

Aus dem CharitéCentrum 17
Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin mit
Perinatalzentrum und Humangenetik
Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik
Direktor: Prof. Dr. med. Stefan Mundlos

Habilitationsschrift

**Identifizierung neuer Krankheitsgene als Ursache für Skelettfehlbildungen
und syndromale geistige Behinderung**

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Humangenetik

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Nadja Ehmke

Eingereicht: Mai 2020

Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter/in: Herr Prof. Dr. Ingo Kurth, Aachen
2. Gutachter/in: Frau Prof. Dr. Gudrun Rappold, Heidelberg

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	5
1.1.	Genetische Ursachen angeborener Fehlbildungen des Skelettsystems.....	6
1.1.1.	Skelettdysplasien mit Hyperphalangismus als charakteristisches Merkmal	6
1.1.2.	Kraniosynostose-Syndrome.....	7
1.2.	Genetische Ursachen syndromaler geistiger Behinderung	8
1.2.1.	Der Notch-Signalweg	9
1.2.2.	Beta-Aktin	10
1.3.	Fragestellung	10
2.	Originalarbeiten	11
2.1.	Homozygote und compound-heterozygote Mutationen in <i>TGDS</i> verursachen Catel-Manzke-Syndrom	11
2.2.	Biallelische Varianten in <i>KYNU</i> verursachen ein multisystemisches Syndrom mit Handhyperphalangismus	20
2.3.	<i>De-novo</i> -Mutationen in <i>SLC25A24</i> verursachen ein Kraniosynostose-Syndrom mit Hypertrichose, progeroider Erscheinung und mitochondrialer Dysfunktion	32
2.4.	Haploinsuffizienz des Notch-Liganden <i>DLL1</i> verursacht variable Störungen der neurologischen Entwicklung.....	44
2.5.	Varianten in Exon 5 und 6 von <i>ACTB</i> verursachen syndromale Thrombozytopenie	54
3.	Diskussion	72
3.1.	Aufdeckung neuer molekularer Mechanismen als Ursache von Skelettdysplasien	72
3.2.	Aufdeckung neuer molekularer Mechanismen als Ursache syndromaler geistiger Behinderung.....	75
3.3.	Strategien zur Auswertung von NGS-Daten und Ausblick	77
4.	Zusammenfassung	80
5.	Referenzen	82
6.	Danksagung.....	89
7.	Erklärung	91

Abkürzungen

ATP	Adenosintriphosphat
BMP	„Bone Morphogenic Protein“, knochenmorphogenetisches Protein
Ca ²	Kalzium
CGH	„Comparative Genomic Hybridisation“, komparative Genomhybridisierung
CsA	Cyclosporin A
CyPD	Cyclophilin D
DDD	„Deciphering Developmental Disorders“, Initiative zur Aufklärung der Ursache genetischer Erkrankungen in Großbritannien
DLL1	“Delta-like 1“, Notch-Ligand
DBQD1	Desbuquois-Dysplasie 1
ENCODE	“Encyclopedia Of DNA Elements“, Enzyklopädie der DNA-Elemente
FGF	Fibroblastenwachstumsfaktor
FGFR	Fibroblastenwachstumsfaktor-Rezeptor
GAG	Glykosaminoglykan
gPAPP	Golgi-resident phosphoadenosine phosphate phosphatase; Phosphoadenosin-Phosphatphosphatase im Golgi-Apparat
GTP	Guanosintriphosphat
HPO	“Human Phenotype Ontology“, Ontologie für menschliche Phänotypen
IHH	Indian Hedgehog
kDa	Kilodalton
KO	Knockout
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
Mg	Magnesium
MAVE	“Multiplex Assay of Variant Effect“, Hochdurchsatztest für die Überprüfung von Varianteneffekten
MIM	„Mendelian Inheritance in Man“, Identifikationszusatz in OMIM-Verzeichnis
mPTP	“mitochondrial permeability transition pore“, mitochondriale Pore mit Durchlässigkeit bis 1,5 kDa
NAD ⁺	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NGS	„Next Generation Sequencing“, Hochdurchsatz-Sequenzierung

OMIM	„Online Mendelian Inheritance in Man“, Verzeichnis genetischer Erkrankungen
P ⁱ	Posphat
PTHrP	Parathyroidhormon-assoziertes Peptid
RAS	„Rat sarcoma proto-ononcogene“, GTPase
RHO	Ras Homolog
RNA	Ribonukleinsäure
SCaMC1	short Ca ²⁺ -binding mitochondrial carrier 1, kurzer kalziumbindender mitochondrialer Transporter
SWI/SNF	„SWItch/Sucrose Non-Fermentable“, Chromatin-umbauender Komplex
TGFβ	Transforming Growth Factor β, transformierender Wachstumsfaktor β
TPBS	Temtamy-Brachydaktylie-Syndrom
UDP	Uridinphosphat
UXS1	UDP-Glucuronat-Decarboxylase 1
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Es existieren über 10.000 seltene Erkrankungen, von denen bis zu 10% der Bevölkerung betroffen sind und die deshalb eine große Bedeutung für unser Gesundheitssystem haben. Ein wesentlicher Anteil dieser Erkrankungen ist monogenetisch bedingt [Baird et al. 1988; Giampietro et al. 2006; Haendel et al. 2020]. Die Stellung einer Diagnose hat nicht nur für die genetische Beratung, sondern auch für die klinische Betreuung der Patienten einen hohen Stellenwert. Häufig ist eine Diagnosestellung nur durch Identifizierung der ursächlichen genetischen Veränderung möglich, wobei die molekulare Grundlage von etwa der Hälfte aller bekannten monogenen Erkrankungen bisher unbekannt ist [Chong et al. 2015]. Zudem existiert eine unbekannte Anzahl von Krankheitsentitäten, die mangels phänotypischer Wiedererkennbarkeit bisher nicht definiert und abgegrenzt werden konnten. In den letzten zehn Jahren konnte die Anzahl an bekannten Krankheitsgenen durch die Verfügbarkeit der Hochdurchsatzsequenzierung (next generation sequencing, NGS) deutlich erhöht werden [Shendure 2011]. 36% aller krankheitsassoziierten Gene wurden durch NGS, insbesondere durch Exomsequenzierung, identifiziert [Bamshad et al. 2019]. Seit des Einzugs der Hochdurchsatzsequenzierung in den humangenetischen Forschungs- und Klinikalltag hat sich außerdem die Methode der Genotyp-gesteuerten Syndrombeschreibung etabliert: Eine große Anzahl an neuen Krankheitsentitäten wurden in den letzten Jahren definiert, welche sich zum Teil durch nur unspezifische und variable Krankheitssymptome auszeichnen oder diskrete charakteristische Merkmale aufweisen, die erst durch den Vergleich einer größeren Kohorte betroffener Personen erkennbar waren; dies wurde durch die NGS-basierte Identifizierung neuer Krankheitsgene ermöglicht [Bamshad et al. 2019]. Insbesondere bei Patienten mit schwerer geistiger Behinderung und/oder angeborenen Fehlbildungen besteht im Rahmen einer Exomsequenzierung eine vergleichsweise hohe Wahrscheinlichkeit eine ursächliche genetische Veränderung zu finden, wobei Veränderungen in neuen Krankheitsgenen einen relevanten Anteil der Ursachen darstellen [Deciphering Developmental Disorders 2015; Farwell et al. 2015; Vissers et al. 2016].

Die Aufklärung der molekularen Ursache erblich bedingter Erkrankungen verbessert nicht nur die klinische Versorgung der betreffenden Familien, sondern erweitert auch unser Verständnis grundlegender biologischer Mechanismen. **Im Fokus dieser Arbeit liegt die Aufklärung der molekularen Ursache verschiedener Formen von Skelettfehlbildungssyndromen und syndromaler geistiger Behinderung mittels moderner NGS Technologien.**

1.1. Genetische Ursachen angeborener Fehlbildungen des Skelettsystems

Monogene, angeborene Fehlbildungen des Skelettsystems werden durch genetische Defekte verursacht, die das Wachstum, die Musterbildung und/oder die Mineralisierung des Skelettsystems beeinträchtigen. Abgesehen von den Knochen des Kraniums, von Teilen der Klavikula und des Os pubis, welche durch desmale Ossifikation gebildet werden, entsteht das Skelettsystem durch enchondrale Ossifikation. Hierbei differenzieren die Zellen des Mesenchyms zunächst zu Chondrozyten, welche proliferieren und weiter ausdifferenzieren. Aus Blutgefäßen wandern Mesenchymzellen ein, die sich zu Osteblasten differenzieren und die Mineralisierung des Knorpelgewebes einleiten. Dies findet an den Enden der Röhrenknochen, den Epiphysenfugen, statt [Geister and Camper 2015; Kronenberg 2003]. Die genannten Prozesse werden durch unterschiedliche, in Wechselwirkung stehende Signalwege gesteuert, an denen unter anderem Indian Hedgehog (IHH), Parathyroidhormon-assoziiertes Peptid (PTHrP), Fibroblastenwachstumsfaktoren (FGF), Transforming Growth Factor β (TGF β), Bone Morphogenic Proteine (BMPs) sowie die Notch- und Wnt-Signalwege beteiligt sind. Darüber hinaus existiert ein komplexes Netzwerk von anderen Proteinen und langen nicht-kodierenden RNAs, die im Knorpelgewebe exprimiert sind und die Skelettentwicklung steuern [Li et al. 2017]. Die Aufklärung der molekularen Mechanismen von Skeletterkrankungen hat wesentlich zum Verständnis dieser Signalwege beigetragen und war die Grundlage für die Entwicklung spezifischer Therapieansätze [Marzin and Cormier-Daire 2020]. Es ist davon auszugehen, dass noch weitere Proteine an relevanten Schritten bzw. an einer Modulation der beschriebenen Prozesse beteiligt sind, und pathogene Varianten in den jeweiligen Genen angeborene Fehlbildungen verursachen [Bamshad et al. 2019; Freeze et al. 2014]. Im Folgenden sollen die für diese Arbeit relevanten Skeletterkrankungen erläutert werden: Skelettdysplasien mit Hyperphalangismus und Kraniosynostose-Syndrome.

1.1.1. Skelettdysplasien mit Hyperphalangismus als charakteristisches Merkmal

Angeborene Skelettfehlbildungen werden anhand ihrer klinischen Auffälligkeiten und molekularen Ursache aktuell in 42 Gruppen unterteilt. Bislang wurden über 450 verschiedene Krankheitsbilder definiert [Mortier et al. 2019]. In mehreren der Gruppen existieren Krankheitsbilder, die als gemeinsames Merkmal akzessorische Ossifikationszentren der Fingerknochen aufweisen, was auch als Hyperphalangismus bezeichnet wird. Diese zusätzlichen Knochen befinden sich in den Metakarpophalangealgelenken und führen zu einer Deviation und Verkürzung der betroffenen Finger.

Am häufigsten ist der Zeigefinger betroffen. Ein Hyperphalangismus verschiedener Finger wird beim Temtamy-Brachydaktylie-Syndrom (TPBS, MIM 605282), der Chondrodysplasie mit Gelenkluxationen, gPAPP-Typ (gPAPP-Mangel, MIM 614078) und der Desbuquois-Dysplasie 1 (DBQD1, MIM 251450) beobachtet. Gemeinsame Merkmale dieser Krankheitsbilder sind darüber hinaus Kleinwuchs, Gaumenspalte und Mikroretrognathie. Beim TPBS bestehen zudem eine präaxiale Brachydaktylie, eine Hörstörung und Lernprobleme, beim gPAPP-Mangel angeborene Luxationen und bei der DBQD1 angeborene Luxationen, geistige Behinderung und angeborene Herzfehler. Alle drei Erkrankungen beruhen auf Defekten in Genen, die für die Bildung von Proteoglykanen relevant sind, einem wichtigen Bestandteil der extrazellulären Matrix im Knorpelgewebe [Huber et al. 2009; Li et al. 2010; Vissers et al. 2011]. Beim Catel-Manzke-Syndrom (MIM 302380) handelt es sich aus klinischer Sicht um eine Erkrankung aus dem oben beschriebenen Spektrum der Proteoglykanstoffwechselstörungen mit milderer Manifestation [Ehmke et al. 2014; Schoner et al. 2017]. In dieser Arbeit wird die Identifizierung zweier molekularer Ursachen von Catel-Manzke-Syndrom beschrieben: Pathogene Varianten in *TGDS* und *KYNU*. Pathogene Varianten in *KYNU* waren zuvor bereits mit einer anderen Skelettdysplasie in Verbindung gebracht worden. Mit *TGDS* haben wir ein neues, für die Skelett- und Herzentwicklung sowie vermutlich den Proteoglykanstoffwechsel relevantes Gen identifiziert, dessen weitere Erforschung unser Verständnis der Knochenentwicklung verbessern kann.

1.1.2. Kraniosynostose-Syndrome

Eine andere Gruppe von Skelettdysplasien umfasst die Kraniosynostose-Syndrome, welche durch eine vorzeitige Verknöcherung der Schädelknochen charakterisiert sind. Diese führt zu einer Verformung des Gehirn- und Gesichtsschädels. Im Falle der Koronarnahtsynostose, welche am häufigsten beobachtet wird, weisen die Patienten eine Brachyzephalie mit Mittelgesichtshypoplasie und flachen Orbitae auf. Komplikationen werden durch eine Hirndruckerhöhung und Verformung der Gesichtsknochen verursacht, welche zu einer Entwicklungsverzögerung und Beeinträchtigung des Hörens, Sehens und der Zahnung führen können. Häufig ist eine operative Korrektur der Synostose erforderlich. Zusätzlich können andere Auffälligkeiten wie Extremitätenfehlbildungen, faziale Dysmorphien, Hirnfehlbildungen und Epilepsie bestehen, welche durch den zugrundeliegenden Gendefekt verursacht werden [Flaherty et al. 2016; Twigg and Wilkie 2015]. Die Aufdeckung der molekularen Ursache genetisch bedingter Kraniosynostosen hat in den letzten Jahrzehnten maßgeblich zum besseren Verständnis der Entwicklung der Schädelknochen beigetragen. Inzwischen wurden über

20 Gene identifiziert, in denen bestimmte Varianten mit einem deutlich erhöhten Risiko für Kraniosynostose assoziiert sind [Twigg and Wilkie 2015].

