

Identifizierung und funktionelle Untersuchung neuer Kandidatengene für CAKUT und Omphalozele

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (PhD)

der Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Caroline Maria Katharina Kolvenbach

aus Düren

2025

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Benjamin Odermatt
2. Gutachter: Prof. Dr. Friedhelm Hildebrandt

Tag der Mündlichen Prüfung: 08.01.2025

Aus dem Institut für Anatomie und Zellbiologie
Direktor: Prof. Dr. Tim Clarner

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	6
1	Einleitung	15
1.1	Übersicht der angeborenen Fehlbildungen	15
1.1.1	Genetik und Pathogenese von CAKUT	17
1.1.1.1	<i>De novo</i> Varianten und CAKUT	21
1.1.1.2	Rolle von <i>ETV4</i> bei CAKUT	22
1.1.2	Entstehung und Ursachen von Omphalozele	23
1.2	Fragestellung und Zielsetzung	27
2	Material und Methoden	29
2.1	Material und Methoden für Studien aus Teil 1 und 2 (Boston)	29
2.1.1	Rekrutierung der teilnehmenden Probanden mit CAKUT	29
2.1.2	Desoxyribonukleinsäure-Isolierung	29
2.1.3	ES-Plattform	29
2.1.4	Evaluierung der ES-Varianten	30
2.1.5	Identifizierung neuer Kandidatengene für CAKUT	32
2.1.6	Polymerase-Kettenreaktion und Sanger- Sequenzierung	34
2.1.7	Klonierung von <i>SOX13</i> und Mutagenese	35
2.1.8	Zellkultur und transiente Transfektion	35
2.1.9	IF-Färbungen in HEK 293T-Zellen für <i>SOX13</i>	36
2.1.10	3D-Modellierung	36
2.2	Material und Methoden für Studien aus Teil 3 (Bonn und Boston)	37
2.2.1	Rekrutierung der Familie mit Omphalozele	37
2.2.2	ES in Multiplex-Familie mit Omphalozele	37
2.2.3	Semi-quantitative Reverse-Transkriptase-PCR aus Lymphoblastenzellen	38
2.2.4	<i>ABL1</i> Klonierung und Mutagenese	38

2.2.5	Western Blot-Analyse	39
2.2.6	IF-Färbungen und Quantifikation für ABL1	40
2.2.7	Immunhistochemische Färbungen in humanen Embryonen (A. Woolf, Manchester)	40
2.2.8	Semi-quantitative RT-PCR aus Nabelschnurgewebe	41
2.2.9	Sondenherstellung für Wholemount <i>in situ</i> Hybridisierung	41
2.2.10	Wholemount <i>in situ</i> Hybridisierung in Mausembryonen	42
2.2.11	Statistische Auswertung	43
3	Ergebnisse	44
3.1	Trio-ES-Analyse identifiziert <i>de novo</i> Varianten bei 17,90 % der CAKUT-Familien	44
3.1.1	Identifizierung eines einzelnen Kandidatengens bei 19,43 % der CAKUT-Familien	44
3.1.2	Identifizierung multipler Kandidatengene bei 11,22 % der CAKUT-Familien	45
3.1.3	Varianten in erst kürzlich etablierten und seltenen CAKUT-Genen in 2,74 %	46
3.1.4	Phänokopie-Gene erklären 1,64 % der CAKUT-Phänotypen	46
3.1.5	Zufallsbefunde bei 1,51 % der CAKUT-Familien	47
3.1.6	Ranking der <i>de novo</i> Varianten	48
3.1.7	Identifizierung einer <i>de novo</i> Nonsense-Variante in SOX13	49
3.1.8	ES-Analyse ermöglicht die Identifizierung neuer CAKUT-Gene	51
3.2	Eine seltene genetische Ursache für CAKUT	52
3.2.1	Fallpräsentation	52
3.2.2	Biallelische Varianten in <i>ETV4</i> verursachen CAKUT	53

3.3	Verwicklung von <i>ABL1</i> in familiäre Omphalozele	56
3.3.1	Erweiterte Spleißvariante in <i>ABL1</i>	56
3.3.2	<i>In vitro</i> Untersuchung der Spleißvariante in <i>ABL1</i>	58
3.3.3	<i>ABL1</i> während der Bauchwandentwicklung	62
4	Diskussion	65
4.1	Beteiligung von <i>de novo</i> Varianten an der CAKUT-Pathogenese	65
4.1.1	<i>SOX13</i> als neues Kandidatengen für CAKUT	67
4.1.2	Besonderheiten bei der Kandidatengenidentifizierung	67
4.1.3	Genetische Diagnostik und Therapie	68
4.1.4	Limitationen von ES	70
4.1.5	Fazit Teil 1	72
4.2	Varianten in <i>ETV4</i> sind eine seltene Ursache für CAKUT	72
4.2.1	Bedeutung einer Variante in <i>BRCA1</i>	74
4.2.2	Fazit Teil 2	74
4.3	Beteiligung von <i>ABL1</i> an der Entstehung der Omphalozele	75
4.3.1	Biallelische Variante in <i>ABL1</i>	78
4.3.2	Rolle von <i>ABL1</i> während des Bauchwandverschlusses	79
4.3.3	Fazit Teil 3	81
5	Zusammenfassung	82
6	Abbildungsverzeichnis	84
7	Tabellenverzeichnis	85
8	Literaturverzeichnis	86
9	Danksagung	107
10	Publikationsverzeichnis	108
11	Appendix	112

Abkürzungsverzeichnis

a	Arterie
aa	Amino acid (dt. Aminosäure)
AAV	Adeno-assoziiertes Virus
Abb.	Abbildung
ABL	Abelson
ABL1/2	ABL Proto-Oncogene 1/2, Non-Receptor Tyrosine Kinase
ACMG	American College of Medical Genetics
ADPKD	autosomal dominant polycystic kidney disease (dt. autosomal dominante polyzystische Nierenerkrankung)
ALX4	Aristaless-like Homeobox 4
Aminosäurenkons.	Aminosäurenkonservierung
ARPKD	autosomal recessive polycystic kidney disease (dt. autosomal rezessive polyzystische Nierenerkrankung)
ASD	Atriumseptumdefekt
ASO	Antisense Oligonukleotid
AVP	Arginine Vasopressin
AVPR2	AVP Receptor 2
B	benign (dt. gutartig)
BCR	Breakpoint Cluster Region
BL	bilateral
bp	Basenpaare

BRCA1	Breast Cancer Type 1 Susceptibility Protein
BSA	bovines Serumalbumin
CAKUT	Congenital Anomalies of the Kidney and the Urinary Tract (dt. angeborene Fehlbildungen der Niere und Harnwege)
CDKN1C	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1C
cDNA	complementary DNA (dt. komplementäre DNA)
C. e.	Caenorhabditis elegans
CHDSKM	Congenital Heart Defects and Skeletal Malformations (dt. angeborene Herzfehler und Skelettfehlbildungen)
C. i.	Ciona intestinalis
CKD	chronic kidney disease (dt. chronische Nierenerkrankung)
CML	chronische myeloische Leukämie
CNV	Copy Number Variation (dt. Kopienzahlveränderungen)
CoHe	compound-heterozygot
COL1A1	Collagen Type I Alpha 1 Chain
COPS7A	COP9 Signalosome Complex Subunit 7a
CRB2	Crumbs Cell Polarity Complex Component 2
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (dt. Genschere)
CRISPR AI	CRISPR activation and interference (dt. CRISPR Aktivierung und Inhibierung)
CTCF	corrected total cell fluorescence (dt. korrigierte totale Zellfluoreszenz)

CYP1B1	Cytochrome P450 Family 1 Subfamily B Member 1
D	deleterious (dt. schädlich)
DAB	3,3-Diaminobenzidin
DAPI	4',6-Diamidino-2-Phenylindol
dbSNP	The Single Nucleotide Polymorphism database
DC	disease-causing (dt. krankheitsverursachend)
del	Deletion
DIG	Digoxigenin
DNA	Desoxyribonucleic acid (dt. Desoxyribonukleinsäure)
D. m.	Drosophila melanogaster
DORV	double-outlet right ventricle (dt. Rechte Herzkammer mit zwei Ausgängen)
DPBST	Dulbecco's PBS mit Tween
D. r.	Danio rerio
dt.	deutsch
e	Epithel
E	Exon
E1	nicht verfügbar für klinische Untersuchung
E2	nicht verfügbar für genetische Testung
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EEF1A1	Elongation factor 1-alpha 1
eGFR	estimierte glomeruläre Filtrationsrate

engl.	englisch
ES	Exom-Sequenzierung
ESRD	end-stage renal disease (dt. terminale Niereninsuffizienz)
ETS	E26 transformation-specific
ETV4	ETS Variant Transcription Factor 4
Eval	Evaluation
Fab	fragment antigen-binding (dt. Fragment Antigen-bindend)
FGFR1/2	fibroblast growth factor receptors 1/2
FOXL2	Forkhead Box Protein L2
FOXP1	Forkhead Box P1
fs	frameshift (dt. Verschiebung des Leserasters)
G	Gen
GDNF	glial cell–derived neurotrophic factor
Geschw.	Geschwisterpaare
G. g.	Gallus gallus
gnomAD	Genome Aggregation Database (dt. Genompopulationsdatenbank)
GRCh37/38	Genome Reference Consortium Human Build 37/38
GRT	Gene Replacement Therapy (dt. Genersatztherapie)
HBB	Hemoglobin Subunit Beta
Het	heterozygot
HEK 293T	Human Embryonic Kidney 293 SV40 large T antigen (dt. humane embryonale Nierenzellen)

hg19/38	human genome 19/38 (dt. Humanes Genom Version 19/38)
HGMD®	The Human Genome Mutation Database
HMG	High Mobility Group
HNF1B	Hepatocyte Nuclear Factor 1-Beta
HOGA1	4-Hydroxy-2-Oxoglutarate Aldolase 1
Hom	homozygot
Homozyg.	Homozygotie
HOXC4	Homeobox C4
HRP	horseradish peroxidase (dt. Meerrettichperoxidase)
I	Intron
ID	intellectual disability (dt. Intelligenzminderung)
IF	Immunfluoreszenz
KANK1	KN Motif And Ankyrin Repeat Domains 1
KK	Komma-förmiges Körperchen
KMT2B	Lysine Methyltransferase 2B
L	links
L. B.	Luria-Bertani
LB	likely benign (dt. vermutlich gutartig)
LZ-Q	Leuzin Zipper Domäne
LMX1B	LIM Homeobox Transcription Factor 1 Beta
LP	likely pathogenic (dt. vermutlich pathogen)
m	Mesenchym

M	männlich
MAF	minor allele frequency (dt. Häufigkeit des selteneren Allels)
MCDK	multicystic dysplastic kidney (dt. multizystische dysplastische Niere)
miRNA	microRNA
MK	Mesenchymkappe
MGI	Mouse Genome Informatics
MM	metanephrisches Mesenchym
M. m.	Mus musculus
mRNA	messenger (dt. Boten)-RNA
MT	MutationTaster
MYO15A	Myosin XVA
NA	not available (dt. nicht verfügbar)
NB	Nierenbläschen
NMD	Nonsense Mediated mRNA Decay (dt. Abbau fehlerhafter mRNA)
NPHS1	Nephrin
NPHS2	Podocin
NS	nephrogener Strang
ns	nicht signifikant
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
orf	open reading frame (dt. offener Leserahmen)
P	pathogenic (dt. pathogen)

PBS	Phosphate-buffered saline (dt. phosphatgepufferte Salzlösung)
PCR	Polymerase Chain Reaction (dt. Polymerase-Kettenreaktion)
PDVF	Polyvinyliden-Difluorid
PFA	Paraformaldehyd
PP2	Polyphen-2
PTA	peritubuläres Aggregat
PRKD1	Protein Kinase D1
PUV	Posterior urethral valves (dt. Harnröhrenklappen)
R	Rechts
RCAD	renal cyst and diabetes syndrome (dt. Nierenzysten und Diabetes Syndrom)
RET	Ret Proto-Oncogene
RHD	renale Hypodysplasie
RIPA	Radioimmunpräzipitations-Assay-Puffer
RNA	Ribonucleic acid (dt. Ribonukleinsäure)
RNAi	RNA-Interferenz
RT	Reverse-Transkriptase
RTA	Renale tubuläre Azidose
S	short (dt. kurz)
S. c.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate (dt. Natrium-Dodecyl-Sulfat)
SIFT	Sorting Intolerant From Tolerant

siRNA	small interfering RNA (kleine interferierende RNA)
SEM	standard error of the mean (dt. Standardfehler)
SK	S-förmiges Körperchen
SOX11/13/17	Sex Determining Region Y-Box Transcription Factor 11/13/17
SRNS	steroidresistentes nephrotisches Syndrom
SSC	Saline-Sodium Citrate (dt. Salin-Natrium Citrat)
T	Toleriert
Tab.	Tabelle
TBST	tris-buffered saline and Tween (dt. Tris-gepuffertes Salin und Tween)
TBX6	T-Box Transcription Factor 6
Tfap2a	Transcription Factor AP-2 Alpha
UCSC	University of California, Santa Cruz
UK	Ureterknospe
UPJO	Ureteropelvic junction obstruction (dt. Obstruktion der ureteropelvinen Verbindung)
UTR	untranslatierte Region
UVJO	Ureterovesicular junction obstruction (dt. Obstruktion der ureterovesikalen Verbindung)
V	Vene
Var	Variante
VSD	Ventrikelseptumdefekt
VUR	Vesikoureteraler Reflux

VUS	variant of uncertain significance (dt. Variante mit ungewisser Signifikanz)
W	weiblich
WG	Wolfscher Gang
Wj	Wharton's jelly (dt. Wharton-Sulze)
WT	Wildtyp
X. t.	Xenopus tropicalis
z. B.	zum Beispiel
ZMYM2	Zinc Finger MYM-Type Containing 2

1. Einleitung

1.1 Übersicht der angeborenen Fehlbildungen

Angeborene Fehlbildungen sind definiert als strukturelle oder funktionelle Fehlbildungen, die bereits in der Pränatalperiode entstehen (Hennekam et al., 2013; CDC, 2023; WHO, 2023). Bei etwa 3-6 % aller Neugeborenen werden kongenitale (angeborene) Anomalien festgestellt, die klinisch von leicht bis schwer reichen können (Irani et al., 2018; Ajao und Adeoye, 2019; CDC, 2023). Die charakteristische Kombination von verschiedenen kongenitalen Fehlbildungen, die mehrere Organsysteme betreffen, werden als Syndrom bezeichnet (Calvo et al., 2003). Etwa ein Fünftel dieser angeborenen Anomalien ist lebensbedrohlich und stellt somit eine der Hauptursachen für die Sterblichkeit im Neugeborenenalter dar (Roncancio et al., 2018; Pitt und Morris, 2021). Daher sind die Betroffenen eine bedeutsame Patientengruppe der Pädiatrie.

Zu den häufigsten kongenitalen Fehlbildungen gehören angeborene Herzfehler (zum Beispiel (z. B.) Atriumseptumdefekt), Down-Syndrom (Trisomie 21), angeborene Zwerchfellhernien, Lippen-Kiefer-Gaumenspalten, Bauchwanddefekte (z. B. Gastroschisis, Omphalozele (Nabelschnurbruch)), Fehlbildungen der Gliedmaßen (z. B. Klumpfuß), Neuralrohrdefekte und angeborene Anomalien der Nieren und Harnwege (Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract (CAKUT); Hoffman und Kaplan, 2002; Chen et al., 2022; Salas et al., 2020; Rahoma, 2008; Khan et al., 2022a; Basit und Khoshhal, 2018; Zaganjor et al., 2016; Schulman et al., 1993; Schedl, 2007). Einige dieser Fehlbildungen können bereits vor der Geburt durch Ultraschall, mütterliche Bluttests, Fruchtwasseruntersuchungen (Amniozentese) oder Plazentaprobe (Chorionzottenbiopsie) diagnostiziert werden (Alfirevic et al., 2017). Manche Geburtsfehler werden jedoch erst nachgeburtlich bei der körperlichen Untersuchung des Neugeborenen diagnostiziert. Bei kleineren oder leichteren Anomalien, einschließlich bestimmter Nieren- und Harnwegsfehlbildungen, wird der Defekt aufgrund fehlender oder milder Symptomatik unter Umständen erst Jahre später diagnostiziert (Ramanathan et al., 2016; Kolvenbach et al., 2023a).

In etwa 60 % der Fälle bleiben die Ursachen für angeborene Fehlbildungen unbekannt (Cosme et al., 2017). Studien haben jedoch gezeigt, dass Teratogene, die mütterliche Ernährung, Infektionen und genetische Faktoren das Risiko für das Auftreten angeborener Fehlbildungen erhöhen können (CDC, 2023). Zu den Teratogenen gehören Toxine wie Alkohol, Strahlung (z. B. Röntgenstrahlung) oder bestimmte Medikamente, die die intrauterine Entwicklung beeinflussen können (Davis et al., 2007; Gilbert-Barness, 2010; Lim et al., 2016). Je nachdem, wann die Exposition gegenüber dem jeweiligen Teratogen erfolgt ist, sind die sich zu diesem Zeitpunkt entwickelnden Strukturen mit größerer Wahrscheinlichkeit von einer Entwicklungsstörung betroffen (Gilbert-Barness, 2010). Des Weiteren kann die Ernährung die Entwicklung dahingehend beeinflussen, dass Neuralrohrdefekte und angeborene Herzfehler bei einem Mangel an Folsäure häufiger auftreten (Czeizel et al., 2013; Sotres-Alvarez et al., 2013). Auch Übergewicht kann das Risiko von Neuralrohrdefekten, Omphalozele oder angeborenen Herzfehlern begünstigen (Stothard et al., 2009; Taruscio et al., 2015). Bestimmte Infektionskrankheiten können ebenfalls Fehlbildungen verursachen. Wie bei den Teratogenen hängt das Ausmaß der Schädigung vom Zeitpunkt der Infektion ab. Prominente Beispiele hierfür sind das Varizella- oder Cytomegalovirus (Best und Banatvala, 1990). Mögliche Ursachen für eine genetische Genese sind Chromosomenanomalien oder Genveränderungen, die bis zu 30 % der angeborenen Fehlbildungen erklären (Hobbs et al., 2002). Chromosomenstörungen beziehen sich auf die strukturelle oder numerische Abweichung von Chromosomen, wie z. B. bei der Trisomie 21 (Kirsch-Volders et al., 2002). Veränderungen in einem einzelnen Gen werden als monogen bezeichnet (Antonarakis und Beckmann, 2006). Eine Kombination von genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen bezeichnet eine multifaktorielle Krankheitsursache (Nora, 1968).

Einige der aufgeführten Faktoren, die zu einem erhöhten Risiko für angeborene Fehlbildungen führen, können vor oder während der Schwangerschaft minimiert werden, wie z. B. durch den Verzicht auf Alkohol-, Drogen- und Tabakkonsum (Taruscio et al., 2015; CDC, 2023). Außerdem kann eine ausgewogene, gesunde Ernährung Nährstoffmängeln und Übergewicht vorbeugen (Stothard et al., 2009; Taruscio et al., 2015; CDC, 2023). Zusätzlich sollte auf einen vollständigen und aktuellen Impfschutz

geachtet werden, um Infektionen durch bestimmte Krankheitserreger zu vermeiden (Taruscio et al., 2015; CDC, 2023). Ebenfalls empfiehlt das Bundesinstitut für Risikobewertung die Einnahme von Folsäure vor Schwangerschaftsbeginn, um das Risiko eines Neuralrohrdefekts zu minimieren (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2024).

Die Behandlung von Geburtsfehlern ist aufgrund des angeborenen Charakters der Anomalien begrenzt. Zu den therapeutischen Optionen gehören die Symptomkontrolle und je nach Defekt eine chirurgische Korrektur (Nakai et al., 2003). Letztere kann in einigen Fällen vorgeburtlich durchgeführt werden. So kann beispielsweise bei Harnabflussstörungen ein Shunt zwischen Blase und Fruchtwasserhöhle zur Ableitung des fetalen Urins gelegt werden (Quintero et al., 2010). In Zukunft könnten Gentherapien eine vielversprechende Rolle bei der kausalen Behandlung von Fehlbildungen spielen, z. B. durch den Ersatz oder die Veränderung eines defekten Genprodukts (Odiba et al., 2021; Palanki et al., 2021). Inwieweit dies bei angeborenen Fehlbildungen möglich ist, muss noch erforscht werden.

1.1.1 Genetik und Pathogenese von CAKUT

Der Begriff CAKUT umfasst eine Vielzahl von Fehlbildungen, die durch eine fehlerhafte Entwicklung der Nieren oder Harnwege entstehen (Abb. 1; van der Ven et al., 2018a; Khan et al., 2022b; Kolvenbach et al., 2023a). Es handelt sich hierbei um eine der häufigsten angeborenen Fehlbildungen. Diese tritt bei circa 3-6 von 1.000 Lebendgeburten auf (Schulman et al., 1993; Schedl, 2007; Hildebrandt, 2010). Schätzungen gehen davon aus, dass CAKUT etwa 20-30 % aller angeborenen Anomalien ausmacht (Schedl, 2007; Loane et al., 2011). Die meisten Fälle mit CAKUT werden bereits pränatal beim routinemäßig durchgeführten Ultraschall in der Schwangerschaft diagnostiziert (Ramanathan et al., 2016; Kolvenbach et al., 2023a). Weitere Fälle werden oft erst später zufällig entdeckt, weil CAKUT subklinisch verlaufen und somit lange oder sogar lebenslang unerkannt bleiben kann (Ramanathan et al., 2016; Kolvenbach et al., 2023a). Variable Symptome, die von Harnwegsinfekten bis hin zum Nierenversagen reichen, können bereits im frühen Kindesalter auftreten. Außerdem werden fast 50 % der chronischen Nierenerkrankungen (>3 Monate anhaltende Einschränkung der Nierenfunktion mit einer estimierten glomerulären Filtrationsrate (eGFR) von weniger als

60 ml/min/1,73 m²) vor dem 30. Lebensjahr durch CAKUT verursacht (NAPRTCS, 2008; KDIGO, 2011). Bei Fortschreiten der chronischen Nierenerkrankung zur terminalen Niereninsuffizienz ist in der Regel ein Nierenersatzverfahren erforderlich, entweder im Rahmen einer Dialyse oder einer Nierentransplantation (Murugapoopathy und Gupta, 2020). Die Behandlung von CAKUT kann wie bei den meisten angeborenen Fehlbildungen oft nur symptomatisch erfolgen. Dadurch soll das Auftreten von Komplikationen verhindert und die Nierenfunktion möglichst lang erhalten bleiben. Einige Malformationen profitieren jedoch von einer chirurgischen Korrektur (z. B. obstruktive Formen von CAKUT; Nakai et al., 2003; Rosenblum et al., 2022). Die Betreuung der Patienten erfolgt idealerweise durch ein multidisziplinäres Team, das sich aus Pädiatern, Nephrologen, Urologen, Humangenetikern, Chirurgen und Physiotherapeuten zusammensetzt.

Zu CAKUT gehören Abweichungen in der Anzahl (z. B. Nierenagenesie, Doppelniere, Urethraatresie), Größe (z. B. Nierenhypoplasie), Gewebekomposition (z. B. Nierendysplasie), Gewebestruktur (z. B. Obstruktion der ureteropelvinen oder ureterovesikalen Verbindung (engl. ureteropelvic oder ureterovesical junction obstruction (UPJO, UVJO)), vesikoureteraler Reflux (VUR) und Harnröhrenklappen (eng. posterior urethral valves (PUV)), sowie Form und Lage (z. B. Hufeisennierte, ektopische Niere und Harnleiter; Abb. 1; van der Ven et al., 2018a; Khan et al., 2022b; Kolvenbach et al., 2023a). CAKUT kann entweder ein- oder beidseitig auftreten (van der Ven et al., 2018a; Kolvenbach et al., 2023a). Ebenso können verschiedene CAKUT-Fehlbildungen parallel bei ein und derselben Person bestehen (van der Ven et al., 2018a; Kolvenbach et al., 2023a). In den meisten Fällen tritt CAKUT isoliert auf, das heißt ohne zusätzliche Fehlbildungen (van der Ven et al., 2018a; Kolvenbach et al., 2023a). Es gibt jedoch >200 Syndrome, die CAKUT als ein phänotypisches Merkmal nebst anderen Fehlbildungen aufweisen (Limwongse, 2009; van der Ven et al., 2018a). Die vielfältigen Erscheinungsformen des CAKUT-Spektrums sind vermutlich auf spatiotemporale Störungen während der Nephrogenese zurückzuführen, die die Ausprägung der Fehlbildung bestimmen (Abb. 2; Ichikawa et al., 2002).

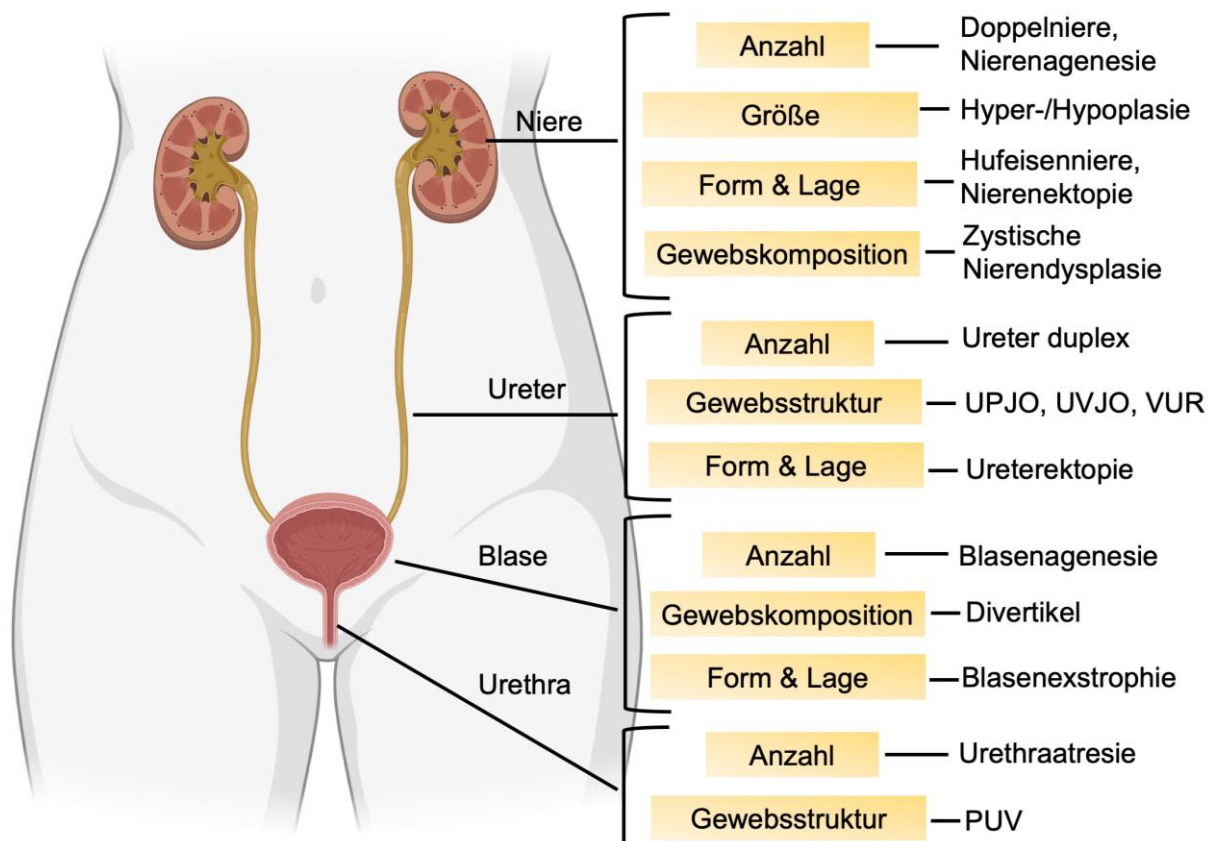


Abb. 1: Schematische Darstellung des CAKUT-Spektrums. Die topologische Unterteilung der Organe und Strukturen, die von CAKUT betroffen sein können, ist dargestellt (Niere, Ureter, Blase, Urethra). Beispiele für Abweichungen in der Anzahl, Größe, Gewebekomposition, Gewebsstruktur und Form & Lage sind rechtsseitig aufgelistet (adaptiert nach Khan et al., 2022b; erstellt mit biorender.com).

Bei vielen Patienten bleibt die zugrunde liegende Ursache für CAKUT ungeklärt. Vermutlich sind multifaktorielle Einflüsse an der Entstehung beteiligt, die meist unerkant bleiben (Kolvenbach et al., 2023a). Studien belegen dennoch, dass ein Großteil von CAKUT durch monogene Veränderungen bedingt ist, die den Mendelschen Vererbungsregeln folgen (van der Ven et al., 2018b; Seltzsaam et al., 2022). Diese Hypothese wird gestützt durch (1) monogene Syndrome mit CAKUT als eines ihrer Multiorgan-Merkmale, (2) familiäres Auftreten in 15-20 % der Fälle, (3) Stammbäume mit einem klaren dominanten oder rezessiven Vererbungsmuster, (4) >200 monogene Mausmodelle mit CAKUT, (5) die Tatsache, dass verschiedene Genprodukte eine essenzielle Rolle bei der Nephrogenese einnehmen, und (6) die angeborene Natur von CAKUT (Davies, 1996; Kohl et al., 2014; Vivante et al., 2017; van der Ven et al., 2018a; Kolvenbach et al., 2023a).

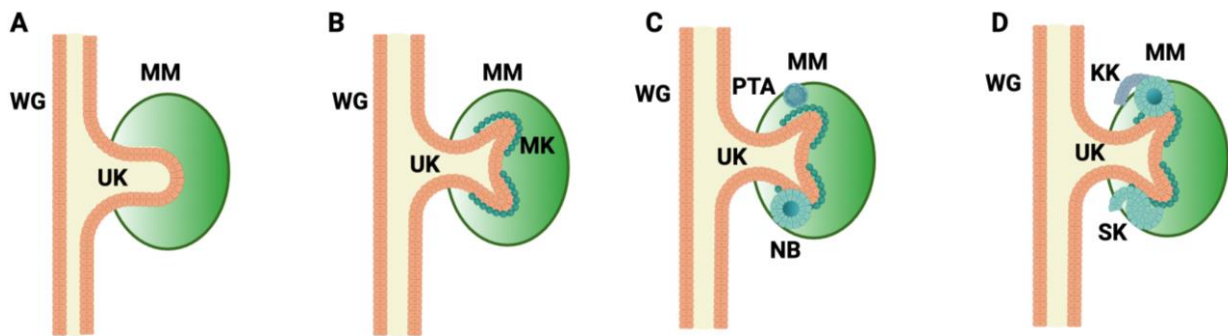


Abb. 2: Nierenentwicklung bei Säugetieren. A) Die Ureterknospe (UK) beginnt aus dem Wolffschen Gang (WG) in Richtung des metanephrischen Mesenchyms (MM) zu wachsen, welches einen wechselseitigen glial cell–derived neurotrophic factor (GDNF)-Ret Proto-Oncogene (RET)-Signalaustausch erfordert. B) Daraufhin beginnt die UK sich zu verzweigen und das MM verdichtet sich um die Spitzen der UK zur Mesenchymkappe (MK). C) Die peritubulären Aggregate (PTA) trennen sich von der MK und bilden durch eine mesenchymale-epitheliale Transition die Nierenbläschen (NB). D) Die NB proliferieren zu kommaförmigen und S-förmigen Körperchen (KK und SK), aus denen später die reifen Nephronstrukturen (Glomerulus, proximale und distale Tubuli) entstehen (adaptiert nach Kamath et al., 2013; Kolvenbach et al., 2023a; erstellt mit biorender.com).

Bislang konnten 56 Gene identifiziert werden, die, wenn mutiert, einen CAKUT-Phänotyp hervorrufen können (Kolvenbach et al., 2023a; Riedhammer et al., 2024; Stegmann et al., 2024). Pathogene Varianten in diesen Genen erklären etwa 6-20 % der CAKUT-Fälle, je nach Zusammensetzung der Kohorte und der verwendeten Sequenzierungsmethode (Weber et al., 2006; Hwang et al., 2014; Bekheirnia et al., 2017; van der Ven et al., 2018b; Seltzsa et al., 2022). Eine der häufigsten identifizierten Ursachen für CAKUT stellen dabei heterozygote Varianten im Hepatocyte Nuclear Factor 1-Beta (*HNF1B*)-Gen dar, die das Nierenzysten und Diabetes (engl. renal cysts and diabetes (RCAD))-Syndrom auslösen (Weber et al., 2006; Kolvenbach et al., 2023a). Daneben können auch Kopienzahlveränderungen (engl. Copy Number Variation (CNV)) von Genen oder proteinkodierenden Genabschnitten (Exons) CAKUT verursachen (Sanna-Cherchi et al., 2012; Westland et al., 2015; Verbitsky et al., 2019). CNVs erklären etwa 4-11 % der auftretenden CAKUT-Phänotypen (Sanna-Cherchi et al., 2012; Caruana et al., 2015; Westland et al., 2015; Verbitsky et al., 2019; Cai et al., 2020). Am häufigsten wird dabei eine Deletion am 17q12 Locus identifiziert, die zum Verlust von *HNF1B* führt (Sanna-Cherchi et al., 2012). Darüber hinaus können Gen-Umwelt-Wechselwirkungen und epigenetische Faktoren zur Entstehung von CAKUT beitragen (Jin et al., 2014; Marrone und Ho, 2014; Vivante et al., 2017; Kolvenbach et al., 2023a).

Die Mehrheit der 56 bekannten humanen CAKUT-Gene folgt einem dominanten Vererbungsmuster (Kolvenbach et al., 2023a). Bei den Genprodukten handelt es sich häufig um Transkriptionsfaktoren, denen während der Nephrogenese eine essenzielle regulatorische Rolle zukommt (Abb. 3; Kolvenbach et al., 2023a). Von besonderer Relevanz ist, dass ein und dieselbe pathogene Variante in einem CAKUT-Gen verschiedene Phänotypen hervorrufen kann, sogar innerhalb derselben Familie (Kolvenbach et al., 2023a). Dies wird als variable Expressivität bezeichnet (van der Ven et al., 2018a; Kolvenbach et al., 2023a). Ebenso können Anlageträger jedoch auch komplett gesund sein und keine Nierenauffälligkeiten zeigen, was als unvollständige Penetranz bezeichnet wird (van der Ven et al., 2018a; Kolvenbach et al., 2023a). Diese inter- und intraindividuelle Variabilität und folglich lose Genotyp-Phänotyp-Korrelation erschweren die Entdeckung neuer Gene für CAKUT (Kolvenbach et al., 2023a). Die molekulare Pathogenese einer beträchtlichen Anzahl von CAKUT-Fällen ist somit bislang ungeklärt. Daher ist die Entdeckung neuer krankheitsverursachender Gene von großem Wert, um Einblicke in die zugrunde liegende Pathogenese zu gewinnen.

1.1.1.1 *De novo* Varianten und CAKUT

Bei *de novo* Varianten handelt es sich um Varianten, die neu entstanden sind und nicht von den Eltern vererbt wurden (Lee und Hong, 2019). Jüngste Erkenntnisse belegen die Bedeutung von *de novo* Varianten für verschiedene Erkrankungen. So wurden bei einer in 2.645 Trio-Familien (jeweils beide Elternteile und das betroffene Kind werden bei der Untersuchung eingeschlossen) mit angeborenen Herzfehlern durchgeführten Exom-Sequenzierungs (ES)-Studie in 8 % der Fälle *de novo* Varianten identifiziert (Jin et al., 2017). *De novos* wurden ebenfalls im Zusammenhang mit CAKUT beschrieben. So treten *de novo* Varianten in *HNF1B* bei circa 40 % der Betroffenen auf. (Heidet et al., 2010). *De novo* Varianten könnten auch eine Erklärung für CAKUT-Fälle ohne genetische Diagnose bieten, zumal die Krankheit häufig sporadisch (ohne Familienanamnese) auftritt. In der Tat konnten Forkhead Box P1 (*FOXP1*) und Zinc Finger MYM-Type Containing 2 (*ZMYM2*) durch ES als neue CAKUT verursachende Krankheitsgene mit größtenteils *de novo* Varianten identifiziert werden (Bekheirnia et al., 2017; Connaughton et al, 2020). Ein Ziel dieser Arbeit war es daher, potenziell neue CAKUT-Krankheitsgene mit *de novo*

Varianten mittels ES-Trioanalyse zu identifizieren. Hierfür wurden ES-Daten der größten CAKUT-Kohorte weltweit untersucht, die aus 731 CAKUT-Familien bestand. 229 dieser Familien waren Trio- oder Multiplex (Mehrgeneration)-Familien, die die Suche nach *de novo* Varianten durch eine Eltern-Kind-basierte ES-Auswertung ermöglichten. Dabei wurde Sex Determining Region Y-Box Transkriptionsfaktor 13 (*SOX13*) als potenziell neues Kandidatengen für CAKUT identifiziert und in anschließenden *in vitro* Studien untersucht.

1.1.1.2 Rolle von *ETV4* bei CAKUT

Wie bereits erläutert, lässt sich die Entstehung von CAKUT auf eine gestörte Nephrogenese zurückführen (Abb. 2; Lu et al., 2016; van der Ven et al., 2018a). Der wechselseitigen Kommunikation zwischen der UK und dem MM kommt dabei eine Schlüsselrolle zu (Abb. 2; Lu et al., 2016; Short und Smyth, 2016; Kolvenbach et al., 2023a). Den prominentesten Signalweg für diesen Austausch stellt die GDNF-RET-Signalkaskade dar. GDNF wird als Botenstoff vom MM freigesetzt und aktiviert RET, was das Wachstum und wiederum die dichotome Verzweigung der UK fördert (Abb. 2-3; Lu et al., 2016; Short und Smyth, 2016). Viele der Proteine, denen eine regulierende Rolle der GDNF-RET-Signalkaskade zukommt, sind, wenn sie in ihrer Funktion beeinträchtigt werden, bekannte monogene Ursachen für CAKUT beim Menschen und bei Mäusen (van der Ven et al., 2018a; Kolvenbach et al., 2023a). Der E26 transformation-specific (ETS) Variant Transcription Factor 4 (*ETV4*, auch bekannt als *PEA3* oder *E1AF*) ist ein nachgeschaltetes Ziel von RET und damit an der Regulierung der UK-Entwicklung beteiligt (Abb. 3; Lu et al., 2009; Cooper et al., 2014). *Etv4* knockout in Mäusen und *etv4* knockdown in Zebrafischen verursachen einen CAKUT-Phänotyp (Lu et al., 2009; Marra und Wingert, 2016). Bisher konnte jedoch nur eine CAKUT-Familie mit rechtsseitigen VUR Grad II und einer homozygoten Missense-Variante in *ETV4* (c.1244G>A; p.Arg415His) identifiziert werden (Chen et al., 2016). Für die identifizierte Variante konnte in Zellkulturstudien eine Verminderung der Transkriptionsaktivierung sowie eine beeinträchtigte Zellmigration aufgezeigt werden, was deren Pathogenität beweist (Chen et al., 2016). Um weitere Allele in *ETV4* zu identifizieren und die Häufigkeit von CAKUT-Familien mit *ETV4*-Varianten zu untersuchen, analysierten wir die ES-Daten unserer 731 Familien mit CAKUT. Hierbei konnte eine zusätzliche CAKUT-Familie mit einer

Khan et al., 2022a). Der Bruchinhalt kann variable Anteile an Organen, wie z. B. Darmschlingen, Magen, Milz oder Leber beinhalten (Abb. 4; Duhamel, 1963; Khan et al., 2019; Bence und Wagner, 2021; Khan et al., 2022a). Der Bruchsack ist in seiner Größe variabel und setzt sich von außen nach innen aus Amnion, Wharton-Sulze und Peritoneum zusammen (Abb. 4; Bence und Wagner, 2021). Aufgrund seiner pränatalen Entstehung kann der Bauchwanddefekt meist bereits *in utero* mittels Ultraschalls diagnostiziert werden (Bence und Wagner, 2021).

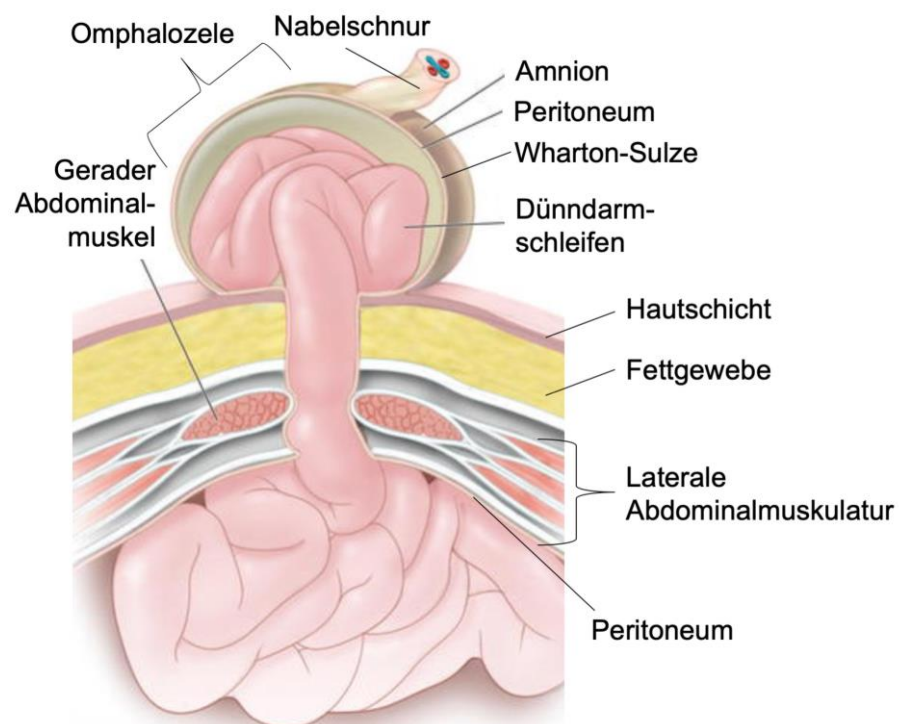


Abb. 4: Schematische Darstellung einer Omphalozele. Gezeigt sind die Bruchpforte (durch die Schichten der Bauchwand), der Bruchsack (Peritoneum, Wharton-Sulze, Amnion) und der Bruchinhalt (viszerale Organe, hier Dünndarmschleifen; adaptiert nach Khosla und Ponsky, 2016).

Eine Komplikation der Omphalozele stellt das Einreißen des Bruchsacks während der Geburt dar (Gonzalez und Chandler, 2019). Dies kann zu Organverletzungen und Infektionen führen (Gonzalez und Chandler, 2019). Daher ist das perinatale Management der Austrocknungs- und Infektionsgefahr, sowie der Nahrungs- und Flüssigkeitszufuhr essenziell, um Komplikationen vorzubeugen (McNair et al., 2006; Mann et al., 2008). Je nach Größe der Omphalozele kann die Bauchdecke zeitnah verschlossen werden (McNair et al., 2006; Mann et al., 2008). Die Prognose der isolierten Omphalozele hängt von dem Geburtsgewicht und der Größe des Bauchwanddefekts ab (Stringel und Filler,

1979; Tassin et al., 2013). Je größer die Omphalozele, desto höher ist das Risiko einer Lungenhypoplasie (Tsakayannis et al., 1996). Im Falle einer syndromalen Omphalozele bestimmt der Schweregrad der Begleit anomalies die Prognose (Stringel und Filler, 1979). Die Gesamtüberlebensrate bei Betroffenen mit Omphalozele liegt bei knapp 80 % (Tassin et al., 2013; Fogelstrom et al., 2021). Bei isolierter Omphalozele liegt diese bei über 90 % (Tassin et al., 2013; Fogelstrom et al., 2021).

Es ist bisher wenig über die zugrunde liegende embryologische Pathogenese bekannt. Eine Hypothese besagt, dass aufgrund fehlerhafter Zellmigration und Zellproliferation an der ventralen Körperwand der Bauchwandverschluss ausbleibt (Munger und Munger, 1991; Khan et al., 2019). Weitere Studien weisen der Kommunikation zwischen Ektoderm und Mesoderm der ventralen Körperwand eine zentrale Rolle zu (Munger und Munger, 1991; Brewer und Williams, 2004). Dennoch bleibt der genaue Mechanismus, der zur Entwicklung der Omphalozele führt, bisher ungeklärt.

Einige Faktoren, die das Risiko der Entstehung des Bauchwanddefekts erhöhen, sind bereits erforscht. Rauchen, Übergewicht und ein mütterliches Alter von weniger als 20 oder mehr als 40 Jahren erhöhen das Entstehungsrisiko einer Omphalozele (Frolov et al., 2010; Khan et al., 2019). Darüber hinaus wird die Omphalozele häufig bei Syndromen wie den Trisomien 13, 18 und 21 oder dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom beobachtet (Frolov et al., 2010). Varianten in dem Gen cyclin dependent kinase inhibitor 1C (*CDKN1C*) werden als ursächlich für das Auftreten der Omphalozele beim Beckwith-Wiedemann-Syndrom angesehen (Algar et al., 1999). Bei *CDKN1C* handelt es sich um ein Gen mit genomischer Prägung (Imprinting) und mütterlicher Expression, das als Regulator für den Zellzyklus und die Zellproliferation fungiert (Matsuoka et al., 1995). Knockout von *Cdkn1c* im Mausmodell führt zur Omphalozele, Nierendysplasie und Vergrößerung der Nebennierenrinde, allesamt Merkmale des Beckwith-Wiedemann-Syndroms (Sun et al., 1997). Darüber hinaus konnte der Einfluss von weiteren Genen, wie z. B. Aristaless-like Homeobox 4 (*A/x4*) oder fibroblast growth factor receptors 1 und 2 (*Fgfr1* und *Fgfr2*), auf die Entstehung der Omphalozele im Mausmodell gezeigt werden (Nichol et al., 2011; Chen et al., 2013). Dies bekräftigt die Bedeutung einer zugrunde liegenden genetischen Pathogenese für Omphalozelen.

