

Aus dem Forschungszentrum Borstel

Leibniz-Zentrum für Medizin und Biowissenschaften

Programmbereich Asthma und Allergie

Forschungsgruppe Angeborene Immunität

Leiter: PD Dr. Holger Heine

**MECHANISMEN DER ALLERGIEPROTEKTION MITTELS
AKTIVIERUNG DES ANGEBORENEN IMMUNSYSTEMS DURCH
KUHSTALLBAKTERIEN: REZEPTOREN, SIGNALTRANSDUKTION
UND MEDIATORFREISETZUNG**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

KARINA STEIN

Kiel, 2012

Erster Gutachter:PD Dr. Holger Heine.....
Zweiter Gutachter:Prof. Dr. Thomas Röder.....
Tag der mündlichen Prüfung:30.11.2012.....
Zum Druck genehmigt:30.11.2012.....

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	4
1 EINLEITUNG	6
1.1 Allergien und Asthma	6
1.1.1 Die Hygiene-Hypothese	7
1.2 Dendritische Zellen (DCs)	10
1.2.1 Die Rezeptoren der dendritischen Zellen.....	10
1.3 Dendritische Zellen und das adaptive Immunsystem bei Asthma	13
1.3.1 Die Rolle von dendritischen Zellen bei der T _{Helfer} -Zellpolarisierung	15
2 ZIELSETZUNG	19
3 MATERIAL UND METHODEN	20
3.1 Geräte	20
3.2 Chemikalien und Zusätze	20
3.3 Stimulantien und Inhibitoren	21
3.4 Allgemeine Puffer und Medien	22
3.5 Kultivierung und Aufbereitung der Bakterien	22
3.6 Isolierung humaner mononukleärer Zellen	23
3.7 Isolierung humaner Monozyten und Lymphozyten	23
3.8 Generierung humaner DCs aus Monozyten	24
3.9 Isolierung naiver CD4⁺ T-Zellen aus Lymphozyten	24
3.10 Stimulation humaner DCs	25
3.11 Autologe Kokultur humaner DCs mit naiven CD4⁺ T-Zellen	25
3.12 Transfektion und Stimulation von HEK293-Zellen	25
3.13 Isolierung und Generierung muriner Knochenmarkszellen (BMDCs)	26
3.14 Stimulation muriner BMDCs	27
3.15 Zellzahlbestimmung	27
3.16 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	27

3.17	Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS)	28
3.18	Konfokale Laserscanmikroskopie	29
3.19	Isolierung der Ribonukleinsäure und Reverse Transkription	30
3.20	Quantitative <i>Real-time</i>-PCR	30
3.21	Microarray	32
4	ERGEBNISSE	33
4.1	Aktivierung und Reifung humaner DCs	33
4.2	Einfluss von <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 auf die T-Zell-Polarisierung	35
4.2.1	<i>S. sciuri</i> W620 und <i>L. lactis</i> G121 induzieren teils unterschiedliche Mitglieder der IL-12-Familie in DCs	35
4.2.2	<i>S. sciuri</i> W620 und <i>L. lactis</i> G121 induzieren ein T _H 1-polarisierendes Programm in humanen DCs	38
4.2.3	<i>S. sciuri</i> W620 und <i>L. lactis</i> G121 induzieren eine T _H 1-Polarisation in humanen DC-TC-Kokulturen	39
4.2.4	<i>S. sciuri</i> W620 und <i>L. lactis</i> G121 induzieren T _H 17-, T _H 9- und T _H 22-assoziierte mRNAs in humanen DC-TC- Kokulturen.....	42
4.2.5	Das von <i>S. sciuri</i> W620- und <i>L. lactis</i> G121-induzierte IFN- γ in humanen DC-TC-Kokulturen ist IL-12p40-abhängig	44
4.2.6	<i>S. sciuri</i> W620 und <i>L. lactis</i> G121 induzieren keine eindeutige T _{reg} -Polarisierung	45
4.3	Beteiligte Rezeptoren bei der Allergieprotektion durch <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620	48
4.3.1	Beteiligung von TLR2 und NOD2 bei der Aktivierung von Zellen durch <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620	49
4.3.2	Die Aktivierung durch <i>L. lactis</i> G121, aber nicht <i>S. sciuri</i> W620, basiert auf intrazellulären Mechanismen.....	53
4.3.3	Der intrazelluläre TLR8 ist an der Aktivierung durch <i>L. lactis</i> G121 beteiligt.....	64
4.3.4	Stimulation mit <i>L. lactis</i> G121, aber nicht <i>S. sciuri</i> W620, führt zu IL-1 β -Protein	69
4.4	Microarray-Analysen	71
4.4.1	<i>S. sciuri</i> W620 und <i>L. lactis</i> G121 induzieren ein zeitlich unterschiedliches Expressionsmuster in humanen DCs.....	71
4.4.2	Analyse von gleichen und unterschiedlichen regulierten Genen in humanen DCs nach <i>S. sciuri</i> W620- und <i>L. lactis</i> G121-Stimulation.....	73

4.4.3	Analyse von gleichen und unterschiedlichen regulierten Netzwerken in humanen DCs nach <i>S. sciuri</i> W620- und <i>L. lactis</i> G121-Stimulation.....	75
5	DISKUSSION	78
5.1	<i>S. sciuri</i> W620 und <i>L. lactis</i> G121 besitzen unterschiedliche immunmodulatorische Eigenschaften.....	78
5.2	<i>L. lactis</i> G121, aber nicht <i>S. sciuri</i> W620, aktiviert DCs über intrazelluläre PRRs	83
5.3	Theorie zur <i>L. lactis</i> G121- und <i>S. sciuri</i> W620-vermittelten Allergieprotektion im Kontext der Hygiene-Hypothese	86
	REFERENZEN	90
	ZUSAMMENFASSUNG	102
	ABSTRACT	103
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	104
	TABELLENVERZEICHNIS	106
	ANHANG	107
	CURRICULUM VITAE.....	126
	DANKSAGUNG	129
	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	130

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

APC	Antigenpräsentierende Zelle
as	<i>Anti-sense</i>
BMDC	<i>Bone marrow-derived dendritic cell</i>
BSA	<i>Bovine serum albumin</i>
CCL	<i>Chemokine (C-C motif) Ligand</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
cfu	<i>Colony-forming units</i>
CXCL	<i>Chemokine (C-X-C motif) ligand</i>
DAP	Diaminopimelinsäure
DC	Dendritische Zelle
DLL4	<i>Delta-like 4</i>
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
ds	<i>Double-stranded</i>
EBI3	<i>Epstein-Barr virus-induced gene 3</i>
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	<i>Enzyme-linked immuno sorbent assay</i>
FACS	<i>Fluorescence-activated cell sorting</i>
FCS	<i>Fetal calf serum</i>
Foxp3	<i>Forkhead box p3</i>
GATA3	<i>GATA-binding protein 3</i>
GM-CSF	<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
HBSS	<i>Hanks buffered salt solution</i>
HEK	<i>Human embryonic kidney cells</i>
HPRT	Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase
ICAM	<i>Intercellular adhesion molecule</i>
ICOSLG	<i>Inducible T-cell co-stimulator ligand</i>
ID	<i>Identity</i>
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IKK	<i>Inhibitor of NFκB-kinase</i>
IL	Interleukin
IRS	Immunregulatorische Sequenz
<i>L. lactis</i> G121	<i>Lactococcus lactis</i> G121
LPS	Lipopolysaccharid
MACS	<i>Magnetic-activated cell sorting</i>
MAMP	<i>Microbe-associated molecular pattern</i>
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinase</i>
MDP	Muramyldipeptid

MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
MNCs	Mononukleäre Zellen
mRNA	<i>Messenger Ribonukleinsäure</i>
MyD88	<i>Myeloid differentiation primary response gene 88</i>
NF- κ B	<i>Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells</i>
NLR	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors</i>
OVA	Ovalbumin
P ₃ CSK ₄	<i>N-palmitoyl-S-[2,3-bis(palmitoyloxy)-propyl]-(R)-cysteinyl-(lysyl)3-lysine</i>
PAMP	<i>Pathogen-associated molecular pattern</i>
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
Pen	Penicillin
PFA	Paraformaldehyd
PMA	Phorbol-12-Myristat-13-Azetat
ROR γ t	<i>Retinoid-acid receptor-related orphan receptor gamma t</i>
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute Medium 1640</i>
PRR	<i>Pathogen recognition receptor</i>
RT-PCR	<i>Real-time polymerase chain reaction</i>
s	<i>Sense</i>
SEM	<i>Standard error of mean</i>
ss	<i>Single-stranded</i>
<i>S. sciuri</i> W620	<i>Staphylococcus sciuri</i> W620
Strep	Streptomycin
T-bet	<i>T-box expressed in T cells</i>
TCR	T-Zell-Rezeptor
TGF	<i>Transforming growth factor</i>
T _H	T _{Helfer}
TLR	<i>Toll-like receptor</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
T _{Reg}	Regulatorische T-Zelle
TICAM1	<i>Toll-interleukin 1 receptor domain-containing adaptor molecule 1</i>
TSB	<i>Trypticase soy broth</i>

1 EINLEITUNG

1.1 Allergien und Asthma

Unter dem Begriff Allergie wird eine Vielzahl von Erkrankungssymptomen zusammengefasst, denen eine überschießende Immunreaktion auf normalerweise harmlose Umweltsubstanzen, den sogenannten Allergenen, gemeinsam ist. Durch die stark zunehmende Zahl dieser Erkrankungen in den letzten Jahrzehnten und einer Prävalenz von bis zu 40 % in der deutschen Bevölkerung wird die Allergie mittlerweile auch als Volkskrankheit bezeichnet. Allergische Rhinitis ist dabei die häufigste allergische Erkrankung, wobei ca. ein Drittel der Patienten gleichzeitig von *Asthma bronchiale* betroffen ist. Diese Krankheit ist gekennzeichnet durch eine chronische Entzündung der Atemwege, die sich u.a. in einer Verengung der Bronchien und Mukushypersekretion manifestiert¹. Weltweit leiden laut dem *Global Asthma Report 2011* der *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease* und der *International Study of Asthma and Allergy in Childhood (ISAAC)* derzeit ca. 235 Millionen Menschen unter Asthma. Neuere Statistiken belegen, dass die Fallzahlen in einigen Gegenden seit wenigen Jahren konstant bleiben oder sogar leicht abnehmen, vor allem in den Ländern, die die weltweite Asthmastatistik anführen, wie die USA, Großbritannien und Australien^{2,3}. Dennoch ist Asthma global gesehen vor allem in Schwellen- und Entwicklungsländern, die ursprünglich eine niedrige Asthmainzidenz aufwiesen, weiterhin auf dem Vormarsch.

Asthma wird in zwei Krankheitsformen unterteilt: das allergische und das nicht-allergische Asthma. Patienten mit nicht-allergischem Asthma zeigen keine Sensibilisierung gegenüber bekannten Umweltantigenen und das *Asthma bronchiale* wird durch Reize wie z.B. kalte Luft, Stress oder körperlicher Belastung ausgelöst⁴. Beim allergischen Asthma hingegen zeigen die Betroffenen eine Atopie gegenüber Allergenen, die aus der Luft oder der Nahrung stammen können. Das heißt, dass sie eine individuelle Prädisposition aufweisen, mit einer erhöhten Bildung von Immunglobulin (Ig) E auf Umweltallergene zu reagieren¹.

Der Grund, warum bestimmte Stoffe bei manchen Menschen allergisches Asthma auslösen und bei anderen nicht, ist bisher nicht geklärt. Es gibt allerdings eine Vielzahl von Faktoren, die das Risiko an einer Allergie zu erkranken, erhöhen. So kann z.B. eine genetische Disposition eine entscheidende Rolle spielen. Laut dem Deutschen Allergie- und Asthmabund e.V. besteht bei Kindern von Eltern mit der gleichen allergischen Erkrankung ein Risiko von 60-80 % eine Atopie aufzuweisen (www.daab.de). Durch genomweite Assoziationsstudien konnte mittlerweile eine Vielzahl von „Risiko-Genen“ identifiziert werden. Häufig weisen diese sogenannte *single nucleotide polymorphisms (SNPs)* auf, d.h. einzelne Nukleotide sind ausgetauscht. Diese Gene können beispielsweise bei der angeborenen

Immunität eine Rolle spielen, wie es bei verschiedenen Rezeptoren der Fall ist, aber auch im Bereich der adaptiven Immunantwort, wie bei der Differenzierung und Funktion von B- und T-Zellen⁵. Neben diesen genetischen Risikofaktoren belegt eine Vielzahl von Studien eine positive Assoziation bestimmter Umwelteinflüsse mit der Entstehung von allergischen Erkrankungen. Einer dieser Faktoren nicht-genetischen Ursprungs ist die Feinstaubbelastung, z.B. durch Dieselpartikel, die in Verbindung mit Pollen eine erhöhte „Aggressivität“ der Allergene zur Folge hat.^{6,7} Ebenfalls in Verbindung mit Pollen wird die Klimaerwärmung diskutiert, die zu einer verlängerten Pollenflugzeit und der Verbreitung nicht-einheimischer Pflanzen führt^{7,8,9}. Doch nicht nur einzelne Umweltfaktoren an sich können bei der Entstehung von Allergien von Bedeutung sein, sondern auch eine insgesamt veränderte Lebensweise, die als „westlicher“ Lebensstil zusammengefasst wird. Erhöhte Hygienestandards, eine reduzierte Familiengröße, längerer Aufenthalte in geschlossenen Räumen und eine veränderte Zusammensetzung der Nahrung sind nur einige der Umstände, die diese Lebensweise mit sich bringt und das Allergierisiko erhöhen^{10,11}. Viele dieser Lebensumstände legen die Vermutung nahe, dass der verminderte Kontakt zu mikrobiellen Bestandteilen eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von Allergien und Asthma spielt, was zu der Entstehung der „Hygiene-Hypothese“ geführt hat.

1.1.1 Die Hygiene-Hypothese

Der Begriff der „Hygiene-Hypothese“ wurde von David P. Strachan formuliert und basiert auf den Ergebnissen einer epidemiologischen Studie, die er 1989 in einer Veröffentlichung darstellt¹². Darin postulierte er einen Zusammenhang von geringen hygienischen Standards und der Haushaltgröße mit einer verminderten Inzidenz allergischer Erkrankungen. Die heutige Definition der Hygiene-Hypothese besagt, dass ein zu geringer Kontakt mit Viren oder infektiösen bzw. symbiotischen Bakterien und Parasiten im frühen Kindesalter die Wahrscheinlichkeit erhöht im späteren Leben allergische Erkrankungen zu entwickeln¹³. Mittlerweile hat die Hygiene-Hypothese in der Wissenschaft breite Anerkennung gefunden und wird von einer Vielzahl epidemiologischer Studien gestützt. So konnte in der *Allergy and Endotoxin Population (ALEX)* -Studie belegt werden, dass Kinder, die auf traditionell geführten Bauernhöfen aufgewachsen sind, im späteren Leben weniger unter atopischen Erkrankungen und Asthma leiden als Kinder, die in vergleichbarer Umgebung ohne Stallkontakt gelebt haben¹⁴. Ähnliches konnte in der *Prevention of allergy - Risk factors for sensitization in children related to farming and anthroposophic lifestyle (PARSIFAL)* -Studie¹⁵ und in anderen Untersuchungen nachgewiesen werden¹⁶⁻¹⁸. Dabei wird deutlich, dass vor allem der Kontakt im frühen Lebensalter, einschließlich der pränatalen Entwicklung, für die Allergieprotektion entscheidend ist. Darüber hinaus wird aber auch nach

dem Kindesalter ein anhaltender Kontakt benötigt, um die einmal erlangte Protektion in vollem Umfang beizubehalten^{18–21}.

Die zellulären Mechanismen dieser Allergieprotektion sind bisher wenig verstanden. Als sicher gilt jedoch, dass eine Allergie auf einer $T_{\text{Helfer}2}$ ($T_{\text{H}2}$)-Immunantwort basiert, welche die Pathologie der Erkrankung bestimmt^{22,23}. In der Wissenschaft werden momentan hauptsächlich zwei Modelle diskutiert, wie es zu dieser überschießenden $T_{\text{H}2}$ -Immunantwort kommt. Das erste Modell der sogenannten „fehlenden Immunpolarisierung“ geht von einer zu geringen Aktivierung der $T_{\text{H}1}$ -Zellen und damit einer fehlenden Unterdrückung der Allergie-assoziierten $T_{\text{H}2}$ -Immunantwort aus²⁴. Das Immunsystem eines Neugeborenen basiert auf einer $T_{\text{H}2}$ -gerichteteten Immunantwort^{25,26}, die dann durch Kontakt mit mikrobiellen Substanzen, welche $T_{\text{H}1}$ -Zellen induzieren, ausbalanciert wird. Auf diese Art wird die Persistenz der $T_{\text{H}2}$ -augerichteten Immunität eines Neugeborenen verhindert. Gegen dieses Modell sprechen allerdings mehrere Befunde, z.B. die Tatsache, dass auch die Prävalenz $T_{\text{H}1}$ -vermittelter Autoimmunerkrankungen wie Typ-I-Diabetes und Multiple Sklerose in den letzten Jahren stark zugenommen hat und einige Untersuchungen sogar eine positive Korrelation mit dem Auftreten von Asthma ergeben haben^{27,28}. Ähnlich verhält es sich bei frühkindlicher Infektion mit bestimmten Viren, wie dem respiratorischen Synzytialvirus oder Influenza-Viren, die trotz Induktion einer $T_{\text{H}1}$ -basierten Immunität das Risiko an Asthma zu erkranken erhöhen²⁹. Ein weiteres starkes Argument gegen dieses Modell ist der Befund, dass eine Infektion mit Helminthen im frühen Kindesalter, die zu einer Aktivierung von $T_{\text{H}2}$ -Zellen führt, mit einer erhöhten Allergieprotektion assoziiert ist^{30,31}.

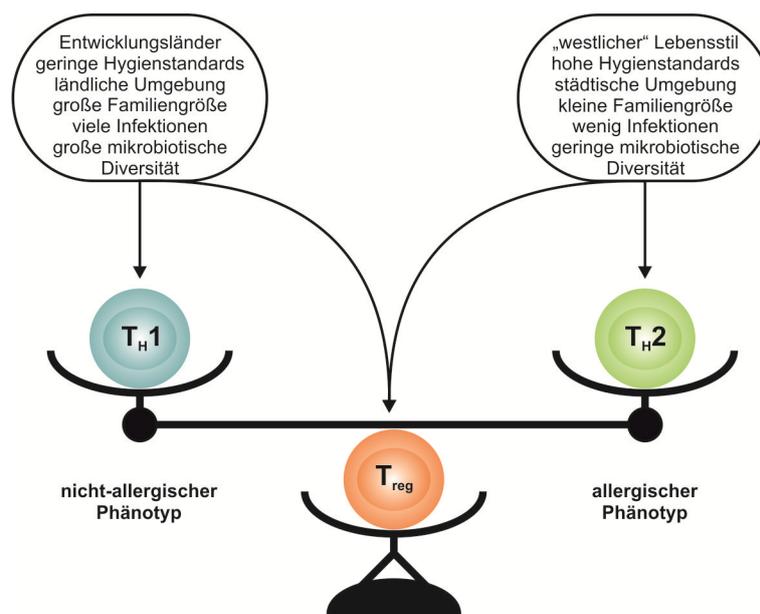


Abb. 1: Einfluss von Umweltfaktoren auf die Balance der T_{Helfer} -Populationen
Erläuterungen siehe Text.

Wegen dieser Kontroversen kann das Modell der unzureichenden T_H1 -Induktion allein die Hygiene-Hypothese nicht hinreichend erklären. Somit gab die Entdeckung der regulatorischen T-Zellen (T_{reg}) den Ausschlag zur Etablierung eines neuen Modells, das der „fehlenden Immunsuppression“ (Abb. 1)²⁴. Da diese Subpopulation der $CD4^+$ T-Zellen in der Lage ist, sowohl T_H1 - als auch T_H2 -Effektorzellen zu supprimieren³² geht man heute eher davon aus, dass die Entstehung von T_{regs} , vor allem in der frühen Kindheit, der entscheidende Faktor bei der mikrobiell-vermittelten Allergieprotektion ist. Versuche an Mäusen haben gezeigt, dass eine Deletion von T_{reg} zu einer Aufhebung des Bakterien-vermittelten Asthmaschutzes führt, während im Gegenzug der adoptive Transfer von T_{reg} diesen wieder herstellt³³. Mittlerweile findet sich eine Vielzahl von weiteren Veröffentlichungen, die sowohl *in vivo* als auch *in vitro* die Wichtigkeit von T_{regs} bei der Pathogenese von Asthma und Allergien bestätigen^{34–37}.

Eine entscheidende Rolle bei der Aktivierung von T-Zellen spielen die antigenpräsentierenden Zellen (APCs) des angeborenen Immunsystems. Diese stellen die Verbindung zwischen der Umwelt und dem adaptiven Immunsystem her, indem sie Substanzen aus der Umgebung aufnehmen, prozessieren und an der Zelloberfläche präsentieren. Zusätzlich entwickeln sie bei Aktivierung ein spezifisches Zytokin- und Rezeptorprofil, das einen entscheidenden Einfluss auf die Polarisation des erworbenen Immunsystems nimmt. Auf diesem Wege werden dem Immunsystem Substanzen zugänglich gemacht, die entweder allergieauslösend oder allergieprotektiv sein können. Unter dem Aspekt der Hygiene-Hypothese wurden Untersuchungen in sogenannten „allergieprotektiven Umgebungen“ durchgeführt, um Umweltsubstanzen zu identifizieren, welche für diesen Effekt verantwortlich sein könnten. In epidemiologischen Studien konnte als erstes das Lipopolysaccharid (LPS), aus der Zellwand Gram⁻ Bakterien als mikrobielle Struktur mit allergieprotektiven Eigenschaften isoliert werden^{38,39}. Dieses wird jedoch auch als Risikofaktor für die Entstehung von Asthma diskutiert⁴⁰. Später konnten auch Muraminsäure und CpG-beinhaltende DNA-Motive, als Komponenten Gram⁻ und Gram⁺ Bakterien, sowie extrazelluläre Polysaccharide und Glukane, als Indikatoren für das Vorhandensein von Pilzspezies, mit Allergieprotektion in Verbindung gebracht werden^{15,41,42}. Alle diese mikrobiellen Bestandteile fallen unter den Sammelbegriff der Pathogen-assoziierten molekularen Strukturen (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) oder auch Mikroorganismen-assoziierte molekularen Strukturen (*microorganism-associated molecular patterns*, MAMPs), welche von den Rezeptoren des angeborenen Immunsystems erkannt werden. Bis heute ist nicht geklärt, ob die Quantität der mikrobiellen Bestandteile, die Frequenz des Kontaktes mit ihnen oder die Qualität der Substanz die entscheidende Rolle bei der Allergieprotektion spielt. Neuere Studien legen die Vermutung nahe, dass nicht eine einzelne Substanz für den allergieprotektiven Effekt verantwortlich ist, sondern vielmehr die

Mischung aus verschiedenen mikrobiellen Bestandteilen^{42,43}. Eine Mixtur verschiedener Moleküle führt zu einer simultanen Aktivierung mehrerer Rezeptoren des angeborenen Immunsystems, wodurch schon die Polarisation der APCs in einen bestimmten Phänotyp beeinflusst wird. Je nach Phänotyp der APCs wird wiederum das adaptive Immunsystem in eine bestimmte Richtung gelenkt. Aus diesem Grund wurden im Zuge dieser Arbeit zwei im Mausmodell als allergieprotektiv beschriebene Bakterienspezies, *Lactococcus lactis* G121 und *Staphylococcus sciuri* W620, auf ihre Unterschiede und Gemeinsamkeiten in Hinblick auf ihre induzierten Aktivierungsmuster in humanen dendritischen Zellen untersucht.

1.2 Dendritische Zellen (DCs)

Die ersten DCs wurden bereits 1868 von Paul Langerhans in der Epidermis entdeckt, der diese allerdings aufgrund ihrer Morphologie als eine Art Neuronen beschrieb⁴⁴. Es hat mehrere Jahre gedauert, bis diese Zellen korrekterweise als weiße Blutzellen identifiziert wurden. DCs konnten mittlerweile auch in diversen anderen Organen nachgewiesen werden, u.a. in den Lymphorganen⁴⁵, im Blut⁴⁶, in der Lunge⁴⁷ und in dem Darmtrakt⁴⁸. Im humanen System konnten bisher zwei Populationen von DCs identifiziert werden, die sich in ihrem Entwicklungsursprung, der Rezeptorausstattung sowie funktionell unterscheiden^{49,50}. Die *cluster of differentiation* (CD) 11c-negativen plasmazytoiden DCs (pDCs) entstehen aus lymphoiden Vorläuferzellen und besitzen im Vergleich zu anderen APCs eine geringe antigenpräsentierende Kapazität⁴⁴. Nach der Aktivierung sekretieren sie große Mengen an Interferon (IFN) - α und IFN- β und spielen vor allem bei der viralen Abwehr eine wichtige Rolle⁴⁴. Myeloide DCs (mDCs) entstehen im Gegensatz zu den pDCs aus myeloiden Vorläuferzellen und zeigen eine starke Expression von CD11c und *major histocompatibility complex* (MHC) II auf ihrer Oberfläche⁴⁴. Nach der Reifung setzen sie unterschiedliche inflammatorische Zytokine frei⁴⁴. Diese DCs können *in vitro* durch Gabe von Interleukin (IL) - 4 und *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) aus Monozyten generiert werden und bilden die Grundlage für die experimentellen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit.

1.2.1 Die Rezeptoren der dendritischen Zellen

DCs patrouillieren konstant durch die peripheren Organsysteme, wo sie sowohl Selbst- als auch Fremdartigene aufnehmen und diese den Zellen des adaptiven Immunsystems präsentieren. Dabei ist es wichtig, dass sie eine Immunreaktion gegenüber pathogenen Keimen starten, aber Toleranz gegenüber Eigenantigenen und harmlosen Substanzen induzieren. Pathogene produzieren sogenannte PAMPs, bzw. apathogene Keime MAMPs,

die bei einer Infektion in hoher Konzentration vorhanden sind. Diese werden von den DCs mittels keimbahnkodierter und evolutionär konservierter Rezeptoren, den sogenannten *pattern recognition receptors* (PRRs) erkannt. Unter ihnen sind die *Toll-like receptors* (TLRs) am besten untersucht, wobei jeder dieser Rezeptoren eine eigene Spezifität gegenüber einer bestimmten mikrobiellen Struktur besitzt (Abb. 2).

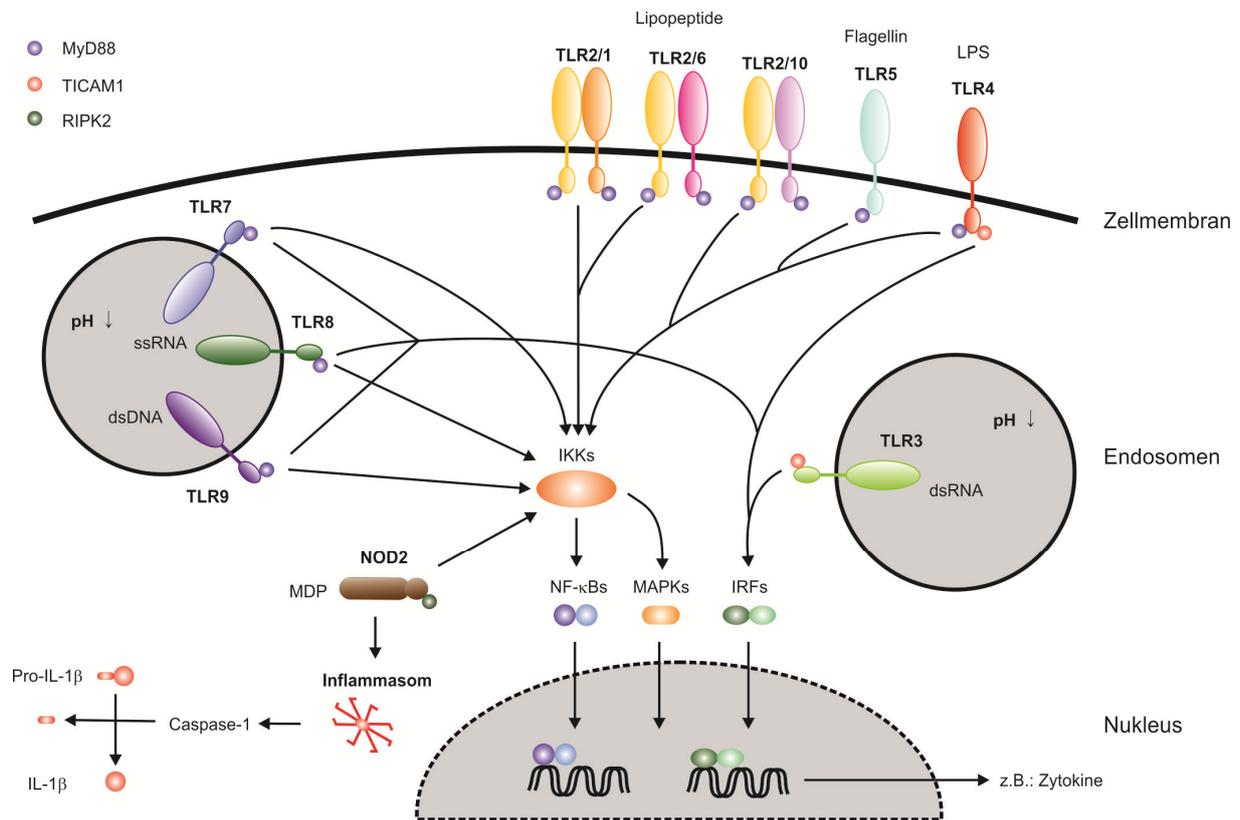


Abb. 2: Rezeptoren von DCs und deren Signalwege

Erläuterungen siehe Text.

TLR, *Toll-like receptor*; MyD88, *myeloid differentiation primary response gene 88*; TICAM1, *Toll-interleukin 1 receptor domain-containing adaptor molecule 1*; RIPK2, *receptor-interacting serine-threonine kinase 2*; LPS, Lipopolysaccharid; ss, *single-stranded*; ds, *double-stranded*; RNA, Ribonukleinsäure; DNA, Desoxyribonukleinsäure; NOD2, *nucleotide-binding oligomerization domain containing 2*; MDP, Muramyldipeptid; NF-κB, *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells*; IKK, *inhibitor of NF-κB kinase*; IL, Interleukin; MAPK, *mitogen-activated protein kinase*; IRF, *interferon regulatory factor*

Im Menschen wurden bis heute 10 verschiedene funktionelle TLRs identifiziert⁵¹. Diese können unterteilt werden in TLRs die extrazelluläre und endosomale Antigene erkennen. Zu den hauptsächlich extrazellulär exprimierten TLRs gehören TLR1, 2 und 6, die an der Erkennung von bakteriellen Lipoproteinstrukturen beteiligt sind sowie TLR4 als LPS-Rezeptor und TLR5, welcher durch Flagellin aktiviert wird. Prinzipiell können jedoch alle diese TLRs aufgrund endozytischer Vorgänge auch intrazellulär nachgewiesen werden^{52,53}. Auch TLR10 findet sich auf der äußeren Zellmembran. Zwar konnte bisher kein spezieller Agonist für diesen Rezeptor gefunden werden, doch wird vermutet, dass er wie TLR1 und TLR6 als Korezeptor für TLR2 dient⁵⁴. Die Aktivierung von extrazellulären TLRs initiiert eine

deutlich verstärkte Phagozytose, wodurch z.B. Bakterien in die Endosomen oder das Zytoplasma gelangen und dort intrazelluläre Rezeptoren aktivieren können⁵⁵. Die intrazellulären TLRs sind in der endosomalen Membran verankert und erkennen Strukturen, die auf Nukleinsäuren basieren, wie doppelsträngige Ribonukleinsäure (RNA, TLR3), einzelsträngige RNA (TLR7 und TLR8), sowie unmethylierte, doppelsträngige Desoxyribonukleinsäure (DNA) mit hoher Dichte an CpG-Motiven, wie sie in Bakterien und Viren zu finden ist (TLR9)⁵⁶. Die Aktivierung dieser intrazellulären TLRs ist, im Gegensatz zu den extrazellulären TLRs, in starkem Maße von der endosomalen Ansäuerung abhängig und es wird vermutet, dass sie bei Aktivierung der Zellen schnell mobilisiert und vom endoplasmatischen Retikulum in die Endosomen transportiert werden⁵⁶. Das Repertoire an TLRs kann jedoch je nach Zelltyp variieren. So konnte für die endosomalen pDCs gezeigt werden, dass sie viel TLR7 und 9 besitzen, im Gegensatz zu den mDCs, die dafür TLR3 und TLR8 exprimieren⁵⁷⁻⁵⁹. Neben den endosomalen TLRs besitzen DCs weitere intrazelluläre Rezeptoren, die im Zytosol lokalisiert sind. Zu ihnen gehört die Familie der *nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors* (NLRs) mit bisher 22 beschriebenen Mitgliedern im humanen System⁶⁰. Einige Vertreter der NLR-Familie sind Bestandteile der sogenannten Inflammasomen. Kommt es durch eine Stimulation zur Ausbildung dieser komplexen intrazellulären Strukturen, so führt dies zur Aktivierung des Enzyms Caspase-1. Dieses wiederum resultiert in einer Spaltung der Proform der proinflammatorischen Zytokine IL-1 β und IL-18, was zur Freisetzung dieser Mediatoren führt^{61,62}. Dieser Vorgang kann durch eine auto- bzw. parakrine Aktivierung des IL-1-Rezeptors noch verstärkt werden und sogar zur Apoptose der Zelle führen^{61,63}. Der exakte Mechanismus, wie es zu einer Aktivierung dieser Inflammasomen kommt, ist noch nicht vollständig verstanden, jedoch können vielfältig Stimuli diesen Vorgang auslösen. Hierzu zählen Liganden aus Bakterien (z.B. Toxine, RNA, DNA), Viren (z.B. RNA) und Pilzen (z.B. β -Glucan, Mannan) aber auch nicht-mikrobielle Stimuli wie Siliziumkristalle oder UV-Strahlung⁶². Unter den NLRs wurden NOD1 und NOD2 zuerst als intrazelluläre Rezeptoren für mikrobielle Bestandteile beschrieben, die verschiedene Peptidoglykanstrukturen Gram⁺ und Gram⁻ Bakterien erkennen. Als minimale agonistische Struktur für NOD1 konnte die *meso*-Diaminopimelinsäure (*meso*-DAP) identifiziert werden, während für NOD2 das Muramyldipeptid (MDP) als minimaler Ligand dient^{64,65}.

Obwohl die NLRs und TLRs sich unterschiedlicher Adaptormoleküle bedienen^{51,66}, resultiert eine Aktivierung dieser Rezeptoren in ähnlichen Signalkaskaden. Die zentralen Schnittstellen bilden dabei die Aktivierung der *mitogen-activated protein kinasen* (MAPKs) und die Aktivierung des I κ B-Kinase (IKK) -Komplexes, was zu einem proteosomalen Abbau der Inhibitoren von NF- κ B (I κ Bs) führt^{67,68}. Durch letzteren Vorgang kommt es zur Freisetzung von verschiedenen *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells* (NF- κ B) -

Untereinheiten, die wie die MAPK in den Zellkern translozieren. Im humanen System sind fünf NF κ B-Untereinheiten bekannt, die als Homo- oder Heterodimere die Transkription einer Vielzahl von Genen, wie denen von Zytokinen und Oberflächenmolekülen, initiieren. Diese sind: NF- κ B1 (bzw. p50), NF- κ B2 (p52), RelA (p65), RelB und c-Rel⁶⁷. Eine Aktivierung von TLRs kann des Weiteren zu einer Translokation von Transkriptionsfaktoren der Familie der *interferon-regulatory factors* (IRFs) führen. Auch diese können als Homo- oder Heterodimere auftreten und wurden ursprünglich im Typ-I-Interferon-vermitteltem Signalweg identifiziert⁶⁹. Die Verknüpfung der Signalwege, die durch NLRs und TLRs ausgelöst werden, sind vielfältig und eng miteinander verbunden. So konnte in einer Vielzahl von Untersuchungen dargelegt werden, dass vor allem bei einer Zellstimulation mit TLR- und NOD2-Liganden, diese sich gegenseitig beeinflussen und einen synergistischen oder reprimierenden Effekt auf die Aktivierung von Zellen haben können⁷⁰⁻⁷⁴.

1.3 Dendritische Zellen und das adaptive Immunsystem bei Asthma

Die Zellen des adaptiven Immunsystems werden in zwei große Gruppen unterteilt: (I) die B-Lymphozyten und (II) die T-Lymphozyten. Erstere gehören ebenfalls zu den APCs und differenzieren bei Aktivierung zu Plasmazellen, die daraufhin große Mengen an Immunglobulinen synthetisieren und sezernieren⁷⁵. Die T-Zellen werden anhand von Oberflächenmarkern in zwei weitere große Hauptpopulationen unterteilt, die CD4⁺ und die CD8⁺ T-Zellen. Bei den CD8⁺ T-Zellen handelt es sich größtenteils um zytotoxische T-Zellen, die u.a. über den MHC-I-präsentierte Virusantigene erkennen und infizierte Zellen abtöten⁷⁶. Die CD4⁺ T-Zellen differenzieren nach Aktivierung u.a. in die T_H1 und T_H2-Zellen und werden in Abschnitt 1.3.1 gesondert beschrieben. Alle diese Zellpopulationen sind in der Lage, über verschiedene Rezeptoren mit DCs zu interagieren, wodurch deren Funktion stark beeinflusst wird⁴⁹. Der entscheidende Schritt von der Atopie zum persistierenden allergischen Asthma, ist jedoch die Initiierung einer T_H2-basierten Immunantwort gegenüber Aeroallergenen. Aktivierte T_H2-Zellen produzieren die Zytokine IL-4, IL-5 und IL-13. Diese sind für die IgE-Antikörperproduktion aus B-Zellen, die Aktivierung und Rekrutierung von Eosinophilen, sowie die Erhöhung der Mukussekretion verantwortlich und bestimmen somit die Pathologie dieser Erkrankung⁷⁷. Die Zahl der T_H2-Zellen in Asthmatikern korreliert dabei mit dem Schweregrad der Erkrankung²³. Will man unter dem Aspekt der Asthmaprävention und -behandlung in diesen Vorgang eingreifen ist es wichtig, den Prozess der zellulären Regulation des Immunsystems bei Kontakt mit potentiellen Allergenen und den Einfluss von Umweltfaktoren darauf zu verstehen.

Bei allergischem Asthma konnte für DCs eine zentrale Rolle bei der Entstehung und Pathogenese der Erkrankung nachgewiesen werden, während die Rolle von Makrophagen

noch ungeklärt ist⁷⁸. Die Annahme eines entscheidenden Einflusses von DCs auf die Asthmaentstehung und -pathologie stützt sich auf mehrere Befunde: (I) Ein Netzwerk von DCs befindet sich sowohl ober- als auch unterhalb der Basallamina von Atemwegsepithelzellen und nimmt dort direkten Kontakt zu Antigenen auf^{79,80}. (II) DCs sind spezialisiert auf die Prozessierung und Präsentation von Antigenen, sowie die Aktivierung von adaptiven Immunzellen⁸¹. (III) In Asthmatikern findet sich im Gegensatz zu gesunden Probanden eine vielfach höhere Zahl an DCs in der Lunge⁸². (IV) Allein der adoptive Transfer von Allergen-behandelten DCs reicht aus, um im Mausmodell einen asthmatischen Phänotyp zu induzieren⁸³ und (V) die *in vivo* Deletion von DCs während der Provokationsphase verhindert die Entstehung eines asthmatischen Phänotyps^{84,85}. Ebenfalls in einem *in vivo* Mausmodell konnte gezeigt werden, dass DCs nicht nur entscheidend an der Vermittlung der allergischen Immunantwort beteiligt sind, sondern (VI) auch eine Toleranz gegenüber Allergenen in peripheren Organsystemen vermitteln können^{86,87}. Toleranz-induzierende DCs entstehen dabei als Folge einer unzureichenden Aktivierung dieser Zellen über PRRs, woraus sich ein intermediäres (semi-reifes) Reifungsstadium der Zellen entwickelt⁸⁸. Semi-reife DCs sind gekennzeichnet durch Hochregulation der Expression von kostimulatorischen Molekülen aber fehlender oder geringerer Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen. Das volle Reifungsstadium kann jedoch durch erneute Stimulation erreicht werden⁸⁹.

Da naive T-Zellen nicht dazu in der Lage sind, auf Antigene in ihrer nativen Form zu reagieren, ist deren Präsentation über den MHCII auf der Oberfläche von APCs ein maßgeblicher Vorgang, um das adaptive Immunsystem zu aktivieren. Unreife und ausdifferenzierte DCs patrouillieren als phagozytierende Zellen in der Peripherie⁸¹. Bei Kontakt mit Eigen- oder Fremdanigen wird dieses über endozytotische Vorgänge aufgenommen, prozessiert und entsprechend über MHCI oder MHCII präsentiert⁹⁰. Nur die Präsentation über den MHCII führt jedoch zur Aktivierung von CD4⁺ T-Zellen über den T-Zell Rezeptor (TCR) und initiieren deren Zellproliferation sowie die Differenzierung zu Effektor-T-Zellen⁸¹. Um dieses zu ermöglichen, müssen die PAMPs oder MAMPs in MHCII-reiche Kompartimente gelangen. Dieses wird durch PRR-vermittelte Phagozytose gewährleistet, wodurch z.B. Bakterien in Endosomen gelangen⁹¹. Es erfolgt die endosomale Reifung und Verschmelzung mit Lysosomen, was in einer pH-Absenkung resultiert⁹². Dieser Vorgang ermöglicht den enzymatischen Abbau zu Antigenen und der Bindung dieser an endosomal vorliegende MHCII, die dann wiederum zur äußeren Zellmembran transportiert werden⁹¹. Die Aktivierung von DCs wird begleitet von einer Reifung der Zellen, die maßgeblich durch eine Translokation verschiedener NFκB-Untereinheiten in den Zellkern vermittelt wird. Dadurch kommt es neben der Präsentation von Antigen-gekoppeltem MHCII zu einer Expression von T-Zell-kostimulatorischen Molekülen wie CD40, CD80 und CD86 auf der Oberfläche, sowie der Freisetzung verschiedener Mediatoren^{90,93,94}. Anhand eines Chemokin-Gradienten

wandern ausgereifte DCs in die afferenten Lymphknoten, um die prozessierten Antigene dort T- und B-Lymphozyten zu präsentieren⁴⁹. Doch nur wenn DCs ausreichend aktivierende Signale über ihre Rezeptoren erhalten, findet eine vollständige Reifung statt, die dementsprechend in einer effektiven Aktivierung des adaptiven Immunsystems resultiert.

1.3.1 Die Rolle von dendritischen Zellen bei der T_{Helfer}-Zellpolarisierung

Durch Präsentation von Antigenen über MHCII, die Expression unterschiedlicher kostimulatorischer Moleküle an der Oberfläche, sowie Sekretion polarisierender Zytokine nehmen DCs einen entscheidenden Einfluss auf die Aktivierung der CD4⁺ T-Zellen und Differenzierung in unterschiedliche Subpopulationen. Welche kostimulatorischen Moleküle exprimiert und welche Zytokine freigesetzt werden, hängt maßgeblich davon ab, welche PRRs in den DCs durch entsprechende Antigene aktiviert werden. Die differentielle Aktivierung von CD4⁺ T-Zellen durch DCs kann zu sehr heterogenen Populationen führen (Abb. 3). Zu ihnen gehören die T_{Helfer}-Zellen, die nach heutigem Kenntnisstand aufgrund ihres Zytokinprofils, ihrer Oberflächenmarker und bestimmter Transkriptionsfaktoren in sechs definierte Subpopulationen klassifiziert werden können, die T_{H1}-, T_{H2}-, T_{H9}-, T_{H17}-, T_{H22} und T_{reg}-Zellen⁹⁵. T_{H1}-Zellen sekretieren u.a. große Mengen IFN- γ und IL-2 und lassen sich durch Expression des Transkriptionsfaktors T-bet identifizieren⁹⁶. Sie spielen bei der zellulären Immunantwort eine Rolle, indem sie z.B. die Phagozytoseaktivität von Makrophagen erhöhen und zytotoxische T-Zellen aktivieren⁹⁷. Das von den T_{H1}-Zellen freigesetzte IFN- γ ist regulatorischer Gegenspieler zum IL-4, einem Zytokin, das zusammen mit IL-5 und IL-13 von den Allergie-assoziierten T_{H2}-Zellen sezerniert wird⁹⁶. Auf diese Weise findet eine gegenseitige Hemmung der beiden T_H-Subpopulationen statt. Die T_{H2}-Zellen sind durch den Transkriptionsfaktor *GATA-binding protein 3* (GATA3) charakterisiert und werden mit der humoralen Immunabwehr assoziiert, da sie potente B-Zell-Aktivatoren sind⁹⁸. Neben diesen beiden schon länger bekannten T-Zellpopulationen, sind in den letzten Jahren noch weitere CD4⁺ T-Zellen klassifiziert worden, die einen starken Einfluss auf die Immunantwort besitzen. Zu diesen gehören die T_{H17}-Zellen, die u.a. die Zytokine IL-17A und IL-22 sezernieren, sowie nach neuestem Kenntnisstand auch IL-9⁹⁹⁻¹⁰¹. Diese T-Zellpopulation zeichnet sich durch Expression des Transkriptionsfaktors *retinoid-acid receptor-related orphan receptor gamma t* (ROR γ t) aus¹⁰¹. Die Rolle dieser Zellen im Immunsystem ist noch nicht bis ins Detail geklärt, doch konnte gezeigt werden, dass sie maßgeblich an der Ausprägung von zellzerstörenden Entzündungsprozessen beteiligt sind, die ursprünglich T_{H1}-Zellen zugesprochen wurden¹⁰². Über die Plastizität von T_{H17}-Zellen wird in der Literatur diskutiert. Fest steht, dass es sowohl in der Maus als auch im humanen System zur Entstehung von Zellen kommen kann, die gleichzeitig IL-17 und IFN- γ produzierenden¹⁰¹.

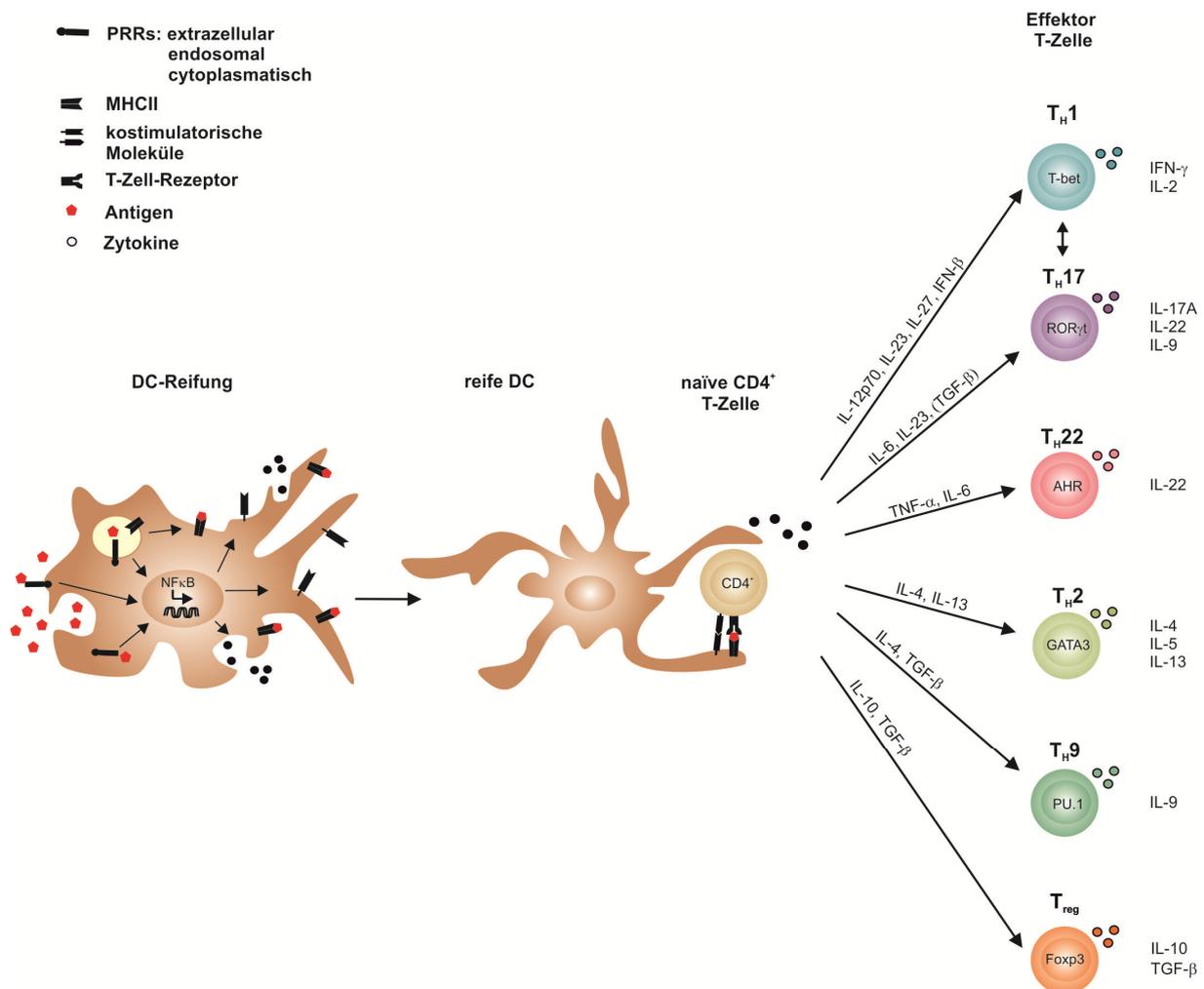


Abb. 3: Aktivierung und Polarisation der T_HHelper-Zellen durch DCs

Erläuterungen siehe Text.

PRR, *pattern recognition receptors*; MHCII, *major histocompatibility complex II*; NF κ B, *nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells*; CD, *cluster of differentiation*; IL, Interleukin; IFN, Interferon; TGF, *transforming growth factor*; T_H, T_HHelper; T-bet, *T-box expressed in T cells*; TNF, *tumor necrosis factor*; ROR γ t, *retinoid-acid receptor-related orphan receptor gamma t*; AHR, *aryl hydrocarbon receptor*; GATA3, *GATA-binding protein 3*; Foxp3, *forkhead box P3*;

Aus diesem Grund wird vermutet, dass T-Zellen zwischen dem T_H1- und T_H17-Phänotyp wechseln können. Große Mengen des Zytokins IL-9 werden jedoch auch von sogenannten T_H9-Zellen freigesetzt. Diese als proinflammatorisch geltenden T-Zellen exprimieren den Transkriptionsfaktor PU.1, und werden durch ähnliche Differenzierungssignale induziert wie T_H2-Zellen^{103,104}. T_H9-Zellen setzen jedoch weder T_H2-assoziierte (IL-4, IL-5 oder IL-13) noch T_H1- oder T_H17-spezifische (IFN- γ , IL-17) Zytokine frei¹⁰⁵. Eine weitere Supopulation der CD⁺ T-Zellen sekretieren große Mengen IL-22 und, im Gegensatz zu den T_H17-Zellen, kein IL-17 oder IFN- γ . Aus diesem Grund wurden sie eigenständig klassifiziert und als T_H22-Zellen bezeichnet¹⁰⁶. IL-22 wird mittels des Transkriptionsfaktors *aryl hydrocarbon receptor* (AHR) induziert¹⁰⁷ und übernimmt eine wichtige Funktion beim Schutz vor dem Eindringen opportunistischer Keime. Das Zytokin regt das Epithel zur Freisetzung antimikrobieller

Peptide an und spielt eine wichtige Rolle bei dessen Regenerierung nach einer Verletzung¹⁰⁸. Ebenfalls zu den erst in neuerer Zeit klassifizierten CD4⁺ T-Zellsubpopulation gehören die T_{reg}, die durch Ausschüttung der Zytokine IL-10 und *transforming growth factor beta* (TGF-β) immunregulatorisch wirken und T_H1, T_H2 sowie T_H17-basierte Immunantworten unterdrücken können^{34,109}. Diese Zellen exprimieren den Transkriptionsfaktor *forkhead box P3* (Foxp3) und werden nochmals in natürlich vorkommende und induzierbare T_{reg} unterschieden. Erstere entwickeln sich bereits im Thymus, während Letztere in der Peripherie induziert werden¹¹⁰. In welche Richtung sich eine naive CD4⁺ T-Zelle polarisiert, wird entscheidend von DCs beeinflusst. Zusätzlich zum MHCII besitzen DCs ein variables Repertoire an kostimulatorischen Molekülen, die für die Aktivierung von T-Zellen über den TCR essentiell sind und die Ausdifferenzierung der Zellen in die eine oder andere Richtung steuern. So führt eine Bindung des T-Zell-Oberflächenmoleküls Notch an das auf DCs exprimierte Jagged-1 zu einer T_H2-Polarisation, während eine Bindung an *delta-like ligand 4* (DLL4) eine T_H1-Ausrichtung induziert^{111,112}. Ähnliches konnte für die Entstehung von T_{reg} gezeigt werden, bei der das kostimulatorische Molekül *inducible T-cell co-stimulator ligand* (ICOSLG) auf der Oberfläche von DCs eine wichtige Rolle spielt¹¹³. Ausgereifte DCs exprimieren eine Vielzahl an Adhäsionsmolekülen, wie *intercellular adhesion molecule 1* (ICAM-1), die auch als Kostimulatoren für T-Zellen dienen können. Eine Bindung von CD4⁺ T-Zellen an dieses Integrin wird ebenfalls mit einer T_H1-Differenzierung in Verbindung gebracht¹¹⁴. Doch nicht nur die Korezeptoren beeinflussen die T-Zell-Differenzierung, sondern auch das spezifische Zytokinprofil der DCs. Die am stärksten von DCs freigesetzten T_H1-polarisierenden Zytokine finden sich in der IL-12-Familie. Dazu gehört IL-12p70, welches aus den Untereinheiten p35 und p40 zusammengesetzt ist sowie IL-23, bestehend aus der IL-12p70-Untereinheit p40 und der Untereinheit p19^{115,116}. IL-23 wird jedoch in Verbindung mit IL-6 auch mit der Stabilisierung einer T_H17-Immunantwort in Zusammenhang gebracht^{117,118}. Inwiefern das regulativ wirkende TGF-β bei der Polarisation von T_H17-Zellen benötigt wird, ist vor allem im humanen System sehr umstritten¹¹⁹. Ein weiteres Mitglied der IL-12-Familie ist IL-27, welches aus den Untereinheiten p28 und *Epstein-Barr virus-induced gene 3* (EBI3) zusammengesetzt ist. Im frühen Stadium der T-Zell-Polarisation favorisiert dieses Zytokin eine T_H1-Differenzierung, kann sich jedoch supprimierend auf Effektor-T_H1-Zellen und T_H17-Zellen auswirken¹²⁰. Weitere im humanen System T_H1-polarisierende Zytokine sind die antiviralen Typ-I-Interferone, zu denen IFN-β gehört und welches von DCs freigesetzt wird¹²¹. Ebenfalls polarisierend auf T-Zellen wirken die beiden immunregulatorischen Zytokine IL-10 und TGF-β, die unter bestimmten Bedingungen von DCs sezerniert werden. Zusammen spielen diese beiden Zytokine bei der Entwicklung von T_{reg} eine große Rolle¹²², hingegen kann TGF-β unter zusätzlichen Einfluss von IL-4 auch eine Differenzierung von T_H9-Zellen initiieren. Eine ähnlich differentielle Funktion in Bezug auf die

T-Zell-Polarisation wie TGF- β hat das Zytokin IL-6. Dieses spielt nicht nur, wie bereits erwähnt, bei der Entwicklung von T_H17-Zellen eine Rolle, sondern kann in Kombination mit *tumor necrosis factor* (TNF) - α zu einer Polarisation von T_H22-Zellen führen.

Somit wird deutlich, dass sowohl der Aktivierungszustand als auch das entsprechende Zytokinprofil von DCs nicht nur Einfluss auf die Entscheidung nehmen ob das adaptive Immunsystem aktiviert wird, sondern auch in welche Richtung die Immunantwort polarisiert wird. Dabei ist besonders die Relation der verschiedenen Zytokine und kostimulatorischen Moleküle zueinander von entscheidender Bedeutung.

2 ZIELSETZUNG

Im Hintergrund der vorliegenden Arbeit steht der im Abschnitt 1.1.1 (Seite 7) bereits beschriebene Effekt der Allergieprotektion durch eine bäuerliche Umgebung. Eine Vielzahl an verschiedenen epidemiologischen Studien legen die Vermutung nahe, dass dabei die Mikroorganismen in diesem Umfeld einen wesentlichen Faktor darstellen. So konnte in neueren Studien eine positive Korrelation zwischen einer hohen Diversität von Mikroorganismen oder ihren Bestandteilen und dem allergieprotektiven Effekt gezeigt werden^{42,43}. Daher weitet sich die Forschung auf dem Hintergrund der Hygiene-Hypothese in der Form aus, möglichst unterschiedliche Mikroorganismen zu untersuchen, die aus einem allergieprotektiven Umfeld stammen. Im Zuge der ALEX-Studie¹⁴ und der Veröffentlichung von Ege *et al.*⁴³ wurden zwei Gram⁺ Bakterienspezies aus Kuhställen isoliert. *Lactococcus lactis* G121 (*L. lactis* G121) zeigt eine hohe Abundanz in den untersuchten Kuhställen der ALEX-Studie und hat den Status GRAS (*generally regarded as safe*) erhalten. *Staphylococcus sciuri* W620 (*S. sciuri* W620) wurde ausgewählt aufgrund seiner hohen Signifikanz bei der von Ege *et al.* durchgeführten Berechnung der inversen Korrelation von Asthma und dem Leben auf traditionell geführten Farmen⁴³. Beide erwiesen sich in einem *in vivo* Mausmodell akuter, allergischer Entzündung als allergieprotektiv und induzierten durch alleinige Applikation keine Entzündungsreaktion (Hagner *et al.*, in Revision)^{123,124}. Die Art der induzierten Immunantwort unterschied sich allerdings deutlich voneinander. Welche Mechanismen diese Unterschiede verursachen und trotz dessen in einem gemeinsamen allergieprotektiven Effekt resultieren, sind bisher nicht geklärt. In dieser Arbeit sollte vergleichend das in Immunzellen induzierte Aktivierungsprofil durch beide Bakterien untersucht werden, vor allem in Hinblick auf ihre allergieprotektiven Eigenschaften. Dabei dienen dendritische Zellen, als Vermittler zwischen dem angeborenen und dem adaptiven Immunsystem, als Modellsystem. Im Fokus lag dabei, die Polarisationsrichtung des adaptiven Immunsystems zu charakterisieren, die durch *S. sciuri* W620-Behandlung im Vergleich zu *L. lactis* G121 hervorgerufen wird. Des Weiteren stand die Identifikation der beteiligten Rezeptoren und zellulären Mechanismen im Vordergrund, die zu der *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620-spezifischen Aktivierung der Zellen führt.

Die Suche von gemeinsamen Mechanismen bei Mikroorganismen, die ein unterschiedliches Profil in der Immunantwort hervorrufen aber dennoch die allergieprotektive Wirkung gemeinsamen haben, kann dabei helfen zu verstehen, was der zelluläre Mechanismus hinter der Allergieprotektion durch eine bäuerlichen Umgebung ist.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Geräte

AutoMACS	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland
Binocular und Durchlichtmikroskop	Zeiss, Jena, Deutschland
Brutschrank	Heraeus Instruments, Hanau, Deutschland
Eppendorf BioPhotometer	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Eppendorf Centrifuge 5415C	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Eppendorf Thermomixer	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
FACS LSR II	BD, Heidelberg, Deutschland
JE-B6-Elutriator	Beckmann, München, Deutschland
Konfokales Laserscanmikroskop SP5	Leica, Solms, Deutschland
LightCycler 480 SW 1.5	Roche GmbH, Mannheim, Deutschland
Rotanta 46RC	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland
Rotixa 50 RS	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland
Tecan Sunrise Reader	Tecan, Männedorf, Schweiz
Ultrawash Plus	Dynex Technologies, Berlin, Deutschland

3.2 Chemikalien und Zusätze

Accutase	PAA Laboratories, Pasching, Österreich
Ammoniumchlorid (NH ₄ Cl)	Sigma-Aldrich, München, Deutschland
<i>Aqua ad injectabilia</i>	Braun, Melsungen, Deutschland
<i>Bovine serum albumin</i> (BSA)	Sigma-Aldrich, München, Deutschland
Ethanol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	Serva GmbH, Heidelberg, Deutschland
<i>Fetal calf serum</i> (FCS)	Biochrom AG, Berlin, Deutschland
Gentamycin	Invitrogen, Carlsbad, USA
GM-CSF	rekombinant, murin: Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch-Gladbach, Deutschland rekombinant, human: Immunotools, Friesoythe, Deutschland
HBSS	PanBiotec, Aidenbach, Deutschland
Hefeextrakt	Merck, Darmstadt, Deutschland

IL-4	rekombinant, human, Immunotools, Friesoythe; Deutschland
Kaliumchlorid (KCl)	Roth, Karlsruhe Deutschland
Kaliumhydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄)	Roth, Karlsruhe Deutschland
L-Glutamin	Invitrogen, Carlsbad, USA
Lysozym	Sigma-Aldrich, München, Deutschland
Mercaptoethanol	Quiagen, Hilden, Deutschland
Natriumazid (NaN ₃)	Sigma-Aldrich, München, Deutschland
Natriumcarbonat (Na ₂ CO ₃)	Honeywell Riedel-de Haën, Seelze, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl)	Roth, Karlsruhe Deutschland
Natriumcitrat (C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇)	Sigma-Aldrich, München, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃)	Roth, Karlsruhe Deutschland
di-Natriumhydrogenphosphat (Na ₂ HPO ₄)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Paraformaldehyd	Sigma-Aldrich, München, Deutschland
Penicillin	PAA Laboratories, Pasching, Österreich
Streptomycin	PAA Laboratories, Pasching, Österreich
Tris	Serva GmbH, Heidelberg, Deutschland
Triton X-100	Serva GmbH, Heidelberg, Deutschland
Trypanblau	Invitrogen, Carlsbad, USA
Trypticase Soy Broth	Difco, Lawrence, USA

3.3 Stimulantien und Inhibitoren

Bafilomycin A1	Merck, Darmstadt, Deutschland
Brefeldin A	BD, Heidelberg, Deutschland
Cytochalasin D	Sigma-Aldrich, München, Deutschland
CL097	Invivogen, Toulouse, Frankreich
ieDAP	synthetische Peptidoglykanstruktur, zur Verfügung gestellt von Prof. K. Fukase, Graduate School of Science, Osaka Universität, Osaka, Japan
IRS957	synthetisches Oligonukleotid, Sequenz: 5'-TGCTTGACATCCTGGAGGGGTTGT-3', Eurofins MWG Operon, Ebersberg, Deutschland
Ionomycin	Invitrogen, Carlsbad, USA
<i>Lactococcus lactis</i> G12	zur Verfügung gestellt von Otto Holst, Forschungszentrum Borstel, Borstel, Deutschland

LPS	von <i>Salmonella enterica</i> sv. Friedenau, zur Verfügung gestellt von Prof. Dr. Helmut Brade, Forschungszentrum Borstel, Borstel, Deutschland
MDP	zur Verfügung gestellt von Prof. Shoichi Kusomoto, Osaka, Japan
ODN1826	Invivogen, Toulouse, Frankreich
P ₃ CSK ₄	EMC microcollections GmbH, Tübingen, Deutschland
PMA	CalBiochem, Darmstadt, Deutschland
R848	Invivogen, Toulouse, Frankreich
<i>Staphylococcus sciuri</i> W620	zur Verfügung gestellt von Otto Holst, Forschungszentrum Borstel, Borstel, Deutschland

3.4 Allgemeine Puffer und Medien

Biocoll	Biocoll <i>Separating Solution</i> , Biochrom AG, Berlin, Deutschland
DMEM	DMEM, <i>high Glucose, with L-Glutamin</i> (Invitrogen, Carlsbad, USA), 100 U/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin, 10 % FCS
PBS	140 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 7,4 mM Na ₂ HPO ₄ , 1,5 mM KH ₂ PO ₄ , pH 7,4
RPMI	RPMI 1640 <i>with L-Glutamin</i> (PAA Laboratories, Pasching, Österreich), 100 U/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin, 10 % FCS
RPMI _{plus}	RPMI, <i>high Glucose, with L-Glutamin</i> (Invitrogen, Carlsbad, USA), 100 U/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin, 10 % FCS, 2 mM L-Glutamin, 50 µM β-Mercaptoethanol

3.5 Kultivierung und Aufbereitung der Bakterien

- TSB⁺-Medium: *Trypticase Soy Broth* Medium + 0,3 % Hefeextrakt
- Pen/Strep-Lösung: 1000 U/ml Penicillin, 1000 µg/ml Streptomycin in PBS

Die Bakterien *Lactococcus lactis* G121 und *Staphylococcus sciuri* W620 wurden uns zur Verfügung gestellt von Otto Holst (Forschungszentrum Borstel). Die Vorkultur beider Bakterien erfolgte über Nacht in TSB⁺-Medium bei 37 °C für *L. lactis* G121 und 30°C für *S. sciuri* W620. Für die Hauptkultur wurde die Vorkultur 1:5 in TSB⁺-Medium verdünnt und die Bakterien ca. 5 h bei 37 °C für *L. lactis* G121 und 30 °C für *S. sciuri* W620 wachsen gelassen. Anschließend wurden die Kulturen bei 4400 g für 10 min abzentrifugiert. Für die Abtötung der Bakterien wurde die *L. lactis* G121-Kultur in Pen/Strep-Lösung aufgenommen und bei 37 °C für 30 min inkubiert. Die *S. sciuri* W620-Kultur wurde in PBS + 1 mg/ml

Gentamycin aufgenommen und 1 h bei RT abgetötet. Beide Bakterienkulturen wurden anschließend erneut abzentrifugiert und in PBS bei 4 °C gelagert. Die Bestimmung der Konzentration in cfu/ml erfolgte durch Berechnung aus der optischen Dichte der Kulturen mittels Wachstumskurven, die durch Auszählung von Ausstrichen auf TSB⁺-Agar-Platten erstellt wurden. Für bestimmte Experimente wurden die in RPMI verdünnten Bakterien mit 1 mg/ml Lysozym für 10, 30, 60 und 120 min bei RT verdaut, gewaschen durch Zentrifugation bei 4400 g für 10 min und erneut in RPMI aufgenommen.

3.6 Isolierung humaner mononukleärer Zellen

- HBSS: 1 x *Hanks buffered salt solution* ohne NaHCO₃, 5 mM NaHCO₃ pH 7,2

Für die Isolierung humaner mononukleärer Zellen (MNCs) wurde Vollblut mit 3,8 % Natriumcitrat versetzt, zu gleichen Teilen mit PBS gemischt und in 50 ml Falcons über 10 ml Biocoll geschichtet. In der anschließenden Dichtegradientenzentrifugation bei Raumtemperatur wurden die Zellen für 40 min bei 400 g (Abstoppen ohne Bremse) aufgetrennt, was zu einer Ansammlung der MNCs in der Interphase führte. Nach Absaugen des Plasmaüberstandes wurde diese Interphase in ein neues Röhrchen transferiert und zweimal mit HBSS gewaschen (10 min, 400 g, 4 °C)

3.7 Isolierung humaner Monozyten und Lymphozyten

- HBSS⁺: 1 x *Hanks buffered salt solution* ohne NaHCO₃, 5 mM NaHCO₃, 0,1 % BSA, pH 7,2

Die aus der Dichtegradientenzentrifugation gewonnenen MNCs wurden in HBSS⁺ auf eine Konzentration von etwa 5×10^6 Zellen/ml eingestellt und in den Elutriator eingeladen. Durch kontinuierliche Erhöhung der Durchflussgeschwindigkeit kommt es zunächst zur Ausspülung der kleineren Lymphozyten und später der größeren Monozyten. Die Reinheit der isolierten Monozyten wurde mit Hilfe der Oberflächenmarker CD14, CD1a und CD209 im FACS bestimmt (Abb. 4). Dabei stellen sich Monozyten als CD14-positiv und CD1a- bzw. CD209-negativ dar. Die Reinheit lag in der Regel zwischen 90-98 %. Die Lymphozyten wurden bis zur Ausdifferenzierung der dendritischen Zellen im Brutschrank bei 37°C und 5 % CO₂ gehalten.

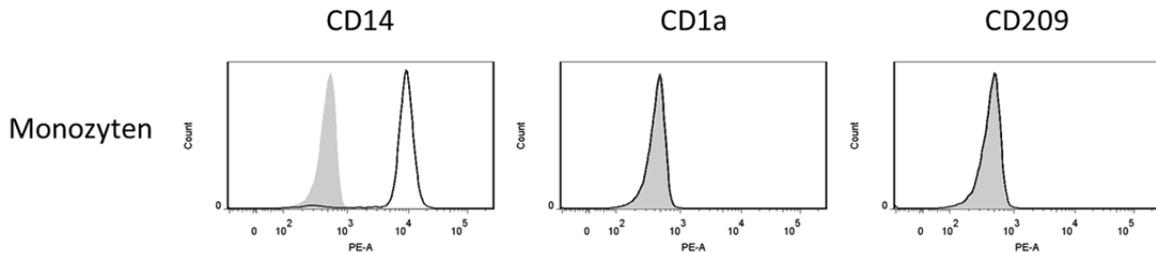


Abb. 4: Expression spezifischer Oberflächenmarker von Monozyten zur Bestimmung der Reinheit

Die Expression von CD14, CD1a und CD209 auf humanen Monozyten nach der Elutriation wurde mittels FACS bestimmt. Die grau hinterlegten Diagramme zeigen die Bindung des Isotyps, die offenen Diagramme die Expression der jeweiligen Oberflächenmarker. Dargestellt ist das repräsentative Ergebnis eines Spenders.

3.8 Generierung humaner DCs aus Monozyten

Die durch die Elutriation gewonnenen Monozyten wurden nach der von Sallusto und Lanzavecchia beschriebenen Methode differenziert¹²⁵. Dazu wurden die Monozyten in RPMI + 500 U/ml IL-4 und 500 U/ml GM-CSF auf 10⁶ Zellen/ml eingestellt, in 6-well Platten (5 ml/well) ausgesät und im Brutschrank bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Alle 2-3 Tage wurde ein halber Mediumswechsel mit neuen Zytokinen durchgeführt. Nach 7 Tagen wurden die DCs geerntet und für die Stimulation ausgesät. Die erfolgreiche Differenzierung wurde mittels Oberflächenmarker im FACS überprüft. Im Gegensatz zu Monozyten exprimieren Dendritische Zellen kein CD14, dafür lassen sich CD1a und CD209 nachweisen (Abb. 5).

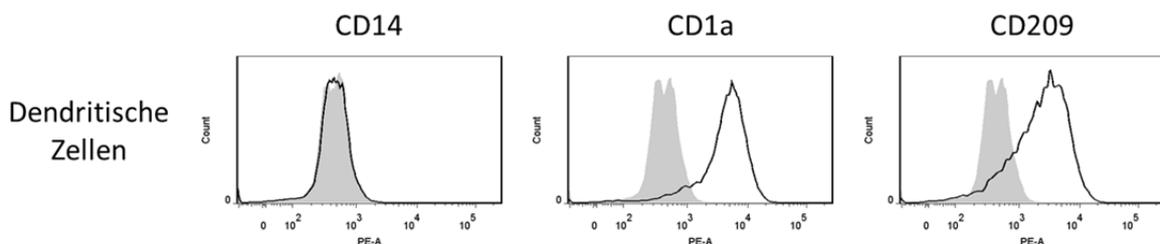


Abb. 5: Expression spezifischer Oberflächenmarker von dendritischen Zellen zur Bestimmung der Reinheit

Die Expression von CD14, CD1a und CD209 auf humanen DCs nach der Differenzierung wurde mittels FACS bestimmt. Die grau hinterlegten Diagramme zeigen die Bindung des Isotyps, die offenen Diagramme die Expression der jeweiligen Oberflächenmarker. Dargestellt ist das repräsentative Ergebnis eines Spenders.

3.9 Isolierung naïver CD4⁺ T-Zellen aus Lymphozyten

Die Isolierung naïver CD4⁺ T-Zellen erfolgte unmittelbar vor der Versuchsdurchführung durch Negativselektion der Lymphozyten über magnetische Zellseparation (MACS). Dazu wurden die Lymphozyten mit dem Naïve CD4⁺ T Cell Isolation Kit II (Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch-Gladbach, Deutschland) nach Angaben des Herstellers magnetisch markiert und mit dem AutoMACS separiert. Die Reinheit der naïven CD4⁺ T-Zellen wurde durch FACS ermittelt und betrug über 90 %.

3.10 Stimulation humaner DCs

Die ausdifferenzierten humanen DCs wurden je nach Experiment mit 10^6 Zellen/ml in RPMI in 96-*well* (100 μ l) oder 24-*well* (500 μ l) Zellkulturplatten bzw. in μ -Slides VI (100 μ l) ausgesät und vor der Stimulation für mind. 4 h im Brutschrank (37 °C, 5 % CO₂) inkubiert. In einigen Experimenten wurden die Zellen mit Cytochalasin D (1 μ M) oder mit 10 μ g/ml eines blockierenden TLR2-Antikörper (Maus anti-human; Genentech, South San Francisco, USA) für 30 min bzw. mit Bafilomycin A1 (10 nM) oder IRS957 (0,2 und 1 μ M) für 1 h vorinkubiert. Die jeweils für das Experiment angegebenen Stimuli wurden in RPMI verdünnt und im Verhältnis 1:10 zu den Zellen gegeben. Nach der entsprechenden Stimulationszeit wurden (I) die Überstände gewonnen für ELISA, (II) die Zellen pelletiert und in 350 μ l Lysepuffer aufgenommen für RNA-Isolierung, (III) die Zellen pelletiert und für FACS-Analysen aufgearbeitet, (V) die Zellen gesammelt gewaschen, gezählt und in RPMI auf eine bestimmte Konzentration eingestellt für Kokulturrexperimente oder (VI) die Zellen in den μ -Slides für konfokale Laserscanmikroskopie aufgearbeitet.

3.11 Autologe Kokultur humaner DCs mit naiven CD4⁺ T-Zellen

Die stimulierten bzw. unstimulierten humanen DCs wurden gewaschen und im Verhältnis 1:10 (DC:TC) zu den autologen naiven CD4⁺ T-Zellen gegeben. In einigen Experimenten wurde die Kokultur unter Anwesenheit von 1 μ g/ml eines neutralisierenden IL-12p70/40 Antikörpers (Maus anti-human) bzw. des entsprechenden IgG1 Isotyp-Antikörpers (beides BD Pharmingen, Heidelberg, Deutschland) durchgeführt. Nach 5 Tagen wurden die Zellen der Kokultur für die mRNA-Isolierung pelletiert und in 350 μ l Lysepuffer (RNeasy Plant Mini Kit; Quiagen, Hilden, Deutschland) aufgenommen. Um die Zytokinfreisetzung mittels ELISA im Überstand zu bestimmen, wurde die entsprechende Kokultur für 5 h mit 50 ng/ml Phorbol-12-myristate-13-acetat (PMA) und 2 μ g/ml Ionomycin restimuliert.

3.12 Transfektion und Stimulation von HEK293-Zellen

Humane HEK293-Zellen (*human embryonic kidney cells*) wurden in DMEM in Zellkulturflaschen im Brutschrank (37 °C, 4 % CO₂) bis zu einer Konfluenz von 80 % kultiviert geerntet und gezählt. Für die transiente Transfektion wurden zunächst $2,5 \times 10^4$ Zellen in 100 μ l DMEM in 96-*well* Platten ausgesät und am folgenden Tag je Ansatz mit 0,2 μ l Lipofectamine 2000 (Invitrogen, Carlsbad, USA) und den entsprechenden in Tabelle 1 aufgeführten Plasmiden transfiziert. 24 h nach der Transfektion wurde das alte Medium über den Zellen abgenommen und neues DMEM mit den entsprechenden Stimulantien dazu

gegeben. Nach weiteren 18 h wurde der Überstand gewonnen und die Freisetzung von CXCL8 mittels ELISA analysiert.

Tab. 1: Verwendete Plasmide für transiente Transfektion von HEK293-Zellen

Plasmid	Bezugsquelle	Konzentration je Ansatz
TLR2	Dr. P. Nelson, Seattle, USA	100 ng
NOD2	Dr. P. Rosenstiel, Kiel, Deutschland	100 ng

3.13 Isolierung und Generierung muriner Knochenmarkszellen (BMDCs)

- Erylysepuffer: 0,83 % NH₄Cl, 0,17 % Na₂CO₃, 1 mM EDTA in *aqua ad injectabilia*, pH 7,3

Alle Knochen entstammen Mäusen auf dem genetischen Hintergrund von CL57BL/6 und wurden uns freundlicherweise von Prof. Dr. Carsten Kirschning (TLR3/7/9-Knockout) und Prof. Dr. Guntram Grassl (NOD2-Knockout) zur Verfügung gestellt. Die Gewinnung und Generierung der murinen dendritischen Zellen erfolgte nach der von Lutz *et al.* beschriebenen Methode¹²⁶. Dazu wurden die Knochenmarkszellen durch Ausspülen der Oberschenkelknochen gewonnen und nach Entfernung der Erythrozyten durch Inkubation mit Erylysepuffer für 10 min bei RT gewaschen und gezählt. Jeweils 2×10⁶ Zellen pro 10 ml wurden in RPMI_{plus} mit 20 ng/ml murines GM-CSF in Petrischalen (Durchmesser=9 cm) ausgesät und im Brutschrank inkubiert (37 °C, 4 % CO₂). Am Tag 3 erfolgte eine erneute Zugabe von 10 ml RPMI_{plus} mit 20 ng/ml murines GM-CSF. Am Tag 6 wurden 10 ml Medium aus den Kulturschalen abgenommen, abzentrifugiert und die darin enthaltenen Zellen in neuem RPMI_{plus} mit 10 ng/ml murinem GM-CSF aufgenommen und in die Schalen zurückgegeben.

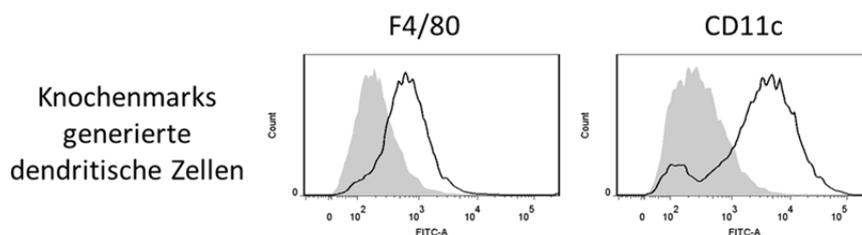


Abb. 6: Expression spezifischer Oberflächenmarker von BMDCs zur Bestimmung der Differenzierung

Die Expression von F4/80 und CD11c auf murinen BMDCs nach der Differenzierung wurde mittels FACS bestimmt. Die grau hinterlegten Diagramme zeigen die Bindung des Isotyps, die offenen Diagramme die Expression der jeweiligen Oberflächenmarker. Dargestellt ist das repräsentative Ergebnis einer Maus.

Die Ernte der Zellen erfolgte am Tag 10 durch Absammeln der nicht adhärennten Zellen und Ablösen der adhärennten Zellen mit Accutase. Die Überprüfung der erfolgreichen

Differenzierung der BMDCs erfolgte durch FACS-Markierung der Oberflächenmarker F4/80 und CD11c. Dabei exprimieren BMDCs im Vergleich zu F4/80 viel CD11c an der Oberfläche (Abb. 6).

3.14 Stimulation muriner BMDCs

Die ausdifferenzierten BMDCs wurden in 100 μ l je *well* mit einer Konzentration von 10^6 Zellen/ml RPMI_{plus} im 96-*well* Format ausgesät. Nach mindestens 4 h Ruhezeit im Brutschrank (37 °C, 4 % CO₂) wurden die für das jeweilige Experiment angehenden Stimuli in RPMI_{plus} verdünnt und im Verhältnis 1:10 zu den Zellen gegeben. Nach einer 20-stündigen Stimulationszeit wurden die Überstände gewonnen und mittels ELISA auf die Freisetzung bestimmter Zytokine hin überprüft.

3.15 Zellzahlbestimmung

Die Bestimmung aller Zellzahlen erfolgte mit dem automatischen Zählgerät Countess®. Dazu wurden die Zellen 1:1 in Trypanblau verdünnt und 10 μ l in *Cell Counting Chamber Slides* (Invitrogen, Carlsbad, USA) gegeben. Das Gerät bestimmt die Zellzahl je ml und gibt Auskunft über die Viabilität der Zellen.

3.16 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Für die Bestimmung der Konzentration humaner und muriner Zytokine im Zellüberstand wurden die in Tabelle 2 aufgeführten ELISA Kits verwendet. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben. Die Absorptionmessung der entwickelten ELISA-Platten wurde mit Hilfe eines Tecan Sunrise Readers bei 550 nm durchgeführt und mit der Software Magellan 2 ausgewertet.

