.31E-11), *integrin-linked kinase (ILK) signaling* (p-Wert = 5.07E-12), *actin cytoskeleton signaling* (p-Wert = 7.08E-10) und *mitochondrial dysfunction* (p-Wert = 1.91E-03) umfassten, wie es in Abbildung 27 logarithmisch dargestellt ist. Die darauffolgende Analyse zeigte, dass die unterschiedlich exprimierten Proteine signifikant den Funktionen *skeletal & muscular system development & function* (p-Wert = 2.74E-16), *cellular assembly & organization* (p-Wert = 2.52E-09), *free radical scavenging* (p-Wert = 5.42E-06), *cellular function & maintenance* (p-Wert = 1.10E-04), *cellular morphology* (p-Wert = 2.10E-04), *cell-to-cell signaling & interaction* (p-Wert = 2.10E-04), *inflammatory response* (p-Wert = 8.00E-04) und *cell signaling* (p-Wert = 1.04E-03) zuzuordnen sind, was in Abbildung 28 erneut logarithmisch dargestellt ist.

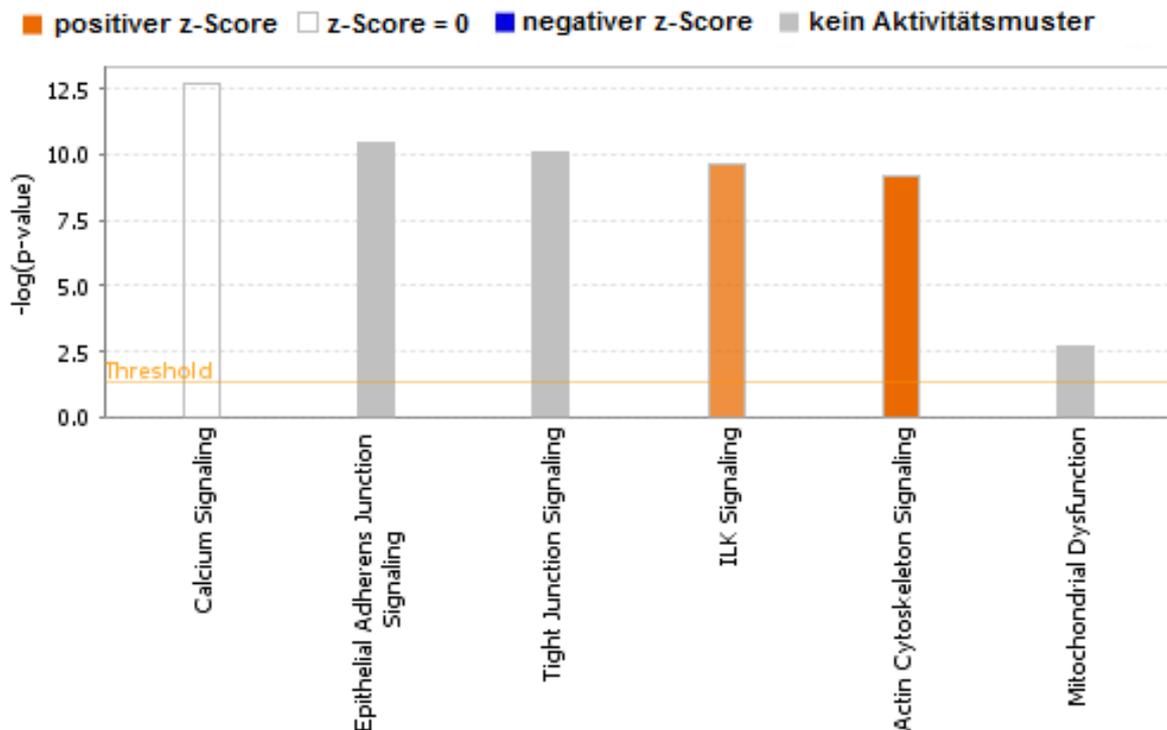


Abbildung 27: Balkendiagramm der signifikant beeinflussten Signalwege der unterschiedlich exprimierten Proteine der Arteria Ophthalmica

## Ergebnisse

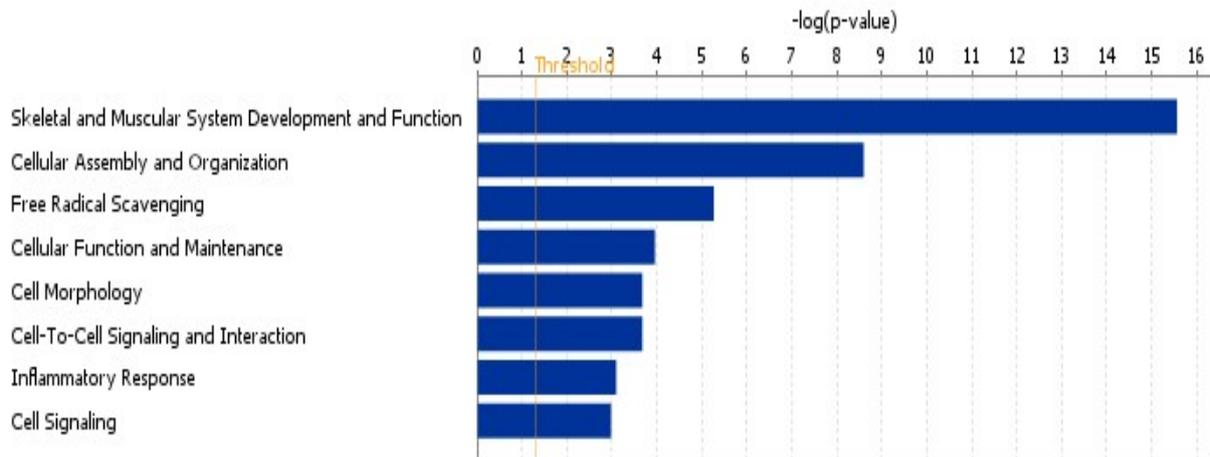


Abbildung 28: Balkendiagramm der signifikant beeinflussten Funktionen, welche den unterschiedlich exprimierten Proteinen der Arteria Ophthalmica zugeordnet sind

Schließlich wurde die Ingenuity Pathway Analyse-Software dazu verwendet die signifikant am meisten beeinflussten *Upstream*-Regulatoren zu identifizieren. In der Augenerterie wurden die Transkriptionsfaktoren MYOD1 (p-Wert =  $3.86E-07$ , z-Score = 1.491), SMARCA4 (p-Wert =  $3.17E-04$ , z-Score = 2) und RB1 (p-Wert =  $4.02E-03$ , z-Score = 2) aktiviert, wohingegen RCAN1 (p-Wert =  $6.42E-08$ , z-Score = -0.581) und KDM5A (p-Wert =  $4.37E-05$ , z-Score = -2) gehemmt wurden. Zusätzlich wurde der Wachstumsfaktor TGF $\beta$ 1 (p-Wert =  $1.69E-02$ , z-Score = 2.399) und die Phosphatase DUSP1 (p-Wert =  $1.80E-08$ , z-Score = 0.984) aktiviert. Abbildung 29 zeigt die genannten *Upstream*-Regulatoren und deren Interaktion mit anderen Proteinen.

## Ergebnisse

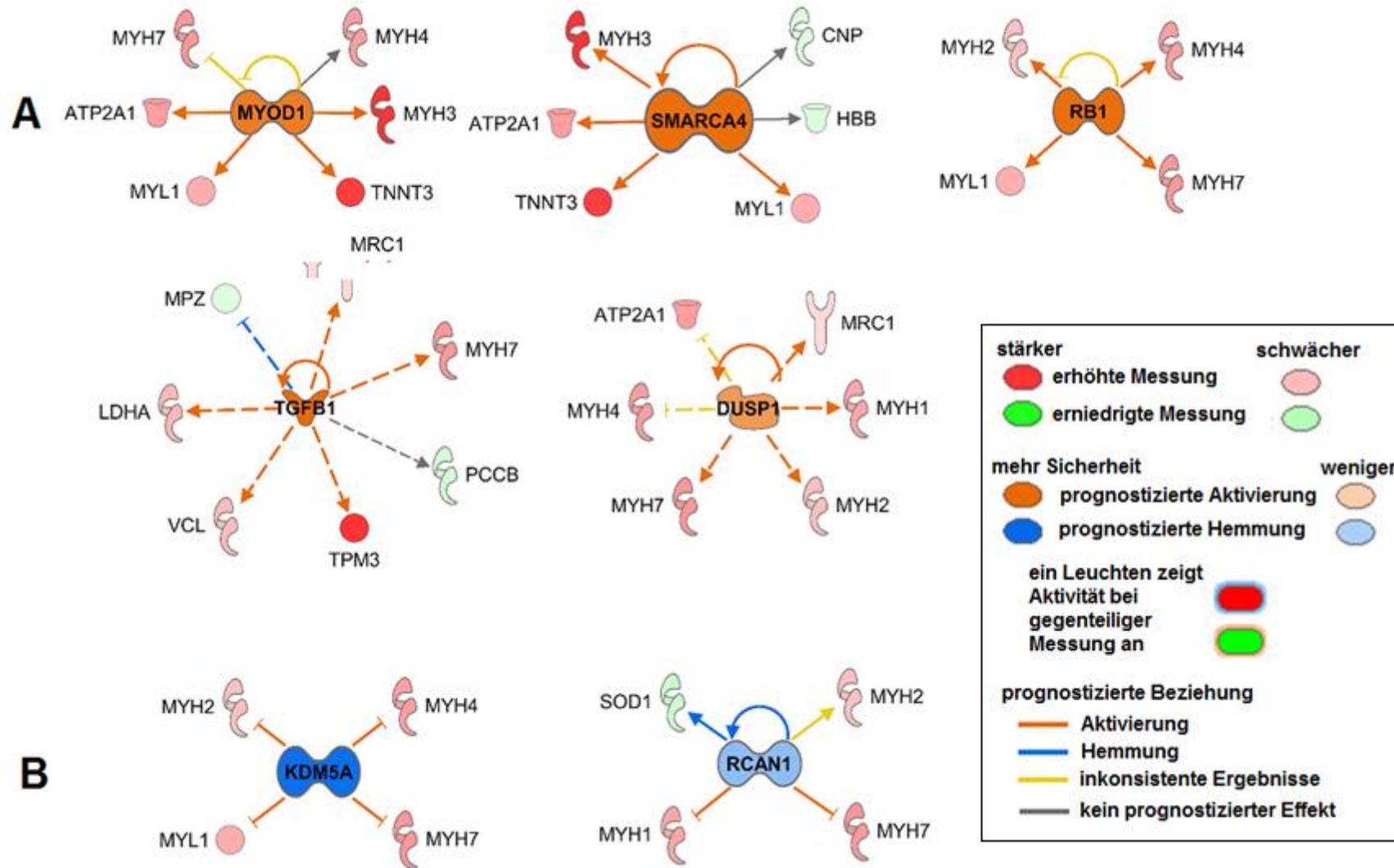


Abbildung 29: Ausgewählte prognostizierte *Upstream*-Regulatoren, welche in der Arteria Ophthalmica entweder aktiviert (A) oder gehemmt (B) wurden [121]; rot gefärbte Proteine sind höher und grün gefärbte niedriger reguliert; orange gefärbte Interaktionen bedeuten Aktivierung, blau gefärbte Hemmung

## Ergebnisse

### 4.2.2 Retina

Die Proteinprofile der Retina sind als 1DE-Gelbanden in Abbildung 30 dargestellt. Bei der ersten Bande ganz links handelt es sich erneut um den Referenzmarker (M), wohingegen die sechs Banden rechts davon die drei biologischen Replikate der jeweiligen Gruppe darstellen, welche die genetischen Variationen so gering wie möglich halten sollen. Bei der Betrachtung der zwei Ansichten im Vergleich lässt sich wiederholt sagen, dass augenscheinlich keine wesentlichen Unterschiede vorhanden sind.

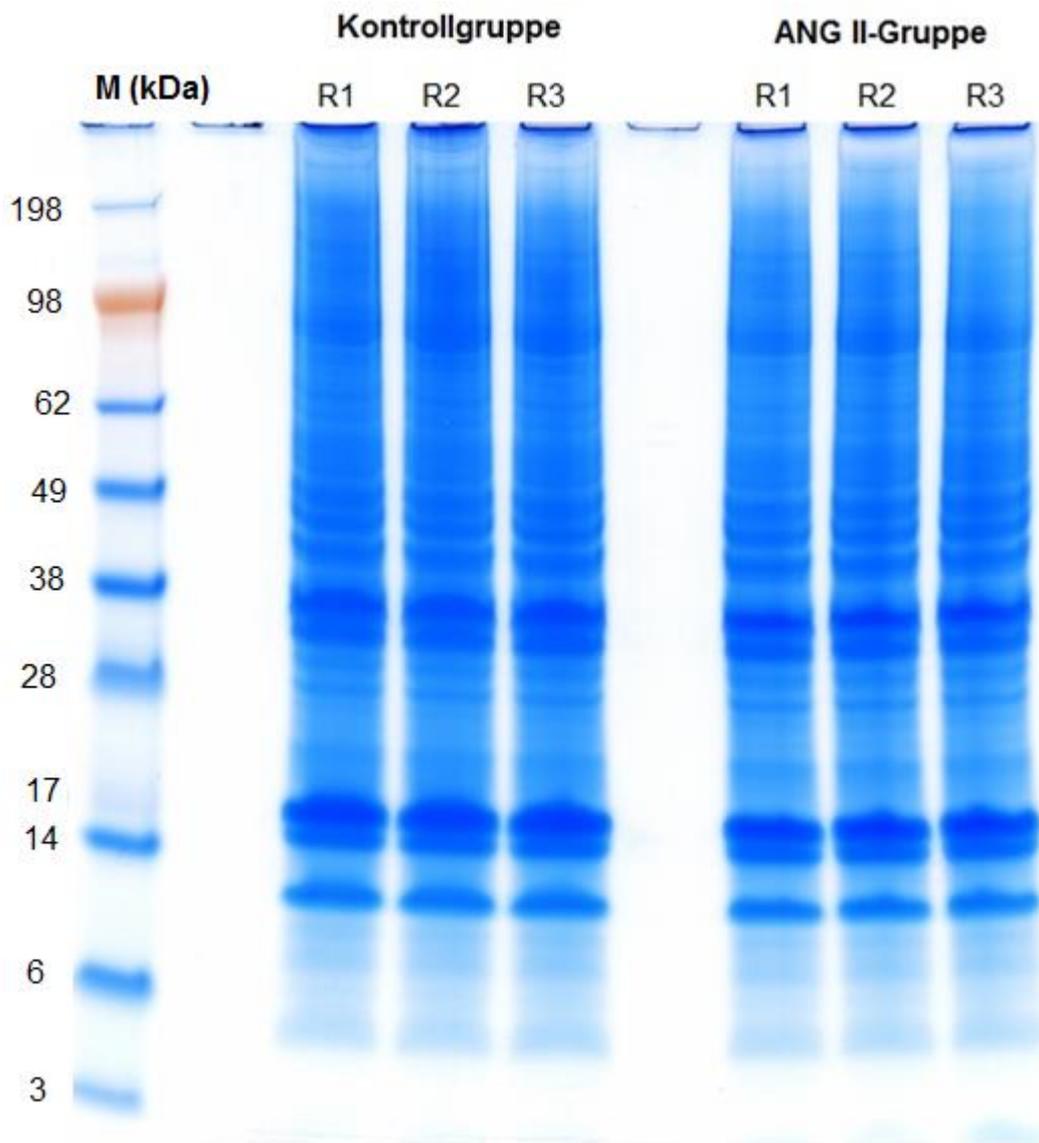


Abbildung 30: Gelbanden des 1DE-Gels der Retina für die Kontroll- und die Angiotensin II (ANG II)-Gruppe mit den biologischen Replikaten (R) 1 bis 3 zu je 50 µg. Ganz links befindet sich der Referenzmarker (M)

## Ergebnisse

Durch die proteomische Analyse der Triplikate beider Gruppen konnten mittels MaxQuant insgesamt 985 Proteine in der Retina mit einer FDR < 1% identifiziert werden (siehe Anhang). Es wurden erneut die UniProt Datenbanken von sowohl Maus als auch Mensch für die Suche der Tandem-Massenspektrometrie verwendet. Die Anzahl der identifizierten Proteine in beiden Datenbanken für die Retina ist in Abbildung 31 dargestellt. Die große Mehrzahl der identifizierten Proteine wurden in den Datenbanken für beide Spezies gefunden mit 60,7%, eine höhere Prozentzahl von Proteinen in der Datenbank der Hausmaus (*Mus Musculus*) mit 28,1% und eine geringere Anzahl an Proteinen in der Datenbank des Menschen (*Homo Sapiens*) mit 11,2%.

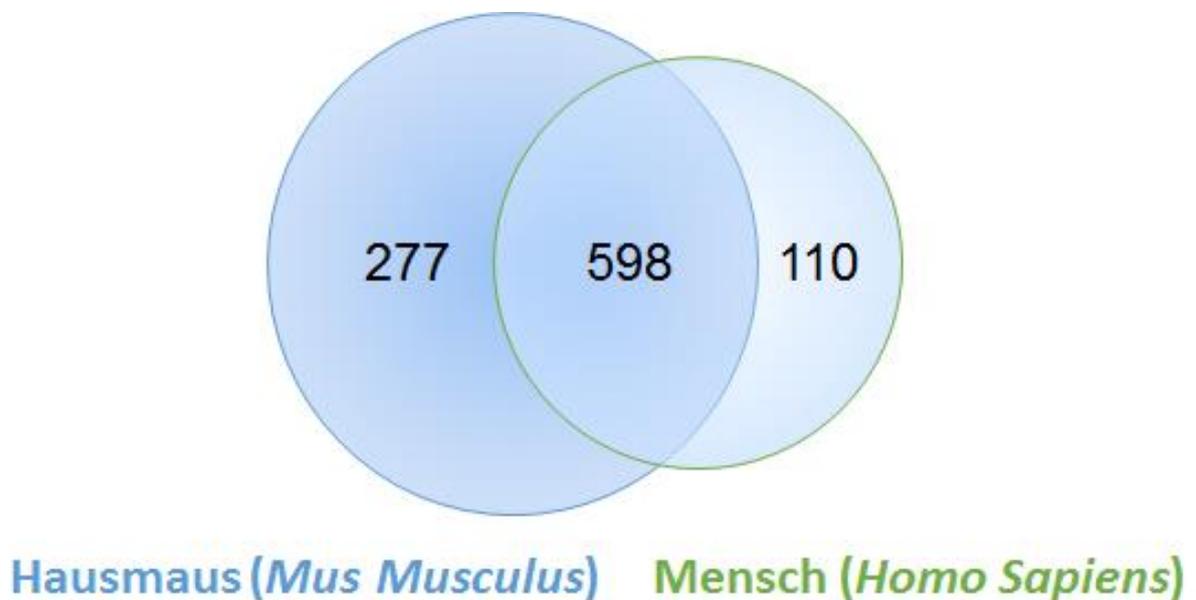


Abbildung 31: Venn-Diagramm für die Retina nach Abgleich mit den Datenbanken für die Hausmaus (blau) und Mensch (grün)

Insgesamt wurden 107 unterschiedlich exprimierte Proteine in den retinalen Proben der ANG-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe gefunden (Tabelle 4). Unter diesen wurde eine höhere Nummer von 68 Proteinen herunterreguliert, während 39 Proteine hochreguliert wurden, wie es in Abbildung 32 grafisch als Heat Map dargestellt ist. Insbesondere einige Crystallin-Proteine wurden signifikant herunterreguliert mit einem p-Wert < 0,001, was als Balkendiagramm in Abbildung 33 grafisch dargestellt ist.

## Ergebnisse

Tabelle 4: Liste der signifikant hoch- oder herunterregulierten Proteine der Retina

Nummer	Protein ID	Gename	p-Wert	t-Test Differenz	Expressionsprofil
1	P24622	Cryaa	2,72E-04	-7,0808	Erniedrigt
2	P23927	Cryab	3,88E-04	-7,07597	Erniedrigt
3	P62696	Crybb2	3,49E-04	-4,58614	Erniedrigt
4	Q99962	SH3GL2	5,62E-03	-3,28319	Erniedrigt
5	P56382	Atp5e	4,54E-02	-3,07145	Erniedrigt
6	O00459	PIK3R2	1,43E-03	-3,06928	Erniedrigt
7	Q9R0P5	Dstn	2,75E-03	-2,4913	Erniedrigt
8	P24527	Lta4h	3,48E-03	-1,98384	Erniedrigt
9	Q5XG69	Fam169a	1,14E-02	-1,92995	Erniedrigt
10	Q99L43	Cds2	1,60E-03	-1,90231	Erniedrigt
11	Q9CZM2	Rpl15	2,94E-03	-1,86923	Erniedrigt
12	O35295	Purb	6,75E-03	-1,80848	Erniedrigt
13	P62889	Rpl30	2,60E-02	-1,58691	Erniedrigt
14	P70404	Idh3g	4,42E-02	-1,56611	Erniedrigt
15	P08752	Gnai2	1,72E-02	-1,5359	Erniedrigt
16	P47911	Rpl6	1,08E-02	-1,39432	Erniedrigt
17	P19096	Fasn	1,39E-03	-1,39088	Erniedrigt
18	P49722	Psm2	5,94E-03	-1,3418	Erniedrigt
19	P47857	Pfkm	4,74E-04	-1,31211	Erniedrigt
20	P05132	Prkaca	1,11E-02	-1,27825	Erniedrigt
21	P60335	Pcbp1	2,90E-02	-1,26593	Erniedrigt
22	Q9WUA3	Pfcp	4,32E-03	-1,14014	Erniedrigt
23	Q9DCJ5	Ndufa8	1,90E-02	-1,13219	Erniedrigt
24	P62317	Snrpd2	3,30E-02	-1,13014	Erniedrigt
25	O88569	Hnrnpa2b1	3,78E-02	-1,09662	Erniedrigt
26	P49194	Rbp3	1,90E-02	-1,03276	Erniedrigt
27	Q99PV0	Prpf8	3,73E-02	-0,95513	Erniedrigt
28	Q91YQ5	Rpn1	3,67E-02	-0,91589	Erniedrigt
29	Q8BG39	Sv2b	2,08E-02	-0,82627	Erniedrigt
30	C0HKE9	Hist1h2ah	4,63E-02	-0,78916	Erniedrigt
31	Q8R5M8	Cadm1	3,65E-03	-0,77945	Erniedrigt
32	P12382	Pfkl	4,28E-03	-0,77155	Erniedrigt
33	Q7L0J3	SV2A	8,12E-03	-0,76879	Erniedrigt
34	P99028	Uqcrh	4,45E-02	-0,75033	Erniedrigt
35	Q8CJ40	Crocc	3,05E-02	-0,73339	Erniedrigt
36	P63027	VAMP2	2,10E-02	-0,72328	Erniedrigt
37	Q78IK2	Usmg5	3,12E-02	-0,72205	Erniedrigt
38	P97351	Rps3a	4,93E-03	-0,66802	Erniedrigt

## Ergebnisse

39	Q9D0K2	Oxct1	2,72E-02	-0,63335	Erniedrigt
40	O35600	Abca4	1,06E-02	-0,60558	Erniedrigt
41	Q60931	Vdac3	3,90E-02	-0,58788	Erniedrigt
42	O94925	GLS	1,84E-02	-0,58348	Erniedrigt
43	Q8K4Z3	Apoa1bp	2,26E-02	-0,57417	Erniedrigt
44	P12970	Rpl7a	3,08E-02	-0,54383	Erniedrigt
45	P62962	Pfn1	3,94E-02	-0,53287	Erniedrigt
46	Q8BHN3	Ganab	3,95E-03	-0,50741	Erniedrigt
47	P12367	Prkar2a	4,93E-02	-0,47591	Erniedrigt
48	P43024	Cox6a1	3,75E-02	-0,47528	Erniedrigt
49	P23440	Pde6b	3,86E-02	-0,47132	Erniedrigt
50	Q9DCX2	Atp5h	2,10E-02	-0,44978	Erniedrigt
51	Q91X97	Ncald	2,84E-02	-0,44873	Erniedrigt
52	Q62261	Sptbn1	7,74E-03	-0,43759	Erniedrigt
53	Q99LC5	Etfa	2,53E-02	-0,43602	Erniedrigt
54	Q6ZQ38	Cand1	4,23E-02	-0,43159	Erniedrigt
55	P25444	Rps2	3,30E-02	-0,40829	Erniedrigt
56	Q9CQA3	Sdhb	1,53E-02	-0,40337	Erniedrigt
57	P05213	Tuba1b	1,11E-02	-0,37141	Erniedrigt
58	P58252	Eef2	2,12E-03	-0,37075	Erniedrigt
59	P98160	HSPG2	4,07E-02	-0,33378	Erniedrigt
60	O35129	Phb2	2,13E-02	-0,32394	Erniedrigt
61	P24549	Aldh1a1	2,61E-02	-0,32276	Erniedrigt
62	Q99P72	Rtn4	4,07E-02	-0,31842	Erniedrigt
63	P15880	RPS2	2,29E-02	-0,31404	Erniedrigt
64	Q99L13	Hibadh	4,45E-02	-0,29218	Erniedrigt
65	P17427	Ap2a2	3,04E-02	-0,26769	Erniedrigt
66	Q68FD5	Cltc	2,04E-02	-0,26228	Erniedrigt
67	Q99KI0	Aco2	1,30E-02	-0,25742	Erniedrigt
68	P52272	HNRNPM	1,28E-02	-0,15343	Erniedrigt
69	Q9D6R2	Idh3a	4,49E-02	0,247908	Erhöht
70	P19157	Gstp1	9,79E-04	0,275457	Erhöht
71	P41216	Acs1	2,42E-02	0,295104	Erhöht
72	P00505	GOT2	1,54E-02	0,330928	Erhöht
73	P15409	Rho	2,22E-02	0,33205	Erhöht
74	P08238	HSP90AB1	3,77E-02	0,335649	Erhöht
75	Q8C854	Myef2	2,38E-02	0,341424	Erhöht
76	P49368	CCT3	4,87E-03	0,401889	Erhöht
77	P51150	Rab7a	2,11E-03	0,426415	Erhöht
78	P20612	Gnat1	3,03E-02	0,427828	Erhöht
79	Q9Z1G4	Atp6v0a1	3,65E-02	0,446644	Erhöht
80	P10852	Slc3a2	1,41E-02	0,467787	Erhöht

## Ergebnisse

81	Q922R8	Pdia6	6,08E-03	0,468273	Erhöht
82	P14733	Lmnb1	3,73E-02	0,477271	Erhöht
83	Q8VE97	Srsf4	3,81E-02	0,486447	Erhöht
84	Q8VH51	Rbm39	1,58E-02	494807	Erhöht
85	P10809	HSPD1	4,54E-02	0,506552	Erhöht
86	P62987	UBA52	4,27E-02	0,511976	Erhöht
87	Q8BH59	Slc25a12	2,80E-02	0,528165	Erhöht
88	O70456	Sfn	2,66E-02	0,555655	Erhöht
89	P49821	NDUFV1	1,12E-02	0,570836	Erhöht
90	P61294	Rab6b	1,09E-02	0,627135	Erhöht
91	Q61990	Pcbp2	1,52E-03	0,634974	Erhöht
92	P61088	UBE2N	3,99E-02	0,640079	Erhöht
93	Q9Y639	NPTN	3,07E-02	0,680681	Erhöht
94	Q9ES97	Rtn3	2,46E-02	0,778431	Erhöht
95	Q9CZU6	Cs	1,73E-02	0,798567	Erhöht
96	Q8BVI4	Qdpr	5,99E-03	0,84552	Erhöht
97	Q15907	RAB11B	7,64E-03	0,855483	Erhöht
98	P62269	RPS18	3,35E-02	0,915475	Erhöht
99	Q60597	Ogdh	4,32E-04	0,928735	Erhöht
100	P31930	UQCRC1	4,10E-02	0,931268	Erhöht
101	P59999	Arpc4	3,48E-02	1,07473	Erhöht
102	P35980	Rpl18	3,05E-03	1,14949	Erhöht
103	Q64520	Guk1	4,85E-03	1,21435	Erhöht
104	O55022	Pgrmc1	2,07E-04	1,7215	Erhöht
105	P24472	Gsta4	4,87E-05	2,71622	Erhöht
106	A6NIH7	UNC119B	3,55E-02	3,47395	Erhöht
107	B2RR83	Ythdc2	3,40E-02	4,03104	Erhöht

## Ergebnisse

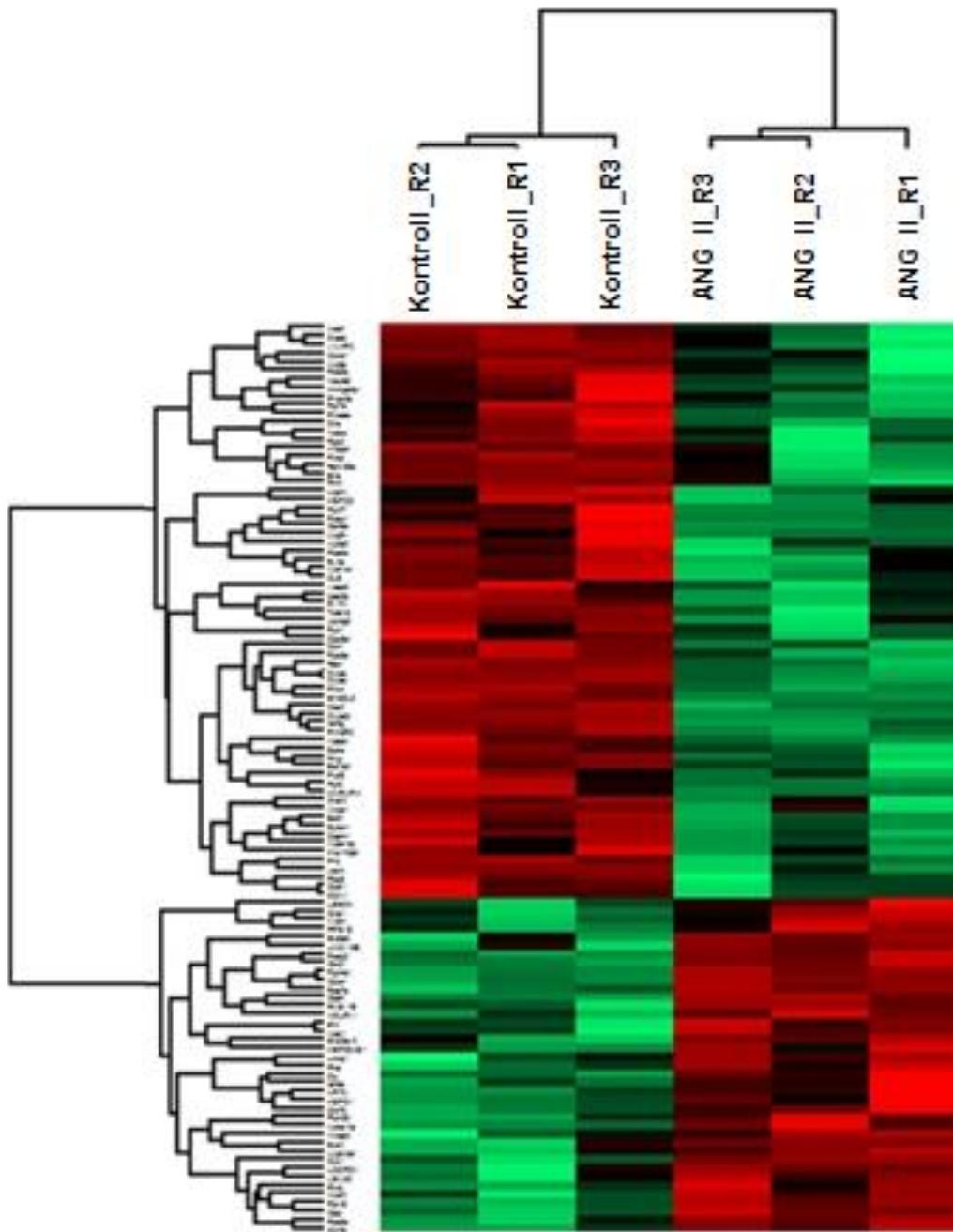


Abbildung 32: *Heat Map* für die Retina der unterschiedlich exprimierten Proteine von Kontroll- gegenüber Angiotensin II-Gruppe; rot = hochreguliert, grün = herunterreguliert; je heller die Farbe desto intensiver die Abundanz

## Ergebnisse

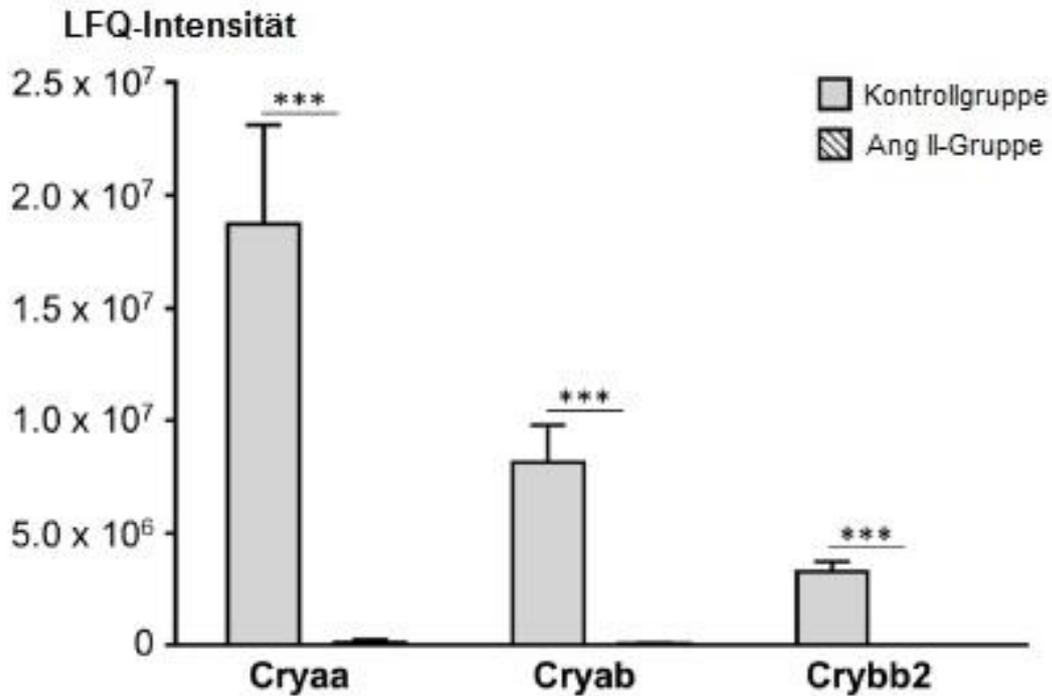


Abbildung 33: Balkendiagramm von stark herunterregulierten Proteinen der Retina

Analog zu den Proteinen der Arteria Ophthalmica zeigt das Netzwerk der Protein-Protein-Interaktion (PPI) der unterschiedlich exprimierten retinalen Proteine, dass eine hohe Anzahl von Proteinen ebenfalls im Zytoplasma und innerhalb der Plasmamembran ansässig und auch aus Enzymen zusammengesetzt ist, wie es in Abbildung 34 dargestellt ist. Im Vergleich zur Arteria Ophthalmica ist aber eine deutlich größere Gruppe retinaler Proteine im Nukleus lokalisiert. Nur sehr wenige Proteine befinden sich im Extrazellularraum und an anderen Orten. Aus Gründen der Übersichtlichkeit werden an dieser Stelle nicht alle der 107 unterschiedlich exprimierten Proteine der Retina und deren Lokalisation im Zellkompartiment benannt. Für die einzelnen p-Werte der Proteine und deren Protein ID siehe Tabelle 4. Abbildung 35 fasst die Verteilung aller unterschiedlich exprimierten Proteine der Retina in ihre jeweiligen Proteintypen als Kuchendiagramm zusammen.