Die Knochen des Schädels entstehen durch desmale Ossifikation. Hierbei differenzieren mesenchymale Zellen direkt zu Osteblasten, welche das Bindegewebe in Knochengewebe umwandeln. Das Wachstum des Schädelknochens beruht auf einem komplizierten Gleichgewicht von Proliferation und Differenzierung von osteogenen Stammzellen in den Schädelnähten. Eine mangelnde Proliferation, eine Zunahme der Apoptoserate oder eine vorzeitige osteogene Differenzierung können zu einem frühzeitigen Verschluss der Nähte führen. Zentrale Regulatoren dieser Prozesse sind die Fibroblastenwachstumsfaktoren-Rezeptoren (FGFR), der Transkriptionsregulator TWIST1 und dessen Partner TCF12. Pathogene Varianten in den entsprechenden Genen gehören zu den häufigsten Ursachen von Kraniosynostose-Syndromen [Twigg and Wilkie 2015].

In dieser Arbeit wird die Identifizierung der molekularen Ursache eines sehr seltenen Kraniosynostose-Syndroms, des Gorlin-Chaudhry-Moss-Syndroms, beschrieben. Bei der nachgewiesenen Genveränderung handelt sich um einen rekurrenten Aminosäureaustausch in einem mitochondrialen calciumabhängigen ATP/MgPⁱ-Transporter. Hiermit haben wir einen neuen Mechanismus in der Pathophysiologie der Kraniosynostosen aufgedeckt. Unsere Ergebnisse weisen auf eine zentrale Bedeutung der mitochondrialen Funktion für das regelrechte Wachstum der Schädelknochen und den Verschluss der Schädelnähte hin.

Da die an der Skelettentwicklung beteiligten Proteine und Signalwege häufig auch in anderen Entwicklungsprozessen eine wichtige Rolle spielen, können Skelettfehlbildungssyndrome mit zusätzlichen Merkmalen assoziiert sein, wie am Beispiel des Fontaine-Progeroid-Syndroms deutlich wird. Daneben gibt es viele Syndrome, deren Hauptmerkmale außerhalb des Skelettsystems liegen, die jedoch zusätzlich mit Skelettfehlbildungen assoziiert sein können. Ein Beispiel stellen verschiedene Formen der syndromalen geistigen Behinderung dar.

1.2. Genetische Ursachen syndromaler geistiger Behinderung

Geistige Behinderung ist ein häufiges Merkmal monogenetischer Erkrankungen. In einer repräsentativen Studie an über 1.133 Kinder mit schweren angeborenen Entwicklungsstörungen hatten fast 90% eine geistige Behinderung [Deciphering Developmental Disorders 2015]. Bislang wurden bereits über 700 Gene identifiziert, die mit monogenetischen Formen nicht-syndromaler und syndromaler geistiger Behinderung assoziiert sind [Vissers et al. 2016]. Syndromale Formen der

geistigen Behinderung sind durch das Vorliegen charakteristischer Fehlbildungen, Wachstumsstörungen wie Kleinwuchs, Dystrophie, Mikrozephalie, Epilepsie und/oder fazialer Dysmorphien gekennzeichnet, die ein wiedererkennbares Muster aufweisen können. Häufig gehören auch skelettale Fehlbildungen dazu. Die häufigste Ursache für schwere geistige Behinderung in nicht-konsanguinen Populationen sind neben chromosomalen Veränderungen *De-novo*-Varianten [Deciphering Developmental Disorders 2015; Gilissen et al. 2014]. Die molekularen Ursachen sind komplex und häufig ist der Pathomechanismus unbekannt oder nur unvollständig erforscht. Die Identifizierung neuer Krankheitsgene hat jedoch auch hier zur Aufdeckung neuer Signalwege und Proteinfunktionen beigetragen. Die monogener geistiger Behinderung zugrundeliegenden Gene kodieren für Proteine, die unter anderem für zelluläre Prozesse wie Neurogenese, neuronale Migration, Synapsenfunktion und Regulation von Transkription und Translation relevant sind [van Bokhoven 2011]. Ausgewählte Signalwege, die bei der Entstehung unterschiedlicher Formen der syndromalen geistigen Behinderung eine Rolle spielen, sind der RAS-MAPK-Signalweg, der RHO-GTPase-Signalweg und der SWI/SNF-Chromatin-umbauende-Komplex („chromatin remodelling complex“) [Ba et al. 2013; Santen et al. 2012; Schubbert et al. 2007; Zenker 2011]. Im Folgenden sollen weitere Proteine und Signalwege erläutert werden, deren Bedeutung in der Entstehung von syndromaler geistiger Behinderung im Fokus dieser Arbeit sind: Beta-Aktin und der Notch-Signalweg.

1.2.1. Der Notch-Signalweg

Der evolutionär konservierte Notch-Signalweg spielt eine essentielle Rolle in vielen verschiedenen Entwicklungs-, homöostatischen und Krankheitsprozessen. Durch Zell-Zell-Kontakt vermittelte Notch-Rezeptor-Ligand-Interaktionen wird die intrazelluläre Notch-Domäne freigesetzt, die in den Zellkern gelangt und die Transkription von Zielgenen stimuliert. Die Liganden-gesteuerte Aktivierung des Notch-Signalweges wird durch Modifizierung des Notch-Rezeptors verstärkt oder gehemmt; diese wird katalysiert durch die β 3-N-Acetylglucosaminosyltransferasen Lunatic Fringe, Manic Fringe und Radical Fringe, [Kakuda and Haltiwanger 2017]. Der Notch-Signalweg ist durch Rückkopplungsschleifen hochempfindlich gegenüber dem relativen Verhältnis von Liganden und Rezeptoren sowie gegenüber dem Mechanismus der cis-Inhibition und Transaktivierung. Verschiedene andere Regulationsmechanismen wie Expressionsprofile von Liganden und Rezeptoren, posttranslationale Ereignisse und die Integration mit anderen Signalwegen sind für die Vielfalt der Ergebnisse der Notch-Signalisierung verantwortlich [Bray 2016]. Unterschiedliche Proteine des Notch-Signalweges konnten

bereits in Zusammenhang mit menschlichen monogenen Erkrankungen gebracht werden [Aster 2014; Louvi and Artavanis-Tsakonas 2006].

Der Notch-Ligand Delta-like 1 (DLL1) spielt eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des zentralen Nervensystems (ZNS) und der Somiten. Dies konnte in verschiedenen Tiermodellen (Maus, Zebrafisch) demonstriert werden [Hrabe de Angelis et al. 1997; Riley et al. 2004]. In dieser Arbeit wird die Detektion von heterozygoten pathogenen Varianten in *DLL1* als Ursache geistiger Behinderung, Epilepsie, Hirnfehlbildungen und Fehlbildungen der Wirbelsäule beschrieben [Fischer-Zirnsak et al. 2019].

1.2.2. Beta-Aktin

Das ubiquitär exprimierte Aktin und seine Isoform beta-Aktin sind für eine Vielzahl zytoplasmatischer Funktionen, wie Wachstum, Form und Migration der Zellen, unerlässlich [Bunnell et al. 2011; De La Cruz and Gardel 2015; Velle and Fritz-Laylin 2019]. Darüber hinaus regulieren sie Genexpression, Zellteilung und Proliferation [Hyrskyluoto and Vartiainen 2020]. Aktinfilamente sind ein Hauptbestandteil von Synapsen, insbesondere von Dendriten und werden für die synaptische Plastizität benötigt. Sie haben daher unmittelbaren Einfluss auf die Entwicklung des ZNS, die kognitive Leistung und das Verhalten [Spence and Soderling 2015; Yan et al. 2016]. Beta-Aktin ist außerdem Teil von Chromatin-umbauenden-Komplexen [Hyrskyluoto and Vartiainen 2020]. Bestimmte Varianten in *ACTB*, welches für beta-Aktin kodiert, sind mit dem Baraitser-Winter-Syndrom assoziiert [Riviere et al. 2012]. Der exakte Pathomechanismus ist bisher nicht bekannt. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass auch heterozygote Varianten in *ACTB*, die zu einem Funktionsverlust führen, eine Störung der Hirn- und Organentwicklung verursachen [Cuvertino et al. 2017]. In dieser Arbeit wird die Identifizierung eines neuen Syndroms beschrieben, der *ACTB*-assoziierten syndromalen Thrombozytopenie, das auf Varianten in der 3'-Region von *ACTB* beruht [Latham et al. 2018].

1.3. Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist die Aufklärung der molekularen Mechanismen der Entwicklung des Skeletts und ZNS und damit assoziierter Krankheitsbilder mittels moderner NGS Technologien. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen ein besseres Verständnis der zellulären Prozesse ermöglichen, für die genetische Beratung der Familien genutzt werden und eine Grundlage für zukünftige Therapieansätze bilden.

2. Originalarbeiten

2.1. Homozygote und compound-heterozygote Mutationen in *TGDS* verursachen Catel-Manzke-Syndrom

Ehmke N*, Caliebe A*, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillessen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmuller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nurnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S.

Homozygous and compound-heterozygous mutations in *TGDS* cause Catel-Manzke syndrome.

Am J Hum Genet. 2014 Dec;95(6):763-70. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.11.004.

*contributed equally

Beim Catel-Manzke-Syndrom handelt es sich um eine seltene Skelettdysplasie, die durch die klinischen Merkmale Mikroretrognathie, Pierre-Robin-Sequenz, Kleinwuchs, angeborene Herzfehler und durch eine Verkürzung und radiale Deviation des Zeigefingers charakterisiert ist. Die Handfehlbildung, ein spezifisches Merkmal des Catel-Manzke-Syndroms, entsteht durch eine Form des Hyperphalangismus, wobei sich ein zusätzliches Ossifikationszentrum im zweiten Metakarpophalangealgelenk befindet. Angeborene Herzfehler und Pierre-Robin-Sequenz können mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität einhergehen.

In dieser Arbeit wird beschrieben, wie wir in einer Kohorte von sieben Patienten mit den typischen klinischen Auffälligkeiten des Catel-Manzke-Syndroms mittels Exomsequenzierung erstmals pathogene Varianten im Gen *TGDS* als ursächlich identifizieren, wobei die Missensevariante NM_014305.2:c.298G>T besonders häufig nachgewiesen wurde. Eine von uns durchgeführte Haplotypanalyse legt nahe, dass es sich um eine sogenannte Foundermutation handelt. *TGDS* kodiert für das Enzym dTDP-D-Glucose-4,6-Dehydrogenase, welches in Bakterien am Rhamnosestoffwechsel und Aufbau der Zellwand beteiligt ist. Die Funktion dieses Enzyms ist in Säugetieren bisher vollkommen unbekannt. Insgesamt deuten die Ergebnisse auf einen Funktionsverlustmechanismus hin. Mit dieser Arbeit haben wir ein neues, für die Skelett- und Herzentwicklung relevantes Gen identifiziert, dessen weitere Erforschung unser Verständnis der Knochenentwicklung verbessern kann.

Homozygous and compound-heterozygous mutations in TGDS cause Catel-Manzke syndrome.

Ehmke N*, Caliebe A*, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillessen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmuller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nurnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S.

Am J Hum Genet. 2014 Dec;95(6):763-70.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.11.004>

Homozygous and compound-heterozygous mutations in *TGDS* cause Catel-Manzke syndrome.

Ehmke N*, Caliebe A*, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillessen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmuller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nurnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S.

Am J Hum Genet. 2014 Dec;95(6):763-70.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.11.004>

Homozygous and compound-heterozygous mutations in *TGDS* cause Catel-Manzke syndrome.

Ehmke N*, Caliebe A*, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillessen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmuller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nurnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S.

Am J Hum Genet. 2014 Dec;95(6):763-70.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.11.004>

Homozygous and compound-heterozygous mutations in *TGDS* cause Catel-Manzke syndrome.

Ehmke N*, Caliebe A*, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillessen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmuller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nurnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S.

Am J Hum Genet. 2014 Dec;95(6):763-70.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.11.004>

Homozygous and compound-heterozygous mutations in *TGDS* cause Catel-Manzke syndrome.

Ehmke N*, Caliebe A*, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillessen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmuller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nurnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S.

Am J Hum Genet. 2014 Dec;95(6):763-70.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.11.004>

Homozygous and compound-heterozygous mutations in *TGDS* cause Catel-Manzke syndrome.

Ehmke N*, Caliebe A*, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillessen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmuller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nurnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S.

Am J Hum Genet. 2014 Dec;95(6):763-70.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.11.004>

Homozygous and compound-heterozygous mutations in *TGDS* cause Catel-Manzke syndrome.

Ehmke N*, Caliebe A*, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillessen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmuller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nurnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S.

Am J Hum Genet. 2014 Dec;95(6):763-70.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.11.004>

Homozygous and compound-heterozygous mutations in *TGDS* cause Catel-Manzke syndrome.

Ehmke N*, Caliebe A*, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillessen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmuller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nurnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S.

Am J Hum Genet. 2014 Dec;95(6):763-70.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.11.004>

2.2. Biallelische Varianten in *KYNU* verursachen ein multisystemisches Syndrom mit Handhyperphalangismus

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219. doi: 10.1016/j.bone.2019.115219.