Tab. 2: Verwendete ELISA und ihre Bezugsquellen

ELISA	Bezugsquelle
Human TNF- α	Invitrogen (Carlsbad, USA)
Human IL-10	Invitrogen
Human CXCL8	Invitrogen
Human IL-6	Invitrogen
Human IL-1 β	Invitrogen
Human IL-4	Invitrogen
Human IFN- γ	Invitrogen
Human IL-12p70	R&D Systems (Minneapolis, USA)

Human IL-23	R&D Systems
Maus IL-12p70	R&D Systems
Maus TNF- α	Invitrogen
Maus IL-6	Invitrogen

3.17 Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS)

- Azid-PBS: 0,1 % NaN₃ in PBS
- 3 % PFA: 3 % Paraformaldehyd in PBS

Die zu markierenden Zellen wurden in Röhrchen überführt und 5 min bei 4 °C und 1500 rpm zentrifugiert. Für die extrazelluläre Färbung wurde das Zellpellet in 100 μ l Azid-PBS resuspendiert und mit 3 μ l der in Tabelle 3 aufgeführten Antikörper markiert. Nach einer Inkubationszeit von 20 min bei 4 °C im Dunkeln wurden die Zellen mit Azid-PBS gewaschen und anschließend zu gleichen Teilen in Azid-PBS und 3 % PFA aufgenommen. Für die intrazelluläre Färbung wurden die Zellen mit dem Cytotfix/Cytoperm Plus Fixation/Permeabilisation Kit mit Brefeldin A nach Herstellerangaben aufgearbeitet und mit 3 μ l der entsprechenden Antikörper gefärbt. Die Proben wurden am LSRII gemessen und die Daten mit der Software *FlowJo* V. 7.6.1 (Tree Star, Ashland, USA) ausgewertet.

Tab. 3: Verwendete Antikörper und Farbstoffe für die FACS-Markierung

Antikörper	Bezugsquelle	Isotyp
Maus IgG1	BeckmanCoulter	
Maus IgG2a	BeckmanCoulter	
Maus anti-human CD1a	BeckmanCoulter	Maus IgG1
Maus anti-human CD14	BeckmanCoulter	Maus IgG2a
Maus anti-human CD209	BeckmanCoulter	Maus IgG1
Maus anti-human CD80	BD Pharmingen	Maus IgG1
Maus anti-human CD86	BD Pharmingen	Maus IgG1
Maus anti-human MHC-II	BD Pharmingen	Maus IgG2a
Anti-human IL-4	eBioscience	Maus IgG1
Anti-human IFN- γ	eBioscience	Maus IgG1
Armenischer Hamster IgG	eBioscience	
Ratte IgG2a	eBioscience	
Ratte anti-Maus F4/80	eBioscience	Ratte IgG2a
Armenischer Hamster anti-Maus Cd11c	eBioscience	Armenischer Hamster IgG

3.18 Konfokale Laserscanmikroskopie

- TBS: 50 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7,4
- Permeabilisierungspuffer: 0,25 % Triton X-100 in TBS
- Antikörperpuffer: 1 % BSA in PBS
- Blockierungspuffer: 10 % BSA in TBS
- 3 % PFA: 3 % para-Formaldehyd in PBS

Für bestimmte Versuche wurden DCs für konfokale Laserscanmikroskopie aufgearbeitet. Dazu wurden 10^5 Zellen direkt in μ -slides VI ausgesät und min. 2 h im Brutschrank inkubiert. Danach erfolgte die Stimulation durch Zugabe der Stimuli direkt in die *wells*, in bestimmten Fällen unter Anwesenheit der Inhibitoren Bafilomycin A1 (10 nM), Cytochalasin D (1 μ M) und/oder des Farbstoffes LysoTracker Red. Der histochemische Nachweis von Proteinen in den μ -slides wurde mit den in Tabelle 4 aufgeführten Antikörpern und Farbstoffen nach folgendem Protokoll durchgeführt:

- (1) Waschen 1 x mit TBS
- (2) 15 min bei RT mit 3 % PFA fixieren
- (3) Waschen 1 x mit TBS
- (4) 5 min bei RT mit Permeabilisierungspuffer inkubieren
- (5) Waschen 1 x mit TBS
- (6) 10 min bei RT mit Blockierungspuffer inkubieren
- (7) Waschen 1 x mit TBS
- (8) Inkubation mit Primärantikörper verdünnt Antikörperpuffer über Nacht bei 4°C
- (9) Waschen 1 x mit TBS
- (10) Inkubation mit Sekundärantikörper verdünnt in Antikörperpuffer für 1 h bei RT
- (11) Waschen 1 x mit TBS
- (12) Zellkernfärbung mit Höchst 33342 verdünnt in PBS für 20 min bei RT
- (13) Waschen 1 x mit TBS
- (14) 5 min bei RT mit 3 % PFA fixieren
- (15) Waschen 1 x mit TBS
- (17) Lagerung in PBS bis zur Messung

Die Aufnahmen der gefärbten Zellen wurden mit dem konfokalen Mikroskop SP5 aufgenommen und die Auswertung und Bearbeitung der Bilder erfolgte durch die Software *ImageJ* V. 1.43u (National Institutes of Health, Bethesda, USA).

Tab. 4: Verwendete Antikörper und Farbstoffe für die Konfokale Mikroskopie

Primärantikörper	Bezugsquelle	Verdünnung
Kaninchen anti-human TLR8	SantaCruz	1:100
Maus anti-human Lamp1	SantaCruz	1:100
Maus anti-human p50	SantaCruz	1:200

Sekundärantikörper	Bezugsquelle	Verdünnung
Kaninchen anti-human cRel	Cell Signaling	1:100
Ziege anti-Maus Alexa488	Molecular Probes	1:300
Ziege anti-Kaninchen Alexa488	Molecular Probes	1:300
Ziege anti-Maus Alexa546	Molecular Probes	1:300
Ziege anti-Kaninchen Alexa546	Molecular Probes	1:300
Farbstoffe	Bezugsquelle	Verdünnung
LysoTracker Red	Molecular Probes	1:2000
Hoechst33342	Sigma	1:3000

3.19 Isolierung der Ribonukleinsäure und Reverse Transkription

Die Isolierung der Gesamt-Ribonukleinsäure (RNA) aus T-Zellen und DCs erfolgte mit dem *RNeasy Plant Mini Kit* (Quiagen, Hilden, Deutschland) nach Herstelleranweisung und die Konzentration der isolierten RNA wurde anschließend photometrisch bestimmt. Das Umschreiben definierter Mengen RNA in komplementäre DNA erfolgte durch die reverse Transkriptase Superscript III nach Angaben des Herstellers.

3.20 Quantitative *Real-time*-PCR

Die *Real-time* PCR wurde am Light Cycler 480 durchgeführt und mit der Software LightCycler 480 SW 1.5 (Roche, Mannheim, Deutschland) ausgewertet. Die relativen Expressionen sind bezogen auf Hypoxanthin/Guanin-Phosphoribosyl-Transferase (HPRT). In Tabelle 5 sind die entsprechenden Primer und deren Programme aufgeführt. Alle Amplikons der verwendeten Primer sind intronumfassend.

Tab. 5: Verwendete Primer für die *Real-time* PCR

Primerbezeichnung	Primersequenz
IL-12p35 s	GCTCCAGAAGGCCAGACAAAC
IL-12p35 as	AGGCCAGGCAACTCCCATTAG
IL-12p40 s	AAAGGAAGATGGAATTTGGTC
IL-12p40 as	TGCTGCTTTTGACACTGAAT
IL-23p19 s	CAGTGTGGAGATGGCTGTGA
IL-23p19 as	CCGATCCTAGCAGCTTCTCA
IL-27p28 s	GCCAGGAGTGAACCTGTACC
IL-27p28 as	TGGTGGAGATGAAGCAGAGA
EBI3 s	TCCTTCATTGCCACGTACAG
EBI3 as	GTGCAGCTGGTGGACGTT
DLL4 s	GGCCTGTTTTGTGACCAAG
DLL4 as	CGACAGGTGCAGGTGTAGC
ICAM-1 s	CCTTCCTACCGTGTACTGG

ICAM-1 as	AGCGTAGGGTAAGGTTCTTGC
IFN- β s	AAGCAGCAATTTTCAGTGTCTAG
IFN- β as	CCTCAGGGATGTCAAAGTTCA
Jagged-1 s	CTGGCGGCTGGGAAGGA
Jagged-1 as	GAGGGCTGCAGTCATTGGTAT
GATA-3 s	TCAGACCACCACAACCACAC
GATA-3 as	TCTTCATAGTCAGGGGTCTGTTAAT
IL-1 β s	TGGGCCTCAAGGAAAAGAATC
IL-1 β as	GGGAACTGGGCAGACTCAAAT
IL-4 s	CACCGAGTTGACCGTAACAG
IL-4 as	GCCCTGCAGAAGGTTTCC
IL-2 s	AAGTTTTACATGCCCAAGAAGG
IL-2 as	AAGTGAAAGTTTTTGCTTTGAGC
IL-5 s	CGAACTCTGCTGATAGCCAAT
IL-5 as	GTACCCCTTGCACAGTTTG
IL-9 s	CAACAAGATGCAGGAAGATCC
IL-9 as	ATGGTCTGGTGCAGTTGTCA
IL-13 s	AGCCCTCAGGGAGCTCAT
IL-13 as	CTCCATACCATGCTGCCATT
IL-22 s	CAACAGGCTAAGCACATGTCA
IL-22 as	ACTGTGTCCTTCAGCTTTTGC
T-bet s	GACTCCCCCAACACAGGAG
T-bet as	GGGACTGGAGCACAATCATC
IFN- γ s	GTTTTGGGTTCTCTTGGCTGTTA
IFN- γ as	TTTGGCTCTGCATTATTTTTCTGT
ICOSLG s	CTGCAGCAGAACCTGACTGT
ICOSLG as	CTTGTCTCTCTCTCCGATGTCA
Foxp3 s	GACCAAGGCTTCATCTGTGG
Foxp3 as	CAGCAAACAGGCTGTCAGG
IL-10 s	TGGGGGAGAACCTGAAGAC
IL-10 as	CCTTGCTCTTGTTTTCACAGG
TGF- β s	CAGAAATACAGCAACAATTCCTGG
TGF- β as	TTGCAGTGTGTTATCCCTGCTGTC

Bei allen Primern wurde eine Denaturierung für 10 min bei 95 °C durchgeführt gefolgt von einem *Annealing*-Programm über 45 Zyklen in Form einer *Touchdown*-PCR. Dabei wurde die Anlagerungstemperatur pro Zyklus um 0,5 °C erniedrigt bei einer Anlagerungszeit von 4-7 s, angepasst auf die jeweilige Länge des Amplikons. Anschließend erfolgte die Erstellung einer Schmelzkurve, wobei unter kontinuierlicher Fluoreszenzmessung die Temperatur von 65 °C mit einer Geschwindigkeit von 0,1 °C/s auf 95 °C erhöht wurde.

3.21 Microarray

Die Durchführung der Affymetrix Human Gene 1.0 ST Array (Affymetrix, Santa Clara, USA) und die Signalweganalysen mit der Software *Ingenuity Pathways* (Ingenuity Systems, Redwood City, USA) erfolgte durch die Kooperationspartner Thorsten Buch und Olivia Prazeres da Costa am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene an der TU München. Die weitere Analyse der Expressionsdaten erfolgte mit Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) und der Online Software Gene List Venn Diagram ([www. http://genevenn.sourceforge.net](http://genevenn.sourceforge.net), Universität Süd-Mississippi, USA).

Für die Durchführung des Microarrays wurden die DCs von 3 Spendern unabhängig voneinander mit 10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 für 3, 6 und 12 h stimuliert bzw. für die Kontrollwerte unstimuliert gelassen und die daraus isolierten mRNAs der jeweiligen Ansätze gepoolt. Um Aussage über die Höhe der Genexpression in den *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-stimulierten Proben treffen zu können, wurden soweit nicht anders angegeben, die linearen Expressionsdaten der stimulierten Proben auf die unstimulierten Kontrollwerte normalisiert, indem sie durch die Kontrollwerte geteilt wurden. Zur besseren Veranschaulichung der herunterregulierten Werte wurde das negative Reziprok aller Werte unter 1 gebildet. Zur Bestimmung der regulierten *Probe Sets* wurde ein Grenzwert von >2 gesetzt (hochreguliert) und <-2 (herunterreguliert). Für die Signalweganalysen mit der Software Ingenuity wurden die auf die Kontrollwerte normalisierten logarithmischen Daten verwendet. Es wurde ein Grenzwert von >2 für hochregulierte und <-2 für herunterregulierte *Probe Sets* verwendet. Zur Bestimmung der top hochregulierten Netzwerke wurden sog. „Scores“ mit dem *Fisher's Exact Test* errechnet. Alle in der Arbeit dargestellten Netzwerke erreichten einen Score von über 30.

4 ERGEBNISSE

Der Grund für die Allergieprotektion von Kindern, die auf Bauernhöfen aufgewachsen sind wird heute nicht nur in der Häufigkeit und Menge des Kontakts mit mikrobiellen Bestandteilen vermutet, sondern auch in der Vielfältigkeit der Zusammensetzung⁴³. Unterschiedliche bakterielle Bestandteile führen zur Aktivierung eine Vielzahl von Rezeptoren und Signalwegen in dendritische Zellen. Je nachdem in welcher Art und Weise die Aktivierung der DCs stattfindet, können sie z.B. durch Expression unterschiedlicher kostimulatorischer Moleküle und Freisetzung verschiedener Zytokine wesentlichen Einfluss auf das adaptive Immunsystem nehmen. Die beiden Gram⁺ Bakterien *Lactococcus lactis* G121 und *Staphylococcus sciuri* W620 wurden im Zuge verschiedener epidemiologischer Studien aus Kuhställen isoliert^{14,43} und werden in dieser Arbeit hinsichtlich ihrer unterschiedlichen Aktivierungsmuster in DCs und ihrer Auswirkung auf die Aktivierung des adaptiven Immunsystems untersucht.

4.1 Aktivierung und Reifung humaner DCs

Zunächst wurde anhand der proinflammatorischen Zytokine CXCL8 und TNF- α überprüft, wie effizient eine Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 humane DCs aktivieren kann. Dazu wurden humane DCs 20 h mit den beiden Bakterienpräparationen stimuliert und zusätzlich als Positivkontrolle LPS verwendet, ein Stimulus der zur Reifung humaner DCs und zur Freisetzung verschiedener Mediatoren führt.

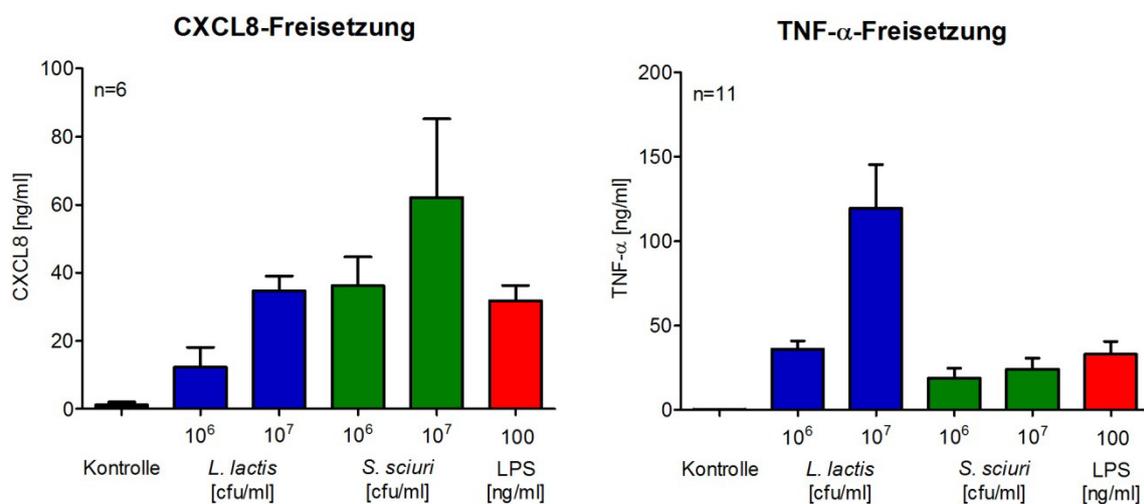


Abb. 7: Aktivierung humaner DCs nach *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 Stimulation

Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS für 20 h inkubiert. Die CXCL8- und TNF- α -Freisetzung in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt Dargestellt sind die Mittelwerte aus 6 und 11 Spendern mit SEM.

Die ELISA-Messdaten in Abbildung. 7 zeigen, dass beide Bakterien generell zur Sezernierung der Zytokine CXCL8 und TNF- α führen, wie es auch bei LPS der Fall ist. Bei dem Chemokin CXCL8 weisen sowohl eine *L. lactis* G121- als auch *S. sciuri* W620-Stimulation eine konzentrationsabhängige Induktion auf, wobei der *S. sciuri* W620 bereits mit 10^6 cfu/ml wesentlich aktiver ist als der *L. lactis* G121 mit gleicher Konzentration. Bei Betrachtung der TNF- α ELISA-Daten fällt auf, dass eine Stimulation der DCs mit *S. sciuri* W620 im Allgemeinen zu einer deutlich geringeren Freisetzung dieses Zytokins führt als mit *L. lactis* G121. Während die Konzentration von 10^6 cfu/ml von *L. lactis* G121 nur wenig mehr TNF- α induziert als der *S. sciuri* W620 in gleicher Konzentration, steigt die Ausschüttung dieses Zytokins mit Verzehnfachung der cfu/ml bei *L. lactis* G121 stark an während nach *S. sciuri* W620-Behandlung etwa das gleiche Niveau beibehalten wird wie bei 10^6 cfu/ml. Voraussetzung für die effektive Freisetzung dieser Zytokine ist die Reifung der dendritischen Zellen, die u.a. durch die Expression von kostimulatorischen Molekülen auf der Oberfläche nachgewiesen werden kann.

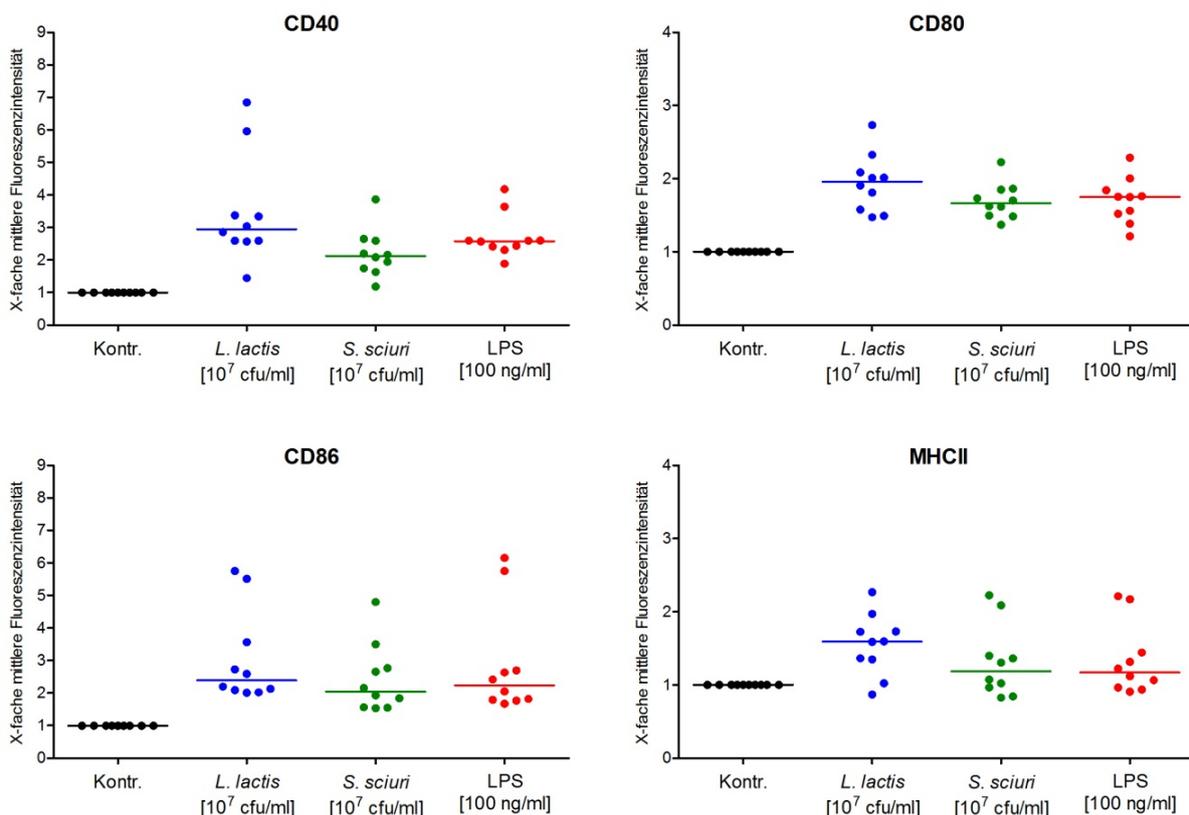


Abb. 8: Expression kostimulatorischer Moleküle nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation auf humanen DCs

Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS für 20 h inkubiert. Die Oberflächenexpression von CD40, CD80, CD86 und MHCII wurde mittels FACS bestimmt. Dargestellt sind die mittleren Fluoreszenzwerte der einzelnen Spender normalisiert auf die Werte der unstimulierten Kontrollen. Die Balken zeigen die Mediane an.

Diese Moleküle ermöglichen die Aktivierung und Interaktion mit den Zellen der adaptiven Immunantwort, z.B. den T-Zellen, und können deren Polarisation entscheidend beeinflussen. Abbildung 8 zeigt die FACS-Analyse solcher kostimulatorischen Moleküle nach 20-stündiger Stimulationszeit. Um die Schwankungen der Grundniveaus der einzelnen Spender zu normalisieren wurden die mittleren Fluoreszenzwerte der unstimulierten Kontrollen auf 1 gesetzt. Die Abbildung verdeutlicht, dass sowohl *L. lactis* G121 als auch *S. sciuri* W620 und LPS die Reifung von DCs auslösen, wie sie anhand der Hochregulation von CD40, CD80, CD86 und MHCII an der Oberfläche der DCs zu erkennen ist. Dabei zeigt sich im Median, dass eine Stimulation mit *L. lactis* G121 das höchste Expressionsniveau aller vier Oberflächenmoleküle auf DCs hervorruft während LPS oder die gleiche Konzentration *S. sciuri* W620 ein schwächeres Aktivierungspotential besitzen als *L. lactis* G121. Die Abbildung 7 zeigt bereits erste Unterschiede bei dem Aktivierungspotential beider Bakterien. Während das Bakterium *S. sciuri* W620 bei gleicher Konzentration eine stärkere CXCL8-Freisetzung hervorruft wie der *L. lactis* G121, verhält es sich bei TNF- α genau anders herum. Auch bei der Regulation der kostimulatorischen Moleküle zeigt sich im Allgemeinen durch eine *L. lactis* G121-Stimulation eine stärkere Expression als durch *S. sciuri* W620.

4.2 Einfluss von *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 auf die T-Zell-Polarisierung

Die allergieprotektiven Eigenschaften des *L. lactis* G121 konnten bereits in der Veröffentlichung von Debarry *et al.* beschrieben werden¹²⁷. Darin wurde gezeigt, dass *L. lactis* G121 in einem *in vivo* Mausmodell die pathophysiologischen Parameter von Ovalbumin (OVA)-induziertem, akutem, allergischem Asthma durch die Induktion einer T_H1-ausgerichteten Immunantwort reduzierte¹²³. Auch *S. sciuri* W620 zeigte sich in einem ähnlichem Modell allergieprotektiv, allerdings wurden durch Behandlung mit diesem Bakterium sowohl T_H1- als auch T_H2-typische Parameter gesenkt (Hagner *et al.*, in Revision)¹²⁴. Die Allergieprotektion in diesem Fall beruhte eher auf einer allgemeinen Immunsuppression. Daher beschäftigt sich der folgende Abschnitt damit, ob es Unterschiede in der Aktivierung von humanen DCs durch Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 gibt und in welcher Form die so aktivierten DCs die T-Zell-Polarisation beeinflussen.

4.2.1 *S. sciuri* W620 und *L. lactis* G121 induzieren teils unterschiedliche Mitglieder der IL-12-Familie in DCs

Eine Erklärung für die Entstehung von Asthma wird u.a. auf eine Verschiebung der T_H1/ T_H2-Achse in Richtung T_H2 gesehen. Zu der IL-12-Familie gehören Zytokine, die ein starkes T_H1-

polarisierendes Signal darstellen aber auch auf die Entstehung und Stabilität anderer T-Zellsubpopulationen Einfluss nehmen. Die Zytokine der IL-12-Familie bestehen aus Heterodimeren die aus den Untereinheiten p19, p28, p35, p40 oder EBI3 zusammengesetzt werden können. Das IL-12p70 ist eines der am stärksten T_H1-polarisierenden Zytokine das von dendritischen Zellen freigesetzt wird und kann eine T_H2-ausgerichtete Immunantwort unterdrücken. Dessen Protein wird aus den beiden Untereinheiten p40 und p35 zusammengesetzt. IL-23, ein weiteres Mitglied der IL-12-Familie, teilt sich zusätzlich zum p19 die p40 Untereinheit mit IL-12p70.

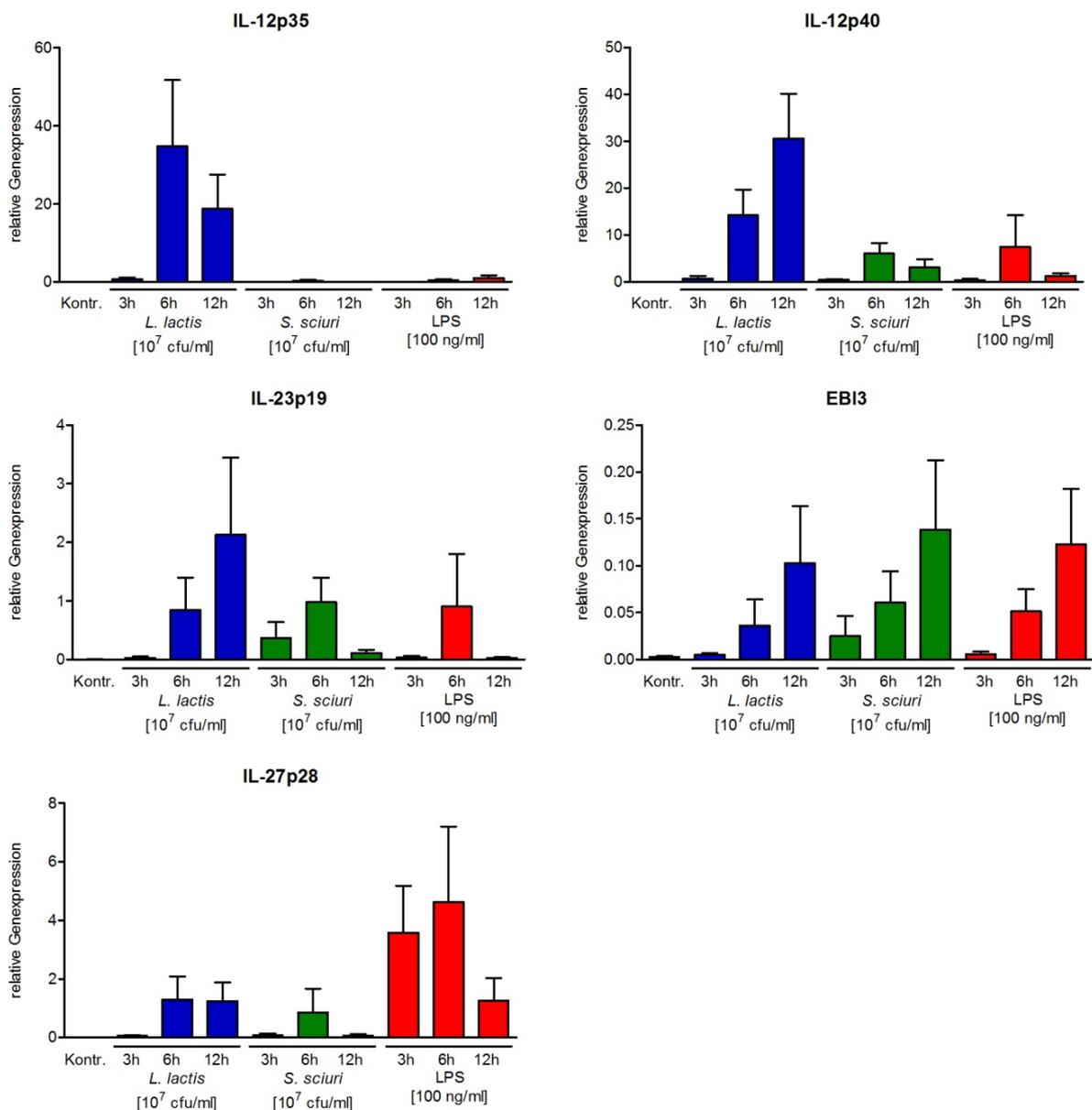


Abb. 9: Expression bestimmter mRNAs aus der IL-12-Familie nach Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 in humanen DCs

Die DCs wurden für 0 h, 3 h, 6 h und 12 h mit den angegebenen Stimuli inkubiert. Die Genexpressionen von IL-12p35, IL-12p40, IL-23p19, EBI3 und IL-27p28 wurden relativ zu HPRT mittels *Real-time* PCR bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus 3 bis 8 Spendern mit SEM.

Darüber hinaus gehört IL-27 dieser Familie an, welches aus den Untereinheiten p28 und EBI3 besteht sowie IL-35, bestehend aus EBI3 und p35. Inwiefern eine Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 nach 3, 6 und 12 h zu einer Induktion der mRNA dieser Untereinheiten führt ist in Abbildung 9 dargestellt. Alle Untereinheiten für IL-12p70, IL-23 und IL-27 werden von *L. lactis* G121 induziert wobei p40 und p35 am stärksten hochreguliert werden. Die maximale Induktion wird bei drei von fünf Untereinheiten nach 12 h erreicht. Eine Behandlung mit *S. sciuri* W620 hingegen führt, ähnlich wie beim LPS, nur zu einer Induktion von vier Untereinheiten. Die IL-12p35 mRNA ist, abhängig vom Spender, gar nicht oder nur sehr gering induziert und die Untereinheiten p40 und p19 deutlich schwächer als es bei der *L. lactis* G121-Stimulation der Fall ist. Bei drei von vier induzierten mRNAs wurde das Maximum nach Inkubation mit *S. sciuri* W620 bereits nach 6 h erreicht. Biologisch aktives IL-12p70 benötigt die Untereinheiten p40 und p35, allerdings wird letztere mRNA nur durch *L. lactis* G121, nicht aber durch *S. sciuri* W620 induziert. Aus diesem Grund wurde mittels ELISA auf Proteinebene untersucht, ob eine *S. sciuri* W620-Stimulation zur Freisetzung von IL-12p70 führt. Ebenso wurde die Freisetzung von IL-23 untersucht, dessen beide Untereinheiten p40 und p19 auf mRNA-Ebene von diesem Bakterium induziert wird.

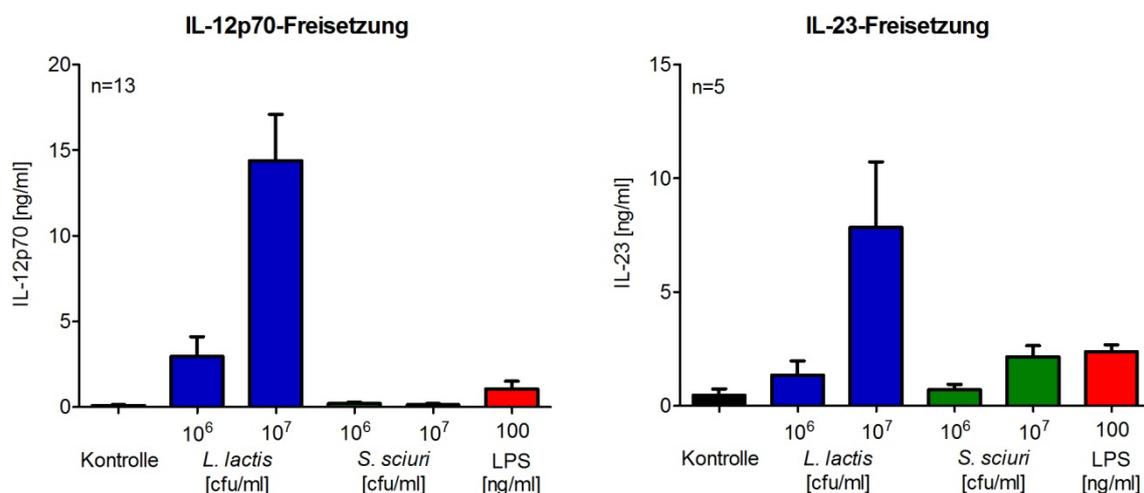


Abb. 10: IL-12p70- und IL-23-Freisetzung aus humanen DCs nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation

Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS für 20 h inkubiert. Die IL-12p70- und IL-23-Freisetzung in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus 13 und 5 Spendern mit SEM.

Die ELISA-Daten dargestellt in Abbildung 10 zeigen, dass eine *S. sciuri* W620-Behandlung für 20 h im Vergleich zu der *L. lactis* G121-Stimulation nur zu einer Freisetzung von geringsten Mengen IL-12p70 führt sich aber bei einer Bakterienkonzentration von 10⁷ cfu/ml eine deutlich erhöhte Sekretion von IL-23 im Überstand der DCs nachweisen lässt. Die Mengen beider Zytokine sind vergleichbar mit der, die durch LPS-Inkubation erreicht wird und spiegeln das mRNA-Induktionsmuster in Abbildung 9 wider. Ebenfalls in Einklang mit

den mRNA-Daten steht die deutlich nachweisbare Freisetzung von IL-12p70 durch *L. lactis* G121 und die im Vergleich zu LPS- und *S. sciuri* W620-Stimulation höheren Mengen an IL-23-Protein.

4.2.2 *S. sciuri* W620 und *L. lactis* G121 induzieren ein T_H1-polarisierendes Programm in humanen DCs

DCs besitzen ein großes Repertoire an Zytokinen und kostimulatorischen Oberflächenmolekülen, die das adaptive Immunsystem aktivieren und beeinflussen können. Abbildung 11 zeigt die Expression weiterer mRNAs nach *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620-Stimulation, die mit der Ausprägung eines T_H1- oder T_H2-polarisierendem Programms in DCs in Verbindung gebracht werden.

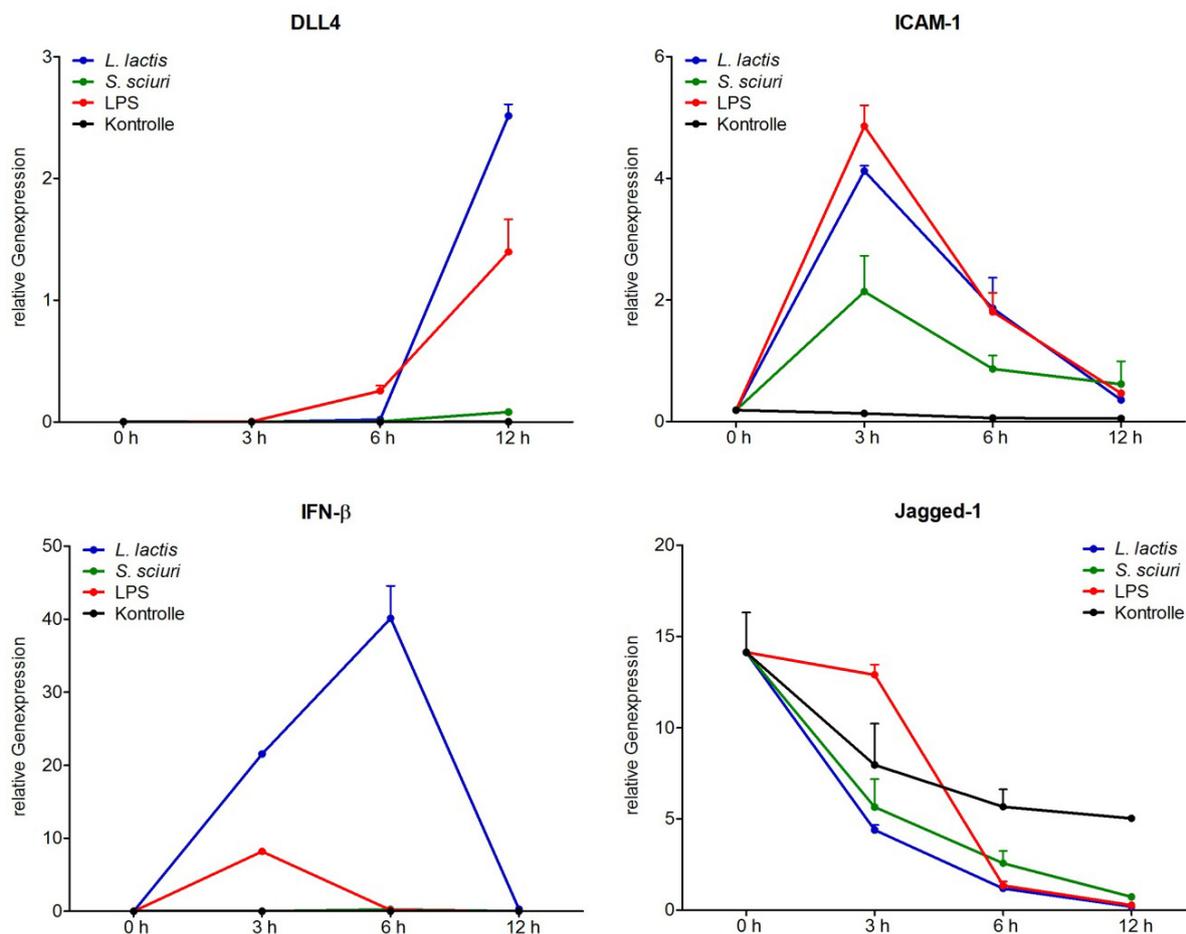


Abb. 11: Expression T_H1- und T_H2-assoziiierter Gene nach Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 in humanen DCs

Die DCs wurden für 0 h, 3 h, 6 h und 12 h mit 10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 bzw. 100 ng/ml LPS inkubiert oder unstimuliert gelassen (Kontrolle). Die Genexpressionen von DLL4, ICAM-1, IFN-β und Jagged-1 wurden relativ zu HPRT mittels *Real-time* PCR bestimmt. Dargestellt sind die repräsentativen Daten eines Spenders (n ≥ 3).

DLL4 und ICAM-1 sind kostimulatorische Moleküle für T-Zellen die eine T_H1-Polarisation hervorrufen. Die Kinetik der mRNA-Induktion von ICAM-1 ist bei allen Stimuli sehr ähnlich mit einem Maximum nach 3 h. Jedoch ist die Höhe der Expression durch *S. sciuri* W620 deutlich geringer als die, die durch LPS oder *L. lactis* G121 induziert wird. Ähnlich verhält es sich mit der DLL4-Induktion, die allerdings erst nach 12 h das Maximum zeigt. Die DLL4-mRNA wird im Gegensatz zur LPS- und *L. lactis* G121-Stimulation nur sehr wenig durch *S. sciuri* W620 induziert. Eine Expressionsanalyse des ebenfalls T_H1-assoziierten IFN-β ergibt keinerlei Hochregulation der mRNA unter Einfluss von *S. sciuri* W620. LPS hingegen führt nach 3 h zu einer Erhöhung der IFN-β-Expression im Vergleich zur unstimulierten Kontrolle, die jedoch deutlich unter dem durch *L. lactis* G121-induzierten mRNA-Niveau liegt. Nach 6 h wird durch *L. lactis* G121 die maximale Expression erreicht, liegt jedoch nach 12 h wieder auf Kontrollniveau. Jagged-1 ist ein kostimulatorisches Molekül, welches mit einer T_H2-Polarisation in Verbindung gebracht wird. Bis auf die Stimulation mit LPS, die nach 3 h etwas über der Kontrolle liegt, zeigt die Kinetik aller Stimuli einen ähnlichen Verlauf. Nach 6 und 12 h liegt die Jagged-1-mRNA deutlich unter der Kontrolle und wird somit herunterreguliert. Vergleicht man die durch *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-induzierte mRNA-Expression der hier aufgeführten Gene, so zeigen sich auch hier eindeutige Hinweise auf die Aktivierung eines starken T_H1-polarisierenden Programms in humanen DCs nach *L. lactis* G121-Stimulation. Anhand der Hochregulation der mRNAs der T_H1-assoziierten Gene ICAM-1 und DLL4 und der Herunterregulation des T_H2-assoziierten Jagged-1 kann auch für eine *S. sciuri* W620-Stimulation die gleich Aussage getroffen werden. Jedoch ist die Modulation der mRNA-Expression weniger stark ausgeprägt als bei *L. lactis* G121 und eine Regulation der IFN-β-mRNA ließ sich nicht nachweisen.

4.2.3 *S. sciuri* W620 und *L. lactis* G121 induzieren eine T_H1-Polarisation in humanen DC-TC-Kokulturen

Um zu überprüfen, ob die durch *S. sciuri* W620 eher schwache Induktion eines T_H1-aktivierenden Programms in DCs ausreicht, um eine T_H1-Polarisation naiver TCs hervorzurufen wurden Kokultur Experimente durchgeführt. Dazu wurden DCs wie im vorherigen Abschnitt beschrieben stimuliert und mit naiven, autologen CD4+ T-Zellen für 5 Tage kokultiviert. Anschließend wurde die mRNA gewonnen und auf die Expression von T_H1- und T_H2-charakteristischen Genen hin überprüft. Aufgrund der verhältnismäßig starken Streuung der einzelnen Spenderwerte untereinander wurden die Daten in Abbildung 12 als Boxplot nach Tukey gezeigt. Diese Darstellungsform lässt einen schnellen Überblick über die Streuung der Werte (Ausdehnung der Box), Lage des Medians (als Strich in der Box gekennzeichnet) und eventuelle Ausreißer (Datenpunkte ober- bzw. unterhalb der Box) zu.

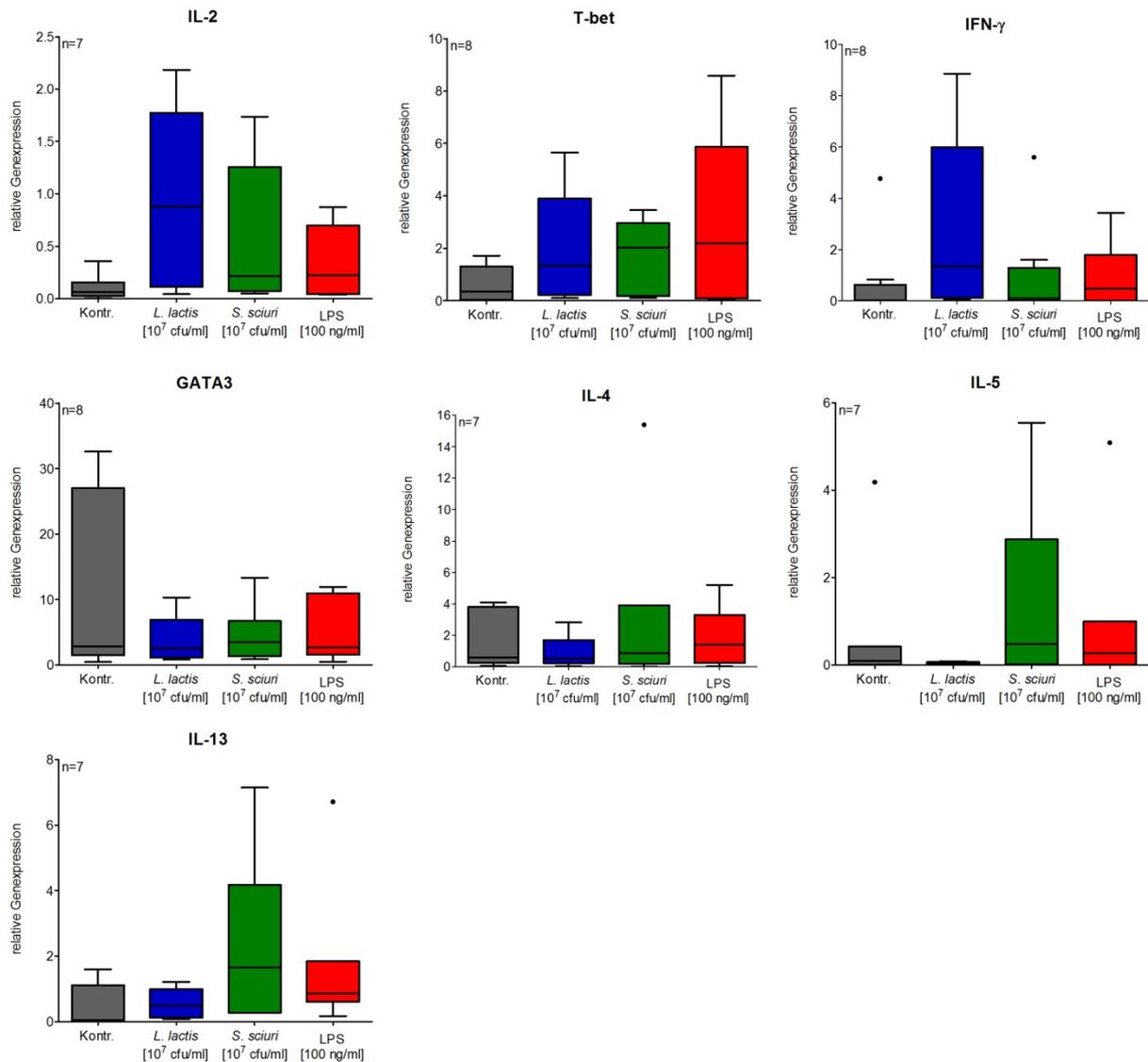


Abb. 12: Expression T_H1- und T_H2-assoziiierter Gene in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen

Humane DCs wurden mit den angegebenen Stimuli für 20 h inkubiert und danach im Verhältnis 1:10 zu naiven autologen CD4⁺ T-Zellen gegeben. Nach 5 Tagen wurden die Expressionen der gezeigten Gene relativ zu HPRT mittels *Real-time* PCR bestimmt und auf Kokulturen mit unstimulierten DCs normalisiert (Kontrolle). Dargestellt sind die gepoolten Ergebnisse von n=7-8 Spendern als Boxplot nach Tukey.

Bei allen Stimuli lässt sich eine Erhöhung der mRNA des Zytokins IL-2 erkennen. Die *L. lactis* G121-stimulierten DCs induzieren dabei das höchste Expressionsniveau in den T-Zellen, LPS das geringste. Auch das T_H1-assoziierte IFN-γ wird in den *L. lactis* G121-aktivierten Kokulturen am stärksten exprimiert, während die LPS- und insbesondere die *S. sciuri* W620-behandelten DCs diese mRNA in den T-Zellen sehr viel niedriger induzieren und die Werte nur wenig über der Kontrolle liegen. Für die Aktivierung von T_H1-Zellen bei allen verwendeten Stimuli spricht ebenso die Expressionszunahme des Transkriptionsfaktors T-bet gegenüber der Kontrolle, sowie die Abnahme der GATA-3-Expression, einem T_H2-assoziierten Transkriptionsfaktor, dessen mRNA in den unstimulierten Zellen in deutlichen Mengen vorliegt. Da T_H2-Zellen die Zytokine IL-4, IL-5 und IL-13 freisetzen, wurden ebenfalls

die mRNAs dieser Gene analysiert. Die Zunahme der IL-4-mRNA konnte weder in den Kokulturen mit *L. lactis* G121- noch in den mit *S. sciuri* W620- oder LPS-behandelten Kokulturen nachgewiesen werden. Bis auf einen Ausreißer bei den *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen liegen alle Spenderwerte in gleicher Höhe zu den Kontrollwerten. In Hinblick auf die Regulation der IL-13- und der IL-5-mRNA kann jedoch zumindest bei einem Teil der Spender in den *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen eine Induktion detektiert werden, die sich tendenziell auch in den LPS-behandelten Kokulturen erkennen lässt. Im Gegensatz dazu zeigen *L. lactis* G121-aktivierte Kokulturen keinerlei Hochregulation dieser beiden mRNAs. Um die mRNA-Ergebnisse auch auf Proteinebene zu überprüfen, wurden wie für die vorherige Abbildung Kokulturen durchgeführt, die nach 5 Tagen mit PMA und Ionomycin restimuliert wurden, um den Zytokingehalt im Überstand der Kultur für einen ELISA nachweisbar zu machen. Es wurden die Konzentrationen des T_H1-Zytokins IFN- γ und des T_H2-Zytokins IL-4 gemessen und in Abb. 13A dargestellt.

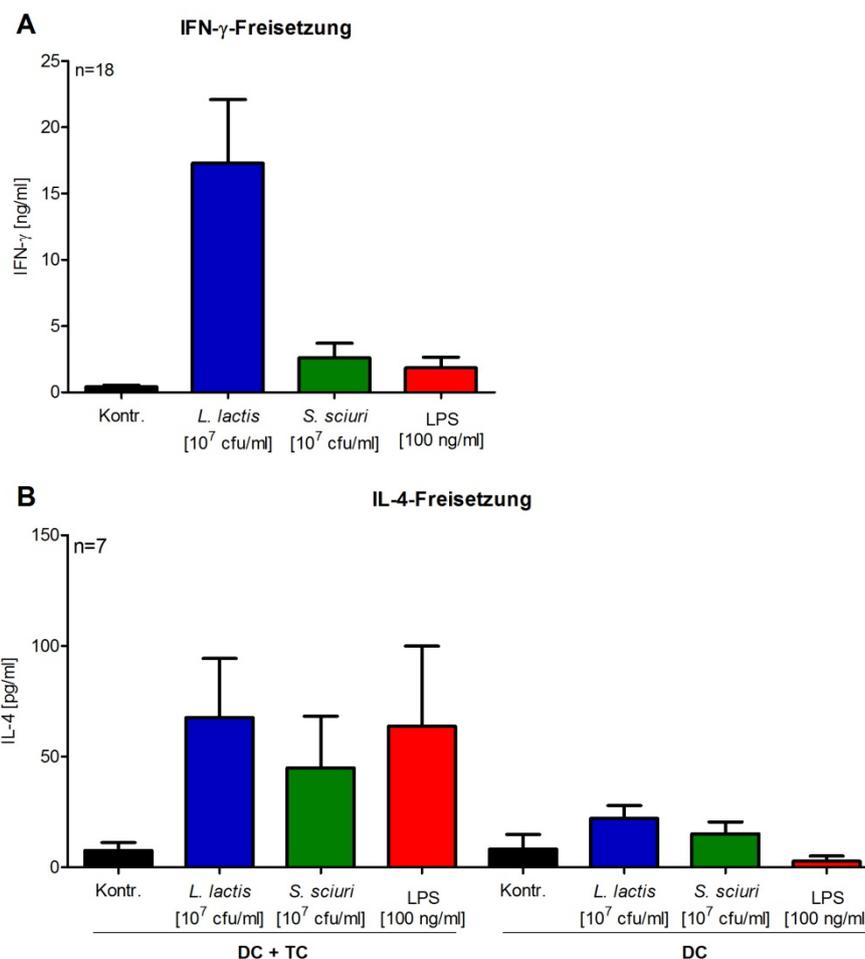


Abb. 13: Freisetzung von IFN- γ und IL-4 in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen
 Humane DCs wurden mit den angegebenen Stimuli für 20 h inkubiert und danach im Verhältnis 1:10 zu naiven autologen CD4⁺ T-Zellen gegeben oder ohne T-Zellen kultiviert. Nach 5 Tagen wurde die Kokultur mit PMA und Ionomycin für 5 h restimuliert und die Freisetzung von (A) IFN- γ und (B) IL-4 mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte von gepoolten Daten mit SEM.

Einhergehend mit den IFN- γ -mRNA Daten aus Abbildung 12 zeigt sich eine hohe Konzentration von IFN- γ -Protein bei Kokulturen mit *L. lactis* G121-stimulierten DCs, während *S. sciuri* W620- und LPS-stimulierte DCs innerhalb der Spender zu einer stabilen aber nur geringen IFN- γ -Freisetzung in den T-Zellen führt. T-Zellen bzw. DCs unter den gleichen Bedingungen alleine kultiviert, setzen kein oder nur sehr wenig IFN- γ frei (Daten nicht gezeigt). Das T_H2-Zytokin IL-4 kann nur in geringsten Mengen im Überstand der DC-T-Zell Kokultur nachgewiesen werden (Abb. 13B, „DC + TC“). Obwohl die Konzentrationen im Mittel über den der Kokulturen mit unstimulierten DCs (Kontrolle) liegen, gibt es eine verhältnismäßig weite Streuung innerhalb der Spender und die Menge des Proteins überschreiten nur wenig der, die von den ohne T-Zellen kultivierten DCs freigesetzt wird (Abb. 13B, „DC“). Eine eindeutige Ausschüttung von IL-4 nach *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620-Behandlung lässt sich somit im Gegensatz zu den IFN- γ -Daten nicht nachweisen.

4.2.4 *S. sciuri* W620 und *L. lactis* G121 induzieren T_H17-, T_H9- und T_H22-assoziierte mRNAs in humanen DC-TC-Kokulturen

Nicht nur T_H1-Zellen können eine mögliche Quelle für IFN- γ sein. Auch die relativ neu klassifizierten inflammatorischen T_H17-Zellen sind unter bestimmten Umständen in der Lage, IFN- γ freizusetzen und werden durch IL-23 stabilisiert¹²⁸⁻¹³⁰. DCs können naive T-Zellen durch Ausschüttung von IL-6 und TGF- β in Richtung T_H17 polarisieren, wobei die Rolle von TGF- β besonders im humanen System sehr umstritten ist¹¹⁹. TGF- β kann in Anwesenheit von IL-4 ebenfalls zu einer Entstehung von T_H9-Zellen führen¹⁰⁵. In Bezug auf IL-6 konnte des Weiteren gezeigt werden, dass dieses Zytokin zusammen mit TNF- α eine Differenzierung von T_H22-Zellen induziert¹⁰⁶. Abbildung 14A zeigt die Freisetzung von IL-6 nach 20-stündiger Stimulation von humanen DCs mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620. Des Weiteren wurde mittels *Real-time* PCR die Expression von TGF- β über einen Stimulationszeitraum von 3 bis 12 h bestimmt (Abb. 14B). Die Menge an IL-6 im Überstand ist bei der Verwendung von 10⁶ cfu/ml Bakterienkonzentration bei den *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-stimulierten DCs ähnlich hoch und liegt etwa auf dem Konzentrationsniveau der LPS-inkubierten DCs. Unter Verwendung der zehnfachen Konzentration beider Bakterienpräparationen steigt die IL-6-Ausschüttung deutlich an, liegt aber bei den *L. lactis* G121-stimulierten DCs im Schnitt etwas höher.

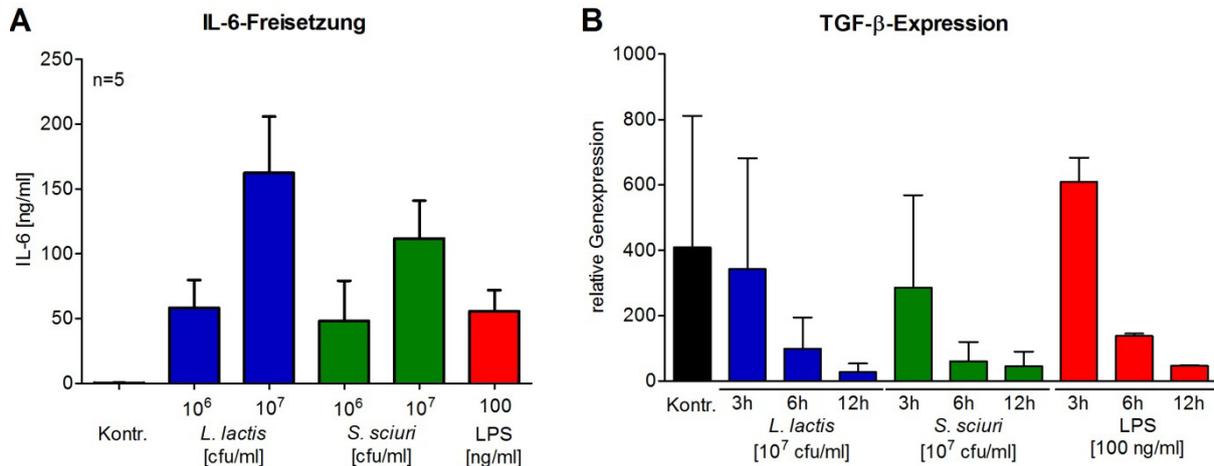


Abb. 14: Freisetzung von IL-6 und Genexpression von TGF-β in humanen DCs nach Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620

(A) Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS für 20 h inkubiert. Die IL-6-Freisetzung in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n=5 Spendern mit SEM. (B) Die DCs wurden für 0 h, 3 h, 6 h und 12 h mit 10⁷ cfu/ml *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 bzw. 100 ng/ml LPS inkubiert oder unstimuliert gelassen (Kontrolle). Die Genexpression von TGF-β wurde relativ zu HPRT mittels *Real-time* PCR bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus 1 bis 3 Spendern mit SEM.

Die Expression der TGF-β-mRNA findet bereits konstitutiv in den Kontrollzellen statt. Die Stimulation von humanen DCs mit *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS führt zu einer ähnlichen, deutlichen Reduktion der Expression. Dabei sinkt diese umso mehr, je länger die Zellen mit den drei Stimuli inkubiert wurden.

T_H17-, T_H9- und T_H22-Zellen sind u.a. charakterisiert durch die Ausschüttung der Zytokine IL-17A, IL-9 und IL-22. Um die Expression dieser Zytokine zu untersuchen, wurden erneut Kokulturrexperimente mit naiven T-Zellen und entsprechend stimulierten DCs, wie bereits vorher beschrieben, durchgeführt und die mRNA-Induktionen dieser Zytokine in der Abbildung 15 dargestellt.

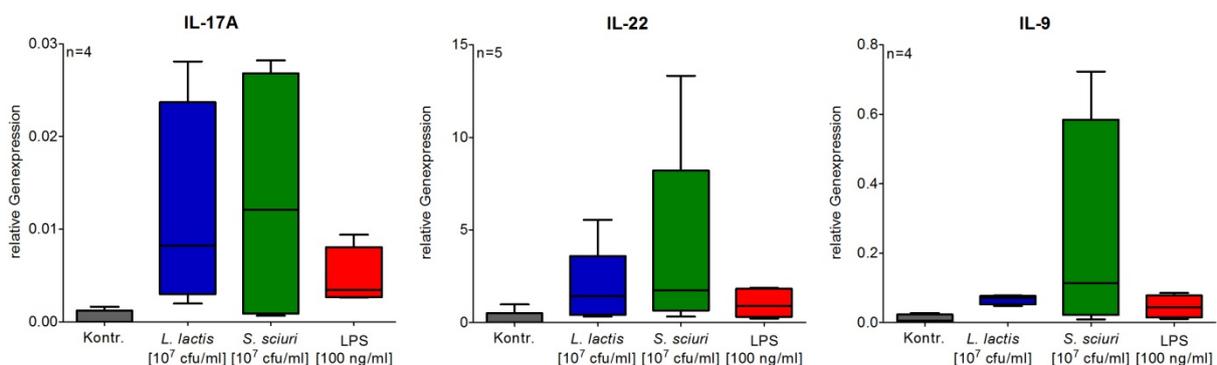


Abb. 15: Expression T_H17-, T_H9- und T_H22-assoziierter Gene in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen

Humane DCs wurden mit den angegebenen Stimuli für 20 h inkubiert bzw. unstimuliert gelassen (Kontrolle) und danach im Verhältnis 1:10 zu naiven autologen CD4⁺ T-Zellen gegeben. Nach 5 Tagen wurden die Expressionen der gezeigten Gene relativ zu HPRT mittels *Real-time* PCR bestimmt. Dargestellt sind die gepoolten Ergebnisse von n=4-5 Spendern als Boxplot nach Tukey.

In den nicht aktivierten Kontroll-Kokulturen ist das Expressionsniveau aller Zytokine niedrig. Werden die T-Zellen durch *L. lactis* G121- oder *S. sciuri* W620-stimulierte DCs aktiviert, kommt es zu einem deutlichen Anstieg der IL-17A- und IL-22-mRNA. Auch die Expression von IL-9 wird durch beide Stimuli induziert, jedoch durch *S. sciuri* W620 deutlich stärker als durch *L. lactis* G121. Eine Aktivierung der Kokulturen durch LPS induziert im Vergleich zu den *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Daten eine wesentlich geringere Expression dieser drei mRNAs.

Diese Ergebnisse geben Hinweise auf eine mögliche Beteiligung von T_H17-, T_H9- und T_H22-Zellen sowohl bei *L. lactis* G121 als auch bei *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen.

4.2.5 Das von *S. sciuri* W620- und *L. lactis* G121-induzierte IFN- γ in humanen DC-TC-Kokulturen ist IL-12p40-abhängig

Um zu überprüfen, inwiefern das IFN- γ tatsächlich von der Freisetzung vom IL-12p70 der *L. lactis* G121 G121-stimulierten bzw. vom IL-23 der *S. sciuri* W620-stimulierten DCs abhängig ist wurden, wie bereits vorhergehend beschrieben, erneut Kokulturen durchgeführt. Allerdings wurden diese 5 Tage unter Anwesenheit eines neutralisierenden IL-12p40 Antikörpers inkubiert und anschließend mit PMA und Ionomycin restimuliert. Wie Abbildung 16 zeigt, ist das von den T-Zellen freigesetzte IFN- γ bei allen Stimuli wenigstens zum Teil vom IL-12p40 im Medium der Kokultur abhängig.

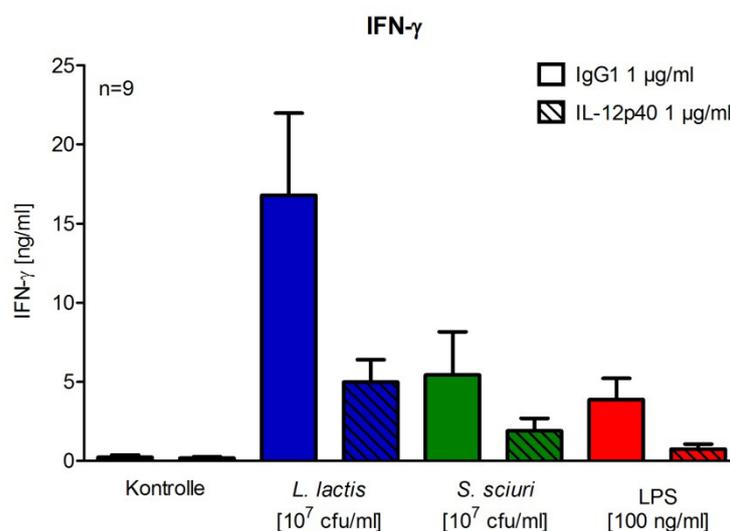


Abb. 16: Freisetzung von IFN- γ in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen unter Anwesenheit eines neutralisierenden IL-12p40 Antikörpers

Humane DCs wurden mit den angegebenen Stimuli für 20 h inkubiert und danach im Verhältnis 1:10 zu naiven autologen CD4⁺ T-Zellen in Anwesenheit von 1 µg/ml neutralisierendem IL-12p40 Antikörper bzw. des entsprechenden Isotyps gegeben. Nach 5 Tagen wurde die Kokultur mit PMA und Ionomycin für 5 h restimuliert und die Freisetzung von IFN- γ mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n=9 Spendern mit SEM.

Gerechnet vom Mittelwert, kann die IFN- γ -Ausschüttung durch den Antikörper bei der Kokultur mit den *L. lactis* G121-inkubierten DCs um ca. 70 % gesenkt werden, bei *S. sciuri* W620 um 65 % und bei LPS um rund 80 %. Eine Erhöhung der Antikörperkonzentration auf 10 $\mu\text{g/ml}$ kann die Freisetzung von IFN- γ bei den *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen nicht weiter senken (Daten nicht gezeigt), so dass davon ausgegangen werden kann, dass bei einer Aktivierung der Kokulturen durch diese beiden Bakterien keine vollständige Blockierung der IFN- γ -Freisetzung möglich ist.

4.2.6 *S. sciuri* W620 und *L. lactis* G121 induzieren keine eindeutige T_{reg}-Polarisierung

Neben der Hypothese eines Ungleichgewichts der T_H1/T_H2 Immunantwort ist in den letzten Jahren immer mehr der Einfluss von T_{reg}-Zellen bei der Entstehung von Asthma in den Vordergrund gerückt. Diese T-Zellen wirken immunregulatorisch und sind in der Lage sowohl T_H1- als auch T_H2-basierte Immunantworten zu unterdrücken und so eine überschießende Immunantwort zu verhindern. Die Entstehung von Foxp3-positiven T_{reg}-Zellen aus naiven T-Zellen findet u.a. unter Einfluss der Zytokine IL-10 und TGF- β statt¹²², bzw. durch Interaktion des T-Zell Rezeptors mit dem kostimulatorischen Molekül ICOSLG auf der Oberfläche von DCs¹¹³. Um zu untersuchen, ob die Voraussetzungen für eine T_{reg}-Polarisierung gegeben sind, wurden DCs mit den Bakterien und LPS stimuliert und nach 20 h die Freisetzung von IL-10 mittels ELISA gemessen (Abb.17A).

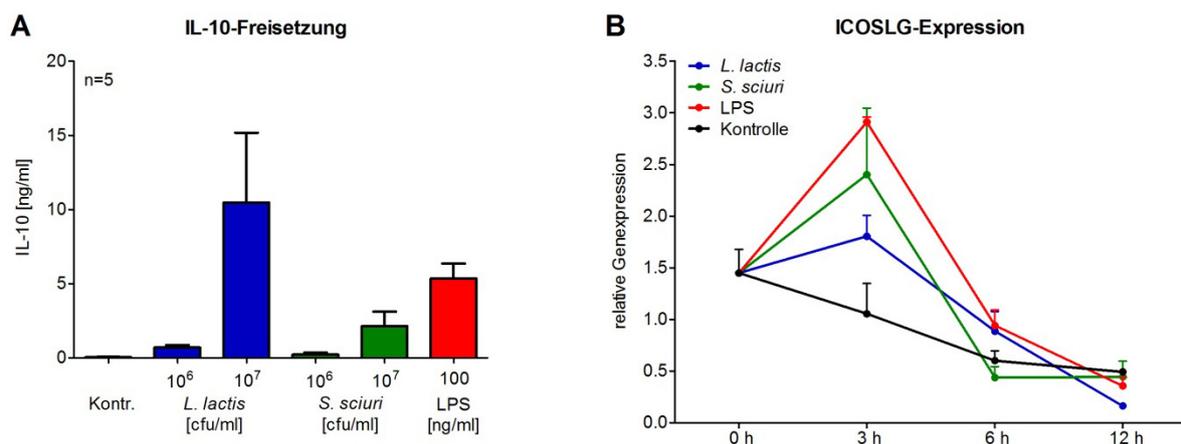


Abb. 17: Freisetzung von IL-10 und Genexpression von ICOSLG in humanen DCs nach Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620

(A) Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS für 20 h inkubiert. Die IL-10-Freisetzung in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n=5 Spendern mit SEM. (B) Die DCs wurden für 0 h, 3 h, 6 h und 12 h mit 10⁷ cfu/ml *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 bzw. 100 ng/ml LPS inkubiert oder unstimuliert gelassen (Kontrolle). Die Genexpression von ICOSLG wurde relativ zu HPRT mittels Real-time PCR bestimmt. Dargestellt sind die repräsentativen Daten eines Spenders (n≥2).

Zusätzlich wurde nach einer 3-, 6- und 12-stündigen Inkubationszeit die mRNA aus DCs isoliert und die relative Expression von ICOSLG bestimmt (Abb. 17B). Abbildung 17A zeigt, dass alle Stimuli generell zur Freisetzung von IL-10 aus DCs führen. Die Daten zeigen dabei deutliche Unterschiede im Vergleich der *L. lactis* G121- und der *S. sciuri* W620-behandelten DCs. Schon bei einer Konzentration von 10^6 cfu/ml Bakterien zeichnet sich ab, dass *L. lactis* G121 mehr IL-10 induziert als *S. sciuri* W620. Noch deutlicher wird der Unterschied bei Verwendung von 10^7 cfu/ml *L. lactis* G121, wodurch mehr als das Doppelte der *S. sciuri* W620-induzierten IL-10-Konzentration erreicht werden kann. Die Expression der ICOSLG-mRNA dargestellt in Abbildung 17B, zeigt bei allen Stimuli einen ähnlichen Verlauf. Nach 3 h Stimulationszeit erhöht sich der mRNA-Gehalt in den DCs gegenüber der unstimulierten Kontrolle, wobei die LPS-Behandlung dabei den höchsten Wert erzielt und die *L. lactis* G121-inkubierten DCs den niedrigsten. Nach 6 h sinken die Expressionsniveaus bei allen Stimuli deutlich ab, bei der *S. sciuri* W620-Stimulation sogar auf einen Wert der unter der Kontrolle liegt. Eine relative Expression unterhalb der Kontrolle oder auf einem gleichen Niveau wird bei einer Inkubation mit LPS und *L. lactis* G121 erst nach frühestens 12 h sichtbar. Neben den hier gezeigten Molekülen spielt auch TGF- β eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von T_{reg} , es konnte jedoch keine Induktion von TGF- β -mRNA in humanen DCs über ein Zeitraum 12 h mittels *Real-time* PCR detektiert werden (Abb. 14B).

Eine Analyse einer möglichen T_{reg} -Polarisation erfolgte ebenfalls in dem oben erwähnten Kokultursystem. In Abbildung 18 sind die relativen Expressionsdaten von mRNAs dargestellt, die charakteristisch für eine T_{reg} -Immunantwort sind.

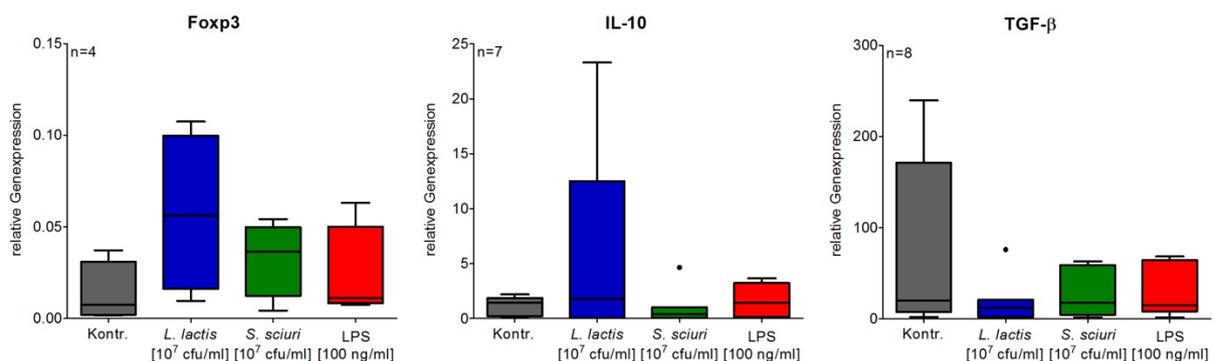


Abb. 18: Expression T_{reg} -assoziierter Gene in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen

Humane DCs wurden mit den angegebenen Stimuli für 20 h inkubiert und danach im Verhältnis 1:10 zu naiven autologen $CD4^+$ T-Zellen gegeben. Nach 5 Tagen wurden die Expressionen der gezeigten Gene relativ zu HPRT mittels *Real-time* PCR bestimmt und auf Kokulturen mit unstimulierten DCs normalisiert (Kontrolle). Dargestellt sind die gepoolten Ergebnisse von n=4-8 Spendern als Boxplot nach Tukey.

Foxp3 ist der Transkriptionsfaktor anhand dessen T_{reg} identifiziert werden, während IL-10 und TGF- β Zytokine darstellen, die von dieser TC-Subpopulation freigesetzt werden können¹³¹. Bezüglich der Foxp3-Daten lassen sich größere spenderabhängige Streuungen

erkennen, dennoch zeigt sich in der Tendenz eine geringe Erhöhung der mRNA bei allen 3 Stimuli. Auch bei dem Datensatz der IL-10-Expression der *L. lactis* G121-aktivierten Kokulturen zeichnet sich eine große spenderabhängige Schwankung ab. Eine deutliche IL-10-mRNA-Induktion kann trotz großer spenderabhängigen Schwankungen bei den Kokulturen mit *L. lactis* G121-stimulierten DCs nachgewiesen werden, in geringerem Maße ebenfalls bei den LPS-aktivierten T-Zellen. Keine Erhöhung der IL-10-mRNA hingegen erfolgte in den *S. sciuri* W620-behandelten Kokulturen, deren Expressionsniveau das der Kontroll-Kulturen nicht überschreitet. Die mRNA des immunsupprimierenden Zytokins TGF- β wird bereits in den Kontrollzellen hoch exprimiert. Werden die T-Zellen mit *L. lactis* G121-, *S. sciuri* W620- oder LPS-inkubierten DCs kokultiviert, liegt das Expressionsniveau deutlich unter dem der nicht aktivierten Kontroll-Kulturen.

Um eine potentielle Beteiligung von T_{reg}-Zellen nicht nur auf mRNA sondern auch auf Proteinebene zu analysieren, wurde die IL-10-Konzentration im Überstand der Kokulturen bestimmt. Abbildung 19A zeigt die mittels ELISA bestimmten Konzentrationen des Zytokins der einzelnen Spender als Scatterplot aufgetragen.

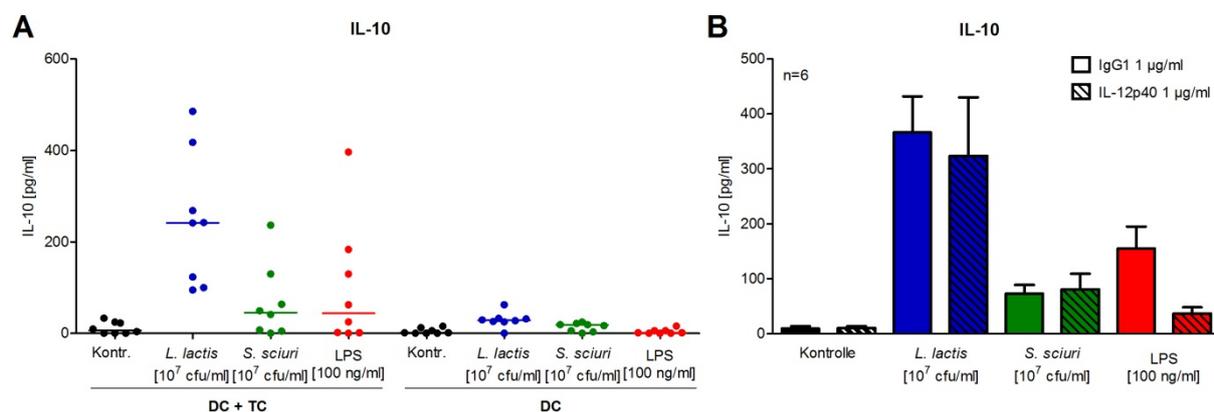


Abb. 19: Freisetzung von IL-10 in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen unter An- bzw. Abwesenheit eines neutralisierenden IL-12p40 Antikörpers

(A) Humane DCs wurden mit den angegebenen Stimuli für 20 h inkubiert und danach im Verhältnis 1:10 zu naiven autologen CD4⁺ T-Zellen gegeben oder ohne T-Zellen kultiviert. Nach 5 Tagen wurde die Kokultur mit PMA und Ionomycin für 5 h restimuliert und die Freisetzung von IL-10 mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Ergebnisse der einzelnen Spender mit Median (Balken). (B) Humane DCs wurden mit den angegebenen Stimuli für 20 h inkubiert und danach im Verhältnis 1:10 zu naiven autologen CD4⁺ T-Zellen in Anwesenheit von 1 μ g/ml neutralisierendem IL-12p40 Antikörper bzw. des entsprechenden Isotyps gegeben. Nach 5 Tagen wurde die Kokultur mit PMA und Ionomycin für 5 h restimuliert und die Freisetzung von IL-10 mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n=6 Spendern mit SEM.

Insgesamt ist die Ausschüttung von IL-10 nur sehr gering und liegt deutlich unter 1 ng/ml, was sich allerdings durch die geringe Abundanz von IL-10-produzierenden T-Zellen innerhalb der CD4⁺ T-Zellen erklären lässt. In Übereinstimmung mit den mRNA-Daten weisen die Kokulturen mit *L. lactis* G121-stimulierten DCs erhöhte IL-10-Konzentrationen auf (Abb. 19A, „DC + TC“), die eindeutig über denen der DCs lagen, die ohne T-Zellen kultiviert wurden (Abb. 19A, „DC“). Eine geringere Konzentration von IL-10 kann bei einem Teil der

Spender sowohl bei *S. sciuri* W620- als auch bei LPS-aktivierten Kokulturen nachgewiesen werden, die aber ebenfalls über denen der DCs alleine liegt. Da aus der Literatur bekannt ist, dass sowohl IL-12p70 als auch IL-23 einen Einfluss auf die Synthese von IL-10 in T-Zellen haben können^{128,122}, wurde mittels eines neutralisierenden IL-12p40 Antikörpers untersucht, ob sich die Konzentration des IL-10 im Überstand von *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen ändert. Wie in Abbildung 19B gezeigt, ist das in den T-Zellen induzierte IL-10 weder bei den *L. lactis* G121- noch bei den *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen vom IL-12p40 abhängig, da die Ausschüttung des Zytokins unter Einfluss des Antikörpers unverändert bleibt. Nur bei der Aktivierung durch LPS gibt es tendenziell weniger IL-10 wenn die Kokultur in Anwesenheit des spezifischen Antikörpers durchgeführt wurde. Eine Erhöhung der Antikörperkonzentration auf 10 µg/ml führte bei *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen ebenfalls zu keiner signifikanten Reduktion von IL-10 (Daten nicht gezeigt).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl durch eine Stimulation mit *S. sciuri* W620 als auch durch *L. lactis* G121 eine T_H1-Aktivierung favorisiert wird. Allerdings ist diese bei einer *S. sciuri* W620-Behandlung schwächer ausgeprägt und korreliert mit der bereits schwächeren Induktion eines T_H1-polarisierenden Programms in DCs. Ein Unterschied bei den Stimulationsdaten beider Bakterien besteht darin, dass im Gegensatz zu den *L. lactis* G121-Daten die Ergebnisse des *S. sciuri* W620 auch auf eine Aktivierung von T_H2-Zellen hindeuten. Die mRNA-Daten der Kokulturen deuten zusätzlich eine Polarisation von T_H17-, T_H9 und T_H22-Zellen durch DCs aktiviert mit beiden Bakterien an. Die Hinweise auf eine T_{reg}-Polarisation sind aufgrund unschlüssiger Daten nicht eindeutig, da nur eine Stimulation mit *L. lactis* G121, nicht aber mit *S. sciuri* W620 zu deutlichen Mengen IL-10 sowohl in den DCs als auch in der Kokultur führt. Ebenfalls in der Kokultur kann eine leichte Erhöhung der mRNA des T_{reg}-spezifischen Transkriptionsfaktors Foxp3 unter *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Einfluss nachgewiesen werden, allerdings fehlt eine mRNA-Induktion von TGF-β.

4.3 Beteiligte Rezeptoren bei der Allergieprotektion durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620

Im vorangegangenen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass es eine Stimulation von humanen DCs mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 zu unterschiedlichen Aktivierungsprofilen der Zellen führt. Ein Grund dafür kann die differentielle Aktivierung von PRRs und nachgeschalteter Signalwege sein. Ein weiterer Bestandteil dieser Arbeit war es somit aufzuklären, welche Rezeptoren und Mechanismen bei der Aktivierung von Immunzellen durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 eine Rolle spielen, vor allem in Hinblick auf die allergieprotektiven Eigenschaften der beiden Bakterien.

4.3.1 Beteiligung von TLR2 und NOD2 bei der Aktivierung von Zellen durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620

Um die Beteiligung von PRRs bei der zellulären Erkennung von *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620 zu untersuchen, wurde das *in vitro* System der transienten Transfektion verwendet. Dazu wurden HEK293-Zellen mit entsprechenden Plasmiden transfiziert (oder untransfiziert gelassen) und wie in Abbildung 20 gezeigt stimuliert.

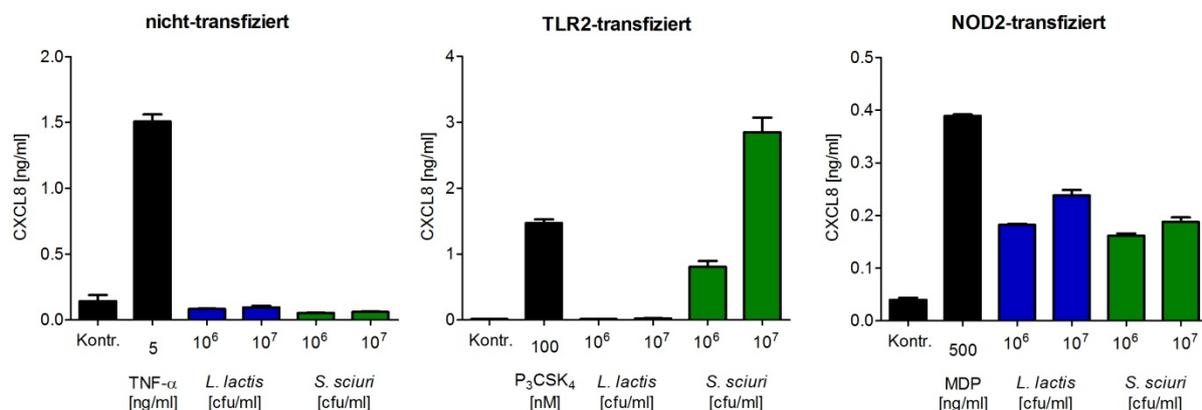


Abb. 20: Stimulation von NOD2- und TLR2-transfizierten HEK-293-Zellen

HEK293-Zellen wurden transient mit TLR2 und NOD2 Plasmiden transfiziert oder untransfiziert gelassen und anschließend mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 bzw. entsprechenden Positivkontrollen in angegebenen Konzentrationen stimuliert. Nach 18 h wurde die CXCL8-Konzentration im Überstand per ELISA bestimmt. Dargestellt sind repräsentative Daten von einem Experiment ($n \geq 5$).