# Ergebnisse

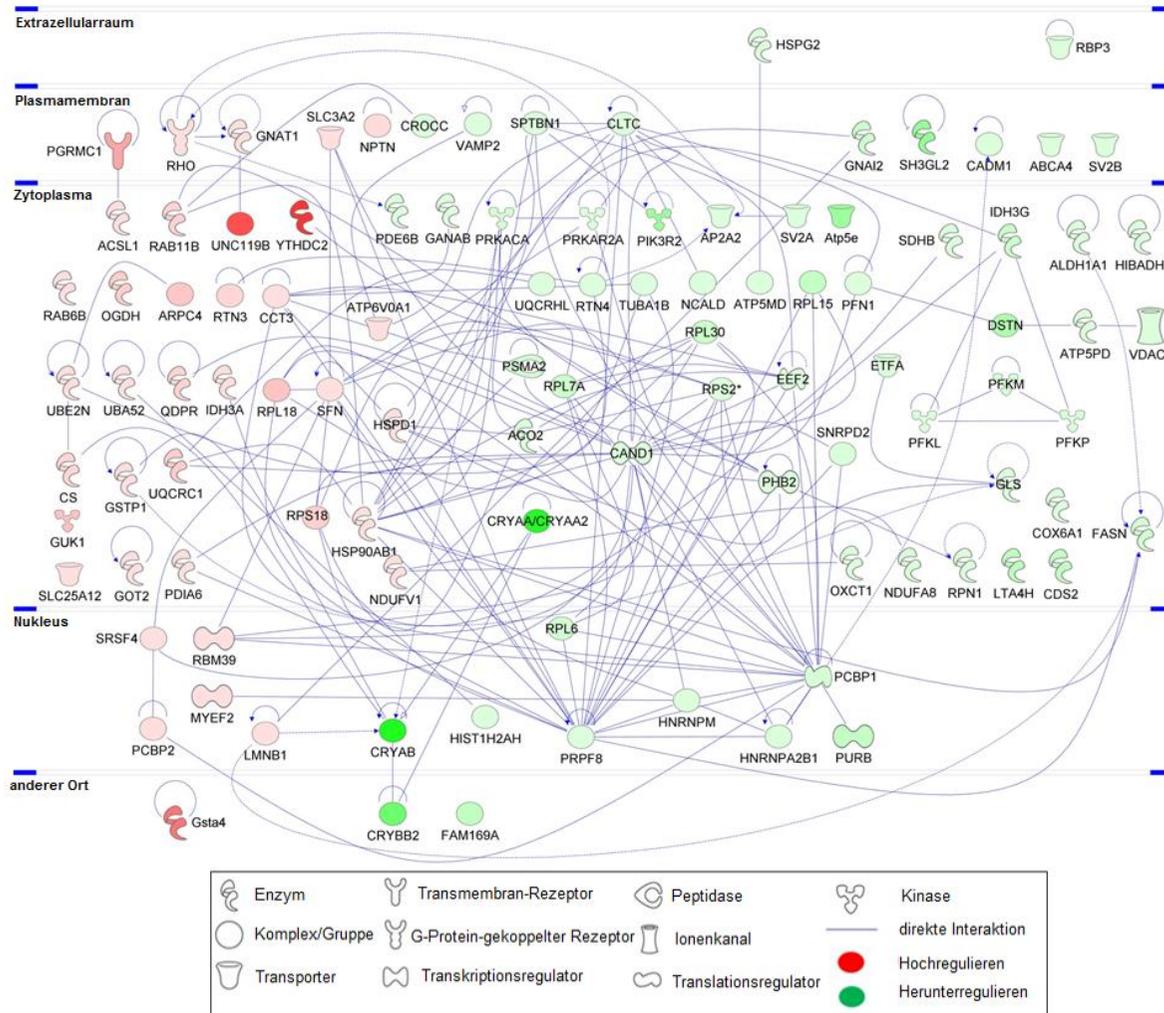


Abbildung 34: Netzwerkanalyse (*ingenuity pathway analysis*) für die Retina der unterschiedlich exprimierten Proteine von Kontroll- gegenüber Angiotensin II-Gruppe eingeteilt nach Lokalisation im Zellkompartiment. Interaktionen zwischen Proteinen werden mit Linien dargestellt. Die unterschiedlich regulierten Expressionsprofile sind farblich gekennzeichnet: So sind rot gefärbte Proteine höher und grün gefärbte niedriger reguliert. Außerdem lässt sich die Signifikanz der Ergebnisse an der Intensität der Färbung ablesen: je intensiver die Farbe, desto höher die Signifikanz

## Ergebnisse

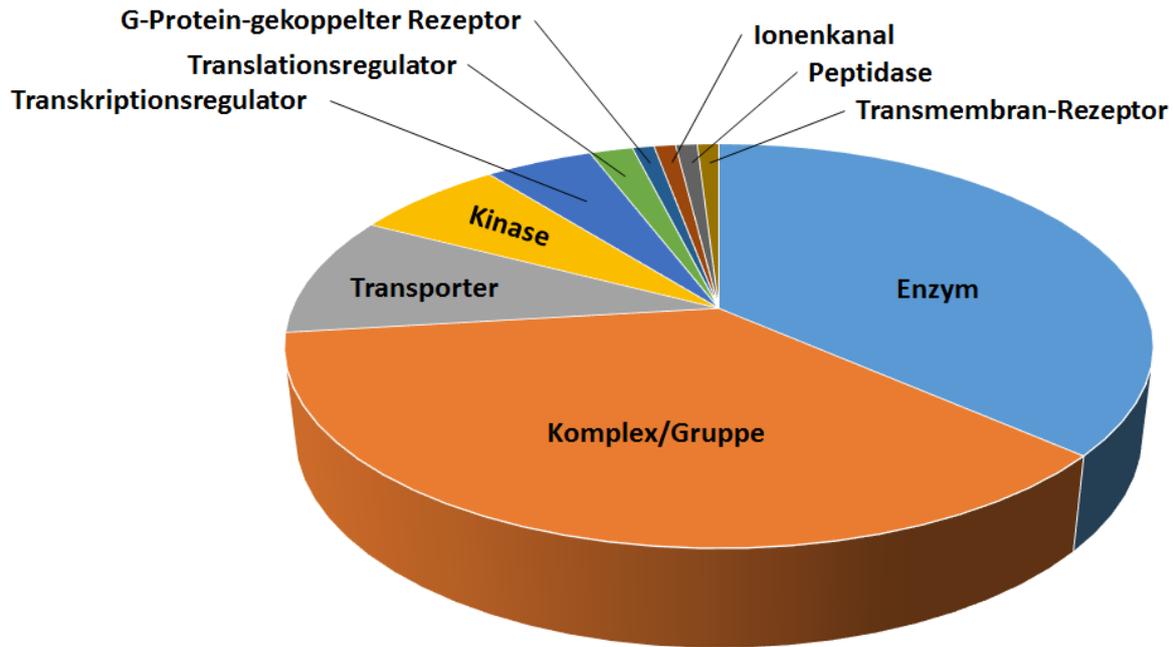


Abbildung 35: Kuchendiagramm der Verteilung der unterschiedlich exprimierten Proteine der Retina in ihre jeweiligen Proteintypen

Die hierdurch am meisten beeinflussten Signalwege sind *oxidative phosphorylation* (z-Score = -1.143), *eukaryotic translation initiation factor (EIF2) signaling* (z-Score = -1.143), *adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) signaling* (z-Score = -1.414), *PPAR $\alpha$  /RXR $\alpha$  activation* (z-Score = -1,633), *sirtuin signaling pathway* (z-Score = -0.378), *synaptogenesis signaling pathway* (z-Score = -1.89) und *CREB signaling in neurons* (z-Score = -2) wie es in Abbildung 36 dargestellt ist. All diese Signalwege weisen eine verringerte Aktivität auf, da die z-Scores negativ (in Abbildung 36 blau gefärbt) sind. Auffallend ist, dass alle Proteine, die den AMPK-Signalweg beeinflussen, bestehend aus *elongation factor 2 (Eef2)*, *fatty acid synthase (Fasn)*, *ATP-dependent 6-phosphofruktokinase, liver type (Pfk1)*, *ATP-dependent 6-phosphofruktokinase, muscle type (Pfkm)*, *ATP-dependent 6-phosphofruktokinase, platelet type (Pfkp)*, *phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit beta (PIK3R2)*, *cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha (Prkaca)* und *cAMP-dependent protein kinase type II-alpha regulatory subunit (Prkar2a)*, herunterreguliert wurden. Lediglich ein Signalweg zeigt, auf Grund des positiven z-Scores, eine gesteigerte Aktivität: *apelin adipocyte signaling pathway* (z-Score = 1). Interessanterweise sind die signifikant am meisten beeinflussten Signalwege *tricarboxylic acid (TCA) cycle* (p-Wert = 1.09E-09) und *mitochondrial dysfunction* (p-Wert = 7.31E-09). Letzterer ist repräsentiert durch zahlreiche Proteine, die in der Atmungskette exprimiert werden.

## Ergebnisse

Die danach durchgeführte Analyse konnte den Proteinen hauptsächlich die Funktionen *developmental disorder* (p-Wert = 5.69E-09), *ophthalmic disease* (p-Wert = 5.69E-09), *organismal injury and abnormalities* (p-Wert = 5.69E-09), *post-translational modification* (p-Wert = 6.02E-09), *protein folding* (p-Wert = 6.02E-09), *RNA damage and repair* (p-Wert = 4.92E-08), *protein synthesis* (p-Wert = 4.11E-07), *nervous system development and function* (p-Wert = 5.36E-07), *visual system development and function* (p-Wert = 5.36E-07), *cellular compromise* (p-Wert = 5.09E-06), und *cellular function and maintenance* (p-Wert = 7.41E-06), *neurological disease* (p-Wert = 1.41E-05), *cell death and survival* (p-Wert = 2.14E-05), *inflammatory response* (p-Wert = 2.6E-05), *cell-to-cell signaling and interaction* (p-Wert = 6.4E-05), *molecular transport* (p-Wert = 6.4E-05), *cell signaling* (p-Wert = 2.85E-04), *connective tissue disorders* (p-Wert = 4.65E-03) und *free radical scavenging* (p-Wert = 4.96E-03) zuordnen, was in Abbildung 37 logarithmisch dargestellt ist.

## Ergebnisse

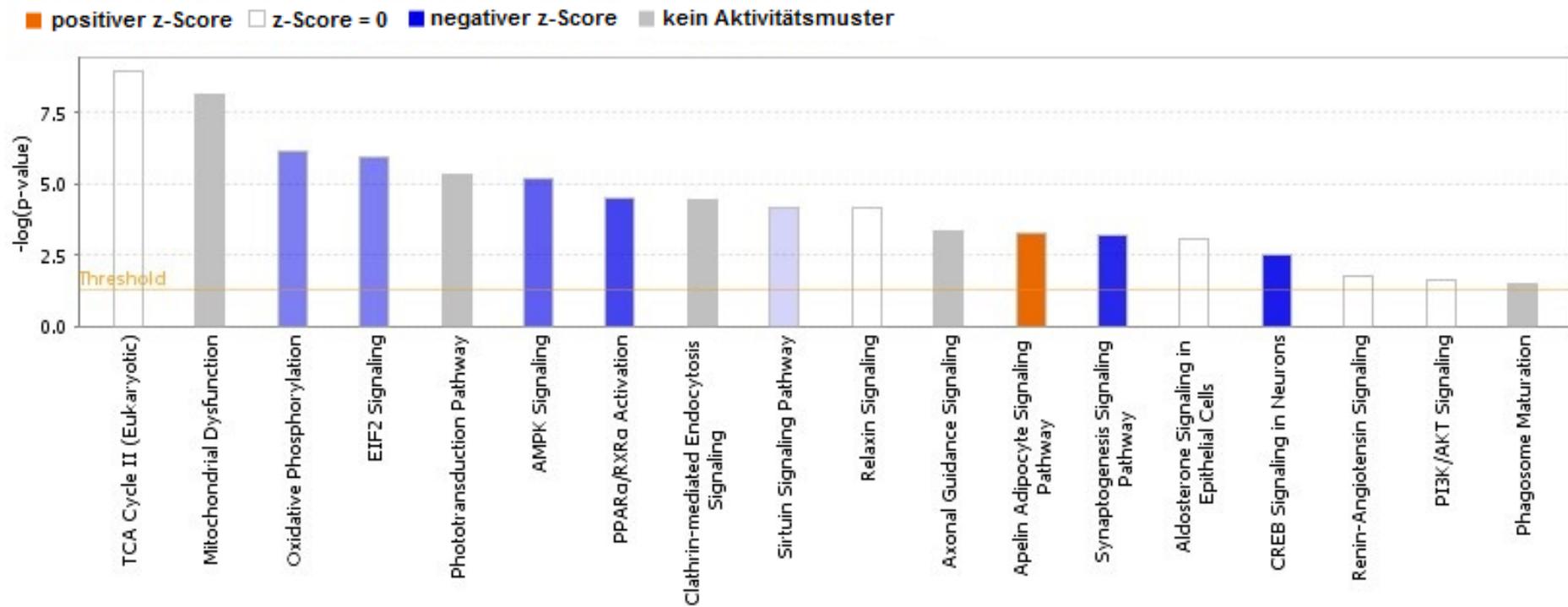


Abbildung 36: Balkendiagramm der signifikant beeinflussten Signalwege der unterschiedlich exprimierten Proteine der Retina

## Ergebnisse

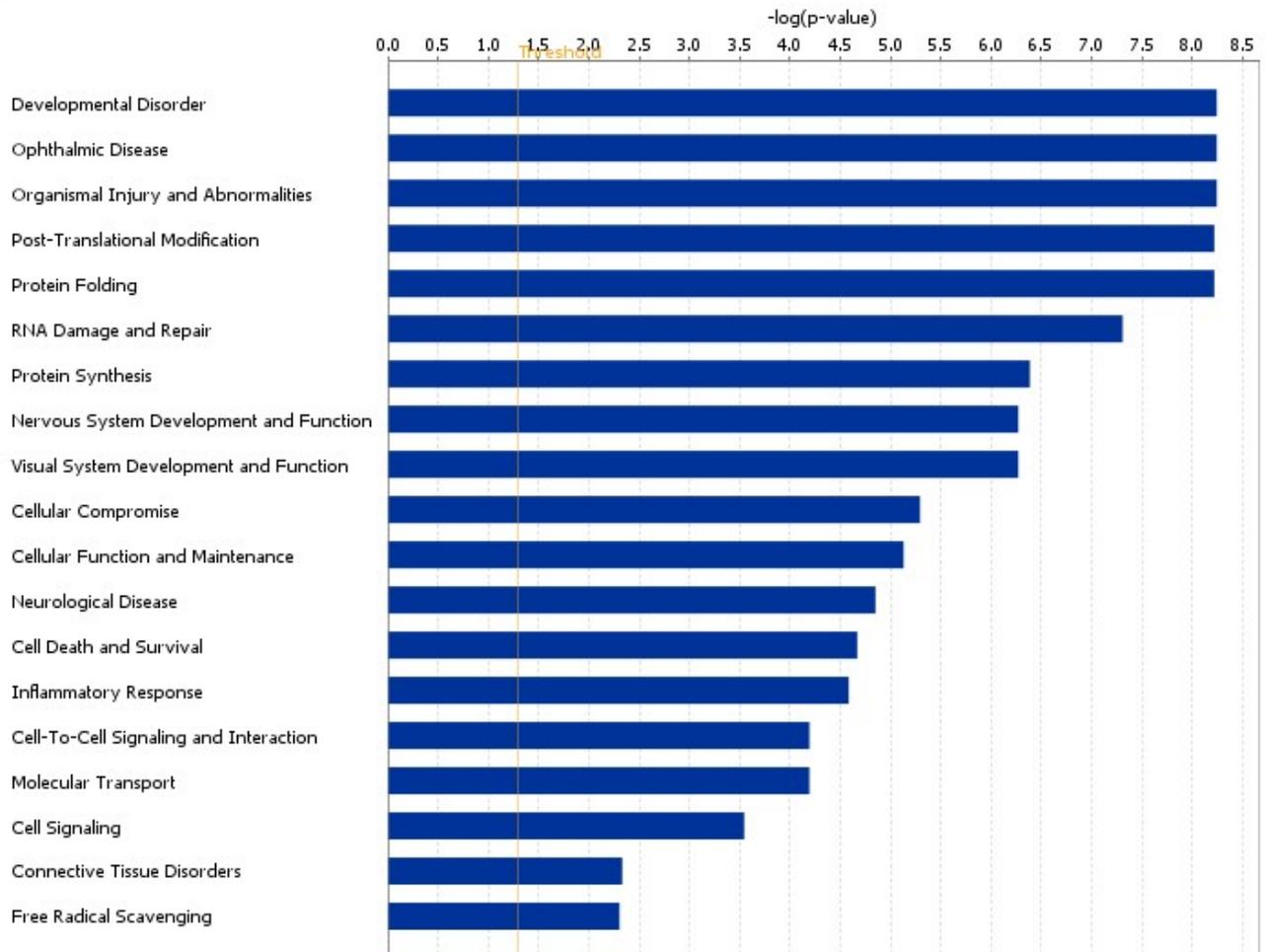


Abbildung 37: Balkendiagramm der signifikant beeinflussten Funktionen, welche den unterschiedlich exprimierten Proteinen der Retina zugeordnet sind

Die Analyse der *Upstream*-Regulatoren in der Retina ergab, dass TP53 (p-Wert =  $8.13E-11$ , z-Score = -0.121), mTOR (p-Wert =  $7.65E-07$ , z-Score = -1.897), IL4 (p-Wert =  $2.22E-03$ , z-Score = -2.538) und MYOD1 (p-Wert =  $2.17E-03$ , z-Score = -2.216) gehemmt, während RICTOR (p-Wert =  $1.66E-13$ , z-Score = 1.5) und PDX1 (p-Wert =  $1.25E-02$ , z-Score = 2) aktiviert wurden. Abbildung 38 zeigt die genannten *Upstream*-Regulatoren und deren Interaktion mit anderen Proteinen.

# Ergebnisse

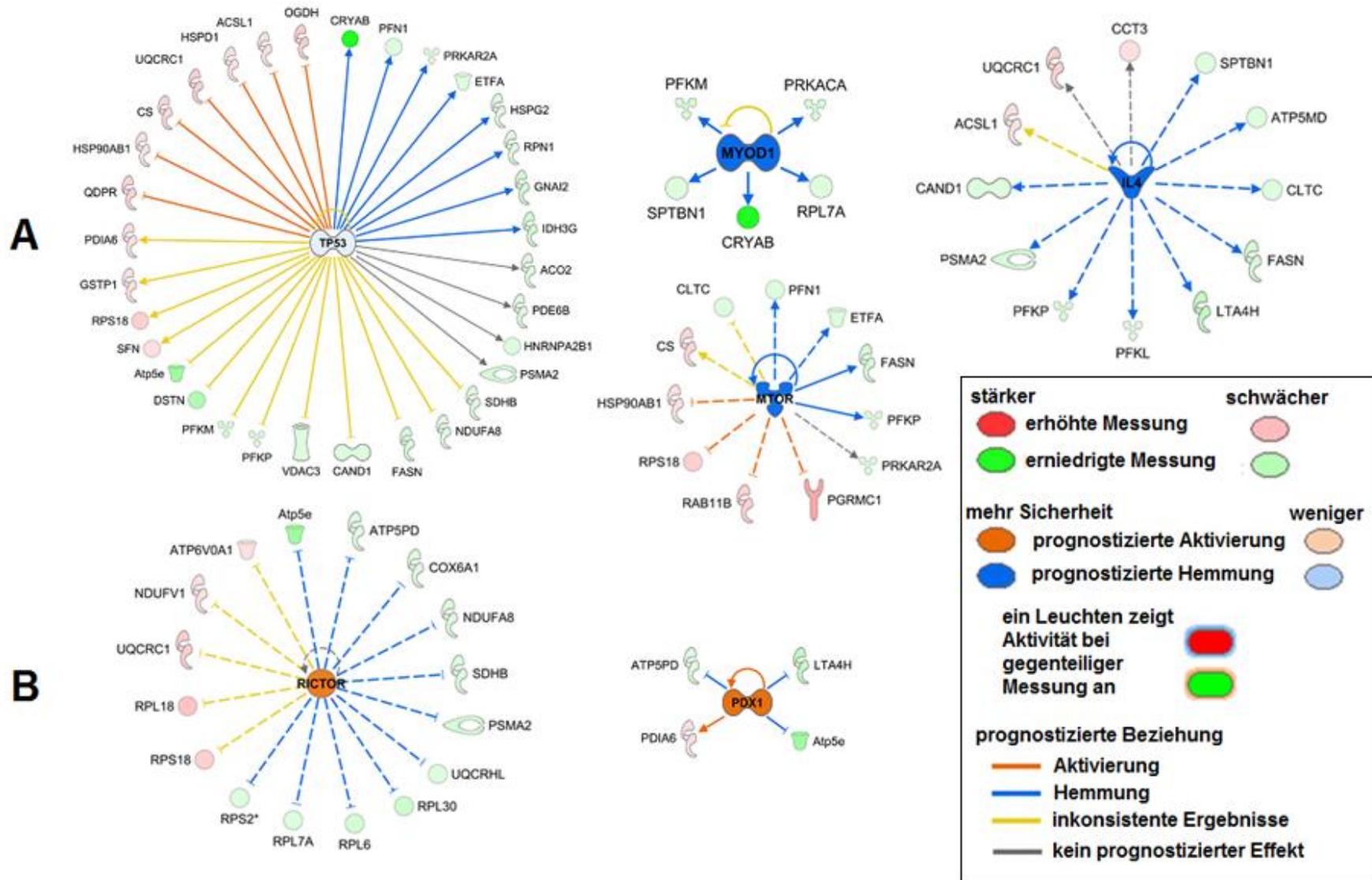


Abbildung 38: Ausgewählte prognostizierte *Upstream*-Regulatoren, welche in der Retina entweder gehemmt (A) oder aktiviert (B) wurden [121]; rot gefärbte Proteine sind höher und grün gefärbte niedriger reguliert; orange gefärbte Interaktionen bedeuten Aktivierung, blau gefärbte Hemmung

### 4.2.3 Ergebnisse der RT-qPCR

Um die MS-basierte proteomische Analyse zu validieren, wurde als zweite davon unabhängige Methode eine *real-time quantitative polymerase chain reaction* (RT-qPCR) von ausgewählten Proteinen, die als signifikant unterschiedlich exprimiert und von physiologischer Wichtigkeit in beiden Gefäßsystemen identifiziert wurden, durchgeführt. Die Genexpression von Sept7, Sod1, Tnnt3 und Tpm3 in der Augenarterie entsprachen der Abundanz ihrer jeweiligen Proteine. Die ersten beiden Gene wurden signifikant herunterreguliert, wohingegen letztere signifikant hochreguliert wurden. Auf der anderen Seite unterdrückte Angiotensin II die Genexpression in der Retina der Gene Cryab und Crybb2, was ebenfalls dem Expressionsprofil der jeweiligen Proteine entspricht. Die Ergebnisse der RT-qPCR sind als Balkendiagramme in Abbildung 39 dargestellt. Hingegen wurde die Expression des Gens Cryaa auf dem mRNA-Level in der Retina nicht beeinflusst, was in Abbildung 40 in der oberen Reihe ganz rechts als Balkendiagramm dargestellt ist. Es ist bemerkenswert, dass die Expression dieser ausgewählten Gene hochspezifisch für das jeweilige Gewebe ist, was durch die nicht-signifikante Expression derselben Gene in den jeweiligen anderen Proben verdeutlicht wird. Dementsprechend wurde die Expression der Gene Cryaa, Cryab und Crybb2 auf dem mRNA-Level in der Retina sowie die Expression der Gene Sept7, Sod1, Tnnt3 und Tpm3 auf dem mRNA-Level in der Arteria Ophthalmica nicht beeinflusst, was durch die übrigen Balkendiagramme in Abbildung 40 verdeutlicht wird.

## Ergebnisse

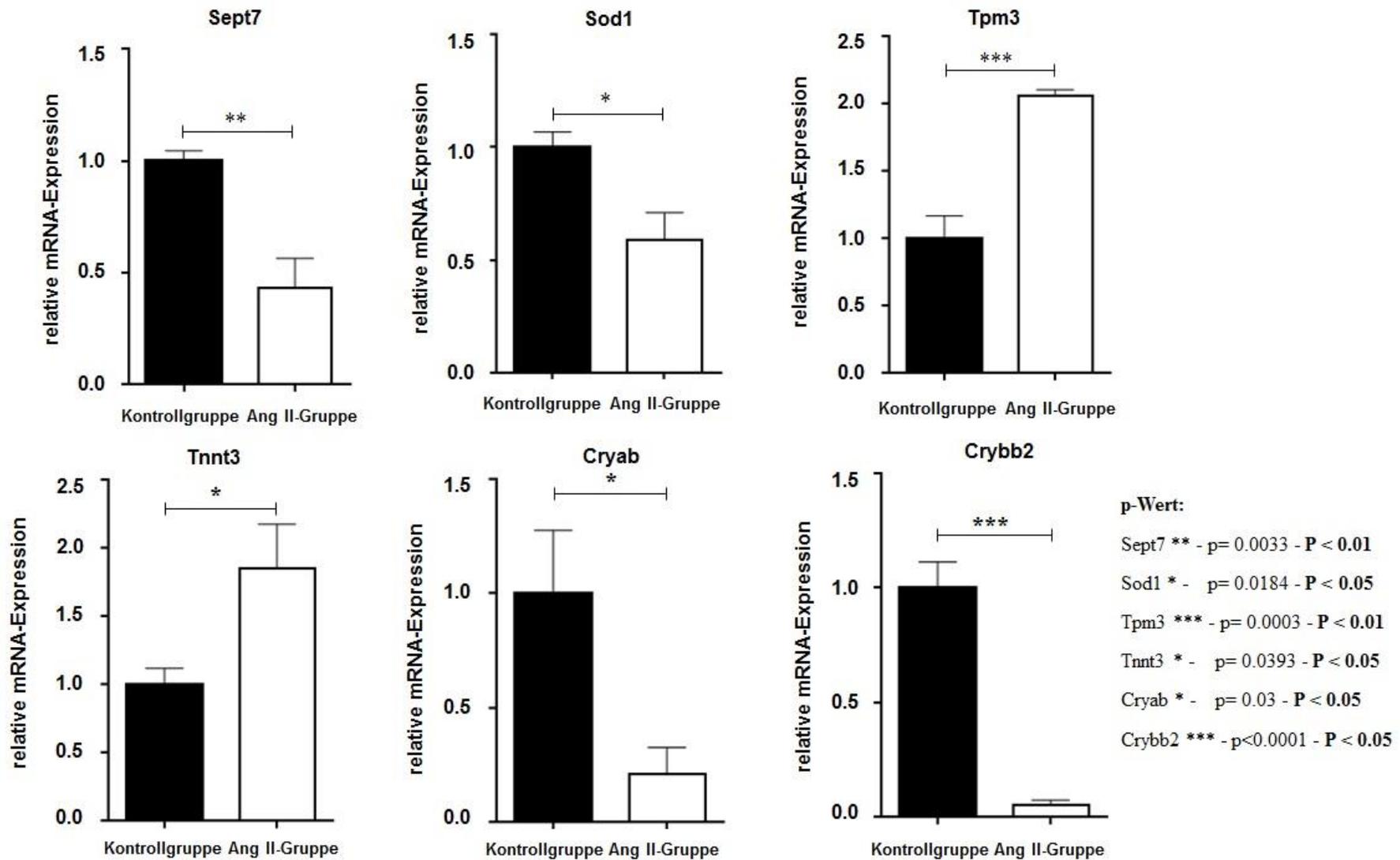


Abbildung 39: Balkendiagramme der Ergebnisse der RT-qPCR von ausgewählten, signifikant unterschiedlich exprimierten Proteinen

## Ergebnisse

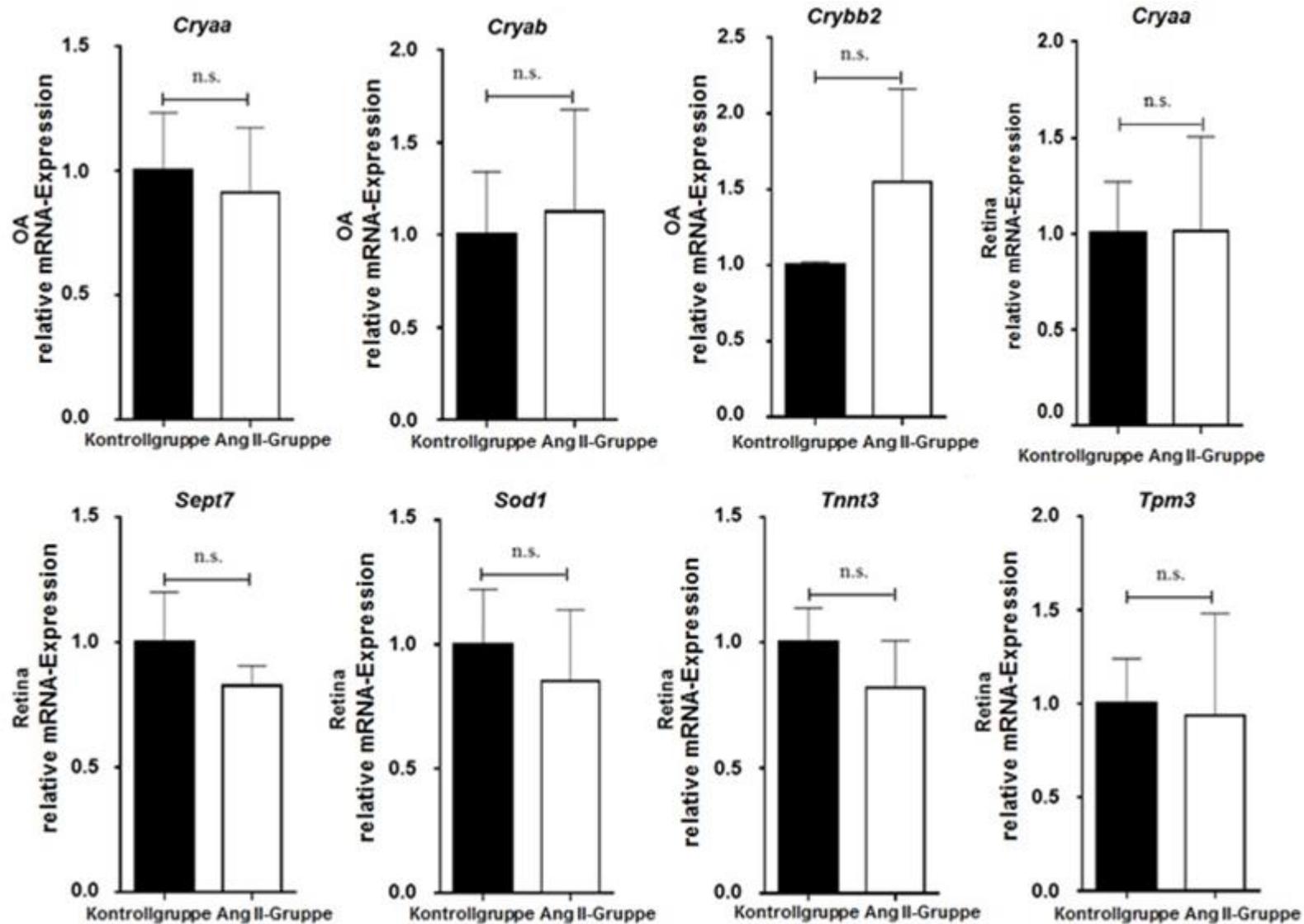


Abbildung 40: Balkendiagramme der Ergebnisse der RT-qPCR von Retina-spezifischen Proteinen in der Arteria Ophthalmica und von Arteria Ophthalmica-spezifischen Proteinen in der Retina sowie von *Cryaa* in der Retina obere Reihe rechts (n.s. = nicht signifikant)

### 5. Diskussion

Das proteomische Charakterisieren von verschiedenen okulären Gewebeproben ist ein wichtiger und unverzichtbarer erster Schritt, um die molekularen Mechanismen und Signalwege zu beleuchten, die an einem Gesundheits- oder Krankheitszustand beteiligt sind. Um hochqualifizierte Daten zu erhalten und die Reproduzierbarkeit dieser Ergebnisse zu garantieren, sind optimierte Schritte zur vorgehenden Probenvorbereitung unerlässlich. Durch den Mangel an spezifischen Methoden, um suffiziente Mengen von Proteinen gerade bei geringen Mengen von arteriellen Proben zu gewinnen, war es notwendig ein verbessertes Versuchsprotokoll für eine exaktes, hocheffiziente und MS-kompatible Probenvorbereitung zur Verfügung zu stellen. Dabei spielen einige Aspekte dieses Versuchsprotokolls eine kritische Rolle, welche streng kontrolliert werden müssen, um eine optimale Durchführbarkeit der nachfolgenden massenspektrometrischen Analyse zu garantieren. Als Erstes ist es unabdingbar für die optimale Proteinextraktion, dass die Homogenisierung unabhängig von der Probenmenge vollständig durchgeführt wird. In diesem Fall wurde eine vollständige Gewebsauflösung durch das Mischen der Probe mit unterschiedlich großen Beads im Bullet Blender erreicht. Die Art und Größe der Beads hängen von der Menge und vom Typ des Gewebes ab. Zirkonoxid-Beads eignen sich besonders gut für mittelharte Gewebe wie Blutgefäße. Als Zweites empfiehlt sich das Trennen von Überstand und Pellet sowie für deren enzymatische Verdauung und die nachfolgende Proteinextraktion das Verwenden von speziell für diesen Zweck entwickelten Kits. Dieser Schritt ist vor allem notwendig, um besonders schwere Proteine wie Transmembran-Proteine extrahieren zu können. Das Pellet lässt sich vor allen Dingen durch Ultraschall besonders gut auflösen. So kann verhindert werden, dass rares Probenmaterial nicht unnötig verloren geht wie es beispielsweise bei Methoden, die auf dem Schütteln von Proben beruhen, der Fall ist. Drittens müssen alle Schritte der Probenvorbereitung bei einer niedrigen Temperatur von ca. 4°C durchgeführt werden, um auch nur minimalsten Proteindenaturierungen vorzubeugen. Viertens sollte darauf verzichtet werden, die Proben zwischenzeitlich zu oft einzufrieren und wieder aufzutauen, da dies zu einer Verschlechterung der Probenqualität führt. Schließlich hat es eine hohe Priorität in der Probenvorbereitung Verunreinigungen zu entfernen, um eine Interferenz dieser mit dem Gel, der enzymatischen Verdauung oder der MS-Analyse zu verhindern [122, 123]. Diese

## Diskussion

Verunreinigungen interferieren häufig gerade bei der gelelektrophoretischen Auftrennung, was visuell direkt am 1DE-Gel erkannt werden kann, wie es in Abbildung 20 gezeigt ist. Um diesen zuvorzukommen, wird trotz minimalen Verlusten von Proteinen das Verwenden von Filtern zur Probenaufreinigung wärmstens empfohlen. Obwohl das entwickelte experimentelle Protokoll die wichtigsten Optimierungsschritte der Probenvorbereitung für eine optimale MS-Analyse bietet, sind diesem zwei Grenzen gesetzt. Als Erstes wurden sPCA-Proben von zwei Schweineaugen gepoolt, um suffiziente Mengen an Gewebe zu erhalten. Da diese randomisiert vom lokalen Schlachthof geliefert wurden, kann nicht sichergestellt sein, dass die Augen vom gleichen Tier stammen. Das Poolen von Proben mildert stets interindividuelle Variationen [117, 124]. Nichtsdestotrotz kann das geschilderte Versuchsprotokoll abhängig von der Menge der verfügbaren Proben auch für eine individuelle Probenvorbereitung angewandt werden. Zweitens wurde das dargestellte Versuchsprotokoll spezifisch für eine Fraktionierung mittels 1DE-Gel entwickelt. Die Kompatibilität der Methode mit *top-down* Ansätzen oder anderen Fraktionierungsmethoden müssen weitergehend untersucht werden. Zusammenfassend bietet der beschriebene Arbeitsablauf trotz der geschilderten Grenzen einen einfachen, aber dennoch effizienten Versuchsansatz zur Probenvorbereitung gerade für die Analyse von kleinen Mengen von Blutgefäßen. Diese Methode kann außerdem für MS-basierte proteomische Analysen von anderen Zell- oder Gewebeproben angewandt werden.