In etwa 35-40 % der Fälle tritt die Omphalozele als isolierte Fehlbildung auf (Fogelstrom et al., 2021). Bisher ist kaum etwas bekannt über die genetischen Ursachen der isolierten Omphalozele. Die Mehrzahl der Fälle tritt sporadisch auf, aber es gibt auch seltene familiäre Häufungen, die eine zugrunde liegende genetische Ursache vermuten lassen (Osuna und Lindham, 1976; Havalad et al., 1979). Durch ES-Analysen lassen sich Varianten in neuen Kandidatengen für eine Erkrankung finden. Daher war ein weiteres Ziel dieser Arbeit, ein erstes Kandidatengen für isolierte Omphalozele zu finden, um Einblicke in die zugrunde liegende Pathogenese zu gewinnen. Es konnte durch die Analyse von ES-Daten einer Multiplex-Familie mit mehreren von Omphalozele betroffenen Familienmitgliedern eine nicht-essenzielle (erweiterte) Spleißvariante in Abelson (ABL) Proto-Oncogene 1, Non-Receptor Tyrosine Kinase (*ABL1*) identifiziert werden. *ABL1* kodiert für eine Phosphotyrosinkinase, die ubiquitär exprimiert wird und eine wichtige Rolle bei der Zelladhäsion, -teilung und -differenzierung einnimmt (Colicelli, 2010). Insbesondere ist *ABL1* im Zusammenhang mit dem Auftreten der chronischen myeloischen Leukämie (CML) bekannt, die in 95 % der Fälle durch Translokation der Chromosomen 9 und 22 verursacht wird (Philadelphia-Chromosom; de Klein et al., 1982; Colicelli, 2010; Kang et al., 2016). Hierbei entsteht das Breakpoint Cluster Region (*BCR*)-*ABL1*-Fusionsgen, was eine konstitutive Aktivierung der entstandenen *BCR-ABL* Tyrosinkinase hervorruft (de Klein et al., 1982; Kang et al., 2016). Daraus resultiert eine Daueraktivität. Diese übt einen aktivierenden Einfluss auf zytokingesteuerte Signalwege aus, die die Apoptose (programmierter Zelltod) in hämatopoetischen (blutbildenden) Stammzellen hemmen, was mit einer gesteigerten Zellproliferation einhergeht (Kang et al., 2016).

Hauptsächlich heterozygote *gain-of-function* (funktionsgewinnende) Missense-Varianten in *ABL1* sind als ursächlich für das angeborene Herzfehler und Skelettfehlbildungen-Syndrom (Congenital Heart Defects and Skeletal Malformations syndrome (CHDSKM)) vorbeschrieben (Wang et al., 2017; Chen et al., 2020). Zu den häufigsten klinischen Merkmalen von CHDSKM gehören Skelett- und Gelenkanomalien, angeborene Herzfehler, Magen-Darm-Probleme, Gedeihstörungen und Gesichtsdysmorphien (Wang et al., 2017; Chen et al., 2020; Blakes et al., 2021). Omphalozele wurde bisher nicht als

klinisches Merkmal des CHDSKM-Syndroms beschrieben, aber interessanterweise wurden Nabelbrüche und Hypotonie der Bauchmuskulatur beobachtet (Chen et al., 2020).

1.2 Fragestellung und Zielsetzung

Bei einer Vielzahl von angeborenen Fehlbildungen bleibt der Ursprung der Erkrankung ungeklärt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, genetische Ursachen angeborener Fehlbildungen zu untersuchen. Der Schwerpunkt lag hierbei auf der Identifizierung neuer Kandidatengene für CAKUT und Omphalozele. Konkret konnten *SOX13* und *ETV4* für CAKUT und *ABL1* für Omphalozele als Kandidatengene charakterisiert werden.

Die Identifizierung neuer Kandidatengene ermöglicht ein verbessertes Verständnis der zugrundeliegenden Pathogenese der Erkrankung und bietet darüber hinaus einen tieferen Einblick in die regelrechte Embryonalentwicklung. Dies ermöglicht eine optimierte Behandlung, eine genetische Beratung für Betroffene und Familienangehörige, und schließlich die Entwicklung neuer Therapieoptionen in der Zukunft.

Grundlage für die hier präsentierten Daten stellen die folgenden gemeinschaftlichen Arbeiten dar, die in den Laboren von Prof. Dr. Odermatt (Universität Bonn), Prof. Dr. Hildebrandt (Boston Children's Hospital, Harvard Medical School) und Prof. Dr. Heiko Reutter (Universität Erlangen-Nürnberg und Universität Bonn) angefertigt wurden (Stand 05/2024):

Teil 1

Merz LM*, **Kolvenbach CM***, Wang C, Mertens ND, Seltzsaam S, Mansour B, Zheng B, Schneider S, Schierbaum L, Hölzel S, Salmanullah D, Pantel D, Connaughton DM, Mann N, Wu CHW, Schneider R, Buerger F, Frank CN, Yousef K, Lemberg K, Saida K, Yu S, Elmubarak I, Bauer SB, Rodig NM, Somers MJG, Traum AZ, Stein DR, Daga A, Baum MA, Daouk GH, Awad HS, Eid LA, El Desoky S, Shalaby M, Kari JA, Ooda S, Fathy HM, Soliman NA, Nabhan M, Abdelrahman S, Hilger AC, Mane SM, Ferguson MA, Tasic V, Shril S, Hildebrandt F. Trio exome sequencing in individuals with CAKUT identifies *de novo* variants in novel candidate genes in 17.90 %. ***Manuskript in der Vorbereitung.***

Teil 2

Kolvenbach CM, Zheng B, Merz LM, Mertens ND, Mansour B, Wang C, Seltzsaam S, Schneider S, Schierbaum L, Pantel D, Chen J, van der Ven AT, Bello JO, Shril S, Hildebrandt F. A homozygous truncating ETV4 variant in a Nigerian family with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Am J Med Genet A*. 2023. 5:1355-1359. **Publiziert.**

Teil 3

Kolvenbach CM, Yilmaz Ö, Lopez FM, Sharma V, Kalanithy JC, Lemberg K, Majmundar A, Schneider R, Buerger F, Woolf AS, Odermatt B, Hildebrandt F, Reutter H. A splice site variant in *ABL1* causes familial omphalocele. **Manuskript in der Vorbereitung.**

2. Material und Methoden

2.1 Material und Methoden für Studien aus Teil 1 und 2 (Boston)

2.1.1 Rekrutierung der teilnehmenden Probanden mit CAKUT

Die Durchführung der ES-Studien aus Teil 1 und 2 wurde von den institutionellen Prüfungs- und Ethikkommissionen der Universität Michigan und des Boston Children's Hospitals sowie der rekrutierenden Institutionen an anderen Standorten genehmigt. Insgesamt wurden 731 Familien, bestehend aus 1.362 Individuen, davon 822 Betroffene, unter Einwilligung nach Aufklärung rekrutiert. Bei minderjährigen Teilnehmern wurde die Einwilligung stellvertretend durch die Eltern unterzeichnet. Die Diagnose CAKUT wurden vom überweisenden pädiatrischen Nephrologen oder Urologen auf der Grundlage von bildgebenden Untersuchungen der Nieren und Harnwege gestellt. Eine genaue Beschreibung der Zusammensetzung der Kohorte findet sich in der Publikation von Seltz et al. (Seltz et al., 2022). Die CAKUT-Phänotypen sind ebenfalls in den Tabellen 1-6 zu finden (Punkt 12, Appendix; Seltz et al., 2022).

2.1.2 Desoxyribonukleinsäure-Isolierung

Die Extraktion genomischer Desoxyribonukleinsäure (engl. Desoxyribonucleic acid (DNA)) aus Blutproben erfolgte anhand der Vorgaben des Herstellers unter Verwendung des QIAamp DNA Blood Kit (158026, Qiagen). Nach erfolgter Erythrozyten-Zelllyse durch Hinzufügen des bereitgestellten Lysepuffers in einem Verhältnis von 1:3 und abkantieren des Lyse-Überstands, wurden die verbleibenden weißen Blutzellen in Lysepuffer inkubiert. Als nächstes wurden durch Hinzugeben des Proteinpräzipitationspuffer im Verhältnis von 1:3 Proteine aus den Proben entfernt. Die DNA-Fällung erfolgte durch Zugabe von 100 % Isopropanol (34863, Sigma-Aldrich) und Waschungen in 70 % Ethanol (459828, Sigma-Aldrich). Das gewonnene DNA-Pellet wurde bei Raumtemperatur für 10-15 Minuten getrocknet und anschließend in 75-100 µL Hydrationspuffer resuspendiert. Die DNA-Ausbeute lag bei 50-150 µg totaler DNA.

2.1.3. ES-Plattform

Die ES-Auswertung wurde wie bereits beschrieben durchgeführt (van der Ven et al., 2018b). Kodierende Bereiche der extrahierten genomischen DNA der Teilnehmer wurde

mittels Agilent SureSelect™ Human Exome Capture Arrays (Life Technologies) erfasst und anschließend auf der Illumina HighSeq™ Sequenzierplattform am Yale Center for Genome Analysis sequenziert. Im Anschluss wurden die Sequenz-Ablesungen (Reads) mit der Software CLC Genomics Workbench™ (Version 6.5.2, CLC Bio, Aarhus, Dänemark) korrespondierenden Regionen des menschlichen Referenzgenoms (GRCh37/hg19) zugeordnet. Dies wurde durch Shirlee Shril, Principal Data Scientist des Hildebrandt Labors, durchgeführt. In Betracht zogen wir insbesondere qualitativ hochwertige Varianten (minimale Abdeckung >6; minimale Qualität >10). Hiernach erfolgte die Filterung auf Varianten, die wahrscheinlich einen schädlichen Einfluss auf das Genprodukt haben. Dabei wurden nur Varianten mit einer Allelfrequenz von <1 % des selteneren Allels in den Populationsdatenbanken (engl. minor allele frequency (MAF), The Single Nucleotide Polymorphism database (dbSNP) Version 147, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>; Genome Aggregation Database (gnomAD), <https://gnomad.broadinstitute.org/>; 1000 Genomes, <https://www.internationalgenome.org/>; The Human Genome Mutation Database (HGMD®), <https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) in Betracht gezogen (Abb. 5). Varianten, die häufiger in der Population vorkommen, sind vermutlich nicht krankheitsverursachend und wurden daher ausgeschlossen. Stumme (synonyme) Varianten, die keine Änderung der Aminosäuresequenz hervorrufen und Varianten, die außerhalb der Spleißregionen liegen, wurden ebenfalls ausgeschlossen. Die verbleibenden nicht-synonymen und Spleißvarianten wurden dann basierend auf der nachfolgenden Evaluierungsstrategie kategorisiert (Abb. 5; Punkt 2.1.4). Zusätzlich führten wir zur Überprüfung potenzieller Deletionen in kodierenden Regionen eine Exom-Abdeckungsanalyse (exome coverage analysis) in der Software CLC Genomics Workbench™ durch, bei der die Anzahl der Reads zwischen ES-Daten verglichen wurde.

2.1.4 Evaluierung der ES-Varianten

Die verbleibenden Varianten wurden in zwei Kategorien eingeteilt. Trunkierende Varianten, das heißt Stopp (Nonsense)- und Spleißvarianten sowie Basenpaar-Insertionen oder -Deletionen, die zu einer Verschiebung des Leserasters (engl. frameshift (fs)) führen, bilden eine Kategorie (Abb. 5). Die zweite Kategorie besteht aus Varianten, die zu einer Veränderung der Aminosäuresequenz führen (Abb. 5). Dazu zählen Missense-Varianten oder Deletionen und Insertionen eines oder mehrerer Basentriplets,

die keine Verschiebung des Leserasters verursachen (engl. inframe; Abb. 5). Bei trunkierenden Varianten ist von einem schwerwiegenden Effekt auf die Proteinfunktion auszugehen. Spleißvarianten wurden basierend auf dem vorhergesagten *in silico* Effekt (MaxEnt, http://hollywood.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_scoreseq_acc.html; NNSPLICE, https://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html; SSF, <http://www.umd.be/searchsplicesite.html>) für den Spleißvorgang bewertet. Wenn eine Spleißvariante sich nur +/- ein bis zwei Basenpaare vom Spleiß-Donor oder -Akzeptor entfernt befindet, ist immer von einer Veränderung des Spleißvorgangs auszugehen (essenzielle Spleißseite). Im Bereich von +/- drei bis sechs Basenpaaren spricht man von einer erweiterten Spleißsequenz, die nicht zwingend zu einer Veränderung des Spleißvorgangs führt. Missense-Varianten wurden anhand von computerbasierten *in silico* Vorhersageprogrammen (PolyPhen-2, <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2>; SIFT, <http://sift.jcvi.org>; MutationTaster, <http://www.mutationtaster.org>) bewertet, die eine Einschätzung über die Schwere der Variante treffen. Daneben wurde die Konservierung der betroffenen Aminosäure über die Phylogenie der folgenden Spezies in Betracht gezogen: *Mus musculus*, *Gallus gallus*, *Xenopus tropicalis*, *Danio rerio*, *Ciona intestinalis*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* und *Saccharomyces cerevisiae*. Je konservierter die Aminosäure, desto schwerwiegender ist der Effekt einer Mutation einzuschätzen (Abb. 5). Zur Erstellung der sogenannten Clustals der Genorthologen wurden die Tools von Ensembl Genome Browser (<http://www.ensembl.org>) und Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustal>) verwendet. Nach Einbezug der individuellen Stammbaumstruktur und Familienanamnese der Betroffenen erfolgte zum Schluss eine Literaturrecherche über die Funktion des Proteins und der entdeckten Variante (Abb. 5). Ebenfalls wurden die Datenbanken Online Mendelian Inheritance in Man ((OMIM) <https://www.omim.org/>) für Gene, die bereits mit einem Phänotyp assoziiert sind, und ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) für bereits beschriebene Varianten, konsultiert. Eine abschließende Begutachtung der ES-Evaluation wurde in einem nephrogenetischen Panel mit mindestens 5 Mitgliedern getroffen (Abb. 5).

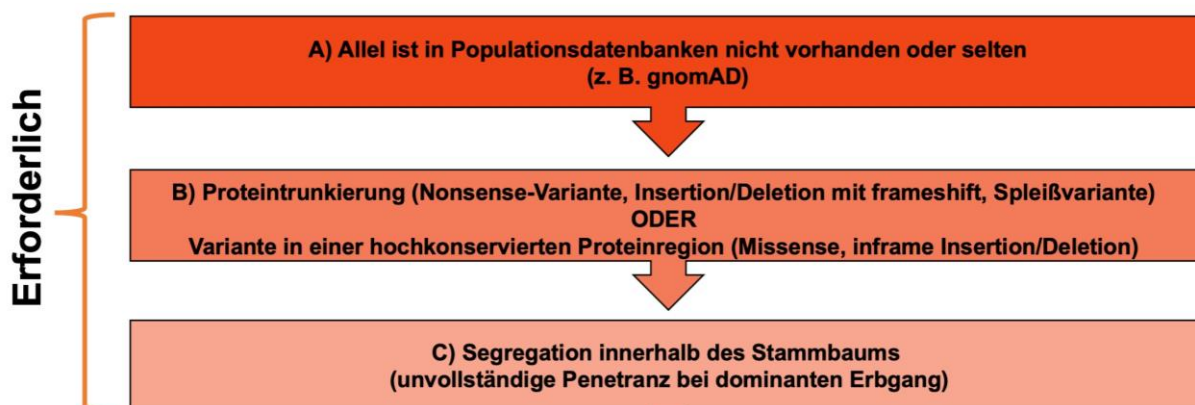


Abb. 5: Entscheidungsfindung für eine durch ES identifizierte Variante. A) Die entdeckte Variante muss in gnomAD entweder fehlen oder selten sein (MAF <1 % oder <10 homozygote oder hemizygoten Allele bei rezessiven Genen, <30 heterozygote Allele bei dominanten Genen oder ≤ 1 Allelträger für *de novo* Gene). B) Die Variante sollte eine signifikante Auswirkung auf die Proteinstruktur haben und entweder zu einer Trunkierung führen oder in einer hochkonservierten Aminosäurenregion liegen. C) Die Variante sollte bei allen Erkrankten einer Familie vorhanden sein und bei Gesunden fehlen. Unvollständige Penetranz und eine milde Klinik müssen hierbei berücksichtigt werden (adaptiert nach Kolvenbach et al., 2023a).

2.1.5 Identifizierung neuer Kandidatengene für CAKUT

Unsere CAKUT-Kohorte bestand aus 731 Familien. Diese Kohorte wurde auf krankheitsverursachende Varianten in den bis dato bekannten 39 CAKUT-Genen und auf potenziell pathogene Varianten in neuen Kandidatengenen untersucht (Abb. 6). Die Evaluierung in Bezug auf Varianten in den bekannten CAKUT-Genen erbrachte eine molekulare Diagnose für 83 der 731 Familien (11,4 %; Abb. 6; Seltzsa et al., 2022). Auf die detaillierte Evaluierung von Varianten in bekannten CAKUT-Genen wird hier nicht eingegangen, da diese nicht Bestandteil dieser Arbeit war und bereits von Seltzsa et al. veröffentlicht wurde (Seltzsa et al., 2022). Hier soll auf die Evaluierungsstrategie für Varianten in potenziell neuen Kandidatengenen eingegangen werden (Abb. 6).

403 Singletons (nur die DNA des Probanden ist vorhanden) wurden auf homozygote (oder hemizygoten, falls zutreffend) Varianten untersucht (Abb. 6). Es wurden Varianten mit bis zu 10 homo- oder hemizygoten Allelträgern in der Populationsdatenbank gnomAD einbezogen (Abb. 5). Laut gnomAD handelt es sich bei aufgeführten Anlageträgern um gesunde Personen. Allerdings kann CAKUT aufgrund variabler Expressivität und unvollständiger Penetranz subklinisch verlaufen, sodass die Diagnose oft nicht gestellt

wird und vermeintlich gesunde Allelträger in der Datenbank aufgeführt werden. 18 Geschwisterpaare, bei denen beide Geschwister betroffen waren, wurden ebenfalls auf gemeinsame homozygote oder hemizygoten Varianten untersucht (Abb. 6). Duos konnten zusätzlich auf compound-heterozygote Varianten untersucht werden, für die neben dem Probanden ein Elternteil und gelegentlich ein Geschwisterkind rekrutiert wurden (41 von insgesamt 52 Duos; Abb. 6). Für compound-heterozygote Varianten galt die gleiche Abgrenzung an vermutlich gesunden homozygoten Allelträgern in gnomAD wie für die homozygote Evaluation (<10). Im Falle eines ebenfalls von CAKUT betroffenen rekrutierten Elternteils wurde von einem autosomal dominanten Vererbungsmuster ausgegangen und die ES-Daten auf gemeinsame heterozygote Varianten untersucht (11 der 52 Duos; Abb. 6). Hier galten <30 heterozygote scheinbar gesunde Allelträger in gnomAD als Grenze (Abb. 5). Insgesamt wurden 256 Trios in diese Studie eingeschlossen (Abb. 6). Hierbei konnten neben dem Probanden beide Elternteile sowie in einigen Fällen zusätzliche Geschwister rekrutiert werden. 228 Trios konnten wir neben homozygoten und compound-heterozygoten Varianten ebenfalls auf *de novo* Varianten untersuchen (Abb. 6). Hierbei gingen wir von einer geringen Allelzahl (≤ 1 Allelträger) in gnomAD aus, basierend auf der Annahme, dass *de novo* Varianten in der Population äußerst selten sind (Abb. 5). Darüber hinaus gilt gegenwärtig die Hypothese, dass *de novo* Varianten schwerwiegendere Phänotypen verursachen, was zu negativen Selektionseffekten wie z. B. einer höheren Letalität führt (Veltman und Brunner, 2012; Kolvenbach et al., 2023a). Bei den restlichen 28 Trios war außerdem ein Elternteil von CAKUT betroffen, sodass ES-Daten stattdessen auf gemeinsame heterozygote Varianten analysiert wurden (Abb. 6). Zu unserer CAKUT-Kohorte gehörten ebenfalls 2 Multiplex-Familien, die aus mehr als nur einer Generation bestehen (Abb. 6). Diese wurden auf der Basis ihrer zugrunde liegenden Stammbaumstruktur untersucht. In der Gesamtschau konnte eine *de novo* Analyse für 228 der 256 Trios und für 1 von 2 Multiplex-Familien durchgeführt werden (insgesamt 229 Familien; Abb. 6; Tab. 1).

Einige Familien mussten aufgrund von fehlerhafter DNA-Probanden-Zuordnung von der Analyse ausgeschlossen werden (12 von 731; Abb. 6). 8 Familien, die in Tabellen 2 und 3 hervorgehoben wurden, wurden zusätzlich auf Varianten in potenziellen Kandidatengenomen von Kooperationspartnern untersucht (Abb. 6). Ich habe hierbei einen

Großteil der ES-Daten der 731 CAKUT-Familien analysiert und die Ergebnisse in Zusammenschau für diese Studie ausgewertet.

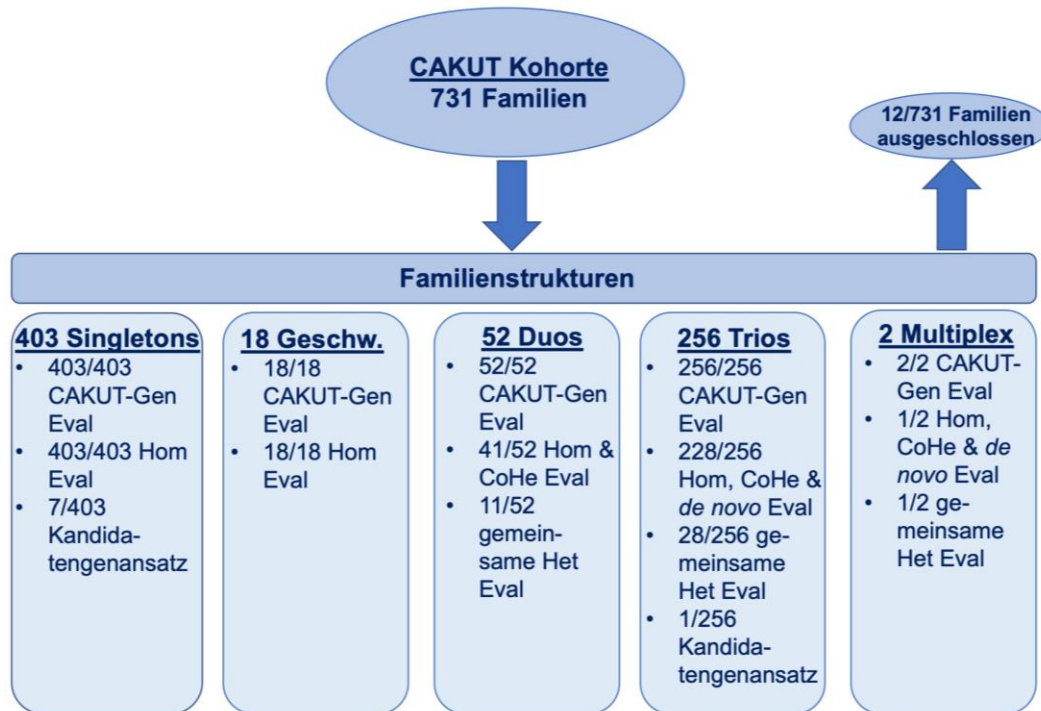


Abb. 6: ES-Evaluationsstrategie der 731 CAKUT-Familien. Das Flussdiagramm veranschaulicht den Auswertungsprozess für die 731 CAKUT-Familien, die auf Varianten in den bekannten CAKUT-Genen (Seltzsam et al., 2022) und in potenziell neuen Kandidatengenen für CAKUT untersucht wurden. Dies geschah anhand des vorliegenden Stammbaums und der Familienanamnese für CAKUT. 12/731 Familien wurden aufgrund fehlerhafter DNA-Zuordnung von der Analyse ausgeschlossen. CoHe, compoundheterozygot; Eval, Evaluation; Geschw., Geschwisterpaare; Het, heterozygot; Hom, homozygot.

2.1.6 Polymerase-Kettenreaktion und Sanger-Sequenzierung

Zur Amplifikation des gewünschten, die Variante umgebenden genomischen Bereichs der identifizierten Variante (+/- 250 Basenpaare), wurden mittels Primer3 (<https://primer3.ut.ee/>) Primer entworfen und von ThermoFisher Scientific (<https://www.thermofisher.com/us/en/home.html>) hergestellt. Im Genome Browser der Universität zu Kalifornien (University of California, Santa Cruz, Genome Browser (UCSC); <https://genome.ucsc.edu/>) wurde mit Hilfe der *in silico* Polymerase-Kettenreaktion (engl. Polymerase Chain Reaction (PCR))-Funktion die Singularität des amplifizierten Produkts und somit Spezifität der Primer überprüft. Der Hot Start Taq Master Mix (203443, Qiagen) wurde nach Empfehlung des Herstellers für die PCR verwendet (6 µL Hot Start Taq Master Mix, 4 µL H₂O (UltraPure™ DNase/RNase-Free Distilled Water, 10977035,

Invitrogen), jeweils 10 µM der beiden Primer, 20 ng der Patienten-DNA). 1 µM Primer und eine 1:50 Verdünnung des PCR-Produkts wurden dann zur Sequenzierung zu Azenta Life Sciences (<https://www.azenta.com/>) versendet. Sanger-Sequenzen wurden im Anschluss in der Software CLC Genomics Workbench™ einer Referenzsequenz zugeordnet und auf Varianten inspiziert. Mindestens eine Variante in einem Gen pro Familie wurde mittels Sanger-Sequenzierung bestätigt, um eine Verwechslung der DNA auszuschließen. Die Familien, bei denen keine Sanger-Bestätigung möglich war, sind in den Tabellen 1-2 und 4 hervorgehoben.

2.1.7 Klonierung von *SOX13* und Mutagenese

Plasmid OHu29016D mit der vollständigen humanen komplementären DNA (engl. complementary DNA, cDNA) von *SOX13* (NM_005686) in einem pcDNA3.1+/C-(K)DYK-Expressionsvektor wurde von Genscript (<https://www.genscript.com/>) erstanden. Die Mutagenese wurde mit dem QuikChange site-directed Mutagenesis Kit (200518, Agilent Technologies) mit speziell entworfenen Mutagenese-Primern (*SOX13*-Primer-F: CCTTGGCTGGGGATTAGTCCAGGCTGATG, *SOX13*-Primer-R: CATCAGCCTGGAC TAATCCCCAGCCAAGG) durchgeführt. Die Transformation des mutierten Plasmids in Bakterien erfolgte nach den Angaben des Herstellers des QuikChange site-directed Mutagenesis Kits. Transformierte Zellen wurden auf Luria-Bertani (L. B.)-Agarplatten (L. B. Agar (Lennox L Agar), 22700025, ThermoFisher Scientific) mit Ampicillin (50 µg/mL, A0166, Sigma-Aldrich) als Selektionsmarker ausgestrichen. Gewachsene Kolonien wurden in L. B.-Brühe (L. B. Broth (Lennox), L3022, Sigma-Aldrich) mit Ampicillin (50 µg/mL) herangezüchtet. Wildtyp (WT) und mutierte cDNA Konstrukte wurden mittels Plasmid-DNA Midiprep (PureLink™ HiPure Plasmid Midiprep Kit, K210004 Invitrogen) vervielfältigt und aufgereinigt. Eine erfolgreiche Mutagenese wurde mittels Sanger-Sequenzierung bestätigt.

2.1.8 Zellkultur und transiente Transfektion

Für Zellkulturexperimente wurden Human Embryonic Kidney 293 SV40 large T antigen (HEK 293T)-Zellen verwendet (CRL-3216™, American Type Culture Collection). HEK 293T-Zellen wuchsen in Inkubatoren bei 37 °C und 5 % CO₂-Gehalt unter sterilen Bedingungen in 75 cm² Zellkulturflaschen (430641U, Corning) heran. Das verwendete

Medium bestand aus Dulbecco's Modified Eagle's Medium (10564029, ThermoFisher Scientific), 10 % fetalem Kalbserum (35-054-CM, Corning) und 1 % Penicillin-Streptomycin (15140122, Gibco). Zellen wurden circa alle 5 Tage bei einer Konfluenz von 70-90 % unter der Verwendung von 0,05 % Trypsin-Ethylendiamintetraacetat (EDTA, 25300054, Invitrogen) nach Angaben des Herstellers im Verhältnis von 1:10 passagiert. Alle zwei Wochen erfolgte eine Testung auf intrazelluläre Mykoplasmen-Kontamination durch PCR. 24 Stunden vor einer transienten Transfektion wurden die Zellen zu 50-60 % konfluent auf Deckgläsern in 6-Kammer-Platten gesät. Die Transfektion wurde gemäß den Anweisungen des Herstellers mittels Lipofectamine3000 (L3000008, Invitrogen), Opti-MEM™ (reduziertes Serum Medium, 31985062, Gibco) und 1 µg/mL cDNA-Plasmid ausgeführt. 24 Stunden nach der Transfektion wurden die Deckgläser für Immunfluoreszenz (IF)-Färbungen weiterverwendet.

2.1.9 IF-Färbungen in HEK 293T-Zellen für SOX13

HEK 293T-Zellen wurden für 15 Minuten in 4 % Paraformaldehyd (PFA) in phosphatgepufferter Salzlösung (engl. Phosphate-buffered saline (PBS); 10010023, ThermoFisher Scientific) bei Raumtemperatur fixiert. Nach der Inkubation in PFA folgte eine Permeabilisierung für 10 Minuten in 0,2 % PBS-Triton™ (X-100, Sigma-Aldrich). Im Anschluss wurden die Zellen in einer Lösung bestehend aus 10 % Esel-Serum (S30-M, Sigma-Aldrich) und 1 % bovines Serumalbumin ((BSA), A7030, Sigma-Aldrich) für eine Stunde bei Raumtemperatur geblockt und hiernach über Nacht mit dem Antikörper anti-SOX13 (1:100, PA5-30930, ThermoFisher Scientific) bei 4 °C in einer Feuchtigkeitskammer inkubiert. Am nächsten Tag erfolgte eine Inkubation bei Raumtemperatur mit einem Sekundärantikörper (anti-Kaninchen), der mit einem Alexa Fluor™ 488 konjugiert ist (1:1.000, A-21206, Invitrogen). Zur Färbung der Zellkerne wurden die Zellen im Anschluss dreimal für 5 Minuten mit 4',6-Diamidino-2-Phenylindol ((DAPI), 1:2.000, 62248, ThermoFisher Scientific) in PBS gewaschen. Zwischen jedem der genannten Schritte erfolgten dreimal 5-minütige Waschschrte mit PBS. Konfokalmikroskopie wurde mittels eines Leica SP5X Mikroskop (upright-System DM6000) durchgeführt. Eine anschließende Bildprozessierung erfolgte in der Leica AF Lite Software.

2.1.10 3D-Modellierung

Die Proteinstruktur für das humane ETV4 (ID AF-P43268) wurde von der AlphaFold Protein Structure Datenbank (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>) bezogen. Die hier gezeigte molekulare Darstellung von ETV4 wurde in der PyMOL Software generiert.

2.2 Material und Methoden für Studien aus Teil 3 (Bonn und Boston)

2.2.1 Rekrutierung der Familie mit Omphalozele

Diese Studie wurde gemäß den ethischen Vorgaben der Deklaration von Helsinki durchgeführt und von den Ethikkommissionen der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn (Nummer 146/12) sowie der kooperierenden Zentren am Boston Children's Hospital, der Universität Erlangen-Nürnberg und der Universität Manchester genehmigt. Die Einwilligung erfolgte nach detaillierter Aufklärung der Familie. Im Falle der minderjährigen Teilnehmer wurde die Einwilligung stellvertretend durch die Eltern unterzeichnet.

2.2.2 ES in Multiplex-Familie mit Omphalozele

ES wurde wie bereits beschrieben am Cologne Center for Genomics durchgeführt (Kolvenbach et al., 2019). Wie bereits erklärt wurde hierfür genomische DNA aus Blutproben extrahiert (Punkt 2.1.2) und mittels des Agilent SureSelect™ Human Exome Capture Arrays (Life Technologies) erfasst. Die Sequenzierdaten wurden auf einer Illumina HighSeq™ 2000 Sequenzierplattform generiert. Die gleichen Standards zur Evaluierung qualitativer Reads wie bereits genannt wurden angewandt (Punkt 2.1.3). 98 % der Zielsequenzen wurden von mindestens zehn Reads abgedeckt. Im Anschluss wurden die Sequenzierdaten dem menschlichen Referenzgenom (GRCh38/hg38) zugeordnet. Die Filterung der zugeordneten Reads und die Datenanalyse wurden mit der Exomanalyse-Pipeline Varbank (<https://varbank.ccg.uni-koeln.de/>) durchgeführt. Da wir von einem autosomal dominanten Vererbungsmodus eines seltenen Phänotyps mit vollständiger Penetranz ausgingen, filterten wir nach heterozygoten Varianten mit einer MAF unter 0,01 %. Als In-house Kontrolle dienten die ES-Daten einer Epilepsie-Kohorte mit 511 Betroffenen, um Artefakte im Zusammenhang mit der Pipeline ausschließen zu können. Filterschritte für nicht-synonyme und Spleißvarianten wurden wie zuvor erläutert durchgeführt (Punkte 2.1.3 und 2.1.4). Da es sich bei der hier detektierten Spleißvariante in *ABL1* um eine erweiterte Spleißstelle handelt (c.310+3A>C), wurde eine Vorhersage

über ihren Einfluss auf das Spleißgeschehen mittels der *in silio* Programme MaxEnt, NNSPLICE und SSF (Punkt 2.1.4) getroffen. Die identifizierte Spleißvariante in *ABL1* wurde mittels Sanger-Sequenzierung bei Eurofins Genomics (<https://eurofinsgenomics.com/en/home/>) bestätigt (ABL1-Primer-F: GCATCTGACTTTGAGCCTCA, ABL1-Primer-R: GCGTTCAGTATTTTGTCCAGC).

2.2.3 Semi-quantitative Reverse-Transkriptase-PCR aus Lymphoblastenzellen

Zum Nachweis eines alternativen Spleißgeschehens auf Ribonukleinsäuren (engl. Ribonucleic acid (RNA))-Ebene wurde RNA aus den Lymphoblasten des Probanden III-401 und einer gesunden Kontrolle extrahiert. Dafür wurde das PAXgene Blood RNA Kit IVD (762164, Qiagen) gemäß den Vorgaben des Herstellers verwendet. 1 µg der gewonnenen RNA wurde mittels des iScript™ cDNA Synthesis Kit (1708890, Biorad) zu cDNA umgeschrieben (Reverse-Transkriptase (RT)-Reaktion). Die *ABL1*-Zielregion wurde mittels PCR amplifiziert. Dafür wurden die folgenden Primer verwendet: ABL1_201_e1e2_F: TGGAAGAAGCCCTTCAGC; ABL1_e3_R: TTGGTTTGGGCTTCACACC; ABL1_202_e1e2_F: GAACATGAAGCCCTTCAGC. Als Ladekontrolle wurde ein Abschnitt eines Haushaltsgens (engl. housekeeping gene, Elongation factor 1-alpha 1 (*EEF1A1*)), das in allen Zellen ähnlich stark exprimiert wird, amplifiziert: EEF1A_1F: GGCATCGACAAAAGAACCAT; EEF1A1_1R: CCCAGGCATACTTGAAGGAG; EEF1A1_2F: GCTGCTGAGATGGGAAAGG; EEF1A1_2R: ACAGTCAGCCTGAGATGTCC. Die generierten PCR-Produkte wurden mittels Gelelektrophorese bei 90 V und 400 mA für 70 Minuten aufgetrennt (2,6 %-iges Gel in Tris/Borat/EDTA-Puffer aus Phor Agarose, 850181, Biozym; 0,2 µg/mL Ethidiumbromid, 15585011, ThermoFisher Scientific). PCR-Banden wurden mit einer Rasierklinge aus dem Gel geschnitten und mittels des QIAquick Gel Extraction Kit (28704, Qiagen) aufgereinigt. Die PCR-Produkte wurden im Anschluss Sanger-sequenziert.

2.2.4 *ABL1* Klonierung und Mutagenese

ABL1 cDNA (*ABL1*-201, NM_005157) wurde bei GenScript (OHu28560) erstanden. Die vollständige cDNA und das verkürzte Konstrukt wurden in einen Gateway™ pDONR™221Vektor (12536017, ThermoFisher Scientific) unter Verwendung des Gateway™ BP Clonase™ II Enzyme Mix (11789100, ThermoFisher Scientific) nach den

Angaben des Herstellers einkloniert (Primer-ABL1-201 -BP-C-F1: GGGGACAAGTT TGTACAAAAAAGCAGGCTTTCGAAGGAGATAGAACCATGTTGGAGATCTGCCTG und Primer-ABL1-201-WT-BP-C-R1: GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTCCCTC TGC ACTATGTC ACT oder Primer-ABL1-201-MUT-BP-C-R1 (verkürzt): GGGGAC CACTTTGTAAAGAAAGCTGGGT CAGTGCAACGAAAAGGTTG). Die Mutagenese wurde mit dem QuikChange site-directed mutagenesis kit für die publizierten Varianten p.Tyr226Cys (Primer-226-F: GGACACACCACAGACAGTGGGCTTGTGCG, Primer-226-R: CGCA ACAAGCCC ACTGTCTGTGGTGTGTCC) und p.Ala337Thr (Primer-337-F: AGCAGCACCACGGTGTTCACCTCCTGC, Primer-337-R: GCAGGAGGTGAACACCGT GGTGCTGCT) durchgeführt (Wang et al., 2017). Die WT- und Mutanten-Vektoren wurden in den Expressionsvektor pcDNA6.2-C-Myc unter Verwendung des Gateway™ LR Clonase™ II Enzyme Mix (11791020, ThermoFisher Scientific) eingesetzt. Alle erzeugten Vektoren wurden Sanger-sequenziert.

2.2.5 Western Blot-Analyse

HEK 293T-Zellen wurden mit 2 µg /mL cDNA transient transfiziert (siehe Punkt 2.1.8) und 24 Stunden später in Radioimmunpräzitations-Assay-Puffer ((RIPA) 89900, ThermoFisher Scientific) mit 4 % Protease-Inhibitor und EDTA (Thermo Scientific™ Halt™ Protease Inhibitor Cocktail (100X), 87786, ThermoFisher Scientific) lysiert. 50 µg des mittels Lowry-Assay (DC Protein Assay, 5000111, Biorad) gemessenen Proteins wurden mit Laemmli-Puffer (1610737, Biorad) für 10 Minuten bei 70 °C erhitzt und auf Miniprotein-Gele (NuPAGE™ 4-12 %, Bis-Tris, 1.0–1.5 mm, NP0326BOX, ThermoFisher Scientific) zur Masseauftrennung aufgetragen. Durch ein Trans-Blot® Turbo™ Transfer System wurden die Proteine von dem Gel auf eine Polyvinyliden-Difluorid (PDVF)-Membran übertragen. Die Membranen wurden anschließend über mehrere Stunden in SuperBlock-Puffer (37537, ThermoFisher Scientific) geblockt und über Nacht bei 4 °C mit dem primären Antikörper inkubiert (1:100, anti-ABL1, OP20, Sigma-Aldrich; 1:1.000, anti-Myc, 2272S, Cell Signaling). Am nächsten Tag wurden die Membranen mehrfach mit Tris-gepuffertem Salin und 0,1 % Tween (engl. tris-buffered saline and Tween (TBST), J77500.K2, ThermoFisher Scientific) gewaschen bevor sie für 1 Stunde bei Raumtemperatur mit den Meerrettichperoxidase (engl. horseradish peroxidase (HRP))-Ziege anti-Maus oder anti-Kaninchen Sekundäntikörpern inkubiert wurden (1:10.000,

31430 und 31460, ThermoFisher Scientific). Die Ladekontrolle erfolgte mit anti-beta-Aktin (1:8.000, ab20272, Abcam). Ein positives Signal wurde mittels SuperSignal™ West Pico PLUS Chemiluminescent Substrate (34580, ThermoFisher Scientific) im Biorad ChemiDoc MP Imaging System ermittelt.

2.2.6 IF-Färbungen und Quantifikation für ABL1

Überexpression der *ABL1*-Konstrukte und IF-Färbungen wurden wie für SOX13 in den Punkten 2.1.8 und 2.1.9 beschrieben durchgeführt. Die folgenden Antikörper wurden für IF-Experimente genutzt: anti-ABL1 (1:100, OP20, Sigma-Aldrich), anti-Myc (1:100, 2272S, Cell Signaling), anti-Calreticulin (1:100, 1G6A7, Invitrogen), anti-LC3B (1:100, GT3612, Invitrogen), Esel anti-Kaninchen Sekundärantikörper Alexa Fluor™ 488 und Esel anti-Maus Sekundärantikörper Alexa Fluor™ 594 (jeweils 1:1.000, A-21206 und A-21203, Invitrogen). Die Auswertung der subzellulären Expression der überexprimierten Konstrukte wurde in drei unabhängigen Experimenten ausgewertet. Die Quantifikation der Fluoreszenz erfolgte in der Software ImageJ. Um die korrigierte totale Zellfluoreszenz zu messen (engl. corrected total cell fluorescence (CTCF)), wurde die integrierte Dichte erhoben und das Produkt der Zellfläche und der mittleren Fluoreszenz des Hintergrunds abgezogen (Fitzpatrick, 2014).

2.2.7 Immunhistochemische Färbungen in humanen Embryonen (A. Woolf, Manchester)

Die folgenden Untersuchungen wurden von unserem Kooperationspartner Prof. Dr. Adrian Woolf an der Universität Manchester durchgeführt und sind hier vollständigshalber aufgelistet. Menschliches embryonales Gewebe wurde nach Zustimmung durch die Mutter und Genehmigung der Ethikkommission (18/NE/0290 IRAS 250012) vom Medizinischen Forschungsrat (Medical Research Council) und dem Wellcome Trust Human Developmental Biology Resource verwendet. Die Einbettung des Gewebes in Paraffin und die Aufbereitung der Schnitte wurden bereits ausführlich von der Arbeitsgruppe Woolf beschrieben (Lopes et al., 2019). Nach der Entfernung des Paraffins und Rehydrierung der Schnitte wurde die Aktivität der endogenen Peroxidase durch Einsatz von Wasserstoffperoxid abgeschwächt. Die Schnitte wurden im Anschluss in der Mikrowelle für 10 Minuten erhitzt und in einer Antigen-Retrieval-Lösung (10 mM Natriumcitrat, pH 6.0) für 20 Minuten bei Raumtemperatur abgekühlt. Über Nacht erfolgte

die Inkubation mit dem primären anti-ABL1-Antikörper (1:100, LS-B2776, LifeSpan Biosciences) bei 4 °C. Nach mehreren Waschschritten wurde ein biotinylierter sekundärer Antikörper hinzugefügt. 3,3-Diaminobenzidin (DAB) ist ein Substrat des Peroxidase-Enzyms, welches die Detektion einer positiven Färbung erlaubt. Die für ABL1 gefärbten Schnitte wurden zusätzlich mit Hämatoxylin gegengefärbt, um Zellstrukturen besser voneinander abgrenzen zu können. Bildaufnahmen wurden mittels eines 3D-Histech Panoramic-250 Mikroskop Slide-Scanners mit einem 20x/ 0.08 Plan Achromat Objektiv (Zeiss) und der CaseViewer Software (3D-Histech) gemacht.

2.2.8 Semi-quantitative RT-PCR aus Nabelschnurgewebe

Nabelschnurgewebe wurde von Prof. Dr. Heiko Reutter direkt nach der Geburt von gesunden Probanden an der Universität Erlangen-Nürnberg schockgefrostet. Im Anschluss führte ich eine TRIzol™-basierte RNA-Extraktion durch. Dafür wurden 100 mg des gewonnenen Gewebes in 1 mL TRIzol™ (15596026, ThermoFisher Scientific) mittels eines TissueRuptors® II (Qiagen) zerkleinert. Nach erfolgter Zelllyse mittels Chloroform (158210050, ThermoFisher Scientific) und Zentrifugation zur Phasentrennung wurde die wässrige Phase, die die RNA enthält, vorsichtig abpipettiert. Nach der Fällung mit 100 % Isopropanol und Waschung mit 75 % Ethanol erfolgte die Resuspension des Pellets in sterilem RNase-freiem Wasser. Die RT-Reaktion, anschließende PCR und Sanger-Sequenzierung erfolgten wie unter Punkt 2.2.3 beschrieben.

2.2.9 Sondenherstellung für Wholemount *in situ* Hybridisierung

Antisense- (komplementäre) und Sense- (gleichgerichtete) Sonden wurden jeweils für zwei Regionen für das murine *Abl1* entworfen. Eine Sonde deckte die 5' untranslatierte Region ((UTR); Primer-Abl1-5'UTR-F: CATCATAAGCTTCTCCACACTCCCTGCTTCTC, Primer-Abl1-5'UTR-R: CATCATGGATCCTGCTTAGCCGCTCCTACTTC) ab. Dieser Bereich ist zwischen Paralogen weniger gut konserviert und erhöht folglich die Spezifität der Sonde. Die zweite Sonde deckte einen Bereich der *Abl1*-cDNA ab (Primer-Abl1-e4e5-F (exonübergreifend): CATCATAAGCTTCCGTGAAGACCTTGAAGGAG, Primer-Abl1-e9-R: CATCATGGATCCATGGTTTCAAAGGCTTGGTG). Am 5'-Ende der Primer ist die Erkennungssequenz für die Restriktionsenzyme BamHI und HindIII sowie eine kurze willkürliche Sequenz (CATCAT) angehängt, die das Ansetzen der Enzyme ermöglicht.

Murine cDNA wurde als Ausgangsmaterial für die Generierung der Sondensequenz verwendet. PCRs wurden mit der Phusion® High-Fidelity DNA Polymerase (M0530S, New England Biolabs) durchgeführt. Im Anschluss erfolgte ein Verdau der PCR-Produkte und 5 µg des pBluescript-Vektors durch die Restriktionsenzyme BamHI und HindIII über Nacht bei 37 °C. Die verdauten Produkte wurden mittels Gelelektrophorese (1 % Agarosegel (UltraPure™ Agarose, 16500100, ThermoFisher Scientific), 90 V, 400 mA, 90 Minuten) aufgetrennt, die Banden auf der erwarteten Höhe ausgeschnitten und mit Hilfe des QIAquick Gel Extraction Kits (siehe Punkt 2.2.3) aufgereinigt. Die Ligation der überhängenden Restriktionsenden erfolgte durch eine T4 DNA Ligase (M0202S, New England Biolabs) bei einem 1:3 DNA-Konzentrationsverhältnis des pBluescript-Vektors zum PCR-Produkt über Nacht bei 16 °C. Am nächsten Tag wurde die Reaktion bei 65 °C für 15 Minuten deaktiviert. Es folgte die Transformation des ligierten Plasmids in chemisch kompetente One Shot™ TOP10 *Escherichia coli* Zellen (C404003, ThermoFisher Scientific) mittels Hitzeschock bei 42 °C für 30 Sekunden im Wasserbad. Die Selektion der Kolonien und Vervielfältigung der Plasmide erfolgten wie unter Punkt 2.1.7 beschrieben. Integration der *Abi1*-Sequenz wurde mittels Testverdau mit HindIII und anschließender Gelelektrophorese sowie Sanger-Sequenzierung verifiziert. Zur Herstellung der RNA-Sonden wurden 10 µg des jeweiligen Plasmids entweder mittels BamHI oder HindIII linearisiert, durch Gelelektrophorese aufgetrennt und anschließender Gelextraktion aufgereinigt. Zur *in vitro* RNA-Transkription wurde der Digoxigenin (DIG) RNA Labeling Mix (11277073910, Roche), die T3 (RPOLT3-RO, Roche) und T7 (RPOLT7-RO, Roche) RNA-Polymerasen verwendet. Die Anfertigung der *in situ* Sonden erfolgte gemeinsam mit Öznur Yilmaz.