Nicht bei allen Patienten mit der klinischen Diagnose Catel-Manzke-Syndrom können pathogene Varianten im Gen *TGDS* nachgewiesen werden. In der vorliegenden Arbeit haben wir mittels Array-CGH und Exomsequenzierung bei drei Patienten aus einer Kohorte von *TGDS*-negativen Patienten mit typischen Merkmalen des Catel-Manzke-Syndroms pathogene Varianten im Gen *KYNU* identifiziert. Die Patienten wiesen unter anderem einen Handhyperphalangismus, eine Mikrognathie, angeborene Herzfehler, einen Kleinwuchs und eine psychomotorische Entwicklungsverzögerung auf. *KYNU* kodiert für das Enzym Kynureninase, welches im Tryptophanstoffwechsel und der NAD⁺-Produktion relevant ist.

In einer anderen Arbeit konnte gezeigt werden, dass Funktionsverlustmutationen in *KYNU* einen NAD⁺-Mangel und angeborene Fehlbildungen an Wirbelsäule, Herz, Nieren und Gliedmaßen verursachen, doch keiner dieser Patienten wies die pathognomischen Merkmale des Catel-Manzke-Syndroms auf. In unserer Studie konnten wir durch eine Untersuchung des globalen Metaboloms in Urin- und Plasmaproben der Patienten eine Blockade im Tryptophankatabolismus nachweisen. Eine Untersuchung der organischen Säuren im Urin zeigte eine Ausscheidung von Xanthurensäure, einem Zwischenprodukt des Tryptophanabbauweges. Unsere Ergebnisse tragen zur Aufklärung eines weiteren Teils der molekularen Ursache des Catel-Manzke-Syndroms bei. Zudem haben wir die Analyse der organischen Säuren im Urin als einen einfach verfügbaren Test für die Differentialdiagnose von Patienten mit Verdacht auf Catel-Manzke-Syndrom identifiziert, was zu einer besseren Diagnoserate in dieser Patientenkohorte führen kann. Darüber hinaus geben die Ergebnisse weitere Aufschlüsse über die Mechanismen der Entwicklung der Fingerknochen.

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

Biallelic variants in *KYNU* cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism.

Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR.

Bone. 2020 Apr; 133, 115219.

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115219>

2.3. De-novo-Mutationen in *SLC25A24* verursachen ein Kraniosynostose-Syndrom mit Hypertrichose, progeroider Erscheinung und mitochondrialer Dysfunktion

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmüller J, Netzer C, Thiele H, Nürnberg P, Yigit G, Jäger M, Hecht J, Krüger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43. doi: 10.1016/j.ajhg.2017.09.016.

Patienten mit Catel-Manzke-Syndrom weisen vorwiegend angeborene Skelettveränderungen und Herzfehler auf. Abhängig von der Funktion des zugrundeliegenden Gens können Skelettfehlbildungssyndrome auch noch weitere Organsysteme betreffen. Patienten mit Gorlin-Chaudhry-Moss-Syndrom weisen die charakteristische Kombination von Koronarnahtsynostose, schwerer Mittelgesichtshypoplasie, Mikrophthalmie, die zu ausgeprägter Weitsichtigkeit führt, kleiner Finger- und Fußnägel, Gedeihstörung, Kleinwuchs und Hypertrichose auf. Zusätzlich zeigen Betroffene Merkmale einer Voralterung: Es bestehen eine unterschiedlich ausgeprägte Cutis laxa mit reduziertem Unterhautfettgewebe und eine allgemeine Bindegewebsschwäche, die sich unter anderem durch eine Nabelhernie manifestiert. Die Gedeihstörung kann ausgeprägt sein und eine Sondenernährung erfordern. Das Gorlin-Chaudhry-Moss-Syndrom wurde erstmals 1960 beschrieben, seitdem nur vereinzelt weitere Fälle.

In dieser Arbeit beschreiben wir die Identifizierung der molekularen Ursache von Gorlin-Chaudhry-Moss-Syndrom mittels Exomsequenzierung. In einer Kohorte von fünf Patientinnen konnten wir neu entstandene Missense-Varianten nachweisen, die alle zu Aminosäureaustauschen an Arg217 des *SLC25A24*-Proteins führen (p.Arg217His und p.Arg217Cys). *SLC25A24* kodiert für einen kalziumabhängigen ATP-Mg/Pⁱ-Transporter (short Ca²⁺-binding mitochondrial carrier 1; SCaMC1), der sich in der inneren Membran von Mitochondrien befindet. Die Varianten verursachen eine Schwellung und Fehlfunktion der Mitochondrien, die durch oxidativen Stress verstärkt wird. Unsere Ergebnisse demonstrieren die Bedeutung der mitochondrialen Funktion in der Entwicklung von Skelett und Bindegewebe.

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

***De Novo* Mutations in *SLC25A24* Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.**

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

***De Novo* Mutations in *SLC25A24* Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.**

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction.

Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmuller J, Netzer C, Thiele H, Nurnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U.

Am J Hum Genet. 2017 Nov;101(5):833-43.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.09.016>

2.4. Haploinsuffizienz des Notch-Liganden *DLL1* verursacht variable Störungen der neurologischen Entwicklung

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Haploinsufficiency of the Notch Ligand *DLL1* Causes Variable Neurodevelopmental Disorders

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639. doi: 10.1016/j.ajhg.2019.07.002.

Der Notch-Signalweg spielt eine essentielle Rolle in der Skelettentwicklung. Mutationen in Genen, die für die zentralen Bestandteile des Notch-Signalweges kodieren, wurden als Ursache für unterschiedliche Skelettfehlbildungssyndrome beschrieben. Daneben ist der Notch-Signalweg an diversen weiteren biologischen Prozessen und der Entstehung unterschiedlicher Erkrankungen beteiligt. Der Notch-Ligand *DLL1* spielt eine wichtige Rolle in der Segmentierung der Wirbelsäule und der Entwicklung des ZNS.

In dieser Arbeit präsentieren wir eine internationale Kohorte von 15 Patienten mit heterozygoten pathogenen Varianten in *DLL1*, die eine geistige Behinderung variabler Ausprägung und/oder Autismus sowie zum Teil angeborene Hirnfehlbildungen und eine Epilepsie aufwiesen. Die Varianten wurden durch Exomsequenzierung detektiert und die Kohorte über die Plattform GeneMatcher aufgebaut. Mehrere Patienten hatten zudem eine Skoliose und bei einem Patienten war eine Segmentierungsstörung der Wirbelsäule nachweisbar. Unsere Ergebnisse definieren *DLL1* als neues Krankheitsgen, das mit einem primär neurologischen Phänotyp assoziiert ist, und demonstrieren zum ersten Mal die Rolle des Notch-Liganden *DLL1* in der Entwicklung des ZNS und der Wirbelsäule des Menschen. Diese Erkenntnisse tragen einen weiteren Teil zur verbesserten Diagnoserate bei Patienten mit angeborenen Skelettfehlbildungen und geistiger Behinderung bei

Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders.

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.002>

Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders.

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.002>

Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders.

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.002>

Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders.

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.002>

Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders.

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.002>

Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders.

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.002>

Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders.

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.002>

Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders.

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.002>

Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders.

Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsrioglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, **Ehmke N.**

Am J Hum Genet. 2019 Sep 5;105(3):631-639.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.07.002>

2.5. Varianten in Exon 5 und 6 von *ACTB* verursachen syndromale Thrombozytopenie

Latham SL*, Ehmke N*, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250. doi: 10.1038/s41467-018-06713-0.

*contributed equally

Eine weitere Gruppe von Proteinen, die für die Embryonalentwicklung und unterschiedlichste biologische Prozesse von Bedeutung sind, ist die Gruppe der Aktine, dem Hauptbestandteil des Zytoskeletts. *ACTB* kodiert für beta-zytoplasmatisches Aktin, welches ubiquitär exprimiert wird. Keimbahnmutationen in *ACTB* verursachen fast ausschließlich Baraitser-Winter-Syndrom, eine syndromale Entwicklungsstörung mit Lissenzephalie, Kleinwuchs, Schwerhörigkeit, Kolobomen und charakteristischen fazialen Merkmalen.

Wir beschreiben ein neues Krankheitsbild, das durch bestimmte autosomal-dominant vererbte pathogene Varianten im 3'-Bereich von *ACTB* verursacht wird, und sich von Baraitser-Winter-Syndrom unterscheidet. Die *ACTB*-Varianten wurden mittels Exomsequenzierung bzw. phänotypbasierter Analyse des krankheitsassoziierten Genoms identifiziert. Die sechs Patienten in unserer Kohorte wiesen eine variable geistige Behinderung, eine Mikrozephalie und eine Thrombozytopenie auf. Im *in-vitro*-Modell fanden wir Hinweise darauf, dass die Varianten die Reifung der Thrombozyten durch Beeinträchtigung der Organisation der Mikrotubuli stört. Wir konnten zeigen, dass Patienten spezifische Veränderungen an beta-zytoplasmatischen Aktinfilamenten aufweisen, die eine verstärkte Rekrutierung von Aktin-bindenden Proteinen verursachen. Mit dieser Arbeit konnten wir nicht nur anhand des Genotyps ein neues Krankheitsbild definieren, sondern auch einen bestimmten Mechanismus aufdecken, der der Thrombozytopenie zugrunde liegt.

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

Variants in exons 5 and 6 of *ACTB* cause syndromic thrombocytopenia.

Latham SL*, **Ehmke N***, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhann TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N.

Nat Commun. 2018 Oct;9(1):4250.

*contributed equally

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06713-0>

3. Diskussion

Die molekulare Ursache von vermutlich der Hälfte aller genetisch bedingten Erkrankungen ist bislang unbekannt [Chong et al. 2015]. Durch die fehlende Möglichkeit einer molekulargenetischen Testung ist die Diagnosestellung häufig erschwert. Die Diagnosestellung bildet für Patienten mit seltenen Erkrankungen jedoch die Grundlage für eine verbesserte Krankenversorgung, ermöglicht betroffenen Familien die Vernetzung, die Organisation von Selbsthilfegruppen und den Zugang zu qualifizierten Informationen, und kann sich signifikant auf die klinische Betreuung der Patienten auswirken. Umgekehrt bedeutet das Fehlen einer eindeutigen Diagnose und die damit verbundene Unsicherheit eine psychologische Belastung für die betroffenen Familien, da keine Aussage zur Prognose und zum Wiederholungsrisiko getroffen werden kann sowie angezeigte therapeutische und prophylaktische Maßnahmen möglicherweise verpasst werden [Haendel et al. 2018; Macnamara et al. 2019; Tan et al. 2017]. Die Aufdeckung der molekularen Ursache genetisch bedingter Krankheitsbilder ist außerdem Voraussetzung für die Entwicklung gezielter therapeutischer Ansätze, welche für einzelne Erbkrankheiten (z.B. β -Thalassämie, spinale Muskelatrophie, Muskeldystrophie Duchenne, Achondroplasie) bereits erfolgreich etabliert wurden oder aktuell im Rahmen von Studien erprobt werden [Holick 1989; Mendell et al. 2017; Thompson et al. 2018; van Deutekom et al. 2007; Wendt et al. 2015]. Die zunehmende Verfügbarkeit der Hochdurchsatzsequenzierung revolutioniert derzeit die Humangenetik und die gesamte moderne Medizin. Es ist jetzt möglich, Exomsequenzierungen zu diagnostischen Zwecken durchzuführen, was zu einer enormen Erhöhung der Diagnoserate von Patienten mit seltenen Erkrankungen führt.

3.1. Aufdeckung neuer molekularer Mechanismen als Ursache von Skelettdysplasien

Der Einsatz der Hochdurchsatzsequenzierung hat auch im Gebiet der Skelettdysplasien zu einer hohen Detektionsrate neuer Krankheitsgene geführt. In der aktuellen Version der Nosologie ist der zugrundeliegende Gendefekt für 92% der bisher definierten Skelettdysplasien bereits bekannt, im Vergleich zu 69% in der Version von 2010. Hierbei wurden Gene und Signalwege identifiziert, die zuvor nicht in Zusammenhang mit der Entwicklung des Skelettsystems gebracht wurden, und neue Krankheitsbilder abgegrenzt [Geister and Camper 2015; Mortier et al. 2019]. Ein Schwerpunkt dieser Arbeit liegt auf dem Pathomechanismus des Catel-Manzke-Syndroms. Diese Skelettdysplasie ist durch eine spezielle Handfehlbildung, einen Hyperphalangismus des Zeigefingers („Manzke-Dysostose“), charakterisiert. Eine ähnliche Handfehlbildung wird bei unterschiedlichen Krankheitsbildern beobachtet,

die auf einer Störung des Proteoglykanstoffwechsels beruhen: Temtamy-Brachydaktylie-Syndrom (TPBS), der Chondrodysplasie mit Gelenkluxationen, gPAPP-Typ (gPAPP-Mangel) und der Desbuquois-Dysplasie 1 (DBQD1). Das TPBS wird durch rezessiv erbliche Varianten in *CHSY1* verursacht, welches für eine Galaktosyltransferase kodiert, die an der Bildung der Glykosaminoglykan (GAG)-Ketten beteiligt ist [Li et al. 2010]. Biallelische Varianten in *IMPAD1* sind ursächlich für den gPAPP-Mangel. *IMPAD1* kodiert für eine Sulfotransferase und katalysiert die Sulfatierung der GAGs, einem wichtigen Mechanismus in der Proteoglykansynthese [Vissers et al. 2011]. Die DBQD1 wird durch biallelische Varianten in *CANT1* verursacht [Huber et al. 2009]. *CANT1* hydrolysiert vermutlich Uridinphosphat (UDP) nach der Bindung aktivierter Zucker und verhindert so einen negativen Feedback-Mechanismus, der die Glykosyltransferasen, die für den Aufbau der GAG -Ketten zuständig sind, hemmen würde [Nizon et al. 2012b]. Auch Patienten mit Chitayat-Syndrom (MIM 617180), welches durch eine wiederkehrende heterozygote Variante in *ERF* verursacht wird [Balasubramanian et al. 2017], weisen eine dem Catel-Manzke-Syndrom ähnliche Handfehlbildung auf. Des Weiteren können Varianten in *GDF5* eine Hypersegmentierung der Zeigefinger verursachen, welche Übereinstimmungen mit der Manzke-Dysostose aufweisen kann (Brachydaktylie Typ C, MIM 113100) [Polinkovsky et al. 1997]. Bei diesen beiden Krankheitsbildern fehlen jedoch andere für Proteoglykanstoffwechselstörungen typische Merkmale wie angeborene Herzfehler, Kleinwuchs, Mikrognathie und Gaumenspalte.

