

Aus dem

Friedrich-Baur-Institut an der Neurologischen Klinik und Poliklinik

(Direktor Prof. Dr. G. Höglinger)

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Geschäftsführende Fachmentorin: Prof. Dr. Marianne Dieterich

(ehemalige Direktorin der  
Neurologischen Klinik und Poliklinik, Klinikum der Universität München)

## **Untersuchungen der molekularen Pathologie bei myotoner Dystrophie**

Kumulative Habilitationsschrift zu Erlangung der Venia Legendi für das  
Fach Experimentelle Neurologie

vorgelegt von

Dr. rer. med. Peter Meinke

2023

# Inhaltsverzeichnis

## Thema: Untersuchungen der molekularen Pathologie bei myotoner Dystrophie

<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>5</b>
<b>Einleitung</b>	
Myotone Dystrophien .....	6
Symptomatik .....	6
Genetik .....	8
Epidemiologie .....	9
Pathomechanismus .....	9
RNA-Toxizität .....	10
Haploinsuffizienz .....	14
Expressionsveränderungen benachbarter Gene .....	15
RAN-Translation .....	15
MicroRNA-Fehlregulation .....	17
Epigenetische Veränderungen .....	18
Fehlregulation zirkulärer RNAs .....	19
RNA-Interferenz .....	19
Mechanismus der Repeat-Expansion .....	20
Therapeutische Strategien .....	21
Kernmembran-assoziierte hereditäre Erkrankungen .....	22
Aufbau der Kernmembran .....	24
<b>Zielsetzung der habilitationsrelevanten Arbeiten</b> .....	<b>25</b>

**Ergebnisse und Diskussion der habilitationsrelevanten Arbeiten**

CTG-repeat detection in primary human myoblasts of myotonic dystrophy type 1	26
Myotonic dystrophy – a progeroid disease?	28
The cell wide web coordinates cellular processes by directing site-specific Ca <sup>2+</sup> flux through cytoplasmic nanocourses	30
Nuclear envelope transmembrane proteins in myotonic dystrophy type 1	32
A multistage sequencing strategy pinpoints novel candidate alleles for Emery-Dreifuss muscular dystrophy and supports gene misregulation as its pathomechanism	33
Transcriptome analysis in a primary human muscle cell differentiation model for myotonic dystrophy type 1	35
Metabolic, fibrotic and splicing pathways are all altered in Emery-Dreifuss muscular dystrophy spectrum patients to differing degrees	37
Nuclear envelope transmembrane proteins involved in genome organization are misregulated in myotonic dystrophy type 1 muscle	39
<b>Zusammenfassung der habilitationsrelevanten Arbeiten</b>	<b>42</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>44</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>59</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>61</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>62</b>
<b>Schriftenverzeichnis</b>	
Originalarbeiten als Erst- oder Letztautor	63
Originalarbeiten als Koautor	65
Übersichtsarbeiten	66
Buchkapitel	66
<b>Danksagungen</b>	<b>67</b>
<b>Erklärungen</b>	<b>68</b>

**Anhang der habilitationsrelevanten Originalarbeiten**

CTG-repeat detection in primary human myoblasts of myotonic dystrophy type 1.....	69
Myotonic dystrophy – a progeroid disease?.....	70
The cell wide web coordinates cellular processes by directing site-specific Ca <sup>2+</sup> flux through cytoplasmic nanocourses.....	71
Nuclear envelope transmembrane proteins in myotonic dystrophy type 1.....	72
A multistage sequencing strategy pinpoints novel candidate alleles for Emery-Dreifuss muscular dystrophy and supports gene misregulation as its pathomechanism.....	73
Transcriptome analysis in a primary human muscle cell differentiation model for myotonic dystrophy type 1.....	74
Metabolic, fibrotic and splicing pathways are all altered in Emery-Dreifuss muscular dystrophy spectrum patients to differing degrees.....	75
Nuclear envelope transmembrane proteins involved in genome organization are misregulated in myotonic dystrophy type 1 muscle.....	76

## Zusammenfassung

Das vorliegende Habilitationsprojekt befasst sich mit den molekularen Grundlagen myotoner Dystrophien (DMs). Bei DMs handelt es sich um autosomal dominant vererbte Multisystemerkrankungen, für die Dekontraktionshemmungen (Myotonie) und Muskelschwund namensgebend sind. Patienten leiden unter einer deutlichen Verminderung der Lebensqualität und es kommt zu einer verfrühten Letalität. Unterschiedliche Teilmechanismen, die das weite Spektrum der Ausprägung der klinischen Symptome der DMs potentiell erklären können, sind bereits beschrieben. Trotzdem ist die Molekularpathogenese der DMs weiter in vielen Details nicht geklärt.

Das Ziel dieses Habilitationsprojektes ist es, weitere Bausteine zu molekularpathogenetischen Prozesse in DMs zu erforschen. Ein besonderer Fokus liegt dabei auf den multisystemischen Aspekten, die zum klinischen Bild einer vorzeitigen Alterung führen. Im Fokus steht auch die molekulare Überlappung zu Erkrankungen der Kernmembran – insbesondere Muskeldystrophien und progeroide Syndrome.

Diese Arbeit zeigt erstmals im Detail, dass die Kernmembran in myotoner Dystrophie Typ 1 (DM1, Curschmann-Steinert'sche Erkrankung) strukturell verändert ist, und dass mehrere Kernmembranproteine differentiell exprimiert oder gespleißt sind. Diese Veränderungen haben Auswirkungen auf die Proliferationsfähigkeit vieler Zellen, und sind somit wahrscheinlich am multisystemischen klinischen Erscheinungsbild des vorzeitigen Alterns (segmentale Progerie) beteiligt. Weiterhin ist die gewebsspezifische Genom-Organisation im Skelettmuskel verändert, was eine molekulare Überlappung zu Kernmembranerkrankungen darstellt. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass es zu umfangreicheren Veränderungen beim Spleißen kommt als zuvor angenommen, und dass Spleiß-Defekte auch in Muskeldystrophien, die durch Mutationen in Kernmembranproteinen verursacht werden, auftreten. Die gewonnenen Ergebnisse erweitert nicht nur das Wissen über die Relevanz des Spleißens in Muskelerkrankungen, sondern fügt die Myotone Dystrophie Typ 1 auch zur Liste der Kernmembranerkrankungen hinzu.

## **Einleitung**

### **Myotone Dystrophien**

Bei myotonen Dystrophien (*Dystrophia myotonica*; DM) handelt es sich um hereditäre Muskelerkrankungen. Es wird zwischen Typ 1 (DM1, auch Curschmann-Steinert-Erkrankung) (Steinert, 1909) und Typ 2 (DM2, auch proximale myotone Myopathie (PROMM) oder Ricker'sche Erkrankung) (Ricker et al., 1994) unterschieden. Bei beiden Typen kommt es primär zu Muskelsteifheit, Muskelschwäche und Muskelatrophie. Zusätzlich zur Skelettmuskulatur sind in der Regel auch das Zentralnervensystem, das Herz, die glatte Muskulatur und der Hormonhaushalt betroffen, was die DM zu einer multisystemischen Erkrankung macht. In der DM1 variiert das Alter der Erstmanifestation von kongenital, über Beginn in der Kindheit, über das Erwachsenenalter, bis hin zu asymptomatischen Individuen. Die DM2 verläuft generell etwas moderater, mit Erstmanifestation im Erwachsenenalter. Bei den klinischen Symptomen besteht eine extreme Variabilität, es können einzelne Symptome oder ein komplexer Phänotyp vorliegen. Während ein milder Verlauf der DM1 eine normale oder minimal verkürzte Lebensspanne zur Folge hat, kommt es bei einer klassischen Krankheitsausprägung (etwa 70% der Patienten) zu einer deutlich reduzierten Lebensdauer (Turner and Hilton-Jones, 2014; Schoser, 2020; Bird, 2021).

### ***Symptomatik***

Muskelschwäche gehört zu den häufigsten Symptomen der DMs. Bei Betroffenen mit DM1 tritt dies bei mehr als 45% der Patienten mit Erkrankungsbeginn im Erwachsenenalter auf (De Antonio et al., 2016), in DM2 bei 40-55% aller Patienten (Montagnese et al., 2017). Bei DM1 tritt typischerweise eine distale Muskelschwäche und -atrophie auf. In der Regel sind dabei die Finger- und Handgelenkbeuger sowie der Fußstrecker betroffen (Wenninger et al., 2018). Bei DM2 kommt es hingegen zu einer proximalen Muskelschwäche, bei der in der Regel Nackenbeuger sowie Hüftbeuger und -strecker betroffen sind (Day et al., 2003; Montagnese et al., 2017; Schoser, 2020). Auch eine Beteiligung der Atemmuskulatur ist möglich, allerdings bei DM1 mit einer größeren Häufigkeit als bei der DM2 (Reardon et al., 1993; Sansone and Gagnon, 2015; Wenninger et al., 2018).

Ein weiteres häufiges Symptom ist Myotonie, eine verzögerte Entspannung (Dekontraktion) und dadurch krankhaft verlängerte, tonische Muskelanspannung. Bei DM1-Patienten sind davon hauptsächlich die Finger-, der Kiefer- und die Zungenmuskulatur betroffen (de Swart et al., 2004; Wenninger et al., 2018; Bird, 2021). In DM2-Patienten ist Myotonie in den meisten Fällen milder oder nicht vorhanden bzw. nur elektromyographisch nachweisbar (Heatwole et al., 2015; Schoser, 2020). Weiterhin sind Herzbeteiligungen bei DM-Patienten bekannt, meist in Form von Arrhythmien, Vorhofflimmern und Leitungsstörungen, seltener auch als dilatative Kardiomyopathie, ischämische Herzkrankheit, Mitralklappenprolaps, oder als Brugada-Syndrom (Schoser, 2020; Bird, 2021). Herzbeteiligungen in DM1 und DM2 ähneln sich, allerdings treten sie seltener in DM2 auf (Schoser et al., 2004; Wenninger et al., 2018).

Weitere häufige Symptome in DM betreffen das zentrale Nervensystem. Patienten klagen oft über Fatigue, Tagesmüdigkeit und Konzentrationsschwierigkeiten. In sowohl DM1 als auch DM2 wurden Veränderungen der weißen Substanz im Gehirn gefunden, in DM1 auch in der grauen Substanz (Minnerop et al., 2011; Peric et al., 2021; Weijs et al., 2021).

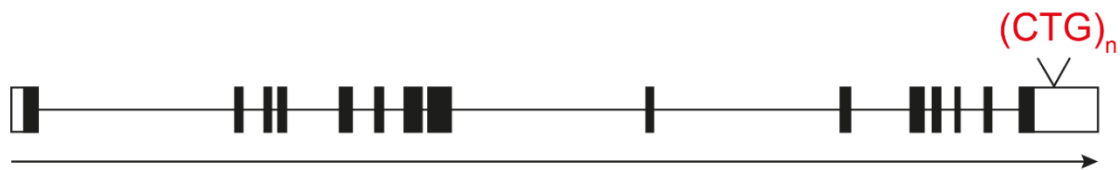
In mehr als der Hälfte der Patienten manifestiert sich eine Linsentrübung im Auge (Katarakt, grauer Star). Dieses Symptom tritt oft in Patienten ohne/vor Beginn muskulärer Symptome auf (Kidd et al., 1995; Wenninger et al., 2018). In vielen Patienten kommt es zu einer milden bis mäßigen Schwerhörigkeit, welche als früh einsetzende Altersschwerhörigkeit interpretiert wurde (Pisani et al., 2011; van Vliet et al., 2018).

Ein weiterer Aspekt der DMs sind endokrine Funktionsstörungen. Diabetes mellitus, Hypothyreose, Hypogonadismus und sekundärer Hyperparathyreoidismus, sowie seltener Mindersekretion von Wachstumshormonen sind bekannt (Matsumura et al., 2009; Dahlqvist et al., 2015). Gastrointestinale Symptome in DM1 beinhalten ein Spektrum von Obstipation, Diarrhoe und Reflux (Brunner et al., 1992; Bellini et al., 2006). Es wurde berichtet, dass DM1-Patienten anfälliger für Haut-, Schilddrüsen-, Hoden- und Prostatakrebs sind (Gadalla et al., 2011; Win et al., 2012; Alsaggaf et al., 2018).

Aufgrund der multisystemischen Beteiligung, bei der mehrere Gewebe/Organe Anzeichen einer vorzeitigen Alterung aufweisen, lässt sich DM auch als segmentales progeroides Syndrom (Zeichen einer vorzeitigen Alterung in mehr als einem Organ oder Gewebe (Martin, 2005)) einordnen (Meinke et al., 2018).

**Genetik**

Sowohl DM1 als auch DM2 werden autosomal dominant vererbt. Bei beiden Formen der Erkrankung kommt es zu Expansionen vorhandener Repeat-Elemente. Bei DM1 sind dies CTG-Trinukleotid-Repeat-Expansionen in der untranslatierten 3'-Region des *DMPK* Gens (Dystrophia-mytonica-proteinkinase; Genlokus 19q13.32; **Abbildung 1**) (Fu et al., 1992), bei DM2 CCTG-Tetranukleotid-Repeat-Expansionen im Intron 1 des *CNBP* Gens (CCHC-type zinc finger nucleic acid binding protein; Genlokus 3q21.3; **Abbildung 2**) (Liquori et al., 2001).



**Abbildung 1:** Genstruktur und Lokalisierung des Repeats in *DMPK* (Kästchen = Exons; Linien = Introns; leeres Kästchen = nicht kodierender Exonbereich; Pfeil = Leserichtung).

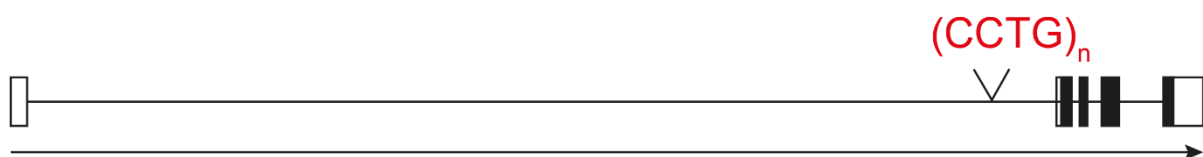
Bei DM1 wird die Expansion des CTG-Repeats diagnostisch in aus Blut gewonnener DNA bestimmt. Die Länge der CTG-Trinukleotid-Repeat-Expansionen korreliert ansatzweise mit der Schwere und dem Manifestationszeitpunkt der Erkrankung (**Tabelle 1**) (Cumming et al., 2019; Overend et al., 2019). Des Weiteren ist die Repeat-Expansion in Abhängigkeit von Alter und Länge der Expansion somatisch instabil (Wong et al., 1995; Morales et al., 2022), was zu Gewebsmosaiken führt (Monckton et al., 1995). Repeat-Expansionen in Skelettmuskulatur können 3- bis 25-fach länger sein als in Leukozyten (Thornton et al., 1994; Nakamori et al., 2013). Die Länge der Repeat-Expansionen kann auch bei Vererbung über die Keimbahn zunehmen (sogenannte Antizipation), was zu einer Vorverlagerung des Erkrankungsalters in aufeinander folgenden Generationen führt (Ashizawa et al., 1992; Tsilfidis et al., 1992). Mildere Krankheitsverläufe wurden mit sogenannten Repeat-stabilisierenden Sequenzelementen als Unterbrechungen der expandierten CTG-Repeats in Verbindung gebracht (CCG, CTC oder GGC-Repeats) (Miller et al., 2020). Die schwerste DM-Verlaufsform, kongenitale DM (CDM), tritt in den meisten Fällen bei maternaler Vererbung der CTG-Repeat-Expansionen auf.

**Tabelle 1:** Verlauf von DM1 in Abhängigkeit der Länge der CTG-Trinukleotid-Repeat-Expansion

	CTG-Repeats	Verlauf
Normalallel	< 34	---
Prämutationsallel	35 - 49	---
Pathologisches Allel	50 - ~150	mild
Pathologisches Allel	~100 - ~1.000	klassisch
Pathologisches Allel	> ~1.000	kongenital



Die Länge der CCTG-Tetranukleotid-Repeat-Expansionen in DM2 wird, wie die DM1 Repeat-Expansionen, in aus Blut gewonnener DNA bestimmt. Die CCTG-Repeats sind Teil eines komplexeren repeathaltigen Bereiches, welcher generell als  $(TG)_n(TCTG)_n(CCTG)_n$  beschrieben werden kann. Während Normalallele weniger als 25 CCTG-Repeats beinhalten, wurden zwischen 75 und 11.000 CCTG-Repeats in DM2 Patienten identifiziert (Liquori et al., 2001). Im Gegensatz zu DM1 ist bei DM2 keine Korrelation von Repeatlänge und Schwere der Erkrankung nachweisbar. Während Expansionen zwischen 25 und 75 CCTG-Repeats Prämutationsallele darstellen könnten (Mahyera et al., 2018), sind weder kongenitale Formen noch Antizipation beschrieben.



**Abbildung 2:** Genstruktur und Lokalisierung des Repeats in *CNBP* (Kästchen = Exons; Linien = Introns; leeres Kästchen = nicht kodierender Exonbereich; Pfeil = Leserichtung).

### *Epidemiologie*

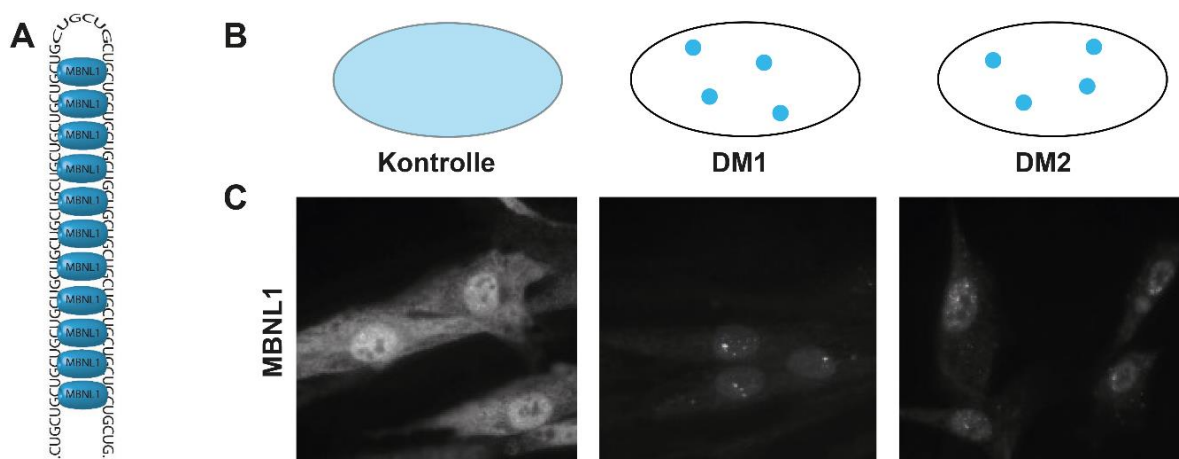
Mit einer Prävalenz von etwa 1/8.000 bis 1/10.000 handelt es sich bei DM1 um die häufigste autosomal-dominant vererbte Myopathie im Erwachsenenalter (Faustino and Cooper, 2003; Wheeler, 2008; Liao et al., 2022). Es gibt allerdings lokale Unterschiede, ein Neugeborenen-Screening im US-Bundesstaat New York identifizierte eine Prävalenz von 1/2.100 (Johnson et al., 2021). DM2 ist mit einer geschätzten Prävalenz zwischen 1/20.000 und 1/40.000 seltener, die meisten Fälle treten in Mitteleuropa und den USA auf, was vermutlich auf einen Gründereffekt zurückzuführen ist (Liquori et al., 2001; Liao et al., 2022).

### *Pathomechanismus*

Es sind mehrere unterschiedliche Mechanismen beschrieben, die für die DMs potentiell zur Ausprägung der klinischen Symptomatik beitragen können. Dabei ist es wahrscheinlich, dass diese Mechanismen nicht exklusiv sind, sondern in Kombination miteinander zur Ausprägung des komplexen Phänotyps führen.

*RNA-Toxizität*

Der favorisierte und wohl am besten untersuchte Pathomechanismus in DM ist durch mutante RNA induzierte Toxizität. Dabei handelt es sich um das Prinzip des „gain of function“: die Repeat-Expansionen in den jeweiligen Genen werden transkribiert, was zu ausgeprägten Sekundärstrukturen in der entstehenden RNA führt (sogenannte „Haarnadelstrukturen“) (Napierala and Krzyzosiak, 1997; Dere et al., 2004). Diese Sekundärstrukturen rekrutieren verschiedene RNA-bindende Proteine, unter denen die MBNL (Muscleblind Like Splicing Regulator) -Proteine 1-3 die wohl am besten untersuchten sind (Michalowski et al., 1999; Konieczny et al., 2014). Die Anreicherung dieser RNA-bindenden Proteine an die mutanten Transkripte („Foci“) resultiert in einem MBNL-Proteinmangel im restlichen Zellkern (**Abbildung 3**). Die doppelsträngigen Sekundärstrukturen der mutanten DMPK-RNA führen außerdem zu einer verstärkten Aktivierung der RNA-abhängigen Proteinkinase R (PKR), welche in Folge CELF1 (CUGBP Elav-like family member 1) hyperphosphoryliert und damit dessen Aktivität moduliert (Tian et al., 2000). Sowohl die MBNL-Proteine als auch CELF1 sind sogenannte Spleiß-Faktoren, wobei Spleißen als das Entfernen von Introns aus prä-mRNA Transkripten definiert ist. Bei diesem hochkomplexen Prozess sind hunderte von Proteinen beteiligt, welche je nach Gewebe und Entwicklungsstadium die Expression spezifischer Gen-Isoformen regulieren, indem unterschiedliche Exons ligiert oder alternative Spleiß-Stellen gewählt werden (sogenanntes alternatives Spleißen).



**Abbildung 3:** Foci: (A) RNA-Sekundärstrukturen binden MBNL-Proteine, was theoretisch (B) wie (C) praktisch zu einer Anreicherung in Foci und zu einem MBNL-Mangel im Rest der Zelle führt.

MBNLs und CELFs sind am alternativen Spleißen beteiligt und antagonistisch exprimiert, wodurch sie die Embryonalentwicklung von Herz- und Skelettmuskulatur steuern: während CELF im Laufe der Entwicklung um ein Vielfaches herunterreguliert wird, wird MBNL hochreguliert (Kalsotra et al., 2008). Folglich führt der „loss of function“ von MBNL und „gain of function“ von CELF in DM zu einer allgemeinen Verschiebung des Spleiß-Profiles zu einem embryonalen Spleiß-Muster, auch „Spliceopathy“ genannt (Fardaei et al., 2001; Fardaei et al., 2002). Diese These wird durch verschiedene Mausmodelle gestützt, welche verschieden lange CTG-Repeats in unterschiedlichem genomischen Kontext tragen, oder in denen MBNL-Proteine ausgeknockt bzw. CELF1 überexprimiert wurden. Die meisten dieser Mausmodelle entwickeln einen teilweisen DM-Phänotyp (Gomes-Pereira et al., 2011). Ein Beispiel ist die HSA<sup>LR</sup> Maus, welche 250 CTG-Repeats im humanen *ACTA1* Gen trägt, und eine Myopathie mit Myotonie entwickelt (Mankodi et al., 2000). Alternatives Spleißen kommt am häufigsten in muskulärem und neuronalem Gewebe vor (Rodriguez et al., 2020), was erklären könnte warum diese Gewebe in DM besonders stark betroffen sind.

Das Fehlspleißen verschiedener Gene (**Tabellen 2 und 3**) wird als ursächlich für einzelne Aspekte von DM angenommen (López-Martínez et al., 2020). Als erste Beispiele waren die Inklusionen von Intron 2 und Exon 7a im *CLCN1* (chloride voltage-gated channel 1) Transkript, welche zu einer Leserahmenverschiebung und damit einem vorzeitigen Stopcodon führen, beschrieben worden (Charlet et al., 2002; Mankodi et al., 2002). Bei *CLCN1* handelt es sich um den Haupt-Chloridkanal im Skelettmuskel und das trunkierte Protein, welches durch das Fehlspleißen gebildet wird, lokalisiert nicht mehr an der Plasmamembran. Das Resultat ist eine Membranübererregbarkeit, welche das molekulare Korrelat der klinischen Myotonie darstellt (Charlet et al., 2002; Mankodi et al., 2002; Lueck et al., 2007). Andere Beispiele sind das Fehlspleißen der Muskeldystrophie-assoziierten Gene *DMD* (Exklusion der Exons 71 und 78, (Yamashita et al., 2012; Rau et al., 2015)) oder *CAPN3* (Exklusion Exon 16, (Yamashita et al., 2012)) in der Muskulatur, was potentiell zur Muskelschwäche beiträgt. Im Herzen wurde Fehlspleißen der Kardiomyopathie-assoziierten Gene *SCN5A* (Inklusion Exon 6a, (Freyermuth et al., 2016), *TNNT2* (Inklusion Exon 5, (Ho et al., 2004; Dixon et al., 2015)) und *LDB3* (Inklusion Exon 5 und 11, (Nakamori et al., 2013)) identifiziert. Im Gehirn könnte Fehlspleißen von *MAPT* (Exklusion Exon 2, 3 und 10, (Goodwin et al., 2015)) und *NMDAR1* (Inklusion Exon 5, (Jiang et al., 2004)) zum neuronalen Phänotyp beitragen.

**Tabelle 2:** Im Gehirn von DM-Patienten fehlgespleißte Gene

Gen	Protein	Fehlspleißen	Referenz
<i>APP</i>	Amyloid-beta precursor protein	Exon 7 - Exklusion	(Jiang et al., 2004)
<i>MAPT</i>	Microtubule associated protein tau	Exon 2 - Exklusion Exon 3 - Exklusion Exon 10 - Exklusion	(Goodwin et al., 2015)
<i>MBNL1</i>	Muscleblind-like protein 1	Exon 6 - Inklusion Exon 8 - Inklusion	(Dhaenens et al., 2008)
<i>MBNL2</i>	Muscleblind-like protein 2	Exon 7 - Inklusion Exon 8 - Inklusion	(Nakamori et al., 2013) (Yamashita et al., 2012)
<i>NMDAR1</i>	Glutamate ionotropic receptor NMDA type	Exon 5 - Inklusion	(Jiang et al., 2004)

Obwohl DM aufgrund der gefundenen Spleiß-Defekte und der Modellsysteme, die diese These bekräftigen, als „Spliceopathy“ gilt, ist es erwähnenswert, dass viele der in DM beschriebenen Spleiß-Defekte auch in anderen neuromuskulären Erkrankungen (Bachinski et al., 2014) und normaler Muskelregeneration (Orengo et al., 2011) identifiziert wurden. Das deutet darauf hin, dass die in DM beobachteten Spleiß-Defekte gegebenenfalls auch einen sekundären Effekt darstellen könnten.

**Tabelle 3:** In unterschiedlicher Muskulatur von DM-Patienten fehlgespleißte Gene

Gen	Protein	Fehlspleißen	Referenz
<i>ALPK3</i>	Alpha-protein kinase 3	Exon 2 - Inklusion	(Nakamori et al., 2013)
<i>ATP2A1</i>	SERCA1	Exon 22 - Exklusion	(Kimura et al., 2005)
<i>ATP2A2</i>	SERCA2	Intron 19 - Inklusion	(Kimura et al., 2005)
<i>BINI</i>	Myc box-dependent-interacting protein 1	Exon 11 - Exklusion	(Fugier et al., 2011)
<i>CACNA1S</i>	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1S	Exon 29 - Exklusion	(Tang et al., 2012)
<i>CAPN3</i>	Calpain-3	Exon 16 - Exklusion	(Yamashita et al., 2012)
<i>CLCN1</i>	Chloride channel protein 1	Intron 2 - Inklusion Intron 7a - Inklusion	(Charlet et al., 2002; Mankodi et al., 2002; Lueck et al., 2007)
<i>DMD</i>	Dystrophin	Exon 71 - Exklusion Exon 78 - Exklusion	(Yamashita et al., 2012) (Rau et al., 2015)
<i>DTNA</i>	Dystrobrevin alpha	Exon 11a - Exklusion Exon 12 - Exklusion	(Nakamori et al., 2013)
<i>FHOD</i>	FH1/FH2 domain-containing protein 1	Exon 11a - Exklusion	(Yamashita et al., 2012)
<i>GFPT1</i>	Glutamine-fructose-6-phosphate aminotransferase 1	Exon 9 - Exklusion	(Nakamori et al., 2013)
<i>INSR</i>	Insulin receptor	Exon 11 - Exklusion	(Savkur et al., 2001)
<i>LDB3</i>	LIM domain-binding protein 3	Exon 5 - Inklusion Exon 11 - Inklusion	(Nakamori et al., 2013)
<i>MBNL1</i>	Muscleblind-like protein 1	Exon 5 - Inklusion Exon 7 - Inklusion Exon 10 - Inklusion	(Konieczny et al., 2014) (Nakamori et al., 2013) (Yamashita et al., 2012)
<i>MYO1</i>	Myomesin-1	Exon 17a - Inklusion	(Koebis et al., 2011)
<i>NCOR2</i>	Nuclear receptor corepressor 2	Exon 10 - Inklusion	(Yamashita et al., 2012)
<i>NEB</i>	Nebulin	Exon 116 - Inklusion	(Yamashita et al., 2012)
<i>NFIX</i>	Nuclear factor 1 X-type	Exon 7 - Inklusion	(Yamashita et al., 2012)
<i>NRAP</i>	Nebulin-related-anchoring protein	Exon 12 - Exklusion	(Lin et al., 2006a)
<i>PKM2</i>	Pyruvate kinase	Exon 9 - Inklusion Exon 10 - Inklusion	(Gao and Cooper, 2013)
<i>RBFOX2</i>	RNA binding protein fox-1 homolog 2	Alternatives Exon	(Misra et al., 2020)
<i>RYR1</i>	Ryanodine receptor 1	Exon 70 - Exklusion	(Kimura et al., 2005)
<i>SCN5A</i>	Sodium channel protein type 5 subunit	Exon 6a - Inklusion	(Freyermuth et al., 2016)
<i>SMYD1</i>	Histone-lysine N-methyltransferase	Exon 39 - Inklusion	(Du et al., 2010)
<i>TNNT2</i>	Troponin T, cardiac muscle	Exon 5 - Inklusion	(Ho et al., 2004)
<i>TNNT3</i>	Troponin T, fast skeletal muscle	Exon 23 - Inklusion	(Yamashita et al., 2012)
<i>TTN</i>	Titin	Zr4 - Inklusion Zr5 - Inklusion Mex5 - Inklusion	(Lin et al., 2006a)

### Haploinsuffizienz

Da mutante *DMPK* bzw. *CNBP*-Transkripte, welche die Repeat-Expansionen beinhalten, Foci formen und somit nicht weiter prozessiert werden, ist die Gesamtmenge der für die Translation zur Verfügung stehenden mRNA theoretisch auf etwa die Hälfte reduziert (Novelli et al., 1993). Somit würde sich auch die Menge an jeweiligem Protein reduzieren.