Die Aktivierung der Zellen wurde anhand der CXCL8-Freisetzung bemessen. Da nicht-transfizierte HEK293-Zellen nur wenige Rezeptoren des angeborenen Immunsystems exprimieren, zeigt sowohl eine 18-stündige Behandlung mit *L. lactis* G121 als auch mit *S. sciuri* W620 keine Aktivierung dieser Zellen, während sie auf die Positivkontrolle TNF- α mit Freisetzung von CXCL8 reagieren. Die erfolgreiche Transfektion von TLR2- und NOD2-Plasmiden in HEK293-Zellen wurde durch Stimulation mit dem TLR2-Liganden P₃CSK₄ bzw. dem NOD2-Liganden MDP überprüft, welche zu einer sichtbaren CXCL8-Induktion in diesen Zellen führt. Eine hohe konzentrationsabhängige TLR2-Aktivität kann für *S. sciuri* W620 in den entsprechend transfizierten Zellen nachgewiesen werden, allerdings nicht für *L. lactis* G121, wie durch das Fehlen einer CXCL8-Induktion deutlich wird. NOD2-transfizierte Zellen zeigen von vornherein durch den Kontrollstimulus MDP eine geringere Aktivierung als TLR2-transfizierte Zellen, die sich auch durch Verwendung höherer Konzentrationen nicht steigern ließ. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache zeigen *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 eine deutliche Aktivierung der HEK293-Zellen über den intrazellulären Rezeptor NOD2. Eine Aktivität über TLR4 oder NOD1 konnte bei der Stimulation von entsprechend transfizierten

HEK293-Zellen mit den beiden Gram⁺ Bakterien, wie erwartet, nicht festgestellt werden (Daten nicht gezeigt). Da es sich bei der Transfektion von HEK293-Zellen um ein künstliches Überexpressionssystem handelt, sollte untersucht werden welche Auswirkungen der gegenteilige Effekt auf DCs hat, d.h. eine Defizienz der Rezeptoren. Um die Rolle von TLR2 zu überprüfen, wurden die DCs mit den Bakterien unter Anwesenheit eines TLR2-blockierenden Antikörpers inkubiert und die ELISA-Daten in Abbildung 21 dargestellt.

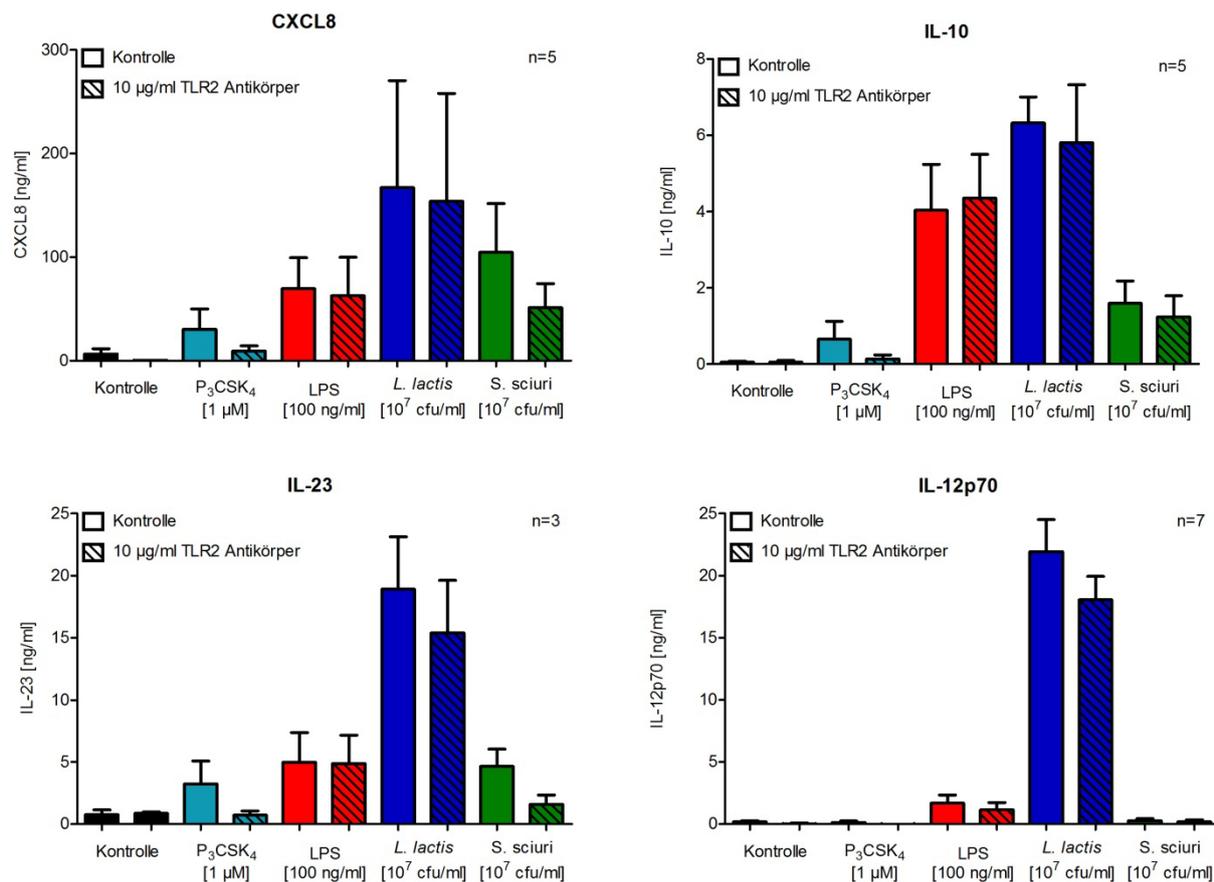


Abb. 21: Aktivierung humaner DCs nach *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 Stimulation unter Anwesenheit eines blockierenden TLR2-Antikörpers

Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS für 20 h mit bzw. ohne Zugabe von 10 µg/ml eines blockierenden TLR2-Antikörpers inkubiert. Die Freisetzung von CXCL8, IL-10, IL-23 und IL-12p70 in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n=3-7 Spendern mit SEM.

Als Positivkontrolle dient der TLR2-Ligand P₃CSK₄. Obwohl dieses synthetische Lipopeptid kein Stimulationspotential bezüglich IL-12p70 besitzt, lässt sich eine Reduktion der Zytokine CXCL8, IL-10 und IL-23 auf den DCs erkennen, wenn der TLR2-Antikörper anwesend ist. Als TLR2-unabhängige Kontrolle wurde LPS verwendet und eine Stimulation mit diesem TLR4-Liganden zeigt bei allen vier Zytokinen keine Beeinträchtigung der Induktion unter Einfluss des Antikörpers. Auch bei einer Behandlung mit *L. lactis* G121 zusammen mit dem Antikörper kann keine eindeutige Erniedrigung des Chemokins CXCL8 und der T-Zell-polarisierenden Zytokine IL-10, IL-23 und IL-12p70 nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu

den *L. lactis* G121-Daten kann die von *S. sciuri* W620-induzierte Zytokinfreisetzung von CXCL8 und IL-23 mit dem Antikörper sichtlich vermindert, jedoch nicht komplett inhibiert werden. Die Konzentration des immunregulatorischen Zytokins IL-10 hingegen, wird unter Anwesenheit des Antikörpers nicht reduziert. Somit bestätigen die Daten der humanen DCs die Ergebnisse der HEK293-Zellen, dass der *S. sciuri* W620 Liganden besitzt, die über TLR2 zur Induktion bestimmter Zytokine führt. Hingegen ist die Freisetzung aller hier gezeigten Zytokine durch Stimulation mit *L. lactis* G121 TLR2-unabhängig.

Um die Beteiligung von NOD2 bei der Aktivierung von Immunzellen durch beide Bakterien zu überprüfen wurden Maus-DCs (BMDC) stimuliert, die aus dem Knochenmark NOD2-defizienter Mäuse, bzw. als Kontrolle aus Wildtyp-Mäusen, generiert wurden. Im Allgemeinen zeigen die Wildtyp-BMDCs in Abbildung 22 ein ähnliches *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-induziertes Aktivierungsmuster bezüglich der drei hier gezeigten Zytokine, wie es bereits in humanen DCs beobachtet werden konnte und in Abbildung 7 (TNF- α), Abbildung 10 (IL-12p70) und Abbildung 14A (IL-6) dargestellt ist.

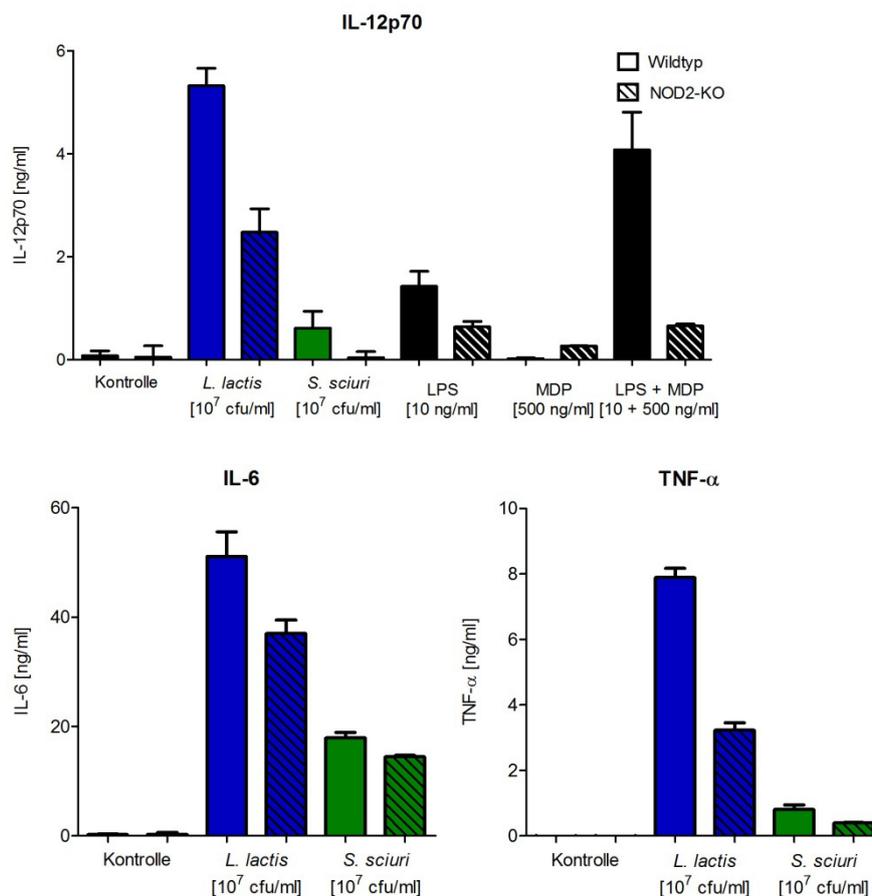


Abb. 22: Stimulation von murinen Wildtyp und NOD2-defizienten BMDC mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620

BMDCs aus Wildtyp und NOD2-Knockout (NOD2-KO) Mäusen wurden für 20 h mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 bzw. den entsprechenden Kontrollstimuli für 20 h inkubiert. Die Freisetzung von IL-12p70, IL-6 und TNF- α wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind repräsentative Daten eines Experiments (n \geq 2).

Während eine Stimulation mit *L. lactis* G121 zu einer hohen Ausschüttung aller dargestellten Zytokine führt, kann im Vergleich dazu für die Behandlung mit *S. sciuri* W620 nur IL-6 in höheren Mengen nachgewiesen werden. TNF- α wird sehr viel schwächer durch dieses Bakterium induziert als durch *L. lactis* G121 und IL-12p70 gar nicht. Um den NOD2-Knockout zu überprüfen, wurde sich der Tatsache bedient, dass BMDCs eine synergistische Aktivierung durch MDP und dem TLR4-Liganden LPS bezüglich IL-12p70 zeigen, da der NOD2-Ligand MDP alleine keine Aktivierung auf BMDCs hervorruft. So lässt sich erkennen, dass die NOD2-KO-BMDCs die gleiche Konzentration von IL-12p70 freisetzen, wenn sie mit LPS alleine und mit LPS und MDP in Kombination stimuliert werden. Im Gegensatz dazu zeigen die Wildtyp-BMDCs einen synergistischen Anstieg von IL-12p70 im Überstand, wenn LPS und MDP kombiniert verwendet werden gegenüber der LPS-Stimulation alleine. Eine Inkubation der NOD2-KO-BMDCs mit *L. lactis* G121 führt zu einer deutlichen, allerdings nicht kompletten, Reduktion der Zytokine IL-12p70 (ca. 53 %) und TNF- α (ca. 59 %) im Vergleich zu den Wildtyp-Zellen, während die Konzentration von IL-6 mit ca. 28 % vergleichsweise gering reduziert wird. Trotz der von vornherein nur sehr geringen TNF- α -Induktion nach *S. sciuri* W620-Stimulation der BMDCs wird dieses Zytokin zu ca. 51 % bei den NOD2-KO-gegenüber den Wildtyp-Zellen reduziert. Bei IL-6 ist in der Freisetzung zwischen den Zellen vom Wildtyp und den NOD2-KO-BMDCs mit ca. 19 % kein so eindeutiger Unterschied feststellbar. Anhand dieser BMDC-Daten kann festgestellt werden, dass sowohl *L. lactis* G121 als auch *S. sciuri* W620 Liganden für den intrazellulären Rezeptor NOD2 besitzen und dieser bei der Aktivierung von Zellen durch beide Bakterien eine Rolle spielt. Ein NOD2-Knockout hat allerdings auf die Zytokine IL-12p70 und TNF- α einen größeren Einfluss als auf IL-6 und die deutliche Restaktivität auf den NOD2-defizienten Zellen nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation deutet auf eine Beteiligung weiterer Rezeptoren hin.

Da Bestandteile des Peptidoglykans aus der bakteriellen Zellwand der natürliche Agonist von NOD2 sind, sollte überprüft werden, welche Rolle das Peptidoglykan bei der Aktivierung humaner DCs spielt (Abb. 23). Dazu wurden die Bakterien *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 bzw. Medium über einen Zeitraum von 10-120 min mit 1 mg/ml Lysozym behandelt, einem Enzym, welches bakterielles Peptidoglykan abbaut. Die gewaschenen Ansätze wurden anschließend für 20 h zu den DCs gegeben und die Freisetzung von TNF- α und IL-12p70 mittels ELISA gemessen. Die Konzentration des Zytokins TNF- α im Überstand bleibt nach Stimulation der Zellen sowohl mit Lysozym-inkubierten *L. lactis* G121 als auch *S. sciuri* W620 konstant, unabhängig von der Länge der Enzym-Behandlung der Bakterien. Im Gegensatz dazu resultiert die Stimulation der DCs mit Lysozym-verdauten *L. lactis* G121 in einer deutlich reduzierten Sekretion des Zytokins IL-12p70. Dabei zeigt sich, dass je länger die *L. lactis* G121 mit Lysozym inkubiert werden, desto geringer wird die IL-12p70-Konzentration im Überstand.

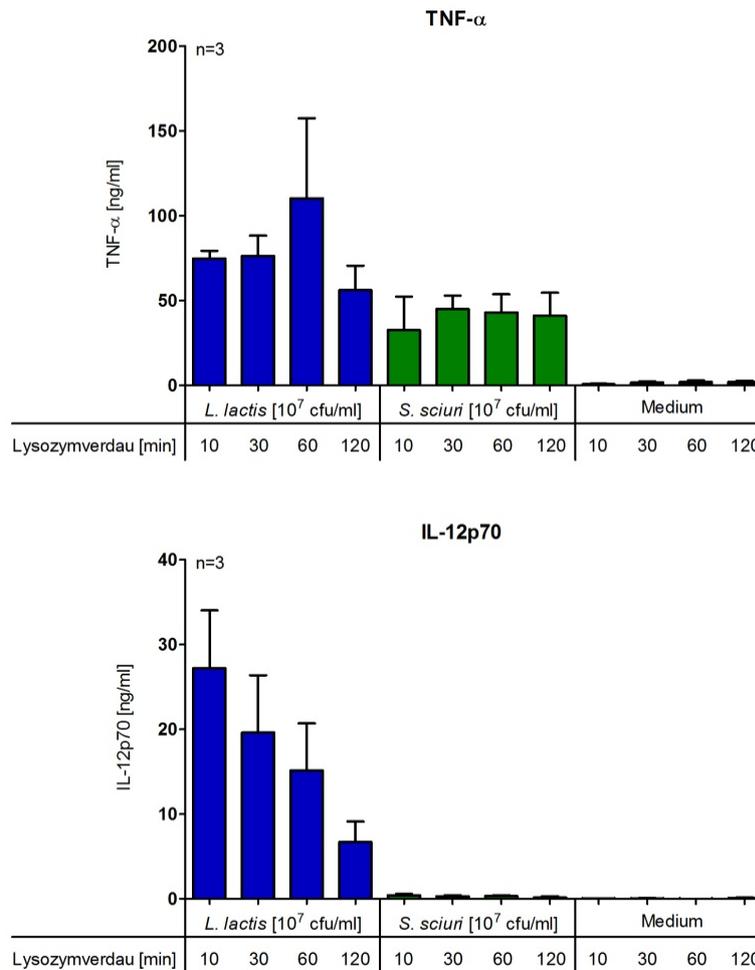


Abb. 23: Stimulation humaner DCs mit Lysozym-verdauten *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620

10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 wurden mit 1 mg/ml Lysozym für die angegebenen Zeitwerte verdaut. Anschließend wurden die Ansätze gewaschen und zu den humanen DCs gegeben. Nach 20 h wurden die Konzentrationen von TNF- α und IL-12p70 im Überstand mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus 3 Spendern mit SEM.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass in humanen DCs das Peptidoglykan bei *S. sciuri* W620-Stimulation für die Induktion von TNF- α keine Rolle spielt, wie es auch bei der *L. lactis* G121-Behandlung der Fall ist. Jedoch zeigt sich, dass dieser Membranbestandteil bei der *L. lactis* G121-induzierten IL-12p70-Sekretion von wichtiger Bedeutung sein könnte.

4.3.2 Die Aktivierung durch *L. lactis* G121, aber nicht *S. sciuri* W620, basiert auf intrazellulären Mechanismen

Da die vorangegangenen Daten vor allem bei einer Stimulation mit *L. lactis* G121 zeigen, dass der intrazelluläre Rezeptor NOD2 an der Aktivierung von Zellen beteiligt ist, sollte nun überprüft werden, ob und in welche zellulären Kompartimente die Bakterien aufgenommen werden. Dazu wurden konfokale Aufnahmen von humanen DCs gemacht, die mit *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 stimuliert wurden. Um die Bakterien unter Fluoreszenzlicht

sichtbar zu machen wurde ein Farbstoff verwendet, der neben der eukaryontischen DNA des DC-Zellkerns auch die prokaryontische DNA der Bakterien anfärbt (Abb. 24).

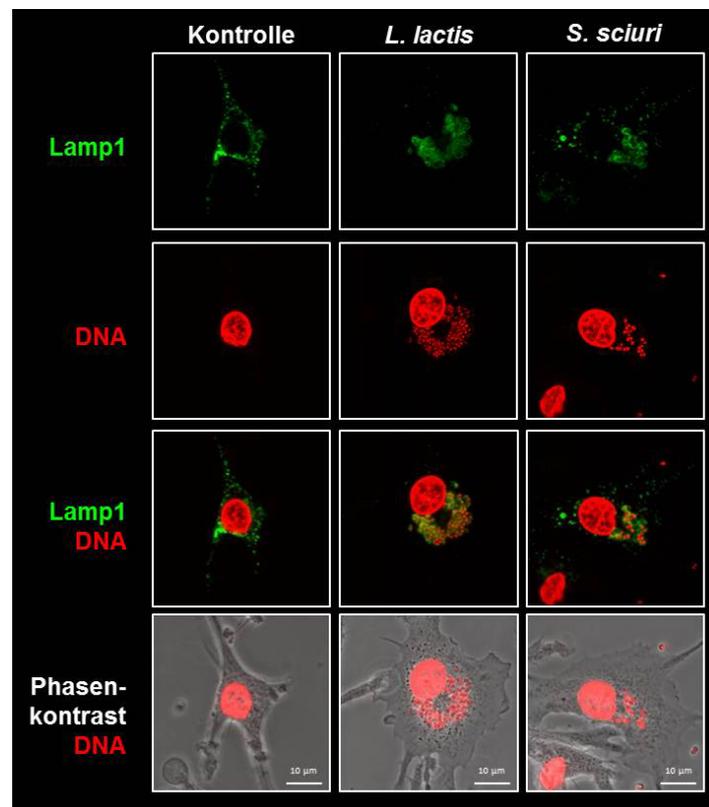


Abb. 24: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der Aufnahme von *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 und der Lokalisation in späten Endosomen

Humane DCs wurden für 4 h in μ -slides mit jeweils 2×10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 stimuliert und anschließend wie in Kapitel 3.18 beschrieben aufgearbeitet. Dargestellt ist in der Abbildung von oben nach unten: Lamp1 als Marker für späte Endosomen in Grün, DNA in Rot, die Überlagerung beider Kanäle und das Phasenkontrastbild überlagert mit dem roten DNA-Kanal. Das Ergebnis steht repräsentativ für n=3 Experimente.

Die Überlagerung der DNA-Färbung in Rot mit dem Phasenkontrastbild zeigt eine effektive Aufnahme beider Bakterienspezies in die DCs. Das in Grün dargestellte Lamp1 ist ein endosomal membranständiges Glykoprotein das als Marker für späte Endosomen dient. Es lässt sich nach 4 h Inkubationszeit als punktförmige Struktur in unstimulierten DCs (Kontrolle) nachweisen. In den Zellen, die *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 aufgenommen haben verändert sich diese Lamp1-positive Struktur in der Form, so dass es nun ringförmig um die aufgenommenen Bakterien herum liegt und teils mehrere Bakterien in einer Ringstruktur umschlossen werden. Aus diesen konfokalen Aufnahmen lässt sich schließen, dass endozytierte Bakterien in Lamp1-positive Kompartimente innerhalb der DCs gelangen. Um zu analysieren wie wichtig die Aufnahme der Bakterien für die Aktivierung von humanen DCs ist, wurden die Zellen unter Anwesenheit des Aktinskelett-Inhibitors Cytochalasin D stimuliert. Durch diese Substanz werden alle phagozytotischen Vorgänge in den Zellen blockiert. Zur Überprüfung der Funktionalität des Inhibitors wurden erneut konfokale

Aufnahmen von humanen DCs vorgenommen, die unter An- oder Abwesenheit von Cytochalasin D mit *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 stimuliert wurden (Abb. 25).

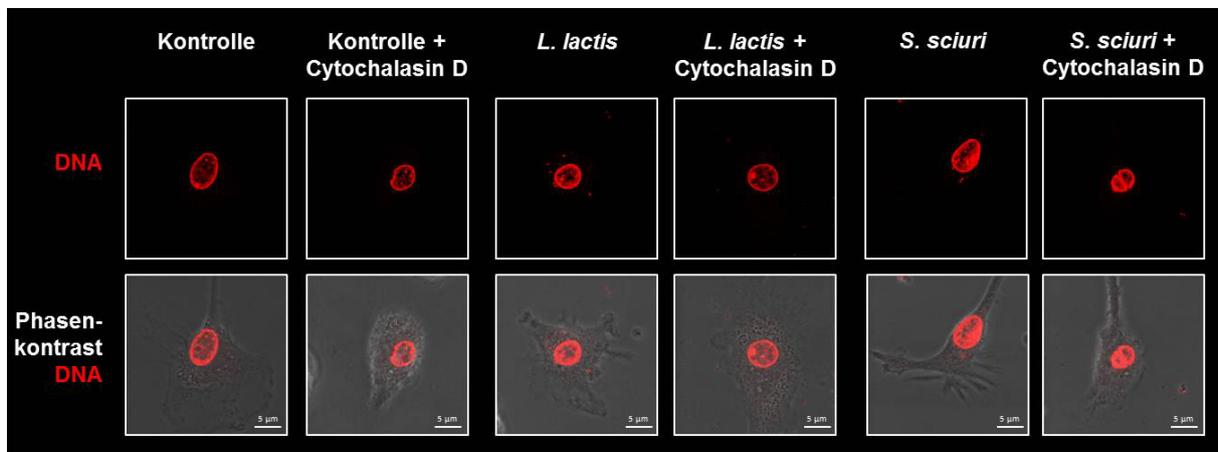


Abb. 25: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der Aufnahme von *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 in Anwesenheit des Inhibitors Cytochalasin D

Humane DCs wurden für 4 h in μ -slides mit jeweils 2×10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 mit bzw. ohne Zugabe von 1 μ M des Phagozytose-Inhibitors Cytochalasin D stimuliert und anschließend wie in Kapitel 3.18 beschrieben aufgearbeitet. Dargestellt ist die Färbung mit Hoechst 33342 (DNA) in Rot und die Überlagerung das Phasenkontrastbildes mit dem DNA-Kanal (n=1).

Bei Abwesenheit des Inhibitors (Kontrolle) sowohl *L. lactis* G121 als auch *S. sciuri* W620 in die DCs aufgenommen werden, wie es auch bereits in der vorangegangenen Abbildung gezeigt werden konnte. Findet die Stimulation jedoch in Anwesenheit von Cytochalasin D statt, so können beide Bakterienspezies nicht mehr in dem Zytoplasma der DCs nachgewiesen werden. Somit zeigt sich, dass die gewählte Konzentration von 1 μ M Cytochalasin D ausreicht, um eine effektive Blockierung der Bakterienaufnahme zu bewirken.

Welche Auswirkungen eine Blockierung der Aufnahme der Bakterien auf die Zytokinfreisetzung aus humanen DCs während einer Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 hat, ist in Abbildung 26 dargestellt. Hierfür wurden die DCs in Anwesenheit des Inhibitors Cytochalasin D mit den Bakterien inkubiert und die Konzentration der entsprechenden Zytokine im ELISA bestimmt. Als Negativkontrolle dient das Endozytose-unabhängige LPS. Dieses zeigt bei den induzierten Zytokinen CXCL8, IL-6 und IL-23 eine unveränderte Konzentrationen im Vergleich der Cytochalasin D- zu den Medium-inkubierten Stimulationsansätzen. Im Gegensatz dazu führt eine Behandlung mit Cytochalasin D bei *L. lactis* G121-stimulierten DCs zu einer deutlichen Reduktion der Freisetzung aller aufgeführten Zytokine. Während allerdings bei den Zytokinen CXCL8 und IL-6 eine Restaktivität des Bakteriums unter Einfluss des Inhibitors zu beobachten ist, kann die Ausschüttung von IL-12p70 und IL-23 nahezu komplett auf Kontrollniveau gesenkt werden.

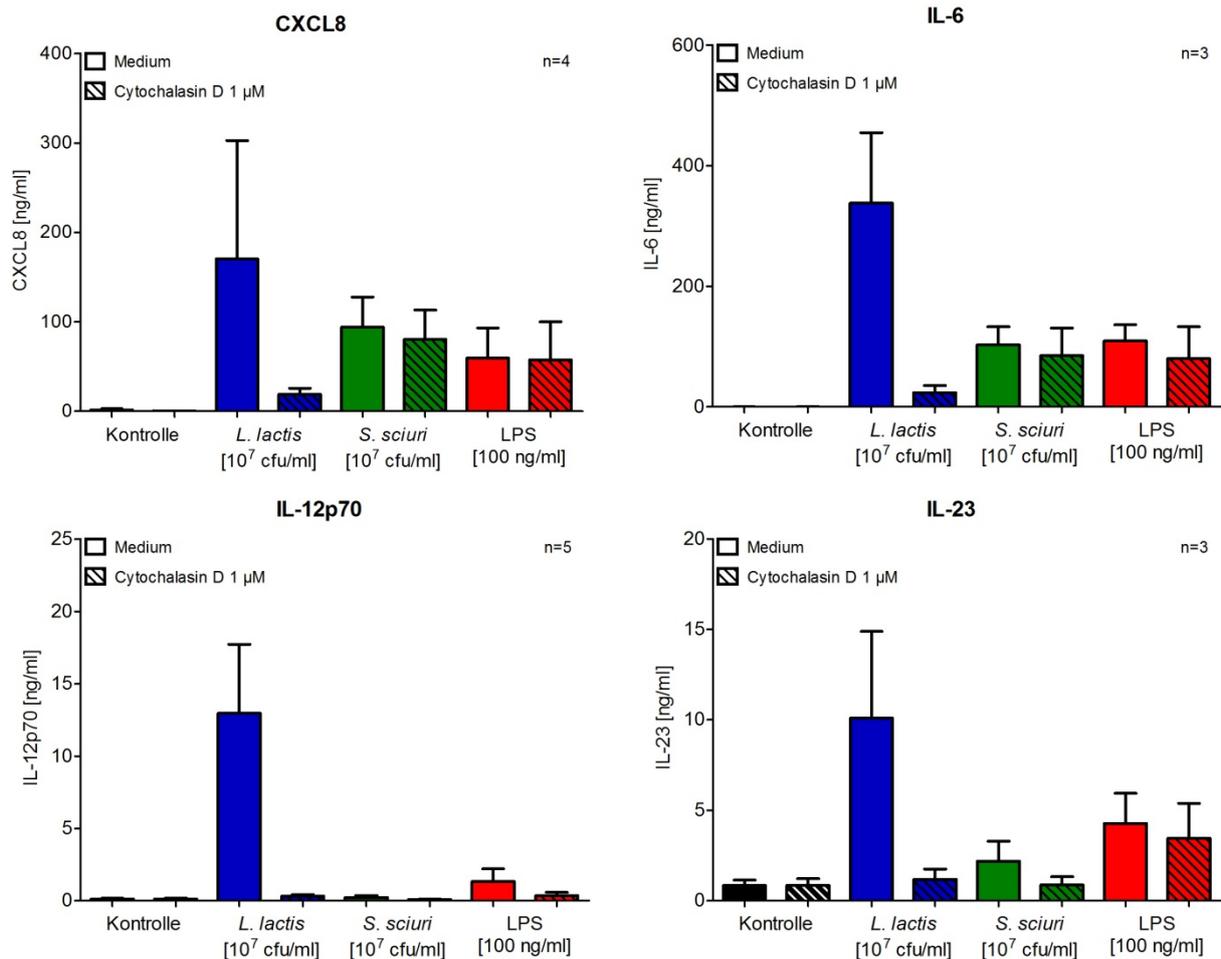


Abb. 26: Aktivierung humaner DCs nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation bei Inhibition der Endozytose

Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS für 20 h mit bzw. ohne Zugabe des Phagozytose-Inhibitors 1 µM Cytochalasin D inkubiert. Die Freisetzung von CXCL8, IL-6, IL-12p70 und IL-23 in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n=3-5 Spendern mit SEM.

Auch eine simultane Stimulation der DCs mit *S. sciuri* W620 und Cytochalasin D führt zu einer leichten Reduktion der CXCL8 Konzentration im Vergleich zu der Medium-Kontrolle, allerdings bleibt die Freisetzung von IL-6 im Gegensatz zu den *L. lactis* G121-inkubierten DCs unbeeinflusst vom Inhibitor. Obwohl das Zytokin IL-23 durch *S. sciuri* W620 schwächer induziert wird als durch *L. lactis* G121, lässt sich auch hier eine tendenzielle Reduktion auf Niveau der unstimulierten Zellen feststellen.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass für die Freisetzung der Zytokine IL-12p70 und IL-23 nach *L. lactis* G121-Stimulation eine Aufnahme dieser Bakterien notwendig ist, während die Ausschüttung von IL-6 und CXCL8 zwar deutlich, aber nicht komplett von einer Phagozytose abhängig ist. Auch bei *S. sciuri* W620 gibt es Hinweise, dass eine Aufnahme des Bakteriums in die Zellen für die Freisetzung bestimmter Zytokine von Bedeutung ist, wie die verminderten Ausschüttungen von CXCL8 und IL-23 unter Einfluss von Cytochalasin D zeigen. Allerdings ist die Abhängigkeit für die Freisetzung von CXCL8 nicht so ausgeprägt

wie es bei einer *L. lactis* G121-Stimulation der Fall ist, und die Induktion des Zytokins IL-6 durch dieses Bakterium zeigt sich gänzlich Phagozytose-unabhängig.

Da der Ausbildung später Endosomen eine Verschmelzung der frühen Endosomen mit Lysosomen und damit der Herabsetzung des pH-Wertes in den sauren Bereich vorangeht, sollte überprüft werden, welchen Rolle die endosomale Ansäuerung bei der Aktivierung von DCs bei *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-induzierter DC-Aktivierung hat. Dazu wurde als erstes mittels konfokaler Mikroskopie überprüft, ob sich eine Kolo-kalisation der beiden Bakterien mit angesäuerten Kompartimenten findet. Als Indikator für niedrigen pH-Wert wurde dazu LysoTracker verwendet, ein Farbstoff, der in niedrigem pH akkumuliert und dadurch ein messbares fluoreszierendes Signal entstehen lässt. Die Abbildung 27 zeigt konfokale Aufnahmen von humanen DCs, die mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 stimuliert und mit LysoTracker und dem DNA-Farbstoff Hoechst 33342 gefärbt wurden.

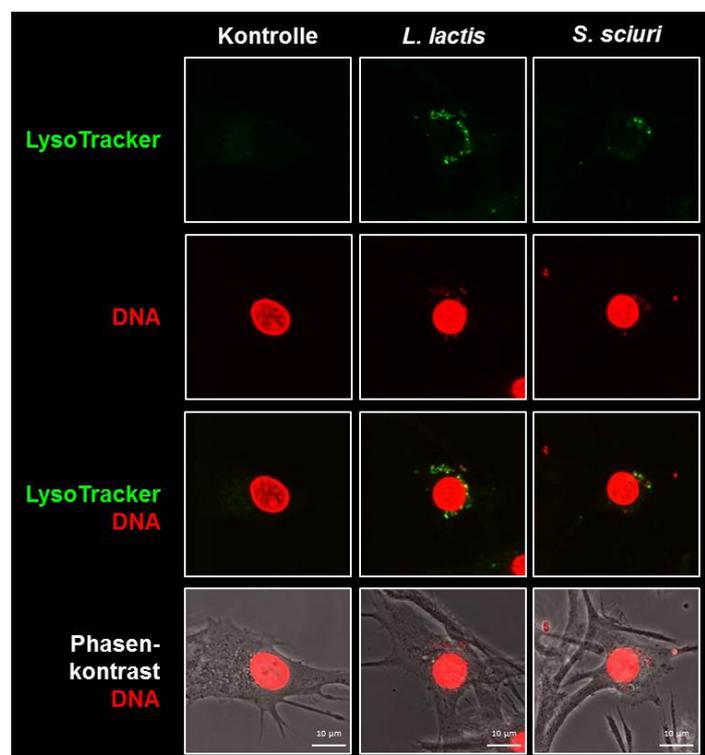


Abb. 27: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der Aufnahme von *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 in Kompartimente mit saurem pH

Humane DCs wurden für 4 h in μ -slides mit jeweils 2×10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 stimuliert und anschließend wie in Kapitel 3.18 beschrieben aufgearbeitet. Dargestellt ist in der Abbildung von oben nach unten: LysoTracker als Marker für sauren pH in Grün, DNA in Rot, die Überlagerung beider Kanäle und das Phasenkontrastbild überlagert mit dem roten DNA-Kanal. Das Ergebnis steht repräsentativ für n=4 Experimente.

Wie bereits in Abbildung 24 dargestellt, lässt sich auch hier anhand der Überlagerung des Phasenkontrastbildes mit der DNA-Färbung eine Endozytose der Bakterien, deren DNA als rote Punkte neben dem Zellkern zu erkennen ist, nachweisen. Die Färbung saurer Zellkompartimente mit LysoTracker ist als punktförmige, grüne Struktur in den Zellen

dargestellt und zeigt eine deutliche Kolokalisation mit den in den Zellen liegenden Bakterien. Diese Beobachtung konnte nach 4 h Inkubationszeit gemacht werden, d.h. nach dem gleichen Zeitraum, in dem sich die meisten endozytierten Bakterien in Lamp1-positiven Zellkompartimenten nachweisen lassen (Abb. 24). Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass sowohl *L. lactis* G121 als auch *S. sciuri* W620 als augenscheinlich ganze Bakterienzellen in späte Endosomen gelangen.

Durch Verschmelzung der Endosomen mit Vesikeln des trans-Golgi-Netzwerkes werden Enzyme in die späten Endosomen eingebracht, die zusammen mit der Erniedrigung des pH-Wertes durch Fusion mit Lysosomen einen Verdau der Bakterien ermöglichen. Dieser Vorgang wiederum kann zu einer Aktivierung von endosomalen Rezeptoren führen. Inwiefern dieser Ablauf von Bedeutung für die Reifung und Aktivierung humaner DCs ist, sollte mittels Verwendung des Inhibitors Bafilomycin A1 geklärt werden. Diese Substanz blockiert die V-ATPase, die als Protonenpumpe dient, und verhindert somit die Absenkung des pH-Wertes in den Endosomen. Um die Funktionalität des Inhibitors zu überprüfen und sicherzustellen, dass keine Beeinträchtigung der Endozytose der Bakterien durch ihn vorliegt, wurden erneut konfokale Aufnahmen *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620-stimulierter DCs gemacht (Abb. 28).

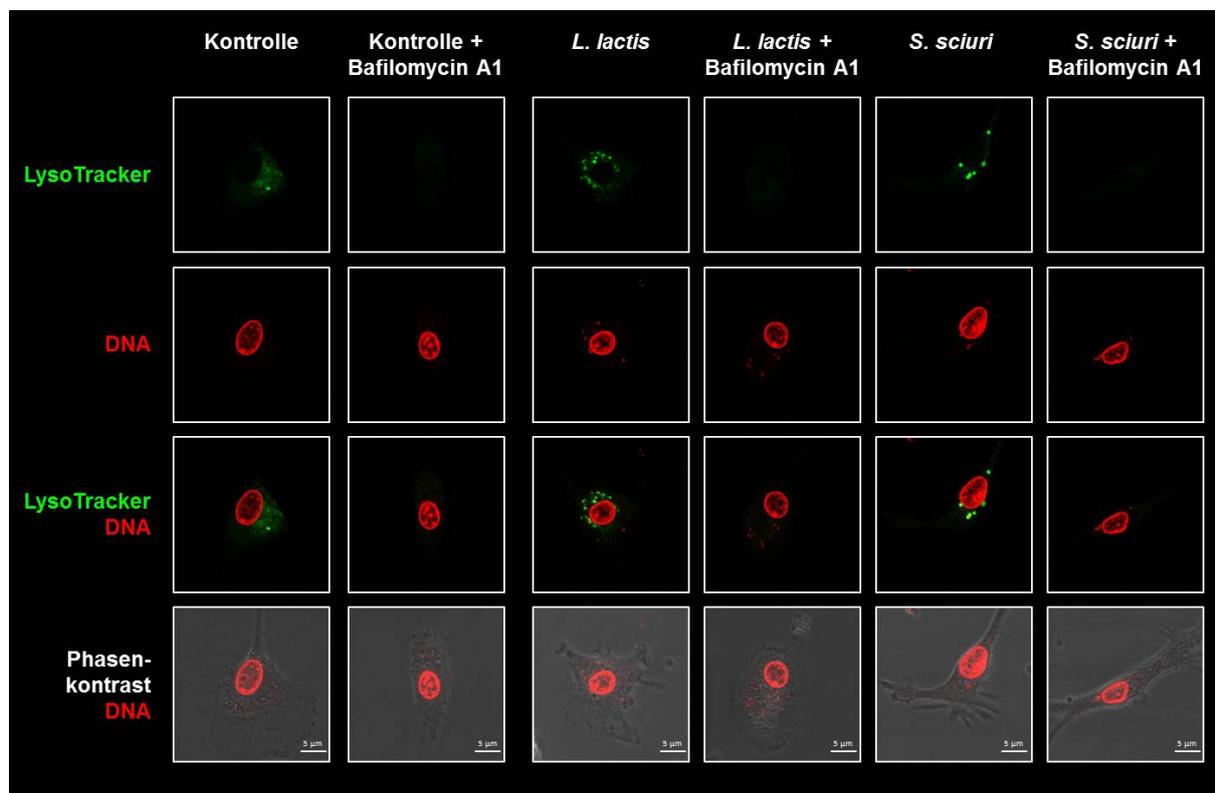


Abb. 28: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der Aufnahme von *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 in Anwesenheit des Inhibitors Bafilomycin A1

Humane DCs wurden für 4 h in μ -slides mit jeweils 2×10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 mit bzw. ohne Zugabe von 10 nM des Inhibitors Bafilomycin A1 stimuliert und anschließend wie in Kapitel 3.18 beschrieben aufgearbeitet. Dargestellt ist in der Abbildung von oben nach unten: LysoTracker als Marker für sauren pH in Grün, DNA in Rot, die Überlagerung beider Kanäle und das Phasenkontrastbild überlagert mit dem roten DNA-Kanal. Das Ergebnis steht repräsentativ für n=4 Experimente.

Die Überlagerungen der Phasenkontrastbilder mit der DNA-Färbung in Rot zeigen, dass Bafilomycin A1-behandelte DCs sowohl *L. lactis* G121 als auch *S. sciuri* W620 in gleichem Maße phagozytieren wie die Kontrollzellen. Wie bereits in Abbildung 27 gezeigt, kolokalisiert auch hier die in grün dargestellte LysoTracker-Färbung bei den Kontroll-DCs mit den aufgenommenen Bakterien. Werden die Zellen unter Anwesenheit von Bafilomycin A1 mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 stimuliert, so kann keine Kolokalisation mehr nachgewiesen werden, da keine Anfärbung mit LysoTracker erfolgt ist. Da dieser Farbstoff nur bei niedrigem pH-Wert akkumuliert und ein messbares Fluoreszenzlicht erzeugt, kann daraus geschlossen werden, dass die Bakterien zwar trotz Bafilomycin A1-Behandlung von den DCs aufgenommen werden, aber die hier gewählte Konzentration von 10 nM Bafilomycin A1 ausreicht, damit keine Ansäuerung der Bakterien-beinhaltenden Kompartimente mehr stattfindet.

Anhand der Oberflächenexpression von kostimulatorischen Molekülen sollte nun untersucht werden, inwiefern die Inhibierung der Ansäuerung einen Einfluss auf die Reifung der DCs nach *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620-Stimulation hat.

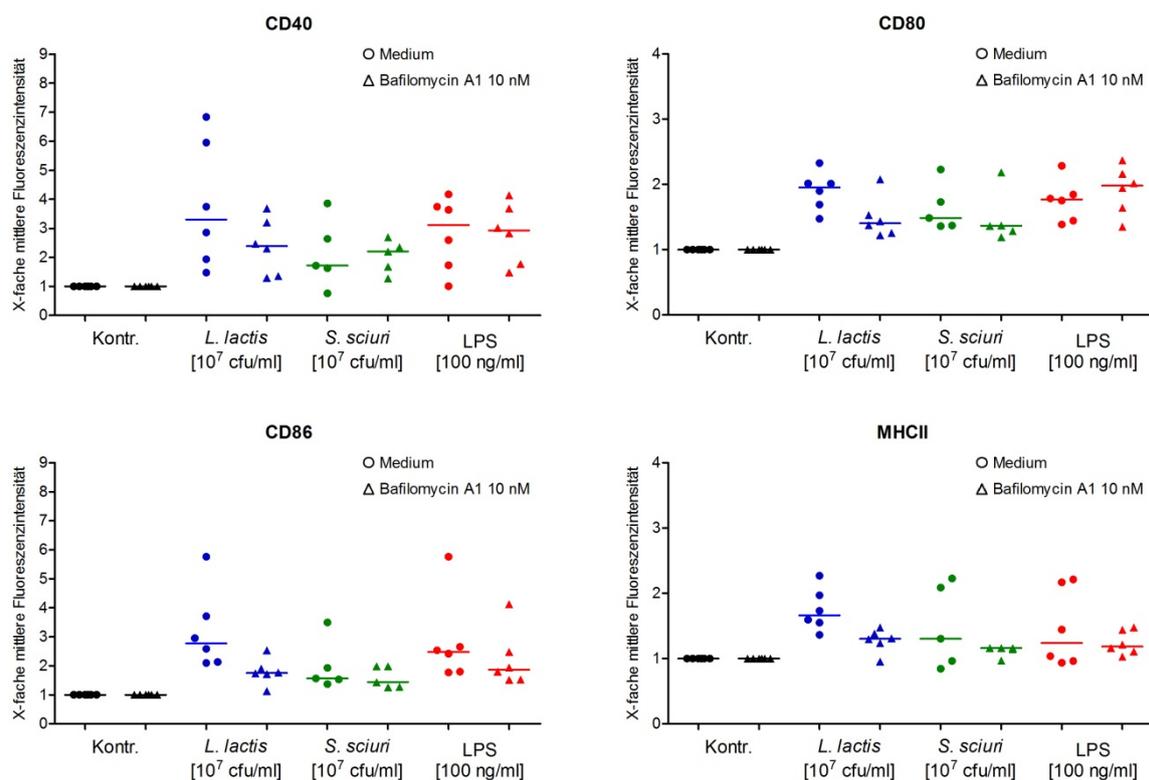


Abb. 29: Expression kostimulatorischer Moleküle nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation unter Anwesenheit von Bafilomycin A1 auf humanen DCs

Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS für 20 h mit bzw. ohne Zugabe von 10 nM Bafilomycin A inkubiert. Die Oberflächenexpression von CD40, CD80, CD86 und MHCII wurde mittels FACS bestimmt. Dargestellt sind die mittleren Fluoreszenzwerte der einzelnen Spender normalisiert auf die Werte der unstimulierten Kontrollen. Die Balken zeigen die Mediane an.

Dazu wurde mittels FACS-Färbung die Expression der Reifungsmarker CD40, CD80, CD86 und MHCII von Bafilomycin A1-behandelten im Vergleich zu Medium-behandelten DCs analysiert und die auf die Kontrollen normalisierten mittleren Fluoreszenzwerte als Scatterplot in Abbildung 29 aufgeführt. Wie schon in Abbildung 8 gezeigt, führt eine Stimulation mit beiden Bakterien und LPS, das als Kontrollstimuli verwendet wird, zu einem teils unterschiedlich starkem Anstieg der Expression aller gezeigten Moleküle auf der Oberfläche der Zellen. Werden die humanen DCs in Anwesenheit von Bafilomycin A1 mit diesen Stimuli inkubiert, zeigen sich jedoch deutliche Unterschiede. So kann bei den DCs, die den *L. lactis* G121 und den Inhibitor simultan erhalten haben die Expression der Moleküle CD40, CD80, CD86 und MHCII sichtbar reduziert werden, im Vergleich zu den nicht Bafilomycin A1-behandelten und *L. lactis* G121-stimulierten Kontrollen. Bis auf das Molekül CD86, welches nach LPS-Stimulation unter Bafilomycin A1-Einfluss ähnlich reduziert wird wie es bei *L. lactis* G121 der Fall ist, kann dieser Effekt bei allen anderen kostimulatorischen Molekülen bei den LPS-aktivierten DCs nicht nachgewiesen werden. Auch bei der Aktivierung durch *S. sciuri* W620 bleibt das Expressionsniveau unter Bafilomycin A1-Einfluss ähnlich zu dem der nicht Inhibitor-behandelten Kontrollen. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass die Reifung der DCs bei Betrachtung von CD40, CD80, CD86 und MHCII nach *L. lactis* G121-Stimulation stark von der endosomalen Ansäuerung anhängig ist. Für eine *S. sciuri* W620-induzierte Reifung wird dieser Vorgang nicht benötigt. Dieses trifft ebenso weitestgehend für eine Aktivierung durch LPS zu.

Ob die Inhibierung der Ansäuerung durch Bafilomycin A1 die Zytokinfreisetzung von DCs beeinflusst, wurde mittels ELISA untersucht und in Abbildung 30 dargestellt. Als Positivkontrolle in diesen Versuchen dient CL097, ein TLR7/8 Ligand, da eine Aktivierung dieser intrazellulären Rezeptoren von der Ansäuerung der Endosomen abhängig ist um eine Zytokinfreisetzung in DCs zu induzieren^{132,133}. Werden die humanen DCs mit diesem Liganden inkubiert, kommt es zur Ausschüttung größerer Mengen CXCL8 und TNF- α sowie geringer Mengen IL-23. Vor allem bei den Zytokinen TNF- α und IL-23 wird deutlich, dass die Freisetzung durch Anwesenheit von Bafilomycin A1 während der CL097-Stimulation bis auf Kontrollniveau reduziert wird, während CXCL8 noch in geringen Mengen vorhanden bleibt. Im Gegensatz dazu kann bei einer simultanen Inkubation der DCs mit dem extrazellulär aktivierenden TLR4-Liganden LPS und Bafilomycin A1 bei keinem der dargestellten Zytokine eine solche Erniedrigung der Freisetzung beobachtet werden. Diese Ergebnisse bestätigen die Spezifität des Inhibitors für Rezeptoren, deren Aktivierung von der endosomalen Ansäuerung abhängig ist.

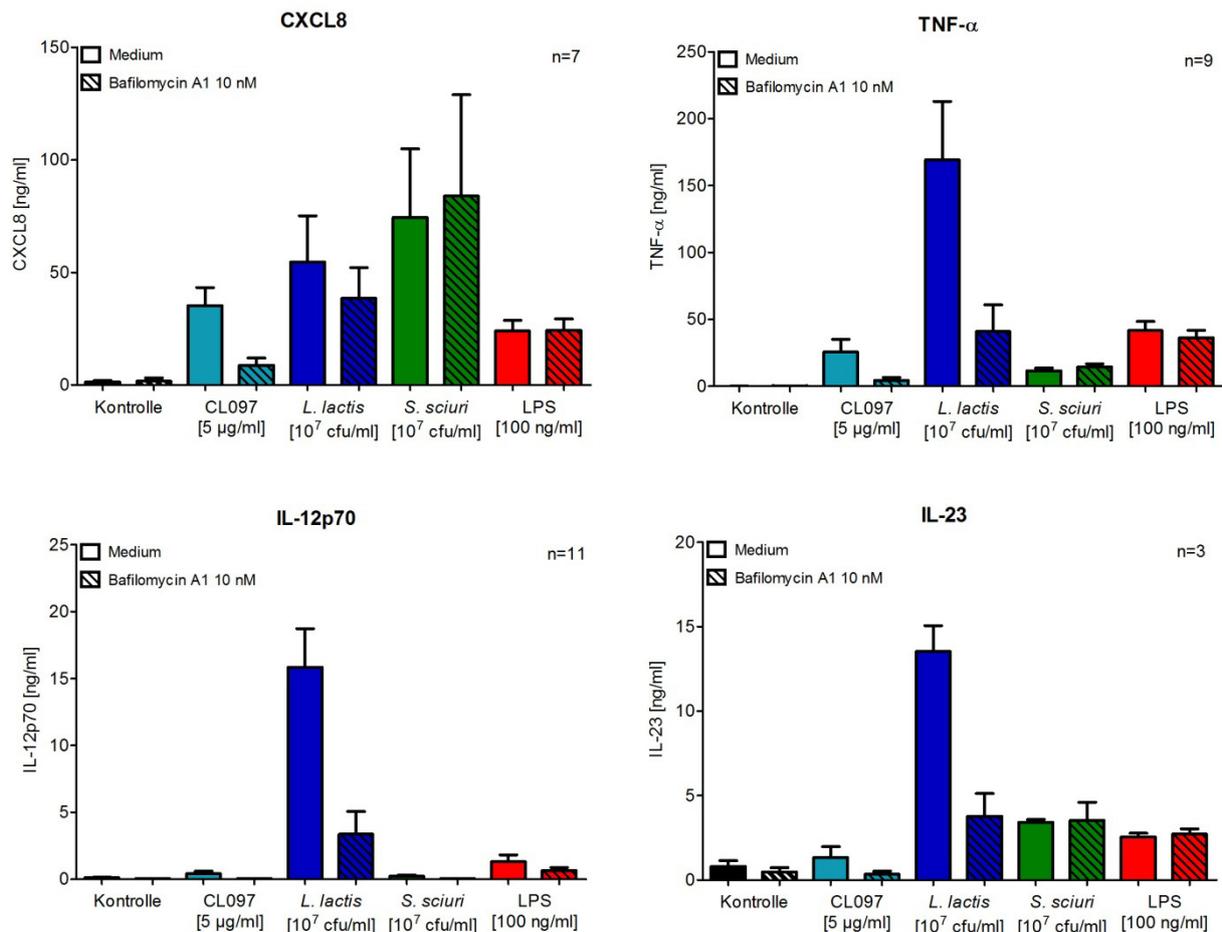


Abb. 30: Aktivierung humaner DCs nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation bei Inhibierung der endosomal Ansäuerung

Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620 und LPS für 20 h mit bzw. ohne Zugabe von 10 nM Bafilomycin A1 inkubiert. Die Freisetzung von CXCL8, TNF- α , IL-12p70 und IL-23 in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n=3-11 Spendern mit SEM.

Ähnlich wie die ELISA-Daten der LPS-stimulierten DCs zeigen auch die *S. sciuri* W620-Daten keine Verminderung der Konzentration unter Inhibitor-Einfluss bei den induzierten Zytokinen CXCL8, TNF- α und IL-23. Bei den *L. lactis* G121-behandelten DCs hingegen ist eine deutliche Bafilomycin A1-abhängige Inhibierung der Freisetzung von TNF- α und IL-12p70 wie auch bei IL-23 zu erkennen, jedoch nicht bei dem Zytokin CXCL8. Eine Bafilomycin-Sensitivität bei der *L. lactis* G121-Stimulation kann auch bei den Zytokinen IL-10 und IL-6 beobachtet werden, während die Freisetzung dieser Zytokine durch *S. sciuri* W620-Behandlung ebenfalls unbeeinflusst sind (Daten nicht gezeigt).

Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass die Induktionen vor allem der T-Zell-polarisierenden Zytokine TNF- α , IL-12p70 und IL-23 durch Stimulation mit *L. lactis* G121 in starkem Maße von einer endosomal Ansäuerung abhängig sind während das Chemokin CXCL8 auch ohne diesen Prozess in deutlicher Menge freigesetzt wird. Damit werden große Unterschiede zu den *S. sciuri* W620-behandelten DCs deutlich, auf die das Bafilomycin keinen Einfluss hat. Dies lässt den Schluss zu, dass dieses Bakterium unabhängig von endosomal

Ansäuerungsprozessen und damit verbundenen Rezeptoraktivierungen die Freisetzung von Zytokinen in humanen DCs induziert.

Wie durch mehrere Arbeitsgruppen untersucht wurde, spielen die NF- κ B-Untereinheiten p50 und cRel eine entscheidende Rolle bei der Induktion der T_H1-polarisierenden Zytokine IL-12p70 und IL-23¹³⁴⁻¹³⁶. Da das Bafilomycin A1 einen starken inhibierenden Effekt auf die Freisetzung dieser Zytokine nach einer *L. lactis* G121-Stimulation hat, wurde mittels konfokaler Aufnahmen untersucht, ob der Inhibitor bereits die Translokation dieser NF- κ B-Untereinheiten beeinflusst. Als Bafilomycin A1-unabhängige Kontrolle dient in diesem Fall die Stimulation mit *S. sciuri* W620. Nach 4 h Stimulationszeit lässt sich sowohl durch *L. lactis* G121 als auch durch *S. sciuri* W620 eine Translokation von p50 und cRel in die Nuklei der in Abbildung 31 dargestellten humanen DCs nachweisen.

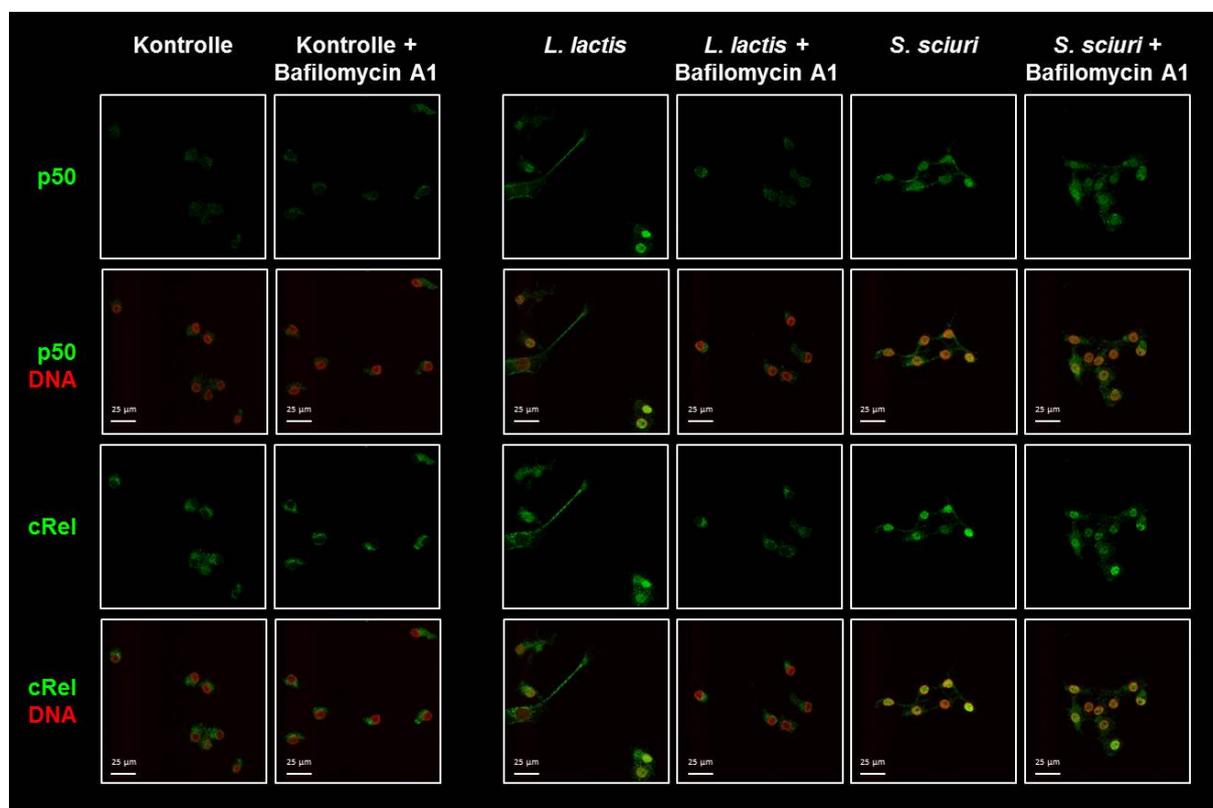


Abb. 31: NF- κ Bp50 und cRel Translokation in den Zellkern humaner DCs nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation in An- und Abwesenheit von Bafilomycin A1

Humane DCs wurden für 4 h in μ -slides mit jeweils 10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 mit bzw. ohne Zugabe von 10 nM des Inhibitors für Ansäuerung Bafilomycin A1 stimuliert und anschließend wie in Kapitel 3.18 beschrieben aufgearbeitet. Dargestellt ist in der Abbildung von oben nach unten: NF- κ Bp50 in Grün, p50 überlagert mit dem roten DNA-Kanal, cRel in Grün und cRel überlagert mit dem roten DNA-Kanal. Das Ergebnis steht repräsentativ für n=3 Experimente.

Dabei fällt aufgrund der p50/cRel Doppelfärbung auf, dass Zellkerne, in die die Untereinheit p50 transloziert wurde, zum gleichen Zeitpunkt ebenfalls cRel-positiv sind. Werden die DCs unter Anwesenheit von Bafilomycin mit *L. lactis* G121 stimuliert, wird die Translokation beider NF- κ B-Untereinheiten blockiert, während der Inhibitor keinen Einfluss auf den Transport von

p50 und cRel in die Nuclei bei einer Stimulation mit *S. sciuri* W620 hat. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die verminderte Freisetzung der T-Zell-polarisierenden Zytokine bei Inhibierung der endosomalen Ansäuerung nach *L. lactis* G121-Stimulation bereits auf eine fehlende Translokation entsprechender Transkriptionsfaktoren in den Zellkern zurückzuführen ist.

Da das Bafilomycin A1 einen starken Einfluss auf *L. lactis* G121-induzierte T-Zell-polarisierende Zytokine besitzt, wurde untersucht, welchen Einfluss die Inhibierung der endosomalen Ansäuerung auf die IFN- γ und IL-10 Freisetzung in der Kokultur hat. Dazu wurden die DCs unter An- bzw. Abwesenheit von Bafilomycin A1 mit den in Abbildung 32 dargestellten Stimuli inkubiert, gewaschen und zu autologen naiven CD4⁺ T-Zellen gegeben.

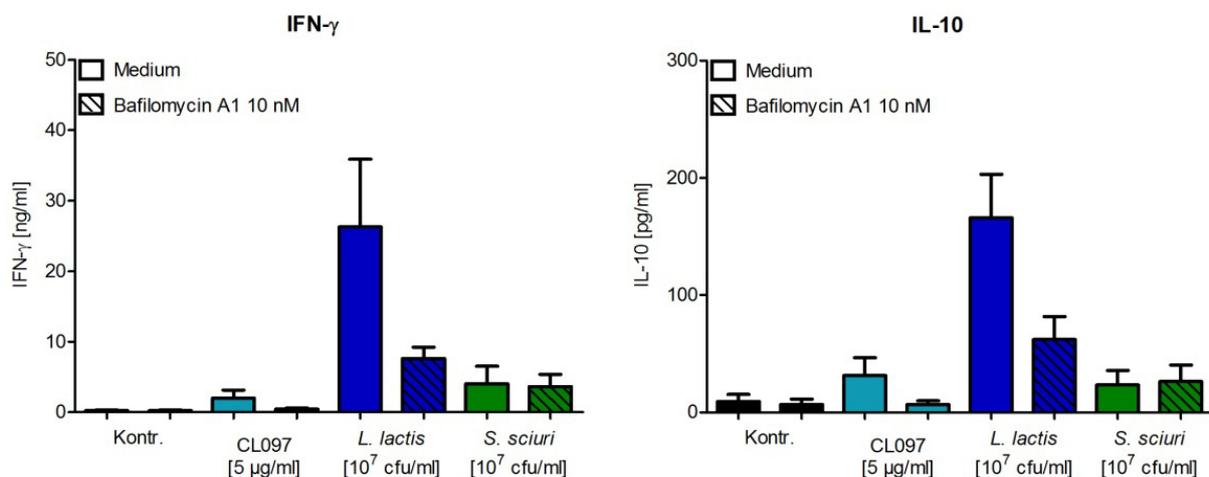


Abb. 32: Freisetzung von IFN- γ und IL-10 in humanen DC/T-Zell Kokulturen unter Einfluss des Inhibitors Bafilomycin A1

Humane DCs wurden mit den angegebenen Stimuli für 20 h mit oder ohne Zugabe von Bafilomycin A1 inkubiert und danach im Verhältnis 1:10 zu naiven autologen CD4⁺ T-Zellen gegeben. Nach 5 Tagen wurde die Kokultur mit PMA und Ionomycin für 5 h restimuliert und die Freisetzung von IFN- γ und IL-10 mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus $n \geq 4$ Spendern mit SEM.

Nach 5 Tagen wurde die Kokultur mit PMA und Ionomycin restimuliert und die Konzentration von IFN- γ und IL-10 im Überstand bestimmt. Der TLR7/8 Ligand CL097 führt ebenso wie die *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen zu erhöhter IFN- γ und IL-10-Konzentration im Vergleich zu den unstimulierten Kontroll-Kokulturen. Die Induktion beider Zytokine durch CL097 kann durch Bafilomycin A1-Behandlung auf Kontrollniveau verringert werden. Ein sehr ähnlicher Einfluss des Inhibitors auf die IL-10- und IFN- γ -Ausschüttung wird bei den *L. lactis* G121-aktivierten Kokulturen deutlich. Auch hier kann die Freisetzung beider Zytokine durch Blockierung der endosomalen Ansäuerung erheblich gesenkt werden. Im Gegensatz dazu hat das Bafilomycin A1 keinen Einfluss auf IFN- γ und IL-10 in Kokulturen, die mit *S. sciuri* W620-stimulierten DCs inkubiert wurden. Somit zeigt sich, dass die endosomale Ansäuerung bei *L. lactis* G121-stimulierten DCs ebenfalls eine entscheidende Rolle bei Freisetzung der aus T-Zellen stammenden Zytokine IFN- γ und IL-10 in der Kokultur

spielt. Dieser Effekt ist bei einer Aktivierung der Kokulturen durch den Bafilomycin A1-unabhängigen Stimulus *S. sciuri* W620 nicht nachweisbar.

Die Ergebnisse dieses Abschnitts zeigen, dass eine Stimulation durch das Gram⁺ Bakterium *S. sciuri* W620 den membranständigen TLR2 sowie den zytosolischen NOD2 aktiviert. Im Gegensatz dazu zeigt eine Stimulation mit dem Gram⁺ Bakterium *L. lactis* G121 zwar eine NOD2-, aber keinerlei TLR2-Aktivität und sowohl Reifung als auch Freisetzung von T-Zell polarisierenden Zytokinen wie IL-12p70 und IL-10 von DCs sind von einer phagozytotischen Aufnahme der Bakterien und Ansäuerung der Endosomen abhängig. Damit einhergehend wird ebenfalls die Ausschüttung der Zytokine IFN- γ und IL-10 aus T-Zellen verringert, wenn sie mit DCs inkubiert werden, die mit *L. lactis* G121 und Bafilomycin A1 stimuliert wurden.

4.3.3 Der intrazelluläre TLR8 ist an der Aktivierung durch *L. lactis* G121 beteiligt

Wie im vorangegangenen Abschnitt gezeigt, spielen bei der Aktivierung von DCs durch *L. lactis* G121 intrazelluläre Rezeptoren eine Rolle, die abhängig sind von der Erniedrigung des endosomalen pH-Wertes. NOD2 konnte als ein Rezeptor für *L. lactis* G121 identifiziert werden und andere Arbeitsgruppen waren in der Lage zu zeigen, dass eine Aktivierung durch den NOD2-Ligand MDP über endosomale Ansäuerung verläuft^{137,138}. Jedoch wiesen die NOD2-KO-BMDCs eine starke Restaktivität nach Stimulation mit diesem Bakterium auf und MDP alleine induziert kein IL-12p70 in humanen DCs (Daten nicht gezeigt), was auf eine Involvierung weiterer intrazellulärer Rezeptoren hinweist. Eine Aktivierung über die endosomalen Rezeptoren TLR3, 7, 8 und 9 setzt ebenfalls eine Ansäuerung der Endosomen voraus⁵⁶. Aus diesem Grund wurde untersucht, ob diese TLRs bei einer *L. lactis* G121-vermittelten Stimulation von Bedeutung sind. Die Rolle von TLR3, 7 und 9 wurde durch Verwendung von BMDCs aus TLR3/7/9-KO-Mäusen überprüft. Diese wurden wie in Abbildung 33 angegeben stimuliert und anschließend die Freisetzung der Zytokine IL-6, TNF- α und IL-12p70 mittels ELISA gemessen. Durch die ausbleibende IL-6-Induktion bei den TLR3/7/9-KO-BMDCs konnte der Knockout durch die TLR-Liganden Poly I:C (TLR3), CL097 (TLR7) und ODN1826 (TLR9) verifiziert werden.

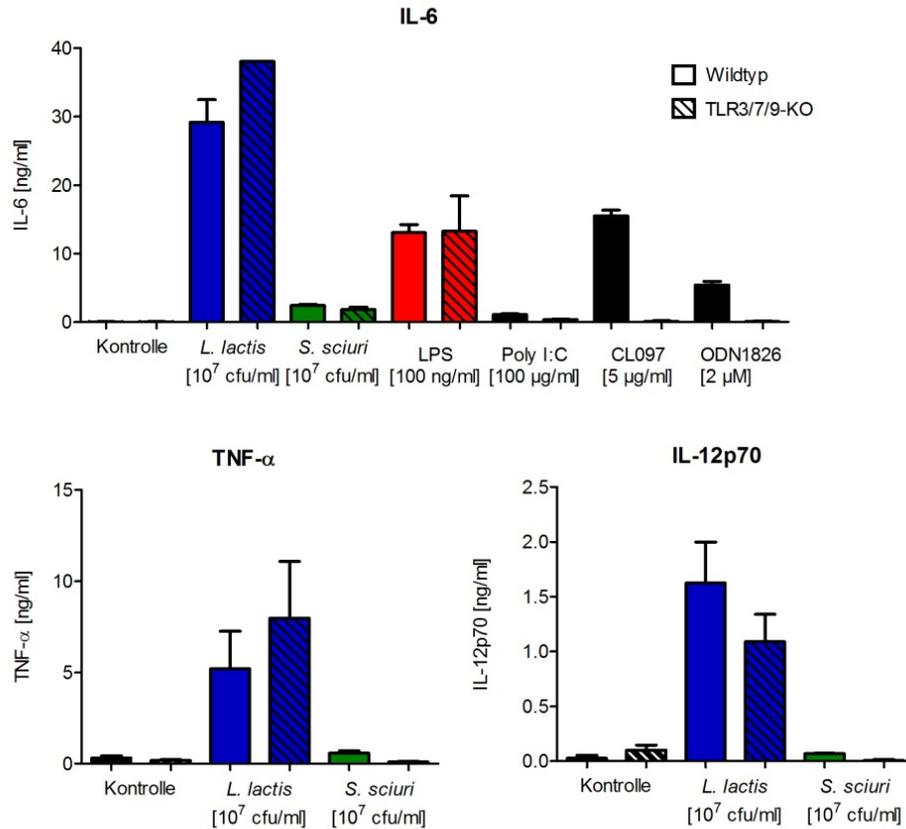


Abb. 33: Stimulation von murinen Wildtyp und TLR3-, 7- und 9-defizienten BMDC mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620

BMDCs aus Wildtyp und TLR3-, 7- und 9-Knockout (TLR3/7/9-KO) Mäusen wurden für 20 h mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 bzw. den entsprechenden Kontrollstimuli für 20 h inkubiert. Die Freisetzung von IL-6, TNF-α und IL-12p70 wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n≥2 Mäusen für Wildtyp und TLR3/7/9-KO mit SEM.

Auf den Wildtyp-Zellen konnte *L. lactis* G121 eine starke IL-6, TNF-α und IL-12p70-Freisetzung bewirken, während die Stimulation mit *S. sciuri* W620 vergleichsweise schwach nur IL-6 induziert. *L. lactis* G121-inkubierte TLR3/7/9-KO-BMDC zeigen keine verringerte IL-6- und TNF-α-Ausschüttung im Vergleich zum Wildtyp, nur bei den IL-12p70-Daten lässt sich eine marginal geringere Konzentration des Zytokins bei den KO-Zellen detektieren. Bei der Stimulation mit *S. sciuri* W620 lässt sich nur über IL-6 eine Aussage treffen, da die anderen Zytokine nicht oder zu wenig induziert wurden. Bezüglich dieses Zytokins findet sich kein Konzentrationsunterschied zwischen Wildtyp- und KO-BMDC, wie es auch bei dem TLR3, 7 und 9 unabhängigen Stimulus LPS der Fall ist. Diesen Daten zeigen, bezogen auf TNF-α und IL-6, keine Abhängigkeit von TLR3, 7 oder 9 für eine Aktivierung der Zellen durch *L. lactis* G121 und in Bezug auf letzteres Zytokin ebenfalls nicht für eine *S. sciuri* W620-induzierte Aktivierung. Die ELISA-Daten von IL-12p70 allerdings weisen auf eine geringe Involvierung dieser intrazellulären TLRs bei diesem Zytokin hin, lassen aber keine eindeutige Aussage zu.

Da die Funktionalität des TLR8 in Mauszellen umstritten ist^{139,140}, kann ein murines Knockout-System zur Überprüfung der Bedeutung dieses Rezeptors bei der Erkennung von *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 nicht verwendet werden. Aus diesem Grund werden für die Beantwortung dieser Fragestellung humane DCs verwendet. Zunächst wurde mittels konfokaler Aufnahmen untersucht, ob TLR8 in humanen DCs in räumlicher Nähe zu den endozytierten Bakterien liegt, was eine potentielle Aktivierung dieses Rezeptors ermöglichen würde. Abbildung 34 zeigt DCs, die entweder *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 aufgenommen haben, wie anhand der Überlagerung des Phasenkontrastbildes mit der DNA-Färbung zu erkennen ist.

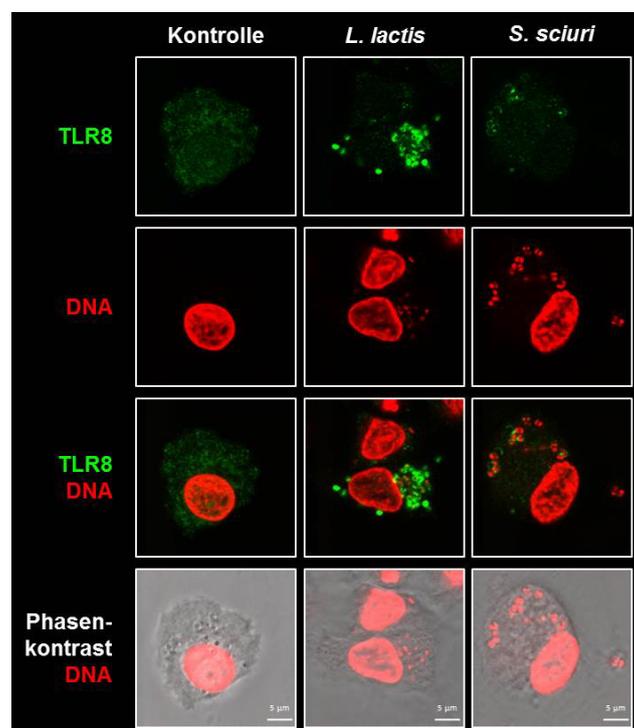


Abb. 34: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der räumlichen Nähe von *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 mit TLR8

Humane DCs wurden für 4 h in μ -slides mit jeweils 2×10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 stimuliert und anschließend wie in Kapitel 3.18 beschrieben aufgearbeitet. Dargestellt ist in der Abbildung von oben nach unten: TLR8 in Grün, DNA in Rot, die Überlagerung beider Kanäle und das Phasenkontrastbild überlagert mit dem roten DNA-Kanal. Das Ergebnis steht repräsentativ für n=2 Experimente.

Nach 4 h Inkubationszeit ist in diesen Zellen eine deutliche räumliche Nähe des in Grün dargestellten TLR8 zu den endozytierten *L. lactis* G121 zu erkennen, die sich als eine ringförmige Struktur um die Bakterien darstellt. Auch bei endozytierten *S. sciuri* W620 lässt sich eine räumliche Nähe zu TLR8 feststellen, jedoch ist die Färbung schwächer und zeigt keine so deutliche Ringstruktur wie bei *L. lactis* G121. Somit konnte nachgewiesen werden, dass beide Bakterien in räumlicher Nähe zu TLR8 liegen und so eine potentielle Signalgebung durch diesen Rezeptor ermöglicht wird. Die stärkere ringförmige Färbung bei *L. lactis* G121- im Vergleich zu *S. sciuri* W620-stimulierten Zellen weist jedoch auf eine

vergleichsweise stärkere Rekrutierung des membranständigen TLR8 in die Endosomen hin, die dieses Bakterium beinhalten.

Um zu untersuchen, welchen Einfluss der intrazelluläre humane TLR8 in DCs bei der *L. lactis* G121-induzierten Zytokinfreisetzung hat, wurde eine sogenannte immunregulatorische Sequenz (IRS) verwendet. Der Mechanismus, mit dem dieses kurze Oligonukleotid die Aktivierung von TLR8 inhibiert, ist bis heute nicht ganz geklärt, jedoch konnte dessen Funktionalität bereits in anderen Veröffentlichungen nachgewiesen werden²³. Bei den in Abbildung 35 dargestellten Versuchen wurden humane DCs mit 2 verschiedenen Konzentrationen des gegen TLR8 gerichteten IRS957 für 1 h vorinkubiert und anschließend stimuliert.

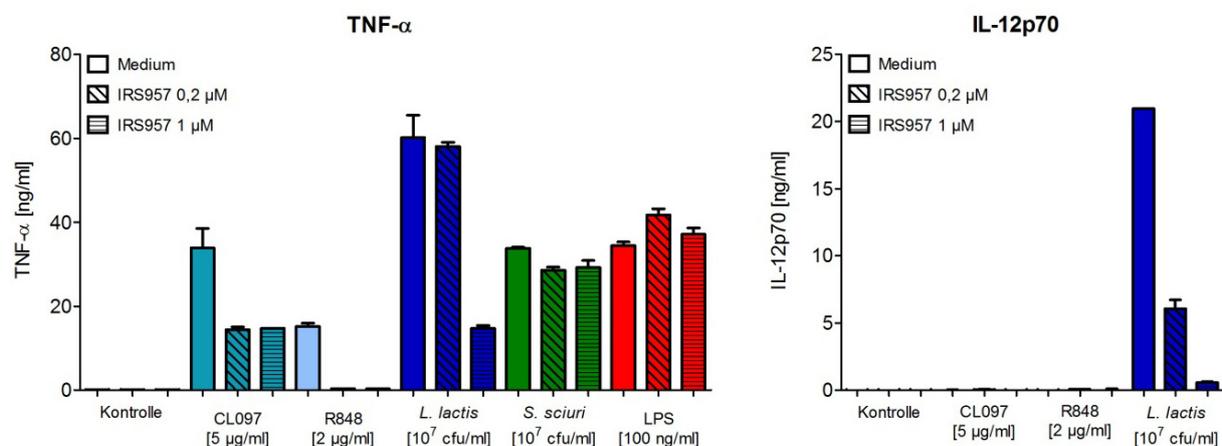


Abb. 35: Aktivierung humaner DCs nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation unter Anwesenheit einer immunregulatorischen Sequenz gerichtet gegen TLR8

Humane DCs wurden mit den angegebenen Stimuli unter An- oder Abwesenheit der angegebenen Konzentrationen von der immunregulatorischen Sequenz gegen TLR8 (IRS957) für 20 h inkubiert. Die TNF- α - und IL-12p70-Freisetzung in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind repräsentative Daten von einem Experiment (n=3).

Als Kontrollstimulus wurde zusätzlich zum CL097 das R848 verwendet, ein weiterer TLR7/8-Ligand welcher in der hier eingesetzten Konzentration im Gegensatz zu CL097 eine höhere Affinität für TLR8 statt TLR7 besitzt¹³⁹. Eine Stimulation mit R848 bzw. CL097 ist nicht in der Lage eine IL-12p70-Zytokinfreisetzung zu induzieren, es können allerdings deutliche Mengen an TNF- α im Überstand detektiert werden. Zusammen mit der IRS957 wird die TNF- α -Ausschüttung nach Inkubation mit R848 schon bereits bei niedrigster IRS-Konzentration komplett reduziert, nicht jedoch bei Verwendung von CL097. Bei diesem Liganden wird die Menge des Zytokins auf ca. die Hälfte dezimiert und hält sich auch mit höherer Inhibitor-Konzentration konstant auf diesem Level. Werden die DCs mit dem Bakterium *S. sciuri* W620 stimuliert, findet keine Verminderung der TNF- α -Freisetzung statt, wie es auch bei dem TLR8-unabhängigen Stimulus LPS der Fall ist. Sehr deutlich wird hingegen die Reduktion von TNF- α unter Einfluss von IRS957 wenn die DCs mit *L. lactis* G121 inkubiert

werden. Hier muss die Inhibitor-Konzentration allerdings mindestens 1 μM betragen. Anders verhält es sich bei der *L. lactis* G121-Stimulation in Bezug auf die IL-12p70-Induktion. Dort hat bereits die niedrige IRS-Konzentration einen deutlich reduzierenden Effekt auf die Zytokinfreisetzung. Die IL-12p70-Ausschüttung kann nochmals verstärkt werden durch Erhöhung der verwendeten IRS-Menge wodurch dieses Zytokin nahezu auf Kontrollniveau reduziert wird. Da aus der Literatur bekannt ist, dass eine Stimulation von TLR8 u.a. zur Induktion von IFN- β führt¹⁴³, sollte überprüft werden ob die Anwesenheit der IRS957 die Hochregulation von IFN- β -mRNA durch das Bakterium *L. lactis* G121 beeinflusst wird. Als Kontrolle wurde LPS verwendet, welches zwar ebenfalls IFN- β -mRNA induziert, aber Zellen unabhängig von TLR8 aktiviert. Erneut wurden die DCs für 1 h mit 1 μM IRS957 vorinkubiert und nach 3 bzw. 5 h Stimulation die relativen IFN- β -Expressionen bestimmt und denen der nicht IRS-behandelten Stimulationsansätze gegenüber gestellt (Abb. 36).