2.2.10 Wholemout *in situ* Hybridisierung in Mausembryonen

Die Wholemout *in situ* Hybridisierung wurde nach Wei et al. modifiziert (Wei et al., 2011). Mausembryonen (embryonaler Tag 14,5) wurden freundlicherweise von der Arbeitsgruppe Schilling am Institut für Anatomie und Zellbiologie zur Verfügung gestellt. Diese wurden über Nacht bei 4 °C in 4 % PFA fixiert. Im nächsten Schritt wurde die Aktivität der endogenen Peroxidase durch Einsatz von 30 % Wasserstoffperoxid (108597, Merck) für 1 Stunde auf Eis abgeschwächt. Darauf folgte eine Permeabilisierung mit Proteinase K (5 µg/ml, 3115836001, Roche) in Dulbecco's PBS ohne Calcium und

Magnesium (14190169, ThermoFisher Scientific) mit 0,1 % Tween® 20 ((DPBST) P1379, Sigma-Aldrich) für 1 Stunde und eine erneute Fixierung in 4 % PFA und 0,2 % Glutaraldehyd-Puffer (23115.01, Serva) für 20 Minuten bei Raumtemperatur. Im Anschluss wurden die Embryonen im Hybridisierungs-Puffer (50 % Formamid (47671, Sigma-Aldrich), 5x Salin-Natrium Citrat (engl. Saline-Sodium Citrate (SSC), 20x 15557-044, ThermoFisher Scientific), 1 % Natrium-Dodecyl-Sulfat (engl. Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), A7249, Applichem), 50 µg/ml Heparin (H3393-50KU, Sigma-Aldrich) und 50 µg/ml Torulahefe RNA IV (R6625-25G, Sigma-Aldrich)) für 1 Stunde bei 70 °C inkubiert. Die generierten *in situ* Sonden aus Punkt 2.2.9 wurden in einer Konzentration von 0,5 µg/ml zum Hybridisierungs-Puffer über Nacht bei 70 °C hinzugefügt. Am nächsten Tag erfolgte nach mehreren Waschschritten mit PBST ein RNase-Verdau (A2760,1000, Applichem) zur Reduzierung unspezifischer RNA-Hybridisierungen. Nach dem Blocken in TBST mit 10 % hitzebehandeltem Schafserum (S2263, Sigma Aldrich) bei Raumtemperatur folgte die Inkubation mit dem Alkalin-Phosphat-konjugierten anti-Fragment Antigen-bindenden (engl. fragment antigen-binding (Fab)) Antikörper (1:5000, 11093274910, Roche) über Nacht bei 4 °C. Am dritten Tag wurden die Proben in Alkalin-Phosphatase-Puffer (A4955, Sigma-Aldrich) gewaschen und mit dem BM Purple AP Substrat (11442074001, Roche) bis zur gewünschten Intensität gefärbt. Die Färbereaktion wurde mit 5 mM EDTA in PBST gestoppt. Fertig gefärbte Embryonen wurden in 100 % Glycerol (G5516, Sigma-Aldrich) gelagert. Bildaufnahmen wurden mit einem Leica M205C System mit Farbkamera gemacht. Beide generierten Antisense-Sonden zeigten übereinstimmende Färbungen. Die Anfertigung der *in situ* Färbungen erfolgte gemeinsam mit Öznur Yilmaz.

2.2.11 Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm GraphPad Prism Version 9 verwendet. Daten wurden mittels t-Tests analysiert und Werte von $p < 0,05$ als statistisch signifikant bewertet. Der Standardfehler (engl. standard error of the mean (SEM)) wurde zur Abschätzung der Abweichung des gemessenen Mittelwertes vom wahren Mittelwert genutzt.

3. Ergebnisse

3.1 Trio-ES-Analyse identifiziert *de novo* Varianten bei 17,90 % der CAKUT-Familien

3.1.1 Identifizierung eines einzelnen Kandidatengens bei 19,43 % der CAKUT-Familien

Insgesamt untersuchten wir im Rahmen dieses Projekts im Labor von Prof. Dr. Hildebrandt 731 Familien mit CAKUT (832 betroffene Personen) mittels ES-Analyse. Bei 11,4 % der Familien (83/731) wurde eine wahrscheinlich ursächliche Variante in einem bekannten CAKUT-Krankheitsgen entdeckt (Abb. 6; Seltzsa et al., 2022). Diese Ergebnisse wurden von Seltzsa et al. publiziert (Seltzsa et al., 2022) und sind nicht Bestandteil der vorliegenden Arbeit. Die CAKUT-Phänotypen aller teilnehmenden Familien wurden von Seltzsa et al. und in den Tabellen 1-6 beschrieben (Punkt 12, Appendix; Seltzsa et al., 2022). Hier soll auf die Ergebnisse der Kandidatengenidentifizierung für CAKUT eingegangen werden (Abb. 6). Die Strategie der ES-Analyse ist in den Methoden unter Punkt 2.1.5 und in Abb. 6 beschrieben.

Insgesamt identifizierten wir ein einzelnes neues Kandidatengen bei 19,43 % der Familien (142/731; Abb. 7A; rotes Segment; Tab. 2). Bei 49 von 403 Singletons (12,16 %) und bei 1 von 18 Geschwisterpaaren (5,56 %) identifizierten wir eine homozygote Variante in einem einzelnen Kandidatengen (Abb. 7B; Tab. 2). Bei der ES-Auswertung der 41 Duo-Familien ohne Familienanamnese fanden wir 11 homozygote oder compound-heterozygote Varianten in einem einzelnen neuen CAKUT-Kandidatengen. Bei 4 der 11 Duo-Familien mit positiver Familienanamnese für CAKUT wurden heterozygote Varianten von einem betroffenen Elternteil auf den Probanden vererbt (insgesamt 15/52; 28,85 %; Abb. 7B; Tab. 2). Die Trio-Auswertung von 228 Familien ohne CAKUT-Anamnese ergab bei 68 Familien Varianten in einem einzelnen potenziell neuen Kandidatengen. Heterozygot vererbte Varianten von einem betroffenen Elternteil auf das Kind wurden bei 7 von 28 Familien identifiziert. Insgesamt wurde bei 75 von 256 Trios eine Variante in einem einzelnen Kandidatengen entdeckt (29,30 %; Abb. 7B; Tab. 2). Die Multiplex-Familien-ES-Auswertung ergab bei 2 von 2 Familien eine Variante in einem einzelnen neuen Kandidatengen (100 %; Abb. 7B; Tab. 2). Wie erwartet führte die zusätzliche Auswertung der ES-Daten auf compound-heterozygote, *de novo* oder heterozygote

Varianten neben homozygoten Varianten zu einer höheren genetischen Ausbeute (Abb. 7B; Tab. 2).

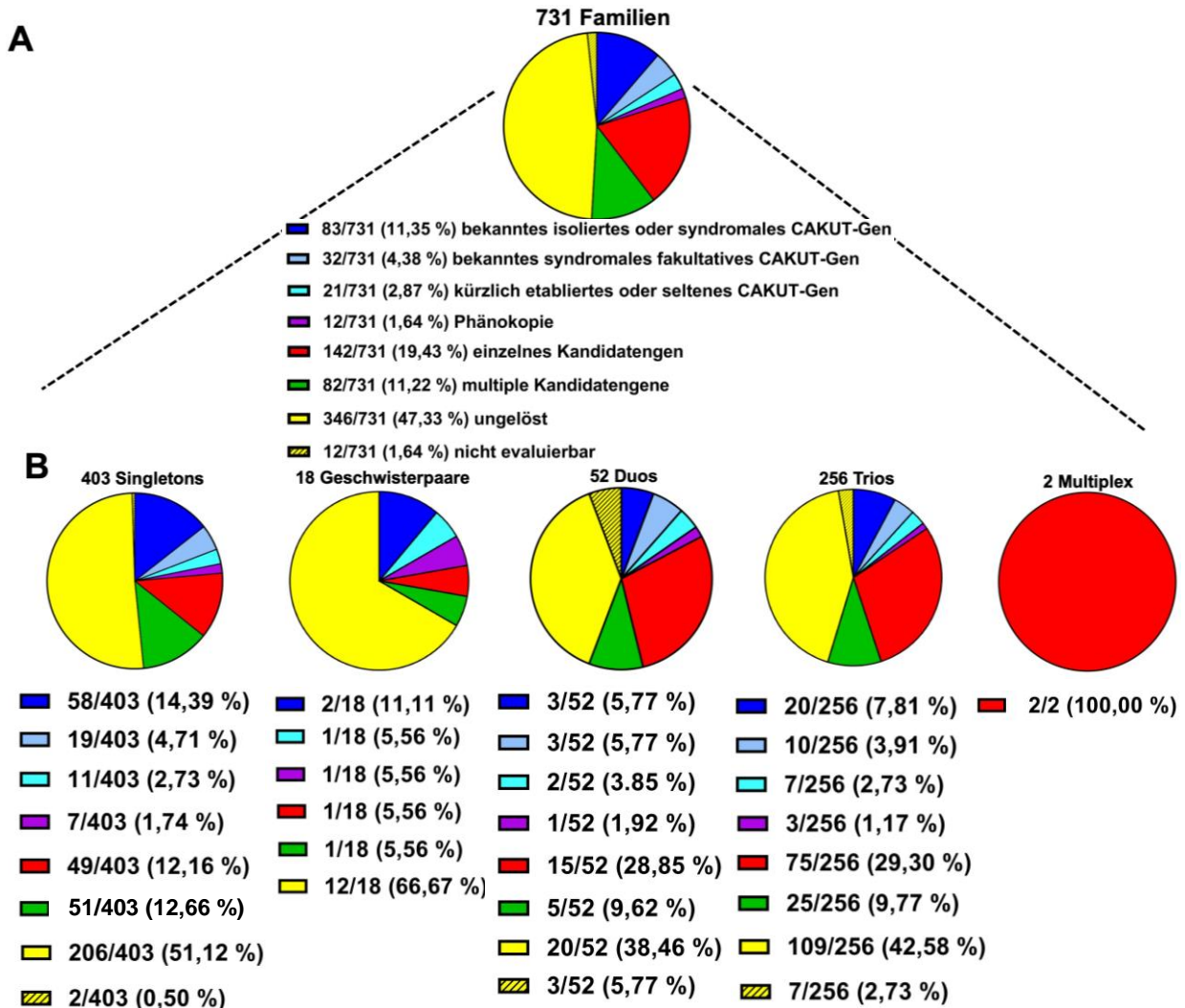


Abb. 7: Anzahl und Prozentsatz der 731 CAKUT-Familien mit einem genetischen Befund. A) Eine Übersicht der genetischen Auswertung der gesamten Kohorte ist dargestellt. Dunkel- und hellblaue Farben bedeuten, dass eine Variante in einem CAKUT- oder in einem mit CAKUT assoziierten Gen identifiziert wurde (Seltz et al., 2022). 21 der 731 Familien (2,87 %) trugen eine Variante in einem seltenen oder erst kürzlich entdeckten CAKUT-Gen (türkis). Lila steht für eine Variante in einem Phänokopie-Gen (Punkt 3.1.4 und Seltz et al., 2022). 142 der 731 Familien (19,43 %) trugen eine Variante in einem einzelnen neuen Kandidatengen für CAKUT (rot). Bei 82 der 731 Familien (11,22 %) verblieben Varianten in mehreren Kandidatengenen (grün). Bei 346 der 731 Familien (47,33 %) konnte mittels ES keine Variante detektiert werden (gelb). 12 Familien konnten nicht evaluiert werden (gelb schraffiert, 1,64 %). B) Die Kreisdiagramme stellen die genetische Detektionsrate für die jeweiligen Familienstrukturen dar.

3.1.2 Identifizierung multipler Kandidatengene bei 11,22 % der CAKUT-Familien

Bei 82 von 731 Familien (11,22 %) konnten wir Varianten in mehreren Kandidatengenen identifizieren, bei denen es anhand der festgelegten Kriterien (Punkte 2.1.4 und 2.1.5) nicht möglich war, ein einzelnes Gen zu priorisieren (Abb. 7A; grünes Segment; Tab. 3). Bei Singletons und Geschwisterpaaren konnten wir bei 51 von 403 (12,66 %), beziehungsweise bei 1 von 18 Familien (5,56 %), Varianten in multiplen Kandidatengenen entdecken (Abb. 7B; Tab. 3). Eine Duo-Analyse ohne Krankheitsgeschichte ergab bei 3 Familien und mit einem betroffenen Elternteil bei 2 Familien mehrere Varianten (5/52, 9,62 %; Abb. 7B; Tab. 3). Die Trio-ES-Datenanalyse für 228 Familien ohne familiäres CAKUT resultierte in 21 Familien mit multiplen Kandidatengenen. Für 4 der 28 Trio-Familien mit einem betroffenen Elternteil konnten Varianten in mehreren Kandidatengenen identifiziert werden (insgesamt 25/256, 9,62 %; Abb. 7B; Tab. 3). Die Identifizierungsrate zwischen den verschiedenen Familienstrukturen blieb vergleichsweise ähnlich (6-13 %; Abb. 7B; Tab. 3).

3.1.3 Varianten in erst kürzlich etablierten und seltenen CAKUT-Genen in 2,87 %

ES ermöglichte die Identifizierung von Varianten in einem erst kürzlich etablierten CAKUT-Gen oder in einem seltenen CAKUT-Gen bei 21 der 731 Familien (2,87 %; Abb. 7A; türkises Segment). 1 Familie (B3061, *de novo*, Tab. 1) und 10 Familien (Tab. 4) dienten als Indexfamilien der hervorgehobenen Studien, die zur Etablierung des jeweiligen CAKUT-Gens führten („Familie publiziert“). Darüber hinaus wird hier auf Familie B583 verwiesen (Tab. 4), in der das zweite Allel in *ETV4* als Ursache für isoliertes CAKUT identifiziert wurde (Punkt 3.2). Die zweite türkise Familien in Tabelle 1 (B3761, *de novo*) und 8 Familien in Tabelle 4 sind zusätzliche Allelträger für vor kurzem von anderen Forschungsgruppen veröffentlichten CAKUT-Genen oder seltene Ursachen für CAKUT („Gen publiziert“). Bei Familie B1546 konnte die Deletion 22q11.2, die ursächlich für das DiGeorge-Syndrom ist, erst während der Kandidatengenevaluierung identifiziert werden (Tab. 4). Zum phänotypischen Spektrum des DiGeorge-Syndroms gehört CAKUT, sodass die CAKUT-Symptomatik des Betroffenen durch die identifizierte Deletion erklärt werden kann (OMIM 188400).

3.1.4 Phänokopie-Gene erklären 1,64 % der CAKUT-Phänotypen

Bei 3 der 731 Familien wurden Varianten in Genen identifiziert, die der Klinik von CAKUT ähneln können (sogenannte Phänokopie, Tab. 5). Beispielsweise können beidseits kleine Nieren, von denen man bei Diagnosestellung annahm, dass diese auf einer dysplastischen Nierenhypoplasie beruhen, in Wirklichkeit Zystennieren sein. Diese entstehen aufgrund von Varianten in Krankheitsgenen für renale Ziliopathien (van der Ven et al., 2018b). 10 weitere Familien mit Varianten in Phänokopie-Genen, die bei der Auswertung nach krankheitsverursachenden Allelen in den bekannten CAKUT-Krankheitsgenen identifiziert wurden, wurden bereits von Seltzsam et al. beschrieben (Seltzsam et al., 2022). Demnach konnten insgesamt bei 12 von 731 Familien Varianten in Phänokopie-Genen identifiziert werden (Familie A1283 verbleibt ungelöst; 1,64 %; Abb. 7A; lila Segment). Folglich unterschied sich bei diesen 12 Familien die initiale klinische Diagnose von der nach der ES-Analyse gestellten molekularen Diagnose (Tab. 5; Seltzsam et al., 2022).

3.1.5 Zufallsbefunde bei 1,51 % der CAKUT-Familien

Bei der Suche nach neuen Kandidatengenen können ebenfalls krankheitsverursachende Varianten in Genen identifiziert werden, die keine Nierenerkrankungen hervorrufen. Bei 11 der 731 CAKUT-Familien (1,51 %) entdeckten wir eine wahrscheinlich krankheitsverursachende Variante als genetischen Zufallsbefund (Tab. 6). 2 Betroffene wiesen einen CAKUT-Phänotyp zusammen mit einem steroidresistenten nephrotischen Syndrom auf, das wahrscheinlich durch Varianten in Nephrin ((*NPHS1*), OMIM 256300) und Podocin ((*NPHS2*), OMIM 600995) verursacht wird (Tab. 6). Darüber hinaus entdeckten wir weitere potenziell ursächliche Varianten bei Betroffenen mit Diabetes insipidus (Arginine Vasopressin Receptor 2 (*AVPR2*), OMIM 304800, Arginine Vasopressin (*AVP*) OMIM 125700), Beta-Thalassämie Major (Hemoglobin Subunit Beta (*HBB*), OMIM 613985), Vordersegmentdysgenese Typ 6 (Cytochrome P450 Family 1 Subfamily B Member 1 (*CYP1B1*), OMIM 617315), primärer Hyperoxalurie Typ 3 (4-Hydroxy-2-Oxoglutarate Aldolase 1 (*HOGA1*), OMIM 613616), Taubheit (Myosin XVA (*MYO15A*), OMIM 600316), Dystonie mit Beginn im Kindesalter (Lysine Methyltransferase 2B (*KMT2B*), OMIM 617284), angeborenem Herzfehler und ektodermaler Dysplasie (Protein Kinase D1 (*PRKD1*), OMIM 617364) und Nagel-Patella-Syndrom (LIM Homeobox Transcription Factor 1 Beta (*LMX1B*), OMIM 161200; Tab. 6). In

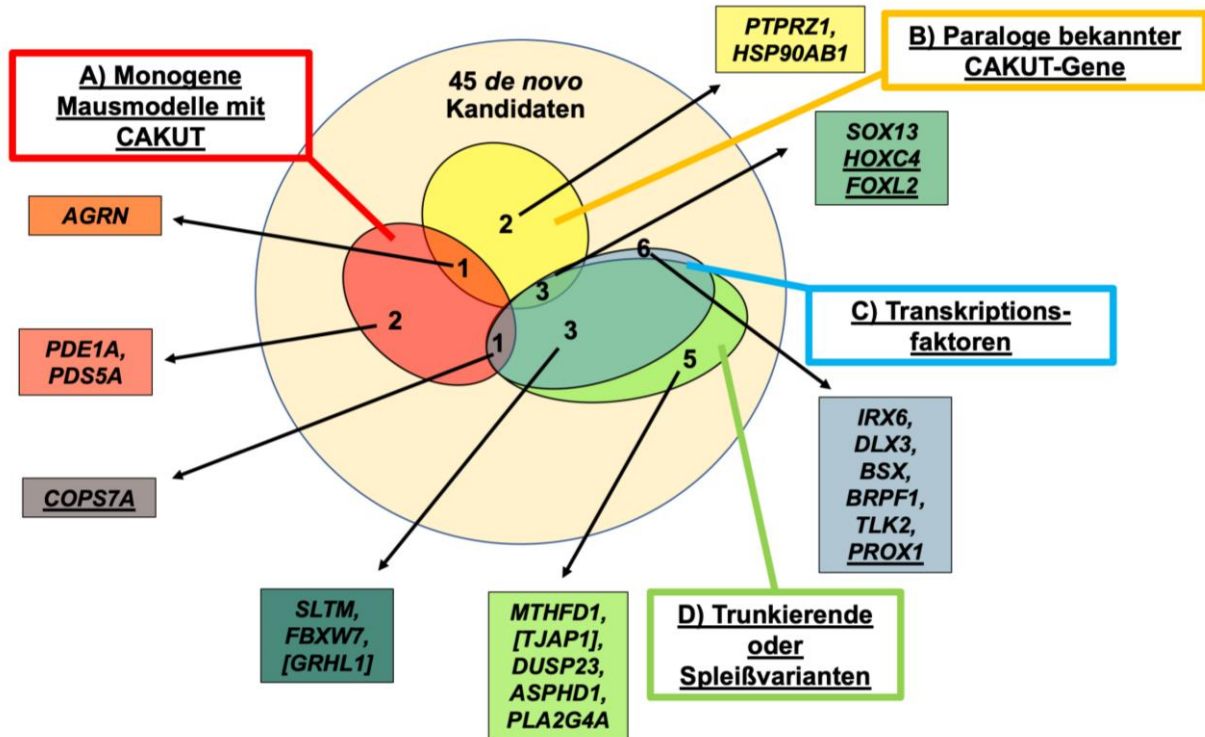
Übereinstimmung mit den Richtlinien des American College of Medical Genetics (ACMG) wurden die überweisenden Nephrologen über den hier entdeckten Zufallsfund informiert (Richards et al., 2015).

3.1.6 Ranking der *de novo* Varianten

Bei den insgesamt 229 Trio- und Multiplex-Familien ohne eine CAKUT-Familienanamnese fanden wir 45 überzeugende *de novo* Varianten bei 41 Familien (17,90 %, 41/229; Abb. 8; Tab. 1). Bei 33 Familien konnten wir eine *de novo* Variante in einem einzelnen neuen Kandidatengen entdecken (rote Markierungen, Tab. 1), während 6 weitere Familien mehr als nur eine *de novo* Variante aufwiesen (grüne Markierungen, Tab. 1). Bei 3 der 6 Familien konnten mehrere *de novo* Varianten identifiziert werden (Tab. 1). Bei den anderen 3 Familien wurden zusätzliche rezessive Varianten gefunden (Tab. 1 und 3). 2 Familien trugen *de novo* Allele in erst kürzlich etablierten CAKUT-Genen (türkise Markierungen, Tab. 1).

Im nächsten Schritt wurden die hier identifizierten *de novo* Varianten anhand der folgenden Kriterien eingestuft, die ein vielversprechendes neues CAKUT-Kandidatengen ausmachen: A) Das identifizierte Gen ist ein Ortholog eines Maus-CAKUT-Gens (van der Ven et al., 2018a; Kolvenbach et al., 2023a). B) Aufgrund ihrer potenziell ähnlichen Funktion stellen Paraloge bekannter CAKUT-Gene die zweite Kategorie dar (Zheng et al., 2022). C) Circa 50 % der bekannten CAKUT-Gene sind Transkriptionsfaktoren, die eine wesentliche Rolle bei der Regulierung der Nephrogenese spielen (Kolvenbach et al., 2023a). Daher stellen Transkriptionsfaktoren die dritte Kategorie dar. D) Insbesondere trunkierende oder Spleißvarianten beeinflussen die Proteinstruktur und letztlich die Funktion des Genprodukts. Sie stellen somit die letzte Kategorie dar. Insgesamt konnten 23 der 45 Gene mindestens einer der vier Kategorien zugeordnet werden: A) 4 der 45 *de novo* Allele (8,9 %) befanden sich in Genen, die im Mausmodell einen CAKUT-Phänotyp hervorrufen (Abb. 8A; rotes Oval). B) 6 der 45 *de novos* (13,3 %) sind Paraloge bekannter CAKUT-Krankheitsgene (Abb. 8B; gelbes Oval). C) 13 der 45 *de novo* Varianten (28,9 %) wurden in Genen entdeckt, die für Transkriptionsfaktoren kodieren (Abb. 8C; blaues Oval). D) 12 der 45 *de novos* (26,7 %) sind trunkierende oder Spleißvarianten (Abb. 8D; grünes Oval). Die meisten Überschneidungen dieser Kategorien fanden sich für *SOX13*,

Homeobox C4 (*HOXC4*), Forkhead Box Protein L2 (*FOXL2*) und COP9 Signalosome Complex Subunit 7a (*COPS7A*; Abb. 8). Sie erfüllten jeweils drei der vier Kategorien und stellten somit die vielversprechendsten neuen Kandidatengene für CAKUT dar (Abb. 8). *FOXL2* wurde bereits vom Hildebrandt Labor untersucht und veröffentlicht (Zheng et al., 2022). *HOXC4* und *COPS7A* werden derzeit separat charakterisiert. Daher konzentriert



sich diese Arbeit auf die Analyse der *de novo* Variante in *SOX13*.

Abb. 8: Venn-Diagramm der 4 unabhängigen Kategorien zur *de novo* Kandidatengenenpriorisierung. 23 der 45 potenziell neuen Kandidatengene konnten mindestens einer der Kategorien zugeteilt werden. A) 4 von 45 (8,9 %) *de novos* lagen in Genen, die im monogenen Mausmodell CAKUT verursachen (rotes Oval). B) 6 von 45 (13,3 %) *de novos* fanden sich in Paralogen von CAKUT-Krankheitsgenen (gelbes Oval). C) 13 der 45 (28,9 %) *de novo* Varianten wurden in Transkriptionsfaktoren identifiziert (blaues Oval). D) 12 von 45 (26,7 %) waren trunkierende oder Spleißvarianten (grünes Oval). Basierend auf diesen Kategorien sind *SOX13*, *HOXC4*, *FOXL2* und *COPS7A* die vielversprechendsten neuen Kandidatengene für CAKUT. Unterstrichene Gene werden derzeit separat auf ihre Funktion hin untersucht oder wurden bereits veröffentlicht. Eckige Klammern bedeuten, dass in der jeweiligen Familie mehr als nur die *de novo* Variante identifiziert wurde.

3.1.7 Identifizierung einer *de novo* Nonsense-Variante in *SOX13*

Die ES-Analyse einer Albanerin (B3151-21) mit linkseitiger Nierenagenesie und Ohranhängsel offenbarte eine Nonsense-Variante in *SOX13* (1154C>A; p.Ser385*; Tab. 1; Abb. 9A). Die Variante wurde bisher nicht in gnomAD beschrieben (Tab. 1). Aufgrund

des vorzeitigen neuen Stoppcodons (Kategorie D) kommt es zu einem Verlust der High Mobility Group (HMG)-Domäne, die für die DNA-Bindung des Transkriptionsfaktors (Kategorie C) benötigt wird (Abb. 9A; Stros et al., 2007). Zudem sind zwei Mitglieder der SOX-Familie, *SOX11* und *SOX17*, beides Paraloge von *SOX13*, bekannte CAKUT-Gene (Kategorie B; Neirijnck et al., 2018; Gimelli et al., 2010). Ein CAKUT-Phänotyp im *Sox13* knockout Mausmodell wurde bis dato nicht beschrieben (Kategorie A). Allerdings wurde unserer Kenntnis nach bisher auch keine gerichtete Untersuchung auf Nieren- oder Harnwegsanomalien durchgeführt. Zusätzlich ist die Expression von *Sox13* in der sich entwickelnden MK belegt (McMahon et al., 2008; Wang et al., 2018). *SOX13* erfüllt somit 3 der 4 Kriterien und stellt eine mögliche neue Ursache für CAKUT dar. In unserer Kohorte oder über Kooperationspartner konnten keine weiteren Betroffenen mit *de novos* in *SOX13* identifiziert werden.

Der Wegfall der HMG-Domäne führt zu einem Verlust zweier Kernlokalisierungs- und eines Kernexportsignals, die für die korrekte subzelluläre Lokalisation des Transkriptionsfaktors innerhalb der Zelle benötigt werden (Angelozzi und Lefebvre, 2019). Um den Einfluss der identifizierten Variante im Vergleich zum gesunden WT auf die subzelluläre Expression zu studieren, führte ich Überexpressionsstudien in HEK 293T-Zellen durch (Abb. 9). Die Überexpression des WT zeigte eine für einen Transkriptionsfaktor typische nukleäre Expression (Abb. 9B). Im Gegensatz hierzu wies die *SOX13*-Mutante eine zytoplasmatische Lokalisation auf (Abb. 9B). Dies deutet darauf hin, dass die Mutante nicht mehr in der Lage ist, mit der DNA im Nukleus zu interagieren.

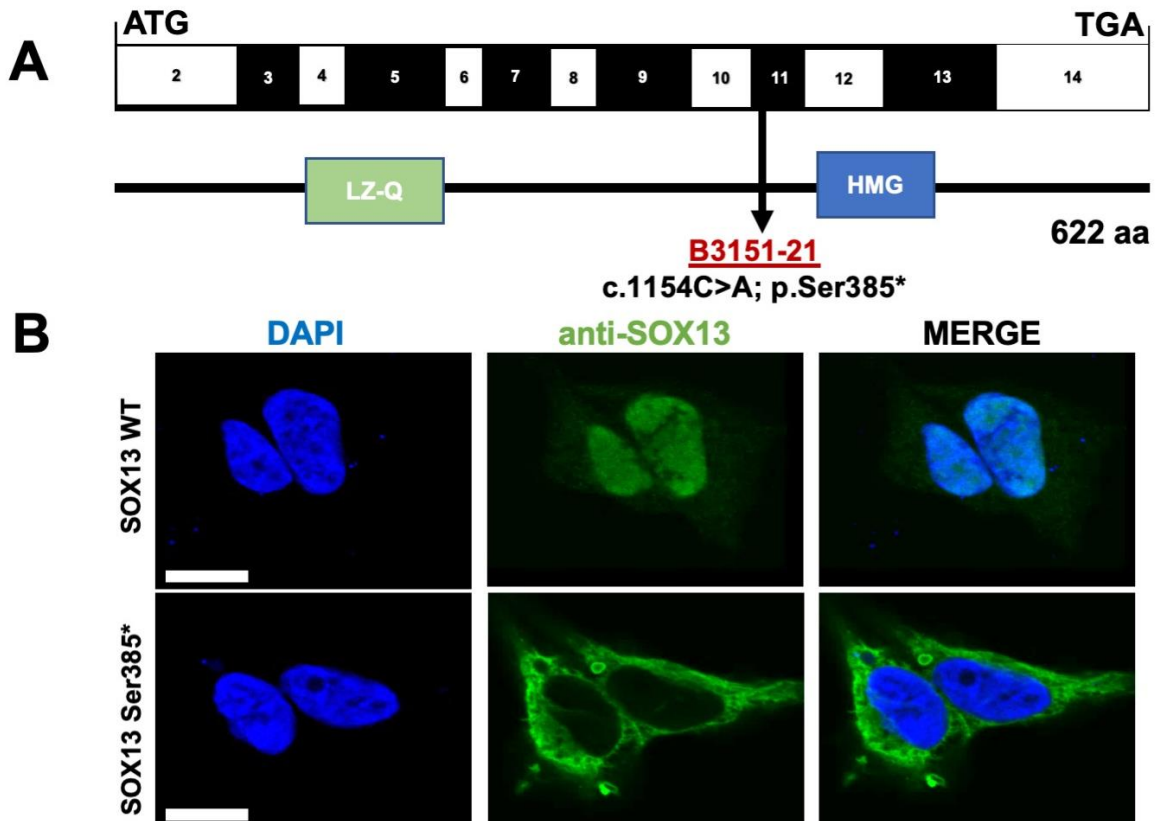


Abb. 9: SOX13 als potenziell neues Kandidatengenen für CAKUT. A) Exonstruktur mit Start- und Stoppcodon und Proteindomänen von SOX13 sind dargestellt. Die identifizierte Nonsense-Variante ist eingezeichnet, die zu einem Verlust der HMG-Domäne führt (B3151-21; c.1154C>A; p.Ser385*). B) IF-Färbungen zeigen ein nukleäres Signal für SOX13-WT in der oberen Reihe (DAPI: blau, SOX13: grün). Die untere Reihe weist ein zytoplasmatisches Signal für das mutierte SOX13-Konstrukt auf. aa, Aminosäure (engl. Amino acid); LZ-Q, Leuzin Zipper Domäne. Maßstab: 10 μ m.

3.1.8 ES-Analyse ermöglicht die Identifizierung neuer CAKUT-Gene

Circa 90 % aller Varianten mit erheblichen klinischen Auswirkungen befinden sich in den Exons (Lifton, 2010). Daher erlaubt die ES-Datenauswertung die zuverlässige Identifizierung potenziell neuer CAKUT-Krankheitsgene. Exemplarische Gene, die in den letzten 6 Jahren in Zusammenarbeit mit dem Hildebrandt Labor identifiziert wurden, sind in Abbildung 10 aufgeführt (Abb. 10). Eine familienbasierte Auswertung erhöht die Ausbeute neuer Kandidatengene. Daher empfiehlt sich die Rekrutierung von Familienmitgliedern der Betroffenen, insbesondere die Eltern, um Trioanalysen durchführen zu können.

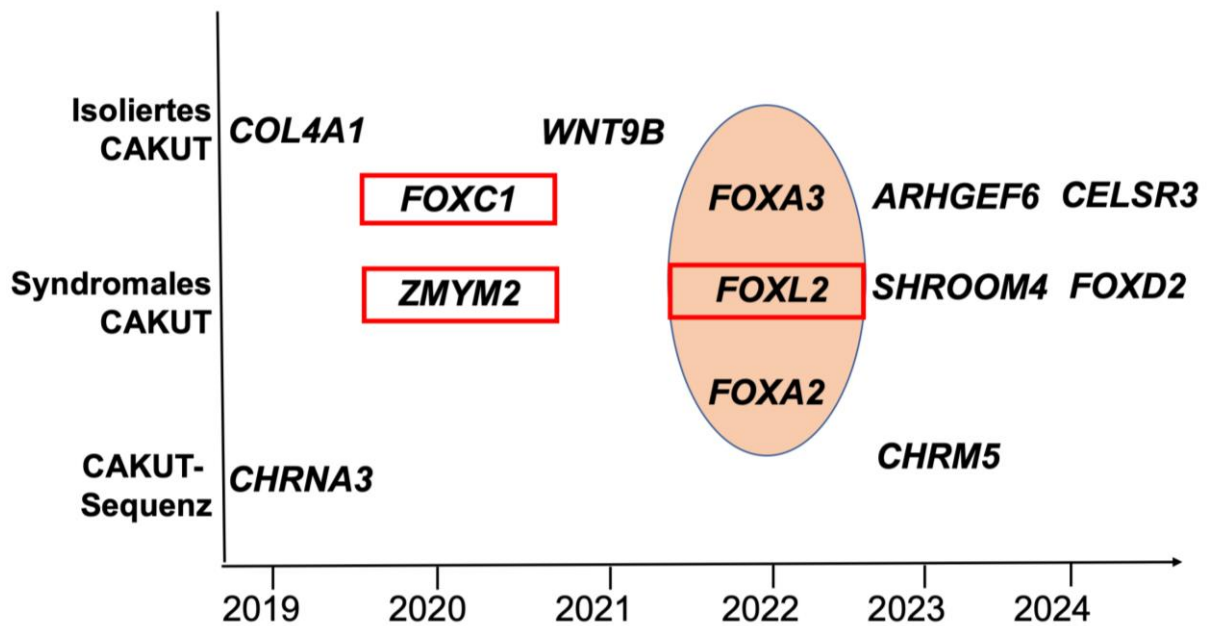


Abb. 10: Zeitstrahl der kürzlich durch ES identifizierten CAKUT-Gene (Hildebrandt Labor). Neue CAKUT-Gene, die durch ES entdeckt und von oder in Zusammenarbeit mit dem Hildebrandt Labor veröffentlicht wurden, sind hier aufgeführt (<6 Jahre; Kitzler et al., 2019; Mann et al., 2019; Wu et al., 2020; Connaughton et al., 2020; Lemire et al., 2021; Zheng et al., 2022; Klambt et al., 2023; Kolvenbach et al., 2023c; Schneider et al., 2023; Stegmann et al., 2024; Riedhammer et al., 2024). Die Gene sind ihrem Veröffentlichungsjahr und einer der folgenden Kategorien zugeordnet: Isoliertes CAKUT, syndromales CAKUT oder CAKUT-Sequenz (CAKUT tritt als Folge einer anderen Ursache auf). Für einige Gene konnten sowohl isolierte als auch syndromale CAKUT-Formen beschrieben werden. Rote Kästen zeigen an, dass *de novo* Varianten identifiziert wurden. Das orangefarbene Oval bedeutet, dass diese Gene zusammen in einer Publikation veröffentlicht wurden.

3.2. Eine seltene genetische Ursache für CAKUT

Die folgenden Ergebnisse wurden von Kolvenbach et al. veröffentlicht (Kolvenbach et al., 2023b).

3.2.1 Fallpräsentation

Die Duo-Familie B583, bestehend aus einer gesunden Mutter (B583-12) und ihrem betroffenen Sohn (B583-21), war Teil unserer CAKUT-Kohorte und wurde im Rahmen der ES-Studie untersucht (Tab. 4). B583-21 war ein männlicher Nigerianer, bei dem im Alter von 22 Jahren PUV und eine einseitige Nierendysplasie diagnostiziert wurden. Bei der Erstvorstellung klagte er über Fieber im Rahmen eines Harnwegsinfekts mit vermehrter Urinausscheidung. Darüber hinaus beschrieb er tägliches Einnässen, schwachen

Harnstrahl, unzureichende Gewichtszunahme und Lethargie. Seine Körpermesswerte ergaben einen Body-Mass-Index von 20,9 kg/m² (61 kg und 1,71 m). In der laborchemischen Untersuchung zeigte sich ein erhöhter Serumkreatininwert, Anämie, Leukozytose und Proteinurie. Im Zystourethrogramm stellten sich eine verdickte, trabekulierte Blase und eine Abflussstörung der Harnröhre dar, die die Diagnosestellung der PUV erlaubten (Abb. 11).

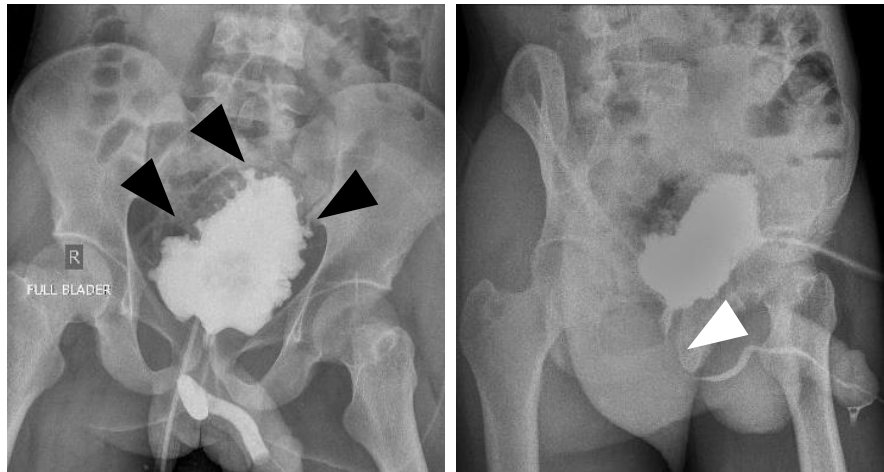


Abb. 11: Zystourethrogramm des Betroffenen B583-21. Im linken Bild ist die trabekulierte Blase (schwarze Pfeile) zu erkennen. Im rechten Bild stellt sich die Abflussblockade der Urethra dar (weißer Pfeil), ausgelöst durch PUV (adaptiert nach Kolvenbach et al., 2023b).

B583-21 erhielt im Anschluss eine antibiotische Therapie zur Behandlung des Harnwegsinfekts und Anticholinergika zur Verbesserung der Blasenkontrolle. Die PUV wurden inzidiert und eine suprapubische Harnableitung sichergestellt. Aufgrund der Verschlechterung der Nierenfunktion erhielt der Betroffene letztendlich Dialyse und musste im Verlauf mehrfach wegen Komplikationen hospitalisiert werden. Bedauerlicherweise verstarb er im Alter von 25 Jahren aufgrund von Komplikationen der Nierenerkrankung und der Blasenfunktionsstörung.

3.2.2 Biallelische Varianten in *ETV4* verursachen CAKUT

Die ES-Analyse auf pathogene Varianten in den bis dato bekannten CAKUT-Genen blieb ohne Ergebnis. Im nächsten Schritt wurden die ES-Daten auf neue Kandidatengene für CAKUT untersucht. Den Angaben der Familie zufolge gab es keine weiteren Familienmitglieder mit CAKUT und keine Blutsverwandtschaft der Eltern (Abb. 12). Die

Mutter war nicht an CAKUT erkrankt (Abb. 12A). Der Vater stand für eine klinische oder genetische Untersuchung nicht zur Verfügung (Abb. 12A).

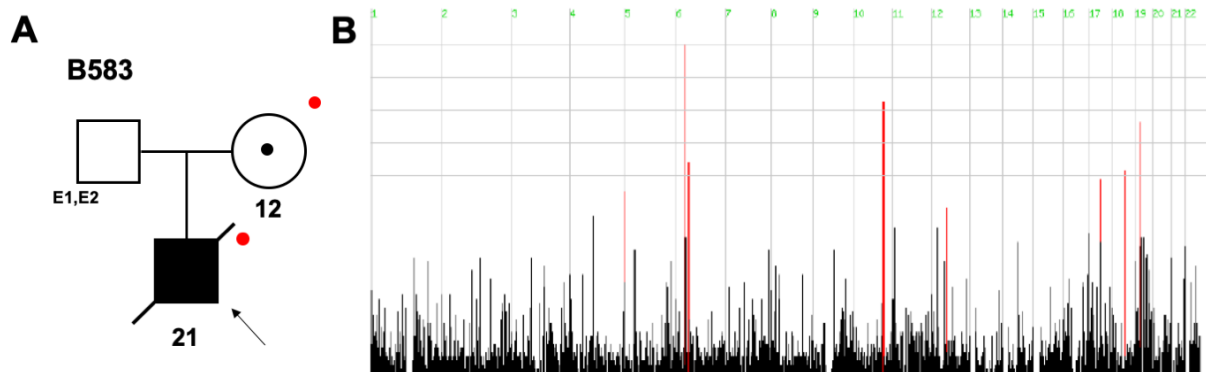


Abb. 12: Vererbungsschema der CAKUT-Familie B583. A) Stammbaum der Familie B583 mit dem Probanden B583-21 (schwarzes Quadrat mit Pfeil). Quadrate symbolisieren männliche, Kreise weibliche Probanden. Rote Punkte markieren Personen, die in die ES-Analyse einbezogen wurden. Die diagonale Linie kennzeichnet die verstorbene Person. Der schwarze Punkt weist auf Anlageträger hin. E1, nicht verfügbar für klinische Untersuchung; E2, nicht verfügbar für genetische Testung. B) Die Erfassung der Homozygotie von B583-21 bestätigt die nicht vorhandene Blutsverwandtschaft der Familie (4,2 Mb). Rote Spitzen weisen auf homozygote Bereiche der aufgereihten Chromosomen hin (adaptiert nach Kolvenbach et al., 2023b).

Ich analysierte die ES-Daten auf homozygote und compound-heterozygote Varianten. Hierbei konnte ich eine homozygote Nonsense-Variante (c.16A>T; p.Lys6*) in dem Gen *ETV4* identifizieren (Abb. 13; Tab. 4). Das neue Stoppcodon führt zu einem fast totalen Verlust des Proteins. Für die Variante wurden bisher keine homozygoten Allelträger in der Datenbank gnomAD erfasst, was für deren Seltenheit spricht (0/84/184.778 Allele; Stand 01/2023; Tab. 4). Darüber hinaus sind für *ETV4* keinerlei homozygoten Nullallele in gnomAD eingetragen, was ebenfalls einen potenziell schädlichen Effekt einer homozygoten trunkierenden Variante auf die Gesundheit unterstreicht (Stand 01/2023). Die Mutter B583-12 war heterozygote Anlageträgerin der Variante in *ETV4* (Abb. 13A; Tab. 4). Da der Vater nicht zur Verfügung stand, blieb zunächst unklar, ob B583-21 jeweils beide Allele von den Eltern geerbt hat oder nur das heterozygote Allel der Mutter in Kombination mit einer homologen Deletion trägt. Aus diesem Grund wurde im nächsten Schritt eine Exom-Abdeckungsanalyse (exome coverage analysis) bei B583-21 und B583-12 durchgeführt, die die Anzahl der Reads zwischen ES-Daten vergleicht. Diese wies eine ähnliche Anzahl von Reads für *ETV4* bei beiden Probanden auf. Folglich war das Vorliegen einer homozygoten Variante bei B583-21 als sehr wahrscheinlich

anzusehen. Die Suche in unserer CAKUT-Kohorte nach weiteren Allelträgern mit rezessiven Varianten in *ETV4* oder seinem nahen Paralog *ETV5* ergab keine weiteren Anlageträger.

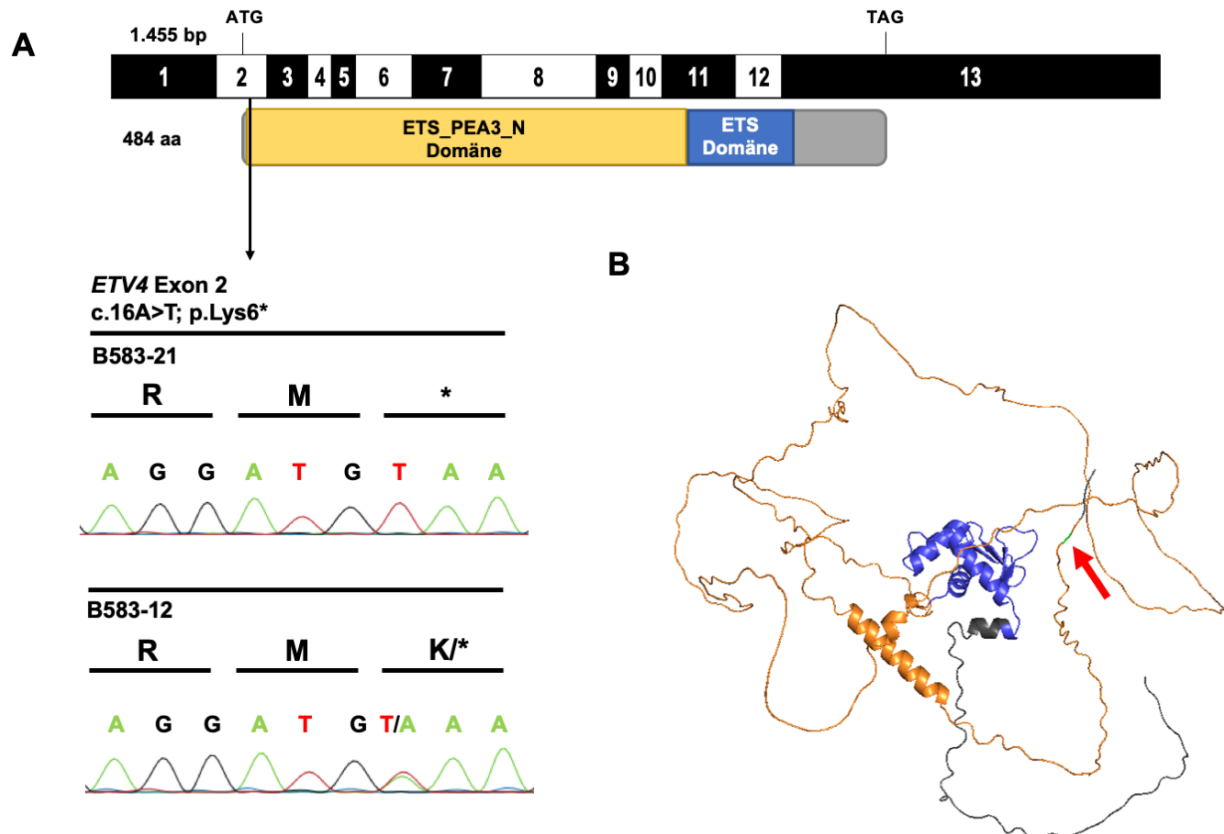


Abb. 13: Nonsense-Variante in *ETV4* in einem Betroffenen mit CAKUT. A) Dargestellt ist die Exon- und Domänenstruktur der humanen *ETV4* cDNA. Die Position der identifizierten Nonsense-Variante im Verhältnis zu den Exons und der Domänen ist mit dem schwarzen Pfeil hervorgehoben. Sanger-Sequenzierungen zeigten eine homozygote Substitution von A zu T in Exon 2 bei B583-21 und eine heterozygote Variante bei der Mutter B583-12. B) Abgebildet ist das vorhergesagte Molekülmodell von *ETV4* (AF-P43268; AlphaFold). Der veränderte Aminosäurenrest p.Lys6 ist gekennzeichnet (roter Pfeil). Die ETS_PEA3_N-Proteindomäne ist in orange und die ETS-Proteindomäne in blau markiert. aa, Aminosäure (adaptiert nach Kolvenbach et al., 2023b).