Dem pleiotropen Hormon Angiotensin II als zentralem Molekül des multifunktionellen Renin-Angiotensin-System (RAS) ist es möglich, vor allem im Kreislaufsystem unzählige zelluläre Antworten zu induzieren [125-127]. Deshalb wurden in den letzten Jahren erhebliche Versuche unternommen, Angiotensin II-induzierten oxidativen Stress und die zugrundeliegenden Veränderungen in der Funktionalität diverser Blutgefäße zu erforschen, welche stetig unser Verständnis der Rolle von Angiotensin II in verschiedenen Geweben und Zellen erweitert haben [8, 71, 128-130]. An diese Studien anknüpfend hat sich diese Arbeit bemüht die eingebaute zelluläre Antwort auf die akute Bewältigung von Angiotensin II in zwei unterschiedlichen okulären Gefäßbetten, nämlich Arteria Ophthalmica und Retina, durch einen umfassenden proteomischen Ansatz zu beleuchten.

## Diskussion

Die mit der Ingenuity Pathway Analyse-Software ermittelten Signalwege der unterschiedlich exprimierten Proteine beider Gewebetypen können in Abbildung 42 miteinander verglichen werden. Es sind die zehn häufigsten signifikant beeinflussten Signalwege der Retina im direkten Vergleich zur Arteria Ophthalmica dargestellt. Eine markante Erkenntnis dieser Ergebnisse ist, dass außer der *apelin adipocyte signaling pathway*, welcher aktiviert wurde, alle übrigen Signalwege in der Retina durch Angiotensin II in ihrer Aktivität vermindert wurden. Auf der Gegenseite sind die zwei signifikant am meisten beeinträchtigt Signalwege *integrin-linked kinase (ILK) signaling* und *actin cytoskeleton signaling*, die in den Proben der Arteria Ophthalmica durch Angiotensin II aktiviert wurden. Allerdings zeigen beide Gefäßsysteme ein ähnliches Expressionsmuster an einer Hemmung des *sirtuin signaling pathway*.

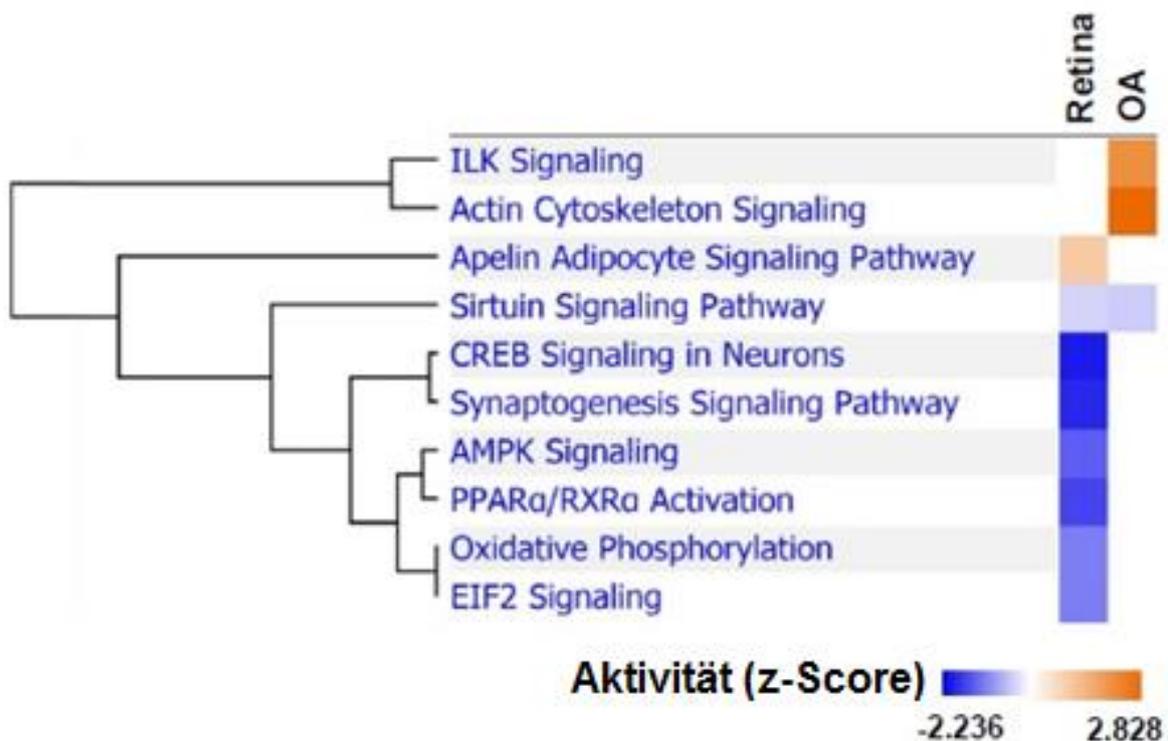


Abbildung 41: Top 10-Signalwege der Retina und der Arteria Ophthalmica (OA) im direkten Vergleich. Die blaue Farbe weist auf verminderte und die orangene Farbe auf erhöhte Aktivität je nach Intensität der Farbe in Abhängigkeit des z-Scores hin

Interessanterweise sind die am meisten beeinträchtigt biologischen Funktionen der Proteine der Augenarterie *contractility of muscle*, *microtubule dynamics*, *cell movement*, *production of reactive oxygen species* und *function of muscle* wie es in Abbildung 43 dargestellt ist. All diese Funktionen erfahren eine Aktivitätssteigerung. Im Gegensatz dazu werden in der Netzhaut *retinal degeneration*, genauer gesagt *degeneration of cells & photoreceptors*, *necrosis* und *DNA damage* aktiviert sowie *cell viability* und *cell*

## Diskussion

*survival*-Prozesse gehemmt. In beiden Proben wurde *der fatty acid metabolismus* gehemmt, signifikant mehr in der Retina im Vergleich zur Arteria Ophthalmica.

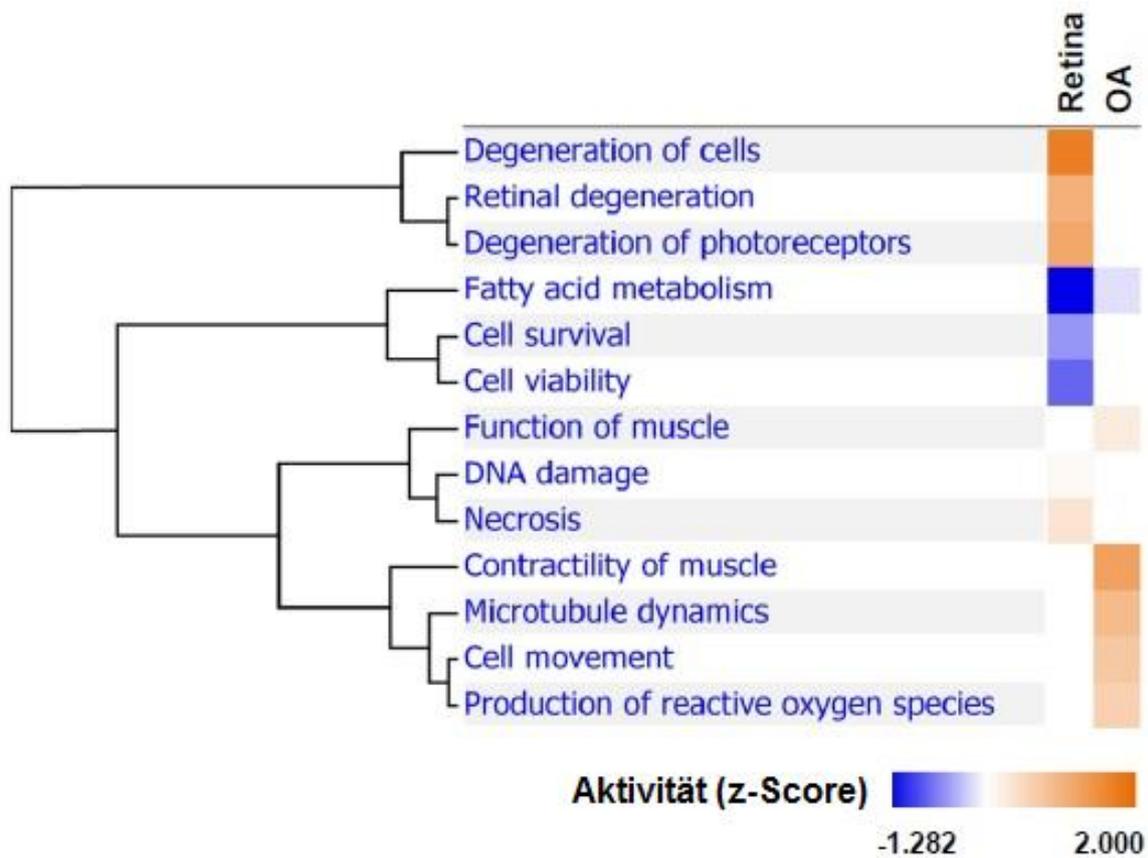


Abbildung 42: Häufigste biologische Funktionen der Retina und der Arteria Ophthalmica (OA) im direkten Vergleich. Die blaue Farbe weist auf verminderte und die orangene Farbe auf erhöhte Aktivität je nach Intensität der Farbe in Abhängigkeit des z-Scores hin

Die dargestellten Daten zeigen zwei Haupterkenntnisse: Erstens erbringt das Muster an Veränderung im retinalen Proteom und der dadurch unterschiedlich exprimierten Proteine den Nachweis, dass eine akute Behandlung des Gewebes mit Angiotensin II zu einer veränderten Bioenergetik und schließlich zu zellulärem Untergang führt. Zweitens wurde durch die Anwendung von Angiotensin II in der Arteria Ophthalmica signifikant die Dynamik des Aktin-Zytoskeletts beeinflusst. Diese Ergebnisse kommen nicht unerwartet, da es bekannt ist, dass die Retina zu den Gewebetypen zählt, die am meisten Energie benötigen, und als solches äußerst anfällig gegenüber Veränderung im Energiemetabolismus ist [131-133], wohingegen die Arteria Ophthalmica, wie bereits in vorigen Studien gezeigt [14, 15], ein robustes okuläres Gefäßsystem darstellt, welches die inhärente Fähigkeit besitzt, Schädigungen egal welcher Art durch verschiedene Umbaumechanismen im Gefäßsystem basierend auf Calcium-

## Diskussion

Signalwegen zu kompensieren. Dennoch stellt diese Arbeit den ersten Einblick in die Rolle und die Signalachse von verschiedenen Proteinen dar, die einen neuen und faszinierenden Weg für ein besseres Verständnis der beobachteten Veränderungen eröffnen.

In der Retina wurde ein markantes Herunterregulieren von Proteinen aus der Familie von heterogenen Crystallinen beobachtet, was nochmals mittels RT-qPCR validiert wurde, insbesondere Cryab und Crybb2. Obwohl zunehmende Anhaltspunkte aus mehreren Studien die Rolle eines Stress-induzierten Hochregulierens der Crystalline als Mechanismus des Zellüberlebens stützen [104, 134-136], könnte eine haltbare Vermutung der beobachteten herunterregulierten Level dieser Proteine sein, dass Angiotensin II eine Schädigung dieses Schutzmechanismus für die retinalen Zellen hervorgerufen hat, und dadurch der Zelluntergang ausgelöst wurde. Dieses Ergebnis wird des Weiteren durch die Vergleichsanalyse der Erkrankungen und biologischen Funktionen der unterschiedlich exprimierten Proteine zwischen Arteria Ophthalmica und Retina bestätigt, die explizit die Aktivierung von retinalem Zelluntergang und Hemmung des Zellüberlebens sowie metabolische Antworten hervorgehoben hat. Zusammenfassend erinnert dieses Ergebnis an ein ähnliches Phänomen, das kürzlich in experimentellen Modellen von retinalem Zelluntergang beschrieben wurde, bei denen man herausfand, dass Alpha-Crystalline ebenfalls signifikant herunterreguliert wurden [137, 138]. Außerdem konnten Knockout-Tiere, denen das Alpha-Crystallin-Gen fehlte, eine erhöhte Rate an zugrunde gegangenen retinalen Ganglienzellen zeigen [139]. Ein anderer bedeutsamer Faktor in diesen Ergebnissen ist die zelluläre Lokalisation von Cryab im Zellkern, welches unter normalen Bedingungen im Zytoplasma lokalisiert ist, was vereinbar mit seiner Translokation vom Zytoplasma in den Nucleus unter Stressbedingungen ist [140-142].

Die Auswirkungen von Angiotensin II-induziertem Stress auf das retinale Proteom äußerten sich als Dysregulation von zahlreichen energieproduzierenden und metabolischen Signalwegen, was zu einer möglichen Veränderung der Bioenergetik führt. Mehrere zelluläre Signalwege sind verwickelt in der aktiven Produktion von Energie. Dies ist für den TCA-Zyklus, die oxidative Phosphorylierung, *EIF2 signaling*, *AMPK signaling*, *sirtuin signaling* und *CREB signaling* zutreffend, welche durch die Behandlung mit Angiotensin II beeinflusst wurden. Dementsprechend war die mitochondriale Dysfunktion einer der am meisten beeinflussten Signalwege. Vorige

## Diskussion

Studien verleihen der Hypothese Nachdruck, dass Angiotensin II in verschiedenen Geweben genau dazu führt [143]. Die Störung des CREB-Signalweges, welche auch in der Analyse dieser Arbeit als gehemmt identifiziert wurde, ist vielmehr mit einer kompromissbehafteten mitochondrialen Effizienz assoziiert [144]. Daher könnte, da das Mitochondrium der Ort des TCA-Zyklus und der oxidativen Phosphorylierung ist, die retrograde Signalkaskade stimuliert durch Störungen dieser Zellmaschinerien auf den Beginn des retinalen Zelluntergangs hinweisen [145, 146]. Zusätzlich repräsentiert der AMPK-Signalweg den zentralen zellulären metabolischen Sensor. Die Hemmung des nachgeschalteten Signalweges verschlimmert daher den Energiestress [147, 148]. Diese Energiekrise im retinalen Gewebe wird durch das Herunterregulieren von allen unterschiedlich exprimierten Proteinen im letzteren Netzwerk veranschaulicht. Es ist bemerkenswert, dass die Mehrzahl dieser Proteine Kinasen sind, bestehend aus Pfkf, Pfkf, Pfkf, Prkaca, Prkar2a und PIK3R2, welche alle als Schlüsselrollen in der Glykolyse fungieren und mit Aminosäure-Metabolismus sowie Proteinbiosynthese assoziiert sind [149]. Unter metabolischen Stressbedingungen reguliert AMPK unzählige Signalkaskaden der Energiewiederherstellung einschließlich Oxidation der Fettsäuren mit dem Ziel die zelluläre metabolische Balance aufrecht zu erhalten [147, 150, 151]. Dazu passend wurde in dieser Arbeit gezeigt, dass die abgestimmte Regulation der Energiehomöostase durch den Fettsäuremetabolismus gehemmt wurde, was vermutlich den Zusammenbruch der zellulären Energiehomöostase mit Beitrag der Fettsäuren-Achse widerspiegelt.

Es ist zudem notwendig hier hervorzuheben, dass ein prognostizierter Upstreamregulator namens p53 identifiziert wurde, das stark signifikant an der Regulation einer Gruppe unterschiedlich exprimierter Netzhautproteine beteiligt ist, hauptsächlich die Proteine des TCA Zyklus (Aco2, Cs, Idh3g und Ogdh), der Glykolyse (Pfkf und Pfkf) und der mitochondrialen oxidativen Phosphorylierung (Atp5e, Ndufa8, Sdhb und UQCRC1) umfassend, was deckungsgleich mit seiner Ursprungsfunktion in der Koordination der Atmungskette und Glykolyse ist [152]. Allerdings ist dieser Transkriptionsfaktor ebenso bekannt als „zellulärer *Gatekeeper*“ entsprechend seiner zentralen Rollen in der Kontrolle einer Vielzahl an zellulären Antworten auf Stressreize einschließlich der Regulation von Genen, die verantwortlich für den Zelltod sind [153]. Zurückblickend konnten einige Studien die Veränderung von p53 im Zelltod retinaler Ganglionzellen nach Schädigung des Nervus opticus dokumentieren [154-156]. In ähnlicher Weise wurde in den Angiotensin II-Gruppen ein anderer prognostizierter

## Diskussion

Upstreamregulator, nämlich *mammalian target of rapamycin* (mTOR), gehemmt, was die kritische Rolle von unterschiedlich exprimierten Netzhautproteinen unterstreicht, die von diesem als Antwort auf oxidativen Stress reguliert werden. Es wurde herausgefunden, dass die Aktivierung dieser Kinase Schutz vor Zelltod unter Stressbedingungen wie z. B. die Degeneration der Photorezeptoren überträgt [157]. Somit stellt der AMPK-p53-mTOR-Signalweg ein fundamentales Netzwerk von Energiesensoren dar, das den metabolischen Zellstatus reguliert [152]. Diese proteomischen Beobachtungen bekräftigen die anfangs geäußerte Hypothese, dass akuter oxidativer Stress signifikant das Muster des Energieverbrauchs in der Retina verändert, was schließlich zu Energieerschöpfung und letztlich zum Zelltod führt.

Interessanterweise wurde der Sirtuin-Signalweg in den beiden Gewebeproben, Retina und Arteria Ophthalmica, negativ durch Angiotensin II beeinflusst. Dies ist aus dem Grund besonders erwähnenswert, da sich die beteiligten Proteine zwischen den beiden Gefäßsystemen unterscheiden, was bedeutet, dass alternative Kompensationsmechanismen über den gleichen Signalweg existieren. Auf der einen Seite werden Sirtuin-Signalkaskaden als metabolische Sensoren aktiviert, was wiederum dazu führt, dass metabolische Proteine des TCA Zyklus, Untereinheiten der Komplexe der oxidativen Phosphorylierung und Enzyme der Fettsäureoxidation acetyliert werden, um die Homöostase der Zellenergetik während Zellstress aufrecht zu erhalten [158-161], wie es in der Retina beobachtet wurde. Auf der anderen Seite ist der Sirtuin-Signalweg allgemein bekannt als die wesentliche Rolle in der Aufrechterhaltung der zellulären Redoxbalance. Er fördert Angiotensin II-induziertes *Remodelling* im Gefäßsystem, wie es in der Aorta der Maus gezeigt wurde [162-164]. Dies spiegelt sich in dieser experimentellen Untersuchung durch das Expressionslevel von Sod1 wieder – eines der wichtigsten antioxidativen Enzyme, welches beteiligt ist am Sirtuin-Signalweg in der Arteria Ophthalmica der Maus. Um zu klären, ob diese Abnahme des Proteinlevels an Sod1 einem Herunterregulieren der mRNA zugrunde liegt, wurde die RT-qPCR des entsprechenden Gens durchgeführt und eine parallele Senkung des mRNA-Levels nachgewiesen. Das Herunterregulieren des Sod1-Enzyms, ebenfalls bekannt als die vorherrschende Kupfer-Zink-Isoform der Sod in Blutgefäßen [146, 165], wurde assoziiert mit erhöhtem oxidativen Stress in verschiedenen Geweben und es konnte gezeigt werden, dass ein Defizit an Sod1 die Angiotensin II-induzierte vaskuläre Dysfunktion in Mikrogefäßen wie z. B. den kleinen

## Diskussion

Mesenterialarterien vermehrt [166-168], was dem Enzym seine antioxidativen Eigenschaften verleiht. Die antioxidativen Effekte des Phenols Resveratrol beruhen nämlich auf dem SIRT1-Signalweg [169]. Sirtuine sind in der Lage Histone und andere Proteine zu deacetylieren [170]. In einem Sirt1-Knockout-Mausmodell wurde beobachtet, dass die meisten Mäuse perinatal starben sowie Schäden an der Retina, den Knochen und am Herzen beobachtet wurden [170]. Nachweise aus vielen Studien stützen die gegenwärtige Beobachtung, dass der Sirtuin-Signalweg bei Beeinflussung durch Angiotensin II in beiden okulären Gefäßen mit einer hervorragenden funktionellen Diversität ausgestattet ist, welche innerhalb eines jeden Gefäßbetts getrennt reguliert wird.

Ein anderes herunterreguliertes Protein der Arteria Ophthalmica, dessen mRNA-Expression eindeutig mittels qPCR validiert wurde, war Sept7. Dieses Protein, welches zu der hochkonservierten Familie der kleinen GTPasen gehört, ist ein wesentlicher Bestandteil des Membran-assoziierten Zytoskeletts und interagiert somit mit Aktin und den Mikrotubuli, um die regelrechte Organisation und Koordination der Zellmigration und -gestaltung zu regulieren [171-173]. In den Mikrogefäßen der Niere wurde nachgewiesen, dass Sept7 in den Endothelzellen der glomerulären Kapillaren lokalisiert ist [174]. Vorige Studien konnten dokumentieren, dass eine verringerte kardiale Kontraktilität im Zebrafisch der Abnahme dieses Proteins zugeschrieben ist [175] und dass eines der herunterregulierten Septine in der Aorta von Mäusen mit Typ 2-Diabetes Sept7 war [176]. Da Septine als wichtige Entität in der Dynamik des Aktin-Zytoskeletts auf Grund ihrer Gerüstfunktion bekannt sind, verursacht ein Mangel an SEPT2 beispielsweise ein Ausdünnen der Aktinfilamente von Endothelzellen in Mikrogefäßen der Haut des Menschen, was einen lokalen Membranumbauprozess widerspiegelt [173]. Ein interessanter Fakt in den Ergebnissen dieser Arbeit ist, dass übereinkommend mit der Literatur herausgefunden wurde, dass als Antwort auf Angiotensin II sowohl der Aktin-Zytoskelett- als auch der Integrin-Linked-Kinase (ILK)-Signalweg aktiviert wurden. Die Proteine des ILK-Signalwegs sind dafür bekannt, komplexe Rollen in der Modulation der Dynamik von Mikrotubuli zu spielen [177]. In Keratinozyten haben Störungen in der Funktionalität der ILK-abhängigen Mechanismen dazu geführt, dass weniger extrazelluläre Matrix abgelagert wurde und als Konsequenz diese auch weniger befestigt war [178]. Es wurde von Bendig und Kollegen [179] eindrucksvoll demonstriert, dass die ILK ein wesentlicher Bestandteil des mechanischen Dehnungssensors im Herzen ist. In einer Studie von Wakatsuki et

al. [180] wurde gezeigt, dass anhaltende Herzhypertrophie, ausgelöst durch verschiedene Faktoren einschließlich Angiotensin II, zu einer verminderten Kontraktilität durch eine falsche Lage der Sarkomere als Kompensation für die hämodynamische Überladung führt. In dieser Arbeit konnte der *growth factor beta 1* (TGF- $\beta$ 1) als stark aktivierter Upstreamregulator identifiziert werden, welcher die nachgeschaltete Regulation von einer Gruppe von Strukturproteinen, nämlich Mpz, MYH7, Tpm3 und Vcl, organisieren soll. Bemerkenswerterweise ist bekannt, dass dieser Wachstumsfaktor durch Angiotensin II aktiviert wird, um die Ablagerung extrazellulärer Matrix über erhöhte Fibronectin- und Kollagen-Synthese in glatten Muskelzellen von Gefäßen zu stimulieren [181-183].

Es ist auch erwähnenswert, dass es sich bei der großen Mehrheit der Proteine, die sowohl in den Aktin- als auch in den ILK-Signalweg eingebunden sind, um hochregulierte Myosine handelt. Diese Aktin-abhängigen molekularen Motoren sind der erste entscheidende Faktor in der Kontraktion in der Gefäßmuskulatur und es ist daher nicht überraschend, dass Myosine die zentrale Verknüpfung zwischen verschiedenen Signaltransduktionswegen und dem Aktin-Zytoskelett sind [184, 185]. Nennenswerterweise arbeitet diese Gruppe von Myosinen eng mit zwei anderen Proteinen zusammen, die im Proteom der Arteria Ophthalmica und ebenso die mRNA als signifikant hochreguliert identifiziert wurden, nämlich Tnnt3 und Tpm3. Beide Proteine sind Hauptregulatoren der muskulären Kontraktilität und aktiv involviert in sowohl Stabilisierung als auch Modulation der Funktion der Aktinfilamente [186, 187]. Es wurde berichtet, dass das Hochregulieren von Tpm3 und Tnnt3 die Folge eines diabetischen Muskelfarkts oder Folge von kardialen Stress auf Grund erhöhter Produktion von oxidativen Sauerstoffradikalen im myokardialen Gewebe darstellt [188, 189]. Außerdem sind Myosine stark anfällig für oxidative Schädigung [190] und es kann auf Basis der Ergebnisse dieser Arbeit und voriger Studien spekuliert werden, dass die Aktivierung dieser Signalwege und deren Proteine, die verantwortlich für die Kontraktilität der Muskulatur sind, ein möglicher adaptiver Mechanismus repräsentiert mit dem gemeinsamen Ziel die vaskuläre Integrität als Antwort auf Angiotensin II-induzierten oxidativen Stress zu bewahren. Zusammenfassend stützen die derzeitigen Ergebnisse vehement die Fähigkeit der Adaptation der Arteria Ophthalmica an einen Angiotensin II-ausgelösten oxidativen Schaden, während vorige Studien rekapituliert werden können, in denen ihre inhärente Fähigkeit belegt ist, den Mangel an

## Diskussion

vorherrschenden molekularen Mediatoren zu kompensieren, um die Gefäßfunktionen aufrecht zu erhalten [14, 15].

Begrenzt ist dieses experimentelle Modell dadurch, dass das angewandte in vitro-Experiment natürlich nicht den exakten in vivo-Bedingungen im Gefäßsystem entspricht. Dennoch wurde diese einfache und reproduzierbare exogene Verabreichung von Angiotensin II angewandt, um den verwirrenden Beitrag von Änderungen im arteriellen Blutdruck auszuschließen, um den Einfluss von neurohumoralen Faktoren zu minimieren und um die direkte Untersuchung der intakten arteriellen Segmente und Netzhautgewebe per se zu ermöglichen [13, 191-194]. Wichtigerweise hinterfragen die derzeitigen Ergebnisse den beschränkten Blick weiter, dass die durch Angiotensin II-ausgelösten molekularen Veränderungen vom blutdrucksteigernden Effekt abhängt und dass dadurch der direkte Nachweis erbracht wurde, dass Angiotensin II relativ schnell Veränderungen im Proteom der Gefäße durch lokale Mechanismen auslösen kann, welche nicht auf einen erhöhten arteriellen Blutdruck zurückzuführen sind. Des Weiteren ist die Studie dadurch limitiert, dass die mögliche Umkehrung von schädlichen Effekten durch oxidativen Stress nicht untersucht wurde, wie es mit Radikalfängern wie beispielsweise TEMPOL möglich ist. Darauf wurde zunächst verzichtet, weil als Erstes ein experimentelles Paradigma etabliert werden sollte, welches funktionell und reproduzierbar für verschiedene vaskuläre Gewebeproben des Auges ist, und weil nachgewiesen werden sollte, dass eine signifikante Änderung im Proteom durch Angiotensin II ausgelöst wird. Nichtsdestotrotz sollten weitere Studien zu den Effekten von Angiotensin II in vivo sowie zum lindernden Einfluss von Radikalfängern im Fokus von zukünftigen Untersuchungen stehen, was wiederum weitere Forschungsarbeit erfordert.

Abschließend haben die Ergebnisse aus dieser Studie gezeigt, dass im Gefäßsystem des Auges, insbesondere in der intraokulären Retina und der retrobulbären Arteria Ophthalmica, zwei unterschiedliche Adaptationsmechanismen existieren, die auf der einen Seite durch die zelluläre Bioenergetik und auf der anderen Seite durch das Aktin-Zytoskelett vermittelt sind und vaskuläres *Remodelling* verursachen. Es muss weiterhin geklärt werden, ob diese molekularen Veränderungen, welche in beiden Gefäßsystemen beobachtet wurden, pathologisch sind oder einen stressinduzierten adaptiven Überlebensmechanismus repräsentieren.

### 6. Zusammenfassung

Das gesamte okuläre System ist ein metabolisch außerordentlich aktives Organ und hat trotz seiner kleinen Größe den größten Energiebedarf innerhalb des Gehirns [195]. Ein zentrales Merkmal im Energiehaushalt des Auges ist das komplexe okuläre Gefäßsystem. Blutgefäße sind stark dynamische Komponenten des Kreislaufs, welche sich fortwährend funktionellen Anpassungsmechanismen auf diverse Stimuli via vaskulären Umbauvorgängen unterziehen, um die Blutversorgung des Auges mit maximaler Effektivität aufrecht erhalten zu können. Um dieser speziellen metabolischen Anforderung gerecht zu werden erhält der Sehnervkopf beim Menschen seine Blutversorgung aus zwei unterschiedlichen Gefäßsystemen, einerseits aus der Arteria centralis retinae und andererseits aus der Choroidea. Obwohl beide Gefäßsysteme aus der Arteria Ophthalmica entstammen, so unterscheiden sie sich morphologisch und funktionell [196]. In den letzten Jahren konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass jegliches Ungleichgewicht oder generell Unterversorgung im Gefäßbett des visuellen Systems in einem Krankheitszustand mündet [5, 22, 197]. Dysfunktionen im okulären Gefäßsystem zählen zu den Hauptrisikofaktoren in der Pathogenese des Glaukoms. Ein Hauptgrund in der Krankheitsentstehung ist bekanntlich ein beeinträchtigter Blutfluss als Folge einer vaskulären Insuffizienz im okulären Gefäßsystem [198, 199]. Entscheidend beteiligt an der Regulation des Muskeltonus der okulären Blutgefäße und den Umbauvorgängen ist das Renin-Angiotensin-System (RAS) [200]. Die Aktivierung des zentralen Moleküls im RAS, Angiotensin II, führt zur Erzeugung reaktiver Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*, ROS), welche wiederum zu endothelialer Dysfunktion sowie gegebenenfalls zu schädlichen Effekten auf das Gefäßsystem führen, die ein vaskuläres *Remodelling* als Folge haben können. In den letzten Jahren ist somit erneut Interesse an der Rolle von Angiotensin II im Krankheitsentstehungsprozess des Glaukoms aufgekommen und demzufolge sind ACE-Hemmer auch als neue Gruppe in der medikamentösen Therapie des Glaukoms aufgetaucht [200]. Trotz des wichtigen (patho)physiologischen Stellenwerts des Hormons, verbleiben die genauen molekularen Mechanismen, die Angiotensin II-induziertem oxidativem Stress zugrunde liegen, weitestgehend unaufgeklärt. In dieser Arbeit wird der erste direkte Nachweis von Änderungen des Proteoms und von Signalwegen als Antwort auf einen durch Angiotensin II-ausgelösten oxidativen Schaden in der Arteria Ophthalmica und

## Zusammenfassung

der Retina als experimentelles in vitro-Mausmodell erbracht, und dies unabhängig vom arteriellen Blutdruck.