Bei *DMPK* handelt es sich um eine Serin-Threonin-Kinase, die sowohl an der Kernmembran als auch im Zytoplasma, an der Plasmamembran und an der neuromuskulären Endplatte gefunden wurde (van der Ven et al., 1993; Harmon et al., 2008; Harmon et al., 2011). Es konnte gezeigt werden, dass *DMPK* die Calciumaufnahme in Kardiomyozyten durch die Phosphorylierung von Phospholamban, einem Inhibitor von SERCA2a (einer Calciumpumpe im Sarkoplasmatischen Retikulum) reguliert (Kaliman et al., 2005). Ein weiteres Substrat für *DMPK* ist Phospholemman, ein Regulator der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (Mounsey et al., 2000). Es konnte auch gezeigt werden, dass *DMPK* die Myosin-bindende Untereinheit der Myosin-Phosphatase MYPT1 phosphorylieren kann, was zu einer Inhibition der Aktivität der Myosin-Phosphatase PP1c führt (Murányi et al., 2001). In DM1 konnte gezeigt werden, dass die Präsenz der CTG-Repeat-Expansion in einer reduzierten Expression des mutanten Allels resultiert. In Patientenproben wurden reduzierte *DMPK*-Proteinmengen nachgewiesen (Fu et al., 1993). Mausmodelle, welche die Auswirkung des Verlusts der *DMPK*-Expression untersuchen, kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Während ein *Dmpk*<sup>-/-</sup> Mausmodell eine milde Myopathie entwickelte (Reddy et al., 1996), wurden in einer weiteren *Dmpk*<sup>-/-</sup> Maus keine muskulären oder kardialen Defekte festgestellt (Carrell et al., 2016). Als Ursache für die widersprüchlichen Ergebnisse wird der unterschiedliche Zuchtstamm der für den Knockout verwendeten Mäuse diskutiert (Carrell et al., 2016).

*CNBP* bindet hauptsächlich einzelsträngige DNA und RNA und reguliert die Expression von Genen des Wnt-Signalwegs (Margarit et al., 2014). Es wird vermutet, dass *CNBP* die Effizienz der Translation von mRNAs beeinflusst, indem es stabile Sekundärstrukturen von mRNA auflöst (Benhalevy et al., 2017). Es scheint dabei eine Rolle in der zellulären Stressantwort zu spielen (Rojas et al., 2012). Eine von RNA-Regulation unabhängige weitere Funktion von *CNBP* scheint an der Plasmamembran durch Interaktionen mit dem Dystroglycan-Komplex zu existieren (Wei et al., 2018). Untersuchungen der *CNBP*-Proteinmenge in DM2 ergaben widersprüchliche Ergebnisse, einerseits wurden unveränderte Proteinmengen (Botta et al., 2006; Margolis et al., 2006; Massa et al., 2010), andererseits reduzierte *CNBP*-Mengen identifiziert (Huichalaf et al., 2009; Pelletier et al., 2009; Raheem et al., 2010). Es wurde allerdings eine durch die CCTG-Repeat-Expansion hervorgerufene

Retention von Intron 1 identifiziert (Sznajder Ł et al., 2018), was den Verlust der Proteinexpression vom mutanten Allel unterstützt. Dass Haploinsuffizienz in DM2 zum Phänotyp beiträgt, wird ebenfalls durch ein *Cnbp*<sup>+/-</sup> Mausmodell impliziert. Der Verlust eines Allels resultierte in einem DM2-ähnlichen multisystemischen Phänotyp mit Muskelschwund, Myotonie, Herzproblemen und Katarakten (Chen et al., 2007; Wei et al., 2018).

### *Expressionsveränderungen benachbarter Gene*

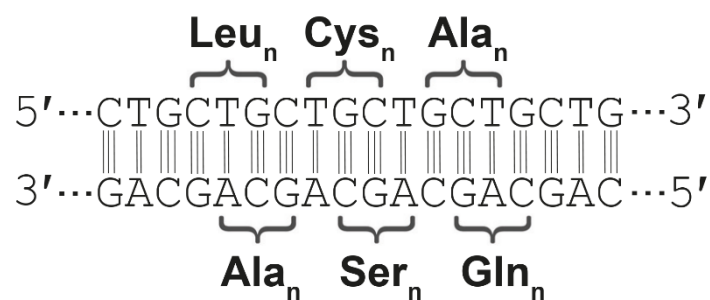
Eine weitere Vermutung zur Entstehung des DM-Phänotyps resultiert aus der Beobachtung, dass CTG-Repeat-Expansionen zu lokalen Veränderungen der Chromatinstruktur führen. Expandierte Repeats resultieren in einer effizienteren Nukleosomen-Bildung im Bereich der Repeats, was zu einer Kondensation des Chromatins führt (Wang et al., 1994). Als wahrscheinliche Auswirkungen wird die Expression benachbarter Gene verändert, und in der Tat konnte für die mit *DMPK* benachbarten Gene *Six5* (SIX homeobox 5; Genlokus 19q13.32) und *DMWD* (Dystrophia myotonica WD repeat-containing protein; Genlokus 19q13.32) eine reduzierte Expression in DM1 nachgewiesen werden (Klesert et al., 1997; Thornton et al., 1997; Alwazzan et al., 1999).

Tiermodelle lassen vermuten, dass die reduzierte Expression von zumindest *Six5* zum Phänotyp beiträgt. Sowohl Knockout als auch reduzierte Expression von *Six5* im Mausmodell führte zu einer erhöhten Wahrscheinlichkeit, Katarakte zu entwickeln, und zu reduzierter Fruchtbarkeit in männlichen Tieren (Klesert et al., 2000; Sarkar et al., 2000; Sarkar et al., 2004).

### *RAN-Translation*

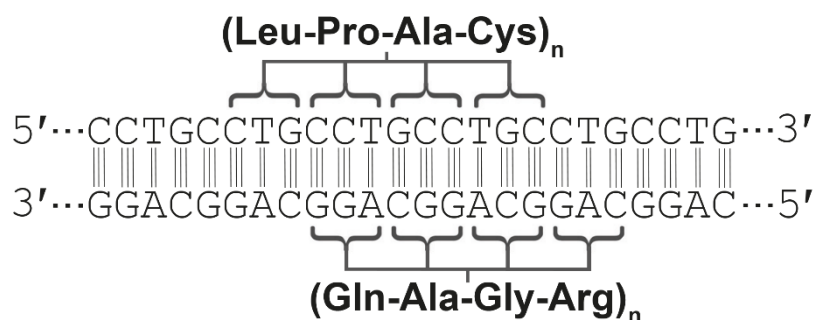
Im Jahr 2011 wurde von einem Startcodon (ATG) unabhängige Translation von Transkripten mit expandierten Repeats beschrieben, die sogenannte RAN-Translation (repeat-associated non-AUG translation (Zu et al., 2011)). Diese Variante der Translation wird durch die von den expandierten Repeats gebildeten sekundären RNA-Strukturen initiiert. Für DM1 findet die Transkription der Repeat-Expansionen bidirektional statt (Cho et al., 2005), wodurch sich sechs mögliche Leserahmen für die RAN-Translation ergeben. Die entsprechenden Codons und mögliche Polypeptide sind CTG (Poly-Leucin), TGC (Poly-Cystein), AGC (Poly-Serin), CAG (Poly-Glutamin) sowie GCT/GCA (Poly-Alanin) (**Abbildung 4**). Für DM1 konnte von den fünf theoretisch möglichen Polypeptiden jedoch nur das vom Antisense-Strang kodierte Poly-Glutamin nachgewiesen werden. Dabei erfolgte der Nachweis in Kardiomyozyten und

Leukozyten eines DM1-Mausmodells sowie in geringer Häufigkeit in Blut, Muskel und Muskelzellkultur von einem einzigen DM1 Patienten (Zu et al., 2011). Das gefundene Poly-Glutamin schien zu aggregieren und kolokalisierte mit Caspase-8, was darauf hindeuten könnte, dass es zu einer durch Poly-Glutamin induzierten Apoptose kommt (U et al., 2001). Allerdings konnte eine spätere Studie mit größerem Probenumfang (10 Patienten) in primären Zellkulturen aus Muskel, Haut und Blut keine DM1-spezifische Anreicherung von Poly-Glutamin nachweisen. Eine Untersuchung der Expression der CTG-Repeat-Expansionen vom Antisense-Strang ergab, dass die Transkripte nur in sehr geringer Menge ins Zytoplasma gelangen und damit translatiert werden könnten (Koehorst et al., 2021).



**Abbildung 4:** RAN-Translation in DM1: mögliche Leserahmen und Codons im Bereich der expandierten CTG-Repeats für Polypeptide in DM1.

In DM2 sind aufgrund der Tetranukleotid-Repeat-Expansionen zwei verschiedene Polypeptide möglich, Poly-[Leucin-Prolin-Alanin-Cystein] (LPAC, Sense-Strang) und Poly-[Glutamin-Alanin-Glycin-Arginin] (QAGR, Antisense-Strang) (**Abbildung 5**). Beide Polypeptide konnten in Gehirnen von DM2-Patienten nachgewiesen werden, wobei Poly-LPAC in zytoplasmatischen und Poly-QAGR in nukleären Aggregaten gefunden wurden (Zu et al., 2017).



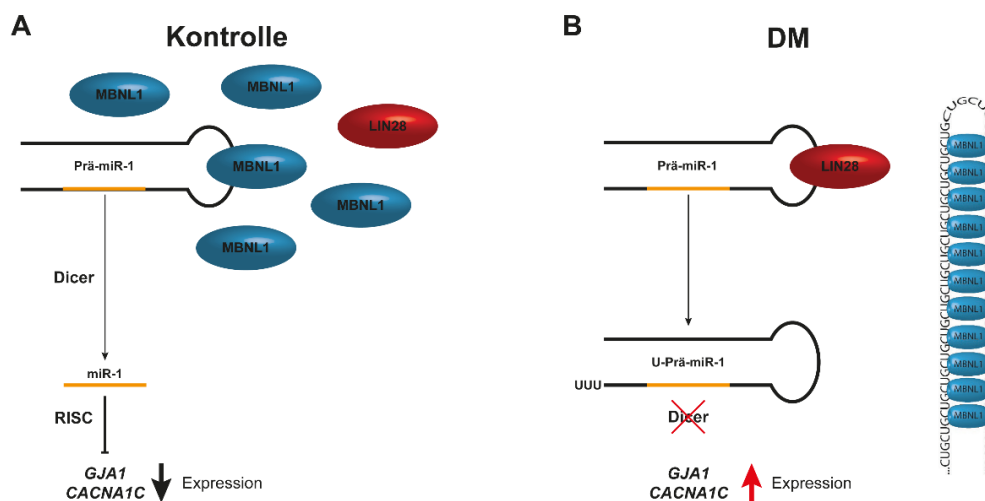
**Abbildung 5:** RAN-Translation in DM2: mögliche Leserahmen und Codons im Bereich der expandierten CCTG-Repeats für Polypeptide in DM2.



### MicroRNA-Fehlregulation

Bei microRNA (miRNA) handelt es sich um kurze, nichtkodierende Ribonukleinsäuren, welche an der posttranskriptionalen Regulation der Genexpression beteiligt sind (Chen and Rajewsky, 2007). Bei der miRNA-Reifung werden primäre miRNA-Transkripte im Zellkern zunächst in 70 bis 80 Nukleotide große prä-miRNAs zerschnitten. Diese werden dann ins Zytoplasma transportiert und dort durch Dicer (eine zytoplasmatische Ribonuklease, die doppelsträngige RNA in kurze, doppelsträngige Fragmente schneidet) in 19 bis 25 Nukleotide große miRNA Doppelstränge prozessiert, von denen ein Strang degradiert wird und der zweite zur reifen miRNA wird. Diese kann sequenzspezifisch an die 3'-UTR von mRNAs binden und entweder zum Abbau der mRNA führen oder deren Translation verhindern.

Für DM wurden inzwischen mehrere fehlregulierte miRNAs identifiziert (Gambardella et al., 2010; Perbellini et al., 2011; Kalsotra et al., 2014; Ambrose et al., 2017; Fritegotto et al., 2017). In DM1 Muskelbiopsien wurden zum Beispiel miR-1 und miR-335 als hochreguliert identifiziert, während miR-29b/c und miR-33 runterreguliert waren. Gene, die durch miR-1 und miR-29 reguliert werden, waren in ihrer Expression beeinträchtigt (Perbellini et al., 2011). Eine mögliche Erklärung, warum einzelne miRNAs in DM fehlreguliert sind, ist die kompetitive Bindung von MBNL1 und LIN28 an prä-miR-1. Die Bindung von LIN28 führt zu einer Uridylierung der prä-miR-1, was eine Prozessierung durch Dicer blockiert. Die Anreicherung von MBNL1 in Foci in DM führt dazu, dass vermehrt LIN28 an prä-miR-1 binden kann. Da keine reife miR-1 entsteht, kommt es zu einer verstärkten Expression von miR-1 regulierten Genen wie z.B. *GJA1* und *CACNA1C* (**Abbildung 6**). Diese beiden Gene kodieren wichtige Bestandteile der Gap Junctions bzw. Calciumkanäle im Herz, was potentiell zum kardialen Phänotyp in DM beiträgt (Rau et al., 2011).



**Abbildung 6:** miRNA-Fehlregulation in DM: (A) normale Prozessierung von prä-miR1 bei freiem MBNL1, (B) blockierte Prozessierung in DM mit Auswirkung auf die Expression von Zielgenen. Adaptiert aus (Rau et al., 2011).

### *Epigenetische Veränderungen*

Methylierungen gehören zu den häufigsten posttranslationalen Modifikationen von Histonen, welche die Chromatinstruktur bestimmen (Bannister and Kouzarides, 2011). Hypermethylierung führt zu einer dichteren Packung des Chromatins, wodurch Gene in diesem Bereich vermindert oder nicht transkribiert werden können, während Hypomethylierung eine losere Struktur und höhere Transkriptionsrate nach sich zieht. In der Nähe der expandierten CTG-Repeats in DM1 wurden in mehreren Studien Hypermethylierungen identifiziert (Steinbach et al., 1998; López Castel et al., 2011; Brouwer et al., 2013; Yanovsky-Dagan et al., 2015; Barbé et al., 2017). Dabei wurde die Hypermethylierung von Bindestellen für das Transkriptions-Repressorprotein CTCF beidseits des Repeats fast ausschließlich in CDM nachgewiesen. Eine Untersuchung in embryonalen Stammzellen betroffener Eltern (DM1) konnte die Methylierung dieser Bindestelle nur in erkrankten Müttern von CDM-Patienten nachweisen, daher scheint eine funktionelle Rolle dieser Hypermethylierung in CDM sehr wahrscheinlich (Barbé et al., 2017). Dementsprechend wird Hypermethylierung der Repeat-flankierenden CTCF-Bindestellen als möglicher Biomarker für CDM diskutiert (Morales et al., 2021). Weitere Hinweise auf eine mögliche funktionale Beteiligung von veränderter DNA-Methylierung zum DM1-Phänotyp kommen von Studien, die gewebsspezifische Methylierungen untersucht haben. Zelltypen des zentralen Nervensystems, in denen die CTG-Repeat Expansionen instabiler sind, wiesen erhöhte Methylierungen auf (Nakamori et al., 2022), und in Skelettmuskulatur wurde ein spezifisches Methylierungsmuster identifiziert, bei dem Hypermethylierung der CTCF-Bindestellen mit Demethylierung einer alternativen Promoter-Region für *DMPK* einhergeht, was zu Veränderungen der Expression führen könnte (Koehorst et al., 2022).

CTCF-Proteine spielen eine Rolle in der Bildung und Erhaltung von topologisch assoziierten Domänen (TADs) (Rowley and Corces, 2018). Bei TADs handelt es sich um selbst-interagierende genomische Regionen. DNA-Sequenzen innerhalb einer TAD wechselwirken folglich häufiger miteinander als mit Sequenzen außerhalb der TAD (Pombo and Dillon, 2015). Zudem können sich TADs gewebsspezifisch bilden (Phillips-Cremins et al., 2013). Bereits kleine Veränderungen dieser 3D-Organisation des Genoms können zu Veränderungen der Genexpression als auch verschiedenen Erkrankungen führen (Spielmann et al., 2018; Xiao et al., 2021). Zusätzlich zur Hypermethylierung von CTCF-Bindestellen, welche die Bildung oder Erhaltung von TADs beeinflussen könnte, liefert eine Studie zur Lokalisierung von Genen mit Repeat-Expansionen Hinweise, dass die 3D-Organisation des Genoms in DM1 relevant sein könnte: Gene, in denen Repeats expandieren, sind oft an den Grenzen von TADs lokalisiert

(Sun et al., 2018). Das trifft auch für *DMPK* zu, wonach eine Expansion des CTG-Repeats das Potential hat, die TAD-Struktur zu zerstören und damit die Genomorganisation und die Genexpression zu verändern (Sun et al., 2018). In einer Genomorganisationsstudie in lymphoblastoiden DM1 Zelllinien konnte allerdings keine Veränderung im Vergleich zu Kontrollen festgestellt werden (Ruiz Buendía et al., 2020), was aber keine Aussagekraft für tatsächlich betroffene Gewebe hat.

Im Gegensatz zu DM1 scheint es in DM2 nicht zu Veränderungen der DNA-Methylierung aufgrund der Repeat-Expansion zu kommen, was eine Auswirkung auf den Phänotyp damit unwahrscheinlich macht (Santoro et al., 2018).

### *Fehlregulation zirkulärer RNAs*

Bei zirkulärer RNA (circRNA) handelt es sich um einzelsträngige, kovalent geschlossene RNA-Ringe (Memczak et al., 2013), die in ihrer Länge von etwa 100 bis zu einigen Tausend Basenpaare variieren können. Dabei können sie aus einem oder mehrere Exons und den flankierenden Introns bestehen (Jeck et al., 2013). Es gibt verschiedene Theorien wie sie gebildet werden, z.B. (i) „Zurück-Spleißen“ (back-splicing), wobei eine 5'-liegende Spleißakzeptorstelle mit einer 3'-lokalisierten Spleißdonorstelle durch Hybridisierung flankierender Introns in räumliche Nähe gebracht werden, interagiert und es zur Ringbildung kommt, und (ii) eine Lasso-vermittelte Zirkularisierung, bei der durch Überspringen einzelner Exons im Spleißvorgang eine Exon-enthaltende Lassostruktur (lariat) entsteht, in welcher ebenfalls eine 5'-liegende Spleißakzeptorstelle mit einer 3'-lokalisierten Spleißdonorstelle interagiert, was zur Ringbildung führt (Santer et al., 2018). Welche Funktionen circRNAs haben ist bisher kaum erforscht, aber es wird vermutet, dass sie als Inhibitoren von miRNAs wirken, indem sie wie eine Art Schwamm fungieren (Zheng et al., 2016; Wang et al., 2019c).

Alternatives Spleißen in DM resultiert unter Anderem in vermehrtem Exonskipping, also in exonhaltigen RNAs, welche nicht zu mRNA prozessiert werden. Das erhöht theoretisch die Möglichkeit von veränderten circRNAs in DM. Es wurde in der Tat gezeigt, dass circRNAs in DM1 fehlreguliert sind (Czubak et al., 2019; Voellenkle et al., 2019).

### *RNA-Interferenz*

Eine weitere Möglichkeit, wie expandierte Repeats zur zellulären Pathologie beitragen können, ist RNA-Interferenz. Dabei werden die Haarnadelstrukturen der mutanten Transkripte durch Dicer zerschnitten (Krol et al., 2007). Die dabei entstehenden kurzen RNA-Stücke sind etwa 21 Nukleotide lang. Tatsächlich wurde in DM1 Fibroblasten eine Anreicherung von CUG-

Repeat haltigen RNA-Stücken der entsprechenden Länge gefunden (Krol et al., 2007), welche an komplementäre Sequenzen anderer Gene binden und diese regulieren könnten. In der Tat sind einzelne Gene, in deren Sequenz CTG/CAG-Repeats (als Ziele für RNA-Fragmente, die vom Strang bzw. Gegenstrang transkribiert werden) vorkommen, in DM1-Muskelbiopsien im Vergleich zu Kontrollen differentiell exprimiert. Allerdings wurden sowohl erhöhte als auch verringerte Expression in den potentiellen Zielgenen festgestellt (Braun et al., 2022). Da wahrscheinlich ein Großteil der mutanten Transkripte im Zellkern verbleibt, ist der Beitrag zur Molekularpathogenese zumindest in final differenziertem Gewebe vermutlich dennoch gering.

### ***Mechanismus der Repeat-Expansion***

Der Mechanismus, der zur somatischen Instabilität der Repeat-Expansionen (Wong et al., 1995) führt, ist noch nicht vollständig verstanden. Es scheint insbesondere in teilungsinaktiven Geweben (Muskel und Gehirn) zur Expansion der Repeats zu kommen. Weiterhin ist beschrieben worden, dass Transkription zu einer erhöhten Instabilität von CTG/CAG-Repeats führt (Lin et al., 2006b; Nakamori et al., 2011). Daher wird vermutet, dass die transkriptionsgekoppelte Nukleotidexzisionsreparatur (TC-NER) eine relevante Rolle spielt. In der Tat konnte TC-NER in verschiedenen Modellsystemen mit der Instabilität von CTG/CAG-Repeats in Verbindung gebracht werden (Lin et al., 2006b; Jung and Bonini, 2007; Lin and Wilson, 2007; Hubert et al., 2011b). Dies steht mit dem zuvor beschriebenen Gewebsmosaik im Einklang, in Geweben mit erhöhter DMPK Expression kommt es zu einer erhöhten Repeatinstabilität und damit zu längeren Repeats (Monckton et al., 1995).

Allerdings kann TC-NER nicht vollständig erklären, wie es zur Repeatinstabilität in DM kommt, da die mRNA-Level nicht in allen Geweben mit der Instabilität der Repeat-Expansionen korrelieren (Lia et al., 1998; Lee et al., 2011). Das deutet auf ein komplexes Zusammenspiel mehrerer Reparaturmechanismen hin, und in der Tat wurden Proteine der Fehlpaarungsreparatur (MMR) (Manley et al., 1999; Foiry et al., 2006; Dragileva et al., 2009; Kovalenko et al., 2012; Pinto et al., 2013), Interstrang-Vernetzungs-Reparatur (ICL) (Goold et al., 2019; Kim et al., 2020), Einzelstrangbruch-Reparatur (SSBR) und Basen-Exzisionsreparatur (BER) (Kovtun et al., 2007; Goula et al., 2009; Liu et al., 2009; Hubert et al., 2011a; Goula et al., 2012) mit CTG/CAG-Repeat-Instabilität in Verbindung gebracht. Da die meisten Experimente in nicht-relevanten Zelltypen durchgeführt wurden, ist der Anteil der jeweiligen Systeme an der Stabilität bzw. Instabilität der CTG/CAG-Repeats bisher nicht vollständig zu klären (Wheeler and Dion, 2021).

### ***Therapeutische Strategien***

Es gibt aktuell noch keine spezifische Therapie für DM1 oder DM2, allerdings werden Symptome wie Myotonie, Schmerz oder Hypersomnie separat behandelt (Timchenko, 2022). Die verschiedenen beschriebenen Pathomechanismen bieten mehrere Ansatzpunkte für potentielle Therapien (Pascual-Gilabert et al., 2023). Unter anderem bietet das Entfernen der Repeat-Expansionen auf DNA-Ebene eine Option, die bereits mit Hilfe der CRISPR/Cas9 „Genschere“ getestet wurde (Provenzano et al., 2017; van Agtmaal et al., 2017; Dastidar et al., 2018; Wang et al., 2018; Lo Scudato et al., 2019). Allerdings existieren limitierende Faktoren für diesen Ansatz: Die expandierten Repeats bilden auch auf DNA-Ebene Sekundärstrukturen, die Bindung von CRISPR/Cas Komponenten beeinträchtigen könnten (Richard, 2015), des Weiteren wurden beträchtliche Off-Target Effekte beobachtet (Ikeda et al., 2020), und veränderte Methylierungsmuster ließen sich in Myoblasten durch das Entfernen der Repeat-Expansion nicht revertieren (Yanovsky-Dagan et al., 2019).

Ein weiterer Ansatz auf DNA-Ebene ist die Nutzung einer deaktivierten Caspase 9 (dCas9), die zwar an die Zielsequenz binden kann, aber die DNA nicht schneidet. Durch die Präsenz von dCas9 auf dem Gen wird eine Transkription verhindert da die Bindung anderer Proteine blockiert wird. Dieser Ansatz führte in DM1 und DM2 Zellkulturen zu einer Reduktion der Transkription und von Fehlspleißen (Pinto et al., 2017).

Das Entfernen der mutanten RNA stellt eine weitere Option dar. Dafür wurden antisense-Oligonukleotide (Mulders et al., 2009; Lee et al., 2012; Wheeler et al., 2012; Yadava et al., 2020), siRNAs (Langlois et al., 2005; Sobczak et al., 2013), shRNA (Langlois et al., 2005) und antisense RNAs (Furling et al., 2003; François et al., 2011) sowohl gegen den Repeat selbst, als auch gegen flankierende Bereiche verwendet. Obwohl diese Experimente präklinisch erfolgreich waren, wurde in klinischen Studien eine mangelhafte Aufnahme in die relevanten Gewebe festgestellt (LoRusso et al., 2018). Neue Ansätze untersuchen die Nutzung von Peptid- oder Liganden-gekoppelten Oligonukleotiden, um dieses Problem zu beheben (Hu et al., 2018; Klein et al., 2019; Ait Benichou et al., 2022). Während das Entfernen der mutanten RNA in DM1 aktuell als therapeutisch sinnvoll angesehen wird (Carrell et al., 2016), ist die Situation in DM2 noch ungewiss. Da der Verlust der CNBP-Expression in DM2 möglicherweise relevant zur Pathologie beiträgt (Chen et al., 2007; Wei et al., 2018), ist es möglich, dass für DM2 andere Therapieoptionen benötigt werden.

Ein weiteres mögliches Ziel für therapeutische Interventionen ist die Interaktion von RNA-bindenden Proteinen mit der mutanten RNA. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass es small molecules gibt, welche die Interaktion von MBNL Proteinen mit den expandierten

Repeats aufbrechen und damit die MBNL Aktivität wiederherstellen können, wodurch Fehlspleißen korrigiert wird (Warf et al., 2009; Nakamori et al., 2016; Zhang et al., 2017; Bassez et al., 2018; Chakraborty et al., 2018; Angelbello et al., 2019; Bargiela et al., 2019; Jenquin et al., 2019; Lee et al., 2019; Reddy et al., 2019; Horrigan et al., 2020; Angelbello et al., 2021; Heatwole et al., 2021; Ondono et al., 2021). Trotz dieser Vielzahl an Studien ist vergleichsweise wenig über die *in vivo* Effekte dieser small molecules bekannt und es sind weiterführende Studien notwendig bevor sie therapeutisch eingesetzt werden können (Timchenko, 2022).

Verschiedene weitere therapeutische Ansätze sind gegen andere pathologische Aspekte gerichtet, zum Beispiel small molecules, die als Kinase-Inhibitoren wirken, und verschiedene molekulare Aspekte von DM verbessern können (Ketley et al., 2014; Wang et al., 2019b; Ketley et al., 2020). Allerdings ist hier der Wirkmechanismus noch nicht vollständig bekannt.

### ***Kernmembran-assoziierte hereditäre Erkrankungen***

Interessanterweise wurde DMPK an der Kernmembran identifiziert und mit ihrer Stabilität assoziiert (Harmon et al., 2011). Das ist potentiell von Relevanz für DM, da verschiedene Erberkrankungen, welche Proteine der Kernmembran betreffen, zu klinisch ähnlichen Erkrankungen führen (Meinke and Schirmer, 2016). Ein Großteil der Kernmembran-assoziierten Erkrankungen betreffen die Muskulatur, aber es sind auch neuronale Erkrankungen und progeroide Syndrome unter den Kernmembranerkrankungen zu finden (**Tabelle 4**).

Insbesondere Emery-Dreifuss Muskeldystrophie (EDMD) ist als eine Erkrankung der Kernmembran anzusehen, da alle Gene, in denen bisher kausative Mutationen gefunden wurden, Kernmembranproteine kodieren (Meinke, 2018). Bei EDMD handelt es sich um eine seltene neuromuskuläre Erkrankung, bei der es zu frühen Kontrakturen der Achillessehne und der Ellenbogen, einer langsam voranschreitenden Muskelschwäche und -atrophie, sowie Herzrhythmusstörungen kommt. Letzteres kann sich zu einer dilatativen Kardiomyopathie entwickeln (Emery and Dreifuss, 1966). Dabei ist eine intra- und interfamiliäre Variabilität hinsichtlich Erstmanifestation sowie Schwere der Erkrankung zu beobachten (Bonne et al., 2000).

Die progeroiden Aspekte von DM sind bisher kaum verstanden. Durch Kernmembranproteine verursachte progeroide Syndrome werden oft als Modellsysteme für Alterung angesehen (Mounkes and Stewart, 2004; Burtner and Kennedy, 2010) und insbesondere die Muskelschwäche in DM wurde bereits als vorzeitige Alterung diskutiert (Mateos-Aierdi et al., 2015). Aufgrund der Vielfältigkeit der in DM identifizierten

Pathomechanismen, der klinischen Überlappung hinsichtlich Progerie und Muskelbeteiligung, sowie der möglichen Funktion von DMPK an der Kernmembran, sind gemeinsame molekulare Pathomechanismen denkbar.