Die betroffene Aminosäure p.Lys6 liegt in der ETS_PEA3_N Domäne, die für die DNA-Bindung benötigt wird und eine wichtige Rolle bei der Transkriptionsregulation durch *ETV4* einnimmt (Abb. 13; Clark und Cooper, 2009; Cooper et al., 2014). Wie bereits erwähnt führt die frühe Nonsense-Variante zu einem beinahe Totalverlust des Proteins und folglich zum Verlust dieser Domäne (Abb. 13). Somit verliert *ETV4* sein DNA-Bindungsvermögen. Neben der homozygoten Variante in *ETV4* konnte noch eine zweite

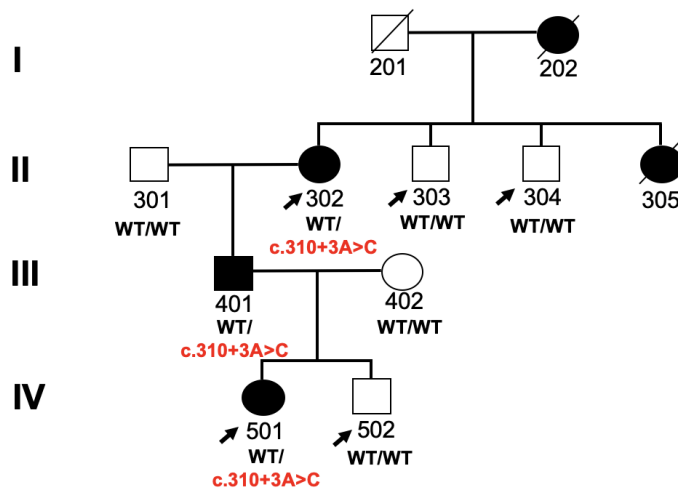
homozygote Variante im Breast Cancer Type 1 Susceptibility Protein (*BRCA1*)-Gen identifiziert werden (c.1846_1848delTCT; p.Ser616del). Es handelt sich hierbei um eine inframe-Deletion, die das Leseraster der Basenpaare nicht verschiebt, und somit das Gesamtprotein um eine Aminosäure verkürzt. Die homozygote Variante ist selten und in gnomAD wurden keine homozygoten Allelträger beschrieben (0/103/282.534 Allelträger; Stand 01/2023). Die Mutter B583-12 ist heterozygote Anlageträgerin der Variante.

3.3 Verwicklung von *ABL1* in familiäre Omphalozele

3.3.1 Erweiterte Spleißvariante in *ABL1*

Wir berichten über eine Multiplex-Familie mit 5 von Omphalozele betroffenen Familienmitgliedern über 4 Generationen. Die betroffenen Familienmitglieder präsentierten sich mit isolierter Omphalozele und zeigten daneben keine weiteren klinischen Auffälligkeiten. Bei Individuum III-401 wurde jedoch zusätzlich zur Omphalozele im Erwachsenenalter nach Auftreten eines Dünndarmileus eine Leisten- und Zwerchfellhernie diagnostiziert. Vermutlich stellte die Zwerchfellhernie die Ursache für den Ileus dar. Die Stammbaumstruktur suggeriert ein autosomal dominantes Vererbungsmuster (Abb. 14A). Die ES-Analyse wurde in 2 betroffenen (II-302 und IV-501) sowie 3 gesunden (II-303, II-304 und IV-502) Familienmitgliedern durchgeführt. Dabei detektierte ich eine bisher noch nicht beschriebene erweiterte Spleißvariante in dem Gen *ABL1* (c.310+3A>C; p.?.; Stand 05/2024). Sanger-Sequenzierung bestätigte das Vorhandensein der Variante bei allen Betroffenen der Familie (II-302, III-401 und IV-501) und das Fehlen bei den Gesunden (II-301, II-303, II-304, III-402 und IV-502; Abb. 14B).

A



B

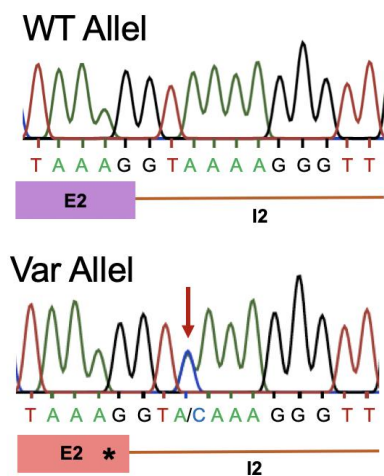


Abb. 14: *ABL1* Variante in einer Multiplex-Familie mit Omphalozele. A) Stammbaum der Familie mit einem autosomal dominanten Vererbungsmuster. Familienmitglieder, die in die ES-Analyse eingeschlossen wurden, sind mit einem Pfeil versehen. DNA war für 8 Familienmitglieder vorhanden. Die Genotypen sind angegeben. Betroffene Familienmitglieder trugen eine erweiterte Spleißvariante in *ABL1* (c.310+3A>C; p.?). B) Repräsentative Sanger-Sequenzierung zeigt die heterozygote Spleißvariante, die im Spleißdonor von Intron 2 residiert (roter Pfeil). E, Exon; I, Intron; Var, Variante; WT, Wildtyp.

Die identifizierte Spleißvariante befindet sich im Spleißdonor des Introns 2 der *ABL1*-Transkripte *ABL1*-201 (ENST00000318560.6) und *ABL1*-202 (ENST00000372348.9). Diese unterscheiden sich durch ein verschieden gespleißtes Exon 1 (Ensembl Genome Browser). Der mittels *in silico* Programmen vorhergesagte Effekt der Spleißvariante an der Donorstelle beträgt im Mittel 53 % (MaxEnt 78 %; NNSPLICE 69 %; SSF 12 %). Auf der Grundlage dieser Vorhersagen haben wir die Auswirkungen auf das Spleißen *in vitro* untersucht. Hierfür amplifizierten wir einen Bereich der cDNA zwischen Exon 1 (jeweils für beide *ABL1*-Transkripte) und Exon 3 von Proband III-401 und trennten diesen mithilfe einer Gelelektrophorese auf (Abb. 15A). Es zeigte sich eine im Mittel um 18 % in ihrer Intensität reduzierten Bande auf derselben Höhe wie die WT-Bande der gesunden Kontrolle (normalisiert gegen *EEF1A1*; Abb. 15A). Zusätzlich fand sich bei III-401 eine verkürzte Bande für beide *ABL1*-Transkripte, die auf ein alternativ gespleißtes cDNA-Produkt schließen ließ (Abb. 15A). Eine anschließende Sanger-Sequenzierung der aufgereinigten kürzeren Bande ergab ein Fehlen von 47 Basenpaaren des Exons 2 (Abb. 15B). Dies lässt sich auf die Nutzung eines alternativen früheren Spleißdonors in Exon 2 zurückzuführen (Abb. 15C). Der daraus entstandene frameshift führt in beiden Transkripten zu einem vorzeitigen Stoppcodon (p.Leu69fs*1Ter; *ABL1*-201 und p.Leu88fs*1Ter; *ABL1*-202; Abb. 15C). Dadurch verliert *ABL1* seine SH-, Kinase-, DNA- und Aktin-Domänen und somit seine bekannten Funktionen (Colicelli, 2010).

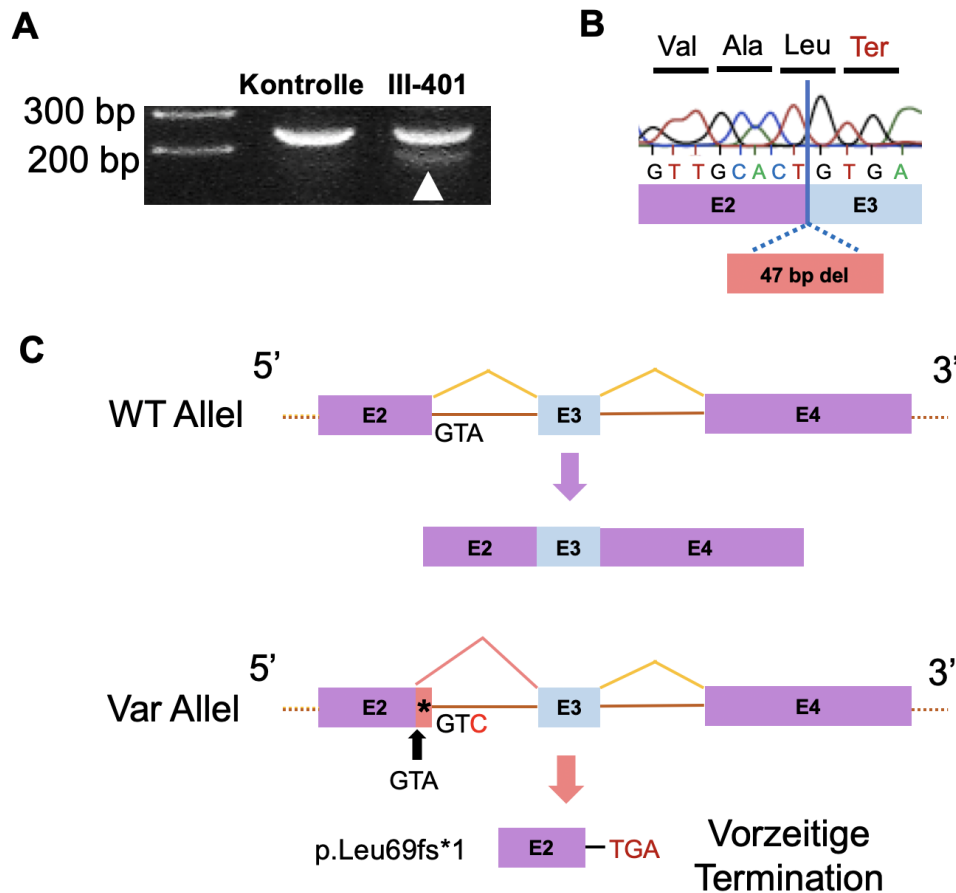


Abb. 15: Spleißvariante in *ABL1* führt zur Nutzung eines alternativen Spleißdonors. A) Gelelektrophorese des *ABL1* cDNA-PCR-Produkts einer gesunden Kontrollperson (links) und des Probanden III-401 (rechts) wies eine im Mittel um 18 % reduzierte Bande auf derselben Höhe (normalisiert gegen *EEF1A1*) in III-401 auf. Zusätzlich konnte bei III-401 eine kürzere Bande (weißer Pfeil) nachgewiesen werden, die bei der Kontrolle fehlte. B) Sanger-Sequenzierung der kürzeren Bande demonstrierte ein alternativ gespleißtes cDNA-Produkt durch die Nutzung eines alternativen früheren Spleißdonors. Es kommt zum Verlust von 47 Basenpaaren. C) Der Verlust der 47 Basenpaare führt zu einem frameshift und einem frühzeitigen Stoppcodon nach 69 Aminosäuren (p.Leu69fs*1Ter; hier gezeigt für *ABL1-201*). Das frühzeitige Stoppcodon verursacht Leu88fs*1Ter in Transkript *ABL1-202* (nicht gezeigt). bp, Basenpaare; del, Deletion; fs, frameshift.

3.3.2 *In vitro* Untersuchung der Spleißvariante in *ABL1*

Um den Einfluss der hier entdeckten Variante p.Leu69fs*1Ter zu evaluieren, klonierte ich *ABL1*-WT (*ABL1-201*), die verkürzte Mutante sowie zwei pathogene Varianten für das CHDSKM-Syndrom aus der Literatur (p.Tyr226Cys und p.Ala337Thr; Wang et al., 2017) in einen Vektor mit C-terminalen myc-Anhang ein. Um den Nachweis mit einem Anti-myc-Antikörper zu ermöglichen, wurde das Stoppcodon in einen offenen Leserahmen (engl. open reading frame (orf)) geändert. Die verkürzte Mutante wird im Folgenden als

p.Leu69orf-myc bezeichnet. Im Western Blot konnte die Expressierbarkeit der klonierten *ABL1*-Konstrukte durch Überexpression in HEK 293T-Zellen nachgewiesen werden (Abb. 16). Insbesondere konnte so gezeigt werden, dass das verkürzte Konstrukt *ABL1*-p.Leu69orf-myc nicht dem sofortigen Abbau in der Zelle unterliegt. Der anti-*ABL1*-Antikörper erkennt das Carboxylende des Proteins. Somit wird p.Leu69orf-myc nicht von diesem Antikörper, sondern nur vom Anti-myc-Antikörper mit einer erwarteten Masse von circa 8,5 kDa detektiert (Abb. 16). p.Ala337Thr weist nach Normalisierung gegen beta-Aktin ein verstärktes Signal auf (Abb. 16).

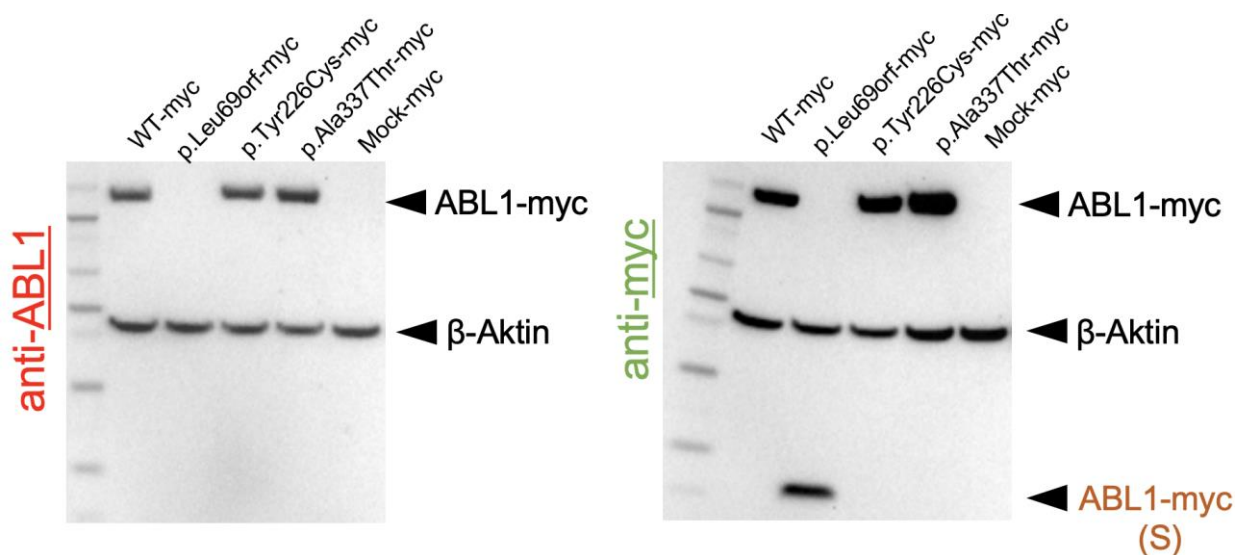


Abb. 16: Nachweis von *ABL1*-p.Leu69orf-myc im Western Blot. Überexpression von *ABL1*-WT-myc, *ABL1*-p.Leu69orf-myc, *ABL1*-p.Tyr226Cys-myc, *ABL1*-p.Ala337Thr-myc und dem leeren Vektor (Mock-myc) in HEK 293T-Zellen führte zur Detektion der WT und Missense-Konstrukte durch einen anti-*ABL1* Antikörper bei einer erwarteten Masse von circa 120 kDa. Der Anti-myc Antikörper erkannte WT und Missense-Konstrukte ebenfalls bei circa 120 kDa. Das kurze p.Leu69orf-myc-Konstrukt wurde bei circa 8,5 kDa detektiert. p.Ala337Thr wies nach Normalisierung gegen beta-Aktin ein verstärktes Signal auf. S, short (dt. kurz).

IF-Färbungen in HEK 293T-Zellen ergaben ein Signal für die *ABL1*-WT-myc, *ABL1*-p.Tyr226Cys-myc und *ABL1*-p.Ala337Thr-myc Konstrukte an der Zellmembran (Abb. 17A). Im Gegensatz hierzu lag für die *ABL1*-p.Leu69orf-myc-Mutante ein zytoplasmatisches retikuläres Expressionsmuster vor (Abb. 17A).

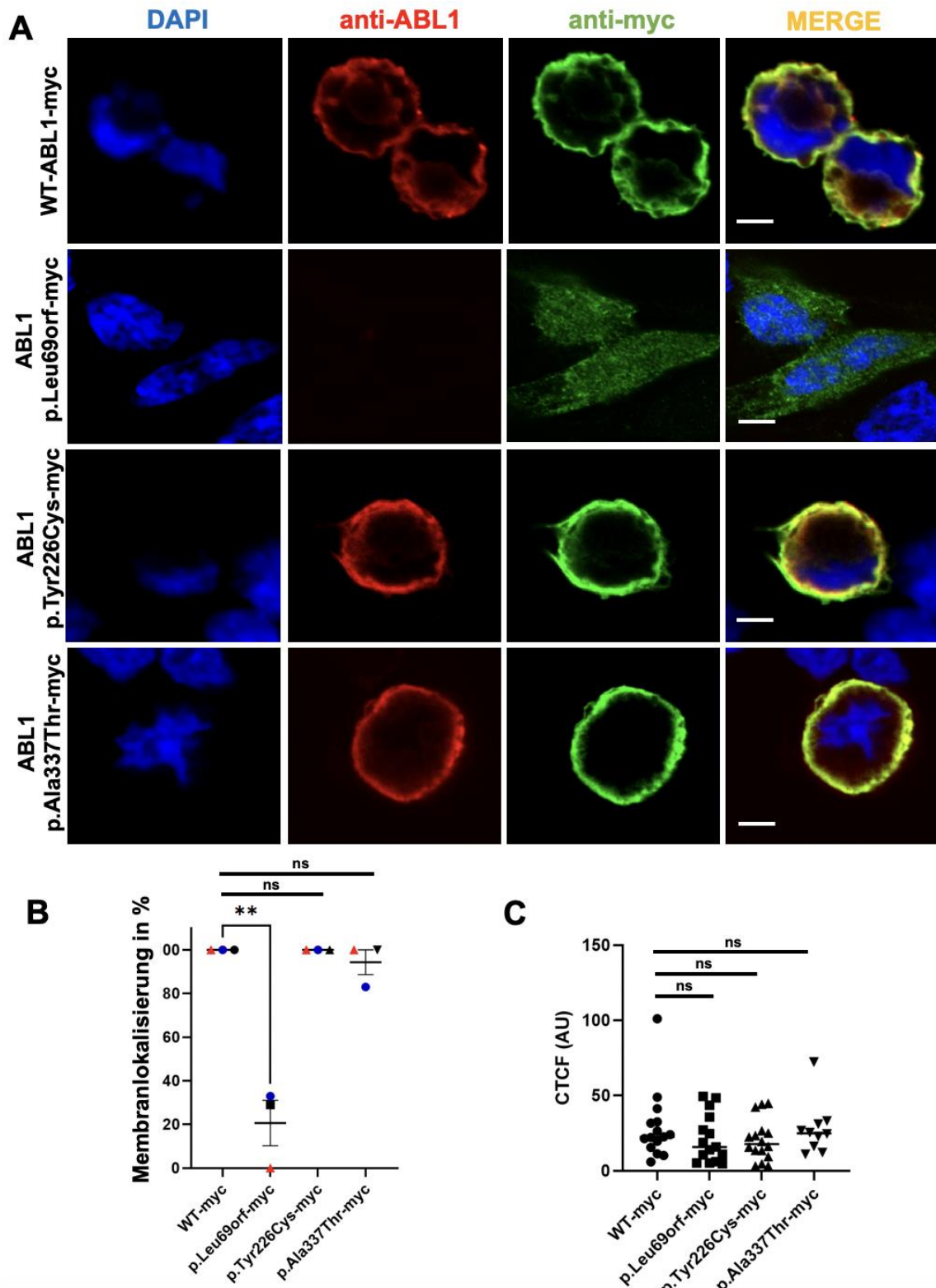


Abb. 17: ABL1-p.Leu69orf-myc zeigte eine aberrante subzelluläre Lokalisation. A) Repräsentative IF-Bilder, die die zelluläre Lokalisation von überexprimierten myc-markierten WT und mutierten ABL1 in HEK 293T-Zellen zeigen. Das Membransignal für die Konstrukte ABL1-WT-myc, ABL1-p.Tyr226Cys-myc und ABL1-p.Ala337Thr-myc wurde mit Anti-ABL1- und Anti-myc-Antikörpern nachgewiesen. Die Überexpression der

ABL1-p.Leu69orf-myc-Mutante führte zu einem zytoplasmatischen retikulären Expressionsmuster. B) Das Diagramm stellt die durchschnittliche Membranlokalisierung dreier unabhängiger Experimente dar. Für jedes Experiment wurden die transfizierten Zellen auf Membranfärbung untersucht. 100 % der mit WT-ABL1 transfizierten Zellen wiesen Membranfärbung auf. Im Gegensatz dazu wiesen nur circa 21 % der Zellen mit der p.Leu69orf-myc-Mutante eine Membranfärbung auf. C) Für die korrigierte Gesamtzellfluoreszenz (CTCF) wurden keine Unterschiede zwischen WT- und mutierten myc-markierten ABL1-Konstrukten festgestellt. Die Fehlerbalken stellen den SEM-Wert für drei Experimente dar. **p-Wert 0,0016; ns; nicht signifikant. Maßstab: 5 μ m.

Die Quantifizierung der Membranlokalisierung der mutierten Konstrukte im Vergleich zum WT zeigte eine signifikant reduzierte Membranlokalisierung für ABL1-p.Leu69orf-myc (Abb. 17B). Die Abweichung der subzellulären Lokalisation weist auf einen Funktionsverlust hin. Es konnten keine Unterschiede in der Gesamtfluoreszenz zwischen den verschiedenen ABL1-Konstrukten gemessen werden, was für eine vergleichbare Expression spricht (Abb. 17C).

Das beobachtete feingepunktete netzartige Muster der ABL1-p.Leu69orf-myc Mutante erinnerte an das des Endoplasmatischen Retikulums (ER) oder des Autophagosoms. Daher untersuchten wir die Kolo-kalisation der Mutante jeweils mit einem ER-(Calreticulin) und Autophagosom (LC3B)-Marker in IF (Abb. 18). Die fein gepunkteten Musterungen zeigten jedoch kein überlappendes Signal (Abb. 18).

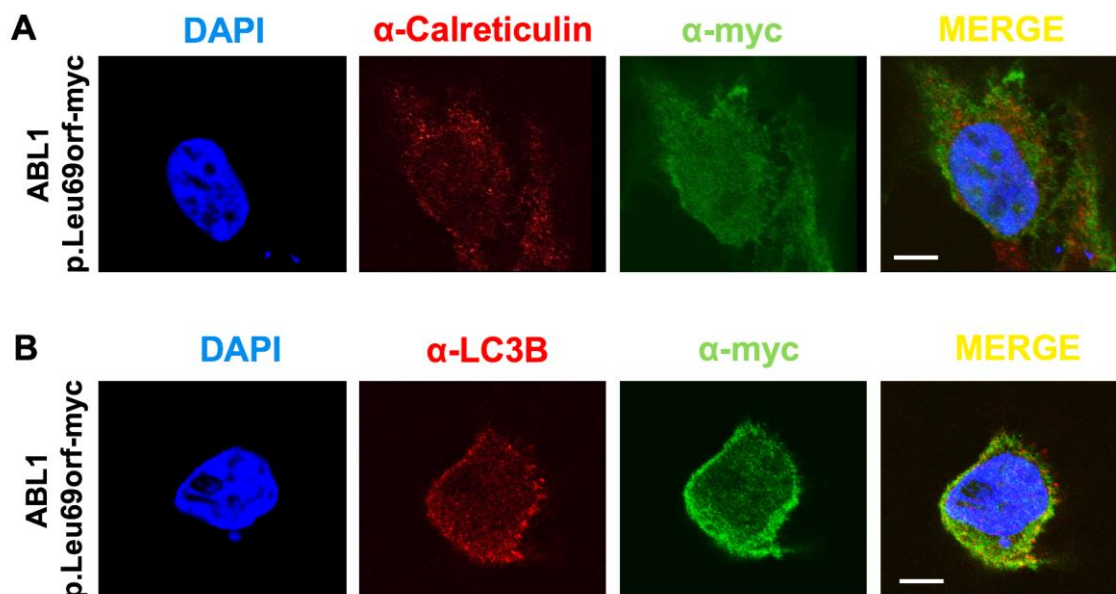


Abb. 18: ABL1-p.Leu69orf-myc zeigte kein überschneidendes Signal mit ER oder Autophagosom. A-B) Kolo-kalisierungsstudien für zytoplasmatische Organellenmarker

(ER: Calreticulin; Autophagosom: LC3B; jeweils in rot) zeigten kein überlappendes Signal mit ABL1-p.Leu69orf-myc (grün). Maßstab: 5 µm.

3.3.3 *ABL1* während der Bauchwandentwicklung

Als nächstes untersuchten wir die Beteiligung von *ABL1* an der Bauchwandentwicklung. Zu diesem Zweck führte unser Kooperationspartner Prof. Dr. Adrian Woolf immunhistochemische Färbungen in Transversalschnitten des Rumpfes zweier humaner Embryonen (45-47 Tage nach der Befruchtung, Carnegie-Stadium 19) durch. Zu diesem Zeitpunkt findet der physiologische Nabelbruch statt und der Dünndarm befindet sich im Nabelzölon. Unser Kooperationspartner konnte die Expression von *ABL1* in den sich um die Nabelschnurgefäße befindenden Fibroblasten, im Epithel des physiologisch prolabierte Dünndarms, in der Epidermis und den mesenchymartigen Zellen der ventralen Oberfläche des embryonalen Rumpfes erkennen (Abb. 19). Darüberhinaus war es möglich beide *ABL1*-Transkripte (*ABL1*-201 und *ABL1*-202) durch RT-PCR und anschließende Sanger-Sequenzierung zum Zeitpunkt der Geburt im humanen Nabelschnurgewebe zu verifizieren (Abb. 19F).

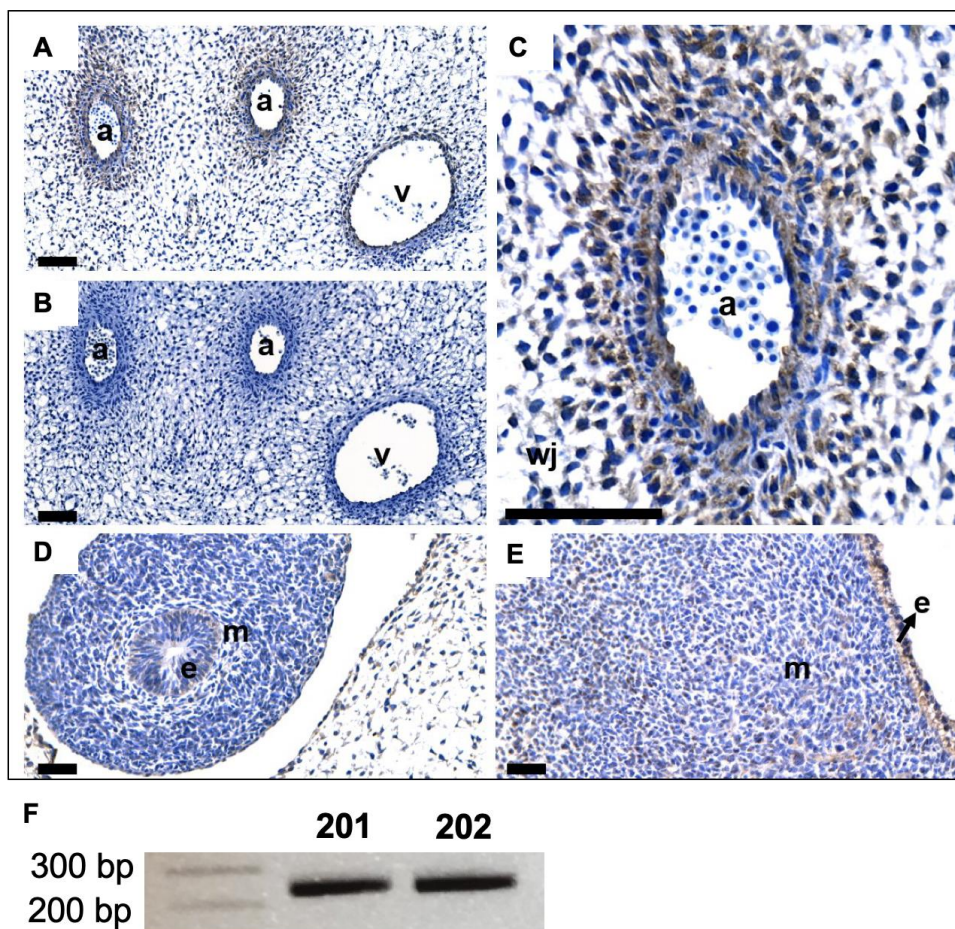


Abb. 19: Expression von ABL1 während des physiologischen Nabelbruchs im humanen Embryo im Carnegie-Stadium 19. Positive Immunfärbung für ABL1 ist in braun markiert. Die Zellkerne sind mit Hämatoxylin in blau gegengefärbt A) Der anti-ABL1 Antikörper färbt Fibroblasten um die Nabelschnurgefäße. B) Keine positive Färbung konnte für die Sekundärantikörper-Kontrolle detektiert werden. C) ABL1-Expression konnte in der Nabelarterie und in den umliegenden Fibroblasten der Wharton-Sulze festgestellt werden. D) ABL1 wurde im Epithel des physiologisch herniierten Dünndarms nachgewiesen. E) Das Epithel der ventralen Oberfläche des Rumpfes zeigte eine positive Färbung für ABL1, ebenso wie Zellen des darunterliegenden Mesenchyms. F) Mittels RT-PCR konnte in der Nabelschnur eines gesunden Neugeborenen die Expression von beiden ABL1-Transkripten (ABL1-201 und ABL1-202) bestätigt werden. a, Arterie; e, Epithel; m, Mesenchym; v, Vene; wj, Wharton's jelly (Wharton-Sulze). Maßstab: 40 μ m A-E: durchgeführt im Woolf Labor.

Zusätzlich führten wir Expressionsanalysen mittels *in situ* Hybridisierungen in Mausembryonen um den Embryonaltag 14,5 durch. Dieser Zeitpunkt liegt kurz vor dem finalen Bauchwandverschluss um die Embryonalstage 15,5-16,5 (Brewer und Williams, 2004). Dabei stellten wir mit einer *Abl1*-Antisense Sonde eine starke Färbung der Nabelschnur fest (Abb. 20A). *Abl1* war ebenfalls im Gehirn, in den Extremitäten, im Schwanz und dem äußeren Genital nachweisbar (Abb. 20A). Zur Evaluierung der Expression von *Abl1* in den Strukturen der Bauchdecke um den Nabel herum wurde die Nabelschnur entfernt. Eine Expression in der Bauchwand konnte jedoch nicht festgestellt werden (Abb. 20B). Die *Abl1*-Sense-Kontroll-Sonde zeigte keine Färbungen und belegte damit die Spezifität der beobachteten Färbungen (Abb. 20C).

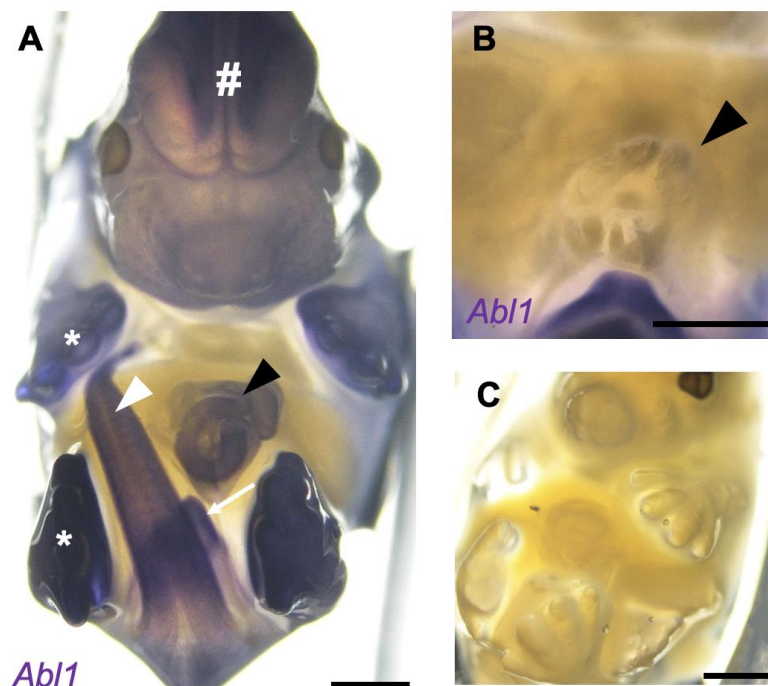


Abb. 20: Wholemound *in situ* Färbung in Mausembryonen wies *Ab11* in der Nabelschnur nach. A) An Tag 14,5 der Embryonalentwicklung konnte eine positive Färbung für *Ab11* in der Nabelschnur (schwarze Pfeilspitze) nachgewiesen werden. Außerdem wurde eine positive Färbung im Gehirn (#), den Gliedmaßen (*), dem äußeren Genital (weißer Pfeil) und dem Schwanz (weiße Pfeilspitze) festgestellt. B) Nach Entfernung der Nabelschnur zeigten der Nabelstamm und die Bauchwand keine positive Färbung für *Ab11*. C) Die *Ab11*-Sense-Kontrolle zeigte kein Signal. Maßstab: 1.000 µm.

4. Diskussion

4.1 Beteiligung von *de novo* Varianten an der CAKUT-Pathogenese

Die ES-Studie wurde in der - unseres Wissens nach - größten internationalen CAKUT-Kohorte durchgeführt. Diese umfasste 731 Familien, die sich wie folgt zusammensetzten: 2 Multiplex-Familien, 256 Trios, 52 Duos, 18 Geschwisterpaare und 403 Singletons. Unsere Ergebnisse zeigen, dass der Anteil potenziell neuer einzelner Kandidatengene in der ES-Analyse zunahm, wenn zusätzlich Familienmitglieder rekrutiert wurden (Abb. 7, rote Segmente). Im Vergleich zu einer früheren ES-Studie aus dem Hildebrandt Labor konnte somit die Rate der einzelnen Kandidatengene mehr als verdoppelt werden (van der Ven et al., 2018b). Van der Ven et al. identifizierten bei 8 % der untersuchten 232 CAKUT-Familien Varianten in einem einzelnen Kandidatengen (van der Ven et al., 2018b). Die Kohorte bei van der Ven et al. setzte sich fast ausschließlich aus Singletons zusammen (van der Ven et al., 2018b). Folglich ist die Detektionsrate vergleichbar mit den 12,16 % der 403 Singletons aus unserer aktuellen Kohorte (Abb. 7B, rotes Segment). Die größere genetische Gesamtausbeute von knapp 20 % in unserer Studie erklärt sich dadurch, dass wir neben homozygoten Varianten zusätzlich auf compound-heterozygote, *de novo* und gegebenenfalls dominant-heterozygote Varianten (abhängig von der Familienanamnese) untersuchen konnten. Dies wurde durch den Einschluss weiterer Familienmitglieder in die ES-Analyse ermöglicht. Es ist daher ratsam, Familienmitglieder, insbesondere die Eltern der Betroffenen, in die genetische Untersuchung einzubeziehen.

CAKUT verursachende *de novo* Varianten in *HNF1B* treten bei knapp der Hälfte der Betroffenen auf. (Heidet et al., 2010). Eine Studie von Bekheirnia et al. konnte darüberhinaus *de novo* Varianten in *FOXP1* bei 6 Personen mit syndromalen CAKUT nachweisen (Bekheirnia et al., 2017). In einer ähnlichen Studie identifizierten Connaughton et al. bei 15 nicht miteinander verwandten CAKUT-Familien heterozygote Varianten in dem Gen *ZMYM2*, die den Funktionsverlust des Genprodukts verursachten (Connaughton et al., 2020). Die meisten dieser Varianten traten als *de novo* Varianten auf (Connaughton et al., 2020). Außerdem konnte die Interaktion von *ZMYM2* mit *FOXP1* in dieser Studie bestätigt werden (Connaughton et al., 2020). Durch die Trioanalyse können *de novo* Varianten identifiziert werden, die folglich maßgeblich zur genetischen

Landschaft von CAKUT beitragen (Heidet et al., 2010; Jin et al., 2017; Wang et al., 2017; Bekheirnia et al., 2017; Connaughton et al., 2020; Kolvenbach et al., 2023a). Unsere Studie ist die erste systematische ES-Evaluierung einer CAKUT-Kohorte auf *de novo* Varianten. Hierbei konnten insgesamt 45 neue Kandidatengene identifiziert werden (Abb. 8). Darüber hinaus wurde ein Ansatz entwickelt, um die entdeckten Kandidatengene mit *de novo* Varianten anhand von definierten Kategorien zu priorisieren (Abb. 8). Dabei erreichte unter anderem *SOX13* die höchste Punktzahl und stellt somit ein vielversprechendes neues CAKUT-Kandidatengen dar (Abb. 8-9).

Unsere Ergebnisse untermauern die Bedeutung von *de novo* Varianten für CAKUT und liefern letztlich neue Erkenntnisse über die zugrundeliegende Pathogenese der Erkrankung. Etwa die Hälfte der Gene, die beim Menschen CAKUT auslösen, wird autosomal dominant vererbt (van der Ven et al., 2018a; Kolvenbach et al., 2023a). Dies macht die Evaluierung heterozygoter Varianten in der genetischen Untersuchung erforderlich. Jedoch bleiben die Interpretation und Priorisierung verbleibender heterozygoter Varianten aufgrund ihrer großen Anzahl nach Anwendung von ES-Filterritten schwierig. Darüber hinaus kommen dominante Krankheitsgene für CAKUT vermutlich häufiger in der Bevölkerung vor, bleiben aber aufgrund der variablen Expressivität und der unvollständigen Penetranz unentdeckt (Kolvenbach et al., 2023a). *De novo* Varianten sind extrem selten, sodass zu ihrer Identifizierung große Kohorten erforderlich sind (Kolvenbach et al., 2023a). Ihre Entdeckung kann jedoch von Nutzen sein, um auf neue CAKUT-Gene hinzuweisen, die einem dominanten Erbgang folgen (Kolvenbach et al., 2023a). Die ES-Analyse auf *de novo* Varianten fördert folglich die Entdeckung neuer menschlicher CAKUT-Gene mit dominantem Erbgang in erheblichem Maße und gibt Aufschluss über die komplexe Pathophysiologie von CAKUT (Kolvenbach et al., 2023a). Zusätzlich stellen *de novo* Varianten eine mögliche Erklärung für genetisch ungelöste Fälle von CAKUT dar (Kolvenbach et al., 2023a). Dies gilt insbesondere für sporadisch (ohne Familienanamnese) auftretende Fälle, was wiederum auf eine mögliche Beeinträchtigung der Fortpflanzungsfunktion hinweist (Kolvenbach et al., 2023a). In unserer Studie konnten wir keine Korrelation zwischen der Schwere der Phänotypen und dem Auftreten von *de novos* feststellen.

4.1.1 SOX13 als neues Kandidatengen für CAKUT

SOX13 gehört wie sein Paralog SOX11 zur SOX-Familie. SOX11 kommt durch die Regulierung von GDNF eine entscheidende Rolle bei der Nephrogenese zu (Abb. 3; Neirijnck et al., 2018). Single cell RNA-Sequenzierdaten aus einer fetalen Niere zeigten übereinstimmend die starke Expression von SOX11 in der MK (Wang et al., 2018). Interessanterweise wird SOX13 ebenfalls hauptsächlich in der MK exprimiert (Wang et al., 2018). Dies lässt vermuten, dass SOX13 und SOX11 eine ähnliche oder überschneidende Funktion bei der Regulierung der GDNF-Signalübertragung und der resultierenden Nephronbildung haben. Eine ähnliche Hypothese zur überlappenden Funktion von Paralogen während der Nieren- und Harnwegsentwicklung wurde ebenfalls bereits von Prof. Dr. Hildebrandts Arbeitsgruppe vorgeschlagen (Zheng et al., 2022). In der Literatur finden sich fünf FOX-Transkriptionsfaktoren, die, wenn mutiert, an der Pathogenese von CAKUT beteiligt sind (Zheng et al., 2022). Daher vermuteten Zheng et al., dass weitere FOX-Paraloge mit Expression während der Nephrogenese für die Entstehung von CAKUT verantwortlich sein könnten (Zheng et al., 2022). Sie konnten bei der ES-Analyse von CAKUT-Familien drei weitere monogene FOX-Kandidatengene identifizieren: FOXL2, FOXA2 und FOXA3 (Zheng et al., 2022). Diese Erkenntnisse unterstreichen die Nützlichkeit eines auf Paralogen basierenden Ansatzes zur Entdeckung neuer Kandidatengene (Zheng et al., 2022; Kolvenbach et al., 2023a). Diese CAKUT-Familien sind Bestandteil unserer hier analysierten CAKUT-Kohorte und in Tabellen 1, 4 und Abbildung 10 aufgeführt (Tab. 1 und 4; Abb. 10). Gleichwohl sind weitere funktionelle Studien erforderlich, um den spezifischen Mechanismus der Transkriptionsregulierung durch SOX13 zu klären.

4.1.2 Besonderheiten bei der Kandidatengenidentifizierung

Obwohl die Anzahl der Gene, die mit CAKUT assoziiert sind in den letzten Jahren zugenommen hat, bleibt der Einfluss auf die Rate der genetisch gelösten Fälle recht gering (van der Ven et al., 2018b; Seltzsam et al., 2022). Dies lässt sich vermutlich auf die Seltenheit der neuen und erst kürzlich entdeckten Gene zurückführen (Kolvenbach et al., 2023a). Denn pathogene Varianten in diesen erklären die CAKUT-Klinik in vermutlich nur einigen wenigen Familien. Um ein Kandidatengen als Krankheitsgen deklarieren zu können, bedarf es funktioneller Studien, die den Einfluss des Gens auf die Nieren- und

Harnwegsentwicklung und die Pathogenität der identifizierten Varianten nachweisen (Connaughton et al., 2020; Elmubarak et al., 2024). Um den experimentellen Aufwand einer Gencharakterisierung zu rechtfertigen, bedarf es jedoch meist mehrerer Allelträger in der Ausgangslage (Elmubarak et al., 2024). Dennoch ist es ebenso wichtig, dass über neue Kandidatengene mit nur einem oder wenigen Allelträgern berichtet wird, da sie seltene Ursachen einer Erkrankung darstellen können (Kolvenbach et al., 2023b; Elmubarak et al., 2024). Unterstützt werden kann ihr potenzieller Einfluss auf die Krankheitsentstehung durch Evidenz aus der Literatur, z. B. über die Proteinfunktion und computerbasierte *in silico* Vorhersagen über den Effekt der entdeckten Varianten (Kolvenbach et al., 2023b; Elmubarak et al., 2024). Pathogene Varianten in den Genen KN Motif And Ankyrin Repeat Domains 1 (*KANK1*) und Crumbs Cell Polarity Complex Component 2 (*CRB2*) verursachen steroidresistentes nephrotisches Syndrom im Kindesalter, eine Erkrankung der Niere, die zu massiver Proteinurie und Ödemen führt (Gee et al., 2015; Ebarasi et al., 2015; Elmubarak et al., 2024). Initial wurden für *KANK1* nur 1 und für *CRB2* 4 Familien entdeckt (Gee et al., 2015; Ebarasi et al., 2015; Elmubarak et al., 2024). Mittlerweile sind 7, beziehungsweise 31 Familien, in der Datenbank HGMD® eingetragen. Der initiale Bericht eines Kandidatengens kann daher als Grundlage für spätere genetische Entdeckungen dienen (Elmubarak et al., 2024). Dies gilt in diesem Zusammenhang insbesondere für *SOX13*, *ETV4* und die in Tabelle 4 zusätzlich aufgeführten, erst kürzlich etablierten CAKUT-Gene („Gen publiziert“; Tab. 4).

4.1.3 Genetische Diagnostik und Therapie

Das Wissen um die genetische Diagnose erlaubt eine personalisierte medizinische Beratung für eine verbesserte klinische Versorgung und die zukünftige Familienplanung. Die Interpretation einzelner Varianten stellt jedoch eine Herausforderung dar (z. B. bei unvollständiger Penetranz). Außerdem gibt es derzeit nur begrenzte Behandlungsmöglichkeiten für CAKUT, welche sich meist auf die Symptomkontrolle und den Erhalt der Nierenfunktion konzentrieren (Nakai et al., 2003; Rosenblum et al., 2022). Eine Gensatztherapie (engl. Gene Replacement Therapy (GRT)) stellt eine vielversprechende Methode zur Behandlung erblicher monogener Krankheiten dar (Odiba et al., 2021). Das Prinzip dieses Ansatzes beruht darauf, dass fehlende oder funktionslose Genprodukte in der erkrankten Zelle ersetzt werden. Dies wird etwa durch die

Verwendung eines Adeno-assoziierten Virus (AAV) erreicht (Odiba et al., 2021). Diese Therapieform wurde bereits erfolgreich bei der spinalen Muskelatrophie (Zolgensma® von Novartis) angewandt und bietet eine potenzielle Behandlungsmöglichkeit für die Formen von CAKUT, die durch pathogene Allele in rezessiven Krankheitsgenen verursacht werden (Mendell et al., 2017; Kolvenbach et al., 2023a).