Die markierungsfreie quantitative proteomische Analyse auf Basis von Massenspektrometrie ergab, dass Angiotensin II eine unterschiedliche Expression von 107 Proteinen in der Retina und von 34 Proteinen in der Arteria Ophthalmica induziert hat. Die gewonnenen MS-Spektren wurden soliden statistischen, bioinformatischen und funktionellen Analysen unterworfen, welche aufgedeckt haben, dass Proteingruppen in der Arteria Ophthalmica, die in den Aktin-Zytoskelett- und den Integrin-Linked-Kinase (ILK)-Signalweg eingebunden sind, als Ausdruck eines Anpassungsprozesses im Gefäßsystem signifikant aktiviert wurden und eine Möglichkeit darstellen, um oxidativen Stress zu bewältigen. Auf der anderen Seite ist eine große Mehrheit der unterschiedlich exprimierten Proteine in der Retina an Dysregulationen von zahlreichen energieproduzierenden und metabolischen Signalwegen beteiligt, was auf eine mögliche Veränderung der zellulären Bioenergetik der Netzhaut hindeutet. Insbesondere das durch Angiotensin II-ausgelöste Herunterregulieren von Septin-7 (Sept7) und der Kupfer-Zink-Isoform der Superoxid-Dismutase (Sod1) und das Hochregulieren von Troponin T, *fast skeletal muscle* (Tnnt3) und *tropomyosin alpha-3 chain* (Tpm3) in der Arteria Ophthalmica sowie die signifikant verringerte Expression von zwei Crystallin-Proteinen (Cryab und Crybb2) in der Retina unterstreichen die proteomischen Ergebnisse, welche auf dem Level der mRNA durch RT-qPCR nochmals verifiziert wurden. Es konnte also die Hypothese bestätigt werden, dass die Arteria Ophthalmica die Eigenschaft besitzt, die intrazelluläre Redox-Balance aufrechtzuerhalten, wohingegen die Retina stark anfällig für oxidativen Schaden ist, weil potenzielle neuroprotektive Mechanismen inaktiviert wurden. Zusammenfassend wurde sich zum ersten Mal tiefgreifend mit den molekularen und funktionellen Änderungen als reaktive Antwort auf oxidativen Stress in der intraokulären Retina verglichen mit einem retrobulbären Gefäßbett beschäftigt und es wurde der erste Einblick in das komplexe Zusammenspiel zwischen wesentlichen molekularen und zellulären Signalmechanismen als akute adaptive Antwort auf Angiotensin II in zwei Hauptblutgefäßen des Auges gewährt.

## Literaturverzeichnis

1. Agarwal, R., et al., *Current concepts in the pathophysiology of glaucoma*. Indian journal of ophthalmology, 2009. **57**(4): p. 257.
2. Cook, C. and P. Foster, *Epidemiology of glaucoma: what's new?* Canadian Journal of Ophthalmology, 2012. **47**(3): p. 223-226.
3. Weinreb, R.N., T. Aung, and F.A. Medeiros, *The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review*. Jama, 2014. **311**(18): p. 1901-1911.
4. Foster, A. and S. Resnikoff, *The impact of Vision 2020 on global blindness*. Eye, 2005. **19**(10): p. 1133-1135.
5. Yanagi, M., et al., *Vascular risk factors in glaucoma: a review*. Clinical & experimental ophthalmology, 2011. **39**(3): p. 252-258.
6. Shields, M.B., *Normal-tension glaucoma: is it different from primary open-angle glaucoma?* Current opinion in ophthalmology, 2008. **19**(2): p. 85-88.
7. Touyz, R., *Reactive oxygen species and angiotensin II signaling in vascular cells: implications in cardiovascular disease*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2004. **37**(8): p. 1263-1273.
8. De Silva, T.M. and F. Faraci, *Effects of angiotensin II on the cerebral circulation: role of oxidative stress*. Frontiers in physiology, 2013. **3**: p. 484.
9. Patel, D., et al., *Potential role of mitochondrial superoxide decreasing ferrochelatase and heme in coronary artery soluble guanylate cyclase depletion by angiotensin II*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2016. **310**(11): p. H1439-H1447.
10. Nishida, M., et al., *Voltage-dependent N-type Ca<sup>2+</sup> channels in endothelial cells contribute to oxidative stress-related endothelial dysfunction induced by angiotensin II in mice*. Biochemical and biophysical research communications, 2013. **434**(2): p. 210-216.
11. De Silva, T.M., et al., *Gender influences cerebral vascular responses to angiotensin II through Nox2-derived reactive oxygen species*. Stroke, 2009. **40**(4): p. 1091-1097.
12. Schrader, L.I., et al., *IL-6 deficiency protects against angiotensin II-induced endothelial dysfunction and hypertrophy*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2007. **27**(12): p. 2576-2581.
13. Didion, S.P., D.A. Kinzenbaw, and F.M. Faraci, *Critical role for CuZn-superoxide dismutase in preventing angiotensin II-induced endothelial dysfunction*. Hypertension, 2005. **46**(5): p. 1147-1153.
14. Manicam, C., et al., *Compensatory Vasodilator Mechanisms in the Ophthalmic Artery of Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Knockout Mice*. Scientific Reports, 2017. **7**(1): p. 7111.
15. Manicam, C., et al., *The Gatekeepers in the Mouse Ophthalmic Artery: Endothelium-Dependent Mechanisms of Cholinergic Vasodilation*. Scientific reports, 2016. **6**: p. 20322.
16. Weinreb, R.N. and P.T. Khaw, *Primary open-angle glaucoma*. The Lancet, 2004. **363**(9422): p. 1711-1720.
17. Leske, M.C., *Open-angle glaucoma—an epidemiologic overview*. Ophthalmic epidemiology, 2007. **14**(4): p. 166-172.
18. Resnikoff, S., et al., *Global data on visual impairment in the year 2002*. Bulletin of the world health organization, 2004. **82**: p. 844-851.
19. Lim, L.S., et al., *Age-related macular degeneration*. The Lancet, 2012. **379**(9827): p. 1728-1738.
20. Allen, D. and A. Vasavada, *Cataract and surgery for cataract*. Bmj, 2006. **333**(7559): p. 128-132.

21. Dietlein, T.S., M.M. Hermann, and J.F. Jordan, *Medikamentöse und chirurgische Therapie des Glaukoms*. Dtsch Ärztebl Int, 2009. **106**: p. 597-606.
22. Moore, D., et al., *Dysfunctional regulation of ocular blood flow: A risk factor for glaucoma?* Clinical ophthalmology (Auckland, NZ), 2008. **2**(4): p. 849.
23. <http://drdigvijaysingh.com/eye-diseases/glaucoma/>.
24. Katz, L.J., et al., *Selective laser trabeculoplasty versus medical therapy as initial treatment of glaucoma: a prospective, randomized trial*. Journal of glaucoma, 2012. **21**(7): p. 460-468.
25. Yamamoto, T. and Y. Kitazawa, *Vascular pathogenesis of normal-tension glaucoma: a possible pathogenetic factor, other than intraocular pressure, of glaucomatous optic neuropathy*. Progress in retinal and eye research, 1998. **17**(1): p. 127-143.
26. Fan, N., et al., *Ocular blood flow and normal tension glaucoma*. BioMed research international, 2015. **2015**.
27. Drance, S.M., *Disc hemorrhages in the glaucomas*. Survey of ophthalmology, 1989. **33**(5): p. 331-337.
28. Sonnsjö, B. and C. Krakau, *Arguments for a vascular glaucoma etiology*. Acta ophthalmologica, 1993. **71**(4): p. 433-444.
29. Geijssen, H.C., *Studies on normal pressure glaucoma*. 1991: Kugler Publications.
30. Grunwald, J.E., et al., *Optic nerve and choroidal circulation in glaucoma*. Investigative ophthalmology & visual science, 1998. **39**(12): p. 2329-2336.
31. Zeitz, O., et al., *Glaucoma progression is associated with decreased blood flow velocities in the short posterior ciliary artery*. British Journal of Ophthalmology, 2006. **90**(10): p. 1245-1248.
32. Marjanović, I., et al., *Changes in the retrobulbar arterial circulation after decrease of the elevated intraocular pressure in men and women with primary open angle glaucoma*. Srpski arhiv za celokupno lekarstvo, 2013. **141**(11-12): p. 728-731.
33. Modrzejewska, M., et al., *The role of lipid dysregulation and vascular risk factors in glaucomatous retrobulbar circulation*. Bosnian journal of basic medical sciences, 2015. **15**(2): p. 50.
34. May, C.A. and E. Lütjen-Drecoll, *Morphology of the murine optic nerve*. Investigative ophthalmology & visual science, 2002. **43**(7): p. 2206-2212.
35. Park, K.H., et al., *Iatrogenic occlusion of the ophthalmic artery after cosmetic facial filler injections: a national survey by the Korean Retina Society*. JAMA ophthalmology, 2014. **132**(6): p. 714-723.
36. [https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-the-vascular-wall-Adapted-from-Wikipedia-Disposition-of-the-three\\_fig1\\_286948064](https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-the-vascular-wall-Adapted-from-Wikipedia-Disposition-of-the-three_fig1_286948064).
37. Furchgott, R.F. and J.V. Zawadzki, *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine*. nature, 1980. **288**(5789): p. 373-376.
38. Faraci, F.M. and C.D. Sigmund, *Vascular biology in genetically altered mice: smaller vessels, bigger insight*. Circulation research, 1999. **85**(12): p. 1214-1225.
39. Gericke, A., et al., *Cholinergic responses of ophthalmic arteries in M3 and M5 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice*. Investigative ophthalmology & visual science, 2009. **50**(10): p. 4822-4827.
40. Gericke, A., et al., *Identification of the muscarinic acetylcholine receptor subtype mediating cholinergic vasodilation in murine retinal arterioles*. Investigative ophthalmology & visual science, 2011. **52**(10): p. 7479-7484.

41. Gericke, A., et al., *Role of the M3 muscarinic acetylcholine receptor subtype in murine ophthalmic arteries after endothelial removal*. Investigative ophthalmology & visual science, 2014. **55**(1): p. 625-631.
42. Emre, M., et al., *Ocular blood flow alteration in glaucoma is related to systemic vascular dysregulation*. British Journal of Ophthalmology, 2004. **88**(5): p. 662-666.
43. Savage, H.I., et al., *Differences in pulsatile ocular blood flow among three classifications of diabetic retinopathy*. Investigative ophthalmology & visual science, 2004. **45**(12): p. 4504-4509.
44. Kaup, M., et al., *Retrobulbar haemodynamics in non-arteritic anterior ischaemic optic neuropathy*. British journal of ophthalmology, 2006. **90**(11): p. 1350-1353.
45. Pournaras, C.J., et al., *Regulation of subfoveal choroidal blood flow in age-related macular degeneration*. Investigative ophthalmology & visual science, 2006. **47**(4): p. 1581-1586.
46. Koss, M.C., *Functional role of nitric oxide in regulation of ocular blood flow*. European journal of pharmacology, 1999. **374**(2): p. 161-174.
47. Schmetterer, L. and K. Polak, *Role of nitric oxide in the control of ocular blood flow*. Progress in retinal and eye research, 2001. **20**(6): p. 823-847.
48. Picard, E., et al., *From Rust to Quantum Biology: The Role of Iron in Retina Physiopathology*. Cells, 2020. **9**(3): p. 705.
49. Varma, D., et al., *A review of central retinal artery occlusion: clinical presentation and management*. Eye, 2013. **27**(6): p. 688-697.
50. Wolf, G. and U.O. Wenzel, *Angiotensin II and cell cycle regulation*. Hypertension, 2004. **43**(4): p. 693-698.
51. Touyz, R.M. and E.L. Schiffrin, *Signal transduction mechanisms mediating the physiological and pathophysiological actions of angiotensin II in vascular smooth muscle cells*. Pharmacological reviews, 2000. **52**(4): p. 639-672.
52. Ni, W., et al., *Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19*. Critical Care, 2020. **24**(1): p. 1-10.
53. Ramalingam, L., et al., *The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 2017. **1863**(5): p. 1106-1114.
54. [https://www.researchgate.net/figure/Simplified-chart-flow-of-the-renin-angiotensin-pathway\\_fig1\\_305714015](https://www.researchgate.net/figure/Simplified-chart-flow-of-the-renin-angiotensin-pathway_fig1_305714015).
55. <http://cdn.amegroups.cn/journals/jrh/files/journals/32/articles/4852/public/4852-PB2-4924-R1.png>.
56. <https://www.uniprot.org/uniprot/P01019>.
57. Faraci, F.M., et al., *Cerebral vascular effects of angiotensin II: new insights from genetic models*. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2006. **26**(4): p. 449-455.
58. Fridovich, I., *Superoxide anion radical (O<sup>•</sup>2), superoxide dismutases, and related matters*. Journal of Biological Chemistry, 1997. **272**(30): p. 18515-18517.
59. Griendling, K.K., D. Sorescu, and M. Ushio-Fukai, *NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease*. Circulation research, 2000. **86**(5): p. 494-501.
60. Han, D., et al., *Voltage-dependent anion channels control the release of the superoxide anion from mitochondria to cytosol*. Journal of Biological Chemistry, 2003. **278**(8): p. 5557-5563.

61. Chrissobolis, S. and F.M. Faraci, *The role of oxidative stress and NADPH oxidase in cerebrovascular disease*. Trends in molecular medicine, 2008. **14**(11): p. 495-502.
62. Touyz, R.M., *Oxidative stress and vascular damage in hypertension*. Current hypertension reports, 2000. **2**(1): p. 98-105.
63. Schafer, F.Q. and G.R. Buettner, *Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple*. Free radical biology and medicine, 2001. **30**(11): p. 1191-1212.
64. Darley-Usmar, V., H. Wiseman, and B. Halliwell, *Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance*. FEBS letters, 1995. **369**(2-3): p. 131-135.
65. Hilgers, R.H. and R.C. Webb, *Molecular aspects of arterial smooth muscle contraction: focus on Rho*. Experimental biology and medicine, 2005. **230**(11): p. 829-835.
66. Veresh, Z., et al., *ADMA impairs nitric oxide-mediated arteriolar function due to increased superoxide production by angiotensin II-NAD (P) H oxidase pathway*. Hypertension, 2008. **52**(5): p. 960-966.
67. Porrello, E.R., L. Delbridge, and W.G. Thomas, *The angiotensin II type 2 (AT2) receptor: an enigmatic seven transmembrane receptor*. Front Biosci, 2009. **14**: p. 958-972.
68. Ewert, S., et al., *The angiotensin II receptor type 2 agonist CGP 42112A stimulates NO production in the porcine jejunal mucosa*. BMC pharmacology, 2003. **3**(1): p. 2.
69. Dimitropoulou, C., et al., *Angiotensin II relaxes microvessels via the AT2 receptor and Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> (BKCa) channels*. Hypertension, 2001. **37**(2): p. 301-307.
70. Kazama, K., et al., *Angiotensin II impairs neurovascular coupling in neocortex through NADPH oxidase-derived radicals*. Circulation research, 2004. **95**(10): p. 1019-1026.
71. Jackman, K.A., et al., *Importance of NOX1 for angiotensin II-induced cerebrovascular superoxide production and cortical infarct volume following ischemic stroke*. Brain research, 2009. **1286**: p. 215-220.
72. Miller, A.A., et al., *NADPH oxidase activity and function are profoundly greater in cerebral versus systemic arteries*. Circulation research, 2005. **97**(10): p. 1055-1062.
73. Crow, M.T., et al., *The mitochondrial death pathway and cardiac myocyte apoptosis*. Circulation research, 2004. **95**(10): p. 957-970.
74. Halliwell, B., *Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning)*. Free radical research, 1999. **31**(4): p. 261-272.
75. Rey, F.E. and P.J. Pagano, *The reactive adventitia: fibroblast oxidase in vascular function*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2002. **22**(12): p. 1962-1971.
76. Babior, B., J. Lambeth, and W. Nauseef, *The neutrophil NADPH oxidase*. Archives of biochemistry and biophysics, 2002. **397**(2): p. 342-344.
77. Lassègue, B. and R.E. Clempus, *Vascular NAD (P) H oxidases: specific features, expression, and regulation*. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2003. **285**(2): p. R277-R297.
78. Babior, B.M., *NADPH oxidase*. Current opinion in immunology, 2004. **16**(1): p. 42-47.

79. Didion, S.P. and F.M. Faraci, *Effects of NADH and NADPH on superoxide levels and cerebral vascular tone*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2002. **282**(2): p. H688-H695.
80. Drummond, G.R., et al., *Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets*. Nature reviews Drug discovery, 2011. **10**(6): p. 453.
81. Ago, T., et al., *NAD (P) H oxidases in rat basilar arterial endothelial cells*. Stroke, 2005. **36**(5): p. 1040-1046.
82. Basset, O., et al., *NADPH Oxidase 1 Deficiency Alters Caveolin Phosphorylation and Angiotensin II–Receptor Localization in Vascular Smooth Muscle*. Antioxidants & redox signaling, 2009. **11**(10): p. 2371-2384.
83. Lottspeich, F., *Proteomanalyse—ein Weg zur Funktionsanalyse von Proteinen*. Angewandte Chemie, 1999. **111**(17): p. 2630-2647.
84. Liebler, D.C. and L.J. Zimmerman, *Targeted quantitation of proteins by mass spectrometry*. Biochemistry, 2013. **52**(22): p. 3797-3806.
85. Aebersold, R. and D.R. Goodlett, *Mass spectrometry in proteomics*. Chemical reviews, 2001. **101**(2): p. 269-296.
86. Aebersold, R. and M. Mann, *Mass spectrometry-based proteomics*. Nature, 2003. **422**(6928): p. 198-207.
87. Karas, M., D. Bachmann, and F. Hillenkamp, *Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules*. Analytical chemistry, 1985. **57**(14): p. 2935-2939.
88. Karas, M. and R. Krüger, *Ion formation in MALDI: the cluster ionization mechanism*. Chemical reviews, 2003. **103**(2): p. 427-440.
89. Albrethsen, J., *Reproducibility in protein profiling by MALDI-TOF mass spectrometry*. Clinical chemistry, 2007. **53**(5): p. 852-858.
90. Makarov, A. and M. Scigelova, *Coupling liquid chromatography to Orbitrap mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2010. **1217**(25): p. 3938-3945.
91. Hu, Q., et al., *The Orbitrap: a new mass spectrometer*. Journal of mass spectrometry, 2005. **40**(4): p. 430-443.
92. Carvalho, A.S., D. Penque, and R. Matthiesen, *Bottom up proteomics data analysis strategies to explore protein modifications and genomic variants*. Proteomics, 2015. **15**(11): p. 1789-1792.
93. Catherman, A.D., O.S. Skinner, and N.L. Kelleher, *Top down proteomics: facts and perspectives*. Biochemical and biophysical research communications, 2014. **445**(4): p. 683-693.
94. Olsen, J.V., et al., *Parts per million mass accuracy on an Orbitrap mass spectrometer via lock mass injection into a C-trap*. Molecular & Cellular Proteomics, 2005. **4**(12): p. 2010-2021.
95. Ahmed, F., et al., *Microarray analysis of changes in mRNA levels in the rat retina after experimental elevation of intraocular pressure*. Investigative ophthalmology & visual science, 2004. **45**(4): p. 1247-1258.
96. Mirza, S.P. and M. Olivier, *Methods and approaches for the comprehensive characterization and quantification of cellular proteomes using mass spectrometry*. Physiological genomics, 2008. **33**(1): p. 3-11.
97. Kim, S.J., et al., *Retinal proteome analysis in a mouse model of oxygen-induced retinopathy*. Journal of proteome research, 2012. **11**(11): p. 5186-5203.

98. Tu, C., et al., *Proteomic profiling of the retinas in a neonatal rat model of oxygen-induced retinopathy with a reproducible ion-current-based MS1 approach*. Journal of proteome research, 2015. **14**(5): p. 2109-2120.
99. Skeie, J.M. and V.B. Mahajan, *Proteomic interactions in the mouse vitreous-retina complex*. PloS one, 2013. **8**(11): p. e82140.
100. Zhang, S.-y., et al., *Effects of phlorizin on diabetic retinopathy according to isobaric tags for relative and absolute quantification–based proteomics in db/db mice*. Molecular vision, 2013. **19**: p. 812.
101. Ly, A., et al., *Retinal proteome alterations in a mouse model of type 2 diabetes*. Diabetologia, 2014. **57**(1): p. 192-203.
102. Saddala, M.S., et al., *Proteomics reveals ablation of PIGF increases antioxidant and neuroprotective proteins in the diabetic mouse retina*. Scientific reports, 2018. **8**(1): p. 1-12.
103. Funke, S., et al., *Glaucoma related proteomic alterations in human retina samples*. Scientific reports, 2016. **6**: p. 29759.
104. Anders, F., et al., *Proteomic profiling reveals crucial retinal protein alterations in the early phase of an experimental glaucoma model*. Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology, 2017. **255**(7): p. 1395-1407.
105. Badhwar, A., et al., *The proteome of mouse cerebral arteries*. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2014. **34**(6): p. 1033-1046.
106. Manicam, C., et al., *First insight into the proteome landscape of the porcine short posterior ciliary arteries: Key signalling pathways maintaining physiologic functions*. Scientific reports, 2016. **6**(1): p. 1-13.
107. Perumal, N., et al., *Sample Preparation for Mass-spectrometry-based Proteomics Analysis of Ocular Microvessels*. JoVE (Journal of Visualized Experiments), 2019(144): p. e59140.
108. Shevchenko, A., et al., *In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes*. Nature protocols, 2006. **1**(6): p. 2856.
109. Cox, J. and M. Mann, *MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized ppb-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification*. Nature biotechnology, 2008. **26**(12): p. 1367.
110. Cox, J., et al., *Andromeda: a peptide search engine integrated into the MaxQuant environment*. Journal of proteome research, 2011. **10**(4): p. 1794-1805.
111. Lubner, C.A., et al., *Quantitative proteomics reveals subset-specific viral recognition in dendritic cells*. Immunity, 2010. **32**(2): p. 279-289.
112. Alhaider, A.A., et al., *Survey of the camel urinary proteome by shotgun proteomics using a multiple database search strategy*. Proteomics, 2012. **12**(22): p. 3403-3406.
113. Alpi, E., et al., *Analysis of the tryptic search space in UniProt databases*. Proteomics, 2015. **15**(1): p. 48-57.
114. Shanmugam, A.K. and A.I. Nesvizhskii, *Effective leveraging of targeted search spaces for improving peptide identification in tandem mass spectrometry based proteomics*. Journal of proteome research, 2015. **14**(12): p. 5169-5178.
115. Tanca, A., et al., *The impact of sequence database choice on metaproteomic results in gut microbiota studies*. Microbiome, 2016. **4**(1): p. 51.
116. Krämer, A., et al., *Causal analysis approaches in ingenuity pathway analysis*. Bioinformatics, 2014. **30**(4): p. 523-530.
117. Manicam, C., et al., *Proteomics Unravels the Regulatory Mechanisms in Human Tears Following Acute Renouncement of Contact Lens Use: A*

- Comparison between Hard and Soft Lenses*. Scientific reports, 2018. **8**(1): p. 1-15.
118. Mi, H., et al., *PANTHER version 11: expanded annotation data from Gene Ontology and Reactome pathways, and data analysis tool enhancements*. Nucleic acids research, 2016. **45**(D1): p. D183-D189.
119. Huang, D.W., B.T. Sherman, and R.A. Lempicki, *Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources*. Nature protocols, 2008. **4**(1): p. 44.
120. Huang, D.W., B.T. Sherman, and R.A. Lempicki, *Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists*. Nucleic acids research, 2008. **37**(1): p. 1-13.
121. Perumal, N., et al., *Bioenergetic shift and actin cytoskeleton remodelling as acute vascular adaptive mechanisms to angiotensin II in murine retina and ophthalmic artery*. Redox Biology, 2020: p. 101597.
122. Feist, P. and A.B. Hummon, *Proteomic challenges: sample preparation techniques for microgram-quantity protein analysis from biological samples*. International journal of molecular sciences, 2015. **16**(2): p. 3537-3563.
123. de la Cuesta, F., et al., *Contribution of proteomics to the management of vascular disorders*. Translational Proteomics, 2015. **7**: p. 3-14.
124. Cehofski, L.J., et al., *Analytical platforms in vitreoretinal proteomics*. Bioanalysis, 2014. **6**(22): p. 3051-3066.
125. Nguyen Dinh Cat, A., et al., *Angiotensin II, NADPH oxidase, and redox signaling in the vasculature*. Antioxidants & redox signaling, 2013. **19**(10): p. 1110-1120.
126. Dikalov, S.I. and R.R. Nazarewicz, *Angiotensin II-induced production of mitochondrial reactive oxygen species: potential mechanisms and relevance for cardiovascular disease*. Antioxidants & redox signaling, 2013. **19**(10): p. 1085-1094.
127. Benigni, A., P. Cassis, and G. Remuzzi, *Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging*. EMBO molecular medicine, 2010. **2**(7): p. 247-257.
128. Virdis, A., et al., *Spironolactone improves angiotensin-induced vascular changes and oxidative stress*. Hypertension, 2002. **40**(4): p. 504-510.
129. Meyer, P., J. Flammer, and T. Lüscher, *Local action of the renin angiotensin system in the porcine ophthalmic circulation: effects of ACE-inhibitors and angiotensin receptor antagonists*. Investigative ophthalmology & visual science, 1995. **36**(3): p. 555-562.
130. Briones, A.M., et al., *Atorvastatin prevents angiotensin II-induced vascular remodeling and oxidative stress*. Hypertension, 2009. **54**(1): p. 142-149.
131. Kanow, M.A., et al., *Biochemical adaptations of the retina and retinal pigment epithelium support a metabolic ecosystem in the vertebrate eye*. Elife, 2017. **6**: p. e28899.
132. Joyal, J.-S., M.L. Gantner, and L.E. Smith, *Retinal energy demands control vascular supply of the retina in development and disease: the role of neuronal lipid and glucose metabolism*. Progress in retinal and eye research, 2018. **64**: p. 131.
133. Country, M.W., *Retinal metabolism: a comparative look at energetics in the retina*. Brain research, 2017. **1672**: p. 50-57.
134. Wang, K. and A. Spector, *Alpha-crystallin can act as a chaperone under conditions of oxidative stress*. Investigative ophthalmology & visual science, 1995. **36**(2): p. 311-321.

135. Piri, N., J.M. Kwong, and J. Caprioli, *Crystallins in retinal ganglion cell survival and regeneration*. Molecular neurobiology, 2013. **48**(3): p. 819-828.
136. Mirzaei, M., et al., *Age-related neurodegenerative disease associated pathways identified in retinal and vitreous proteome from human glaucoma eyes*. Scientific reports, 2017. **7**(1): p. 1-16.
137. Yaung, J., et al., *Exacerbation of retinal degeneration in the absence of alpha crystallins in an in vivo model of chemically induced hypoxia*. Experimental eye research, 2008. **86**(2): p. 355-365.
138. Munemasa, Y., et al., *The role of  $\alpha$ A- and  $\alpha$ B-crystallins in the survival of retinal ganglion cells after optic nerve axotomy*. Investigative ophthalmology & visual science, 2009. **50**(8): p. 3869-3875.
139. Fort, P.E. and K.J. Lampi, *New focus on alpha-crystallins in retinal neurodegenerative diseases*. Experimental eye research, 2011. **92**(2): p. 98-103.
140. Nagaraj, R.H., et al., *Therapeutic potential of  $\alpha$ -crystallin*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2016. **1860**(1): p. 252-257.
141. Li, N., et al., *The anti-cataract molecular mechanism study in selenium cataract rats for baicalin ophthalmic nanoparticles*. Drug design, development and therapy, 2018. **12**: p. 1399.
142. Kannan, R., P.G. Sreekumar, and D.R. Hinton, *Novel roles for  $\alpha$ -crystallins in retinal function and disease*. Progress in retinal and eye research, 2012. **31**(6): p. 576-604.
143. Doughan, A.K., D.G. Harrison, and S.I. Dikalov, *Molecular mechanisms of angiotensin II-mediated mitochondrial dysfunction: linking mitochondrial oxidative damage and vascular endothelial dysfunction*. Circulation research, 2008. **102**(4): p. 488-496.
144. Lee, B., et al., *The CREB/CRE transcriptional pathway: protection against oxidative stress - mediated neuronal cell death*. Journal of neurochemistry, 2009. **108**(5): p. 1251-1265.
145. Griciuc, A., et al., *Proteomic survey reveals altered energetic patterns and metabolic failure prior to retinal degeneration*. Journal of Neuroscience, 2014. **34**(8): p. 2797-2812.
146. Ferrington, D.A., et al., *Altered bioenergetics and enhanced resistance to oxidative stress in human retinal pigment epithelial cells from donors with age-related macular degeneration*. Redox biology, 2017. **13**: p. 255-265.
147. Rabinovitch, R.C., et al., *AMPK maintains cellular metabolic homeostasis through regulation of mitochondrial reactive oxygen species*. Cell reports, 2017. **21**(1): p. 1-9.
148. Cardaci, S., G. Filomeni, and M.R. Ciriolo, *Redox implications of AMPK-mediated signal transduction beyond energetic clues*. Journal of cell science, 2012. **125**(9): p. 2115-2125.
149. Ballester, M., et al., *Role of AMPK signalling pathway during compensatory growth in pigs*. BMC genomics, 2018. **19**(1): p. 682.
150. Nagata, D., M. Mogi, and K. Walsh, *AMP-activated protein kinase (AMPK) signaling in endothelial cells is essential for angiogenesis in response to hypoxic stress*. Journal of Biological Chemistry, 2003. **278**(33): p. 31000-31006.
151. Gratia, S., et al., *Inhibition of AMPK signalling by doxorubicin: at the crossroads of the cardiac responses to energetic, oxidative, and genotoxic stress*. Cardiovascular research, 2012. **95**(3): p. 290-299.

152. Lacroix, M., et al., *Metabolic functions of the tumor suppressor p53: implications in normal physiology, metabolic disorders, and cancer*. Molecular metabolism, 2019.
153. Kruse, J.-P. and W. Gu, *Modes of p53 regulation*. Cell, 2009. **137**(4): p. 609-622.
154. Yasuda, M., et al., *Retinal transcriptome profiling at transcription start sites: a cap analysis of gene expression early after axonal injury*. BMC genomics, 2014. **15**(1): p. 982.
155. Park, K.K., et al., *Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway*. Science, 2008. **322**(5903): p. 963-966.
156. Katome, T., et al., *Inhibition of ASK1-p38 pathway prevents neural cell death following optic nerve injury*. Cell Death & Differentiation, 2013. **20**(2): p. 270-280.
157. Chen, Y., et al., *Altered mTOR signaling in senescent retinal pigment epithelium*. Investigative ophthalmology & visual science, 2010. **51**(10): p. 5314-5319.
158. Zhao, S., et al., *Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation*. Science, 2010. **327**(5968): p. 1000-1004.
159. Verdin, E., et al., *Sirtuin regulation of mitochondria: energy production, apoptosis, and signaling*. Trends in biochemical sciences, 2010. **35**(12): p. 669-675.
160. Schwer, B., et al., *Calorie restriction alters mitochondrial protein acetylation*. Aging cell, 2009. **8**(5): p. 604-606.
161. Kim, S.C., et al., *Substrate and functional diversity of lysine acetylation revealed by a proteomics survey*. Molecular cell, 2006. **23**(4): p. 607-618.
162. Singh, C.K., et al., *The role of sirtuins in antioxidant and redox signaling*. Antioxidants & redox signaling, 2018. **28**(8): p. 643-661.
163. Gao, P., et al., *Overexpression of SIRT1 in vascular smooth muscle cells attenuates angiotensin II-induced vascular remodeling and hypertension in mice*. Journal of molecular medicine, 2014. **92**(4): p. 347-357.
164. D'Onofrio, N., et al., *Sirtuins in vascular diseases: emerging roles and therapeutic potential*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 2015. **1852**(7): p. 1311-1322.
165. Faraci, F.M. and S.P. Didion, *Vascular protection: superoxide dismutase isoforms in the vessel wall*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2004. **24**(8): p. 1367-1373.
166. Wakisaka, Y., et al., *Critical Role for Copper/Zinc-Superoxide Dismutase in Preventing Spontaneous Intracerebral Hemorrhage During Acute and Chronic Hypertension in Mice*. Stroke, 2010. **41**(4): p. 790-797.
167. Son, D., et al., *Chronic hypoxia aggravates renal injury via suppression of Cu/Zn-SOD: a proteomic analysis*. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 2008. **294**(1): p. F62-F72.
168. Kang, K.-T., J.C. Sullivan, and J.S. Pollock, *Superoxide dismutase activity in small mesenteric arteries is downregulated by angiotensin II but not by hypertension*. Toxicological research, 2018. **34**(4): p. 363-370.
169. Monteserin-Garcia, J., et al., *Sirt1 inhibits the transcription factor CREB to regulate pituitary growth hormone synthesis*. The FASEB Journal, 2013. **27**(4): p. 1561-1571.
170. Finkel, T., C.-X. Deng, and R. Mostoslavsky, *Recent progress in the biology and physiology of sirtuins*. Nature, 2009. **460**(7255): p. 587.

171. Wang, X., et al., *The role of septin 7 in physiology and pathological disease: A systematic review of current status*. Journal of cellular and molecular medicine, 2018. **22**(7): p. 3298-3307.
172. Phan, Q.T., et al., *Role of endothelial cell septin 7 in the endocytosis of Candida albicans*. MBio, 2013. **4**(6): p. e00542-13.
173. Kim, J. and J.A. Cooper, *Septins regulate junctional integrity of endothelial monolayers*. Molecular biology of the cell, 2018. **29**(14): p. 1693-1703.
174. Neubauer, K., et al., *Characterization of septin expression in normal and fibrotic kidneys*. Cytoskeleton, 2019. **76**(1): p. 143-153.
175. Dash, S.N., et al., *Sept7b is required for the subcellular organization of cardiomyocytes and cardiac function in zebrafish*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2017. **312**(5): p. H1085-H1095.
176. Dwinovan, J., et al., *Proteomic analysis reveals downregulation of housekeeping proteins in the diabetic vascular proteome*. Acta diabetologica, 2017. **54**(2): p. 171-190.
177. Im, M. and L. Dagnino, *Protective role of integrin-linked kinase against oxidative stress and in maintenance of genomic integrity*. Oncotarget, 2018. **9**(17): p. 13637.
178. Rudkouskaya, A., I. Welch, and L. Dagnino, *ILK modulates epithelial polarity and matrix formation in hair follicles*. Molecular biology of the cell, 2014. **25**(5): p. 620-632.
179. Bendig, G., et al., *Integrin-linked kinase, a novel component of the cardiac mechanical stretch sensor, controls contractility in the zebrafish heart*. Genes & development, 2006. **20**(17): p. 2361-2372.
180. Wakatsuki, T., J. Schlessinger, and E.L. Elson, *The biochemical response of the heart to hypertension and exercise*. Trends in biochemical sciences, 2004. **29**(11): p. 609-617.
181. Xu, J. and G.-P. Shi, *Vascular wall extracellular matrix proteins and vascular diseases*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 2014. **1842**(11): p. 2106-2119.
182. Senanayake, P.d., et al., *Angiotensin II and its receptor subtypes in the human retina*. Investigative ophthalmology & visual science, 2007. **48**(7): p. 3301-3311.
183. Morishita, R., et al., *Evidence for direct local effect of angiotensin in vascular hypertrophy. In vivo gene transfer of angiotensin converting enzyme*. The Journal of clinical investigation, 1994. **94**(3): p. 978-984.
184. Shehadeh, L.A., et al., *Dynamic regulation of vascular myosin light chain (MYL9) with injury and aging*. PLoS One, 2011. **6**(10).
185. Sellers, J.R., *Myosins: a diverse superfamily*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 2000. **1496**(1): p. 3-22.
186. Lam, C.Y., et al., *Identification and characterization of tropomyosin 3 associated with granulin-epithelin precursor in human hepatocellular carcinoma*. PLoS One, 2012. **7**(7).
187. Johnston, J.R., P.B. Chase, and J.R. Pinto, *Troponin through the looking-glass: emerging roles beyond regulation of striated muscle contraction*. Oncotarget, 2018. **9**(1): p. 1461.
188. Shave, R., et al., *Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications*. Journal of the American College of Cardiology, 2010. **56**(3): p. 169-176.