**Tabelle 4:** In muskulären, neuronalen oder progeroiden Erkrankungen mutierte Kernmembranproteine

Gen	Protein	Erkrankung	Referenz
<b><i>Muskeldystrophien und Kardiomyopathien</i></b>			
<i>LMNA</i>	Lamin A/C	Kardiomyopathie Kongenitale Muskeldystrophie Gliedergürtelmuskeldystrophie Emery-Dreifuss Muskeldystrophie	(Fatkin et al., 1999) (Quijano-Roy et al., 2008) (Muchir et al., 2000) (Bonne et al., 1999)
<i>EMD</i>	Emerin	Emery-Dreifuss Muskeldystrophie	(Bione et al., 1994)
<i>SYNE1</i>	Nesprin 1	Emery-Dreifuss Muskeldystrophie	(Zhang et al., 2007)
<i>SYNE2</i>	Nesprin 2	Emery-Dreifuss Muskeldystrophie	(Zhang et al., 2007)
<i>SUN1</i>	SUN1	Emery-Dreifuss Muskeldystrophie	(Meinke et al., 2014)
<i>SUN2</i>	SUN2	Emery-Dreifuss Muskeldystrophie (Modifier)	(Meinke et al., 2014)
<i>FHL1</i>	Four-and-a-half LIM domains 1	Emery-Dreifuss Muskeldystrophie Reducing-Body-Myopathie Scapuloperoneale Myopathie	(Gueneau et al., 2009) (Schessl et al., 2008) (Quinzii et al., 2008)
<i>TOR1AIP1</i>	LAP1	Gliedergürtelmuskeldystrophie	(Kayman-Kurekci et al., 2014)
<i>TMPO</i>	LAP2	Kardiomyopathie	(Taylor et al., 2005)
<i>TMEM43</i>	LUMA	Kardiomyopathie	(Merner et al., 2008)
<i>LEMD2</i>	LEMD2	Kardiomyopathie	(Abdefatah et al., 2019)
<b><i>Progeroide Syndrome</i></b>			
<i>LMNA</i>	Lamin A/C	Hutchinson-Gilford Syndrom Mandibuloakrale Dysplasie Restriktive Dermopathie Malouf-Syndrom Atypische Progeroide Syndrome	(De Sandre-Giovannoli et al., 2003; Eriksson et al., 2003) (Novelli et al., 2002) (Navarro et al., 2004) (Chen et al., 2003) (Starke et al., 2013; Guo et al., 2016; Magno et al., 2020; Yukina et al., 2021)...
<i>BANF1</i>	BAF	Nestor-Guillermo-Progerie-Syndrom	(Puente et al., 2011)
<i>TOR1AIP1</i>	LAP1	Progeroides Syndrom	(Fichtman et al., 2019)
<i>LEMD2</i>	LEMD2	Marbach-Rustad Progeroides Syndrom	(Marbach et al., 2019)
<b><i>Neuronale Erkrankungen</i></b>			
<i>LMNA</i>	Lamin A/C	Charcot-Marie-Tooth	(De Sandre-Giovannoli et al., 2002)
<i>SYNE1</i>	Nesprin 1	Spinozerebelläre Ataxie	(Gros-Louis et al., 2007)





### **Zielsetzung der habilitationsrelevanten Arbeiten**

Zielsetzung dieser Arbeit ist es, das Wissen über die molekulare Pathogenese bei myotonen Dystrophien (DMs) zu erweitern. Dabei liegt der Fokus insbesondere auf potentiellen Überlappungen mit Kernmembranerkrankungen. Da sowohl bei DM als auch bei Kernmembranerkrankungen die molekularen Pathologien noch nicht vollständig verstanden sind, hat eine Untersuchung molekularer Überlappungen das Potential das molekulare Verständnis beider Erkrankungsgruppen parallel zu verbessern. Spezifische Ziele dieser Arbeit waren:

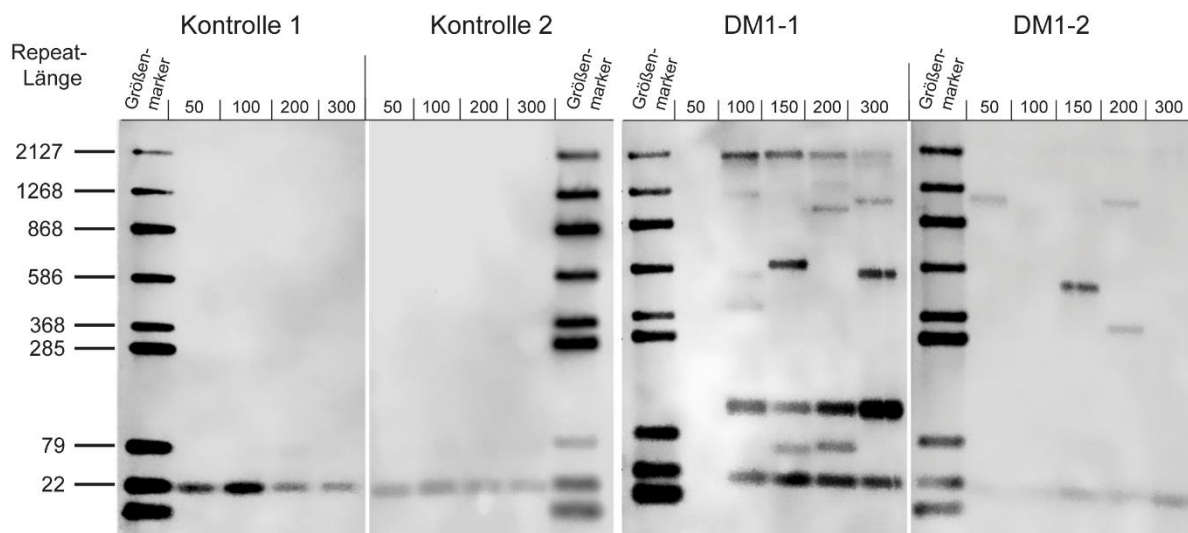
- (I) Mutationsanalyse muskelspezifischer Kernmembranproteine in EDMD-Patienten ohne bekannten genetischen Defekt.
- (II) Die Etablierung und Charakterisierung primärer humaner Muskelzellkulturen als Modellsystem für DM.
- (III) Die Untersuchung bekannter und bisher unbekannter Pathomechanismen in diesem Modellsystem.
- (IV) Untersuchung der Funktion struktureller Veränderungen der Kernmembran.
- (V) Vergleich molekularer Pathologien in EDMD und DM.

Das übergeordnete Ziel war es, die Bausteine der molekularen Pathogenese in DM zu klären, potentielle Biomarker zu identifizieren, und somit eine Modellplattform für die präklinische Forschung zur Therapieentwicklung zu charakterisieren und zu etablieren.

**Ergebnisse und Diskussion der habilitationsrelevanten Arbeiten****CTG-repeat detection in primary human myoblasts of myotonic dystrophy type 1**Stefan Hintze\*, Raphaela Mensel\*, Lisa Knaier, Benedikt Schoser & **Peter Meinke**† (2021)*Frontiers in Neuroscience*, 15:686735. doi: 10.3389/fnins.2021.686735.

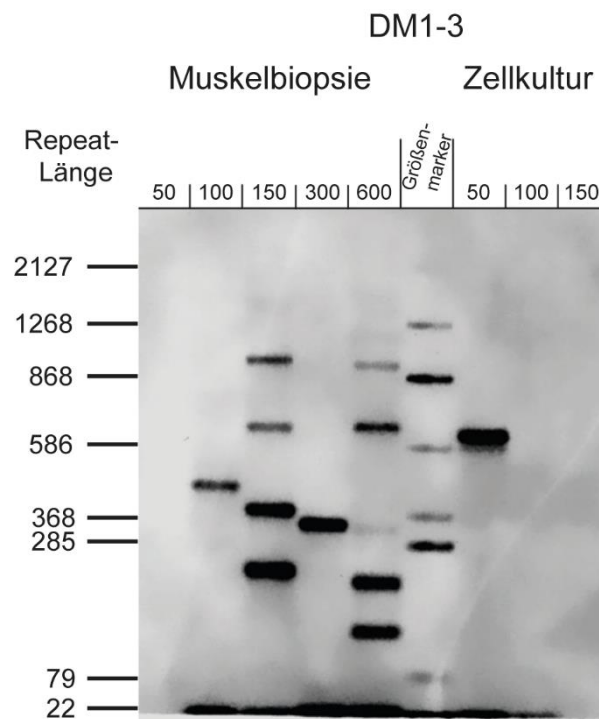
(\*shared first/last authorship; †corresponding author)

Die Länge der CTG-Repeat Expansionen in DM1 wird diagnostisch in aus Blut gewonnener DNA bestimmt. Aufgrund der Gewebsmosaik (mit einer 3- bis 25-fachen Länge des Repeats in Muskel verglichen mit Blut) ist die Repeatlänge nicht nur im Muskel, sondern auch in den Satellitenzellen, welche als Ursprung primärer Muskelzellkulturen genutzt werden, unbekannt. Primäre Muskelzellkulturen stellen ein exzellentes Modell für Muskeldifferenzierung dar, sind allerdings auf etwa 15 bis 20 Zellteilungen (startend aus einer Satellitenzelle) limitiert (Renault et al., 2000). Da die Schwere der Erkrankung in DM1 mit der Länge der Repeat Expansionen korreliert (Cumming et al., 2019; Overend et al., 2019), ist eine Kenntnis über ihre exakte Länge für eine Einschätzung molekularer Daten aus primären DM1 Zellkulturen notwendig.



**Abbildung 8:** Detektion der CTG-Repeat Länge in primären Kontroll- und DM1-Muskelzellkulturen. Pro Bahn ist die Menge an eingesetzter DNA in Pikogramm (pg) angegeben. Adaptiert aus (Hintze et al., 2021).

Die klassische Standardmethode, das Southern Blotting, benötigt vergleichsweise viel DNA (5-10  $\mu\text{g}$ ) als Ausgangsmaterial. Da durch die geringe Kultivierungsspanne nur wenig DNA zur Verfügung steht, haben wir die Methode der Small-Pool-PCR einem Southern Blotting vorgeschaltet. Zusätzlich haben wir die üblicherweise genutzte radioaktive Markierung durch eine unbedenklichere nicht-radioaktive DIG-Markierung ersetzt. Diese Methode ermöglichte uns die Bestimmung der Länge der Repeat Expansionen in primären DM1-Muskelzellkulturen und den Vergleich zu den Muskelbiopsien, aus welchen die Zellkulturen gewonnen wurden. Wir konnten zeigen, dass die Muskelzellkulturen (I) keine einheitliche Repeatlänge, sondern variable Längen innerhalb einer Kultur aufweisen (**Abbildung 8**) und (II) die Repeats sich in der Größenordnung der ursprünglichen Muskelbiopsie bewegen (**Abbildung 9**). Damit konnten wir primäre DM1-Muskelzellkulturen als Modell für DM1 verifizieren.



**Abbildung 9:** Detektion der CTG-Repeat Länge in DM1 vergleichend zwischen Zellkultur und ursprünglicher Muskelbiopsie. Pro Bahn ist die Menge an eingesetzter DNA in Pikogramm (pg) angegeben. Adaptiert aus (Hintze et al., 2021).

### Myotonic Dystrophy—A Progeroid Disease?

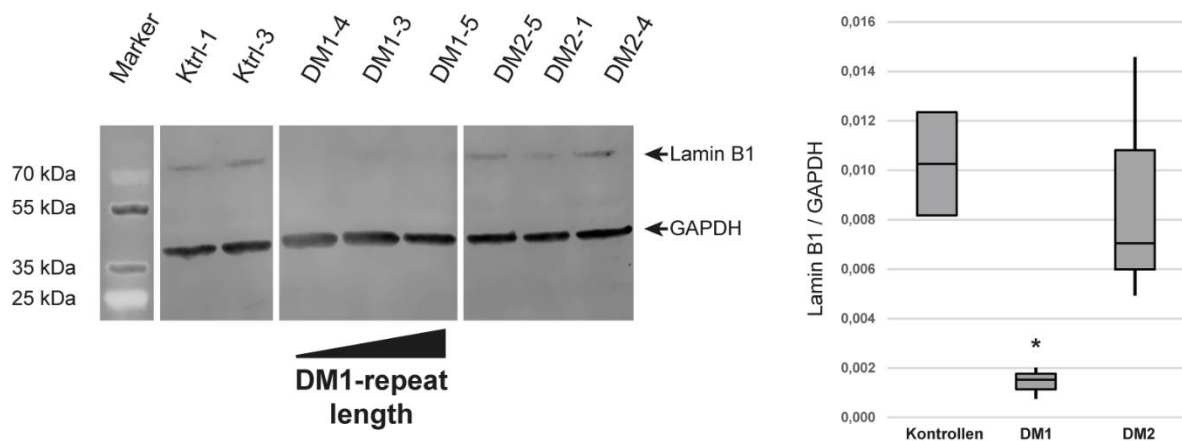
**Peter Meinke<sup>†</sup>**, Stefan Hintze, Sarah Limmer & Benedikt Schoser (2018)

*Frontiers in Neurology*, 9:601. doi: 10.3389/fneur.2018.00601.

(†corresponding author)

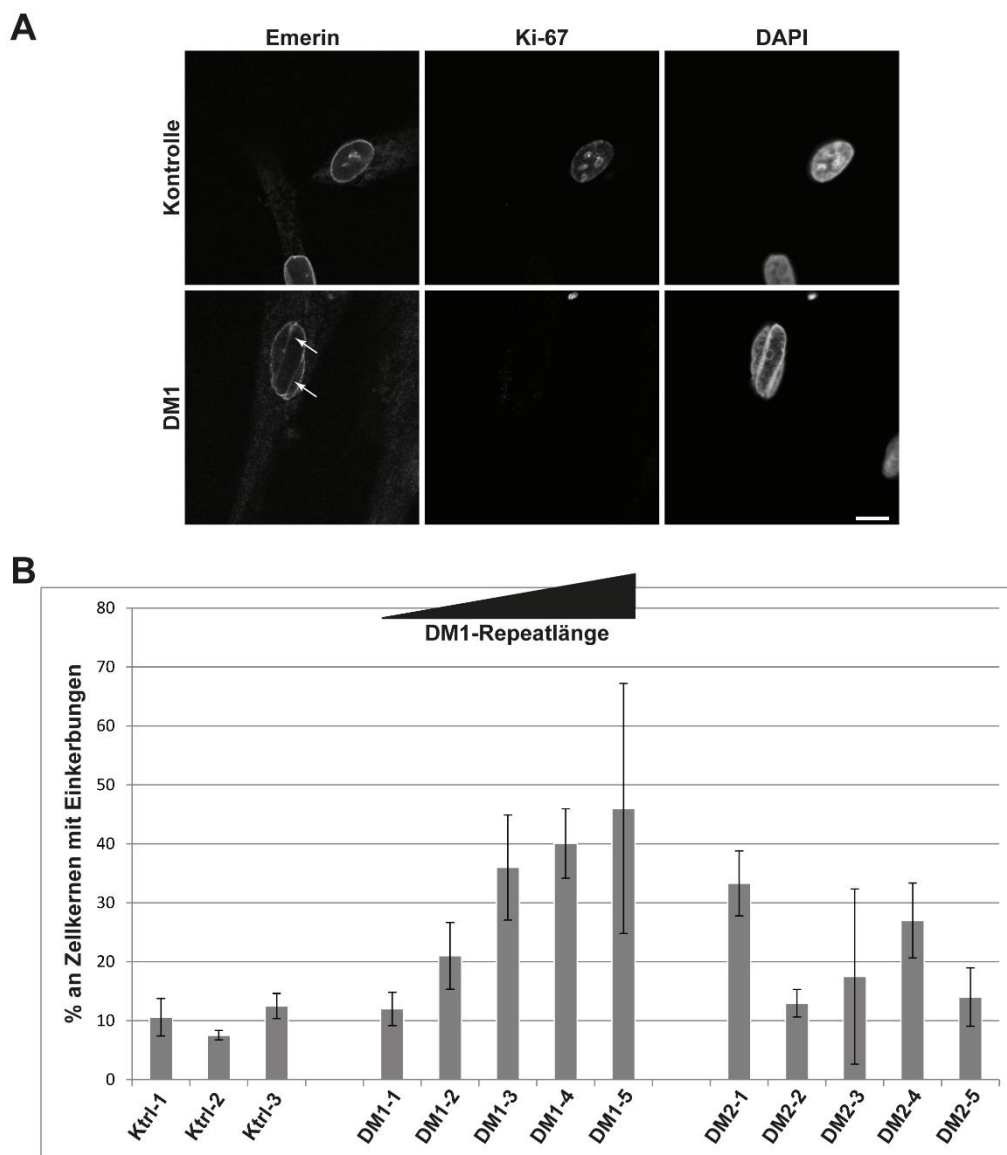
Klinisch weisen DMs eine multisystemische Beteiligung auf, bei der mehrere Gewebe Anzeichen vorzeitiger Alterung aufweisen. In dieser Arbeit haben wir bekannte molekulare Pathologien und das klinische Erscheinungsbild von DMs und „typischen“ progeroiden Erkrankungen verglichen. Des Weiteren haben wir primäre DM-Muskelzellkulturen vergleichend zu Kontroll-Muskelzellkulturen auf molekulare Marker, die auf ein beschleunigtes Altern der Zellkulturen hindeuten könnten, untersucht.

Wir konnten in DM1 Muskelzellkulturen eine verringerte Expression von Lamin B1 nachweisen (**Abbildung 10**). Eine reduzierte Expression von Lamin B1 ist in zellulärer Seneszenz, Hutchinson-Gilford Progerie Syndrom und normaler Alterung beschrieben. Ein weiteres Ergebnis der Untersuchungen war die Präsenz von strukturellen Veränderungen der Kernmembran in DM1 Muskelzellkulturen (**Abbildung 11A**). Die Länge der Repeat Expansionen korrelierte dabei mit dem prozentuellen Anteil der Zellkerne, die Einkerbungen der Kernmembran aufwiesen (**Abbildung 11B**). Zellkerne mit Einkerbungen der Kernmembran waren immer negativ für den Proliferationsmarker Ki-67 (**Abbildung 11A**).



**Abbildung 10:** Lamin B1 Protein vergleichend in primären Kontroll- und DM1/DM2-Muskelzellkulturen. Western Blot (links) und Quantifizierung relativ zu GAPDH (rechts). Adaptiert aus (Meinke et al., 2018).

Zusammenfassend qualifizieren sich DMs als segmentale progeroide Erkrankung. In DM1 Muskelzellkulturen sind zudem Veränderungen der Kernmembran vorhanden, welche mit einem Verlust der Proliferationsfähigkeit einhergehen. Falls diese *in vitro* nachweisbaren Veränderungen auch *in vivo* während der Muskelregeneration vorkommen, könnte das den Pool an Zellen, die zur Muskelregeneration beitragen, reduzieren und damit zur in DM1 (im Vergleich zu DM2) schweren Betroffenheit der Muskulatur beitragen. Diese Daten warfen die Frage auf, wie genau die Veränderungen der Kernmembran hervorgerufen werden und was ihre Relevanz für DM1 ist – und welche möglichen Implikationen für klassische Kernmembranerkrankungen daraus entstehen.



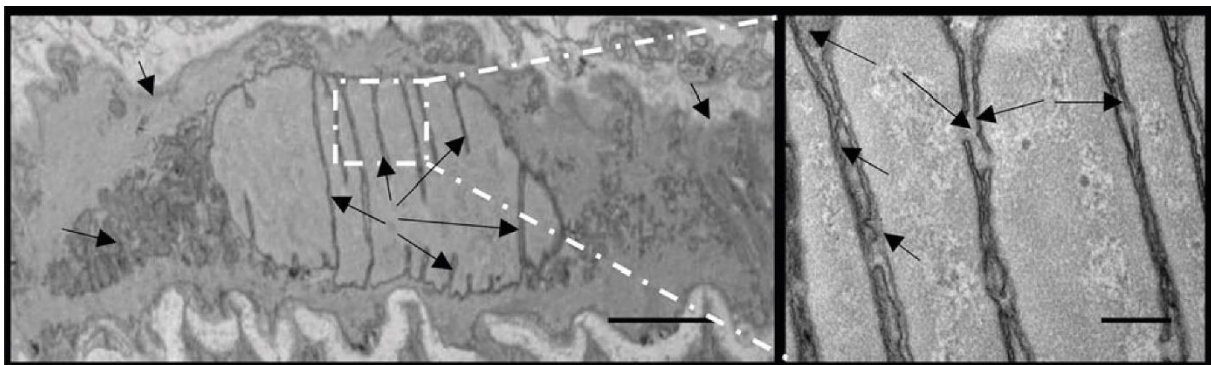
**Abbildung 11:** Strukturelle Veränderungen der Kernmembran korrelieren in DM1 mit der Länge der *DMPK*-CTG-Repeat Expansion. (A) Färbungen für das Kernmembranprotein Emerin, den Proliferationsmarker Ki-67 und DAPI. (B) Quantifizierung der Zellkerne mit Einkerbungen der Membran in primären Kontroll- und DM1/DM2-Muskelzellkulturen. Maßstabsbalken: 10  $\mu$ m. Adaptiert aus (Meinke et al., 2018).

The cell wide web coordinates cellular processes by directing site-specific  $\text{Ca}^{2+}$  flux through cytoplasmic nanocourses

Jingxian Duan, Jorge Navarro-Dorado, Jill H. Clark, Nicholas P. Kinnear, **Peter Meinke**,  
Eric C. Schirmer & A. Mark Evans (2019)

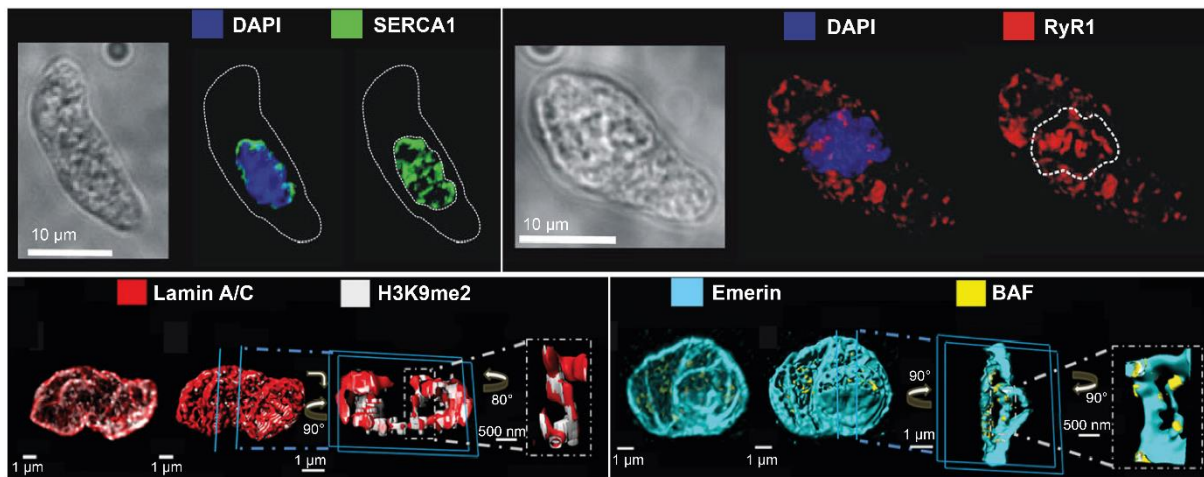
*Nature Communications*, 10(1):2299. doi: 10.1038/s41467-019-10055-w.

In dieser Studie haben wir Kernmembraneinkerbungen in primären arteriellen glatten Muskelzellen untersucht. Diese Zellen können zwischen einem differenzierten und proliferierenden Zustand hin- und herwechseln, während die meisten anderen Zelltypen final differenziert sind. In arteriellen glatten Muskelzellen im differenzierten Zustand sind Einkerbungen der Kernmembran sowie Kernmembran-ummantelte Tunnel durch den Zellkern sehr häufig (**Abbildung 12**).



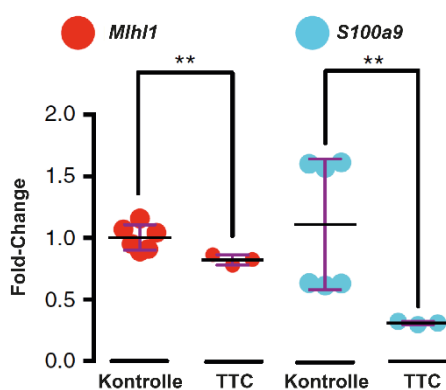
**Abbildung 12:** Elektronenmikroskopische Aufnahme des Zellkerns einer arteriellen glatten Muskelzelle die Kernmembraneinkerbungen zeigt. Maßstabsbalken: Abbildung links 2  $\mu\text{m}$ , Abbildung rechts 250 nm. Adaptiert aus (Duan et al., 2019).

In diesen Strukturen des Zellkerns konnten wir ein von der restlichen Zelle (und dem restlichen Zellkern) unabhängiges  $\text{Ca}^{2+}$ -Signal feststellen. Auf der nukleoplasmatischen Seite dieser Strukturen konnten wir Lamin A/C – H3K9me2 (Dimethylierung der neunten Aminosäure – Lysin – des Histons 3) und Emerin – BAF Kluster identifizieren, auf der zytoplasmatischen Seite SERCA1 (eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Pumpe) und Ryanodin-Rezeptor 1 (RyR1; ein Calciumkanal) (**Abbildung 13**).



**Abbildung 13:** Hellfeldaufnahmen der Zellen und Fluoreszenzfärbungen für SERCA1 (oben links) und RyR1 (oben rechts) und Fluoreszenzfärbungen und 3D-Rekonstruktionen für Lamin A/C + H3K9me2 (unten links) sowie Emerin + BAF (unten rechts). Adaptiert aus (Duan et al., 2019).

H3K9me2 in Kombination mit H3K9me3 (Trimethylierung der neunten Aminosäure – Lysin – des Histons 3) ist eine Umgebung, die üblicherweise zur Repression von Genexpression führt. Die Abwesenheit von H3K9me3 an den Kernmembraneinkerbungen bei gleichzeitiger Anwesenheit von H3K9me2 ließ uns vermuten, dass Gene in dieser Umgebung in einer Art „ready-state“ vorliegen, und eine Kombination mit  $\text{Ca}^{2+}$ -Signalen zu Expression bzw. Repression führen könnte. Wir zeigten, dass die Expression der Gene *Mih1* (durch H3K9me2 reprimiert) und *S100a9* (durch BAF reprimiert) durch die Blockierung des  $\text{Ca}^{2+}$ -Signals (blockieren der Ryanodin-Rezeptoren mittels Tetracain) in den Kernmembraneinkerbungen signifikant reduziert wurde (**Abbildung 14**).



**Abbildung 14:** Quantifizierung (qPCR) von Expressionsänderungen der Gene *Mih1* (links) und *S100a9* (rechts) in differenzierten und unbehandelten bzw. Tetracain (TTC) behandelten arteriellen glatten Muskelzellen. Adaptiert aus (Duan et al., 2019).

Zusammenfassend konnten wir feststellen, dass Einkerbungen der Kernmembran spezifische Funktionen haben können. Sie scheinen zelltypspezifisch zu einer Regulation der Genexpression basierend auf äußeren Einflüssen beizutragen und einzelnen Zellen zu erlauben, variabler auf externe Einflüsse zu reagieren (z.B. Wechsel zwischen Proliferation und Differenzierung in glatter Muskulatur). Für zukünftige Studien wird es interessant sein, was die Ausbildungen solcher strukturellen Veränderungen der Kernmembran in anderen Zelltypen bewirken.



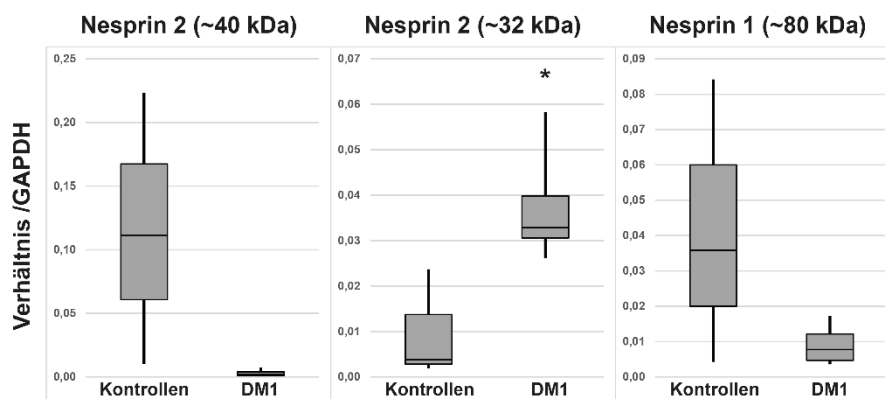
Nuclear envelope transmembrane proteins in myotonic dystrophy type 1

Stefan Hintze, Lisa Knaier, Sarah Limmer, Benedikt Schoser & **Peter Meinke**<sup>†</sup> (2018)

*Frontiers in Physiology*, 9:1532. doi: 10.3389/fphys.2018.01532.

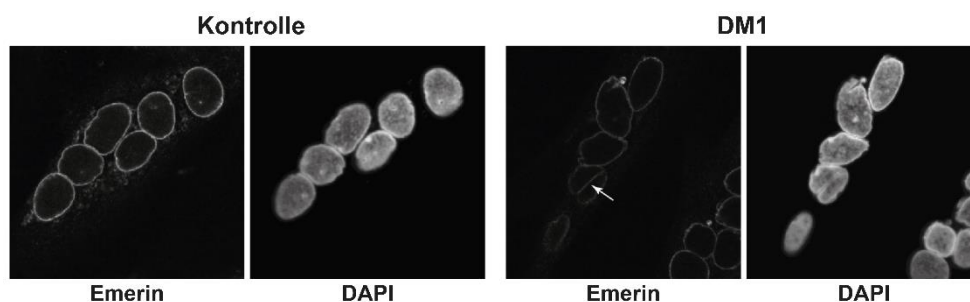
(<sup>†</sup>corresponding author)

Nachdem wir eine Anreicherung von strukturellen Veränderungen der Kernmembran in DM1 identifiziert hatten (Meinke et al., 2018), haben wir in dieser Studie verschiedene Kernmembranproteine in proliferierenden Myoblasten und differenzierten Myotuben aus primären Kontroll- und DM1-Muskelzellkulturen untersucht. In Myoblasten stellten wir eine verringerte Expression der Kernmembranproteine TMEM70, SUN2 und TMEM38a bei zunehmender Länge der *DMPK*-CTG-Repeat Expansionen fest. In differenzierten DM1-Myotuben wiesen wir außerdem eine Fehlregulation verschiedener Isoformen der Multi-Isoform-Proteine Nesprin 1 und Nesprin 2, welche den Zellkern mit dem Zytoskelett verbinden, nach (**Abbildung 15**).