Ebenfalls können RNA-Therapeutika, die in die Zellprozesse der Genregulation eingreifen, zukünftig eine Rolle bei der Behandlung von CAKUT spielen (Zhu et al., 2022). So können Boten (engl. messenger (m))-RNA-basierte Ansätze durch direkte Translation in der Zielzelle ebenfalls ein fehlendes Genprodukt ersetzen (Zhu et al., 2022). Die bekanntesten Vertreter dieser Gruppe sind derzeit sicherlich die mRNA-Impfstoffe, die seit der Corona-Pandemie eingesetzt werden (Zhu et al., 2022). Daneben existieren RNA-Aptamere, die wie ein Antikörper ein Protein spezifisch binden und dessen Funktion beeinflussen können (Zhu et al., 2022). RNA-Aptamere könnten folglich einen Allel-spezifischen therapeutischen Ansatz für dominant-negative Allele bieten, bei der das mutierte Allel die normale Funktion des WT unterdrückt (Carvill et al., 2021; Zhu et al., 2022). Antisense-Oligonukleotide (ASOs) binden mRNA und können somit Spleißen modulieren und die Proteinexpression regulieren (Carvill et al., 2021; Zhu et al., 2022; Kolvenbach et al., 2023a). Somit könnten ASOs ebenfalls einen Allel-spezifischen therapeutischen Ansatz für dominant-negative Allele bieten (Kolvenbach et al., 2023a). Bisher werden ASOs insbesondere für neuromuskuläre Erkrankungen getestet (Rinaldi und Wood, 2018). Darüber hinaus gibt es erste Studien zur Anwendung von ASOs im Mausmodell zur Behandlung von autosomal dominanter tubulointerstitieller Nierenerkrankung verursacht durch dominant-negative Varianten in *Umod* (Morgan et al., 2022). RNA-Interferenz (RNAi) wird durch kleine interferierende RNA (engl. small interfering RNA (siRNA)) und microRNA (miRNA) vermittelt, was eine spezifische Erkennung von mRNA-Sequenzen erlaubt (Zhu et al., 2022). Durch komplementäre Bindung an die mRNA wird diese der Translation entzogen und letztendlich abgebaut (Zhu et al., 2022). Diese Methode könnte zukünftig ebenfalls zum Abbau einer fehlerhaften mRNA genutzt werden.

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)-basierte Ansätze zur Genom-Editierung wären ebenfalls ein denkbarer Ansatz für die Korrektur krankheitsverursachender Varianten im humanen Genom (Alayoubi et al., 2023). Desgleichen werden derzeit CRISPR Aktivierungs- oder Inhibierungsansätze (engl. CRISPR activation and interference (CRISPR AI)) zur Regulierung der Promoteraktivität des gewünschten Gens erforscht (Matharu et al., 2019; Kolvenbach et al., 2023a; Carroll und Giacca, 2023).

Allerdings stecken diese Methoden und deren zuverlässige und vor allem sichere Anwendung noch in den Kinderschuhen. So müssen unbedingt Langzeitfolgen, Einfluss auf das Immunsystem und Off-Target (ungewollte Veränderungen im Nicht-Zielbereich)-Effekte der potenziellen Therapien erforscht werden. Obwohl es sich bei CAKUT um eine angeborene Fehlbildung handelt, könnten Gentherapien die Nierenfunktion aufrechterhalten und den Krankheitsverlauf verlangsamen (Kolvenbach et al., 2023a). Dong et al. belegten, dass die Re-Expression von *Pkd2*, ein Gen für polyzystische Nierenerkrankungen, im *Pkd2* knockout Mausmodell sogar zu einer Umkehrung des Phänotyps führt (Dong et al., 2021). Dies weckt Hoffnung auf eine gewisse Plastizität der Niere, sich von Schäden in der Gewebsstruktur erholen zu können (Dong et al., 2021; Kolvenbach et al., 2023a). Nichtsdestotrotz bleibt die Bestimmung des idealen Zeitpunkts für eine Intervention schwierig (Palanki et al., 2021; Kolvenbach et al., 2023a). Außerdem bedürfen die zielgerichtete Administration und das Erreichen der betroffenen Zell- oder Gewebekomponenten durch die verschiedenen therapeutischen Ansätze weiterer Erforschung (Palanki et al., 2021; Kolvenbach et al., 2023a).

4.1.4. Limitationen von ES

Ein Nachteil von ES ist, dass es nur die eingeschränkte Untersuchung der Daten auf CNVs erlaubt. Diese können je nach Studie zwischen 4-11 % der CAKUT-Fälle erklären (Sanna-Cherchi et al., 2012; Caruana et al., 2015; Westland et al., 2015; Cai et al., 2020; Kolvenbach et al., 2023a). So konnten Wu et al. belegen, dass die Kombination von ES- und CNV-Analyse die Rate einer genetischen Diagnose für CAKUT von 13 % durch ES alleine auf 18 % durch ES- und CNV-Analyse zusammen steigern konnte (Wu et al.,

2022). CNVs können somit einen weiteren Teil der hier genetisch ungelösten Fälle erklären.

Es gilt außerdem zu beachten, dass einige exonische Bereiche aufgrund einer geringen Anzahl an abdeckenden Reads (engl. low coverage) übersehen werden könnten (van der Ven et al., 2018b). Weiterhin können durch ES nur Varianten in Exons und in den Intron-Exon-Übergängen entdeckt werden (van der Ven et al., 2018b). Tief intronisch gelegene Varianten, die z. B. Einfluss auf das Spleißgeschehen haben, können dadurch nicht detektiert werden (van der Ven et al., 2018b). Allerdings zeigen bisherige Studien, dass circa 90 % der Varianten mit signifikantem Einfluss innerhalb proteinkodierender Exons auftreten (Lifton, 2010).

Dennoch könnte die Evaluierung von Genom-Daten zur Aufklärung der restlichen circa 50 % genetisch ungelösten CAKUT-Fälle beitragen, da sie gleichzeitig eine Varianten- und CNV-Analyse der kodierenden und nicht-kodierenden Bereiche erlauben (Kolvenbach et al., 2023a). So konnten beispielsweise nicht-kodierende Varianten in dem Gen T-Box Transcription Factor 6 (*TBX6*) bei zwei CAKUT-Patienten identifiziert werden, die durch veränderte Spleißeffizienz die Genexpression beeinflussten (Dong et al., 2019). Allerdings ist die Anzahl an verbleibenden Varianten nach initialer Filterung bei Genom-Sequenzierdaten 100-mal höher als bei ES, was die Priorisierung von Varianten erschwert (Kolvenbach et al., 2023a). Ebenfalls bleibt die Interpretation nicht-kodierender Varianten oft unklar (Kolvenbach et al., 2023a). Dazu kommen hohe Kosten und Voraussetzung an die Infrastruktur, die den Einsatz von Genom-Sequenzierungen schwierig gestalten (Kolvenbach et al., 2023a). Aus den genannten Gründen ist ein Einsatz in der Klinik bisher ebenfalls nicht standardmäßig etabliert. Zukünftig können Genom-Sequenzierungen jedoch zur genetischen Routinediagnostik beitragen. Daneben kann die Transkriptom-Analyse durch RNA-Sequenzierung Rückschlüsse auf eine veränderte Gen- und folglich Proteinexpression während der Nephrogenese zulassen (Kolvenbach et al., 2023a). Die Transkriptom-Analyse ist bisher nicht Teil der genetischen Routinediagnostik, da sich die Gewinnung des betroffenen Gewebes für die Analyse oft schwierig gestaltet (Kolvenbach et al., 2023a). Zusätzlich können zukünftig Methoden wie z. B. Long-Read-Sequenzierungen eingesetzt werden, die die kontinuierliche Sequenzablesung längerer

DNA-Abschnitte als die der bisher angewandten Techniken gewährleisten und somit repetitive und komplexe Varianten detektieren können (Marx, 2023).

Im Gegensatz zu einem monogenen Ursprung der Erkrankung ist ebenfalls eine polygene Entstehung möglich. Es ist denkbar, dass Varianten in mehreren Genen (multigen) oder Modifiziergenen (engl. modifier genes), die das phänotypische Resultat einer primären pathogenen Variante verändern, zur Pathogenese und dem variablen CAKUT-Erscheinungsbild beitragen (Kolvenbach et al., 2023a). Die verbleibenden Fälle ohne eine genetische Diagnose können auf Umweltfaktoren, epigenetische Faktoren oder eine multifaktorielle Genese zurückzuführen sein (Kolvenbach et al., 2023a).

4.1.5 Fazit Teil 1

Zusammenfassend konnten wir 45 neue CAKUT-Kandidatengene mit *de novo* Varianten identifizieren. *SOX13* wurde hierbei als vielversprechendes CAKUT-Kandidatengen klassifiziert und ein Funktionsverlust für die beschriebene Variante *in vitro* nachgewiesen. Ebenfalls wurden Vorteile der Trioanalyse zur Kandidatengenidentifizierung aufgezeigt. Die Entdeckung neuer CAKUT-Gene erlaubt ein tiefergreifendes Verständnis der CAKUT-Pathogenese sowie die Verbesserung der Prävention, Therapie und des Managements dieser Erkrankung.

4.2 Varianten in *ETV4* sind eine seltene Ursache für CAKUT

In dieser Studie konnten wir durch ES-Analyse bei einem von PUV und Nierendysplasie betroffenen nigerianischen Mann eine bisher nicht beschriebene homozygote trunkierende Variante in *ETV4* identifizieren (Kolvenbach et al., 2023b). Vermutlich führt das frühe neue Stoppcodon durch Nonsense Mediated mRNA Decay (NMD, vorzeitiger Abbau einer fehlerhaften mRNA) zu einem vollständigen Verlust des Proteins. Als Transkriptionsfaktor spielt *ETV4* eine wesentliche Rolle in der GDNF-RET-Signalkaskade während der Nephrogenese (Abb. 3; Lu et al., 2009). Knockout Mäuse für *Etv4* zeigen CAKUT-Phänotypen, wie Nierenhypoplasie und Nierenagenesie (Lu et al., 2009). *etv4* knockdown in Zebrafischen führt zu pronephrischen Entwicklungsstörungen (Marra und Wingert, 2016). Allerdings konnte bisher nur eine CAKUT-Familie mit einer biallelischen Missense-Variante in *ETV4* beschrieben werden (Chen et al., 2016). Die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Hildebrandt konnte bei der funktionellen Untersuchung dieser Variante den

Verlust der DNA-Bindung des Transkriptionsfaktors in Gel-Shift-Experimenten nachweisen (Chen et al., 2016). Ebenfalls konnte das mutierte *ETV4*-Konstrukt die Transkription in Luciferase-Reporter-Untersuchungen nicht aktivieren (Chen et al., 2016). Darüber hinaus zeigte sich bei Untersuchung der Zellmigration in *Etv4* knockdown Zellen, dass die überexprimierte Mutante den Phänotyp nicht retten (Non-Rescue) konnte (Chen et al., 2016). Somit kann von der Pathogenität der Missense-Variante in *ETV4* ausgegangen werden (Chen et al., 2016). Daher vermuten wir, dass die hier gefundene frühe biallelische Nonsense-Variante in *ETV4* in B583-21 den CAKUT-Phänotyp verursachen kann. Vermutlich geschieht dies ebenfalls durch eine Beeinträchtigung der GDNF-RET-Signalkaskade (Abb. 3).

Wie bereits von Chen et al. und Kolvenbach et al. diskutiert, finden sich weder beim Betroffenen der Familie B24 noch bei der hier beschriebenen Familie B583 neben dem CAKUT-Phänotyp weitere klinische Auffälligkeiten (Chen et al., 2016; Kolvenbach et al., 2023b). Im Gegensatz dazu zeigen *Etv4* oder *Etv4;Etv5* compound-knockout Mäuse neben den Nierenfehlbildungen weitere Auffälligkeiten, wie z. B. Anomalien des Nervensystems oder der Extremitäten (Livet et al., 2002; Lu et al., 2009; Zhang et al., 2009). Diese aufgezeigte phänotypische Divergenz lässt sich vermutlich durch eine Kompensation von *ETV4* durch andere ETS-Proteine, wie z. B. *ETV5*, oder abweichende Rollen bei Mensch und Maus während der Entwicklung erklären (Chen et al., 2016; Kolvenbach et al. 2023b).

B583-21 präsentierte sich mit PUV und renaler Dysplasie (Kolvenbach et al., 2023b). Für Fehlbildungen der unteren Harnwege, z. B. der Harnblase und der Harnröhre, wird angenommen, dass diesen eine andere embryonale Pathogenese als die fehlgeleitete Kommunikation zwischen UK und MM zugrunde liegt (van der Ven et al., 2018a). Eine Hypothese postuliert, dass die fehlende oder fehlerhafte Integration der WG in die Harnröhre zu einer membranösen Falte führt, die eine Obstruktion im unteren Harntrakt verursacht (Stephens, 1955). Inwieweit *ETV4* bei diesem Prozess eine Rolle spielt, bleibt ungeklärt. Ob die beobachtete Nierendysplasie des Betroffenen B583-21 primär oder sekundär als Folge des Aufstaus durch die PUV entstanden ist, bleibt aufgrund der komprimierten medizinischen Befunde ebenfalls ungeklärt.

Das Allel p.Lys6* in *ETV4* wurde erstmals von Lu et al. im Zusammenhang mit der Entstehung von Krebs erwähnt (Lu et al., 2015). Lu et al. untersuchten eine Kohorte mit 4.034 Individuen - betroffen von einer von zwölf verschiedenen Krebsarten - auf Varianten in 624 mit Krebs assoziierten Genen und konnten die Variante p.Lys6* bei einer an Brustkrebs erkrankten Person identifizieren (Lu et al., 2015). Da jedoch keine funktionellen Studien durchgeführt wurden, die einen Zusammenhang zwischen der Entstehung von Krebs und dem Einfluss von *ETV4* hierbei nachwiesen, bleibt es unklar, ob die entdeckte Variante in *ETV4* an der Brustkrebsätiologie beteiligt ist (Kolvenbach et al., 2023b).

4.2.1 Bedeutung einer Variante in *BRCA1*

Zusätzlich detektierten wir in der Familie B583 eine inframe-Deletion einer Aminosäure in *BRCA1* (Kolvenbach et al., 2023b). Pathogene Varianten in *BRCA1* sind eine bekannte Ursache für autosomal dominant oder multifaktoriell vererbten familiären Brust- und Ovarialkrebs, Typ 1 (OMIM 604370), und autosomal rezessive Fanconi-Anämie, Komplementationsgruppe S (OMIM 617883). So konnten Ellis et al. in ihrer Patientenkohorte mit Brustkrebs eine Betroffene identifizieren, die ebenfalls das hier entdeckte Allel p.Ser616del in *BRCA1* trug (Ellis et al., 2000). Die Variante wurde jedoch mehrfach in ClinVar als gutartig bewertet (Kolvenbach et al., 2023b). Obendrein gibt es bisher keine Belege dafür, dass *BRCA1* Varianten mit CAKUT-Phänotypen assoziiert sind. Folglich gehen wir davon aus, dass die Variante in *BRCA1* nicht ursächlich für die CAKUT-Klinik von B583-21 ist (Kolvenbach et al., 2023b).

4.2.2 Fazit Teil 2

Maus- und Zebrafischmodelle für *Etv4/etv4* und die zuvor von Chen et al. veröffentlichte funktionelle Studie belegen die Rolle von *ETV4* bei der Entstehung von CAKUT (Lu et al., 2009; Chen et al., 2016; Marra und Wingert, 2016). Durch die Identifizierung einer zweiten CAKUT-Familie mit einer biallelischen Variante in *ETV4* bestätigen wir *ETV4* als sehr seltene monogene Ursache für isoliert autosomal rezessives CAKUT beim Menschen (Kolvenbach et al., 2023b).

4.3. Beteiligung von *ABL1* an der Entstehung der Omphalozele

Durch ES konnte in dieser Studie eine neue erweiterte Spleißvariante in *ABL1* (c.310+3A>C) in einer Multiplexfamilie mit 5 Betroffenen über 4 Generationen detektiert werden (Abb. 14). Beim Spleißvorgang werden die nicht-kodierenden Introns aus der transkribierten prä-mRNA entfernt und die Exons zur reifen mRNA zusammengefügt (Shenasa und Bentley, 2023). Als Signalsequenzen für das zuständige Spleißosom, ein Komplex aus RNA und verschiedenen Proteinen, dienen bestimmte Erkennungssequenzen an den Exon-Intron-Übergängen (Anna und Monika, 2018). Es wird dabei zwischen einem Spleißdonor (Exon-Intron-Übergang) und Spleißakzeptor (Intro-Exon-Übergang) unterschieden (Anna und Monika, 2018). Sind diese Erkennungssequenzen mutiert, kann es zu Veränderungen im Spleißvorgang kommen (Anna und Monika, 2018). Bei der Variante c.310+3A>C handelt es sich um eine Spleißdonor-Variante in der erweiterten Spleißsequenz mit einem *in silico* vorhergesagten Effekt von 53 %. Dieser erweiterte Donor-Verlust kann aufgrund der Nutzung eines alternativen Spleißdonors im Intron oder Exon entweder zu einem Verbleib eines Intronfragments oder zur Entfernung eines Exonfragments führen, die jeweils eine Trunkierung der mRNA verursachen können (Anna und Monika, 2018). Im Falle der hier detektierten Spleißvariante in Intron 2 lag der alternative Spleißdonor im davorliegenden Exon 2, was zu einem Verlust von 47 Basenpaaren und einem vorzeitigen Stoppcodon führte (Abb. 15).

Wie bereits erwähnt, sind heterozygote Missense-Varianten und eine inframe-Deletion in *ABL1* als Auslöser für das CHDSKM-Syndrom bekannt (Wang et al., 2017; Chen et al., 2020; Blakes et al., 2021). In der Literatur findet sich bisher keine Beschreibung von Fällen mit Omphalozele bei Betroffenen mit CHDSKM-Diagnose. Es gibt allerdings mehrere Berichte über Personen, die Nabelbrüche aufweisen oder bei denen eine Schwäche der Bauchmuskeln beobachtet wurde (Chen et al., 2020). Zudem wird in der Literatur im Rahmen des CHDSKM-Syndroms über funktionelle Dysmotilität und Malrotation des Darms berichtet (Wang et al., 2017; Chen et al., 2020). Diese klinischen Auffälligkeiten lassen sich möglicherweise als eine minimale Form der Omphalozele betrachten. Die klinische Evaluierung der Familie ergab keine phänotypischen Merkmale des CHDSKM-Syndroms bei den betroffenen Familienmitgliedern. Die Ausnahme bildete III-401, bei dem

sowohl eine Leisten- als auch eine Zwerchfellhernie diagnostiziert wurde, wobei Letztere ein phänotypisches Merkmal des CHDSKM-Syndroms ist (Wang et al., 2017; Chen et al., 2020). Diese klinische Überschneidung legt die Vermutung nahe, dass die hier entdeckte neue Spleißvariante in *ABL1* sowohl für die Zwerchfellhernie als auch für die Omphalozele ursächlich sein könnte, beides Verschlussdefekte von Körperhöhlen. Dies stärkt die Vermutung des Einflusses von *ABL1* auf die Bauchwandentwicklung. Beim CHDSKM-Syndrom treten Fehlbildungen der Gliedmaßen und des Genitals auf (Wang et al., 2017; Chen et al., 2020). Daher bekräftigt die Expression von *Ab11* im Mausembryo, die sowohl in der Nabelschnur als auch in den Extremitäten und dem Genital detektiert wurde, die Beteiligung von *ABL1* bei der Omphalozele und den CHDSKM-Fehlbildungen.

Die Unterschiede in der klinischen Ausprägung, beziehungsweise zwischen einer syndromalen und isolierten Form der Phänotypen, können durch unterschiedliche zugrunde liegende genetische Pathomechanismen erklärt werden. Im Falle des CHDSKM-Syndroms konnte für einige der Missense-Varianten eine Zunahme der Phosphorylierung durch ABL1 gezeigt werden, also ein abnormaler Funktionsgewinn des mutierten Proteins im Vergleich zum WT (*gain-of-function*; Wang et al., 2017; Chen et al., 2020; Blakes et al., 2021). Aufgrund dieses toxischen Funktionsgewinns kommt es zu einer schwerwiegenden syndromalen Klinik der Allelträger. Passend hierzu handelt es sich bei vielen der bisher bekannten Varianten um *de novo* Varianten (Wang et al., 2017; Chen et al., 2020). Dies lässt sich mit einer eingeschränkten Fitness der Allelträger bei der schwerwiegenden syndromalen Ausprägung des CHDSKM-Syndroms vereinbaren.

Im Gegensatz dazu verursacht die hier identifizierte erweiterte Spleißvariante ein stark verkürztes Protein, das höchstwahrscheinlich keine Funktion mehr besitzt (*loss-of-function*). Daher kann bei dieser Variante vermutlich von Haploinsuffizienz als zugrunde liegender Krankheitsmechanismus ausgegangen werden. Wahrscheinlich reicht die Menge an WT-Protein nicht aus, um die regelrechte ABL1-Funktion aufrecht zu erhalten. Da dabei die überschießende *gain-of-function*-Funktion ausbleibt, kommt es hier zu einer mildereren isolierten Symptomatik der Allelträger ohne Einschränkung der Reproduktivität. Gestützt wird diese Überlegung zweier möglicher Pathomechanismen durch das Krankheitsbild der Osteogenesis imperfecta. Pathogene Missense-Varianten in Collagen

Type I Alpha 1 Chain (*COL1A1*) lösen die schwerste Form der Erkrankung aus, wohingegen trunkierende Varianten eine mildere Form hervorrufen (Marini et al., 2007; Ben Amor et al., 2013). Dass der Schweregrad eines Allels das Ausmaß des Phänotyps bestimmt, ist ebenfalls für CAKUT beschrieben. Trunkierende Varianten in den Genen, die für den Fraser-Komplex kodieren, verursachen syndromales CAKUT (Abb. 3; Kohl et al., 2014). Hypomorphe Allele dahingegen, also z. B. inframe-Deletionen oder -Insertionen, rufen ein isoliertes CAKUT-Erscheinungsbild hervor (Kohl et al., 2014).

Weitere Hinweise auf eine Beteiligung von *ABL1* bei der Omphalozelen-Entstehung bieten Berichte über multiple Fehlbildungen, einschließlich Omphalozelen, bei Kindern, deren Mütter während der Schwangerschaft Imatinib erhielten (Pye et al., 2008). Bei Imatinib handelt es sich um einen Tyrosinkinase-Inhibitor, der zur Behandlung der CML beim Vorliegen eines BCR-ABL-Fusionsgens eingesetzt wird, um die überschießende Phosphorylierung der Kinase zu inhibieren (Druker et al., 1996). Imatinib kann ebenfalls die Phosphotyrosinkinase-Aktivität von *ABL1* inhibieren (Blakes et al., 2021). Daher kann die Hypothese formuliert werden, dass eine normale *ABL1*-Funktion für eine regelrechte embryonale Entwicklung benötigt wird (Pye et al., 2008).

Im Humanen Proteinatlas (engl. Human Protein Atlas; <https://www.proteinatlas.org/>) wird eine nukleoplasmatische subzelluläre Lokalisation für *ABL1* gezeigt. Für das Transkript *ABL1-202* ist jedoch bekannt, dass es durch die Myristoylierung eines N-terminal gelegenen Glycins zu einer Bindung an die Plasmamembran kommt (Hantschel et al., 2003; Wang et al., 2017; Blakes et al., 2021). Unter Myristoylierung versteht man das Anhängen von Myristinsäure an N-terminale Glycinreste von Proteinen, eine posttranslationale Modifikation, die der Proteininteraktion oder der Bindung an Membranen dient (Hantschel et al., 2003; Wang et al., 2017; Blakes et al., 2021). Wang et al. berichten, dass die Aminosäure p.Ala356 der Isoform *ABL1-202* die N-terminale Myristoylgruppe binden kann und dies zu einer Autoinhibition des Proteins führt (Wang et al., 2017). Eine Mutation von p.Ala356 führt zu einer Zunahme der Phosphorylierung durch *ABL1*, was für eine verminderte Autoinhibition spricht (Wang et al., 2017). Interessanterweise konnte die Forschungsgruppe ebenfalls eine Zunahme der Phosphorylierung bei der Mutation der korrespondierenden Aminosäure in Transkript

ABL1-201 (p.Ala337) demonstrieren (Wang et al., 2017). Dies könnte auf eine potenzielle Myristoylgruppe in Transkript *ABL1*-201 hindeuten und die hier beobachtete membranöse subzelluläre Lokalisation erklären (Abb.17). Im Western Blot konnten wir nach der Normalisierung eine stärkere Expression für *ABL1*-p.Ala337Thr-myc beobachten (Abb. 16). Dies könnte potenziell auf eine erhöhte Stabilität des mutierten Proteins zurückzuführen sein, die durch eine Konformationsänderung ausgelöst wurde.

4.3.1 Biallelische Variante in *ABL1*

In der Literatur gibt es bisher einen Bericht über eine Familie, die biallelische Varianten in *ABL1* trägt (AlAbdi et al., 2023). Die beiden betroffenen Familienmitglieder wiesen unverkennbare Gesichtsdysmorphien und Auffälligkeiten der Extremitäten auf, wie z. B. kurze Finger, kurzes Philtrum mit breiter Nase und großer Mundöffnung, die dem phänotypischen Spektrum des Van-den-Ende-Gupta-Syndroms ähneln (OMIM 613619; AlAbdi et al., 2023). Die Autoren sehen dies als das phänotypische Spiegelbild des CHDSKM-Syndroms an (AlAbdi et al., 2023). Beim CHDSKM-Syndrom präsentieren sich Betroffene mit langen Fingern, langer Nase mit langem Philtrum und kleiner Mundöffnung (Wang et al., 2017; AlAbdi et al., 2023). AlAbdi et al. schlussfolgern, dass dies auf dem unterschiedlichen Vererbungsmuster (CHDSKM-Syndrom: heterozygot, *de novo*; Van-den-Ende-Gupta-Syndrom: biallelisch) und verschiedenen vorgeschlagenen Krankheitsmechanismen (CHDSKM-Syndrom: *gain-of-function*; Van-den-Ende-Gupta-Syndrom: *loss-of-function*) der beiden Syndrome beruht (AlAbdi et al., 2023).

Die Eltern sowie einige der Geschwister der beiden Betroffenen aus der Publikation von AlAbdi et al. sind heterozygote Anlageträger für die identifizierte Variante in *ABL1* (c.1966_2011dupCCAGCCAAGTCCCCAAAGCCCAGCAATGGGGCTGGGGTCCCCAATG; p.Gly671Alafs*93; AlAbdi et al., 2023). Die persönliche Rücksprache mit den Autoren ergab, dass diese Anlageträger gesund sind und keine Bauchwanddefekte oder andere klinische Auffälligkeiten zeigten. Die Diskrepanz zwischen der von uns hier beschriebenen Omphalozelen-Familie und der von AlAbdi et al. lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass die hier entdeckte Variante p.Lys69fs*1Ter zu einem fast totalen Verlust und somit Funktionslosigkeit (*loss-of-function*) des *ABL1*-Proteins führt. Ob es bei den Allelträgern im Gegensatz zu den in unseren *in vitro* Studien gezeigten Resultaten in

Wirklichkeit zu einem totalen Abbau der verkürzten mRNA (NMD) oder des Proteins kommt, bleibt bis dato ungeklärt. Diese eventuelle Diskrepanz könnte durch das C-terminale Myc-Tag erklärt werden, welches, obwohl es das ABL1-Protein nur um zehn Aminosäuren verlängert, zu einer artifiziellen Stabilisierung des verkürzten Konstrukts *in vitro* führen könnte. Zur Klärung dieser Frage bedarf es weiterer Experimente. Die Variante p.Gly671Alafs*93 von AlAbdi et al. hingegen führt nur zu einem frameshift im letzten Exon (11 von 11) von *ABL1* (AlAbdi et al., 2023). Dadurch verliert das Protein seine C-terminale Aktin-bindende Domäne, sodass das verkürzte Protein vermutlich Teile, aber nicht seine ganze Funktion einbüßt. Die N-terminalen SH- und Kinase-Domänen bleiben erhalten, sodass von einem partiellen Funktionsverlust oder beeinträchtigten Funktion ausgegangen werden kann. Ein NMD scheint aufgrund der Lage der Variante im letzten Exon unwahrscheinlich (Lindeboom et al., 2016). Weitere Untersuchungen sind nötig, um die genauen Hintergründe für die verschiedenen Phänotypen zu aufzuklären.

4.3.2 Rolle von *ABL1* während des Bauchwandverschlusses

Bei der Omphalozele handelt es sich um einen Mittelliniendefekt an der amniotischen-ektodermalen Transitionszone um den Bauchnabel (Abb. 21; Brewer und Williams, 2004). Die Relevanz des ektodermalen und mesodermalen Zusammenspiels für die Bauchwandentwicklung wurde anhand eines konditionalen knockout Mausmodells für den Transcription Factor AP-2 Alpha (*Tfap2a*) aufgezeigt (Brewer und Williams, 2004). Knockout für *Tfap2a* verursachte eine erhöhte Zelltodrate in der ektodermalen Plakode am Nabelring (Brewer und Williams, 2004). Die Autoren Brewer und Williams vermuteten, dass die ektodermale Plakode mesoektodermale Zellen abgibt, aus denen mesodermale Strukturen für den Aufbau der Körperwand entstehen (Brewer und Williams, 2004). Dies resultierte in Bauchwanddefekten in den *Tfap2a* knockout Mausembryonen (Brewer und Williams, 2004). Außerdem konnte *Tfap2a* in der ventralen und dorsalen Körperwand der Embryonen an Tag 15,5 nachgewiesen werden (Brewer und Williams, 2004).

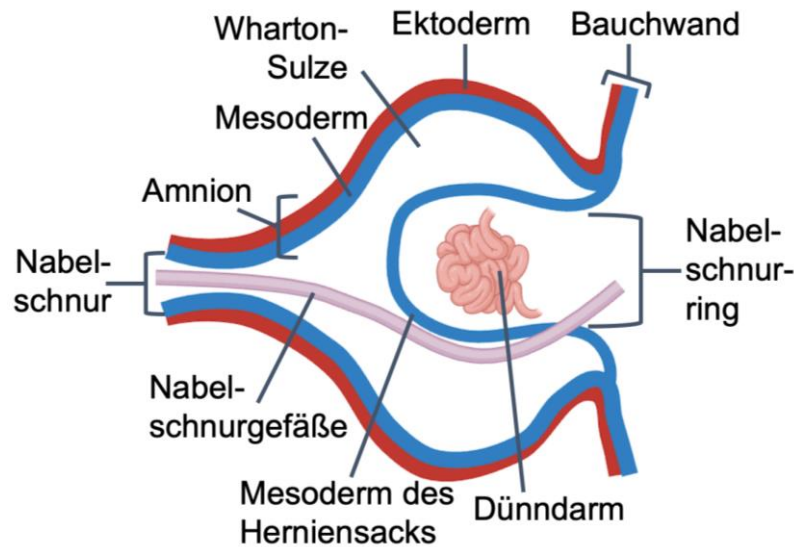


Abb. 21: Schematische Darstellung des physiologischen Nabelbruchs. Die ektodermalen (rot) und mesodermalen (blau) Schichten der Bauchwand setzen sich am Nabelschnurring in das Amnion fort. Der Herniensack des Dünndarms ist mit dem Mesoderm der Bauchwand und des Amnions verbunden. Die Nabelschnurgefäße und der physiologisch hernierte, vom Mesoderm bedeckte Dünndarm ist von Wharton-Sulze umgeben (adaptiert nach Kaufman und Bard, 1999; Brewer und Williams, 2004; erstellt mit biorender.com).

In den immunhistochemischen Färbungen unseres Kooperationspartners konnte die Expression von *ABL1* in der Haut und zum Teil in den darunter liegenden mesenchymalen (vom Mesoderm stammenden) Zellen der vorderen Bauchwand detektiert werden (Abb. 19). Dies könnte auf eine Rolle von *ABL1* bei der ektodermalen-mesodermalen Interaktion hindeuten. Neben der Expression in der Haut und mesenchymalen Zellen der Bauchwand konnte die Expression von *ABL1/Ab11* in den humanen und murinen Embryonen ebenfalls in der Nabelschnur, genauer in der die Nabelschnurgefäße umgebenden Wharton-Sulze demonstriert werden. Dies könnte bedeuten, dass ein Zusammenspiel zwischen Nabelschnur und Bauchwand ebenfalls essenziell für den korrekten Verschluss der Bauchwand ist. Die hier gezeigten Expressionsdaten stärken den postulierten Einfluss von *ABL1* auf den Bauchwandverschluss und den physiologischen Nabelbruch (Abb. 19-20).

Biallelische knockout Mausmodelle zeigen eine wichtige Rolle von *Ab11* während der Entwicklung auf (Li et al., 2000; Qiu et al., 2010). Zu den beobachteten Phänotypen zählen unter anderem Wachstumsverzögerungen, kardiale Hyperplasie und Osteoporose (Li et al., 2000; Qiu et al., 2010). Die verschiedenen Phänotypen bei Mensch und Maus könnten

auf die unterschiedliche Genetik (homozygotes Mausmodell und heterozygote humane Allelträger) zurückzuführen sein. Es könnten auch speziesbedingte Unterschiede in der Bauchwandentwicklung oder unterschiedliche Aufgabenbereiche für *ABL1* während der Entwicklung vorliegen. Darüber hinaus könnte eine Kompensation durch das paraloge *ABL2* eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die beobachteten Diskrepanzen sein.

4.3.3 Fazit Teil 3

In der vorliegenden Studie konnte eine bisher nicht beschriebene Variante in *ABL1* als erstes Kandidatengen für eine isolierte Omphalozele in einer Multiplexfamilie identifiziert werden. Die durchgeführten *in vitro* Studien wiesen einen Funktionsverlust für die hier identifizierte Variante p.Leu69fs*1Ter in *ABL1* nach. Expressionsstudien in humanen und murinen Embryonen demonstrieren das Vorhandensein von *ABL1/Ab1* in relevanten Gewebestrukturen für den Bauchdeckenverschluss und der Nabelschnur. Aufgrund der vorliegenden molekularen und experimentellen Befunde lässt sich ableiten, dass *ABL1* an der Entstehung der Omphalozele beteiligt ist.

5. Zusammenfassung

Angeborene Fehlbildungen treten bei etwa 3-6 % aller Neugeborenen auf. Sie stellen eine der Hauptursachen für die Sterblichkeit im Neugeborenenalter dar. Zu den häufigsten Fehlbildungen gehören angeborene Anomalien der Nieren- und Harnwege (Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract (CAKUT)) sowie Bauchwanddefekte (Nabelschnurbruch, auch Omphalozele genannt). Eine Vielzahl von Studien belegt den Einfluss von genetischen Ursachen auf die Entstehung der beiden Krankheitsbilder. Einblicke in die Genetik ermöglichen ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden Pathogenese. Ziel dieser Arbeit war es daher, potenziell neue genetische Ursachen sowohl für CAKUT als auch für die Omphalozele zu identifizieren und anschließend funktionell zu charakterisieren.

Um neue Kandidatengene für CAKUT zu identifizieren, wurden im ersten Teil dieser Arbeit die Exom-Sequenzierungs (ES)-Daten von 731 Familien mit CAKUT ausgewertet. Dabei konnte eine Variante in einem potenziell neuen CAKUT-Gen bei 19,43 % der Familien entdeckt werden (142/731). Bei 41 der 229 Familien erlaubte die Rekrutierung der Eltern des Probanden die Identifizierung von *de novo* Varianten in 45 neuen Kandidatengenen (17,90 %). Wir entwickelten eine Priorisierungsmethode, die eine *de novo* Variante in *SOX13* als vielversprechende Ursache für CAKUT hervorhob. Die *SOX13*-Mutante zeigte *in vitro* eine abweichende subzelluläre Lokalisation im Vergleich zum Wildtyp, was auf einen Funktionsverlust des mutierten Transkriptionsfaktors hindeutet. Daraus schließen wir, dass *de novo* Varianten eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von CAKUT spielen und präsentieren *SOX13* als ein vielversprechendes Kandidatengen für CAKUT.

Der zweite Teil der vorliegenden Arbeit konzentriert sich darauf, *ETV4* als seltene Ursache für isoliertes CAKUT zu etablieren. In der Literatur gibt es bisher nur eine CAKUT-Familie mit einer biallelischen Variante in *ETV4*, für welche die Pathogenität anhand von *in vitro* Experimenten demonstriert wurde. Durch ES konnte im Rahmen dieser Arbeit eine zweite CAKUT-Familie mit einer homozygoten Nonsense-Variante (p.Lys6*) in *ETV4* identifiziert werden, die wahrscheinlich zu einem Verlust des Proteins und somit der Transkriptionsfunktion führt. Die Entdeckung einer zweiten Familie mit isolierten CAKUT

und einer homozygoten Variante in *ETV4* bekräftigt die Beteiligung von *ETV4* an der Entstehung von monogenen autosomal rezessiven CAKUT.

Im dritten Teil dieser Arbeit konnte *ABL1* als erstes Kandidatengen für familiäre isolierte Omphalozele in einer Multiplexfamilie durch ES-Analyse identifiziert werden. Die bisher nicht beschriebene erweiterte Spleißvariante verursacht ein alternatives Spleißen, welches zu einem verfrühten Stoppcodon führt. Für das alternativ gespleißte *ABL1*-Konstrukt konnte *in vitro* eine abweichende subzelluläre Lokalisation und ein unterschiedliches Expressionsmuster im Vergleich zum Wildtyp aufgezeigt werden, was auf einen Funktionsverlust hindeutet. Expressionsstudien in humanen und murinen Embryonen wiesen *ABL1/Ab1* um den Zeitpunkt des Bauchwandverschlusses in der Haut, den mesenchymalen Zellen der Bauchwand und der Nabelschnur nach. Aus den vorliegenden molekularen und experimentellen Befunden lässt sich ableiten, dass *ABL1* an der Entstehung der Omphalozele beteiligt ist.

Die vorliegende Dissertation liefert gewinnbringende Einblicke in die genetische Pathogenese von CAKUT und Omphalozele. Sie verbessert das Verständnis der embryonalen Entwicklung und Pathomechanismen der angeborenen Fehlbildungen. Darüber hinaus ermöglicht die Kenntnis einer molekulargenetischen Diagnose eine personalisierte humangenetische Beratung, eine optimierte klinische Versorgung, künftige Familienplanung und die Erforschung therapeutischer Optionen.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des CAKUT-Spektrums.	19
Abbildung 2: Nierenentwicklung bei Säugetieren.	20
Abbildung 3: Signalwege der CAKUT-Pathogenese.	23
Abbildung 4: Schematische Darstellung einer Omphalozele.	24
Abbildung 5: Entscheidungsfindung für eine durch ES identifizierte Variante	32
Abbildung 6: ES-Evaluationsstrategie der 731 CAKUT-Familien.	34
Abbildung 7: Anzahl und Prozentsatz der 731 CAKUT-Familien mit einem genetischen Befund.	45
Abbildung 8: Venn-Diagramm der 4 unabhängigen Kategorien zur <i>de novo</i> Kandidatengenpriorisierung.	49
Abbildung 9: <i>SOX13</i> als potenziell neues Kandidatengen für CAKUT.	51
Abbildung 10: Zeitstrahl der durch ES kürzlich identifizierten CAKUT-Gene (Hildebrandt Labor).	52
Abbildung 11: Zystourethrogramm des Betroffenen B583-21.	53
Abbildung 12: Vererbungsschema der CAKUT-Familie B583.	54
Abbildung 13: Nonsense-Variante in <i>ETV4</i> in einem Betroffenen mit CAKUT.	55
Abbildung 14: <i>ABL1</i> Variante in einer Multiplex-Familie mit Omphalozele.	56
Abbildung 15: Spleißvariante in <i>ABL1</i> führt zur Nutzung eines alternativen Spleißdonors.	58
Abbildung 16: Nachweis von ABL1-p.Leu69orf-myc im Western Blot.	59
Abbildung 17: ABL1-p.Leu69orf-myc zeigte eine aberrante subzelluläre Lokalisation.	60
Abbildung 18: ABL1-p.Leu69orf-myc zeigte kein überschneidendes Signal mit ER oder Autophagosom.	61
Abbildung 19: Expression von ABL1 während des physiologischen Nabelbruchs im humanen Embryo im Carnegie-Stadium 19.	62
Abbildung 20: Wholemout <i>in situ</i> Färbung in Mausembryonen wies <i>Abl1</i> in der Nabelschnur nach.	63
Abbildung 21: Schematische Darstellung des physiologischen Nabelbruchs.	80

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Detaillierte Angaben zu den Phäno- und Genotypen der 41 CAKUT-Familien mit einer <i>de novo</i> Variante in 45 potenziell neuen CAKUT-Kandidatengen.	114
Tabelle 2: Detaillierte Informationen über Phäno- und Genotypen der 109 CAKUT-Familien mit einer einzelnen Variante in einem potenziellen Kandidatengen für CAKUT (ohne 33 <i>de novo</i> Varianten, siehe Tab. 1).	119
Tabelle 3: Detaillierte Informationen über Phäno- und Genotypen der 79 CAKUT-Familien mit multiplen Varianten in potenziellen Kandidatengen für CAKUT (ohne 3 Familien mit multiplen <i>de novo</i> Varianten, siehe Tab. 1).	134
Tabelle 4: Detaillierte Auskunft zu den Phäno- und Genotypen der 19 CAKUT-Familien mit einer Variante in einem kürzlich etablierten oder seltenen CAKUT-Gen (ohne 2 <i>de novo</i> Varianten, siehe Tab. 1).	159
Tabelle 5: Detaillierte Auskunft zu den Phäno- und Genotypen der 3 Familien mit einer Variante in einem Phänokopie-Gen.	163
Tabelle 6: Detaillierte Auskunft zu den Phäno- und Genotypen der 11 Familien mit einer Variante in einem Nicht-CAKUT-Gen.	164

8. Literaturverzeichnis

Ajao AE, Adeoye IA. Prevalence, risk factors and outcome of congenital anomalies among neonatal admissions in OGBOMOSO, Nigeria. *BMC Pediatr* 2019; 19: 88

AlAbdi L, Maddirevula S, Shamseldin HE, Khouj E, Helaby R, Hamid H, Almulhim A, Hashem MO, Abdulwahab F, Abouyousef O, Alqahtani M, Altuwaijri N, Jaafar A, Alshidi T, Alzahrani F, Mendeliome G, Alkuraya FS. Diagnostic implications of pitfalls in causal variant identification based on 4577 molecularly characterized families. *Nat Commun* 2023; 14: 5269

Alayoubi AM, Khawaji ZY, Mohammed MA, Mercier FE. CRISPR-Cas9 system: a novel and promising era of gene therapy for beta-hemoglobinopathies, hematological malignancy, and hemophilia. *Ann Hematol* 2024; 103: 1805-1817

Alfirevic Z, Navaratnam K, Mujezinovic F. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 9: CD003252

Algar EM, Deeble GJ, Smith PJ. CDKN1C expression in Beckwith-Wiedemann syndrome patients with allele imbalance. *J Med Genet* 1999; 36: 524-531

Angelozzi M, Lefebvre V. SOXopathies: Growing Family of Developmental Disorders Due to SOX Mutations. *Trends Genet* 2019; 35: 658-671

Anna A, Monika G. Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation. *J Appl Genet* 2018; 59: 253-268

Antonarakis SE, Beckmann JS. Mendelian disorders deserve more attention. *Nat Rev Genet* 2006; 7: 277-282

Basit S, Khoshhal KI. Genetics of clubfoot; recent progress and future perspectives. *Eur J Med Genet* 2018; 61: 107-113

Bekheirnia MR, Bekheirnia N, Bainbridge MN, Gu S, Coban Akdemir ZH, Gambin T, Janzen NK, Jhangiani SN, Muzny DM, Michael M, Brewer ED, Elenberg E, Kale AS, Riley

AA, Swartz SJ, Scott DA, Yang Y, Srivaths PR, Wenderfer SE, Bodurtha J, Applegate CD, Velinov M, Myers A, Borovik L, Craigen WJ, Hanchard NA, Rosenfeld JA, Lewis RA, Gonzales ET, Gibbs RA, Belmont JW, Roth DR, Eng C, Braun MC, Lupski JR, Lamb DJ. Whole-exome sequencing in the molecular diagnosis of individuals with congenital anomalies of the kidney and urinary tract and identification of a new causative gene. *Genet Med* 2017; 19: 412-420

Ben Amor IM, Roughley P, Glorieux FH, Rauch F. Skeletal clinical characteristics of osteogenesis imperfecta caused by haploinsufficiency mutations in COL1A1. *J Bone Miner Res* 2013; 28: 2001-2007

Bence CM, Wagner AJ. Abdominal wall defects. *Transl Pediatr* 2021; 10: 1461-1469

Best JM, Banatvala JE. Congenital virus infections. *BMJ* 1990; 300: 1151-1152

Blakes AJM, Gaul E, Lam W, Shannon N, Knapp KM, Bicknell LS, Jackson MR, Wade EM, Robertson S, White SM, Heller R, Chase A, Baralle D, Douglas AGL. Pathogenic variants causing ABL1 malformation syndrome cluster in a myristoyl-binding pocket and increase tyrosine kinase activity. *Eur J Hum Genet* 2021; 29: 593-603

Brewer S, Williams T. Loss of AP-2alpha impacts multiple aspects of ventral body wall development and closure. *Dev Biol* 2004; 267: 399-417

Bundesinstitut für Risikobewertung, 2024; Stellungnahme Nr. 009/2024 des BfR, Aktualisierung (2024): Höchstmengenvorschläge für Folsäure in Lebensmitteln inklusive Nahrungsergänzungsmitteln. https://www.bfr.bund.de/de/publikation/bfr_stellungnahmen_2024-314112.html (Zugriffsdatum: 15.05.2024)

Cai M, Lin N, Su L, Wu X, Xie X, Li Y, Chen X, Dai Y, Lin Y, Huang H, Xu L. Detection of copy number disorders associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract in fetuses via single nucleotide polymorphism arrays. *J Clin Lab Anal* 2020; 34: e23025

Calvo F, Karras BT, Phillips R, Kimball AM, Wolf F. Diagnoses, syndromes, and diseases: a knowledge representation problem. *AMIA Annu Symp Proc* 2003; 2003: 802

Carroll MS, Giacca M. CRISPR activation and interference as investigative tools in the cardiovascular system. *Int J Biochem Cell Biol* 2023; 155: 10634821

Caruana G, Wong MN, Walker A, Heloury Y, Webb N, Johnstone L, James PA, Burgess T, Bertram JF. Copy-number variation associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Pediatr Nephrol* 2015; 30: 487-495

Carvill GL, Matheny T, Hesselberth J, Demarest S. Haploinsufficiency, Dominant Negative, and Gain-of-Function Mechanisms in Epilepsy: Matching Therapeutic Approach to the Pathophysiology. *Neurotherapeutics* 2021;18: 1500-1514

CDC; Centers for Disease Control and Prevention, 2023: National Center on Birth Defects and Developmental Disabilities. <https://www.cdc.gov/ncbddd/birthdefects/index.html> (Zugriffsdatum: 15.05.2024)

Chen B, Chen L, Zhou Y, Mi T, Chen DY, Chen L, Yin J, Xue ZF. Multiple abnormalities due to a nonsense mutation in the *Alx4* gene. *Genet Mol Res* 2013; 12: 2771-2778

Chen CA, Crutcher E, Gill H, Nelson TN, Robak LA, Jongmans MCJ, Pfundt R, Prasad C, Berard RA, Fannemel M, Frengen E, Misceo D, Ramsey K, Yang Y, Schaaf CP, Wang X. The expanding clinical phenotype of germline *ABL1*-associated congenital heart defects and skeletal malformations syndrome. *Hum Mutat* 2020; 41: 1738-1744