189. Karthik, D., et al., *Proteomic analysis of plasma proteins in diabetic rats by 2D electrophoresis and MALDI-TOF-MS*. Applied biochemistry and biotechnology, 2012. **166**(6): p. 1507-1519.
190. Calábria, L.K., et al., *Myosins are differentially expressed under oxidative stress in chronic streptozotocin-induced diabetic rat brains*. ISRN neuroscience, 2013. **2013**.
191. Vecchione, C., et al., *Pressure-induced vascular oxidative stress is mediated through activation of integrin-linked kinase 1/ $\beta$ PIX/Rac-1 pathway*. Hypertension, 2009. **54**(5): p. 1028-1034.
192. Holappa, M., H. Vapaatalo, and A. Vaajanen, *Many faces of renin-angiotensin system-focus on eye*. The open ophthalmology journal, 2017. **11**: p. 122.
193. Garcia, P.J.M. and M.E. Marin-Castano, *Angiotensin II-related hypertension and eye diseases*. World Journal of Cardiology, 2014(9): p. 9.
194. Didion, S.P. and F.M. Faraci, *Angiotensin II produces superoxide-mediated impairment of endothelial function in cerebral arterioles*. Stroke, 2003. **34**(8): p. 2038-2042.
195. Wong-Riley, M., *Energy metabolism of the visual system*. Eye and brain, 2010. **2**: p. 99.
196. Pournaras, C.J., et al., *Regulation of retinal blood flow in health and disease*. Progress in retinal and eye research, 2008. **27**(3): p. 284-330.
197. Aref, A.A., *Current management of glaucoma and vascular occlusive disease*. Current opinion in ophthalmology, 2016. **27**(2): p. 140-145.
198. Flammer, J., et al., *The impact of ocular blood flow in glaucoma*. Progress in retinal and eye research, 2002. **21**(4): p. 359-393.
199. Schmidl, D., et al., *Role of nitric oxide in optic nerve head blood flow regulation during an experimental increase in intraocular pressure in healthy humans*. Experimental eye research, 2013. **116**: p. 247-253.
200. Hirooka, K. and F. Shiraga, *Potential role for angiotensin-converting enzyme inhibitors in the treatment of glaucoma*. Clinical ophthalmology (Auckland, NZ), 2007. **1**(3): p. 217.

## Anhang

### Anhang

Tabelle 5: Liste aller identifizierten Proteine der Arteria Ophthalmica

Nummer	Datenbank	Protein ID	Proteinname	Genname
1	Mus musculus	P61922	4-aminobutyrate aminotransferase, mitochondrial	Abat
2	Mus musculus	Q8VCR7	Alpha/beta hydrolase domain-containing protein 14B	Abhd14b
3	Mus musculus	Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase, mitochondrial	Acaa2
4	Mus musculus	P51174	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	Acadl
5	Mus musculus	P45952	Medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	Acadm
6	Mus musculus	Q8QZT1	Acetyl-CoA acetyltransferase, mitochondrial	Acat1
7	Mus musculus	Q91V92	ATP-citrate synthase	Acly
8	Mus musculus	Q99KI0	Aconitate hydratase, mitochondrial	Aco2
9	Mus musculus	Q9QYR9	Acyl-coenzyme A thioesterase 2, mitochondrial	Acot2
10	Mus musculus	P68134	Actin, alpha skeletal muscle	Acta1
11	Mus musculus	P62737	Actin, aortic smooth muscle	Acta2
12	Mus musculus	P60710	Actin, cytoplasmic 1	Actb
13	Mus musculus	Q8BFZ3	Beta-actin-like protein 2	Actbl2
14	Mus musculus	P68033	Actin, alpha cardiac muscle 1	Actc1
15	Mus musculus	P63260	Actin, cytoplasmic 2	Actg1
16	Mus musculus	Q7TPR4	Alpha-actinin-1	Actn1
17	Mus musculus	Q9JI91	Alpha-actinin-2	Actn2
18	Mus musculus	P57780	Alpha-actinin-4	Actn4
19	Homo sapiens	P61163	Alpha-centractin	ACTR1A
20	Mus musculus	Q8R5C5	Beta-centractin	Actr1b
21	Mus musculus	P28474	Alcohol dehydrogenase class-3	Adh5
22	Mus musculus	Q60994	Adiponectin	Adipoq
23	Mus musculus	P50247	Adenosylhomocysteinase	Ahcy
24	Mus musculus	P29699	Alpha-2-HS-glycoprotein	Ahsg
25	Mus musculus	Q9JII6	Alcohol dehydrogenase [NADP(+)]	Akr1a1
26	Mus musculus	P45376	Aldose reductase	Akr1b1
27	Mus musculus	P10518	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	Alad
28	Mus musculus	P07724	Serum albumin	Alb
29	Mus musculus	Q61490	CD166 antigen	Alcam
30	Mus musculus	P47738	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial	Aldh2
31	Mus musculus	Q9EQ20	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating], mitochondrial	Aldh6a1
32	Mus musculus	Q9DBF1	Alpha-aminoacidic semialdehyde dehydrogenase	Aldh7a1
33	Mus musculus	P05064	Fructose-bisphosphate aldolase A	Aldoa
34	Mus musculus	P09242	Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme	Alpl
35	Mus musculus	Q69ZU8	Ankyrin repeat domain-containing protein 6	Ankrd6
36	Mus musculus	P97449	Aminopeptidase N	Anpep
37	Mus musculus	P10107	Annexin A1	Anxa1
38	Mus musculus	P97384	Annexin A11	Anxa11
39	Mus musculus	P07356	Annexin A2	Anxa2

## Anhang

40	Mus musculus	O35639	Annexin A3	Anxa3
41	Mus musculus	P97429	Annexin A4	Anxa4
42	Mus musculus	P48036	Annexin A5	Anxa5
43	Mus musculus	P14824	Annexin A6	Anxa6
44	Mus musculus	O70423	Membrane primary amine oxidase	Aoc3
45	Mus musculus	P61967	AP-1 complex subunit sigma-1A	Ap1s1
46	Mus musculus	Q8K4Z3	NAD(P)H-hydrate epimerase	Apoa1bp
47	Mus musculus	P84078	ADP-ribosylation factor 1	Arf1
48	Mus musculus	Q99PT1	Rho GDP-dissociation inhibitor 1	Arhgdia
49	Mus musculus	Q9WUL7	ADP-ribosylation factor-like protein 3	Arl3
50	Mus musculus	Q8R5J9	PRA1 family protein 3	Arl6ip5
51	Homo sapiens	Q9P241	Probable phospholipid-transporting ATPase VD	ATP10D
52	Mus musculus	Q8VDN2	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-1	Atp1a1
53	Mus musculus	Q6PIE5	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-2	Atp1a2
54	Mus musculus	Q6PIC6	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3	Atp1a3
55	Mus musculus	P14094	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-1	Atp1b1
56	Mus musculus	P97370	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-3	Atp1b3
57	Mus musculus	Q8R429	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 1	Atp2a1
58	Mus musculus	Q64518	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 3	Atp2a3
59	Mus musculus	Q03265	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	Atp5a1
60	Mus musculus	P56480	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	Atp5b
61	Mus musculus	Q91VR2	ATP synthase subunit gamma, mitochondrial	Atp5c1
62	Mus musculus	Q9D3D9	ATP synthase subunit delta, mitochondrial	Atp5d
63	Mus musculus	Q9CQ7	ATP synthase F(0) complex subunit B1, mitochondrial	Atp5f1
64	Mus musculus	Q9DCX2	ATP synthase subunit d, mitochondrial	Atp5h
65	Mus musculus	Q06185	ATP synthase subunit e, mitochondrial	Atp5i
66	Mus musculus	P56135	ATP synthase subunit f, mitochondrial	Atp5j2
67	Mus musculus	Q9CPQ8	ATP synthase subunit g, mitochondrial	Atp5l
68	Mus musculus	Q9DB20	ATP synthase subunit O, mitochondrial	Atp5o
69	Mus musculus	P50516	V-type proton ATPase catalytic subunit A	Atp6v1a
70	Mus musculus	P50518	V-type proton ATPase subunit E 1	Atp6v1e1
71	Mus musculus	Q9R069	Basal cell adhesion molecule	Bcam
72	Mus musculus	O35855	Branched-chain-amino-acid aminotransferase, mitochondrial	Bcat2
73	Mus musculus	Q6PAJ1	Breakpoint cluster region protein	Bcr
74	Mus musculus	P28653	Biglycan	Bgn
75	Mus musculus	Q8R164	Valacyclovir hydrolase	Bphl
76	Mus musculus	Q61114	BPI fold-containing family B member 1	Bpifb1
77	Mus musculus	Q80XI7	Vomeromodulin	Bpifb9a
78	Mus musculus	P18572	Basigin	Bsg
79	Mus musculus	O35658	Complement component 1 Q subcomponent-binding protein, mitochondrial	C1qbp
80	Mus musculus	P00920	Carbonic anhydrase 2	Ca2
81	Mus musculus	P16015	Carbonic anhydrase 3	Ca3
82	Mus musculus	O08532	Voltage-dependent calcium channel subunit alpha-2/delta-1	Cacna2d1
83	Mus musculus	Q99N28	Cell adhesion molecule 3	Cadm3
84	Mus musculus	Q8R464	Cell adhesion molecule 4	Cadm4
85	Mus musculus	Q08331	Calretinin	Calb2

## Anhang

86	Homo sapiens	P0DP25	Calmodulin-3	CALM3
87	Mus musculus	P0DP28	Calmodulin-like protein 3	Calm3
88	Mus musculus	P14211	Calreticulin	Calr
89	Mus musculus	P35564	Calnexin	Canx
90	Mus musculus	P40124	Adenylyl cyclase-associated protein 1	Cap1
91	Mus musculus	P47754	F-actin-capping protein subunit alpha-2	Capza2
92	Mus musculus	P47757	F-actin-capping protein subunit beta	Capzb
93	Mus musculus	O09165	Calsequestrin-1	Casq1
94	Mus musculus	O09161	Calsequestrin-2	Casq2
95	Mus musculus	P49817	Caveolin-1	Cav1
96	Homo sapiens	Q502W7	Coiled-coil domain-containing protein 38	CCDC38
97	Mus musculus	O35566	CD151 antigen	Cd151
98	Mus musculus	O54901	OX-2 membrane glycoprotein	Cd200
99	Mus musculus	Q08857	Platelet glycoprotein 4	Cd36
100	Mus musculus	Q61735	Leukocyte surface antigen CD47	Cd47
101	Mus musculus	O55186	CD59A glycoprotein	Cd59a
102	Mus musculus	P35762	CD81 antigen	Cd81
103	Mus musculus	P40240	CD9 antigen	Cd9
104	Mus musculus	P60766	Cell division control protein 42 homolog	Cdc42
105	Mus musculus	Q9WTR5	Cadherin-13	Cdh13
106	Homo sapiens	P23141	Liver carboxylesterase 1	CES1
107	Mus musculus	Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	Ces1d
108	Mus musculus	P18760	Cofilin-1	Cfl1
109	Mus musculus	Q91WS0	CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 1	Cisd1
110	Mus musculus	Q91V76	Ester hydrolase C11orf54 homolog	CK054
111	Mus musculus	Q04447	Creatine kinase B-type	Ckb
112	Mus musculus	Q6P8J7	Creatine kinase S-type, mitochondrial	Ckmt2
113	Mus musculus	Q9QZM3	Cardiotrophin-like cytokine factor 1	Clcf1
114	Mus musculus	O88551	Claudin-1	Cldn1
115	Mus musculus	Q68FD5	Clathrin heavy chain 1	Cltc
116	Mus musculus	Q06890	Clusterin	Clu
117	Mus musculus	P16330	2,3-cyclic-nucleotide 3-phosphodiesterase	Cnp
118	Mus musculus	Q9QXT0	Protein canopy homolog 2	Cnpy2
119	Mus musculus	Q80X19	Collagen alpha-1(XIV) chain	Col14a1
120	Mus musculus	P11087	Collagen alpha-1(I) chain	Col1a1
121	Mus musculus	Q04857	Collagen alpha-1(VI) chain	Col6a1
122	Mus musculus	Q02788	Collagen alpha-2(VI) chain	Col6a2
123	Homo sapiens	P12111	Collagen alpha-3(VI) chain	COL6A3
124	Mus musculus	O88543	COP9 signalosome complex subunit 3	Cops3
125	Mus musculus	P19783	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1, mitochondrial	Cox41
126	Mus musculus	P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial	Cox5a
127	Mus musculus	P19536	Cytochrome c oxidase subunit 5B, mitochondrial	Cox5b
128	Mus musculus	Q9CPQ1	Cytochrome c oxidase subunit 6C	Cox6c
129	Mus musculus	P56392	Cytochrome c oxidase subunit 7A1, mitochondrial	Cox7a1
130	Mus musculus	P48771	Cytochrome c oxidase subunit 7A2, mitochondrial	Cox7a2
131	Mus musculus	Q61147	Ceruloplasmin	Cp

## Anhang

132	Mus musculus	P15089	Mast cell carboxypeptidase A	Cpa3
133	Homo sapiens	Q9NQ79	Cartilage acidic protein 1	CRTAC1
134	Mus musculus	P23927	Alpha-crystallin B chain	Cryab
135	Mus musculus	Q9CZU6	Citrate synthase, mitochondrial	Cs
136	Mus musculus	P97315	Cysteine and glycine-rich protein 1	Csrp1
137	Mus musculus	P56203	Cathepsin W	Ctsw
138	Mus musculus	P56395	Cytochrome b5	Cyb5a
139	Mus musculus	Q9DCN2	NADH-cytochrome b5 reductase 3	Cyb5r3
140	Mus musculus	Q9D0M3	Cytochrome c1, heme protein, mitochondrial	Cyc1
141	Mus musculus	P62897	Cytochrome c, somatic	Cycc
142	Mus musculus	P33267	Cytochrome P450 2F2	Cyp2f2
143	Mus musculus	Q9D172	ES1 protein homolog, mitochondrial	D10Jhu81e
144	Mus musculus	P61804	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit DAD1	Dad1
145	Mus musculus	P28654	Decorin	Dcn
146	Mus musculus	Q9DAR7	m7GpppX diphosphatase	Dcps
147	Mus musculus	Q9CWS0	N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1	Ddah1
148	Mus musculus	Q99LD8	N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	Ddah2
149	Mus musculus	O54734	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	Ddost
150	Mus musculus	P31001	Desmin	Des
151	Mus musculus	Q8CIP5	Protein dispatched homolog 2	Disp2
152	Mus musculus	Q8BMF4	Dihydrolipoyllysine-residue acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex, mitochondrial	Dlat
153	Mus musculus	O08749	Dihydrolipoyl dehydrogenase, mitochondrial	Dld
154	Mus musculus	Q9D2G2	Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, mitochondrial	Dlst
155	Homo sapiens	P11532	Dystrophin	DMD
156	Mus musculus	Q9Z2W0	Aspartyl aminopeptidase	Dnpep
157	Mus musculus	P31428	Dipeptidase 1	Dpep1
158	Mus musculus	Q9ET22	Dipeptidyl peptidase 2	Dpp7
159	Mus musculus	Q9QZZ6	Dermatopontin	Dpt
160	Mus musculus	O08553	Dihydropyrimidinase-related protein 2	Dpysl2
161	Mus musculus	Q62188	Dihydropyrimidinase-related protein 3	Dpysl3
162	Mus musculus	Q9R0P5	Dextrin	Dstn
163	Mus musculus	Q9D0M5	Dynein light chain 2, cytoplasmic	Dynll2
164	Mus musculus	Q8BI55	Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 4	Dyrk4
165	Mus musculus	O35459	Delta(3,5)-Delta(2,4)-dienoyl-CoA isomerase, mitochondrial	Ech1
166	Mus musculus	P42125	Enoyl-CoA delta isomerase 1, mitochondrial	Eci1
167	Mus musculus	P10126	Elongation factor 1-alpha 1	Eef1a1
168	Homo sapiens	Q5VTE0	Putative elongation factor 1-alpha-like 3	EEF1A1P5
169	Mus musculus	O70251	Elongation factor 1-beta	Eef1b
170	Mus musculus	P58252	Elongation factor 2	Eef2
171	Mus musculus	P17182	Alpha-enolase	Eno1
172	Mus musculus	P17183	Gamma-enolase	Eno2
173	Mus musculus	P21550	Beta-enolase	Eno3
174	Mus musculus	P16406	Glutamyl aminopeptidase	Enpep
175	Mus musculus	P55772	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1	Entpd1
176	Mus musculus	O55026	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 2	Entpd2

## Anhang

177	Mus musculus	Q99M71	Mammalian ependymin-related protein 1	Epdr1
178	Mus musculus	Q9D379	Epoxide hydrolase 1	Ephx1
179	Mus musculus	Q9EQH2	Endoplasmic reticulum aminopeptidase 1	Erap1
180	Mus musculus	P57759	Endoplasmic reticulum resident protein 29	Erp29
181	Homo sapiens	Q9BS26	Endoplasmic reticulum resident protein 44	ERP44
182	Mus musculus	Q9R0P3	S-formylglutathione hydrolase	Esd
183	Mus musculus	Q99LC5	Electron transfer flavoprotein subunit alpha, mitochondrial	Etfa
184	Mus musculus	Q921G7	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase, mitochondrial	Etfhd
185	Mus musculus	P04117	Fatty acid-binding protein, adipocyte	Fabp4
186	Mus musculus	Q05816	Fatty acid-binding protein, epidermal	Fabp5
187	Mus musculus	P51880	Fatty acid-binding protein, brain	Fabp7
188	Mus musculus	P19096	Fatty acid synthase	Fasn
189	Mus musculus	Q9WVH9	Fibulin-5	Fbn5
190	Mus musculus	Q61554	Fibrillin-1	Fbn1
191	Mus musculus	Q920E5	Farnesyl pyrophosphate synthase	Fdps
192	Mus musculus	E9PV24	Fibrinogen alpha chain	Fga
193	Mus musculus	P97807	Fumarate hydratase, mitochondrial	Fh
194	Mus musculus	P26883	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP1A	Fkbp1a
195	Mus musculus	Q8BTM8	Filamin-A	Flna
196	Mus musculus	Q8K2I3	Dimethylaniline monooxygenase [N-oxide-forming] 2	Fmo2
197	Mus musculus	Q61553	Fascin	Fscn1
198	Mus musculus	P09528	Ferritin heavy chain	Fth1
199	Mus musculus	P29391	Ferritin light chain 1	Ftl1
200	Mus musculus	P59648	FXD domain-containing ion transport regulator 7	Fxyd7
201	Homo sapiens	P0DPI2	Glutamine amidotransferase-like class 1 domain-containing protein 3A	GAL3A
202	Mus musculus	Q8BHN3	Neutral alpha-glucosidase AB	Ganab
203	Mus musculus	P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Gapdh
204	Mus musculus	O55126	Protein NipSnap homolog 2	Gbas
205	Mus musculus	P50396	Rab GDP dissociation inhibitor alpha	Gdi1
206	Mus musculus	Q61598	Rab GDP dissociation inhibitor beta	Gdi2
207	Mus musculus	P06880	Somatotropin	Gh1
208	Mus musculus	P23780	Beta-galactosidase	Glb1
209	Mus musculus	Q9CPU0	Lactoylglutathione lyase	Glo1
210	Mus musculus	Q9CPV4	Glyoxalase domain-containing protein 4	Glod4
211	Mus musculus	P26443	Glutamate dehydrogenase 1, mitochondrial	Glud1
212	Mus musculus	Q9CQI3	Glia maturation factor beta	Gmfb
213	Mus musculus	P30677	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-14	Gna14
214	Mus musculus	B2RSH2	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1	Gnai1
215	Mus musculus	P08752	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-2	Gnai2
216	Mus musculus	P21279	Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha	Gnaq
217	Mus musculus	P62874	Guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(s)/G(t) subunit beta-1	Gnb1
218	Mus musculus	P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(s)/G(t) subunit beta-2	Gnb2
219	Mus musculus	P63213	Guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(s)/G(o) subunit gamma-2	Gng2
220	Mus musculus	P05201	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	Got1
221	Mus musculus	P05202	Aspartate aminotransferase, mitochondrial	Got2
222	Mus musculus	Q64521	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase, mitochondrial	Gpd2

## Anhang

223	Mus musculus	P06745	Glucose-6-phosphate isomerase	Gpi
224	Mus musculus	P35803	Neuronal membrane glycoprotein M6-b	Gpm6b
225	Mus musculus	Q99LP6	GrpE protein homolog 1, mitochondrial	Grpel1
226	Mus musculus	P13020	Gelsolin	Gsn
227	Mus musculus	P24472	Glutathione S-transferase A4	Gsta4
228	Mus musculus	P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	Gstm1
229	Mus musculus	P15626	Glutathione S-transferase Mu 2	Gstm2
230	Homo sapiens	P46439	Glutathione S-transferase Mu 5	GSTM5
231	Mus musculus	O09131	Glutathione S-transferase omega-1	Gsto1
232	Mus musculus	P19157	Glutathione S-transferase P 1	Gstp1
233	Mus musculus	Q3THW5	Histone H2A.V	H2afv
234	Mus musculus	P84244	Histone H3.3	H3f3a
235	Mus musculus	Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase, mitochondrial	Hadh
236	Mus musculus	Q8BMS1	Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial	Hadha
237	Mus musculus	Q99JY0	Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial	Hadhb
238	Mus musculus	P01942	Hemoglobin subunit alpha	Hba
239	Homo sapiens	P69905	Hemoglobin subunit alpha	HBA1
240	Homo sapiens	P68871	Hemoglobin subunit beta	HBB
241	Mus musculus	P02088	Hemoglobin subunit beta-1	Hbb-b1
242	Mus musculus	P02089	Hemoglobin subunit beta-2	Hbb-b2
243	Mus musculus	Q3UGR5	Haloacid dehalogenase-like hydrolase domain-containing protein 2	Hdhd2
244	Mus musculus	Q99L13	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase, mitochondrial	Hibadh
245	Mus musculus	Q8QZS1	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase, mitochondrial	Hibch
246	Mus musculus	P70349	Histidine triad nucleotide-binding protein 1	Hint1
247	Mus musculus	P43274	Histone H1.4	Hist1h1e
248	Homo sapiens	P22492	Histone H1t	HIST1H1T
249	Homo sapiens	Q99878	Histone H2A type 1-J	HIST1H2AJ
250	Homo sapiens	Q99880	Histone H2B type 1-L	HIST1H2BL
251	Mus musculus	Q8CGP2	Histone H2B type 1-P	Hist1h2bp
252	Mus musculus	P62806	Histone H4	Hist1h4a
253	Mus musculus	Q64523	Histone H2A type 2-C	Hist2h2ac
254	Homo sapiens	Q71DI3	Histone H3.2	HIST2H3A
255	Mus musculus	Q9D2U9	Histone H2B type 3-A	Hist3h2ba
256	Mus musculus	P17710	Hexokinase-1	Hk1
257	Mus musculus	P49312	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	Hnrnpa1
258	Homo sapiens	Q32P51	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1-like 2	HNRNPA1L2
259	Mus musculus	O88569	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	Hnrnpa2b1
260	Mus musculus	Q9Z2X1	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F	Hnrmpf
261	Mus musculus	O35737	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	Hnrnp1
262	Homo sapiens	P55795	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2	HNRNP2
263	Mus musculus	P61979	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	Hnrmpk
264	Mus musculus	P00493	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	Hprt1
265	Mus musculus	O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	Hsd17b10
266	Mus musculus	Q9EQ06	Estradiol 17-beta-dehydrogenase 11	Hsd17b11
267	Mus musculus	P07901	Heat shock protein HSP 90-alpha	Hsp90aa1
268	Mus musculus	P11499	Heat shock protein HSP 90-beta	Hsp90ab1

## Anhang

269	Homo sapiens	Q58FF8	Putative heat shock protein HSP 90-beta 2	HSP90AB2P
270	Mus musculus	P08113	Endoplasmic	Hsp90b1
271	Mus musculus	Q8K0U4	Heat shock 70 kDa protein 12A	Hspa12a
272	Mus musculus	P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	Hspa1l
273	Mus musculus	Q61316	Heat shock 70 kDa protein 4	Hspa4
274	Mus musculus	P20029	78 kDa glucose-regulated protein	Hspa5
275	Homo sapiens	P17066	Heat shock 70 kDa protein 6	HSPA6
276	Mus musculus	P63017	Heat shock cognate 71 kDa protein	Hspa8
277	Mus musculus	P38647	Stress-70 protein, mitochondrial	Hspa9
278	Mus musculus	P63038	60 kDa heat shock protein, mitochondrial	Hspd1
279	Mus musculus	Q64433	10 kDa heat shock protein, mitochondrial	Hspe1
280	Mus musculus	Q05793	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein	Hspg2
281	Mus musculus	Q9JKR6	Hypoxia up-regulated protein 1	Hyou1
282	Mus musculus	O88844	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	Idh1
283	Mus musculus	P54071	Isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial	Idh2
284	Mus musculus	Q9D6R2	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha, mitochondrial	Idh3a
285	Mus musculus	P58044	Isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase 1	Idi1
286	Homo sapiens	P0DOX7	Ig kappa chain C region	IGKC
287	Mus musculus	O55023	Inositol monophosphatase 1	Impa1
288	Mus musculus	P40936	Indolethylamine N-methyltransferase	Inmt
289	Mus musculus	P85094	Isochorismatase domain-containing protein 2A, mitochondrial	Isoc2a
290	Mus musculus	Q3V3R4	Integrin alpha-1	Itga1
291	Mus musculus	Q61739	Integrin alpha-6	Itga6
292	Mus musculus	P43406	Integrin alpha-V	Itgav
293	Mus musculus	P09055	Integrin beta-1	Itgb1
294	Mus musculus	A2A863	Integrin beta-4	Itgb4
295	Mus musculus	Q9Z0T9	Integrin beta-6	Itgb6
296	Mus musculus	Q9JHI5	Isovaleryl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	Ivd
297	Mus musculus	Q9D8B7	Junctional adhesion molecule C	Jam3
298	Mus musculus	Q9D3R6	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 2	Katnal2
299	Mus musculus	Q80WQ4	Probable tRNA methyltransferase 9-like protein	Kiaa1456
300	Homo sapiens	Q2M2Z5	Centrosomal protein kizuna	KIZ
301	Mus musculus	Q8CE33	Kelch-like protein 11	Klh11
302	Mus musculus	P70168	Importin subunit beta-1	Kpnb1
303	Homo sapiens	P04264	Keratin, type II cytoskeletal 1	KRT1
304	Homo sapiens	P04259	Keratin, type II cytoskeletal 6B	KRT6B
305	Mus musculus	Q3UV17	Keratin, type II cytoskeletal 2 oral	Krt76
306	Mus musculus	Q60675	Laminin subunit alpha-2	Lama2
307	Mus musculus	P97927	Laminin subunit alpha-4	Lama4
308	Mus musculus	P02469	Laminin subunit beta-1	Lamb1
309	Mus musculus	Q61292	Laminin subunit beta-2	Lamb2
310	Mus musculus	P02468	Laminin subunit gamma-1	Lamc1
311	Mus musculus	P11438	Lysosome-associated membrane glycoprotein 1	Lamp1
312	Mus musculus	P17047	Lysosome-associated membrane glycoprotein 2	Lamp2
313	Mus musculus	Q61233	Plastin-2	Lcp1
314	Mus musculus	P06151	L-lactate dehydrogenase A chain	Ldha

## Anhang

315	Mus musculus	P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	Ldhd
316	Mus musculus	P16045	Galectin-1	Lgals1
317	Mus musculus	P48678	Prelamin-A/C	Lmna
318	Mus musculus	Q91ZX7	Prolow-density lipoprotein receptor-related protein 1	Lrp1
319	Mus musculus	P51885	Lumican	Lum
320	Mus musculus	P20917	Myelin-associated glycoprotein	Mag
321	Mus musculus	P14873	Microtubule-associated protein 1B	Map1b
322	Mus musculus	P04370	Myelin basic protein	Mbp
323	Mus musculus	Q8R2Y2	Cell surface glycoprotein MUC18	Mcam
324	Mus musculus	P21812	Mast cell protease 4	Mcpt4
325	Mus musculus	P14152	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	Mdh1
326	Mus musculus	P08249	Malate dehydrogenase, mitochondrial	Mdh2
327	Homo sapiens	Q9H8H3	Methyltransferase-like protein 7A	METTL7A
328	Mus musculus	P55002	Microfibrillar-associated protein 2	Mfap2
329	Mus musculus	Q9D1H9	Microfibril-associated glycoprotein 4	Mfap4
330	Mus musculus	Q6ZQI3	Malectin	Mlec
331	Mus musculus	P56379	6.8 kDa mitochondrial proteolipid	Mp68
332	Mus musculus	P27573	Myelin protein P0	Mpz
333	Mus musculus	Q61830	Macrophage mannose receptor 1	Mrc1
334	Mus musculus	Q64449	C-type mannose receptor 2	Mrc2
335	Mus musculus	P03930	ATP synthase protein 8	Mtstp8
336	Mus musculus	P00405	Cytochrome c oxidase subunit 2	Mtco2
337	Mus musculus	P00158	Cytochrome b	Mt-Cyb
338	Mus musculus	Q80TA6	Myotubularin-related protein 12	Mtmr12
339	Mus musculus	P62774	Myotrophin	Mtpn
340	Homo sapiens	Q7Z5P9	Mucin-19	MUC19
341	Mus musculus	Q9EQK5	Major vault protein	Mvp
342	Mus musculus	Q9CPT4	Myeloid-derived growth factor	Mydgf
343	Homo sapiens	P23409	Myogenic factor 6	MYF6
344	Mus musculus	Q5SX40	Myosin-1	Myh1
345	Mus musculus	Q61879	Myosin-10	Myh10
346	Mus musculus	O08638	Myosin-11	Myh11
347	Homo sapiens	Q9UKX3	Myosin-13	MYH13
348	Homo sapiens	Q9UKX2	Myosin-2	MYH2
349	Homo sapiens	P11055	Myosin-3	MYH3
350	Mus musculus	Q5SX39	Myosin-4	Myh4
351	Mus musculus	Q91Z83	Myosin-7	Myh7
352	Mus musculus	P13542	Myosin-8	Myh8
353	Mus musculus	P05977	Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform	My11
354	Mus musculus	Q60605	Myosin light polypeptide 6	My16
355	Mus musculus	Q6PDN3	Myosin light chain kinase, smooth muscle	My1k
356	Mus musculus	P97457	Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform	My1pf
357	Homo sapiens	Q8IVL0	Neuron navigator 3	NAV3
358	Mus musculus	P13595	Neural cell adhesion molecule 1	Ncam1
359	Mus musculus	Q62433	Protein NDRG1	Ndr1
360	Mus musculus	Q99LC3	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 10, mitochondrial	Ndufa10

## Anhang

361	Mus musculus	Q9D8B4	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 11	Ndufa11
362	Mus musculus	Q77MF3	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 12	Ndufa12
363	Mus musculus	Q9CQ75	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 2	Ndufa2
364	Mus musculus	Q62425	Cytochrome c oxidase subunit NDUFA4	Ndufa4
365	Mus musculus	Q9DCJ5	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 8	Ndufa8
366	Mus musculus	Q9DC69	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 9, mitochondrial	Ndufa9
367	Mus musculus	Q9DCS9	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 10	Ndufb10
368	Mus musculus	Q9CQZ6	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 3	Ndufb3
369	Mus musculus	Q9CQC7	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 4	Ndufb4
370	Mus musculus	Q9CQH3	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 5, mitochondrial	Ndufb5
371	Mus musculus	Q9CR61	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 7	Ndufb7
372	Mus musculus	Q9CQJ8	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 9	Ndufb9
373	Mus musculus	Q9CQ54	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 subunit C2	Ndufc2
374	Mus musculus	Q91VD9	NADH-ubiquinone oxidoreductase 75 kDa subunit, mitochondrial	Ndufs1
375	Mus musculus	Q91WD5	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 2, mitochondrial	Ndufs2
376	Mus musculus	Q9DCT2	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3, mitochondrial	Ndufs3
377	Mus musculus	Q8K3J1	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 8, mitochondrial	Ndufs8
378	Mus musculus	Q91YT0	NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 1, mitochondrial	Ndufv1
379	Mus musculus	Q9D6J6	NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 2, mitochondrial	Ndufv2
380	Homo sapiens	P20929	Nebulin	NEB
381	Mus musculus	P19246	Neurofilament heavy polypeptide	Nefh
382	Mus musculus	P08551	Neurofilament light polypeptide	Nefl
383	Mus musculus	P08553	Neurofilament medium polypeptide	Nefm
384	Mus musculus	P10493	Nidogen-1	Nid1
385	Mus musculus	O88322	Nidogen-2	Nid2
386	Mus musculus	P50220	Homeobox protein Nkx-2.1	Nkx2-1
387	Mus musculus	Q01768	Nucleoside diphosphate kinase B	Nme2
388	Mus musculus	Q11011	Puromycin-sensitive aminopeptidase	Npepps
389	Mus musculus	P81117	Nucleobindin-2	Nucb2
390	Mus musculus	P29758	Ornithine aminotransferase, mitochondrial	Oat
391	Mus musculus	Q60597	2-oxoglutarate dehydrogenase, mitochondrial	Ogdh
392	Mus musculus	Q62000	Mimecan	Ogn
393	Mus musculus	Q64288	Olfactory marker protein	Omp
394	Mus musculus	Q78XF5	Oligosaccharyltransferase complex subunit OSTC	Ostc
395	Mus musculus	Q62422	Osteoclast-stimulating factor 1	Ostf1
396	Mus musculus	Q9D0K2	Succinyl-CoA:3-ketoacid coenzyme A transferase 1, mitochondrial	Oxct1
397	Mus musculus	P09103	Protein disulfide-isomerase	P4hb
398	Mus musculus	Q61206	Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit beta	Pafah1b2
399	Mus musculus	Q99MN9	Propionyl-CoA carboxylase beta chain, mitochondrial	Pccb
400	Mus musculus	Q9CQF9	Prenylcysteine oxidase	Pcyox1
401	Mus musculus	Q8C7K6	Prenylcysteine oxidase-like	Pcyox1l
402	Mus musculus	P27773	Protein disulfide-isomerase A3	Pdia3
403	Mus musculus	Q922R8	Protein disulfide-isomerase A6	Pdia6
404	Mus musculus	O70209	PDZ and LIM domain protein 3	Pdlim3
405	Mus musculus	P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	Pebp1
406	Mus musculus	P62962	Profilin-1	Pfn1