Wir haben als Hauptursache für das Catel-Manzke-Syndrom pathogene Varianten im Gen *TGDS* identifiziert [Ehmke et al. 2014; Schoner et al. 2017] und damit ein neues, für die Skelettentwicklung relevantes Gen gefunden. Aufgrund der Ähnlichkeit zwischen TGDS und dem Enzym UDP-Glucuronat-Decarboxylase 1 (UXS1), welches einen relevanten Schritt in der Proteoglykansynthese katalysiert [Moriarty et al. 2002], sowie der phänotypischen Überlappung mit o.g. Krankheitsbildern, die auf einem Defekt im Proteoglykanstoffwechsel beruhen, vermuten wir, dass TGDS ebenfalls eine Rolle im Proteoglykanstoffwechsel spielt. Für einen Zusammenhang von *TGDS* mit dem Proteoglykanstoffwechsel spricht auch, dass bei zwei Patienten mit „atypischem“ Catel-Manzke-Syndrom Varianten in *IMPAD1* nachgewiesen wurden [Nizon et al. 2012a]. *Tgds* wird in Extremitätenknospen in unterschiedlichen Embryonalstadien der Maus, in Chondrozyten und in Osteoblasten exprimiert [Cao et al. 2019], sodass sich die Maus für eine weitere Erforschung der TGDS-Funktion eignet. Allerdings kann die Handfehlbildung selbst beim Menschen sehr diskret sein [Boschann et al. 2019] und die Ausprägung in der Maus ist bisher unbekannt.

Bei drei Patienten mit der klinischen Diagnose Catel-Manzke-Syndrom haben wir kürzlich Missense- und Funktionsverlustmutationen in *KYNU*, einem Enzym des Tryptophanstoffwechsels, identifiziert [Ehmke et al. 2020]. Es konnte von einer anderen Gruppe nachgewiesen werden, dass Funktionsverlustmutationen in *KYNU* einen NAD⁺-Mangel verursachen [Shi et al. 2017]. Der Pathomechanismus des Hyperphalangismus ist bisher ungeklärt. Musterbildungsstörungen wie die Manzke-Dysostose gehen typischerweise auf eine Dysregulation für die frühe Embryonalentwicklung wichtiger Signalwege einher, die veränderte Genexpressionsmuster nach sich ziehen [Stricker and Mundlos 2011]. Ein denkbarer Zusammenhang zwischen einem NAD⁺-Mangel und dem für *TGDS*-Varianten typischen Hyperphalangismus ist die Tatsache, dass *TGDS* NAD⁺ als Kofaktor benötigt. Somit könnte ein Ungleichgewicht der NAD⁺-Spiegel während kritischer Entwicklungsschritte in den Extremitäten zu der charakteristischen Musterbildungsstörung führen. Diese Ergebnisse zeigen, welchen Beitrag die Aufdeckung neuer Krankheitsgene und der zugrundeliegenden Mechanismen zum Verständnis der Skelettentwicklung beitragen können.

Im Rahmen dieser Arbeit wird auch ein anderer neuartiger Entstehungsmechanismus von Skelettfehlbildungen aufgedeckt: Spezifische Varianten in *SLC25A24*, das für einen kalziumabhängigen ATP-Mg/Pⁱ-Transporter in der inneren Membran von Mitochondrien kodiert, führen zu einer syndromalen Form der Kraniosynostose (Gorlin-Chaudhry-Moss-Syndrom) [Ehmke et al. 2017]. Eine andere Arbeitsgruppe konnte die gleichen Varianten als Ursache des Fontaine-Syndroms identifizieren [Writzl et al. 2017]. Die beiden Krankheitsbilder weisen eine große phänotypische Überlappung auf: Neben der Schädeldysplasie sind eine Mikrophthalmie, kurze Endphalangen der Extremitäten, Behaarungsanomalien, angeborene Herzfehler, eine Aortenerweiterung und eine Voralterung charakteristische Merkmale beider Krankheitsbilder. Alle Patienten mit Fontaine-Syndrom waren jedoch schwerer betroffen, zeigten Verknöcherungsdefekte des Schädels sowie schwere neonatale Komplikationen, und verstarben bereits in den ersten Lebensmonaten, wohingegen die Prognose der Patienten in unserer Kohorte deutlich besser war. Inzwischen wird die Auffassung vertreten, dass es sich beim Gorlin-Chaudhry-Moss- und Fontaine-Syndrom um ein phänotypisches Spektrum derselben Erkrankung handelt, weshalb sie nun unter dem Namen Fontaine-Progeroid-Syndrom (MIM 612289) zusammengefasst werden. Die Ursache für die unterschiedliche phänotypische Ausprägung trotz Vorliegen der gleichen genetischen Veränderung ist zum jetzigen Zeitpunkt unbekannt. Wir und Writzl et al. konnten den Pathomechanismus des Fontaine-Progeroid-Syndroms teilweise aufklären [Ehmke et al. 2017; Writzl et al. 2017]. *In vitro* fanden wir eine Schwellung von Mitochondrien, die sich unter

oxidativem Stress verstärkte, und einen verminderten ATP-Gehalt der Mitochondrien. Writzl et al. wiesen zudem eine reduzierte Zellproliferation *in vitro* nach. Zusammengefasst weisen die Ergebnisse auf einen gestörten Energiemetabolismus hin. Außerdem vermuten wir aufgrund des zellulären Phänotyps einen Zusammenhang von *SLC25A24* mit der Funktion der mitochondrialen *permeability transition pore* (mPTP). Dieser Kanal ermöglicht den freien Durchgang von gelösten Stoffen bis zu einer Größe von 1,5 kDa. Eine pathologische Aktivierung kann eine Entkopplung der Atmungskette, eine Beeinträchtigung der zellulären Kalziumhomöostase und einen Rückgang der ATP-Produktion verursachen, und zu mitochondrialer Schwellung, Ruptur und Zelltod führen. Andererseits ist die vorübergehende Öffnung der mPTP wahrscheinlich an den Kalziumfreisetzungsmechanismen beteiligt, die für eine ordnungsgemäße Stoffwechselregulierung, Zelldifferenzierung und -entwicklung wichtig sind. Dies konnte bereits am Herzen und im Gehirn gezeigt werden [Hunter and Haworth 1979; Kasahara and Scorrano 2014; Kwong and Molkenin 2015; Perez and Quintanilla 2017]. Es ist denkbar, dass eine Fehlregulation der mPTP eine vorzeitige osteogene Differenzierung und damit einen vorzeitigen Verschluss der Schädelnähte bei Patienten mit Fontaine-Progeroid-Syndrom verursacht. Cyclophilin D (CyPD) ist ein wesentlicher Bestandteil der mPTP, und ein Knockout (KO) von CyPD schützt Zellen *in vitro* und *in vivo* vor durch oxidativen Stress induziertem nekrotischen Zelltod. Eine ähnliche Wirkung hat Cyclosporin A (CsA), einem Inhibitor der mPTP [Baines et al. 2005]. Zusammengefasst liefern unsere Ergebnisse neue Erkenntnisse über die Funktion des durch *SLC25A24* kodierten ATP-Mg/Pi-Transporter und könnten die Grundlage für einen potentiellen Therapieansatz für Patienten mit Fontaine-Progeroid-Syndrom bilden.

3.2. Aufdeckung neuer molekularer Mechanismen als Ursache syndromaler geistiger

Behinderung

Die Exomsequenzierung hat auch im Bereich der geistigen Behinderung zu einer hohen Aufdeckungsrate neuer Krankheitsgene und Krankheitsbilder sowie für die ZNS-Entwicklung- und Funktion relevanter Signalwege geführt. Durch internationale Vernetzung ist es nun möglich, größere Kohorten betroffener Individuen zu bilden, wodurch neue Erkenntnisse über das phänotypische Spektrum gewonnen werden können [Bramswig et al. 2018; Fountain et al. 2019; Mak et al. 2020; Menke et al. 2016] (ausgewählte Beispiele). In der vorliegenden Arbeit wird ein neues Krankheitsbild beschrieben, das durch eine Haploinsuffizienz des Notch-Liganden *DLL1* verursacht wird. Der Notch-Signalweg spielt eine wichtige Rolle in vielen Entwicklungsprozessen. Bisher wurden fast alle bekannten Elemente des zentralen Notch-Signalwegs mit menschlichen monogenen Krankheiten in Verbindung

gebracht: Pathogene Varianten in *NOTCH1* verursachen Adams-Oliver-Syndrom 5 (MIM 616028) und Aortenklappenerkrankung 1 (MIM 109730); pathogene Varianten in *NOTCH2* Alagille-Syndrom 2 (MIM 610205) und Hajdu-Cheney-Syndrom (MIM 102500); heterozygote Varianten in *NOTCH3* sind mit zerebraler Arteriopathie, subkortikalen Infarkten und Leukenzephalopathie 1 (CADASIL1; MIM 125310) sowie lateralem Meningozele-Syndrom (MIM 130720) assoziiert; biallelische Varianten in *LFNG*, welches für Lunatic Fringe kodiert, verursachen spondylokostale Dysostose 3 (MIM 609813). Der Notch-Ligand JAG1 ist mit Alagille-Syndrom 1 (MIM: 118450) und Fallot-Tetralogie (MIM: 187500) assoziiert; pathogene Varianten in *DLL4* verursachen das Adams-Olliver-Syndrom 6 (MIM: 616589) und biallelische pathogene Varianten in *DLL3* verursachen spondylokostale Dysostose 1 (MIM: 602768) [Gripp et al. 2015; Louvi and Artavanis-Tsakonas 2006; Louvi and Artavanis-Tsakonas 2012; Meester et al. 2015; Stittrich et al. 2014]. Die genannten Krankheitsbilder betreffen unterschiedliche Organsysteme, gehäuft jedoch Skelett, Herz-Kreislauf-System und ZNS, wobei zwar angeborene ZNS-Fehlbildungen vorliegen können (Meningozele), eine geistige Behinderung jedoch nicht primäres Merkmal dieser Krankheitsbilder ist und in der Regel als Folge von Fehlbildungen und Komplikationen auftreten kann. Bei *DLL1* handelt es sich ebenfalls um ein Gen, dessen Bedeutung in der Skelettentwicklung bereits demonstriert wurde: *DLL1* ist relevant für die Segmentierung der Somiten [Hrabe de Angelis et al. 1997]. *Dll1*-defiziente Mäuse weisen Segmentierungsstörungen der Wirbelsäule und Skoliose auf [Cordes et al. 2004; Shimojo and Kageyama 2016; Sparrow et al. 2012]. Darüber hinaus spielt Delta 1 eine wichtige Rolle in der Gehirnentwicklung [Campos et al. 2001] und der Verlust von DeltaA im Zebrafisch führt zu angeborenen Hirnfehlbildungen. [Riley et al. 2004]. Zudem war *DLL1* aufgrund überlappender Mikrodeletionen der chromosomalen Region 6q27 als Kandidatengen für Hirnfehlbildungen beim Menschen diskutiert worden [Peddibhotla et al. 2015]. In dieser Arbeit wird erstmals die Detektion von heterozygoten Funktionsverlustmutationen in *DLL1* in einer Kohorte von Patienten mit in erster Linie variablen neurologischen Entwicklungsdefekten wie geistiger Behinderung (auch isoliert), Autismus, Epilepsie und angeborenen Hirnfehlbildungen beschrieben [Fischer-Zirnsak et al. 2019]. Interessanterweise bestand bei einer Patientin zusätzlich eine Skoliose aufgrund einer Segmentierungsstörung der Wirbelsäule. Zwei weitere Patienten wiesen eine Skoliose ohne Hinweise auf knöcherne Veränderungen der Wirbelsäule auf. Zusammenfassend haben wir einen Notch-assoziierten Phänotyp identifiziert, der primär durch eine geistige Behinderung und Autismus gekennzeichnet ist, unabhängig von vaskulären Komplikationen auftritt und vermutlich auf einer

gestörten ZNS-Entwicklung beruht. Gleichzeitig erweitern diese Ergebnisse das bekannte Spektrum an Signalwegen und Mechanismen, die geistige Behinderung verursachen können.

In dieser Arbeit wird ein weiteres neues Krankheitsbild beschrieben: Bei der *ACTB*-assoziierten syndromalen Thrombozytopenie handelt es sich um ein klassisches Beispiel für eine Genotyp-basierte Syndrombeschreibung. Erst durch Identifizierung einer neuen molekularen Ursache konnte ein spezifisches Krankheitsbild abgegrenzt werden [Latham et al. 2018]. Typische Merkmale dieser Erkrankung sind eine Mikrozephalie, eine variable geistige Behinderung, unspezifische faziale Auffälligkeiten und eine Thrombozytopenie, die bei einigen Patienten der Kohorte durch vergrößerte Thrombozyten charakterisiert war. *ACTB* kodiert für beta-Aktin, dessen Rolle als Hauptbestandteil von Synapsen in der Entwicklung und Funktion des ZNS bekannt ist [Spence and Soderling 2015; Yan et al. 2016]. Pathogene Varianten in bzw. Deletionen von *ACTB* wurden als Ursache unterschiedlicher Formen der syndromalen geistigen Behinderung beschrieben [De La Cruz and Gardel 2015; Riviere et al. 2012], allerdings wurde nur ein einziges Mal eine Thrombozytopenie beschrieben [Nunoi et al. 1999]. Die *ACTB*-Variante dieses Patienten betraf, wie auch die Varianten einiger unserer Patienten, das letzte Exon. In Latham et al. untersuchten wir den Pathomechanismus der Thrombozytopenie *in vitro* und fanden Hinweise auf eine Störung der finalen Stadien der Thrombozytenreifung. Mit diesen Erkenntnissen definieren wir nicht nur ein neues Krankheitsbild, sondern beschreiben einen neuartigen Mechanismus der Thrombozytopenie. Diese Erkenntnisse sind über die Diagnosestellung hinaus relevant für die klinische Betreuung der betroffenen Familien, da eine unerkannte Thrombozytopenie zu Komplikationen führen kann.