Chen J, van der Ven AT, Newman JA, Vivante A, Mann N, Aitkenhead H, Shril S, Ityel H, Schulz J, Schmidt JM, Widmeier E, Gileadi O, Costantini F, Thowfeequ S, Wenger RH, Bauer SB, Lee RS, Lu W, Getwan M, Kaminski MM, Lienkamp SS, Lifton RP, Tasic V, Kehinde EO, Hildebrandt F. *ETV4* Mutation in a Patient with Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract. *Int. J. Pediatr. Child Health [Internet]* 2016, 4: 61-67

Chen L, Wang L, Wang Y, Hu H, Zhan Y, Zeng Z, Liu L. Global, Regional, and National Burden and Trends of Down Syndrome From 1990 to 2019. *Front Genet* 2022; 13: 908482

Clark JP, Cooper CS. *ETS* gene fusions in prostate cancer. *Nat Rev Urol* 2009; 6: 429-439

Colicelli J. *ABL* tyrosine kinases: evolution of function, regulation, and specificity. *Sci*

Signal 2010; 3: re6

Connaughton DM, Dai R, Owen DJ, Marquez J, Mann N, Graham-Paquin AL, Nakayama M, Coyaud E, Laurent EMN, St-Germain JR, Blok LS, Vino A, Klämbt V, Deutsch K, Wu CW, Kolvenbach CM, Kause F, Ottlewski I, Schneider R, Kitzler TM, Majmundar AJ, Buerger F, Onuchic-Whitford AC, Youying M, Kolb A, Salmanullah D, Chen E, van der Ven AT, Rao J, Ityel H, Seltzsam S, Rieke JM, Chen J, Vivante A, Hwang DY, Kohl S, Dworschak GC, Hermle T, Alders M, Bartolomaeus T, Bauer SB, Baum MA, Brilstra EH, Challman TD, Zyskind J, Costin CE, Dipple KM, Duijkers FA, Ferguson M, Fitzpatrick DR, Fick R, Glass IA, Hulick PJ, Kline AD, Krey I, Kumar S, Lu W, Marco EJ, Wentzensen IM, Mefford HC, Platzer K, Povolotskaya IS, Savatt JM, Shcherbakova NV, Senguttuvan P, Squire AE, Stein DR, Thiffault I, Voinova VY, Somers MJG, Ferguson MA, Traum AZ, Daouk GH, Daga A, Rodig NM, Terhal PA, van Binsbergen E, Eid LA, Tasic V, Rasouly HM, Lim TY, Ahram DF, Gharavi AG, Reutter HM, Rehm HL, MacArthur DG, Lek M, Laricchia KM, Lifton RP, Xu H, Mane SM, Sanna-Cherchi S, Sharrocks AD, Raught B, Fisher SE, Bouchard M, Khokha MK, Shril S, Hildebrandt F. Mutations of the Transcriptional Corepressor ZMYM2 Cause Syndromic Urinary Tract Malformations. *Am J Hum Genet* 2020; 107: 727-742

Cooper CD, Newman JA, Gileadi O. Recent advances in the structural molecular biology of Ets transcription factors: interactions, interfaces and inhibition. *Biochem Soc Trans* 2014; 42: 130-138

Corey KM, Hornik CP, Laughon MM, McHutchison K, Clark RH, Smith PB. Frequency of anomalies and hospital outcomes in infants with gastroschisis and omphalocele. *Early Hum Dev* 2014; 90: 421-424

Cosme HW, Lima LS, Barbosa LG. Prevalence of Congenital Anomalies and Their Associated Factors in Newborns in the City of Sao Paulo from 2010 to 2014. *Rev Paul Pediatr* 2017; 35: 33-38

Czeizel AE, Dudas I, Vereczkey A, Banhidy F. Folate deficiency and folic acid supplementation: the prevention of neural-tube defects and congenital heart defects. *Nutrients* 2013; 5: 4760-4775

Davies JA. Mesenchyme to epithelium transition during development of the mammalian kidney tubule. *Acta Anat (Basel)* 1996; 156: 187-201

Davis RL, Rubanowice D, McPhillips H, Raebel MA, Andrade SE, Smith D, Yood MU, Platt R, Hmo Research Network Center for Education RiT. Risks of congenital malformations and perinatal events among infants exposed to antidepressant medications during pregnancy. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2007; 16: 1086-1094

de Klein A, van Kessel AG, Grosveld G, Bartram CR, Hagemeijer A, Bootsma D, Spurr NK, Heisterkamp N, Groffen J, Stephenson JR. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia. *Nature* 1982; 300: 765-767

Dong S, Wang C, Li X, Shen Q, Fu X, Wu M, Song C, Yang N, Wu Y, Wang H, Jin L, Xu H, Zhang F. Noncoding rare variants of TBX6 in congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Mol Genet Genomics* 2019; 294: 493-500

Dong K, Zhang C, Tian X, Coman D, Hyder F, Ma M, Somlo S. Renal plasticity revealed through reversal of polycystic kidney disease in mice. *Nat Genet* 2021; 53: 1649-1663

Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, Zimmermann J, Lydon NB. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* 1996; 2: 561-566

Duhamel B. Embryology of Exomphalos and Allied Malformations. *Arch Dis Child* 1963; 38: 142-147

Ebarasi L, Ashraf S, Bierzynska A, Gee HY, McCarthy HJ, Lovric S, Sadowski CE, Pabst W, Vega-Warner V, Fang H, Koziell A, Simpson MA, Dursun I, Serdaroglu E, Levy S, Saleem MA, Hildebrandt F, Majumdar A. Defects of CRB2 cause steroid-resistant nephrotic syndrome. *Am J Hum Genet* 2015; 96: 153-161

Ellis D, Greenman J, Hodgson S, McCall S, Lalloo F, Cameron J, Izatt L, Scott G, Jacobs C, Watts S, Chorley W, Perrett C, Macdermot K, Mohammed S, Evans G, Mathew CG. Low prevalence of germline BRCA1 mutations in early onset breast cancer without a family history. *J Med Genet* 2000; 37: 792-794

Elmubarak I, Shril S, Mansour B, Bao A, Kolvenbach C, Desoky SE, Shalaby M, Kari J, Hildebrandt F, Schneider R. Recessive variants in MYO1C as a potential novel cause of proteinuric kidney disease. *Res Sq* 2024; rs.3.rs-4183332

Fitzpatrick M, 2014: The Open Lab Book. Measuring cell fluorescence using ImageJ. <https://theolb.readthedocs.io/en/latest/imaging/measuring-cell-fluorescence-using-imagej.html> (Stand 10/05/2024)

Fogelstrom A, Caldeman C, Oddsberg J, Lof Granstrom A, Mesas Burgos C. Omphalocele: national current birth prevalence and survival. *Pediatr Surg Int* 2021; 37: 1515-1520

Frolov P, Alali J, Klein MD. Clinical risk factors for gastroschisis and omphalocele in humans: a review of the literature. *Pediatr Surg Int* 2010; 26: 1135-1148

Gee HY, Zhang F, Ashraf S, Kohl S, Sadowski CE, Vega-Warner V, Zhou W, Lovric S, Fang H, Nettleton M, Zhu JY, Hoefele J, Weber LT, Podracka L, Boor A, Fehrenbach H, Innis JW, Washburn J, Levy S, Lifton RP, Otto EA, Han Z, Hildebrandt F. KANK deficiency leads to podocyte dysfunction and nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 2015; 125: 2375-2384

Gilbert-Barness E. Teratogenic causes of malformations. *Ann Clin Lab Sci* 2010; 40: 99-114

Gimelli S, Caridi G, Beri S, McCracken K, Bocciardi R, Zordan P, Dagnino M, Fiorio P, Murer L, Benetti E, Zuffardi O, Giorda R, Wells JM, Gimelli G, Ghiggeri GM. Mutations in SOX17 are associated with congenital anomalies of the kidney and the urinary tract. *Hum Mutat* 2010; 31: 1352-1359

Gonzalez KW, Chandler NM. Ruptured omphalocele: Diagnosis and management. *Semin Pediatr Surg* 2019; 28: 101-105

Hantschel O, Nagar B, Guettler S, Kretschmar J, Dorey K, Kuriyan J, Superti-Furga G. A myristoyl/phosphotyrosine switch regulates c-Abl. *Cell* 2003; 112: 845-857

Havalad S, Noblett H, Speidel BD. Familial occurrence of omphalocele suggesting sex-

linked inheritance. *Arch Dis Child* 1979; 54: 142-143

Heidet L, Decramer S, Pawtowski A, Moriniere V, Bandin F, Knebelmann B, Lebre AS, Faguer S, Guignon V, Antignac C, Salomon R. Spectrum of HNF1B mutations in a large cohort of patients who harbor renal diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1079-1090

Hennekam RC, Biesecker LG, Allanson JE, Hall JG, Opitz JM, Temple IK, Carey JC, Elements of Morphology C. Elements of morphology: general terms for congenital anomalies. *Am J Med Genet A* 2013; 161A: 2726-2733

Hildebrandt F. Genetic kidney diseases. *Lancet* 2010; 375: 1287-1295

Hobbs CA, Cleves MA, Simmons CJ. Genetic epidemiology and congenital malformations: from the chromosome to the crib. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156: 315-320

Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1890-1900

Hwang DY, Dworschak GC, Kohl S, Saisawat P, Vivante A, Hilger AC, Reutter HM, Soliman NA, Bogdanovic R, Kehinde EO, Tasic V, Hildebrandt F. Mutations in 12 known dominant disease-causing genes clarify many congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Kidney Int* 2014; 85: 1429-1433

Ichikawa I, Kuwayama F, Pope JCT, Stephens FD, Miyazaki Y. Paradigm shift from classic anatomic theories to contemporary cell biological views of CAKUT. *Kidney Int* 2002; 61: 889-898

Irani M, Khadivzadeh T, Asghari Nekah SM, Ebrahimipour H, Tara F. The prevalence of congenital anomalies in Iran: A Systematic Review and Meta-analysis. *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility* 2018; 21: 29-41

Jin M, Zhu S, Hu P, Liu D, Li Q, Li Z, Zhang X, Xie Y, Chen X. Genomic and epigenomic analyses of monozygotic twins discordant for congenital renal agenesis. *Am J Kidney Dis* 2014; 64: 119-122

Jin SC, Homsy J, Zaidi S, Lu Q, Morton S, DePalma SR, Zeng X, Qi H, Chang W, Sierant MC, Hung WC, Haider S, Zhang J, Knight J, Bjornson RD, Castaldi C, Tikhonova IR, Bilguvar K, Mane SM, Sanders SJ, Mital S, Russell MW, Gaynor JW, Deanfield J, Giardini A, Porter GA, Jr., Srivastava D, Lo CW, Shen Y, Watkins WS, Yandell M, Yost HJ, Tristani-Firouzi M, Newburger JW, Roberts AE, Kim R, Zhao H, Kaltman JR, Goldmuntz E, Chung WK, Seidman JG, Gelb BD, Seidman CE, Lifton RP, Brueckner M. Contribution of rare inherited and de novo variants in 2,871 congenital heart disease probands. *Nat Genet* 2017; 49: 1593-1601

Kamath BM, Spinner NB, Rosenblum ND. Renal involvement and the role of Notch signalling in Alagille syndrome. *Nat Rev Nephrol* 2013; 9: 409-418

Kang ZJ, Liu YF, Xu LZ, Long ZJ, Huang D, Yang Y, Liu B, Feng JX, Pan YJ, Yan JS, Liu Q. The Philadelphia chromosome in leukemogenesis. *Chin J Cancer* 2016; 35: 48

Kaufman MH, Bard JB. *The anatomical basis of mouse development*. San Diego: Gulf Professional Publishing, Academic Press, 1999

KDIGO, (2011) 2013: Definition and classification of CKD: Chapter 1. *Kidney Int Suppl*; 3: 19-62. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2157171615311011?via%3Dihub> (Zugriffsdatum: 08.05.2024)

Khan FA, Hashmi A, Islam S. Insights into embryology and development of omphalocele. *Semin Pediatr Surg* 2019; 28: 80-83

Khan FA, Raymond SL, Hashmi A, Islam S. Anatomy and embryology of abdominal wall defects. *Semin Pediatr Surg* 2022a; 31: 151230

Khan K, Ahram DF, Liu YP, Westland R, Sampogna RV, Katsanis N, Davis EE, Sanna-Cherchi S. Multidisciplinary approaches for elucidating genetics and molecular pathogenesis of urinary tract malformations. *Kidney Int* 2022b; 101: 473-484

Khosla A, Ponsky TA, 2016: *Managing Pediatric and Neonatal Abdominal Wall Defects*. Chapter 17. <https://plasticsurgerykey.com/managing-pediatric-and-neonatal-abdominal-wall-defects/> (Zugriffsdatum: 08.05.2024)

Kirsch-Volders M, Vanhauwaert A, De Boeck M, Decordier I. Importance of detecting numerical versus structural chromosome aberrations. *Mutat Res* 2002; 504: 137-148

Kitzler TM, Schneider R, Kohl S, Kolvenbach CM, Connaughton DM, Dai R, Mann N, Nakayama M, Majmundar AJ, Wu CW, Kari JA, El Desoky SM, Senguttuvan P, Bogdanovic R, Stajic N, Valivullah Z, Lek M, Mane S, Lifton RP, Tasic V, Shril S, Hildebrandt F. COL4A1 mutations as a potential novel cause of autosomal dominant CAKUT in humans. *Hum Genet* 2019; 138: 1105-1115

Klambt V, Buerger F, Wang C, Naert T, Richter K, Nauth T, Weiss AC, Sieckmann T, Lai E, Connaughton DM, Seltzsaam S, Mann N, Majmundar AJ, Wu CW, Onuchic-Whitford AC, Shril S, Schneider S, Schierbaum L, Dai R, Bekheirnia MR, Joosten M, Shlomovitz O, Vivante A, Banne E, Mane S, Lifton RP, Kirschner KM, Kispert A, Rosenberger G, Fischer KD, Lienkamp SS, Zegers MMP, Hildebrandt F. Genetic Variants in ARHGEF6 Cause Congenital Anomalies of the Kidneys and Urinary Tract in Humans, Mice, and Frogs. *J Am Soc Nephrol* 2023; 34: 273-290

Kohl S, Hwang DY, Dworschak GC, Hilger AC, Saisawat P, Vivante A, Stajic N, Bogdanovic R, Reutter HM, Kehinde EO, Tasic V, Hildebrandt F. Mild recessive mutations in six Fraser syndrome-related genes cause isolated congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25: 1917-1922

Kolvenbach CM, Dworschak GC, Frese S, Japp AS, Schuster P, Wenzlitschke N, Yilmaz Ö, Lopes FM, Pryalukhin A, Schierbaum L, van der Zanden LFM, Kause F, Schneider R, Taranta-Janusz K, Szczepańska M, Pawlaczyk K, Newman WG, Beaman GM, Stuart HM, Cervellione RM, Feitz WFJ, van Rooij IALM, Schreuder MF, Steffens M, Weber S, Merz WM, Feldkötter M, Hoppe B, Thiele H, Altmüller J, Berg C, Kristiansen G, Ludwig M, Reutter H, Woolf AS, Hildebrandt F, Grote P, Zaniew M, Odermatt B, Hilger AC. Rare Variants in BNC2 Are Implicated in Autosomal-Dominant Congenital Lower Urinary-Tract Obstruction. *Am J Hum Genet* 2019; 104: 994-1006

Kolvenbach CM, Felger T, Schierbaum L, Thiffault I, Pastinen T, Szczepanska M, Zaniew M, Adamczyk P, Bayat A, Yilmaz O, Lindenberg TT, Thiele H, Hildebrandt F, Hinderhofer K, Moog U, Hilger AC, Sullivan B, Bartik L, Gnys P, Grote P, Odermatt B, Reutter HM,

Dworschak GC. X-linked variations in SHROOM4 are implicated in congenital anomalies of the urinary tract and the anorectal, cardiovascular and central nervous systems. *J Med Genet* 2023c; 60: 587-596

Kolvenbach CM, Shril S, Hildebrandt F. The genetics and pathogenesis of CAKUT. *Nat Rev Nephrol* 2023a; 19: 709-720

Kolvenbach CM, Zheng B, Merz LM, Mertens ND, Mansour B, Wang C, Seltzsaam S, Schneider S, Schierbaum L, Pantel D, Chen J, van der Ven AT, Bello JO, Shril S, Hildebrandt F. A homozygous truncating ETV4 variant in a Nigerian family with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Am J Med Genet A* 2023b; 191: 1355-1359

Lee J, Hong SE. Functional annotation of de novo variants from healthy individuals. *Genomics Inform* 2019; 17: e46

Lemire G, Zheng B, Ediae GU, Zou R, Bhola PT, Chisholm C, de Nanassy J, Lo B, Wang C, Shril S, El Desoky S, Shalaby M, Kari JA, Wang X, Care4Rare Canada C, Kernohan KD, Boycott KM, Hildebrandt F, Sawyer SL. Homozygous WNT9B variants in two families with bilateral renal agenesis/hypoplasia/dysplasia. *Am J Med Genet A* 2021; 185: 3005-3011

Li B, Boast S, de los Santos K, Schieren I, Quiroz M, Teitelbaum SL, Tondravi MM, Goff SP. Mice deficient in Abl are osteoporotic and have defects in osteoblast maturation. *Nat Genet* 2000; 24: 304-308

Lifton RP. Individual genomes on the horizon. *N Engl J Med* 2010; 362: 1235-1236

Lim H, Beasley CW, Whitehead LW, Emery RJ, Agopian AJ, Langlois PH, Waller DK, National Birth Defects Prevention S. Maternal exposure to radiographic exams and major structural birth defects. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2016; 106: 563-572

Limwongse C. Syndromes and malformations of the urinary tract. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N, eds. *Pediatric Nephrology*, 6. Edition: Berlin, Springer, 2009: 122–138

Lindeboom RG, Supek F, Lehner B. The rules and impact of nonsense-mediated mRNA

decay in human cancers. *Nat Genet* 2016; 48: 1112-1118

Livet J, Sigrist M, Stroebel S, De Paola V, Price SR, Henderson CE, Jessell TM, Arber S. ETS gene *Pea3* controls the central position and terminal arborization of specific motor neuron pools. *Neuron* 2002; 35: 877-892

Loane M, Dolk H, Kelly A, Teljeur C, Greenlees R, Densem J, Group EW. Paper 4: EUROCAT statistical monitoring: identification and investigation of ten year trends of congenital anomalies in Europe. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2011; 91 Suppl 1: S31-43

Lopes FM, Roberts NA, Zeef LA, Gardiner NJ, Woolf AS. Overactivity or blockade of transforming growth factor-beta each generate a specific ureter malformation. *J Pathol* 2019; 249: 472-484

Lu W, Bush KT, Nigam SK. Regulation of Ureteric Bud Outgrowth and the Consequences of Disrupted Development. In: Little MH, ed. *Kidney Development, Disease, Repair and Regeneration*. Elsevier: Academic Press, 2016: 209-227

Lu BC, Cebrian C, Chi X, Kuure S, Kuo R, Bates CM, Arber S, Hassell J, MacNeil L, Hoshi M, Jain S, Asai N, Takahashi M, Schmidt-Ott KM, Barasch J, D'Agati V, Costantini F. *Etv4* and *Etv5* are required downstream of GDNF and Ret for kidney branching morphogenesis. *Nat Genet* 2009; 41: 1295-1302

Lu C, Xie M, Wendl MC, Wang J, McLellan MD, Leiserson MD, Huang KL, Wyczalkowski MA, Jayasinghe R, Banerjee T, Ning J, Tripathi P, Zhang Q, Niu B, Ye K, Schmidt HK, Fulton RS, McMichael JF, Batra P, Kandoth C, Bharadwaj M, Koboldt DC, Miller CA, Kanchi KL, Eldred JM, Larson DE, Welch JS, You M, Ozenberger BA, Govindan R, Walter MJ, Ellis MJ, Mardis ER, Graubert TA, Dipersio JF, Ley TJ, Wilson RK, Goodfellow PJ, Raphael BJ, Chen F, Johnson KJ, Parvin JD, Ding L. Patterns and functional implications of rare germline variants across 12 cancer types. *Nat Commun* 2015; 6: 10086

Mann S, Blinman TA, Douglas Wilson R. Prenatal and postnatal management of omphalocele. *Prenat Diagn* 2008; 28: 626-632

Mann N, Kause F, Henze EK, Gharpure A, Shril S, Connaughton DM, Nakayama M, Klambt V, Majmundar AJ, Wu CW, Kolvenbach CM, Dai R, Chen J, van der Ven AT, Ityel H, Tooley MJ, Kari JA, Bownass L, El Desoky S, De Franco E, Shalaby M, Tasic V, Bauer SB, Lee RS, Beckel JM, Yu W, Mane SM, Lifton RP, Reutter H, Ellard S, Hibbs RE, Kawate T, Hildebrandt F. *CAKUT and Autonomic Dysfunction Caused by Acetylcholine Receptor Mutations. Am J Hum Genet* 2019; 105: 1286-1293

Marini JC, Forlino A, Cabral WA, Barnes AM, San Antonio JD, Milgrom S, Hyland JC, Korkko J, Prockop DJ, De Paepe A, Coucke P, Symoens S, Glorieux FH, Roughley PJ, Lund AM, Kuurila-Svahn K, Hartikka H, Cohn DH, Krakow D, Mottes M, Schwarze U, Chen D, Yang K, Kuslich C, Troendle J, Dalgleish R, Byers PH. Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with collagen binding sites for integrins and proteoglycans. *Hum Mutat* 2007; 28: 209-221

Marra AN, Wingert RA. Epithelial cell fate in the nephron tubule is mediated by the ETS transcription factors *etv5a* and *etv4* during zebrafish kidney development. *Dev Biol* 2016; 411: 231-245

Marrone AK, Ho J. MicroRNAs: potential regulators of renal development genes that contribute to CAKUT. *Pediatr Nephrol* 2014; 29: 565-574

Marx V. Method of the year: long-read sequencing. *Nat Methods* 2023; 20: 6-11

Matharu N, Rattanasopha S, Tamura S, Maliskova L, Wang Y, Bernard A, Hardin A, Eckalbar WL, Vaisse C, Ahituv N. CRISPR-mediated activation of a promoter or enhancer rescues obesity caused by haploinsufficiency. *Science* 2019; 363: eaau0629

Matsuoka S, Edwards MC, Bai C, Parker S, Zhang P, Baldini A, Harper JW, Elledge SJ. p57KIP2, a structurally distinct member of the p21CIP1 Cdk inhibitor family, is a candidate tumor suppressor gene. *Genes Dev* 1995; 9: 650-662

McMahon AP, Aronow BJ, Davidson DR, Davies JA, Gaido KW, Grimmond S, Lessard JL, Little MH, Potter SS, Wilder EL, Zhang P, project G. GUDMAP: the genitourinary developmental molecular anatomy project. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 667-671

McNair C, Hawes J, Urquhart H. Caring for the newborn with an omphalocele. *Neonatal Netw* 2006; 25: 319-327

Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, Arnold WD, Rodino-Klapac LR, Prior TW, Lowes L, Alfano L, Berry K, Church K, Kissel JT, Nagendran S, L'Italien J, Sproule DM, Wells C, Cardenas JA, Heitzer MD, Kaspar A, Corcoran S, Braun L, Likhite S, Miranda C, Meyer K, Foust KD, Burghes AHM, Kaspar BK. Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med* 2017; 377: 1713-1722

Morgan KY, Jungels N, Oliver RA, Jinadasa T, Adhikari K, Kern NL, Sohail S, Garcia S, Malmberg A, Kim K. Knock-Down of Uromodulin Using Antisense Oligonucleotides as a Potential Treatment for Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol Abst Suppl FR-PO344* 2022; 33: 418

Munger GT, Munger BL. Differentiation of the anterior body wall and truncal epidermis and associated co-migration of cutaneous nerves and mesenchyme. *Anat Rec* 1991; 231: 261-274

Murugapoopathy V, Gupta IR. A Primer on Congenital Anomalies of the Kidneys and Urinary Tracts (CAKUT). *Clin J Am Soc Nephrol* 2020; 15: 723-731

Nakai H, Asanuma H, Shishido S, Kitahara S, Yasuda K. Changing concepts in urological management of the congenital anomalies of kidney and urinary tract, CAKUT. *Pediatr Int* 2003; 45: 634-641

Neirijnck Y, Reginensi A, Renkema KY, Massa F, Kozlov VM, Dhib H, Bongers E, Feitz WF, van Eerde AM, Lefebvre V, Knoers N, Tabatabaei M, Schulz H, McNeill H, Schaefer F, Wegner M, Sock E, Schedl A. Sox11 gene disruption causes congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT). *Kidney Int* 2018; 93: 1142-1153

Nichol PF, Corliss RF, Tyrrell JD, Graham B, Reeder A, Saijoh Y. Conditional mutation of fibroblast growth factor receptors 1 and 2 results in an omphalocele in mice associated with disruptions in ventral body wall muscle formation. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 90-96

Nora JJ. Multifactorial inheritance hypothesis for the etiology of congenital heart diseases.

The genetic-environmental interaction. *Circulation* 1968; 38: 604-617

NAPRTCS North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study Annual report. 2008 Rockville, MD: The EMMES Corporation https://naprtcs.org/system/files/2008_Annual_CKD_Report.pdf (Zugriffsdatum: 08.05.2024)

Odiba AS, Okoro NO, Durojaye OA, Wu Y. Gene therapy in PIDs, hemoglobin, ocular, neurodegenerative, and hemophilia B disorders. *Open Life Sci* 2021; 16: 431-441

Osuna A, Lindham S. Four cases of omphalocele in two generations of the same family. *Clin Genet* 1976; 9: 354-356

Palanki R, Peranteau WH, Mitchell MJ. Delivery technologies for in utero gene therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2021; 169: 51-62

Pitt MJ, Morris JK. European trends in mortality in children with congenital anomalies: 2000-2015. *Birth Defects Res* 2021; 113: 958-967

Pye SM, Cortes J, Ault P, Hatfield A, Kantarjian H, Pilot R, Rosti G, Apperley JF. The effects of imatinib on pregnancy outcome. *Blood* 2008; 111: 5505-5508

Qiu Z, Cang Y, Goff SP. c-Abl tyrosine kinase regulates cardiac growth and development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 1136-1141

Quintero RA, Gomez Castro LA, Bermudez C, Chmait RH, Kontopoulos EV. In utero management of fetal lower urinary tract obstruction with a novel shunt: a landmark development in fetal therapy. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010; 23: 806-812

Rahoma AH. An Updated Treatment of Complete Cleft Palate: a Retrospective Study. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences* 2008; 4: 55-70

Ramanathan S, Kumar D, Khanna M, Al Heidous M, Sheikh A, Virmani V, Palaniappan Y. Multi-modality imaging review of congenital abnormalities of kidney and upper urinary tract. *World J Radiol* 2016; 8: 132-141

Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee.

Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015; 17: 405-424

Riedhammer KM, Nguyen TT, Kosukcu C, Calzada-Wack J, Li Y, Assia Batzir N, Saygili S, Wimmers V, Kim GJ, Chrysanthou M, Bakey Z, Sofrin-Drucker E, Kraiger M, Sanz-Moreno A, Amarie OV, Rathkolb B, Klein-Rodewald T, Garrett L, Holter SM, Seisenberger C, Haug S, Schlosser P, Marschall S, Wurst W, Fuchs H, Gailus-Durner V, Wuttke M, Hrabe de Angelis M, Comic J, Akgun Dogan O, Ozluk Y, Tasdemir M, Agbas A, Canpolat N, Orenstein N, Caliskan S, Weber RG, Bergmann C, Jeanpierre C, Saunier S, Lim TY, Hildebrandt F, Alhaddad B, Basel-Salmon L, Borovitz Y, Wu K, Antony D, Matschkal J, Schaaf CW, Renders L, Schmaderer C, Rogg M, Schell C, Meitinger T, Heemann U, Kottgen A, Arnold SJ, Ozaltin F, Schmidts M, Hoefele J. Implication of transcription factor FOXD2 dysfunction in syndromic congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT). *Kidney Int* 2024; 105: 844-864

Rinaldi C, Wood MJA. Antisense oligonucleotides: the next frontier for treatment of neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 2018; 14: 9-21

Roncancio CP, Misnaza SP, Pena IC, Prieto FE, Cannon MJ, Valencia D. Trends and characteristics of fetal and neonatal mortality due to congenital anomalies, Colombia 1999-2008. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2018; 31: 1748-1755

Rosenblum ND, Mattoo TK, Baskin LS, 2022: Overview of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT). <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-congenital-anomalies-of-the-kidney-and-urinary-tract-cakut> (Zugriffsdatum: 08.05.2024)

Salas GL, Otano JC, Cannizzaro CM, Mazzucchelli MT, Goldsmit GS. Congenital diaphragmatic hernia: postnatal predictors of mortality. *Arch Argent Pediatr* 2020; 118: 173-179

Sanna-Cherchi S, Kiryluk K, Burgess KE, Bodria M, Sampson MG, Hadley D, Nees SN, Verbitsky M, Perry BJ, Sterken R, Lozanovski VJ, Materna-Kiryluk A, Barlassina C, Kini A, Corbani V, Carrea A, Somenzi D, Murtas C, Ristoska-Bojkovska N, Izzi C, Bianco B, Zaniew M, Flogelova H, Weng PL, Kacak N, Giberti S, Gigante M, Arapovic A, Drnasin K,

Caridi G, Curioni S, Allegri F, Ammenti A, Ferretti S, Goj V, Bernardo L, Jobanputra V, Chung WK, Lifton RP, Sanders S, State M, Clark LN, Saraga M, Padmanabhan S, Dominiczak AF, Foroud T, Gesualdo L, Gucev Z, Allegri L, Latos-Bielenska A, Cusi D, Scolari F, Tasic V, Hakonarson H, Ghiggeri GM, Gharavi AG. Copy-number disorders are a common cause of congenital kidney malformations. *Am J Hum Genet* 2012; 91: 987-997

Schedl A. Renal abnormalities and their developmental origin. *Nat Rev Genet* 2007; 8: 791-802

Schneider S, Schierbaum L, Burger WAC, Seltzsaam S, Wang C, Zheng B, Wu CW, Nakayama M, Connaughton DM, Mann N, Shalaby MA, Kari JA, EIDesoky S, Tasic V, Eid LA, Shril S, Thal DM, Hildebrandt F. Recessive CHRM5 variant as a potential cause of neurogenic bladder. *Am J Med Genet A* 2023; 191: 2083-2091

Schulman J, Edmonds LD, McClearn AB, Jensvold N, Shaw GM. Surveillance for and comparison of birth defect prevalences in two geographic areas--United States, 1983-88. *MMWR CDC Surveill Summ* 1993; 42: 1-7

Seltzsaam S, Wang C, Zheng B, Mann N, Connaughton DM, Wu CW, Schneider S, Schierbaum L, Kause F, Kolvenbach CM, Nakayama M, Dai R, Ottlewski I, Schneider R, Deutsch K, Buerger F, Klambt V, Mao Y, Onuchic-Whitford AC, Nicolas-Frank C, Yousef K, Pantel D, Lai EW, Salmanullah D, Majmundar AJ, Bauer SB, Rodig NM, Somers MJG, Traum AZ, Stein DR, Daga A, Baum MA, Daouk GH, Tasic V, Awad HS, Eid LA, El Desoky S, Shalaby M, Kari JA, Fathy HM, Soliman NA, Mane SM, Shril S, Ferguson MA, Hildebrandt F. Reverse phenotyping facilitates disease allele calling in exome sequencing of patients with CAKUT. *Genet Med* 2022; 24: 307-318

Shenasa H, Bentley DL. Pre-mRNA splicing and its cotranscriptional connections. *Trends Genet* 2023; 39: 672-685

Short KM, Smyth IM. The contribution of branching morphogenesis to kidney development and disease. *Nat Rev Nephrol* 2016; 12: 754-767

Sotres-Alvarez D, Siega-Riz AM, Herring AH, Carmichael SL, Feldkamp ML, Hobbs CA,

Olshan AF, National Birth Defects Prevention S. Maternal dietary patterns are associated with risk of neural tube and congenital heart defects. *Am J Epidemiol* 2013; 177: 1279-1288

Stegmann JD, Kalanithy JC, Dworschak GC, Ishorst N, Mingardo E, Lopes FM, Ho YM, Grote P, Lindenberg TT, Yilmaz O, Channab K, Seltzsam S, Shril S, Hildebrandt F, Boschann F, Heinen A, Jolly A, Myers K, McBride K, Bekheirnia MR, Bekheirnia N, Scala M, Morleo M, Nigro V, Torella A, consortium T, Pinelli M, Capra V, Accogli A, Maitz S, Spano A, Olson RJ, Klee EW, Lanpher BC, Jang SS, Chae JH, Steinbauer P, Rieder D, Janecke AR, Vodopiutz J, Vogel I, Blechingberg J, Cohen JL, Riley K, Klee V, Walsh LE, Begemann M, Elbracht M, Eggermann T, Stoppe A, Stuurman K, van Slegtenhorst M, Barakat TS, Mulhern MS, Sands TT, Cytrynbaum C, Weksberg R, Isidori F, Pippucci T, Severi G, Montanari F, Kruer MC, Bakhtiari S, Darvish H, Reutter H, Hagelueken G, Geyer M, Woolf AS, Posey JE, Lupski JR, Odermatt B, Hilger AC. Bi-allelic variants in CELSR3 are implicated in central nervous system and urinary tract anomalies. *NPJ Genom Med* 2024; 9: 18

Stephens FD. Urethral obstruction in childhood; the use of urethrography in diagnosis. *Aust N Z J Surg* 1955; 25: 89-109

Stothard KJ, Tennant PW, Bell R, Rankin J. Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2009; 301: 636-650

Stringel G, Filler RM. Prognostic factors in omphalocele and gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1979; 14: 515-519

Stros M, Launholt D, Grasser KD. The HMG-box: a versatile protein domain occurring in a wide variety of DNA-binding proteins. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64: 2590-2606

Sun FL, Dean WL, Kelsey G, Allen ND, Reik W. Transactivation of Igf2 in a mouse model of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Nature* 1997; 389: 809-815

Taruscio D, Mantovani A, Carbone P, Barisic I, Bianchi F, Garne E, Nelen V, Neville AJ, Wellesley D, Dolk H. Primary prevention of congenital anomalies: recommendable,

feasible and achievable. *Public Health Genomics* 2015; 18: 184-191

Tassin M, Descrivaud C, Elie C, Houfflin Debarge V, Dumez Y, Perrotin F, Benachi A. Omphalocele in the first trimester: prediction of perinatal outcome. *Prenat Diagn* 2013; 33: 497-501

Tsakayannis DE, Zurakowski D, Lillehei CW. Respiratory insufficiency at birth: a predictor of mortality for infants with omphalocele. *J Pediatr Surg* 1996; 31: 1088-1090

van der Ven AT, Connaughton DM, Ityel H, Mann N, Nakayama M, Chen J, Vivante A, Hwang DY, Schulz J, Braun DA, Schmidt JM, Schapiro D, Schneider R, Warejko JK, Daga A, Majmundar AJ, Tan W, Jobst-Schwan T, Hermle T, Widmeier E, Ashraf S, Amar A, Hoogstraaten CA, Hugo H, Kitzler TM, Kause F, Kolvenbach CM, Dai R, Spaneas L, Amann K, Stein DR, Baum MA, Somers MJG, Rodig NM, Ferguson MA, Traum AZ, Daouk GH, Bogdanović R, Stajić N, Soliman NA, Kari JA, El Desoky S, Fathy HM, Milosevic D, Al-Saffar M, Awad HS, Eid LA, Selvin A, Senguttuvan P, Sanna-Cherchi S, Rehm HL, MacArthur DG, Lek M, Laricchia KM, Wilson MW, Mane SM, Lifton RP, Lee RS, Bauer SB, Lu W, Reutter HM, Tasic V, Shril S, Hildebrandt F. Whole-Exome Sequencing Identifies Causative Mutations in Families with Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract. *J Am Soc Nephrol* 2018b; 29: 2348-2361

van der Ven AT, Vivante A, Hildebrandt F. Novel Insights into the Pathogenesis of Monogenic Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract. *J Am Soc Nephrol* 2018a; 29: 36-50

Veltman JA, Brunner HG. De novo mutations in human genetic disease. *Nat Rev Genet* 2012; 13: 565-575

Verbitsky M, Westland R, Perez A, Kiryluk K, Liu Q, Krithivasan P, Mitrotti A, Fasel DA, Batourina E, Sampson MG, Bodria M, Werth M, Kao C, Martino J, Capone VP, Vivante A, Shril S, Kil BH, Marasa M, Zhang JY, Na YJ, Lim TY, Ahram D, Weng PL, Heinzen EL, Carrea A, Piaggio G, Gesualdo L, Manca V, Masnata G, Gigante M, Cusi D, Izzi C, Scolari F, van Wijk JAE, Saraga M, Santoro D, Conti G, Zamboli P, White H, Drozd D, Zachwieja K, Miklaszewska M, Tkaczyk M, Tomczyk D, Krakowska A, Sikora P, Jarmolinski T, Borszewska-Kornacka MK, Pawluch R, Szczepanska M, Adamczyk P, Mizerska-Wasiak

M, Krzemien G, Szmigielska A, Zaniew M, Dobson MG, Darlow JM, Puri P, Barton DE, Furth SL, Warady BA, Gucev Z, Lozanovski VJ, Tasic V, Pisani I, Allegri L, Rodas LM, Campistol JM, Jeanpierre C, Alam S, Casale P, Wong CS, Lin F, Miranda DM, Oliveira EA, Simoes ESAC, Barasch JM, Levy B, Wu N, Hildebrandt F, Ghiggeri GM, Latos-Bielenska A, Materna-Kiryluk A, Zhang F, Hakonarson H, Papaioannou VE, Mendelsohn CL, Gharavi AG, Sanna-Cherchi S. The copy number variation landscape of congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Nat Genet* 2019; 51: 117-127

Vivante A, Mann N, Yonath H, Weiss AC, Getwan M, Kaminski MM, Bohnenpoll T, Teyssier C, Chen J, Shril S, van der Ven AT, Ityel H, Schmidt JM, Widmeier E, Bauer SB, Sanna-Cherchi S, Gharavi AG, Lu W, Magen D, Shukrun R, Lifton RP, Tasic V, Stanescu HC, Cavailles V, Kleta R, Anikster Y, Dekel B, Kispert A, Lienkamp SS, Hildebrandt F. A Dominant Mutation in Nuclear Receptor Interacting Protein 1 Causes Urinary Tract Malformations via Dysregulation of Retinoic Acid Signaling. *J Am Soc Nephrol* 2017; 28: 2364-2376

Wang X, Charng WL, Chen CA, Rosenfeld JA, Al Shamsi A, Al-Gazali L, McGuire M, Mew NA, Arnold GL, Qu C, Ding Y, Muzny DM, Gibbs RA, Eng CM, Walkiewicz M, Xia F, Plon SE, Lupski JR, Schaaf CP, Yang Y. Germline mutations in ABL1 cause an autosomal dominant syndrome characterized by congenital heart defects and skeletal malformations. *Nat Genet* 2017; 49: 613-617

Wang P, Chen Y, Yong J, Cui Y, Wang R, Wen L, Qiao J, Tang F. Dissecting the Global Dynamic Molecular Profiles of Human Fetal Kidney Development by Single-Cell RNA Sequencing. *Cell Rep* 2018; 24: 3554-3567 e3553

Weber S, Moriniere V, Knuppel T, Charbit M, Dusek J, Ghiggeri GM, Jankauskiene A, Mir S, Montini G, Peco-Antic A, Wuhl E, Zurowska AM, Mehls O, Antignac C, Schaefer F, Salomon R. Prevalence of mutations in renal developmental genes in children with renal hypodysplasia: results of the ESCAPE study. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2864-2870

Wei Q, Manley NR, Condie BG. Whole mount in situ hybridization of E8.5 to E11.5 mouse embryos. *J Vis Exp* 2011; 10: 2797

Westland R, Verbitsky M, Vukojevic K, Perry BJ, Fasel DA, Zwijnenburg PJ, Bokenkamp

A, Gille JJ, Saraga-Babic M, Ghiggeri GM, D'Agati VD, Schreuder MF, Gharavi AG, van Wijk JA, Sanna-Cherchi S. Copy number variation analysis identifies novel CAKUT candidate genes in children with a solitary functioning kidney. *Kidney Int* 2015; 88: 1402-1410

WHO, World Health Organization, 2023: Congenital Disorders. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/birth-defects> (Zugriffsdatum: 08.05.2024)

Wu CW, Lim TY, Wang C, Seltzsaam S, Zheng B, Schierbaum L, Schneider S, Mann N, Connaughton DM, Nakayama M, van der Ven AT, Dai R, Kolvenbach CM, Kause F, Ottlewski I, Stajic N, Soliman NA, Kari JA, El Desoky S, Fathy HM, Milosevic D, Turudic D, Al Saffar M, Awad HS, Eid LA, Ramanathan A, Senguttuvan P, Mane SM, Lee RS, Bauer SB, Lu W, Hilger AC, Tasic V, Shril S, Sanna-Cherchi S, Hildebrandt F. Copy Number Variation Analysis Facilitates Identification of Genetic Causation in Patients with Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract. *Eur Urol Open Sci* 2022; 44: 106-112

Wu CW, Mann N, Nakayama M, Connaughton DM, Dai R, Kolvenbach CM, Kause F, Ottlewski I, Wang C, Klambt V, Seltzsaam S, Lai EW, Selvin A, Senguttuva P, Bodamer O, Stein DR, El Desoky S, Kari JA, Tasic V, Bauer SB, Shril S, Hildebrandt F. Phenotype expansion of heterozygous FOXC1 pathogenic variants toward involvement of congenital anomalies of the kidneys and urinary tract (CAKUT). *Genet Med* 2020; 22: 1673-1681

Zaganjor I, Sekkarie A, Tsang BL, Williams J, Razzaghi H, Mulinare J, Sniezek JE, Cannon MJ, Rosenthal J. Describing the Prevalence of Neural Tube Defects Worldwide: A Systematic Literature Review. *PLoS One* 2016; 11: e0151586

Zhang Z, Verheyden JM, Hassell JA, Sun X. FGF-regulated Etv genes are essential for repressing Shh expression in mouse limb buds. *Dev Cell* 2009; 16: 607-613

Zheng B, Seltzsaam S, Wang C, Schierbaum L, Schneider S, Wu CW, Dai R, Connaughton DM, Nakayama M, Mann N, Stajic N, Mane S, Bauer SB, Tasic V, Nam HJ, Shril S, Hildebrandt F. Whole-exome sequencing identifies FOXL2, FOXA2 and FOXA3 as candidate genes for monogenic congenital anomalies of the kidneys and urinary tract. *Nephrol Dial Transplant* 2022; 37: 1833-1843

Zhu Y, Zhu L, Wang X, Jin H. RNA-based therapeutics: an overview and prospectus. *Cell Death Dis* 2022; 13: 644

9. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Prof. Dr. Benjamin Odermatt, Prof. Dr. Friedhelm Hildebrandt, Prof. Dr. Heiko Reutter und Prof. Dr. Matthias Geyer für die hervorragende Betreuung meiner Dissertation und die Unterstützung in allen Phasen dieser Arbeit bedanken. Die Forschung unter ihrer Anleitung hat mich motiviert, auch in Zukunft wissenschaftlich zu arbeiten.

Ich möchte mich bei allen Mitgliedern des Hildebrandt Labors bedanken, insbesondere bei Shirlee Shril und Dr. Ronen Schneider, die mich bei der Durchführung der Promotion unterstützt haben. Mein weiterer Dank geht an Dr. Ken Saida (Sensei), Seyoung Yu, Dr. Katharina Lemberg und Selina Hölzel. Ich danke dem Institut für Anatomie und Zellbiologie für ihre Unterstützung, insbesondere Prof. Dr. Karl Schilling, Dr. Gabriel Dworschak, Tobias Lindenberg und Öznur Yilmaz. Ich danke der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung meiner Forschungsprojekte. Außerdem möchte ich mich bei allen Patienten und ihren Familien bedanken, die an unseren Studien teilgenommen haben.

Mein besonderer Dank gilt PD Dr. Philipp Maximilian Holle für seine beständige Unterstützung in allen Belangen.

Schließlich möchte ich mich von ganzem Herzen bei meinen Eltern Cornelia und Joachim Kolvenbach und meinen Brüdern Domenic und Henric für ihre Unterstützung während meiner Promotion, meines Studiums und darüber hinaus bedanken.

10. Publikationsverzeichnis (05/2024)

1. Vong KI, Lee S, Au KS, Crowley TB, Capra V, Martino J, Haller M, Araújo C, Machado HR, George R, Gerding B, James KN, Stanley V, Jiang N, Alu K, Meave N, Nidhiry AS, Jiwani F, Tang I, Nisal A, Jhamb I, Patel A, Patel A, McEvoy-Venneri J, Barrows C, Shen C, Ha YJ, Howarth R, Strain M, Ashley-Koch AE, Azam M, Mumtaz S, Bot GM, Finnell RH, Kibar Z, Marwan AI, Melikishvili G, Meltzer HS, Mutchinick OM, Stevenson DA, Mroczkowski HJ, Ostrander B, Schindewolf E, Moldenhauer J, Zackai EH, Emanuel BS, Garcia-Minaur S, Nowakowska BA, Stevenson RE, Zaki MS, Northrup H, McNamara HK, Aldinger KA, Phelps IG, Deng M, Glass IA; Spina Bifida Sequencing Consortium†; Morrow B, McDonald-McGinn DM, Sanna-Cherchi S, Lamb DJ, Gleeson JG, Koch AEA, Meltzer HS, Le J, Au KS, Northrup H, Bot GM, Capra V, Finnell RH, Kibar Z, Lupo PJ, Machado HR, Araújo C, Magana T, Marwan AI, Melikishvili G, Mutchinick OM, Stevenson RE, Yurrita A, Zaki MS, Mumtaz S, Medina-Bereciartu JR, **Kolvenbach CM**, Shril S, Hildebrandt F, Noureldeen MM, Salem AM, Takahashi Y, Salimi-Dafsari H, Phillips HW, Hanak B, Kara B, Güneş AS, Gonda DD, Kirmani S, Tkemaladze T, Gleeson JG. Risk of meningomyelocele mediated by the common 22q11.2 deletion. *Science*. 2024 May 3;384(6695):584-590.
2. Elmubarak I, Shril S, Mansour B, Bao A, **Kolvenbach C**, Kari JA, El Desoky S, Hildebrandt F, Schneider R. Recessive variants in MYO1C as a potential novel cause of proteinuric kidney disease. *Res Sq [Preprint]*. 2024 Apr 11:rs.3.rs-4183332.
3. Schneider R*, Mansour B*, **Kolvenbach CM***, Buerger F, Salmanullah D, Lemberg K, Merz LM, Mertens ND, Saida K, Yousef K, Franken GAC, Bao A, Yu S, Höz el S, Frank CN, Shril S, Hildebrandt F. Phenotypic Quantification of Nphs1 Deficient Mice. *J Nephrol. In press 5/2024*
4. Schneider R, Shril S, Buerger F, Deutsch K, Yousef K, Frank CN, Onuchic-Whitford AC, Kitzler TM, Mao Y, Klämbt V, Zahoor MY, Lemberg K, Majmundar AJ, Mansour B, Saida K, Seltzsam S, **Kolvenbach CM**, Merz LM, Mertens ND, Hermle T, Mann N, Pantel D, Halawi AA, Bao A, Schierbaum L, Schneider S, Salmanullah D, Ben-Dov IZ, Sagiv I, Eid LA, Awad HSH, Al Saffar M, Soliman NA, Nabhan MM, Kari JA, El Desoky S, Shalaby MA, Ooda S, Fathy HM, Mane S, Lifton RP, Somers MJG, Hildebrandt F. Expanding the spectrum of novel candidate genes using trio exome sequencing and identification of monogenic cause in 27.5% of 320 families with steroid resistant nephrotic syndrome. *Genes and Diseases. In press. 2024 Mar*.
5. Buerger F, Merz LM, Saida K, Yu S, Salmanullah D, Lemberg K, Mertens ND, Mansour B, **Kolvenbach CM**, Yousef K, Braun A, Franken GAC, Endlich N, Schneider R, Shril S, Hildebrandt F. Quantitative phenotyping of Nphs1 knockout mice as a prerequisite for gene replacement studies. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2024 Mar 14.