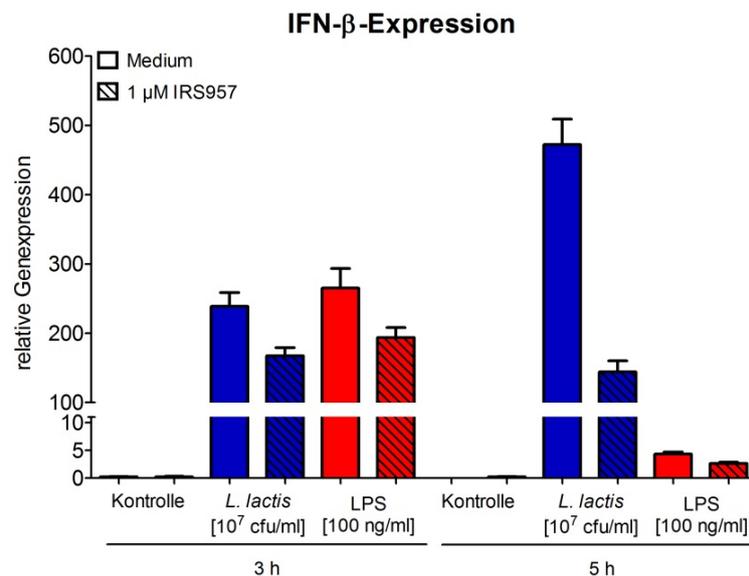


Abb. 36: Induktion der IFN- β -mRNA in humanen DCs nach *L. lactis* G121-Stimulation unter Anwesenheit einer immunregulatorischen Sequenz gerichtet gegen TLR8

Die DCs wurden mit bzw. ohne 1 μM IRS gegen TLR8 (IRS957) für 1 h vorinkubiert und anschließend für 3 und 5 h mit 10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 und 100 ng/ml LPS stimuliert oder unstimuliert gelassen (Kontrolle). Die Genexpressionen von IFN- β wurde relativ zu HPRT mittels *Real-time* PCR bestimmt. Dargestellt sind die repräsentativen Daten eines Spenders (n=2).

Nach einer Stimulationszeit von 3 h ohne IRS (Medium) sieht man eine deutliche Induktion von IFN- β sowohl durch *L. lactis* G121 als auch LPS. Während diese durch *L. lactis* G121 nach 5 h weiter ansteigt, wird durch die LPS-Stimulation die mRNA deutlich runterreguliert gegenüber den 3 h Werten (siehe auch Abb. 11). Wird die Aktivierung der DCs durch *L. lactis* G121 unter Anwesenheit von IRS957 vorgenommen, so zeigt sich eine Reduktion der IFN- β -mRNA um ca. 30 % gegenüber der Medium-Kontrolle. Ein ähnlich reduzierender Effekt von IRS957 auf die IFN- β -Induktion zu diesem Zeitpunkt wird auch bei einer Behandlung mit LPS

deutlich (ca. 27 %). Nach 5 h steigt die IFN- β -mRNA durch *L. lactis* G121 ohne IRS weiter stark an, während die Expressionsstärke dieser mRNA unter dem Einfluss der IRS etwa das Niveau von 3 h beibehält. Dadurch ergibt sich für IRS957 eine Reduktion der von *L. lactis* G121-induzierten mRNA von ca. 70 %. Auch das Niveau der LPS-induzierten IFN- β -mRNA wird durch Gabe der IRS nach 5 h Stimulationszeit erniedrigt, jedoch ist die Reduktion um ca. 38 % nicht so stark wie der Effekt bei der *L. lactis* G121-Behandlung. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Induktion von IFN- β durch *L. lactis* G121 über die Aktivierung von TLR8 verläuft, da mit der IRS gegen diese intrazellulären Rezeptor eine drastische Reduktion der induzierten mRNA hervorgerufen werden kann.

4.3.4 Stimulation mit *L. lactis* G121, aber nicht *S. sciuri* W620, führt zu IL-1 β -Protein

Neben den intrazellulären TLRs ist auch die Aktivierung der Inflammasome dafür bekannt, in Verbindung mit endosomaler Ansäuerung zu stehen^{144,145}. Diese zytoplasmatischen Proteinkomplexe können aus unterschiedlichen Einheiten zusammengesetzt werden und die Induktion diverser Zytokine beeinflussen¹⁴⁶. Bei Aktivierung des Inflammasoms, wird durch einen enzymatischen Vorgang aus einem Vorläuferprotein das aktive IL-1 β abgespalten und sezerniert. Um zu untersuchen ob Inflammasome auch bei der Aktivierung humaner DCs durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 eine Rolle spielen, wurde die Induktion der IL-1 β -mRNA und die Freisetzung dieses Proteins in den Zellüberstand analysiert.

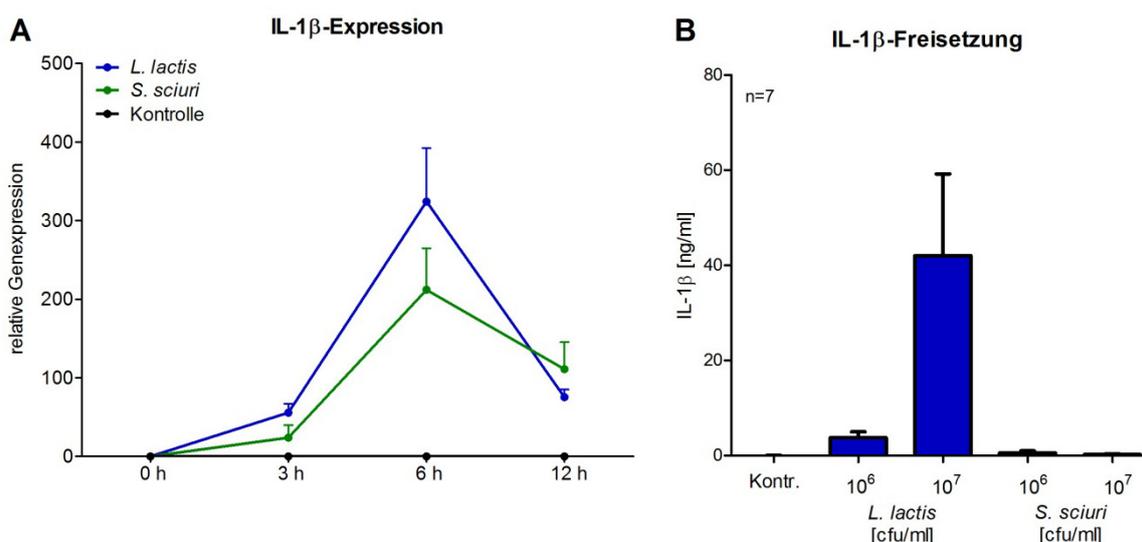


Abb. 37: Induktion von IL-1 β -mRNA und Freisetzung des Proteins in humanen DCs nach Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620

(A) Humane DCs wurden für 0 h, 3 h, 6 h und 12 h mit 10⁷ cfu/ml *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 bzw. 100 ng/ml LPS inkubiert oder unstimuliert gelassen (Kontrolle). Die Genexpression von IL-1 β wurde relativ zu HPRT mittels *Real-time* PCR bestimmt. Dargestellt sind die repräsentativen Daten eines Spenders (n \geq 3). (B) Humane DCs wurden mit den angegebenen Konzentrationen von *L. lactis* G121, *S. sciuri* W620, LPS und R848 für 20 h inkubiert. Die IL-1 β -Freisetzung in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n=5 Spendern mit SEM.

Abbildung 37A zeigt die relative Expression der IL-1 β -mRNA in humanen DCs nach 0-, 3-, 6- und 12-stündiger Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620. Es zeigt sich im Vergleich zu der unstimulierten Kontrolle, dass beide Bakterien eine deutliche Hochregulation dieser mRNA hervorrufen. Dabei ist der kinetische Verlauf der Induktion durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 ähnlich und zeigt ein Maximum nach 6 h. Eine Sezernierung von IL-1 β -Protein nach 20 h Stimulation kann mittels ELISA jedoch nur durch *L. lactis* G121, nicht aber durch *S. sciuri* W620 nachgewiesen werden (Abb. 37B). Schon eine Konzentration von 10⁶ cfu/ml *L. lactis* G121 führt zu einer deutlich messbaren Menge von IL-1 β im Überstand, die bei Erhöhung der cfu/ml nochmals stark ansteigt. Obwohl eine *L. lactis* G121-Stimulation eine ähnlich hohe mRNA-Induktion wie eine *S. sciuri* W620-Behandlung zur Folge hat, kann bei einer Stimulation der DCs mit diesem Bakterium kein IL-1 β mittels ELISA nachgewiesen werden, auch nicht bei Erhöhung der Konzentration bis auf 10⁸ cfu/ml (Daten nicht gezeigt).

Inwiefern IL-1 β , welches nach Inkubation mit *L. lactis* G121 aus DCs sezerniert wird, von einer endosomalen Ansäuerung abhängig ist, sollte unter Zuhilfenahme des Inhibitors Bafilomycin A1 geklärt werden. Wie bereits beschrieben, wurden die humanen DCs unter An- bzw. Abwesenheit von Bafilomycin A1 mit *L. lactis* G121 stimuliert und die freigesetzte IL-1 β -Konzentration nach 20 h im ELISA bestimmt.

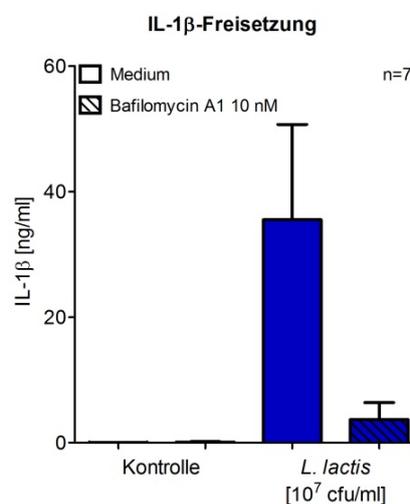


Abb. 38: IL-1 β -Freisetzung aus humanen DCs nach *L. lactis* G121-Stimulation bei Inhibierung der endosomalen Ansäuerung

Humane DCs wurden mit 10⁷ cfu/ml *L. lactis* G121 mit bzw. ohne Zugabe von 10 nM Bafilomycin A1 inkubiert. Die Freisetzung von IL-1 β in den Überstand wurde mittels ELISA bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus n=5 Spendern mit SEM.

Abbildung 38 zeigt, dass die Inhibierung der endosomalen Ansäuerung in einer drastischen Reduktion des sezernierten IL-1 β -Proteins nach *L. lactis* G121-Stimulation resultiert, im Vergleich zu den nicht-Bafilomycin A1-behandelten Zellen

Aus den Ergebnissen dieses Abschnittes geht hervor, dass bei der Aktivierung der DCs durch *L. lactis* G121 Inflammasome beteiligt sind, da große Mengen des inflammatorischen Zytokins IL-1 β freigesetzt werden. Obwohl auch die Stimulation mit *S. sciuri* W620 zu einer deutlichen mRNA-Induktion von IL-1 β führt, kann dennoch keine Sezernierung des Proteins nachgewiesen werden, was darauf hindeutet, dass die Aktivierung des Inflammasom-Komplexes in diesem Fall nicht stattfindet.

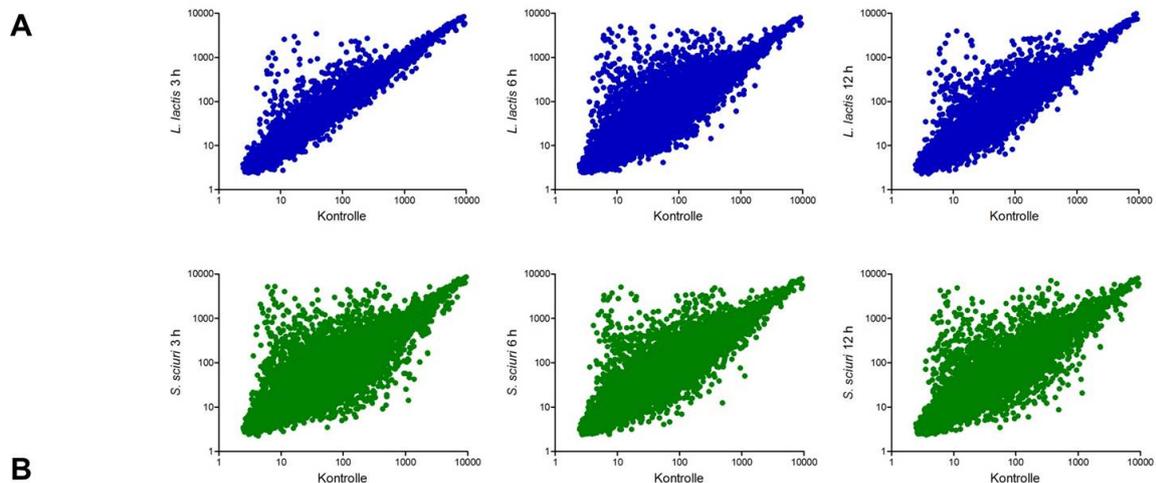
4.4 Microarray-Analysen

Microarrays ermöglichen es, eine maximale Anzahl von Genen gleichzeitig zu analysieren und sind aus diesem Grund besonders geeignet, um sich einen Überblick über unterschiedlich regulierte Gene bei Verwendung mehrerer Bedingungen zu verschaffen. Da ein Grund für die Allergieprotektion in dem Kontakt zu einer vielfältigen mikrobiellen Umgebung vermutet wird und damit einhergehend einer Kombination aus verschiedenen aktivierten Rezeptoren und Signalwegen, sollten mittels Microarray-Analysen Unterschiede und Gemeinsamkeiten in der Genregulation humaner DCs nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation untersucht werden. Dazu wurden Microarrays aus der gepoolten RNA von DCs aus 3 verschiedenen Spendern durchgeführt, die für 3, 6 und 12 h mit, bzw. als Kontrolle ohne, den beiden Bakterien inkubiert wurden. Die Ergebnisse der Microarrays stellen sich als Werte von einzelnen *Probe Sets* dar, wobei ein Gen durch mehrere *Probe Sets* innerhalb des Microarrays vertreten sein kann.

4.4.1 *S. sciuri* W620 und *L. lactis* G121 induzieren ein zeitlich unterschiedliches Expressionsmuster in humanen DCs

Um einen Überblick über Unterschiede im kinetischen Verlauf des Expressionsmusters zu bekommen, wurden in Abbildung 39A die linearen Array-Daten der stimulierten Proben gegen die der Kontrolle als Scatterplot aufgetragen. Bei dieser Form der Darstellung zeigt die Streuung der Punkte um die Diagonale die Stärke der Expression der *Probe Sets* im Vergleich zur unstimulierten Kontrolle. Dabei bedeutet die Verschiebung eines Punktes von der Diagonale nach oben eine Hochregulation, bzw. die Verschiebung nach unten für eine Herunterregulation der Genexpression. Zusätzlich wurde in der Abbildung 39B die Anzahl der zu den jeweiligen Zeitpunkten hoch- bzw. herunterregulierten *Probe Sets* nach *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620-Stimulation errechnet und in Klammern die Anzahl der insgesamt regulierten *Probe Sets* dargestellt. Für die Bestimmung dieser Zahlen wurden Grenzwerte von 2 für hoch- und 0,5 für herunterreguliert gesetzt. Eine detaillierte Auflistung aller regulierten *Probe Sets* findet sich in Anhang unter Tabelle 6. In der Abbildung 39A werden

bereits optisch durch die Verteilung der Punkte um die Diagonale der Scatterplots Unterschiede in der Kinetik zwischen den *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-behandelten DCs deutlich.



Anzahl hochregulierter probe sets (gesamt)	3 h	6 h	12 h
<i>L. lactis</i> [10 ⁷ cfu/ml] (1562)	501	1301	889
<i>S. sciuri</i> [10 ⁷ cfu/ml] (1921)	1352	1250	1138

Anzahl herunterregulierter probe sets (gesamt)	3 h	6 h	12 h
<i>L. lactis</i> [10 ⁷ cfu/ml] (1451)	113	1335	471
<i>S. sciuri</i> [10 ⁷ cfu/ml] (1933)	1669	854	820

Abb. 39: Scatterplot Analyse von Microarray-Daten humaner DCs nach Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 und Anzahl der regulierten Probe Sets

(A) Die linearen Genexpressionsdaten von DCs stimuliert mit 10⁷ cfu/ml *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 für 3, 6 und 12 h wurden auf der X-Achse gegen die Genexpressionsdaten der unstimulierten Proben aufgetragen. Dabei repräsentiert jeder Punkt die Signalstärke eines einzelnen Probe Set ermittelt aus der gepoolten mRNA dreier Spender. (B) Die Expressionsdaten der *L. lactis* G121- oder *S. sciuri* W620-behandelten Proben wurde normalisiert auf unstimulierte Kontrollen. Aus diesen Werten wurde die Anzahl der hoch- (obere Tabelle) bzw. herunterregulierten (untere Tabelle) Probe Sets nach jeweils 3, 6 und 12 h Stimulationszeit mit *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 errechnet. Die runden Klammern geben die Gesamtzahl der hoch- bzw. herunterregulierten Probe Sets unabhängig vom Zeitpunkt an.

An der Zeitpunkt-unabhängigen Gesamtzahl der durch *S. sciuri* W620-Inkubation hochregulierten (1921) und herunterregulierten (1933) Probe Sets lässt sich erkennen, dass sich die Zahlen in etwa die Waage halten, wie es auch für *L. lactis* G121 (1562 Probe Sets hochreguliert und 1451 herunterreguliert) der Fall ist. Insgesamt jedoch werden durch *S. sciuri* W620-Behandlung mehr Probe Sets sowohl hoch- als auch herunterreguliert als durch *L. lactis* G121-Stimulation. Auch im Vergleich der einzelnen Zeitwerte untereinander zwischen den *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620-behandelten DCs zeigt sich, dass die Stimulation mit *S. sciuri* W620 zu jedem Zeitwert zu einer höheren Zahl an regulierten Probe Sets führt, als es bei den *L. lactis* G121-stimulierten DCs der Fall ist. Nach einer 3-stündigen Stimulationszeit führt eine *L. lactis* G121-Inkubation zu einer verhältnismäßig geringen Zahl an regulierten Probe Sets (501 hoch- und 113 herunterreguliert) während eine *S. sciuri*

W620-Behandlung zu diesem Zeitpunkt bereits zu einer maximalen Genregulation von 1352 hoch- und 1669 herunterregulierten *Probe Sets* führt. Die höchste Anzahl regulierter *Probe Sets* durch *L. lactis* G121-Stimulation wird hingegen mit 1301 hoch- und 1335 herunterregulierten *Probe Sets* erst nach 6 h Inkubationszeit erreicht. Zu diesem Zeitpunkt sinkt die Zahl der hochregulierten *Probe Sets* durch *S. sciuri* W620 bereits auf 1250 und der herunterregulierten auf 854. Nach einer 12-stündigen Inkubationszeit sinken für beide Stimulationsbedingungen die Zahlen der regulierten *Probe Sets* im Vergleich zu 6 h jedoch für *L. lactis* G121 auf 889 für hoch- und 471 für herunterreguliert in wesentlich stärkerem Maße als es unter der Bedingung *S. sciuri* W620 mit einer Absenkung auf 1138 (hochreguliert) und 820 (herunterreguliert) *Probe Sets* der Fall ist. Somit zeigt sich, dass eine *L. lactis* G121-Stimulation im Vergleich zu *S. sciuri* W620 zu einer verzögerten Aktivierung der DCs mit einem Maximum nach 6 h führt, die nach 12 h bereits wieder deutlich abnimmt. Im Gegensatz dazu, weißt das durch *S. sciuri* W620-Stimulation induzierte Expressionsmuster eine sehr frühe maximale Aktivierung der Zellen auf, die dafür in Bezug auf die Anzahl der regulierten *Probe Sets* über einen Zeitraum von 12 h nahezu unverändert stark beibehalten wird.

4.4.2 Analyse von gleichen und unterschiedlichen regulierten Genen in humanen DCs nach *S. sciuri* W620- und *L. lactis* G121-Stimulation

Dieser Abschnitt beschäftigt sich mit konkreten Unterschieden und Gemeinsamkeiten in Bezug auf die Induktion bestimmter Gene in humanen DCs, vergleichend nach *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620-Stimulation und unabhängig vom Zeitpunkt. Dazu wurde in Abbildung 40A mit Hilfe von Venn-Diagrammen analysiert, wie viele hochregulierte (linkes Venn-Diagramm) und herunterregulierte (rechtes Venn-Diagramm) *Probe Sets* von beiden gemeinsam (Schnittmenge) bzw. nur von dem einen oder dem anderen Bakterium reguliert wurden. Bei den hochregulierten Daten wird deutlich, dass die Vielzahl an *Probe Sets* (1199) von beiden Bakterien induziert werden. Mit 363 nur durch *L. lactis* G121-hochregulierten *Probe Sets* fällt die Zahl deutlich geringer aus als es für *S. sciuri* W620 mit 722 der Fall ist. Auch bei den herunterregulierten Daten wird mit 941 eine hohe Anzahl an *Probe Sets* von beiden Bakterien reguliert und übersteigt damit deutlich die Anzahl der nur durch *L. lactis* G121-Stimulation herabregulierten *Probe Sets* (504) während eine *S. sciuri* W620-Behandlung der DCs sogar zu einer etwas höheren Anzahl (985) von regulierten *Probe Sets* führt.

In den Tabellen in Abbildung 40B wurden die 30 *Probe Sets* aufgeführt, die am stärksten durch *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation gemeinsam hoch bzw. herunterreguliert wurden und somit aus den entsprechenden Schnittmengen der Abbildung 40A stammen. In

Abbildung 40C wurden die 30 am stärksten regulierten *Probe Sets* aufgeführt, die nur von dem einen oder von dem anderen Bakterium induziert oder herunterreguliert wurden und damit aus den Bereichen links und rechts der Schnittmenge in Abbildung 40A stammen.

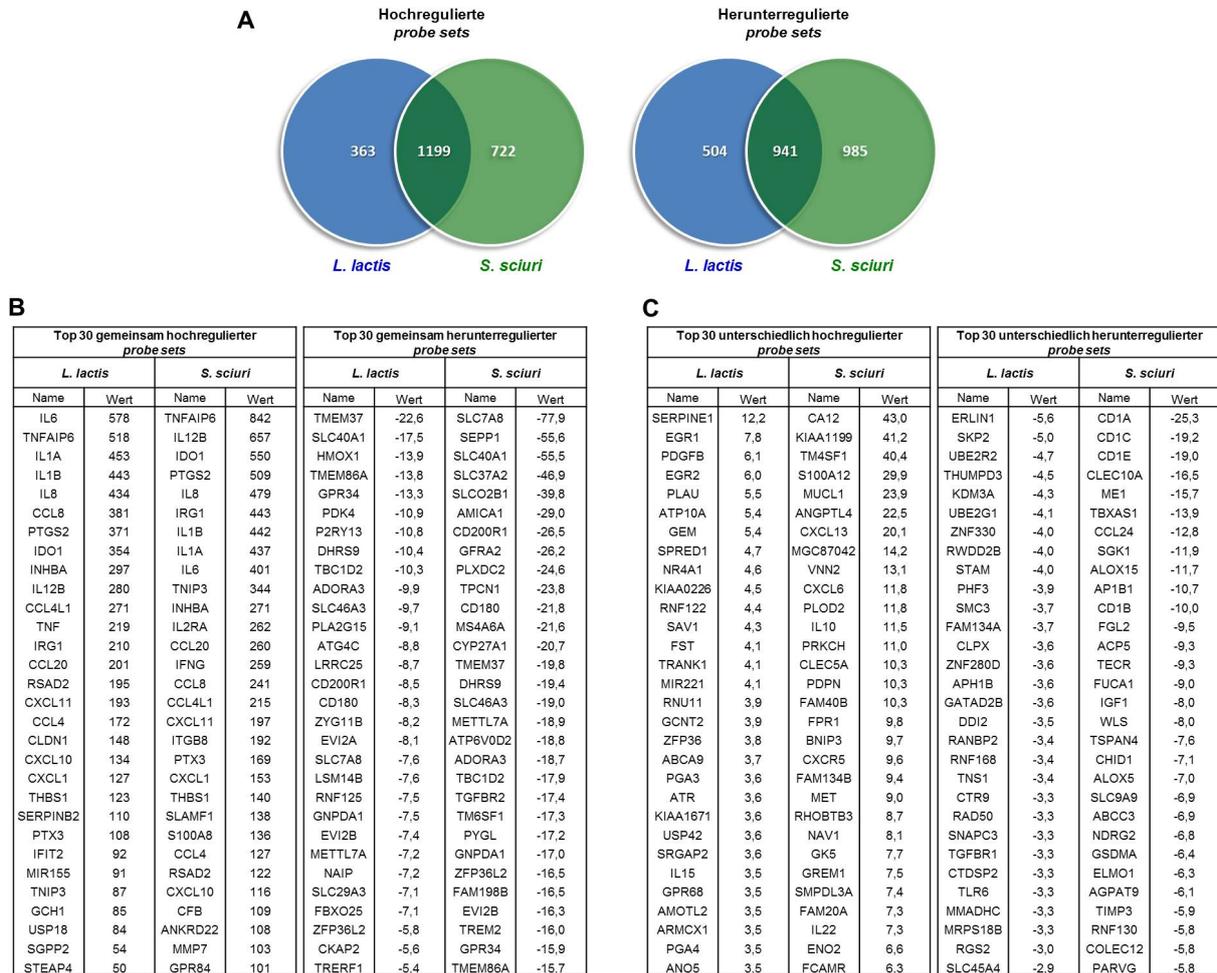


Abb. 40: Vergleich gemeinsamer und unterschiedlicher regulierter *Probe Sets* nach *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 Stimulation

Die Microarray-Expressionsdaten von DCs stimuliert mit 10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 für 3, 6 und 12 h wurden gefiltert nach allen *Probe Sets* die unabhängig vom Zeitpunkt hoch- oder herunterreguliert wurden. (A) Die Anzahl der so ermittelten hoch- bzw. herunterregulierten *Probe Sets* sind als Venn Diagramm aufgetragen wobei die Anzahl der *Probe Sets* aufgeführt wurden, die nur durch *L. lactis* G121- oder *S. sciuri* W620-Stimulation reguliert wurden bzw. als Schnittmenge die Anzahl von *Probe Sets* die sowohl durch *L. lactis* G121- als auch durch *S. sciuri* W620-Stimulation reguliert wurden. (B) Aufgelistet wurden die 30 am stärksten regulierten Gene und ihre Expressionsstärke, die durch Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 gemeinsam hoch- (linke Tabelle) bzw. herunterreguliert (rechte Tabelle) wurden. (C) Aufgelistet wurden die 30 am stärksten regulierten Gene und ihre Expressionsstärke, die nur durch Stimulation mit *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 hoch- (linke Tabelle) bzw. herunterreguliert (rechte Tabelle) wurden.

Um die 30 am stärksten regulierten *Probe Sets* unabhängig von der Kinetik zu ermitteln, wurden nach jedem Zeitpunkt die 30 am höchsten und niedrigsten regulierten *Probe Sets* gefiltert, zusammengeführt und sortiert nach absteigender Expressionsstärke für hochregulierte und ansteigender Expressionsstärke für herunterregulierte *Probe Sets*. *Probe Sets* von hypothetischen Proteinen oder sogenannte *open reading frames* wurden dabei von den Tabellen ausgenommen. Bei allen vier Bedingungen finden sich Gene die für Proteine

mit sehr unterschiedlicher Funktion kodieren, hauptsächlich jedoch aus den Bereichen Metabolismus, Proteinmodifikation und Genregulation. Unter den 30 am stärksten durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 gemeinsam hochregulierten *Probe Sets* (Abb. 40B) befinden sich zusätzlich vor allem Zytokine (z.B. CCL4, CXCL10, IL-6) mit proinflammatorischen, regulativen und/oder chemotaktischen Funktionen, die typisch für eine entzündliche Immunantwort sind. Unter den 30 am stärksten durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 gemeinsam herunterregulierten *Probe Sets* befinden sich viele Vertreter von Transmembranproteinen in Form von Rezeptoren (z.B. TREM2, ADORA3, GPR34) oder Kanälen (TMEMs, TPCN1, ATP6V0D2) sowie lösliche Transportproteine (SLCs), die den Transport von Ionen, Nukleosiden und Aminosäuren regulieren und auf metabolische Vorgänge hinweisen. Einige der am höchsten regulierten *Probe Sets*, die durch *L. lactis* G121, aber nicht durch *S. sciuri* W620 induziert werden (Abb. 40C, links), gehören in den Bereich der Hämostase (SERPINE1, PDGFB, PLAU, AMOTL2). Aber auch *Probe Sets*, deren Proteine Funktionen in anderen Prozessen übernehmen, werden von beiden Bakterien unterschiedlich induziert. So werden bei den *L. lactis* G121-stimulierten DCs Transkriptionsfaktoren hochreguliert, die mit einer Entzündungsreaktion in Verbindung gebracht werden wie EGR1, EGR2 und EGR3 (außerhalb der Top 30), sowie NR4A1. Unter den am höchsten nur durch *S. sciuri* W620-Behandlung regulierten *Probe Sets* finden sich im Vergleich zu der *L. lactis* G121-Stimulation viele Zytokine aus verschiedenen Bereichen wie CXCL13, CXCL6, IL-22 und IL-19 (außerhalb der Top 30). Ebenfalls vertreten sind extrazelluläre Rezeptoren wie CXCR5 (Rezeptor für CXCL13), CLEC5A, FPR1, MET, FCAMR. Die Top 30 *Probe Sets*, die nur durch *L. lactis* G121-Inkubation herunterreguliert werden (Abb. 40C, rechts) stehen hauptsächlich für Proteine, die bei der Transkription oder Histonmodifikation eine Rolle spielen, wie die Transkriptionsinhibitoren GATAD2B und CTDSP2. Auffällig bei den nach *S. sciuri* W620-Stimulation herunterregulierten *Probe Sets* ist, dass alle CD1-Moleküle der Gruppe I (CD1A, CD1B, CD1C, CD1E) unter ihnen zu finden sind. Zusätzlich finden sich im Gegensatz zu den *L. lactis* G121-behandelten Array-Daten wesentlich mehr *Probe Sets*, die in den Bereich Metabolismus statt Genregulation fallen.

4.4.3 Analyse von gleichen und unterschiedlichen regulierten Netzwerken in humanen DCs nach *S. sciuri* W620- und *L. lactis* G121-Stimulation

Die Software *Ingenuity Pathways* wurde verwendet, um einen Überblick über gemeinsam und unterschiedlich induzierte zelluläre Netzwerke zu erlangen, die durch Stimulation durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 aktiviert werden. Dabei wurden die Array-Daten nach regulierten *Probe Sets* gefiltert und zu jedem Zeitpunkt einzeln analysiert.

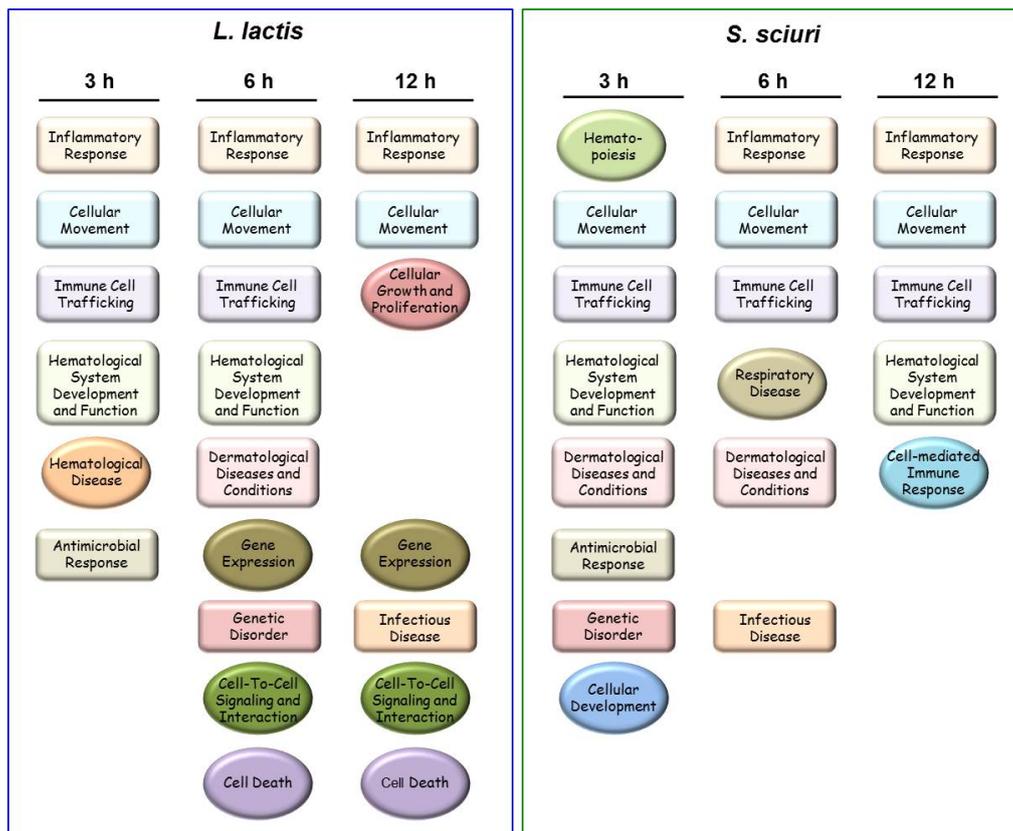


Abb. 41: Netzwerkanalyse der Microarray-Daten

Die logarithmischen, normalisierten Microarray-Expressionsdaten von DCs stimuliert mit 10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 für 3, 6 und 12 h wurden mit der Software *Ingenuity Pathways* auf signifikant hochregulierte Netzwerke hin analysiert. Rechteckige Symbole bedeuten eine Regulation sowohl durch *L. lactis* G121- als auch *S. sciuri* W620-Stimulation, ovale Symbole bedeuten eine Regulation nur durch *L. lactis* G121- oder *S. sciuri* W620-Stimulation.

Dargestellt sind in Abbildung 41 die Netzwerke, die nach dem *Fisher's Exact* Test einen *Score* von über 30 erlangten. Es zeigt sich, dass beide Bakterien größtenteils die gleichen Netzwerke in den DCs induzieren (rechteckige Symbole) und diese über einen längeren Zeitraum bestehen bleiben, wie *Cellular Movement*, *Inflammatory Response* und *Immune Cell Trafficking*. Daneben werden Ereignisse aktiviert, die Netzwerken zugeordnet werden, die nur kurzfristig und teils zu unterschiedlichen Zeitpunkten durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620-Stimulation signifikant induziert werden, wie *Antimicrobial Response* und *Infectious Disease*. Insgesamt konnten vier Netzwerke identifiziert werden, die nach *S. sciuri* W620- nicht aber *L. lactis* G121-Stimulation induziert werden (ovale Symbole). Diese erreichen jedoch nur zu jeweils einem Zeitpunkt einen *Score* von über 30. Dazu gehören die Netzwerke *Hematopoieses*, *Respiratory Diseases*, *Cell-mediated Immune Response* und *Cellular Development*. Fünf Netzwerke konnten identifiziert werden, die nur in *L. lactis* G121-aktivierten DCs signifikant reguliert werden. Dabei zeigen die Netzwerke *Gene Expression*, *Cell-To-Cell Signaling and Interaction* und *Cell Death* durch ihre Beständigkeit über zwei Zeitwerte die Beständigkeit dieser Prozesse.

Insgesamt zeigen die Array-Daten, dass die durch *S. sciuri* W620- und *L. lactis* G121-Stimulation hervorgerufenen Expressionsmuster in humanen DCs viele Überschneidungen aufweisen. Eine große Anzahl von *Probe Sets* und den damit verbundenen Netzwerken werden in den Zellen nach Stimulation mit beiden Bakterienspezies reguliert, jedoch gibt es auch wesentliche Unterschiede, die Bestandteil von fortführenden Analysen außerhalb dieser Arbeit sein werden.

5 DISKUSSION

Die Hygiene-Hypothese stützt sich auf eine Reihe von Publikationen die u.a. zeigen, dass ein Aufwachsen in traditioneller, bäuerlicher Umgebung das Risiko vermindert, im späteren Leben Allergien zu entwickeln (siehe Abschnitt 1.1, Seite 6). Es wird vermutet, dass der Kontakt zu den Mikroorganismen, wie sie in Tierställen vorkommen, dabei eine wichtige Funktion übernimmt. Untersuchungen haben gezeigt, dass der aus Kuhställen isolierte Stallstaubextrakt in *in vivo* Mausmodellen die Entstehung von akutem allergischem Asthma verhindert^{147,148}, jedoch wird über die konkreten, wirksamen Bestandteile noch diskutiert. In aktuellen Veröffentlichungen wird vermutet, dass nicht einzelne Strukturen für den allergieprotektiven Effekt der Bauernhofumgebung verantwortlich sind, sondern die Kombination aus unterschiedlichen Mikroorganismen, die das Immunsystem auf vielfältige Art und Weise aktivieren können^{42,43}. Die beiden in dieser Arbeit verwendeten Gram⁺ Kuhstallisolate *Lactococcus lactis* G121 und *Staphylococcus sciuri* W620 (siehe Abschnitt 2) erwiesen sich in einem *in vivo* Mausmodell als protektiv gegenüber der Induktion von akutem allergischen Asthma. Dennoch wurde dabei deutlich, dass sie ein unterschiedliches Aktivierungsprofil bei der Immunantwort induzierten. Bisher konnte für *L. lactis* G121 in humanen *in vitro* Versuchen gezeigt werden, dass diese Bakterien eine T_H1-Ausrichtung von Immunzellen induzieren¹²⁷, während die immunmodulatorischen Eigenschaften von *S. sciuri* W620 auf humane Zellen noch ungeklärt waren. In der vorliegenden Arbeit wurden daher die Auswirkungen der Stimulation von Immunzellen mit *L. lactis* G121 und vor allem *S. sciuri* W620 im Vergleich untersucht, mit dem Ziel, die zu Grunde liegenden Mechanismen der allergieprotektiven Eigenschaft beider Bakterien aufzuklären.

5.1 *S. sciuri* W620 und *L. lactis* G121 besitzen unterschiedliche immunmodulatorische Eigenschaften

Die Stimulation von humanen dendritischen Zellen mit den Gram⁺ Bakterienspezies *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 resultierte in einer Aktivierung und Reifung der Zellen. Dieser Vorgang äußerte sich u.a. in der Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen, sowie erhöhter Expression der kostimulatorischen Moleküle CD40, CD80, CD86 und MHCII auf der Oberfläche. Bei Betrachtung der FACS-Daten zu den kostimulatorischen Molekülen (Seite 34, Abb. 8) wurden bereits Unterschiede zwischen den *L. lactis* G121- und den *S. sciuri* W620-behandelten DCs deutlich. Obwohl die Zellen mit der gleichen Konzentration *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 behandelt wurden, zeigte sich eine wesentlich geringere Expression von CD40, CD80, CD86 und MHCII auf den *S. sciuri* W620-inkubierten DCs, im

Vergleich zu den *L. lactis* G121-stimulierten Zellen. ELISA-Daten zeigten zusätzlich eine deutlich geringere *S. sciuri* W620-induzierte TNF- α -Ausschüttung als es bei den *L. lactis* G121-aktivierten DCs der Fall war (Seite 33, Abb. 7). Diese Ergebnisse würden die Vermutung eines allgemein geringeren Aktivierungspotentials von *S. sciuri* W620 nahe legen, jedoch bestätigen die ELISA-Daten von CXCL8 (Seite 33, Abb. 7) und IL-6 (Seite 43, Abb. 14) dieses nicht, da sich etwa gleiche Konzentrationen der Zytokine im Überstand *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-behandelter DCs nachweisen ließen. Somit ist wahrscheinlich, dass beide Bakterienspezies selektiv unterschiedliche Zytokine in DCs induzieren. In der Tat konnten im Zuge dieser Arbeit weitere Zytokine identifiziert werden, die diese Vermutung betätigen. Ähnlich wie es bei TNF- α der Fall war, konnte im Vergleich zu den *L. lactis* G121-stimulierten Kulturen auch IL-10 nur in deutlich geringeren Mengen im Überstand von *S. sciuri* W620-behandelten DCs detektiert werden (Seite 45, Abb. 17). Des Weiteren zeigen die Ergebnisse, dass eine Induktion bestimmter Zytokine, die durch *L. lactis* G121 deutlich in DCs aktiviert wurden, bei *S. sciuri* W620-Behandlung komplett fehlte. Dazu gehört die mRNA-Induktion des Typ-I-Interferons IFN- β (Seite 38, Abb. 11) aber ebenso konnte eine Freisetzung der proinflammatorischen Zytokine IL-1 β (Seite 70, Abb. 38) und IL-12p70 (Seite 37, Abb. 10) nicht detektiert werden. Die fehlende Sekretion von IL-12p70 erklärt sich durch eine ausbleibende Hochregulation der mRNA der IL-12p35 Untereinheit (Seite 36, Abb. 9). Hingegen zeigte sich in Bezug auf IL-1 β sowohl nach *S. sciuri* W620- als auch *L. lactis* G121-Stimulation eine Induktion dieser mRNA (Seite 69, Abb. 37). Das dennoch in den *S. sciuri* W620-behandelten DC-Kulturen kein IL-1 β freigesetzt wurde, lässt vermuten, dass der Weg vom Pro-IL-1 β zum aktiven IL-1 β unterbrochen ist. Da die Spaltung von Pro-IL-1 β durch Caspase-1 erfolgt, beruhte dieser Effekt wahrscheinlich auf einer ausgebliebenen Aktivierung des Inflammasoms. Dessen Induktion ist von zwei Signalen abhängig: (I) Die Aktivierung eines PRR und (II) ein zusätzliches Signal, wie z.B. ATP⁶¹. Da im Zuge dieser Arbeit gezeigt werden konnte, dass *S. sciuri* W620 DCs über PRRs aktiviert, resultierte die fehlende IL-1 β -Freisetzung wahrscheinlich auf dem Ausbleiben des zweiten Signals. Dies kann aber nur durch weiterführende Experimente abschließend geklärt werden. Diese vorangegangenen Daten zeigen, dass *L. lactis* G121 eine typische inflammatorische Immunantwort in humanen DCs hervorrief, was auch durch die Netzwerk-Analysen der Mikroarray-Daten bestätigt wurde (Seite 76, Abb. 41). Diese Analyse bestätigte auch für die Behandlung der DCs mit *S. sciuri* W620 eine inflammatorische Immunantwort, jedoch basieren die Ergebnisse auf der Induktion von mRNA. Wie bereits beschrieben, wurde die mRNA-Expression bestimmter Gene zwar von *S. sciuri* W620 induziert, jedoch wurde das Protein nicht freigesetzt. Im Gegensatz zu *L. lactis*-stimulierten DCs fehlte bei den *S. sciuri* W620-behandelten Zellen die Sekretion entscheidender proinflammatorischer, bzw. DC-aktivierender Zytokine, wie IL-1 β , IL-12p70 und IFN- β . Diese Befunde können ein Hinweis

darauf sein, dass die Bakterienspezies *S. sciuri* W620 keine vollständige Reifung der DCs induzierte und die Zellen sich aus diesem Grund in einem sogenannten semi-reifen Stadium befanden. Ein solches Stadium ist gekennzeichnet durch Hochregulation der Expression von kostimulatorischen Molekülen gegenüber unreifen DCs, aber fehlender oder geringer Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen⁸⁹. Im Gegensatz zu unreifen DCs, sind Zellen im semi-reifen Zustand in der Lage, in die Lymphknoten einzuwandern, um dort mit T-Zellen zu interagieren¹⁴⁹. Während reife DCs in der Wissenschaft als immunogen beschrieben werden, d.h. eine starke Entzündungsreaktion induzieren, ist die Wirkung von semi-reifen DCs auf die adaptive Immunantwort eine tolerogene¹⁵⁰. In einem *in vivo* Mausmodell konnte gezeigt werden, dass der adoptive Transfer von Stallstaubextrakt-stimulierten BMDCs die Entstehung von akutem allergischem Asthma in den Tieren verhindert¹⁴⁸. Als Ursache für diesen allergieprotektiven Effekt des Stallstaubes wird von den Autoren der semi-reife Zustand der BMDCs nach Stimulation diskutiert, welcher zu einer allgemeinen Repression der Entzündungsreaktion führte und nicht zu einer Induktion von T_H1-Zellen. Des Weiteren konnte bereits anhand bestimmter kommensaler Bakterienspezies gezeigt werden, dass semi-reife DCs nicht in der Lage sind, eine effektive Polarisation und Proliferation von T_H1-Effektorzellen zu induzieren^{151,152}. Andere Untersuchungen konnten außerdem einen Zusammenhang dieser DC-Population mit der Induktion von einer tendenziell T_H2-gerichteten Immunantwort identifizieren^{153,154}. Eine Immunantwort dieser Art kann z.B. durch eine schwache TLR2-Aktivierung in DCs ausgelöst werden^{152,155}. Auch die in dieser Arbeit untersuchte Bakterienspezies *S. sciuri* W620 zeigte nur eine schwache Aktivierung von T_H1-Zellen in der DC/T-Zell-Kokultur. So konnte im Vergleich zu den *L. lactis* G121-behandelten Kokulturen eine deutlich geringere IFN- γ -Sekretion gemessen werden (Seite 41, Abb. 13A). Auch eine geringe Aktivierung von T_H2-Zellen konnte festgestellt werden, da die mRNA von IL-5 und IL-13 in einigen Spendern hochreguliert wurde (Seite 40, Abb. 12). Allerdings konnte weder die mRNA-induktion, noch die Freisetzung von IL-4 nachgewiesen werden (Seite 41, Abb. 13B). Die schwache IFN- γ -Freisetzung in der *S. sciuri* W620-aktivierten Kokultur resultierte hauptsächlich aus der moderaten Menge IL-23, die von den DCs nach der Stimulation sekretiert wird (im Gegensatz zu IL-12p70) (Seite 37, Abb. 10). Dieses zeigt die Behandlung mit dem neutralisierenden IL-12p40 Antikörper, die in einer starken Reduktion der IFN- γ -Freisetzung resultierte (Seite 44, Abb. 16). Da jedoch keine vollständige Inhibierung des Zytokins möglich war, besteht die Wahrscheinlichkeit, dass weitere Faktoren IFN- γ unter diesen Bedingungen induzieren. Dieses könnte z.B. IL-27 sein, dessen Untereinheiten ebenfalls durch *S. sciuri* W620-Stimulation induziert wurden (Seite 36, Abb. 9) und als T_H1-polarisierend beschrieben wurde¹²⁰. Auch andere, bereits oben erwähnte T_H1-assoziierte Faktoren, wie DLL4, werden durch *S. sciuri* W620-Behandlung in den DCs deutlich weniger induziert, als es bei *L. lactis* G121 der Fall ist (Seite 38, Abb. 11).

Diese Befunde dienen somit als Erklärung für die weniger starke Aktivierung von T_H1-Zellen in der *S. sciuri* W620-aktivierten Kokultur. Interessanterweise zeigen die Mikroarray-Daten, dass eine Stimulation von humanen DCs mit *S. sciuri* W620 zu einer Herunterregulation der Gruppe-I CD-Moleküle führt (Seite 74, Abb. 40). Dabei handelt es sich um MHC-ähnliche Moleküle, die T-Zellen Glykolipide präsentieren¹⁵⁶. Es konnte gezeigt werden, dass CD1-spezifische T-Zellen mit einer T_H1-Immunantwort assoziiert sind¹⁵⁷. Weiterführende Untersuchungen können aufklären, welche Bedeutung die Herunterregulation dieser mRNAs nach *S. sciuri* W620-Stimulation in DCs für die Aktivierung der adaptiven Immunantwort hat. Ein Argument gegen die Induktion eines intermediären Reifestadiums von DCs durch *S. sciuri* W620 ist die Induktion des als proinflammatorisch geltenden Zytokins IL-6. Doch wird für dieses Zytokin in Abwesenheit anderer proinflammatorischer Zytokine, wie es bei *S. sciuri* W620-Stimulation der Fall ist, auch eine immunsuppressive Funktion zugesprochen¹⁵⁸. Es wird vermutet, dass IL-6 über einen autokrinen Mechanismus die vollständige Reifung von DCs inhibiert und so zu einem semi-reifen Phänotyp führt^{152,155}. Im Gegensatz zu den *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen zeigte sich, dass *L. lactis* G121 zu einer starken Aktivierung von T_H1-Zellen, nicht aber T_H2-Zellen führte (Seite 40, Abb. 12). Die Induktion dieser T-Zellen beruhte auf der Initiierung eines typischen ausgereiften Phänotyps mit T_H1-polarisierenden Eigenschaften in den DCs. Diese Ergebnisse decken sich mit den Befunden aus der Doktorarbeit von J. Debarry, in der ebenfalls eine klare T_H1-Aktivierung des Immunsystems durch *L. lactis* G121 gezeigt werden konnte¹²⁷. Ein Großteil der *L. lactis* G121-induzierten IFN- γ -Freisetzung in der Kokultur konnte durch Einsatz eines neutralisierenden IL-12p40 Antikörpers blockiert werden (Seite 44, Abb. 16). Das lässt darauf schließen, dass die T_H1-Polarisation weitestgehend von IL-12p70 und/oder IL-23 abhängig ist, da sich beide Zytokine die IL-12p40 Untereinheit teilen. Wie es schon bei *S. sciuri* W620 der Fall war, konnte auch bei den *L. lactis* G121-aktivierten Kokulturen keine vollständige Inhibierung von IFN- γ durch den Antikörper erreicht werden. Auch hier kann IL-27 als möglicher IFN- γ -induzierender Faktor eine Rolle spielen (Seite 36, Abb. 9). Doch auch T_H17-Zellen können eine Quelle für IFN- γ sein, unter Umständen indirekt durch ihre Konvertierung in einen T_H1-Phänotyp^{101,159}. Asthmatiker weisen eine höhere IL-17-Konzentration in der Lunge auf als Nicht-Asthmatiker. Allerdings beziehen sich diese Befunde eher auf den neutrophilen und nicht den klassischen eosinophilen Asthmaphänotyp¹⁵⁹. Es konnte gezeigt werden, dass semi-reife DCs diese T-Zellsubpopulation induzieren können, vermutlich in Abhängigkeit von IL-23¹⁶⁰. Ein Zusammenhang dieses Zytokins mit der Stabilität einer T_H17-Population konnte durch mehrere Untersuchungen nachgewiesen werden^{101,161}. Die Voraussetzungen für die Polarisation von T_H17-Zellen in dem hier verwendeten Kokultur-System sind in der Form gegeben, als dass DCs eine deutliche Freisetzung von IL-6 und IL-23 nach Stimulation mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 zeigten (Seite 37, Abb. 10 und

Seite 43, Abb. 14A). Hingegen konnte keine Induktion der TGF- β -mRNA detektiert werden (Seite 43, Abb. 14B). Die Notwendigkeit dieses Zytokins für die Entstehung von T_H17-Zellen im humanen System ist allerdings umstritten¹¹⁹. In der Tat zeigten die Kokultur-Daten einen Anstieg der IL-17-, sowie der IL-22- und IL-9-mRNA, bei Aktivierung durch beide Bakterienspezies (Seite 43, Abb. 15). Vor allem bei IL-9 und IL-22 fällt auf, dass es in *S. sciuri* W620-behandelten DCs im Vergleich zu *L. lactis* G121-Stimulation stärker exprimiert wurde. Die Induktion der mRNA dieser Zytokine durch beide Bakterien könnte auch darauf hinweisen, dass T_H9- und T_H22-Zellen unter diesen Stimulationsbedingungen entstehen. Jedoch benötigen T_H9-Zellen für ihre Differenzierung TGF- β ¹⁰⁵, welches weder in den *L. lactis* G121- bzw. *S. sciuri* W620-stimulierten DCs, noch in den entsprechenden Kokulturen induziert wurde (Seite 43, Abb. 14 und Seite 46, Abb. 18). Daher ist es wahrscheinlicher, dass die IL-9-Induktion aufgrund der Entstehung von T_H17-Zellen nachweisbar war und nicht aufgrund einer T_H9-Differenzierung. In welchen T-Zellpopulationen die Zytokine IL-9 und IL-22 nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation induziert wurden, kann allerdings nur mittels Durchführung fortführender Experimente beurteilt werden. Für IL-9 konnte gezeigt werden, dass es IL-13 induziert und dadurch an der Ausprägung des Asthmaphänotyps beteiligt ist¹⁶². Des Weiteren zeigte sich, dass IL-9 die supprimierenden Effekte von T_{reg} erhöht und die Differenzierung von T_H17-Zellen begünstigt¹⁶³. Für IL-22, einem Mitglied der IL-10-Familie, konnten sowohl pro- als auch antiinflammatorische Wirkungen auf das adaptive Immunsystem nachgewiesen werden¹⁶⁴. Im Zusammenhang mit Asthma zeigte sich, dass IL-22 im Mausmodell die Induktion einer allergischen Entzündungsreaktion begrenzte^{165,166}. Da sich in der *S. sciuri* W620-aktivierten Kokultur keine eindeutigen Anzeichen einer starken inflammatorischen Aktivierung von T-Zellen finden, übernehmen diese Zytokine vermutlich eine eher regulative Funktion. Auch die Tatsache, dass eine alleiniger Gabe von *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 im Zuge von *in vivo* Mausversuchen keine Entzündungsmerkmale hervorrief^{123,124} ist ein Hinweis, dass die Induktion dieser mRNAs nicht mit einer Entzündungsreaktion in Verbindung steht.

Die tolerogene Wirkung semi-reifer DCs wird u.a. in der Rekrutierung von T_{reg} vermutet^{88,150}. Diese wiederum nehmen entscheidenden Einfluss auf die Balance von T_H1-, T_H2- und T_H17-Effektorzellen³⁴. Auf diesem Hintergrund konnten semi-reife DCs mit Allergie- und Asthmaprotektion in Verbindung gebracht werden^{33,167}. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass eine Beteiligung von regulatorischen T-Zellen sowohl in *L. lactis* G121 als auch in *S. sciuri* W620-aktivierten Kokulturen möglich ist. DCs, die mit beiden Bakterienspezies stimuliert wurden, zeigten eine Freisetzung des T_{reg}-polarisierenden Zytokins IL-10, wengleich dessen Konzentration nach *S. sciuri* W620-Behandlung geringer ist als bei *L. lactis* G121 (Seite 45, Abb. 17A). Mit diesen Daten einhergehend, zeigte sich bei der

S. sciuri W620-Behandlung eine geringere, bei der *L. lactis* G121-Stimulation eine höhere Induktion der Foxp3-mRNA sowie Konzentration von IL-10-Protein im Überstand der Kokulturen (Seite 46, Abb. 18 und Seite 47, Abb. 19). Wegen der Korrelation der IL-10-Freisetzung mit der Konzentration von IFN- γ lässt sich vermuten, dass IL-10 von T_H1-Zellen freigesetzt wird. Dieses wurde bereits mehrfach beschrieben und als Teil eines selbstregulierenden Mechanismus gesehen¹⁶⁸. Die Tatsache, dass die Inkubation der Kokulturen unter Einfluss des neutralisierenden IL-12p40 Antikörpers zwar in einer deutlichen Reduktion von IFN- γ , nicht aber IL-10 resultierte, widerlegt jedoch diese Theorie. Dennoch ist ein entscheidendes Argument gegen eine Polarisation von immunsuppressiven T_{reg} die fehlende mRNA-Induktion von TGF- β in der Kokultur. Dieses Zytokin spielt eine zentrale Rolle bei der T_{reg}-vermittelten Immunsuppression¹⁶⁹. Diese gegenläufigen Ergebnisse machen es somit notwendig, die Beteiligung von T_{reg} in diesem Zusammenhang durch weitere Untersuchungen zu überprüfen.

5.2 *L. lactis* G121, aber nicht *S. sciuri* W620, aktiviert DCs über intrazelluläre PRRs

Der zweite Bestandteil dieser Arbeit war es, die PRRs zu identifizieren, über die *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 DCs aktivieren. Dabei zeigte sich anhand eines HEK293-Überexpressionssystems, eine Aktivierung der Zellen über NOD2 durch beide Bakterienspezies. Hingegen konnte eine TLR2-Aktivierung nur durch *S. sciuri* W620, aber nicht durch *L. lactis* G121 nachgewiesen werden (Seite 49, Abb. 20). Diese Befunde konnten auch für dendritische Zellen bestätigt werden. So zeigten Versuche mit einem blockierenden TLR2-Antikörper eine deutliche Reduktion der Zytokine CXCL8 und IL-23 nach *S. sciuri* W620-Stimulation (Seite 50, Abb. 21). Das immunregulatorische Zytokin IL-10 hingegen, wurde unbeeinflusst von der Anwesenheit des Antikörpers durch dieses Bakterium induziert. Diese Daten deuten einen möglichen TLR2-unabhängigen Mechanismus an, der bei einer *S. sciuri* W620-Stimulation zur Freisetzung von IL-10 führt. Auch die HEK293-Daten bezüglich der NOD2-Aktivität beider Bakterienspezies konnten mittels Verwendung NOD2-defizienter BMDCs bestätigt werden. Im Vergleich zu IL-6 waren die Zytokine TNF- α und IL-12p70, insofern induziert, in den NOD2-KO-Zellen nach *L. lactis* G121- bzw. *S. sciuri* W620-Behandlung deutlich reduziert (Seite 51, Abb. 22). In humanen DCs zeigten sich Hinweise, dass das Peptidoglykan aus der Zellwand von *L. lactis* G121, ein potentieller NOD2-Ligand, bei der Induktion der Zytokine IL-12p70 und TNF- α in humanen DCs eine wichtige Rolle spielt (Seite 53, Abb. 23). Wie weiter unten diskutiert, ist die Aufnahme von *L. lactis* G121 jedoch essentiell für die Sekretion von IL-12p70. Daher kann die Reduktion dieser Zytokine auch aus einer inadäquaten Aufnahme der Enzym-behandelten Bakterien resultieren und

bedarf daher genauerer Untersuchungen. Ein Zusammenhang von Peptidoglykan und der Induktion von IL-12p70 konnte jedoch auch durch andere Arbeitsgruppen bestätigt werden¹⁷⁰⁻¹⁷². Die IL-12p70-Induktion durch *L. lactis* G121 kann nicht auf einer alleinigen Aktivierung von NOD2 beruhen, da die Inkubation von BMDCs (und humanen DCs; Daten nicht gezeigt) mit MDP nicht in einer Freisetzung dieses Zytokins resultierte (Seite 51, Abb. 22). In der Tat konnte gezeigt werden, dass eine reine NOD2-Stimulation zu der Entstehung eines T_H2-basierten asthmatischen Phänotyps im Mausmodell führt¹⁷³. Zusammen mit bestimmten TLR-Liganden kann jedoch eine starke T_H1-Polarisation induziert werden, die in einer Freisetzung von IL-12p70 resultiert¹⁷⁴. Diese Ergebnisse deuten drauf hin, dass *L. lactis* G121 neben NOD2 auch andere Rezeptoren aktivieren muss, um dieses T_H1-polarisierende Programm in DCs zu initiieren. Dieses wird auch durch die deutliche Restaktivität dieser Bakterienspezies in den NOD2-KO-BMDCs bestätigt. Es zeigte sich bei den Ergebnissen dieser Arbeit, dass die Aktivierung von DCs durch *L. lactis* G121 sehr stark von weiteren, intrazellulären Rezeptoren abhängig ist. Die kinetischen Unterschiede der Mikroarray-Daten unterstützen die Ergebnisse einer intrazellulären Aktivierung durch dieses Bakterium (Seite 72, Abb. 39). Die maximale Anzahl hochregulierter *Probe Sets* wird nach *L. lactis* G121-Stimulation erst deutlich später erreicht, als es bei dem extrazellulär-aktivierenden *S. sciuri* W620 der Fall ist. Konfokale Aufnahmen zeigen, dass beide Bakterienspezies in die Zellen aufgenommen wurden und in späte endosomale Kompartimente gelangten (Seite 54, Abb. 24). Doch nur die Aktivierung der DCs durch *L. lactis* G121 war in starkem Maße von diesem Vorgang abhängig. Eine Inkubation der humanen DCs mit beiden Bakterienspezies unter Anwesenheit eines Inhibitors für endosomale Ansäuerung (Bafilomycin A1), zeigte eine erhebliche Reduktion der Expression kostimulatorischer Moleküle nach *L. lactis* G121-, nicht aber nach *S. sciuri* W620-Stimulation (Seite 59, Abb. 29). Des Weiteren konnte die Sekretion proinflammatorischer bzw. T-Zell-polarisierender Zytokine, wie IL-12p70, IL-1 β , IL-23 und TNF- α , durch Verwendung von Bafilomycin A1 während der *L. lactis* G121-Stimulation erheblich inhibiert werden (Seite 61, Abb. 30). Dass es sich dabei um einen Mechanismus handelt, der bereits die Geninduktion dieser Zytokine verhindert, zeigt sich anhand konfokaler Aufnahmen der NF κ B-Translokation. Die beiden NF κ B-Untereinheiten p50 und cRel wurden vor allem bei der Induktion von IL-12p70 und IL-23 als entscheidend beschrieben^{135,175,176}. Die Inkubation von *L. lactis* G121-behandelten humanen DCs mit Bafilomycin A1 verhinderte die Translokation beider NF κ B-Untereinheiten in den Zellkern (Seite 62, Abb. 31). Dieses war jedoch nicht der Fall bei einer Stimulation der Zellen mit *S. sciuri* W620 unter Anwesenheit des Inhibitors. Die Untersuchungen mit Bafilomycin A1 lassen deutlich werden, dass *L. lactis* G121 einen intrazellulären Rezeptor aktiviert, der in Abhängigkeit von der endosomalen Ansäuerung inflammatorische, bzw. T_H1-polarisierende Zytokine induziert. TLR3, 7, 8 und 9 sind solche

Rezeptoren und in der Lage, bakterielle Antigene zu erkennen⁵⁶. Mit Hilfe von KO-BMDCs konnte eine essentielle Rolle der Rezeptoren TLR3, 7 und 9 bei der Aktivierung durch *L. lactis* G121 ausgeschlossen werden (Seite 65, Abb. 33). In humanen DCs hatte die Verwendung einer gegen TLR8 gerichteten immunregulatorischen Sequenz einen starken Rückgang der IL-12p70-Freisetzung nach *L. lactis* G121-Stimulation zur Folge (Seite 67, Abb. 35). Die TLR8-Aktivierung in humanen DCs durch dieses Bakterium wird ebenfalls durch mehrere andere Befunde gestützt. So konnte nachgewiesen werden, dass myeloide DCs hauptsächlich TLR3 und TLR8 exprimieren, jedoch nur wenig TLR7 und 9⁵⁷⁻⁵⁹. Zusätzlich konnte in der von mir angefertigten Diplomarbeit gezeigt werden, dass die Aktivierung von Immunzellen durch *L. lactis* G121 *myeloid differentiation primary response gene 88* (MyD88)-, aber nicht *Toll-interleukin 1 receptor domain-containing adaptor molecule 1* (TICAM1)-abhängig ist, was zu einem Ausschluss von TLR3 führt (siehe Abschnitt 1.1.2). Des Weiteren resultiert die Stimulation von humanen DCs durch *L. lactis* G121 in einer deutlichen Induktion von IFN- β , wie es u.a. für eine TLR8-Aktivierung typisch ist⁶⁸. In der Tat konnte die IFN- β -mRNA-Induktion bei Inkubation mit der immunregulatorischen Sequenz deutlich inhibiert werden (Seite 68, Abb. 36). In aktuellen Veröffentlichungen konnte eine Beteiligung von TLR8 bereits bei anderen bakteriellen Infektionen nachgewiesen werden¹⁷⁷⁻¹⁷⁹. Doch ähnlich wie bei dem Rezeptor NOD2, scheint auch eine Aktivierung von TLR8 alleine nicht verantwortlich zu sein für die IL-12p70-Freisetzung, da der TLR7/8-Ligand R848 kein IL-12p70 induzierte (Seite 67, Abb. 35). Diese Daten deuten auf einen TLR/NLR-Synergismus hin, wie es auch für andere TLRs bereits mehrfach beschrieben wurde^{72,180,181}. Während die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-12p70 und IL-1 β durch Inkubation von *L. lactis* G121-stimulierten DCs mit Bafilomycin A1 deutlich abnimmt, trifft dieses auf die Induktion von CXCL8 nur in geringerem Maße zu (Seite 61, Abb. 30). Hingegen führte die Inhibierung der Phagozytose durch Cytochalasin D zu einer starken Reduktion dieses Chemokins (Seite 56, Abb. 26). Das lässt vermuten, dass mindestens ein weiterer Rezeptor von *L. lactis* G121 aktiviert wird, der weitestgehend unabhängig von der endosomalen Ansäuerung CXCL8 induziert. Dieser ist entweder intrazellulär oder dessen vollständiges Aktivierungspotential ist von dem Fortschritt der Phagozytose abhängig, wie es z.B. für *c-type lectin domain family 7 member A* (CLEC7A, alias Dectin-1) beschrieben wurde¹⁸².

Der deutlich geringere Reifungsgrad und die verminderte Aktivierung *L. lactis* G121-stimulierter DCs unter Anwesenheit von Bafilomycin A1 hatte eine wesentlich geringere Aktivierung der T_H1-Zellen zur Folge. Dieses äußerte sich durch geringere Konzentrationen von IFN- γ und IL-10 in der Kokultur im Vergleich zu den nicht Bafilomycin A1-beeinflusssten, *L. lactis* G121-aktivierten Kokulturen. Ursache dafür, ist die geringere Freisetzung T_H1-polarisierender Zytokine, sowie geringere Expression kostimulatorischer Moleküle der

L. lactis G121-stimulierten DCs, wie es bereits weiter oben für *S. sciuri* W620-Stimulation beschrieben wurde. Damit zeigt sich die Notwendigkeit der Aufnahme und endosomalen Ansäuerung für die *L. lactis* G121-vermittelte T_H1-Aktivierung durch DCs.

5.3 Theorie zur *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-vermittelten Allergieprotektion im Kontext der Hygiene-Hypothese

Es zeigte sich im Zuge dieser Arbeit, dass die beiden Bakterienspezies *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 einen deutlich unterschiedlichen Reifungsgrad und Aktivierungsstatus von DCs induzieren. Dieses wird bestimmt durch die Aktivierung einer Kombination von unterschiedlichen Rezeptoren und beeinflusst entscheidend die Aktivierung und Polarisation des adaptiven Immunsystems. Die Stimulation mit *L. lactis* G121 resultierte in immunogenen DCs, mit proinflammatorischer Eigenschaften und der Fähigkeit eine deutliche Aktivierung von T_H1-, aber nicht T_H2-Zellen zu induzieren (Abb. 42).

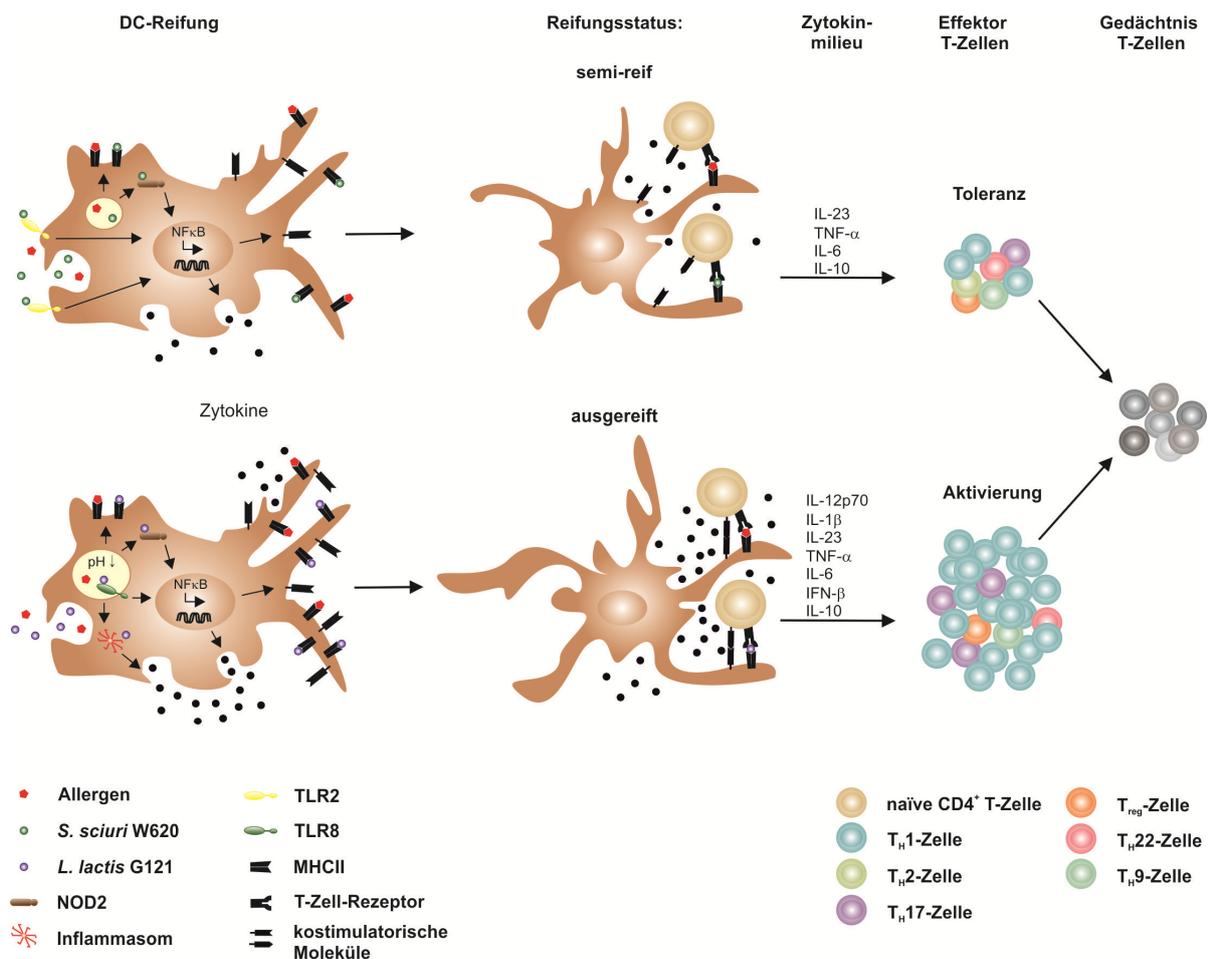


Abb. 42: Theoretischer Hintergrund der *S. sciuri* W620 und *L. lactis* G121-vermittelten Allergieprotektion
Erläuterungen siehe Text.

Im Gegensatz dazu, führte eine Stimulation von DCs mit *S. sciuri* W620 zu einem semi-reifem Stadium der Zellen, mit fehlenden proinflammatorischen Eigenschaften. *S. sciuri* W620-stimulierte DCs konnten weder eine starke T_H1 -, noch T_H2 -Ausrichtung induzieren. Die Daten dieser Arbeit zeigten ebenfalls eine mögliche Differenzierung von naiven T-Zellen in T_H17 -, T_H22 -, T_H9 -Zellen durch Stimulation mit beiden Bakterienspezies. Für eine vollständige Aufklärung der Beteiligung dieser T-Zellsubpopulationen sind jedoch weitere Untersuchungen nötig. Beide Bakterienspezies zeigten sich in *in vivo* Mausmodellen allergieprotektiv bezüglich der Induktion von akutem allergischem Asthma (Hagner *et al.*, in Revision)^{124,127}. Eine entscheidende Beteiligung von T_{reg} bei der Polarisation des adaptiven Immunsystems konnte bei Aktivierung durch beide Bakterienspezies nicht eindeutig ermittelt werden. Damit unterstützt die *L. lactis* G121-vermittelte Immunreaktion die Hygiene-Hypothese eher auf der Basis der fehlenden T_H2 -Immupolarisation durch Entstehung von T_H1 -Zellen (siehe Abschnitt 1.1.1). Im Gegensatz zu *L. lactis* G121 beruht der allergieprotektive Effekt, der von *S. sciuri* W620-stimulierten DCs vermittelt wird, vermutlich auf einer direkt induzierten Toleranz in T-Zellen. Es ist anzunehmen, dass diese aus fehlenden T-Zell-Aktivierungssignalen, wie polarisierenden Zytokinen und kostimulatorischen Molekülen, resultiert. DCs nehmen bei der Entscheidung, in welche Richtung das adaptive Immunsystem polarisiert wird eine zentrale Stellung ein. Jedoch entscheidet nicht eine einzige Zelle darüber, sondern die Gesamtheit aller aktivierten bzw. Toleranz-induzierenden DCs. Auf dem Hintergrund der Allergieprotektion durch Kontakt mit einer bäuerlichen Umgebung, treten DCs verstärkt mit einer Vielzahl unterschiedlicher Antigene in Kontakt. Verschiedene Antigene können entsprechend auf einer dendritischen Zelle über MHCII T-Zellen präsentiert werden. Doch vor allem die Expression T-Zell-polarisierender kostimulatorischer Moleküle und die Freisetzung entsprechender Zytokine, unterliegen einer variablen Regulation. Diese wird in starkem Maße von der Intensität der Aktivierung und Kombination der aktivierten Rezeptoren bestimmt¹⁸³. So ist es möglich, dass nur das Signal des stärker aktivierten Rezeptors darüber bestimmt, welches T-Zell-polarisierende Programm in DCs induziert wird. Zusätzlich kann dieses Signal durch Kostimulation weiterer Rezeptoren, die die gleiche Polarisationsrichtung favorisieren, verstärkt werden. Dieser Mechanismus spielt vermutlich bei der *L. lactis* G121-vermittelten DC-Aktivierung eine Rolle. Anders herum ist jedoch auch denkbar, dass z.B. die Überschneidung von Signalwegen unterschiedlicher Rezeptoren, die alleine eine T_H1 - oder T_H2 -Aktivierung induzieren würden, dazu führen, dass DCs einen eher Toleranz-induzierenden Phänotyp entwickeln. *In vitro* können tolerante DCs durch Inkubation mit IL-10 während der Differenzierungsphase generiert werden¹⁸⁴. Nach Stimulation zeigen die Zellen einen Reifungsstatus und ein Zytokinprofil ähnlich denen semi-reifer DCs¹⁸⁵. Von diesen DCs ist bekannt, dass sie über drei verschiedene Mechanismen Toleranz in dem adaptiven Immunsystem vermitteln: (I)

Induktion einer Anergie in T-Zellen, (II) Deletion der T-Zellen oder (III) Induktion von T_{reg}³². Entscheidend für die vollständige Reifung der DCs ist, dass die Aktivierung aller Rezeptoren in einer Signalstärke resultiert, die zur Überschreitung eines bestimmten Schwellenschwerts führt. Die Induktion eines semi-reifen DC-Phänotyps nach *S. sciuri* W620-Stimulation könnte aus einer solchen unterschwelligen Aktivierung resultieren. Denkbar wäre jedoch auch eine gegenseitige Hemmung sich überschneidender Signalwege, z.B. als Folge einer simultanen TLR2 und NOD2-Aktivierung. So konnten inhibierende Effekte von NOD2 auf die TLR2-Aktivierung beschrieben werden, besonders in Bezug auf die IL-12p70 Freisetzung^{71,186}. Neben der Rezeptorausstattung der DCs, nimmt auch das Zytokinmilieu einen entscheidenden Einfluss auf die Aktivierung und Polarisierung der T-Zellen. Entscheidend ist dabei das Verhältnis der Konzentrationen von Zytokinen, die eine unterschiedliche Wirkung auf das adaptive Immunsystem besitzen. Bei *L. lactis* G121-Stimulation werden große Mengen des proinflammatorischen IL-12p70 von den DCs sekretiert aber auch das immunsuppressive IL-10. Es konnte gezeigt werden, dass IL-12p70 in der Lage ist, unabhängig von IL-10 eine deutliche T_H1-Immunantwort zu initiieren¹⁸⁷. IL-10 kann von IL-12p70 induziert werden und spielt in diesem Fall eine limitierende Rolle in Bezug die T_H1-Immunantwort¹⁶⁸. In Abwesenheit von IL-12p70 und anderen proinflammatorischen Zytokinen hingegen, übernimmt das IL-10 eine immunsuppressive Wirkung, die eine Entstehung großer Mengen Effektor-T-Zellen verhindert^{188,189}. Ein solcher Mechanismus kann die Wirkung von *S. sciuri* W620-stimulierten DCs auf die naiven T-Zellen erklären. Eine ähnlich flexible Wirkweise in Abhängigkeit von proinflammatorischen Zytokinen, konnte auch für IL-6 nachgewiesen werden und wurde bereits im vorherigen Absatz beschrieben. Die Frage die sich in Bezug auf die Hygiene-Hypothese stellt ist jedoch, wie ein Kontakt zu Kuhstallbakterien die Entstehung allergischer Reaktionen auf potentielle Allergene verhindern kann. Reine Allergene sind in der Regel Substanzen, die keine PRR-Aktivität aufweisen. Aus diesem Grund wird vermutet, dass viele Allergene nur eine schwache DC-Aktivierung hervorrufen, die in einem semi-reifen Phänotyp resultiert und eine T_H2-Immunantwort induziert^{183,190,191}. Kommt es zu einem gleichzeitigen Kontakt der DCs mit einem Allergen und z.B. Bakterien, so werden alle prozessierten Antigene auf ihrer Oberfläche über MHCII präsentiert und vom TCR spezifischer T-Zellen gebunden. Da das Allergen selbst nur schwache Signale in den DCs induziert, werden sie von den stärkeren PRR-Signalen, welche durch die bakteriellen Liganden initiiert werden, überdeckt. Dieser Vorgang wiederum führt zu einem Bakterien-spezifischen Aktivierungsprofil der DCs und resultiert in einer entsprechenden adaptiven Immunantwort. Im Falle von *L. lactis* G121 würden somit auch die Allergen-spezifischen naiven CD4⁺ T-Zellen in Richtung T_H1 gelenkt, während *S. sciuri* W620 zu einer Toleranz gegenüber dem Allergen führen würde. Wird das adaptive Immunsystem aktiviert, entstehen Gedächtniszellen, die bei erneutem Kontakt mit

dem Allergen die entsprechende Immunantwort, auf die sie spezialisiert sind, wiederholen können¹⁹². Die Rolle der Gedächtniszellen könnte auch als Erklärung dienen, warum der allergieprotektive Schutz einer bäuerlichen Umgebung in früher Kindheit geprägt wird. Durch die hohe Frequenz und der insgesamt starken Belastung dieser Kinder mit mikrobiellen Bestandteilen und Allergenen gleichzeitig, würde eine allergieprotektive adaptive Immunantwort etabliert werden, bevor Allergen-spezifische, T_H2-induzierende Gedächtniszellen entstehen. Ebenso ist die Entstehung von vielfältigen Allergen-spezifischen Gedächtniszellen möglich, die durch Aktivierung unterschiedlicher Mechanismen bei erneutem Kontakt mit dem Allergen effektiver eine allergische Immunreaktion auf dieses verhindern, als ein Mechanismus allein.

Die Daten dieser Arbeit haben gezeigt, dass eine Bakterien-vermittelte Allergieprotektion über verschiedene Mechanismen möglich ist. Eine hohe Vielfalt von Mikroorganismen, wie es im bäuerlichen Umfeld der Fall ist, führt daher zu vielfältigen Aktivierungswegen des Immunsystems. Daraus ergibt sich der Denkanstoß, dass der Grad der Allergieprotektion, der durch eine bäuerliche Umgebung vermittelt wird, nicht nur auf einer einzelnen mikrobiellen Struktur basiert, sondern insbesondere auf einer Kombination von Strukturen aus verschiedener Spezies. Damit können diese Ergebnisse als experimentelle Basis für die epidemiologischen Befunde von Ege *et al.* dienen⁴³ und sich neue Ansätze für die Entwicklung allergiepräventiver Strategien und Therapien ergeben.

REFERENZEN

1. Christopher H. Fanta, M. . Asthma. *New England Journal* **344**, (2001).
2. Chinn, S. *et al.* Increase in diagnosed asthma but not in symptoms in the European Community Respiratory Health Survey. *Thorax* **59**, 646–51 (2004).
3. Pearce, N. *et al.* Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax* **62**, 758–66 (2007).
4. Kim, H. Y., Dekruyff, R. H. & Umetsu, D. T. The many paths to asthma: phenotype shaped by innate and adaptive immunity. *Nature immunology* **11**, 577–584 (2011).
5. Vercelli, D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nature reviews. Immunology* **8**, 169–82 (2008).
6. Gilmour, M. I., Jaakkola, M. S., London, S. J., Nel, A. E. & Rogers, C. a. How Exposure to Environmental Tobacco Smoke, Outdoor Air Pollutants, and Increased Pollen Burdens Influences the Incidence of Asthma. *Environmental Health Perspectives* **114**, 627–633 (2006).
7. Peden, D. & Reed, C. E. Environmental and occupational allergies. *The Journal of allergy and clinical immunology* **125**, S150–60 (2010).
8. Tosi, A., Wüthrich, B., Bonini, M. & Pietragalla-Köhler, B. Time lag between Ambrosia sensitisation and Ambrosia allergy: a 20-year study (1989-2008) in Legnano, northern Italy. *Swiss medical weekly* **141**, w13253 (2011).
9. Ziska, L. *et al.* Recent warming by latitude associated with increased length of ragweed pollen season in central North America. *PNAS* **108**, 4248–4251 (2011).
10. Strachan, D. P. Allergy and family size: a riddle worth solving. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* **27**, 235–6 (1997).
11. Devereux, G. Session 1: Allergic disease: Nutrition as a potential determinant of asthma. *The Proceedings of the Nutrition Society* **69**, 1–10 (2010).
12. Strachan, D. P. Hay fever, hygiene, and household size. *British Medical Journal* **299**, 1259–1260 (1989).
13. Okada, H., Kuhn, C., Feillet, H. & Bach, J.-F. The “hygiene hypothesis” for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clinical and experimental immunology* **160**, 1–9 (2010).
14. Riedler, J. *et al.* Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* **358**, 1129–33 (2001).
15. Schram-Bijkerk, D. *et al.* Bacterial and fungal agents in house dust and wheeze in children: the PARSIFAL study. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* **35**, 1272–8 (2005).
16. Wickens, K. *et al.* Farm residence and exposures and the risk of allergic diseases in New Zealand children. *Allergy* **57**, 1171–9 (2002).