**Abbildung 15:** Vergleichende Quantifizierung der Expression von Nesprin 1 und 2 Isoformen per Western Blots differenzierter Myotuben (Kontrollen und DM1).

Dies zeigt, dass die Kernmembran nicht nur in proliferierenden Myoblasten (mit Auswirkung auf die Proliferationsfähigkeit) sondern auch in differenzierten Myotuben in DM1 potentiell pathologisch verändert ist. Des Weiteren konnten wir auch in differenzierten DM1-Myotuben Einkerbungen der Kernmembran nachweisen (**Abbildung 16**).



**Abbildung 16:** Fluoreszenzfärbung für Emerin in Kontroll- und DM1-Myotuben, Pfeil: Einkerbung der Kernmembran.

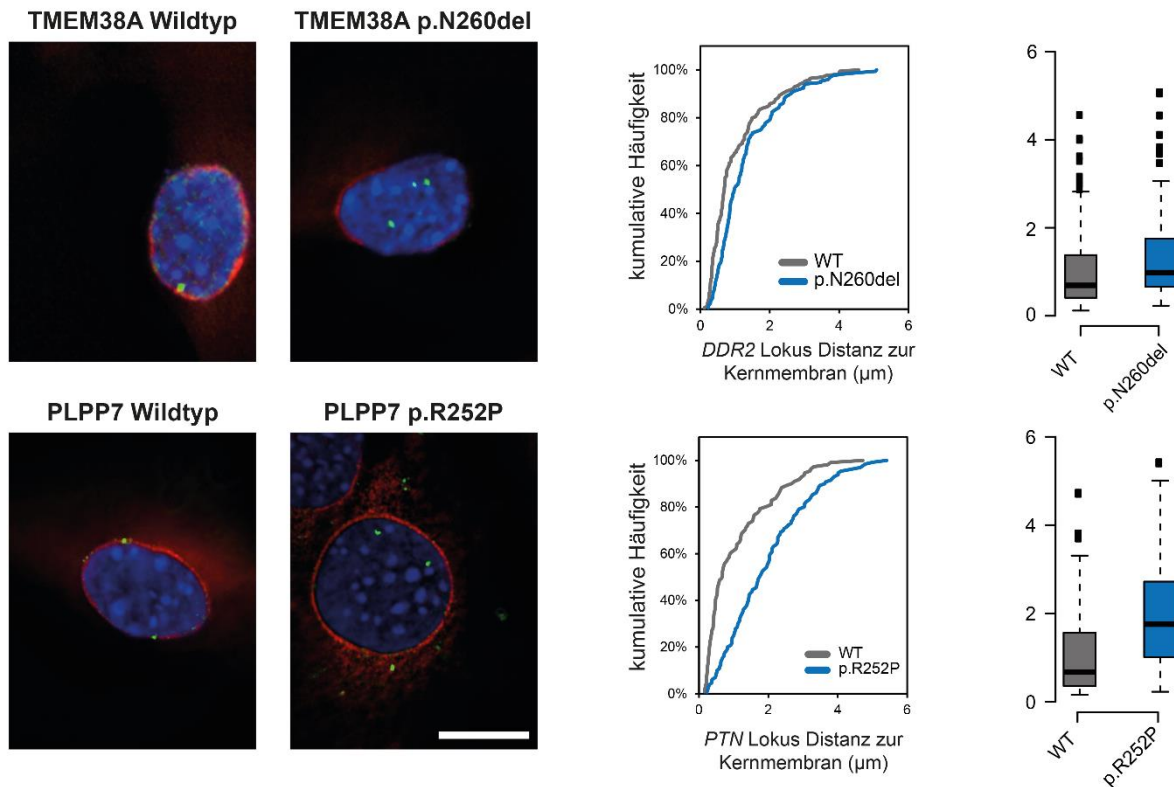


A multistage sequencing strategy pinpoints novel candidate alleles for Emery-Dreifuss muscular dystrophy and supports gene misregulation as its pathomechanism

**Peter Meinke**, Alastair R.W. Kerr, Rafal Czapiewski, Jose I. de las Heras, Charles R. Dixon, Elizabeth Harris, Heike Kölbl, Francesco Muntoni, Ulrike Schara, Volker Straub, Benedikt Schoser, Manfred Wehnert & Eric C. Schirmer (2020)  
*EBioMedicine*, 51:102587. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.11.048.

Emery-Dreifuss Muskeldystrophie lässt sich als eine Erkrankung der Kernmembran beschreiben. Obwohl bisher 6 verschiedene Gene identifiziert wurden, in denen Mutationen zu EDMD führen, war in etwa der Hälfte der Patienten mit einem EDMD-artigen Phänotyp die kausative Mutation unbekannt (Wehnert and Meinke, 2012; Meinke, 2018). Es war zudem unklar, wie Mutationen in Genen, die in fast allen Geweben exprimiert sind, zu einer gewebsspezifischen Erkrankung führen. Eine Hypothese ist, dass die Interaktion der mutierten Proteine mit gewebespezifischen Partnerproteinen durch eben jene Mutation, bzw. den Expressionsverlust der jeweiligen Proteine, gestört ist. Das könnte wiederum die relevanten gewebsspezifischen molekularen Pathomechanismen verursachen. Stimmt dies, wären diese Partnerproteine Kandidaten, die in EDMD-Patienten ohne bisher bekannte Mutation mutiert sein könnten.

Um diese Theorie zu überprüfen haben wir eine Kohorte von 56 Patienten mit einem EDMD-Phänotyp mittels einer Primer-Bibliothek für 301 Gene sequenziert. Die 301 Gene beinhalten (I) alle bereits bekannten, in EDMD mutierten Gene, (II) Gene, die in klinisch ähnlichen Muskelerkrankungen mutiert sind, (III) Kandidatengene aus einer initialen Exom-Sequenzierung von 5 Familien, und (IV) funktionelle Kandidatengene. Letzteres sind Gene, die mögliche Mediatoren für einen gewebsspezifischen Pathomechanismus sein könnten. In 16 der 56 Patienten wurden potentiell pathogene Mutationen in Genen identifiziert, die muskelspezifische NETs kodieren. Besonderes Interesse riefen die Gene *PLPP7* (2 Patienten mit Mutationen) und *TMEM38A* (3 Patienten mit Mutationen) hervor, welche an der muskelspezifischen Organisation des Genoms beteiligt sind und deren Verlust zu Differenzierungsdefekten führt (Robson et al., 2016). In einem heterologen System (Maus-Myoblasten) konnten wir nachweisen, dass identifizierte Mutationen (die jeweils nur eine Aminosäure betreffen) in diesen beiden Genen ausreichend sind, um die Relokalisation von Genen an die Kernmembran zu verhindern (**Abbildung 17**).



**Abbildung 17:** Mutationen in muskelspezifischen Kernmembranproteinen verändern deren Fähigkeit einzelne Gene an die Kernmembran zu rekrutieren. Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) für die Gene *DDR2* (oberes Panel links) und *PTN* (unteres Panel links) für Wildtyp und mutiertes *TMEM38A* (oben) und *PLPP7* (unten). Mittleres Panel: kumulative Frequenz der Distanz der Genloki zur Kernmembran. Rechtes Panel: Quantifizierung der Distanzen. Adaptiert aus (Meinke et al., 2020).

Da bekannt ist, dass die Position einzelner Gene innerhalb des Genoms Auswirkungen auf ihre Expression hat (Robson et al., 2016), könnten die identifizierten Mutationen in den muskelspezifischen Kernmembranproteinen somit möglicherweise eine pathologische Kaskade auslösen.

Zusammenfassend konnten wir in diesem Projekt erfolgreich neue Gene identifizieren, die in EDMD mutiert sind. Weiterhin deuten die identifizierten Gene darauf hin, dass die Veränderung der Genomorganisation der primäre pathologische Mechanismus in EDMD ist. Diese Daten unterstreichen die Bedeutung muskelspezifischer Kernmembranproteine für eine normale Muskelentwicklung und Regeneration.

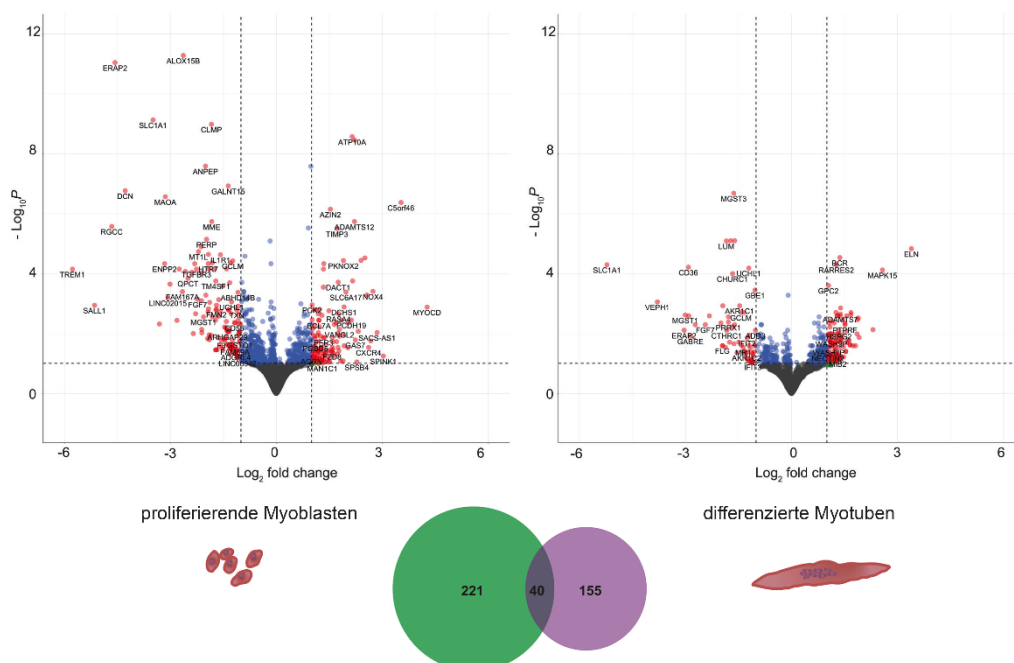
Transcriptome analysis in a primary human muscle cell differentiation model for  
myotonic dystrophy type 1

Vanessa Todorow\*, Stefan Hintze\*, Alastair R. W. Kerr, Andreas Hehr,  
Benedikt Schoser & **Peter Meinke**† (2021)

*International Journal of Molecular Sciences*, 22(16):8607. doi: 10.3390/ijms22168607.

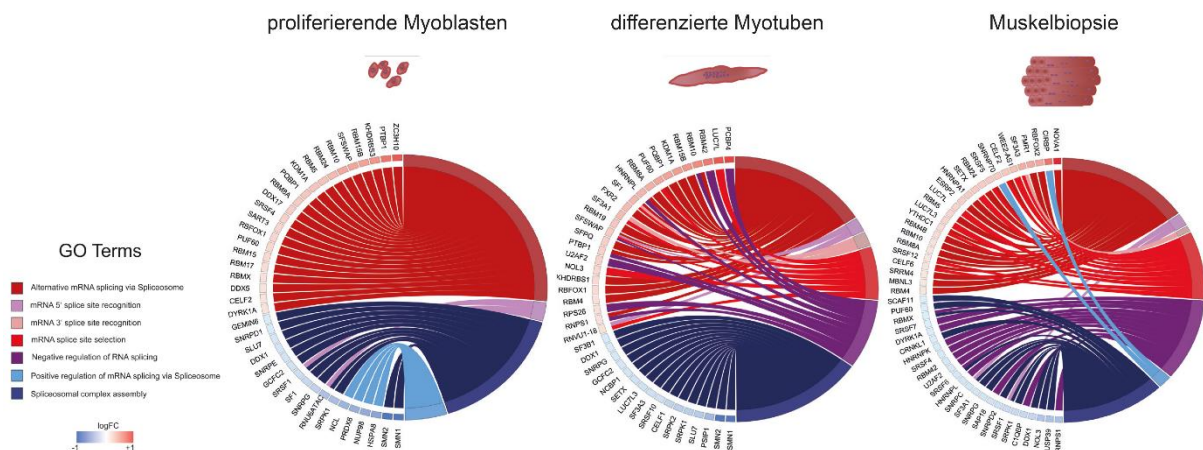
(†corresponding author)

In diesem Projekt haben wir das Transkriptom proliferierender Myoblasten und differenzierter Myotuben aus primären Kontroll- und DM1-Muskelzellkulturen verglichen. Ziel war es, Veränderungen der Genexpression über das gesamte Genom hinweg in DM1 Muskelzellkulturen zu identifizieren. Falls die von uns beobachtete Veränderung der Expression einzelner Kernmembranproteine und die strukturellen Veränderungen der Kernmembran funktionell relevant sind, postulierten wir, dass es zu generellen Expressionsveränderungen auf genomweiter Ebene kommt. Wir konnten in der Tat eine differentielle Expression ( $\log_2$  fold change  $> \pm 1$ ) von 261 Genen in proliferierenden Myoblasten und 195 Genen in differenzierten Myotuben nachweisen (**Abbildung 18**). Die Überlappung der differentiell exprimierten Gene zwischen Myoblasten und Myotuben begrenzte sich dabei auf 40 Gene, was aber aufgrund der partiellen Reorganisation des Genoms während der Muskeldifferenzierung durchaus in die Hypothese der pathologischen Kernmembranveränderungen passen würde.



**Abbildung 18:** Vulkan Plots für die differentielle Expression von Genen in DM1 Myoblasten (links) und Myotuben (rechts). Adaptiert aus (Todorow et al., 2021).

Eine weiterführende Analyse der Funktionen der differentiell exprimierten Gene ergab, dass unter anderem die extrazelluläre Matrix, verschiedene Signalwege (inklusive Fibrose) und die Organisation des Zytoskeletts betroffen sind – allerdings in Abhängigkeit des Zellzyklus der Muskelzellen. Da einerseits DMs aufgrund der MBNL/CELF Fehlregulation als „Spliceopathie“ angesehen werden, und andererseits bereits geringe Veränderungen (10%) einzelner Spleiß-Faktoren Auswirkungen auf zellulärer Ebene haben können (Anczuków et al., 2012), haben wir eine „gene set enrichment“ Analyse mit Fokus auf Spleiß-Prozessen durchgeführt. Das ergab sowohl in Myoblasten als auch in Myotuben und einem zusätzlich genutzten Datensatz aus DM1 Muskelbiopsien eine deutlich komplexere Regulation des Spleiß-Apparates als bisher angenommen. Gene, die Proteine für alternatives Spleißen kodieren, waren tendenziell hochreguliert, während Gene, die am konstitutiven Spleißen beteiligt sind, tendenziell runterreguliert waren (**Figure 19**).



**Abbildung 19:** „Gene set Enrichment“ Analyse für Gene, die Proteine mit Funktionen im Spleißen kodieren, in DM1 Myoblasten, Myotuben und Muskelbiopsien (vergleichend zu gesunden Kontrollen). Adaptiert aus (Todorow et al., 2021).

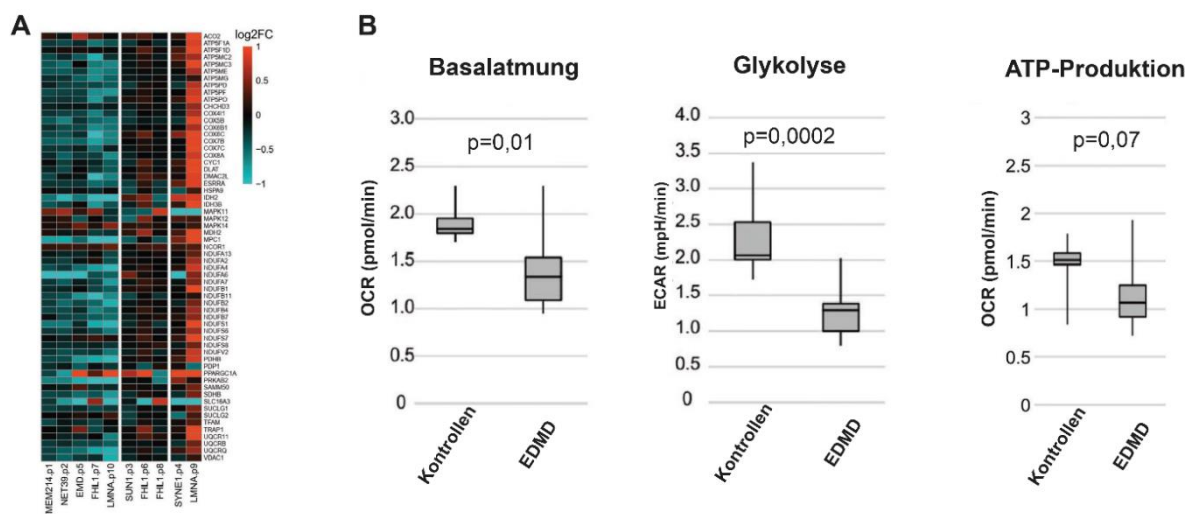
Da Spleißen (und insbesondere alternatives Spleißen) als sehr sensibler Prozess angesehen wird (Chen and Manley, 2009), ist anzunehmen, dass die von uns beobachteten Veränderungen zusätzlich zur MBNL/CELF Fehlregulation zum Spleiß-Phänotyp in DM1 beitragen. Weiterhin zeigen diese Ergebnisse, dass ein Therapieansatz, der reife Muskulatur als Ziel nutzt, eventuell nicht ausreichend sein könnte, da die Fehlregulation bereits in früheren Stadien beginnt. Daher sollten auch Satellitenzellen als therapeutisches Ziel in Erwägung gezogen werden.

Metabolic, fibrotic and splicing pathways are all altered in Emery-Dreifuss muscular dystrophy spectrum patients to differing degrees

Jose I. de las Heras, Vanessa Todorow, Lejla Krečinić-Balić, Stefan Hintze,  
Rafal Czapiewski, Shaun Webb, Benedikt Schoser,  
**Peter Meinke & Eric C. Schirmer (2022)**

*Human Molecular Genetics*. doi: 10.1093/hmg/ddac264. Online ahead of print.

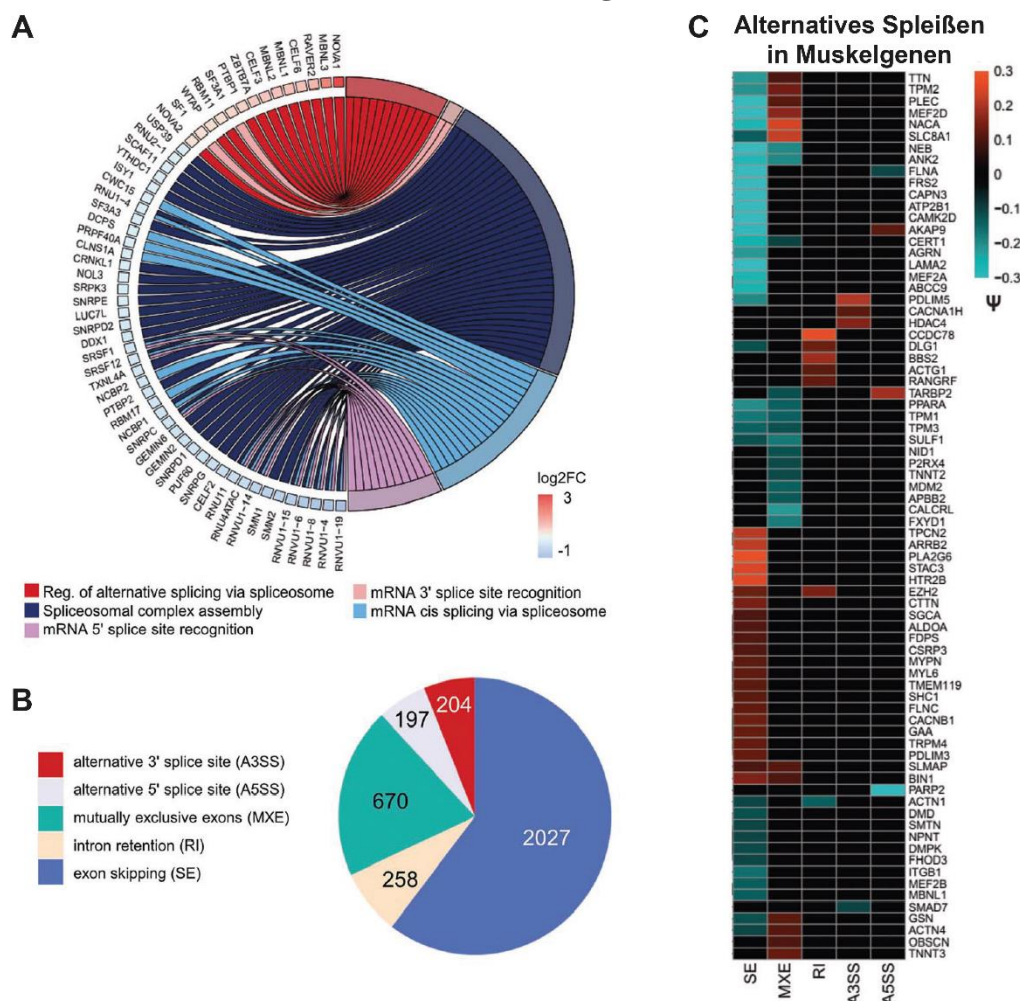
EDMD kann durch Mutationen in mehreren Kernmembranproteinen verursacht werden und ist klinisch variabel. Frühere Versuche, mittels Genexpressionsanalyse einen gemeinsamen Pathomechanismus zu identifizieren, waren nicht erfolgreich (Bakay et al., 2006). In diesem Projekt haben wir primäre Muskelzellkulturen von 10 verschiedenen EDMD-Patienten (mit Mutationen in 7 verschiedenen Genen: *LMNA*, *EMD*, *FHL1*, *SUN1*, *SYNE1*, *TMEM214* und *PLPP7*) und Kontrollen *in vitro* differenziert und eine Transkriptomanalyse der Myotuben durchgeführt. Der Versuchsaufbau wurde so gewählt, dass Effekte wie das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Probennahme, Differenzierungsdefekt (die den Anteil an differenzierten Zellen ausdünnen könnten) oder Kontamination anderer Gewebe ausgeschlossen wurden. In den 10 Zellkulturen konnten nur 3 Gene identifiziert werden, die in allen Proben gleichermaßen fehlreguliert waren. Um geteilte Pathomechanismen zu bestimmen, wurde eine Pathway-Analyse durchgeführt. In allen Patientenzellkulturen waren Fibrose, Metabolismus, myogenes Signaling und Spleißen betroffen. Es wurden weiterhin 28 fehlregulierte miRNAs identifiziert. Die metabolischen Defekte wurden in einem erweiterten Probensatz in Zellkultur mittels SeaHorse-Messungen verifiziert (**Abbildung 20A/B**).



**Abbildung 20:** Metabolische Defekte: (A) Expression nukleär kodierter mitochondrialer Gene, (B) reduzierte Basalatmung, Glykolyse und ATP-Produktion in primären EDMD-Muskelzellkulturen. Adaptiert aus (de Las Heras et al., 2022).



Die Expressionsveränderungen von Spleiß-Faktoren wurden weiter untersucht und interessanterweise waren sowohl MBNL- als auch CELF-kodierende Gene fehlreguliert, was eine überraschend klare Überlappung zu DM darstellt. Auch in EDMD waren alternative Spleiß-Faktoren tendenziell hochreguliert, während Gene, die am konstitutiven Spleißen beteiligt sind, tendenziell runterreguliert waren (**Figure 21A**). Sind die Expressionsveränderungen dieser Gene pathologisch relevant, so ist ein verändertes Spleißen zu erwarten. Wir konnten alternatives Spleißen verschiedener Gene identifizieren, insbesondere war das Auslassen einzelner Exons (exon skipping) und die Beibehaltung von Introns (intron retention) häufig (**Figure 21B**). Mehrere der fehlgespleißten Gene waren für die Muskulatur relevant, wie z.B. *TTN*, *CAPN3*, *SGCA* oder *DMD* (**Figure 21C**).



**Abbildung 21:** (A) In EDMD fehlregulierte Gene, die Spleiß-Proteine kodieren; (B) Quantifizierung der verschiedenen Arten des differentiellen Spleißens, und (C) Liste der alternativen Spleiß-Events in differenzierten primären EDMD-Muskelzellkulturen. Adaptiert aus (de Las Heras et al., 2022).

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die EDMD-verursachenden Mutationen in verschiedenen Genen zur Fehlregulation unterschiedlicher Gene führen, was aber in einer Fehlregulation der gleichen Pathways resultiert. Dabei gibt es starke Überlappungen mit anderen neuromuskulären Erkrankungen, insbesondere der DM1.

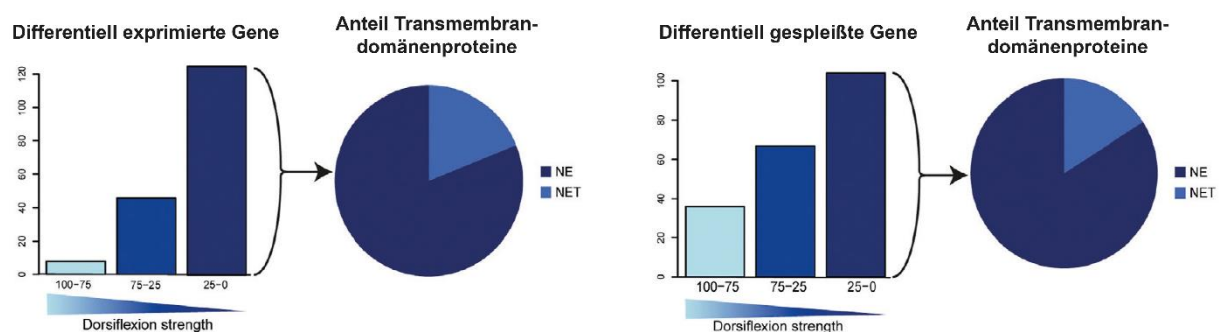
**Nuclear envelope transmembrane proteins involved in genome organization are misregulated  
in myotonic dystrophy type 1 muscle**

Vanessa Todorow, Stefan Hintze, Benedikt Schoser & **Peter Meinke**<sup>†</sup> (2023)

*Frontiers in Cell and Developmental Biology*, doi: 10.3389/fcell.2022.1007331.

(<sup>†</sup>corresponding author)

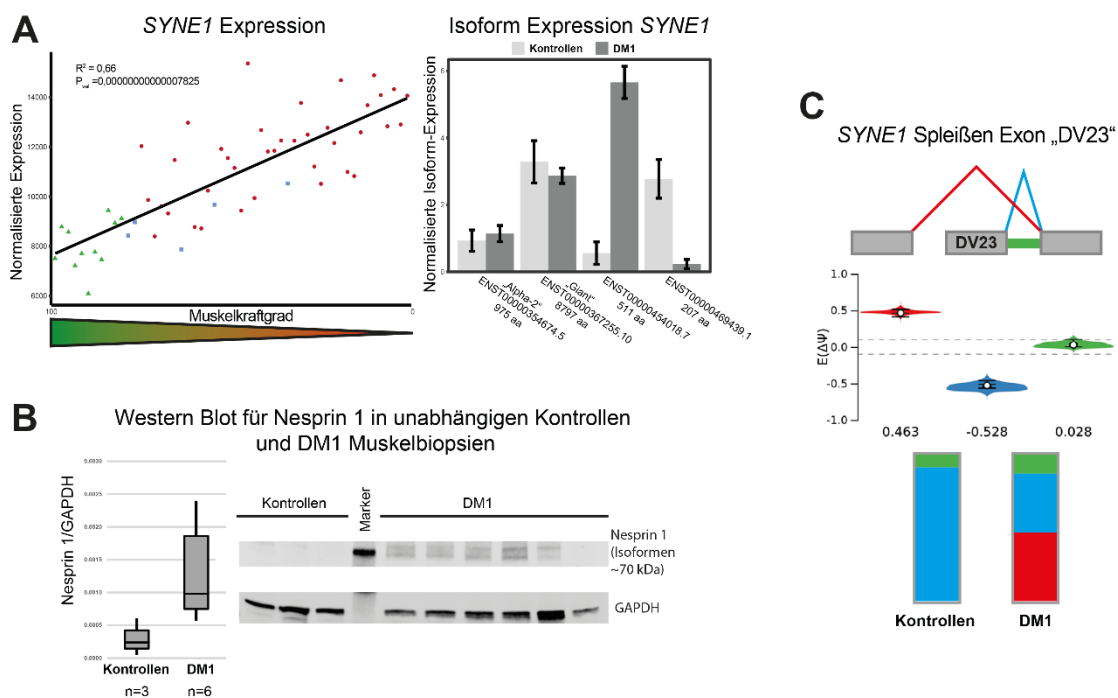
Nachdem wir in DM1 Veränderungen der Expression von Kernmembranproteinen sowohl in proliferierenden Myoblasten als auch in differenzierten Myotuben nachweisen konnten (Hintze et al., 2018; Meinke et al., 2018), wollten wir nun untersuchen, ob die Kernmembran auch in final differenzierten DM1-Muskelfasern betroffen ist. Deshalb haben wir publizierte RNA-Sequenzierungsdaten aus DM1-Muskeln (Wang et al., 2019a) hinsichtlich einer Beteiligung der Kernmembran bioinformatisch reanalysiert. Den Hauptfokus legten wir dabei auf 386 Gene, deren Proteine an der Muskelkernmembran identifiziert wurden (Wilkie et al., 2011; Korfali et al., 2012), und analysierten diese hinsichtlich Expression und Spleißen in DM1. Der vorhandene RNA-Sequenzierungsdatensatz enthielt auch klinische Daten zu Kraftgraden der Sprunggelenkmuskulatur als Korrelat einer *Musculus tibialis anterior* Parese. Entsprechend haben wir die Sequenzierungsdaten aus diesem Muskel für unsere Analysen verwendet, und die DM1-Patienten basierend auf ihrer Dorsalextensionsstärke in 3 Gruppen eingeteilt (100-75 = Proto-DM1; 75-25 = typische DM1; 25-0 = schwere DM1). Je schwerer die Muskelschwäche war, umso mehr Muskelkernmembranproteine waren differentiell exprimiert oder gespleißt (**Abbildung 22**).