6. **Kolvenbach CM**, Shril S, Hildebrandt F. The genetics and pathogenesis of CAKUT. *Nat Rev Nephrol.* 2023 Nov;19(11):709-720.
7. **Kolvenbach CM**, Dworschak GC, Rieke JM, Woolf AS, Reutter H, Odermatt B, Hilger AC. Modelling human lower urinary tract malformations in zebrafish. *Mol Cell Pediatr.* 2023. 1:2.
8. **Kolvenbach CM**, Zheng B, Merz LM, Mertens ND, Mansour B, Wang C, Seltzsaam S, Schneider S, Schierbaum L, Pantel D, Chen J, van der Ven AT, Bello JO, Shril S, Hildebrandt F. A homozygous truncating ETV4 variant in a Nigerian family with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Am J Med Genet A.* 2023. 5:1355-1359.
9. **Kolvenbach CM**, Felger T, Schierbaum L, Thiffault I, Pastinen T, Szczepańska M, Zaniew M, Adamczyk P, Bayat A, Yilmaz O, Lindenberg TT, Thiele H, Hildebrandt F, Hinderhofer K, Moog U, Hilger AC, Sullivan B, Bartik L, Gnyś P, Grote P, Odermatt B, Reutter H, Dworschak GC. X-linked variations in SHROOM4 are implicated in congenital anomalies of the urinary tract, the anorectal, the cardiovascular, and the central nervous system. *J Med Genet.* 2022. 6:587-596.
10. Wu CW, Lim TY, Wang C, Seltzsaam S, Zheng B, Schierbaum L, Schneider S, Mann N, Connaughton DM, Nakayama M, van der Ven AT, Dai R, **Kolvenbach CM**, Kause F, Ottlewski I, Stajic N, Soliman NA, Kari JA, El Desoky S, Fathy HM, Milosevic D, Turudic D, Al Saffar M, Awad HS, Eid LA, Ramanathan A, Senguttuvan P, Mane SM, Lee RS, Bauer SB, Lu W, Hilger AC, Tasic V, Shril S, Sanna-Cherchi S, Hildebrandt F. Copy Number Variation Analysis Facilitates Identification of Genetic Causation in Patients with Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract. *Eur Urol Open Sci.* 2022. 44:106-112.
11. Seltzsaam S, Wang C, Zheng B, Mann N, Connaughton DM, Wu CW, Schneider S, Schierbaum L, Kause F, **Kolvenbach CM**, Nakayama M, Dai R, Ottlewski I, Schneider R, Deutsch K, Buerger F, Klämbt V, Mao Y, Onuchic-Whitford AC, Nicolas-Frank C, Yousef K, Pantel D, Lai EW, Salmanullah D, Majmundar AJ, Bauer SB, Rodig NM, Somers MJG, Traum AZ, Stein DR, Daga A, Baum MA, Daouk GH, Tasic V, Awad HS, Eid LA, El Desoky S, Shalaby M, Kari JA, Fathy HM, Soliman NA, Mane SM, Shril S, Ferguson MA, Hildebrandt F. Reverse phenotyping facilitates disease allele calling in exome sequencing of patients with CAKUT. *Genet Med.* 2022. 24(2):307-318.
12. **Kolvenbach CM**, van der Ven AT, Kause F, Shril S, Scala M, Connaughton DM, Mann N, Nakayama M, Dai R, Kitzler TM, Schneider R, Schierbaum L, Schneider S, Accogli A, Torella A, Piatelli G, Nigro V, Capra V, Hoppe B, Märzheuser S, Schmiedeke E, Rehm HL, Mane S, Lifton RP, Dworschak GC, Hilger AC, Reutter H, Hildebrandt F. Exome survey of individuals affected by VATER/VACTERL with renal phenotypes identifies phenocopies and novel candidate genes. *Am J Med Genet A.* 2021. 185(12):3784-3792.

13. Majmundar AJ, Buerger F, Forbes TA, Klämbt V, Schneider R, Deutsch K, Kitzler TM, Howden SE, Scurr M, Tan KS, Krzeminski M, Widmeier E, Braun DA, Lai E, Ullah I, Amar A, Kolb A, Eddy K, Chen CH, Salmanullah D, Dai R, Nakayama M, Ottlewski I, **Kolvenbach CM**, Onuchic-Whitford AC, Mao Y, Mann N, Nabhan MM, Rosen S, Forman-Kay JD, Soliman NA, Heilos A, Kain R, Aufricht C, Mane S, Lifton RP, Shril S, Little MH, Hildebrandt F. Recessive NOS1AP variants impair actin remodeling and cause glomerulopathy in humans and mice. *Sci Adv.* 2021. 7(1):eabe1386.
14. Schneider R, Deutsch K, Hoeplich GJ, Marquez J, Hermle T, Braun DA, Seltzsaam S, Kitzler TM, Mao Y, Buerger F, Majmundar AJ, Onuchic-Whitford AC, **Kolvenbach CM**, Schierbaum L, Schneider S, Halawi AA, Nakayama M, Mann N, Connaughton DM, Klämbt V, Wagner M, Riedhammer KM, Renders L, Katsura Y, Thumkeo D, Soliman NA, Mane S, Lifton RP, Shril S, Khokha MK, Hoefele J, Goode BL, Hildebrandt F. DAAM2 Variants Cause Nephrotic Syndrome via Actin Dysregulation. *Am J Hum Genet.* 2020. 107(6):1113-1128.
15. Connaughton DM, Dai R, Owen DJ, Marquez J, Mann N, Graham-Paquin AL, Nakayama M, Coyaud E, Laurent EMN, St-Germain JR, Blok LS, Vino A, Klämbt V, Deutsch K, Wu CW, **Kolvenbach CM**, Kause F, Ottlewski I, Schneider R, Kitzler TM, Majmundar AJ, Buerger F, Onuchic-Whitford AC, Youying M, Kolb A, Salmanullah D, Chen E, van der Ven AT, Rao J, Ityel H, Seltzsaam S, Rieke JM, Chen J, Vivante A, Hwang DY, Kohl S, Dworschak GC, Hermle T, Alders M, Bartolomaeus T, Bauer SB, Baum MA, Brilstra EH, Challman TD, Zyskind J, Costin CE, Dipple KM, Duijkers FA, Ferguson M, Fitzpatrick DR, Fick R, Glass IA, Hulick PJ, Kline AD, Krey I, Kumar S, Lu W, Marco EJ, Wentzensen IM, Mefford HC, Platzer K, Povolotskaya IS, Savatt JM, Shcherbakova NV, Senguttuvan P, Squire AE, Stein DR, Thiffault I, Voinova VY, Somers MJG, Ferguson MA, Traum AZ, Daouk GH, Daga A, Rodig NM, Terhal PA, van Binsbergen E, Eid LA, Tasic V, Rasouly HM, Lim TY, Ahram DF, Gharavi AG, Reutter HM, Rehm HL, MacArthur DG, Lek M, Laricchia KM, Lifton RP, Xu H, Mane SM, Sanna-Cherchi S, Sharrocks AD, Raught B, Fisher SE, Bouchard M, Khokha MK, Shril S, Hildebrandt F. Mutations of the Transcriptional Corepressor ZMYM2 Cause Syndromic Urinary Tract Malformations. *Am J Hum Genet.* 2020. 107(4):727-742.
16. Wu CW, Mann N, Nakayama M, Connaughton DM, Dai R, **Kolvenbach CM**, Kause F, Ottlewski I, Wang C, Klämbt V, Seltzsaam S, Lai EW, Selvin A, Senguttuva P, Bodamer O, Stein DR, El Desoky S, Kari JA, Tasic V, Bauer SB, Shril S, Hildebrandt F. Phenotype expansion of heterozygous FOXC1 pathogenic variants toward involvement of congenital anomalies of the kidneys and urinary tract (CAKUT). *Genet Med.* 2020. 22(10):1673-1681.
17. Mann N, Kause F, Henze EK, Gharpure A, Shril S, Connaughton DM, Nakayama M, Klämbt V, Majmundar AJ, Wu CW, **Kolvenbach CM**, Dai R, Chen J, van der Ven AT, Ityel H, Tooley MJ, Kari JA, Bownass L, El Desoky S, De Franco E, Shalaby M, Tasic V, Bauer SB, Lee RS, Beckel JM, Yu W, Mane SM, Lifton RP, Reutter H, Ellard S, Hibbs RE, Kawate T, Hildebrandt F. CAKUT and Autonomic

- Dysfunction Caused by Acetylcholine Receptor Mutations. *Am J Hum Genet.* 2019. 105(6):1286-1293.
18. Kitzler TM, Schneider R, Kohl S, **Kolvenbach CM**, Connaughton DM, Dai R, Mann N, Nakayama M, Majmundar AJ, Wu CW, Kari JA, El Desoky SM, Senguttuvan P, Bogdanovic R, Stajic N, Valivullah Z, Lek M, Mane S, Lifton RP, Tasic V, Shril S, Hildebrandt F. COL4A1 mutations as a potential novel cause of autosomal dominant CAKUT in humans. *Hum Genet.* 2019. 138(10):1105-1115.
 19. **Kolvenbach CM***, Dworschak GC*, Frese S, Japp AS, Schuster P, Wenzlitschke N, Yilmaz Ö, Lopes FM, Pryalukhin A, Schierbaum L, van der Zanden LFM, Kause F, Schneider R, Taranta-Janusz K, Szczepańska M, Pawlaczyk K, Newman WG, Beaman GM, Stuart HM, Cervellione RM, Feitz WFJ, van Rooij IALM, Schreuder MF, Steffens M, Weber S, Merz WM, Feldkötter M, Hoppe B, Thiele H, Altmüller J, Berg C, Kristiansen G, Ludwig M, Reutter H, Woolf AS, Hildebrandt F, Grote P, Zaniew M, Odermatt B, Hilger AC. Rare Variants in BNC2 Are Implicated in Autosomal-Dominant Congenital Lower Urinary-Tract Obstruction. *Am J Hum Genet.* 2019. 104(5):994-1006.
 20. Jobst-Schwan T, Hoogstraten CA, **Kolvenbach CM**, Schmidt JM, Kolb A, Eddy K, Schneider R, Ashraf S, Widmeier E, Majmundar AJ, Hildebrandt F. Corticosteroid treatment exacerbates nephrotic syndrome in a zebrafish model of magi2a knockout. *Kidney Int.* 2019. 95(5):1079-1090.
 21. Connaughton DM, Kennedy C, Shril S, Mann N, Murray SL, Williams PA, Conlon E, Nakayama M, van der Ven AT, Ityel H, Kause F, **Kolvenbach CM**, Dai R, Vivante A, Braun DA, Schneider R, Kitzler TM, Moloney B, Moran CP, Smyth JS, Kennedy A, Benson K, Stapleton C, Denton M, Magee C, O'Seaghdha CM, Plant WD, Griffin MD, Awan A, Sweeney C, Mane SM, Lifton RP, Griffin B, Leavey S, Casserly L, de Freitas DG, Holian J, Dorman A, Doyle B, Lavin PJ, Little MA, Conlon PJ, Hildebrandt F. Monogenic causes of chronic kidney disease in adults. *Kidney Int.* 2019. 95(4):914-928.
 22. van der Ven AT, Connaughton DM, Ityel H, Mann N, Nakayama M, Chen J, Vivante A, Hwang DY, Schulz J, Braun DA, Schmidt JM, Schapiro D, Schneider R, Warejko JK, Daga A, Majmundar AJ, Tan W, Jobst-Schwan T, Hermle T, Widmeier E, Ashraf S, Amar A, Hoogstraaten CA, Hugo H, Kitzler TM, Kause F, **Kolvenbach CM**, Dai R, Spaneas L, Amann K, Stein DR, Baum MA, Somers MJG, Rodig NM, Ferguson MA, Traum AZ, Daouk GH, Bogdanović R, Stajić N, Soliman NA, Kari JA, El Desoky S, Fathy HM, Milosevic D, Al-Saffar M, Awad HS, Eid LA, Selvin A, Senguttuvan P, Sanna-Cherchi S, Rehm HL, MacArthur DG, Lek M, Laricchia KM, Wilson MW, Mane SM, Lifton RP, Lee RS, Bauer SB, Lu W, Reutter HM, Tasic V, Shril S, Hildebrandt F. Whole-Exome Sequencing Identifies Causative Mutations in Families with Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract. *J Am Soc Nephrol.* 2018. 29(9):2348-2361.

11. Appendix

Tab. 1: Detaillierte Angaben zu den Phäno- und Genotypen der 41 CAKUT-Familien mit einer *de novo* Variante in 45 potenziell neuen CAKUT-Kandidatengen.

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Protein-änderung dbSNP	Aminosäurenkon-serv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B3151 Trio	SOX13	<i>De novo</i> HET	c.1154C>A p.Ser385* -	-	- - -	-	G -	W	5	L NIERENAGENESIE	PREAURIKULÄRES ANHÄNGSEL	-
B2791 Trio	HOXC4	<i>De novo</i> HET	c.64_66delGA A p.Glu22del -	-	- - -	-	- -	M	15	L NIERENAGENESIE	-	-
B2786 Trio	ARFGEF3	<i>De novo</i> HET	c.935C>T p.Pro312Leu -	D. r.	1 D DC	-	G -	M	5	L HYDRO-NEPHROSE, UVJO, UPJO	-	-
A4670 Trio	TAOK1	<i>De novo</i> HET	c.806G>A p.Arg269Gln -	D. r.	1 D DC	-	G -	W	8	BL VUR	-	-
B3124 Trio	PROX1	<i>De novo</i> HET	c.154C>G p.Gln52Glu -	D.m.	0.01 T -	-	G -	W	14	L NIERENAGENESIE	-	-
B4047 Trio	PRPF8	<i>De novo</i> HET	c.4241G>A p.Arg1414His -	S. c.	0.95 D DC	-	G -	W	2	R NIERENAGENESIE	-	-
A4449 Trio	SLTM	<i>De novo</i> HET	c.2079+1G>A p.? -	-	- - -	-	G -	M	11	R UPJO	-	-
A5053 Trio	C11orf73/ HIKESHI	<i>De novo</i> HET	c.20C>A p.Ala7Glu -	C. i.	0.76 D DC	-	G -	W	12	L VUR, R UPJO	-	-
B2514 Trio	IRX6	<i>De novo</i> HET	c.809G>C p.Lys270Asn -	D. r.	0.94 D T	-	- -	W	4	L RENALE DYSPLASIE, R UPJO, HYDRONEPHROSE	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Protein-änderung dbSNP	Aminosäurenkon-serv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B3125 Trio	PTPRZ1	De novo HET	c.6749A>C p.Asp2250Ala -	D. r.	1,00 D DC	-	G -	W	14	L UVJO, HYDRONEPHROSE	-	-
B3128 Trio	BRPF1	De novo HET	c.1784G>A p.Arg595Gln -	D. m.	1,00 T DC	0/1/24980 6	G -	W	3	L UVJO, HYDRONEPHROSE	-	-
B3153 Trio	BSX	De novo HET	c.47G>A p.Arg16Lys rs772444026	X. t.	0,21 T B	0/2/21868 0	- -	M	6	BLASEN- EXSTROPHIE	-	-
B3170 Trio	AGRN	De novo HET	c.809G>C p.Cys270Ser -	D. r.	0,78 D -	-	G -	M	13	L UPJO, HYDRONEPHROSE	-	MGI:87961
B3180 Trio	ADCYAP1 R1	De novo HET	c.580G>A p.Val194Met -	D. m.	- D DC	-	- -	W	10	R HYPO- DYSPLASTISCHE NIERE	-	-
B3185 Trio	MTHFD1	De novo HET	c.2055C>A p.Cys685* -	-	- - -	-	G -	W	5	BL UVJO, HYDRONEPHROSE	-	-
B3208 Trio	UBR5	De novo HET	c.6737G>A p.Arg2246Gln -	D. m.	0,98 T DC	-	G -	M	3	L VUR, HYDRONEPHROSE, URETEROZELE	-	-
B3211 Trio	TPRG1L	De novo HET	c.626T>G p.Leu209Trp -	D. r.	0,95 D DC	-	- -	W	5	L UPJO	-	-
B3217 Trio	SDF2	De novo HET	c.320A>G p.His107Arg -	C. e.	0,01 D DC	-	G -	W	26	L DUPLEX MIT DYSPLASTISCHEN AFUNKTIONALEN OBEREN SYSTEM	-	-
B3227 Trio	SWAP70	De novo HET	c.179A>G p.Asp60Gly -	D. r.	0,52 D DC	-	G -	M	5	HUFEISENNIERE	-	-
B3229 Trio	COPS7A	De novo HET	c.27delG p.Gln10fs -	-	- - -	-	- -	M	2	BL UPJO	-	MGI:1349400

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Protein-änderung dbSNP	Aminosäurenkon-serv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B3962 Trio	SCN3A	De novo HET	c.2278C>T p.Pro760Ser -	D. r.	1,00 D DC	-	G -	W	5	R MCDK	-	-
B4045 Trio	DUSP23	De novo HET	c.442C>T p.Arg148* rs753351367	-	- - -	0/2/31342	G -	W	2	L VUR III	-	-
B4060 Trio	ASPHD1	De novo HET	c.816T>A p.Tyr272* -	-	- - -	-	- -	W	3	R EKTOPIE UND HYPOPLASTISCHE NIERE	-	-
B2807 Trio	DLX3	De novo HET	c.475C>T p.Arg159Cys -	D. m.	1,00 D DC	-	G -	W	7	BL VUR	-	-
B3254 Trio	HSP90AB1	De novo HET	c.1271A>G p.Glu424Gly -	X. t.	0,89 D DC	-	- -	W	16	R VUR II	-	-
B3375 Trio	SOCS5	De novo HET	c.35A>C p.Lys12Thr -	X. t.	0,37 T P	-	- -	M	9	R VUR II	-	-
B3379 Trio	PLA2G4A	De novo HET	c.1588G>T p.Glu530* -	-	- - -	-	G -	M	6	BL VUR	-	MGI:1195256
B3427 Trio	POLQ	De novo HET	c.1186C>G p.Arg396Gly rs774439685	C. e.	0,88 T DC	0/1/24887 0	G VUS	W	3	BL VUR	-	-
B3497 Trio	PDE1A	De novo HET	c.499G>C p.Asp167His -	D. r.	0,97 T DC	-	G -	M	5	BL VUR V, HYDRONEPHROSE	-	MGI:1201792
B3498 Trio	AIM1/ CRYBG1	De novo HET	c.2873A>T p.Asp958Val -	M. m.	0,30 T P	-	- -	W	4	L VUR	-	-
B3748 Trio	PDS5A	De novo HET	c.3247C>T p.Leu1083Phe -	D.r.	0,32 T D	-	G -	W	6	BL VUR	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Protein-änderung dbSNP	Aminosäurenkon-serv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B2796 Trio	EML6	De novo HET	c.5620G>A p.Gly1874Arg -	C. i.	1,00 D DC	-	G -	W	5	BL HYDRO-NEPHROSE	-	-
A4850 Trio	MVP	De novo HET	c.1721C>T p.Ala574Val -	C.i.	0,87 D DC	-	- -	W	19	R VUR	-	-
B3163 Trio	DDB1	De novo HET	c.1688A>T p.Asp563Val -	S. c.	0,91 8 T DC	-	G -	M	11	L NIERENAGENESIE, R VUR III	-	MGI:1202384
	GRHL1	De novo HET	c.981delG p.Gln328fs -	-	- -	-	G -					-
	SRSF9	De novo HET	c.343G>A p.Val115Ile -	C. e.	0,30 T DC	-	- -					-
B3228 Trio	TJAP1	De novo HET	c.1540delC p.His514fs -	-	- -	-	- -	M	11	BL HYDRO-NEPHROSE	-	-
	CSTF3	De novo HET	c.786C>G p.Asn262Lys -	S. c.	0,99 D DC	-	- -					-
B3193 Trio	KCNN3	De novo HET	c.1745G>A p.Arg582Gln rs935918876	D. m.	0,98 - T	0/2/25105 2	G -	M	2	R UPJO	-	-
	COMMD3-BM1	De novo HET	c.1050G>A p.Met350Ile -	D. m.	0,16 D DC	-	G -					-
B3060 Trio	PDE2A^x	De novo HET	c.743A>G p.Lys248Arg -	X. t.	0,88 T DC	-	G -	M	12	R HYDRO-NEPHROSE	HYPODONTIE	-
B3955 Trio	FRMD4A	De novo HET	c.2773T>G p.Ser925Ala -	D. r.	0,32 T -	-	G -	M	2	BL DUPLEX SYSTEM, RTA, HYPERKALZIURIE	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Protein-änderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B3968 Trio	TLK2	De novo HET	c.1826T>C p.Met609Thr	D. m.	0,99 T DC	-	V -	W	12	R HYPOPLASTISCHE NIERE, L HYDRO-NEPHROSE	-	-
B3061 Trio	FOXL2	De novo HET	c.313_315delAAC p.Asn105del rs1057516154	-	- -	-	V VUS	M	14	L UPJO	BLEPHAROPHIMOSE, BL PTOSIS	-
B3761 Trio	FBXW7	De novo HET	c.1854delA p.Gly619fs -	-	- -	-	G -	M	23	BL VUR	-	-

-, nicht verfügbar; Aminosäurenkonserv., Aminosäurenkonservierung; BL, bilateral; DC, disease-causing (dt. krankheitsverursachend); D, deleterious (dt. schädlich); gnomAD, Genome Aggregation Database; Homozygot., Homozygotie; HET, heterozygot; L, links; M, männlich; MCDK, multicystic dysplastic kidney (dt. multizystische dysplastische Niere); MGI, Mouse Genome Informatics Datenbank; MT, MutationTaster; PP2, PolyPhen-2 PUV, posterior urethral valves (dt. Harnröhrenklappen) ; R, rechts; RTA, renale tubuläre Azidose; SIFT, Sorting intolerant from tolerant; T, toleriert; UPJO, ureteropelvic junction obstruction (dt. Obstruktion der ureteropelvinen Verbindung); UVJO, ureterovesical junction obstruction (dt. Obstruktion der ureterovesikalen Verbindung); VUR, vesikoureteraler Reflux; W, weiblich

^a Evolutionäre Aminosäurenkonservierung wurde über die Phylogenie der folgenden Spezies erfasst: *Mus musculus* (M. m.), *Gallus gallus* (G. g.), *Xenopus tropicalis* (X. t.), *Danio rerio* (D. r.), *Ciona intestinalis* (C. i.), *Caenorhabditis elegans* (C. e.), *Drosophila melanogaster* (D. m.) und *Saccharomyces cerevisiae* (S. c.).

^b Allelfrequenz in gnomAD ist angegeben mit homozygot/hemizygot (falls zutreffend)/heterozygot/totale Allelnummer.

^c Status der Variante in Human Gene Mutation Database (HGMD[®]): V, Variante wurde als pathogen beschrieben; G, die spezielle Variante wurde nicht beschrieben, allerdings sind andere pathogene Varianten in dem Gen bereits beschrieben.

^d ClinVar Klassifikation der Variante wie folgt: B, benign (dt. gutartig); LB, likely benign (dt. vermutlich gutartig); VUS, variant of uncertain significance (dt. Variante mit ungewisser Signifikanz); LP, likely pathogenic (dt. vermutlich pathogen); P, pathogenic (dt. pathogen).

^x Variante konnte in den Eltern des Probanden nicht Sanger-sequenziert /die Abwesenheit nicht bestätigt werden.

Tab. 2: Detaillierte Informationen über Phäno- und Genotypen der 109 CAKUT-Familien mit einer einzelnen Variante in einem potenziellen Kandidatengen für CAKUT (ohne 33 *de novo* Varianten, siehe Tab. 1).

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B4086 Singleton	LAMA5	HOM	c.4679G>A p.Arg1560His rs137986729	C. i.	0,98 T DC	0/99/2785620	G LB	M	151	NA; NA	L DYSPLASTISCHE NIERE, R ECHOGENE NIERE, VERDACHT AUF ARPKD	HEPATISCHE PERI-PORTALE FIBROSE	MGI:105382
B3382 Trio	NCOA4	HOM	c.1835G>A p.Cys612Tyr -	D. r.	1,00 D -	-	- -	W	34	HET; HET (gesundes Geschwisterkind HOM)	R NIEREN-AGENESIE, L VUR V	-	-
B3964 Trio	DNAH10	HET	c.2860G>C p.Val954Leu rs146033482	X. t.	0,00 T P	0/123/282708	G VUS	W	13	WT; HET	L NIEREN-AGENESIE, R VUR III	-	-
		HET	c.13243A>G p.Ile4415Val rs187199487	D. m.	0,07 T DC	0/211/280518	G -			HET; WT			
A1136 Geschwisterpaar	GPR112	HEM I	c.2138delG p.Gly713fs -	-	- - -	-	G -	M	6	NA; NA (betroffener Bruder HEM I)	R EKTOPISCHE NIERE	-	-
B1135 Singleton	GPR112^x	HEM I	c.7414G>A p.Ala2472Thr -	X. t.	0,99 D P	-	- -	M	4	NA; NA	PUV, NEUROGENE BLASE	TRISOMIE 21, REFLUX, KONSTIPATION	-
B3533 Singleton	GPR112	HEM I	c.5816C>G p.Ser1939* rs1367888559	-	-	-	G -	M	5	NA; NA	PUV, VUR	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B2588 Singleton	SERPIN E1	HOM	c.911A>G p.Glu304Gly -	M. m.	0,79 T DC	-	G -	M	8	WT; HET	L NIEREN-AGENESIE	ENTWICKLUNGS- VERZÖ- GERUNG CORPUS CALLOSUM AGENESIE, WACHS- TUMSVERZÖ- GERUNG, INFANTILES FIBRO- SARKOM	-
B222 Singleton	TENM1	HEM I	c.3095G>A p.Arg1032His -	D. m.	1,00 D DC	-	G -	M	25	NA; NA	L NIEREN- AGENESIE, R MEGAURETER	-	-
B2281 Duo	TENM1	HEM I	c.4358A>C p.Glu1453Ala -	X. t.	0,77 D P	-	G -	M	2	NA; HET	PUV, BL VUR, BL HYDRO- NEPHROSE	-	-
A3458 Singleton	MTMR8	HEM I	c.579C>G p.Tyr193* -	-	- - -	-	G -	M	10	NA; NA	R NIEREN- AGENESIE	-	-
B3733 Singleton	DNAJC1 0	HOM	c.1615G>T p.Gly539* -	-	- - -	-	- -	M	91	NA; NA	R DUPLEX, VUR V	ASD	-
B3805 Singleton	PARVB^x	HOM	c.320C>T p.Thr107Met rs62227666	C. i.	0,81 T DC	0/25/251350	G -	M	111	NA; NA	NEUROGENE BLASE, ESRD	-	-
B4074 Trio	DNAH11	HET	c.5633C>A p.Thr1878Asn -	D. r.	0,99 D DC	0/3/247672	G -	M	5	WT; HET	R UPJO	L POLYTHELIE	MGI:1100 864
		HET	c.11537A>C p.Asp3846Ala rs758143429	D. r.	1,00 D DC	0/1/248718	G -			HET; WT			
B2568 Trio	CHD1L	HET	c.1840C>T p.Arg614* rs587651895	-	- - -	0/6/230932	G VUS	M	5	HET; WT (gesunder Vater)	L NIEREN- AGENESIE	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B1254 Singleton	CHD1L^o	HET	c.1205G>A p.Arg402Lys -	D. r.	1,00 D DC	-	G -	M	8	NA; NA	BL VUR UND HYDRO-NEPHROSIS	-	-
B1093 Singleton	CHD1L^o	HET	c.1175G>A p.Arg392His rs782668695	D. r.	1,00 D DC	0/8/251212	V -	M	7	NA; NA	PUV	-	-
B2731 Singleton	CHD1L^o	HET	c.2296T>C p.Tyr766His -	D. r.	0,99 D DC	-	G -	W	165	NA; NA	HYPOPLASTISCHE ECHOGENE NIEREN	-	-
B2325 Singleton	CHD1L^o	HET	c.2296T>C p.Tyr766His -	D. r.	0,99 D DC	-	G -	M	258	NA; NA	R UVJO, R HYDRO-NEPHROSE	-	-
A4477 Singleton	LAGE3	HEM I	c.2T>C p.Met1? -	-	- - -	-	- -	M	7	NA; NA	MALROTIERTE R NIERE, R HYDRO-NEPHROSE	HYPERTELORISMUS, SYNOPHRYS, ANTIMONGOLIDE AUGEN, DICKE AUGENBRAUEN, LANGE WIMPERN, ENGER UND TIEFER GAUMEN, KLEINE OHREN, ID, PECTUS EXCAVATUM, PILONIDALSINUS	-
B2023 Singleton	VWA8	HOM	c.1991G>A p.Arg664Gln rs149571852	C. i.	0,99 T DC	0/69/282062	G VUS	M	104	NA; NA	R MCDK, BL VUR	ASTHMA, EKZEM	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B2730 Singleton	KIF19	HOM	c.664G>A p.Ala222Thr rs34016821	D. r.	0,99 D DC	2/672/280536	G LB	W	81	NA; NA	BL VUR	-	-
B2830 Singleton	CEP192	HOM	c.5574C>G p.Ile1858Met rs540749355	D. r	0,90 D DC	2/36/248960	G -	M	241	NA; NA	L MCDK, L UPJO	-	-
B1472 Trio	RGN	HEM I	c.62T>C p.Val21Ala -	D. r.	0,91 T DC	0/1/1/21871	G -	M	72	NA; HET	L UPJO, L HYDRO-NEPHROSE	-	-
B2713 Singleton	RGN	HEM I	c.473G>C p.Trp158Ser -	D. m.	1,00 D DC	-	G -	M	13	NA; NA	PUV, BL VUR, L DUPLEX SYSTEM	-	-
B3039 Trio	CIAO1	HET	c.162_165delT GTC p.Val55fs -	-	- - -	-	G -	W	14	WT; HET	L MCDK, R VUR	-	-
		HET	c.947C>T p.Pro316Leu -	C. i.	0,04 T P	-	G -			HET; WT			
A1336 Trio	TSHZ2	HET	c.2918G>A p.Arg973Gln rs201353411	X. t.	0,79 T DC	0/16/282688	G -	M	21	HET; WT (betroffener Vater)	HUFEISENNIERE	-	-
A5090 Duo	ZNF501	HET	c.793C>T p.Gln265* -	-	- - -	-	- -	M	8	HET; NA (betroffener Vater)	L NIEREN-AGENESIE	-	-
B412 Duo	PDZK1	HET	c.457C>T p.Gln153* rs782770757	-	- - -	0/5/249906	G -	W	8	NA; HET (betroffene Mutter; Bruder HET)	NEPHROLITHIASIS, IDIOPATHISCHE HYPERKALZIURIE, L NICHT-OBSTRUKTIVES DULPEX SYSTEM	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B791 Duo	XPNPEP2	HEM I	c.172C>T p.Arg58Cys rs778659869	S. c.	1,00 D DC	0/1/4/205276	G -	M	26	NA; HET	L UPJO	-	-
B2753 Trio	XPNPEP2	HEM I	c.172C>T p.Arg58Cys rs778659869	S. c.	1,00 D DC	0/1/4/205276	G -	M	37	WT; HET	R MCKD	-	-
A3573 Trio	RAB5C	HOM	c.134G>A p.Gly45Glu rs144263947	D. m.	0,02 T DC	0/255/282770	- -	W	7	HET; HET	L NIEREN-AGENESIE	-	-
B2750 Trio	UGT8	HOM	c.1261A>T p.Ser421Cys rs775263216	X. t.	0,97 D -	0/4/250672	G -	M	9	HET; WT	L VUR, L HYDRO-NEPHROSE	-	-
B2754 Multiplex	TMEM255A	HEM I	c.585-2A>G p.? rs144678858	-	- - -	-	- -	M	7	WT; HET	L NIEREN-AGENESIE	-	-
A4163 Trio	TMEM160^{x,o}	HET	c.152dup p.Val52fs -	-	- - -	- -	- -	W	9	WT; NA (betroffene Schwester HET)	R RHD	-	MGI:1916 344
A3056 Multiplex	SMAD9	HET	c.229G>A p.Gly77Arg rs761812133	D. m.	1,00 D DC	0/5/250982	G -	W	7	HET; WT (betroffener Vater, betroffene paternale Großmutter HET)	L DUPLEX SYSTEM, LVUR	-	-
A881 Trio	TIMM17B	HEM I	c.7G>T p.Glu3* -	-	- - -	-	- -	M	3	WT; HET	PUV, L DYSPLASTISCHE NIERE	-	-
B1718 Singleton	KLC3^o	HET	c.694C>T p.Gln232* -	-	- - -	-	- -	M	241	NA; NA	PUV, NEUROGENE BLASE, VUR	TRISOMIE 21, FALLOT-TETRALOGIE, DORV, HYPOTHYROIDISMUS	-
			c.1364C>A p.Ala455Glu -	-	0,02 D P	-	- -			NA; NA			

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B1772 Singleton	ERO1B	HOM	c.1243T>C p.Phe415Leu rs145821086	S. c.	0,65 D DC	0/87/269520	G -	W	113	NA; NA	L MCDK	-	-
B1750 Singleton	ZFR2	HOM	c.895del p.Glu299fs -	-	- - -	-	G -	M	205	NA; NA	PUV, BL VUR	-	-
B1860 Singleton	TRIM72	HOM	c.891del p.Ala298fs rs751349807	-	- - -	0/25/260434	- -	M	230	NA; NA	PUV, BL VUR, BL HYDRO-NEPHROSE, ESRD	-	-
B2393 Trio	CSNK2A1	HET	c.290T>A p.Leu97Gln -	S. c.	1,00 D DC	-	G -	M	15	HET; WT (betroffener Vater)	HUFEISENNIERE	-	-
B1475 Trio	TMEM132D	HET	c.1342G>T p.Val448Leu rs779098238	D. m.	0,99 D DC	0/1/246028	G -	W	48	WT; HET (betroffene Mutter)	BL HYDRO-NEPHROSE	GESICHTS-DYSMORPHIEN, HYPOTONIE, PSYCHOMOTORISCHE VERZÖGERUNG	-
B1408 Trio	NCOR1	HET	c.2645C>T p.Thr882Met -	D. r.	0,99 D DC	-	G -	M	2	WT; HET (betroffene Mutter)	L UPJO, L HYDRO-NEPHROSE	-	-
B2391 Trio	NSUN2	HET	c.144C>G p.Phe48Leu -	D. m.	0,95 D DC	-	G -	M	6	HET; WT (betroffener Vater)	L NIEREN-AGENSIE	-	-
B2620 Singleton	CSAD	HOM	c.488G>A p.Arg163Gln rs147020312	D. r.	0,98 D DC	0/180/282736	G -	M	113	NA; NA	L UPJO	-	-
B347 Singleton	CEP131	HOM	c.2742G>C p.Glu914Asp rs143205584	D. m.	- D -	10/647/28115 7	- -	W	3	NA; NA	R MCDK	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B3800 Singleton	ENPP6	HOM	c.727A>G p.Met243Val -	S. c.	0,99 D P	-	- -	M	81	NA; NA	PUV, NEUROGENE BLASE	-	-
B3803 Singleton	UBE4B	HOM	c.260G>C p.Ser87Thr rs775888771	D. r.	0,93 T DC	0/9/251470	G -	W	333	NA; NA	L UPJO, R VUR	-	-
B3870 Singleton	RNF207	HOM	c.1558C>A p.Leu520Met rs370803462	C. e.	1,00 D P	0/52/280744	G -	M	34	NA; NA	NEUROGENE BLASE, BL HYDRO-NEPHROSE	-	-
A3842 Singleton	C16orf4 5/BMER B1	HOM	c.462C>G p.Ile154Met rs564003695	X. t.	0,06 T P	0/28/251424	- -	M	14	NA; NA	PUV, BL VUR	-	MGI:1914504
B100 Singleton	SLU7	HET	c.1318C>T p.Arg440* rs1448567216	-	- - -	0/1/250754	- -	W	22	NA; NA	R NIEREN-AGENESIE	-	-
B613 Duo	SMARC A1	HEM I	c.2669A>G p.Lys890Arg rs761265721	D. m.	0,74 T DC	0/0/1/175988	G -	M	31	NA; HET (gesunde Mutter, betroffener Bruder HEMI, betroffene Schwester HET)	L UPJO, L EKTOPIISCHE NIERE	-	-
B821 Duo	SUSD3	HOM	c.409C>T p.Arg137Trp rs61755326	X. t.	0,23 D P	1/1458/282704	- -	M	9	NA; HET	PUV	-	-
B1660 Singleton	PDZD4	HEM I	c.457G>A p.Glu153Lys -	D. m.	0,98 D P	-	G -	M	8	NA; NA	PUV, R VUR IV, BL URETEROXYDRO-NEPHROSE	-	-
B1890 Duo	USP34	HET	c.2278_2280dup p.His760dup rs754422961	-	- -	0/19/245918	G -	M	17	NA; HET	R NIEREN-AGENESIE	-	-
		HET	c.604-3C>T p.? rs138503961	-	- -	0/115/245032	G -			NA; WT			

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B3154 Duo	ESAM	HOM	c.1157C>T p.Ala386Val rs114481311	D. r.	0,89 T P	0/166/282150	G -	M	17	NA; HET	L MCDK	KLEINES DYSPLASTISCHES ROHR, GESPALTENE UVULA, BREITE NASENSPITZE	-
B3164 Trio	CCDC88C	HOM	c.5251G>A p.Val1751Ile rs142295786	D. r.	0,14 T DC	1/307/259444	G LB	W	4	HET; HET	L NIEREN-AGENESIE	PSYCHOMOTORISCHE VERZÖGERUNG	-
B3192 Trio	NCAPD2	HET	c.874C>T p.Arg292* rs746741464	-	- -	0/6/251464	G -	M	3	WT; HET	R VUR II	AKUTE ERBLINDUNG	-
		HET	c.2513G>A p.Arg838Gln rs778834087	D. m.	0,99 T DC	0/8/251486	G -			HET; WT			
B3380 Duo	TSR1	HET	c.1061C>T p.Ser354Phe rs777186201	X. t.	0,75 D DC	0/91/282866	G -	W	7	NA; HET (betroffene Schwester HET)	L VUR	-	-
		HET	c.806_808delT GG p.Val269del rs570684854	-	- - -	1/763/282856	G -			NA; WT (betroffene Schwester HET)			
B3390 Singleton	RENBP	HEMI	c.28-3T>A p.? rs782114554	-	- - -	0/1/1/182455	G -	M	6	NA; NA	PUV	-	-
B3586 Singleton	SH3TC1	HOM	c.3812G>A p.Gly1271Asp rs141783565	D. r.	0,87 D DC	1/196/281556	G -	W	19	NA; NA	L HYPOPLASTISCHE NIERE	-	-
B3786 Singleton	C14orf80/TEDC1	HOM	c.322C>T p.Arg108Trp rs587683388	X. t.	1,00 D P	1/16/280598	G -	W	27	NA; NA	R VUR, R HYDRO-NEPHROSE	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B3945 Singleton	EGFL6	HEM I	c.1409G>A p.Arg470Gln rs778818739	C. i.	0,99 D P	0/0/1/183513	G -	M	2	NA; NA	R VUR IV, BL HYDRO-NEPHROSE	-	-
B3953 Duo	NUP62C L	HEM I	c.252G>A p.Trp84* -	-	- - -	-	- -	M	11	NA; HET	PUV, L HYDRONEPHROSE	-	-
A523 Singleton	BRF1	HOM	c.1163_1165delGTG p.Gly388del rs587772315	-	- -	4/123/276729	G LB	M	31	WT; N/A	L DYSPLASTISCHE NIERE, L DUPLEX SYSTEM, L URETEROHYDRO-NEPHROSE MIT VUR	-	-
B2513 Trio	DNAH7	HET	c.8464G>A p.Gly2822Arg rs62624462	G. g.	0,10 D P	9/650/280680	G B	W	8	HET; WT	BL MCDK	-	-
		HET	c.251-2_251delAGC p.Ala84fs -	-	- - -	-	G -			WT; HET			
B2651 Trio	TENM4	HET	c.6769G>A p.Glu2257Lys -	D. r.	0,95 D P	-	G -	W	10	HET; WT	R VUR UND HYDRO-NEPHROSE	-	MGI:2447063
		HET	c.6740G>A p.Arg2247Gln rs370470074	D. r.	0,98 D P	0/18/249284	G VUS			WT; HET			
B3160 Trio	IFT74	HOM	c.1735G>A p.Val579Met rs138591335	C. i.	0,98 D P	8/1582/276548	G LB	W	16	HET; HET	BL VUR V	KARDIO-MYOPATHIE	-
B3167 Trio	SERINC4	HET	c.631T>C p.Trp211Arg -	D. m.	1,00 D P	-	G -	M	3	WT; HET	BL HYDRO-NEPHROSE, R UPJO	-	-
		HET	c.321_324delCTCT p.Ser108fs rs773316785	-	- - -	0/7/182858	G -			HET; WT			
B3168 Trio	PDIA4	HET	c.1645G>A p.Glu549Lys rs142233058	C. i.	1,00 T DC	3/606/282864	G -	M	4	WT; HET	L UPJO UND HYDRO-NEPHROSE	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
		HET	c.350T>C p.Val117Ala rs140572691	C. i.	1,00 D DC	1/480/282830	G -			HET; WT			
B3194 Trio	DPYSL2	HOM	c.792C>T p.His195= ^e rs139123217	-	- - -	3/909/282146	G LB	W	8	HET; HET	L URETEROZELE	-	-
B3210 Trio	ATP1A4	HET	c.1102A>G p.Asn368Asp rs138469870	D. m.	1,00 T DC	1/779/282818	G -	M	9	HET; WT	BL VUR	ASD, VSD	-
		HET	c.1160G>A p.Gly387Asp rs149462135	S. c.	1,00 D DC	1/199/282856	G VUS			WT; HET			
B3222 Trio	TMEM16 4	HEM I	c.283C>T p.Leu95Phe -	D. m.	1,00 D DC	-	- -	M	29	WT; HET	L HYDRO- NEPHROSE	-	-
B3233 Trio	TBX22	HEM I	c.448A>C p.Lys150Gln rs1156605251	X. t.	0,49 D DC	1/2/183376	G VUS	M	8	WT; HET	L UPJO	-	-
B3367 Trio	TBL1X	HEM I	c.168T>G p.Ser56Arg rs771048383	S. c.	0,46 D -	0/1/57784/18 3480	G -	M	18	WT; HET	BL VUR, BL HYDRO- NEPHROSE	-	-
B3502 Trio	TPR	HET	c.3562G>A p.Glu1188Lys rs996180184	D. r.	0,96 D DC	-	G -	M	5	WT; HET	L UVJO	-	-
		HET	c.545G>A p.Arg182His rs201785457	C. i.	0,99 T DC	0/1/31350	G -			HET; WT			
B3958 Duo	MYRIP	HOM	c.1171G>A p.Asp391Asn rs147537031	C. e.	0,85 D P	0/27/282776	G -	M	18	HET; WT	R UPJO UND HYDRO- NEPHROSE	-	-
B3960 Trio	PTPRZ1	HOM	c.5834T>C p.Val1945Ala rs61757819	D. r.	1,00 D DC	3/851/282414	- -	M	13	HET; HET	L VUR IV	-	-
B4061 Trio	GTF2F1	HET	c.1762G>A p.Arg386Cys rs143977043	D. m.	0,01 D DC	0/84/266848	G VUS	W	3	HET; WT	L NICHT- OBSTRUKTIVES DUPLEX SYSTEM	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
		HET	c.21C>A p.Ser7Arg rs151336104	D. m.	0,17 D DC	0/120/282730	G VUS			WT; HET			
A648 Duo	NAGK	HET	c.142delG p.Ala48fs -	-	- - -	-	- -	M	7	NA; HET (betroffene Mutter)	R NIEREN-AGENESIE	-	-
B194 Trio	WDR67	HET	c.3041_3042delCT p.Ser1014fs -	-	- - -	-	- -	M	13	WT; HET (betroffene Mutter)	BL VUR, KLEINE ECHOGENE NIEREN	-	-
B570 Singleton	TAF1	HEM I	c.4234T>A p.Ser1412Thr -	C. i.	- T -	-	G -	M	16	NA; NA	BL VUR UND HYDRO-NEPHROSE	-	-
B923 Singleton	LONRF3	HEM I	c.2272C>T p.Gln758* rs779321955	-	- - -	0/1/1/165841	- -	M	23	NA; NA	L DUPLEX SAMMELSYSTEM	-	-
B991 Singleton	EPB41L5	HOM	c.82C>T p.Arg28Cys rs141466977	D. r.	1,00 D DC	6/1013/282836	G -	W	18	NA; NA	BL VUR	-	-
B1170 Singleton	CDX4	HEM I	c.557T>G p.Leu186Trp rs377257604	D. r.	1,00 D DC	0/1/6/175655	- -	M	4	NA; NA	R NIEREN-AGENESIE, L VUR, HYDRO-NEPHROSE	-	-
B3401 Trio	SNX6	HET	c.539A>C p.Glu180Ala -	D. r.	0,95 D DC	-	- -	M	10	WT; HET (betroffene Mutter, betroffener Bruder HET)	L VUR I-II	-	-
B3924 Trio	GRIA3	HEM I	c.425G>A p.Arg142His rs763033824	D. r.	1,00 D DC	0/0/7/183266	G VUS	M	21	WT; HET	BL VUR	-	-
B3961 Trio	KLHL26	HET	c.1003G>T p.Glu335* rs768680507	-	- - -	0/8/255604	- -	W	3	WT; HET (betroffene Mutter)	L EKTOPISCHE NIERE, R VUR	UTERUS-AGENESIE, HYPOPLASTISCHE VAGINA	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B3972 Singleton	DENND2C	HOM	c.2497T>C p.Tyr833His rs61753528	D. m.	1,00 D P	4/871/282788	- -	W	5	NA; NA	L VUR II-III	-	MGI:3036 254
B4029 Duo	CAMTA1	HET	c.2913C>T p.? rs151150979	-	- -	0/5/281418	G -	M	5	NA; HET (betroffene Schwester HET)	L VUR V, HYDRONEPHROSE	-	-
		HET	c.4607G>A p.Arg1536Gln rs749129823	D. r.	0,94 T P	0/21/282570	G -			NA; WT (betroffene Schwester HET)			
B4177_B 4178 Duo	CD36	HOM	c.1079T>G p.Leu360* rs56381858	-	- -	0/65/282068	V P	M	2	HET; WT (betroffener Vater)	NEUROGENE BLASE	-	-
A513 Trio	PKP3^x	HET ^x	c.4C>T p.Gln2* -	-	- -	-	G -	W	10	WT; HET	L VUR	-	-
		HET	c.1431C>G p.Asn477Lys rs139128100	D. r.	0,98 D DC	3/1100/23188 2	G -			HET; WT			
B2731 Singleton	TAS2R4 2	HOM	c.782G>A p.Trp261* rs141369006	-	- -	0/87/282452	G -	W	93	NA; NA	R EKTOPISCHE NIERE	-	-
B1748 Singleton	LOXL2	HOM	c.1954C>T p.His652Tyr rs559581716	D. r.	0,99 D DC	1/116/251392	G -	M	162	NA; NA	NEUROGENE BLASE, BL VUR II	TRISOMIE 21	-
B2449 Trio	DKK1	HOM	c.359G>T p.Arg120Leu rs149268042	D. r.	0,99 D DC	2/779/276156	V -	M	16	HET; HET	L UJVO, HYDRONEPHROSE	-	MGI:1329 040
B2471 Trio	TMEM2 5A	HEM I	c.829T>C p.Ser277Pro rs199725322	D. r.	0,92 D DC	0/5/13/20426 0	- -	M	0	WT; HET	L MCDK, R VUR	-	-
A4173 Trio	PRRG3^x	HEM I	c.301T>C p.Trp101Arg rs375885163	D. r.	0,99 D DC	0/8/31/20479 9	- -	M	0	WT; HET	L VUR	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp	
B952 Singleton	POL1A	HEM 	c.3385C>G p.Pro1129Ala -	D. m.	- T DC	-	- -	M	4	NA; NA	BL VUR, L KLEINE ECHOGENE NIERE	-	-	
B1014 Singleton	ZNF75D	HEM 	c.115A>T p.Lys39* -	-	- - -	0/0/1/22011	- -	M	19	NA; NA	L MCDK, L EKTOPISCHE URETEROZELE, BL VUR, PUV	-	-	
B2377 Singleton	FOXO4	HEM 	c.1067_1069del eIGAG p.Gly356del rs748007140	-	- - -	0/2/6/179959	- -	M	4	NA; NA	BL UPJO MIT HYDRONEPHROSE	-	MGI:1891915	
B3127 Trio	ALDOB	HOM	c.1005C>G p.Asn335Lys rs78340951	D. m.	0,99 T -	0/34/280424	V P	W	15	HET; HET	L UPJO	-	-	
B3259 Singleton	ZNF468	HOM	c.696delA p.Lys232fs -	-	- - -	-	- -	M	132	NA; NA	R HYDRONEPHROSE	-	-	
B4019 Singleton	4p16.3 Deletion_x	HET	chr4:59907-9157388					G -	M	23	NA; NA	BL HYPODYSPLASTISCHE, ECHOGENE NIEREN MIT ZYSTISCHEN ANTEILEN	GESICHTSDYSMORPHIEN, MIKROZEPHALIE, ID, WACHSTUMSVERZÖGERUNG, VERDACHT AUF WOLFHIRSCHHORN SYNDROM	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B406 Singleton	DDX47	HOM	c.691A>G p.Lys231Glu rs370371389	S. c.	0,96 D DC	1/49/282796	G -	M	3	NA; NA	R NIEREN-AGENESIE	GESICHTS-DYSMORPHIEN, TAUBHEIT, SPRACHVERZÖGERUNG, DYSPLASTISCHE OHREN	-
B3589 Singleton	G6PD	HEMI	c.143T>C p.Ile48Thr rs76645461	S. c.	1,00 D P	0/1/2/183351	V P	M	3	NA; NA	PUV, BL VUR, HYDRONEPHROSE	-	-
B1349 Singleton	CYBB	HEMI	c.271C>T p.Arg91* -	-	- - -	-	V -	M	11	NA; NA	L NIEREN-AGENESIE, PUV	-	-
B2748 Trio	SPTA1	HET	c.6848T>G p.Phe2283Cys -	D. m.	0,98 D P	-	G -	W	5		R UPJO	-	-
		HET	c.6421C>T p.Arg2141Trp rs41273519	D. m.	1,00 D DC	2/587/280928	V VUS						
B4053 Trio	PAPLN	HET	c.692G>T p.Gly231Val rs141960540	D. r.	0,98 D -	0/496/278090	G -	W	2	HET; WT	R DUPLEX SYSTEM (AFUNKTIONALER OBERER POL), URETEROZELE	-	-
		HET	c.2906-2_2906-1delAG p.? rs200763562	-	- - -	0/822/262574	G -			WT; HET			

-, nicht verfügbar; Aminosäurenkonserv., Aminosäurenkonservierung; ARPKD; autosomal recessive polycystic kidney disease (dt. autosomal rezessive polyzystische Nierenerkrankung); ASD, Atriumseptumdefekt, BL, bilateral; DC, disease-causing (dt. krankheitsverursachend); D, deleterious (dt. schädlich); DORV, double-outlet right ventricle (dt. Rechte Herzkammer mit zwei Ausgängen); ESRD, end-stage renal disease (dt. terminale Niereninsuffizienz); gnomAD, Genome Aggregation Database; HEMI, hemizygot; HET, heterozygot; HOM, homozygot; Homozyg., Homozygotie; ID, intellectual disability (dt. Intelligenzminderung); L, links; M, männlich; MCDK, multicystic dysplastic kidney (dt. Multizystisch dysplastische Niere); MT, MutationTaster; NA, not available (DNA für Segregationstudien nicht verfügbar); P, Polymorphismus; PP2, PolyPhen-2; PUV,

posterior urethral valves (dt. Harnröhrenklappen); R, rechts; RHD, renale Hypodysplasie; SIFT, Sorting intolerant from tolerant; SRNS, steroidresistentes nephrotisches Syndrom; T, toleriert; UPJO, ureteropelvic junction obstruction (dt. Obstruktion der ureteropelvinen Verbindung); UVJO, ureterovesical junction obstruction (dt. Obstruktion der ureterovesikalen Verbindung); VUR, vesikoureteraler Reflux; VSD, Ventrikelseptumdefekt; W, weiblich; WT, Wildtyp.