17. Von Ehrenstein, O. S. *et al.* Reduced risk of hay fever and asthma among children of farmers. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* **30**, 187–93 (2000).
18. Douwes, J. *et al.* Lifelong farm exposure may strongly reduce the risk of asthma in adults. *Allergy* **62**, 1158–65 (2007).
19. Radon, K., Schulze, a & Nowak, D. Inverse association between farm animal contact and respiratory allergies in adulthood: protection, underreporting or selection? *Allergy* **61**, 443–6 (2006).
20. Smit, L. a M. *et al.* Hay fever and asthma symptoms in conventional and organic farmers in The Netherlands. *Occupational and environmental medicine* **64**, 101–7 (2007).
21. Douwes, J. *et al.* Farm exposure in utero may protect against asthma, hay fever and eczema. *The European respiratory journal: official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology* **32**, 603–11 (2008).
22. Robinson, D. S. Th-2 cytokines in allergic disease. *British medical bulletin* **56**, 956–68 (2000).
23. Larché, M., Robinson, D. S. & Kay, A. B. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **111**, 450–463 (2003).
24. Romagnani, S. The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? *Immunology* **112**, 352–63 (2004).
25. Adkins, B., Leclerc, C. & Marshall-Clarke, S. Neonatal adaptive immunity comes of age. *Nature reviews. Immunology* **4**, 553–64 (2004).
26. Björkstén, B. Environment and infant immunity. *Proceedings of the Nutrition Society* **58**, 729–732 (2007).
27. Bach, J. F. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. **347**, 911–920 (2002).
28. Stene, L. C. & Nafstad, P. Relation between occurrence of type 1 diabetes and asthma. *The Lancet* **357**, 607–608 (2001).
29. Gern, J. E. & Busse, W. W. Relationship of viral infections to wheezing illnesses and asthma. *Nature reviews. Immunology* **2**, 132–8 (2002).
30. Araujo, M. I. & Carvalho, E. M. D. Human Schistosomiasis Decreases Immune Responses to Allergens and Clinical Manifestations of Asthma. **90**, 29–44 (2006).
31. Flohr, C. *et al.* Poor sanitation and helminth infection protect against skin sensitization in Vietnamese children: A cross-sectional study. *The Journal of allergy and clinical immunology* **118**, 1305–11 (2006).
32. Akdis, C. A., Blaser, K. & Akdis, M. Genes of tolerance. *Allergy* **59**, 897–913 (2004).
33. Arnold, I. C. *et al.* Helicobacter pylori infection prevents allergic asthma in mouse models through the induction of regulatory T cells. *Journal of clinical investigation* **121**, 3088–3093 (2011).
34. Palomares, O. *et al.* Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *European journal of immunology* **40**, 1232–40 (2010).

35. Lewkowich, I. P. *et al.* CD4+CD25+ T cells protect against experimentally induced asthma and alter pulmonary dendritic cell phenotype and function. *The Journal of experimental medicine* **202**, 1549–61 (2005).
36. Botturi, K., Lacoëuille, Y., Cavailles, A., Vervloet, D. & Magnan, A. Differences in allergen-induced T cell activation between allergic asthma and rhinitis: Role of CD28, ICOS and CTLA-4. *Respiratory research* **12**, 25 (2011).
37. Lloyd, C. M. & Hawrylowicz, C. M. Regulatory T cells in asthma. *Immunity* **31**, 438–49 (2009).
38. Braun-Fahrländer C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, Maisch S, Carr D, Gerlach F, Bufe A, Lauener RP, Schierl R, Renz H, Nowak D, von M. E. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *New England Journal* **347**, 869–77 (2002).
39. Gehring, U. *et al.* Asthma and allergic symptoms in relation to house dust endotoxin: Phase Two of the International Study on Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC II). *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* **38**, 1911–20 (2008).
40. Thorne, P. S. *et al.* Endotoxin exposure is a risk factor for asthma: the national survey of endotoxin in United States housing. *American journal of respiratory and critical care medicine* **172**, 1371–7 (2005).
41. van Strien, R. T. *et al.* Microbial exposure of rural school children, as assessed by levels of N-acetyl-muramic acid in mattress dust, and its association with respiratory health. *The Journal of allergy and clinical immunology* **113**, 860–7 (2004).
42. Sordillo, J. E. *et al.* Multiple microbial exposures in the home may protect against asthma or allergy in childhood. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* **40**, 902–10 (2010).
43. Ege, M. J. *et al.* Exposure to Environmental Microorganisms and Childhood Asthma. *New England Journal* **364**, 701–709 (2011).
44. Vermaelen, K. & Pauwels, R. Pulmonary dendritic cells. *American journal of respiratory and critical care medicine* **172**, 530–51 (2005).
45. Steinman, B. R. M., Kaplan, G., Witmer, M. D. & Cohn, Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice: I. Morphology, quantitation, tissue distribution. **149**, 1–16 (1979).
46. WESLEY C. VAN VOORHIS, LAURA S. HAIR, RALPH M. STEINMAN, G. K. HUMAN DENDRITIC CELLS. Enrichment and Characterization from Peripheral Blood. *Journal of Experimental Medicine* **155**, 1172–1187 (1982).
47. Sertl K, Takemura T, Tschachler E, Ferrans VJ, Kaliner MA, S. E. Dendritic cells with antigen-presenting capability reside in airway epithelium, lung parenchyma, and visceral pleura. *Journal of Experimental Medicine* **163**, 436–451 (1986).
48. Pavli, P., Maxwell, L., Van de Pol, E. & Doe, F. Distribution of human colonic dendritic cells and macrophages. *Clinical and experimental immunology* **104**, 124–32 (1996).
49. Banchereau, J. *et al.* Immunobiology of dendritic cells. *Annual review of physiology* **18**, 767–811 (2000).
50. Schmidt, S. V., Nino-Castro, A. C. & Schultze, J. L. Regulatory dendritic cells: there is more than just immune activation. *Frontiers in immunology* **3**, 274 (2012).

51. Takeda, K., Kaisho, T. & Akira, S. Toll-like receptors. *Annual review of immunology* **21**, 335–76 (2003).
52. Uronen-hansson, H., Allen, J., Osman, M., Squires, G. & Klein, N. Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 are present inside human dendritic cells , associated with microtubules and the Golgi apparatus but are not detectable on the cell surface : integrity of microtubules is required for interleukin-12 production in resp. *Immunology* **111**, 173–178 (2004).
53. Im, J. *et al.* Induction of IL-8 expression by bacterial flagellin is mediated through lipid raft formation and intracellular TLR5 activation in A549 cells. *Molecular immunology* **47**, 614–22 (2009).
54. Guan, Y. *et al.* Human TLRs 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **184**, 5094–103 (2010).
55. Blander, J. M. Coupling Toll-like receptor signaling with phagocytosis: potentiation of antigen presentation. *Trends in immunology* **28**, 19–25 (2007).
56. Blasius, A. L. & Beutler, B. Intracellular toll-like receptors. *Immunity* **32**, 305–15 (2010).
57. Kadowaki, N. *et al.* Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *The Journal of experimental medicine* **194**, 863–9 (2001).
58. Jarrossay, D., Napolitani, G., Colonna, M., Sallusto, F. & Lanzavecchia, A. Specialization and complementarity in microbial molecule recognition by human myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *European journal of immunology* **31**, 3388–93 (2001).
59. Muzio, M. *et al.* Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **164**, 5998–6004 (2000).
60. Werts, C., Rubino, S., Ling, A., Girardin, S. E. & Philpott, D. J. Nod-like receptors in intestinal homeostasis, inflammation, and cancer. *Journal of leukocyte biology* **90**, 471–82 (2011).
61. Stutz, A., Golenbock, D. T. & Latz, E. Inflammasomes : too big to miss. *Science in medicine* **119**, 3502–3511 (2009).
62. Davis, B. K., Wen, H. & Ting, J. P.-Y. The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. *Annual review of immunology* **29**, 707–35 (2011).
63. Brough, D. & Rothwell, N. J. Caspase-1-dependent processing of pro-interleukin-1beta is cytosolic and precedes cell death. *Journal of cell science* **120**, 772–81 (2007).
64. Girardin, S. E. *et al.* Nod1 detects a unique muropeptide from gram-negative bacterial peptidoglycan. *Science (New York, N.Y.)* **300**, 1584–7 (2003).
65. Ogura, Y. *et al.* Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *The Journal of biological chemistry* **276**, 4812–8 (2001).
66. Kanneganti, T.-D., Lamkanfi, M. & Núñez, G. Intracellular NOD-like receptors in host defense and disease. *Immunity* **27**, 549–59 (2007).
67. Bonizzi, G. & Karin, M. The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends in immunology* **25**, 280–8 (2004).
68. Kawai, T. & Akira, S. TLR signaling. *Cell death and differentiation* **13**, 816–25 (2006).

69. Honda, K. & Taniguchi, T. IRFs: master regulators of signalling by Toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors. *Nature reviews. Immunology* **6**, 644–58 (2006).
70. Ogawa, S. *et al.* Molecular Determinants of Crosstalk between Nuclear Receptors and Toll-like Receptors Mediating Counter-regulation of Inflammatory Responses. *Cell* **122**, 707–721 (2005).
71. Watanabe, T., Kitani, A., Murray, P. J. & Strober, W. NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. *Nature immunology* **5**, 800–8 (2004).
72. van Heel, D. a *et al.* Synergy between TLR9 and NOD2 innate immune responses is lost in genetic Crohn's disease. *Gut* **54**, 1553–7 (2005).
73. Chen, G., Shaw, M. H., Kim, Y.-G. & Nuñez, G. NOD-like receptors: role in innate immunity and inflammatory disease. *Annual review of pathology* **4**, 365–98 (2009).
74. Williams, K. L. *et al.* The CATERPILLER protein monarch-1 is an antagonist of toll-like receptor-, tumor necrosis factor alpha-, and Mycobacterium tuberculosis-induced pro-inflammatory signals. *The Journal of biological chemistry* **280**, 39914–24 (2005).
75. Calame, K. L. Plasma cells: finding new light at the end of B cell development. *Nature immunology* **2**, 1103–8 (2001).
76. Williams, M. a & Bevan, M. J. Effector and memory CTL differentiation. *Annual review of immunology* **25**, 171–92 (2007).
77. Cohn, L., Elias, J. a & Chupp, G. L. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annual review of immunology* **22**, 789–815 (2004).
78. Lambrecht, B. N. & Hammad, H. Taking our breath away: dendritic cells in the pathogenesis of asthma. *Immunology* **3**, 994–1003 (2003).
79. Vermaelen, K. Y., Carro-Muino, I., Lambrecht, B. N. & Pauwels, R. a Specific migratory dendritic cells rapidly transport antigen from the airways to the thoracic lymph nodes. *The Journal of experimental medicine* **193**, 51–60 (2001).
80. Schon-Hegrad, M. a, Oliver, J., McMenamin, P. G. & Holt, P. G. Studies on the density, distribution, and surface phenotype of intraepithelial class II major histocompatibility complex antigen (Ia)-bearing dendritic cells (DC) in the conducting airways. *The Journal of experimental medicine* **173**, 1345–56 (1991).
81. Banchereau, J. & Steinman, R. M. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* **392**, 245–52 (1998).
82. Bertorelli, G. *et al.* Dendritic cell number is related to IL-4 expression in the airways of atopic asthmatic subjects. *Allergy* **55**, 449–54 (2000).
83. Lambrecht, B. N. *et al.* Myeloid dendritic cells induce Th2 responses to inhaled antigen, leading to eosinophilic airway inflammation. *The Journal of clinical investigation* **106**, 551–9 (2000).
84. van Rijt, L. S. *et al.* In vivo depletion of lung CD11c+ dendritic cells during allergen challenge abrogates the characteristic features of asthma. *The Journal of experimental medicine* **201**, 981–91 (2005).
85. Lambrecht, B. N., Salomon, B., Klatzmann, D. & Pauwels, R. a Dendritic cells are required for the development of chronic eosinophilic airway inflammation in response to inhaled antigen in sensitized mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **160**, 4090–7 (1998).

86. Li, X. *et al.* Induction of type 2 T helper cell allergen tolerance by IL-10-differentiated regulatory dendritic cells. *American journal of respiratory cell and molecular biology* **42**, 190–9 (2010).
87. Akbari, O., DeKruyff, R. H. & Umetsu, D. T. Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to antigen. *Nature immunology* **2**, 725–31 (2001).
88. Rutella, S., Danese, S. & Leone, G. Tolerogenic dendritic cells: cytokine modulation comes of age. *Blood* **108**, 1435–40 (2006).
89. Lutz, M. B. & Schuler, G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends in immunology* **23**, 445–9 (2002).
90. Kapsenberg, M. L. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nature reviews. Immunology* **3**, 984–93 (2003).
91. Blander, J. M. Phagocytosis and antigen presentation: a partnership initiated by Toll-like receptors. *Annals of the rheumatic diseases* **67**, iii44–9 (2008).
92. Savina, A. & Amigorena, S. Phagocytosis and antigen presentation in dendritic cells. *Immunological reviews* **219**, 143–56 (2007).
93. de Jong, E. C., Smits, H. H. & Kapsenberg, M. L. Dendritic cell-mediated T cell polarization. *Springer seminars in immunopathology* **26**, 289–307 (2005).
94. Hochweller, K. & Anderton, S. M. Kinetics of costimulatory molecule expression by T cells and dendritic cells during the induction of tolerance versus immunity in vivo. *European journal of immunology* **35**, 1086–96 (2005).
95. Jutel, M. & Akdis, C. a T-cell subset regulation in atopy. *Current allergy and asthma reports* **11**, 139–45 (2011).
96. Zhu, J. & Paul, W. E. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* **112**, 1557–69 (2008).
97. Koyasu, S. & Moro, K. Role of Innate Lymphocytes in Infection and Inflammation. *Frontiers in immunology* **3**, 101 (2012).
98. Kehry, M. R. CD40-Mediated Signaling in B Cells. *The American Association of Immunologists* 2345–2348 (1996).
99. Beriou, G. *et al.* TGF-beta induces IL-9 production from human Th17 cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **185**, 46–54 (2010).
100. Stephens, G. L. *et al.* IL-9 is a Th17-derived cytokine that limits pathogenic activity in organ-specific autoimmune disease. *European journal of immunology* **41**, 952–62 (2011).
101. Annunziato, F. *et al.* Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *The Journal of experimental medicine* **204**, 1849–61 (2007).
102. Waite, J. C. & Skokos, D. Th17 response and inflammatory autoimmune diseases. *International journal of inflammation* (2012).doi:10.1155/2012/819467
103. Chang, H. *et al.* PU.1 is required for generating the IL-9-producing Th9 phenotype. *Nature immunology* **11**, 527–534 (2011).
104. Goswami, R. & Kaplan, M. H. Yoking OX40 to regulation of IL-9. *Nature immunology* **13**, 942–3 (2012).

105. Ma, C. S., Tangye, S. G. & Deenick, E. K. Human Th9 cells: inflammatory cytokines modulate IL-9 production through the induction of IL-21. *Immunology and cell biology* **88**, 621–3 (2010).
106. Zenewicz, L. a & Flavell, R. a Recent advances in IL-22 biology. *International immunology* **23**, 159–63 (2011).
107. Alam, M. S. *et al.* Notch signaling drives IL-22 secretion in CD4⁺ T cells by stimulating the aryl hydrocarbon receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**, 5943–8 (2010).
108. Liang, S. C. *et al.* Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *The Journal of experimental medicine* **203**, 2271–9 (2006).
109. Huber, S. *et al.* Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3⁻ and Foxp3⁺ regulatory CD4⁺ T cells in an interleukin-10-dependent manner. *Immunity* **34**, 554–65 (2011).
110. Hawrylowicz, C. M. & O'Garra, a Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Nature reviews. Immunology* **5**, 271–83 (2005).
111. Rutz, S. *et al.* Notch regulates IL-10 production by T helper 1 cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**, 3497–502 (2008).
112. Amsen, D. *et al.* Instruction of distinct CD4 T helper cell fates by different notch ligands on antigen-presenting cells. *Cell* **117**, 515–26 (2004).
113. Akbari, O. *et al.* Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS-ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. *Nature medicine* **8**, 1024–32 (2002).
114. Smits, H. H. *et al.* Intercellular adhesion molecule-1/LFA-1 ligation favors human Th1 development. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **168**, 1710–6 (2002).
115. Trinchieri, G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nature reviews. Immunology* **3**, 133–46 (2003).
116. Goriely, S., Neurath, M. F. & Goldman, M. How microorganisms tip the balance between interleukin-12 family members. *Nature reviews. Immunology* **8**, 81–6 (2008).
117. Chung, Y. *et al.* Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling. *Immunity* **30**, 576–587 (2010).
118. Bettelli, E., Korn, T., Oukka, M. & Kuchroo, V. K. Induction and effector functions of T(H)17 cells. *Nature* **453**, 1051–7 (2008).
119. Hatton, R. D. TGF- β in Th17 cell development: the truth is out there. *Immunity* **34**, 288–290 (2011).
120. Fonseca-Kelly, Z., Rostami, A. & Fitzgerald, D. C. Diverse and Opposing Roles of IL-27 in Immunity. *The Open Autoimmunity Journal* **2**, 187–192 (2010).
121. Rogge, L. *et al.* The role of Stat4 in species-specific regulation of Th cell development by type I IFNs. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **161**, 6567–74 (1998).
122. Kushwah, R. & Hu, J. Role of dendritic cells in the induction of regulatory T cells. *Cell & bioscience* **1**, 20 (2011).

123. Debarry, J. *et al.* Acinetobacter Iwoffii and Lactococcus lactis strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties. *The Journal of allergy and clinical immunology* **119**, 1514–21 (2007).
124. Zhao, M. Development of a house dust mite model of mixed allergic airway inflammation and analysis of allergyprotective effects of Staphylococcus sciuri. (2012).
125. Sallusto, F. & Lanzavecchia, a Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. *The Journal of experimental medicine* **179**, 1109–18 (1994).
126. Lutz, M. B. *et al.* An advanced culture method for generating large quantities of highly pure dendritic cells from mouse bone marrow. *Journal of immunological methods* **223**, 77–92 (1999).
127. Debarry, J. Mögliche Mechanismen der Allergieprävention : dendritische Zellen als Regulatoren der durch Stallbakterien ausgelösten allergieprotektiven Immunantwort. (2007).
128. Vanden Eijnden, S., Goriely, S., De Wit, D., Willems, F. & Goldman, M. IL-23 up-regulates IL-10 and induces IL-17 synthesis by polyclonally activated naive T cells in human. *European journal of immunology* **35**, 469–75 (2005).
129. Jankovic, D. & Trinchieri, G. IL-10 or not IL-10: that is the question. *Nature immunology* **8**, 1281–3 (2007).
130. Zielinski CE, Mele F, Aschenbrenner D, Jarrossay D, Ronchi F, Gattorno M, Monticelli S, Lanzavecchia A, S. F. Pathogen-induced human TH17 cells produce IFN- γ or IL-10 and are regulated by IL-1 β . *Nature* **484**, 514–18 (2012).
131. Izcue, A. & Powrie, F. Special regulatory T-cell review: Regulatory T cells and the intestinal tract--patrolling the frontier. *Immunology* **123**, 6–10 (2008).
132. Heil, F. *et al.* The Toll-like receptor 7 (TLR7)-specific stimulus loxoribine uncovers a strong relationship within the TLR7, 8 and 9 subfamily. *European journal of immunology* **33**, 2987–97 (2003).
133. Russo, C. *et al.* Small molecule Toll-like receptor 7 agonists localize to the MHC class II loading compartment of human plasmacytoid dendritic cells. *Blood* **117**, 5683–91 (2011).
134. Mise-Omata, S. *et al.* A proximal kappaB site in the IL-23 p19 promoter is responsible for RelA- and c-Rel-dependent transcription. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **179**, 6596–603 (2007).
135. Grumont, R. *et al.* c-Rel regulates interleukin 12 p70 expression in CD8(+) dendritic cells by specifically inducing p35 gene transcription. *The Journal of experimental medicine* **194**, 1021–32 (2001).
136. Carmody, R. J., Ruan, Q., Liou, H. & Chen, Y. H. Essential Roles of c-Rel in TLR-Induced IL-23 p19. *Journal of Immunology* **178**, 186–191 (2007).
137. Lee, J. *et al.* pH-dependent internalization of muramyl peptides from early endosomes enables Nod1 and Nod2 signaling. *The Journal of biological chemistry* **284**, 23818–29 (2009).
138. Marina-García, N. *et al.* Clathrin- and dynamin-dependent endocytic pathway regulates muramyl dipeptide internalization and NOD2 activation. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **182**, 4321–7 (2009).

139. Marion Jurk, Florian Heil, Jörg Vollmer, Christian Schetter, Arthur M. Krieg, Hermann Wagner, G. L. & S. B. Human TLR7 or TLR8 independently confer responsiveness to the antiviral compound R-848. *Nature Immunology* **3**, 499 (2002).
140. Demaria, O. *et al.* TLR8 deficiency leads to autoimmunity in mice. *The Journal of clinical investigation* **120**, 3651–62 (2010).
141. Barrat, F. J. *et al.* Nucleic acids of mammalian origin can act as endogenous ligands for Toll-like receptors and may promote systemic lupus erythematosus. *The Journal of experimental medicine* **202**, 1131–9 (2005).
142. Hurst J, Prinz N, Lorenz M, Bauer S, Chapman J, Lackner KJ, von L. P. TLR7 and TLR8 ligands and antiphospholipid antibodies show synergistic effects on the induction of IL-1 β and caspase-1 in monocytes and dendritic cells.pdf. *Immunobiology* **214**, 683–91 (2009).
143. Yang, K. *et al.* Human TLR-7-, -8-, and -9-mediated induction of IFN-alpha/beta and -lambda Is IRAK-4 dependent and redundant for protective immunity to viruses. *Immunity* **23**, 465–78 (2005).
144. Jayant V. Rajan, Sarah E. Warren, Edward A. Miao, A. A. Activation of the NLRP3 inflammasome by intracellular poly I:C. *FEBS Lett.* **584**, 4627–4632 (2010).
145. Takahiro Shimada, Bong Goo Park, Andrea J. Wolf, Constantinos Brikos, Helen S. Goodridge, Courtney A. Becker, Christopher N. Reyes, Edward A. Miao, Alan Aderem, Friedrich Götz, George Y. Liu, D. M. U. Staphylococcus aureus Evades Lysozyme-Based Peptidoglycan Digestion that Links Phagocytosis, Inflammasome Activation, and IL-1 β Secretion.pdf. *Cell host & microbe* **7**, 38 (2010).
146. Barker BR, Taxman DJ, T. J. Cross-regulation between the IL-1 β -IL-18 processing inflammasome and other inflammatory cytokines.pdf. *Current opinion in immunology* **23**, 591–7 (2011).
147. Peters, M. *et al.* Inhalation of stable dust extract prevents allergen induced airway inflammation and hyperresponsiveness. *Thorax* **61**, 134–9 (2006).
148. Gorelik, L. *et al.* Modulation of dendritic cell function by cowshed dust extract. *Innate immunity* **14**, 345–55 (2008).
149. Worbs, T. & Förster, R. A key role for CCR7 in establishing central and peripheral tolerance. *Trends in immunology* **28**, 274–80 (2007).
150. Lutz, M. B. Therapeutic potential of semi-mature dendritic cells for tolerance induction. *Frontiers in immunology* **3**, 123 (2012).
151. Veckman, V., Miettinen, M., Pirhonen, J., Sire, J. & Matikainen, S. Streptococcus pyogenes and Lactobacillus rhamnosus differentially induce maturation and production of Th1-type cytokines and chemokines in human monocyte-derived dendritic cells. *Journal of Leukocyte Biology* **75**, 764–771 (2004).
152. Frick, J. S. *et al.* Colitogenic and non-colitogenic commensal bacteria differentially trigger DC maturation and Th cell polarization: an important role for IL-6. *European journal of immunology* **36**, 1537–47 (2006).
153. Lim, D.-S., Kang, M.-S., Jeong, J.-A. & Bae, Y.-S. Semi-mature DC are immunogenic and not tolerogenic when inoculated at a high dose in collagen-induced arthritis mice. *European journal of immunology* **39**, 1334–43 (2009).

154. Pletinckx, K. *et al.* Similar inflammatory DC maturation signatures induced by TNF or *Trypanosoma brucei* antigens instruct default Th2-cell responses. *European journal of immunology* **41**, 3479–94 (2011).
155. Frick JS, Grünebach F, A. I. Immunomodulation by semi-mature dendritic cells: a novel role of Toll-like receptors and interleukin-6. *International Journal of Medical Microbiology* **1**, 19–24 (2010).
156. Porcelli, S. a & Modlin, R. L. The CD1 system: antigen-presenting molecules for T cell recognition of lipids and glycolipids. *Annual review of immunology* **17**, 297–329 (1999).
157. Vincent, M. S., Gumperz, J. E. & Brenner, M. B. Understanding the function of CD1-restricted T cells. *Nature immunology* **4**, 517–23 (2003).
158. Hegde, S., Pahne, J. & Smola-Hess, S. Novel immunosuppressive properties of interleukin-6 in dendritic cells: inhibition of NF-kappaB binding activity and CCR7 expression. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* **18**, 1439–41 (2004).
159. Cosmi, L., Liotta, F., Maggi, E., Romagnani, S. & Annunziato, F. Th17 cells: new players in asthma pathogenesis. *Allergy* **66**, 989–98 (2011).
160. Nagasaka, S., Iwasaki, T., Okano, T. & Chiba, J. Antigen-specific IL-23/17 pathway activation by murine semi-mature DC-like cells. *Biochemical and biophysical research communications* **387**, 52–57 (2009).
161. McKenzie, B. S., Kastelein, R. a & Cua, D. J. Understanding the IL-23-IL-17 immune pathway. *Trends in immunology* **27**, 17–23 (2006).
162. Zhou, Y., McLane, M. & Levitt, R. C. Th2 cytokines and asthma. Interleukin-9 as a therapeutic target for asthma. *Respiratory research* **2**, 80–4 (2001).
163. Elyaman, W. *et al.* IL-9 induces differentiation of TH17 cells and enhances function of FoxP3+ natural regulatory T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**, 12885–90 (2009).
164. Zenewicz, L. a & Flavell, R. a IL-22 and inflammation: leukin' through a glass onion. *European journal of immunology* **38**, 3265–8 (2008).
165. Taube, C. *et al.* IL-22 is produced by innate lymphoid cells and limits inflammation in allergic airway disease. *PloS one* **6**, e21799 (2011).
166. Nakagome, K. *et al.* High expression of IL-22 suppresses antigen-induced immune responses and eosinophilic airway inflammation via an IL-10-associated mechanism. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **187**, 5077–89 (2011).
167. Dioszeghy, V. *et al.* Epicutaneous immunotherapy results in rapid allergen uptake by dendritic cells through intact skin and downregulates the allergen-specific response in sensitized mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **186**, 5629–37 (2011).
168. Trinchieri, G. Interleukin-10 production by effector T cells: Th1 cells show self control. *The Journal of experimental medicine* **204**, 239–43 (2007).
169. Ostroukhova, M. *et al.* Treg-mediated immunosuppression involves activation of the Notch-HES1 axis by membrane-bound TGF- β . *Journal of clinical investigation* **116**, 996–1004 (2006).

170. Shida, K., Kiyoshima-Shibata, J., Nagaoka, M., Watanabe, K. & Nanno, M. Induction of interleukin-12 by *Lactobacillus* strains having a rigid cell wall resistant to intracellular digestion. *Journal of dairy science* **89**, 3306–17 (2006).
171. Volz, T. *et al.* Natural *Staphylococcus aureus*-derived peptidoglycan fragments activate NOD2 and act as potent costimulators of the innate immune system exclusively in the presence of TLR signals. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* **24**, 4089–102 (2010).
172. Lawrence, C. & Nauciel, C. Production of interleukin-12 by murine macrophages in response to bacterial peptidoglycan. *Infection and immunity* **66**, 4947–9 (1998).
173. Duan, W., Mehta, A. K., Magalhaes, J. G. & Ziegler, S. F. Innate Signals from Nod2 Block Respiratory Tolerance and Program Th2 Driven Allergic Inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **126**, 1284–1293 (2010).
174. Tada, H., Aiba, S., Shibata, K., Ohteki, T. & Takada, H. Synergistic Effect of Nod1 and Nod2 Agonists with Toll-Like Receptor Agonists on Human Dendritic Cells To Generate Interleukin-12 and T Helper Type 1 Cells. *Infection and immunity* **73**, 7967–7976 (2005).
175. Kollet, J. I. & Petro, T. M. IRF-1 and NF-kappaB p50/cRel bind to distinct regions of the proximal murine IL-12 p35 promoter during costimulation with IFN-gamma and LPS. *Molecular immunology* **43**, 623–33 (2006).
176. Sanjabi, S., Hoffmann, a, Liou, H. C., Baltimore, D. & Smale, S. T. Selective requirement for c-Rel during IL-12 P40 gene induction in macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**, 12705–10 (2000).
177. Davila, S. *et al.* Genetic association and expression studies indicate a role of toll-like receptor 8 in pulmonary tuberculosis. *PLoS genetics* **4**, e1000218 (2008).
178. Cervantes, J. L. *et al.* Phagosomal signaling by *Borrelia burgdorferi* in human monocytes involves Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR8 cooperativity and TLR8-mediated induction of IFN-beta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**, 3683–8 (2011).
179. Gantier, M. P. *et al.* Genetic modulation of TLR8 response following bacterial phagocytosis. *Human mutation* **31**, 1069–79 (2010).
180. van Heel, D. a *et al.* Muramyl dipeptide and toll-like receptor sensitivity in NOD2-associated Crohn's disease. *Lancet* **365**, 1794–6 (2005).
181. Takada, H., Yokoyama, S. & Yang, S. Enhancement of endotoxin activity by muramyl dipeptide. *Journal of endotoxin research* **8**, 337–42 (2002).
182. Rosas, M. *et al.* The induction of inflammation by dectin-1 in vivo is dependent on myeloid cell programming and the progression of phagocytosis. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **181**, 3549–57 (2008).
183. MacDonald, A. S. & Maizels, R. M. Alarming dendritic cells for Th2 induction. *The Journal of experimental medicine* **205**, 13–7 (2008).
184. Steinbrink, K., Wolf, M., Jonuleit, H., Knop, J. & Enk, A. H. Induction of Tolerance by IL-10-Treated Dendritic Cells. *Journal of Immunology* **159**, 4772–4780 (1997).
185. Steinman, R. M., Hawiger, D. & Nussenzweig, M. C. Tolerogenic dendritic cells. *Annual review of immunology* **21**, 685–711 (2003).

186. Yang, Z. *et al.* NOD2 Transgenic Mice Exhibit Enhanced MDP-Mediated Down-Regulation of TLR2 Responses and Resistance to Colitis Induction. *Gastroenterology* **133**, 1510–1521 (2007).
187. Tournoy, K. G., Kips, J. C. & Pauwels, R. a Counterbalancing of TH2-driven allergic airway inflammation by IL-12 does not require IL-10. *The Journal of allergy and clinical immunology* **107**, 483–91 (2001).
188. Hart, a L. *et al.* Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut* **53**, 1602–9 (2004).
189. Nayyar, A. *et al.* Induction of prolonged asthma tolerance by IL-10-differentiated dendritic cells: differential impact on airway hyperresponsiveness and the Th2 immunoinflammatory response. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **189**, 72–9 (2012).
190. Lamhamedi-Cherradi, S.-E. *et al.* Fungal proteases induce Th2 polarization through limited dendritic cell maturation and reduced production of IL-12. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **180**, 6000–9 (2008).
191. Hulse, K. E. *et al.* Targeting Fel d 1 to FcγRI induces a novel variation of the T(H)2 response in subjects with cat allergy. *The Journal of allergy and clinical immunology* **121**, 756–762.e4 (2008).
192. Stockinger, B., Bourgeois, C. & Kassiotis, G. CD4+ memory T cells: functional differentiation and homeostasis. *Immunological reviews* **211**, 39–48 (2006).

ZUSAMMENFASSUNG

Eine Vielzahl an epidemiologischen Studien zeigt, dass der frühkindliche Kontakt zu einer traditionell geführten, bäuerlichen Umgebung das Risiko vermindert, im späteren Leben allergische Erkrankungen zu entwickeln. Neuere Studien geben Hinweise, dass die mikrobielle Vielfalt in der bäuerlichen Umgebung eine besondere Rolle bei diesem allergieprotektiven Effekt spielen könnte. Die beiden Gram⁺ Kuhstallisolate *Lactococcus lactis* G121 (*L. lactis* G121) und *Staphylococcus sciuri* W620 (*S. sciuri* W620) erwiesen sich in einem *in vivo* Mausmodell der akuten allergischen Entzündung als allergieprotektiv, jedoch mit großen Unterschieden bezüglich der induzierten Immunantwort. Aus diesem Grund wurden die beiden Bakterien in dieser Arbeit hinsichtlich ihrer Immunzell-aktivierenden Eigenschaften vergleichend charakterisiert.

Ein Kontakt mit bestimmten Mikroorganismen kann T_H1- oder T_{reg}-Zellen induzieren, was zu einer Inhibierung der Allergie-assoziierten T_H2-Antwort führen kann. Bei diesem Prozess nehmen besonders die dendritischen Zellen (DCs) eine wichtige Rolle ein. Microarray-Daten von humanen dendritischen Zellen stimuliert mit *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 zeigen eine große Anzahl gemeinsam, aber auch unterschiedlich induzierter Gene. Eine Stimulation von humanen DCs mit *L. lactis* G121 induzierte einen immunogenen Phänotyp der Zellen, während *S. sciuri* W620-stimulierte Zellen einen eher intermediären Reifungszustand aufwiesen, was vermutlich zu einer Tolerogenität führt. Es konnte gezeigt werden, dass *L. lactis* G121 ein inflammatorisches, T_H1-polarisierendes Programm in DCs induziert, welches in einer starken T_H1-Polarisation naiver T-Zellen resultiert. Bei *S. sciuri* W620-behandelten DCs hingegen fehlte die deutliche Induktion entscheidender proinflammatorischer, T_H1-assoziiierter Zytokine. Daraus resultierte eine schwache T_H1-Polarisation von CD4⁺ T-Zellen, mit Tendenzen zur Aktivierung von T_H2-Zellen. Es fanden sich Hinweise, dass T_H9⁻, T_H17⁻, T_H22⁻ und T_{reg}-Zellen bei der adaptiven Immunantwort nach *L. lactis* G121- und *S. sciuri* W620-Stimulation eine Rolle spielen. Die Aktivierung der DCs durch *S. sciuri* W620 fand hauptsächlich über TLR2 und NOD2 statt. Die T_H1-Polarisation von DCs durch *L. lactis* G121 hingegen, war im starken Maße von der endosomalen Ansäuerung abhängig und beruhte mindestens zum Teil auf den intrazellulären Rezeptoren NOD2 und TLR8.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung des Immunsystems durch *L. lactis* G121 und *S. sciuri* W620 auf sehr unterschiedlichen Mechanismen beruht. In Anbetracht dessen, dass sich beide Bakterien im Mausmodell als allergieprotektiv erwiesen haben, liefert diese Arbeit Hinweise darauf, dass der Effekt der Bakterien-vermittelten Allergieprotektion durch die Aktivierung vielfältiger Rezeptoren und Mechanismen erreicht werden kann.

ABSTRACT

A great number of epidemiological studies show that farming environment in early childhood reduces the risk of developing allergic reactions later in life. Recent studies indicate that the microbial diversity might be responsible for the allergy-protective effect by such rural environment. The Gram⁺ cowshed-isolates *Lactococcus lactis* G121 (*L. lactis* G121) and *Staphylococcus sciuri* W620 (*S. sciuri* W620) prevented allergic immune responses in a mouse model of acute allergic inflammation. However, the immune response induced by both bacteria differed profoundly.

Contact with microbes can induce T_H1 or T_{reg} cells resulting in the inhibition of the allergy-associated T_H2 immune response. Dendritic cells (DCs) play an important role in this process. Microarray data of *L. lactis* G121- and *S. sciuri* W620-stimulated DCs revealed a number of mutually but also differentially regulated genes. A stimulation of human DCs with *L. lactis* G121 induced an immunogenic phenotype of these cells, while *S. sciuri* W620 stimulation resulted in a more intermediate maturation status, probably leading to tolerance. It could be shown that *L. lactis* G121 induced a proinflammatory, T_H1-polarising program in DCs, therefore resulting in a strong T_H1-activation. In contrast, *S. sciuri* W620-stimulated DCs showed only poor induction of proinflammatory, T_H1-associated cytokines. Accordingly, activation of T_H1 cells was weak and tendencies to T_H2 cell induction could be observed. Development of T_H17, T_H22, T_H9 and T_{reg} cells by both bacteria is possible but has to be further investigated. The activation of DCs by *S. sciuri* W620 involved TLR2 and NOD2. In contrast, *L. lactis* G121-induced T_H1-polarisation was strongly dependent on endosomal acidification and was based on at least the intracellular receptors NOD2 and TLR8.

Overall, it was shown that the activation by *L. lactis* G121 and *S. sciuri* W620 relies on different mechanisms. Considering the prevention of an allergic reaction by both bacteria in a mouse model, this work indicates that bacteria-derived allergy-protection might result from activation of different receptors and mechanisms.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Einfluss von Umweltfaktoren auf die Balance der T _{Helfer} -Populationen	8
Abb. 2: Rezeptoren von DCs und deren Signalwege	11
Abb. 3: Aktivierung und Polarisation der T _{Helfer} -Zellen durch DCs	16
Abb. 4: Expression spezifischer Oberflächenmarker von Monozyten zur Bestimmung der Reinheit	24
Abb. 5: Expression spezifischer Oberflächenmarker von dendritischen Zellen zur Bestimmung der Reinheit	24
Abb. 6: Expression spezifischer Oberflächenmarker von BMDCs zur Bestimmung der Differenzierung	26
Abb. 7: Aktivierung humaner DCs nach <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 Stimulation	33
Abb. 8: Expression kostimulatorischer Moleküle nach <i>L. lactis</i> G121- und <i>S. sciuri</i> W620-Stimulation auf humanen DCs	34
Abb. 9: Expression bestimmter mRNAs aus der IL-12-Familie nach Stimulation mit <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 in humanen DCs	36
Abb. 10: IL-12p70- und IL-23-Freisetzung aus humanen DCs nach <i>L. lactis</i> G121- und <i>S. sciuri</i> W620-Stimulation	37
Abb. 11: Expression T _H 1- und T _H 2-assoziiierter Gene nach Stimulation mit <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 in humanen DCs	38
Abb. 12: Expression T _H 1- und T _H 2-assoziiierter Gene in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen	40
Abb. 13: Freisetzung von IFN- γ und IL-4 in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen ...	41
Abb. 14: Freisetzung von IL-6 und Genexpression von TGF- β in humanen DCs nach Stimulation mit <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620	43
Abb. 15: Expression T _H 17-, T _H 9- und T _H 22-assoziiierter Gene in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen	43
Abb. 16: Freisetzung von IFN- γ in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen unter Anwesenheit eines neutralisierenden IL-12p40 Antikörpers	44
Abb. 17: Freisetzung von IL-10 und Genexpression von ICOSLG in humanen DCs nach Stimulation mit <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620	45
Abb. 18: Expression T _{reg} -assoziiierter Gene in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen	46
Abb. 19: Freisetzung von IL-10 in Kokulturen mit humanen DCs und autologen T-Zellen unter An- bzw Abwesenheit eines neutralisierenden IL-12p40 Antikörpers	47
Abb. 20: Stimulation von NOD2- und TLR2-transfizierten HEK-293-Zellen	49
Abb. 21: Aktivierung humaner DCs nach <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 Stimulation unter Anwesenheit eines blockierenden TLR2-Antikörpers	50
Abb. 22: Stimulation von murinen Wildtyp und NOD2-defizienten BMDC mit <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620	51
Abb. 23: Stimulation humaner DCs mit Lysozym-verdauten <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620	53

Abb. 24: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der Aufnahme von <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 und der Lokalisation in späten Endosomen.....	54
Abb. 25: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der Aufnahme von <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 in Anwesenheit des Inhibitors Cytochalasin D.....	55
Abb. 26: Aktivierung humaner DCs nach <i>L. lactis</i> G121- und <i>S. sciuri</i> W620-Stimulation bei Inhibierung der Endozytose	56
Abb. 27: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der Aufnahme von <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 in Kompartimente mit saurem pH	57
Abb. 28: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der Aufnahme von <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 in Anwesenheit des Inhibitors Bafilomycin A1	58
Abb. 29: Expression kostimulatorischer Moleküle nach <i>L. lactis</i> G121- und <i>S. sciuri</i> W620-Stimulation unter Anwesenheit von Bafilomycin A1 auf humanen DCs	59
Abb. 30: Aktivierung humaner DCs nach <i>L. lactis</i> G121- und <i>S. sciuri</i> W620-Stimulation bei Inhibierung der endosomalen Ansäuerung	61
Abb. 31: NF- κ Bp50 und cRel Translokation in den Zellkern humaner DCs nach <i>L. lactis</i> G121- und <i>S. sciuri</i> W620-Stimulation in An- und Abwesenheit von Bafilomycin A1	62
Abb. 32: Freisetzung von IFN- γ und IL-10 in humanen DC/T-Zell Kokulturen unter Einfluss des Inhibitors Bafilomycin A1	63
Abb. 33: Stimulation von murinen Wildtyp und TLR3-, 7- und 9-defizienten BMDC mit <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620	65
Abb. 34: Konfokale Aufnahmen humaner DCs zur Überprüfung der räumlichen Nähe von <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 mit TLR8	66
Abb. 35: Aktivierung humaner DCs nach <i>L. lactis</i> G121- und <i>S. sciuri</i> W620-Stimulation unter Anwesenheit einer immunregulatorischen Sequenz gerichtet gegen TLR8.....	67
Abb. 36: Induktion der IFN- β -mRNA in humanen DCs nach <i>L. lactis</i> G121-Stimulation unter Anwesenheit einer immunregulatorischen Sequenz gerichtet gegen TLR8.....	68
Abb. 37: Induktion von IL-1 β -mRNA und Freisetzung des Proteins in humanen DCs nach Stimulation mit <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620	69
Abb. 38: IL-1 β -Freisetzung aus humanen DCs nach <i>L. lactis</i> G121-Stimulation bei Inhibierung der endosomalen Ansäuerung	70
Abb. 39: Scatterplot Analyse von Microarray-Daten humaner DCs nach Stimulation mit <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 und Anzahl der regulierten <i>Probe Sets</i>	72
Abb. 40: Vergleich gemeinsamer und unterschiedlicher regulierter <i>Probe Sets</i> nach <i>L. lactis</i> G121 und <i>S. sciuri</i> W620 Stimulation	74
Abb. 41: Netzwerkanalyse der Microarray-Daten.....	76
Abb. 42: Theoretischer Hintergrund der <i>S. sciuri</i> W620 und <i>L. lactis</i> G121-vermittelten Allergieprotektion	86

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Verwendete Plasmide für transiente Transfektion von HEK293-Zellen	26
Tab. 2: Verwendete ELISA und ihre Bezugsquellen.....	27
Tab. 3: Verwendete Antikörper und Farbstoffe für die FACS-Markierung.....	28
Tab. 4: Verwendete Antikörper und Farbstoffe für die Konfokale Mikroskopie	29
Tab. 5: Verwendete Primer für die <i>Real-time</i> PCR.....	30
Tab. 6: Microarray-Daten	107

ANHANG

Tab. 6: Microarray-Daten

Die linearen Genexpressionsdaten von DCs, stimuliert mit 10^7 cfu/ml *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 für 3, 6 und 12 h, wurden auf die unstimulierten Kontrollwerte normalisiert. Zur besseren Veranschaulichung wurde von allen Werten unter 1 das negative Reziprok gebildet. Aufgelistet sind alle *Probe Sets*, die unabhängig vom Zeitpunkt durch Stimulation mit *L. lactis* G121 oder *S. sciuri* W620 weniger als 2-fach oder mehr als 2-fach reguliert sind (entsprechend farbig hinterlegt). Die Auflistung erfolgt in alphabetischer Reihenfolge.

		-2						2							
Gen-Symbol	Affymetrix Probe Set ID	<i>L. lactis</i> 3 h	<i>L. lactis</i> 6 h	<i>L. lactis</i> 12 h	<i>S. sciuri</i> 3 h	<i>S. sciuri</i> 6 h	<i>S. sciuri</i> 12 h	Gen-Symbol	Affymetrix Probe Set ID	<i>L. lactis</i> 3 h	<i>L. lactis</i> 6 h	<i>L. lactis</i> 12 h	<i>S. sciuri</i> 3 h	<i>S. sciuri</i> 6 h	<i>S. sciuri</i> 12 h
AAAS	7963646	1.1	0.6	0.9	-2.6	0.6	0.7	AGPAT9	8096116	1.1	0.6	0.5	-6.1	0.9	-4.3
AASDH	8100478	0.7	-2.3	0.5	0.8	0.6	1.1	AGPS	8046604	0.9	-2.5	0.6	0.6	0.6	0.6
AASDHPPPT	7943552	0.9	-2.7	0.7	0.7	0.8	1.0	AGTRAP	7897745	1.4	1.2	1.7	0.9	1.7	2.6
ABAT	7993126	1.2	0.5	0.8	-2.6	-2.5	-2.6	AHCY	8065738	0.8	-2.5	0.5	-5.9	-2.8	-4.3
ABC6	8017964	1.3	1.5	1.2	0.6	1.0	-2.1	AHCYL2	8136095	0.9	0.6	0.8	1.3	-2.2	1.1
ABC9	8017927	1.3	3.7	1.9	1.3	1.7	1.1	AHNAK	7948667	0.9	0.8	0.8	-2.3	0.7	-2.3
ABCC1	7993478	1.1	2.2	1.4	1.3	2.6	1.4	AHR	8131614	1.4	0.6	1.4	-2.5	1.8	1.7
ABCC3	8008454	0.8	0.5	0.6	-6.9	0.5	-2.4	AHS1	7975976	1.7	1.8	1.8	2.0	2.2	1.7
ABCC4	7972297	1.4	0.6	1.3	2.6	1.3	1.0	AHS2	8042195	0.6	0.5	-2.2	0.6	0.6	-2.4
ABCC5	8092418	0.8	-5.0	-2.6	-7.1	-6.1	-6.4	AIDA	7917148	1.1	2.5	1.0	3.3	1.6	1.6
ABCD3	7903119	1.0	-2.1	0.5	-3.0	-2.2	0.5	AIF1	8118158	0.8	0.5	0.8	-3.0	0.6	-2.1
ABCF1	8117929	1.7	1.6	2.2	2.2	2.2	1.6	AIF1	8177996	0.8	0.5	0.8	-3.0	0.6	-2.1
ABCF1	8177797	1.7	1.6	2.2	2.2	2.2	1.6	AIF1	8179276	0.8	0.5	0.8	-3.0	0.6	-2.1
ABCF1	8179112	1.7	1.6	2.2	2.2	2.2	1.6	AIF2	7934101	0.9	1.4	1.6	2.1	1.6	1.7
ABCF3	8084360	0.9	-2.1	0.9	0.9	0.9	1.1	AIM1	8121277	1.7	2.7	1.9	2.2	1.8	1.6
ABCG1	8068761	0.8	-2.3	-2.3	-2.8	-2.7	-2.3	AIM2	7921434	1.9	8.7	0.8	6.8	1.1	1.3
ABHD10	8081612	0.6	-2.8	-2.5	-2.3	-2.5	-2.7	AIP	7941927	0.9	-2.0	0.8	0.7	0.8	0.9
ABHD2	8065469	1.1	0.5	1.0	-4.1	-2.2	-2.6	AK2	7914617	1.3	1.1	1.1	2.3	1.6	1.3
ABHD14A	8080162	0.9	0.6	0.7	-3.0	0.5	-2.6	AK4	7962183	2.5	7.8	7.4	32.5	30.9	34.0
ABHD2	7985809	0.9	-2.9	0.7	-4.0	-3.9	-3.9	AKAP10	8013431	0.8	-2.1	0.6	0.8	1.0	1.2
ABHD3	8022488	1.1	0.7	0.9	-2.2	0.6	0.8	AKAP11	7968835	1.0	-2.8	-2.1	-3.5	-2.1	0.5
ABHD4	7973306	0.7	-3.9	0.5	-6.6	-3.3	-2.0	AKR1A1	7901110	1.2	0.9	1.2	-2.7	1.0	0.7
ABHD6	8080762	0.9	-2.7	0.8	-4.6	-2.7	0.5	AKR1B1	8143054	1.0	0.7	0.8	-3.9	0.7	0.6
ABI1	7932816	1.1	2.1	2.1	2.9	2.3	2.7	AKR1C1	7925918	1.4	1.2	2.1	0.9	1.4	1.0
ABI2	8047659	0.9	0.5	0.9	-2.6	0.8	0.8	AKR1C2	7931832	1.3	2.2	2.4	0.9	4.3	1.1
ABL1	8158725	0.8	-4.1	-2.1	-2.1	-2.4	0.7	AKR1C3	7925929	1.0	1.1	1.1	1.0	2.4	1.3
ABL2	7922610	4.1	6.3	3.8	2.8	4.0	2.8	AKT1S1	8038477	1.4	3.7	3.0	2.3	3.2	2.1
ABR	8010983	0.8	0.6	0.9	-3.1	0.7	0.7	AKT3	7925531	0.8	1.4	0.9	4.0	2.7	4.0
ABTB2	7947462	1.4	17.6	5.3	24.0	5.8	9.6	ALAD	8163509	1.1	0.6	0.6	-3.9	-2.7	0.6
ACAA2	8023261	0.8	-3.1	0.6	-3.0	-4.0	-2.6	ALCAM	8081431	1.2	1.9	1.8	2.9	3.6	2.1
ACAD8	7945283	1.0	0.5	1.1	-2.0	0.8	1.1	ALDH1A1	8161755	0.5	0.5	-2.5	-5.1	-2.5	-5.2
ACADM	7902367	0.9	0.6	0.7	-2.6	0.6	-2.1	ALDH1A2	7989199	1.2	1.1	0.7	2.6	1.0	1.4
ACAP2	8092933	1.0	-2.2	0.6	0.5	1.1	1.1	ALDH3A2	8005638	0.8	0.5	0.6	-2.1	-2.1	-2.2
ACAT2	8123137	1.8	1.7	2.4	1.6	2.4	1.5	ALDH3B1	7941961	0.9	0.5	0.7	-2.1	-2.2	0.6
ACE	8009096	0.9	0.9	1.0	-2.3	0.7	-2.0	ALDH6A1	7980098	0.7	-2.1	0.5	-2.7	0.5	-3.4
ACER3	7942679	1.2	0.6	1.0	-3.0	1.1	0.7	ALDH7A1	8113773	2.6	1.1	1.0	0.9	1.6	1.1
ACIN1	7973371	0.9	-2.4	0.7	0.6	0.6	0.8	ALDH9A1	7921970	1.1	-2.2	0.9	-2.1	0.7	0.7
ACO1	8154733	1.2	0.9	1.8	-2.0	1.9	1.9	ALDOC	8013660	1.3	1.3	1.6	0.6	1.3	2.1
ACOT1	7975998	1.0	0.6	0.6	-2.4	0.7	0.5	ALG1	7993071	0.8	0.5	0.9	-3.0	0.6	0.5
ACOT11	7901613	0.7	0.7	0.8	-2.2	0.7	0.5	ALG14	7917896	1.1	-2.1	0.8	0.7	1.0	1.2
ACOT13	8117219	0.8	-2.1	0.6	-3.9	0.5	0.5	ALG3	8092457	1.2	-2.4	1.0	-3.0	0.6	0.6
ACOT2	7976002	0.8	-2.1	0.6	-2.3	-2.3	-2.6	ALGB	7950654	1.5	0.7	1.1	-2.1	0.8	-2.0
ACOT8	8066586	0.9	0.5	0.9	-2.7	0.6	0.6	ALGX	8011680	1.9	0.8	1.0	-9.0	-2.2	-1.7
ACOT9	8171802	1.9	3.7	2.2	4.0	3.3	2.8	ALOX15	8004784	1.0	2.6	1.8	2.0	2.0	2.6
ACOX3	8099304	1.1	3.0	1.5	2.0	1.6	1.0	ALOX5	7927215	1.3	0.8	1.4	-7.0	-2.1	-2.3
ACPS	8034304	0.9	0.5	0.7	-7.9	-2.4	-9.3	ALOX5AP	7968344	1.4	0.9	1.3	-2.2	0.9	0.6
ACPP	8082673	0.8	-2.2	-2.5	1.8	-2.5	-2.2	ALS2CR4	8058258	1.0	1.1	1.5	1.2	2.1	1.5
ACSF2	8008321	0.8	-3.1	-2.1	-6.3	-4.9	-4.5	AMACR	8111430	0.9	-2.2	0.5	0.7	0.6	0.7
ACSL1	8103951	2.9	11.1	8.2	8.8	14.9	10.0	AMDHD2	7992656	0.7	-2.0	0.7	-2.6	-2.2	-2.1
ACSL4	8174474	1.8	3.1	2.7	9.2	6.1	12.4	AMFR	8001477	0.8	-2.3	0.6	-2.5	-2.2	0.6
ACSL5	7930498	1.9	3.1	4.7	2.5	7.9	3.7	AMICA1	7952022	1.1	-3.5	0.6	-29.0	-5.4	-19.2
ACSS1	8065444	0.7	-2.2	0.5	-2.5	-2.2	-2.2	AMMECR1L	8055096	1.4	1.3	1.8	2.1	2.2	1.6
ACSS2	8062041	1.0	-2.2	0.8	-4.3	0.7	0.8	AMOTL2	8090852	1.0	3.5	1.1	1.0	1.0	1.0
ACTR10	7974587	1.4	1.5	1.5	2.0	2.1	2.1	AMPD2	7903719	0.9	-2.1	0.5	-3.1	0.6	0.5
ACTR8	8088151	1.0	-2.2	0.9	1.4	1.3	1.7	AMPD3	7938396	1.9	3.7	5.9	5.6	9.9	8.9
ACVR2A	8045587	5.9	2.1	3.5	0.5	2.4	0.8	AMZ2	8009432	0.8	0.5	0.7	-2.0	0.6	0.7
ACY1	8080168	1.1	1.0	1.2	-2.6	0.9	0.9	ANAPC1	8053610	0.8	-2.5	0.6	0.6	0.7	0.6
ADA	8066431	2.4	9.5	20.6	63.3	24.9	56.4	ANAPC1	8054614	0.9	-2.1	0.6	0.6	0.7	0.6
ADAM10	7989224	0.9	-2.0	0.9	-2.2	1.0	1.2	ANAPC10	8103005	1.3	1.1	1.3	2.2	1.3	1.5
ADAM12	7936968	1.2	1.6	1.7	1.4	1.6	3.1	ANAPC13	8090866	0.8	-2.3	0.7	-3.1	0.6	0.6
ADAM15	7905881	1.5	0.8	1.1	-3.0	0.7	-2.8	ANAPC5	7967149	1.1	0.6	1.1	-2.5	0.6	0.8
ADAM17	8050190	1.5	4.1	1.8	2.0	2.6	1.5	ANAPC7	7966301	1.0	-2.3	0.6	-2.5	0.8	0.5
ADAM19	8115490	3.7	19.0	8.6	42.4	16.1	29.2	ANG	7973084	1.2	0.6	0.6	0.5	-2.2	0.6
ADAM8	7937150	1.9	2.6	2.1	2.9	1.7	2.0	ANGPTL4	8025402	1.1	1.9	1.1	22.5	2.9	11.0
ADAMDEC1	8145317	1.5	3.2	2.5	11.3	5.0	25.5	ANKH	8111101	1.3	0.6	1.1	-4.4	-2.6	-3.4
ADAMTSL4	7905233	1.1	0.7	1.1	-3.7	-2.3	-2.5	ANKIB1	8134180	1.0	1.7	0.9	2.1	1.0	1.2
ADAMTSL4	7919743	1.0	2.0	1.0	1.1	1.1	1.1	ANKL2	7967794	1.8	3.2	3.5	4.1	3.3	3.2
ADAP2	8006214	1.1	-2.5	1.1	-2.8	-2.1	0.6	ANKMY2	8138370	0.9	-2.0	0.8	0.7	0.6	0.7
ADAR	7920531	1.1	2.9	1.0	2.2	1.6	1.3	ANKRD20B	8155414	1.4	1.0	0.7	0.7	-2.1	-4.0
ADARB1	8069178	1.3	2.4	1.6	7.1	3.0	7.1	ANKRD20B	8053737	1.2	0.9	0.6	0.7	-2.2	-2.8
ADCK1	7976000	1.2	0.6	0.7	-2.1	0.6	0.7	ANKRD20B	8155591	1.2	1.2	0.7	0.7	0.5	-3.0
ADCK2	8136591	0.6	-2.4	-2.4	-2.2	-2.5	-2.1	ANKRD22	7934898	1.6	14.9	2.2	108.2	4.1	9.1
ADCK3	7910164	0.7	-2.5	-2.7	-3.1	-3.1	-2.7	ANKRD36B	8053834	0.7	0.8	1.1	-2.2	0.8	0.8
ADCY3	8050766	0.8	0.6	0.6	0.6	0.6	-3.4	ANKRD37	8098604	0.8	1.7	1.2	2.5	1.6	2.0
ADCY7	7995492	1.0	0.7	0.7	-2.7	0.7	-2.1	ANKRD44	8057990	0.9	-2.1	0.7	-3.6	-2.5	0.6
ADD3	7930380	0.9	0.6	0.6	-2.4	-2.6	-2.6	ANKRD49	7943231	1.0	-2.3	1.0	1.0	1.3	1.1
ADH5	8101844	1.0	-2.2	0.8	0.7	0.6	0.6	ANKRD50	8102720	0.8	-2.7	1.0	-2.3	0.7	1.1
ADH1	8050071	1.4	1.1	1.9	-2.3	1.9	1.3	ANKRD58	8169657	0.6	0.6	0.6	-2.4	0.6	0.6
ADIPOR1	7923503	0.9	-2.1	1.0	-2.6	1.2	1.2	ANKS1A	8118863	0.9	-2.1	0.5	-2.6	-2.1	0.6
ADK	7928471	1.2	0.7	0.7	-3.9	0.6	-2.7	ANO10	8086467	1.4	0.9	1.8	-3.8	1.5	1.3
ADM	7938390	3.9	10.8	8.0	14.6	12.1	13.1	ANOS	7938951	0.9	3.5	1.0	1.6	0.9	0.8
ADNP	8067011	0.8	-2.2	0.7	0.6	0.9	0.7	ANP32A	7982531	1.0	-2.6	0.8	-4.7	0.5	-2.1
ADNP2	8021914	1.4	1.2	2.2	1.3	1.6	1.3								

APH1B	7984124	1,1	-3,6	0,9	0,8	0,9	1,5	ATP7A	8168472	1,1	0,6	0,8	-2,2	0,7	0,9
APOA1BP	7906185	1,2	0,8	1,0	-2,5	0,7	0,6	ATP8A1	8100026	0,7	-2,2	0,7	-2,4	0,7	-2,8
APOBEC3A	8073056	23,7	74,9	6,0	66,3	21,2	5,6	ATP8B4	7988644	0,9	-2,2	0,7	-9,0	-2,3	-2,2
APOBEC3B	8073062	1,2	2,0	1,1	2,5	1,0	1,1	ATPFA2	8013179	1,0	-3,3	0,6	-3,2	-2,7	0,7
APOBEC3C	8073068	1,1	0,8	0,8	0,6	-2,5	0,6	ATRA	8081190	1,3	3,6	0,9	3,7	2,6	1,0
APOBEC3F	8073081	1,9	5,3	1,3	2,2	1,2	1,3	ATRN	8080627	0,7	-3,0	0,6	-2,6	0,7	0,6
APOBEC3G	8073088	1,4	6,4	1,1	3,7	1,3	2,2	ATRX	8176276	1,4	0,9	-2,4	2,8	1,8	2,0
APOC1	8029536	-2,7	-3,3	-3,2	-6,4	-3,0	-8,5	ATXN1	8124040	1,2	1,3	1,2	0,6	2,0	1,7
APOE	8029530	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	-2,2	ATXN7L1	8142096	1,0	2,8	2,0	3,4	1,4	1,4
APOL1	8072735	1,3	6,2	2,0	6,4	2,2	2,7	ATXN7L1	8142098	1,0	3,2	2,2	5,2	1,7	1,6
APOL2	8075720	1,0	4,6	1,7	4,2	1,9	2,0	ATXN7L1	8142100	0,8	2,3	1,6	3,0	1,2	1,1
APOL3	8075695	2,1	18,4	5,7	7,9	12,1	5,8	ATXN7L1	8142102	1,0	2,6	1,6	2,3	1,2	1,2
APOL4	8075709	1,1	1,4	0,6	0,6	-2,2	-2,6	ATXN7L1	8142087	1,0	3,5	2,0	3,6	1,7	1,4
APOL6	8072710	1,5	4,5	0,7	3,2	1,7	1,4	ATXN7L3	8015955	1,2	0,9	1,3	1,5	1,5	2,1
APOOL	8171823	2,4	2,3	3,1	4,3	2,8	4,0	AVPH1	7935521	-2,3	-6,3	-3,9	-7,8	-8,2	-3,4
APPL2	7966003	0,9	-6,3	-2,3	-6,9	-7,8	-4,8	AXL	8029006	1,1	3,2	1,1	1,5	1,0	0,7
APRT	8003401	0,9	0,7	0,7	-2,3	0,8	0,6	AZ12	8085954	1,1	1,7	1,0	2,0	1,6	2,2
AQP3	8160670	3,2	0,8	1,1	0,6	0,9	0,7	AZIN1	8152222	2,3	3,1	3,0	4,0	4,5	3,8
AQP9	7983910	1,3	5,0	2,5	13,9	5,2	11,8	B3GNT5	8084206	1,8	3,0	1,7	0,7	1,3	-3,0
ARAP2	8099760	2,1	5,4	2,4	3,8	2,0	2,4	B4GALT1	8160637	2,0	2,8	3,0	2,3	2,8	2,9
AREG	8095744	1,2	4,2	3,4	1,8	10,4	1,4	B4GALT5	8066939	4,2	10,1	8,2	9,1	7,3	5,2
ARF6	8095736	0,8	2,3	1,5	0,9	4,1	0,8	BALC	8147756	0,7	1,5	0,7	3,2	1,4	1,4
ARFGAP3	8076515	1,8	2,7	3,5	4,7	5,5	4,1	BACE1	7951910	0,7	-3,6	-2,4	-6,7	-4,8	-5,3
ARHGAP1	7947681	1,0	-2,8	0,7	0,7	0,7	0,8	BACN1	8068105	1,0	1,9	1,3	2,9	2,5	2,4
ARHGAP11A	7982358	0,6	-2,6	-2,0	-2,2	0,5	0,5	BAG4	8145914	0,7	-3,3	0,5	-2,5	-2,1	0,6
ARHGAP12	7932885	0,7	1,1	0,7	2,1	0,9	1,5	BAIAP2	8010562	1,3	0,6	1,2	-2,4	0,6	0,5
ARHGAP15	8045563	0,8	0,8	0,9	-2,6	-2,1	-2,9	BAMBI	7926875	1,5	3,2	1,0	1,1	1,2	1,0
ARHGAP17	8000375	0,9	0,6	0,6	-3,4	0,6	-2,5	BASP1	8104601	0,8	1,5	1,3	3,2	2,2	3,8
ARHGAP18	8129458	1,2	-2,4	0,8	-9,7	-3,3	-3,1	BAT2L1	8158829	0,7	-2,3	0,7	0,5	0,7	0,7
ARHGAP19	7935403	1,3	-2,5	0,7	0,5	0,6	1,3	BATF	7975793	1,2	2,9	3,7	7,3	4,9	4,9
ARHGAP24	8096160	0,9	1,2	1,1	3,5	1,9	2,5	BATF2	7949340	2,8	6,3	0,9	2,8	1,4	1,8
ARHGAP26	8108873	0,8	0,7	0,8	-5,2	-2,0	-2,1	BATF3	7924166	1,1	2,0	1,4	3,3	1,1	1,1
ARHGAP27	8016215	1,4	2,7	1,2	1,1	1,0	0,8	BAZ1A	7978595	2,0	5,1	2,7	4,2	2,7	1,9
ARHGAP30	7921752	0,8	0,6	0,9	-2,4	1,1	1,0	BBS10	7965060	0,6	-2,2	-2,0	-2,0	0,6	0,6
ARHGAP31	8081838	2,3	3,2	4,1	1,5	3,5	1,6	BBS2	8001507	0,7	-3,0	0,6	-2,7	0,6	0,8
ARHGAP4	8175900	0,7	0,7	0,7	-4,4	-2,1	-2,4	BBS5	8046147	1,1	-2,0	0,7	0,6	0,6	0,6
ARHGAP9	7964436	1,2	-2,2	0,7	-2,5	0,6	0,6	BCAR3	7917754	1,7	2,2	1,5	0,8	0,8	0,8
ARHGAP9	7961532	1,2	0,8	1,2	-3,2	0,8	0,7	BCAS3	8008933	1,0	0,8	0,9	-5,4	-2,2	0,6
ARHGDF10L	7898483	2,0	1,8	2,2	1,8	2,2	2,4	BCAT1	7961829	0,9	1,1	0,7	3,7	2,2	4,5
ARHGFE11	7921179	1,4	2,9	1,2	1,9	1,2	1,5	BCKDHA	8029065	0,7	-2,6	0,5	-3,7	-2,3	0,9
ARHGFE3	8088247	1,1	2,1	0,6	0,7	0,7	0,5	BCL11A	8052399	1,3	1,4	2,7	2,1	2,6	3,1
ARHGFE6	8175393	0,9	-3,2	0,6	-5,1	-4,6	-2,6	BCL2	8023646	1,4	5,4	1,7	3,4	3,1	1,7
ARHGFE9	8173217	1,0	0,6	0,8	-2,8	0,5	0,6	BCL2A1	7990818	6,2	42,1	19,0	54,5	29,0	23,5
ARID1A	7899220	0,8	-2,1	0,8	0,6	0,8	0,9	BCL2L1	8065569	1,5	2,6	2,9	2,0	2,5	1,3
ARID5A	8043621	1,2	3,8	1,3	2,4	1,4	1,5	BCL2L11	8044375	0,9	1,3	0,9	3,5	1,4	3,1
ARID5A	8043630	1,0	2,0	1,0	1,0	1,0	0,9	BCL2L14	7953993	1,0	5,2	1,1	10,9	1,9	2,3
ARID5B	7927732	1,0	3,9	1,7	4,4	4,0	4,8	BCL3	8029465	3,8	2,9	4,6	3,5	4,1	3,5
ARL11	7969145	0,6	-2,3	0,5	-2,4	-2,3	0,7	BCL6	8092691	1,1	1,3	1,2	1,9	1,9	2,1
ARL15	8112033	1,6	0,9	1,0	-2,1	0,8	0,7	BCOR	8172088	1,3	1,8	2,1	1,7	1,3	0,9
ARL17A	8016285	0,8	0,7	0,7	-2,2	0,8	0,7	BEST1	7940582	1,1	1,0	1,5	1,0	2,1	2,1
ARL2	7941104	1,0	0,6	0,9	-2,2	-2,2	0,6	BFAR	7993341	0,8	-2,1	0,8	0,9	0,9	0,9
ARL2BP	7996012	1,1	-2,2	1,2	1,5	1,1	1,6	BHLHE40	8077441	4,1	4,2	3,9	3,8	3,6	3,7
ARL4C	8059854	0,9	-3,5	0,8	-15,2	-3,5	-5,1	BHLHE41	7961891	0,9	1,9	0,8	1,8	1,3	4,3
ARL5A	8059762	0,9	-2,9	-2,2	-2,3	-2,0	0,5	BID	8074261	2,6	3,1	4,4	2,0	4,3	1,8
ARL5B	7926561	8,5	16,6	6,6	8,6	7,9	2,6	BIN2	7963289	0,8	0,9	0,9	-2,4	1,0	0,9
ARL6IP6	8045768	1,3	2,5	1,5	3,3	2,3	2,2	BIRC2	7943424	1,9	3,6	2,6	3,9	2,7	2,2
ARL8B	8077450	1,3	2,0	1,9	2,1	2,4	1,7	BIRC3	7943413	3,6	6,2	6,0	11,9	6,8	6,5
ARMC10	8135229	0,8	-2,3	0,5	-2,1	-2,5	-2,1	BIVM	7969933	1,5	2,3	1,1	0,8	1,4	1,2
ARMC10	8089034	1,0	-2,9	0,6	-2,9	-2,4	-2,2	BLNK	7935270	0,9	0,8	-2,6	-3,7	-3,7	-3,1
ARMC7	8009755	0,9	-2,2	0,7	0,5	0,5	0,6	BLOC1S1	7956013	0,9	0,6	1,0	-3,3	-2,1	0,5
ARMCX1	8168868	1,7	3,5	1,1	1,6	1,3	0,9	BLVRA	8132515	1,5	2,5	1,5	2,4	1,5	1,9
ARMCX6	8168873	1,9	2,1	1,3	2,0	1,8	2,1	BLVRB	8036913	0,7	-2,4	0,6	-14,5	-3,5	-9,5
ARNT2	7985285	1,0	1,4	1,1	1,9	1,2	3,4	BLZF1	7907171	2,0	5,4	1,2	2,8	2,0	1,4
ARNTL2	7954527	2,4	6,0	3,6	8,2	4,2	4,1	BMF	7987454	1,0	-2,3	1,0	0,6	0,7	0,7
ARPC1B	8134552	1,1	0,7	1,1	-2,1	0,8	0,8	BMP2K	8096004	1,0	0,5	0,7	-2,2	0,5	0,7
ARRB1	7950473	0,9	-2,4	0,9	0,6	0,7	0,8	BMPR2	8047538	0,9	2,0	0,7	2,3	0,9	1,2
ARRB2	8003903	0,8	-2,6	0,8	-2,9	0,6	0,7	BNIP3	7937079	1,0	1,3	0,9	6,8	5,2	9,7
ARRDC1	8159692	0,9	0,7	0,8	-2,0	0,6	0,7	BNIP3	7973743	0,9	0,8	1,0	3,2	1,4	1,7
ARRDC2	8026915	1,2	0,7	1,3	-2,4	0,8	2,8	BOLA1	7905092	0,7	0,5	-2,0	0,6	0,6	0,9
ARRDC3	8113073	1,8	1,0	1,9	1,7	2,2	2,9	BPGM	8136341	1,2	2,4	0,3	3,5	1,5	1,5
ARRDC4	7986350	1,1	-2,4	1,2	-2,1	1,1	1,0	BPIIF	8009382	0,7	0,6	0,8	-2,2	0,7	0,8
ARSG	8009443	1,0	0,7	0,8	-2,3	0,6	0,7	BRC2A	7968484	1,5	3,1	1,3	2,1	1,2	1,4
ARV1	7910494	1,0	-3,9	-2,4	-4,0	-2,7	-3,1	BRC3	8171006	1,0	-2,2	0,6	0,6	0,6	0,8
ARVCF	8074522	0,6	0,5	0,6	0,6	-2,1	0,6	BRD8	8114365	0,7	-2,5	0,7	0,8	0,7	1,1
ASAH1	8149534	0,9	-2,1	0,7	-3,0	0,6	0,5	BRF2	8150219	1,0	1,2	1,4	1,2	1,4	2,1
ASAH2	7927599	1,1	2,3	1,3	1,5	1,0	0,7	BR13	8134454	0,9	-2,0	0,8	-2,9	0,6	0,6
ASAP2	8040113	1,2	1,8	1,6	3,0	3,4	3,5	BRI3BP	7959777	0,8	-3,6	-2,7	-5,8	-3,8	-2,8
ASB13	7931863	-2,7	-3,8	-2,6	-4,6	-4,2	-3,3	BRIP1	8017262	0,8	9,9	0,7	8,4	0,7	0,6
ASB8	7962783	0,7	-2,7	0,7	-2,5	0,6	0,9	BRP44	7922095	0,9	-2,2	0,8	-2,2	-2,1	0,8
ASCC1	7934228	1,4	0,8	1,2	1,4	1,6	2,6	BRPFI	8077595	0,9	0,5	0,8	-2,3	0,5	0,6
ASCC3	8128472	1,1	1,6	1,0	1,7	2,4	1,7	BSCCL2	7948798	1,3	0,6	0,9	-3,0	-2,2	-2,2
ASF1A	8121734	0,8	-2,9	0,5	0,6	0,6	0,7	BSG	8023955	1,0	0,8	1,0	-2,5	0,8	0,6
ASF1B	8034772	0,7	0,5	0,5	-3,0	-2,1	-2,1	BST1	8094228	0,9	0,7	1,2	-2,6	0,8	0,7
ASMTL	8177011	1,1	1,1	1,3	1,0	1,2	2,0	BST2	8035304	1,3	2,4	1,1	2,6	1,0	1,0
ASPHD2	8072108	1,2	2,6	0,8	0,9	0,9	0,8	BTAF1	7929201	1,2	2,1	1,0	1,6	1,7	1,1
ATAD2	8152668	0,9	0,6	0,6	0,7	-2,1	0,7	BTBD1	7991057	0,9	-2,2	0,8	0,6	0,8	0,6
ATE1A	7936762	0,9	-2,3	0,7	0,6	0,5	0,8	BTBD11	8158377						

C14orf104	7978838	0,7	-2,1	0,6	0,7	0,7	0,7	CALM2	8052100	0,8	-3,5	0,5	-3,9	-2,9	-3,1
C14orf106	7978776	-2,4	-5,0	-5,2	-4,3	-5,2	-2,3	CALM3	8029831	0,8	-2,2	0,7	-3,0	0,5	0,6
C14orf118	7975863	1,0	0,8	1,4	-2,1	1,1	0,8	CALML4	7989968	0,8	0,6	0,9	-2,5	0,7	0,8
C14orf142	7980990	1,3	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	8135955	1,0	-2,6	1,1	0,8	1,2	0,8	
C14orf159	7982216	1,3	-2,0	0,6	-2,5	-2,6	-2,9	CAMK1	8085206	1,3	0,7	0,7	-4,9	2,4	-3,5
C14orf43	7980051	0,7	0,9	0,6	1,6	-2,6	0,6	CAMK1G	7909425	1,2	2,0	1,5	1,3	1,3	1,2
C15orf21	7983490	1,3	6,2	3,2	8,9	12,0	12,4	CAMK2D	8102415	1,0	0,8	0,7	0,8	0,6	-2,7
C15orf23	7982712	0,9	-2,1	0,6	0,6	0,6	0,5	CAMK2K	7967127	1,4	2,1	1,8	0,7	1,2	0,7
C15orf26	7985352	0,9	2,8	1,3	1,5	6,6	1,9	CAMSAP1L1	7908614	1,8	2,2	1,9	1,2	2,6	1,4
C15orf38	7991367	0,7	-2,7	0,6	-3,9	-4,2	-3,3	CAND1	7956910	0,8	0,7	0,9	2,0	1,2	1,5
C15orf48	7983478	5,9	24,3	19,6	41,2	36,0	42,8	CAPN7	8078110	0,9	-2,3	0,8	0,5	0,8	0,8
C15orf51	7986517	0,8	1,0	0,8	-2,1	0,8	1,0	CARD1B	7951408	0,9	2,1	1,7	1,5	3,4	1,9
C15orf51	7986522	0,8	1,0	0,8	-2,1	0,8	1,0	CARD8	8038029	0,7	0,6	0,6	-3,1	0,8	0,8
C15orf51	7986520	0,8	1,1	0,7	-2,2	0,8	1,1	CARS2	7972810	1,4	0,8	1,0	-2,3	0,6	0,7
C15orf51	7986515	0,7	1,0	0,8	-2,6	0,7	1,0	CASC4	7983321	0,8	0,6	0,7	-2,6	0,6	0,7
C15orf51	7986525	0,7	1,0	0,8	-2,6	0,7	1,0	CASD1	8134318	1,6	-3,0	0,9	0,8	0,9	1,0
C16orf54	8000702	0,9	-3,1	-2,1	-2,2	-2,9	-2,1	CASP1	7951397	1,7	2,9	2,5	2,1	4,4	1,9
C16orf54	8003601	0,9	-3,1	-2,1	-2,2	-2,9	-2,1	CASP10	8047403	1,0	2,6	0,5	1,1	0,6	-2,4
C16orf62	7993680	1,0	0,7	0,9	-2,1	0,8	0,9	CASP2	8136869	0,7	-3,2	0,5	-2,6	-2,5	0,6
C16orf70	7996403	0,8	-2,3	0,8	0,5	-2,0	0,6	CASP3	8103922	1,1	1,2	0,9	3,2	1,1	1,7
C16orf80	8001658	1,3	-2,4	1,1	0,6	0,9	1,4	CASP4	7951372	1,2	2,8	1,6	1,9	3,0	2,1
C16orf87	8001178	1,2	1,1	1,5	3,7	1,5	1,6	CASP5	7951385	0,9	8,0	4,3	13,2	33,4	26,0
C17orf39	8005305	0,7	-2,7	0,6	0,6	0,6	1,5	CASP7	7930577	1,6	6,5	3,3	5,5	-4,1	2,9
C17orf58	8017831	1,3	1,9	1,7	2,2	1,3	2,4	CASS4	8063497	2,2	2,7	2,3	0,8	1,4	1,1
C17orf61	8012207	0,8	0,6	0,6	-2,9	0,5	0,8	CASZ1	7912347	0,7	3,5	1,5	4,2	1,4	1,5
C17orf87	8011826	1,2	0,8	-2,7	-6,8	-4,5	-7,0	CASZ2	7912343	1,1	2,4	1,4	2,8	1,4	1,4
C17orf88	8007548	0,5	0,9	0,5	-2,4	0,8	0,8	CASZ3	7912316	1,1	2,1	1,4	2,5	1,4	1,4
C17orf91	8011193	1,3	2,1	2,6	1,6	2,7	1,3	CAT	7939298	0,7	-2,8	-2,2	-10,9	-3,3	-8,4
C17orf96	8014700	2,5	4,3	5,6	3,5	2,8	2,3	CBL	7944493	1,0	-2,2	0,6	-2,3	0,7	0,8
C18orf19	8022404	1,4	0,9	1,7	2,7	3,2	2,0	CBLN3	7978331	1,2	2,3	1,6	1,9	2,0	2,1
C18orf21	8020919	0,9	-2,0	0,9	1,4	1,0	1,4	CBWD1	8044613	1,5	2,1	1,1	1,9	1,8	1,6
C19orf22	8032127	1,3	1,5	1,7	2,3	1,9	2,4	CBWD1	8159815	1,5	2,1	1,1	1,9	1,8	1,6
C19orf42	8035193	1,3	-2,1	1,0	0,9	0,9	1,0	CBWD3	8161537	1,5	2,1	1,1	2,0	1,9	1,8
C19orf60	8027032	1,0	0,7	1,1	-2,5	0,6	0,8	CBWD3	8161587	1,5	2,1	1,1	1,9	1,9	1,7
C19orf66	8025551	1,2	4,6	1,5	2,4	1,3	1,5	CBWD3	8155636	1,5	2,0	1,1	1,9	1,9	1,6
C1GAL11	8131475	1,0	2,0	0,9	1,9	1,4	1,2	CBWD5	8155422	1,6	2,3	1,1	2,1	2,0	1,7
C1orf122	7900192	1,2	2,4	2,0	3,2	3,5	4,3	CBWD5	8161575	1,3	1,9	1,1	2,2	1,8	1,5
C1orf128	7898894	0,6	-7,3	-2,5	-6,2	-5,3	-3,6	CBX1	8016402	0,9	0,6	0,8	0,5	2,1	0,8
C1orf162	7903980	0,9	-3,6	0,6	-17,4	-2,8	-4,3	CBX4	8019018	1,1	1,0	1,1	2,6	1,0	1,4
C1orf21	7908161	0,7	1,1	1,2	11,9	2,3	5,9	CBX5	7963750	1,0	-2,4	0,6	0,5	0,7	0,7
C1orf25	7922870	1,0	0,9	-2,0	1,3	0,9	1,3	CBX7	8076185	0,9	0,6	0,7	-2,8	-2,1	0,6
C1orf55	7924686	1,6	1,5	2,5	2,8	2,3	2,1	CCDC101	7994362	1,0	1,3	0,8	2,2	0,9	0,8
C1orf85	7920971	0,7	-2,9	0,7	-8,8	-2,7	-2,8	CCDC117	8072153	1,4	2,0	1,4	2,0	1,5	1,7
C1QTNF1	8010287	1,4	2,3	2,7	4,1	5,3	13,0	CCDC125	8177628	0,6	-3,3	-2,6	-4,5	-3,3	-3,3
C1R	7960744	1,0	1,3	1,0	2,2	1,1	1,0	CCDC125	8112439	0,9	-2,4	-2,2	-3,0	-2,4	-2,6
C20orf108	8063478	0,6	0,5	0,6	-2,5	-2,3	-2,2	CCDC134	8073513	1,0	0,8	1,0	-2,4	0,8	1,1
C20orf11	8064007	0,8	-2,1	0,8	0,9	1,0	1,0	CCDC43	8016088	1,0	-2,5	0,6	0,7	0,7	0,8
C20orf111	8066402	1,3	2,9	1,7	2,5	2,2	2,4	CCDC50	8084818	1,1	1,4	1,7	2,6	1,9	2,5
C20orf112	8065612	1,2	1,3	2,3	2,7	2,1	2,5	CCDC59	7965200	1,6	1,4	2,1	3,4	2,2	2,8
C20orf177	8063755	0,6	-2,5	0,5	0,8	0,5	1,2	CCDC6	7933760	0,9	0,6	0,5	0,6	-2,6	-2,1
C20orf191	8005733	0,7	-2,5	0,7	0,6	0,7	0,9	CCDC69	8115261	0,9	-2,6	0,6	-2,5	-2,0	0,6
C20orf194	8064637	0,7	-2,2	0,6	-2,4	0,6	0,6	CCDC82	7951157	1,4	2,1	1,6	1,0	1,8	1,3
C20orf33	8065433	1,0	-2,1	0,9	-5,8	-2,6	-2,7	CCDC88C	7980828	0,9	0,9	0,8	1,4	2,4	1,1
C20orf72	8061129	0,8	0,8	0,5	-3,1	-2,3	-2,2	CCDC90A	8124208	1,5	0,6	1,1	-2,5	-2,0	-3,1
C20orf78	8069174	2,1	1,9	2,4	2,5	1,4	2,0	CCDC99	8109893	0,9	0,9	1,3	1,3	1,2	2,1
C21orf91	8069574	1,5	3,8	1,0	1,5	1,4	1,1	CCL1	8014160	1,0	3,4	8,0	2,8	5,7	4,1
C22orf25	8071301	1,0	0,5	0,8	-2,7	-2,5	0,6	CCL14-	8014349	1,6	2,8	1,9	1,6	2,1	1,3
C22orf28	8075585	1,8	3,5	1,2	2,4	1,2	1,4	CCL17	7996034	1,9	2,7	2,6	2,1	2,7	2,2
C22orf9	8076690	0,8	-3,5	0,6	-8,9	-4,9	-5,1	CCL19	8160879	1,1	4,7	2,7	21,0	5,2	11,4
C2orf18	8040698	0,7	-4,8	-2,0	-6,9	-3,6	-3,4	CCL2	8006433	14,4	24,0	16,3	14,2	21,7	18,7
C2orf27B	8055291	1,0	2,1	1,1	1,1	1,3	1,4	CCL20	8048864	26,8	200,8	96,0	145,2	260,1	144,9
C2orf28	8040831	0,9	-2,1	0,7	-2,7	0,5	0,6	CCL22	7996022	1,4	2,2	1,8	2,6	2,4	3,2
C2orf44	8050689	0,7	-2,5	0,8	0,9	0,9	1,0	CCL23	8014361	2,3	3,3	3,9	2,1	3,7	3,7
C2orf86	8052598	1,4	0,7	0,8	-2,0	0,6	0,7	CCL24	8140367	1,4	0,8	2,2	-12,8	1,7	-4,5
C3	8033257	1,3	7,2	5,9	8,9	11,0	12,8	CCL26	8140358	2,7	1,2	1,1	0,8	0,9	0,7
C3orf1	8081867	1,1	-2,0	0,7	-5,6	-2,7	-2,3	CCL3	8014369	11,4	21,7	13,1	13,4	14,7	12,6
C3orf10	8085287	1,1	1,0	1,2	-2,6	1,1	1,1	CCL3L1	8014391	20,7	42,4	20,5	21,1	26,3	16,4
C3orf23	8079170	1,0	-2,4	0,7	0,7	0,7	0,9	CCL3L1	8014414	20,7	42,4	20,5	21,1	26,3	16,4
C3orf47	8082517	0,7	1,1	0,7	-2,2	0,7	0,8	CCL3L1	8019731	20,7	42,4	20,5	21,1	26,3	16,4
C3orf58	8085223	0,7	0,7	-4,2	0,6	0,6	0,7	CCL4	8006802	90,8	171,9	112,1	114,4	126,9	59,5
C3orf59	8092765	0,7	4,7	5,1	9,7	3,9	3,9	CCL4L1	8006621	179,8	271,4	191,8	167,3	215,4	90,5
C4orf14	8100532	0,7	-2,9	-2,0	-2,1	-2,3	0,6	CCL4L1	8019651	179,8	271,4	191,8	167,3	215,4	90,5
C4orf3	8102518	1,1	1,4	1,4	2,2	1,8	2,2	CCL4L1	8006608	111,3	192,5	121,1	100,2	137,5	49,6
C4orf34	8099912	0,7	-2,8	-2,1	0,6	-2,8	0,6	CCL5	8014316	6,1	29,8	7,4	37,8	13,3	23,0
C4orf41	8098512	0,9	-2,3	0,6	0,8	0,9	1,1	CCL7	8006440	1,8	13,1	6,1	7,9	17,8	21,4
C4orf42	8093456	0,9	-2,4	0,7	-2,3	0,6	0,7	CCL8	8006453	155,3	381,3	63,1	240,5	180,3	130,5
C4orf46	7991777	1,4	3,4	1,6	3,6	1,9	2,1	CNA1	7966637	1,4	12,7	2,2	20,6	2,9	1,1
C5AR1	8029907	1,3	1,0	2,3	-3,8	1,4	1,4	CNB2	7983969	0,7	-2,1	0,5	-2,4	0,6	0,6
C5orf13	8113504	0,7	-3,3	-3,6	-3,6	-6,2	-3,9	CND2	7953200	2,1	2,5	1,7	2,7	1,6	1,1
C5orf15	8114138	1,0	1,8	1,5	2,7	2,1	2,9	CNG1	8109697	0,8	-3,0	0,5	-2,2	0,5	0,6
C5orf20	8114239	4,1	2,4	6,6	1,2	4,2	2,0	CNNJ	7929550	1,7	3,1	1,4	2,0	1,5	1,1
C5orf24	8108163	1,0	-2,2	1,0	1,0	1,0	1,0	CNKL1	8091658	2,7	3,7	2,3	2,5	2,6	1,9
C5orf33	8111552	0,6	-2,1	-2,4	0,6	0,5	0,8	CNNT1	7962831	1,2	0,8	1,8	2,1	2,2	1,8
C5orf39	8105132	1,2	2,5	0,7	1,5	0,8	1,0	CNNT2	8045381	1,1	1,2	1,3	1,7	2,1	1,5
C5orf39	8111925	0,9	-7,7	0,9	0,9	0,9	1,0	CNNY	7927008	1,0	-2,1	0,7	-2,7	0,5	0,5
C5orf4	8115397	-4,5	-7,7	-7,1	-10,9	-8,4									