**Abbildung 22:** Anzahl an Muskel-Kernmembranproteinen, die in DM1-Muskelbiopsien des *Musculus tibialis anterior* differentiell exprimiert (links) oder gespleißt (rechts) sind. Die Anzahl der Gene ist jeweils nach Schweregrad der Muskelschwäche (100-75 = Proto-DM1; 75-25 = typische DM1; 25-0 = schwere DM1) in Gruppen eingeteilt, die Kreisdiagramme zeigen jeweils den Anteil an Transmembrandomänenproteinen der Kernmembran. Adaptiert aus (Todorow et al., 2023).

Unter den fehlregulierten Kernmembranproteinen waren zwei Gruppen besonders auffällig: (I) Kernmembranproteine die den Zellkern mit dem Zytoskelett verbinden und (II) Kernmembranproteine die funktionell an der Genomorganisation beteiligt sind. Unter den Kernmembranproteinen, die den Zellkern mit dem Zytoskelett verbinden, befindet sich

Nesprin 1. Die Expression des Nesprin 1-kodierenden Gens *SYNE1* korreliert negativ mit der Dorsalextensionsstärke. Je schwächer der *Musculus tibialis anterior*, umso stärker wurde *SYNE1* exprimiert (**Abbildung 23A**). Allerdings waren für diese Hochregulation der Expression nicht alle Spleiß-Varianten dieses Multi-Isoform Gens verantwortlich, sondern eine komplexe Hoch- und Runterregulation mittlerer Isoformen, was wir auch mittels Western Blot in unabhängigen Muskelbiopsien bestätigen konnten (**Abbildung 23B**). Weiterhin auffällig war das Fehlspleißen eines muskelspezifischen Exons in *SYNE1* (Simpson and Roberts, 2008; Duong et al., 2014) (**Abbildung 23C**).

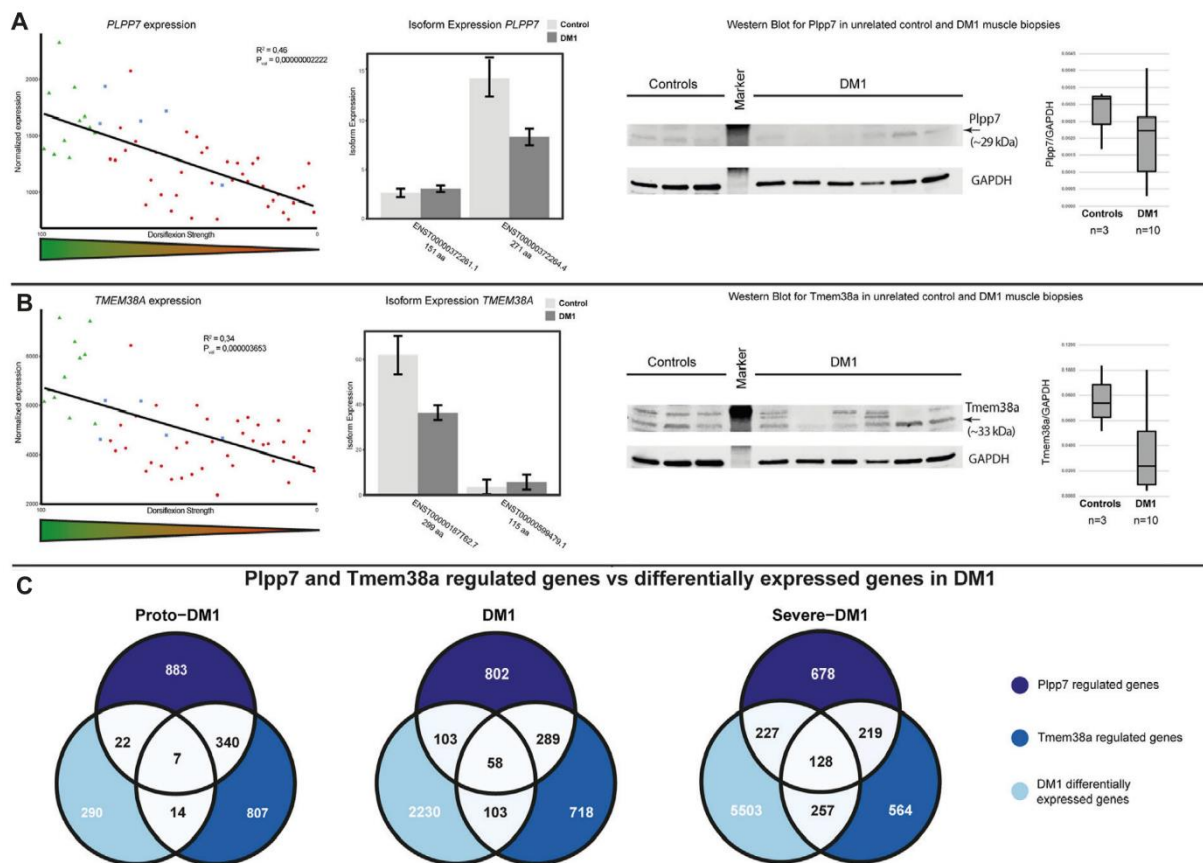


**Abbildung 23:** Nesprin 1 in DM1-Muskel, (A) Veränderung der *SYNE1* Expression relativ zur Betroffenheit des Muskels (links) und Veränderung der Isoform-Expression (rechts). (B) Western Blot für eine ~ 70 kDa Nesprin 1-Isoform in unabhängigen DM1-Muskelbiopsien. (C) Auslassen des muskelspezifischen *SYNE1* Exons „DV23“ in DM1-Muskel. Adaptiert aus (Todorow et al., 2023).

Unter den Kernmembranproteinen, die funktionell an der Genomorganisation beteiligt sind, stachen besonders *PLPP7* und *TMEM38A* hervor. Beide sind in EDMD mit Auswirkung auf die Genomorganisation mutiert (Meinke et al., 2020) und es gibt einen additiven Effekt, der Verlust von beiden Proteinen führt zu einem größeren Defekt als der Verlust nur eines dieser Proteine (Robson et al., 2016). Für sowohl *PLPP7* als auch *TMEM38A* korrelierte die Expression mit der Dorsalextensionsstärke (**Abbildung 24A/B**). Wir konnten mittels Western Blot in unabhängigen Muskelbiopsien bestätigen, dass nicht nur die RNA, sondern auch die Proteinlevel betroffen sind (**Abbildung 24A/B**). Um zu testen, ob dies funktionell relevant ist, haben wir die in Mausmuskelzellen identifizierten Gene, die dort in ihrer Expression von *PLPP7* und *TMEM38a* kontrolliert werden, verwendet. Diese Gene wurden mit den differentiell



exprimierten Genen in humanen Muskelbiopsien verglichen. Trotz der Unterschiede im Differenzierungsgrad (Myoblasten vs. final ausdifferenziertem Muskel) und der Spezies (Maus vs. Mensch) fanden wir einen Großteil dieser Gene in DM1 (in Abhängigkeit von der Betroffenheit des Muskels) fehlreguliert (**Abbildung 24C**). Das deutet darauf hin, dass die Expressions-Veränderungen von PLPP7 und TMEM38a relevant die Genomorganisation in DM1-Muskel verändern und somit auch pathologisch hochrelevant sind.



**Abbildung 24:** Expressionsveränderungen der Gene (A) *PLPP7* und (B) *TMEM38A* relativ zur Betroffenheit des Muskels (links) und Western Blot in unabhängigen DM1-Muskelbiopsien für die beiden kodierten Proteine (rechts). (C) Überlappung der durch *PLPP7* und *TMEM38A* in Mausmyotuben regulierten Gene mit den in DM1 differenziell exprimierten Genen nach Schwere der Betroffenheit des Muskels. Adaptiert aus (Todorow et al., 2023).

Das zeigt, dass die Kernmembran in DM1 nicht nur in Myoblasten und Myotuben mit Auswirkungen auf die Erkrankung verändert ist, sondern auch in final ausdifferenziertem Muskel. Damit können wir Kernmembranveränderungen der Liste der beschriebenen Pathomechanismen in DM1 hinzufügen. Dass insbesondere in EDMD mutierte Gene in DM1 fehlreguliert (differenziell exprimiert und/oder gespleißt) sind, weist auf die molekularen Überlappungen beider Erkrankungen hin. In Zukunft könnten Patienten mit beiden Erkrankungen von Therapieansätzen, die auf einzelne Pathomechanismen zielen, profitieren.

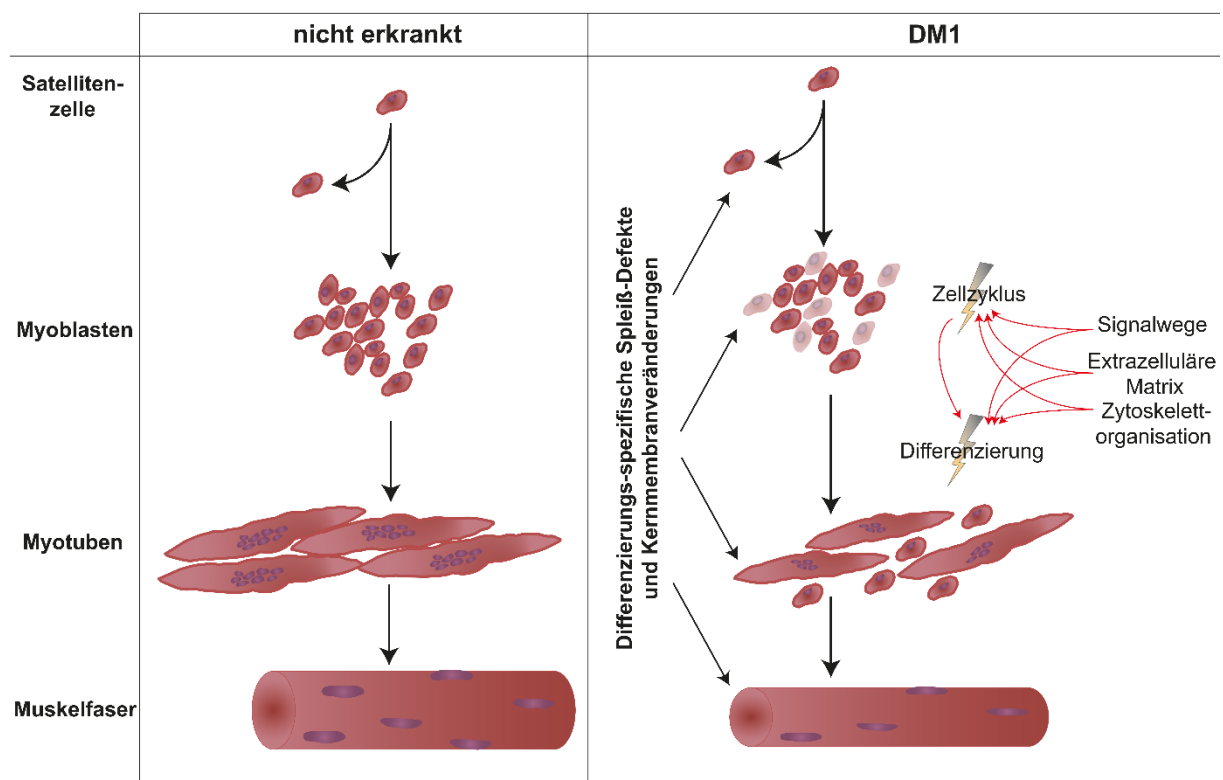
## **Zusammenfassung der habilitationsrelevanten Arbeiten**

Als Grundlage für die vorliegenden Arbeiten an DM1 war es zunächst notwendig, das von uns genutzte *in vitro* Modellsystem der primären humanen Muskelzellkulturen für myotone Dystrophie Typ 1 (DM1) aufgrund der vorliegenden Gewebsmosaik zu verifizieren. Wir konnten zeigen, dass die primären Muskelzellkulturen die Repeatlänge im final differenzierten Muskel widerspiegeln und sich damit als Modellsystem eignen (Hintze et al., 2021).

In den folgenden Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Kernmembran in DM1 während verschiedener Stadien der Muskeldifferenzierung betroffen ist (**Abbildung 25**). In proliferierenden Myoblasten kommt es zu strukturellen Veränderungen der Kernmembran: Membraneinkerbungen, welche die Oberfläche der Kernmembran vergrößern und mit einem Verlust der Proliferationsfähigkeit einhergehen. Der Anteil an Zellkernen mit diesen strukturellen Veränderungen korreliert mit der CTG-Repeatlänge, welche wiederum mit der Schwere und dem Manifestationszeitpunkt der Erkrankung korreliert (Meinke et al., 2018). Die Lokalisierung von SERCA- und Ryr- Proteinen (welche beide in DM1 fehlgespleißt werden) in ähnlichen, aber funktionellen Strukturen in glatter Muskulatur lässt vermuten, dass Kernmembranproteine (NETs) an der Ausbildung dieser Strukturen beteiligt sind (Duan et al., 2019). In differenzierten Myotuben ließen sich ebenfalls Veränderungen der Kernmembran nachweisen, und die differentielle Expression von Nesprin-Isoformen (welche den Zellkern mit dem Zytoskelett verbinden und somit strukturell relevant sind) lieferte einen weiteren Hinweis darauf, dass die Expression von NETs an diesem Phänotyp beteiligt ist (Hintze et al., 2018). In final differenzierten DM1 Muskelfasern waren je schwerer die Muskelschwäche war, umso mehr NETs differentiell exprimiert oder gespleißt. Dabei waren insbesondere NETs, welche den Zellkern mit dem Zytoskelett verbinden, und muskelspezifische NETs, welche funktionell an der gewebsspezifischen Genomorganisation beteiligt sind (insbesondere TMEM38a und PLPP7), betroffen (Todorow et al., 2023). Die Auswirkung der Fehlregulation letzterer ließ sich mittels Expressionsveränderungen der durch diese muskelspezifischen NETs regulierten Gene nachweisen. Diese Arbeiten zeigen, dass die Veränderungen der Kernmembran ein relevanter Faktor in der molekularen Pathogenese von DM1 sind.

In einem weiteren Teil dieser Arbeit wurden muskelspezifische NETs als funktionelle Kandidaten für eine weitere neuromuskuläre Erkrankung, Emery-Dreifuss Muskeldystrophie (EDMD), untersucht. Dabei wurden unter anderem Mutationen in TMEM38a und PLPP7 identifiziert und es konnte gezeigt werden, dass die identifizierten Mutationen in diesen beiden Proteinen ausreichend sind, um die Genomorganisation im Muskel zu beeinträchtigen (Meinke

et al., 2020). Transkriptomanalysen von primären DM1- und EDMD-Muskelzellkulturen zeigten ähnliche betroffene Pathways, insbesondere waren Spleiß-Faktoren in beiden Erkrankungen ähnlich fehlreguliert: alternative Spleiß-Faktoren waren tendenziell hochreguliert, während Gene, die am konstitutiven Spleißen beteiligt sind, tendenziell runterreguliert waren (de Las Heras et al., 2022; Todorow et al., 2023). Das zeigt eine komplexe Überlappung der molekularen Pathologie zwischen DM1 und EDMD und wirft die Frage auf, was primäre und was sekundäre Effekte in den jeweiligen Erkrankungen sind. Unabhängig davon ergeben sich durch diese Arbeiten mögliche Biomarker sowie therapeutische Ziele für DM1 und EDMD.



**Abbildung 25:** Hypothetisches Zusammenspiel verschiedener Faktoren, die in DM1 zum Phänotyp der Muskelschwäche führen. Adaptiert aus (Todorow et al., 2023).

**Literaturverzeichnis**

- Abdelfatah, N., Chen, R., Duff, H.J., Seifer, C.M., Buffo, I., Huculak, C., et al. (2019). Characterization of a Unique Form of Arrhythmic Cardiomyopathy Caused by Recessive Mutation in LEMD2. *JACC Basic Transl Sci* 4(2), 204-221. doi: 10.1016/j.jacbts.2018.12.001.
- Ait Benichou, S., Jauvin, D., De Serres-Bérard, T., Bennett, F., Rigo, F., Gourdon, G., et al. (2022). Enhanced Delivery of Ligand-Conjugated Antisense Oligonucleotides (C16-HA-ASO) Targeting Dystrophia Myotonia Protein Kinase Transcripts for the Treatment of Myotonic Dystrophy Type 1. *Hum Gene Ther* 33(15-16), 810-820. doi: 10.1089/hum.2022.069.
- Alsagaf, R., Wang, Y., Marini-Bettolo, C., Wood, L., Nikolenko, N., Lochmüller, H., et al. (2018). Benign and malignant tumors in the UK myotonic dystrophy patient registry. *Muscle Nerve* 57(2), 316-320. doi: 10.1002/mus.25736.
- Alwazzan, M., Newman, E., Hamshere, M.G., and Brook, J.D. (1999). Myotonic dystrophy is associated with a reduced level of RNA from the DMWD allele adjacent to the expanded repeat. *Hum Mol Genet* 8(8), 1491-1497. doi: 10.1093/hmg/8.8.1491.
- Ambrose, K.K., Ishak, T., Lian, L.H., Goh, K.J., Wong, K.T., Ahmad-Annuar, A., et al. (2017). Deregulation of microRNAs in blood and skeletal muscles of myotonic dystrophy type 1 patients. *Neurol India* 65(3), 512-517. doi: 10.4103/neuroindia.NI\_237\_16.
- Anczuków, O., Rosenberg, A.Z., Akerman, M., Das, S., Zhan, L., Karni, R., et al. (2012). The splicing factor SRSF1 regulates apoptosis and proliferation to promote mammary epithelial cell transformation. *Nat Struct Mol Biol* 19(2), 220-228. doi: 10.1038/nsmb.2207.
- Angelbello, A.J., Benhamou, R.I., Rzuczek, S.G., Choudhary, S., Tang, Z., Chen, J.L., et al. (2021). A Small Molecule that Binds an RNA Repeat Expansion Stimulates Its Decay via the Exosome Complex. *Cell Chem Biol* 28(1), 34-45.e36. doi: 10.1016/j.chembiol.2020.10.007.
- Angelbello, A.J., Rzuczek, S.G., McKee, K.K., Chen, J.L., Olafson, H., Cameron, M.D., et al. (2019). Precise small-molecule cleavage of an r(CUG) repeat expansion in a myotonic dystrophy mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116(16), 7799-7804. doi: 10.1073/pnas.1901484116.
- Ashizawa, T., Dunne, C.J., Dubel, J.R., Perryman, M.B., Epstein, H.F., Boerwinkle, E., et al. (1992). Anticipation in myotonic dystrophy. I. Statistical verification based on clinical and haplotype findings. *Neurology* 42(10), 1871-1877. doi: 10.1212/wnl.42.10.1871.
- Bachinski, L.L., Baggerly, K.A., Neubauer, V.L., Nixon, T.J., Raheem, O., Sirito, M., et al. (2014). Most expression and splicing changes in myotonic dystrophy type 1 and type 2 skeletal muscle are shared with other muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord* 24(3), 227-240. doi: 10.1016/j.nmd.2013.11.001.
- Bakay, M., Wang, Z., Melcon, G., Schiltz, L., Xuan, J., Zhao, P., et al. (2006). Nuclear envelope dystrophies show a transcriptional fingerprint suggesting disruption of Rb-MyoD pathways in muscle regeneration. *Brain* 129(Pt 4), 996-1013. doi: 10.1093/brain/awl023.
- Bannister, A.J., and Kouzarides, T. (2011). Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res* 21(3), 381-395. doi: 10.1038/cr.2011.22.
- Barbé, L., Lanni, S., López-Castel, A., Franck, S., Spits, C., Keymolen, K., et al. (2017). CpG Methylation, a Parent-of-Origin Effect for Maternal-Biased Transmission of Congenital Myotonic Dystrophy. *Am J Hum Genet* 100(3), 488-505. doi: 10.1016/j.ajhg.2017.01.033.
- Bargiela, A., Sabater-Arcis, M., Espinosa-Espinosa, J., Zulaica, M., Lopez de Munain, A., and Artero, R. (2019). Increased Muscleblind levels by chloroquine treatment improve myotonic dystrophy type 1 phenotypes in in vitro and in vivo models. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116(50), 25203-25213. doi: 10.1073/pnas.1820297116.
- Bassez, G., Audureau, E., Hogrel, J.Y., Arrouasse, R., Baghdoyan, S., Bhugaloo, H., et al. (2018). Improved mobility with metformin in patients with myotonic dystrophy type 1: a randomized controlled trial. *Brain* 141(10), 2855-2865. doi: 10.1093/brain/awy231.
- Bellini, M., Biagi, S., Stasi, C., Costa, F., Mumolo, M.G., Ricchiuti, A., et al. (2006). Gastrointestinal manifestations in myotonic muscular dystrophy. *World J Gastroenterol* 12(12), 1821-1828. doi: 10.3748/wjg.v12.i12.1821.
- Benhalevy, D., Gupta, S.K., Danan, C.H., Ghosal, S., Sun, H.W., Kazemier, H.G., et al. (2017). The Human CCHC-type Zinc Finger Nucleic Acid-Binding Protein Binds G-Rich Elements in Target mRNA Coding Sequences and Promotes Translation. *Cell Rep* 18(12), 2979-2990. doi: 10.1016/j.celrep.2017.02.080.

- Bione, S., Maestrini, E., Rivella, S., Mancini, M., Regis, S., Romeo, G., et al. (1994). Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 8(4), 323-327. doi: 10.1038/ng1294-323.
- Bird, T.D. (2021). "Myotonic Dystrophy Type 1," in *GeneReviews®*, eds. M.P. Adam, D.B. Everman, G.M. Mirzaa & e. al. (Seattle (WA): University of Washington, Seattle).
- Bonne, G., Di Barletta, M.R., Varnous, S., Bécane, H.M., Hammouda, E.H., Merlini, L., et al. (1999). Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 21(3), 285-288. doi: 10.1038/6799.
- Bonne, G., Mercuri, E., Muchir, A., Urtizberea, A., Bécane, H.M., Recan, D., et al. (2000). Clinical and molecular genetic spectrum of autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy due to mutations of the lamin A/C gene. *Ann Neurol* 48(2), 170-180.
- Botta, A., Caldarola, S., Vallo, L., Bonifazi, E., Fruci, D., Gullotta, F., et al. (2006). Effect of the [CCTG]<sub>n</sub> repeat expansion on ZNF9 expression in myotonic dystrophy type II (DM2). *Biochim Biophys Acta* 1762(3), 329-334. doi: 10.1016/j.bbadis.2005.11.004.
- Braun, M., Shoshani, S., and Tabach, Y. (2022). Transcriptome changes in DM1 patients' tissues are governed by the RNA interference pathway. *Front Mol Biosci* 9, 955753. doi: 10.3389/fmolb.2022.955753.
- Brouwer, J.R., Huguet, A., Nicole, A., Munnich, A., and Gourdon, G. (2013). Transcriptionally Repressive Chromatin Remodelling and CpG Methylation in the Presence of Expanded CTG-Repeats at the DM1 Locus. *J Nucleic Acids* 2013, 567435. doi: 10.1155/2013/567435.
- Brunner, H.G., Hamel, B.C., Rieu, P., Höweler, C.J., and Peters, F.T. (1992). Intestinal pseudo-obstruction in myotonic dystrophy. *J Med Genet* 29(11), 791-793. doi: 10.1136/jmg.29.11.791.
- Burtner, C.R., and Kennedy, B.K. (2010). Progeria syndromes and ageing: what is the connection? *Nat Rev Mol Cell Biol* 11(8), 567-578. doi: 10.1038/nrm2944.
- Carrell, S.T., Carrell, E.M., Auerbach, D., Pandey, S.K., Bennett, C.F., Dirksen, R.T., et al. (2016). Dmpk gene deletion or antisense knockdown does not compromise cardiac or skeletal muscle function in mice. *Hum Mol Genet* 25(19), 4328-4338. doi: 10.1093/hmg/ddw266.
- Chakraborty, M., Sellier, C., Ney, M., Pascal, V., Charlet-Berguerand, N., Artero, R., et al. (2018). Daunorubicin reduces MBNL1 sequestration caused by CUG-repeat expansion and rescues cardiac dysfunctions in a Drosophila model of myotonic dystrophy. *Dis Model Mech* 11(4). doi: 10.1242/dmm.032557.
- Charlet, B.N., Savkur, R.S., Singh, G., Philips, A.V., Grice, E.A., and Cooper, T.A. (2002). Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alternative splicing. *Mol Cell* 10(1), 45-53. doi: 10.1016/s1097-2765(02)00572-5.
- Chen, K., and Rajewsky, N. (2007). The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs. *Nat Rev Genet* 8(2), 93-103. doi: 10.1038/nrg1990.
- Chen, L., Lee, L., Kudlow, B.A., Dos Santos, H.G., Sletvold, O., Shafeghati, Y., et al. (2003). LMNA mutations in atypical Werner's syndrome. *Lancet* 362(9382), 440-445. doi: 10.1016/s0140-6736(03)14069-x.
- Chen, M., and Manley, J.L. (2009). Mechanisms of alternative splicing regulation: insights from molecular and genomics approaches. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10(11), 741-754. doi: 10.1038/nrm2777.
- Chen, W., Wang, Y., Abe, Y., Cheney, L., Udd, B., and Li, Y.P. (2007). Haploinsufficiency for Znf9 in *Znf9*<sup>+/-</sup> mice is associated with multiorgan abnormalities resembling myotonic dystrophy. *J Mol Biol* 368(1), 8-17. doi: 10.1016/j.jmb.2007.01.088.
- Cho, D.H., Thienes, C.P., Mahoney, S.E., Analau, E., Filipova, G.N., and Tapscott, S.J. (2005). Antisense transcription and heterochromatin at the DM1 CTG repeats are constrained by CTCF. *Mol Cell* 20(3), 483-489. doi: 10.1016/j.molcel.2005.09.002.
- Cumming, S.A., Jimenez-Moreno, C., Okkersen, K., Wenninger, S., Daidj, F., Hogarth, F., et al. (2019). Genetic determinants of disease severity in the myotonic dystrophy type 1 OPTIMISTIC cohort. *Neurology* 93(10), e995-e1009. doi: 10.1212/WNL.0000000000008056.
- Czubak, K., Taylor, K., Piasecka, A., Sobczak, K., Kozłowska, K., Philips, A., et al. (2019). Global Increase in Circular RNA Levels in Myotonic Dystrophy. *Front Genet* 10, 649. doi: 10.3389/fgene.2019.00649.
- Dahlqvist, J.R., Ørngreen, M.C., Witting, N., and Vissing, J. (2015). Endocrine function over time in patients with myotonic dystrophy type 1. *Eur J Neurol* 22(1), 116-122. doi: 10.1111/ene.12542.

- Dastidar, S., Ardui, S., Singh, K., Majumdar, D., Nair, N., Fu, Y., et al. (2018). Efficient CRISPR/Cas9-mediated editing of trinucleotide repeat expansion in myotonic dystrophy patient-derived iPSC and myogenic cells. *Nucleic Acids Res* 46(16), 8275-8298. doi: 10.1093/nar/gky548.
- Day, J.W., Ricker, K., Jacobsen, J.F., Rasmussen, L.J., Dick, K.A., Kress, W., et al. (2003). Myotonic dystrophy type 2: molecular, diagnostic and clinical spectrum. *Neurology* 60(4), 657-664. doi: 10.1212/01.wnl.0000054481.84978.f9.
- De Antonio, M., Dogan, C., Hamroun, D., Mati, M., Zerrouki, S., Eymard, B., et al. (2016). Unravelling the myotonic dystrophy type 1 clinical spectrum: A systematic registry-based study with implications for disease classification. *Rev Neurol (Paris)* 172(10), 572-580. doi: 10.1016/j.neurol.2016.08.003.
- de Las Heras, J.I., Meinke, P., Batrakou, D.G., Srsen, V., Zuleger, N., Kerr, A.R., et al. (2013). Tissue specificity in the nuclear envelope supports its functional complexity. *Nucleus* 4(6), 460-477. doi: 10.4161/nucl.26872.
- de Las Heras, J.I., Todorow, V., Krečinić-Balić, L., Hintze, S., Czapiewski, R., Webb, S., et al. (2022). Metabolic, fibrotic, and splicing pathways are all altered in Emery-Dreifuss muscular dystrophy Spectrum patients to differing degrees. *Hum Mol Genet*. doi: 10.1093/hmg/ddac264.
- De Sandre-Giovannoli, A., Bernard, R., Cau, P., Navarro, C., Amiel, J., Boccaccio, I., et al. (2003). Lamin a truncation in Hutchinson-Gilford progeria. *Science* 300(5628), 2055. doi: 10.1126/science.1084125.
- De Sandre-Giovannoli, A., Chaouch, M., Kozlov, S., Vallat, J.M., Tazir, M., Kassouri, N., et al. (2002). Homozygous defects in LMNA, encoding lamin A/C nuclear-envelope proteins, cause autosomal recessive axonal neuropathy in human (Charcot-Marie-Tooth disorder type 2) and mouse. *Am J Hum Genet* 70(3), 726-736. doi: 10.1086/339274.
- de Swart, B.J., van Engelen, B.G., van de Kerkhof, J.P., and Maassen, B.A. (2004). Myotonia and flaccid dysarthria in patients with adult onset myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75(10), 1480-1482. doi: 10.1136/jnnp.2003.032151.
- Dere, R., Napierala, M., Ranum, L.P., and Wells, R.D. (2004). Hairpin structure-forming propensity of the (CCTG.CAGG) tetranucleotide repeats contributes to the genetic instability associated with myotonic dystrophy type 2. *J Biol Chem* 279(40), 41715-41726. doi: 10.1074/jbc.M406415200.
- Dhaenens, C.M., Schraen-Maschke, S., Tran, H., Vingtdoux, V., Ghanem, D., Leroy, O., et al. (2008). Overexpression of MBNL1 fetal isoforms and modified splicing of Tau in the DM1 brain: two individual consequences of CUG trinucleotide repeats. *Exp Neurol* 210(2), 467-478. doi: 10.1016/j.expneurol.2007.11.020.
- Dixon, D.M., Choi, J., El-Ghazali, A., Park, S.Y., Roos, K.P., Jordan, M.C., et al. (2015). Loss of muscleblind-like 1 results in cardiac pathology and persistence of embryonic splice isoforms. *Sci Rep* 5, 9042. doi: 10.1038/srep09042.
- Dragileva, E., Hendricks, A., Teed, A., Gillis, T., Lopez, E.T., Friedberg, E.C., et al. (2009). Intergenerational and striatal CAG repeat instability in Huntington's disease knock-in mice involve different DNA repair genes. *Neurobiol Dis* 33(1), 37-47. doi: 10.1016/j.nbd.2008.09.014.
- Du, H., Cline, M.S., Osborne, R.J., Tuttle, D.L., Clark, T.A., Donohue, J.P., et al. (2010). Aberrant alternative splicing and extracellular matrix gene expression in mouse models of myotonic dystrophy. *Nat Struct Mol Biol* 17(2), 187-193. doi: 10.1038/nsmb.1720.
- Duan, J., Navarro-Dorado, J., Clark, J.H., Kinnear, N.P., Meinke, P., Schirmer, E.C., et al. (2019). The cell-wide web coordinates cellular processes by directing site-specific Ca(2+) flux across cytoplasmic nanocourses. *Nat Commun* 10(1), 2299. doi: 10.1038/s41467-019-10055-w.
- Duong, N.T., Morris, G.E., Lam le, T., Zhang, Q., Sewry, C.A., Shanahan, C.M., et al. (2014). Nesprins: tissue-specific expression of epsilon and other short isoforms. *PLoS One* 9(4), e94380. doi: 10.1371/journal.pone.0094380.
- Emery, A.E., and Dreifuss, F.E. (1966). Unusual type of benign x-linked muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 29(4), 338-342. doi: 10.1136/jnnp.29.4.338.
- Eriksson, M., Brown, W.T., Gordon, L.B., Glynn, M.W., Singer, J., Scott, L., et al. (2003). Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 423(6937), 293-298. doi: 10.1038/nature01629.