## Anhang

407	Mus musculus	Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	Pgam1
408	Mus musculus	O70250	Phosphoglycerate mutase 2	Pgam2
409	Mus musculus	Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	Pgd
410	Mus musculus	P09411	Phosphoglycerate kinase 1	Pgk1
411	Mus musculus	O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	Pgrmc1
412	Mus musculus	P67778	Prohibitin	Phb
413	Mus musculus	O35129	Prohibitin-2	Phb2
414	Mus musculus	P53810	Phosphatidylinositol transfer protein alpha isoform	Pitpna
415	Homo sapiens	P08F94	Fibrocystin	PKHD1
416	Mus musculus	P52480	Pyruvate kinase PKM	Pkm
417	Mus musculus	Q8K2J0	1-phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate phosphodiesterase delta-3	Plcd3
418	Mus musculus	Q9QXS1	Plectin	Plec
419	Mus musculus	Q9DCU2	Plasmolipin	Plp
420	Mus musculus	P60202	Myelin proteolipid protein	Plp1
421	Mus musculus	Q62009	Periostin	Postn
422	Mus musculus	P17742	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	Ppia
423	Mus musculus	P30412	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase C	Ppic
424	Mus musculus	P63087	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-gamma catalytic subunit	Ppp1cc
425	Homo sapiens	Q16821	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3A	PPP1R3A
426	Mus musculus	P63330	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform	Ppp2ca
427	Mus musculus	Q76MZ3	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform	Ppp2r1a
428	Mus musculus	P35700	Peroxiredoxin-1	Prdx1
429	Mus musculus	Q61171	Peroxiredoxin-2	Prdx2
430	Mus musculus	P20108	Thioredoxin-dependent peroxide reductase, mitochondrial	Prdx3
431	Mus musculus	O08807	Peroxiredoxin-4	Prdx4
432	Mus musculus	P99029	Peroxiredoxin-5, mitochondrial	Prdx5
433	Mus musculus	O08709	Peroxiredoxin-6	Prdx6
434	Mus musculus	Q9JK53	Prolargin	Prelp
435	Mus musculus	O08795	Glucosidase 2 subunit beta	Prkcsh
436	Mus musculus	P15331	Peripherin	Prph
437	Homo sapiens	P0DMB1	Proline-rich protein 23D2	PRR23D2
438	Mus musculus	O55103	Periaxin	Prx
439	Mus musculus	Q61207	Prosaposin	Psap
440	Mus musculus	O70435	Proteasome subunit alpha type-3	Pma3
441	Mus musculus	Q9R1P0	Proteasome subunit alpha type-4	Pma4
442	Mus musculus	Q9Z2U1	Proteasome subunit alpha type-5	Pma5
443	Mus musculus	Q9QUM9	Proteasome subunit alpha type-6	Pma6
444	Mus musculus	Q9Z2U0	Proteasome subunit alpha type-7	Pma7
445	Mus musculus	O09061	Proteasome subunit beta type-1	Psb1
446	Mus musculus	Q9R1P3	Proteasome subunit beta type-2	Psb2
447	Mus musculus	Q9R1P1	Proteasome subunit beta type-3	Psb3
448	Mus musculus	O55234	Proteasome subunit beta type-5	Psb5
449	Mus musculus	Q60692	Proteasome subunit beta type-6	Psb6
450	Mus musculus	O09114	Prostaglandin-H2 D-isomerase	Ptgds
451	Mus musculus	O35074	Prostacyclin synthase	Ptgis
452	Mus musculus	P32848	Parvalbumin alpha	Pvalb

## Anhang

453	Mus musculus	Q9WUB3	Glycogen phosphorylase, muscle form	Pygm
454	Mus musculus	P61027	Ras-related protein Rab-10	Rab10
455	Mus musculus	P46638	Ras-related protein Rab-11B	Rab11b
456	Mus musculus	P62821	Ras-related protein Rab-1A	Rab1A
457	Homo sapiens	Q9H0U4	Ras-related protein Rab-1B	RAB1B
458	Mus musculus	Q9CQD1	Ras-related protein Rab-5A	Rab5a
459	Homo sapiens	P61020	Ras-related protein Rab-5B	RAB5B
460	Mus musculus	P61294	Ras-related protein Rab-6B	Rab6b
461	Mus musculus	P51150	Ras-related protein Rab-7a	Rab7a
462	Homo sapiens	P63000	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1	RAC1
463	Mus musculus	Q05144	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2	Rac2
464	Mus musculus	P63321	Ras-related protein Ral-A	Rala
465	Homo sapiens	P62834	Ras-related protein Rap-1A	RAP1A
466	Mus musculus	Q99JI6	Ras-related protein Rap-1b	Rap1b
467	Mus musculus	Q60870	Receptor expression-enhancing protein 5	Reep5
468	Mus musculus	Q9D8S4	Oligoribonuclease, mitochondrial	Rexo2
469	Mus musculus	Q9QUI0	Transforming protein RhoA	Rhoa
470	Mus musculus	P70426	GTP-binding protein Rit1	Rit1
471	Mus musculus	P47955	60S acidic ribosomal protein P1	Rplp1
472	Mus musculus	Q9DBG6	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	Rpn2
473	Homo sapiens	P23396	40S ribosomal protein S3	RPS3
474	Mus musculus	P10833	Ras-related protein R-Ras	Rras
475	Mus musculus	Q8K0T0	Reticulon-1	Rtn1
476	Mus musculus	O70622	Reticulon-2	Rtn2
477	Mus musculus	Q9ES97	Reticulon-3	Rtn3
478	Mus musculus	Q99P72	Reticulon-4	Rtn4
479	Mus musculus	P08207	Protein S100-A10	S100a10
480	Mus musculus	P50543	Protein S100-A11	S100a11
481	Homo sapiens	P06703	Protein S100-A6	S100A6
482	Mus musculus	P50114	Protein S100-B	S100b
483	Homo sapiens	Q9H0E3	Histone deacetylase complex subunit SAP130	SAP130
484	Mus musculus	Q8K2B3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit, mitochondrial	Sdha
485	Mus musculus	Q9CQA3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial	Sdhb
486	Mus musculus	Q9CZB0	Succinate dehydrogenase cytochrome b560 subunit, mitochondrial	Sdhc
487	Mus musculus	Q8C1B7	Septin-11	Sept11
488	Mus musculus	P42208	Septin-2	Sept2
489	Mus musculus	O55131	Septin-7	Sept7
490	Mus musculus	Q00896	Alpha-1-antitrypsin 1-3	Serpina1c
491	Mus musculus	Q00898	Alpha-1-antitrypsin 1-5	Serpina1e
492	Mus musculus	Q03734	Serine protease inhibitor A3M	Serpina3m
493	Mus musculus	Q60854	Serpin B6	Serpinb6
494	Mus musculus	P19324	Serpin H1	Serpinh1
495	Mus musculus	O70456	14-3-3 protein sigma	Sfn
496	Mus musculus	Q9JJU8	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein	Sh3bgrl
497	Mus musculus	Q9CR62	Mitochondrial 2-oxoglutarate/malate carrier protein	Slc25a11
498	Mus musculus	Q8BH59	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar1	Slc25a12

## Anhang

499	Mus musculus	Q9QXX4	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar2	Slc25a13
500	Mus musculus	Q8VEM8	Phosphate carrier protein, mitochondrial	Slc25a3
501	Mus musculus	P48962	ADP/ATP translocase 1	Slc25a4
502	Mus musculus	P51881	ADP/ATP translocase 2	Slc25a5
503	Homo sapiens	P12236	ADP/ATP translocase 3	SLC25A6
504	Mus musculus	P17809	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1	Slc2a1
505	Mus musculus	Q6X893	Choline transporter-like protein 1	Slc44a1
506	Mus musculus	Q8BY89	Choline transporter-like protein 2	Slc44a2
507	Mus musculus	P04919	Band 3 anion transport protein	Slc4a1
508	Mus musculus	Q9EPT5	Solute carrier organic anion transporter family member 2A1	Slco2a1
509	Mus musculus	Q9R1B9	Slit homolog 2 protein	Slit2
510	Mus musculus	Q810C1	SLIT and NTRK-like protein 1	Slitrk1
511	Mus musculus	Q61466	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily D member 1	Smarcd1
512	Homo sapiens	Q96SB8	Structural maintenance of chromosomes protein 6	SMC6
513	Mus musculus	P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	Sod1
514	Mus musculus	P09671	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial	Sod2
515	Mus musculus	Q64442	Sorbitol dehydrogenase	Sord
516	Homo sapiens	Q2M3V2	Ankyrin repeat domain-containing protein SOWAHA	SOWAHA
517	Mus musculus	Q8K450	Sperm-associated antigen 16 protein	Spag16
518	Mus musculus	P07214	SPARC	Sparc
519	Mus musculus	P16546	Spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1	Sptan1
520	Mus musculus	Q62261	Spectrin beta chain, non-erythrocytic 1	Sptbn1
521	Mus musculus	Q7TQ48	Sarcalumenin	Srl
522	Mus musculus	Q99L47	Hsc70-interacting protein	St13
523	Homo sapiens	Q8IZP2	Putative protein FAM10A4	ST13P4
524	Mus musculus	Q9Z219	Succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit beta, mitochondrial	Sucla2
525	Mus musculus	P09926	Surfeit locus protein 2	Surf2
526	Mus musculus	Q9DBX3	Sushi domain-containing protein 2	Susd2
527	Mus musculus	Q89104	Synaptophysin-like protein 2	Sypl2
528	Mus musculus	P37804	Transgelin	Tagln
529	Mus musculus	Q9WVA4	Transgelin-2	Tagln2
530	Mus musculus	Q93092	Transaldolase	Taldo1
531	Mus musculus	Q8R1G1	Threonine aspartase 1	Tasp1
532	Mus musculus	Q92111	Serotransferrin	Tf
533	Mus musculus	P82198	Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3	Tgfbi
534	Mus musculus	P01831	Thy-1 membrane glycoprotein	Thy1
535	Mus musculus	P40142	Transketolase	Tkt
536	Mus musculus	P26039	Talin-1	Tln1
537	Mus musculus	Q9D1D4	Transmembrane emp24 domain-containing protein 10	Tmed10
538	Mus musculus	Q3UBX0	Transmembrane protein 109	Tmem109
539	Mus musculus	Q9CQN6	Transmembrane protein 14C	Tmem14c
540	Mus musculus	Q3TMP8	Trimeric intracellular cation channel type A	Tmem38a
541	Mus musculus	P20801	Troponin C, skeletal muscle	Tnnc2
542	Mus musculus	P13412	Troponin I, fast skeletal muscle	Tnni2
543	Mus musculus	Q9QZ47	Troponin T, fast skeletal muscle	Tnnt3
544	Mus musculus	P17751	Triosephosphate isomerase	Tpi1

## Anhang

545	Mus musculus	P58771	Tropomyosin alpha-1 chain	Tpm1
546	Mus musculus	P58774	Tropomyosin beta chain	Tpm2
547	Mus musculus	P21107	Tropomyosin alpha-3 chain	Tpm3
548	Mus musculus	Q6IRU2	Tropomyosin alpha-4 chain	Tpm4
549	Mus musculus	Q9CRB6	Tubulin polymerization-promoting protein family member 3	Tppp3
550	Mus musculus	P63028	Translationally-controlled tumor protein	Tpt1
551	Mus musculus	Q9ESN2	E3 ubiquitin-protein ligase TRIM39	Trim39
552	Mus musculus	A2ASS6	Titin	Ttn
553	Mus musculus	P68369	Tubulin alpha-1A chain	Tuba1a
554	Mus musculus	P05213	Tubulin alpha-1B chain	Tuba1b
555	Homo sapiens	P07437	Tubulin beta chain	TUBB
556	Mus musculus	P99024	Tubulin beta-5 chain	Tubb5
557	Mus musculus	O88413	Tubby-related protein 3	Tulp3
558	Mus musculus	P10639	Thioredoxin	Txn
559	Mus musculus	Q91W90	Thioredoxin domain-containing protein 5	Txndc5
560	Mus musculus	Q9JMH6	Thioredoxin reductase 1, cytoplasmic	Txnrd1
561	Mus musculus	Q02053	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1	Uba1
562	Mus musculus	P62984	Ubiquitin-60S ribosomal protein L40	Uba52
563	Mus musculus	Q9R0P9	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1	Uchl1
564	Mus musculus	Q6P5E4	UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1	Uggt1
565	Mus musculus	Q8R111	Cytochrome b-c1 complex subunit 9	Uqcr10
566	Mus musculus	Q9D855	Cytochrome b-c1 complex subunit 7	Uqcrb
567	Mus musculus	Q9CZ13	Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial	Uqcrc1
568	Mus musculus	Q9DB77	Cytochrome b-c1 complex subunit 2, mitochondrial	Uqcrc2
569	Mus musculus	Q9CR68	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske, mitochondrial	Uqcrcs1
570	Mus musculus	Q9CQ69	Cytochrome b-c1 complex subunit 8	Uqcrq
571	Mus musculus	Q78IK2	Up-regulated during skeletal muscle growth protein 5	Usmg5
572	Mus musculus	Q6ZQ93	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 34	Usp34
573	Mus musculus	Q62465	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog	Vat1
574	Mus musculus	Q80TB8	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog-like	Vat1l
575	Mus musculus	Q64727	Vinculin	Vcl
576	Mus musculus	Q01853	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	Vcp
577	Mus musculus	Q60932	Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	Vdac1
578	Mus musculus	Q60931	Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	Vdac3
579	Mus musculus	P20152	Vimentin	Vim
580	Mus musculus	Q9EP79	Vomer nasal type-1 receptor 52	Vmn1r52
581	Mus musculus	Q9EQH3	Vacuolar protein sorting-associated protein 35	Vps35
582	Mus musculus	Q8R0A6	V-set and transmembrane domain-containing protein 2A	Vstrn2a
583	Mus musculus	Q8R2Z5	von Willebrand factor A domain-containing protein 1	Vwa1
584	Mus musculus	Q99KC8	von Willebrand factor A domain-containing protein 5A	Vwa5a
585	Mus musculus	O88342	WD repeat-containing protein 1	Wdr1
586	Mus musculus	Q9CQV8	14-3-3 protein beta/alpha	Ywhab
587	Mus musculus	P62259	14-3-3 protein epsilon	Ywhae
588	Mus musculus	P61982	14-3-3 protein gamma	Ywhag
589	Mus musculus	P68510	14-3-3 protein eta	Ywhah
590	Mus musculus	P68254	14-3-3 protein theta	Ywhaq

## Anhang

591	Mus musculus	P63101	14-3-3 protein zeta/delta	Ywhaz
592	Mus musculus	Q9Z2U2	Zinc finger protein 292	Zfp292

Tabelle 6: Liste aller identifizierten Proteine der Retina

Nummer	Datenbank	Protein ID	Proteinname	Genname
1	Homo sapiens	Q16613	Serotonin N-acetyltransferase	AANAT
2	Mus musculus	Q8BGQ7	Alanine--tRNA ligase, cytoplasmic	Aars
3	Mus musculus	P61922	4-aminobutyrate aminotransferase, mitochondrial	Abat
4	Mus musculus	O35600	Retinal-specific ATP-binding cassette transporter	Abca4
5	Mus musculus	Q6PE15	Mycophenolic acid acyl-glucuronide esterase, mitochondrial	Abhd10
6	Mus musculus	Q8VCR7	Alpha/beta hydrolase domain-containing protein 14B	Abhd14b
7	Mus musculus	Q921H8	3-ketoacyl-CoA thiolase A, peroxisomal	Acaa1a
8	Mus musculus	Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase, mitochondrial	Acaa2
9	Mus musculus	Q8JZN5	Acyl-CoA dehydrogenase family member 9, mitochondrial	Acad9
10	Mus musculus	P45952	Medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	Acadm
11	Mus musculus	Q8QZT1	Acetyl-CoA acetyltransferase, mitochondrial	Acat1
12	Mus musculus	Q91V92	ATP-citrate synthase	Acly
13	Mus musculus	P28271	Cytoplasmic aconitate hydratase	Aco1
14	Mus musculus	Q99K10	Aconitate hydratase, mitochondrial	Aco2
15	Mus musculus	Q9CQR4	Acyl-coenzyme A thioesterase 13	Acot13
16	Mus musculus	Q91V12	Cytosolic acyl coenzyme A thioester hydrolase	Acot7
17	Mus musculus	Q9D358	Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase	Acp1
18	Mus musculus	P41216	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1	Acs11
19	Mus musculus	Q91WC3	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 6	Acs16
20	Mus musculus	P68134	Actin, alpha skeletal muscle	Acta1
21	Mus musculus	P60710	Actin, cytoplasmic 1	Actb
22	Mus musculus	Q8BFZ3	Beta-actin-like protein 2	Actb2
23	Mus musculus	P63260	Actin, cytoplasmic 2	Actg1
24	Mus musculus	O88990	Alpha-actinin-3	Actn3
25	Mus musculus	P57780	Alpha-actinin-4	Actn4
26	Mus musculus	P61164	Alpha-centractin	Actr1a
27	Mus musculus	Q8R5C5	Beta-centractin	Actr1b
28	Mus musculus	Q99JY9	Actin-related protein 3	Actr3
29	Homo sapiens	Q9C0K3	Actin-related protein 3C	ACTR3C
30	Mus musculus	P56376	Acylphosphatase-1	Acp1
31	Homo sapiens	P58397	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 12	ADAMTS12
32	Mus musculus	P28650	Adenylosuccinate synthetase isozyme 1	Adss1
33	Mus musculus	Q640N1	Adipocyte enhancer-binding protein 1	Aebp1
34	Mus musculus	Q9D517	1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase gamma	Agpat3
35	Mus musculus	P50247	Adenosylhomocysteinase	Ahcy
36	Mus musculus	Q8K3E5	Jouberin	Ahi1
37	Mus musculus	Q9R0Y5	Adenylate kinase isoenzyme 1	Ak1
38	Mus musculus	Q9J116	Alcohol dehydrogenase [NADP(+)]	Akr1a1

## Anhang

39	Mus musculus	P45376	Aldose reductase	Akr1b1
40	Mus musculus	Q8CG76	Aflatoxin B1 aldehyde reductase member 2	Akr7a2
41	Homo sapiens	Q8NHP1	Aflatoxin B1 aldehyde reductase member 4	AKR7L
42	Mus musculus	P24549	Retinal dehydrogenase 1	Aldh1a1
43	Mus musculus	P47738	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial	Aldh2
44	Mus musculus	P47740	Fatty aldehyde dehydrogenase	Aldh3a2
45	Mus musculus	Q8CHT0	Delta-1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase, mitochondrial	Aldh4a1
46	Mus musculus	Q8BWF0	Succinate-semialdehyde dehydrogenase, mitochondrial	Aldh5a1
47	Mus musculus	P05064	Fructose-bisphosphate aldolase A	Aldoa
48	Mus musculus	P05063	Fructose-bisphosphate aldolase C	Aldoc
49	Mus musculus	Q9DBE8	Alpha-1,3/1,6-mannosyltransferase ALG2	Alg2
50	Mus musculus	O35381	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member A	Anp32a
51	Mus musculus	Q9EST5	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B	Anp32b
52	Mus musculus	P97822	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member E	Anp32e
53	Mus musculus	P10107	Annexin A1	Anxa1
54	Mus musculus	P48036	Annexin A5	Anxa5
55	Mus musculus	P14824	Annexin A6	Anxa6
56	Mus musculus	O35643	AP-1 complex subunit beta-1	Ap1b1
57	Mus musculus	P17427	AP-2 complex subunit alpha-2	Ap2a2
58	Mus musculus	Q9DBG3	AP-2 complex subunit beta	Ap2b1
59	Homo sapiens	P53680	AP-2 complex subunit sigma	AP2S1
60	Mus musculus	O54774	AP-3 complex subunit delta-1	Ap3d1
61	Mus musculus	Q3TAP4	AP-5 complex subunit beta-1	Ap5b1
62	Mus musculus	P28352	DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase	Apex1
63	Mus musculus	O35841	Apoptosis inhibitor 5	Api5
64	Mus musculus	Q8K4Z3	NAD(P)H-hydrate epimerase	Apoa1bp
65	Mus musculus	Q9DCZ4	Apolipoprotein O	Apoo
66	Mus musculus	P84078	ADP-ribosylation factor 1	Arf1
67	Mus musculus	P84084	ADP-ribosylation factor 5	Arf5
68	Mus musculus	Q5FWK3	Rho GTPase-activating protein 1	Arhgap1
69	Mus musculus	Q99PT1	Rho GDP-dissociation inhibitor 1	Arhgdia
70	Mus musculus	P61211	ADP-ribosylation factor-like protein 1	Arl1
71	Mus musculus	Q9WUL7	ADP-ribosylation factor-like protein 3	Arl3
72	Mus musculus	O88848	ADP-ribosylation factor-like protein 6	Arl6
73	Mus musculus	Q9R0Q6	Actin-related protein 2/3 complex subunit 1A	Arpc1a
74	Mus musculus	Q9JM76	Actin-related protein 2/3 complex subunit 3	Arpc3
75	Mus musculus	P59999	Actin-related protein 2/3 complex subunit 4	Arpc4
76	Homo sapiens	P49407	Beta-arrestin-1	ARRB1
77	Mus musculus	Q9D5T0	ATPase family AAA domain-containing protein 1	Atad1
78	Homo sapiens	P54707	Potassium-transporting ATPase alpha chain 2	ATP12A
79	Mus musculus	Q8VDN2	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-1	Atp1a1
80	Homo sapiens	P50993	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-2	ATP1A2
81	Mus musculus	Q6PIC6	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3	Atp1a3
82	Mus musculus	P14094	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-1	Atp1b1
83	Mus musculus	P14231	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-2	Atp1b2
84	Mus musculus	P97370	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-3	Atp1b3

## Anhang

85	Mus musculus	O55143	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2	Atp2a2
86	Mus musculus	G5E829	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1	Atp2b1
87	Mus musculus	Q9R0K7	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 2	Atp2b2
88	Mus musculus	Q6Q477	Calcium-transporting ATPase	Atp2b4
89	Mus musculus	Q03265	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	Atp5a1
90	Mus musculus	P56480	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	Atp5b
91	Mus musculus	Q91VR2	ATP synthase subunit gamma, mitochondrial	Atp5c1
92	Mus musculus	Q9D3D9	ATP synthase subunit delta, mitochondrial	Atp5d
93	Mus musculus	P56382	ATP synthase subunit epsilon, mitochondrial	Atp5e
94	Mus musculus	Q9CQQ7	ATP synthase F(0) complex subunit B1, mitochondrial	Atp5f1
95	Mus musculus	Q9DCX2	ATP synthase subunit d, mitochondrial	Atp5h
96	Mus musculus	Q06185	ATP synthase subunit e, mitochondrial	Atp5i
97	Mus musculus	P56135	ATP synthase subunit f, mitochondrial	Atp5j2
98	Mus musculus	Q9CPQ8	ATP synthase subunit g, mitochondrial	Atp5l
99	Mus musculus	Q9DB20	ATP synthase subunit O, mitochondrial	Atp5o
100	Mus musculus	Q9CYN9	Renin receptor	Atp6ap2
101	Mus musculus	Q9Z1G4	V-type proton ATPase 116 kDa subunit a isoform 1	Atp6v0a1
102	Mus musculus	P51863	V-type proton ATPase subunit d 1	Atp6v0d1
103	Homo sapiens	Q8N8Y2	V-type proton ATPase subunit d 2	ATP6V0D2
104	Mus musculus	P50516	V-type proton ATPase catalytic subunit A	Atp6v1a
105	Mus musculus	P62814	V-type proton ATPase subunit B, brain isoform	Atp6v1b2
106	Mus musculus	Q9Z1G3	V-type proton ATPase subunit C 1	Atp6v1c1
107	Mus musculus	P57746	V-type proton ATPase subunit D	Atp6v1d
108	Mus musculus	P50518	V-type proton ATPase subunit E 1	Atp6v1e1
109	Mus musculus	Q9D1K2	V-type proton ATPase subunit F	Atp6v1f
110	Mus musculus	Q9CR51	V-type proton ATPase subunit G 1	Atp6v1g1
111	Mus musculus	Q9WTT4	V-type proton ATPase subunit G 2	Atp6v1g2
112	Mus musculus	Q8BVE3	V-type proton ATPase subunit H	Atp6v1h
113	Mus musculus	Q9JLZ3	Methylglutaconyl-CoA hydratase, mitochondrial	Auh
114	Mus musculus	O54962	Barrier-to-autointegration factor	Banf1
115	Mus musculus	Q91XV3	Brain acid soluble protein 1	Basp1
116	Mus musculus	Q3V3N7	Bardet-Biedl syndrome 1 protein	Bbs1
117	Mus musculus	P24288	Branched-chain-amino-acid aminotransferase, cytosolic	Bcat1
118	Mus musculus	Q80XN0	D-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase, mitochondrial	Bdh1
119	Mus musculus	Q8R016	Bleomycin hydrolase	Blmh
120	Homo sapiens	Q01954	Zinc finger protein basonuclin-1	BNC1
121	Homo sapiens	Q8TDL5	BPI fold-containing family B member 1	BPIFB1
122	Homo sapiens	Q12830	Nucleosome-remodeling factor subunit BPTF	BPTF
123	Mus musculus	Q8BXV2	BRI3-binding protein	Bri3bp
124	Mus musculus	P18572	Basigin	Bsg
125	Homo sapiens	Q9Y224	UPF0568 protein C14orf166	C14orf166
126	Mus musculus	Q80X80	C2 domain-containing protein 2-like	C2cd2l
127	Mus musculus	Q9WVT6	Carbonic anhydrase 14	Ca14
128	Mus musculus	P00920	Carbonic anhydrase 2	Ca2
129	Mus musculus	Q6PHS9	Voltage-dependent calcium channel subunit alpha-2/delta-2	Cacna2d2
130	Mus musculus	Q9CXW3	Calcyclin-binding protein	Cacybp

## Anhang

131	Mus musculus	Q8R5M8	Cell adhesion molecule 1	Cadm1
132	Mus musculus	Q8BLQ9	Cell adhesion molecule 2	Cadm2
133	Mus musculus	Q80TJ1	Calcium-dependent secretion activator 1	Cadps
134	Mus musculus	P12658	Calbindin	Calb1
135	Mus musculus	Q08331	Calretinin	Calb2
136	Mus musculus	P0DP28	Calmodulin-3	Calm3
137	Mus musculus	P14211	Calreticulin	Calr
138	Mus musculus	P28652	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit beta	Camk2b
139	Mus musculus	Q6PHZ2	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit delta	Camk2d
140	Homo sapiens	Q8NCB2	CaM kinase-like vesicle-associated protein	CAMKV
141	Mus musculus	Q6ZQ38	Cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1	Cand1
142	Mus musculus	P35564	Calnexin	Canx
143	Mus musculus	P40124	Adenylyl cyclase-associated protein 1	Cap1
144	Mus musculus	P47754	F-actin-capping protein subunit alpha-2	Capza2
145	Mus musculus	P47757	F-actin-capping protein subunit beta	Capzb
146	Mus musculus	P48758	Carbonyl reductase [NADPH] 1	Cbr1
147	Mus musculus	P23198	Chromobox protein homolog 3	Cbx3
148	Mus musculus	Q8VDP4	Cell cycle and apoptosis regulator protein 2	Ccar2
149	Mus musculus	Q8BIS8	Coiled-coil domain-containing protein 126	Ccdc126
150	Homo sapiens	Q6ZP82	Coiled-coil domain-containing protein 141	CCDC141
151	Mus musculus	P80314	T-complex protein 1 subunit beta	Cct2
152	Mus musculus	P80318	T-complex protein 1 subunit gamma	Cct3
153	Mus musculus	P80315	T-complex protein 1 subunit delta	Cct4
154	Mus musculus	P80316	T-complex protein 1 subunit epsilon	Cct5
155	Mus musculus	P80317	T-complex protein 1 subunit zeta	Cct6a
156	Mus musculus	P80313	T-complex protein 1 subunit eta	Cct7
157	Mus musculus	P42932	T-complex protein 1 subunit theta	Cct8
158	Mus musculus	Q61735	Leukocyte surface antigen CD47	Cd47
159	Mus musculus	P35762	CD81 antigen	Cd81
160	Mus musculus	P60766	Cell division control protein 42 homolog	Cdc42
161	Mus musculus	Q8VDP6	CDP-diacylglycerol--inositol 3-phosphatidyltransferase	Cdipt
162	Mus musculus	Q99L43	Phosphatidate cytidyltransferase 2	Cds2
163	Mus musculus	Q8K1K4	Centromere protein I	Cenpi
164	Mus musculus	P18760	Cofilin-1	Cfl1
165	Mus musculus	Q6PDQ2	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 4	Chd4
166	Mus musculus	P60824	Cold-inducible RNA-binding protein	Cirbp
167	Mus musculus	Q91WS0	CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 1	Cisd1
168	Mus musculus	Q8BMK4	Cytoskeleton-associated protein 4	Ckap4
169	Mus musculus	Q04447	Creatine kinase B-type	Ckb
170	Mus musculus	P30275	Creatine kinase U-type, mitochondrial	Ckmt1
171	Homo sapiens	P12532	Creatine kinase U-type, mitochondrial	CKMT1A
172	Mus musculus	Q68FD5	Clathrin heavy chain 1	Cltc
173	Homo sapiens	P53675	Clathrin heavy chain 2	CLTCL1
174	Mus musculus	Q99KK2	N-acylneuraminate cytidyltransferase	Cmas
175	Mus musculus	P29974	cGMP-gated cation channel alpha-1	Cnga1
176	Mus musculus	Q9QXT0	Protein canopy homolog 2	Cnpy2

## Anhang

177	Mus musculus	Q5M8N0	CB1 cannabinoid receptor-interacting protein 1	Cnrip1
178	Mus musculus	P02463	Collagen alpha-1(IV) chain	Col4a1
179	Mus musculus	P08122	Collagen alpha-2(IV) chain	Col4a2
180	Mus musculus	Q9QZS0	Collagen alpha-3(IV) chain	Col4a3
181	Homo sapiens	Q14031	Collagen alpha-6(IV) chain	COL4A6
182	Mus musculus	Q8K2Q0	COMM domain-containing protein 9	Commdd9
183	Mus musculus	Q8CIE6	Coatomer subunit alpha	Copa
184	Mus musculus	O88543	COP9 signalosome complex subunit 3	Cops3
185	Mus musculus	O88544	COP9 signalosome complex subunit 4	Cops4
186	Homo sapiens	Q14019	Coactosin-like protein	COTL1
187	Mus musculus	P19783	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1, mitochondrial	Cox4i1
188	Mus musculus	P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial	Cox5a
189	Mus musculus	P43024	Cytochrome c oxidase subunit 6A1, mitochondrial	Cox6a1
190	Mus musculus	P56391	Cytochrome c oxidase subunit 6B1	Cox6b1
191	Mus musculus	Q9CPQ1	Cytochrome c oxidase subunit 6C	Cox6c
192	Mus musculus	P48771	Cytochrome c oxidase subunit 7A2, mitochondrial	Cox7a2
193	Mus musculus	Q61147	Ceruloplasmin	Cp
194	Mus musculus	Q80WM3	Complexin-4	Cplx4
195	Mus musculus	P52825	Carnitine O-palmitoyltransferase 2, mitochondrial	Cpt2
196	Mus musculus	Q91ZR3	CREB/ATF bZIP transcription factor	Crebzf
197	Mus musculus	Q64010	Adapter molecule crk	Crk
198	Mus musculus	P97427	Dihydropyrimidinase-related protein 1	Crmp1
199	Mus musculus	Q8CJ40	Rootletin	Crocc
200	Homo sapiens	Q9NQ79	Cartilage acidic protein 1	CRTAC1
201	Mus musculus	O54751	Cone-rod homeobox protein	Crx
202	Mus musculus	P24622	Alpha-crystallin A chain	Cryaa
203	Mus musculus	P23927	Alpha-crystallin B chain	Cryab
204	Mus musculus	P02525	Beta-crystallin A1	Cryba1
205	Mus musculus	P62696	Beta-crystallin B2	Crybb2
206	Mus musculus	O54983	Ketimine reductase mu-crystallin	Crym
207	Mus musculus	Q9CZU6	Citrate synthase, mitochondrial	Cs
208	Mus musculus	Q91W50	Cold shock domain-containing protein E1	Csde1
209	Mus musculus	Q9ERK4	Exportin-2	Cse1l
210	Mus musculus	P56546	C-terminal-binding protein 2	Ctbp2
211	Mus musculus	Q3TCH7	Cullin-4A	Cul4a
212	Mus musculus	Q9D5V5	Cullin-5	Cul5
213	Mus musculus	Q9CQ89	Protein CutA	Cuta
214	Mus musculus	Q9CQX2	Cytochrome b5 type B	Cyb5b
215	Mus musculus	Q9DB73	NADH-cytochrome b5 reductase 1	Cyb5r1
216	Mus musculus	Q9DCN2	NADH-cytochrome b5 reductase 3	Cyb5r3
217	Mus musculus	Q9D0M3	Cytochrome c1, heme protein, mitochondrial	Cyc1
218	Mus musculus	P62897	Cytochrome c, somatic	Cycc
219	Mus musculus	Q5SQX6	Cytoplasmic FMR1-interacting protein 2	Cyfp2
220	Mus musculus	Q9D172	ES1 protein homolog, mitochondrial	D10Jhu81e
221	Mus musculus	P61804	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit DAD1	Dad1
222	Mus musculus	P31786	Acyl-CoA-binding protein	Dbi