CD40	8063156	16.0	50.8	22.1	38.7	23.4	14.2	CMTM3	7996318	1.2	0.7	1.1	-2.7	0.7	0.7
CD44	7939341	1.4	2.1	2.4	2.4	3.0	2.8	CMTM6	8085999	1.7	2.2	2.0	1.9	2.9	1.9
CD48	7921667	1.7	6.0	2.5	4.9	6.2	4.8	CMTM7	8078405	1.2	0.5	0.8	-2.7	-2.3	-2.5
CD52	7889160	0.7	-1.3	-2.2	-2.4	-2.3	-3.1	CNP	8090546	1.1	-3.4	0.8	-2.4	0.5	0.6
CD55	7903332	1.5	1.3	1.3	1.3	2.2	3.3	CNRIP	7910014	1.6	0.9	1.1	3.0	2.1	4.5
CD58	7918902	2.5	3.3	3.9	1.9	3.1	1.9	CNOT10	8078412	0.8	-2.3	0.7	0.8	0.8	1.2
CD68	8004510	0.9	0.7	0.9	-2.3	0.7	0.6	CNOT2	7957106	0.8	-2.2	0.6	0.8	0.8	0.9
CD69	7961075	9.9	80.1	1.6	4.9	3.9	1.7	CNOT6L	8101228	1.6	1.4	1.1	1.5	1.8	2.2
CD70	8033241	1.1	1.8	1.2	3.7	1.5	1.2	CNOT7	8149475	0.8	-2.9	0.6	0.9	0.7	0.9
CD80	8089771	6.7	25.5	17.5	29.9	26.5	11.3	CNOT8	8109462	0.7	-2.7	-2.7	0.7	0.7	1.3
CD82	7939546	1.3	1.9	2.5	2.8	4.2	6.5	CNP	8007188	1.4	3.0	0.9	2.1	0.9	1.3
CD83	8116983	8.5	9.8	7.6	5.2	6.4	4.4	CNPY3	8119609	0.8	-2.2	0.6	-5.2	-3.0	-3.0
CD84	7921637	1.0	0.6	1.0	-3.1	0.6	-2.4	CNRIP1	8052735	1.1	0.7	0.9	-2.2	0.8	0.8
CD9	7953291	1.0	0.6	0.7	-4.8	0.5	-5.3	COG2	7910446	1.0	-2.3	0.7	0.5	0.7	0.6
CD93	8065359	1.6	1.1	3.0	5.0	2.8	2.8	COG4	8002381	1.0	0.5	0.7	-2.5	0.6	0.8
CD96	8081564	1.2	2.0	1.9	1.7	2.0	1.6	COG5	8142143	1.0	0.8	0.7	-2.2	0.7	0.6
CD97	8026300	0.8	1.4	1.1	1.3	0.7	-3.0	COG6	7968711	0.6	-3.4	-2.5	-3.9	-3.7	0.7
CDA	7898655	1.0	-2.7	0.5	-5.0	-3.2	0.6	COIL	8016858	0.8	-2.1	0.9	1.3	1.2	0.9
CDC14C	8132803	-2.0	0.5	0.5	-2.1	0.6	-2.0	COLEC12	8021946	1.0	0.6	1.8	-5.8	-2.3	-4.0
CDC23	8114396	1.1	-2.3	0.9	0.8	1.8	1.2	COX10	7947531	0.8	-2.4	0.6	0.5	-2.9	0.6
CDC26	8142878	1.0	1.2	0.8	2.9	1.5	1.5	COX15	8013094	1.1	-2.1	0.9	0.6	0.7	0.8
CDC37	8034021	1.2	1.3	1.6	1.3	2.1	1.5	COX1B	8047217	2.3	2.3	2.5	4.6	3.5	2.7
CDC40	8121461	0.9	-2.1	0.6	0.8	0.8	1.2	CORO1A	7994769	1.0	-2.2	0.7	-4.2	-2.3	0.5
CDC42EP2	7941236	2.7	4.9	2.9	3.9	4.0	2.1	CORO1B	7949776	0.9	0.7	1.2	-2.1	0.7	0.8
CDC42EP3	8051573	2.0	3.0	1.5	-2.3	1.5	-3.2	CORO1C	7966135	1.0	-2.1	1.0	-3.1	0.7	0.8
CDC42SE1	7919888	1.7	1.6	2.2	1.9	1.9	2.0	CORO2A	8162744	0.8	-2.1	0.6	0.5	-2.2	-2.4
CDC73	7908437	1.2	2.6	1.2	2.5	1.9	1.7	COTL1	8003171	1.7	1.0	1.7	-2.8	1.1	0.6
CDCA4	7981525	1.6	3.0	1.8	1.4	2.5	1.8	COX15	7935647	1.0	-2.6	0.7	0.5	0.6	1.0
CDCATL	8138489	1.2	-2.3	0.5	0.5	0.5	-2.1	COX18	8100893	1.0	-2.9	0.6	-2.1	0.5	0.7
CDCA7L	8086517	0.6	-4.3	-3.3	-5.2	-2.4	-3.9	COX5B	8043718	1.1	-2.0	0.9	-2.9	0.6	0.5
CDIPT	8000706	1.0	-2.7	0.6	-2.5	-2.5	0.6	CP	8091385	1.0	1.0	0.8	1.2	1.1	2.5
CDK14	8134098	0.8	1.1	0.9	2.2	1.8	3.3	CP110	7993664	0.9	0.8	0.5	0.8	-2.0	0.8
CDK16	8167103	1.0	1.6	1.5	3.7	1.4	1.9	CPD	8006123	1.0	1.0	1.2	2.9	2.1	4.0
CDK17	7965652	1.2	2.3	1.6	2.2	1.4	1.1	CPB2	8094169	2.1	4.0	2.2	2.2	1.7	0.7
CDK2	7969076	1.5	2.4	1.6	2.6	1.6	1.7	CPM	7964834	0.7	0.5	0.5	1.8	1.3	2.2
CDK4	7964522	0.8	-2.6	1.1	0.6	0.8	0.6	CPNE3	8147172	1.0	-2.1	0.7	-3.3	-2.1	-2.0
CDK5	8143650	1.5	-3.3	0.7	-2.8	-2.9	0.7	CPNED1	7999553	0.9	-2.6	0.7	-4.3	-2.2	-2.0
CDK6	8140955	1.8	3.0	2.8	1.8	2.6	1.3	CPSP2	7976243	0.8	-2.2	0.7	0.8	0.9	1.0
CDK8	7968199	0.9	-3.0	0.8	1.3	0.9	1.3	CPSP4	8134599	0.8	-2.2	0.8	0.8	0.8	1.1
CDK9	8158112	1.1	1.0	1.3	2.2	1.4	1.9	CPT2	7901549	1.0	-2.3	0.9	0.7	1.1	1.3
CDKN1A	8119088	2.8	3.8	3.6	4.3	2.8	3.5	CPVL	8138805	0.9	0.6	0.8	-2.4	0.7	-2.6
CDKN1B	7954029	-2.5	0.5	0.6	0.9	1.0	1.3	CR1	7909371	0.9	0.6	0.6	-2.6	0.6	0.6
CDRT1	8012951	1.9	1.8	1.3	2.3	1.9	1.6	CRAT	8164535	0.9	0.5	0.7	0.6	-2.2	0.8
CDYL2	8002975	1.9	2.7	4.6	4.2	6.4	8.3	CRBN	8085081	0.9	-2.4	0.7	-2.9	0.7	0.8
CEBPA	8036004	0.5	-4.3	-2.3	-5.3	-5.0	-5.8	CREB3	8155096	1.6	2.0	1.9	1.6	1.6	1.6
CEBPB	8063386	2.1	1.6	3.1	1.9	2.5	3.0	CREB3L2	8143188	0.7	-3.4	-2.3	-2.4	-2.2	-2.3
CECR1	8074237	0.8	0.8	0.8	0.6	0.7	-2.0	CRIM1	8041447	1.8	11.8	8.9	7.5	16.3	10.3
CENPN	7997381	1.8	2.4	1.1	1.4	1.6	1.2	CRIP1	8041813	1.0	-2.5	0.7	0.8	0.7	1.1
CENPO	8050763	1.1	0.7	0.7	0.6	-2.1	0.7	CRISPLD2	7997642	1.1	2.0	1.8	2.3	2.1	2.8
CENPT	8002104	0.8	0.7	0.8	-2.0	0.8	0.7	CRK	8011018	1.5	1.5	2.3	1.7	2.0	1.3
CEP135	8095187	1.1	1.6	1.7	4.6	4.1	5.7	CRKL	8071434	0.8	-2.3	0.8	0.9	0.9	1.5
CEP170	7925525	1.2	1.8	2.2	1.9	3.2	2.2	CRLP2	8171105	1.1	4.6	4.8	20.7	13.6	36.7
CEP170P1	8097058	1.3	1.9	2.0	2.0	2.7	1.4	CRSP8P	8112890	2.6	2.4	2.7	3.3	2.9	3.3
CEP97	8081362	0.8	0.8	0.9	1.1	0.9	2.1	CRTP	8078450	0.7	-2.8	0.6	-5.5	-3.2	-4.0
CERT1	7903908	0.9	-2.1	0.6	0.6	0.7	0.8	CSF1L1	7970455	1.0	0.6	1.0	-2.7	-2.2	0.6
CERK	8076792	1.0	-2.2	1.1	-3.3	0.9	1.0	CSE1L	8063283	1.1	-2.4	0.7	0.7	0.8	0.9
CFB	8178115	3.2	35.9	9.5	109.4	19.6	94.0	CSF1	7903786	6.7	7.3	9.3	2.5	4.0	1.6
CFB	8118345	3.2	35.4	9.3	105.0	19.8	92.2	CSF1R	8115076	0.9	-2.2	0.8	-4.0	0.5	0.7
CFB	8179351	3.2	40.8	9.7	105.7	22.6	100.6	CSF2	8107887	1.4	22.1	2.2	2.5	3.8	2.0
CFD	8024062	0.7	0.7	0.7	-2.0	0.7	0.5	CSF2RA	8165735	1.5	1.6	2.5	1.5	2.5	2.4
CFLAR	8047381	3.8	8.6	5.2	7.8	5.7	4.5	CSF2RB	8176306	1.5	1.6	2.5	1.5	2.5	2.4
CFP	8172333	2.2	3.2	5.0	1.5	3.8	3.0	CSF2R2	8072757	1.1	2.0	1.2	2.4	1.2	1.6
CH25H	7934916	5.3	12.2	1.4	1.1	6.7	2.9	CSF3	8006999	1.1	2.3	1.5	1.9	2.2	2.6
CHD4	7960594	1.0	-2.3	0.8	0.5	0.6	0.7	CSF3R	7914950	0.8	0.8	0.7	0.6	0.6	-2.3
CHD9	7995583	0.9	0.7	-2.1	1.0	0.7	0.8	CSGALNACT	7927146	1.2	0.9	1.4	-2.0	1.5	1.1
CHISL1	7923547	0.7	1.7	3.0	3.4	7.2	12.8	CSNK1G1	7989628	1.1	1.6	1.3	2.0	1.5	1.7
CHISL2	7903920	1.0	1.4	1.1	3.6	1.6	3.7	CSRNP1	8086330	3.4	9.5	2.8	3.8	2.7	1.9
CHIC2	8100382	1.2	1.7	1.1	1.8	2.0	1.9	CSRNP2	7963235	1.2	1.8	1.9	1.8	1.8	2.0
CHID1	7945579	0.8	0.5	0.6	-7.1	-2.5	-4.1	CSRPF2	7965900	1.1	7.3	2.1	3.9	2.2	3.4
CHIT1	7923562	-3.1	0.6	-2.6	-3.9	0.6	-11.5	CSY1	8081416	1.6	1.8	2.2	1.5	1.9	1.8
CHIT2	7943916	1.3	0.7	0.9	-2.2	0.7	0.7	CTAP	7947398	1.2	2.9	1.3	2.4	1.7	2.0
CHML	7925500	1.4	2.2	1.3	1.0	1.5	1.1	CTBP1	8098880	0.9	0.6	0.8	-2.4	0.6	0.7
CHMP1B	8020179	0.8	-2.3	0.8	0.7	0.7	0.8	CTDSP1	8048304	1.0	-2.4	0.7	0.8	0.8	1.0
CHMP5	8154785	1.3	2.0	1.2	3.4	2.2	2.6	CTDSP2	7964579	0.7	-3.3	-2.3	0.7	0.6	1.0
CHN2	8132013	1.5	-2.7	0.9	-4.5	-4.4	-5.5	CTDSP2L	8078650	1.1	-2.2	0.6	-3.1	-2.9	-3.0
CHORDC1	7950983	1.1	1.1	1.3	1.3	2.0	1.3	CTLA4	8047692	0.7	0.9	1.5	0.6	2.3	0.8
CHP	7982878	1.2	0.7	1.1	-2.3	0.9	0.9	CTNNAL1	8163063	2.1	1.7	1.3	1.1	0.9	0.7
CHPT1	7958000	1.0	0.6	0.8	-2.6	0.7	-2.1	CTNNBL1	8062409	1.0	-2.2	0.9	2.9	1.2	1.4
CHST15	7936856	0.9	1.2	2.4	1.2	2.5	2.2	CTR9	7938422	0.8	-3.3	0.6	0.6	0.7	0.9
CHST2	8083214	1.2	1.7	1.7	2.0	2.2	2.6	CTSA	8063078	0.9	0.8	0.9	-2.3	0.8	0.5
CHST7	8166999	0.8	2.1	1.1	1.8	1.1	1.5	CTSC	7950906	1.2	0.8	1.0	-2.3	0.6	-2.3
CHSY1	7991581	1.2	1.6	1.6	3.6	1.4	1.9	CTSD	7945666	0.8	0.6	0.8	-3.1	0.6	-2.6
CIITA	7993195	0.7	-2.4	0.6	-14.4	-3.3	-7.7	CTSF	7949650	0.7	0.8	0.7	-2.1	0.7	0.5
CITED2	8129937	0.6	0.8	-3.6	-8.0	-2.9	-2.2	CTSX	7919815	0.8	0.8	1.0	-4.1	0.9	-2.8
CIZ1	8164373	1.0	0.5	0.8	-2.8	0.6	0.7	CTSL1	8156228	1.1	1.3	2.0	1.5	2.1	2.4
CKAP2	7969243	0.7	-5.5	-5.6	-4.7	-4.1	-2.0	CTTNBP2	8142497	0.8	0.6	-4.2	-2.6	-4.2	-5.2
CKAP4	7960335	1.4	1.4	1.1	2.9	1.1	2.6	CTP1	8137054	1.1	2.1	1.4	4.3	1.9	

CYTI1P	8055980	0,7	0,9	1,1	1,2	1,5	2,4	DRAM1	7958019	6,6	16,7	12,4	12,9	17,3	11,9
DAB2	8111772	1,0	-6,3	-2,5	-9,8	-4,1	-3,7	DRAM2	7918474	0,7	-3,0	0,6	-3,4	-2,4	0,6
DAGLA	7940508	1,3	-2,4	1,8	-2,3	-2,1	-2,7	DSC2	8022711	0,8	-2,4	0,7	0,8	0,5	0,8
DAGLB	7940451	0,9	-2,5	0,7	-5,2	0,5	0,5	DSC2	8121588	1,9	2,9	2,5	5,0	4,7	5,9
DAK	8156199	1,1	2,2	1,8	-2,4	0,6	0,6	DSG2	8020779	1,0	1,5	1,3	1,7	2,1	1,3
DAPK1	8156199	1,1	2,2	1,8	-2,4	0,6	0,6	DSN1	8066074	0,8	0,6	0,5	0,6	-2,0	0,6
DAPP1	8096602	2,3	3,8	2,2	3,4	2,7	2,7	DTX2	8133736	1,0	1,6	2,0	1,6	1,5	2,7
DARS2	7907466	1,1	-2,1	0,8	0,6	0,7	0,8	DTX3L	8082075	2,3	6,7	1,6	6,3	2,9	2,3
DAXX	8178991	1,4	1,5	1,9	1,5	2,2	1,7	DUS1L	8019376	0,9	0,8	0,8	-2,1	0,9	0,7
DAXX	8180179	1,3	1,5	1,7	1,5	2,2	1,6	DUS2L	7996725	0,9	-2,5	0,7	0,5	0,5	0,6
DAXX	8125734	1,4	1,5	1,9	1,5	2,4	1,6	DUSP1	8115831	3,5	6,0	6,1	9,5	6,9	7,6
DBP	8038117	0,8	-2,4	0,6	-2,0	-2,9	-2,8	DUSP16	7961371	0,9	2,1	1,0	1,2	2,2	1,9
DBT	7918008	0,8	-2,1	0,5	0,5	0,6	0,7	DUSP18	8075423	0,9	-2,1	1,0	1,0	0,9	1,2
DCAF16	8099570	1,5	0,9	1,2	-2,1	1,1	0,9	DUSP2	8053882	3,7	3,8	4,3	2,3	2,5	1,7
DCAF7	8009164	0,9	-2,2	0,8	0,6	0,7	0,6	DUSP4	8150076	1,0	4,0	1,3	2,5	2,5	5,0
DCAKD	8016159	1,2	0,6	0,8	-2,1	0,7	0,8	DUSP5	7930413	2,7	10,7	4,1	9,1	5,6	7,9
DCLRE1A	7936408	0,7	-2,0	0,7	0,7	0,7	0,9	DUSP5P	7910381	1,1	2,2	0,7	1,2	0,9	1,0
DCLRE1B	7904131	1,1	-2,6	1,5	-3,3	0,9	0,7	DUSP6	7965335	3,1	16,8	5,0	1,9	8,3	3,3
DCLRE1C	7932186	0,6	-2,1	-2,1	-2,1	-2,1	0,5	DUSP7	8087833	0,6	-4,2	0,6	-4,7	-2,5	-2,5
DCP1A	8088128	2,4	6,3	2,4	2,9	2,9	2,4	DUX4L4	8176570	1,0	1,5	-2,7	1,0	1,0	0,6
DCP1B	7960320	0,7	-3,1	0,6	0,6	0,5	0,7	DYNLL1	7980535	1,1	-2,9	0,8	1,8	1,0	1,9
DCTPP1	8000084	1,0	-2,5	0,9	0,9	0,8	0,9	DYNLL1	7959164	0,9	-2,0	0,9	0,8	0,9	1,4
DCUN1D3	8000028	4,9	6,0	5,1	4,1	7,4	4,8	DYNLT1	8130499	1,9	7,6	1,7	10,2	3,5	4,0
DCXR	8019357	1,3	0,7	1,1	-2,5	0,6	-2,0	DYNLT3	8172035	1,3	1,7	1,9	2,0	2,7	2,1
DDAH2	8178590	1,0	1,0	0,8	0,5	0,5	-2,5	DYRK3	7909225	1,1	1,3	1,9	2,7	1,5	2,2
DDAH2	8179819	1,0	1,0	0,8	0,5	0,5	-2,5	DYRK4	7953229	0,9	0,6	0,7	-2,2	0,5	0,6
DDAH2	8125048	1,1	1,0	0,9	0,6	0,5	-2,2	DYSF	8042637	0,7	0,6	0,6	-2,7	-2,3	-2,3
DDI2	7898211	0,6	-3,5	-2,1	0,7	0,5	0,9	E2F3	8117128	1,5	1,5	1,8	1,5	2,3	1,9
DDIT3	7964460	1,3	1,7	2,6	1,4	2,3	1,1	E2F7	7965094	1,0	2,3	1,3	1,5	1,3	1,3
DDIT4	7928308	3,4	5,0	5,9	6,0	7,7	12,8	EAF1	8078138	2,1	1,6	2,7	1,9	3,7	2,4
DDX17	8076077	1,2	0,7	1,0	-2,0	0,6	0,6	EAPP	7978558	0,8	-2,7	0,5	0,7	0,7	1,0
DDX20	7904000	0,9	-2,4	0,8	0,6	0,9	0,7	EBI3	8024792	2,6	18,6	17,2	41,8	43,3	53,0
DDX21	7927936	1,7	1,6	2,4	3,8	3,8	1,3	EBP	8167305	2,1	1,2	1,3	0,5	0,8	0,9
DDX24	7981032	1,1	-2,2	1,2	1,1	0,9	1,1	ECE1	7913357	2,0	7,5	8,1	16,6	9,3	8,9
DDX39	8034806	1,4	1,5	2,2	1,1	2,0	1,3	ECH1	8036602	0,9	-2,1	0,6	-5,0	-2,8	-2,2
DDX3X	8166876	2,0	2,6	1,8	1,7	2,0	1,6	ECHDC1	8129379	0,8	-2,5	0,6	-3,5	-2,1	-2,1
DDX3Y	8176524	1,9	1,5	1,9	2,1	2,6	1,9	EDARADD	7910694	1,6	6,1	1,3	2,2	1,8	1,8
DDX46	8108134	1,0	0,7	0,8	-2,6	0,8	0,5	EDM1	8077458	2,7	6,4	4,0	6,3	5,6	5,2
DDX50	7927926	1,1	0,8	1,1	1,7	2,2	1,8	EDM1	8085116	1,0	2,2	1,4	1,3	1,2	1,2
DDX52	8014574	1,3	2,5	1,3	2,9	1,8	1,7	EDN1	8116921	1,5	53,4	1,5	18,3	4,8	1,9
DDX58	8160559	9,0	49,1	2,8	17,7	7,8	3,5	EEF1A1	8127544	2,5	2,9	2,4	1,6	1,6	0,7
DDX60	8103563	1,5	10,2	1,6	8,3	3,6	2,6	EEF1D	8155449	0,9	0,8	0,9	-2,3	0,8	0,8
DDX60L	8103601	2,7	19,5	1,2	8,9	4,2	2,2	EEF2K	7993946	1,1	0,5	1,8	-2,5	0,8	0,8
DEF8	7998072	0,9	-2,4	0,6	-3,1	0,5	0,6	EEF5C	8082422	0,8	-2,3	0,7	-2,1	0,6	0,5
DENND1C	8033207	0,9	0,7	0,8	-2,5	0,7	0,7	EEP1	8132305	-3,3	-5,7	-3,5	-5,7	-6,1	-6,8
DENND3	8148476	1,9	5,3	2,8	3,2	4,6	5,2	EFN1B1	8168045	0,9	0,9	0,7	-2,1	0,8	0,7
DENND4A	7989849	1,8	2,9	2,4	2,1	1,6	1,1	EFTUD1	7985555	-2,3	0,8	-2,6	0,5	0,9	-2,3
DENND4B	7920354	0,9	0,7	0,9	-2,5	1,0	0,7	EGR1	8108370	7,8	4,9	1,0	0,7	0,9	0,7
DENND4C	8154531	0,7	-4,3	0,5	-3,0	-2,8	-3,1	EGR2	7933872	6,0	5,7	2,1	0,8	1,0	0,6
DENND5A	7946478	1,0	4,5	1,6	5,4	3,4	3,7	EGR3	8149720	2,3	2,2	1,1	1,4	1,1	1,0
DEPDC6	8148059	1,5	-2,2	0,7	-3,2	-2,5	-2,2	EHD	7949264	11,0	19,7	33,7	19,7	30,8	25,0
DERL1	8152628	1,7	1,5	1,5	2,2	1,8	1,6	EHF	7987772	1,6	3,2	1,6	1,6	1,3	1,1
DEXI	7982185	0,6	-2,9	0,6	-3,4	0,5	0,5	EHF	7989314	1,7	1,5	2,9	5,1	3,0	5,4
DEXI	7980685	0,6	-2,9	0,6	-3,4	0,5	0,5	EIHADH	8092523	1,0	0,8	0,8	3,3	0,8	2,2
DEXI	7999419	0,6	-2,3	0,6	-2,4	0,6	2,2	EHMT2	8125172	0,6	-3,5	-2,1	-2,2	-2,8	0,6
DFNA5	8138602	0,9	1,8	1,4	4,3	3,0	3,7	EHMT2	8179884	0,6	-3,5	-2,1	-2,2	-2,8	0,6
DGAT1	8153684	1,0	0,7	0,8	-3,4	0,6	0,6	EID1	7983606	1,0	-2,4	0,7	0,6	0,5	0,6
DGAT1	8153939	1,0	0,7	0,8	-3,4	0,6	0,6	EIF1AX	7912852	1,7	1,7	2,8	2,7	3,4	2,0
DGKD	8049317	0,8	0,5	0,7	-2,3	0,5	-2,4	EIF1AX	8171747	1,5	1,4	2,1	2,0	2,5	1,7
DGKE	8008629	0,7	0,7	-2,4	0,6	0,5	0,5	EIF1B	8078962	1,6	3,1	1,9	2,3	2,8	1,8
DGKH	7968800	2,3	3,9	3,0	2,1	4,1	2,0	EIF2AK1	8138045	1,0	-2,0	0,9	0,7	0,7	0,9
DGKZ	7968890	0,7	-2,5	0,6	-2,6	-2,5	-2,1	EIF2AK2	8051501	1,9	7,0	1,0	7,7	2,6	1,6
DHCR24	7916432	1,4	0,5	1,0	-3,4	-2,3	0,8	EIF2AK4	7982620	0,9	-2,5	0,6	0,5	-2,5	0,5
DHCR7	7950067	1,4	1,2	1,3	1,0	1,1	3,0	EIF2B1	7967473	1,3	-2,2	1,0	0,6	0,7	0,8
DHDDS	7899173	1,0	-2,6	1,1	0,6	0,8	0,7	EIF2C1	7900030	0,8	-3,1	-2,3	-6,0	-3,5	-2,8
DHRS1	7978260	1,1	0,7	0,7	-3,9	-2,1	-2,3	EIF2C2	8153201	1,3	1,5	2,5	1,4	2,6	1,5
DHRS3	7912537	0,7	-4,0	-3,5	-5,3	-5,7	-6,8	EIF2C4	7900009	0,9	-3,0	0,7	-2,1	0,7	0,8
DHRS4	7973448	1,1	0,7	1,2	-2,2	1,0	1,2	EIF2S1	7975224	1,6	1,2	1,7	2,0	2,1	1,2
DHRS4L2	7973458	1,2	0,5	1,2	-3,3	0,9	1,1	EIF2S2	8065730	1,3	1,6	1,6	2,3	2,6	2,3
DHRS7B	8005999	1,1	0,5	0,9	-2,4	0,7	0,8	EIF3E	8152323	1,0	-2,4	0,7	1,1	0,8	0,9
DHRS7B	8045124	-1,2	-10,4	-7,1	-10,4	-11,5	-17,0	EIF3L1	7983350	1,3	1,0	1,6	2,3	2,4	1,2
DHX15	8099649	1,2	2,1	1,4	2,4	1,8	1,2	EIF3L	8028514	1,4	0,9	1,3	-2,8	1,0	0,7
DHX29	8112081	1,1	-2,2	0,8	0,7	0,8	0,9	EIF3L	8072946	1,0	0,5	0,8	-2,7	0,7	0,9
DHX32	7936949	0,9	-2,1	0,7	1,2	1,2	1,6	EIF4A2	8084694	0,8	-2,1	0,8	0,8	0,8	1,0
DHX33	8011861	0,9	-2,1	0,7	0,9	0,8	0,8	EIF4B	7955646	0,7	-3,6	-2,0	-2,6	-2,3	0,5
DHX35	8062576	0,7	-2,3	0,7	0,8	0,6	0,6	EIF4B	8135268	0,5	-3,3	0,6	-2,3	-2,4	-2,1
DHX40	8008825	0,7	-2,4	0,7	-2,4	0,5	1,1	EIF4B	7963575	0,7	-3,3	0,5	-3,9	-2,2	0,6
DHX57	8051637	0,8	-2,6	0,5	-2,5	-2,1	0,6	EIF4EBP1	8145889	1,3	-2,0	0,7	-2,1	0,6	0,7
DHX58	8015511	1,7	14,1	1,6	12,2	3,2	3,8	EIF4EBP2	7928119	0,9	-4,4	0,6	-3,1	-2,4	0,6
DIP2A	8069399	0,8	0,5	0,8	-2,2	0,7	0,9	EIF4G3	7913319	1,4	1,3	1,0	-2,0	0,9	0,8
DIRC2	8082120	0,8	-3,7	-2,1	-8,6	-2,8	0,7	EIF5AL1	7928630	1,5	1,3	1,7	1,8	2,0	1,6
DIS3L	7984298	0,8	-2,8	-2,1	0,6	0,5	0,6	EIF5AL1	7934753	1,5	1,4	1,7	1,8	2,1	1,6
DKFZp68602	7938702	4,1	6,2	7,7	1,1	4,4	0,7	ELF4	8175039	1,1	3,1	1,6	2,2	1,6	1,4
DLAT	7943827	1,3	1,7	1,4	2,0	1,4	1,8	ELK1	8172345	1,0	1,3	1,6	1,9	1,8	2,5
DLEU2	8135464	1,6	1,1	1,5	1,5	2,4	2,0	ELK1	8035477	1,3	1,2	1,8	1,4	2,2	2,1
DLEU2	7971653	1,6	3,1	1,1	1,6	3,8	1,6	ELL2	8113220	0,9	1,3	1,2	3,0	1,5	3,3
DLG4	8012054	0,7	0,7	0,6	0,5	0,7	0,7	ELL2	7921344	1,8	3,9	2,7	9,6		

ERCC5	7969935	0,8	-3,6	0,5	-2,1	0,6	0,7	FBX034	7974473	1,3	2,1	1,4	1,4	1,5	1,2
ERCC6	7933509	1,2	-2,0	0,9	-2,1	0,6	0,6	FBX042	7912750	1,4	0,8	2,1	1,3	1,5	2,2
EREG	8095728	3,0	25,7	5,6	20,5	26,3	66,5	FBX06	7897728	1,8	3,8	2,3	5,1	2,5	2,3
ERIG1C	10109999	1,0	0,7	1,0	1,0	0,9	2,1	FCAMR	7923942	0,9	1,0	1,1	6,3	1,3	4,0
ERIG3C	8062174	1,0	0,8	0,9	-2,1	0,7	1,7	FCAR	8031374	2,0	4,1	0,8	1,7	8,5	5,2
ERIZ	8000013	0,8	-2,4	0,5	-2,0	-2,2	0,5	FCER1A	7906443	1,0	-2,6	0,6	-0,7	-3,4	-11,4
ERIC1H	8148985	1,4	2,1	1,6	1,7	1,6	1,4	FCER2	8033420	1,3	0,7	1,5	-4,4	0,8	-2,5
ERLIN1	7935692	0,8	-5,6	0,7	1,3	0,6	0,9	FCF1	7975713	1,0	-2,5	0,7	0,7	0,8	0,9
ERMP1	8159992	1,0	0,6	0,7	-2,0	0,7	0,5	FCGR1A	7905047	1,3	5,2	1,3	5,1	1,5	4,2
ERN1	8017555	1,8	2,6	1,7	2,2	2,1	2,0	FCGR1A	7905060	1,4	4,5	1,4	3,9	1,4	3,3
ERO1L	7979179	0,9	1,0	0,9	1,9	1,3	2,1	FCGR1B	7919133	1,3	4,8	1,5	4,5	1,5	3,5
ERO1LB	7925342	1,2	2,2	1,3	3,0	1,5	1,5	FCGR2B	7906777	1,0	0,7	1,0	-4,1	0,6	-4,2
ERP29	7958819	1,1	0,8	0,9	0,5	0,8	-2,2	FCGR3A	7921873	1,0	0,6	1,2	-2,8	0,9	1,4
ERV3	8139840	0,7	-2,2	0,6	-3,5	0,5	0,5	FCGR7	8030374	0,8	0,7	1,0	-3,6	0,7	-3,1
ESCO1	8022473	0,9	-2,3	0,9	1,0	1,0	1,1	FCHO2	8106141	0,7	-2,5	0,8	-2,1	0,7	0,9
ESCO2	8145570	0,7	0,5	0,5	-2,6	0,6	-2,0	FCHSD2	7950248	1,1	1,5	1,5	3,2	2,1	1,9
ESPL1	7955736	1,6	1,2	2,6	1,0	1,1	0,9	FEM1B	7984470	0,8	-2,1	0,9	0,6	0,6	0,6
ESPNP	7912854	1,4	1,6	1,6	1,4	1,6	2,2	FERM12	7979204	1,0	1,3	1,4	4,7	1,5	5,3
ESYT1	7956166	1,1	0,6	0,9	-4,8	-2,0	-2,6	FES	7986110	0,8	-4,1	-2,3	-3,2	-3,9	-3,2
ETF1	8114443	1,5	1,5	1,7	1,8	2,1	1,7	FEZ1	7952490	1,1	1,4	1,9	1,3	4,0	1,2
ETS1	7952601	1,2	1,3	1,7	2,1	1,8	2,3	FFAR2	8027862	5,9	12,8	5,4	10,4	9,6	7,5
ETS3	8068993	5,5	4,9	8,2	4,2	3,6	7,4	FFAR3	8027660	1,5	3,9	2,2	16,1	3,7	5,6
ETV3	7921228	2,6	2,7	5,5	4,3	3,6	3,7	FFAR3	8027856	1,8	3,6	2,4	14,7	3,5	5,9
ETV5	8092578	3,3	2,5	18,2	4,0	26,8	17,5	FGD2	8119132	1,3	1,7	0,9	1,0	0,9	-2,5
ETV6	7953981	1,3	2,0	1,8	1,4	2,0	1,7	FGD3	8156373	0,6	0,5	0,5	-2,3	0,6	0,8
ETV7	8125993	0,8	3,5	1,2	1,7	1,2	1,2	FGD4	7954729	1,0	0,8	0,9	-2,0	0,9	0,8
EVI2A	8014066	0,5	-8,1	-3,1	-13,3	-3,9	-2,6	FGD6	7965541	0,6	-2,2	-2,2	-3,4	0,8	-2,3
EVI2B	8014063	0,7	-7,4	-3,0	-16,3	-4,5	-2,8	FLG2	8140463	1,4	0,9	0,9	-5,0	-2,6	-9,5
EVL	7976726	1,3	0,9	0,9	-3,6	0,5	-3,4	FLG	7914112	1,3	1,6	1,8	1,4	2,1	1,2
EXOC2	8123524	1,3	2,1	1,3	2,4	1,6	1,6	FICR	7958410	0,9	1,4	1,4	1,4	2,9	1,2
EXOC3	8104201	1,1	0,5	0,7	-2,3	0,7	0,7	FIG4	8121429	1,0	-2,1	0,5	0,6	-4,5	-2,5
EXOC4	8136293	0,7	0,7	0,7	-3,6	0,6	0,7	FJX1	7939365	1,0	4,3	1,1	8,8	2,3	2,4
EXOC5	7979367	1,3	1,2	1,6	2,2	2,1	2,5	FKBP15	8163452	0,6	-3,1	0,5	-2,5	0,6	0,7
EXOC5B	8095333	1,2	1,4	1,5	1,7	1,9	2,0	FKBP1A	8120428	1,2	0,6	1,0	-2,6	0,7	0,5
EXOC6B	8052956	1,1	0,8	1,0	-2,6	0,8	0,7	FKBP5	8125919	1,6	1,7	2,5	2,3	2,3	1,3
EXOC4	8148710	1,3	0,9	1,2	1,1	2,0	1,6	FL1	7945132	0,7	-5,6	-4,7	-10,0	-7,3	-5,7
EXOC9	8097128	2,0	6,8	1,4	3,1	1,9	1,7	FLJ27243	8018016	1,8	1,8	1,4	2,2	1,9	1,8
EXT1	8152491	1,2	4,3	1,1	2,1	1,2	1,2	FLJ42875	7911793	0,8	2,0	1,2	2,1	1,1	1,3
EYA3	7914153	1,1	1,2	1,5	1,1	2,6	1,4	FLOT1	8124828	1,4	1,4	1,5	2,7	1,6	1,8
EZH2	8143663	1,9	5,4	3,1	5,0	4,3	3,4	FLOT1	8178419	1,4	1,4	1,5	2,7	1,6	1,8
F13A1	8123744	1,0	0,7	0,8	-3,1	0,6	-5,2	FLOT1	8179688	1,4	1,4	1,5	2,7	1,6	1,8
F3	7917875	2,4	10,5	3,7	1,2	3,9	1,6	FLT1	7970763	1,8	3,6	2,0	4,0	5,2	2,2
FABP3	7914342	0,9	-2,2	0,9	-7,3	0,6	-3,5	FLVCR2	7975799	1,3	0,6	2,6	2,9	1,6	1,9
FABP4	8151532	1,7	-2,3	0,5	-3,1	0,6	-2,9	FMN1	7987145	1,0	0,7	1,3	1,4	1,9	2,9
FABP5	7948420	0,9	-2,1	0,6	0,5	0,8	-2,1	FMN1	7987163	0,5	1,4	1,5	2,5	3,3	3,5
FABP5	8147049	0,9	-2,0	0,6	0,5	0,8	-2,0	FMNL2	8045736	0,6	2,2	0,9	3,1	2,1	2,3
FADS1	7948612	1,1	-2,3	1,1	-6,5	-2,1	1,7	FMNL3	7963092	2,2	5,6	4,1	3,8	5,9	4,2
FADS2	7940565	1,3	0,6	1,1	-4,0	0,7	1,2	FMR1	8170326	1,2	2,2	1,0	1,8	1,5	1,3
FADS3	7948630	2,1	1,7	1,7	1,7	1,6	2,4	FN3KRP	8010832	1,0	0,6	0,7	0,5	-2,3	0,6
FAF1	7915995	1,8	1,0	1,3	-2,5	0,8	0,6	FNBP1	8164607	1,1	1,8	1,6	1,5	2,3	1,6
FAF2	8110169	1,5	1,4	1,4	1,9	2,0	1,8	FNBP4	7947969	1,1	2,2	1,3	1,2	1,5	1,3
FAH	7985268	1,0	0,5	0,7	-2,9	-2,2	-2,2	FNDP3B	8083901	1,0	2,8	2,5	2,4	2,9	3,7
FAM3	7923917	0,7	0,6	0,6	-2,5	0,6	0,6	FNIP2	8098103	1,4	2,8	1,9	2,3	1,7	1,6
FAM100A	7999173	0,7	-4,2	0,6	-2,3	-2,0	1,0	FNITB	8100251	0,8	0,8	-2,2	-3,6	-4,6	-4,6
FAM100B	8010050	3,0	3,0	2,1	3,4	2,5	2,7	FOLR2	7975121	0,9	-2,8	0,6	-2,5	-2,3	0,6
FAM102B	7903507	2,1	2,9	2,3	1,4	3,5	2,6	FOLS2	7942372	0,9	0,9	1,1	-2,8	0,8	-3,1
FAM103A1	8130765	1,0	-2,3	1,1	1,2	1,2	1,3	FOXJ2	8041048	1,4	2,3	2,4	3,0	2,6	3,8
FAM105A	8104570	0,8	-6,7	-3,7	-10,6	-7,5	-5,3	FOXJ2	7953699	1,1	-3,0	0,7	-2,2	0,7	0,9
FAM107B	7932160	1,5	1,7	2,8	1,0	1,3	1,3	FOXN3	7980680	1,1	0,6	1,2	-2,0	0,9	0,9
FAM108A1	7904869	0,9	0,6	0,7	-2,1	0,6	0,7	FOXO4	8168205	0,8	0,7	0,8	-2,0	0,6	0,7
FAM108A1	7904948	0,9	0,6	0,7	-2,1	0,6	0,7	FOXRED1	7945071	1,0	0,7	1,0	-2,2	0,7	0,8
FAM108A1	8074842	0,8	0,6	0,7	-2,3	0,6	0,6	FOXRED2	8075785	0,5	-2,7	-2,1	-3,9	-3,1	-3,2
FAM108A1	7924230	1,0	0,6	0,8	-2,0	0,6	0,8	FPGT	7902308	0,8	-3,1	-2,1	-2,5	-2,6	0,7
FAM115C	8136954	0,9	1,2	0,9	2,1	1,6	2,7	FPR1	8038899	1,0	1,1	1,4	1,6	5,0	9,8
FAM115C	8136940	0,9	1,4	1,0	2,7	1,7	3,2	FPR2	8030860	1,9	9,6	6,0	19,2	49,3	68,2
FAM117B	8047565	0,7	-3,1	-3,2	-3,7	-3,4	-3,3	FRG1B	8061497	0,8	-2,3	0,5	-2,1	0,6	0,7
FAM118B	7945058	1,1	-2,4	1,1	1,0	0,9	1,0	FRMD3	8161964	1,3	3,3	1,2	2,4	1,2	1,6
FAM119A	8058486	0,8	0,7	0,7	-2,1	0,6	0,7	FRMD4A	7932132	1,0	0,6	1,1	-2,6	-2,3	0,6
FAM119B	7956631	1,0	1,8	1,4	3,6	1,9	2,2	FRMD4B	8088745	1,1	0,6	-2,1	-4,3	0,5	-3,8
FAM122C	8169995	0,9	2,9	1,1	1,1	0,9	1,1	FRRS1	7917954	0,6	-3,1	-3,2	-3,6	-4,6	-4,6
FAM126A	7961932	0,8	1,4	1,2	1,5	2,1	3,3	FRYL	8100251	0,8	0,8	-2,2	0,8	1,0	1,0
FAM126A	8138553	1,7	1,3	1,4	1,5	2,0	1,3	FSN1	8131339	3,1	4,7	4,8	4,5	3,8	9,9
FAM129A	7922846	2,0	8,5	3,6	9,1	7,3	5,2	FSDL	8157058	0,9	5,3	2,8	14,3	7,5	9,8
FAM134A	8048468	0,7	-3,7	0,5	0,5	0,5	0,8	FST	8105302	1,1	4,1	1,5	1,1	1,3	1,1
FAM134B	8111366	1,6	1,8	1,6	9,4	1,8	3,2	FSTO	8089835	0,9	1,1	1,1	2,9	1,2	1,9
FAM134C	8015655	1,1	-2,3	0,8	0,7	0,9	1,0	FTL1	7995655	1,2	0,7	1,0	-2,7	0,7	1,1
FAM13A	8101728	-3,4	-4,2	-4,3	-4,1	-4,2	-3,6	FTSJD2	8137826	1,0	-2,9	0,8	0,5	0,6	-2,2
FAM156A	8167749	0,7	-2,7	0,6	-3,1	-2,3	-2,4	FUCA1	8119198	1,3	4,2	1,1	5,0	1,8	1,7
FAM156A	8172813	0,7	-2,6	0,7	-2,8	-2,3	-2,4	FUNC2C	7917156	1,2	1,6	1,5	2,3	2,0	1,5
FAM162A	8082066	1,3	1,1	1,3	1,0	1,3	2,8	FUT11	7913694	0,8	0,5	0,8	-5,7	-2,8	-9,0
FAM164A	8147019	0,6	-2,6	0,6	-2,2	-2,4	0,6	FUT11	8171001	1,8	1,6	1,7	1,6	2,3	1,5
FAM175B	7931216	1,3	1,1	1,7	2,2	1,7	1,8	FUT4	7928395	1,1	0,8	1,1	1,7	1,5	2,1
FAM177A1	7973918	1,5	6,1	1,5	8,3	2,3	1,8	FUT4	7943236	1,6	2,1	1,4	1,4	1,4	1,1
FAM183B	8139160	0,8	0,5	0,8	3,0	0,8	0,9	FXYD5	8012226	1,3	1,3	1,6	2,0	1,6	2,1
FAM183B	8139163	1,3	2,5	1,3	1,4	0,9	0,9	FXYD6	8027778	0,8	0,5	0,7	-3,7	0,5	-2,1
FAM186B	7963084	1,2	2,4	1,1	1,2	2,6	1,1	FYB	7951977	0,9	2,9	1,3	4,4	1,2	1,4
FAM185B2	8005001	1,2	1,0	1,4	2,1	2,2	1,9	FYTD1	8111739	0,7</					

GCH1	797269	10.1	84.9	15.0	52.8	42.9	25.7	GTFF2B	7917472	2.7	6.1	1.6	2.7	2.6	1.9
GCHFR	7982805	0.9	-2.1	-2.1	-2.1	-2.5	-2.3	GTFF3C2	8051075	1.2	-2.3	0.8	0.6	0.7	0.8
GCLC	8127158	0.7	-2.3	-3.4	-3.1	-3.3	-5.3	GTFF3C5	8158961	0.7	-2.1	0.6	0.6	0.6	0.7
GCNT1	8155930	1.9	3.5	1.4	1.4	1.4	1.0	GTFF3C6	8121502	1.5	1.1	2.2	1.6	2.1	1.7
GCNT2	8116935	1.0	3.9	3.0	-7.0	-6.3	-8.1	GTTPBP1	8073039	1.5	4.2	1.6	3.3	1.9	1.6
GCNT4	8112668	0.9	4.7	2.1	4.2	2.3	1.6	GTTPBP2	8128629	1.2	2.4	1.2	2.3	1.8	1.9
GDE1	7998889	0.7	-5.3	-2.7	-5.5	-4.0	-2.8	GTTPBP4	7925823	1.1	1.0	1.5	2.0	1.6	1.3
GEM	8151816	1.5	5.4	1.7	1.5	1.1	1.4	GUCY1A3	8097957	0.9	2.6	1.1	3.3	1.5	1.4
GEMIN4	8010946	0.6	-2.3	0.7	0.8	0.6	0.7	GUCY1B3	8097973	1.1	2.2	1.2	4.1	2.7	4.8
GFPT1	8052762	1.3	1.3	1.4	3.0	2.6	2.5	GUSBL1	8112558	0.9	0.6	0.7	-3.0	0.7	0.5
GFPT2	8116418	0.8	1.1	0.9	4.9	1.2	3.2	GUSBP1	8111455	0.9	0.6	0.7	-3.0	0.7	0.5
GFRA2	8149629	0.9	-4.2	0.9	-26.2	-6.2	-7.8	GUSBP1	8104621	0.9	0.5	0.6	-2.5	0.6	0.6
GGA1	8072825	0.9	0.6	1.1	-2.3	0.9	1.1	GUSBP3	8105991	0.9	0.6	0.6	-2.7	0.6	0.6
GGA2	8000284	0.8	-4.0	0.5	-5.6	-3.5	-3.3	GXYLT2	8080964	0.9	1.2	1.1	1.0	1.2	2.6
GGA3	8018324	0.8	-2.3	0.7	-2.1	0.7	0.6	GYPC	8045009	1.0	2.1	1.7	2.4	1.9	3.7
GGT5	8074991	2.0	2.1	3.2	1.5	1.7	1.3	GZF1	8038261	1.2	1.1	1.4	2.7	2.5	6.0
GGTA1	8163908	0.7	-4.1	-2.3	-8.0	-3.4	-12.4	GYZ1	8061373	1.0	-2.5	1.0	0.7	0.7	0.7
GHDG	8015575	0.7	0.6	0.8	-2.3	0.6	0.6	GZMA	8105340	1.3	1.6	2.5	1.2	1.6	1.5
GIGYF2	8049199	0.8	-2.2	0.6	0.6	0.8	0.6	GZMB	7978366	1.4	2.8	2.5	5.4	2.6	2.8
GIMAP2	8137250	0.5	0.9	-4.3	1.8	-2.2	0.7	GZM1	8105331	2.5	4.1	3.4	3.2	4.4	3.6
GIMAP4	8137244	0.7	0.7	-2.8	1.2	-2.4	0.5	H1FO	8072926	1.0	-2.2	1.4	0.6	0.6	1.1
GIT1	8013923	0.7	-3.2	0.5	-2.0	-2.0	0.6	H2AFY	8114225	1.0	0.5	0.8	-4.2	0.5	-2.6
GIT2	7966268	0.9	-2.1	0.8	0.5	0.9	1.0	H2AFY2	7928107	1.3	-2.1	-2.1	4.6	1.9	2.2
GJB2	7970441	1.3	1.6	2.9	4.2	4.0	8.2	H3FB	8018439	1.3	2.1	1.5	2.2	1.9	1.8
GK	8174103	2.0	9.1	5.1	12.4	15.1	25.6	H3FC	7962194	1.6	2.7	1.8	2.7	2.2	2.3
GK	8166632	1.7	10.0	5.3	13.4	17.4	29.8	HAAO	8051799	1.0	0.8	0.7	-2.1	-2.1	-2.0
GK3P	8103535	0.8	5.7	4.0	8.2	8.4	11.8	HADH	8096753	0.8	-2.4	0.6	-4.5	-3.5	-3.9
GK5	8091120	1.0	1.2	1.1	3.3	2.5	7.7	HADHA	8050908	1.1	0.6	0.8	-2.6	0.7	0.6
GLA	8174076	1.2	1.8	1.2	2.1	1.3	1.3	HADHB	8040639	1.0	0.6	0.7	-2.3	0.6	0.6
GLB1	8086028	1.0	0.6	0.8	-2.9	0.6	0.5	HAMP	8027819	0.8	-2.8	1.4	1.0	1.1	1.3
GLB1L	8059158	0.7	-2.2	0.8	-3.8	-2.2	-3.2	HAPLN3	7991224	1.8	16.7	2.2	17.2	4.0	4.1
GLCE	7984517	1.0	-4.3	-2.7	-5.5	-3.2	-2.5	HAUS1	8021101	1.3	0.5	0.9	0.6	-2.0	1.2
GLG1	8002729	0.9	0.6	0.8	-2.2	0.7	0.9	HAUS4	7977841	1.3	0.9	0.8	0.6	-2.1	0.9
GLIPR1	7957260	0.9	0.5	0.7	-3.7	0.6	-4.6	HAUS6	8132843	2.4	1.1	3.3	2.2	2.8	2.0
GLRX	8113214	2.0	3.2	2.3	1.4	2.2	1.6	HAVCR2	8115464	1.1	0.6	0.6	-2.2	0.6	0.7
GLRX5	8169709	1.8	-3.0	0.9	-2.1	0.7	1.1	HBEVF	8114572	4.5	23.2	13.8	3.2	36.8	17.1
GLS	8047097	0.5	1.2	0.9	2.3	1.4	1.4	HBSL1	8129706	1.7	1.3	1.6	1.4	1.7	2.1
GLT2SD1	8026806	0.9	-2.5	0.9	-4.0	0.5	0.6	HCC34	8124689	0.5	0.8	0.7	-2.5	0.6	0.7
GLT8D1	8087985	0.8	-3.2	0.7	0.8	0.7	0.9	HCK	8061668	1.5	2.4	2.1	2.4	-3.2	3.7
GLTPD1	8039937	1.4	0.9	1.2	2.5	1.2	1.8	HCLS1	8089911	1.0	0.9	1.1	-2.3	1.0	1.0
GLTSCR2	7986323	0.7	-2.1	0.6	-2.5	-2.1	0.7	HCP5	8118111	1.7	0.6	1.3	-2.2	0.7	0.5
GLUD1	7934852	0.9	-2.0	0.7	0.5	0.6	0.5	HCST	8028104	0.8	0.7	0.7	-2.6	0.6	-3.1
GLUL	7922689	0.8	0.5	0.8	-2.1	0.6	0.9	HDAC3	8114691	1.2	-2.1	0.8	-2.3	0.7	0.8
GM2A	8109344	0.8	0.5	0.7	-2.4	0.6	0.6	HDAC5	8015914	0.8	0.6	0.6	0.5	-2.1	0.6
GMEB1	7899504	2.3	2.0	3.3	1.9	3.6	2.1	HDAC8	8173531	0.9	-2.1	-2.1	-2.3	0.6	0.8
GMFB	7979260	1.6	1.3	1.9	1.5	2.4	1.9	HDFG	7921133	1.7	1.3	2.0	0.9	2.1	1.9
GMFG	8036710	1.1	0.6	0.9	-4.2	0.6	0.5	HDX	8173848	1.6	3.0	1.6	1.6	1.6	1.1
GMFR	8117034	1.5	10.2	0.6	3.8	0.6	-2.3	HEATR5A	7978492	0.8	-2.2	0.7	-2.4	0.6	0.9
GMFR2	7973660	0.9	0.6	0.7	-2.4	-2.0	0.7	HEATR5B	8051464	0.9	0.6	-2.1	-2.0	0.6	0.6
GMPS	8083523	1.2	-2.9	0.7	0.9	0.7	0.8	HEATR6	8017186	0.8	-2.1	0.8	0.7	1.0	1.1
GNA12	8137865	1.0	1.1	1.8	0.9	2.2	2.8	HEBP1	7961390	1.1	0.5	0.9	-2.8	0.6	0.6
GNA13	8017711	1.3	2.2	1.8	1.4	1.6	1.2	HECTD1	7978449	0.8	-2.2	0.6	0.6	0.8	0.6
GNA15	8024572	1.6	1.2	2.5	2.2	2.8	3.4	HECTD3	7915659	0.7	-2.5	0.7	0.9	0.7	0.7
GNA19	7903703	1.4	1.5	1.6	1.3	2.0	1.1	HES1L	8090193	0.9	5.7	0.6	2.8	1.0	1.8
GNAQ	8161906	1.1	0.8	1.0	-2.4	0.8	0.5	HELB	7956884	0.3	3.4	0.7	1.5	1.5	1.5
GNE	8161174	1.6	1.3	1.6	2.3	1.7	1.8	HELZ	8017776	0.9	-2.3	-2.2	0.6	0.6	1.1
GNG2	7974341	1.1	1.4	1.2	2.0	2.6	1.2	HERC1	7989516	0.9	0.9	1.1	-2.3	1.5	1.1
GNG4	7925250	0.8	1.2	1.2	2.1	1.5	1.4	HERC2	7986863	0.6	0.5	-2.2	-2.1	0.5	0.7
GNPD1A	8114787	0.7	-7.5	0.6	-17.0	-4.8	-6.3	HERC2P2	7986701	0.5	-2.9	-2.5	-3.7	-2.5	0.6
GNPTG	7992255	0.9	0.7	0.8	-2.2	0.8	0.7	HERC2P2	7982154	0.5	-2.6	-2.3	-3.7	-2.3	0.6
GOLGA4	8078569	1.2	2.0	1.1	3.0	2.0	1.9	HERC2P3	7986569	0.5	-2.8	-2.5	-4.2	-2.6	0.6
GOLGA6A	7985034	1.4	1.1	0.9	1.8	2.1	1.3	HERC2P4	8001099	-2.1	-3.4	-2.7	-3.9	-2.8	0.6
GOLGA6A	7990654	1.0	1.5	2.9	2.5	1.1	1.6	HERC2P4	8001067	-2.0	-3.3	-2.6	-3.7	-2.6	0.5
GOLIM4	8091954	0.7	-3.3	0.6	-3.9	-2.3	-2.3	HERC5	8096361	3.0	24.0	0.8	22.7	2.4	2.0
GOLM1	8162117	1.5	2.4	1.0	2.6	0.8	0.8	HERC6	8096335	2.8	24.5	1.7	21.8	4.4	3.5
GOLPH3L	7919780	0.8	-2.7	-3.1	-2.7	-2.9	0.5	HERPUD1	7995895	0.7	0.7	0.7	-3.3	0.9	-2.2
GOLT1B	7954388	1.8	1.8	1.8	2.4	2.8	1.8	HESX1	8088285	1.4	8.8	1.0	4.7	1.0	1.0
GOPC	8129181	1.1	1.3	1.2	2.1	1.2	1.5	HEXA	7990211	0.8	0.6	0.6	-3.6	0.5	-2.9
GORAB	7907213	1.2	1.1	1.2	1.4	2.1	1.3	HEXB	8106252	0.8	0.6	0.6	-3.0	0.6	-3.1
GOT1	7935627	1.0	-3.4	0.8	-3.2	0.6	0.6	HFX	8140556	-3.2	-4.4	-4.3	-4.2	-5.2	-5.4
GOT2	8001764	1.1	-2.2	0.7	-1.1	0.6	0.6	HGNAT	8146285	0.6	1.0	-2.4	0.6	0.7	0.7
GP1BA	8004024	10.6	26.8	32.5	8.1	44.7	9.5	HHEX	7929282	-3.1	-3.2	-3.4	-3.1	-3.6	-3.8
GP1BB	8071274	2.2	3.1	2.1	2.5	2.1	1.8	HHLA3	7902282	0.7	0.6	0.6	-2.2	0.6	0.5
GPBP1	8105463	1.4	3.7	1.5	4.3	2.4	2.0	HIAT1	7903294	1.2	1.9	1.5	2.3	2.0	2.0
GPD2	8045816	1.7	6.2	2.3	5.6	5.4	5.6	HIATL1	8156538	1.1	1.2	0.8	2.6	1.2	1.2
GNMB	8131844	0.8	0.6	0.8	-2.4	0.7	-2.3	HIBADH	8138776	1.3	0.6	1.0	-4.7	0.6	0.6
GPR107	8158597	1.3	1.2	2.2	1.5	2.5	1.9	HIF1A	7974851	1.3	2.4	2.6	3.9	2.7	3.3
GPR109A	7967318	1.5	14.9	6.3	6.7	17.7	5.6	HIGD1A	8086451	1.8	1.4	2.1	2.3	2.6	3.0
GPR109B	7967322	1.7	19.7	7.6	5.5	21.5	7.3	HIGD2A	8110166	1.2	0.7	1.1	-2.3	0.6	0.9
GPR120	7929344	0.8	-3.4	-4.0	-3.1	-3.8	-4.0	HINT2	8161147	1.1	0.5	0.7	-2.9	0.5	-2.3
GPR132	7981530	4.7	18.5	9.7	10.7	10.8	7.4	HIP1	8140319	0.9	1.3	1.1	0.8	3.3	1.4
GPR137B	7910680	1.1	1.3	1.7	2.4	2.3	2.3	HIRA	8074432	1.0	2.1	0.9	1.3	1.0	0.7
GPR141	8132347	1.4	4.6	2.6	1.7	4.1	2.3	HIST1H1C	8124397	0.5	-3.3	-2.1	-3.9	-4.4	0.6
GPR146	8131067	1.1	0.6	-2.1	0.8	0.7	1.0	HIST1H1E	8117377	0.7	-3.1	0.6	-4.6	-3.1	0.8
GPR155	8056837	0.7	-3.6	-3.9	-7.9	-11.9	-9.0	HIST1H2AB	8124391	0.6	-2.6	0.6	-2.5	-2.4	-2.9
GPR157	7912239	1.3	3.0	3.2	5.0	3.6	4.4	HIST1H2AC	8117372	0.6	-2.9	-2.1	-2.6	-2.2	0.9
GPR159	8091503	0.9	3.1	0.7	3.1	1.2	1.6	HIST1H2AE	8117408	0.6	0.5	0.6	0.6	-2.1	0.7

HLA-DQB1	8125461	1,6	0,8	1,0	-3,0	1,1	-3,7	IL18R1	8044035	1,1	2,1	2,4	1,3	1,9	1,0
HLTF	8091354	0,9	-3,2	0,9	-2,5	-2,1	0,5	IL18RAP	8044049	1,3	2,2	1,3	1,5	1,5	1,2
HLX	7909890	1,1	1,6	1,6	2,0	1,7	2,0	IL19	7909250	1,0	1,3	1,4	2,5	3,6	5,1
HMBS	7944401	1,0	-2,1	0,9	0,5	-2,1	0,7	IL11A	8054712	82,9	453,0	204,2	138,9	437,2	235,8
HMG20A	7985119	1,0	-2,3	0,8	-2,5	0,7	0,6	IL18A	8054542	225,1	442,6	346,9	352,4	442,4	425,8
HMGCR	8106280	1,4	0,9	2,4	1,1	1,3	2,2	IL1F9	8044541	1,1	9,0	2,3	9,2	7,7	3,3
HMGCS1	8111941	2,4	6,3	6,4	11,6	7,2	8,1	IL1R1	8043995	1,2	-2,3	0,7	-2,3	-2,5	0,5
HMG2N	7922024	1,3	0,6	1,0	-3,5	0,5	0,6	IL1R2	8043981	3,0	2,1	1,6	0,7	1,0	0,6
HMG2N2	8000409	1,3	0,5	1,0	-3,6	0,6	0,6	IL1RAP	8084794	3,6	4,7	3,5	5,4	6,1	1,7
HMGNA	8117510	0,8	-2,6	0,7	0,7	0,6	0,6	IL1RN	8044574	5,8	22,4	5,6	23,7	11,0	14,4
HMHA1	8024170	0,6	0,5	0,6	-2,5	0,6	0,9	IL21R	7994292	1,0	1,3	1,7	1,5	1,7	2,5
HMOX1	8072678	-2,2	-13,9	-4,0	-5,3	-3,6	-3,3	IL22	7964803	0,8	1,7	1,0	7,3	0,9	1,2
HN1L	7992337	1,6	1,5	2,2	1,7	1,8	1,6	IL23A	7956251	1,6	14,6	6,1	33,1	21,0	11,0
HNMT	8045499	1,3	1,1	1,9	0,9	2,4	2,1	IL27	8000567	1,1	7,4	1,1	6,5	1,7	1,1
HNRNPC	7977657	1,6	1,8	2,2	1,5	2,3	1,3	IL27RA	8026272	2,3	1,4	1,3	-2,5	0,5	-2,8
HNRNPC	8047059	1,7	1,9	2,3	1,6	2,5	1,3	IL2RA	7931914	3,1	78,7	28,2	261,8	103,7	246,6
HNRNPH1	8116297	1,5	1,5	1,8	1,4	2,4	1,4	IL2RB	8075886	0,9	2,8	1,5	2,7	1,9	2,2
HNRNPM	8025429	1,4	1,4	1,6	2,6	2,0	2,2	IL3	7992828	2,1	3,0	3,1	2,2	2,7	2,7
HNRPLL	8051605	1,6	2,0	1,2	1,6	1,8	1,5	IL3RA	8165752	2,8	4,8	5,4	4,7	5,7	4,3
HOMER1	8112841	1,4	2,2	1,5	2,3	1,4	1,8	IL3RA	8176323	2,8	4,8	5,4	4,7	5,7	4,3
HOMER2	7991034	1,4	0,5	0,8	-4,0	-2,4	-3,6	IL4H1	8038487	3,4	8,9	7,0	7,0	7,4	6,3
HOMER3	8035566	0,8	0,6	0,8	-2,0	0,6	0,7	IL4R	7994280	1,6	2,0	2,4	3,7	2,4	3,0
HPCAL1	8040238	1,0	0,9	1,3	-2,6	1,0	0,6	IL6	8131803	170,3	578,1	280,0	364,2	401,3	295,2
HPRT1	8169984	1,3	1,4	1,4	1,9	2,0	2,3	IL6	8138542	2,7	5,4	2,6	3,0	3,1	2,7
HPS1	7935588	1,1	0,7	0,9	-2,9	0,6	0,5	IL6R	7905789	1,1	0,9	1,7	-2,6	0,9	0,5
HPS3	8083282	0,6	-5,3	-2,4	-3,8	-2,7	0,6	IL6ST	8112139	1,7	1,7	1,8	2,3	2,2	1,6
HPS4	8075063	0,6	-3,2	-2,2	-2,7	-2,0	0,5	IL7R	8104901	9,1	19,0	26,1	23,2	35,6	32,7
HRH1	8077851	0,9	-2,6	0,5	-3,5	-2,3	0,5	IL8	8095680	114,8	434,0	388,6	275,6	454,5	479,4
HRSP12	8151942	0,8	0,5	0,8	-2,0	0,6	0,7	IMPA1	8151549	1,3	1,2	1,3	2,1	1,7	2,1
HS2ST1	7902789	0,9	-3,3	-2,2	-4,0	-2,8	0,5	IMPAD1	8150908	1,3	0,9	1,2	2,0	1,6	2,2
HS3ST2	7994052	-2,3	-5,6	-3,6	-10,7	-6,3	-14,0	ING3	8135718	2,0	1,6	1,5	1,6	2,4	2,0
HS3ST3B1	8005097	1,1	7,0	6,2	9,3	15,9	14,6	INHBA	8139207	10,5	296,8	48,8	195,1	271,0	130,5
HS6ST1	7898677	1,2	1,0	1,1	1,6	1,3	4,6	INPP4A	8043791	0,7	-3,1	0,6	-5,1	0,5	-2,4
HS6ST1	8055130	1,0	0,9	0,9	1,2	0,9	3,1	INPP5D	8049246	0,9	-2,8	-2,6	-6,2	-6,3	-5,7
HSD11B1	7909446	1,6	4,9	3,6	19,0	7,0	24,4	INPP1L	7942342	1,0	0,6	0,7	-3,7	0,6	0,7
HSD17B11	8101648	1,0	-2,2	0,8	-2,2	-2,1	0,8	INSIG1	8137526	3,1	12,7	15,6	6,6	9,6	4,8
HSD17B14	8038213	1,0	1,1	1,1	0,6	1,0	-2,0	INSIG2	8044766	1,2	2,7	1,1	8,5	4,9	7,8
HSD17B4	8107532	0,9	0,6	0,8	-3,2	0,7	0,6	INTS10	8144894	0,8	-3,3	-2,7	0,5	-2,3	0,8
HSD3B7	7995007	1,0	0,9	1,0	0,6	0,8	-2,1	INTS3	7905631	1,0	0,8	0,7	-2,6	0,6	0,7
HSDL1	8003116	1,1	1,4	1,5	2,1	1,5	1,8	INTS4	7950628	0,9	-2,4	0,7	-4,1	0,7	0,7
HSDL2	8157233	0,7	-2,0	0,6	-2,2	-2,2	0,5	INTS4L1	8133074	0,8	-2,5	-2,2	-2,3	0,5	0,5
HSH2D	8026533	1,8	7,5	1,1	3,0	1,3	1,1	INTS4L2	8133095	0,8	-2,4	-2,0	-2,4	0,5	0,6
HSPA13	8069532	1,6	2,5	2,2	6,4	4,7	4,0	INTS9	8150014	1,1	0,5	1,2	-2,1	1,1	1,0
HSPA1A	8118310	1,1	2,2	1,3	1,6	1,0	0,8	IP013	7900888	0,9	-2,1	0,6	-2,1	0,6	0,6
HSPA1A	8179322	1,1	2,2	1,3	1,6	1,0	0,8	IP08	7962085	1,1	-2,2	0,7	-2,7	0,7	0,7
HSPA1B	8178086	0,9	2,2	1,1	1,2	0,9	0,7	IQCK	7993713	0,8	0,6	0,9	0,6	0,6	-2,4
HSPA1B	8179324	0,9	2,2	1,1	1,2	0,9	0,7	IQGAP2	8106354	0,7	0,6	0,5	0,6	0,6	-2,3
HSPA1B	8118314	0,9	2,1	1,1	1,2	0,9	0,7	IQSEC2	8172858	0,6	0,6	-2,1	0,6	0,5	-2,0
HSPA4	8108015	1,0	-2,1	0,8	1,0	0,8	0,8	IRAK2	8077786	7,9	32,6	24,1	10,1	30,1	12,4
HSPA5	8164165	1,3	2,6	1,5	2,0	2,7	0,9	IRAK3	7956878	1,3	1,8	3,3	1,1	6,3	4,6
HSPA7	7906775	1,5	2,6	1,2	0,7	1,4	1,1	IRF1	8114010	7,9	15,2	6,7	10,8	7,3	6,0
HSPB1	8133721	1,2	0,9	1,2	-2,7	0,6	0,7	IRF2	8103911	1,0	2,1	0,9	2,1	1,4	1,6
HSPBAP1	8090300	-2,2	-2,8	-2,6	-3,9	-2,3	-2,2	IRF2BP2	7925161	0,8	0,7	0,8	-2,4	-2,0	0,7
HSPC159	8042283	1,1	2,6	2,4	1,6	1,2	0,8	IRF4	8116559	1,7	2,9	1,8	1,3	1,1	1,7
HTT	8093685	1,0	0,7	0,8	-2,9	0,7	0,6	IRF7	7945462	1,8	6,8	3,4	3,2	6,4	1,9
HUWE1	8172914	0,9	1,5	1,0	2,5	1,9	1,9	IRF8	7997712	2,8	5,0	3,6	5,6	1,6	0,9
HVCN1	7966356	1,1	0,6	0,8	-4,3	0,6	0,5	IRF9	7973618	1,4	2,5	1,7	2,3	2,0	1,8
HYOU1	7952145	1,3	1,5	1,7	2,4	2,6	2,1	IRG1	7969482	4,4	209,6	21,4	443,1	101,4	208,4
ICAM1	8025601	16,6	17,3	18,6	8,2	12,4	8,2	ISCA1	8112331	0,8	1,1	-2,2	1,4	-2,0	0,8
ICAM2	8017547	1,3	1,7	0,9	-2,5	1,0	0,8	ISCU	7958414	0,9	-2,2	0,7	-2,9	0,6	0,7
ICAM3	8033987	1,3	0,9	0,8	0,5	0,8	-2,2	ISG15	7896817	2,7	22,0	0,8	6,9	1,9	1,2
ICAM4	8025612	1,3	1,5	1,2	0,5	0,8	-2,1	ISG20	7985777	2,6	10,6	2,1	7,8	2,8	2,3
ICOS	8047702	1,1	4,7	1,5	4,0	2,1	1,5	ISYNA1	8003465	1,1	0,9	0,7	-2,1	0,6	-2,2
ICOSLG	8070720	2,6	2,1	3,5	0,8	2,3	0,8	ITFG1	8001211	1,0	0,7	0,8	-2,1	0,7	0,8
ICT1	8009727	0,8	-2,3	0,7	0,6	0,6	0,9	ITFG2	7953111	0,7	-2,4	0,7	0,5	0,6	0,6
ID2	8040103	1,9	2,7	2,5	2,8	2,3	2,6	ITGA11	7989985	1,3	0,6	1,1	0,7	-2,0	0,7
ID3	7913655	1,1	-2,5	0,6	-4,2	-2,5	-2,1	ITGA9	8078619	1,3	1,5	1,9	5,2	1,7	1,6
IDE	7935027	1,0	-2,6	0,7	0,7	0,7	1,0	ITGAL	7994826	0,7	0,5	0,6	-3,5	-2,6	0,6
IDH1	8058552	0,9	-3,0	0,6	-8,5	-4,5	-6,2	ITGAM	7995096	1,1	0,7	0,8	-3,7	0,6	-3,7
IDH2	7991374	1,0	-2,0	0,8	-3,0	-2,9	-2,2	ITGAV	8046861	1,0	0,7	1,1	2,2	1,3	4,2
IDH3A	7985134	1,7	1,3	1,4	2,1	2,0	1,0	ITGB2	8070826	1,0	0,7	0,8	-2,4	0,7	0,5
IDH3G	8175844	1,0	0,6	0,8	-2,4	0,6	0,7	ITGB3	8007931	1,0	2,1	1,8	4,6	5,0	10,9
ID1	7931754	1,5	1,5	2,1	1,3	1,8	1,7	ITGB5	8090162	0,9	0,6	1,1	-3,6	0,5	0,5
ID01	8146092	7,1	354,2	19,2	549,9	155,9	436,0	ITGB8	8131666	1,3	34,2	11,6	185,5	67,3	192,3
ID02	8146105	0,8	1,6	0,8	1,4	1,4	2,4	ITIH4	8088020	1,0	2,5	0,8	2,1	1,0	0,8
IDS	8107300	1,0	0,6	0,9	-2,6	0,8	1,0	ITK	8109507	1,5	3,6	1,6	2,5	2,0	1,9
IER2	8026163	1,5	2,1	1,3	0,7	1,2	1,2	ITM2B	7969003	0,8	0,7	0,7	0,6	0,6	-2,0
IER3	8178435	11,6	12,1	14,6	6,5	11,9	11,9	ITM2C	8048995	1,1	0,8	1,0	-2,1	0,9	0,7
IER3	8124848	9,9	10,2	12,5	5,1	9,9	10,0	ITPK1	7980970	1,3	0,6	1,0	-2,3	0,6	-2,2
IER3	8179704	9,9	10,2	12,5	5,1	9,9	10,0	ITPKC	8028908	1,1	2,0	1,3	2,1	1,0	1,1
IFFO1	7960559	0,8	-2,0	0,7	0,5	-2,1	0,6	ITPR1	8077376	0,8	0,8	0,7	-2,9	0,7	1,0
IF16	7906400	0,8	1,1	-2,6	0,7	0,7	0,5	ITPR2	7961900	1,2	1,5	1,6	-2,1	1,2	1,5
IF127	7976443	1,9	5,0	2,6	5,3	2,0	1,4	ITPR1L2	7993622	1,7	3,0	1,5	1,9	2,3	1,7
IF35	8007446	2,0	11,6	1,8	8,3	3,3	2,4	ITSN1	8068305	0,7	-2,0	0,5	-2,1	-2,9	-2,2
IF44	7902553	5,9	15,4	1,4	9,3	4,6	1,9	IVD	7982723	0,8	-2,3	-2,2	-2,8	-2,7	-2,6
IF44L	7902541	11,6	62,6	3,9	60,7	23,8	11,1	IWS1	8055021	1,0	1,0	1,1	2,2	1,5	1,4
IF6	7914127	1,													