- Fardaei, M., Larkin, K., Brook, J.D., and Hamshere, M.G. (2001). In vivo co-localisation of MBNL protein with DMPK expanded-repeat transcripts. *Nucleic Acids Res* 29(13), 2766-2771. doi: 10.1093/nar/29.13.2766.
- Fardaei, M., Rogers, M.T., Thorpe, H.M., Larkin, K., Hamshere, M.G., Harper, P.S., et al. (2002). Three proteins, MBNL, MBLL and MBXL, co-localize in vivo with nuclear foci of expanded-repeat transcripts in DM1 and DM2 cells. *Hum Mol Genet* 11(7), 805-814. doi: 10.1093/hmg/11.7.805.
- Fatkin, D., MacRae, C., Sasaki, T., Wolff, M.R., Porcu, M., Frenneaux, M., et al. (1999). Missense mutations in the rod domain of the lamin A/C gene as causes of dilated cardiomyopathy and conduction-system disease. *N Engl J Med* 341(23), 1715-1724. doi: 10.1056/nejm199912023412302.
- Faustino, N.A., and Cooper, T.A. (2003). Pre-mRNA splicing and human disease. *Genes Dev* 17(4), 419-437. doi: 10.1101/gad.1048803.
- Fichtman, B., Zagairy, F., Biran, N., Barsheshet, Y., Chervinsky, E., Ben Neriah, Z., et al. (2019). Combined loss of LAP1B and LAP1C results in an early onset multisystemic nuclear envelopathy. *Nat Commun* 10(1), 605. doi: 10.1038/s41467-019-08493-7.
- Foiry, L., Dong, L., Savouret, C., Hubert, L., te Riele, H., Junien, C., et al. (2006). Msh3 is a limiting factor in the formation of intergenerational CTG expansions in DM1 transgenic mice. *Hum Genet* 119(5), 520-526. doi: 10.1007/s00439-006-0164-7.
- François, V., Klein, A.F., Beley, C., Jollet, A., Lemercier, C., Garcia, L., et al. (2011). Selective silencing of mutated mRNAs in DM1 by using modified hU7-snRNAs. *Nat Struct Mol Biol* 18(1), 85-87. doi: 10.1038/nsmb.1958.
- Freyermuth, F., Rau, F., Kokunai, Y., Linke, T., Sellier, C., Nakamori, M., et al. (2016). Splicing misregulation of SCN5A contributes to cardiac-conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy. *Nat Commun* 7, 11067. doi: 10.1038/ncomms11067.
- Fritegotto, C., Ferrati, C., Pegoraro, V., and Angelini, C. (2017). Micro-RNA expression in muscle and fiber morphometry in myotonic dystrophy type 1. *Neurol Sci* 38(4), 619-625. doi: 10.1007/s10072-017-2811-2.
- Fu, Y.H., Friedman, D.L., Richards, S., Pearlman, J.A., Gibbs, R.A., Pizzuti, A., et al. (1993). Decreased expression of myotonin-protein kinase messenger RNA and protein in adult form of myotonic dystrophy. *Science* 260(5105), 235-238. doi: 10.1126/science.8469976.
- Fu, Y.H., Pizzuti, A., Fenwick, R.G., Jr., King, J., Rajnarayan, S., Dunne, P.W., et al. (1992). An unstable triplet repeat in a gene related to myotonic muscular dystrophy. *Science* 255(5049), 1256-1258. doi: 10.1126/science.1546326.
- Fugier, C., Klein, A.F., Hammer, C., Vassilopoulos, S., Ivarsson, Y., Toussaint, A., et al. (2011). Misregulated alternative splicing of BIN1 is associated with T tubule alterations and muscle weakness in myotonic dystrophy. *Nat Med* 17(6), 720-725. doi: 10.1038/nm.2374.
- Furling, D., Doucet, G., Langlois, M.A., Timchenko, L., Belanger, E., Cossette, L., et al. (2003). Viral vector producing antisense RNA restores myotonic dystrophy myoblast functions. *Gene Ther* 10(9), 795-802. doi: 10.1038/sj.gt.3301955.
- Gadalla, S.M., Lund, M., Pfeiffer, R.M., Gørtz, S., Mueller, C.M., Moxley, R.T., 3rd, et al. (2011). Cancer risk among patients with myotonic muscular dystrophy. *Jama* 306(22), 2480-2486. doi: 10.1001/jama.2011.1796.
- Gambardella, S., Rinaldi, F., Lepore, S.M., Viola, A., Loro, E., Angelini, C., et al. (2010). Overexpression of microRNA-206 in the skeletal muscle from myotonic dystrophy type 1 patients. *J Transl Med* 8, 48. doi: 10.1186/1479-5876-8-48.
- Gao, Z., and Cooper, T.A. (2013). Reexpression of pyruvate kinase M2 in type 1 myofibers correlates with altered glucose metabolism in myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(33), 13570-13575. doi: 10.1073/pnas.1308806110.
- Gomes-Pereira, M., Cooper, T.A., and Gourdon, G. (2011). Myotonic dystrophy mouse models: towards rational therapy development. *Trends Mol Med* 17(9), 506-517. doi: 10.1016/j.molmed.2011.05.004.
- Goodwin, M., Mohan, A., Batra, R., Lee, K.Y., Charizanis, K., Fernández Gómez, F.J., et al. (2015). MBNL Sequestration by Toxic RNAs and RNA Misprocessing in the Myotonic Dystrophy Brain. *Cell Rep* 12(7), 1159-1168. doi: 10.1016/j.celrep.2015.07.029.

- Goold, R., Flower, M., Moss, D.H., Medway, C., Wood-Kaczmar, A., Andre, R., et al. (2019). FAN1 modifies Huntington's disease progression by stabilizing the expanded HTT CAG repeat. *Hum Mol Genet* 28(4), 650-661. doi: 10.1093/hmg/ddy375.
- Goula, A.V., Berquist, B.R., Wilson, D.M., 3rd, Wheeler, V.C., Trottier, Y., and Merienne, K. (2009). Stoichiometry of base excision repair proteins correlates with increased somatic CAG instability in striatum over cerebellum in Huntington's disease transgenic mice. *PLoS Genet* 5(12), e1000749. doi: 10.1371/journal.pgen.1000749.
- Goula, A.V., Stys, A., Chan, J.P., Trottier, Y., Festenstein, R., and Merienne, K. (2012). Transcription elongation and tissue-specific somatic CAG instability. *PLoS Genet* 8(11), e1003051. doi: 10.1371/journal.pgen.1003051.
- Gros-Louis, F., Dupré, N., Dion, P., Fox, M.A., Laurent, S., Verreault, S., et al. (2007). Mutations in SYNE1 lead to a newly discovered form of autosomal recessive cerebellar ataxia. *Nat Genet* 39(1), 80-85. doi: 10.1038/ng1927.
- Gruenbaum, Y., Goldman, R.D., Meyuhas, R., Mills, E., Margalit, A., Fridkin, A., et al. (2003). The nuclear lamina and its functions in the nucleus. *Int Rev Cytol* 226, 1-62. doi: 10.1016/s0074-7696(03)01001-5.
- Gueneau, L., Bertrand, A.T., Jais, J.P., Salih, M.A., Stojkovic, T., Wehnert, M., et al. (2009). Mutations of the FHL1 gene cause Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 85(3), 338-353. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.07.015.
- Guo, X., Ling, C., Liu, Y., Zhang, X., and Zhang, S. (2016). A Case of Novel Lamin A/C Mutation Manifesting as Atypical Progeroid Syndrome and Cardiomyopathy. *Can J Cardiol* 32(9), 1166.e1129-1131. doi: 10.1016/j.cjca.2015.11.011.
- Harmon, E.B., Harmon, M.L., Larsen, T.D., Paulson, A.F., and Perryman, M.B. (2008). Myotonic dystrophy protein kinase is expressed in embryonic myocytes and is required for myotube formation. *Dev Dyn* 237(9), 2353-2366. doi: 10.1002/dvdy.21653.
- Harmon, E.B., Harmon, M.L., Larsen, T.D., Yang, J., Glasford, J.W., and Perryman, M.B. (2011). Myotonic dystrophy protein kinase is critical for nuclear envelope integrity. *J Biol Chem* 286(46), 40296-40306. doi: 10.1074/jbc.M111.241455.
- Heatwole, C., Johnson, N., Bode, R., Dekdebrun, J., Dilek, N., Hilbert, J.E., et al. (2015). Patient-Reported Impact of Symptoms in Myotonic Dystrophy Type 2 (PRISM-2). *Neurology* 85(24), 2136-2146. doi: 10.1212/wnl.0000000000002225.
- Heatwole, C., Luebke, E., Rosero, S., Eichinger, K., Martens, W., Hilbert, J., et al. (2021). Mexiletine in Myotonic Dystrophy Type 1: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Neurology* 96(2), e228-e240. doi: 10.1212/wnl.00000000000011002.
- Hintze, S., Knaier, L., Limmer, S., Schoser, B., and Meinke, P. (2018). Nuclear Envelope Transmembrane Proteins in Myotonic Dystrophy Type 1. *Front Physiol* 9, 1532. doi: 10.3389/fphys.2018.01532.
- Hintze, S., Mensel, R., Knaier, L., Schoser, B., and Meinke, P. (2021). CTG-Repeat Detection in Primary Human Myoblasts of Myotonic Dystrophy Type 1. *Front Neurosci* 15, 686735. doi: 10.3389/fnins.2021.686735.
- Ho, T.H., Charlet, B.N., Poulos, M.G., Singh, G., Swanson, M.S., and Cooper, T.A. (2004). Muscleblind proteins regulate alternative splicing. *Embo j* 23(15), 3103-3112. doi: 10.1038/sj.emboj.7600300.
- Horrigan, J., Gomes, T.B., Snape, M., Nikolenko, N., McMorn, A., Evans, S., et al. (2020). A Phase 2 Study of AMO-02 (Tideglusib) in Congenital and Childhood-Onset Myotonic Dystrophy Type 1 (DM1). *Pediatr Neurol* 112, 84-93. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2020.08.001.
- Hu, N., Antoury, L., Baran, T.M., Mitra, S., Bennett, C.F., Rigo, F., et al. (2018). Non-invasive monitoring of alternative splicing outcomes to identify candidate therapies for myotonic dystrophy type 1. *Nat Commun* 9(1), 5227. doi: 10.1038/s41467-018-07517-y.
- Hubert, L., Jr., Lin, Y., Dion, V., and Wilson, J.H. (2011a). Topoisomerase 1 and single-strand break repair modulate transcription-induced CAG repeat contraction in human cells. *Mol Cell Biol* 31(15), 3105-3112. doi: 10.1128/mcb.05158-11.
- Hubert, L., Jr., Lin, Y., Dion, V., and Wilson, J.H. (2011b). Xpa deficiency reduces CAG trinucleotide repeat instability in neuronal tissues in a mouse model of SCA1. *Hum Mol Genet* 20(24), 4822-4830. doi: 10.1093/hmg/ddr421.



- Huichalaf, C., Schoser, B., Schneider-Gold, C., Jin, B., Sarkar, P., and Timchenko, L. (2009). Reduction of the rate of protein translation in patients with myotonic dystrophy 2. *J Neurosci* 29(28), 9042-9049. doi: 10.1523/jneurosci.1983-09.2009.
- Ikeda, M., Taniguchi-Ikeda, M., Kato, T., Shinkai, Y., Tanaka, S., Hagiwara, H., et al. (2020). Unexpected Mutations by CRISPR-Cas9 CTG Repeat Excision in Myotonic Dystrophy and Use of CRISPR Interference as an Alternative Approach. *Mol Ther Methods Clin Dev* 18, 131-144. doi: 10.1016/j.omtm.2020.05.024.
- Jeck, W.R., Sorrentino, J.A., Wang, K., Slevin, M.K., Burd, C.E., Liu, J., et al. (2013). Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. *Rna* 19(2), 141-157. doi: 10.1261/rna.035667.112.
- Jenquin, J.R., Yang, H., Huigens, R.W., 3rd, Nakamori, M., and Berglund, J.A. (2019). Combination Treatment of Erythromycin and Furamidine Provides Additive and Synergistic Rescue of Mis-Splicing in Myotonic Dystrophy Type 1 Models. *ACS Pharmacol Transl Sci* 2(4), 247-263. doi: 10.1021/acspsci.9b00020.
- Jiang, H., Mankodi, A., Swanson, M.S., Moxley, R.T., and Thornton, C.A. (2004). Myotonic dystrophy type 1 is associated with nuclear foci of mutant RNA, sequestration of muscleblind proteins and deregulated alternative splicing in neurons. *Hum Mol Genet* 13(24), 3079-3088. doi: 10.1093/hmg/ddh327.
- Johnson, N.E., Butterfield, R.J., Mayne, K., Newcomb, T., Imburgia, C., Dunn, D., et al. (2021). Population-Based Prevalence of Myotonic Dystrophy Type 1 Using Genetic Analysis of Statewide Blood Screening Program. *Neurology* 96(7), e1045-e1053. doi: 10.1212/wnl.00000000000011425.
- Jung, J., and Bonini, N. (2007). CREB-binding protein modulates repeat instability in a Drosophila model for polyQ disease. *Science* 315(5820), 1857-1859. doi: 10.1126/science.1139517.
- Kaliman, P., Catalucci, D., Lam, J.T., Kondo, R., Gutierrez, J.C., Reddy, S., et al. (2005). Myotonic dystrophy protein kinase phosphorylates phospholamban and regulates calcium uptake in cardiomyocyte sarcoplasmic reticulum. *The Journal of biological chemistry* 280(9), 8016-8021. doi: 10.1074/jbc.M412845200.
- Kalsotra, A., Singh, R.K., Gurha, P., Ward, A.J., Creighton, C.J., and Cooper, T.A. (2014). The Mef2 transcription network is disrupted in myotonic dystrophy heart tissue, dramatically altering miRNA and mRNA expression. *Cell Rep* 6(2), 336-345. doi: 10.1016/j.celrep.2013.12.025.
- Kalsotra, A., Xiao, X., Ward, A.J., Castle, J.C., Johnson, J.M., Burge, C.B., et al. (2008). A postnatal switch of CELF and MBNL proteins reprograms alternative splicing in the developing heart. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(51), 20333-20338. doi: 10.1073/pnas.0809045105.
- Kayman-Kurecki, G., Talim, B., Korkusuz, P., Sayar, N., Sarioglu, T., Oncel, I., et al. (2014). Mutation in TOR1AIP1 encoding LAP1B in a form of muscular dystrophy: a novel gene related to nuclear envelopathies. *Neuromuscul Disord* 24(7), 624-633. doi: 10.1016/j.nmd.2014.04.007.
- Ketley, A., Chen, C.Z., Li, X., Arya, S., Robinson, T.E., Granados-Riveron, J., et al. (2014). High-content screening identifies small molecules that remove nuclear foci, affect MBNL distribution and CELF1 protein levels via a PKC-independent pathway in myotonic dystrophy cell lines. *Hum Mol Genet* 23(6), 1551-1562. doi: 10.1093/hmg/ddt542.
- Ketley, A., Wojciechowska, M., Ghidelli-Disse, S., Bamborough, P., Ghosh, T.K., Morato, M.L., et al. (2020). CDK12 inhibition reduces abnormalities in cells from patients with myotonic dystrophy and in a mouse model. *Sci Transl Med* 12(541). doi: 10.1126/scitranslmed.aaz2415.
- Kidd, A., Turnpenny, P., Kelly, K., Clark, C., Church, W., Hutchinson, C., et al. (1995). Ascertainment of myotonic dystrophy through cataract by selective screening. *J Med Genet* 32(7), 519-523. doi: 10.1136/jmg.32.7.519.
- Kim, K.H., Hong, E.P., Shin, J.W., Chao, M.J., Loupe, J., Gillis, T., et al. (2020). Genetic and Functional Analyses Point to FAN1 as the Source of Multiple Huntington Disease Modifier Effects. *Am J Hum Genet* 107(1), 96-110. doi: 10.1016/j.ajhg.2020.05.012.
- Kimura, T., Nakamori, M., Lueck, J.D., Pouliquin, P., Aoike, F., Fujimura, H., et al. (2005). Altered mRNA splicing of the skeletal muscle ryanodine receptor and sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase in myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* 14(15), 2189-2200. doi: 10.1093/hmg/ddi223.

- Klein, A.F., Varela, M.A., Arandel, L., Holland, A., Naouar, N., Arzumanov, A., et al. (2019). Peptide-conjugated oligonucleotides evoke long-lasting myotonic dystrophy correction in patient-derived cells and mice. *J Clin Invest* 129(11), 4739-4744. doi: 10.1172/jci128205.
- Klesert, T.R., Cho, D.H., Clark, J.I., Maylie, J., Adelman, J., Snider, L., et al. (2000). Mice deficient in Six5 develop cataracts: implications for myotonic dystrophy. *Nat Genet* 25(1), 105-109. doi: 10.1038/75490.
- Klesert, T.R., Otten, A.D., Bird, T.D., and Tapscott, S.J. (1997). Trinucleotide repeat expansion at the myotonic dystrophy locus reduces expression of DMAHP. *Nat Genet* 16(4), 402-406. doi: 10.1038/ng0897-402.
- Koebis, M., Ohsawa, N., Kino, Y., Sasagawa, N., Nishino, I., and Ishiura, S. (2011). Alternative splicing of myomesin 1 gene is aberrantly regulated in myotonic dystrophy type 1. *Genes Cells* 16(9), 961-972. doi: 10.1111/j.1365-2443.2011.01542.x.
- Koehorst, E., Núñez-Manchón, J., Ballester-López, A., Almendrote, M., Lucente, G., Arbex, A., et al. (2021). Characterization of RAN Translation and Antisense Transcription in Primary Cell Cultures of Patients with Myotonic Dystrophy Type 1. *J Clin Med* 10(23). doi: 10.3390/jcm10235520.
- Koehorst, E., Odria, R., Capó, J., Núñez-Manchón, J., Arbex, A., Almendrote, M., et al. (2022). An Integrative Analysis of DNA Methylation Pattern in Myotonic Dystrophy Type 1 Samples Reveals a Distinct DNA Methylation Profile between Tissues and a Novel Muscle-Associated Epigenetic Dysregulation. *Biomedicines* 10(6). doi: 10.3390/biomedicines10061372.
- Konieczny, P., Stepniak-Konieczna, E., and Sobczak, K. (2014). MBNL proteins and their target RNAs, interaction and splicing regulation. *Nucleic Acids Res* 42(17), 10873-10887. doi: 10.1093/nar/gku767.
- Korfali, N., Wilkie, G.S., Swanson, S.K., Srsen, V., de Las Heras, J., Batrakou, D.G., et al. (2012). The nuclear envelope proteome differs notably between tissues. *Nucleus* 3(6), 552-564. doi: 10.4161/nucl.22257.
- Kovalenko, M., Dragileva, E., St Claire, J., Gillis, T., Guide, J.R., New, J., et al. (2012). Msh2 acts in medium-spiny striatal neurons as an enhancer of CAG instability and mutant huntingtin phenotypes in Huntington's disease knock-in mice. *PLoS One* 7(9), e44273. doi: 10.1371/journal.pone.0044273.
- Kovtun, I.V., Liu, Y., Bjoras, M., Klungland, A., Wilson, S.H., and McMurray, C.T. (2007). OGG1 initiates age-dependent CAG trinucleotide expansion in somatic cells. *Nature* 447(7143), 447-452. doi: 10.1038/nature05778.
- Krol, J., Fiszler, A., Mykowska, A., Sobczak, K., de Mezer, M., and Krzyzosiak, W.J. (2007). Ribonuclease dicer cleaves triplet repeat hairpins into shorter repeats that silence specific targets. *Mol Cell* 25(4), 575-586. doi: 10.1016/j.molcel.2007.01.031.
- Langlois, M.A., Boniface, C., Wang, G., Alluin, J., Salvaterra, P.M., Puymirat, J., et al. (2005). Cytoplasmic and nuclear retained DMPK mRNAs are targets for RNA interference in myotonic dystrophy cells. *J Biol Chem* 280(17), 16949-16954. doi: 10.1074/jbc.M501591200.
- Lee, J., Bai, Y., Chembazhi, U.V., Peng, S., Yum, K., Luu, L.M., et al. (2019). Intrinsically cell-penetrating multivalent and multitargeting ligands for myotonic dystrophy type 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116(18), 8709-8714. doi: 10.1073/pnas.1820827116.
- Lee, J.E., Bennett, C.F., and Cooper, T.A. (2012). RNase H-mediated degradation of toxic RNA in myotonic dystrophy type 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(11), 4221-4226. doi: 10.1073/pnas.1117019109.
- Lee, J.M., Pinto, R.M., Gillis, T., St Claire, J.C., and Wheeler, V.C. (2011). Quantification of age-dependent somatic CAG repeat instability in Hdh CAG knock-in mice reveals different expansion dynamics in striatum and liver. *PLoS One* 6(8), e23647. doi: 10.1371/journal.pone.0023647.
- Lia, A.S., Seznec, H., Hofmann-Radvanyi, H., Radvanyi, F., Duros, C., Saquet, C., et al. (1998). Somatic instability of the CTG repeat in mice transgenic for the myotonic dystrophy region is age dependent but not correlated to the relative intertissue transcription levels and proliferative capacities. *Hum Mol Genet* 7(8), 1285-1291. doi: 10.1093/hmg/7.8.1285.
- Liao, Q., Zhang, Y., He, J., and Huang, K. (2022). Global Prevalence of Myotonic Dystrophy: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology* 56(3), 163-173. doi: 10.1159/000524734.

- Lin, X., Miller, J.W., Mankodi, A., Kanadia, R.N., Yuan, Y., Moxley, R.T., et al. (2006a). Failure of MBNL1-dependent post-natal splicing transitions in myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet* 15(13), 2087-2097. doi: 10.1093/hmg/ddl132.
- Lin, Y., Dion, V., and Wilson, J.H. (2006b). Transcription promotes contraction of CAG repeat tracts in human cells. *Nat Struct Mol Biol* 13(2), 179-180. doi: 10.1038/nsmb1042.
- Lin, Y., and Wilson, J.H. (2007). Transcription-induced CAG repeat contraction in human cells is mediated in part by transcription-coupled nucleotide excision repair. *Mol Cell Biol* 27(17), 6209-6217. doi: 10.1128/mcb.00739-07.
- Liquori, C.L., Ricker, K., Moseley, M.L., Jacobsen, J.F., Kress, W., Naylor, S.L., et al. (2001). Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9. *Science* 293(5531), 864-867. doi: 10.1126/science.1062125.
- Liu, Y., Prasad, R., Beard, W.A., Hou, E.W., Horton, J.K., McMurray, C.T., et al. (2009). Coordination between polymerase beta and FEN1 can modulate CAG repeat expansion. *J Biol Chem* 284(41), 28352-28366. doi: 10.1074/jbc.M109.050286.
- Lo Scudato, M., Poulard, K., Sourd, C., Tomé, S., Klein, A.F., Corre, G., et al. (2019). Genome Editing of Expanded CTG Repeats within the Human DMPK Gene Reduces Nuclear RNA Foci in the Muscle of DM1 Mice. *Mol Ther* 27(8), 1372-1388. doi: 10.1016/j.ymthe.2019.05.021.
- López-Martínez, A., Soblechero-Martín, P., de-la-Puente-Ovejero, L., Nogales-Gadea, G., and Arechavala-Gomez, V. (2020). An Overview of Alternative Splicing Defects Implicated in Myotonic Dystrophy Type I. *Genes (Basel)* 11(9). doi: 10.3390/genes11091109.
- López Castel, A., Nakamori, M., Tomé, S., Chitayat, D., Gourdon, G., Thornton, C.A., et al. (2011). Expanded CTG repeat demarcates a boundary for abnormal CpG methylation in myotonic dystrophy patient tissues. *Hum Mol Genet* 20(1), 1-15. doi: 10.1093/hmg/ddq427.
- LoRusso, S., Weiner, B., and Arnold, W.D. (2018). Myotonic Dystrophies: Targeting Therapies for Multisystem Disease. *Neurotherapeutics* 15(4), 872-884. doi: 10.1007/s13311-018-00679-z.
- Lueck, J.D., Mankodi, A., Swanson, M.S., Thornton, C.A., and Dirksen, R.T. (2007). Muscle chloride channel dysfunction in two mouse models of myotonic dystrophy. *J Gen Physiol* 129(1), 79-94. doi: 10.1085/jgp.200609635.
- Magno, S., Ceccarini, G., Pelosini, C., Ferrari, F., Prodam, F., Gilio, D., et al. (2020). Atypical Progeroid Syndrome and Partial Lipodystrophy Due to LMNA Gene p.R349W Mutation. *J Endocr Soc* 4(10), bvaa108. doi: 10.1210/jendso/bvaa108.
- Mahyera, A.S., Schneider, T., Halliger-Keller, B., Schrooten, K., Horner, E.M., Rost, S., et al. (2018). Distribution and Structure of DM2 Repeat Tract Alleles in the German Population. *Front Neurol* 9, 463. doi: 10.3389/fneur.2018.00463.
- Mankodi, A., Logigian, E., Callahan, L., McClain, C., White, R., Henderson, D., et al. (2000). Myotonic dystrophy in transgenic mice expressing an expanded CUG repeat. *Science* 289(5485), 1769-1773. doi: 10.1126/science.289.5485.1769.
- Mankodi, A., Takahashi, M.P., Jiang, H., Beck, C.L., Bowers, W.J., Moxley, R.T., et al. (2002). Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of ClC-1 chloride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy. *Mol Cell* 10(1), 35-44. doi: 10.1016/s1097-2765(02)00563-4.
- Manley, K., Shirley, T.L., Flaherty, L., and Messer, A. (1999). Msh2 deficiency prevents in vivo somatic instability of the CAG repeat in Huntington disease transgenic mice. *Nat Genet* 23(4), 471-473. doi: 10.1038/70598.
- Marbach, F., Rustad, C.F., Riess, A., Đukić, D., Hsieh, T.C., Jobani, I., et al. (2019). The Discovery of a LEMD2-Associated Nuclear Envelopathy with Early Progeroid Appearance Suggests Advanced Applications for AI-Driven Facial Phenotyping. *Am J Hum Genet* 104(4), 749-757. doi: 10.1016/j.ajhg.2019.02.021.
- Margarit, E., Armas, P., García Siburú, N., and Calcaterra, N.B. (2014). CNBP modulates the transcription of Wnt signaling pathway components. *Biochim Biophys Acta* 1839(11), 1151-1160. doi: 10.1016/j.bbagr.2014.08.009.
- Margolis, J.M., Schoser, B.G., Moseley, M.L., Day, J.W., and Ranum, L.P. (2006). DM2 intronic expansions: evidence for CCUG accumulation without flanking sequence or effects on ZNF9 mRNA processing or protein expression. *Hum Mol Genet* 15(11), 1808-1815. doi: 10.1093/hmg/ddl103.