## Anhang

223	Mus musculus	Q9DAR7	m7GpppX diphosphatase	Dcps
224	Mus musculus	Q9CWS0	N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1	Ddah1
225	Mus musculus	Q99LD8	N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	Ddah2
226	Mus musculus	Q3U1J4	DNA damage-binding protein 1	Ddb1
227	Mus musculus	O54734	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	Ddost
228	Mus musculus	O35215	D-dopachrome decarboxylase	Ddt
229	Mus musculus	Q91VR5	ATP-dependent RNA helicase DDX1	Ddx1
230	Mus musculus	Q501J6	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17	Ddx17
231	Mus musculus	Q9JIK5	Nucleolar RNA helicase 2	Ddx21
232	Mus musculus	Q9Z1N5	Spliceosome RNA helicase Ddx39b	Ddx39b
233	Homo sapiens	O00571	ATP-dependent RNA helicase DDX3X	DDX3X
234	Mus musculus	Q62095	ATP-dependent RNA helicase DDX3Y	Ddx3y
235	Mus musculus	Q61656	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX5	Ddx5
236	Mus musculus	Q9CQ62	2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial	Decr1
237	Mus musculus	Q7TNV0	Protein DEK	Dek
238	Mus musculus	Q9R1C6	Diacylglycerol kinase epsilon	Dgke
239	Mus musculus	P00375	Dihydrofolate reductase	Dhfr
240	Homo sapiens	Q86XF0	Dihydrofolate reductase, mitochondrial	DHFRL1
241	Mus musculus	O70133	ATP-dependent RNA helicase A	Dhx9
242	Mus musculus	Q8BMF4	Dihydrolipoyllysine-residue acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex, mitochondrial	Dlat
243	Mus musculus	O08749	Dihydrolipoyl dehydrogenase, mitochondrial	Did
244	Mus musculus	Q91XM9	Disks large homolog 2	Dlg2
245	Mus musculus	Q9D2G2	Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, mitochondrial	Dlst
246	Homo sapiens	Q9UGM3	Deleted in malignant brain tumors 1 protein	DMBT1
247	Homo sapiens	P11532	Dystrophin	DMD
248	Mus musculus	Q8BPN8	DmX-like protein 2	Dmxl2
249	Mus musculus	Q8VHE6	Dynein heavy chain 5, axonemal	Dnah5
250	Mus musculus	Q9QYJ0	DnaJ homolog subfamily A member 2	Dnaja2
251	Mus musculus	P60904	DnaJ homolog subfamily C member 5	Dnajc5
252	Mus musculus	P39053	Dynamamin-1	Dnm1
253	Mus musculus	P39054	Dynamamin-2	Dnm2
254	Mus musculus	Q8BZ98	Dynamamin-3	Dnm3
255	Mus musculus	Q9Z2W0	Aspartyl aminopeptidase	Dnpep
256	Mus musculus	Q9D1Q4	Dolichol-phosphate mannosyltransferase subunit 3	Dpm3
257	Mus musculus	O08553	Dihydropyrimidinase-related protein 2	Dpysl2
258	Mus musculus	Q62188	Dihydropyrimidinase-related protein 3	Dpysl3
259	Mus musculus	O35098	Dihydropyrimidinase-related protein 4	Dpysl4
260	Homo sapiens	Q9BPU6	Dihydropyrimidinase-related protein 5	DPYSL5
261	Mus musculus	Q9QXB9	Developmentally-regulated GTP-binding protein 2	Drq2
262	Mus musculus	Q9R0P5	Destrin	Dstn
263	Mus musculus	Q9JHU4	Cytoplasmic dynein 1 heavy chain 1	Dync1h1
264	Mus musculus	Q8R1Q8	Cytoplasmic dynein 1 light intermediate chain 1	Dync1li1
265	Mus musculus	Q9D0M5	Dynein light chain 2, cytoplasmic	Dynll2
266	Mus musculus	P62627	Dynein light chain roadblock-type 1	Dynlr1
267	Mus musculus	Q8BH95	Enoyl-CoA hydratase, mitochondrial	Echs1

## Anhang

268	Mus musculus	P42125	Enoyl-CoA delta isomerase 1, mitochondrial	Eci1
269	Mus musculus	P10126	Elongation factor 1-alpha 1	Eef1a1
270	Homo sapiens	Q5VTE0	Putative elongation factor 1-alpha-like 3	EEF1A1P5
271	Mus musculus	P62631	Elongation factor 1-alpha 2	Eef1a2
272	Mus musculus	O70251	Elongation factor 1-beta	Eef1b
273	Mus musculus	Q9D8N0	Elongation factor 1-gamma	Eef1g
274	Mus musculus	P58252	Elongation factor 2	Eef2
275	Homo sapiens	Q7Z2Z2	Elongation factor Tu GTP-binding domain-containing protein 1	EFTUD1
276	Mus musculus	O08810	116 kDa U5 small nuclear ribonucleoprotein component	Eftud2
277	Mus musculus	P48024	Eukaryotic translation initiation factor 1	Eif1
278	Mus musculus	Q8JZQ9	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B	Eif3b
279	Mus musculus	P60229	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit E	Eif3e
280	Mus musculus	P60843	Eukaryotic initiation factor 4A-I	Eif4a1
281	Mus musculus	P63242	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	Eif5a
282	Mus musculus	P70372	ELAV-like protein 1	Elavl1
283	Mus musculus	P17182	Alpha-enolase	Eno1
284	Mus musculus	P17183	Gamma-enolase	Eno2
285	Homo sapiens	P13929	Beta-enolase	ENO3
286	Mus musculus	Q8BGB7	Enolase-phosphatase E1	Enoph1
287	Homo sapiens	Q07075	Glutamyl aminopeptidase	ENPEP
288	Mus musculus	O70318	Band 4.1-like protein 2	Epb41l2
289	Mus musculus	P84089	Enhancer of rudimentary homolog	Erh
290	Mus musculus	Q8BFZ9	Erlin-2	Erlin2
291	Mus musculus	P57759	Endoplasmic reticulum resident protein 29	Erp29
292	Mus musculus	Q9R0P3	S-formylglutathione hydrolase	Esd
293	Mus musculus	Q99LC5	Electron transfer flavoprotein subunit alpha, mitochondrial	Etfa
294	Mus musculus	Q9DCW4	Electron transfer flavoprotein subunit beta	Etfb
295	Mus musculus	Q9D952	Envoplakin	Evpl
296	Mus musculus	Q3TC72	Fumarylacetoacetate hydrolase domain-containing protein 2A	Fahd2
297	Homo sapiens	Q96GK7	Fumarylacetoacetate hydrolase domain-containing protein 2A	FAHD2A
298	Mus musculus	Q9WUD8	Fas apoptotic inhibitory molecule 1	Faim
299	Mus musculus	Q5XG69	Soluble lamin-associated protein of 75 kDa	Fam169a
300	Mus musculus	Q9CYH2	Redox-regulatory protein FAM213A	Fam213a
301	Mus musculus	Q8C0C7	Phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit	Farsa
302	Mus musculus	Q9WUA2	Phenylalanine--tRNA ligase beta subunit	Farsb
303	Mus musculus	P19096	Fatty acid synthase	Fasn
304	Mus musculus	Q920E5	Farnesyl pyrophosphate synthase	Fdps
305	Mus musculus	P97807	Fumarate hydratase, mitochondrial	Fh
306	Mus musculus	Q9CQ92	Mitochondrial fission 1 protein	Fis1
307	Mus musculus	P26883	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP1A	Fkbp1a
308	Mus musculus	Q6DFV6	Fibronectin type III domain containing protein 3C1	Fndc3c1
309	Mus musculus	Q61553	Fascin	Fscn1
310	Mus musculus	Q9D6K8	FUN14 domain-containing protein 2	Fundc2
311	Homo sapiens	P11413	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	G6PD
312	Mus musculus	Q8BHN3	Neutral alpha-glucosidase AB	Ganab
313	Mus musculus	P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Gapdh

## Anhang

314	Homo sapiens	O14556	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, testis-specific	GAPDHS
315	Homo sapiens	Q75VX8	GRB2-associated and regulator of MAPK protein-like	GAREML
316	Mus musculus	Q9CZD3	Glycine--tRNA ligase	Gars
317	Mus musculus	O55126	Protein NipSnap homolog 2	Gbas
318	Mus musculus	P50396	Rab GDP dissociation inhibitor alpha	Gdi1
319	Mus musculus	Q61598	Rab GDP dissociation inhibitor beta	Gdi2
320	Mus musculus	Q9CPU0	Lactoylglutathione lyase	Glo1
321	Mus musculus	Q9CQM9	Glutaredoxin-3	Glrx3
322	Mus musculus	Q80Y14	Glutaredoxin-related protein 5, mitochondrial	Glrx5
323	Mus musculus	D3Z7P3	Glutaminase kidney isoform, mitochondrial	Gls
324	Homo sapiens	Q9NZD2	Glycolipid transfer protein	GLTP
325	Mus musculus	P26443	Glutamate dehydrogenase 1, mitochondrial	Glud1
326	Mus musculus	P15105	Glutamine synthetase	Glul
327	Mus musculus	Q9CQI3	Glia maturation factor beta	Gmfb
328	Mus musculus	P21278	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11	Gna11
329	Mus musculus	B2RSH2	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1	Gnai1
330	Mus musculus	P08752	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-2	Gnai2
331	Mus musculus	P18872	Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha	Gnao1
332	Mus musculus	P21279	Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha	Gnaq
333	Mus musculus	P63094	Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha isoforms short	Gnas
334	Mus musculus	P20612	Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-1	Gnat1
335	Mus musculus	O70443	Guanine nucleotide-binding protein G(z) subunit alpha	Gnaz
336	Mus musculus	P62874	Guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(S)/G(T) subunit beta-1	Gnb1
337	Mus musculus	P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(S)/G(T) subunit beta-2	Gnb2
338	Mus musculus	P68040	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like 1	Gnb2l1
339	Mus musculus	Q61011	Guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(S)/G(T) subunit beta-3	Gnb3
340	Mus musculus	P62881	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-5	Gnb5
341	Mus musculus	P63213	Guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(S)/G(O) subunit gamma-2	Gng2
342	Mus musculus	P50153	Guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(S)/G(O) subunit gamma-4	Gng4
343	Mus musculus	Q61016	Guanine nucleotide-binding protein G(l)/G(S)/G(O) subunit gamma-7	Gng7
344	Mus musculus	Q61012	Guanine nucleotide-binding protein G(T) subunit gamma-T1	Gngt1
345	Homo sapiens	O95249	Golgi SNAP receptor complex member 1	GOSR1
346	Mus musculus	P05201	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	Got1
347	Mus musculus	P05202	Aspartate aminotransferase, mitochondrial	Got2
348	Mus musculus	P06745	Glucose-6-phosphate isomerase	Gpi
349	Mus musculus	P35802	Neuronal membrane glycoprotein M6-a	Gpm6a
350	Mus musculus	P35803	Neuronal membrane glycoprotein M6-b	Gpm6b
351	Mus musculus	Q5U431	G-protein coupled receptor 39	Gpr39
352	Mus musculus	Q9WVL4	Rhodopsin kinase	Grk1
353	Mus musculus	Q99LP6	GrpE protein homolog 1, mitochondrial	Grpel1
354	Mus musculus	P24472	Glutathione S-transferase A4	Gsta4
355	Mus musculus	P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	Gstm1
356	Mus musculus	P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	Gstm5
357	Mus musculus	P19157	Glutathione S-transferase P 1	Gstp1
358	Mus musculus	Q9ESZ8	General transcription factor II-I	Gtf2i
359	Mus musculus	O54865	Guanylate cyclase soluble subunit beta-1	Gucy1b3

## Anhang

360	Homo sapiens	Q02846	Retinal guanylyl cyclase 1	GUCY2D
361	Mus musculus	P52785	Guanylyl cyclase GC-E	Gucy2e
362	Mus musculus	Q64520	Guanylate kinase	Guk1
363	Mus musculus	P10922	Histone H1.0	H1f0
364	Homo sapiens	Q92522	Histone H1x	H1FX
365	Mus musculus	Q3THW5	Histone H2A.V	H2afv
366	Mus musculus	Q9QZQ8	Core histone macro-H2A.1	H2afy
367	Mus musculus	Q8CCK0	Core histone macro-H2A.2	H2afy2
368	Homo sapiens	P57053	Histone H2B type F-S	H2BFS
369	Mus musculus	P84244	Histone H3.3	H3f3a
370	Homo sapiens	Q14520	Hyaluronan-binding protein 2	HABP2
371	Mus musculus	Q8K2C9	Very-long-chain (3R)-3-hydroxyacyl-CoA dehydratase 3	Hacd3
372	Mus musculus	Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase, mitochondrial	Hadh
373	Mus musculus	Q8BMS1	Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial	Hadha
374	Mus musculus	Q99JY0	Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial	Hadhb
375	Mus musculus	P01942	Hemoglobin subunit alpha	Hba
376	Homo sapiens	P69905	Hemoglobin subunit alpha	HBA1
377	Mus musculus	P02088	Hemoglobin subunit beta-1	Hbb-b1
378	Mus musculus	O09106	Histone deacetylase 1	Hdac1
379	Mus musculus	Q3UGR5	Haloacid dehalogenase-like hydrolase domain-containing protein 2	Hdhd2
380	Mus musculus	Q99L13	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase, mitochondrial	Hibadh
381	Mus musculus	Q8QZS1	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase, mitochondrial	Hibch
382	Mus musculus	Q9JLR9	HIG1 domain family member 1A, mitochondrial	Higd1a
383	Mus musculus	P70349	Histidine triad nucleotide-binding protein 1	Hint1
384	Mus musculus	Q9D0S9	Histidine triad nucleotide-binding protein 2, mitochondrial	Hint2
385	Mus musculus	P43275	Histone H1.1	Hist1h1a
386	Mus musculus	P43276	Histone H1.5	Hist1h1b
387	Mus musculus	P15864	Histone H1.2	Hist1h1c
388	Mus musculus	P43277	Histone H1.3	Hist1h1d
389	Mus musculus	P43274	Histone H1.4	Hist1h1e
390	Homo sapiens	Q96QV6	Histone H2A type 1-A	HIST1H2AA
391	Homo sapiens	P20671	Histone H2A type 1-D	HIST1H2AD
392	Mus musculus	C0HKE9	Histone H2A type 1-H	Hist1h2ah
393	Homo sapiens	Q99880	Histone H2B type 1-L	HIST1H2BL
394	Mus musculus	Q8CGP2	Histone H2B type 1-P	Hist1h2bp
395	Mus musculus	P68433	Histone H3.1	Hist1h3a
396	Mus musculus	P84228	Histone H3.2	Hist1h3b
397	Mus musculus	P62806	Histone H4	Hist1h4a
398	Mus musculus	Q64522	Histone H2A type 2-B	Hist2h2ab
399	Mus musculus	Q64523	Histone H2A type 2-C	Hist2h2ac
400	Homo sapiens	Q16778	Histone H2B type 2-E	HIST2H2BE
401	Homo sapiens	Q71DI3	Histone H3.2	HIST2H3A
402	Homo sapiens	Q7L7L0	Histone H2A type 3	HIST3H2A
403	Mus musculus	Q9D2U9	Histone H2B type 3-A	Hist3h2ba
404	Mus musculus	P17710	Hexokinase-1	Hk1
405	Mus musculus	O08528	Hexokinase-2	Hk2

## Anhang

406	Mus musculus	P63158	High mobility group protein B1	Hmgb1
407	Mus musculus	P30681	High mobility group protein B2	Hmgb2
408	Mus musculus	P38060	Hydroxymethylglutaryl-CoA lyase, mitochondrial	Hmgcl
409	Mus musculus	Q9CX86	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A0	Hnrnpa0
410	Mus musculus	P49312	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1	Hnrnpa1
411	Homo sapiens	Q32P51	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1-like 2	HNRNPA1L2
412	Mus musculus	O88569	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	Hnrnpa2b1
413	Mus musculus	Q8BG05	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3	Hnrnpa3
414	Mus musculus	Q99020	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	Hnrnpab
415	Mus musculus	Q9Z204	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2	Hnrnpc
416	Mus musculus	Q60668	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0	Hnrnpd
417	Mus musculus	Q9Z2X1	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F	Hnrnpf
418	Mus musculus	O35737	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	Hnrnp h1
419	Homo sapiens	P31942	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H3	HNRNPH3
420	Mus musculus	P61979	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	Hnrnpk
421	Mus musculus	Q8R081	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L	Hnrnpl
422	Mus musculus	Q9D0E1	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M	Hnrnpm
423	Homo sapiens	O43390	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R	HNRNPR
424	Mus musculus	Q8VEK3	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U	Hnrnpu
425	Mus musculus	Q00PI9	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like protein 2	Hnrnpul2
426	Mus musculus	Q3TEA8	Heterochromatin protein 1-binding protein 3	Hp1bp3
427	Homo sapiens	P84074	Neuron-specific calcium-binding protein hippocalcin	HPCA
428	Mus musculus	P00493	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	Hprt1
429	Mus musculus	Q61411	GTPase HRas	Hras
430	Mus musculus	O08756	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	Hsd17b10
431	Mus musculus	O70503	Very-long-chain 3-oxoacyl-CoA reductase	Hsd17b12
432	Mus musculus	Q8BTX9	Inactive hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 1	Hsd1
433	Mus musculus	P07901	Heat shock protein HSP 90-alpha	Hsp90aa1
434	Mus musculus	P11499	Heat shock protein HSP 90-beta	Hsp90ab1
435	Homo sapiens	Q58FF8	Putative heat shock protein HSP 90-beta 2	HSP90AB2P
436	Mus musculus	P08113	Endoplasmic reticulum chaperone protein	Hsp90b1
437	Mus musculus	Q8K0U4	Heat shock 70 kDa protein 12A	Hspa12a
438	Mus musculus	Q61696	Heat shock 70 kDa protein 1A	Hspa1a
439	Homo sapiens	P0DMV9	Heat shock 70 kDa protein 1B	HSPA1B
440	Mus musculus	P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	Hspa1l
441	Mus musculus	Q61316	Heat shock 70 kDa protein 4	Hspa4
442	Mus musculus	P48722	Heat shock 70 kDa protein 4L	Hspa4l
443	Mus musculus	P20029	78 kDa glucose-regulated protein	Hspa5
444	Homo sapiens	P17066	Heat shock 70 kDa protein 6	HSPA6
445	Mus musculus	P63017	Heat shock cognate 71 kDa protein	Hspa8
446	Mus musculus	P38647	Stress-70 protein, mitochondrial	Hspa9
447	Mus musculus	P63038	60 kDa heat shock protein, mitochondrial	Hspd1
448	Mus musculus	Q64433	10 kDa heat shock protein, mitochondrial	Hspe1
449	Mus musculus	Q05793	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein	Hspg2
450	Mus musculus	Q8BGC0	HIV Tat-specific factor 1 homolog	Htatsf1
451	Mus musculus	Q9JKR6	Hypoxia up-regulated protein 1	Hyou1

## Anhang

452	Mus musculus	Q8BIJ6	Isoleucine--tRNA ligase, mitochondrial	lars2
453	Mus musculus	O88844	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	ldh1
454	Mus musculus	P54071	Isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial	ldh2
455	Mus musculus	Q9D6R2	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha, mitochondrial	ldh3a
456	Homo sapiens	O43837	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit beta, mitochondrial	IDH3B
457	Mus musculus	P70404	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit gamma 1, mitochondrial	ldh3g
458	Mus musculus	Q9CR20	Immediate early response 3-interacting protein 1	ler3ip1
459	Homo sapiens	P01876	Ig alpha-1 chain C region	IGHA1
460	Homo sapiens	P0DOX5	Ig gamma-1 chain C region	IGHG1
461	Homo sapiens	P01591	Immunoglobulin J chain	IGJ
462	Homo sapiens	P01834	Ig kappa chain C region	IGKC
463	Homo sapiens	P0DOY3	Ig lambda-6 chain C region	IGLC6
464	Mus musculus	Q8R366	Immunoglobulin superfamily member 8	Igsf8
465	Mus musculus	Q9CXY6	Interleukin enhancer-binding factor 2	Ilf2
466	Homo sapiens	Q13418	Integrin-linked protein kinase	ILK
467	Mus musculus	Q8CAQ8	MICOS complex subunit Mic60	Immt
468	Mus musculus	O55023	Inositol monophosphatase 1	Impa1
469	Mus musculus	P50096	Inosine-5-monophosphate dehydrogenase 1	Impdh1
470	Mus musculus	Q8R1W8	Interphotoreceptor matrix proteoglycan 1	Impg1
471	Mus musculus	Q80XH2	Interphotoreceptor matrix proteoglycan 2	Impg2
472	Mus musculus	P49442	Inositol polyphosphate 1-phosphatase	Inpp1
473	Mus musculus	Q8BKC5	Importin-5	lpo5
474	Mus musculus	Q9EPL8	Importin-7	lpo7
475	Mus musculus	P85094	Isochorismatase domain-containing protein 2A, mitochondrial	Isoc2a
476	Mus musculus	Q9D3R6	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 2	Katnal2
477	Mus musculus	Q03717	Potassium voltage-gated channel subfamily B member 1	Kcnb1
478	Mus musculus	P28738	Kinesin heavy chain isoform 5C	Kif5c
479	Mus musculus	P70168	Importin subunit beta-1	Kpnb1
480	Homo sapiens	P01116	GTPase KRas	KRAS
481	Homo sapiens	P04264	Keratin, type II cytoskeletal 1	KRT1
482	Homo sapiens	P04259	Keratin, type II cytoskeletal 6B	KRT6B
483	Mus musculus	Q3UV17	Keratin, type II cytoskeletal 2 oral	Krt76
484	Mus musculus	Q8CF66	Ragulator complex protein LAMTOR4	Lamtor4
485	Mus musculus	Q9JJK2	LanC-like protein 2	Lancl2
486	Mus musculus	P06151	L-lactate dehydrogenase A chain	Ldha
487	Mus musculus	P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	Ldhb
488	Mus musculus	Q8VED9	Galectin-related protein	Lgalsl
489	Homo sapiens	Q9NUP9	Protein lin-7 homolog C	LIN7C
490	Mus musculus	P14733	Lamin-B1	Lmnb1
491	Homo sapiens	O95490	Latrophilin-2	LPHN2
492	Mus musculus	Q6PB66	Leucine-rich PPR motif-containing protein, mitochondrial	Lrpprc
493	Mus musculus	Q922Q8	Leucine-rich repeat-containing protein 59	Lrrc59
494	Mus musculus	Q8BLK3	Limbic system-associated membrane protein	Lsamp
495	Mus musculus	P62322	U6 snRNA-associated Sm-like protein LSM5	Lsm5
496	Mus musculus	P24527	Leukotriene A-4 hydrolase	Lta4h
497	Homo sapiens	P02788	Lactotransferrin	LTF

## Anhang

498	Homo sapiens	P61626	Lysozyme C	LYZ
499	Mus musculus	P17897	Lysozyme C-1	Lyz1
500	Homo sapiens	P61326	Protein mago nashi homolog	MAGOH
501	Mus musculus	Q9CQL1	Protein mago nashi homolog 2	Magohb
502	Mus musculus	P14873	Microtubule-associated protein 1B	Map1b
503	Mus musculus	Q6PER3	Microtubule-associated protein RP/EB family member 3	Mapre3
504	Mus musculus	Q8K310	Matrin-3	Matr3
505	Mus musculus	P14152	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	Mdh1
506	Mus musculus	P08249	Malate dehydrogenase, mitochondrial	Mdh2
507	Mus musculus	P06801	NADP-dependent malic enzyme	Me1
508	Mus musculus	Q99KE1	NAD-dependent malic enzyme, mitochondrial	Me2
509	Mus musculus	Q9CQL0	Protein N-lysine methyltransferase METTL21A	Mettl21A
510	Mus musculus	Q8V164	Protein MGARP	Mgarp
511	Mus musculus	O35678	Monoglyceride lipase	Mgll
512	Mus musculus	P34884	Macrophage migration inhibitory factor	Mif
513	Mus musculus	Q7TNS2	MICOS complex subunit Mic10	Minos1
514	Mus musculus	P56379	6.8 kDa mitochondrial proteolipid	Mp68
515	Mus musculus	P63030	Mitochondrial pyruvate carrier 1	Mpc1
516	Mus musculus	Q9R0Q9	Mannose-P-dolichol utilization defect 1 protein	Mpdu1
517	Mus musculus	Q9WV34	MAGUK p55 subfamily member 2	Mpp2
518	Mus musculus	Q6P7F1	MAGUK p55 subfamily member 4	Mpp4
519	Homo sapiens	Q9UKD2	mRNA turnover protein 4 homolog	MRTO4
520	Mus musculus	Q61474	RNA-binding protein Musashi homolog 1	Msi1
521	Mus musculus	Q920Q6	RNA-binding protein Musashi homolog 2	Msi2
522	Mus musculus	P03930	ATP synthase protein 8	Mtatp8
523	Mus musculus	Q791V5	Mitochondrial carrier homolog 2	Mtch2
524	Homo sapiens	Q9Y4B5	Microtubule cross-linking factor 1	MTCL1
525	Mus musculus	P00405	Cytochrome c oxidase subunit 2	Mtco2
526	Mus musculus	P00158	Cytochrome b	Mt-Cyb
527	Mus musculus	P03899	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	Mtnd3
528	Mus musculus	P62774	Myotrophin	Mtpn
529	Mus musculus	O88441	Metaxin-2	Mtx2
530	Homo sapiens	Q7Z5P9	Mucin-19	MUC19
531	Homo sapiens	Q9HC84	Mucin-5B	MUC5B
532	Mus musculus	Q8C854	Myelin expression factor 2	Myef2
533	Mus musculus	Q61879	Myosin-10	Myh10
534	Mus musculus	O08638	Myosin-11	Myh11
535	Mus musculus	Q60605	Myosin light polypeptide 6	Myl6
536	Mus musculus	Q99104	Unconventional myosin-Va	Myo5a
537	Mus musculus	Q64331	Unconventional myosin-VI	Myo6
538	Homo sapiens	P15173	Myogenin	MYOG
539	Mus musculus	Q8C5H8	NAD kinase 2, mitochondrial	Nadk2
540	Mus musculus	P28656	Nucleosome assembly protein 1-like 1	Nap111
541	Mus musculus	Q78ZA7	Nucleosome assembly protein 1-like 4	Nap114
542	Mus musculus	Q9DB05	Alpha-soluble NSF attachment protein	Napa
543	Mus musculus	Q8BP47	Asparagine--tRNA ligase, cytoplasmic	Nars

## Anhang

544	Homo sapiens	Q6ZNJ1	Neurobeachin-like protein 2	NBEAL2
545	Mus musculus	Q91X97	Neurocalcin-delta	Ncald
546	Mus musculus	P13595	Neural cell adhesion molecule 1	Ncam1
547	Mus musculus	O35136	Neural cell adhesion molecule 2	Ncam2
548	Mus musculus	Q9Z0E0	Neurochondrin	Ncdn
549	Mus musculus	P09405	Nucleolin	Ncl
550	Homo sapiens	Q9Y618	Nuclear receptor corepressor 2	NCOR2
551	Mus musculus	Q9QYG0	Protein NDRG2	Ndrg2
552	Mus musculus	Q99LC3	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 10, mitochondrial	Ndufa10
553	Mus musculus	Q9D8B4	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 11	Ndufa11
554	Mus musculus	Q7TMF3	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 12	Ndufa12
555	Mus musculus	Q9ERS2	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 13	Ndufa13
556	Mus musculus	Q9CQ75	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 2	Ndufa2
557	Mus musculus	Q62425	Cytochrome c oxidase subunit NDUF44	Ndufa4
558	Mus musculus	Q9CQZ5	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 6	Ndufa6
559	Mus musculus	Q9DCJ5	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 8	Ndufa8
560	Mus musculus	Q9DC69	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 9, mitochondrial	Ndufa9
561	Mus musculus	Q9CR21	Acyl carrier protein, mitochondrial	Ndufab1
562	Mus musculus	P0DN34	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 1	Ndufb1
563	Mus musculus	Q9DCS9	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 10	Ndufb10
564	Mus musculus	Q9CPU2	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 2, mitochondrial	Ndufb2
565	Mus musculus	Q9CQC7	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 4	Ndufb4
566	Mus musculus	Q9CQH3	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 5, mitochondrial	Ndufb5
567	Mus musculus	Q3UIU2	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 6	Ndufb6
568	Mus musculus	Q9CR61	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 7	Ndufb7
569	Mus musculus	Q9D6J5	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 8, mitochondrial	Ndufb8
570	Mus musculus	Q9CQJ8	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 9	Ndufb9
571	Mus musculus	Q9CQ54	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 subunit C2	Ndufc2
572	Mus musculus	Q91VD9	NADH-ubiquinone oxidoreductase 75 kDa subunit, mitochondrial	Ndufs1
573	Mus musculus	Q91WD5	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 2, mitochondrial	Ndufs2
574	Mus musculus	Q9DCT2	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3, mitochondrial	Ndufs3
575	Mus musculus	Q8K3J1	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 8, mitochondrial	Ndufs8
576	Mus musculus	Q91YT0	NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 1, mitochondrial	Ndufv1
577	Mus musculus	Q9D6J6	NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 2, mitochondrial	Ndufv2
578	Homo sapiens	P20929	Nebulin	NEB
579	Mus musculus	Q80Z24	Neuronal growth regulator 1	Negr1
580	Mus musculus	P51954	Serine/threonine-protein kinase Nek1	Nek1
581	Mus musculus	Q04690	Neurofibromin	Nf1
582	Mus musculus	O55125	Protein NipSnap homolog 1	Nipsnap1
583	Mus musculus	P15532	Nucleoside diphosphate kinase A	Nme1
584	Homo sapiens	P22392	Nucleoside diphosphate kinase B	NME2
585	Mus musculus	Q9D6Z1	Nucleolar protein 56	Nop56
586	Mus musculus	Q6DFW4	Nucleolar protein 58	Nop58
587	Mus musculus	Q11011	Puromycin-sensitive aminopeptidase	Npepps
588	Mus musculus	Q61937	Nucleophosmin	Npm1
589	Mus musculus	P97300	Neuroplastin	Nptn

## Anhang

590	Mus musculus	P46460	Vesicle-fusing ATPase	Nsf
591	Mus musculus	Q61503	5-nucleotidase	Nt5e
592	Mus musculus	Q99PJ0	Neurotrimin	Ntm
593	Mus musculus	Q3U2V3	8-oxo-dGDP phosphatase NUDT18	Nudt18
594	Mus musculus	P29758	Ornithine aminotransferase, mitochondrial	Oat
595	Mus musculus	Q60597	2-oxoglutarate dehydrogenase, mitochondrial	Ogdh
596	Mus musculus	O35599	Medium-wave-sensitive opsin 1	Opn1mw
597	Mus musculus	P51491	Short-wave-sensitive opsin 1	Opn1sw
598	Mus musculus	Q78XF5	Oligosaccharyltransferase complex subunit OSTC	Ostc
599	Mus musculus	Q9D0K2	Succinyl-CoA:3-ketoacid coenzyme A transferase 1, mitochondrial	Oxct1
600	Mus musculus	P09103	Protein disulfide-isomerase	P4hb
601	Mus musculus	Q61206	Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit beta	Pafah1b2
602	Mus musculus	Q61205	Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit gamma	Pafah1b3
603	Mus musculus	Q9DCL9	Multifunctional protein ADE2	Paics
604	Mus musculus	Q99LX0	Protein deglycase DJ-1	Park7
605	Mus musculus	Q8BZ20	Poly [ADP-ribose] polymerase 12	Parp12
606	Mus musculus	P60335	Poly(rC)-binding protein 1	Pcbp1
607	Mus musculus	Q61990	Poly(rC)-binding protein 2	Pcbp2
608	Mus musculus	P57722	Poly(rC)-binding protein 3	Pcbp3
609	Homo sapiens	O60330	Protocadherin gamma-A12	PCDHGA12
610	Mus musculus	Q9CQF9	Prenylcysteine oxidase	Pcyox1
611	Mus musculus	Q9QW08	Phosducin	Pdc
612	Mus musculus	P27664	Rod cGMP-specific 3,5-cyclic phosphodiesterase subunit alpha	Pde6a
613	Mus musculus	P23440	Rod cGMP-specific 3,5-cyclic phosphodiesterase subunit beta	Pde6b
614	Mus musculus	O55057	Retinal rod rhodopsin-sensitive cGMP 3,5-cyclic phosphodiesterase subunit delta	Pde6d
615	Mus musculus	P09174	Retinal rod rhodopsin-sensitive cGMP 3,5-cyclic phosphodiesterase subunit gamma	Pde6g
616	Mus musculus	P35486	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha, somatic form, mitochondrial	Pdha1
617	Mus musculus	Q9D051	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial	Pdha2
618	Mus musculus	P27773	Protein disulfide-isomerase A3	Pdia3
619	Mus musculus	Q922R8	Protein disulfide-isomerase A6	Pdia6
620	Mus musculus	Q8K183	Pyridoxal kinase	Pdxk
621	Mus musculus	P60487	Pyridoxal phosphate phosphatase	Pdpx
622	Mus musculus	Q62048	Astrocytic phosphoprotein PEA-15	Pea15
623	Mus musculus	P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	Pebp1
624	Mus musculus	Q5SUR0	Phosphoribosylformylglycinamide synthase	Pfas
625	Mus musculus	P12382	ATP-dependent 6-phosphofructokinase, liver type	Pfkl
626	Mus musculus	P47857	ATP-dependent 6-phosphofructokinase, muscle type	Pfkm
627	Mus musculus	Q9WUA3	ATP-dependent 6-phosphofructokinase, platelet type	Pfkp
628	Mus musculus	P62962	Profilin-1	Pfn1
629	Mus musculus	Q9JJV2	Profilin-2	Pfn2
630	Mus musculus	Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	Pgam1
631	Mus musculus	Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	Pgd
632	Mus musculus	P09411	Phosphoglycerate kinase 1	Pgk1
633	Mus musculus	Q9D0F9	Phosphoglucomutase-1	Pgm1
634	Mus musculus	Q8CAA7	Glucose 1,6-bisphosphate synthase	Pgm211
635	Mus musculus	O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	Pgrmc1