3.3. Strategien zur Auswertung von NGS-Daten und Ausblick

Die Humangenetik beschäftigt sich mit etlichen biologischen Prozessen und einer sehr hohen Anzahl von unterschiedlichsten Erkrankungen, die größtenteils durch komplexe Phänotypen gekennzeichnet sind. Die Diversität an Krankheitsentitäten, -symptomen und molekularen Ursachen erklärt neben den bei der Hochdurchsatzsequenzierung gewonnenen riesigen Datenmengen, warum die heutige Humangenetik eng mit der Bioinformatik verknüpft ist. Algorithmen zur automatisierten Gesichtserkennung, wie sie z.B. von Face2Gene entwickelt wurden, können zu einer Verbesserung der Diagnoserate beitragen [Gurovich et al. 2019; Hsieh et al. 2019]. Darüber hinaus haben in den letzten Jahren statistische Parameter, die auf Tausenden von Exom- und Genomdatensätzen basieren [Karczewski et al. 2019], und Plattformen wie GeneMatcher, die die weltweite Kohortenbildung von

Patienten mit pathogenen Varianten in neuen und bekannten Krankheitsgenen ermöglichen [Sobreira et al. 2015], an großer Bedeutung für die Diagnostik von Patienten mit seltenen Erkrankungen gewonnen. Eine weitere wichtige Komponente in der klinischen Humangenetik ist die Existenz einer Ontologie, die die systematische Erfassung des Phänotyps eines Patienten anhand von standardisierten Begriffen ermöglicht, die dann für die Beurteilung und Priorisierung potentiell pathogener Sequenzvarianten herangezogen werden [Haendel et al. 2018]. In der Humangenetik hat sich in den letzten Jahren die Verwendung der Human Phenotype Ontology (HPO) durchgesetzt [Kohler et al. 2014], welche eine Vereinheitlichung von Phänotypbeschreibungen in Publikationen und Datenbanken ermöglicht und eine Grundlage unterschiedlicher, in den letzten Jahren entwickelter Programme zur Phänotyp-basierter Priorisierung von NGS-Varianten bildet [Smedley et al. 2015; Smedley et al. 2016; Zemojtel et al. 2014].

Wie hilfreich diese Programme auch bei der Identifizierung neuer Krankheitsmechanismen sein können, zeigt die Tatsache, dass mit Hilfe des Programms PhenIX [Zemojtel et al. 2014] die in dieser Arbeit beschriebene molekulare Ursache des syndromalen Thrombozytopenie gefunden wurde [Latham et al. 2018]. Die lange Erfahrung mit Phänotyp-basierter Priorisierung im Forschungskontext hat uns die Entwicklung des Programmes MutationDistiller ermöglicht, welches aktuell auch für klinische Fragestellungen routinemäßig eingesetzt wird [Hombach et al. 2019]. Hieraus wird ersichtlich, von welchem großem Stellenwert eine enge Zusammenarbeit von klinischen Genetikern, Bioinformatikern und Molekulargenetikern für die Beurteilung von NGS-Daten ist [Chong et al. 2015]. Einige der hier beschriebenen neuen Krankheitsgene wurden mit Hilfe der Plattform GeneTalk® identifiziert [Kamphans and Krawitz 2012]. Um die Einbindung klinischer Genetiker zu verbessern, haben wir kürzlich eine frei verfügbare Plattform entwickelt, welche Anwendern ohne bioinformatische Kenntnisse die intuitive Filterung, Priorisierung und Annotation von Varianten einzelner Patienten, aber auch größerer Kohorten ermöglicht [Holtgrewe et al. 2020].

Die Verfügbarkeit der Hochdurchsatzsequenzierung hat in den letzten Jahren wesentlich zu einer hohen Detektionsrate kodierender pathogener Varianten und der Identifizierung neuer Krankheitsgene beigetragen und es ist zu erwarten, dass unter anderem durch eine zunehmend bessere Vernetzung unterschiedlicher Forschungseinrichtungen, durch nationale und internationale Initiativen (z.B. DDD, ENCODE [Deciphering Developmental Disorders 2015; Maher 2012] u.a.) und durch weiter fallende Sequenzierkosten in den nächsten Jahren die Aufklärung der Ursache weiterer monogenetischer Krankheitsbilder ermöglicht wird [Bamshad et al. 2019]. Es ist jedoch davon auszugehen, dass auch

andere Mechanismen wie regulatorische Varianten, Mosaik und strukturelle Varianten die Erklärung für einen Anteil der restlichen Krankheitsbilder darstellen. Eine große Herausforderung stellt die Interpretation der großen Menge an neu detektierten Varianten dar. Die bioinformatischen Algorithmen zur Vorhersage von Varianteneffekten basieren vorwiegend auf evolutionärer Konservierung von Aminosäuren [Tang and Thomas 2016] und die eigentliche funktionelle Aufarbeitung potentiell pathogener Varianten bedeutet derzeit einen hohen experimentellen Aufwand. Vielversprechend sind neue Technologien der funktionellen Hochdurchsatzvalidierung (multiplex assays of variant effect (MAVEs)), welche in Zukunft die Vorhersagen bezüglich funktioneller Auswirkungen von detektierten Varianten deutlich verbessern werden, auch von nicht kodierenden Varianten. Technische Weiterentwicklungen versprechen außerdem eine zukünftig zuverlässigere Detektion struktureller Veränderungen wie z.B. Kopienzahlvarianten, balancierter Ereignisse und von Trinukleotidexpansionen [Bamshad et al. 2011]. Inzwischen ist es beispielsweise möglich, balancierte Translokationen Bruchpunkt-genau mithilfe einer Genomsequenzierung zu detektieren, welche jedoch derzeit noch nicht Teil der Routinediagnostik ist [Alkan et al. 2011]. *De-novo*-Translokationen, die zu einer Veränderung regulatorischer Elemente führen, können die Ursache für angeborene neurologische Entwicklungsstörungen sein [Redin et al. 2017], wie u.a. auch durch uns am Beispiel von *FOXG1* gezeigt wurde [Mehrjouy et al. 2018].

Zusammenfassend zeigt diese Arbeit die Bedeutung der Detektion neuer Krankheitsgene und Krankheitsentitäten an repräsentativen Beispielen. Die Ergebnisse dieser Arbeit erweitern unser Verständnis der molekularen Ursachen unterschiedlicher genetisch bedingter Krankheitsbilder aus dem Bereich der Skelettdysplasien und der syndromalen geistigen Behinderung und geben neue Einblicke in verschiedene Mechanismen der Entwicklung des Skeletts und ZNS. Die gewonnenen Erkenntnisse können für die genetische Beratung und klinische Betreuung der betroffenen Familien genutzt werden und könnten die Grundlage für neue Therapieansätze darstellen.

4. Zusammenfassung

Die Stellung einer Diagnose, welche häufig nur durch Identifizierung der ursächlichen genetischen Veränderung möglich ist, hat für die genetische Beratung und klinische Betreuung von Patienten mit genetisch bedingten Erkrankungen einen hohen Stellenwert. Die molekulare Grundlage etwa der Hälfte aller bekannten monogenen Erkrankungen ist bisher unbekannt. Seit Verfügbarkeit der Hochdurchsatzsequenzierung konnten die Diagnoserate und Anzahl an bekannten Krankheitsgenen deutlich erhöht werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden mittels Hochdurchsatzsequenzierung, vorwiegend Exomsequenzierung, Blutproben von Patienten mit Skelettfehlbildungssyndromen und syndromaler geistiger Behinderung untersucht. Über internationale Kooperationen konnten Kohorten von Patienten mit neuen Krankheitsgenen bzw. neuen Krankheitsentitäten gebildet werden. Der pathogene Effekt mehrerer der identifizierten Genveränderungen wurde in funktionellen *In-vitro*-Studien untersucht.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die genetischen Ursachen für Catel-Manzke- und Fontaine-Progeroid-Syndrom untersucht. Als Ursache für Catel-Manzke-Syndrom haben wir biallelische pathogene Varianten in den Genen *TGDS* und *KYNU* identifiziert. Das TGDS-Protein spielt möglicherweise eine Rolle im Proteoglykanstoffwechsel. Das Enzym Kynureninase, das durch *KYNU* kodiert wird, katalysiert einen Schritt in der NAD⁺-Synthese. Trotz der Ähnlichkeit des resultierenden Phänotyps ist ein Zusammenhang zwischen dem *TGDS*- und *KYNU*-assoziierten Pathomechanismus bislang unklar. Als Ursache für Fontaine-Progeroid-Syndrom haben wir rekurrente *De-novo*-Varianten in *SLC25A24*, welches für einen mitochondrialen ATP-Mg/Pⁱ-Transporter kodiert, identifiziert. *In vitro* wiesen wir eine mitochondriale Schwellung und Dysfunktion nach, welche bisher nicht als Ursache für Kraniosynostose-Syndrome beschrieben wurden und ihre pathogene Wirkung durch einen Einfluss der zellulären Differenzierung in den Schädelnähten entfalten könnten. Darüber hinaus wurden heterozygote pathogene Varianten in den Genen *DLL1* und *ACTB* als Ursache für neue Formen der syndromalen geistigen Behinderung identifiziert. *DLL1* kodiert für den Notch-Liganden Delta 1. Wenngleich zahlreiche Studien die Rolle des Notch-Signalweges in der Gehirnentwicklung untermauern, stellt diese Arbeit erstmals den Zusammenhang zu einem humanen primär entwicklungsneurologischen Phänotyp her. Mit der *ACTB*-assoziierten syndromalen Thrombozytopenie wird ein neuer Phänotyp beschrieben, der auf pathogenen Varianten in beta-Aktin beruht.

Die Ergebnisse dieser Arbeit erweitern unser Verständnis der molekularen Ursachen unterschiedlicher genetisch bedingter Krankheitsbilder und geben neue Einblicke in verschiedene Mechanismen der Entwicklung des Skeletts und ZNS. Die gewonnenen Erkenntnisse können für die genetische Beratung und klinische Betreuung der betroffenen Familien genutzt werden und könnten die Grundlage für neue Therapieansätze darstellen.

5. Referenzen

- Alkan C, Coe BP, Eichler EE. 2011. Genome structural variation discovery and genotyping. *Nat Rev Genet* 12(5):363-376.
- Aster JC. 2014. In brief: Notch signalling in health and disease. *J Pathol* 232(1):1-3.
- Ba W, van der Raadt J, Nadif Kasri N. 2013. Rho GTPase signaling at the synapse: implications for intellectual disability. *Exp Cell Res* 319(15):2368-2374.
- Baines CP, Kaiser RA, Purcell NH, Blair NS, Osinska H, Hambleton MA, Brunskill EW, Sayen MR, Gottlieb RA, Dorn GW, Robbins J, Molkenkin JD. 2005. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature* 434(7033):658-662.
- Baird PA, Anderson TW, Newcombe HB, Lowry RB. 1988. Genetic disorders in children and young adults: a population study. *American journal of human genetics* 42(5):677-693.
- Balasubramanian M, Lord H, Levesque S, Guturu H, Thuriot F, Sillon G, Wenger AM, Sureka DL, Lester T, Johnson DS, Bowen J, Calhoun AR, Viskochil DH, Study DDD, Bejerano G, Bernstein JA, Chitayat D. 2017. Chitayat syndrome: hyperphalangism, characteristic facies, hallux valgus and bronchomalacia results from a recurrent c.266A>G p.(Tyr89Cys) variant in the ERF gene. *Journal of medical genetics* 54(3):157-165.
- Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, Tabor HK, Emond MJ, Nickerson DA, Shendure J. 2011. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet* 12(11):745-755.
- Bamshad MJ, Nickerson DA, Chong JX. 2019. Mendelian Gene Discovery: Fast and Furious with No End in Sight. *American journal of human genetics* 105(3):448-455.
- Boschann F, Stuurman KE, de Bruin C, van Slegtenhorst M, van Duyvenvoorde HA, Kant SG, Ehmke N. 2019. TGDS pathogenic variants cause Catel-Manzke syndrome without hyperphalangy. *American journal of medical genetics Part A*.
- Bramswig NC, Bertoli-Avella AM, Albrecht B, Al Aqeel AI, Alhashem A, Al-Sannaa N, Bah M, Brohl K, Depienne C, Dorison N, Doummar D, Ehmke N, Elbendary HM, Gorokhova S, Heron D, Horn D, James K, Keren B, Kuechler A, Ismail S, Issa MY, Marey I, Mayer M, McEvoy-Venneri J, Megarbane A, Mignot C, Mohamed S, Nava C, Philip N, Ravix C, Rolfs A, Sadek AA, Segebrecht L, Stanley V, Trautman C, Valence S, Villard L, Wieland T, Engels H, Strom TM, Zaki MS, Gleeson JG, Ludecke HJ, Bauer P, Wiczorek D. 2018. Genetic variants in components of the NALCN-UNC80-UNC79 ion channel complex cause a broad clinical phenotype (NALCN channelopathies). *Hum Genet* 137(9):753-768.
- Bray SJ. 2016. Notch signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol* 17(11):722-735.
- Bunnell TM, Burbach BJ, Shimizu Y, Ervasti JM. 2011. beta-Actin specifically controls cell growth, migration, and the G-actin pool. *Mol Biol Cell* 22(21):4047-4058.
- Campos LS, Duarte AJ, Branco T, Henrique D. 2001. mDII1 and mDII3 expression in the developing mouse brain: role in the establishment of the early cortex. *J Neurosci Res* 64(6):590-598.
- Cao J, Spielmann M, Qiu X, Huang X, Ibrahim DM, Hill AJ, Zhang F, Mundlos S, Christiansen L, Steemers FJ, Trapnell C, Shendure J. 2019. The single-cell transcriptional landscape of mammalian organogenesis. *Nature* 566(7745):496-502.
- Chong JX, Buckingham KJ, Jhangiani SN, Boehm C, Sobreira N, Smith JD, Harrell TM, McMillin MJ, Wiszniewski W, Gambin T, Coban Akdemir ZH, Doheny K, Scott AF, Avramopoulos D, Chakravarti A, Hoover-Fong J, Mathews D, Witmer PD, Ling H, Hetrick K, Watkins L, Patterson KE, Reinier F, Blue E, Muzny D, Kircher M, Bilguvar K, Lopez-Giraldez F, Sutton VR, Tabor HK, Leal SM, Gunel M, Mane S, Gibbs RA, Boerwinkle E, Hamosh A, Shendure J, Lupski JR, Lifton RP, Valle D, Nickerson DA, Centers for Mendelian G, Bamshad MJ. 2015. The Genetic Basis of Mendelian Phenotypes: Discoveries, Challenges, and Opportunities. *American journal of human genetics* 97(2):199-215.
- Cordes R, Schuster-Gossler K, Serth K, Gossler A. 2004. Specification of vertebral identity is coupled to Notch signalling and the segmentation clock. *Development* 131(6):1221-1233.
- Cuvertino S, Stuart HM, Chandler KE, Roberts NA, Armstrong R, Bernardini L, Bhaskar S, Callewaert B, Clayton-Smith J, Davalillo CH, Deshpande C, Devriendt K, Digilio MC, Dixit A, Edwards M, Friedman JM, Gonzalez-Meneses A, Joss S, Kerr B, Lampe AK, Langlois S, Lennon R, Loget P, Ma DYT, McGowan R, Des Medt M, O'Sullivan J, Odent S, Parker MJ, Pebrel-Richard C, Petit F, Stark Z, Stockler-Ipsiroglu S, Tinschert S, Vasudevan P, Villa O, White SM, Zahir FR, Study DDD, Woolf AS, Banka S. 2017. ACTB Loss-of-Function Mutations Result in a Pleiotropic Developmental Disorder. *American journal of human genetics* 101(6):1021-1033.
- De La Cruz EM, Gardel ML. 2015. Actin Mechanics and Fragmentation. *The Journal of biological chemistry* 290(28):17137-17144.
- Deciphering Developmental Disorders S. 2015. Large-scale discovery of novel genetic causes of developmental disorders. *Nature* 519(7542):223-228.