- Martin, G.M. (2005). Genetic modulation of senescent phenotypes in Homo sapiens. *Cell* 120(4), 523-532. doi: 10.1016/j.cell.2005.01.031.
- Massa, R., Panico, M.B., Caldarola, S., Fusco, F.R., Sabatelli, P., Terracciano, C., et al. (2010). The myotonic dystrophy type 2 (DM2) gene product zinc finger protein 9 (ZNF9) is associated with sarcomeres and normally localized in DM2 patients' muscles. *Neuropathol Appl Neurobiol* 36(4), 275-284. doi: 10.1111/j.1365-2990.2010.01068.x.
- Mateos-Aierdi, A.J., Goicoechea, M., Aiastui, A., Fernández-Torrón, R., Garcia-Puga, M., Matheu, A., et al. (2015). Muscle wasting in myotonic dystrophies: a model of premature aging. *Front Aging Neurosci* 7, 125. doi: 10.3389/fnagi.2015.00125.
- Matsumura, T., Iwahashi, H., Funahashi, T., Takahashi, M.P., Saito, T., Yasui, K., et al. (2009). A cross-sectional study for glucose intolerance of myotonic dystrophy. *J Neurol Sci* 276(1-2), 60-65. doi: 10.1016/j.jns.2008.08.037.
- Meinke, P. (2018). "Molecular Genetics of Emery–Dreifuss Muscular Dystrophy," in *eLS.*, 1-9.
- Meinke, P., Hintze, S., Limmer, S., and Schoser, B. (2018). Myotonic Dystrophy-A Progeroid Disease? *Front Neurol* 9, 601. doi: 10.3389/fneur.2018.00601.
- Meinke, P., Kerr, A.R.W., Czapiewski, R., de Las Heras, J.I., Dixon, C.R., Harris, E., et al. (2020). A multistage sequencing strategy pinpoints novel candidate alleles for Emery-Dreifuss muscular dystrophy and supports gene misregulation as its pathomechanism. *EBioMedicine* 51, 102587. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.11.048.
- Meinke, P., Makarov, A., Lê Thành, P., Sadurska, D., and Schirmer, E.C. (2015). Nucleoskeleton dynamics and functions in health and disease. *Cell Health and Cytoskeleton* 7, 55-69. doi: 10.2147/CHC.S53821.
- Meinke, P., Mattioli, E., Haque, F., Antoku, S., Columbaro, M., Straatman, K.R., et al. (2014). Muscular dystrophy-associated SUN1 and SUN2 variants disrupt nuclear-cytoskeletal connections and myonuclear organization. *PLoS Genet* 10(9), e1004605. doi: 10.1371/journal.pgen.1004605.
- Meinke, P., and Schirmer, E.C. (2015). LINC'ing form and function at the nuclear envelope. *FEBS Lett* 589(19 Pt A), 2514-2521. doi: 10.1016/j.febslet.2015.06.011.
- Meinke, P., and Schirmer, E.C. (2016). The increasing relevance of nuclear envelope myopathies. *Curr Opin Neurol* 29(5), 651-661. doi: 10.1097/wco.0000000000000359.
- Memczak, S., Jens, M., Elefsinioti, A., Torti, F., Krueger, J., Rybak, A., et al. (2013). Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature* 495(7441), 333-338. doi: 10.1038/nature11928.
- Merner, N.D., Hodgkinson, K.A., Haywood, A.F., Connors, S., French, V.M., Drenckhahn, J.D., et al. (2008). Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 5 is a fully penetrant, lethal arrhythmic disorder caused by a missense mutation in the TMEM43 gene. *Am J Hum Genet* 82(4), 809-821. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.01.010.
- Michalowski, S., Miller, J.W., Urbinati, C.R., Paliouras, M., Swanson, M.S., and Griffith, J. (1999). Visualization of double-stranded RNAs from the myotonic dystrophy protein kinase gene and interactions with CUG-binding protein. *Nucleic Acids Res* 27(17), 3534-3542. doi: 10.1093/nar/27.17.3534.
- Miller, J.N., van der Plas, E., Hamilton, M., Kosciak, T.R., Gutmann, L., Cumming, S.A., et al. (2020). Variant repeats within the DMPK CTG expansion protect function in myotonic dystrophy type 1. *Neurol Genet* 6(5), e504. doi: 10.1212/NXG.0000000000000504.
- Minnerop, M., Weber, B., Schoene-Bake, J.C., Roeske, S., Mirbach, S., Anspach, C., et al. (2011). The brain in myotonic dystrophy 1 and 2: evidence for a predominant white matter disease. *Brain* 134(Pt 12), 3530-3546. doi: 10.1093/brain/awr299.
- Misra, C., Bangru, S., Lin, F., Lam, K., Koenig, S.N., Lubbers, E.R., et al. (2020). Aberrant Expression of a Non-muscle RBFOX2 Isoform Triggers Cardiac Conduction Defects in Myotonic Dystrophy. *Dev Cell* 52(6), 748-763.e746. doi: 10.1016/j.devcel.2020.01.037.
- Monckton, D.G., Wong, L.J., Ashizawa, T., and Caskey, C.T. (1995). Somatic mosaicism, germline expansions, germline reversions and intergenerational reductions in myotonic dystrophy males: small pool PCR analyses. *Hum Mol Genet* 4(1), 1-8. doi: 10.1093/hmg/4.1.1.
- Montagnese, F., Mondello, S., Wenninger, S., Kress, W., and Schoser, B. (2017). Assessing the influence of age and gender on the phenotype of myotonic dystrophy type 2. *J Neurol* 264(12), 2472-2480. doi: 10.1007/s00415-017-8653-2.

- Morales, F., Corrales, E., Vásquez, M., Zhang, B., Fernández, H., Alvarado, F., et al. (2022). Individual-specific levels of CTG•CAG somatic instability are shared across multiple tissues in myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet*. doi: 10.1093/hmg/ddac231.
- Morales, F., Corrales, E., Zhang, B., Vásquez, M., Santamaría-Ulloa, C., Quesada, H., et al. (2021). Myotonic dystrophy type 1 (DM1) clinical subtypes and CTCF site methylation status flanking the CTG expansion are mutant allele length-dependent. *Hum Mol Genet* 31(2), 262-274. doi: 10.1093/hmg/ddab243.
- Mounkes, L.C., and Stewart, C.L. (2004). Aging and nuclear organization: lamins and progeria. *Curr Opin Cell Biol* 16(3), 322-327. doi: 10.1016/j.ceb.2004.03.009.
- Mounsey, J.P., John, J.E., 3rd, Helmke, S.M., Bush, E.W., Gilbert, J., Roses, A.D., et al. (2000). Phospholemman is a substrate for myotonic dystrophy protein kinase. *The Journal of biological chemistry* 275(30), 23362-23367. doi: 10.1074/jbc.M000899200.
- Muchir, A., Bonne, G., van der Kooij, A.J., van Meegen, M., Baas, F., Bolhuis, P.A., et al. (2000). Identification of mutations in the gene encoding lamins A/C in autosomal dominant limb girdle muscular dystrophy with atrioventricular conduction disturbances (LGMD1B). *Hum Mol Genet* 9(9), 1453-1459. doi: 10.1093/hmg/9.9.1453.
- Mulders, S.A., van den Broek, W.J., Wheeler, T.M., Croes, H.J., van Kuik-Romeijn, P., de Kimpe, S.J., et al. (2009). Triplet-repeat oligonucleotide-mediated reversal of RNA toxicity in myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(33), 13915-13920. doi: 10.1073/pnas.0905780106.
- Murányi, A., Zhang, R., Liu, F., Hirano, K., Ito, M., Epstein, H.F., et al. (2001). Myotonic dystrophy protein kinase phosphorylates the myosin phosphatase targeting subunit and inhibits myosin phosphatase activity. *FEBS Lett* 493(2-3), 80-84. doi: 10.1016/s0014-5793(01)02283-9.
- Nakamori, M., Pearson, C.E., and Thornton, C.A. (2011). Bidirectional transcription stimulates expansion and contraction of expanded (CTG)<sup>n</sup>(CAG) repeats. *Hum Mol Genet* 20(3), 580-588. doi: 10.1093/hmg/ddq501.
- Nakamori, M., Shimizu, H., Ogawa, K., Hasuike, Y., Nakajima, T., Sakurai, H., et al. (2022). Cell type-specific abnormalities of central nervous system in myotonic dystrophy type 1. *Brain Commun* 4(3), fcac154. doi: 10.1093/braincomms/fcac154.
- Nakamori, M., Sobczak, K., Puwanant, A., Welle, S., Eichinger, K., Pandya, S., et al. (2013). Splicing biomarkers of disease severity in myotonic dystrophy. *Ann Neurol* 74(6), 862-872. doi: 10.1002/ana.23992.
- Nakamori, M., Taylor, K., Mochizuki, H., Sobczak, K., and Takahashi, M.P. (2016). Oral administration of erythromycin decreases RNA toxicity in myotonic dystrophy. *Ann Clin Transl Neurol* 3(1), 42-54. doi: 10.1002/acn3.271.
- Napierala, M., and Krzyzosiak, W.J. (1997). CUG repeats present in myotonin kinase RNA form metastable "slippery" hairpins. *J Biol Chem* 272(49), 31079-31085. doi: 10.1074/jbc.272.49.31079.
- Navarro, C.L., De Sandre-Giovannoli, A., Bernard, R., Boccaccio, I., Boyer, A., Geneviève, D., et al. (2004). Lamin A and ZMPSTE24 (FACE-1) defects cause nuclear disorganization and identify restrictive dermopathy as a lethal neonatal laminopathy. *Hum Mol Genet* 13(20), 2493-2503. doi: 10.1093/hmg/ddh265.
- Novelli, G., Gennarelli, M., Zelano, G., Pizzuti, A., Fattorini, C., Caskey, C.T., et al. (1993). Failure in detecting mRNA transcripts from the mutated allele in myotonic dystrophy muscle. *Biochem Mol Biol Int* 29(2), 291-297.
- Novelli, G., Muchir, A., Sangiuolo, F., Helbling-Leclerc, A., D'Apice, M.R., Massart, C., et al. (2002). Mandibuloacral dysplasia is caused by a mutation in LMNA-encoding lamin A/C. *Am J Hum Genet* 71(2), 426-431. doi: 10.1086/341908.
- Ondono, R., Lirio, Á., Elvira, C., Álvarez-Marimon, E., Provenzano, C., Cardinali, B., et al. (2021). Design of novel small molecule base-pair recognizers of toxic CUG RNA transcripts characteristics of DM1. *Comput Struct Biotechnol J* 19, 51-61. doi: 10.1016/j.csbj.2020.11.053.
- Orengo, J.P., Ward, A.J., and Cooper, T.A. (2011). Alternative splicing dysregulation secondary to skeletal muscle regeneration. *Ann Neurol* 69(4), 681-690. doi: 10.1002/ana.22278.
- Overend, G., Legare, C., Mathieu, J., Bouchard, L., Gagnon, C., and Monckton, D.G. (2019). Allele length of the DMPK CTG repeat is a predictor of progressive myotonic dystrophy type 1 phenotypes. *Hum Mol Genet* 28(13), 2245-2254. doi: 10.1093/hmg/ddz055.

- Pascual-Gilabert, M., Artero, R., and López-Castel, A. (2023). The myotonic dystrophy type 1 drug development pipeline: 2022 edition. *Drug Discov Today* 28(3), 103489. doi: 10.1016/j.drudis.2023.103489.
- Pelletier, R., Hamel, F., Beaulieu, D., Patry, L., Haineault, C., Tarnopolsky, M., et al. (2009). Absence of a differentiation defect in muscle satellite cells from DM2 patients. *Neurobiol Dis* 36(1), 181-190. doi: 10.1016/j.nbd.2009.07.009.
- Perbellini, R., Greco, S., Sarra-Ferraris, G., Cardani, R., Capogrossi, M.C., Meola, G., et al. (2011). Dysregulation and cellular mislocalization of specific miRNAs in myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscul Disord* 21(2), 81-88. doi: 10.1016/j.nmd.2010.11.012.
- Peric, S., Rakocevic-Stojanovic, V., and Meola, G. (2021). Cerebral involvement and related aspects in myotonic dystrophy type 2. *Neuromuscul Disord* 31(8), 681-694. doi: 10.1016/j.nmd.2021.06.002.
- Phillips-Cremins, J.E., Sauria, M.E., Sanyal, A., Gerasimova, T.I., Lajoie, B.R., Bell, J.S., et al. (2013). Architectural protein subclasses shape 3D organization of genomes during lineage commitment. *Cell* 153(6), 1281-1295. doi: 10.1016/j.cell.2013.04.053.
- Pinto, B.S., Saxena, T., Oliveira, R., Méndez-Gómez, H.R., Cleary, J.D., Denes, L.T., et al. (2017). Impeding Transcription of Expanded Microsatellite Repeats by Deactivated Cas9. *Mol Cell* 68(3), 479-490.e475. doi: 10.1016/j.molcel.2017.09.033.
- Pinto, R.M., Dragileva, E., Kirby, A., Lloret, A., Lopez, E., St Claire, J., et al. (2013). Mismatch repair genes Mlh1 and Mlh3 modify CAG instability in Huntington's disease mice: genome-wide and candidate approaches. *PLoS Genet* 9(10), e1003930. doi: 10.1371/journal.pgen.1003930.
- Pisani, V., Tirabasso, A., Mazzone, S., Terracciano, C., Botta, A., Novelli, G., et al. (2011). Early subclinical cochlear dysfunction in myotonic dystrophy type 1. *Eur J Neurol* 18(12), 1412-1416. doi: 10.1111/j.1468-1331.2011.03470.x.
- Pombo, A., and Dillon, N. (2015). Three-dimensional genome architecture: players and mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 16(4), 245-257. doi: 10.1038/nrm3965.
- Provenzano, C., Cappella, M., Valaperta, R., Cardani, R., Meola, G., Martelli, F., et al. (2017). CRISPR/Cas9-Mediated Deletion of CTG Expansions Recovers Normal Phenotype in Myogenic Cells Derived from Myotonic Dystrophy 1 Patients. *Mol Ther Nucleic Acids* 9, 337-348. doi: 10.1016/j.omtn.2017.10.006.
- Puente, X.S., Quesada, V., Osorio, F.G., Cabanillas, R., Cadiñanos, J., Fraile, J.M., et al. (2011). Exome sequencing and functional analysis identifies BANF1 mutation as the cause of a hereditary progeroid syndrome. *Am J Hum Genet* 88(5), 650-656. doi: 10.1016/j.ajhg.2011.04.010.
- Quijano-Roy, S., Mbieleu, B., Bönnemann, C.G., Jeannot, P.Y., Colomer, J., Clarke, N.F., et al. (2008). De novo LMNA mutations cause a new form of congenital muscular dystrophy. *Ann Neurol* 64(2), 177-186. doi: 10.1002/ana.21417.
- Quinzii, C.M., Vu, T.H., Min, K.C., Tanji, K., Barral, S., Grewal, R.P., et al. (2008). X-linked dominant scapuloperoneal myopathy is due to a mutation in the gene encoding four-and-a-half-LIM protein 1. *Am J Hum Genet* 82(1), 208-213. doi: 10.1016/j.ajhg.2007.09.013.
- Raheem, O., Olufemi, S.E., Bachinski, L.L., Vihola, A., Siritto, M., Holmlund-Hampf, J., et al. (2010). Mutant (CCTG)<sub>n</sub> expansion causes abnormal expression of zinc finger protein 9 (ZNF9) in myotonic dystrophy type 2. *Am J Pathol* 177(6), 3025-3036. doi: 10.2353/ajpath.2010.100179.
- Rau, F., Freyermuth, F., Fugier, C., Villemin, J.P., Fischer, M.C., Jost, B., et al. (2011). Misregulation of miR-1 processing is associated with heart defects in myotonic dystrophy. *Nat Struct Mol Biol* 18(7), 840-845. doi: 10.1038/nsmb.2067.
- Rau, F., Lainé, J., Ramanoudjame, L., Ferry, A., Arandel, L., Delalande, O., et al. (2015). Abnormal splicing switch of DMD's penultimate exon compromises muscle fibre maintenance in myotonic dystrophy. *Nat Commun* 6, 7205. doi: 10.1038/ncomms8205.
- Reardon, W., Newcombe, R., Fenton, I., Sibert, J., and Harper, P.S. (1993). The natural history of congenital myotonic dystrophy: mortality and long term clinical aspects. *Arch Dis Child* 68(2), 177-181. doi: 10.1136/adc.68.2.177.
- Reddy, K., Jenquin, J.R., McConnell, O.L., Cleary, J.D., Richardson, J.I., Pinto, B.S., et al. (2019). A CTG repeat-selective chemical screen identifies microtubule inhibitors as selective modulators of toxic CUG RNA levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116(42), 20991-21000. doi: 10.1073/pnas.1901893116.

- Reddy, S., Smith, D.B., Rich, M.M., Leferovich, J.M., Reilly, P., Davis, B.M., et al. (1996). Mice lacking the myotonic dystrophy protein kinase develop a late onset progressive myopathy. *Nat Genet* 13(3), 325-335. doi: 10.1038/ng0796-325.
- Renault, V., Piron-Hamelin, G., Forestier, C., DiDonna, S., Decary, S., Hentati, F., et al. (2000). Skeletal muscle regeneration and the mitotic clock. *Exp Gerontol* 35(6-7), 711-719. doi: 10.1016/s0531-5565(00)00151-0.
- Richard, G.F. (2015). Shortening trinucleotide repeats using highly specific endonucleases: a possible approach to gene therapy? *Trends Genet* 31(4), 177-186. doi: 10.1016/j.tig.2015.02.003.
- Ricker, K., Koch, M.C., Lehmann-Horn, F., Pongratz, D., Otto, M., Heine, R., et al. (1994). Proximal myotonic myopathy: a new dominant disorder with myotonia, muscle weakness, and cataracts. *Neurology* 44(8), 1448-1452. doi: 10.1212/wnl.44.8.1448.
- Robson, M.I., de Las Heras, J.I., Czapiewski, R., P, L.T., Booth, D.G., Kelly, D.A., et al. (2016). Tissue-Specific Gene Repositioning by Muscle Nuclear Membrane Proteins Enhances Repression of Critical Developmental Genes during Myogenesis. *Mol Cell* 62(6), 834-847. doi: 10.1016/j.molcel.2016.04.035.
- Rodriguez, J.M., Pozo, F., di Domenico, T., Vazquez, J., and Tress, M.L. (2020). An analysis of tissue-specific alternative splicing at the protein level. *PLoS Comput Biol* 16(10), e1008287. doi: 10.1371/journal.pcbi.1008287.
- Rojas, M., Farr, G.W., Fernandez, C.F., Lauden, L., McCormack, J.C., and Wolin, S.L. (2012). Yeast Gis2 and its human ortholog CNBP are novel components of stress-induced RNP granules. *PLoS One* 7(12), e52824. doi: 10.1371/journal.pone.0052824.
- Rowley, M.J., and Corces, V.G. (2018). Organizational principles of 3D genome architecture. *Nat Rev Genet* 19(12), 789-800. doi: 10.1038/s41576-018-0060-8.
- Ruiz Buendía, G.A., Leleu, M., Marzetta, F., Vanzan, L., Tan, J.Y., Ythier, V., et al. (2020). Three-dimensional chromatin interactions remain stable upon CAG/CTG repeat expansion. *Sci Adv* 6(27), eaaz4012. doi: 10.1126/sciadv.aaz4012.
- Sansone, V.A., and Gagnon, C. (2015). 207th ENMC Workshop on chronic respiratory insufficiency in myotonic dystrophies: management and implications for research, 27-29 June 2014, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord* 25(5), 432-442. doi: 10.1016/j.nmd.2015.01.011.
- Santer, L., Bär, C., and Thum, T. (2018). Zirkuläre RNAs: neue Spieler im Kreise der Genregulation. *BIOspektrum* 24(1), 12-15. doi: 10.1007/s12268-018-0882-0.
- Santoro, M., Fontana, L., Maiorca, F., Centofanti, F., Massa, R., Silvestri, G., et al. (2018). Expanded [CCTG]<sub>n</sub> repetitions are not associated with abnormal methylation at the CNBP locus in myotonic dystrophy type 2 (DM2) patients. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1864(3), 917-924. doi: 10.1016/j.bbadis.2017.12.037.
- Sarkar, P.S., Appukuttan, B., Han, J., Ito, Y., Ai, C., Tsai, W., et al. (2000). Heterozygous loss of Six5 in mice is sufficient to cause ocular cataracts. *Nat Genet* 25(1), 110-114. doi: 10.1038/75500.
- Sarkar, P.S., Paul, S., Han, J., and Reddy, S. (2004). Six5 is required for spermatogenic cell survival and spermiogenesis. *Hum Mol Genet* 13(14), 1421-1431. doi: 10.1093/hmg/ddh161.
- Savkur, R.S., Philips, A.V., and Cooper, T.A. (2001). Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nat Genet* 29(1), 40-47. doi: 10.1038/ng704.
- Schessl, J., Zou, Y., McGrath, M.J., Cowling, B.S., Maiti, B., Chin, S.S., et al. (2008). Proteomic identification of FHL1 as the protein mutated in human reducing body myopathy. *J Clin Invest* 118(3), 904-912. doi: 10.1172/jci34450.
- Schoser, B. (2020). "Myotonic Dystrophy Type 2," in *GeneReviews*®, eds. M.P. Adam, D.B. Everman, G.M. Mirzaa & e. al. (Seattle (WA): University of Washington, Seattle).
- Schoser, B.G., Ricker, K., Schneider-Gold, C., Hengstenberg, C., Dürre, J., Bültmann, B., et al. (2004). Sudden cardiac death in myotonic dystrophy type 2. *Neurology* 63(12), 2402-2404. doi: 10.1212/01.wnl.0000147335.10783.e4.
- Simpson, J.G., and Roberts, R.G. (2008). Patterns of evolutionary conservation in the nesprin genes highlight probable functionally important protein domains and isoforms. *Biochem Soc Trans* 36(Pt 6), 1359-1367. doi: 10.1042/bst0361359.
- Sobczak, K., Wheeler, T.M., Wang, W., and Thornton, C.A. (2013). RNA interference targeting CUG repeats in a mouse model of myotonic dystrophy. *Mol Ther* 21(2), 380-387. doi: 10.1038/mt.2012.222.

- Spielmann, M., Lupiáñez, D.G., and Mundlos, S. (2018). Structural variation in the 3D genome. *Nat Rev Genet* 19(7), 453-467. doi: 10.1038/s41576-018-0007-0.
- Starke, S., Meinke, P., Camozzi, D., Mattioli, E., Pfäeffle, R., Siekmeyer, M., et al. (2013). Progeroid laminopathy with restrictive dermopathy-like features caused by an isodisomic LMNA mutation p.R435C. *Aging (Albany NY)* 5(6), 445-459. doi: 10.18632/aging.100566.
- Steinbach, P., Gläser, D., Vogel, W., Wolf, M., and Schwemmle, S. (1998). The DMPK gene of severely affected myotonic dystrophy patients is hypermethylated proximal to the largely expanded CTG repeat. *Am J Hum Genet* 62(2), 278-285. doi: 10.1086/301711.
- Steinert, H. (1909). Über das klinische und anatomische Bild des Muskelschwunds der Myotoniker. *Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde* 37, 58-104.
- Sun, J.H., Zhou, L., Emerson, D.J., Phyo, S.A., Titus, K.R., Gong, W., et al. (2018). Disease-Associated Short Tandem Repeats Co-localize with Chromatin Domain Boundaries. *Cell* 175(1), 224-238.e215. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.005.
- Sznajder Ł, J., Thomas, J.D., Carrell, E.M., Reid, T., McFarland, K.N., Cleary, J.D., et al. (2018). Intron retention induced by microsatellite expansions as a disease biomarker. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115(16), 4234-4239. doi: 10.1073/pnas.1716617115.
- Tang, Z.Z., Yarotsky, V., Wei, L., Sobczak, K., Nakamori, M., Eichinger, K., et al. (2012). Muscle weakness in myotonic dystrophy associated with misregulated splicing and altered gating of Ca(V)1.1 calcium channel. *Hum Mol Genet* 21(6), 1312-1324. doi: 10.1093/hmg/ddr568.
- Taylor, M.R., Slavov, D., Gajewski, A., Vlcek, S., Ku, L., Fain, P.R., et al. (2005). Thymopoietin (lamina-associated polypeptide 2) gene mutation associated with dilated cardiomyopathy. *Hum Mutat* 26(6), 566-574. doi: 10.1002/humu.20250.
- Thornton, C.A., Johnson, K., and Moxley, R.T., 3rd (1994). Myotonic dystrophy patients have larger CTG expansions in skeletal muscle than in leukocytes. *Ann Neurol* 35(1), 104-107. doi: 10.1002/ana.410350116.
- Thornton, C.A., Wymer, J.P., Simmons, Z., McClain, C., and Moxley, R.T., 3rd (1997). Expansion of the myotonic dystrophy CTG repeat reduces expression of the flanking DMAHP gene. *Nat Genet* 16(4), 407-409. doi: 10.1038/ng0897-407.
- Tian, B., White, R.J., Xia, T., Welle, S., Turner, D.H., Mathews, M.B., et al. (2000). Expanded CUG repeat RNAs form hairpins that activate the double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR. *Rna* 6(1), 79-87. doi: 10.1017/s1355838200991544.
- Timchenko, L. (2022). Development of Therapeutic Approaches for Myotonic Dystrophies Type 1 and Type 2. *Int J Mol Sci* 23(18). doi: 10.3390/ijms231810491.
- Todorow, V., Hintze, S., Kerr, A.R.W., Hehr, A., Schoser, B., and Meinke, P. (2021). Transcriptome Analysis in a Primary Human Muscle Cell Differentiation Model for Myotonic Dystrophy Type 1. *Int J Mol Sci* 22(16). doi: 10.3390/ijms22168607.
- Todorow, V., Hintze, S., Schoser, B., and Meinke, P. (2023). Nuclear envelope transmembrane proteins involved in genome organization are misregulated in myotonic dystrophy type 1 muscle. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10. doi: 10.3389/fcell.2022.1007331.
- Tsilfidis, C., MacKenzie, A.E., Mettler, G., Barcelo, J., and Korneluk, R.G. (1992). Correlation between CTG trinucleotide repeat length and frequency of severe congenital myotonic dystrophy. *Nat Genet* 1(3), 192-195. doi: 10.1038/ng0692-192.
- Turner, C., and Hilton-Jones, D. (2014). Myotonic dystrophy: diagnosis, management and new therapies. *Curr Opin Neurol* 27(5), 599-606. doi: 10.1097/wco.0000000000000128.
- U, M., Miyashita, T., Ohtsuka, Y., Okamura-Oho, Y., Shikama, Y., and Yamada, M. (2001). Extended polyglutamine selectively interacts with caspase-8 and -10 in nuclear aggregates. *Cell Death Differ* 8(4), 377-386. doi: 10.1038/sj.cdd.4400819.
- van Agtmaal, E.L., André, L.M., Willemse, M., Cumming, S.A., van Kessel, I.D.G., van den Broek, W., et al. (2017). CRISPR/Cas9-Induced (CTG·CAG)(n) Repeat Instability in the Myotonic Dystrophy Type 1 Locus: Implications for Therapeutic Genome Editing. *Mol Ther* 25(1), 24-43. doi: 10.1016/j.ymthe.2016.10.014.
- van der Ven, P.F., Jansen, G., van Kuppevelt, T.H., Perryman, M.B., Lupa, M., Dunne, P.W., et al. (1993). Myotonic dystrophy kinase is a component of neuromuscular junctions. *Hum Mol Genet* 2(11), 1889-1894. doi: 10.1093/hmg/2.11.1889.



- van Vliet, J., Tieleman, A.A., van Engelen, B.G.M., Bassez, G., Servais, L., Béhin, A., et al. (2018). Hearing impairment in patients with myotonic dystrophy type 2. *Neurology* 90(7), e615-e622. doi: 10.1212/wnl.0000000000004963.
- Voellenkle, C., Perfetti, A., Carrara, M., Fuschi, P., Renna, L.V., Longo, M., et al. (2019). Dysregulation of Circular RNAs in Myotonic Dystrophy Type 1. *Int J Mol Sci* 20(8). doi: 10.3390/ijms20081938.
- Wang, E.T., Treacy, D., Eichinger, K., Struck, A., Estabrook, J., Olafson, H., et al. (2019a). Transcriptome alterations in myotonic dystrophy skeletal muscle and heart. *Hum Mol Genet* 28(8), 1312-1321. doi: 10.1093/hmg/ddy432.
- Wang, M., Weng, W.C., Stock, L., Lindquist, D., Martinez, A., Gourdon, G., et al. (2019b). Correction of Glycogen Synthase Kinase 3 $\beta$  in Myotonic Dystrophy 1 Reduces the Mutant RNA and Improves Postnatal Survival of DMSXL Mice. *Mol Cell Biol* 39(21). doi: 10.1128/mcb.00155-19.
- Wang, Y., Hao, L., Wang, H., Santostefano, K., Thapa, A., Cleary, J., et al. (2018). Therapeutic Genome Editing for Myotonic Dystrophy Type 1 Using CRISPR/Cas9. *Mol Ther* 26(11), 2617-2630. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.09.003.
- Wang, Y., Li, M., Wang, Y., Liu, J., Zhang, M., Fang, X., et al. (2019c). A Zfp609 circular RNA regulates myoblast differentiation by sponging miR-194-5p. *Int J Biol Macromol* 121, 1308-1313. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.039.
- Wang, Y.H., Amirhaeri, S., Kang, S., Wells, R.D., and Griffith, J.D. (1994). Preferential nucleosome assembly at DNA triplet repeats from the myotonic dystrophy gene. *Science* 265(5172), 669-671. doi: 10.1126/science.8036515.
- Warf, M.B., Nakamori, M., Matthys, C.M., Thornton, C.A., and Berglund, J.A. (2009). Pentamidine reverses the splicing defects associated with myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(44), 18551-18556. doi: 10.1073/pnas.0903234106.
- Wehnert, M.S., and Meinke, P. (2012). "LiNC Complex and Human Genetic Muscular Disease," in *eLS*).
- Wei, C., Stock, L., Schneider-Gold, C., Sommer, C., Timchenko, N.A., and Timchenko, L. (2018). Reduction of Cellular Nucleic Acid Binding Protein Encoded by a Myotonic Dystrophy Type 2 Gene Causes Muscle Atrophy. *Mol Cell Biol* 38(14). doi: 10.1128/mcb.00649-17.
- Weijs, R., Okkersen, K., van Engelen, B., Küsters, B., Lammens, M., Aronica, E., et al. (2021). Human brain pathology in myotonic dystrophy type 1: A systematic review. *Neuropathology* 41(1), 3-20. doi: 10.1111/neup.12721.
- Wenninger, S., Montagnese, F., and Schoser, B. (2018). Core Clinical Phenotypes in Myotonic Dystrophies. *Front Neurol* 9, 303. doi: 10.3389/fneur.2018.00303.
- Wheeler, T.M. (2008). Myotonic dystrophy: therapeutic strategies for the future. *Neurotherapeutics* 5(4), 592-600. doi: 10.1016/j.nurt.2008.08.001.
- Wheeler, T.M., Leger, A.J., Pandey, S.K., MacLeod, A.R., Nakamori, M., Cheng, S.H., et al. (2012). Targeting nuclear RNA for in vivo correction of myotonic dystrophy. *Nature* 488(7409), 111-115. doi: 10.1038/nature11362.
- Wheeler, V.C., and Dion, V. (2021). Modifiers of CAG/CTG Repeat Instability: Insights from Mammalian Models. *J Huntingtons Dis* 10(1), 123-148. doi: 10.3233/jhd-200426.
- Wilkie, G.S., Korfali, N., Swanson, S.K., Malik, P., Srsen, V., Batrakou, D.G., et al. (2011). Several novel nuclear envelope transmembrane proteins identified in skeletal muscle have cytoskeletal associations. *Mol Cell Proteomics* 10(1), M110.003129. doi: 10.1074/mcp.M110.003129.
- Win, A.K., Perattur, P.G., Pulido, J.S., Pulido, C.M., and Lindor, N.M. (2012). Increased cancer risks in myotonic dystrophy. *Mayo Clin Proc* 87(2), 130-135. doi: 10.1016/j.mayocp.2011.09.005.
- Wong, L.J., Ashizawa, T., Monckton, D.G., Caskey, C.T., and Richards, C.S. (1995). Somatic heterogeneity of the CTG repeat in myotonic dystrophy is age and size dependent. *Am J Hum Genet* 56(1), 114-122.
- Xiao, J.Y., Hafner, A., and Boettiger, A.N. (2021). How subtle changes in 3D structure can create large changes in transcription. *Elife* 10. doi: 10.7554/eLife.64320.
- Yadava, R.S., Yu, Q., Mandal, M., Rigo, F., Bennett, C.F., and Mahadevan, M.S. (2020). Systemic therapy in an RNA toxicity mouse model with an antisense oligonucleotide therapy targeting a non-CUG sequence within the DMPK 3'UTR RNA. *Hum Mol Genet* 29(9), 1440-1453. doi: 10.1093/hmg/ddaa060.