KDM6A	8166956	1.2	1.8	1.2	2.1	1.7	1.7	LIN54	8101411	0.8	-2.0	0.8	1.0	0.8	1.7
KDM6B	8004671	3.3	6.1	4.5	1.6	3.0	1.6	LIPA	7934920	1.1	0.7	0.8	0.6	0.8	-2.8
KHSRP	8033162	1.0	-2.4	1.1	0.8	0.8	0.8	LITAF	7999468	1.7	2.0	2.3	1.8	2.2	1.9
KIAA0020	8159854	1.4	1.1	1.3	2.1	2.0	1.2	LIX1	8053742	0.8	0.5	0.8	-2.1	0.6	0.9
KIAA0040	7922154	1.4	6.6	0.7	3.3	1.1	1.0	LJMAN2L	8053675	0.8	-2.3	0.9	0.7	0.7	0.9
KIAA0090	7913110	1.2	0.8	1.0	-2.5	0.9	0.7	LMBRD1	8127425	0.9	-2.6	0.6	-2.1	-2.2	0.7
KIAA0100	8013696	1.2	0.6	0.8	-2.5	0.5	0.6	LMNA	7906085	1.3	2.0	2.2	0.6	1.6	0.7
KIAA0141	8108832	0.6	-2.8	0.8	-3.4	0.5	0.5	LMNB1	8107706	1.1	2.1	0.9	7.0	1.7	2.7
KIAA0146	8146336	1.1	1.1	1.0	-2.1	0.8	0.8	LN2	7970716	0.7	-2.1	1.2	0.6	0.7	0.6
KIAA0195	8009796	0.7	-2.2	0.6	-3.5	-3.1	-2.2	LOC1001282	8031646	0.9	-2.8	0.7	-2.1	0.6	0.5
KIAA0196	8152782	0.9	-2.7	0.7	-3.0	0.7	0.8	LOC1001291	8017344	1.9	2.8	2.2	1.5	2.8	1.8
KIAA0226	8093230	1.5	4.5	1.1	1.3	1.2	1.0	LOC1001295	8050113	1.9	2.6	2.5	1.5	1.6	1.7
KIAA0247	7975361	2.2	3.0	3.5	2.4	4.6	4.0	LOC1001304	7952451	1.1	1.3	1.0	1.1	2.0	1.3
KIAA0391	7973924	1.1	-2.0	0.9	0.5	0.6	0.6	LOC1001315	7951140	2.6	8.4	1.1	2.0	3.7	1.1
KIAA0430	7999642	0.7	-3.2	-2.3	-2.4	-2.2	0.8	LOC1001321	7912804	0.7	0.7	0.6	-2.2	1.0	0.8
KIAA0513	7997662	0.9	0.6	-2.1	-3.2	-2.2	-2.1	LOC1001709	8105995	0.8	0.5	0.6	-3.3	0.7	0.5
KIAA0664L3	7995242	0.9	2.3	1.1	1.3	1.4	1.0	LOC1001909	7947358	1.7	2.2	1.4	2.0	1.8	2.6
KIAA0776	8121161	0.8	-2.9	0.5	0.7	0.8	0.9	LOC1002280	8073309	2.3	2.9	2.0	1.9	1.5	2.0
KIAA0922	8097867	1.2	1.4	1.1	1.8	2.4	1.9	LOC138412	8154727	0.8	-2.5	0.6	-3.2	-2.1	0.6
KIAA0947	8104350	1.1	1.1	1.5	2.4	1.5	1.1	LOC146336	7998405	-3.2	-2.5	-2.2	-3.2	-2.5	-2.5
KIAA1107	7902977	0.7	-2.7	-2.0	0.5	-2.0	0.9	LOC1720	8043036	0.8	-2.2	0.8	0.7	0.6	0.8
KIAA1142	7978542	0.9	-2.5	0.7	0.9	1.2	1.4	LOC339874	8073546	0.8	1.1	0.7	-2.3	0.7	0.7
KIAA1143	8086498	0.9	-2.6	0.7	0.9	1.0	1.3	LOC344887	8084630	1.2	2.9	2.9	0.7	2.9	0.8
KIAA1147	8143441	1.0	-3.3	0.9	-9.4	-3.7	-2.1	LOC388022	7977270	6.0	2.0	6.9	1.8	2.6	1.6
KIAA1191	8115895	0.9	0.7	1.1	1.5	1.6	2.2	LOC388692	7898353	0.9	0.7	1.3	-2.4	0.6	0.8
KIAA1199	7985317	1.1	1.4	1.0	6.4	1.4	41.2	LOC389834	8104139	1.2	1.8	1.5	1.1	2.2	1.5
KIAA1211	8095216	1.1	1.5	1.5	1.8	1.5	2.0	LOC401357	8139769	0.6	-2.4	0.7	0.5	0.7	0.8
KIAA1370	7988970	0.8	-3.1	-3.1	-3.9	-3.1	-2.0	LOC402778	7945663	0.7	-2.1	0.5	-3.5	0.7	-2.0
KIAA1430	8103979	0.7	-3.0	-2.4	0.6	0.6	0.7	LOC440896	8161526	1.8	14.3	8.1	25.7	11.6	20.9
KIAA1586	8120378	0.7	-2.4	0.7	0.8	0.8	0.8	LOC441956	8069503	0.9	1.5	1.1	2.5	1.0	1.1
KIAA1598	7936259	0.8	-2.7	0.8	-5.1	0.6	-2.2	LOC442421	8155547	2.0	2.9	3.1	1.4	3.2	1.7
KIAA1671	8071981	1.0	3.6	1.7	1.7	1.7	1.3	LOC554249	8155490	0.7	0.8	0.6	-2.4	0.7	0.8
KIAA1715	8056943	0.9	-3.3	0.7	0.7	0.6	1.6	LOC634306	8060792	1.1	1.6	1.1	2.1	1.2	1.3
KIAA1737	7975926	0.9	-2.7	0.7	-2.8	0.5	0.5	LOC644249	8161384	1.4	1.0	0.7	0.7	-2.1	4.0
KIAA1949	8124798	2.0	1.7	2.5	1.2	1.6	1.7	LOC644249	8161415	1.4	1.0	0.6	0.7	-2.2	4.0
KIF1B	7897561	1.3	2.9	2.0	1.5	1.9	2.1	LOC644714	8161943	3.1	1.3	2.1	2.0	1.5	1.5
KIF3A	8114030	1.1	1.1	1.2	3.2	1.2	1.2	LOC644714	8086538	2.0	1.1	1.1	1.6	1.6	1.2
KIF3B	8031715	1.6	1.2	1.4	2.4	1.7	2.3	LXC645165	7905028	1.1	0.8	0.9	0.5	0.6	-2.2
KIFC3	8001587	1.4	1.4	1.5	1.2	1.9	1.9	LOC654433	8044605	0.8	0.6	0.8	-3.1	0.6	-2.3
KIR2DL4	8031346	0.9	2.3	1.0	1.8	1.0	1.1	LOC91316	8074925	0.8	0.5	0.7	-2.8	0.7	-2.2
KIR2DL4	8039859	1.0	2.4	1.1	1.9	1.0	1.1	LOC91316	8074927	0.8	-2.1	0.8	-2.3	0.7	-2.0
KLF4	8163002	0.6	0.6	-2.1	-2.4	-2.2	-2.2	LNORF1	8149399	2.2	2.5	2.2	2.8	2.2	1.8
KLF5	7969414	1.3	3.6	1.7	2.6	1.3	1.5	LOXL3	8053231	0.8	0.6	0.7	-2.6	-2.3	-2.4
KLF6	7931810	3.1	6.0	3.3	2.7	2.3	2.0	LPAAR6	7971565	0.5	-5.1	-2.5	-13.9	-4.2	-7.1
KLF9	8161648	1.3	2.3	1.5	1.6	1.7	1.5	LPCAT2	7995697	1.5	0.9	0.8	0.5	-2.0	-2.5
KLHDC2	7974229	0.8	-5.7	-3.1	-2.2	-2.6	0.7	LPCAT3	7960730	1.0	-2.3	0.9	-2.2	-2.1	0.6
KLHDC3	8119648	0.8	-4.3	-2.1	-2.4	-2.6	0.7	LPXN	7948332	0.9	0.7	1.3	-4.1	1.0	0.9
KLHDC8B	8097933	-3.2	-6.1	-5.3	-8.2	-4.7	-4.2	LRBA	8103106	0.8	0.8	0.6	0.5	0.6	-2.4
KLHL12	7923489	0.7	-2.2	1.0	-2.1	1.4	1.0	LRCH1	7968976	1.6	3.8	2.0	2.1	2.3	1.9
KLHL21	7912102	0.6	-2.4	-2.0	0.5	0.5	0.7	LRFN4	7941743	0.6	0.6	0.6	-2.0	0.7	0.7
KLHL24	8084219	0.7	-6.6	-3.3	-2.5	-2.5	0.7	LRMP	7954436	0.5	-5.2	-4.3	-6.5	-5.5	-4.7
KLHL28	7978760	1.5	1.6	1.7	1.5	2.5	2.0	LRP1	7956301	0.6	0.6	-2.2	-6.0	-2.3	-2.4
KLHL36	7997626	1.1	-2.1	0.7	-2.2	0.7	0.7	LRP12	8152280	3.4	10.6	9.6	18.4	8.9	9.4
KLHL5	8094625	1.6	1.8	1.6	2.0	2.6	2.2	LRPAP1	8099073	0.9	0.6	0.8	-3.1	-2.1	-3.2
KLRAQ1	8041913	0.7	-2.7	-2.7	-3.8	-2.7	-2.3	LRRC25	8035456	0.6	-8.7	0.9	-4.5	1.6	2.2
KMO	7910950	7.6	16.9	14.7	11.0	19.0	11.9	LRRC3	8069122	1.4	2.0	1.6	1.4	1.1	0.9
KPNA2	8009417	1.0	1.6	1.8	3.0	1.8	2.5	LRRC32	7950555	4.9	6.7	9.4	3.0	5.1	1.6
KPNA2	8019737	1.0	1.6	1.8	2.8	1.8	2.5	LRRC33	8084951	1.5	0.6	1.5	-3.6	0.7	-2.3
KPNA4	8091764	1.4	1.3	2.0	2.5	1.9	1.2	LRRC37A4	8007919	0.6	-2.3	-2.2	-2.3	0.5	0.5
KREMEM1	8072170	1.0	0.9	1.0	2.3	1.2	3.4	LRRC37A4	8016245	0.7	-2.3	-2.2	-2.3	0.5	0.5
KRR1	7965022	1.7	2.2	1.5	1.6	1.7	1.7	LRRC37B1	8006336	0.8	-2.0	0.7	-2.1	0.8	0.8
KRT81	7963353	1.3	2.5	1.6	1.3	1.2	1.5	LRRC37BP1	8006170	0.7	-3.2	0.7	0.5	0.7	0.9
KRTAP10-4	8069142	1.7	2.2	1.8	2.1	2.7	2.6	LRRC47	7911862	0.7	-2.5	0.7	0.7	0.7	0.8
KRTAP10-9	8069150	1.3	2.6	1.4	0.8	1.6	1.7	LRRC58	8089830	0.8	-2.6	0.8	0.7	0.8	0.8
KRTAP4-4	8015236	1.3	2.0	1.5	1.5	1.5	1.8	LRRC59	8016708	1.4	1.6	1.7	2.0	2.0	1.1
KSR1	8005785	1.0	0.9	1.1	1.6	1.5	2.8	LRRC6	8152962	0.6	-2.1	-2.0	-2.7	-3.0	-2.1
KTI12	7916130	0.8	-2.0	1.1	1.3	1.1	1.0	LRRC8C	7902874	1.1	0.7	0.8	-2.5	0.6	0.7
KYNU	8045539	3.2	7.8	5.7	6.1	9.8	8.8	LRRC8D	7902883	0.7	-3.4	-2.1	-3.4	-2.4	0.6
L2HGDH	7978956	0.8	1.1	0.8	2.1	0.8	0.9	LRRFIP1	8049528	1.0	1.2	0.8	-2.1	1.0	0.7
L3MBTL2	8073379	1.0	-2.0	0.1	0.1	1.0	1.0	LRRFIP1	8048530	1.1	1.7	-3.5	-2.0	0.8	-2.2
L3MBTL4	8022145	1.3	2.4	1.1	2.3	2.8	2.3	LRRFIP1	8048540	1.0	2.8	2.0	0.8	1.2	1.2
LACTB	7984103	1.2	2.1	1.3	1.9	1.6	1.2	LRRFIP1	8049532	1.6	2.2	2.0	1.0	1.6	1.0
LACTB2	8151296	0.8	-3.4	0.6	-2.8	-2.9	-2.8	LRRFIP2	8086150	1.4	2.1	2.0	1.5	2.5	1.4
LAD1	7923347	1.4	4.0	2.2	7.4	7.8	10.3	LRRK1	7986463	0.8	-2.1	0.7	-4.0	-2.1	-2.4
LAIR1	8039257	1.3	1.3	2.1	1.9	2.0	3.0	LRRK2	7954810	0.6	-2.2	0.5	-3.2	1.4	0.8
LAIR2	8031196	0.9	0.8	1.1	0.8	1.0	3.6	LSM14B	8063835	0.6	-7.6	-3.0	-2.5	-2.4	-2.0
LAMB2	8087337	1.1	0.9	0.8	-2.2	0.7	-2.6	LSM14B	8063814	0.6	-3.7	-2.2	-2.1	-2.1	0.5
LAMB3	7924029	1.3	2.2	3.1	4.9	5.2	4.9	LSM3	8078008	1.1	0.5	0.9	-2.4	0.6	0.8
LAMP3	8092348	1.0	3.6	2.5	5.5	4.0	6.7	LSM7	8032480	0.6	0.6	0.6	-3.0	0.6	0.5
LANCL1	8085814	1.2	0.6	0.7	-2.1	0.6	0.8	LSP1	7937735	1.1	0.8	0.9	0.6	0.7	-2.2
LANCL2	8132897	1.6	1.4	2.1	1.3	1.6	1.4	LSP1	7968126	1.1	0.9	1.0	0.6	0.6	-2.3
LAP3	8094259	2.1	4.3	1.7	4.7	2.7	2.3	LSS	8070961	1.8	6.7	4.7	5.4	5.1	5.0
LAPTM4B	8147503	1.8	1.8	2.7	2.1	2.2	2.3	LST1	8118149	1.4	0.9	1.2	0.6	0.7	-2.2
LAPTM5	7914270	0.9	0.6	0.8	-3.0	0.8	0.9	LST1	8177988	1.4	0.9	1.2	0.6	0.7	-2.2
LARP4	7955361	0.9	-2.1	0.9	0.9	0.9	1.0	LST1	8179268	1.4	0.9	1.2	0.6	0.7	-2.2
LASP1	8006020	1.0	-3.2	0.9	-3.1										

MAP1LC3B2	7959023	0,8	0,5	0,9	-2,0	0,7	0,9	MLXIP	7959361	0,6	-3,4	-2,2	0,6	-2,1	0,8
MAP2K1	7984319	0,9	1,1	1,0	2,1	1,8	1,8	MMAA	8097670	1,3	2,4	1,3	3,2	2,0	1,6
MAP2K3	8005707	4,0	6,4	6,7	3,2	4,2	2,6	MMAADHC	8055672	0,8	-3,3	-2,2	0,6	0,7	0,7
MAP2K5	7984319	0,8	0,5	0,6	-2,1	0,5	0,6	7951271	1,4	3,2	5,3	13,5	4,5	49,5	
MAP3K1	8105436	1,1	-2,5	1,1	1,5	1,0	1,8	MMP10	7952529	0,8	-3,8	-1,6	5,9	1,8	4,0
MAP3K13	8084589	0,9	-2,5	1,1	14,0	2,6	11,2	MMP12	7951297	8,2	14,3	10,9	40,5	12,5	22,3
MAP3K2	8054997	0,9	-2,4	0,7	-2,1	0,7	0,9	MMP14	7973336	1,6	3,4	3,8	3,5	4,8	7,0
MAP3K3	8009183	1,2	-2,6	0,9	-3,2	0,6	0,7	MMP19	7963946	3,2	17,8	8,2	13,4	8,5	5,7
MAP3K8	7926900	5,5	13,8	9,9	6,6	8,3	5,4	MMP7	7956038	1,2	0,8	1,2	-2,6	-2,1	0,5
MAP4K1	8036525	1,3	0,7	1,0	-2,9	0,6	-2,0	MMP8	7951284	1,1	1,6	1,0	3,6	1,1	1,1
MAP4K4	8043945	1,4	3,2	2,4	2,8	4,6	2,8	MMP9	7951217	1,4	3,3	4,9	33,4	31,4	103,0
MAP4K5	7978997	1,1	1,6	1,1	3,7	1,8	1,8	MMP9	7951246	0,9	0,9	1,2	0,8	0,8	2,0
MAPK14	8119000	1,1	-2,4	0,8	-2,3	1,0	1,2	MMP9	8063115	1,2	1,7	3,3	1,1	2,0	2,4
MAPK3	8008011	0,9	-2,2	0,7	-6,6	-2,6	0,6	MNDA	7906377	0,9	1,4	-2,3	1,3	-4,5	-3,1
MAPK6	7983763	1,9	1,5	2,2	1,4	2,2	0,9	MOBK2B	8160521	2,1	1,0	1,4	1,2	1,4	1,1
MAPK8	7927389	1,3	1,0	1,5	2,5	1,5	1,8	MOBK2C	7915861	5,6	5,0	7,0	1,2	2,8	0,8
MAPKAPK2	7909236	1,6	1,4	2,5	3,0	2,3	3,1	MOCS2	8112020	1,2	-2,5	0,8	-2,3	0,5	0,5
MAPKAPK3	8080013	1,1	-2,9	0,7	-3,6	-2,1	0,6	MOP-1	8101322	8,5	17,3	4,2	1,5	7,9	1,6
MAPRE2	8020878	0,8	-2,1	0,6	0,6	-2,4	0,5	MORC3	8068460	2,3	3,4	2,1	3,1	3,1	2,2
MAPRE3	8040742	1,1	0,8	1,6	-2,1	0,7	1,1	MORC4	8174338	0,7	0,7	0,7	-2,1	0,6	2,0
MARCH1	8103508	0,7	-2,1	-2,6	1,0	0,8	1,1	MORF4L2	8174253	1,3	1,6	1,7	2,3	3,1	2,5
MARCH2	8025421	1,2	0,8	1,2	1,6	0,9	2,6	MORN2	8041561	1,1	0,5	0,7	-2,2	0,6	0,6
MARCH3	8113790	2,0	4,1	4,9	19,6	10,7	39,6	MOSPD1	8175288	1,4	-2,4	0,6	-2,6	-2,1	0,8
MARCH8	7933228	1,1	-3,2	0,7	-2,2	0,5	0,8	MOV10	7904050	1,0	3,3	0,9	2,4	1,0	1,2
MARCO	8044773	0,9	1,0	0,7	1,0	2,1	4,3	MPEG1	7948364	0,9	0,7	1,2	-5,3	0,9	0,5
MARK3	7977077	1,5	2,3	2,4	1,8	2,4	1,7	MPHOSPH6	8003068	1,9	1,5	1,8	1,0	3,4	1,5
MAST3	8026926	0,6	-4,5	-2,2	-3,4	-2,3	0,6	MPI	7984922	0,7	-2,7	0,7	0,5	0,7	1,3
MASTL	7926821	2,1	11,3	1,4	5,8	2,4	1,9	MPP1	8176174	1,1	0,6	1,0	-4,3	0,6	-3,3
MAT2A	8043187	1,4	1,0	1,3	0,6	0,8	-3,3	MPV17	8051066	1,0	0,6	0,9	-3,6	0,6	0,6
MAZ	7994637	0,9	-2,2	0,6	-2,6	-2,1	-2,2	MPV17L2	8026982	1,2	-2,1	0,9	0,9	0,7	1,1
MBD4	8090577	1,0	-3,1	0,9	1,0	1,0	1,5	MPZL1	7907092	1,2	1,2	1,6	1,9	1,8	2,1
MBNL2	7969677	0,7	-4,5	-3,0	-4,9	-4,4	0,6	MRC1	7926410	1,0	0,6	0,8	-4,8	0,6	-3,5
MBNL3	8175177	1,0	-2,1	0,7	-5,6	-2,3	-4,2	MRC1	7926451	1,0	0,6	0,8	-4,8	0,6	-3,5
MBOAT1	8124166	0,6	-4,3	-5,0	-12,1	-7,4	-14,5	MREG	8058824	1,8	1,8	2,7	5,5	3,2	4,7
MBP	8023889	0,7	-2,2	0,6	-2,9	-2,4	-2,2	MR1	8026182	0,7	-2,1	0,6	-2,1	-2,1	0,5
MBTD1	8016789	0,6	-2,6	-2,2	0,6	0,6	0,5	MRPL21	7949995	2,1	1,2	1,6	1,2	1,9	2,2
MCC	8113551	1,2	2,1	1,4	1,1	1,3	1,3	MRPL32	8132458	1,1	2,0	1,2	2,4	1,1	1,2
MCCDC1	8092328	0,9	-2,1	0,7	-2,2	0,6	0,6	MRPL34	8026724	0,7	-3,2	-2,0	-2,8	-2,3	0,6
MCL1	7919751	0,7	2,4	1,7	2,3	2,4	2,7	MRPL35	8043278	1,4	-2,9	0,9	0,7	0,8	1,0
MCM5	8055426	0,7	-4,0	-2,1	-3,2	-3,4	-3,2	MRPL37	7901601	1,0	-2,5	0,9	0,5	0,7	0,8
MCOLN1	8025183	0,8	-2,0	0,8	-8,9	-2,2	-2,9	MRPL4	8025586	1,0	0,7	0,8	-2,0	0,6	0,7
MCOLN2	7917283	5,9	50,5	17,0	68,1	56,9	33,7	MRPL43	7935819	0,9	-2,3	0,6	-2,2	0,5	0,8
MCOLN3	7917304	1,2	1,2	1,6	0,9	2,1	1,2	MRPL45	8006762	1,1	-2,3	0,7	0,7	0,8	1,1
MCTP1	8113130	1,4	4,2	3,3	1,4	4,1	2,8	MRPL49	7941164	1,0	-2,9	0,9	1,2	0,9	1,4
MCTP2	7986293	0,9	1,4	0,9	1,7	1,3	2,1	MRPS18B	8117955	0,8	-3,3	0,5	0,7	0,6	0,5
MDGA1	8126102	1,0	1,3	0,9	2,1	1,2	1,1	MRPS18B	8177824	0,8	-3,3	0,5	0,7	0,6	0,5
MDH1	8042259	1,4	0,7	0,9	-2,9	0,7	0,7	MRPS18B	8179139	0,8	-3,3	0,5	0,7	0,6	0,5
ME1	8127854	0,8	0,6	1,0	-15,7	0,8	-9,0	MRPS21	7905163	0,8	-2,0	0,8	0,6	0,6	0,7
MED10	8110886	1,9	2,1	2,0	2,9	2,1	2,3	MRS2	8117194	1,1	-2,3	0,7	0,6	0,7	0,8
MED13	8017312	1,4	2,1	1,6	1,9	2,0	1,7	MRT0A	7898549	1,7	0,7	1,9	2,0	1,2	1,0
MED21	7954503	1,0	-2,7	0,7	0,9	0,8	1,4	MS44A4	7940237	0,9	-2,6	0,7	-8,8	-3,0	-5,4
MED23	8129522	0,8	-2,3	-2,1	-2,0	0,6	0,7	MS44A6	7948455	1,0	-3,3	0,6	-19,4	-5,7	-21,6
MED7	8115476	1,6	1,5	1,6	2,3	2,0	1,5	M54A7	7940259	0,9	1,1	1,5	0,7	2,2	1,5
MEF1B	7915516	1,0	-2,5	1,0	0,7	0,8	0,8	M5C	8151334	6,3	18,4	10,0	16,7	15,0	11,9
MEF2C	8113039	0,8	-2,6	-2,6	-8,4	-2,7	-5,6	MSH2	8041867	0,7	-2,6	-2,3	-2,1	-2,4	-2,1
MEF2D	7921014	1,0	0,6	1,0	-2,1	0,9	1,0	MSL2	8090893	0,8	-2,1	0,9	0,7	0,8	0,7
MEFV	7998940	2,0	14,5	1,9	10,6	4,0	2,6	MSL3	8166015	1,4	2,3	1,3	2,0	1,7	1,5
MEGF9	8163775	0,6	-3,9	-2,7	-4,8	0,6	1,6	MSR1	8149448	0,6	0,9	-2,3	-2,0	-2,3	-6,5
MELK	8155214	1,0	2,2	1,0	1,4	0,9	1,2	MSR2	7926661	1,0	0,8	0,9	-2,1	0,8	0,8
MEPCE	8134821	0,9	0,7	0,8	-2,2	0,8	1,0	MST4	8169949	1,5	6,2	5,4	9,3	11,6	7,8
MERTK	8044391	1,0	-2,5	1,0	0,5	0,6	2,7	MSTO2P	7906056	1,7	1,0	1,8	1,7	1,8	2,1
MESDC1	7985349	1,8	3,0	2,6	1,4	2,8	1,8	MT1A	7995806	1,4	4,0	5,4	17,8	6,6	12,1
MET	8135601	0,9	1,0	1,1	0,9	1,6	0,8	MT1DP	7995813	1,4	5,5	3,5	8,6	6,3	10,1
METAP1	8096556	1,0	-3,0	0,6	0,7	0,6	9,0	MT1E	7995797	1,4	4,9	6,8	13,6	9,5	30,6
METRNL	8010897	1,7	1,4	2,3	1,3	1,6	1,5	MT1F	7995825	1,6	1,7	4,3	5,8	4,6	18,3
METT5D1	8091656	0,8	-2,1	-2,0	0,6	1,0	1,4	MT1G	8001531	1,6	6,7	6,6	12,6	9,0	31,1
METTL1	7964548	2,1	2,5	3,6	3,8	2,1	3,6	MT1H	7995829	1,0	1,1	2,8	3,8	3,7	2,3
METTL11	8171876	1,5	1,9	4,4	4,4	2,2	3,4	MT1IP	7995834	1,0	1,3	1,1	2,2	1,6	17,3
METTL13	7907353	0,6	-2,7	-2,1	0,7	0,7	0,6	MT1JP	7995803	1,5	3,5	2,8	6,5	4,2	8,6
METTL6	8085571	1,3	1,0	1,3	0,9	2,1	1,2	MT1L	7995793	1,7	4,4	4,9	8,1	5,9	14,9
METTL7A	7955441	0,7	-7,2	-3,2	-18,9	-10,0	-9,2	MT1M	7995787	1,3	2,1	3,7	8,7	2,2	15,3
MFF	8048835	1,1	-2,1	0,9	0,6	0,8	2,6	MT1P2	7952413	1,4	4,0	2,5	4,5	4,1	6,1
MFN1	8084045	2,0	5,1	1,7	5,1	2,6	2,0	MT1P3	8062119	1,5	6,8	5,3	11,2	7,7	21,6
MFN2	8075924	0,8	-4,7	-2,3	-4,1	-4,4	-3,4	MT1X	7995838	1,2	2,4	3,0	5,4	4,9	9,9
MFS1	8083656	0,9	0,6	0,8	-4,0	0,6	-2,4	MT2A	7995783	2,2	11,7	9,0	16,0	13,4	19,5
MFS2A	7900365	5,5	4,7	13,1	4,9	6,6	2,2	MT2A	8095362	1,7	7,7	5,4	11,1	9,5	13,3
MFS2B	8047078	1,1	0,7	1,0	-2,3	0,7	0,5	MT2A	8095376	1,6	7,7	5,1	11,2	9,4	14,2
MFS2D	8098769	1,0	0,8	0,9	-2,3	0,8	0,7	MTF1	7915091	3,3	5,1	5,7	6,1	8,9	8,6
MGAT4A	8054135	0,7	-2,8	-2,8	0,5	-4,1	0,7	MTFMT	7989708	1,3	-2,9	0,7	-2,4	0,6	0,6
MGAT5	8045349	1,2	0,9	1,1	-2,7	1,1	0,6	MTFP1	8072346	1,3	1,4	1,4	1,8	2,3	1,5
MGC2752	8031973	1,3	0,9	1,1	1,7	1,3	2,2	MTHFD1	7975045	1,2	0,7	1,0	-2,0	0,7	0,6
MGC39372	8123606	1,3	12,1	2,0	27,7	17,2	35,9	MTHFD2	8084064	2,8	3,6	3,9	3,5	3,7	2,6
MGC42105	8105146	1,0	1,1	1,0	2,8	1,0	1,1	MTHFD3	8042830	3,1	3,9	3,8	4,1	4,6	2,9
MGC57346	8007799	0,6	0,7	0,7	-2,1	0,7	0,7	MTHFR	7912496	-2,2	-2,3	-2,2	0,5	-2,0	0,6
MGC87042	8138527	1,0	1,8	0,9	14,2	2,1	7,9	MTHFS	7990810	1,0	1,6	1,8	4,8	2,8	5,5
MGLL	8090433	1,0	1,6	2,2	1,4	2,2	1,4	MTHR10	7967048	0,9	-2,1	0,7	-2,2	0,7	0,7
MGST2	8097513	1,8	0,8	0,9	-2,6	1,0	-2,3	MTHR12	8111139						

NAIP	8112478	0,9	-7,2	-2,4	-9,0	-3,4	-4,4	NT5DC2	8087935	1,3	-2,4	0,6	-3,7	-2,8	-2,3
NAIP	8112521	0,9	-7,0	-2,4	-8,6	-3,3	-4,3	NT5E	8120967	0,9	1,7	1,0	5,7	1,0	1,4
NAIP	8177527	0,9	-7,0	-2,4	-8,6	-3,3	-4,3	NTAN1	7999598	0,8	-2,6	0,7	0,5	-2,6	-2,2
NAMPT	7930884	4,2	9,6	6,3	12,3	12,9	13,4	NTB1	8137414	1,3	5,7	1,7	8,7	3,3	4,4
NAMPT	8142120	4,1	9,2	7,9	12,1	12,0	13,3	NUCCD1	8152340	1,4	3,7	1,0	5,0	1,7	1,4
NANS	8156761	1,0	1,5	0,9	3,2	1,2	1,2	NUDD16	8082667	0,7	-2,1	-2,2	-2,8	-2,4	-2,5
NAPA	8037913	1,2	2,4	1,5	2,1	1,4	1,2	NUDT16P1	8082663	0,8	-2,3	-2,1	-2,1	0,5	0,6
NAPG	8020149	2,0	1,4	1,5	1,5	2,0	1,5	NUDT3	8152825	1,0	0,7	0,9	-2,3	0,8	0,8
NAPRT1	8153430	1,0	0,6	0,7	-2,0	-2,1	0,6	NUDT5	7932069	1,3	-2,3	0,8	-5,0	-2,7	-2,0
NARS	8023481	0,8	-2,5	0,7	-2,2	0,6	0,6	NUDT7	7997332	1,7	-2,5	0,6	-3,7	-2,6	-2,4
NAV1	7908694	1,0	1,4	1,3	8,1	1,6	5,9	NUFIP1	7971361	0,5	-3,2	0,5	0,7	-2,3	0,5
NBN	8151711	2,4	9,0	3,5	6,8	5,6	3,7	NUMA1	7950086	0,8	-2,2	0,7	-2,3	0,5	0,9
NBPF22P	8106771	1,4	2,0	1,7	1,2	1,5	1,3	NUMB	7980005	1,2	1,4	1,9	1,0	2,2	1,8
NCAPD2	7953351	0,8	-2,8	0,5	-2,9	-2,9	0,8	NUP188	8158446	1,7	2,1	2,5	2,0	2,7	1,5
NCAPD3	7952830	1,1	-2,0	0,7	-2,1	0,6	0,7	NUP210	8085431	1,2	0,8	0,8	-2,3	0,8	0,6
NCAPH	8043602	1,6	-2,3	-2,1	-2,5	-2,7	-2,1	NUP214	8158783	0,9	-2,5	0,6	-2,6	0,7	0,7
NCF1	8140227	2,4	6,5	2,2	4,0	2,8	2,9	NUP43	8130129	0,9	-2,2	0,6	-2,2	0,5	0,5
NCF1	8133314	2,5	6,5	2,2	4,1	2,9	2,9	NUP85	8009761	0,9	-3,5	0,6	-2,4	0,6	0,5
NCF1	8133518	2,4	6,2	2,1	3,6	2,7	2,8	NUP88	8011832	1,2	0,9	1,3	2,4	1,6	1,5
NCF2	7922773	1,0	-2,5	0,9	-6,9	0,6	-2,8	NUPL1	7968132	1,4	1,5	1,6	2,1	2,7	1,8
NCF4	8072744	0,8	-3,1	0,8	-4,5	-4,2	-4,0	NUPR1	8000574	0,6	1,6	-3,5	1,2	-4,5	-7,3
NCK2	8044133	1,0	1,5	2,0	1,6	1,7	2,0	NXP1	7948939	1,6	3,8	1,3	2,3	2,1	2,0
NCKAP1L	7955908	0,9	-2,5	0,7	-6,1	-2,5	0,6	NXT2	8169352	1,4	2,3	1,9	3,2	2,7	3,1
NCOA5	8066668	1,8	2,0	2,2	1,8	2,3	1,5	OAS1	7958884	1,4	4,3	0,7	3,6	1,1	0,8
NCSR1	8012961	0,6	-2,1	-2,0	-2,3	0,6	0,7	OAS2	7958913	2,3	11,3	1,7	9,9	3,1	2,7
NCS1	8158627	1,0	1,9	2,4	5,6	3,0	4,5	OAS3	7958895	3,0	25,0	3,3	15,4	5,2	3,6
ND6	8165705	1,2	0,8	0,8	2,1	0,7	0,9	OASL	7967117	6,3	34,7	2,4	17,6	5,9	2,5
NDEL1	8004867	1,8	2,0	2,2	2,7	2,7	2,6	OBFC2A	8047161	1,9	4,6	2,8	4,9	4,9	3,5
NDP	8172220	1,1	2,7	4,1	10,6	13,1	22,8	OBFC2B	7956220	0,9	0,7	0,7	0,6	-2,4	0,7
NDRG1	8153002	1,1	1,2	1,1	2,0	1,1	2,2	ODF2L	7917433	1,4	1,8	1,0	2,5	1,2	1,1
NDRG2	7977621	1,7	0,7	0,8	-6,8	-3,3	-5,8	OGFOD1	7995755	1,4	0,7	1,7	2,5	1,7	1,4
NDRG3	8066051	0,8	-3,0	0,5	-5,0	-3,9	-2,2	OGFOD2	7959535	0,6	-2,1	0,5	-2,6	0,5	0,5
NDUFA12	7965515	1,1	0,8	1,0	-2,0	0,8	0,8	OGFR	8063955	1,2	2,1	1,5	2,3	1,3	1,3
NDUFA2	8114618	1,0	0,6	0,8	-2,5	0,5	0,7	OLFML2B	7921882	0,9	-2,7	1,6	-3,9	-2,3	1,9
NDUFA3	8031097	1,1	0,6	1,1	-2,6	0,8	0,7	OLFML3	7904158	0,6	0,5	0,7	-4,3	-2,1	-3,3
NDUFA9	7953243	1,7	3,8	1,7	3,1	2,3	1,9	OLR1	7961142	3,0	12,9	22,7	8,8	16,2	45,3
NDUFAF1	7997642	1,1	-2,0	0,9	0,9	0,9	1,3	OPR1	8064261	0,5	0,5	-2,3	0,6	0,6	0,5
NDUFAF4	8128322	1,7	-2,1	1,4	0,7	1,4	0,9	OPTN	7926239	1,9	10,0	3,1	9,5	4,4	3,9
NDUFB10	7992402	1,1	-2,3	0,8	-2,3	0,6	0,7	OR1F2P	7992865	1,2	1,2	2,4	1,3	1,4	1,1
NDUFS7	8024273	0,8	-2,0	0,6	-3,4	-2,1	-2,1	OR4K15	7973018	-2,0	-2,0	0,5	-2,0	0,5	-2,2
NDUFV1	7941946	1,0	0,8	0,8	-2,6	0,6	-2,1	OR5ZK3P	7937940	0,6	3,3	0,7	1,5	0,7	0,5
NDUFV2	8020058	1,6	1,3	2,1	0,8	1,7	1,5	ORAI1	7959294	1,5	1,4	3,4	1,5	1,6	1,2
NDUFV3	8068857	1,1	-2,6	0,6	0,6	0,9	0,6	ORAI2	8135172	0,9	1,4	1,5	3,3	1,6	2,4
NECAP1	7953715	1,4	1,3	1,8	0,8	2,4	1,4	ORAI3	7994981	0,6	-5,1	-2,4	-4,9	-3,2	0,5
NEDD4L	8021376	1,2	2,5	1,7	1,4	2,0	2,0	ORMDL1	8057700	1,0	-2,2	0,8	0,5	0,8	0,9
NEFH	8072229	0,9	1,2	1,2	2,1	1,0	3,2	OSBPL11	8090277	0,6	-6,9	-3,4	-5,1	-3,1	-2,8
NEK9	7980271	0,8	-2,5	0,6	-2,6	0,6	0,6	OSBPL1A	8022572	0,9	0,7	0,6	-2,7	-3,1	-3,9
NENF	7909603	0,9	0,7	0,8	-2,2	0,7	0,7	OSBPL3	8138613	1,6	2,5	2,4	3,0	2,3	2,3
NET1	7925954	1,4	1,8	1,6	3,6	1,8	2,0	OSGLEP1	8057689	0,7	-2,5	-2,3	-2,1	-2,3	0,5
NETO2	8001197	2,0	1,6	2,0	2,9	2,2	3,5	OSGIN2	8147221	1,0	1,1	1,4	1,1	2,3	1,7
NEU1	8178676	0,8	0,6	1,0	-2,2	0,8	1,0	OSM	8075316	3,2	5,0	4,5	1,9	6,4	9,5
NEU1	8125139	0,9	0,6	1,0	-2,3	0,8	1,0	OSR2	8147573	0,7	3,4	1,0	1,8	0,9	1,2
NEU1	8179851	0,9	0,6	1,0	-2,3	0,8	1,0	OTUD1	7926677	1,8	3,7	2,3	1,1	3,5	2,0
NF	8006239	1,1	1,7	1,4	2,0	2,0	2,2	OTN1	8103011	1,4	2,3	1,7	2,3	1,9	1,2
NFAM1	8076441	1,0	0,7	0,9	-4,2	-2,5	0,7	OTUD6B	8147262	0,7	0,9	0,7	0,8	2,1	1,6
NFAT5	7996954	1,3	3,3	1,7	3,7	4,1	3,0	OX1L	7973314	0,7	-3,7	0,5	-3,3	-2,5	0,5
NFATC2	8067040	1,3	1,6	1,6	2,0	1,4	1,6	OXR1	8147848	0,9	-2,5	-2,3	-3,2	-2,8	-2,8
NFATC3	7996744	0,7	-2,1	-2,2	-2,6	-2,2	-2,2	OXSR1	8078738	1,6	2,4	2,1	1,9	3,7	2,8
NFE2L2	8069677	2,1	1,4	2,0	1,3	1,7	1,5	P2RX1	8011499	1,0	0,7	0,8	-2,0	0,7	0,7
NFE2L3	8131944	4,8	15,2	7,8	7,5	11,9	7,2	P2RX4	7959267	1,7	4,1	3,5	3,7	5,0	3,5
NFIA	7901788	0,8	-4,3	-2,4	-3,9	-4,7	-5,0	P2RX5	8011415	1,0	1,8	1,5	2,7	1,2	1,3
NFIL3	8162276	2,2	2,6	2,2	2,0	1,6	2,8	P2RX7	7959251	1,4	6,4	4,7	3,2	5,6	1,7
NFKB1	8096635	5,3	14,0	12,0	11,6	14,2	9,7	P2RY13	8091523	0,7	-8,6	-10,8	-11,5	-14,8	-13,3
NFKB2	7930074	4,3	9,8	8,8	7,4	9,2	6,4	P2RY14	8091511	1,3	0,6	-2,6	-4,4	-4,1	-4,8
NFKBIA	7978644	10,8	11,6	11,0	9,7	10,2	10,0	P2RY8	8171136	0,7	-2,6	0,7	-3,3	-2,4	-2,5
NFKBIB	8028552	1,9	1,8	2,9	1,6	2,3	1,9	P4HA1	8177026	0,7	-2,6	0,7	-3,3	-2,4	-2,5
NFKBID	8036207	6,5	6,3	5,8	1,4	2,2	3,7	P4HA2	7934278	1,0	1,2	1,3	2,2	1,9	2,4
NFKBIE	8126666	5,8	4,0	5,2	2,0	4,3	3,4	PABPC4	8113981	1,3	1,1	2,0	2,5	2,7	4,0
NFKBIZ	8081386	34,0	84,1	40,7	32,2	43,8	29,2	PACS1	7915207	0,7	-3,3	0,6	-2,7	0,5	-3,3
NFLX1	8100179	0,9	-4,9	-4,1	-3,9	-5,3	-3,8	PACS2	7941537	0,9	0,5	0,7	-2,5	0,5	0,6
NHDC2	8102030	1,0	1,5	1,3	1,4	1,5	1,9	PAFAH2	7977344	1,0	0,6	0,8	-3,2	-2,2	0,5
NHP2L1	8076374	1,1	0,6	0,9	-2,3	0,8	0,6	PAG1	7913883	0,8	-2,0	0,6	0,5	0,6	0,7
NHSL2	8168359	0,6	0,7	0,8	0,7	0,7	-2,1	PAICS	8151512	0,9	3,2	1,6	4,2	4,4	3,9
NICN1	8087433	0,6	0,6	0,6	-2,4	-2,1	0,6	PAK1	8095221	1,4	0,8	1,2	1,5	1,5	2,2
NID1	7925320	1,1	2,3	2,5	1,2	2,5	1,6	PALB2	7950578	0,9	-3,2	0,5	-6,8	-3,2	-4,4
NIF3L1	8047356	0,9	-2,3	0,6	0,7	0,7	1,0	PAN2	8000329	0,9	-2,2	0,9	1,4	0,9	0,8
NIN	7979044	0,9	0,6	0,9	-2,4	1,0	1,1	PANX1	7964089	0,9	0,6	0,7	-2,6	-2,0	0,6
NINJ1	8162455	2,5	4,3	3,5	2,2	2,5	2,2	PAPD7	7943218	2,6	11,9	3,7	10,8	7,9	5,4
NIP7	7996934	1,7	1,1	2,2	2,1	1,8	0,9	PAPSS2	8104378	2,0	6,5	1,5	2,1	1,4	1,1
NIPAL2	8151952	1,0	0,6	1,0	-3,7	0,5	-2,3	PAPSR2	7928944	1,6	1,0	2,1	1,6	1,9	3,8
NIPAL3	7898939	1,0	-2,0	-2,1	-2,7	-2,3	0,6	PARG	8120215	0,7	1,1	0,6	0,6	0,6	-2,1
NIPAL4	8109563	1,2	5,4	3,9	3,2	2,4	1,7	PARL	7933561	0,9	0,5	0,6	-2,2	-2,4	0,5
NISCH	8080320	0,9	-3,1	0,7	-5,2	-3,4	-2,5	PARM1	8092409	0,9	-2,1	0,7	0,5	0,6	0,5
NKIRAS1	8085788	0,8	-2,5	-2,4	-2,7	0,5	0,5	PARP1	8085751	1,4	1,4	1,9	1,2	2,2	1,3
NLK	8005814	0,9	0,7	-2,3	0,6	0,6	0,6	PARP2	7924733	0,9	0,5	0,7	-2,3	-2,5	0,6
NLN	8105663	1,1	0,9	1,8	-2,5	2,1	0,7	PARP3	8153609	1,1	2,4	1,4	1,9	1,3	1,7
NLC4	8051396	1,0	0,6	0,6	0,6	1,4	3,1	PARP12	8143327	1,0	2,4	1,3	1,7	1,3	1,2

PDGFRLL	8144802	1,2	13,6	0,9	5,4	1,7	1,2	PLEKHM2	7898227	0,9	0,7	1,0	-2,2	0,8	0,9
PDHB	8088384	1,2	-2,4	0,9	-2,8	0,6	0,8	PLEKHM3	8058509	1,0	1,2	0,8	2,2	3,3	4,2
PDHX	7939329	1,6	1,1	2,0	2,8	2,1	3,5	PLEKH3	8058512	1,2	2,3	1,6	2,2	3,7	3,5
PDK1	8040408	0,9	1,3	1,2	2,7	2,9	3,3	PLIN2	7984217	1,4	0,5	1,4	-3,5	0,9	0,9
PDK2	8008263	0,7	-4,7	-3,3	-6,6	-7,4	-4,8	PLIN3	8160297	0,8	-3,2	-2,1	-3,3	0,7	0,5
PDK3	8166511	0,7	-2,9	0,5	-5,0	-3,4	-3,4	PLK3	7901054	7,0	9,3	9,3	2,3	7,3	5,6
PK4	8141094	-3,4	-9,8	-10,9	-11,2	-12,2	-12,1	PLOD1	7897803	1,0	-2,4	0,8	-4,3	-3,0	0,6
PDLM7	8116070	1,0	1,1	1,2	1,0	1,1	2,1	PLOD2	8091283	0,8	0,8	1,0	4,6	1,4	11,8
PDPK1	7998825	0,7	-2,6	0,8	0,6	0,6	0,7	PLOD3	8141688	1,1	0,8	1,2	-2,0	1,0	0,7
PDPK1	7992670	0,8	-2,4	0,6	0,6	0,6	0,7	PLRG1	8103289	0,8	-2,3	0,8	0,7	0,7	0,8
PDPN	7898057	0,6	0,7	1,2	2,3	2,3	10,3	PLSCR1	8091327	3,5	11,5	3,8	10,1	8,8	11,0
PDPN	7997025	0,7	-3,3	0,8	-2,6	0,7	0,7	PLTP	8066619	0,6	0,6	0,7	-2,3	1,0	1,5
PDS1	7926807	4,2	9,0	6,6	9,2	10,8	5,6	PLXDC2	7926545	0,7	-2,9	0,6	-24,6	-4,5	-3,7
PDXDC1	7993433	0,8	-3,2	0,7	-2,2	0,6	0,6	PLXNA1	8082314	1,4	1,8	3,7	0,6	2,8	0,8
PEA15	7906564	1,6	1,4	1,9	1,9	2,1	2,2	PLXNB2	8076998	1,0	-2,4	0,8	-6,1	0,5	0,7
PEBP1	7995070	0,9	0,7	0,7	0,7	0,7	-2,2	PLXND1	8090591	0,8	0,5	0,9	-2,3	0,6	1,0
PECAM1	8017599	0,9	0,7	0,8	-3,2	0,5	0,5	PMaip1	8021470	2,8	8,7	1,4	2,0	2,1	1,2
PELI1	8052654	1,3	4,8	2,7	4,5	7,6	2,3	PMFBP1	8002667	0,9	-2,1	0,6	0,5	0,5	-2,1
PELI2	7974533	0,6	-3,7	-2,4	-3,6	-3,0	-2,9	PML	7984779	2,1	7,0	1,4	4,3	1,9	1,6
PEMT	8013120	1,8	0,9	1,4	-2,1	0,8	0,7	PNMA1	7980044	1,4	1,3	1,6	2,5	1,6	2,8
PEFD	8036010	0,9	0,7	0,8	-2,9	0,7	-2,2	PND1	8042381	2,2	1,4	1,8	2,2	2,4	1,5
PER3	7897378	1,3	-2,4	0,8	-4,3	-2,4	-5,4	PNP	7973067	1,8	0,8	1,5	2,4	3,3	3,1
PEX13	8042161	0,9	-2,3	1,0	1,2	1,3	1,9	PNPLA1	8119052	1,2	2,0	2,0	1,6	3,0	2,4
PFKFB2	7909285	0,8	-2,4	0,8	-2,7	0,5	-2,2	PNPLA2	7937485	0,8	0,5	0,6	0,5	-2,1	0,8
PFKFB3	7926037	3,0	13,3	5,2	10,7	9,8	15,3	PNPLA6	8025199	1,2	0,5	1,1	-3,5	0,5	0,7
PFKFB4	8086961	1,0	0,8	0,7	1,2	1,0	2,6	PNPLA8	8142307	1,1	1,3	1,3	2,3	2,4	2,4
PFKP	7925876	1,6	1,9	1,3	3,2	1,9	2,7	PNPO	8008064	1,2	-2,4	0,8	-5,3	-3,1	-2,3
PGA3	7940421	1,5	1,1	3,6	0,7	1,1	0,8	PNPT1	8052331	4,1	19,5	1,4	15,8	3,6	1,4
PGA4	7940431	1,4	1,1	3,5	0,6	1,0	0,8	PNRC1	8121076	2,1	2,5	2,0	2,5	2,4	2,6
PGA5	7940441	1,3	1,0	3,1	0,6	0,9	0,8	POGK	7907024	1,0	-2,1	1,1	0,6	0,8	0,8
PGAM1	7965480	1,2	1,2	1,1	2,1	1,4	1,9	POGLUT1	8081853	2,0	6,0	3,1	3,5	2,7	1,9
PGAM1	7958152	1,2	1,2	1,1	2,2	1,4	1,9	POLD1	8030641	0,8	-2,0	0,6	0,5	0,5	-2,1
PGAM1	7929624	1,3	1,2	1,1	2,2	1,4	1,9	POLD3	7942527	0,6	-2,3	-2,1	0,5	0,7	0,6
PGAM4	8173729	1,2	1,2	1,1	2,1	1,3	1,8	POLE3	8163525	1,0	-2,1	0,8	0,8	0,6	0,8
PGAM4	8176282	1,2	1,2	1,1	2,1	1,3	1,8	POLR1D	7968254	0,8	-3,0	0,6	0,6	0,6	0,6
PGAP1	8057959	1,4	6,4	1,7	3,0	1,8	1,3	POLR2J2	8141829	0,9	0,6	0,9	-2,3	0,7	0,7
PGAP2	7937892	1,5	0,7	0,7	-2,3	-2,4	0,6	POLR2J3	8141791	0,8	0,5	0,7	-2,5	0,6	0,6
PGK1	8168500	1,3	1,0	1,3	1,5	1,7	2,4	POLR2J3	8141795	0,9	0,6	0,9	-2,5	0,8	0,8
PGM1	7901951	1,2	0,8	1,1	2,0	1,4	3,1	POLR2J4	8139264	0,9	0,6	0,9	-2,7	0,6	0,7
PGM3	8127841	1,1	0,9	1,2	2,6	2,2	1,6	POLR3C	7919226	1,3	1,3	2,5	1,4	1,4	1,3
PGP	7998759	0,9	-2,1	0,7	-2,5	0,6	0,8	POLR3GL	7919197	0,9	-2,0	0,6	0,6	0,6	0,6
PGPEP1	8026991	0,7	-2,4	-2,2	-2,3	-2,5	0,6	POM121	8133326	0,9	-2,6	1,1	0,6	1,1	1,2
PGS1	8010271	0,9	0,9	1,0	2,2	1,0	1,8	PON2	8141076	1,4	0,9	0,8	-3,5	0,7	-4,4
PHACTR1	8116932	1,3	1,1	1,6	0,7	2,2	0,8	POR	8133670	0,8	-2,2	0,7	-3,6	0,7	0,5
PHACTR2	8122426	1,3	2,1	1,3	1,2	1,3	0,7	PORCN	8167287	0,8	-2,0	0,5	-2,2	-2,4	-2,1
PHACTR4	7899455	1,1	2,5	0,5	1,2	0,7	0,7	POU2F2	8037123	1,3	1,2	2,3	1,2	2,5	1,3
PHC1	7953812	0,9	0,6	1,1	-2,2	0,7	0,9	POU5F1P3	7960878	0,9	0,8	0,9	-2,3	0,9	1,0
PHF1	8118682	1,4	1,4	2,2	1,0	1,3	1,9	PPA1	7934133	1,6	7,5	2,0	38,1	7,8	24,7
PHF10	8130916	0,7	-2,2	0,6	0,5	0,6	0,9	PPAP2B	7916493	-2,3	-2,1	0,5	-2,4	0,7	-3,0
PHF11	7969129	1,7	6,3	1,8	6,2	3,6	3,4	PPARD	8118945	1,3	1,3	2,2	0,7	2,7	1,9
PHF12	8013812	0,7	-2,2	0,8	0,9	0,7	1,2	PPARG	8077899	1,0	0,6	0,7	-2,2	0,6	-2,3
PHF15	8108080	1,3	1,9	2,4	1,1	1,6	1,3	PPBP	8100971	0,9	1,0	0,9	0,8	1,6	5,3
PHF19	8163807	1,0	2,2	1,0	0,8	0,9	1,0	PPDP	8064100	1,0	0,7	0,9	-2,9	0,6	0,6
PHF21A	7947227	0,6	-2,7	-2,3	0,6	0,6	1,2	PPD1	7914174	0,9	-2,0	0,8	0,8	0,9	0,9
PHF3	8120244	0,6	-3,1	-3,9	0,8	0,8	0,5	PPFBP1	7954559	1,5	3,3	0,8	1,5	0,8	0,7
PHF7	8080306	0,9	-2,1	0,6	0,6	-2,2	-2,1	PPIF	7928589	3,4	1,4	4,7	2,7	5,3	3,6
PHIP	8127698	1,0	1,6	0,8	2,1	1,3	1,7	PPIL3	8058147	1,2	-2,6	0,6	-2,1	-2,5	0,7
PHKA2	8171587	1,2	0,7	0,7	-2,1	0,6	0,5	PPIL4	8130087	0,8	-2,6	0,7	0,9	1,0	1,1
PHKB	7995382	1,0	0,6	0,7	-2,9	0,7	0,8	PPIP5K2	8107164	1,1	-2,2	0,9	-2,3	0,8	0,6
PHLDB1	7944302	1,1	1,9	2,3	1,4	1,2	1,4	PPIM1B	8041713	1,3	1,3	1,0	2,3	1,3	1,5
PHTF2	8133818	1,6	0,8	1,1	-2,8	0,8	0,5	PPIM1K	8101701	2,4	9,0	0,9	7,0	2,1	1,3
PHYH	7932094	1,0	0,5	0,6	-2,5	0,5	-2,1	PPIM1L	8083749	1,0	-2,1	0,6	-3,5	-2,5	-2,2
PI4K2B	8094378	2,8	10,3	2,6	11,5	6,2	3,2	PPIM1M	8080198	1,1	-2,2	0,9	-3,7	-2,8	-2,3
PI4KA	8074647	0,9	0,6	0,8	-3,3	0,6	-2,1	PPIM1N	8029701	1,3	1,5	2,1	1,3	1,6	2,8
PI4KAP2	8074748	0,9	0,5	0,7	-3,1	0,5	0,6	PPP1CA	7949765	1,1	0,6	1,0	-2,1	0,7	0,9
PI4KAP2	8074577	1,0	0,6	0,8	-2,5	0,6	0,7	PPP1CC	7966368	0,8	-3,3	-2,1	-2,5	-2,1	0,5
PIAS2	8023133	1,1	0,6	0,6	-2,2	0,7	0,9	PPP1R15A	8030128	10,0	14,7	7,3	3,3	6,0	3,1
PIGA	8171418	1,5	2,8	1,3	3,6	2,6	2,6	PPP1R15B	7923659	3,1	7,2	3,9	6,6	3,8	3,9
PIGF	8051993	1,6	1,2	1,6	1,2	2,3	1,7	PPP1R15B	8062557	1,1	2,4	1,8	1,9	1,8	1,8
PIGK	7917088	1,3	0,7	0,9	-2,3	0,7	1,5	PPP1R15B	8048784	1,0	0,7	0,9	-2,1	0,7	0,7
PIGM	7921526	0,9	-3,3	0,8	-3,1	-2,3	0,6	PPP1R9B	8016828	0,5	-2,3	0,8	0,5	0,6	0,7
PIGN	8023805	1,1	0,7	0,7	-2,0	0,7	0,6	PPP2CB	8150126	1,4	2,1	1,6	1,9	2,2	1,8
PIGO	8160953	1,1	0,7	1,0	-2,1	0,9	1,0	PPP2R2A	8145440	1,5	3,6	1,4	2,8	2,1	1,6
PIGO	7991904	0,7	0,6	0,8	-2,2	0,7	0,7	PPP2R2D	7931405	2,0	1,6	2,2	1,4	2,4	1,8
PIGS	8013641	0,9	-2,7	0,7	-3,0	-2,3	0,6	PPP2R4	8158523	1,2	0,8	0,9	1,0	-2,3	1,0
PIGX	8084955	1,4	0,9	1,3	1,8	1,7	2,5	PPP2R5A	7909586	0,9	-2,3	0,6	0,7	0,6	0,6
PIK3AP1	7935337	1,1	2,2	1,9	2,0	3,1	3,6	PPP2R5B	7941087	1,3	1,2	1,5	1,9	1,6	3,1
PIK3C2A	7946815	0,9	-2,1	0,7	-2,3	0,7	0,8	PPP3CA	8101971	1,0	0,5	0,9	-3,1	0,6	0,7
PIK3CA	8084016	1,4	2,1	1,3	2,4	2,2	1,9	PPP3CC	8145136	1,9	5,2	3,3	4,9	3,9	3,9
PIK3CB	8091009	0,9	-2,4	0,7	0,8	0,8	1,5	PPP3R1	8052721	1,0	-2,3	0,6	0,5	0,8	0,6
PIK3CG	8135363	0,9	-4,3	-2,7	-4,1	-2,4	-2,7	PPP4R2	8080973	1,3	2,3	1,9	4,0	3,4	3,4
PIK3IP1	8075483	-3,4	-6,6	-5,0	-6,7	-6,0	-4,4	PPPDE2	8076365	1,1	1,9	1,8	1,9	2,6	2,6
PIK3R1	8105778	0,6	-4,0	-2,3	-3,7	-2,0	-2,1	PPT1	7915286	1,0	0,6	0,8	-2,9	0,7	-2,6
PIK3R3	7915787	0,6	0,9	0,5	0,6	0,6	-2,5	PRCL3	8040278	1,1	0,6	0,8	-2,9	0,6	0,5
PIK3R5	8012558	1,2	2,1	2,4	0,7	1,7	1,2	PRCP	7950731	0,9	0,5	0,8	-5,1	-2,3	-3,8
PIK3R6	8012539	1,0	0,8	1,2	-2,5	0,5	0,5	PRDM1	8121257	2,2	2,1	0,9	1,4	1,6	1,4
PIM1	8119161	2,1	10,8	6,7	12,0	9,3	8,9	PRDM8	8096032	0,					

PSMB1	8130952	1.4	0.9	1.5	1.5	2.2	2.3	RBBP6	7994161	1.6	3.0	1.1	1.1	1.1	1.0
PSMB9	8118571	1.5	3.5	1.3	3.4	1.6	1.8	RBBP7	8171516	0.9	0.5	0.7	-2.1	0.6	0.7
PSMB9	8178211	1.5	3.5	1.3	3.4	1.6	1.8	RBBP8	8020468	1.5	1.7	2.0	1.6	2.2	1.2
PSMB9	8178495	1.5	3.5	1.3	3.4	1.6	1.8	RBBP9	8065230	1.7	1.1	1.7	1.1	1.5	2.9
PSMC1	8080293	1.5	1.1	1.7	2.2	1.8	2.1	RBCK1	8060353	0.9	2.2	0.7	0.3	0.9	0.9
PSMC1	7978189	1.4	1.1	1.6	2.1	1.7	2.1	RBL1	8066136	0.7	-2.4	-2.1	-2.7	0.6	0.8
PSMC5	8009227	1.7	1.1	1.8	1.7	1.6	2.3	RBL2	7995631	1.1	0.6	0.8	-3.1	0.5	0.6
PSMC6	8150870	1.4	1.0	1.5	2.2	1.9	2.2	RBM14	7941707	1.1	1.1	0.8	1.2	2.0	1.1
PSMD10	8174379	0.9	-2.1	0.9	0.9	0.7	1.1	RBM3	8167234	1.6	1.4	1.9	1.5	2.4	1.7
PSMD11	8006392	1.5	1.2	2.0	1.7	2.0	2.1	RBM43	8055697	0.9	1.1	0.6	2.1	0.8	1.2
PSMD12	8017810	1.0	1.0	1.0	2.2	1.5	1.6	RBM4B	7949674	0.8	-2.2	0.7	0.8	0.8	1.0
PSMD7	7997230	1.2	1.0	1.4	2.0	1.6	1.6	RBM7	7944006	2.2	2.0	2.3	1.9	3.1	1.8
PSME2	7978123	3.1	5.9	4.3	9.4	6.2	7.4	RBMS2	7956261	0.9	1.3	-2.1	0.7	-3.2	-2.3
PSPC1	7970413	1.8	2.7	2.0	2.1	2.0	1.3	RBPJ	8155458	1.6	0.7	1.2	-2.1	0.9	1.0
PSTPIP1	7985099	1.0	0.5	0.6	-2.2	-2.1	0.6	RBPJ	8094460	1.4	0.6	1.1	-2.2	0.9	0.9
PSTPIP2	8023043	4.3	14.7	10.1	8.6	15.5	10.5	RC3H2	8163972	1.4	1.1	1.4	1.6	2.2	1.9
PTAFR	7914184	0.9	0.7	1.3	-2.3	1.3	1.1	RCAN1	8070182	3.0	6.9	2.3	3.9	2.9	3.8
PTCD3	8043251	1.2	-2.0	0.9	0.9	1.1	0.9	RCAN3	7898957	0.7	0.7	0.7	0.7	-2.4	0.6
PTDSS1	8147447	0.1	-2.0	1.0	-2.3	1.0	0.7	RCBTA1	7971602	0.8	-2.4	-2.1	-2.2	-2.2	-2.1
PTER	7926356	1.1	-2.5	0.6	0.6	-2.2	0.7	RCBTA2	7917573	0.7	-3.7	-2.3	-9.1	-4.4	-6.3
PTGER2	7974366	9.1	10.7	9.2	0.7	4.1	3.2	RCHY1	8101013	0.6	-2.5	0.6	0.6	0.6	0.7
PTGER4	8105067	5.9	9.0	6.7	4.6	9.5	4.6	RCM1	7939120	1.7	4.1	2.8	16.5	5.9	6.6
PTGFRN	7904293	1.4	0.6	0.7	-2.7	-2.1	-3.0	RCOR3	7909529	0.8	-3.2	0.7	0.6	0.6	0.8
PTGIR	8037775	1.8	5.1	5.1	8.4	5.4	6.7	RDH10	8146921	0.8	-3.2	-2.2	-3.3	-3.2	-3.5
PTGS1	8157650	1.8	0.5	1.1	-5.6	-3.8	-3.3	RDX	7951554	0.8	1.2	1.5	2.3	2.0	2.2
PTGS2	7922976	61.4	370.9	112.0	509.5	376.4	458.8	REC8	7973629	1.4	2.2	1.4	1.3	1.4	1.4
PTMA	8061136	1.1	0.8	1.0	-2.1	0.8	0.8	REEP4	8149673	0.9	-3.6	-2.6	-4.9	-3.4	-3.2
PTMS	7953409	1.2	1.1	1.0	0.8	0.8	-2.1	REL	8042144	2.0	4.2	4.1	4.7	3.4	2.3
PTP4A2	7914489	0.9	-2.2	0.8	0.7	1.0	1.0	RELA	7949465	1.9	3.3	2.3	2.1	2.1	2.0
PTP4A3	8148501	1.3	2.8	2.5	3.0	5.4	2.3	RELB	8029580	2.0	2.8	3.2	2.5	2.7	2.7
PTPLAD1	7984263	0.8	-3.2	0.6	-4.0	-3.0	-2.4	RENBP	8175933	1.5	0.6	1.2	-2.1	0.9	0.9
PTPLAD2	8160346	1.1	-2.0	0.9	-11.4	-2.1	-8.1	REPS2	8166243	0.9	-3.7	0.5	-8.5	-4.4	-5.6
PTPLB	8090091	1.0	-3.4	0.6	-7.4	-3.1	-3.0	RERE	7912166	0.9	0.9	-2.1	0.6	0.6	0.6
PTPMT1	7939818	0.6	0.6	0.6	-3.1	0.5	0.6	RETSAT	8053406	0.7	-2.1	0.8	-4.1	-2.1	0.5
PTPN1	8063394	2.0	3.9	3.6	5.5	3.9	4.9	RFC4	8092640	1.0	-2.2	-2.2	0.5	0.8	1.0
PTPN12	8133788	2.0	2.5	3.2	2.0	4.1	2.8	RFTN1	8085665	1.3	3.7	2.8	3.6	3.3	3.3
PTPN18	8045182	0.8	-2.9	0.5	-3.3	-4.4	-2.9	RFWD2	7922504	1.9	1.5	1.3	1.1	2.1	1.8
PTPN2	8022393	1.6	2.4	2.0	5.9	4.5	5.3	RFW7	7989132	0.8	-2.6	-2.1	0.6	0.6	0.7
PTPN22	7918657	1.0	-4.5	-2.5	-7.3	-3.4	-4.1	RGL2	8178955	1.1	0.6	0.8	-4.0	-2.1	0.5
PTPN6	7953569	1.0	-2.1	1.2	-2.3	0.9	2.0	RGL2	8180144	1.1	0.6	0.8	-4.0	-2.1	0.5
PTPRJ	7939839	1.3	2.0	2.2	2.3	3.2	2.8	RGL2	8125687	1.0	0.6	0.9	-3.8	0.5	0.5
PTPRO	7954143	0.7	0.6	-2.4	-3.0	-2.7	-2.8	RGPD3	8054414	0.9	-2.4	0.8	0.6	0.9	0.8
PTX3	8083594	49.5	83.4	108.2	156.0	169.0	47.3	RGPD4	8044161	0.9	-2.2	0.8	0.6	0.9	0.8
PUM2	8050565	0.7	-3.2	-2.6	0.6	0.6	0.7	RGPD5	8054676	1.0	-2.3	0.9	0.6	0.9	0.9
PURA	8108472	1.0	-2.1	0.8	1.0	0.9	1.2	RGPD5	8054532	1.0	-2.3	0.9	0.7	0.9	0.9
PUS7	8142061	1.2	1.1	1.1	2.8	1.3	1.2	RGPD5	8054557	1.0	-2.3	0.9	0.6	0.9	0.9
PUS7L	7962427	1.1	-2.1	0.7	0.8	0.7	0.9	RGPD6	8044304	1.0	-2.2	0.9	0.7	0.9	0.9
PVR	8029437	2.1	3.2	3.7	4.6	3.0	4.7	RGS1	7908388	5.4	14.5	3.9	12.7	9.6	8.5
PVRL2	8029507	1.7	4.4	3.2	5.5	3.3	3.8	RGS14	8110327	0.9	0.6	0.6	0.5	-2.1	0.6
PVRL3	8081548	1.0	3.0	0.8	1.9	1.2	1.1	RGS16	7922717	2.0	4.8	2.7	8.4	3.8	3.6
PVK	8080781	1.0	-2.8	0.6	-7.7	0.8	0.7	RGS18	7908376	-2.2	-5.7	-4.3	-5.3	-3.0	-3.4
PXMP2	7960117	1.1	0.8	1.5	-2.2	0.9	0.7	RGS19	8067802	1.1	0.7	0.7	-2.2	0.7	0.7
PXN	7967002	1.0	-2.9	0.8	-2.1	0.8	0.8	RGS2	7908409	-3.0	-2.5	-2.4	1.3	0.7	1.8
PYCARD	8001030	0.9	-2.9	0.6	-9.1	-4.3	-6.3	RHDD2	8133662	1.0	-2.4	2.5	-3.0	1.0	1.3
PYGB	8061447	0.7	-2.2	0.6	-3.1	0.5	0.5	RHDF2	8018731	1.2	4.1	2.6	4.1	3.7	8.2
PYGL	7979085	0.8	-2.6	0.6	-17.2	-3.3	-4.5	RHGF2	7991283	1.2	13.6	1.4	17.6	2.1	1.8
PYROXD1	7954382	1.7	1.1	2.5	1.8	-2.4	2.2	RHEB	8143957	1.8	1.5	2.0	1.4	1.9	1.6
QARS	8087283	0.8	-2.6	0.6	-3.1	-2.7	0.5	RHOB	8040473	0.7	0.8	0.6	-3.0	0.5	-2.0
QPCT	8041508	1.9	1.2	2.0	-2.1	2.0	0.9	RHOBTB3	8106986	1.2	0.9	1.3	3.8	5.0	8.7
QPRT	7994609	1.4	0.8	0.8	-2.0	-2.3	-2.9	RHOF	7967202	2.2	2.6	4.6	1.2	2.6	2.4
QSER1	7939158	0.7	0.6	-2.4	-2.4	-2.2	-3.2	RHOG	7945944	1.5	1.3	2.0	1.1	1.4	1.6
QTRTD1	8081786	0.9	-2.1	0.8	0.8	1.0	0.9	RHOH	8094743	1.4	6.9	1.3	7.5	3.3	4.0
RAB11F1P1	8150225	0.7	0.7	-2.1	0.7	0.6	0.6	RHOQ	8045289	1.3	1.6	2.1	2.3	3.1	2.1
RAB12	8020029	1.4	2.4	1.6	2.3	1.6	1.8	RHOQ	8041808	1.3	1.4	1.9	1.9	2.2	1.3
RAB13	7963986	0.9	0.9	0.7	1.8	1.0	2.4	RHOT1	8006345	1.0	-2.7	-2.1	0.5	0.5	0.9
RAB18	7926836	1.5	1.8	1.8	2.5	2.2	1.8	RICTOR	8111698	1.5	3.6	1.1	2.4	1.8	1.9
RAB21	7957177	1.7	2.1	2.3	3.1	2.9	2.3	RILPL2	7967456	3.7	4.2	5.4	4.3	5.0	5.9
RAB2B	7977736	1.7	1.6	1.4	1.8	1.9	2.7	RIN2	8061247	1.4	4.3	2.3	1.5	3.6	2.6
RAB30	7950743	1.2	3.2	2.6	6.4	4.9	3.9	RIOK2	8113286	0.6	-2.8	2.0	0.7	0.7	0.6
RAB32	8122554	0.8	-2.1	0.7	0.5	0.8	0.8	RIPK1	8116622	1.7	3.7	1.5	3.0	2.1	1.6
RAB33A	8169387	1.6	-1.0	2.1	1.4	2.3	0.5	RIPK2	8147206	2.6	9.0	3.1	7.7	5.9	5.9
RAB38	7905899	1.2	0.9	1.0	-2.3	0.8	-2.2	RLF	7900395	1.5	1.8	1.8	2.1	2.6	2.1
RAB39	7943577	2.1	2.8	2.8	1.3	3.1	1.3	RMND5A	8043310	0.9	-5.4	-2.0	-2.3	0.6	0.8
RAB3D	8034202	0.6	0.5	0.5	-2.5	0.5	0.7	RMRP	8161024	0.8	0.8	0.7	-2.1	0.7	0.6
RAB42	7899499	1.5	0.5	0.8	0.5	-2.0	0.6	RNASE1	7977615	0.9	0.7	0.9	-2.4	0.7	-2.8
RAB43	8001147	1.3	1.8	1.0	1.7	1.7	2.2	RNASE2	7973101	1.0	-2.2	0.7	-14.5	-3.2	-9.2
RAB4A	7910398	0.7	-2.9	0.6	0.6	0.6	0.6	RNASEK	8012000	0.8	0.8	1.1	-2.8	0.6	0.8
RAB5A	8078214	1.5	2.4	2.2	1.9	3.4	2.0	RNASET2	8130768	0.9	0.6	0.6	-2.7	0.5	2.6
RAB5C	8015545	1.0	0.6	0.9	-2.2	0.7	0.7	RND1	7962884	1.1	1.6	2.6	2.9	2.4	-2.3
RAB7L1	7923812	1.2	2.3	1.4	5.5	1.8	2.9	RNF103	8053576	1.1	-2.6	0.6	0.8	0.8	1.1
RAB8B	7984112	1.3	2.1	1.4	3.0	2.1	2.3	RNF115	7904830	1.1	2.4	2.2	2.6	2.5	2.7
RAB9A	8166098	0.6	0.6	0.6	-2.9	-2.6	-2.2	RNF122	8150186	1.0	4.4	0.7	1.4	1.2	1.8
RABGAP1	8157700	0.9	-2.4	0.7	0.7	0.8	0.9	RNF125	8020806	0.8	-7.5	-4.3	-7.8	-4.9	-7.1
RABGAP1L	7907492	1.2	2.4	0.9	1.3	1.0	1.1	RNF13	8083310	0.7	-2.2	0.7	0.6	0.6	1.1
RABGEF1	8133176	2.0	2.9	2.2	3.1	3.9	3.0	RNF130	8116372	1.0	0.5	0.8	-5.8	0.6	-3.0
RABGGTB	7902382	1.2	0.9	1.1	1.0	2.2	1.3	RNF135	8006229	0.7	5.0	-2.3	-3.9	-2.6	-2.3
RABL3	8099967	1.4	1.4	1.6	1.3	2.1	4.9	RNF140B	8117106	4.7	5.5	6.1	4.9	7.0	5.2
RAC2	8075														

RPL23AP82	8074157	0,9	-2,3	0,7	0,6	0,7	0,9	SERPINB2	8021635	4,0	109,9	33,5	74,4	86,3	60,0
RPL28	8031483	1,1	0,8	0,9	-2,0	0,7	0,8	SERPINB8	8021653	1,9	2,3	2,9	1,1	2,6	1,4
RPL34	8035829	1,0	0,6	0,7	-2,3	0,7	0,7	SERPINB9	8123609	4,8	27,4	13,8	28,1	31,9	23,3
RPL36A	8138361	1,1	-2,0	0,9	-2,5	0,7	0,9	SERPINE1	8135069	2,2	2,7	12,2	1,2	1,5	1,2
RPL5	7986734	0,9	-2,1	0,7	0,6	1,3	0,7	SERPINF1	8003667	0,9	0,8	0,8	-2,3	0,8	0,8
RPL6	7966534	0,9	-2,1	0,7	0,6	0,7	0,7	SERPING1	7940028	1,2	-3,9	1,3	5,4	0,9	0,9
RPL6	8022170	0,9	-2,0	0,7	0,5	0,7	0,7	SESNI	8128698	-2,1	-3,9	-3,2	-3,1	-3,8	-3,1
RPL7L1	8119595	0,8	-2,3	0,6	0,8	0,9	0,9	SESN3	7951077	1,0	2,4	1,7	3,3	2,5	2,6
RPLP0	8109750	1,0	0,6	0,8	-2,0	0,7	0,7	SESTD1	8057394	1,5	2,3	2,1	1,9	2,4	2,0
RPLP0	7966996	1,0	0,6	0,8	-2,4	0,7	0,8	SETD7	8102848	0,8	-6,6	-2,1	-2,6	-2,8	-2,3
RPP14	8080773	1,3	-2,7	1,2	0,9	1,2	1,0	SETDB2	7969114	0,5	-6,1	-3,7	-6,0	-4,5	-4,7
RPP25	7990442	-2,0	-2,6	-2,4	-2,3	-2,4	-2,6	SFPQ	7914791	1,8	2,1	2,6	1,7	2,6	1,1
RPP30	7929116	1,1	-2,0	0,8	-2,1	0,7	0,7	SFXN1	8110090	1,3	0,6	1,1	2,2	2,1	3,3
RPP38	7926345	0,8	-2,1	0,9	0,6	0,8	0,8	SFXN3	7929919	1,0	0,5	0,9	-2,6	0,6	0,6
RPRD2	7905185	0,6	-5,0	-2,9	-3,5	-2,5	0,5	SGK1	8129677	1,1	0,6	1,0	-11,9	0,8	-4,4
RPS23	8112961	1,0	0,7	0,8	-2,3	0,9	0,6	SGK269	7990632	1,0	2,4	1,8	0,6	1,8	0,9
RPS24	7928551	0,9	0,6	0,8	-2,1	0,8	0,7	SGM51	7933619	0,8	0,7	-2,0	0,5	0,6	0,6
RPS27	8079019	0,8	-2,2	0,7	-2,4	-2,3	0,6	SGMS2	8096733	1,6	2,2	3,0	1,4	1,7	1,5
RPS27	7900157	0,7	-2,3	0,6	-2,6	-2,5	0,5	SGPL1	7928171	0,9	0,6	1,1	-3,7	0,7	0,8
RPS27	7905981	0,7	-2,2	0,7	-2,5	-2,4	0,6	SGPP2	8048717	8,4	52,7	54,3	30,7	73,4	31,6
RPS27	7923438	0,8	-2,2	0,7	-2,5	-2,3	0,5	SGSH	8019061	0,6	-3,1	0,7	-3,8	-2,4	-2,2
RPS28	7942824	1,0	0,6	0,9	-2,6	0,7	0,8	SGTB	8112409	2,4	2,5	4,0	1,2	4,7	3,0
RPS28	8025395	1,0	0,6	0,9	-2,7	0,7	0,8	SH2B3	7958749	1,4	0,9	1,2	-2,5	1,1	0,5
RPS28	8005471	1,0	0,6	0,9	-2,8	0,7	0,8	SH2D3C	8164252	0,7	0,5	0,5	-2,1	0,6	0,6
RPS4Y1	8176375	1,1	0,6	0,6	-2,8	-2,0	0,5	SH3BGR3	7899153	1,1	0,8	0,8	-2,0	0,7	0,7
RPS5	8031933	0,8	0,7	0,8	-2,6	0,7	0,7	SH3BP1	8072847	0,9	0,6	0,7	-3,1	0,5	0,8
RPS6KA1	7899192	0,8	-2,3	0,7	-2,2	0,7	0,7	SH3PXD2A	7936115	-2,2	0,5	-2,2	-3,0	-2,7	-3,2
RPS6KA2	8130739	0,9	-2,1	0,6	-3,2	-2,6	-2,4	SH3PXD2B	8115814	1,1	1,2	3,0	3,2	5,1	12,2
RPS8	7901038	1,0	0,8	0,9	-2,1	0,8	0,8	SHMT1	8013243	0,7	-2,5	-2,2	-2,3	-2,6	-2,7
RPS9	8031152	1,0	0,9	0,9	0,7	0,8	-2,0	SHMT2	7956401	1,0	-2,1	0,9	0,5	0,7	0,7
RPUSD3	8085233	1,0	0,5	0,7	-2,1	0,5	0,7	SHPK	8011396	1,0	0,5	0,7	0,7	-2,2	0,6
RRAGC	7915160	1,4	2,5	1,8	3,9	2,0	1,7	SHAE	7944867	-2,4	-3,4	-5,0	-3,6	-3,2	-3,1
RRAGD	8128123	0,8	-3,1	0,8	0,5	0,6	-2,2	SIDT1	8081710	0,9	2,7	1,1	0,9	1,3	1,2
RRAS	8038407	0,9	0,6	0,9	-2,1	0,5	0,9	SIDT2	7944049	0,9	0,9	0,6	0,7	-3,5	-4,8
RRBP1	8065136	1,4	3,1	1,2	2,3	1,9	1,7	SIGIRR	7945377	0,9	0,8	0,9	-2,8	0,6	0,5
RREB1	8116740	0,7	-3,3	0,5	-2,6	-2,2	0,6	SIGLEC1	8064716	0,9	1,3	0,9	0,7	0,5	-3,9
RRM1	7937915	1,2	0,6	0,7	0,7	-2,1	0,6	SIGLEC10	8038824	1,5	0,9	1,9	0,7	0,9	3,1
RXR4	8159127	0,9	-3,0	0,7	-6,7	0,8	0,5	SIGLEC10	8038887	1,6	2,4	1,5	1,4	1,8	3,8
RXR8	8178903	0,1	0,6	0,8	-2,9	0,6	0,8	SIGLEC14	8038877	1,3	1,6	1,3	0,9	1,6	3,4
RXR8	8125638	0,6	0,5	0,6	-3,0	0,6	0,7	SIGLEC5	8038877	1,3	1,6	1,3	0,9	1,6	3,4
RXR8	8180111	0,6	0,6	0,6	-2,6	0,6	0,8	SIGLEC9	8030782	1,3	0,8	2,9	1,7	2,3	1,8
RYBP	8088820	1,7	2,6	2,8	4,4	3,0	3,4	SIGMAR1	8160857	0,9	0,6	0,7	-3,0	-2,2	0,6
S100A12	7920238	0,9	0,9	1,6	2,6	7,4	29,9	SIK1	8070665	1,3	2,0	1,7	1,6	1,6	1,4
S100A4	7920271	1,1	0,7	0,6	-3,1	0,6	-2,2	SIK3	7951873	1,0	1,9	1,5	1,9	2,1	2,5
S100A8	7920244	2,1	2,7	11,0	22,8	22,9	135,9	SIP1L1	7975459	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	2,0
S100A9	7905571	1,2	1,5	4,6	4,8	10,7	23,9	SIP1L2	7925062	1,0	1,1	0,7	-2,7	0,7	0,6
SAMD4A	7947425	1,0	3,0	1,4	1,8	0,9	0,8	SIP1L3	8028286	0,8	0,5	0,7	-2,3	-2,6	0,6
SAMD8	7928516	1,5	1,5	2,0	2,9	3,0	2,9	SIRPB1	8064471	1,4	0,8	1,2	-4,5	0,6	-2,2
SAMD9	8140967	1,9	7,7	0,6	7,8	1,7	1,6	SIRPB2	8064451	0,8	-5,5	-2,4	-10,4	-5,8	-2,4
SAMD9L	8140971	1,9	7,4	1,0	5,7	2,4	1,8	SIRT2	8036636	1,1	0,8	1,2	-3,4	0,7	0,6
SAMHD1	8066117	1,0	0,9	0,7	0,6	-2,2	-2,7	SKA2	8157691	2,1	-2,3	1,3	0,6	0,9	1,4
SAMM50	8073645	0,9	-3,9	0,5	-2,2	-2,5	0,6	SKA2	8017133	1,5	-2,0	1,4	-2,2	0,9	1,1
SAMSN1	8069541	1,7	2,7	2,9	4,4	4,5	4,3	SKAP2	8138689	1,2	0,8	1,0	-3,4	1,0	0,8
SAP18	7967976	1,2	1,8	1,1	2,0	1,2	1,4	SKL	7897068	1,2	0,8	1,0	-2,1	0,7	0,9
SAP30	8098342	0,8	0,9	0,7	-2,3	0,8	1,0	SKSH	8063876	2,7	3,3	4,0	3,7	7,0	4,6
SAP30BP	8009932	1,8	1,6	2,5	2,6	2,2	2,2	SKP2	8104912	0,7	-5,0	-2,7	0,5	0,5	0,8
SASH1	8122637	1,2	3,0	1,0	0,5	1,0	0,5	SLAMF1	7912652	7,7	50,7	43,3	137,8	82,4	66,1
SAT2	8012247	1,2	2,2	1,1	1,3	1,0	0,9	SLAMF6	7921625	0,7	0,6	0,8	-3,1	0,6	-2,7
SATB1	8085716	1,1	2,4	1,0	0,8	2,6	1,2	SLAMF7	7906613	2,8	24,7	6,7	31,9	17,8	15,6
SAV1	7919033	2,1	4,3	1,9	1,8	1,7	1,3	SLAMF8	7906486	1,1	0,6	0,9	-4,9	0,8	0,7
SBN02	8032157	1,2	2,8	2,5	3,1	2,9	2,8	SLAMF9	7921516	1,5	1,0	0,8	1,1	1,4	2,0
SC4MOL	8098195	1,3	0,8	2,0	1,0	1,5	3,6	SLBP	8098904	0,8	-2,1	0,7	1,1	0,9	1,1
SC5DL	7944656	1,1	-2,0	1,3	0,6	1,2	2,3	SLC10A7	8103043	0,8	-2,1	0,6	0,5	0,6	0,8
SCAMP2	7990417	0,8	-2,9	0,6	-4,2	-2,4	-2,2	SLC11A1	8048283	0,8	-2,2	1,4	0,8	1,7	5,7
SCAMP5	7984932	0,7	-2,0	0,5	-2,2	0,6	0,6	SLC11A2	7963212	1,6	2,4	3,2	2,2	3,8	2,4
SCAP	8086754	0,8	-2,1	0,6	-3,4	-2,2	0,5	SLC12A4	8002152	1,0	0,6	0,8	-2,6	0,5	0,7
SCARB1	7967544	0,9	-2,6	0,7	-8,6	-3,9	-5,2	SLC12A6	7987192	0,8	0,6	0,6	-2,8	1,1	0,9
SCARNA12	7960728	0,7	0,9	0,7	-2,1	0,7	0,6	SLC12A9	8134965	1,4	0,6	0,9	-2,4	0,6	0,5
SCARNA13	7981181	0,6	-2,6	0,8	-2,1	0,7	0,7	SLC16A10	8121515	1,4	2,7	5,0	8,5	13,7	38,2
SCCPDH	7911155	0,9	-2,6	0,6	0,6	-2,5	0,6	SLC16A3	8010770	1,4	1,1	1,5	1,5	2,1	2,2
SCD	7929816	0,9	-2,8	0,6	-2,8	0,7	0,9	SLC16A5	8009746	0,7	-2,2	-2,0	0,5	-2,1	-2,4
SELT1	8102751	1,0	2,1	0,9	1,0	1,0	0,9	SLC16A6	8009746	0,7	-2,2	-2,0	0,5	-2,1	-2,4
SCN1B	8027719	1,1	1,6	1,6	1,5	2,2	2,3	SLC16A7	7956658	1,1	0,9	1,2	2,6	1,5	6,1
SCN9A	8056491	1,6	1,0	1,0	0,7	1,0	-2,3	SLC17A5	8127549	0,9	-2,1	0,7	0,6	0,6	0,8
SCP2	7901513	1,4	0,8	1,0	-3,1	0,7	0,5	SLC19A1	8070912	0,9	0,6	0,8	-2,0	0,6	-2,1
SDC2	8147461	1,1	1,0	1,2	1,1	1,8	2,1	SLC1A2	7947496	0,9	2,0	1,6	8,8	2,8	23,2
SDC3	7914282	0,9	-2,2	0,8	-3,7	-2,6	-3,3	SLC1A3	8104930	2,2	6,6	5,0	11,8	7,7	9,9
SDC4	8066513	10,0	6,3	13,7	6,0	6,3	3,4	SLC1A4	8042310	1,3	2,4	1,2	3,0	1,1	1,1
SDCCAG3	8165156	1,0	-2,3	0,7	0,6	0,6	0,6	SLC1A5	8037835	0,9	0,5	0,7	-3,1	0,8	0,5
SDF2	8013741	1,4	1,5	1,6	1,9	1,9	2,0	SLC22A18	7937852	0,8	0,9	0,9	-2,3	0,6	0,6
SDHC	8011212	1,1	0,7	0,9	-2,3	0,7	0,6	SLC22A4	8107909	1,1	2,0	1,1	3,2	1,5	2,7
SDHC	7906746	-2,1	-2,0	0,6	-3,6	0,6	0,7	SLC22A5	8107920	0,7	0,7	0,7	-2,0	0,5	0,6
SDS	7966621	0,6	-3,0	-2,5	0,6	0,6	0,6	SLC23A2	8064808	0,8	-2,7	0,6	-7,8	-2,2	-3,4
SEC22B	7904695	1,1	1,1	1,4	1,1	2,1	1,8	SLC24A6	7966600	0,8	-2,6	0,7	-2,1	0,5	0,6
SEC24A	8108099	1,3	2,1	1,4	5,0	2,8	3,3	SLC25A19	8018352	1,1	-2,1	1,4	0,7	1,0	1,3
SEC61G	8139706	1,3	1,7	1,4	4,0	3,5	4,6	SLC25A20	8087224	0,7	-2,9	0,7	-3,9	-2,4	-2,3
SECISBP2	8158295	1,6	1,2												