- Ehmke N, Caliebe A, Koenig R, Kant SG, Stark Z, Cormier-Daire V, Wieczorek D, Gillissen-Kaesbach G, Hoff K, Kawalia A, Thiele H, Altmüller J, Fischer-Zirnsak B, Knaus A, Zhu N, Heinrich V, Huber C, Harabula I, Spielmann M, Horn D, Kornak U, Hecht J, Krawitz PM, Nürnberg P, Siebert R, Manzke H, Mundlos S. 2014. Homozygous and compound-heterozygous mutations in TGDS cause Catel-Manzke syndrome. *American journal of human genetics* 95(6):763-770.
- Ehmke N, Cusmano-Ozog K, Koenig R, Holtgrewe M, Nur B, Mihci E, Babcock H, Gonzaga-Jauregui C, Overton JD, Xiao J, Martinez AF, Muenke M, Balzer A, Jochim J, El Choubassi N, Fischer-Zirnsak B, Huber C, Kornak U, Elsea SH, Cormier-Daire V, Ferreira CR. 2020. Biallelic variants in Kynu cause a multisystemic syndrome with hand hyperphalangism. *Bone* 133:115219.
- Ehmke N, Graul-Neumann L, Smorag L, Koenig R, Segebrecht L, Magoulas P, Scaglia F, Kilic E, Hennig AF, Adolphs N, Saha N, Fauler B, Kalscheuer VM, Hennig F, Altmüller J, Netzer C, Thiele H, Nürnberg P, Yigit G, Jager M, Hecht J, Kruger U, Mielke T, Krawitz PM, Horn D, Schuelke M, Mundlos S, Bacino CA, Bonnen PE, Wollnik B, Fischer-Zirnsak B, Kornak U. 2017. De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Craniosynostosis Syndrome with Hypertrichosis, Progeroid Appearance, and Mitochondrial Dysfunction. *American journal of human genetics* 101(5):833-843.
- Farwell KD, Shahmirzadi L, El-Khechen D, Powis Z, Chao EC, Tippin Davis B, Baxter RM, Zeng W, Mroske C, Parra MC, Gandomi SK, Lu I, Li X, Lu H, Lu HM, Salvador D, Ruble D, Lao M, Fischbach S, Wen J, Lee S, Elliott A, Dunlop CL, Tang S. 2015. Enhanced utility of family-centered diagnostic exome sequencing with inheritance model-based analysis: results from 500 unselected families with undiagnosed genetic conditions. *Genet Med* 17(7):578-586.
- Fischer-Zirnsak B, Segebrecht L, Schubach M, Charles P, Alderman E, Brown K, Cadieux-Dion M, Cartwright T, Chen Y, Costin C, Fehr S, Fitzgerald KM, Fleming E, Foss K, Ha T, Hildebrand G, Horn D, Liu S, Marco EJ, McDonald M, McWalter K, Race S, Rush ET, Si Y, Saunders C, Slavotinek A, Stockler-Ipsiroglu S, Telegrafi A, Thiffault I, Torti E, Tsai AC, Wang X, Zafar M, Keren B, Kornak U, Boerkoel CF, Mirzaa G, Ehmke N. 2019. Haploinsufficiency of the Notch Ligand DLL1 Causes Variable Neurodevelopmental Disorders. *American journal of human genetics* 105(3):631-639.
- Flaherty K, Singh N, Richtsmeier JT. 2016. Understanding craniosynostosis as a growth disorder. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 5(4):429-459.
- Fountain MD, Oleson DS, Rech ME, Segebrecht L, Hunter JV, McCarthy JM, Lupo PJ, Holtgrewe M, Moran R, Rosenfeld JA, Isidor B, Le Caignec C, Saenz MS, Pedersen RC, Morgan TM, Pfothenhauer JP, Xia F, Bi W, Kang SL, Patel A, Krantz ID, Raible SE, Smith W, Cristian I, Torti E, Juusola J, Millan F, Wentzensen IM, Person RE, Kury S, Bezieau S, Uguen K, Ferec C, Munnich A, van Haelst M, Lichtenbelt KD, van Gassen K, Hagelstrom T, Chawla A, Perry DL, Taft RJ, Jones M, Masser-Frye D, Dymont D, Venkateswaran S, Li C, Escobar LF, Horn D, Spielmann RC, Pena L, Wierzbica J, Strom TM, Parenti I, Kaiser FJ, Ehmke N, Schaaf CP. 2019. Pathogenic variants in USP7 cause a neurodevelopmental disorder with speech delays, altered behavior, and neurologic anomalies. *Genet Med* 21(8):1797-1807.
- Freeze HH, Chong JX, Bamshad MJ, Ng BG. 2014. Solving glycosylation disorders: fundamental approaches reveal complicated pathways. *American journal of human genetics* 94(2):161-175.
- Geister KA, Camper SA. 2015. Advances in Skeletal Dysplasia Genetics. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 16:199-227.
- Giampietro PF, Greenlee RT, McPherson E, Benetti LL, Berg RL, Wagner SF. 2006. Acute health events in adult patients with genetic disorders: the Marshfield Epidemiologic Study Area. *Genet Med* 8(8):474-490.
- Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, van de Vorst M, van Bon BW, Willemsen MH, Kwint M, Janssen IM, Hoischen A, Schenck A, Leach R, Klein R, Tearle R, Bo T, Pfundt R, Yntema HG, de Vries BB, Kleefstra T, Brunner HG, Vissers LE, Veltman JA. 2014. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature* 511(7509):344-347.
- Gripp KW, Robbins KM, Sobreira NL, Witmer PD, Bird LM, Avela K, Makitie O, Alves D, Hogue JS, Zackai EH, Doheny KF, Stablesy DL, Sol-Church K. 2015. Truncating mutations in the last exon of NOTCH3 cause lateral meningocele syndrome. *American journal of medical genetics Part A* 167A(2):271-281.
- Gurovich Y, Hanani Y, Bar O, Nadav G, Fleischer N, Gelbman D, Basel-Salmon L, Krawitz PM, Kamphausen SB, Zenker M, Bird LM, Gripp KW. 2019. Identifying facial phenotypes of genetic disorders using deep learning. *Nat Med* 25(1):60-64.
- Haendel M, Vasilevsky N, Unni D, Bologna C, Harris N, Rehm H, Hamosh A, Baynam G, Groza T, McMurry J, Dawkins H, Rath A, Thaxton C, Bocci G, Joachimiak MP, Kohler S, Robinson PN, Mungall C, Oprea TI. 2020. How many rare diseases are there? *Nat Rev Drug Discov* 19(2):77-78.

- Haendel MA, Chute CG, Robinson PN. 2018. Classification, Ontology, and Precision Medicine. *N Engl J Med* 379(15):1452-1462.
- Holick MF. 1989. Will 1,25-dihydroxyvitamin D₃, MC 903, and their analogues herald a new pharmacologic era for the treatment of psoriasis? *Arch Dermatol* 125(12):1692-1697.
- Holtgrewe M, Stolpe O, Nieminen M, Mundlos S, Knaus A, Kornak U, Seelow D, Segebrecht L, Spielmann M, Fischer-Zirnsak B, Boschann F, Scholl U, Ehmke N, Beule D. 2020. VarFish: comprehensive DNA variant analysis for diagnostics and research. *Nucleic acids research*.
- Hombach D, Schuelke M, Knierim E, Ehmke N, Schwarz JM, Fischer-Zirnsak B, Seelow D. 2019. MutationDistiller: user-driven identification of pathogenic DNA variants. *Nucleic acids research* 47(W1):W114-W120.
- Hrabe de Angelis M, McIntyre J, 2nd, Gossler A. 1997. Maintenance of somite borders in mice requires the Delta homologue Dll1. *Nature* 386(6626):717-721.
- Hsieh TC, Mensah MA, Pantel JT, Aguilar D, Bar O, Bayat A, Becerra-Solano L, Bentzen HB, Biskup S, Borisov O, Braaten O, Ciaccio C, Coutelier M, Cremer K, Danyel M, Daschkey S, Eden HD, Devriendt K, Wilson S, Douzgou S, Dukic D, Ehmke N, Fauth C, Fischer-Zirnsak B, Fleischer N, Gabriel H, Graul-Neumann L, Gripp KW, Gurovich Y, Gusina A, Haddad N, Hajjir N, Hanani Y, Hertzberg J, Hoertnagel K, Howell J, Ivanovski I, Kaindl A, Kamphans T, Kamphausen S, Karimov C, Kathom H, Keryan A, Knaus A, Kohler S, Kornak U, Lavrov A, Leitheiser M, Lyon GJ, Mangold E, Reina PM, Carrascal AM, Mitter D, Herrador LM, Nadav G, Nothen M, Orrico A, Ott CE, Park K, Peterlin B, Polsler L, Raas-Rothschild A, Randolph L, Revencu N, Fagerberg CR, Robinson PN, Rosnev S, Rudnik S, Rudolf G, Schatz U, Schossig A, Schubach M, Shanoon O, Sheridan E, Smirin-Yosef P, Spielmann M, Suk EK, Sznajer Y, Thiel CT, Thiel G, Verloes A, Vrecar I, Wahl D, Weber I, Winter K, Wisniewska M, Wollnik B, Yeung MW, Zhao M, Zhu N, Zschocke J, Mundlos S, Horn D, Krawitz PM. 2019. PEDIA: prioritization of exome data by image analysis. *Genet Med* 21(12):2807-2814.
- Huber C, Oules B, Bertoli M, Chami M, Fradin M, Alanay Y, Al-Gazali LI, Ausems MG, Bitoun P, Cavalcanti DP, Krebs A, Le Merrer M, Mortier G, Shafeghati Y, Superti-Furga A, Robertson SP, Le Goff C, Muda AO, Paterlini-Brechot P, Munnich A, Cormier-Daire V. 2009. Identification of CANT1 mutations in Desbuquois dysplasia. *American journal of human genetics* 85(5):706-710.
- Hunter DR, Haworth RA. 1979. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria. I. The protective mechanisms. *Arch Biochem Biophys* 195(2):453-459.
- Hyrskyluoto A, Vartiainen MK. 2020. Regulation of nuclear actin dynamics in development and disease. *Curr Opin Cell Biol* 64:18-24.
- Kakuda S, Haltiwanger RS. 2017. Deciphering the Fringe-Mediated Notch Code: Identification of Activating and Inhibiting Sites Allowing Discrimination between Ligands. *Dev Cell* 40(2):193-201.
- Kamphans T, Krawitz PM. 2012. GeneTalk: an expert exchange platform for assessing rare sequence variants in personal genomes. *Bioinformatics* 28(19):2515-2516.
- Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, Collins RL, Laricchia KM, Ganna A, Birnbaum DP, Gauthier LD, Brand H, Solomonson M, Watts NA, Rhodes D, Singer-Berk M, England EM, Seaby EG, Kosmicki JA, Walters RK, Tashman K, Farjoun Y, Banks E, Poterba T, Wang A, Seed C, Whiffin N, Chong JX, Samocha KE, Pierce-Hoffman E, Zappala Z, O'Donnell-Luria AH, Minikel EV, Weisburd B, Lek M, Ware JS, Vittal C, Armean IM, Bergelson L, Cibulskis K, Connolly KM, Covarrubias M, Donnelly S, Ferriera S, Gabriel S, Gentry J, Gupta N, Jeandet T, Kaplan D, Llanwarne C, Munshi R, Novod S, Petrillo N, Roazen D, Ruano-Rubio V, Saltzman A, Schleicher M, Soto J, Tibbetts K, Tolonen C, Wade G, Talkowski ME, Neale BM, Daly MJ, MacArthur DG. 2019. Variation across 141,456 human exomes and genomes reveals the spectrum of loss-of-function intolerance across human protein-coding genes. *bioRxiv*:531210.
- Kasahara A, Scorrano L. 2014. Mitochondria: from cell death executioners to regulators of cell differentiation. *Trends Cell Biol* 24(12):761-770.
- Kohler S, Doelken SC, Mungall CJ, Bauer S, Firth HV, Bailleul-Forestier I, Black GC, Brown DL, Brudno M, Campbell J, FitzPatrick DR, Eppig JT, Jackson AP, Freson K, Girdea M, Helbig I, Hurst JA, Jahn J, Jackson LG, Kelly AM, Ledbetter DH, Mansour S, Martin CL, Moss C, Mumford A, Ouwehand WH, Park SM, Riggs ER, Scott RH, Sisodiya S, Van Vooren S, Wapner RJ, Wilkie AO, Wright CF, Vulto-van Silfhout AT, de Leeuw N, de Vries BB, Washington NL, Smith CL, Westerfield M, Schofield P, Ruef BJ, Gkoutos GV, Haendel M, Smedley D, Lewis SE, Robinson PN. 2014. The Human Phenotype Ontology project: linking molecular biology and disease through phenotype data. *Nucleic acids research* 42(Database issue):D966-974.
- Kronenberg HM. 2003. Developmental regulation of the growth plate. *Nature* 423(6937):332-336.