- Yamashita, Y., Matsuura, T., Shinmi, J., Amakusa, Y., Masuda, A., Ito, M., et al. (2012). Four parameters increase the sensitivity and specificity of the exon array analysis and disclose 25 novel aberrantly spliced exons in myotonic dystrophy. *J Hum Genet* 57(6), 368-374. doi: 10.1038/jhg.2012.37.
- Yanovsky-Dagan, S., Avitzour, M., Altarescu, G., Renbaum, P., Eldar-Geva, T., Schonberger, O., et al. (2015). Uncovering the Role of Hypermethylation by CTG Expansion in Myotonic Dystrophy Type 1 Using Mutant Human Embryonic Stem Cells. *Stem Cell Reports* 5(2), 221-231. doi: 10.1016/j.stemcr.2015.06.003.
- Yanovsky-Dagan, S., Bnaya, E., Diab, M.A., Handal, T., Zahdeh, F., van den Broek, W.J.A.A., et al. (2019). Deletion of the CTG Expansion in Myotonic Dystrophy Type 1 Reverses *DMPK* Aberrant Methylation in Human Embryonic Stem Cells but not Affected Myoblasts. *bioRxiv*, 631457. doi: 10.1101/631457.
- Yukina, M., Nuralieva, N., Sorkina, E., Troshina, E., Tiulpakov, A., Belaya, Z., et al. (2021). Atypical progeroid syndrome (p.E262K LMNA mutation): a rare cause of short stature and osteoporosis. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep* 2021. doi: 10.1530/edm-20-0188.
- Zhang, F., Bodycombe, N.E., Haskell, K.M., Sun, Y.L., Wang, E.T., Morris, C.A., et al. (2017). A flow cytometry-based screen identifies MBNL1 modulators that rescue splicing defects in myotonic dystrophy type I. *Hum Mol Genet* 26(16), 3056-3068. doi: 10.1093/hmg/ddx190.
- Zhang, Q., Bethmann, C., Worth, N.F., Davies, J.D., Wasner, C., Feuer, A., et al. (2007). Nesprin-1 and -2 are involved in the pathogenesis of Emery Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelope integrity. *Hum Mol Genet* 16(23), 2816-2833. doi: 10.1093/hmg/ddm238.
- Zheng, Q., Bao, C., Guo, W., Li, S., Chen, J., Chen, B., et al. (2016). Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. *Nat Commun* 7, 11215. doi: 10.1038/ncomms11215.
- Zu, T., Cleary, J.D., Liu, Y., Bañez-Coronel, M., Bubenik, J.L., Ayhan, F., et al. (2017). RAN Translation Regulated by Muscleblind Proteins in Myotonic Dystrophy Type 2. *Neuron* 95(6), 1292-1305.e1295. doi: 10.1016/j.neuron.2017.08.039.
- Zu, T., Gibbens, B., Doty, N.S., Gomes-Pereira, M., Huguet, A., Stone, M.D., et al. (2011). Non-ATG-initiated translation directed by microsatellite expansions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(1), 260-265. doi: 10.1073/pnas.1013343108.

**Abbildungsverzeichnis**

<b>Abbildung 1:</b> Genstruktur und Lokalisierung des Repeats in <i>DMPK</i> . .....	<b>8</b>
<b>Abbildung 2:</b> Genstruktur und Lokalisierung des Repeats in <i>CNBP</i> . .....	<b>9</b>
<b>Abbildung 3:</b> Foci in DM: (A) schematische Darstellung der RNA-Sekundärstruktur mit MBNL-Proteinen, (B) schematische Auswirkung auf MBNL-Verteilung im Zellkern, (C) Immunfluoreszenzfärbung von MBNL in Kontroll- und DM1 Muskelzellen. ....	<b>10</b>
<b>Abbildung 4:</b> Leserahmen und Codons für RAN-Translation in DM1. ....	<b>16</b>
<b>Abbildung 5:</b> Leserahmen und Codons für RAN-Translation in DM2. ....	<b>16</b>
<b>Abbildung 6:</b> Schema Kontrolle miRNA Prozessierung (miR-1) in (A) Kontrollen (B) und DM. Adaptiert aus (Rau et al., 2011). ....	<b>17</b>
<b>Abbildung 7:</b> Schematische Darstellung der Kernmembran. Adaptiert aus (Meinke et al., 2015). ....	<b>24</b>
<b>Abbildung 8:</b> Detektion der CTG-Repeat Länge in primären Kontroll- und DM1-Muskelzellkulturen. Adaptiert aus (Hintze et al., 2021). ....	<b>26</b>
<b>Abbildung 9:</b> Detektion der CTG-Repeat Länge in DM1 vergleichend zwischen Zellkultur und ursprünglicher Muskelbiopsie. Adaptiert aus (Hintze et al., 2021). ....	<b>27</b>
<b>Abbildung 10:</b> Lamin B1 Protein vergleichend in primären Kontroll- und DM1/DM2-Muskelzellkulturen. Adaptiert aus (Meinke et al., 2018). ....	<b>28</b>
<b>Abbildung 11:</b> Strukturelle Veränderungen der Kernmembran in primären DM-Muskelzellkulturen: (A) Immunfluoreszenzfärbungen und (B) Quantifizierung. Adaptiert aus (Meinke et al., 2018). ....	<b>29</b>
<b>Abbildung 12:</b> Elektronenmikroskopische Aufnahme von Einkerbungen des Zellkerns einer arteriellen glatten Muskelzelle. Adaptiert aus (Duan et al., 2019). ....	<b>30</b>
<b>Abbildung 13:</b> Lokalisierung von SERCA1, RyR1, Lamin A/C, H3K9me2, Emerin und BAF im Zellkern einer arteriellen glatten Muskelzelle. Adaptiert aus (Duan et al., 2019). ....	<b>31</b>
<b>Abbildung 14:</b> Quantifizierung von Genexpressionsveränderungen durch Blockade von RyR1 in arteriellen glatten Muskelzellen. Adaptiert aus (Duan et al., 2019). ....	<b>31</b>
<b>Abbildung 15:</b> Vergleichende Quantifizierung der Expression einzelner Nesprin 1 und 2 Isoformen in differenzierten Kontroll- und DM1- Myotuben. ....	<b>32</b>

<b>Abbildung 16:</b> Strukturelle Veränderungen der Kernmembran in DM1-Myotuben. ....	<b>32</b>
<b>Abbildung 17:</b> Mutationen in muskelspezifischen Kernmembranproteinen haben Auswirkungen auf die Genomorganisation in EDMD. Adaptiert aus (Meinke et al., 2020). ....	<b>34</b>
<b>Abbildung 18:</b> Expressionsveränderungen von Genen in DM1-Myoblasten und Myotuben. Adaptiert aus (Todorow et al., 2021). ....	<b>35</b>
<b>Abbildung 19:</b> Die Expression von Spleiß-relevanten Genen ist in DM1-Myoblasten, Myotuben und Muskelbiopsien verändert. Adaptiert aus (Todorow et al., 2021). ....	<b>36</b>
<b>Abbildung 20:</b> Metabolische Defekte in EDMD-Muskelzellen: <b>(A)</b> Die Expression nukleär kodierter mitochondrialer Gene ist in EDMD verändert und <b>(B)</b> es kommt zu Defekten in Glykolyse und mitochondrialer Atmung. Adaptiert aus (de Las Heras et al., 2022). ....	<b>37</b>
<b>Abbildung 21:</b> Spleiß-Defekte in EDMD: <b>(A)</b> fehlregulierte Gene, die Spleiß-Proteine kodieren, <b>(B)</b> Quantifizierung des veränderten Spleißens und <b>(C)</b> alternative Spleiß-Events in muskelrelevanten Genen in EDMD. Adaptiert aus (de Las Heras et al., 2022). ....	<b>38</b>
<b>Abbildung 22:</b> Anzahl an Muskel-Kernmembranproteine die in DM1-Muskelbiopsien differentiell exprimiert oder gespleißt sind. Adaptiert aus (Todorow et al., 2023). ....	<b>39</b>
<b>Abbildung 23:</b> Nesprin 1 wird in DM1-Muskelbiopsien differentiell exprimiert und gespleißt: <b>(A)</b> Expressionsveränderungen korrelieren mit Schwere der Muskelschädigung, <b>(B)</b> Veränderungen der Expression einzelner Isoformen auf Proteinebene, <b>(C)</b> Differentielles Spleißen eines muskelspezifischen <i>SYNE1</i> Exons. Adaptiert aus (Todorow et al., 2023). ....	<b>40</b>
<b>Abbildung 24:</b> Expressionsveränderungen der Gene <b>(A)</b> <i>PLPP7</i> und <b>(B)</b> <i>TMEM38A</i> und <b>(C)</b> Auswirkung auf die Expression der von ihren Genprodukten regulierten Gene. Adaptiert aus (Todorow et al., 2023). ....	<b>41</b>
<b>Abbildung 25:</b> Hypothetisches Zusammenspiel verschiedener Faktoren, die in DM1 zum Phänotyp der Muskelschwäche führen. Adaptiert aus (Todorow et al., 2023). ....	<b>43</b>

**Tabellenverzeichnis**

<b>Tabelle 1:</b>	Verlauf von DM1 in Abhängigkeit der Länge der CTG-Trinukleotid-Repeat-Expansion. ....	<b>8</b>
<b>Tabelle 2:</b>	Im Gehirn von DM-Patienten fehlgespleißte Gene. ....	<b>12</b>
<b>Tabelle 3:</b>	In unterschiedlicher Muskulatur von DM-Patienten fehlgespleißte Gene. ....	<b>13</b>
<b>Tabelle 4:</b>	In muskulären, neuronalen oder progeroiden Erkrankungen mutierte Kernmembranproteine. ....	<b>23</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

CELF1	CUGBP Elav-like family member 1
CDM	kongenitale myotone Dystrophie
circRNA	zirkuläre RNA
CNBP	CCHC-type zinc finger nucleic acid binding protein
DNA	deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
DM	myotone Dystrophien
DM1	myotone Dystrophie Typ 1
DM2	myotone Dystrophie Typ 1
DMPK	Dystrophia-myotonica-proteinkinase
EDMD	Emery-Dreifuss Muskeldystrophie
ER	endoplasmatisches Retikulum
MBNL	Muscleblind Like Splicing Regulator
mRNA	messenger-RNA
miRNA	microRNA
NET	nuclear envelope transmembrane protein (Transmembrandomänen-Kernmembran-Protein)
RAN-Translation	Repeat-associated non-AUG Translation
RNA	ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
siRNA	small interfering RNA
shRNA	small hairpin RNA
TAD	topologisch assoziierten Domäne
TC-NER	transkriptions-gekoppelte Nukleotidexzisionsreparatur

## Schriftenverzeichnis

(<sup>§</sup>commented on; \*shared first/last authorship; †corresponding author; §subject of patent application)

### Originalarbeiten als Erst- oder Letztautor

Todorow V., Hintze S., Schoser B. & **Meinke P.**<sup>†</sup> "Nuclear envelope transmembrane proteins involved in genome organization are misregulated in myotonic dystrophy type 1 muscle." *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2023 Jan, 10:1007331.

Hintze S.\*, Möhl B.S.\*, Beyerl J., Wulff K., Wieser A., Bork K.\* & **Meinke P.**\*<sup>†</sup> "Mutant plasminogen in hereditary angioedema is bypassing FXII/kallikrein to generate bradykinin." *Frontiers in Physiology*, 2023 Jan, 13:1090732.

Donandt T., Hintze S., Krause S., Wolf E., Schoser B., Walter M.C. & **Meinke P.**<sup>†</sup> "Isolation and characterization of primary DMD pig muscle cells as an *in vitro* model for preclinical research on Duchenne muscular dystrophy." *Life (Basel)*, 2022 Oct, 12(10):1668.

Hintze S.\*, Baber L.\*, Hofmeister F., Jarmusch S., Todorow V., Mehaffey S., Tanganelli F., Ferrari U., Neuerburg C., Teupser D., Bidlingmaier M., Marques J.G., Koletzko B., Schoser B., Drey M.\* & **Meinke P.**\*<sup>†</sup> "Exploration of mitochondrial defects in sarcopenic hip fracture patients." *Heliyon*, 2022 Oct, 19:8(10):e11143.

Nguyen T.D., Tran H.D., Möhl B.S., Hintze S., Do H.Q., Duong T.T.H., Ngo D.N., Vu C.D., Miyake N., Nong V.H., Matsumoto N. & **Meinke P.**<sup>†</sup> "Cockayne syndrome without UV-sensitivity in Vietnamese siblings with novel *ERCC8* variants." *Aging (Albany NY)*, 2022 Jun, 14(13):5299-310.

Bork K., Wulff K., Witzke G., Hardt J. & **Meinke P.** "Inheritance pattern of hereditary angioedema indicates mutation-dependent selective effects during early embryonic development." *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 2022 Apr, 10(4):1029-1037.

Bork K., Wulff K., Möhl B.S., Steinmüller-Magin L., Witzke G., Hardt J. & **Meinke P.** "Novel hereditary angioedema linked with a heparan sulfate 3-O-sulfotransferase 6 gene mutation." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2021 Oct, 148(4):1041-1048.

Todorow V.\*, Hintze S.\*, Kerr A.R.W., Hehr A., Schoser B., & **Meinke P.**<sup>†</sup> "Transcriptome analysis in a primary human muscle cell differentiation system for myotonic dystrophy type 1." *International Journal of Molecular Sciences*, 2021 Aug, 22(16):8607.

Hintze S.\*, Mensel R.\*, Knaier L., Schoser B., & **Meinke P.**<sup>†</sup> "CTG-repeat detection in primary human myoblasts of myotonic dystrophy type 1." *Frontiers in Neuroscience*, 2021 Jun, 15:686735.

<sup>§</sup>Hintze S.\*, Dabrowska-Schlepp P., Berg B., Graupner A., Busch A., Schaaf A., Schoser B.\* & **Meinke P.**\*<sup>†</sup> "Uptake of Moss-Derived Human Recombinant GAA in Gaa<sup>-/-</sup> Mice." *JIMD Reports*, 2021 Feb, 59(1):81-89.

- Tanganelli F.\*, **Meinke P.\***, Hofmeister F., Jarmusch S., Baber L., Mehaffey S., Hintze S., Ferrari U., Neuerburg C., Kammerlander C., Schoser B. & Drey M. "Type-2 Muscle Fiber Atrophy is Associated with Sarcopenia in Elderly Men with Hip Fracture." *Experimental Gerontology*, 2021 Feb, 144:111171.
- §Hintze S.\*, Limmer S.\*, Dabrowska-Schlepp P., Berg B., Krieghoff N., Busch A., Schaaf A., **Meinke P.\*** & Schoser B.\* "Moss-Derived Human Recombinant GAA Provides an Optimized Enzyme Uptake in Differentiated Human Muscle Cells of Pompe Disease." *International Journal of Molecular Sciences*, 2020 Apr, 21(7):2642.
- §**Meinke P.**, Kerr A.R.W., Czapiewski R., de Las Heras J.I., Dixon C.R., Harris E., Kölbel H., Muntoni F., Schara U., Straub V., Schoser B., Wehnert M. & Schirmer E.C. "A multistage sequencing strategy pinpoints novel candidate alleles for Emery-Dreifuss muscular dystrophy and supports gene misregulation as its pathomechanism." *EBioMedicine*, 2020 Jan, 51:102587.
- Meinke P.\***†, Limmer S.\*, Hintze S. & Schoser B. "Assessing metabolic profiles in human myoblasts from patients with late-onset Pompe disease." *Annals of Translational Medicine*, 2019 Jul, 7(13):277.
- Hintze S., Limmer S., Knaier L., Schoser B. & **Meinke P.**† "Nuclear Envelope Transmembrane Proteins in Myotonic Dystrophy Type 1." *Frontiers in Physiology*, 2018 Oct, 9:1532.
- Meinke P.**†, Hintze S., Limmer S. & Schoser B. "Myotonic Dystrophy—A Progeroid Disease?" *Frontiers in Neurology*, 2018 Jul, 9:601.
- Le Thanh P.\*, **Meinke P.\***, Korfali N., Srsen V., Robson M.I., Wehnert M., Schoser B., Sewry C.A. & Schirmer E.C. "Immunohistochemistry on a panel of Emery-Dreifuss muscular dystrophy samples reveals nuclear envelope proteins as inconsistent markers for pathology." *Neuromuscular Disorders*, 2017 Apr, 27(4):338-351.
- §**Meinke P.\***, Schneiderat P.\*, Srsen V., Korfali N., Le Thanh P., Cowan G.J., Cavanagh D.R., Wehnert M., Schirmer E.C. & Walter M.C. "Abnormal proliferation and spontaneous differentiation of myoblasts from a symptomatic female carrier of X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy." *Neuromuscular Disorders*, 2015 Feb, 25(2):127-36.
- Meinke P.\***, Mattioli E.\*, Haque F.\*, Antoku S., Columbaro M., Straatman K.R., Worman H.J., Gundersen G.G., Lattanzi G., Wehnert M. & Shackleton S. "Muscular dystrophy-associated SUN1 and SUN2 variants disrupt nuclear-cytoskeletal connections and myonuclear organization." *PLOS Genetics*, 2014 Sep, 10(9):e1004605.
- Starke S.\*, **Meinke P.\***, Camozzi D., Mattioli E., Pfaeffle R., Siekmeyer M., Hirsch W., Horn L.C., Paasch U., Mitter D., Lattanzi G., Wehnert M. & Kiess W. "Progeroid laminopathy with restrictive dermopathy-like features caused by an isodisomic LMNA mutation p.R435C." *Aging (Albany NY)*. 2013 Jun, 5(6):445-59.



**Originalarbeiten als Koautor**

- de Las Heras J.I., Todorow V., Krečinić-Balić L., Hintze S., Czapiewski R., Webb S., Schoser B., **Meinke P.** & Schirmer E.C. "Metabolic, fibrotic, and splicing pathways are all altered in Emery-Dreifuss muscular dystrophy Spectrum patients to differing degrees." *Human Molecular Genetics*, 2022 Oct, ddac264.
- Carrasco-Rozas A., Fernández-Simón E., Suárez-Calvet X., Piñol-Jurado P., Alonso-Pérez J., de Luna N., Schoser B., **Meinke P.**, Domínguez-González C., Hernández-Laín A., Paradas C., Rivas E., Illa I., Olivé M., Gallardo E. & Díaz-Manera J. "BNIP3 is involved in muscle fiber atrophy in Late-Onset Pompe Disease patients." *The American Journal of Pathology*, 2022 Aug, 192(8):1151-1166.
- Jarmusch S., Baber L., Bidlingmaier M., Ferrari, U., Hofmeister F., Hintze S., Mehaffey S., **Meinke P.**, Neuerburg C., Schoser B., Tanganelli F. & Drey M. "Influence of IGF-I serum concentration on muscular regeneration capacity in patients with sarcopenia." *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2021 Sep, 22(1):807.
- Hofmeister F., Baber L., Ferrari U., Hintze S., Jarmusch S., Krause S., **Meinke P.**, Mehaffey S., Neuerburg C., Tanganelli F., Schoser B. & Drey M. "Late-onset neuromuscular disorders in the differential diagnosis of sarcopenia." *BMC Neurology*, 2021 Jun, 21(1):241.
- Bikkul M.U., Faragher R.G.A., Worthington G., **Meinke P.**, Kerr A.R.W., Sammy A., Riyahi K., Horton D., Schirmer E.C., Hubank M., Kill I.R., Anderson R.M., Slijepcevic P., Makarov E. & Bridger J.M. "Telomere elongation through hTERT immortalization leads to chromosome repositioning in control cells and genomic instability in Hutchinson-Gilford progeria syndrome fibroblasts, expressing a novel SUN1 isoform." *Genes, Chromosomes and Cancer*, 2019 Jun, 58(6):341-356.
- Duan J., Navarro-Dorado J., Clark J.H., Kinnear N.P., **Meinke P.**, Schirmer E.C. & Evans A.M. "The cell-wide web coordinates cellular processes by directing site-specific Ca<sup>2+</sup> flux across cytoplasmic nanocourses." *Nature Communications*, 2019 May, 10(1):2299.
- Malik P., Zuleger N., de las Heras J.I., Saiz-Ros N., Makarov A.A., Lazou V., **Meinke P.**, Waterfall M., Kelly D.A. & Schirmer E.C. "NET23/STING promotes chromatin compaction from the nuclear envelope." *PLOS ONE*, 2014 Nov, 9(11):e111851.
- Li P., **Meinke P.**, Huong le T.T., Wehnert M., & Noegel A.A. "Contribution of SUN1 mutations to the pathomechanism in muscular dystrophies." *Human Mutation*, 2014 Apr, 35(4):452-61.
- Navarro C. L., Esteves-Vieira V., Courrier S., Boyer A., Duong Nguyen T., Huong le T. T., **Meinke P.**, Schröder W., Cormier-Daire V., Sznajder Y., Amor D. J., Lagerstedt K., Biervliet M., van den Akker P. C., Cau P., Roll P., Levy N., Badens C., Wehnert M. & De Sandre-Giovannoli A. "New ZMPSTE24 (FACE1) mutations in patients affected with restrictive dermopathy or related progeroid syndromes and mutation update." *European Journal of Human Genetics*, 2014 Aug, 22(8):1002-11.

- Taranum S., Vaylann E., **Meinke P.**, Abraham S., Yang L., Neumann S., Karakesisoglou I., Wehnert M., & Noegel A.A. "LINC complex alterations in DMD and EDMD/CMT fibroblasts." *European Journal of Cell Biology*, 2012 Aug, 91(8):614-28.
- Bork K., Wulff K., **Meinke P.**, Wagner N., Hardt J., & Witzke G. "A novel mutation in the coagulation factor 12 gene in subjects with hereditary angioedema and normal C1-inhibitor." *Clinical Immunology*, 2011 Oct, 141(1):31-5.

### Übersichtsarbeiten/Reviews

- Stangl M.K., Böcker W., Chubanov V., Ferrari U., Fischereder M., Gudermann T., Hesse E., **Meinke P.**, Reincke M., Reisch N., Saller M.M., Seissler J., Schmidmaier R., Schoser B., Then C., Thorand B. & Drey M. "Sarcopenia - Endocrinological and Neurological Aspects." *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 2019 Jan, 127(1):8-22.
- Meinke P.** & Schirmer E.C. "The increasing relevance of nuclear envelope myopathies." *Current Opinion in Neurology*, 2016 Oct, 29(5):651-61.
- Meinke P.**<sup>†</sup> & Schirmer E.C. "LINC'ing form and function at the nuclear envelope." *FEBS Letters*, 2015 Sep, 589(19 Pt A):2514-21.
- de las Heras J.I., **Meinke P.**, Batrakou D.G., Srsen V., Zuleger N., Kerr A.R.W., & Schirmer E.C. "Tissue specificity in the nuclear envelope supports its functional complexity." *Nucleus-Austin*, 2013 Nov-Dec, 4(6):460-77.
- Meinke P.**, Nguyen T.D., & Wehnert M.S. "The LINC complex and human disease." *Biochemical Society Transactions*, 2011 Dec, 39(6):1693-7.

### Buchkapitel/Book Chapters

- Meinke P.**<sup>†</sup> "Molecular genetics of Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy." *eLS*, 2018 Jan, DOI: 10.1002/9780470015902.a0022438.pub2.
- Makarov A.A., Rizzotto A., **Meinke P.** & Schirmer E.C. "Purification of Lamins and Soluble Fragments of NETs." *Methods in Enzymology*, 2015 Sep, 569:79-100.
- Wehnert M.S., & **Meinke P.** "LiNC complex and human genetic muscular disease." *eLS*, 2012 Dec, DOI: 10.1002/9780470015902.a0024451.

## Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde erst durch die Unterstützung vieler Kolleginnen und Kollegen ermöglicht. Ich möchte an erster Stelle meiner Arbeitsgruppe (insbesondere Dr. Stefan Hintze und Vanessa Todorow) für die Unterstützung danken, die die Umsetzung von Ideen in die Praxis möglich gemacht hat. Vielen Dank für die Geduld bei meinen Ausführungen und den Willen, stets vorwärts zu gehen.

Als nächstes möchte ich den Mentoren danken, die meinen wissenschaftlichen Weg begleitet haben: Professor Dr. Manfred Wehnert, der mir als Betreuer meiner Doktorarbeit die ersten wissenschaftlichen Gehversuche ermöglicht hat; Prof. Dr. Eric Schirmer, von dem ich gelernt habe, seinen eigenen Weg zu gehen; und Prof. Dr. Benedikt Schoser, der es mir ermöglicht hat, selbstständig zu werden.

Ein besonderes Dankeschön gilt auch meiner Familie, meiner Frau Britta für die Möglichkeit alles zeitlich irgendwie zu organisieren, meinen Söhnen Anton und Manfred für die unermüdlichen Versuche sich einzubringen, meiner Mutter für das Verständnis. Und meinen Großeltern (die leider nicht mehr unter uns sind) für die Unterstützung, diesen Weg zu gehen.

Ich möchte mich auch bei Frau Professor Dr. Dieterich für die Möglichkeit, mich in ihrer Klinik habilitieren zu dürfen, sowie für ihre gewährte Unterstützung und für die hervorragenden Arbeitsbedingungen am Friedrich-Baur-Institut bedanken.

Auch allen meinen Kooperationspartnern möchte ich für viele anregende Diskussionen und die ausgesprochen gute Zusammenarbeit danken.

Vielen Dank auch an Dr. Metin Colpan, der mit seiner großzügigen Spende den Aufbau der Arbeitsgruppe ermöglicht hat.

*„Die größte Verwundbarkeit ist die Unwissenheit“*

## Erklärungen

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Habilitationsschrift mit dem Titel

**„Untersuchungen der molekularen Pathologie bei myotoner Dystrophie“**

selbständig verfasst und die Herkunft des verwendeten oder zitierten Materials ordnungsgemäß kenntlich gemacht habe.

Ich erkläre des Weiteren, an keiner anderen Universität/Hochschule ein Habilitationsgesuch eingereicht zu haben.

Ich erkläre außerdem, dass mir mein akademischer Grad nicht entzogen wurde noch ein solches Verfahren anhängig ist.

München, den 01.02.2023

Dr. Peter Meinke

**Anhang der habilitationsrelevanten Originalarbeiten**

Hintze S., Mensel R., Knaier L., Schoser B., & **Meinke P.** "CTG-repeat detection in primary human myoblasts of myotonic dystrophy type 1." *Frontiers in Neuroscience*, **2021** Jun, 15:686735.

DOI: 10.3389/fnins.2021.686735

PMID: 34262431

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34262431/>

**Meinke P.,** Hintze S., Limmer S. & Schoser B. "Myotonic dystrophy—a progeroid disease?" *Frontiers in Neurology*, **2018** Jul, 9:601.

DOI: 10.3389/fneur.2018.00601

PMID: 30140252

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30140252/>

Duan J., Navarro-Dorado J., Clark J.H., Kinnear N.P., **Meinke P.**, Schirmer E.C. & Evans A.M. "The cell-wide web coordinates cellular processes by directing site-specific Ca<sup>2+</sup> flux across cytoplasmic nanocourses." *Nature Communications*, **2019** May, 10(1):2299.

DOI: 10.1038/s41467-019-10055-w

PMID: 31127110

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31127110/>

Hintze S., Limmer S., Knaier L., Schoser B. & **Meinke P.** "Nuclear envelope transmembrane proteins in myotonic dystrophy type 1." *Frontiers in Physiology*, **2018** Oct, 9:1532.

DOI: 10.3389/fphys.2018.01532

PMID: 30425655

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30425655/>



**Meinke P.**, Kerr A.R.W., Czapiewski R., de Las Heras J.I., Dixon C.R., Harris E., Kölbl H., Muntoni F., Schara U., Straub V., Schoser B., Wehnert M. & Schirmer E.C. "A multistage sequencing strategy pinpoints novel candidate alleles for Emery-Dreifuss muscular dystrophy and supports gene misregulation as its pathomechanism." *EBioMedicine*, **2020** Jan, 51:102587.

DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.11.048

PMID: 31862442

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31862442/>

Todorow V., Hintze S., Kerr A.R.W., Hehr A., Schoser B., & **Meinke P.** "Transcriptome analysis in a primary human muscle cell differentiation system for myotonic dystrophy type 1." *International Journal of Molecular Sciences*, **2021** Aug, 22(16):8607.

DOI: 10.3390/ijms22168607

PMID: 34445314

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34445314/>

de Las Heras J.I., Todorow V., Krečinić-Balić L., Hintze S., Czapiewski R., Webb S., Schoser B., **Meinke P.** & Schirmer E.C. "Metabolic, fibrotic and splicing pathways are all altered in Emery-Dreifuss muscular dystrophy spectrum patients to differing degrees." *Human Molecular Genetics*, **2023** Mar, 32(6): 1010-1031.

DOI: 10.1093/hmg/ddac264

PMID: 36282542

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36282542/>

Todorow V., Hintze S., Schoser B. & **Meinke P.** "Nuclear envelope transmembrane proteins involved in genome organization are misregulated in myotonic dystrophy type 1 muscle." *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **2023** Jan, 10:1007331.

DOI: 10.3389/fcell.2022.1007331

PMID: 36699009

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36699009/>