SLC38A7	8001750	0,8	-3,9	0,7	-4,2	-2,0	-2,0	SOS1	8051670	0,6	1,3	0,6	2,2	1,5	1,7
SLC38A9	8112121	1,1	-2,5	0,9	0,6	0,9	1,2	SOS2	7978932	0,9	-2,5	0,6	0,8	0,7	1,0
SLC39A10	8047174	0,7	-4,8	-2,8	-6,2	-2,0	-5,0	SOS5	7961798	1,0	1,1	0,8	2,2	1,1	2,0
SLC39A13	7938005	1,4	1,5	2,2	1,5	2,2	2,4	SP1	7955787	0,7	-2,4	-2,5	0,6	0,5	0,6
SLC39A14	8145122	1,0	0,3	1,0	-3,3	1,4	1,4	SP100	8048949	0,7	2,5	0,7	1,9	1,4	1,3
SLC39A8	8101952	3,0	10,1	9,9	16,4	26,8	35,5	SP110	8059650	2,1	9,6	1,0	4,7	2,1	1,3
SLC40A1	8057677	-2,0	-17,5	-7,3	-43,5	-38,8	-55,5	SP140	8048898	1,4	4,1	1,0	2,9	1,5	1,4
SLC41A1	7923824	1,0	1,1	1,1	3,5	1,1	1,6	SP140L	8048926	1,1	2,5	0,8	1,4	1,1	0,9
SLC41A2	7965964	2,2	7,0	3,8	11,5	9,2	8,3	SPARC	8115327	0,5	-2,2	-2,0	-4,0	-2,5	-2,4
SLC43A2	8011093	1,4	1,8	1,8	1,9	2,2	2,8	SPAT	8041236	0,9	-2,1	0,6	0,7	0,8	1,2
SLC43A3	7948229	1,3	2,0	2,8	2,1	3,2	2,7	SPATA13	7968035	2,2	3,2	1,7	2,5	1,7	2,4
SLC45A4	8153262	0,5	-4,1	-3,4	-3,2	-4,0	-4,1	SPATA6	7915955	1,5	0,9	1,0	1,0	1,0	2,2
SLC45A4A	8153258	0,6	-2,1	-2,9	0,9	0,5	1,0	SPAT2	7955217	0,7	0,6	0,5	0,7	-2,1	0,7
SLC46A1	8013616	0,8	-4,9	-2,3	-5,4	-4,2	-5,7	SPAT2SL	8047272	1,5	3,2	1,2	3,1	1,6	1,0
SLC46A3	7970793	0,8	-9,7	-2,4	-19,0	-13,2	-8,1	SPCS2	7942553	1,3	1,1	1,3	2,0	1,9	1,5
SLC47A1	8005603	0,7	-3,3	-2,1	-9,9	-3,0	-7,4	SPECC1	8005661	0,9	0,6	0,6	0,7	-2,1	1,1
SLC48A1	7955055	0,7	-3,5	-2,2	-5,3	-3,8	-5,1	SPG21	7989696	1,1	0,6	0,8	-2,4	0,8	0,8
SLC4A7	8085914	0,9	-2,7	0,6	-3,0	0,6	0,9	SPHK1	8010061	1,7	2,8	2,2	5,9	2,1	3,2
SLC5A3	8068361	2,2	3,7	5,2	5,6	4,3	5,2	SPICE1	8089627	0,8	-2,3	-2,2	0,5	0,5	0,7
SLC5A3	8068353	1,9	2,8	3,7	3,8	3,1	3,9	SPIN1	8156263	0,9	-5,2	0,8	-2,2	0,6	0,8
SLC5A6	8051030	1,6	2,1	1,2	2,0	1,8	1,7	SPINT1	7982829	1,0	-3,1	0,8	-2,4	-3,2	0,6
SLC6A12	7960177	0,9	1,4	0,7	2,5	1,0	1,1	SPINT2	8028311	1,2	0,6	0,8	-3,3	0,5	0,5
SLC7A1	7970810	1,8	3,0	4,5	3,0	4,9	2,0	SPIRE1	8022356	0,7	-2,7	0,8	0,5	0,6	-2,3
SLC7A11	8102800	1,8	4,7	6,0	2,8	15,3	11,1	SPN	7994603	1,9	1,6	1,0	0,5	0,5	-3,4
SLC7A5	8003298	3,4	18,4	13,3	27,2	21,9	19,5	SPOP	8016562	0,7	-2,1	-2,4	-2,5	-2,1	0,5
SLC7A6	7996772	1,4	0,5	0,7	-2,1	0,8	0,7	SPOPL	8045514	1,0	-2,1	0,6	0,7	0,7	1,2
SLC7A8	7977933	0,8	-7,6	-2,2	-77,9	-22,0	-26,2	SPP1	8096301	1,2	1,0	0,7	1,8	1,1	2,3
SLC8A1	8051762	1,1	1,4	1,1	1,8	1,1	3,1	SPPL3	7967091	1,0	-2,5	0,7	0,7	0,6	0,7
SLC8A3	7979888	1,0	1,4	1,1	2,4	1,5	2,0	SPRED1	7982564	3,8	1,8	4,7	0,7	1,7	1,4
SLC9A1	7914021	0,8	-2,1	0,7	0,6	0,5	0,7	SPRED2	8052689	5,4	10,5	12,3	8,4	9,6	5,5
SLC9A7	8172280	1,1	0,7	0,7	-2,4	0,6	0,6	SPSB1	7897449	1,4	5,7	2,0	3,2	1,6	1,9
SLC9A8	8063351	1,4	2,0	2,1	1,6	2,2	2,0	SPSB3	7998590	0,9	0,8	0,8	-2,1	0,7	0,8
SLC9A9	8091260	0,9	0,7	1,1	-6,9	-2,5	-2,1	SPTAN1	8158317	0,9	-2,2	0,7	-2,5	-2,2	0,8
SLC02B1	7942569	0,9	-3,9	0,8	-39,8	-4,5	-5,2	SPTLC2	7980438	0,7	1,5	-2,1	1,2	0,9	0,8
SLC03A1	7986214	1,3	2,2	2,2	2,1	2,0	1,9	SPTLC3	8060997	1,1	-3,0	-2,7	-3,8	-4,0	-3,9
SLC04A1	8063923	1,4	5,3	5,6	12,5	12,2	9,7	SQLE	8148280	2,0	1,6	3,1	2,1	2,5	4,1
SLC05A1	8151223	0,8	2,1	1,5	2,6	2,3	4,1	SQRDL	7963512	2,0	3,5	2,7	2,4	3,1	3,2
SLD1	8103975	1,6	3,0	2,1	2,2	3,6	1,5	SQSTM1	8110569	1,2	0,7	1,6	-3,5	1,2	0,8
SLFN11	8014233	0,6	0,7	-2,6	-5,5	0,5	-3,5	SRC	8062377	3,9	8,1	8,5	3,2	9,0	4,7
SLFN12	8014241	0,8	1,3	-2,1	1,2	0,6	0,5	SRF	8119712	1,7	1,0	2,6	1,4	1,5	1,9
SLFN12L	8014257	1,6	6,9	1,0	3,0	1,7	0,8	SRFBP1	8107578	1,2	1,1	1,2	2,2	1,6	0,9
SLFN13	8014248	1,5	2,1	1,2	2,2	1,3	1,0	SRGAP1	7956759	1,3	1,6	1,7	1,2	2,3	1,6
SLFN5	8006531	1,4	2,8	1,3	1,8	2,4	2,1	SRGAP2	7904469	1,3	3,2	0,9	1,9	1,2	1,3
SLP1	8066493	1,0	1,2	1,1	3,1	1,0	1,3	SRGAP2	7909175	1,2	3,6	0,8	1,7	1,3	1,2
SMA5	8112560	0,9	0,5	0,6	-2,5	0,6	0,6	SRGAP2P2	7904482	1,7	4,0	1,0	2,2	1,6	1,5
SMA5	8177669	0,9	-2,1	0,6	-2,2	0,6	0,6	SRGN	7927964	1,5	1,7	1,6	2,1	1,8	1,9
SMA5	8177544	0,9	-2,2	0,6	-2,2	0,6	0,6	SRI	8140828	2,0	2,7	2,5	2,6	4,0	2,5
SMAD3	7984364	1,7	3,0	1,7	0,5	1,1	0,5	SRP5A	7973902	1,7	2,1	1,6	2,5	2,0	2,0
SMAD5	8108238	0,9	-3,3	0,7	-2,3	0,6	0,6	SRPK2	8142036	0,7	-4,1	-2,3	-3,1	-2,3	-2,7
SMARCA1	8174985	1,1	1,2	1,2	2,1	1,2	1,1	SRPRB	8082816	0,8	-2,4	0,7	0,8	0,7	-2,4
SMARCA2	8154059	0,9	-2,1	-2,0	-2,8	-2,8	0,6	SRSF3	8119080	1,9	1,3	2,0	1,4	2,0	1,7
SMARCA5	8097600	1,0	1,7	1,1	2,0	1,3	1,5	SRSF6	8062695	1,6	1,0	1,8	1,2	2,1	1,2
SMARCA5A1	8096463	1,1	-2,1	1,0	1,2	1,2	1,1	SRXN1	8064375	1,3	1,2	2,8	0,6	1,6	0,8
SMARCC2	7963988	0,9	-2,2	0,6	0,5	0,5	0,7	SSB	8026225	1,2	1,3	1,5	2,3	2,1	2,2
SMC2	8156882	0,6	-3,7	0,6	-2,6	-2,7	0,5	SSB1	8046201	1,6	3,2	1,1	2,3	1,5	1,2
SMC3	7930422	0,7	-3,7	0,6	0,7	0,7	0,9	SSBP2	8112940	1,1	-2,5	0,7	-4,0	-3,1	0,5
SMCHD1	8019877	1,0	2,3	0,6	1,1	0,8	0,8	SSBP3	7916403	1,0	-2,7	0,6	-2,8	-2,1	0,8
SMCR7L	8073135	0,9	-2,4	0,9	0,9	0,8	0,8	SSBP4	8027006	0,8	0,6	0,6	-2,4	-2,4	-2,4
SMG7	7908097	1,5	1,9	2,2	3,0	2,2	1,3	SSH2	8013965	0,6	-3,6	-2,0	-4,0	0,7	1,3
SMNDC1	7936307	1,2	0,8	1,2	2,1	1,5	1,6	SSTR2	8009526	1,1	3,1	1,1	7,7	1,1	1,3
SMPD1	7938100	0,9	0,6	0,8	-2,7	0,5	0,6	ST14	7945204	0,8	-4,7	-2,8	-10,4	-7,3	-7,5
SMPD4	8055183	0,7	-2,8	1,0	-2,7	0,6	0,7	ST20	7990815	2,0	2,6	1,8	3,8	3,0	5,0
SMPDL3A	8121794	1,0	0,5	0,9	1,3	1,6	7,4	ST3GAL1	8153021	1,4	1,0	2,2	1,3	2,1	2,4
SMS	8166402	1,1	1,5	2,1	1,4	2,6	2,1	ST3GAL2	8002370	1,2	1,8	2,1	1,5	2,1	2,7
SMURF1	8141241	1,7	2,7	2,2	2,5	2,4	2,0	ST3GAL4	7945110	0,8	1,2	1,2	2,1	1,2	1,1
SMURF2	8017651	2,3	1,9	6,3	1,8	5,8	3,2	ST3GAL5	8053484	1,7	3,3	1,7	1,2	1,1	1,2
SNAI1	8063382	0,8	1,2	2,6	4,0	1,9	2,1	ST3GAL6	8081219	1,3	0,7	1,9	1,1	2,8	2,2
SNAI3	8003344	0,8	0,7	0,7	-3,1	-2,5	0,6	ST5	7946401	0,6	0,6	0,6	0,6	-2,0	-2,1
SNAP29	8071426	0,7	-3,1	0,5	-2,8	0,5	0,5	ST6GAL1	8084717	0,9	-2,1	-2,2	-3,0	0,6	-2,0
SNAPC3	8154394	0,6	-3,3	0,5	0,7	0,7	1,0	ST6GALNAC	8018761	0,9	0,8	0,7	0,8	-2,7	1,2
SNCA	8101762	0,9	0,9	1,1	1,9	1,1	1,0	STBS1A	8113358	1,1	2,1	1,2	2,0	1,9	2,3
SNHG12	7914202	0,5	-4,1	0,6	-2,9	-2,1	-3,8	STBS1A6	7932407	1,1	-2,1	0,8	0,6	-2,2	-2,1
SNIP1	7915008	1,3	2,0	1,5	2,1	1,6	1,4	STAB1	8080344	0,7	-2,1	0,6	-6,8	-2,6	-5,8
SNN	7993259	2,1	3,0	3,5	1,9	2,1	1,2	STAC	8078529	2,3	0,9	2,1	0,6	0,9	0,7
SNORA20	8130578	2,0	1,7	1,7	1,7	1,4	1,6	STAC3	7964400	1,0	0,9	0,9	0,8	0,5	-2,2
SNORA38B	8009380	0,7	0,7	-2,3	1,3	0,6	1,1	STAM	7926385	0,8	-4,0	0,9	0,6	0,9	1,0
SNORA44	7914214	0,7	0,5	0,6	-2,2	0,6	0,6	STAMBPL1	7929012	0,9	2,1	0,9	1,3	1,1	0,9
SNORA57	7940667	0,7	0,8	0,6	0,7	0,7	-2,0	STAP1	8095343	1,2	13,6	0,5	6,9	1,1	-2,0
SNORA61	7914212	0,6	-3,1	0,6	-3,0	-2,1	-4,2	STARD3	8006877	1,0	0,6	1,0	-2,8	0,6	0,6
SNORA62	8078918	0,7	-2,9	0,5	-2,6	-2,5	0,9	STARD3NL	8132376	1,8	1,7	1,9	1,6	2,7	2,3
SNORA67	8004508	1,9	1,2	2,1	1,0	1,8	1,0	STARD4	8113491	1,9	10,7	2,6	2,9	7,1	2,9
SNORA70	8170863	1,8	1,1	2,5	1,3	1,9	1,0	STARD5	7990839	2,6	10,7	3,1	3,2	2,1	1,4
SNORA70E	8025498	1,8	1,1	2,5	1,2	1,7	1,1	STAT1	8057744	1,8	4,9	1,2	3,5	1,9	1,8
SNORA70G	7964830	1,2	1,2	1,3	2,1	1,6	0,9	STAT2	7964119	1,1	3,9	0,9	4,0	1,6	1,3
SNORA9	8139456	4,0	5,5	5,6	6,7	6,0	2,9	STAT3	8015607	1,3	2,3	1,7	3,0	2,4	3,0
SNORD104	8009241	0,7	0,6	0,7	-2,1	0,6	0,5	STAT5A	8057771	2,5	15,6	10,8	22,7	16,5	20,9

SYK	8156321	0.9	-3.6	0.7	-5.2	0.5	-2.1	TMEM106A	8019622	2.0	3.0	2.4	1.5	2.2	1.7
SYNCRIP	8127977	2.1	1.8	2.2	2.6	2.9	2.0	TMEM106A	8007483	2.0	3.0	2.4	1.5	2.2	1.7
SYNJ1	8070010	1.1	0.6	0.8	-2.4	0.8	0.7	TMEM106B	8131539	0.9	-3.0	0.6	-2.3	-2.2	0.8
SYNJ2BP	797916	1.0	0.6	0.7	-2.6	0.6	1.0	TMEM106C	7955063	0.9	0.7	0.7	-2.9	-2.4	0.5
SYNRG	8014581	0.8	-2.2	0.7	0.5	0.7	0.8	TMEM107	8012383	0.8	0.6	0.6	-2.7	-2.0	0.6
SYT1	7957338	0.8	-2.2	0.7	-2.5	-2.3	-2.4	TMEM110	8088054	1.4	3.9	0.9	3.9	0.8	0.8
SYT11	7906061	1.1	0.6	0.8	0.6	-2.4	1.2	TMEM111	8085263	1.3	0.6	1.0	-2.0	1.0	0.9
SYTL3	8123080	0.7	1.4	0.6	5.0	0.6	1.5	TMEM116	7966448	1.3	0.8	0.9	-2.4	0.7	0.7
TACSTD2	7916584	2.1	0.9	0.9	1.5	0.9	0.7	TMEM117	7954985	0.8	-2.5	-2.3	-3.6	-2.6	-2.6
TADA1	7922008	0.7	-2.2	0.6	0.7	0.6	0.7	TMEM120A	8140371	1.2	1.2	1.5	1.9	1.9	2.8
TADA2B	8093993	1.1	-2.5	1.1	0.7	0.9	1.2	TMEM131	8054092	1.0	1.3	0.9	2.3	1.4	2.2
TAF13	7918284	1.9	1.7	2.4	2.3	3.2	2.1	TMEM135	7942964	1.0	0.7	0.8	-2.1	0.7	0.9
TAF1B	8040173	1.2	1.6	1.2	2.3	1.3	1.3	TMEM138	7940473	1.7	0.7	2.6	0.6	1.7	1.0
TAF9B	8137332	1.4	0.9	1.3	-2.5	0.8	0.5	TMEM140	8136388	0.8	2.3	0.6	1.1	0.9	1.0
TAF9B	8176263	1.4	0.9	1.3	-2.5	0.8	0.5	TMEM141	8159379	1.0	0.7	0.7	-2.4	0.6	0.7
TAGAP	8130539	4.1	14.5	2.5	3.0	3.4	2.1	TMEM144	8098041	1.0	-3.5	0.6	-3.6	-3.4	-5.0
TALDO1	7937465	1.0	0.6	1.0	-2.4	0.9	0.9	TMEM147	8027876	1.1	0.6	1.0	-3.6	0.8	0.6
TANK	8045933	2.2	3.9	2.2	3.4	3.4	2.4	TMEM149	8036136	1.0	0.6	0.8	-5.5	-2.9	-3.4
TAOK1	8006030	1.2	1.1	1.1	1.8	2.1	1.8	TMEM14B	8116867	1.2	0.6	0.9	-2.7	0.7	0.8
TAOK3	7966851	1.1	1.5	1.7	2.0	2.2	1.9	TMEM14C	8116859	1.3	0.6	0.9	-3.9	0.6	0.7
TAP1	8125512	2.6	8.5	2.7	6.8	3.4	2.4	TMEM150A	8053449	1.0	0.8	1.0	-2.4	0.7	0.7
TAP1	8178867	2.6	8.5	2.7	6.8	3.4	2.4	TMEM150B	8039453	1.3	2.4	1.3	1.0	1.4	1.4
TAP1	8180061	2.6	8.5	2.7	6.8	3.4	2.4	TMEM154	8103226	1.3	0.7	0.6	0.7	-2.0	0.5
TAP2	8180034	1.9	6.6	2.0	6.5	3.4	2.8	TMEM160	8037853	1.2	0.7	1.1	-2.1	0.6	0.5
TAP2	8125483	1.8	6.2	2.0	6.4	3.2	2.7	TMEM164	8169365	0.9	-2.6	0.6	-3.4	0.5	0.8
TAP2	8178841	1.7	6.0	1.9	6.1	3.1	2.7	TMEM165	8095148	1.4	1.4	1.4	1.7	2.0	2.1
TARP	8139100	1.2	2.4	2.1	9.1	5.6	4.7	TMEM167A	8112967	1.7	1.0	0.8	1.6	2.1	2.0
TARS	8104760	1.3	1.8	1.4	2.1	2.6	2.0	TMEM170A	8002878	1.0	1.2	1.3	2.1	1.7	1.4
TAX1BP3	8011407	1.6	0.9	1.2	-2.2	0.8	1.0	TMEM171	8106170	0.7	3.8	0.7	3.4	1.0	1.1
TBC1D13	8158406	0.9	1.3	1.3	2.2	1.5	2.9	TMEM173	8114536	0.9	0.8	0.6	-2.1	0.7	0.6
TBC1D14	8093976	0.7	-6.0	-2.5	-5.3	0.5	0.5	TMEM176A	8137264	1.1	0.8	1.7	-2.6	0.8	0.6
TBC1D15	7957186	1.0	-2.3	0.6	0.6	0.6	0.7	TMEM180	7930106	1.0	0.6	0.8	0.6	-2.0	0.8
TBC1D2	8162759	-2.2	-10.3	-2.4	-17.9	-3.3	-4.3	TMEM183A	7908867	1.0	-2.1	0.8	0.7	0.8	0.8
TBC1D22B	8119169	1.2	2.6	1.6	5.2	2.8	3.0	TMEM183B	8091452	1.0	-2.1	0.8	0.8	0.8	0.8
TBC1D24	7992639	0.7	0.6	0.6	-2.2	0.6	0.6	TMEM184C	8097704	1.2	-2.1	0.9	0.9	1.0	1.0
TBC1D2B	7990657	1.2	1.2	2.0	0.5	1.1	1.0	TMEM185B	8054862	1.4	1.4	2.0	1.2	2.1	1.3
TBC1D30	7958266	1.2	1.2	1.3	1.3	2.3	1.7	TMEM192	8103524	1.1	-3.1	0.7	0.6	0.6	-2.2
TBC1D5	8085689	0.8	0.6	0.8	-3.5	-2.3	1.7	TMEM2	8161701	0.7	1.0	0.8	0.9	2.1	1.4
TBC1D8	8054308	0.9	0.7	1.0	1.1	1.5	2.3	TMEM205	8034210	1.1	0.9	1.0	-3.4	0.8	0.7
TBC1D9	8102912	0.9	1.1	1.0	2.2	2.3	4.3	TMEM209	8142912	0.9	-2.9	0.8	0.7	0.7	0.8
TBC1D9B	8116348	0.8	-2.3	0.7	-2.2	0.6	0.9	TMEM217	8126086	1.1	12.0	1.1	5.7	2.2	1.5
TBCA	8112767	1.0	1.4	1.3	1.3	2.2	1.9	TMEM218	7952484	0.9	-2.0	0.7	0.6	-2.2	0.6
TBCK	8102171	1.2	-2.3	0.6	-2.2	-2.2	0.7	TMEM223	7948836	0.7	-3.7	-2.4	-3.4	-2.6	-2.2
TBK1	7956795	1.1	1.9	1.6	3.4	2.6	2.7	TMEM229B	7979721	1.5	2.1	1.4	2.2	1.6	1.6
TBL1X	8165911	0.9	0.5	0.7	-3.7	0.5	0.6	TMEM26	7933842	1.1	0.9	1.8	0.7	2.2	2.1
TBL1XR1	8092201	0.9	-3.7	0.7	-2.7	0.9	1.2	TMEM37	8044813	-2.6	-22.6	-4.1	-19.8	-10.1	-10.0
TBPL1	8122182	1.3	1.0	1.0	2.3	1.5	2.0	TMEM39A	8089759	2.1	2.4	2.2	1.9	2.8	1.3
TBXAS1	8136557	1.2	0.7	1.0	-13.9	0.7	-2.2	TMEM41A	8092534	1.1	1.4	0.9	5.9	1.4	3.0
TCEB2	7998852	0.9	0.7	0.8	-2.4	0.7	0.6	TMEM45A	8081288	1.4	1.4	1.4	1.4	1.3	2.1
TCF4	8023415	1.4	2.7	1.9	1.7	2.1	1.9	TMEM45B	7945169	2.5	0.5	1.5	-4.5	-3.4	-2.4
TCF7L2	7930537	1.3	5.6	2.0	4.9	3.5	2.4	TMEM53	7915578	0.8	0.5	0.8	-2.9	-2.2	-2.0
TCN2	8072360	1.0	1.0	1.1	-2.3	0.9	0.5	TMEM54	7914592	1.5	2.2	1.4	1.5	1.5	1.4
TCP11L2	7958262	0.7	-6.5	-3.1	-2.7	-5.6	0.7	TMEM55A	8151756	0.9	-2.6	0.6	-2.4	0.6	0.7
TCF7L46	8079746	1.0	0.7	0.9	-2.1	0.8	0.6	TMEM57	7890718	0.7	0.8	0.7	0.7	0.7	1.1
TCNT3	7935251	1.6	0.8	1.4	0.9	1.9	2.3	TMEM63B	8119928	1.5	3.2	2.2	3.5	2.5	2.5
TDPI	7976160	1.4	-2.8	0.6	0.6	0.6	1.0	TMEM66	8150089	0.9	0.5	0.7	-2.5	-2.2	0.6
TDSD3	7969341	0.8	-2.1	0.7	0.5	0.7	0.6	TMEM69	7901135	1.2	-2.0	1.0	0.9	1.1	1.1
TDSD7	8156688	2.4	9.5	2.1	9.1	3.4	2.6	TMEM70	8146930	0.6	-3.3	-2.1	-2.7	-2.6	-2.2
TDSD8	7920057	1.1	-2.3	0.9	0.5	0.5	0.6	TMEM71	8152976	1.3	-2.4	0.7	-6.5	-3.6	0.5
TECR	8026341	1.0	0.6	0.9	-7.3	0.5	-4.0	TMEM86A	7938812	-2.9	-13.8	-5.2	-15.7	-7.4	-8.0
TECR	8101622	1.0	0.5	0.7	-9.3	-2.3	-6.9	TMEM88	8004691	1.9	4.8	3.2	0.8	2.5	0.8
TES	8135576	1.3	1.1	1.0	1.2	2.2	1.8	TMEM91	8029056	1.2	0.7	0.6	-2.9	0.5	-2.6
TEX10	8162850	1.7	1.1	2.0	1.2	2.3	1.3	TMEM97	8005839	0.9	0.5	0.9	-2.2	0.5	0.6
TEX2	8017582	1.0	-2.3	0.6	-2.4	-2.1	0.5	TMEM9B	7946439	1.0	0.7	0.9	-2.3	0.7	0.6
TEX261	8052925	1.3	0.6	1.1	-2.5	0.7	0.7	TMLHE	8162655	1.0	0.6	0.7	-3.4	0.5	0.6
TEX264	8080121	1.2	0.6	0.8	0.7	-2.1	0.8	TMPRSS13	7951987	0.9	2.3	1.1	2.3	1.1	0.9
TFDP2	8091103	1.1	0.5	0.9	0.9	0.8	2.2	TMTC1	7962058	0.9	2.8	1.2	1.2	1.0	0.9
TFEC	8142452	1.3	2.4	1.3	1.2	1.8	0.8	TMX4	8064939	1.0	0.8	0.7	-2.6	0.6	0.6
TFG	8081316	1.3	1.7	1.3	2.1	1.6	1.7	TNC	8163637	1.7	15.6	7.3	23.6	22.6	16.5
TFPI	8057589	0.7	0.6	0.7	1.1	1.2	5.4	TNF	8118142	86.8	219.4	62.0	53.9	60.1	12.3
TFRC	8093053	0.9	1.4	1.4	2.1	3.1	5.9	TNF	8177982	86.8	219.4	62.0	53.9	60.1	12.3
TGFA	8052872	2.5	2.2	4.1	15.6	4.7	8.4	TNF	8179263	86.8	219.4	62.0	53.9	60.1	12.3
TGFB1	8037005	1.0	0.8	0.8	0.6	0.8	-2.1	TNFAIP1	8005847	2.1	2.3	2.6	2.2	1.9	2.7
TGFB1	8108217	1.2	0.8	1.1	-3.9	0.9	0.8	TNFAIP2	7977046	3.0	5.7	4.9	3.7	4.6	2.8
TGFB1R1	8156826	0.9	-3.3	0.6	0.6	0.6	0.7	TNFAIP3	8122265	27.4	41.3	25.9	34.9	32.7	28.6
TGFB1R2	8078350	0.7	-6.1	-2.6	-17.4	-4.9	-3.3	TNFAIP6	8045688	68.6	518.1	258.3	342.3	540.6	688.3
TGFB1RAP1	8054364	0.7	-4.1	-2.3	-2.9	-2.6	-2.3	TNFAIP8	8107520	2.6	4.8	4.2	3.6	4.4	3.3
TGM2	8066214	1.4	1.2	1.2	3.9	1.4	2.3	TNFRSF10D	8149749	1.4	1.0	1.6	1.2	1.9	2.0
TGS1	8146482	1.4	1.7	1.6	2.9	1.9	1.5	TNFRSF11A	8021528	0.9	-2.8	-2.4	-4.2	-3.5	-3.1
THBD	8065353	2.8	1.3	5.7	1.4	2.0	1.1	TNFRSF11B	8152512	0.8	1.6	1.5	2.3	1.6	2.9
THBS1	7982597	10.4	15.9	123.0	27.0	132.4	139.7	TNFRSF18	7911403	0.8	1.7	1.5	1.3	2.1	1.8
THOC4	8019772	2.1	1.3	2.5	0.9	2.2	1.5	TNFRSF1B	7897877	0.6	0.6	1.6	2.0	2.7	4.7
THOC4	8019273	2.1	1.3	2.4	1.0	2.1	1.6	TNFRSF21	8126839	1.0	-2.5	0.5	1.0	0.6	2.1
THRA	8007008	0.7	-2.7	0.5	-4.2	-3.1	-2.5	TNFRSF4	7911413	1.6	5.0	4.2	1.5	4.1	1.8
THUMPD3	8077513	0.7	-4.5	0.7	0.9	0.9	0.9	TNFRSF9	7912145	2.8	11.8	18.8	27.4	33.7	17.2
TIA1	8052845	1.0	2.1	0.8	2.0	1.2	1.3	TNFSF10	8092169	5.2					

TRAF1	8163825	12.7	36.0	21.9	19.4	19.8	15.9	UHRF1BP1	8118833	1.3	2.2	0.9	1.4	1.3	1.0
TRAF3	7977018	1.7	1.7	3.1	1.2	2.9	1.4	UNC5C	8101788	1.0	2.1	1.0	2.1	0.9	1.0
TRAF3IP2	8128939	1.4	2.4	1.6	13.5	5.3	10.7	UPP1	8132725	1.7	4.2	2.7	2.2	3.0	3.1
TRAF3IP3	7909455	1.1	2.2	2.2	1.9	3.9	2.2	UPRT	8168438	1.8	1.9	1.9	1.5	2.9	1.7
TRAF4	7958258	1.6	4.3	1.3	3.1	1.9	1.9	UQCR10	8072274	1.2	3.7	0.9	-2.6	0.7	0.7
TRAK2	8058221	0.8	-2.1	0.9	0.8	0.9	0.0	UQCCR2	7993872	1.2	0.6	1.0	-2.0	0.7	0.7
TRAM2	8127051	1.0	-2.6	0.6	-4.1	-4.5	-2.8	UROS	7936937	1.2	-2.4	0.6	-3.0	0.5	-2.1
TRANK1	8086125	0.8	4.1	-2.2	1.8	0.8	1.0	USF2	8027805	0.7	-2.1	0.8	-2.8	0.6	0.8
TRAPP2CL	7997852	1.0	0.6	0.9	-2.4	0.8	0.7	USO1	8095773	1.1	1.6	1.2	2.5	1.8	1.6
TRAPP4C	7944375	1.5	1.1	2.0	2.0	1.8	2.1	USP11	8167125	1.1	2.1	1.7	3.6	1.4	2.2
TRAPP5C	8025296	1.0	0.6	0.9	-2.3	0.6	0.8	USP12	7970696	3.6	5.3	8.3	5.7	6.6	4.1
TRAPP9C	8153175	1.0	0.8	1.0	-2.0	0.8	0.7	USP15	7956670	1.1	2.1	0.9	2.1	1.3	1.1
TREM1	8126303	2.9	21.5	4.9	27.0	18.5	34.5	USP18	8074606	10.6	73.3	2.7	50.4	8.2	3.0
TREM2	8126279	0.8	-2.7	-2.4	-10.0	-3.7	-16.0	USP18	8071155	13.6	84.3	5.2	49.5	10.1	4.3
TREM4	8119427	1.2	1.4	2.0	1.2	2.2	1.9	USP20	8158568	0.8	-2.1	0.6	0.6	0.5	0.7
TRERF1	8126428	-2.2	-6.4	-5.4	-6.2	-6.7	-6.3	USP21	7906671	0.6	-2.8	-2.7	0.5	-2.5	0.6
TRERF1	8126402	0.6	-3.5	-3.1	-3.6	-3.8	-3.6	USP22	8013486	0.9	-2.7	0.8	0.7	0.6	0.7
TRGV3	8139121	2.8	2.6	3.0	1.4	2.8	2.2	USP4	8087380	0.8	-2.4	0.7	-2.5	0.6	0.8
TRIB1	8148304	1.5	1.6	2.6	1.6	3.7	2.5	USP42	8131387	1.3	3.6	2.0	1.9	1.9	1.6
TRIM14	8162729	0.9	1.4	0.6	0.8	0.6	-2.0	USP53	8097098	1.4	2.5	1.4	1.8	3.4	2.2
TRIM21	7949662	1.6	3.3	1.2	2.6	1.7	1.2	USP6NL	7932023	1.9	6.9	3.3	4.5	2.9	2.4
TRIM22	7938035	1.5	4.6	0.8	3.5	1.3	0.8	USP8	7993663	0.8	-2.3	0.6	0.6	0.8	0.8
TRIM24	8136473	1.0	0.7	1.4	-2.2	1.1	0.9	UST	8122660	1.6	2.2	5.1	0.8	2.9	0.7
TRIM25	8016847	1.3	3.4	0.9	1.4	0.8	-2.3	UTP15	8106193	1.4	0.8	1.1	2.0	1.5	1.1
TRIM26	8179638	2.0	2.7	1.7	1.5	1.2	1.1	UTP6	8014081	1.4	1.6	1.3	2.7	2.0	1.3
TRIM26	8124726	2.1	2.7	1.7	1.5	1.3	1.2	UVRAG	7942626	0.8	0.6	0.5	-2.0	-2.5	0.5
TRIM36	8113577	2.3	3.9	3.6	2.4	5.7	2.2	UXS1	8054395	1.4	2.5	2.7	2.5	3.8	3.2
TRIM37	8017106	0.8	-2.2	0.7	0.6	0.8	0.7	UXT	8172358	1.4	1.1	1.5	1.5	1.5	2.4
TRIM4	8141363	0.7	-2.0	0.8	0.8	0.9	0.8	VAC14	8002421	0.9	1.0	1.3	1.3	2.0	2.1
TRIM47	8018494	0.9	0.6	1.3	-2.1	-2.3	0.5	VAMP4	7922309	0.8	-2.4	0.9	-2.7	1.0	1.4
TRIM5	7946089	2.5	8.2	1.0	3.3	1.6	0.9	VAMP8	8043197	1.0	0.5	0.7	-3.7	-2.5	-3.3
TRIM56	8135064	1.5	3.0	1.3	2.2	1.6	1.2	VAPA	8020129	1.0	-2.5	0.8	0.9	0.9	1.2
TRIM8	7930139	0.9	-2.1	0.7	-2.6	0.7	0.9	VASP	8029710	2.0	1.9	3.4	1.3	3.4	2.3
TRIP10	8025058	2.2	5.1	6.8	10.0	5.8	5.1	VAT1	8015759	0.8	-2.3	0.7	-5.4	-2.2	-3.5
TRIP4	7984190	1.6	2.9	1.4	2.6	1.9	1.6	VAT1L	7997336	1.3	1.4	1.2	1.8	1.5	2.5
TRMT112	7949075	1.1	0.6	0.9	-2.1	0.7	0.8	VAV1	8025076	1.3	1.2	4.1	4.7	5.4	5.2
TRMT2B	8174005	0.6	-2.3	0.5	-2.3	0.6	0.5	VAV2	8164967	0.9	1.2	1.1	2.2	1.3	1.2
TROVE2	7908421	1.3	1.6	1.2	2.1	1.6	1.5	VGAN	8106744	1.1	3.1	1.7	4.2	3.6	14.8
TRPS1	8152453	0.7	0.5	-2.6	-2.5	0.7	0.8	VCL	7928444	1.5	0.6	1.0	-3.5	-2.8	-2.2
TRUB1	7930703	0.8	-2.1	0.7	0.5	0.7	0.6	VDAC1	8114145	1.3	1.0	1.4	1.5	1.9	2.2
TSC22D3	8174361	-2.1	0.6	-2.1	-2.3	-2.8	0.8	VDR	7962689	1.7	1.3	1.7	1.7	2.8	4.4
TSFM	7956639	1.9	1.2	1.7	2.9	1.9	3.8	VEGFA	8119898	4.9	6.8	8.9	21.1	19.7	35.8
TSH21	8021768	0.6	-2.3	0.6	0.6	-2.3	0.6	VEGFB	7940904	0.8	-2.2	0.9	-9.6	-2.9	-3.0
TSN	8044965	1.0	-2.0	0.8	1.0	0.8	0.9	VLDLR	8154100	1.1	1.1	1.3	1.3	1.3	2.8
TSpan13	8131600	1.6	7.0	2.5	4.9	3.4	3.1	VNN1	8129618	0.6	0.6	0.9	1.0	4.9	6.3
TSpan15	7928046	1.3	-2.6	1.3	-6.3	-3.0	-2.2	VNN2	8129637	0.8	0.7	1.1	1.5	8.2	13.1
TSpan33	8136067	1.2	1.1	1.7	3.6	2.0	3.1	VOPP1	7904969	1.6	1.7	2.3	1.2	1.7	1.5
TSpan4	7937518	0.7	0.5	0.7	-7.6	-2.3	-4.1	VOPP1	8139712	1.6	1.8	2.1	1.2	1.7	1.5
TSpan9	7953166	1.0	1.4	1.1	2.1	1.1	1.1	VPS11	7944382	0.8	-2.8	0.7	0.5	0.7	0.8
TSP0	8073612	1.1	0.7	1.0	-2.0	0.7	0.7	VPS26B	7945275	0.9	-3.9	-2.7	-3.1	-3.3	0.5
TSPYL1	8129099	0.9	-2.3	0.7	0.7	0.6	0.8	VPS33A	7967240	1.1	-2.0	0.8	1.0	1.0	1.4
TST	8075857	1.1	-2.5	0.6	-2.2	-3.3	-2.2	VPS37C	7948504	2.3	2.1	2.8	1.9	2.8	3.0
TTC3	8068522	0.8	-2.4	-2.1	-5.8	-2.1	-2.6	VPS39	7967840	0.8	-2.3	0.6	0.5	-2.0	0.7
TTCS5	8147964	1.2	1.6	0.9	2.1	1.3	1.7	VPS5	7905099	1.0	-2.9	0.6	-4.0	-2.7	-2.1
TTCS9B	8160213	1.3	4.0	2.3	5.2	3.1	2.5	VPS2	8180123	0.7	0.7	0.9	-2.2	0.6	0.8
TTC4	7901662	1.3	1.0	1.3	2.0	1.6	1.2	VPS2	8125649	1.0	0.6	0.9	-2.2	0.6	0.8
TTC7A	8041826	1.1	-2.4	0.6	-3.9	-3.8	-2.7	VPS2	8178917	1.0	0.6	0.9	-2.2	0.6	0.7
TTC7B	7980720	1.1	2.2	1.4	1.0	1.7	1.6	VPS8	8084541	0.9	-3.1	0.6	-3.1	-2.0	0.9
TTC8	7976128	0.7	-2.8	-2.4	-3.1	-3.1	-2.3	VRK2	8042086	1.2	1.7	1.4	2.2	2.2	2.2
TTC9C	7940679	0.9	-2.0	0.8	0.9	0.8	1.6	VSIG7	7986561	1.3	2.0	1.3	1.0	1.3	1.2
TTF2	7904314	1.4	2.2	1.3	1.1	1.1	0.7	VWASA	7944803	0.8	-2.6	0.6	-6.1	-3.2	-3.6
TLL4	8048411	0.9	-2.9	0.9	-2.7	1.4	0.7	WARS	7981290	1.5	11.3	2.2	16.5	5.4	5.3
TTYH2	8009568	1.4	3.2	2.7	3.3	3.3	1.7	WAS	8167334	1.0	-2.4	0.7	-5.3	-2.3	0.6
TTYH3	8131179	1.0	0.6	1.2	-3.3	0.6	-2.1	WASF2	7914094	0.6	0.5	0.5	-2.6	-2.0	0.5
TUBA1A	7963054	1.9	1.3	1.9	2.4	1.3	3.2	WBP1	8043377	0.9	-2.2	0.7	-2.3	0.6	0.9
TUBA1C	7955179	1.4	1.1	2.1	1.5	1.9	1.7	WBP1	8053599	0.9	-2.1	0.7	-2.2	0.6	0.8
TUBB2A	8116649	1.4	3.8	2.7	2.5	2.1	2.1	WBP4	7968746	1.6	2.1	2.0	2.1	2.3	1.8
TUBB2A	8116653	1.4	3.8	2.7	2.5	2.1	2.1	WDFY1	8059361	1.0	1.9	1.4	2.7	1.3	1.2
TUBB2C	8159642	1.5	1.3	2.2	1.6	1.8	1.5	WDFY4	7927425	1.0	0.8	0.7	-2.9	0.6	0.6
TUBB6	8020220	1.9	3.7	3.9	3.6	3.8	2.9	WDFY4	7827405	1.0	0.8	0.7	-2.6	0.5	0.6
TUBGCP3	7972840	1.0	-2.0	0.7	0.9	0.6	0.7	WDR26	7924582	0.9	-2.0	0.6	0.6	0.8	0.8
TUBGCP4	7983206	0.9	-2.5	0.6	0.5	0.5	0.6	WDR33	8055060	0.8	-2.1	1.0	0.7	1.0	1.0
TULP3	7953135	1.1	0.8	1.3	1.6	1.7	2.0	WDR36	8107282	1.0	-3.3	0.7	0.5	0.6	-2.4
TULP4	8123044	0.9	0.7	0.7	-2.1	0.7	0.7	WDR45L	8019523	1.4	1.1	1.9	2.2	2.3	1.9
TWF1	8013906	1.9	1.4	1.8	2.7	2.2	2.3	WDR6	8079693	1.2	-2.4	1.0	0.6	0.7	0.7
TWF1	7962441	1.7	1.3	1.7	2.2	1.9	2.1	WDR63	7902660	1.0	1.5	1.1	4.7	1.7	1.6
TWF2	8087860	1.1	-2.0	1.0	-2.0	0.7	1.1	WDR7	8021312	0.8	0.7	0.7	-3.4	-2.0	-2.3
TXLNB	8129924	0.8	0.7	1.1	-2.1	1.3	2.0	WDR81	8003639	0.8	-2.7	0.6	-2.2	0.5	-2.1
TXN	8163185	2.1	5.4	3.6	9.7	6.0	7.9	WDR82	8087874	0.8	-2.6	0.8	-0.7	0.9	0.8
TXN2	8075778	1.2	0.6	0.9	-2.5	0.6	0.7	WDR91	8143070	0.7	-4.8	-2.5	-6.7	-4.6	-3.7
TXNDC12	7916120	1.1	0.6	0.9	-2.3	0.8	0.8	WDTC1	7899289	0.9	-2.6	0.7	-6.9	-3.3	-2.1
TXNDC9	8054217	1.4	1.1	1.5	1.8	2.1	2.0	WIPF1	8056860	0.8	0.7	0.7	-2.1	0.7	0.8
TXNIP	7904726	0.8	-2.5	0.6	-2.7	0.5	0.6	WIP1	8017850	1.0	-2.5	0.9	0.7	0.6	1.8
TXNRD1	7958174	0.9	1.0	1.3	-2.1	1.7	0.9	WIP2	8131303	0.9	-2.2	0.7	0.6	0.7	0.8
TYK2	8033996	1.0	0.7	0.8	-2.1	0.7	0.8	WLS	7916862	0.8	0.5	0.8	-8.0	-2.5	-4.7
TYMP	8077103	1.3	2.4	1.9	1.9	2.0	2.3	WNT5A	8088180	1.1	4.5	4.9	9.4	7.7	16.5
UZAF1L4	8036143	0.8	-2.0	0.7	-3.3	0.5	-2.2	WRB5	8068612	1.2	0.5	1.2	1.0</		

ZC3H12C	7943715	7.4	14.0	8.8	4.0	8.8	2.1	---	7933976	1.3	2.5	1.5	1.9	2.0	1.7
ZC3H4	8037856	1.4	2.0	1.5	1.3	1.3	1.4	---	7896736	0.6	0.9	0.9	-2.4	0.6	0.5
ZC3H6	8044450	0.7	-2.4	-2.6	0.5	0.5	0.7	---	8023933	0.6	0.9	0.9	-2.4	0.6	0.5
ZC3H7B	8073397	1.6	3.1	1.9	1.8	2.1	1.5	---	8109424	1.5	2.1	1.1	4.0	1.2	0.9
ZC3H4V1	8143279	1.4	2.3	0.8	1.0	1.0	0.6	---	7899422	0.5	0.7	0.7	-2.1	0.6	0.7
ZCRB1	7962367	1.1	-2.1	1.0	0.6	0.7	1.1	---	8036557	1.0	0.7	0.6	-3.0	0.6	0.9
ZDHH4C12	8164452	1.0	-2.1	0.8	0.6	-2.0	0.9	---	7934566	1.1	2.1	1.3	0.9	1.0	0.9
ZDHH4C13	7938816	1.3	1.4	1.3	2.4	1.5	2.5	---	8172270	1.6	2.7	1.3	1.3	2.6	1.0
ZDHH4C14	8122982	2.4	3.3	1.2	2.1	1.9	1.5	---	8028117	1.2	-2.5	-2.3	0.9	0.9	0.5
ZDHH4C17	7957277	1.2	1.8	1.1	2.2	1.8	1.7	---	8028002	0.7	1.1	-2.2	0.7	0.9	0.8
ZDHH4C24	7949645	1.0	0.6	0.7	-2.1	0.7	0.7	---	8125857	0.7	0.9	0.7	-2.0	1.2	0.7
ZDHH4C3	8086505	0.9	0.6	0.8	-2.2	0.6	0.9	---	8027437	1.6	2.7	2.0	1.3	1.8	1.4
ZDHH4C7	8003180	0.9	-3.4	-2.2	-4.9	-2.4	-2.4	---	8020453	2.1	1.0	1.8	1.7	1.2	1.3
ZDHH4C9	8175023	1.3	1.2	1.1	3.5	1.4	2.9	---	7948139	-2.0	-2.4	-2.1	0.6	0.5	-2.2
ZER1	8164464	1.1	0.9	1.0	1.3	1.3	2.4	---	8040362	1.0	-2.4	1.1	-2.8	0.7	0.8
ZFAND1	8151561	1.8	-2.2	1.2	0.7	0.9	1.4	---	7922523	1.4	1.6	1.1	2.1	1.3	1.1
ZFAND2A	8137709	1.7	2.0	2.9	1.8	2.5	1.9	---	7985039	-2.6	-2.3	-2.0	0.6	-2.3	-2.7
ZFAND2B	8048478	1.1	0.7	1.0	-2.0	0.8	0.9	---	8000945	0.6	0.7	0.6	-2.3	-2.3	-2.2
ZFH3	8002692	0.8	0.5	0.6	-2.1	0.7	0.6	---	8054295	1.1	1.0	1.1	2.2	1.1	1.1
ZFP106	7987892	1.0	0.6	0.7	-2.6	1.0	0.9	---	8056728	1.0	0.5	0.7	-2.1	-2.0	0.7
ZFP161	8022140	0.7	-3.3	-2.0	-2.2	0.5	0.7	---	8052622	1.6	1.9	2.8	2.6	3.5	3.0
ZFP361	8028652	1.3	3.8	1.9	1.2	1.4	1.3	---	8086148	0.9	0.6	0.7	-2.6	0.5	0.7
ZFP361L	7979813	1.4	-2.0	0.8	-2.7	0.8	1.1	---	8090802	0.8	0.9	1.1	-2.1	0.9	0.8
ZFP361L2	8051814	-2.2	-6.5	-5.8	-16.5	-12.4	-13.7	---	8101210	1.6	2.8	1.8	5.9	3.3	4.0
ZFX	8166500	2.0	3.1	3.5	2.7	2.0	2.0	---	8123800	0.9	0.5	0.6	-3.1	-2.8	-2.1
ZFYVE16	8106602	1.2	0.8	1.5	-2.1	2.3	1.2	---	8161373	1.3	1.2	1.2	1.2	1.6	2.2
ZFYVE26	7979757	0.7	0.8	-2.3	0.7	-2.3	0.7	---	8161554	1.3	1.2	1.2	1.2	1.6	2.2
ZG16B	7992732	0.8	0.6	1.0	-2.7	-2.2	0.6	---	7986601	2.7	2.4	3.1	2.1	2.9	3.0
ZHX2	8148149	1.4	3.5	5.9	3.0	4.6	3.3	---	7986739	2.7	2.4	3.1	2.1	2.9	3.0
ZMAT3	8092230	0.7	-2.9	0.6	-3.0	0.5	-2.0	---	7986246	1.2	1.0	1.3	-2.4	0.8	0.8
ZMIZ2	8132617	1.3	1.8	2.0	1.1	1.9	1.2	---	7995438	1.0	1.2	1.1	1.0	2.1	1.0
ZMYM2	7967900	0.8	-2.9	0.6	-2.0	0.5	0.7	---	7918911	1.5	3.3	1.1	0.9	1.9	1.1
ZMYM3	8173457	0.6	-3.7	-3.2	-4.4	-3.4	0.5	---	7907010	1.0	1.0	2.4	1.4	1.2	0.9
ZMYM6	7914764	0.7	-2.1	0.6	0.6	0.6	0.6	---	7907859	1.5	1.1	1.4	2.3	2.1	2.2
ZMYND8	8066786	0.8	-2.1	0.8	0.7	1.0	1.6	---	7901357	0.9	1.0	0.8	-2.2	0.7	0.9
ZNF117	8139832	0.9	0.6	0.7	-2.0	0.7	0.7	---	7917528	3.6	13.6	3.8	7.7	3.7	2.6
ZNF121	8033789	0.9	-2.5	1.0	0.9	1.0	0.7	---	7971858	0.9	0.5	0.7	-2.6	-2.0	0.6
ZNF134	8031784	0.9	-2.5	1.2	0.7	1.0	0.8	---	7984008	1.0	0.7	0.8	-2.1	0.8	0.6
ZNF140	7960150	1.7	1.8	3.0	2.4	2.3	2.3	---	8005233	1.0	1.3	2.0	1.2	1.3	1.2
ZNF143	7938331	1.1	1.1	1.5	1.5	2.0	1.5	---	8046279	1.2	1.0	1.3	2.6	1.5	1.3
ZNF146	8028186	1.4	-2.3	1.1	1.8	1.5	1.2	---	8058458	0.7	0.5	0.6	-2.2	0.6	0.5
ZNF160	8039034	0.9	0.8	0.9	2.0	1.5	1.5	---	8042107	1.1	0.7	0.8	-2.2	0.7	0.8
ZNF185	8170602	1.0	1.0	0.9	-2.3	0.7	-2.2	---	8043743	1.2	2.9	2.3	1.9	2.2	2.6
ZNF187	8117667	0.7	-2.4	0.5	0.5	0.7	0.7	---	8065325	1.0	-2.4	0.7	-2.5	0.6	0.8
ZNF189	8156935	2.5	3.2	2.8	1.7	3.3	2.1	---	8071804	0.7	1.2	0.9	-2.2	0.7	0.6
ZNF192	8117646	0.7	-2.1	0.8	0.6	1.0	0.9	---	8072122	0.8	-2.1	0.6	-2.3	-2.0	0.6
ZNF217	8067113	1.0	0.7	0.6	-2.4	0.6	0.7	---	8085058	0.7	-2.3	-2.4	-2.2	-2.2	0.7
ZNF234	8029392	0.8	-3.2	0.5	-2.0	0.6	0.5	---	8088478	0.7	0.8	0.7	-2.5	0.6	0.7
ZNF253	8027241	0.6	-2.9	0.5	0.7	0.5	0.6	---	8097655	1.0	0.6	0.9	-4.5	0.6	0.6
ZNF259	7951838	1.7	1.1	2.0	2.2	2.2	1.6	---	8095341	1.4	2.6	1.6	3.3	1.2	1.2
ZNF260	8036324	0.8	-2.2	0.9	1.0	0.7	0.8	---	8115664	1.8	2.6	2.1	1.3	1.6	1.4
ZNF267	7955258	2.6	3.1	2.5	2.5	2.7	1.9	---	8110427	3.1	0.7	0.8	-2.2	0.7	0.9
ZNF277	8135497	1.1	2.9	1.6	2.0	2.4	1.6	---	8107094	1.5	2.3	1.6	4.0	2.4	2.7
ZNF290D	7982559	0.6	-3.6	-2.4	0.5	0.5	0.5	---	8130403	1.0	0.7	1.1	-2.4	0.7	0.7
ZNF319	8126542	0.8	-2.5	0.7	1.7	0.7	1.1	---	8121212	0.7	0.7	0.6	0.7	-2.6	0.8
ZNF326	7902891	1.2	1.3	1.5	1.4	2.4	1.5	---	8131867	1.3	-2.1	0.7	0.6	-2.0	0.6
ZNF330	8097543	1.0	-4.0	0.7	0.6	0.8	0.5	---	8162531	2.1	11.4	7.4	18.6	14.5	21.1
ZNF331	8030999	0.5	-5.1	-2.1	-4.1	-2.7	-2.5	---	8174193	-2.5	0.6	-2.5	1.0	0.6	-2.4
ZNF354A	8116247	1.0	-2.1	0.8	0.9	0.9	0.8	---	8169233	1.0	1.0	0.8	1.1	0.7	-2.0
ZNF358	8025179	0.6	0.5	0.5	-3.0	-2.2	0.5	---	8168674	1.1	-2.2	0.5	-2.7	-2.1	0.6
ZNF362	7899870	0.8	-2.1	0.5	-3.6	-2.6	0.7	---	8151709	-2.6	1.3	0.6	0.5	0.7	0.5
ZNF366	8112584	1.3	2.4	1.7	2.8	1.3	1.4	---	8165646	0.6	0.6	0.8	-2.3	0.6	0.7
ZNF37A	7927071	-2.0	0.6	0.6	0.5	0.6	0.7	---	7900336	1.6	2.2	1.4	1.5	1.9	1.8
ZNF382	8028194	0.8	-2.2	1.0	0.7	0.8	0.7	---	8180396	3.6	34.9	1.4	36.8	4.3	2.8
ZNF383	8028227	0.6	-2.2	0.5	0.6	0.6	0.6	---	8180397	3.9	47.0	1.1	49.6	4.7	2.6
ZNF384	7960666	0.7	-2.1	0.8	0.6	0.8	1.0	---	8180337	1.5	1.5	2.1	1.3	1.7	1.3
ZNF385A	7963774	0.7	-3.8	-2.1	-6.6	-5.9	-2.4	---	8180405	1.3	1.6	1.6	2.0	2.7	1.4
ZNF417	8039695	0.8	0.6	0.8	-2.4	1.1	0.9	---	8180376	1.3	2.0	8.3	1.5	12.8	1.6
ZNF445	8086482	0.6	-2.1	0.6	-2.5	0.5	0.7	---	8180259	0.6	0.8	1.3	-2.5	1.1	0.8
ZNF470	8031669	1.3	0.9	1.3	2.8	2.1	2.6	---	8180374	1.7	3.5	1.3	3.0	1.3	1.8
ZNF480	8030928	0.9	-2.4	-2.2	0.6	0.7	0.8	---	8130403	0.8	0.7	-2.1	0.9	0.7	0.8
ZNF486	8027260	0.8	-2.1	0.6	-2.1	0.6	0.6	---	8180375	1.4	-2.1	0.9	0.9	1.1	1.4
ZNF487P	7927189	0.6	-2.3	0.6	1.3	-2.0	0.8	---	7919131	2.6	3.7	1.0	1.7	2.1	1.6
ZNF490	8034408	-2.3	-3.4	-2.1	-2.0	-2.0	0.6	---	8060736	1.5	1.2	1.3	2.0	2.2	2.1
ZNF525	8030980	0.7	-3.1	0.5	0.9	0.6	0.6	---	7967636	1.5	2.7	1.4	1.6	2.3	1.1
ZNF552	8031825	2.1	3.5	4.0	2.1	3.0	2.7	---	8105144	1.6	1.6	1.8	2.4	2.7	1.6
ZNF561	8033795	0.9	0.6	0.8	-2.0	0.9	0.8	---	8101699	1.1	2.7	0.8	1.2	1.4	1.8
ZNF564	8034401	0.5	-2.3	0.7	1.0	0.8	0.8	---	8010184	1.4	1.4	2.3	2.0	1.9	1.4
ZNF570	8028248	0.6	-2.3	0.6	0.6	0.6	0.8	---	8069448	-2.2	0.7	0.6	0.6	-2.4	-2.2
ZNF589	8079598	0.6	-4.6	-3.4	-4.7	-4.2	-4.4	---	8176253	-2.4	-3.3	-2.5	-8.1	-3.6	-3.2
ZNF597	7998978	1.1	-2.1	1.1	0.7	0.8	0.8	---	8144569	0.7	0.6	0.5	0.5	-2.1	-2.1
ZNF609	7984203	1.3	-2.3	0.7	0.7	0.6	0.8	---	8047401	2.1	3.1	2.3	1.8	2.6	2.2
ZNF616	8038954	0.6	-3.0	-2.4	-2.7	-2.1	-2.2	---	8171024	-2.3	-3.5	-2.0	-4.3	-2.4	-3.3
ZNF618	8157362	1.0	3.0	0.8	1.2	0.8	0.6	---	8105935	1.2	-3.0	0.5	-5.2	-2.4	-4.2
ZNF641	7962794	0.8	-3.0	0.5	-3.4	-2.5	-2.1	---	8105989	1.1	-3.2	-2.0	-5.6	-2.5	-4.4
ZNF652	8016546	0.7	-6.1	-3.8	-4.6	-3.4	-2.5	---	8112476	1.3	-2.5	0.6	-4.1	-2.2	-3.6
ZNF654	8081069	0.8	1.1	1.0	3.1	2.4	2.1	---	8112519	1.1	2.1	-2.0	-4.9	-2.4	-3.3
ZNF675	8035847	0.7	-2.3	0.8	0.7	1.0	0.9	---	8105987	1.1	-3.5	-2.1	-5.4	-2.5	-3.4
ZNF69	8025968	0.5	0.6	-2.3	1.0										

7996569	1.5	2.5	2.0	1.3	2.0	1.2	8103873	0.8	0.8	0.7	-2.0	0.8	0.9
7949744	1.1	1.0	1.0	2.3	1.1	1.1	8118319	0.9	0.7	1.0	-2.3	0.6	0.6
8180404	0.9	0.7	0.9	-2.1	0.7	0.7	8128093	1.4	13.0	1.2	1.4	1.6	1.4
8176865	1.1	-2.2	0.5	0.6	0.7	1.3	8145795	0.8	0.6	0.6	-32.0	0.6	0.8
8177460	1.1	-2.2	0.5	0.6	0.7	1.3	8164696	2.3	2.0	2.3	5.2	2.2	1.7
8180385	2.3	2.9	2.0	1.9	1.5	2.0	7919155	-2.3	0.8	-2.4	-2.3	-2.1	-3.5
8180336	0.6	-3.4	-2.4	-2.7	-2.2	0.6	7919405	-2.3	0.8	-2.4	-2.3	-2.1	-3.5
8180372	0.9	0.8	0.7	0.8	-2.7	1.2	7904572	1.6	4.0	1.7	0.8	1.3	0.9
8180339	0.8	0.5	0.7	-2.0	0.5	0.8	7919556	1.0	2.2	1.1	0.8	1.0	0.7
8180366	0.7	7.9	2.6	43.1	15.6	10.7	7919560	1.0	2.2	1.3	0.7	1.0	0.7
8180367	0.7	7.9	2.6	43.1	15.6	10.7	7924551	1.3	1.3	1.2	1.5	1.9	2.2
8180316	0.8	1.7	1.4	2.0	1.3	2.0	7925523	1.3	1.3	1.2	1.5	1.9	2.2
8180317	0.8	1.7	1.4	2.0	1.2	2.0	8132690	1.3	1.3	1.2	1.5	1.9	2.2
8180306	0.9	-2.3	1.0	0.8	1.0	0.9	7911331	1.1	1.5	1.1	1.2	2.8	2.2
8180371	1.2	0.9	1.1	1.8	1.4	2.5	7924463	1.1	1.5	1.1	1.2	2.8	2.2
8180349	1.4	1.7	1.7	1.8	1.7	2.0	7927089	1.1	1.5	1.1	1.2	2.8	2.2
8180323	3.4	5.7	9.0	6.6	7.5	4.4	7945347	1.1	1.5	1.1	1.2	2.8	2.2
8180217	0.8	-2.6	0.7	-2.2	0.7	0.6	7998115	1.1	1.5	1.1	1.2	2.8	2.2
8139118	3.0	6.6	4.6	3.7	4.6	3.4	8031997	1.1	1.5	1.1	1.2	2.8	2.2
7996260	0.5	-2.6	-3.2	2.8	0.6	-2.4	8102530	1.1	1.5	1.1	1.2	2.8	2.2
8116651	1.2	3.6	2.5	2.3	2.2	2.3	8137668	1.1	1.5	1.1	1.2	2.8	2.2
7919854	-2.0	0.5	-5.3	-3.3	-2.4	0.6	7942912	0.6	0.9	-2.4	-2.1	0.6	-3.2
7921031	-3.5	-2.4	-2.4	-3.1	0.6	0.6	7962893	0.7	0.8	0.6	0.8	0.7	-2.3
7921621	1.4	0.8	0.6	0.8	1.2	-2.3	8132830	2.3	2.2	2.1	5.8	2.9	2.6
7923501	1.6	1.7	1.7	1.7	3.0	1.8	7989309	1.0	2.2	1.0	1.0	1.0	0.8
7910636	1.1	1.5	1.2	2.4	1.1	1.4	8002270	0.8	-2.3	1.1	-3.0	0.7	0.8
7899955	0.6	0.6	0.5	1.0	-2.4	-3.3	8013985	-2.2	0.7	0.7	-2.3	0.7	0.9
7916016	1.5	1.0	1.3	2.0	1.1	1.1	8008644	0.7	0.8	1.1	-3.4	0.6	0.9
7917514	1.6	3.3	1.1	1.6	1.6	1.3	8022506	-3.3	-2.9	-4.3	-2.0	-3.4	-5.3
7926059	1.4	3.6	2.1	2.1	3.3	1.3	8045846	1.3	1.1	0.6	1.0	2.2	0.9
7928306	-2.1	0.6	0.8	0.6	1.0	1.0	8042306	2.0	1.4	1.4	1.1	2.5	1.3
7934297	1.3	1.6	1.2	1.3	2.3	1.3	8061073	2.1	3.0	1.0	1.8	1.3	1.0
7928489	1.5	3.0	1.3	0.5	3.8	1.3	8064216	0.5	-2.0	0.6	0.7	0.6	0.7
7935142	-2.4	-2.6	0.6	0.7	-2.0	-2.3	8089928	1.4	1.2	1.6	0.8	2.4	2.1
7947423	0.9	0.9	0.6	2.3	1.2	-2.2	8083030	1.5	5.7	2.0	1.3	1.2	3.6
7947989	1.2	2.7	1.4	1.8	2.0	1.4	8091188	1.4	4.1	0.9	1.4	1.6	1.1
7946426	-2.4	0.7	-3.2	-3.5	0.7	-2.3	8102787	0.6	0.6	-2.2	0.5	-2.1	0.5
7965478	0.7	0.6	0.6	0.9	1.2	-2.5	8114363	0.5	0.6	0.6	-4.7	0.6	0.7
7965675	2.5	0.9	2.0	1.1	1.5	0.9	8109610	1.1	2.2	1.1	1.3	1.2	1.1
7971163	1.8	3.6	2.3	1.9	2.9	1.8	8104607	0.7	1.1	0.8	2.4	2.6	1.8
7974052	-2.5	-2.2	-2.0	0.6	-2.0	-2.2	8110668	1.0	1.4	0.9	0.9	2.1	1.5
7974255	0.7	0.8	0.6	0.7	0.7	-2.1	8105434	1.1	1.4	-3.3	-2.4	0.6	0.9
7979696	0.9	0.9	2.4	1.0	0.9	1.0	8116952	0.6	-3.5	-2.9	-2.4	-2.4	-3.5
7986442	-2.3	-2.9	-3.0	-2.1	-2.7	-2.3	8117018	0.7	2.0	0.6	0.9	1.2	1.2
7995477	0.8	0.5	0.6	-2.4	0.7	0.6	8135929	1.2	1.4	1.2	1.7	2.1	2.4
7997319	1.2	1.0	0.9	2.1	1.0	1.0	8152900	1.6	2.5	1.2	0.9	2.9	1.6
8007990	1.0	1.0	0.8	1.1	2.3	1.9	8144947	1.2	1.4	1.2	2.1	1.6	2.0
8015737	1.2	2.4	1.1	0.7	1.7	1.0	8146328	2.4	2.2	1.3	2.4	2.9	2.5
8012218	0.5	0.7	-3.4	1.1	0.6	0.5	8163000	4.5	5.6	1.6	3.8	3.2	2.6
8018791	1.1	2.1	1.4	1.1	1.0	1.3	8169634	0.5	0.7	-2.1	0.5	-2.2	-2.4
8023462	0.5	-2.5	-2.2	0.6	-2.5	0.5	7925444	1.7	3.9	1.0	1.7	1.6	1.1
8054870	0.6	-5.1	-3.2	0.6	-2.3	-2.1	7925446	0.6	0.7	0.7	-2.0	0.6	0.7
8045088	1.8	4.8	1.5	2.4	1.0	-2.1	7942820	1.1	1.5	1.0	2.4	1.7	1.5
8055135	1.4	1.0	0.9	-2.3	0.9	0.7	7967658	1.5	4.6	1.1	1.7	1.8	1.0
8056792	-2.6	0.6	-2.9	1.0	0.6	0.5	7973867	0.5	0.8	0.7	0.6	-2.2	0.6
8046518	-2.6	0.5	-3.1	-2.4	-3.5	-2.5	7983922	1.2	5.0	1.0	4.2	2.4	2.7
8047441	-2.2	-2.8	-2.6	1.2	0.5	-2.2	7983924	1.1	2.7	1.0	2.7	1.5	1.5
8049237	-3.5	-3.5	-4.5	-4.2	-5.3	-2.9	7989218	1.7	5.2	1.5	5.2	2.6	2.7
8051028	-2.6	-2.6	0.6	1.1	-3.3	-2.7	8003066	1.0	2.1	1.2	1.5	1.0	1.0
8066382	0.6	0.6	0.5	0.9	-2.0	0.6	8013529	1.1	1.1	1.1	2.5	1.0	1.2
8068221	-2.2	0.5	0.6	0.6	0.5	0.6	8058664	-2.2	-2.1	-2.6	0.9	-2.4	-2.3
8063408	1.7	2.1	0.7	3.8	2.0	1.5	8069285	2.0	5.5	1.3	5.4	4.2	3.4
8083445	1.8	4.8	1.5	2.4	1.0	-2.1	8110530	0.8	1.0	1.0	2.6	0.8	1.0
8102936	0.9	1.2	1.1	1.0	2.5	2.8	8133012	1.1	2.4	1.0	2.0	1.8	1.5
8098244	1.4	1.6	1.4	2.2	1.3	1.3	8139816	0.6	0.8	0.6	-2.1	0.5	0.6
8095159	0.9	1.1	0.7	1.0	2.1	1.2	8147742	1.1	2.4	1.0	1.9	1.2	1.2
8101061	1.2	2.0	-2.1	1.1	1.2	0.7	8147746	1.0	2.8	0.8	1.9	1.5	1.3
8104461	1.0	1.0	1.8	-2.5	1.0	0.7	8145776	0.5	0.5	0.5	0.5	-2.0	0.6
8111199	1.2	1.1	1.1	1.1	2.2	1.3	8150580	-2.1	-2.5	-2.2	0.7	-2.3	-2.9
8121332	-2.3	0.6	-2.3	-2.2	0.5	-2.4	8151209	1.1	1.5	1.3	2.8	0.9	1.4
8122198	1.3	2.4	2.7	1.0	2.6	2.2	8154207	1.5	4.3	1.2	1.7	2.4	0.6
8122703	1.0	-3.5	-3.3	0.5	0.9	-2.8	8154209	1.3	2.9	1.0	0.7	1.3	0.9
8124086	-3.9	-3.9	-3.8	-3.8	-3.4	-3.6	8154211	1.3	3.5	1.0	1.8	1.9	0.8
8136078	1.0	1.5	1.7	2.9	2.1	2.2	8154225	1.7	4.4	1.1	2.2	1.7	1.3
8136159	-2.2	0.6	0.5	-3.5	-2.7	0.7	8154227	5.8	16.5	2.5	3.0	6.3	1.9
8136471	0.8	-2.7	0.6	-3.0	0.9	1.4	7904713	1.3	1.4	1.3	-2.4	1.6	1.1
8148156	0.6	0.5	0.8	0.8	0.7	-2.0	7919129	1.3	1.4	1.3	-2.4	1.6	1.1
8146647	1.5	2.2	1.8	1.6	1.6	1.1	7966068	-2.4	-2.0	0.5	0.9	-2.4	0.6
8146896	1.0	1.0	0.9	2.2	1.2	1.2	7967620	0.7	0.7	0.7	-2.1	0.6	0.6
8154763	2.3	1.2	1.1	1.4	0.8	1.5	7980700	0.8	0.6	0.7	-2.9	0.7	1.1
8174226	0.7	-2.8	0.7	1.6	0.5	0.8	7983951	0.7	-2.1	0.6	-5.7	0.7	0.7
8169156	0.8	0.5	-2.9	0.6	0.6	0.6	7995350	1.4	1.9	1.3	2.8	1.3	1.1
8174684	1.0	1.6	1.2	1.2	1.7	2.1	8039090	0.6	0.6	0.6	0.6	-2.0	0.6
8167772	-2.8	-2.1	0.5	0.6	0.5	0.6	8058340	-2.5	-4.2	-3.9	-5.7	-3.9	-2.5
7918923	-2.0	-2.9	0.6	-2.5	-3.6	0.6	8081878	1.9	1.5	2.2	2.3	1.2	1.6
7906948	1.2	1.0	1.3	4.5	1.8	1.5	8091241	0.7	-2.2	0.6	-2.5	0.7	1.0
7907655	-2.1	1.0	0.5	1.0	0.9	1.1	8094026	0.7	0.7	0.6	-2.3	0.6	0.6
7922752	0.5	0.8	-2.1	-2.8	-2.2	0.9	8130009	0.5	0.6	0.7	-2.8	0.6	0.6
7923698	1.5	2.8	1.0	1.2	0.7	1.1	8135275	1.3	4.7	1.3	0.9	2.3	1.6
7910377	4.1	2.8	1.4	2.2	1.6	1.9	8150689	0.7	0.7	-2.5	-2.1	-2.0	0.5
7899909	2.1	2.3	1.7	1.7	1.9	2.0	8164060	0.7	0.6	0.5	-2.5	-2.1	0.6
7951131	0.6	1.1	-2.6	1.5	0.6	0.9	8154729	0.6	0.6	0.6	0.5	-2.1	0.7
7961418	0.6	0.9	-2.0	0.8	0.6	0.9	8166663	0.7	0.5	0.6	-4.1	0.6	0.8
7984620	-2.0	0.7	0.6	1.0	0.7	0.9	7919749	1.9	9.3	1.4	2.4	4.4	3.8
7994265	1.1	1.6	2.1	1.7	1.3	1.2	7932860	1.1	1.9	1.5	2.2	1.3	1.5
7999362	-2.1	0.7	1.2	-2.2	-2.0	0.9	7932862	1.5	1.9	1.3	2.5	1.5	1.1
8022279	-2.3	-2.5	-2.1	-2.2	-2.6	-2.5	7933008	1.0	2.1	0.8	0.9	1.8	0.8
8020139	1.8	2.0	1.5	1.0	1.8	2.2	7951701	0.8	-2.0	1.0	0.7	0.6	1.4
8050350	1.2	1.1	0.8	2.7									

CURRICULUM VITAE

PERSÖNLICHE DATEN

Name: Stein
Vorname: Karina
Geburtstag: 01.09.1982
Geburtsort: Neubrandenburg
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

PROMOTION

seit 01/2008 Promotion am Forschungszentrum Borstel,
Leibniz-Zentrum für Medizin und Biowissenschaften
02/2010 – 10/2010 Unterbrechung der Promotion für Elternzeit

STUDIUM

10/2002 – 12/2007 Biologie-Studium an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Diplomarbeit am Forschungszentrum Borstel,
Leibniz-Zentrum für Medizin und Biowissenschaften
Titel: Einfluss von Mustererkennungsrezeptoren auf die
Regulation der Immunantwort dendritischer Zellen nach
Stimulation mit Kuhstallbakterien
Abschluss: Diplom-Biologe

SCHULBILDUNG

08/1997 – 07/2002 John Brinckmann Gymnasium in Güstrow
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
08/1993 – 07/1997 Gymnasium Reutershagen in Rostock
09/1989 – 07/1993 Grundschule in Neubrandenburg

PUBLIKATIONEN

- S. Hagner, H. Harb, M. Zhao, K. Stein, O. Holst, M. J. Ege, M. Mayer, J. Matthes, J. Bauer, E. von Mutius, H. Renz, H. Heine, P. Pfefferle, H. Garn
Farm-derived Gram positive bacterium *Staphylococcus sciuri* W620 abolishes asthma phenotype in HDM and OVA treated mice, *Allergy* (in Revision, 2012)
- K. Fischer, K. Stein, A. J. Ulmer, B. Lindner, H. Heine & O. Holst
Cytokine-inducing lipoteichoic acids of the allergy-protective bacterium *Lactococcus lactis* G121 do not activate via Toll-like receptor 2, *Glycobiology* **21**, 1588-1595 (2011)
- J. Debarry, A. Hanuszkiewicz, K. Stein, O. Holst & H. Heine
The allergy-protective properties of *Acinetobacter lwoffii* F78 are imparted by its lipopolysaccharide, *Allergy* **65**, 690-697 (2010)

AUSGEWÄHLTE ABSTRACTS MIT POSTERPRÄSENTATIONEN

- K. Stein, S. Brand, K. Fischer, O. Holst, M. Kauth & H. Heine
Endosomal acidification is essential for the allergy-protective effect of the farm-derived bacterium *Lactococcus lactis* G121 *in vitro* and *in vivo*, European Congress of Immunology, Glasgow (2012)
- K. Stein, K. Fischer, H. Harb, J. Bauer, O. Holst & H. Heine
Differential mechanisms of allergy-protection by the Gram-positive cowshed bacteria *Lactococcus lactis* G121 and *Staphylococcus sciuri* W620, Joint Annual Meeting of German Society for Immunology (DGfI) and the Italian Society for Immunology, Clinical Immunology and Allergology (SIICA), Riccione (2011)
- K. Stein, A. Hanuszkiewicz, O. Holst, R. Ferstl, C. Kirschning & H. Heine
Intracellular receptors are required for the activation of dendritic cells by the allergy-protective cowshed bacterium *Lactococcus lactis* G121, European Congress of German Society for Immunology (DGfI), Berlin (2009)
- K. Stein, A. Hanuszkiewicz, O. Holst, R. Ferstl, C. Kirschning, A. Mahiny, M. Lohoff & H. Heine
The molecular mechanisms of *Lactococcus lactis* G121-driven prevention of allergic immune responses, Joint Annual Meeting of Immunology of the Austrian and German Societies (ÖGAI, DGfI), Wien (2008)
- K. Stein, J. Debarry, A. Hanuszkiewicz, O. Holst, J. Mages, R. Lang & H. Heine
Microarray analysis of human dendritic cells stimulated with four different bacterial strains with focus on allergy-protecting mechanisms, 38. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immunologie (DGfI), Heidelberg (2007)
- K. Stein, J. Debarry, A. Hanuszkiewicz, O. Holst, J. Mages, R. Lang & H. Heine
Untersuchung allergieprotektiver Mechanismen durch Microarray-Analysen von humanen dendritischen Zellen nach Stimulation mit unterschiedlichen Bakterien, Deutsche Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie (DGAKI), Lübeck (2007)

AUSGEWÄHLTE VORTRÄGE

11/2008

Arbeitstagung der Norddeutschen Immunologen, Borstel

Intracellular recognition of the cowshed bacteria *Lactococcus lactis* G121 is required to induce an allergy preventive immune response

DANKSAGUNG

Ein besonderes Wort des Dankes möchte ich an meinen Doktorvater **PD Dr. Holger Heine** richten, der mir die Möglichkeit zu Anfertigung dieser Arbeit gegeben hat. Unter seiner Betreuung hatte ich immer einen kompetenten Ansprechpartner mit offener Tür. Des Weiteren hat er gezeigt, dass die Vereinbarkeit von Beruf und Familie durch Toleranz und Verständnis möglich ist, auch wenn es für ihn nicht immer einfach war.

Des Weiteren möchte ich unserer technischen Assistentin **Ina Goroncy** danken, die wie ein unermüdliches, fleißiges Bienchen durch unser Labor summt. Ohne ihre stetige und unaufgeforderte Unterstützung, wäre ich wohl mehr als einmal völlig verzweifelt gewesen. Ebenfalls ein großer Dank geht an **Suhad Al-Badri** und **Katrin Sprenger**, für ihre wertvolle Hilfe in so mancher Situation.

In vielerlei Hinsicht möchte ich mich auch bei **Dr. Thomas Scholzen** bedanken. Nicht nur für seine exzellenten Unterweisungen und Hilfestellungen am LSRII und SP5, sowie für die Durchsicht meiner Arbeit, sondern auch für die zuverlässige Begleitung und die vielfältigen Diskussionsthemen während der Mittagspausen.

Ein allgemeines, riesiges Dankeschön an alle ehemaligen und aktuellen Mitglieder der **Forschungsgruppe „Angeborenen Immunität“** (eingeschlossen Hobby-Mitglieder, die eigentlich schon in Rente sind und Gelegenheits-Mitglieder der Uni Kiel), für die Schaffung und Erhaltung eines einzigartigen Arbeitsklimas, welches den Alltag im Labor nicht zum Laboralltag werden lässt.

Danken möchte ich auch unseren Kooperationspartnern **Prof. Dr. Otto Holst**, **Prof. Dr. Guntram Grassl** und **Prof. Dr. Carsten Kirschning**, für die Bereitstellung verschiedener Arbeitsmaterialien, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie ein großes Dankeschön aussprechen. Ohne ihre bedingungslose Unterstützung in allen Lebenslagen und gelegentlichen Schubsern in die richtige Richtung wäre ich nicht dort, wo ich jetzt stehe. Vor allem **André** und meiner kleinen Tochter **Maya** ein riesiges Dankeschön dafür, dass sie einem auch in anstrengenden Tagen in kürzester Zeit ein Lächeln auf das Gesicht zaubern.

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit unter Leitung von Herrn PD Dr. Holger Heine ohne sonstige Hilfe selbständig verfasst und keine weiteren als die darin angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Des Weiteren versichere ich, dass die Arbeit unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft entstanden ist und weder in gleicher, noch in ähnlicher Form an anderer Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegen hat. Auszüge dieser Arbeit wurden bereits zur Veröffentlichung eingereicht, bzw. sind bereits veröffentlicht.

Kiel, November 2012

Karina Stein