- Kwong JQ, Molkentin JD. 2015. Physiological and pathological roles of the mitochondrial permeability transition pore in the heart. *Cell Metab* 21(2):206-214.
- Latham SL, Ehmke N, Reinke PYA, Taft MH, Eicke D, Reindl T, Stenzel W, Lyons MJ, Friez MJ, Lee JA, Hecker R, Fruhwald MC, Becker K, Neuhaus TM, Horn D, Schrock E, Niehaus I, Sarnow K, Grutzmann K, Gawehn L, Klink B, Rump A, Chaponnier C, Figueiredo C, Knofler R, Manstein DJ, Di Donato N. 2018. Variants in exons 5 and 6 of ACTB cause syndromic thrombocytopenia. *Nat Commun* 9(1):4250.
- Li B, Balasubramanian K, Krakow D, Cohn DH. 2017. Genes uniquely expressed in human growth plate chondrocytes uncover a distinct regulatory network. *BMC Genomics* 18(1):983.
- Li Y, Laue K, Temtamy S, Aglan M, Kotan LD, Yigit G, Canan H, Pawlik B, Nurnberg G, Wakeling EL, Quarrell OW, Baessmann I, Lanktree MB, Yilmaz M, Hegele RA, Amr K, May KW, Nurnberg P, Topaloglu AK, Hammerschmidt M, Wollnik B. 2010. Temtamy preaxial brachydactyly syndrome is caused by loss-of-function mutations in chondroitin synthase 1, a potential target of BMP signaling. *American journal of human genetics* 87(6):757-767.
- Louvi A, Artavanis-Tsakonas S. 2006. Notch signalling in vertebrate neural development. *Nat Rev Neurosci* 7(2):93-102.
- Louvi A, Artavanis-Tsakonas S. 2012. Notch and disease: a growing field. *Semin Cell Dev Biol* 23(4):473-480.
- Macnamara EF, Schoch K, Kelley EG, Fieg E, Brokamp E, Undiagnosed Diseases N, Signer R, LeBlanc K, McConkie-Rosell A, Palmer CGS. 2019. Cases from the Undiagnosed Diseases Network: The continued value of counseling skills in a new genomic era. *J Genet Couns* 28(2):194-201.
- Maher B. 2012. ENCODE: The human encyclopaedia. *Nature* 489(7414):46-48.
- Mak CCY, Doherty D, Lin AE, Vegas N, Cho MT, Viot G, Dimartino C, Weisfeld-Adams JD, Lessel D, Joss S, Li C, Gonzaga-Jauregui C, Zarate YA, Ehmke N, Horn D, Troyer C, Kant SG, Lee Y, Ishak GE, Leung G, Barone Pritchard A, Yang S, Bend EG, Filippini F, Roadhouse C, Lebrun N, Mehaffey MG, Martin PM, Apple B, Millan F, Puk O, Hoffer MJV, Henderson LB, McGowan R, Wentzensen IM, Pei S, Zahir FR, Yu M, Gibson WT, Seman A, Steeves M, Murrell JR, Luettgen S, Francisco E, Strom TM, Amlie-Wolf L, Kaindl AM, Wilson WG, Halbach S, Basel-Salmon L, Lev-El N, Denecke J, Vissers L, Radtke K, Chelly J, Zackai E, Friedman JM, Bamshad MJ, Nickerson DA, University of Washington Center for Mendelian G, Reid RR, Devriendt K, Chae JH, Stolerman E, McDougall C, Powis Z, Bienvenu T, Tan TY, Orenstein N, Dobyns WB, Shieh JT, Choi M, Waggoner D, Gripp KW, Parker MJ, Stoler J, Lyonnet S, Cormier-Daire V, Viskochil D, Hoffman TL, Amiel J, Chung BHY, Gordon CT. 2020. MN1 C-terminal truncation syndrome is a novel neurodevelopmental and craniofacial disorder with partial rhombencephalosynapsis. *Brain* 143(1):55-68.
- Marzin P, Cormier-Daire V. 2020. New perspectives on the treatment of skeletal dysplasia. *Ther Adv Endocrinol Metab* 11:2042018820904016.
- Meester JA, Southgate L, Stittrich AB, Venselaar H, Beekmans SJ, den Hollander N, Bijlsma EK, Helderma-van den Enden A, Verheij JB, Glusman G, Roach JC, Lehman A, Patel MS, de Vries BB, Ruivenkamp C, Itin P, Prescott K, Clarke S, Trembath R, Zenker M, Sukalo M, Van Laer L, Loeys B, Wuyts W. 2015. Heterozygous Loss-of-Function Mutations in DLL4 Cause Adams-Oliver Syndrome. *American journal of human genetics* 97(3):475-482.
- Mehrjouy MM, Fonseca ACS, Ehmke N, Paskulin G, Novelli A, Benedicenti F, Mencarelli MA, Renieri A, Busa T, Missirian C, Hansen C, Abe KT, Speck-Martins CE, Vianna-Morgante AM, Bak M, Tommerup N. 2018. Regulatory variants of FOXP1 in the context of its topological domain organisation. *Eur J Hum Genet* 26(2):186-196.
- Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, Arnold WD, Rodino-Klapac LR, Prior TW, Lowes L, Alfano L, Berry K, Church K, Kissel JT, Nagendran S, L'Italien J, Sproule DM, Wells C, Cardenas JA, Heitzer MD, Kaspar A, Corcoran S, Braun L, Likhite S, Miranda C, Meyer K, Foust KD, Burghes AHM, Kaspar BK. 2017. Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med* 377(18):1713-1722.
- Menke LA, van Belzen MJ, Alders M, Cristofoli F, Study DDD, Ehmke N, Fergelot P, Foster A, Gerkes EH, Hoffer MJ, Horn D, Kant SG, Lacombe D, Leon E, Maas SM, Melis D, Muto V, Park SM, Peeters H, Peters DJ, Pfundt R, van Ravenswaaij-Arts CM, Tartaglia M, Hennekam RC. 2016. CREBBP mutations in individuals without Rubinstein-Taybi syndrome phenotype. *American journal of medical genetics Part A* 170(10):2681-2693.
- Moriarty JL, Hurt KJ, Resnick AC, Storm PB, Laroy W, Schnaar RL, Snyder SH. 2002. UDP-glucuronate decarboxylase, a key enzyme in proteoglycan synthesis: cloning, characterization, and localization. *The Journal of biological chemistry* 277(19):16968-16975.
- Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V, Hall C, Krakow D, Mundlos S, Nishimura G, Robertson S, Sangiorgi L, Savarirayan R, Sillence D, Superti-Furga A, Unger S, Warman ML. 2019.

- Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision. *American journal of medical genetics Part A* 179(12):2393-2419.
- Nizon M, Alanay Y, Tuysuz B, Kiper PO, Genevieve D, Sillence D, Huber C, Munnich A, Cormier-Daire V. 2012a. IMPAD1 mutations in two Catel-Manzke like patients. *American journal of medical genetics Part A* 158A(9):2183-2187.
- Nizon M, Huber C, De Leonardis F, Merrina R, Forlino A, Fradin M, Tuysuz B, Abu-Libdeh BY, Alanay Y, Albrecht B, Al-Gazali L, Basaran SY, Clayton-Smith J, Desir J, Gill H, Grealley MT, Koparir E, van Maarle MC, MacKay S, Mortier G, Morton J, Sillence D, Vilain C, Young I, Zerres K, Le Merrer M, Munnich A, Le Goff C, Rossi A, Cormier-Daire V. 2012b. Further delineation of CANT1 phenotypic spectrum and demonstration of its role in proteoglycan synthesis. *Human mutation* 33(8):1261-1266.
- Nunoi H, Yamazaki T, Tsuchiya H, Kato S, Malech HL, Matsuda I, Kanegasaki S. 1999. A heterozygous mutation of beta-actin associated with neutrophil dysfunction and recurrent infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(15):8693-8698.
- Peddibhotla S, Nagamani SC, Erez A, Hunter JV, Holder JL, Jr., Carlin ME, Bader PI, Perras HM, Allanson JE, Newman L, Simpson G, Immken L, Powell E, Mohanty A, Kang SH, Stankiewicz P, Bacino CA, Bi W, Patel A, Cheung SW. 2015. Delineation of candidate genes responsible for structural brain abnormalities in patients with terminal deletions of chromosome 6q27. *Eur J Hum Genet* 23(1):54-60.
- Perez MJ, Quintanilla RA. 2017. Development or disease: duality of the mitochondrial permeability transition pore. *Dev Biol* 426(1):1-7.
- Polinkovsky A, Robin NH, Thomas JT, Irons M, Lynn A, Goodman FR, Reardon W, Kant SG, Brunner HG, van der Burgt I, Chitayat D, McGaughan J, Donnai D, Luyten FP, Warman ML. 1997. Mutations in CDMP1 cause autosomal dominant brachydactyly type C. *Nature genetics* 17(1):18-19.
- Redin C, Brand H, Collins RL, Kammin T, Mitchell E, Hodge JC, Hanscom C, Pillalamarri V, Seabra CM, Abbott MA, Abdul-Rahman OA, Aberg E, Adley R, Alcaraz-Estrada SL, Alkuraya FS, An Y, Anderson MA, Antolik C, Anyane-Yeboa K, Atkin JF, Bartell T, Bernstein JA, Beyer E, Blumenthal I, Bongers EM, Brilstra EH, Brown CW, Bruggenwirth HT, Callewaert B, Chiang C, Corning K, Cox H, Cuppen E, Currall BB, Cushing T, David D, Deardorff MA, Dheedene A, D'Hooghe M, de Vries BB, Earl DL, Ferguson HL, Fisher H, FitzPatrick DR, Gerrol P, Giachino D, Glessner JT, Gliem T, Grady M, Graham BH, Griffis C, Gripp KW, Gropman AL, Hanson-Kahn A, Harris DJ, Hayden MA, Hill R, Hochstenbach R, Hoffman JD, Hopkin RJ, Hubshman MW, Innes AM, Irons M, Irving M, Jacobsen JC, Janssens S, Jewett T, Johnson JP, Jongmans MC, Kahler SG, Koolen DA, Korzelius J, Kroisel PM, Lacassie Y, Lawless W, Lemyre E, Leppig K, Levin AV, Li H, Li H, Liao EC, Lim C, Lose EJ, Lucente D, Macera MJ, Manavalan P, Mandrile G, Marcelis CL, Margolin L, Mason T, Masser-Frye D, McClellan MW, Mendoza CJ, Menten B, Middelkamp S, Mikami LR, Moe E, Mohammed S, Mononen T, Mortenson ME, Moya G, Nieuwint AW, Ordulu Z, Parkash S, Pauker SP, Pereira S, Perrin D, Phelan K, Aguilar RE, Poddighe PJ, Pregno G, Raskin S, Reis L, Rhead W, Rita D, Renkens I, Roelens F, Ruliera J, Rump P, Schilit SL, Shaheen R, Sparkes R, Spiegel E, Stevens B, Stone MR, Tagoe J, Thakuria JV, van Bon BW, van de Kamp J, van Der Burgt I, van Essen T, van Ravenswaaij-Arts CM, van Roosmalen MJ, Vergult S, Volker-Touw CM, Warburton DP, Waterman MJ, Wiley S, Wilson A, Yereña-de Vega MC, Zori RT, Levy B, Brunner HG, de Leeuw N, Kloosterman WP, Thorland EC, Morton CC, Gusella JF, Talkowski ME. 2017. The genomic landscape of balanced cytogenetic abnormalities associated with human congenital anomalies. *Nature genetics* 49(1):36-45.
- Riley BB, Chiang MY, Storch EM, Heck R, Buckles GR, Lekven AC. 2004. Rhombomere boundaries are Wnt signaling centers that regulate metameric patterning in the zebrafish hindbrain. *Dev Dyn* 231(2):278-291.
- Riviere JB, van Bon BW, Hoischen A, Kholmanskikh SS, O'Roak BJ, Gilissen C, Gijzen S, Sullivan CT, Christian SL, Abdul-Rahman OA, Atkin JF, Chassaing N, Drouin-Garraud V, Fry AE, Fryns JP, Gripp KW, Kempers M, Kleefstra T, Mancini GM, Nowaczyk MJ, van Ravenswaaij-Arts CM, Roscioli T, Marble M, Rosenfeld JA, Siu VM, de Vries BB, Shendure J, Verloes A, Veltman JA, Brunner HG, Ross ME, Pilz DT, Dobyns WB. 2012. De novo mutations in the actin genes ACTB and ACTG1 cause Baraitser-Winter syndrome. *Nature genetics* 44(4):440-444, S441-442.
- Santen GW, Aten E, Sun Y, Almomani R, Gilissen C, Nielsen M, Kant SG, Snoeck IN, Peeters EA, Hilhorst-Hofstee Y, Wessels MW, den Hollander NS, Ruivenkamp CA, van Ommen GJ, Breuning MH, den Dunnen JT, van Haeringen A, Kriek M. 2012. Mutations in SWI/SNF chromatin remodeling complex gene ARID1B cause Coffin-Siris syndrome. *Nature genetics* 44(4):379-380.