## Anhang

636	Mus musculus	P67778	Prohibitin	Phb
637	Mus musculus	O35129	Prohibitin-2	Phb2
638	Mus musculus	Q9DAK9	14 kDa phosphohistidine phosphatase	Phpt1
639	Homo sapiens	P01833	Polymeric immunoglobulin receptor	PIGR
640	Homo sapiens	O00459	Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit beta	PIK3R2
641	Mus musculus	P53810	Phosphatidylinositol transfer protein alpha isoform	Pitpna
642	Mus musculus	P52480	Pyruvate kinase PKM	Pkm
643	Mus musculus	Q9D819	Inorganic pyrophosphatase	Ppa1
644	Homo sapiens	Q96CD2	Phosphopantothenoylcysteine decarboxylase	PPCDC
645	Mus musculus	Q9CR37	Pancreatic progenitor cell differentiation and proliferation factor	Ppdpf
646	Mus musculus	P17742	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	Ppia
647	Mus musculus	P24369	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	Ppib
648	Mus musculus	Q9CR16	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase D	Ppid
649	Mus musculus	Q8BVQ5	Protein phosphatase methylesterase 1	Ppme1
650	Mus musculus	P63087	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-gamma catalytic subunit	Ppp1cc
651	Homo sapiens	Q15435	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 7	PPP1R7
652	Mus musculus	Q3UM45	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 7	Ppp1r7
653	Mus musculus	P63330	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform	Ppp2ca
654	Mus musculus	Q76MZ3	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform	Ppp2r1a
655	Mus musculus	Q6ZWR4	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 55 kDa regulatory subunit B beta isoform	Ppp2r2b
656	Mus musculus	P35700	Peroxiredoxin-1	Prdx1
657	Mus musculus	Q61171	Peroxiredoxin-2	Prdx2
658	Mus musculus	P20108	Thioredoxin-dependent peroxide reductase, mitochondrial	Prdx3
659	Mus musculus	O08807	Peroxiredoxin-4	Prdx4
660	Mus musculus	P99029	Peroxiredoxin-5, mitochondrial	Prdx5
661	Mus musculus	O08709	Peroxiredoxin-6	Prdx6
662	Homo sapiens	P13727	Bone marrow proteoglycan	PRG2
663	Mus musculus	P05132	cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha	Prkaca
664	Mus musculus	P68181	cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit beta	Prkacb
665	Mus musculus	P12367	cAMP-dependent protein kinase type II-alpha regulatory subunit	Prkar2a
666	Mus musculus	P31324	cAMP-dependent protein kinase type II-beta regulatory subunit	Prkar2b
667	Homo sapiens	P17252	Protein kinase C alpha type	PRKCA
668	Mus musculus	P68404	Protein kinase C beta type	Prkcb
669	Mus musculus	O54990	Prominin-1	Prom1
670	Mus musculus	Q99PV0	Pre-mRNA-processing-splicing factor 8	Prpf8
671	Mus musculus	P15499	Peripherin-2	Prph2
672	Mus musculus	Q8R574	Phosphoribosyl pyrophosphate synthase-associated protein 2	Prpsap2
673	Mus musculus	Q61207	Prosaposin	Psap
674	Mus musculus	Q99JF8	PC4 and SFRS1-interacting protein	Psip1
675	Mus musculus	P49722	Proteasome subunit alpha type-2	Psma2
676	Mus musculus	O70435	Proteasome subunit alpha type-3	Psma3
677	Mus musculus	Q9R1P0	Proteasome subunit alpha type-4	Psma4
678	Mus musculus	Q9QUM9	Proteasome subunit alpha type-6	Psma6
679	Mus musculus	Q9Z2U0	Proteasome subunit alpha type-7	Psma7
680	Mus musculus	O09061	Proteasome subunit beta type-1	Psmb1
681	Mus musculus	Q9R1P3	Proteasome subunit beta type-2	Psmb2

## Anhang

682	Mus musculus	Q9R1P1	Proteasome subunit beta type-3	Psmb3
683	Mus musculus	O55234	Proteasome subunit beta type-5	Psmb5
684	Mus musculus	Q60692	Proteasome subunit beta type-6	Psmb6
685	Mus musculus	P54775	26S protease regulatory subunit 6B	Psmc4
686	Mus musculus	P62334	26S protease regulatory subunit 10B	Psmc6
687	Mus musculus	Q3TXS7	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 1	Psmc1
688	Mus musculus	Q8BG32	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11	Psmc11
689	Mus musculus	Q8VDM4	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2	Psmc2
690	Mus musculus	P14685	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 3	Psmc3
691	Mus musculus	Q99J14	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6	Psmc6
692	Mus musculus	P26516	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 7	Psmc7
693	Mus musculus	Q9CX56	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 8	Psmc8
694	Mus musculus	Q91Z31	Polypyrimidine tract-binding protein 2	Ptbp2
695	Mus musculus	Q8BWM0	Prostaglandin E synthase 2	Ptges2
696	Mus musculus	Q9R0Q7	Prostaglandin E synthase 3	Ptges3
697	Mus musculus	P26350	Prothymosin alpha	Ptma
698	Mus musculus	Q9D0J8	Parathymosin	Ptms
699	Mus musculus	Q8R2Y8	Peptidyl-tRNA hydrolase 2, mitochondrial	Pthr2
700	Mus musculus	P42669	Transcriptional activator protein Pur-alpha	Pura
701	Mus musculus	O35295	Transcriptional activator protein Pur-beta	Purb
702	Mus musculus	Q8C194	Glycogen phosphorylase, brain form	Pygb
703	Mus musculus	Q9WUB3	Glycogen phosphorylase, muscle form	Pygm
704	Mus musculus	Q8BVI4	Dihydropteridine reductase	Qdpr
705	Mus musculus	P61027	Ras-related protein Rab-10	Rab10
706	Mus musculus	P46638	Ras-related protein Rab-11B	Rab11b
707	Mus musculus	Q91V41	Ras-related protein Rab-14	Rab14
708	Mus musculus	P35293	Ras-related protein Rab-18	Rab18
709	Mus musculus	P62821	Ras-related protein Rab-1A	Rab1A
710	Mus musculus	Q9D1G1	Ras-related protein Rab-1B	Rab1b
711	Mus musculus	P53994	Ras-related protein Rab-2A	Rab2a
712	Mus musculus	P63011	Ras-related protein Rab-3A	Rab3a
713	Mus musculus	P35276	Ras-related protein Rab-3D	Rab3d
714	Mus musculus	Q9CQD1	Ras-related protein Rab-5A	Rab5a
715	Homo sapiens	P61020	Ras-related protein Rab-5B	RAB5B
716	Mus musculus	P61294	Ras-related protein Rab-6B	Rab6b
717	Mus musculus	P51150	Ras-related protein Rab-7a	Rab7a
718	Mus musculus	P55258	Ras-related protein Rab-8A	Rab8a
719	Homo sapiens	P63000	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1	RAC1
720	Mus musculus	Q05144	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2	Rac2
721	Mus musculus	P63321	Ras-related protein Ral-A	Rala
722	Mus musculus	P62827	GTP-binding nuclear protein Ran	Ran
723	Mus musculus	P34022	Ran-specific GTPase-activating protein	Ranbp1
724	Homo sapiens	P62834	Ras-related protein Rap-1A	RAP1A
725	Mus musculus	Q99J16	Ras-related protein Rap-1b	Rap1b
726	Mus musculus	Q3U186	Probable arginine--tRNA ligase, mitochondrial	Rars2
727	Mus musculus	Q8VH51	RNA-binding protein 39	Rbm39

## Anhang

728	Mus musculus	P49194	Retinol-binding protein 3	Rbp3
729	Mus musculus	Q8BP92	Reticulocalbin-2	Rcn2
730	Mus musculus	P34057	Recoverin	Rcvrn
731	Mus musculus	Q8BYK4	Retinol dehydrogenase 12	Rdh12
732	Homo sapiens	Q9HBH5	Retinol dehydrogenase 14	RDH14
733	Mus musculus	Q9JM62	Receptor expression-enhancing protein 6	Reep6
734	Mus musculus	O54828	Regulator of G-protein signaling 9	Rgs9
735	Mus musculus	P15409	Rhodopsin	Rho
736	Mus musculus	Q9QUI0	Transforming protein RhoA	Rhoa
737	Mus musculus	Q8BG51	Mitochondrial Rho GTPase 1	Rhot1
738	Mus musculus	Q8JZN7	Mitochondrial Rho GTPase 2	Rhot2
739	Mus musculus	Q9Z275	Retinaldehyde-binding protein 1	Rlbp1
740	Mus musculus	Q99M28	RNA-binding protein with serine-rich domain 1	Rnps1
741	Mus musculus	Q3TDK6	Protein rogdi homolog	Rogdi
742	Mus musculus	P32958	Rod outer segment membrane protein 1	Rom1
743	Mus musculus	P53026	60S ribosomal protein L10a	Rpl10a
744	Mus musculus	Q9CXW4	60S ribosomal protein L11	Rpl11
745	Mus musculus	P35979	60S ribosomal protein L12	Rpl12
746	Mus musculus	P47963	60S ribosomal protein L13	Rpl13
747	Mus musculus	Q9CR57	60S ribosomal protein L14	Rpl14
748	Mus musculus	Q9CZM2	60S ribosomal protein L15	Rpl15
749	Mus musculus	P35980	60S ribosomal protein L18	Rpl18
750	Mus musculus	P62717	60S ribosomal protein L18a	Rpl18a
751	Mus musculus	P67984	60S ribosomal protein L22	Rpl22
752	Mus musculus	P62830	60S ribosomal protein L23	Rpl23
753	Mus musculus	P62751	60S ribosomal protein L23a	Rpl23a
754	Mus musculus	Q8BP67	60S ribosomal protein L24	Rpl24
755	Mus musculus	P61358	60S ribosomal protein L27	Rpl27
756	Mus musculus	P62889	60S ribosomal protein L30	Rpl30
757	Mus musculus	P62900	60S ribosomal protein L31	Rpl31
758	Mus musculus	Q6ZVV7	60S ribosomal protein L35	Rpl35
759	Mus musculus	Q9JJ18	60S ribosomal protein L38	Rpl38
760	Mus musculus	Q9D8E6	60S ribosomal protein L4	Rpl4
761	Mus musculus	P47911	60S ribosomal protein L6	Rpl6
762	Mus musculus	P14148	60S ribosomal protein L7	Rpl7
763	Mus musculus	P12970	60S ribosomal protein L7a	Rpl7a
764	Mus musculus	P51410	60S ribosomal protein L9	Rpl9
765	Mus musculus	P14869	60S acidic ribosomal protein P0	Rplp0
766	Homo sapiens	Q8NHW5	60S acidic ribosomal protein P0-like	RPLP0P6
767	Mus musculus	P47955	60S acidic ribosomal protein P1	Rplp1
768	Mus musculus	P99027	60S acidic ribosomal protein P2	Rplp2
769	Mus musculus	Q91YQ5	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1	Rpn1
770	Mus musculus	Q9DBG6	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	Rpn2
771	Mus musculus	P63325	40S ribosomal protein S10	Rps10
772	Mus musculus	P62281	40S ribosomal protein S11	Rps11
773	Mus musculus	P62301	40S ribosomal protein S13	Rps13

## Anhang

774	Mus musculus	P62245	40S ribosomal protein S15a	Rps15a
775	Mus musculus	P14131	40S ribosomal protein S16	Rps16
776	Mus musculus	P62270	40S ribosomal protein S18	Rps18
777	Mus musculus	P25444	40S ribosomal protein S2	Rps2
778	Mus musculus	P60867	40S ribosomal protein S20	Rps20
779	Mus musculus	P62267	40S ribosomal protein S23	Rps23
780	Mus musculus	P62849	40S ribosomal protein S24	Rps24
781	Mus musculus	P62855	40S ribosomal protein S26	Rps26
782	Mus musculus	Q6ZWU9	40S ribosomal protein S27	Rps27
783	Mus musculus	P62908	40S ribosomal protein S3	Rps3
784	Mus musculus	P97351	40S ribosomal protein S3a	Rps3a
785	Mus musculus	P62702	40S ribosomal protein S4, X isoform	Rps4x
786	Homo sapiens	P46782	40S ribosomal protein S5	RPS5
787	Mus musculus	P62754	40S ribosomal protein S6	Rps6
788	Mus musculus	P62082	40S ribosomal protein S7	Rps7
789	Mus musculus	P62242	40S ribosomal protein S8	Rps8
790	Mus musculus	Q6ZWN5	40S ribosomal protein S9	Rps9
791	Homo sapiens	Q9HB90	Ras-related GTP-binding protein C	RRAGC
792	Mus musculus	Q9Z1L4	Retinoschisin	Rs1
793	Mus musculus	Q8K0T0	Reticulon-1	Rtn1
794	Mus musculus	Q9ES97	Reticulon-3	Rtn3
795	Mus musculus	Q99P72	Reticulon-4	Rtn4
796	Mus musculus	Q9CQE8	UPF0568 protein C14orf166 homolog	Rtraf
797	Homo sapiens	P05109	Protein S100-A8	S100A8
798	Mus musculus	P20443	S-arrestin	Sag
799	Mus musculus	Q8BGH2	Sorting and assembly machinery component 50 homolog	Samm50
800	Homo sapiens	Q9UL12	Sarcosine dehydrogenase, mitochondrial	SARDH
801	Mus musculus	Q9JKD3	Secretory carrier-associated membrane protein 5	Scamp5
802	Mus musculus	Q91WD9	Secretagogin	Scgn
803	Mus musculus	Q8K2B3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit, mitochondrial	Sdha
804	Mus musculus	Q9CQA3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial	Sdhb
805	Mus musculus	Q9CZB0	Succinate dehydrogenase cytochrome b560 subunit, mitochondrial	Sdhc
806	Mus musculus	Q9CXV1	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] cytochrome b small subunit, mitochondrial	Sdhd
807	Mus musculus	O08547	Vesicle-trafficking protein SEC22b	Sec22b
808	Mus musculus	Q9CQS8	Protein transport protein Sec61 subunit beta	Sec61b
809	Homo sapiens	P04279	Semenogelin-1	SEMG1
810	Homo sapiens	Q02383	Semenogelin-2	SEMG2
811	Mus musculus	Q9Z2Q6	Septin-5	Sept5
812	Mus musculus	O55131	Septin-7	Sept7
813	Mus musculus	Q9EQU5	Protein SET	Set
814	Mus musculus	Q99NB9	Splicing factor 3B subunit 1	Sf3b1
815	Mus musculus	Q921M3	Splicing factor 3B subunit 3	Sf3b3
816	Mus musculus	O70456	14-3-3 protein sigma	Sfn
817	Mus musculus	Q8VIJ6	Splicing factor, proline- and glutamine-rich	Sfpq
818	Mus musculus	Q91V61	Sideroflexin-3	Sfxn3
819	Mus musculus	Q925N0	Sideroflexin-5	Sfxn5

## Anhang

820	Mus musculus	Q8BG73	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2	Sh3bgrl2
821	Mus musculus	Q62420	Endophilin-A1	Sh3gl2
822	Mus musculus	Q9WTX5	S-phase kinase-associated protein 1	Skp1
823	Mus musculus	Q91V14	Solute carrier family 12 member 5	Slc12a5
824	Mus musculus	P53986	Monocarboxylate transporter 1	Slc16a1
825	Mus musculus	P43006	Excitatory amino acid transporter 2	Slc1a2
826	Mus musculus	P56564	Excitatory amino acid transporter 1	Slc1a3
827	Mus musculus	Q9CR62	Mitochondrial 2-oxoglutarate/malate carrier protein	Slc25a11
828	Mus musculus	Q8BH59	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar1	Slc25a12
829	Mus musculus	Q9QXX4	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar2	Slc25a13
830	Mus musculus	Q9D6M3	Mitochondrial glutamate carrier 1	Slc25a22
831	Mus musculus	Q8VEM8	Phosphate carrier protein, mitochondrial	Slc25a3
832	Homo sapiens	Q9H0C2	ADP/ATP translocase 4	SLC25A31
833	Mus musculus	P48962	ADP/ATP translocase 1	Slc25a4
834	Mus musculus	P51881	ADP/ATP translocase 2	Slc25a5
835	Homo sapiens	P12236	ADP/ATP translocase 3	SLC25A6
836	Mus musculus	P17809	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1	Slc2a1
837	Mus musculus	O35633	Vesicular inhibitory amino acid transporter	Slc32a1
838	Mus musculus	Q9DCP2	Sodium-coupled neutral amino acid transporter 3	Slc38a3
839	Mus musculus	P10852	4F2 cell-surface antigen heavy chain	Slc3a2
840	Mus musculus	P31648	Sodium- and chloride-dependent GABA transporter 1	Slc6a1
841	Mus musculus	P31650	Sodium- and chloride-dependent GABA transporter 3	Slc6a11
842	Mus musculus	Q810C1	SLIT and NTRK-like protein 1	Slitrk1
843	Mus musculus	Q91ZW3	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily A member 5	Smarca5
844	Homo sapiens	Q96SB8	Structural maintenance of chromosomes protein 6	SMC6
845	Mus musculus	P60879	Synaptosomal-associated protein 25	Snap25
846	Mus musculus	Q61548	Clathrin coat assembly protein AP180	Snap91
847	Mus musculus	Q91ZZ3	Beta-synuclein	Sncb
848	Mus musculus	Q6P4T2	U5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kDa helicase	Snrnp200
849	Mus musculus	P27048	Small nuclear ribonucleoprotein-associated protein B	Snrpb
850	Mus musculus	P62315	Small nuclear ribonucleoprotein Sm D1	Snrpd1
851	Mus musculus	P62317	Small nuclear ribonucleoprotein Sm D2	Snrpd2
852	Mus musculus	P62320	Small nuclear ribonucleoprotein Sm D3	Snrpd3
853	Mus musculus	P62305	Small nuclear ribonucleoprotein E	Snrpe
854	Mus musculus	P62307	Small nuclear ribonucleoprotein F	Snrpf
855	Mus musculus	P62309	Small nuclear ribonucleoprotein G	Snrpg
856	Homo sapiens	P63162	Small nuclear ribonucleoprotein-associated protein N	SNRPN
857	Mus musculus	P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	Sod1
858	Mus musculus	P09671	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial	Sod2
859	Homo sapiens	Q96JI7	Spatacsin	SPG11
860	Mus musculus	Q64105	Sepiapterin reductase	Spr
861	Mus musculus	P16546	Spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1	Sptan1
862	Mus musculus	Q62261	Spectrin beta chain, non-erythrocytic 1	Sptbn1
863	Mus musculus	Q52KI8	Serine/arginine repetitive matrix protein 1	Srrm1
864	Homo sapiens	A6NNA2	Serine/arginine repetitive matrix protein 3	SRRM3
865	Mus musculus	Q6PDM2	Serine/arginine-rich splicing factor 1	Srsf1

## Anhang

866	Mus musculus	Q62093	Serine/arginine-rich splicing factor 2	Srsf2
867	Mus musculus	P84104	Serine/arginine-rich splicing factor 3	Srsf3
868	Mus musculus	Q8VE97	Serine/arginine-rich splicing factor 4	Srsf4
869	Homo sapiens	Q13247	Serine/arginine-rich splicing factor 6	SRSF6
870	Mus musculus	Q8BL97	Serine/arginine-rich splicing factor 7	Srsf7
871	Mus musculus	P32067	Lupus La protein homolog	Ssb
872	Mus musculus	Q62186	Translocon-associated protein subunit delta	Ssr4
873	Mus musculus	Q08943	FACT complex subunit SSRP1	Ssrp1
874	Mus musculus	Q99JB2	Stomatin-like protein 2, mitochondrial	Stoml2
875	Mus musculus	Q91WM1	Spermatid perinuclear RNA-binding protein	Strbp
876	Mus musculus	P61264	Syntaxin-1B	Stx1b
877	Mus musculus	Q64704	Syntaxin-3	Stx3
878	Mus musculus	O08599	Syntaxin-binding protein 1	Stxbp1
879	Mus musculus	Q9Z2I9	Succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit beta, mitochondrial	Sucla2
880	Mus musculus	Q9WUM5	Succinyl-CoA ligase [ADP/GDP-forming] subunit alpha, mitochondrial	Suclg1
881	Homo sapiens	Q96199	Succinyl-CoA ligase [GDP-forming] subunit beta, mitochondrial	SUCLG2
882	Mus musculus	Q9JIS5	Synaptic vesicle glycoprotein 2A	Sv2a
883	Mus musculus	Q8BG39	Synaptic vesicle glycoprotein 2B	Sv2b
884	Mus musculus	Q7TMK9	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q	Syncrip
885	Mus musculus	O55100	Synaptogyrin-1	Syng1
886	Mus musculus	Q8CHC4	Synaptojanin-1	Synj1
887	Mus musculus	Q8BGN8	Synaptoporin	Synpr
888	Mus musculus	Q62277	Synaptophysin	Syp
889	Mus musculus	P46096	Synaptotagmin-1	Syt1
890	Mus musculus	Q9R1Q8	Transgelin-3	Tagln3
891	Mus musculus	Q93092	Transaldolase	Taldo1
892	Mus musculus	Q921F2	TAR DNA-binding protein 43	Tardbp
893	Mus musculus	P11983	T-complex protein 1 subunit alpha	Tcp1
894	Mus musculus	Q92111	Serotransferrin	Tf
895	Mus musculus	Q62351	Transferrin receptor protein 1	Tfrc
896	Mus musculus	Q8C1A5	Thimet oligopeptidase	Thop1
897	Mus musculus	Q569Z6	Thyroid hormone receptor-associated protein 3	Thrap3
898	Mus musculus	P01831	Thy-1 membrane glycoprotein	Thy1
899	Mus musculus	Q35857	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM44	Timm44
900	Mus musculus	P40142	Transketolase	Tkt
901	Mus musculus	Q9D1D4	Transmembrane emp24 domain-containing protein 10	Tmed10
902	Mus musculus	Q3UBX0	Transmembrane protein 109	Tmem109
903	Mus musculus	Q9CQN6	Transmembrane protein 14C	Tmem14c
904	Mus musculus	Q5F285	Transmembrane protein 256	Tmem256
905	Mus musculus	Q9CR67	Transmembrane protein 33	Tmem33
906	Mus musculus	Q4VAE3	Transmembrane protein 65	Tmem65
907	Homo sapiens	Q7RTY8	Transmembrane protease serine 7	TMPRSS7
908	Mus musculus	Q9D710	Thioredoxin-related transmembrane protein 2	Tmx2
909	Mus musculus	Q8BFY9	Transportin-1	Tnpo1
910	Mus musculus	Q9CPQ3	Mitochondrial import receptor subunit TOM22 homolog	Tomm22
911	Mus musculus	Q9CZW5	Mitochondrial import receptor subunit TOM70	Tomm70a

## Anhang

912	Mus musculus	Q04750	DNA topoisomerase 1	Top1
913	Homo sapiens	P11388	DNA topoisomerase 2-alpha	TOP2A
914	Mus musculus	Q64511	DNA topoisomerase 2-beta	Top2b
915	Mus musculus	E5FYH1	Testis- and ovary-specific PAZ domain-containing protein 1	Topaz1
916	Mus musculus	P17751	Triosephosphate isomerase	Tpi1
917	Mus musculus	Q7TQD2	Tubulin polymerization-promoting protein	Tppp
918	Mus musculus	P63028	Translationally-controlled tumor protein	Tpt1
919	Mus musculus	Q6PFR5	Transformer-2 protein homolog alpha	Tra2a
920	Homo sapiens	A0A075B6X5	T cell receptor alpha variable 18	TRAV18
921	Mus musculus	Q62318	Transcription intermediary factor 1-beta	Trim28
922	Mus musculus	Q62348	Translin	Tsn
923	Mus musculus	A2ASS6	Titin	Ttn
924	Mus musculus	P68369	Tubulin alpha-1A chain	Tuba1a
925	Mus musculus	P05213	Tubulin alpha-1B chain	Tuba1b
926	Mus musculus	P68368	Tubulin alpha-4A chain	Tuba4a
927	Homo sapiens	P07437	Tubulin beta chain	TUBB
928	Mus musculus	Q7TMM9	Tubulin beta-2A chain	Tubb2a
929	Mus musculus	Q9CWF2	Tubulin beta-2B chain	Tubb2b
930	Mus musculus	Q9ERD7	Tubulin beta-3 chain	Tubb3
931	Mus musculus	Q9D6F9	Tubulin beta-4A chain	Tubb4a
932	Mus musculus	P68372	Tubulin beta-4B chain	Tubb4b
933	Mus musculus	P99024	Tubulin beta-5 chain	Tubb5
934	Mus musculus	Q922F4	Tubulin beta-6 chain	Tubb6
935	Homo sapiens	Q3ZCM7	Tubulin beta-8 chain	TUBB8
936	Mus musculus	Q8BFR5	Elongation factor Tu, mitochondrial	Tufm
937	Mus musculus	Q9Z273	Tubby-related protein 1	Tulp1
938	Mus musculus	P10639	Thioredoxin	Txn
939	Mus musculus	Q8BGJ9	Splicing factor U2AF 26 kDa subunit	U2af114
940	Mus musculus	Q02053	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1	Uba1
941	Mus musculus	Q9Z1F9	SUMO-activating enzyme subunit 2	Uba2
942	Mus musculus	P62984	Ubiquitin-60S ribosomal protein L40	Uba52
943	Mus musculus	P68037	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 L3	Ube2l3
944	Mus musculus	P61089	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 N	Ube2n
945	Mus musculus	Q6P5E4	UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1	Uggt1
946	Mus musculus	Q9Z2R6	Protein unc-119 homolog A	Unc119
947	Homo sapiens	A6NIH7	Protein unc-119 homolog B	UNC119B
948	Mus musculus	Q8R111	Cytochrome b-c1 complex subunit 9	Uqcr10
949	Mus musculus	Q9CPX8	Cytochrome b-c1 complex subunit 10	Uqcr11
950	Mus musculus	Q9D855	Cytochrome b-c1 complex subunit 7	Uqcrb
951	Mus musculus	Q9CZ13	Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial	Uqcrc1
952	Mus musculus	Q9DB77	Cytochrome b-c1 complex subunit 2, mitochondrial	Uqcrc2
953	Mus musculus	Q9CR68	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske, mitochondrial	Uqcrcs1
954	Mus musculus	P99028	Cytochrome b-c1 complex subunit 6, mitochondrial	Uqcrh
955	Mus musculus	Q9CQ69	Cytochrome b-c1 complex subunit 8	Uqcrq
956	Mus musculus	Q78IK2	Up-regulated during skeletal muscle growth protein 5	Usmq5
957	Mus musculus	P56399	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 5	Usp5

## Anhang

958	Mus musculus	P63044	Vesicle-associated membrane protein 2	Vamp2
959	Mus musculus	Q9WV55	Vesicle-associated membrane protein-associated protein A	Vapa
960	Homo sapiens	O95292	Vesicle-associated membrane protein-associated protein B/C	VAPB
961	Mus musculus	Q9Z1Q9	Valine--tRNA ligase	Vars
962	Mus musculus	Q80TB8	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog-like	Vat1l
963	Mus musculus	Q64727	Vinculin	Vcl
964	Mus musculus	Q01853	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	Vcp
965	Mus musculus	Q60932	Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	Vdac1
966	Mus musculus	Q60930	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	Vdac2
967	Mus musculus	Q60931	Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	Vdac3
968	Mus musculus	P20152	Vimentin	Vim
969	Mus musculus	Q78T54	Vacuolar ATPase assembly integral membrane protein Vma21	Vma21
970	Mus musculus	Q9EQH3	Vacuolar protein sorting-associated protein 35	Vps35
971	Mus musculus	P62761	Visinin-like protein 1	Vsnl1
972	Mus musculus	P32921	Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic	Wars
973	Mus musculus	Q9CYF5	Williams-Beuren syndrome chromosomal region 16 protein homolog	Wbscr16
974	Mus musculus	O88342	WD repeat-containing protein 1	Wdr1
975	Mus musculus	Q6P5F9	Exportin-1	Xpo1
976	Mus musculus	Q924C1	Exportin-5	Xpo5
977	Mus musculus	Q91WQ3	Tyrosine--tRNA ligase, cytoplasmic	Yars
978	Mus musculus	B2RR83	Probable ATP-dependent RNA helicase YTHDC2	Ythdc2
979	Mus musculus	Q9CQV8	14-3-3 protein beta/alpha	Ywhab
980	Mus musculus	P62259	14-3-3 protein epsilon	Ywhae
981	Mus musculus	P61982	14-3-3 protein gamma	Ywhag
982	Mus musculus	P68510	14-3-3 protein eta	Ywhah
983	Mus musculus	P68254	14-3-3 protein theta	Ywhaq
984	Mus musculus	P63101	14-3-3 protein zeta/delta	Ywhaz
985	Mus musculus	Q5SS00	DBF4-type zinc finger-containing protein 2 homolog	Zdbf2

## Anhang

Tabelle 7: Auflistung der verwendeten MaxQuant-Parameter

Parameter	Value
Version	1.6.1.0
Fixed modifications	Carbamidomethyl (C)
Include contaminants	True
PSM FDR	0,01
XPSM FDR	0,01
Protein FDR	0,01
Site FDR	0,01
Use Normalized Ratios For Occupancy	True
Min. peptide Length	7
Min. score for unmodified peptides	0
Min. score for modified peptides	40
Min. delta score for unmodified peptides	0
Min. delta score for modified peptides	6
Min. unique peptides	0
Min. razor peptides	1
Min. peptides	1
Use only unmodified peptides and	True
Modifications included in protein quantification	Oxidation (M);Acetyl (Protein N-term)
Peptides used for protein quantification	Razor
Discard unmodified counterpart peptides	True
Label min. ratio count	2
Use delta score	False
iBAQ	True
iBAQ log fit	True
Match between runs	True
Matching time window [min]	5
Alignment time window [min]	20
Find dependent peptides	False
Fasta file	Uniprot-reviewed, Homo sapiens; Date, 17 Oct 2018; Proteins listed, 20410
Fasta file	Uniprot-reviewed, Mus musculus; Date, 17 Oct 2018; Proteins listed, 17001
Decoy mode	revert
Include contaminants	True
Advanced ratios	True
Fixed andromeda index folder	
Temporary folder	
Combined folder location	
Second peptides	True
Stabilize large LFQ ratios	True
Separate LFQ in parameter groups	True
Require MS/MS for LFQ comparisons	True
Calculate peak properties	False
Main search max. combinations	200
Advanced site intensities	True
LFQ norm for sites and peptides	False
Write msScans table	True
Write msmsScans table	True
Write ms3Scans table	True
Write allPeptides table	True
Write mzRange table	True
Write pasefMsmsScans table	True
Write accumulatedPasefMsmsScans table	True
Max. peptide mass [Da]	4600
Min. peptide length for unspecific search	8
Max. peptide length for unspecific search	25

## Anhang

Razor protein FDR	True
Disable MD5	False
Max mods in site table	3
Match unidentified features	False
MS/MS tol. (FTMS)	20 ppm
Top MS/MS peaks per Da interval. (FTMS)	12
Da interval. (FTMS)	100
MS/MS deisotoping (FTMS)	True
MS/MS deisotoping tolerance (FTMS)	7
MS/MS deisotoping tolerance unit (FTMS)	ppm
MS/MS higher charges (FTMS)	True
MS/MS water loss (FTMS)	True
MS/MS ammonia loss (FTMS)	True
MS/MS dependent losses (FTMS)	True
MS/MS recalibration (FTMS)	False
MS/MS tol. (ITMS)	0.5 Da
Top MS/MS peaks per Da interval. (ITMS)	8
Da interval. (ITMS)	100
MS/MS deisotoping (ITMS)	False
MS/MS deisotoping tolerance (ITMS)	0,15
MS/MS deisotoping tolerance unit (ITMS)	Da
MS/MS higher charges (ITMS)	True
MS/MS water loss (ITMS)	True
MS/MS ammonia loss (ITMS)	True
MS/MS dependent losses (ITMS)	True
MS/MS recalibration (ITMS)	False
MS/MS tol. (TOF)	40 ppm
Top MS/MS peaks per Da interval. (TOF)	10
Da interval. (TOF)	100
MS/MS deisotoping (TOF)	True
MS/MS deisotoping tolerance (TOF)	0,01
MS/MS deisotoping tolerance unit (TOF)	Da
MS/MS higher charges (TOF)	True
MS/MS water loss (TOF)	True
MS/MS ammonia loss (TOF)	True
MS/MS dependent losses (TOF)	True
MS/MS recalibration (TOF)	False
MS/MS tol. (Unknown)	0.5 Da
Top MS/MS peaks per Da interval. (Unknown)	8
Da interval. (Unknown)	100
MS/MS deisotoping (Unknown)	False
MS/MS deisotoping tolerance (Unknown)	0,15
MS/MS deisotoping tolerance unit (Unknown)	Da
MS/MS higher charges (Unknown)	True
MS/MS water loss (Unknown)	True
MS/MS ammonia loss (Unknown)	True
MS/MS dependent losses (Unknown)	True
MS/MS recalibration (Unknown)	False
Site tables	Oxidation (M)Sites.txt

### **Danksagung**

147 Seiten insgesamt, 38597 Wörter, 7 Tabellen und 42 Abbildungen: ein über drei Jahre andauerndes, spannendes Kapitel meines Lebens neigt sich nun dem Ende.

Als Erstes möchte ich mich bei meiner Betreuerin und Erstgutachterin bedanken, die mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Dissertation unter ihrer Leitung schreiben zu dürfen, wodurch mir die Chance geboten wurde, nützliche Erfahrungen im Bereich des wissenschaftlichen Arbeitens zu sammeln.

Mein ganz besonderer und vor allen Dingen größter Dank gilt meiner Zweitgutachterin und gleichermaßen ihrem Gatten, die meine Bewerbung auf eine experimentelle Doktorarbeit im Mai 2017 annahmen. Ohne die Beiden wäre die Arbeit nicht das, was sie heute ist; sei es durch ihre akribische Planung des Studienkonzepts, durch ihre peniblen Anleitungen zur Durchführung der Experimente oder durch die vielen wissenschaftlichen Diskussionen mit ihnen bis in die späten Abendstunden, welche schließlich zur Optimierung der Versuchsmethode führten. Beide haben mich zu gleichen Teilen durch ihre durchgehend unermüdliche Betreuung in bedeutsamer Weise unterstützt. Erst durch die genaue Durchsicht der Arbeit in der Endphase und die vielen exakten Anmerkungen beim Schreibprozess konnte ich die Dissertation schließlich vollenden. Durch all die Jahre wunderbarer Zusammenarbeit ist eine enge Freundschaft gewachsen, die auch nach Abschluss dieser Studie lange halten wird!

Des Weiteren möchte ich mich beim Leiter des Labors der Experimentellen Ophthalmologie bedanken, dass es mir ermöglicht wurde, das Labor für die Durchführung meiner Experimente zu nutzen.

Ich danke außerdem meinen Eltern, die mich durch ihre umsorgende und fürsorgliche Erziehung zu dem gemacht haben, der ich heute bin. Generell bin ich meiner Familie für die allzeitig tatkräftige Unterstützung dankbar.

Von Herzen möchte ich meiner Freundin für das präzise Korrekturlesen danken. Ich werde mich beim Abschluss deiner Dissertation selbstverständlich revanchieren!

Nicht zuletzt bedanke ich mich bei meinem besten Freund und ehemaligem Mitbewohner, der mir von April 2018 bis einschließlich Januar 2020 ein warmes Dach über dem Kopf geboten hat.