- Schoner K, Bald R, Horn D, Rehder H, Kornak U, Ehmke N. 2017. Mutations in TGDS associated with additional malformations of the middle fingers and halluces: Atypical Catel-Manzke syndrome in a fetus. *American journal of medical genetics Part A* 173(6):1694-1697.
- Schubert S, Bollag G, Shannon K. 2007. Deregulated Ras signaling in developmental disorders: new tricks for an old dog. *Curr Opin Genet Dev* 17(1):15-22.
- Shendure J. 2011. Next-generation human genetics. *Genome Biol* 12(9):408.
- Shi H, Enriquez A, Rapadas M, Martin E, Wang R, Moreau J, Lim CK, Szot JO, Ip E, Hughes JN, Sugimoto K, Humphreys DT, McInerney-Leo AM, Leo PJ, Maghzal GJ, Halliday J, Smith J, Colley A, Mark PR, Collins F, Sillence DO, Winlaw DS, Ho JWK, Guillemin GJ, Brown MA, Kikuchi K, Thomas PQ, Stocker R, Giannoulatou E, Chapman G, Duncan EL, Sparrow DB, Dunwoodie SL. 2017. NAD Deficiency, Congenital Malformations, and Niacin Supplementation. *N Engl J Med* 377(6):544-552.
- Shimojo H, Kageyama R. 2016. Oscillatory control of Delta-like1 in somitogenesis and neurogenesis: A unified model for different oscillatory dynamics. *Semin Cell Dev Biol* 49:76-82.
- Smedley D, Jacobsen JO, Jager M, Kohler S, Holtgrewe M, Schubach M, Siragusa E, Zemojtel T, Buske OJ, Washington NL, Bone WP, Haendel MA, Robinson PN. 2015. Next-generation diagnostics and disease-gene discovery with the Exomiser. *Nature protocols* 10(12):2004-2015.
- Smedley D, Schubach M, Jacobsen JOB, Kohler S, Zemojtel T, Spielmann M, Jager M, Hochheiser H, Washington NL, McMurry JA, Haendel MA, Mungall CJ, Lewis SE, Groza T, Valentini G, Robinson PN. 2016. A Whole-Genome Analysis Framework for Effective Identification of Pathogenic Regulatory Variants in Mendelian Disease. *American journal of human genetics* 99(3):595-606.
- Sobreira N, Schiettecatte F, Valle D, Hamosh A. 2015. GeneMatcher: a matching tool for connecting investigators with an interest in the same gene. *Human mutation* 36(10):928-930.
- Sparrow DB, Chapman G, Smith AJ, Mattar MZ, Major JA, O'Reilly VC, Saga Y, Zackai EH, Dormans JP, Alman BA, McGregor L, Kageyama R, Kusumi K, Dunwoodie SL. 2012. A mechanism for gene-environment interaction in the etiology of congenital scoliosis. *Cell* 149(2):295-306.
- Spence EF, Soderling SH. 2015. Actin Out: Regulation of the Synaptic Cytoskeleton. *The Journal of biological chemistry* 290(48):28613-28622.
- Stittrich AB, Lehman A, Bodian DL, Ashworth J, Zong Z, Li H, Lam P, Khromykh A, Iyer RK, Vockley JG, Baveja R, Silva ES, Dixon J, Leon EL, Solomon BD, Glusman G, Niederhuber JE, Roach JC, Patel MS. 2014. Mutations in NOTCH1 cause Adams-Oliver syndrome. *American journal of human genetics* 95(3):275-284.
- Stricker S, Mundlos S. 2011. Mechanisms of digit formation: Human malformation syndromes tell the story. *Dev Dyn* 240(5):990-1004.
- Tan TY, Dillon OJ, Stark Z, Schofield D, Alam K, Shrestha R, Chong B, Phelan D, Brett GR, Creed E, Jarmolowicz A, Yap P, Walsh M, Downie L, Amor DJ, Savarirayan R, McGillivray G, Yeung A, Peters H, Robertson SJ, Robinson AJ, Macciocca I, Sadein S, Bell K, Oshlack A, Georgeson P, Thorne N, Gaff C, White SM. 2017. Diagnostic Impact and Cost-effectiveness of Whole-Exome Sequencing for Ambulant Children With Suspected Monogenic Conditions. *JAMA Pediatr* 171(9):855-862.
- Tang H, Thomas PD. 2016. Tools for Predicting the Functional Impact of Nonsynonymous Genetic Variation. *Genetics* 203(2):635-647.
- Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J, Rasko JEJ, Ribeil JA, Hongeng S, Magrin E, Schiller GJ, Payen E, Semeraro M, Moshous D, Lefrere F, Puy H, Bourget P, Magnani A, Caccavelli L, Diana JS, Suarez F, Monpoux F, Brousse V, Poirot C, Brouzes C, Meritet JF, Pondarre C, Beuzard Y, Chretien S, Lefebvre T, Teachey DT, Anurathapan U, Ho PJ, von Kalle C, Kletzel M, Vichinsky E, Soni S, Veres G, Negre O, Ross RW, Davidson D, Petrusich A, Sandler L, Asmal M, Hermine O, De Montalembert M, Hacein-Bey-Abina S, Blanche S, Leboulch P, Cavazzana M. 2018. Gene Therapy in Patients with Transfusion-Dependent beta-Thalassemia. *N Engl J Med* 378(16):1479-1493.
- Twigg SR, Wilkie AO. 2015. A Genetic-Pathophysiological Framework for Craniosynostosis. *American journal of human genetics* 97(3):359-377.
- van Bokhoven H. 2011. Genetic and epigenetic networks in intellectual disabilities. *Annu Rev Genet* 45:81-104.
- van Deutekom JC, Janson AA, Ginjaar IB, Frankhuizen WS, Aartsma-Rus A, Bremmer-Bout M, den Dunnen JT, Koop K, van der Kooij AJ, Goemans NM, de Kimpe SJ, Ekhardt PF, Venneker EH, Platenburg GJ, Verschuuren JJ, van Ommen GJ. 2007. Local dystrophin restoration with antisense oligonucleotide PRO051. *N Engl J Med* 357(26):2677-2686.
- Velle KB, Fritz-Laylin LK. 2019. Diversity and evolution of actin-dependent phenotypes. *Curr Opin Genet Dev* 58-59:40-48.

- Vissers LE, Gilissen C, Veltman JA. 2016. Genetic studies in intellectual disability and related disorders. *Nat Rev Genet* 17(1):9-18.
- Vissers LE, Lausch E, Unger S, Campos-Xavier AB, Gilissen C, Rossi A, Del Rosario M, Venselaar H, Knoll U, Nampoothiri S, Nair M, Spranger J, Brunner HG, Bonafe L, Veltman JA, Zabel B, Superti-Furga A. 2011. Chondrodysplasia and abnormal joint development associated with mutations in IMPAD1, encoding the Golgi-resident nucleotide phosphatase, gPAPP. *American journal of human genetics* 88(5):608-615.
- Wendt DJ, Dvorak-Ewell M, Bullens S, Lorget F, Bell SM, Peng J, Castillo S, Aoyagi-Scharber M, O'Neill CA, Krejci P, Wilcox WR, Rimoin DL, Bunting S. 2015. Neutral endopeptidase-resistant C-type natriuretic peptide variant represents a new therapeutic approach for treatment of fibroblast growth factor receptor 3-related dwarfism. *J Pharmacol Exp Ther* 353(1):132-149.
- Witzl K, Maver A, Kovacic L, Martinez-Valero P, Contreras L, Satrustegui J, Castori M, Faivre L, Lapunzina P, van Kuilenburg ABP, Radovic S, Thauvin-Robinet C, Peterlin B, Del Arco A, Hennekam RC. 2017. De Novo Mutations in SLC25A24 Cause a Disorder Characterized by Early Aging, Bone Dysplasia, Characteristic Face, and Early Demise. *American journal of human genetics* 101(5):844-855.
- Yan Z, Kim E, Datta D, Lewis DA, Soderling SH. 2016. Synaptic Actin Dysregulation, a Convergent Mechanism of Mental Disorders? *J Neurosci* 36(45):11411-11417.
- Zemojtel T, Kohler S, Mackenroth L, Jager M, Hecht J, Krawitz P, Graul-Neumann L, Doelken S, Ehmke N, Spielmann M, Oien NC, Schweiger MR, Kruger U, Frommer G, Fischer B, Kornak U, Flottmann R, Ardeshirdavani A, Moreau Y, Lewis SE, Haendel M, Smedley D, Horn D, Mundlos S, Robinson PN. 2014. Effective diagnosis of genetic disease by computational phenotype analysis of the disease-associated genome. *Sci Transl Med* 6(252):252ra123.
- Zenker M. 2011. Clinical manifestations of mutations in RAS and related intracellular signal transduction factors. *Curr Opin Pediatr* 23(4):443-451.

6. Danksagung

Mein Dank geht als erstes an Herrn Prof. Dr. Stefan Mundlos für die Ermöglichung meine Forschungsprojekte mit viel Freiheit zu verfolgen, und an Herrn Prof. Dr. Uwe Kornak für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und seine jahrelange Unterstützung als wissenschaftlicher Mentor. Ganz besonders möchte ich auch Herrn Dr. Björn Fischer-Zirnsak für seine hilfreiche Unterstützung als Freund und Kollege, und die tolle Zusammenarbeit danken, die immer Spaß gemacht hat. Herrn Prof. Dr. Peter Krawitz danke ich für die Einführung in die NGS-Auswertung und seine hilfreichen Tipps, die gerade zu Beginn meiner wissenschaftlichen Tätigkeit essentiell für mein Vorankommen waren. Sehr dankbar bin ich auch für die Möglichkeit, seit vielen Jahren mit Frau Prof. Dr. Denise Horn zusammenarbeiten und von ihr lernen zu dürfen. Sowohl die klinische als auch wissenschaftliche gemeinsame Tätigkeit waren und sind sehr bereichernd. Danken möchte ich Frau cand. med. Lara Segebrecht und Frau cand. med. Hannah Kemmer für die schöne und hoffentlich auch zukünftig andauernde Arbeit an unseren gemeinsamen Projekten. Mein ganz besonderer Dank für die jahrelange Zusammenarbeit und Unterstützung geht an die anderen Kollegen des Instituts für Medizinische Genetik und Humangenetik der Charité, insbesondere auch an Frau Dr. Luitgard Graul-Neumann für die tolle gemeinsame Arbeit vor allem am *SLC25A24*-Projekt, an Frau Gabriele Hildebrand und Frau Susanne Rothe, an die Mitarbeiter der Arbeitsgruppe Kornak und an alle aktuellen und ehemaligen Assistenz- und zukünftigen Fachärzte, an Frau Anke Wittwer, Frau Karin Schmidt, Frau Katrin Faustmann und Frau Melanie Strese. Hierfür danke ich auch den Mitarbeitern der Forschungsgruppe „Development and Disease“ am Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik.

Herr Prof. Dr. Peter Meinecke hat mein Interesse am Gebiet der angeborenen Skelettfehlbildungen geweckt. Hierfür und auch für seine Unterstützung möchte ich mich ganz herzlich bedanken. Frau Dr. Saskia Kleier, Frau Dr. Usha Peters und Frau Dr. Rixa Woitschach danke ich für das erste lehrreiche Jahr in der Humangenetik, in dem ich die Möglichkeit hatte viele wertvolle klinische Erfahrungen zu sammeln, die mir auch später sehr von Nutzen waren. Herrn Dr. Manuel Holtgrewe und Herrn Prof. Dr. Dominik Seelow danke ich für die inspirierende Zusammenarbeit und Herrn Dr. Malte Spielmann für seine vielen hilfreichen Ratschläge. Allen nationalen und internationalen Kooperationspartnern, insbesondere Herrn Prof. Dr. Rainer Koenig, Herrn Dr. Carlos Ferreira, Frau Dr. Natalya Di Donato, Frau Dr. Almuth Caliebe und Frau Dr. Ghayda Mirzaa möchte ich ganz herzlich danken, sowie Frau Prof. Dr. Duska Dragun und der Nachwuchskommission der Charité für die sehr förderliche

Unterstützung durch das Clinician Scientist Programm und das Rahel-Hirsch-Stipendium. Frau cand. med. Julia Babigian danke ich für das Korrekturlesen.

Ich danke meinen Eltern für ihre fortwährende Unterstützung, und insbesondere danke ich meinem Vater für seine wertvollen fachlichen Ratschläge, die mir in vielen Situationen geholfen haben. Herrn Dr. Max Schubach danke ich für seine zuverlässige wissenschaftliche und emotionale Unterstützung, die vieles leichter gemacht hat. Zuletzt und ganz besonders möchte ich den Patienten und Patientinnen sowie ihren Familien für die Bereitschaft zur Teilnahme an unseren Forschungsprojekten danken, welche ohne sie nicht möglich gewesen wären. Ich hoffe, dass die aus unserer Arbeit gewonnenen Erkenntnisse ihnen und anderen Menschen mit seltenen Erkrankungen weiterhelfen.

7. Erklärung

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Gute Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Berlin, den 20. Mai 2020