^a Evolutionäre Aminosäurenkonservierung wurde über die Phylogenie der folgenden Spezies erfasst: *Mus musculus* (M. m.), *Gallus gallus* (G. g.), *Xenopus tropicalis* (X. t.), *Danio rerio* (D. r.), *Ciona intestinalis* (C. i.), *Caenorhabditis elegans* (C. e.), *Drosophila melanogaster* (D. m.) und *Saccharomyces cerevisiae* (S. c.).

^b Allelfrequenz in gnomAD ist angegeben mit homozygot/hemizygot (falls zutreffend)/heterozygot/totale Allelnummer.

^c Status der Variante in Human Gene Mutation Database (HGMD[®]): V, Variante wurde als pathogen beschrieben; G, die spezielle Variante wurde nicht beschrieben, allerdings sind andere pathogene Varianten in dem Gen bereits beschrieben.

^d ClinVar Klassifikation der Variante wie folgt: B, benign (dt. gutartig); LB, likely benign (dt. vermutlich gutartig); VUS, variant of uncertain significance (dt. Variante mit ungewisser Signifikanz); LP, likely pathogenic (dt. vermutlich pathogen); P, pathogenic (dt. pathogen).

^e Potenzieller Effekt auf Spleißvorgang.

^o Die Variante wurde durch einen Kandidatengenansatz gefunden.

^x Keine Sanger-Sequenzierung für die Familie möglich.

Tab. 3: Detaillierte Informationen über Phäno- und Genotypen der 79 CAKUT-Familien mit multiplen Varianten in potenziellen Kandidatengenen für CAKUT (ohne 3 Familien mit multiplen *de novo* Varianten, siehe Tab. 1).

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
A2899 Duo	UBE4A	HET	c.1214_1215delG T p.Cys405fs -	- - -	- - -	-	G -	W	6	HET; NA (betroffener Vater, betroffene Schwester HET)	L DUPLEX SYSTEM, VUR	-	-
	HOXA1	HET	c.972delG p.Ser325fs rs757356525	- - -	- - -	0/20/2514 02	G -			HET; NA (betroffener Vater, betroffene Schwester HET)			-
B1682 Singleton	LAMC1^o	HET	c.3631G>A p.Ala1211Thr rs200853597	D. m.	0,99 D DC	0/50/2771 02	G -	M	213	NA; NA	PUV, VUR, NEUROGENE BLASE, ESRD	-	MGI:99914
	BNC1	HOM	c.2319C>A p.Asn773Lys -	D. m.	0,75 D DC	0/1/24451 4	- -			NA; NA			-
B1771 Trio	BNC1	HOM	c.2319C>A p.Asn773Lys -	D. m.	0,75 D DC	0/1/24451 4	- -	M	219	NA; NA	NEUROGENE BLASE (HENMAN SYNDROM), SEKUNDÄRER VUR	-	-
	P2RX2	HOM	c.964G>A p.Gly322Arg rs201474543	D. r.	1,00 D DC	1/61/2771 16	G LB			NA; NA			-
	P2RX5	HOM	c.95T>A p.Leu32Gln rs142863822	D. r.	0,99 D DC	3/1126/27 6516	G -			NA; NA			-
	ADAM TSL3	HOM	c.4498G>A p.Gly1500Ser rs138649477	C. i.	0,93 D DC	0/51/2759 82	G -			NA; NA			MGI:3028499

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B1830 Singleton	APIP	HOM	c.139G>C p.Gly47Arg rs148981873	S. c.	0,99 D DC	1/106/277 190	G -	M	302	NA; NA	L MCDK, R UPJO	-	-
	NUP205	HOM	c.4968A>G p.Ile1656Met -	C. i.	0,83 D DC	0/1/24280 8	G -			NA; NA			-
	OPRM1	HOM	c.742T>C p.Cys248Arg rs199668737	D. r.	1,00 T DC	0/18/2771 70	G -			NA; NA			-
	PLXNA3	HOM	c.1297C>T - p.Arg433Cys rs200170081	D. r.	0,97 D DC	0/4/7/1397 78	G -			NA; NA			-
B1861 Singleton	GJA9	HOM	c.578C>T p.Pro193Leu rs149005200	D. r.	1,00 D DC	0/27/2771 78	G -	M	183	NA; NA	L UPJO, L HYDRO-NEPHROSE, R ECHOGENE NIERE	SRNS	-
	ECE2	HOM	c.2531C>T p.Pro844Leu rs149005200	D. m.	1,00 D DC	0/27/2771 78	G -			NA; NA			-
B1847 Singleton	CRYZ	HOM	c.762_765del p.Asn255fs rs759200597	- - -	- - -	1/50/2455 66	G -	W	272	NA; NA	R UPJO, BL VUR	-	-
	WNT9A	HOM	c.556C>T p.Arg186Trp rs149009608	D. m.	0,99 D DC	1/117/276 804	- -			NA; NA			-
B2818 Singleton	WFS1	HOM	c.1294C>G p.Leu432Val rs35031397	D. m.	0,99 D DC	2/1049/82 658	V VUS	W	177	NA; NA	L NIEREN-AGENESIE	-	-
	IIFT172	HOM	c.3435T>G p.His1145Gln rs202111577	S. c.	0,60 D -	0/58/2828 42	G VUS			NA; NA			MGI:2682064
	DFFA	HOM	c.206T>C p.Ile69Thr rs138842024	D. r.	1,00 T DC	4/944/282 872	- -			NA; NA			-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
A3761 Singleton	TRIM3 6	HOM	c.361G>C p.Asp121His rs772962634	D. r.	0,68 T DC	0/6/25086 6	G -	M	145	NA; NA	R MCDK, VUR, MALROTIERTE L NIERE, CKD	-	-
	GRM6	HOM	c.820C>T p.Arg274Trp rs577125911	D. r.	1,00 D DC	0/4/28276 6	G VUS			NA; NA			MGI:1351 343
	ITGAE	HOM	c.2584G>A p.Gly862Arg rs375168971	X. t.	1,00 D DC	0/24/2828 94	G VUS			NA; NA			-
A3067 Trio	PLXN B3	HEMI	c.5135C>T p.Pro1712Leu	D. r.	0,99 D DC	-	G -	M	1	WT; HET (betrofener Bruder HET)	BL VUR	-	-
B2637 Singleton	H6PD	HOM	c.1860C>G p.Asp620Glu -	D. r.	1,00 D DC	-	G -	M	264	NA; NA	R RHD	BETA- THALAS- SÄMIE MAJOR	-
	ALDH1 8A1	HOM	c.1174C>G p.Leu392Val -	S. c.	0,97 D DC	-	- -			NA; NA			-
	ARVC F	HOM	c.1993C>T p.Arg665Cys rs146960902	D. r.	0,99 D DC	0/107/280 200	- VUS			NA; NA			-
B2659 Singleton	PFKL	HOM	c.868G>A p.Asp290Asn rs372280224	S. c.	- D DC	0/8/28045 0	G VUS	M	24	NA; NA	L MCDK	-	-
	BMER B1	HOM	c.262A>G p.Met88Val rs149928639	D. r.	0,01 T DC	3/633/282 690	- -			NA; NA			MGI:1914 504
	SHRO OM2	HEMI	c.1284C>G p.His428Gln rs530009995	D. r.	0,32 T -	0/5/14/179 713	G -			NA; NA			-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B2779 Singleton	RAB25	HOM	c.75G>C p.Lys25Asn rs199754703	S. c.	0,99 D -	1/167/279 268	G -	M	179	NA; NA	R NIEREN-AGENESIE, L VUR, HYPOSPADIE, KRYPTORCHISMUS	HYPER-TROPHISCHE KARDIOMYOPATHIE, KLUMPFUSS, HYDROZEPHALUS	-
	LAMC 2	HOM	c.2777G>A p.Arg926His rs201251711	D. m.	0,97 D DC	0/58/2826 46	G VUS			NA; NA			MGI:9991 3
	OLFM L3	HOM	c.640G>C p.Val214Leu rs765155120	D. m.	0,77 D DC	0/3/25109 6	- -			NA; NA			-
B2827 Singleton	KIRRE L2	HOM	c.112G>T p.Gly38Trp rs147522074	D. m.	1,00 D DC	0/290/280 620	G VUS	W	262	NA; NA	L UPJO	ANGEBORENES NEPHROTISCHES SYNDROM	-
	GFAP	HOM	c.1237C>T p.Arg413* rs180974014	-	- - -	0/31/2801 04	G VUS			NA; NA			-
	SLC22 A1	HOM	c.840G>T p.Trp280Cys rs562236667	D. m.	0,99 D DC	0/10/2514 58	G -			NA; NA			MGI:1081 11
	DOC2 A	HOM	c.619A>C p.Lys207Gln rs139431507	C. e.	0,51 D DC	0/109/282 458	G -			NA; NA			-
	HAGH	HOM	c.211_213dup p.Ser71_Gly72ins Ser rs772404975	-	- - -	0/58/2822 62	- -			NA; NA			-
B2829 Singleton	LRP12	HOM	c.1159G>A p.Gly387Arg rs375389288	D. r.	0,07 T DC	0/10/2509 04	G -	M	58	NA; NA	HYPOSPADIE	-	-
	HPS5	HOM	c.1357C>T p.Arg453Cys rs200704721	D. r.	1,00 D DC	2/200/281 604	G VUS			NA; NA			-
B2698 Singleton	VWA7	HOM	c.1159G>T p.Gly387Trp rs139629177	C. e.	1,00 D DC	0/60/2784 56	- VUS	M	181	NA; NA	BL VUR, NICHT-NEUROGENE BLASE	SEHPROBLEME, MILDE	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	RNF207	HOM	c.1558C>A p.Leu520Met rs370803462	C. e.	0,99 D DC	0/52/2807 44	G -			NA; NA		ENTWICKLUNGS- VERZÖGERUNG	-
	FBN2	HOM	c.3571C>G p.Leu1191Val -	D. r.	0,39 D DC	-	G -			NA; NA			MGI:9549 0
	PIR	HEMI	c.64G>A p.Ala22Thr -	D. r.	0,94 D DC	-	G -			NA; NA			-
	TMPR SS11E	HOM	c.577G>A p.Val193Ile rs373797171	D. m.	0,09 T DC	0/29/2801 82	- -			NA; NA			-
B2639 Singleton	SLC6A18	HOM	c.127C>G p.Arg43Gly rs149753564	D. m.	1,00 D DC	1/305/270 648	- -	W	189	NA; NA	NEUROGENE BLASE, BL VUR	-	MGI:1336 892
	ABCA2	HOM	c.1949C>T p.Pro650Leu -	D. m.	- D DC	-	G -			NA; NA			-
	DNAJC1	HOM	c.247A>G p.Lys83Glu -	C. e.	0,99 D DC	-	- -			NA; NA			-
	MAPK12	HOM	c.226C>T p.Arg76Cys rs138533200	D. r.	1,00 D DC	0/262/242 782	- -			NA; NA			-
	SLC17A4	HOM	c.470T>C p.Leu157Pro -	D. m.	0,14 D DC	-	G -			NA; NA			-
B2811 Trio	UNC13C	HET	c.512G>A p.Arg171His rs137929834	D. r.	0,95 T DC	3/749/278 872	G -	W	13	WT; HET	PUV, BL HYDRO- NEPHROSE	-	-
	UNC13C	HET	c.6587T>C p.Val2196Ala rs146433220	C. e.	0,97 D DC	1/707/279 246	G -			HET; WT			

Familie	Gen	Zygo- sität	Nukleotid- & Protein- änderung dbSNP	Amino- säure- rekon- serv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Ho- mo- zyg. [Mb]	Segre- gation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT- Phänotyp
	EXO1	HET	c.281_281+1delA G p.Arg95fs rs1268348385	-	- - -	0/2/25046 6	G -			HET; WT			-
	EXO1	HET	c.809A>T p.Asp270Val rs201509012	D. m.	0,49 D DC	0/155/282 854	G -			WT; HET			
A4965 Trio	KLHL1 3	HEMI	c.797G>T p.Arg266Leu rs371548241	S. c.	0,05 D DC	0/0/41830 89	- -	M	10	WT; HET	BL UPJO	HOHER GAUMEN, VIERFINGER- FURCHE	-
	TBC1D 25	HEMI	c.1628T>C p.Leu543Ser rs782588951	D. m.	- T -	0/1/3/2024 40	- -			WT; HET			-
B1380 Singleton	JAG2^o	HET	c.3208G>A p.Val1070Met rs754173852	D. r.	0,71 D DC	0/4/22272 8	G -	M	5	NA; NA	L NIEREN- AGENESIE	-	-
	COL4 A5	HEMI	c.3923A>G p.Gln1308Arg rs104886399	D. m.	0,21 T P	0/5/9/2048 84	G LB			NA; NA			MGI:8845 6
B2795 Trio	PYGM	HET	c.660G>A p.Gln220= ^e rs142234258	-	- - -	0/553/282 572	G LB	M	2	HET; WT	BL UPJO, HYDRO- NEPHROSE	-	MGI:9783 0
	PYGM	HET	c.577G>T p.Ala193Ser rs77656150	D. m.	0,22 T DC	1/579/282 674	G LB			WT; HET			
	MME	HET	c.674G>C p.Gly225Ala rs147564881	C. e.	1,00 T DC	1/421/276 020	G LB			WT; HET			-
	MME	HET	c.1753G>A p.Glu585Lys rs757277227	D. m.	1,00 D DC	0/3/25088 8	G LP			HET; WT			-
B2793 Duo	VWA5 B1	HET	c.404T>C p.Ile135Thr rs146970556	C. i.	0,92 D DC	1/353/188 914	- -	W	19	NA; HET	L UPJO, HYDRO- NEPHROSE	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	VWA5 B1	HET	c.564-3C>T p.? rs759333699	-	- - -	0/3/15505 8	- -			NA; WT			
B3063 Trio	GBF1	HET	c.1376G>A p.Arg459His rs187230639	S. c.	0,98 D DC	0/58/2825 36	G -	M	8	WT; HET	BL VUR	-	-
	GBF1	HET	c.3601G>T p.Val1201Leu rs199813163	S. c.	0,96 T DC	0/36/2828 40	G VUS			HET; WT			
	PIR	HEMI	c.425C>G p.Pro142Arg rs762108669	D. r.	0,66 D DC	0/0/1/1834 69	G -			WT; HET			
B2691 Trio	GMPR	HET	c.698G>A p.Gly233Glu rs148940073	C. e.	1,00 D DC	0/1/25137 4	G -	M	3	WT; HET	R MCDK MIT POSTNATALER INVOLUTION	-	-
	GMPR	HET	c.855_856dup p.Arg286fs rs147049568	-	- - -	2/541/282 790	G LB			HET; WT			
	ALDH3 A1	HET	c.1088C>T p.Ala363Val -	D. m.	0,86 T DC	-	- -			WT; HET			
	ALDH3 A1	HET	c.809A>C p.Glu270Ala rs141568499	S. c.	0,03 D DC	10/1493/2 82594	- -			HET; WT			
B1681 Singleton	TBX6	HOM	c.104G>T p.Gly35Val rs368568181	M. m.	0,96 D DC	0/6/21981 4	G VUS	M	259	NA; NA	BL HYDRO- NEPHROSE, ECHOGENE NIEREN	L ANGEBO- RENE ZYSTISCHE ADENO- MALTOIDE MALFOR- MATIONS, ANGEBO- RENER HYPO-	-
	DIP2C	HOM	c.2065C>T p.Arg689Cys -	D. m.	1,00 D DC	-	G -			NA; NA			MGI:1920 179
	COL9 A3	HOM	c.1538C>T p.Pro513Leu rs202094480	D. m.	0,99 D DC	0/18/2762 26	G VUS			NA; NA			-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	PI4KA	HOM	c.355C>T p.Arg119Trp rs759091754	D. r.	0,99 D DC	0/5/24616 6	G -			NA; NA		THYROIDISMUS	-
B1818 Geschwisterpaar	IFFO2	HOM	c.254T>A p.Leu85Gln rs780262541	D. r.	0,99 D DC	0/24/1511 14	- -	W	246	NA; NA (betroffener Bruder HOM)	L VUR	-	-
	RCAN3	HOM	c.454T>C p.Ser152Pro rs748206064	C. i.	0,91 D DC	0/6/23913 4	- -			NA; NA (betroffener Bruder HOM)			-
	ABCC10	HOM	c.3022G>T p.Val1008Phe rs772126253	S. c.	0,77 D DC	0/4/24360 0	- -			NA; NA (betroffener Bruder HOM)			-
	ARID3B	HOM	c.268G>A p.Glu90Lys rs560397361	D. r.	0,98 T -	0/26/2460 26	- -			NA; NA (betroffener Bruder HOM)			-
B1785 Singleton	RNF32	HOM	c.94C>T p.Arg32* rs775565519	-	- - -	0/5/27682 6	G -	M	132	NA; NA	L UPJO	-	-
	WDR60	HOM	c.16-3T>A p.? -	-	- - -	- -	G			NA; NA			MGI:2445085
	TKTL2	HOM	c.1354C>T p.Pro452Ser rs763628539	S. c.	1,00 D DC	0/6/23802 6	- VUS			NA; NA			-
B1719 Singleton	NOX4	HOM	c.1285G>A p.Val429Met rs534257357	C. i.	0,89 D DC	0/48/2767 46	G -	M	335	NA; NA	BL HYDRO-NEPHROSE, R UPJO	-	MGI:1354184

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	NUP98	HOM	c.1738A>G p.Ile580Val rs776631436	D. r.	0,99 T DC	0/23/2386 88	G -			NA; NA			-
B1829 Singleton	AK8	HOM	c.35C>A p.Pro12His rs779143686	C. i.	0,98 D DC	0/10/1668 80	G -	W	98	NA; NA	BL HYDRO- NEPHROSE, BL UPJO, L VUR	-	-
	ODF3	HOM	c.523G>A p.Asp175Asn rs146339912	D. m.	0,99 D DC	1/242/ 273582	G -			NA; NA			-
	CC2D1 B	HOM	c.676G>A p.Ala226Thr rs142852274	D. r.	1,00 T DC	1/151/276 156	G -			NA; NA			-
B1779 Singleton	ATF6B	HOM	c.1750C>T p.Arg584* rs748402065	-	- - -	-	- -	W	290	NA; NA	BL URETEROZELE, R VUR	-	-
	ALG11	HOM	c.406C>T p.Arg136Cys rs150101415	S. c.	0,13 D DC	0/64/2827 12	G VUS			NA; NA			-
B1782 Singleton	ZNF81 3	HOM	c.766C>T p.Arg256* rs758181225	-	-	0/13/2770 42	- -	W	246	NA; NA	R NIEREN- AGENESIE	ANOREKTALE MALFOR- MATION	-
	C4orf4 8	HOM	c.74+1G>A p. -	-	-	-	- -			NA; NA			-
	TMPR SS15	HOM	c.935C>T p.Thr312Ile rs149710792	D. r.	0,97 - -	1/338/276 618	G LB			NA; NA			-
	ALKB H2	HOM	c.383C>T p.Thr128Met rs141737049	X. t.	0,85 D DC	1/100/277 228	G -			NA; NA			-
	HOXD 10	HOM	c.266G>A p.Arg89Gln rs374700658	D. r.	0,56 D DC	0/16/2462 62	G LB			NA; NA			-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	DNER	HOM	c.512C>G p.Ala171Gly -	D. r.	0,53 D DC	0/1/24600 2	- -			NA; NA			-
	ZNF543	HOM	c.1343A>T p.Glu448Val -	M. m.	0,99 D DC	-	-			NA; NA			-
	EYS	HOM	c.6050G>T p.Gly2017Val rs868349465	M. m.	0,99 D DC	0/5/17217 0	G LP			NA; NA			-
	TCHP	HOM	c.986A>G p.Lys329Arg -	D. r.	0,41 D DC	-	- -			NA; NA			-
B1783 Singleton	SH2B3	HOM	c.622G>C p.Glu208Lys rs202080221	D. r.	0,93 T DC	0/97/1068 32	G VUS	M	246	NA; NA	L NIEREN- AGENESIE, NEUROGENE BLASE	IMPERFORIERTER ANUS, ZÖLIAKIE	-
	PXN	HOM	c.1223G>A p.Arg408Gln rs111674215	D. r.	0,11 D DC	2/585/277 032	G -			NA; NA			-
B2322 Singleton	FGD6	HOM	c.2788G>A p.Glu930Lys -	D. r.	0,91 D DC	-	G -	W	178	NA; NA	VUR, HYDRO- NEPHROSE		-
	SMG8	HOM	c.2318C>T p.Pro773Leu rs14630466	D. m.	0,99 D DC	0/314/277 216	- B			NA; NA			-
	MED13	HOM	c.4793C>T p.Ser1598Phe -	C. e.	0,60 D DC	-	G -			NA; NA			-
	CEP95	HOM	c.503C>T p.Pro168Leu rs782490099	C. i.	0,81 D -	0/1/24587 4	- -			NA; NA			-
B2320 Singleton	SLCO1B3	HOM	c.1325A>G p.Tyr442Cys -	D. m.	1,00 D -	0/2/24300 8	G -	W	93	NA; NA	BL VUR, HYDRO- NEPHROSE	-	-

Familie	Gen	Zygo- sität	Nukleotid- & Protein- änderung dbSNP	Amino- säure- rekon- serv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Ho- mo- zyg. [Mb]	Segre- gation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT- Phänotyp
	CDH23	HOM	c.5228C>A p.Thr1743Asn rs191021194	X. t.	0,30 D -	0/51/2771 90	G VUS			NA; NA			-
	SLC10 A3	HOM	c.217G>A p.Val73Met rs782728908	G. g.	0,67 D -	-	-			NA; NA			-
	UBR5	HOM	c.5782C>T p.His1928Tyr rs754105972	D. m.	0,78 T -	0/2/24607 4	G -			NA; NA			-
	NFE2L 1	HOM	c.496G>A p.Asp166Asn -	X. t.	0,25 T -	-	-			NA; NA			-
	PKHD 1L1	HOM	c.8464C>T p.His2822Tyr rs201478206	D. r.	0,76 D -	1/157/271 638	G -			NA; NA			-
	HOXB 4	HOM	c.407G>A p.Cys136Tyr -	G. g.	0,05 T -	-	-			NA; NA			-
	ITGB3	HOM	c.1468C>T p.Pro490Ser rs757590667	X. t.	0,00 D -	0/3/27699 4	G VUS			NA; NA			MGI:9661 2
	WFIKK N2	HOM	c.974C>T p.Ala325Val rs765589347	M. m.	0,00 T -	0/2/24570 2	- -			NA; NA			-
B1845 Singleton	MAPK 12	HOM	c.226C>T p.Arg76Cys rs138533200	D. m.	1,00 D DC	0/250/239 006	- -	M	368	NA; NA	PUV, BL VUR	-	-
	MTFR1	HOM	c.644G>C p.Arg215Thr rs138533200	D. r.	0,88 D DC	0/26/2771 22	- -			NA; NA			-
	ARL3	HOM	c.372T>G p.Phe124Leu rs776696557	S. c.	0,99 D DC	0/2/30980	G -			NA; NA			MGI:1929 699

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B2372 Singleton	OTOF	HOM	c.322A>G p.Ile108Val rs727505189	D. r.	0,12 D DC	0/26/2361 64	G VUS	M	281	NA; NA	BL VUR, L HYDRO- NEPHROSE, R KLEINE NIERE	-	-
	DYSF	HOM	c.6116G>A p.Arg2039Gln -	D. r.	0,99 D DC	1/73/2770 82	G VUS			NA; NA			-
	ZUSFP	HOM	c.1678G>A p.Glu560Lys -	D. r.	0,55 D DC	-	- -			NA; NA			-
	SYNE1	HOM	c.10195A>G p.Thr3399Ala -	D. r.	0,89 T DC	-	G -			NA; NA			-
B2414 Singleton	LRRN4	HOM	c.7C>T p.Gln3* -	-	- - -	0/0/17348 8	G -	M	110	NA; NA	KLEINE ECHOGENE NIEREN	-	-
	NFXL1	HOM	c.1617del p.Cys539fs -	-	- - -	-	G -			NA; NA			-
B2415 Singleton	WDR6 3	HOM	c.2180G>A p.Arg727Gln rs540026532	D. m.	1,00 D DC	0/12/ 245754	- -	M	106	NA; NA	BL UPJO, HYDRO- NEPHROSE	-	-
	SLC4A 3	HOM	c.1681G>A p.Val561Met rs151023127	D. m.	0,99 D DC	0/4/ 277090	- -			NA; NA			-
	SEMA 3A	HET	c.2110A>G p.Arg704Gly -	D. r.	0,99 D DC	-	G -			NA; NA			MGI:1075 58
B2392 Trio	BMP7	HET	c.544C>T p.Arg182Trp rs764633584	D. r.	0,31 D DC	0/33/2772 30	G VUS	M	5	WT; HET (gesunde Mutter; betrof- fener Bruder HET)	L MCDK	-	MGI:1033 02

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp	
B2050 Trio	CSDE1	HET	c.52A>G p.Asn18Asp rs766864451	C. i.	0,96 D DC	0/6/24618 6	G -	M	15	WT; HET (gesunde Mutter; betroffener Bruder HET)	BL VUR, R REFLUX NEPHROPATHIE	-	-	
	CAD	HET	c.1973A>C p.His658Pro rs780774644	S. c.	0,84 D -	0/1/24626 6	G VUS			WT; HET (gesunde Mutter; betroffener Bruder HET)			-	-
	PIK3R2	HET	c.85G>A p.Asp29Asn -	C.i.	0,99 D DC	-	G -			WT; HET (gesunde Mutter; betroffener Bruder HET)			-	-
B2666 Trio	SFXN2	HOM	c.518C>T p.Pro173Leu rs368748485	D. m.	0,96 D P	0/21/2826 26	- VUS	W	35	HET; HET	L HYPOPLASTISCHE NIERE	-	-	
	GDPD4	HOM	c.625-2A>C p.? rs117320886	-	- -	0/648/282 638	G -			HET; HET			-	
B3110 Singleton	MYH4	HOM	c.4510C>T p.Arg1504* rs1025892606	-	- -	0/5/ 282634	- -	W	157	NA; NA	L UPJO	-	-	
	SEMA3C	HOM	c.1711+3A>T - rs760834136	-	- -	0/3/28265 2	- -			NA; NA			-	
B3174 Singleton	DIP2C	HOM	c.2065C>T p.Arg689Cys -	D. m.	0,99 D DC	-	G -	M	298	NA; NA	BL HYDRO-NEPHROSE	ANGEBO-RENER HYPO-	MGI:1920 179	

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	TRAK1	HOM	c.2201C>G p.Ser734Cys -	D. m.	0,33 T DC	-	G -			NA; NA		THYROIDISMUS ANGEBORENE, ZYSTISCHE ADENOMATOIDE MALFORMATION IM UNTEREN LUNGENLAPPEN, SPRACHVERZÖGERUNG	-
	PI4KA	HOM	c.355C>T p.Arg119Trp -	D. r.	0,52 D DC	-	G -			NA; NA		-	
	COL9 A3	HOM	c.1538C>T p.Pro513Leu rs202094480	D. m.	0,64 D DC	0/18/2808 86	G VUS			NA; NA		-	
	RBBP 8	HOM	c.298C>T p.Arg100Trp rs373804633	D. r.	0,98 D DC	0/10/2825 22	V -			NA; NA		-	
B3351 Singleton	PNPL A4	HOM	c.16delC p.Leu6fs -	-	- - -	0/0/1/1785 96	G -	M	144	NA; NA	BL VUR V, HUTCH DIVERTIKEL	-	-
	NDNF	HOM	c.1537G>T p.Val513Phe -	D. r.	1,00 D DC	-	G -			NA; NA			-
	TMEM 27	HOM	c.137A>T p.Glu46Val -	C. i.	0,73 D DC	-	G -			NA; NA			MGI:1926 234
	TFG	HOM	c.320G>C p.Arg107Pro -	D. r.	0,38 D DC	-	V VUS			NA; NA			-
	CDH23	HOM	c.1814C>T p.Ala605Val rs201475055	C. e.	0,01 D P	1/273/278 786	G VUS			NA; NA			-
B3591 Singleton	DSC2	HOM	c.1889-1G>T p.? -	-	- - -	-	G -	W	42	NA; NA	L NIEREN- AGENESIE	LIPPEN- KIEFER- GAUMEN- SPALTE	-
	DTNA	HOM	c.1985C>T p.Ser662Leu -	D. r.	0,11 D DC	-	G -			NA; NA			-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	RALG APA2	HOM	c.5542C>T p.Arg1848Cys rs199622774	C. e.	0,46 D DC	0/8/24930 6	G -			NA; NA			MGI:3036 245
B3629 Singleton	JKAM P	HOM	c.610G>A p.Val204Met rs749452942	C. e.	0,58 D DC	0/21/2465 12	G VUS	M	63	NA; NA	PUV	-	-
	PKHD 1L1	HOM	c.7306C>A p.Gln2436Lys rs771917225	D. r.	0,39 D DC	0/11/2706 74	G -			NA; NA			-
	PHKA 2	HOM	c.381C>A p.Asp127Glu -	D. m.	0,94 D DC	-	G -			NA; NA			-
	ACTR1 0	HOM	c.364C>T p.Pro122Ser rs371671757	D. m.	0,83 D DC	0/4/25135 4	- -			NA; NA			-
B3742 Singleton	ELTD1	HOM	c.802_803delAT p.Ile268fs -	-	-	-	G -	M	240	NA; NA	R VUR	-	-
	SLC44 A4	HOM	c.41-1G>A p.? -	-	-	0/45/2709 26	G -			NA; NA			-
	WDR8 7	HOM	c.7864C>T p.Gln2622* -	-	-	0/45/1884 92	G -			NA; NA			-
B3806 Singleton	ABCA 13	HOM	c.801G>C p.Trp267Cys -	G. g.	0,94 D DC	-	G -	M	130	NA; NA	R UPJO, HYDRO- NEPHROSE	-	-
	PROD H	HOM	c.748G>T p.Val250Leu -	D. m.	0,13 D DC	-	G -			NA; NA			-
B3898 Singleton	RGS9 BP	HOM	c.409G>C p.Glu137Gln rs1014043479	D. r.	0,07 D DC	0/1/12907 4	G -	M	172	NA; NA	BL RENALE DYSPLASIE	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	FAM120C	HEMI	c.757G>A p.Gly253Ser -	D. r.	1,00 D DC	-	G -			NA; NA			MGI:2387687
A4942 Singleton	FAM46D	HEMI	c.70G>A p.Val24Ile rs773874789	D. r.	0,49 T DC	0/2/5/2034 49	G -	M	12	NA; NA	HUFEISENNIERE	-	-
	SHROM2	HEMI	c.73C>A p.Arg25Ser rs1320545615	X. t.	0,06 T -	0/0/1/1885 8	G VUS			NA; NA			-
B1683 Singleton	AGBL3	HOM	c.1195G>A p.Val399Met rs146250942	X. t.	0,94 D DC	0/45/1905 42	G -	M	265	NA; NA	BL VUR V	PRUNE BELLY SYNDROM	-
	SEPN1	HOM	c.1654G>A p.Glu552Lys rs200128474	X. t.	0,57 D DC	0/101/280 960	G VUS			NA; NA			-
	TRIM63	HOM	c.390C>G p.Ile130Met -	X. t.	0,87 D DC	0/12/2514 44	V P			NA; NA			-
	MCM6	HOM	c.2428T>C p.Tyr810His -	X. t.	0,77 T DC	-	G B			NA; NA			-
B2512 Duo	FAM194B	HET	c.2089T>A p.*697Lys -	-	-	-	- -	W	13	HET; WT	PUV	-	
	FAM194B	HET	c.890A>G p.Gln297Arg -	M. m.	0,24 T P	0/42/1878 74	- VUS			WT; HET			
	IGSF3	HET	c.2773A>G p.Ile905Val -	G. g.	0,14 D P	0/1/25142 4	G -			HET; WT			
	IGSF3	HET	c.106T>G p.Ser36Ala -	D. r.	0,98 D P	0/5/24538 8	G -			WT; HET			

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B3120 Singleton	MYOM3	HOM	c.1309C>T p.Leu437Phe -	X. t.	1,00 D P	0/39/2809 42	G -	W	386	NA; NA	BL VUR	-	MGI:2685 280
	SLC19A2	HOM	c.1061_1063delT AA p.Ile354del -	-	-	0/14/2826 68	G VUS			NA; NA			-
	SMARCC1	HOM	c.572A>G p.His191Arg -	D. r.	0,81 D DC	0/1/24108 8	G VUS			NA; NA			-
	PBRM1	HOM	c.2011A>T p.Asn671Tyr -	D. r.	1,00 D DC	-	G -			NA; NA			MGI:1923 998
	MGST1	HOM	c.178A>G p.Lys60Glu rs775673743	C. i.	0,83 D P	0/8/25091 8	G VUS			NA; NA			-
	AMFR	HOM	c.366T>G p.Phe122Leu -	C. e.	1,00 D DC	-	G -			NA; NA			-
B3162 Trio	SORL1	HOM	c.1112A>C p.Asn371Thr rs150609294	S. c.	0,48 D P	0/386/282 836	G LB	M	7	HET; HET	L NIEREN- AGENESIE	-	-
	TAF1	HEMI	c.2707C>T p.Pro903Ser rs1436597694	S. c.	0,96 D DC	0/1/21479	G -			HET; HET			-
A3798 Singleton	FHIT	HOM	c.301C>T p.Pro101Ser -	S. c.	0,99 D DC	1/143/251 232	- -	M	31	NA; NA	L UPJO, HYDRO- NEPHROSE	-	-
	MAP4	HOM	c.3083A>C p.Lys1028Thr -	D. r.	0,95 D DC	2/160/251 460	G -			NA; NA			-
B3166 Trio	CCDC90B	HOM	c.758G>C p.Trp253Ser -	D. r.	1,00 D DC	0/106/275 764	- -	M	11	HET; HET	L HYDRO- NEPHROSE	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	DHX34	HET	c.1544A>G p.Tyr515Cys rs772047540	D. m.	0,99 D DC	0/10/2796 12	- -			WT; HET			-
	DHX34	HET	c.2866C>T p.Arg956Trp rs151213663	G. g.	0,23 D DC	6/1306/28 0936	- -			HET; WT			-
B3203 Trio	ALDH1 L2	HET	c.1969C>T p.Arg657Cys -	C. e.	0,09 D DC	-	G -	M	4	HET; WT	BL UVJO, HYDRONEPHROSE, L VUR	PYLORUS- STENOSE, GEKNICKTE AORTA, PULMONAR- ARTERIEN STENOSE, PSYCHO- MOTO- RISCHE VER- ZÖGERUNG	-
	ALDH1 L2	HET	c.1100A>T p.Asp367Val -	D. m.	0,99 D DC	0/43/2514 46	G -			WT; HET			-
	LAMA 5	HET	c.6952G>A p.Glu2318Lys -	D. r.	0,02 D DC	0/95/2486 06	G VUS			HET; WT			MGI:1053 82
	LAMA 5	HET	c.6112G>A p.Gly2038Arg -	D. r.	1,00 D DC	0/2/15257 0	G -			WT; HET			
B3410 Duo	ZNF25 9	HOM	c.709G>A p.Glu237Lys -	C. i.	0,18 T P	2/1213/28 2776	G -	M	3	HET; HET	L HYDRO- NEPHROSE BL VUR		-
	MED12	HEMI	c.5135G>A p.Arg1712Gln rs1196582695	C. i.	0,99 D P	0/1/1/1816 78	G VUS			WT; HET			-
B3600 Trio	WDSU B1	HET	c.804+2dup p.? -	-	- - -	/	- -	W	3	WT; HET (betroffene Mutter, betroffener Bruder HET)	BL MCDK	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	TCTA	HET	c.130_132dup p.Leu44_Trp45ins Leu -	-	- - -	0/1/25146 0	- -			WT; HET (betroffene Mutter, betroffener Bruder HET)			-
B3968 ^M Trio	ZFH3	HET	c.1385A>C p.Glu462Ala -	M. m.	0,01 T P	0/72/2820 62	G -	W	12	WT; HET	R HYPOPLASTISCHE NIERE L HYDRO-NEPHROSE	-	-
	ZFH3	HET	c.1135C>G p.Leu379Val -	X. t.	0,99 D DC	4/1021/27 9874	G -			HET; WT			
B4062 Trio	EGFL6	HEMI	c.1573C>T p.Arg525Cys rs140552733	D. r.	0,88 D P	0/2/17530 5	- -	M	10	WT; HET	R VUR V URETEROZELE	-	-
	ADAM TSL3	HET	c.119T>C p.Leu40Pro -	D. r.	0,99 D DC	-	G -			HET; WT			
	ADAM TSL3	HET	c.2941C>T p.Arg981Trp rs748749681	D. r.	0,99 D DC	1/521/282 724	G -			WT; HET			
B4073 Trio	MTMR 1	HEMI	c.1949G>A p.Arg650Gln -	D. r.	0,62 T P	0/1/2/1900 05	- VUS	M	8	WT; HET	BL HYDRO-NEPHROSE	-	-
	PDZD4	HEMI	c.844C>T p.Arg282Trp -	D. r.	0,99 D P	-	G -			WT; HET			
B3955 ^M Trio	CDX4	HEMI	c.281G>A p.Gly94Asp rs778861857	G. g.	0,99 D P	0/0/5/2827 67	- -	M	1	WT; HET	BL DUPLEX SYSTEM, RTA, HYPERKALZURIE	-	-
A1209 Singleton	NDC1	HOM	c.588C>G p.Ile196Met -	D. m.	0,93 D DC	0/15/2281 50	G -	M	20	NA; NA	BL VUR	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	TRAP PC2	HEMI	c.280T>C p.Tyr94His -	C. e.	0,88 D DC	-	G -			NA; NA			-
B1324 Singleton	ADAM TS18	HOM	c.3157C>T p.Arg1053Trp rs148703569	D. m.	0,78 D P	0/15/2281 50	- -	M	3	NA; NA	BL VUR, R NARBENNIERE	NAGEL- PATELLA- SYNDROM, EPILEPSIE, PROTEINURIE	MGI:2442 600
	SLC38 A5	HEMI	c.556G>A p.Ala186Thr -	D. r.	0,95 D P	-	- -			NA; NA			-
B3422 Trio	XYLB	HET	c.1279G>A p.Gly427Ser rs374612817	D. m.	1,00 D DC	0/7/28283 2	G -	W	5	HET; WT (betrofener Vater)	R VUR III	-	-
	GFPT2	HET	c.506C>T p.Thr169Met -	C. i.	0,47 D T	0/5/24951 4	G -			HET; WT (betrofener Vater)			-
	CCDC 18	HET	c.170dup p.Asn57fs -	-	- -	0/11/2354 92	G -			HET; WT (betrofener Vater)			-
	CEP11 2	HET	c.1335C>G p.Tyr445* -	-	- -	0/11/2823 08	G -			HET; WT (betrofener Vater)			-
B4075 Trio	HCLS1	HOM	c.1008+1G>T p.? -	-	- -	0/13/2488 70	G -	W	3	HET; HET	L DUPLEX SYSTEM, NIEREN- STEINE	-	-
	PDE6A	HET	c.1874C>T p.Ser625Phe -	D.r.	1,00 D DC	0/14/2828 14	G -			WT; HET			-
	PDE6A	HET	c.878C>T p.Pro293Leu -	D. r.	0,97 D DC	1/904/282 780	G -			HET; WT			-
B2820 Singleton	TAGL N	HOM	c.590G>C p.Arg197Pro s199737213	S. c.	0,98 D DC	0/19/2827 38	- -	M	365	NA; NA	L VUR, HYDRO- NEPHROSE	-	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	SPAT A6	HOM	c.281-1G>A p.? -	-	- - -	0/2/221538	- -			NA; NA			-
	NTHL1	HOM	c.704G>A p.Gly235Asp -	S. c.	1,00 D DC	0/1/245492	G -			NA; NA			-
B3060 ^M Trio	SACS	HET	c.4076T>C p.Met1359Thrs146451611	X. t.	0,02 D P	4/592/282066	V -	M	11	WT; HET	R HYDRO-NEPHROSE	HYPODONTIE	MGI:1354724
	SACS	HET	c.1373C>T p.Thr458Ile rs61729954	D. r.	0,96 D DC	1/720/282826	V -			HET; WT			
	FN1	HET	c.1775G>A p.Arg592His rs147831535	G. g.	0,87 T -	2/806/282798	G -			WT; HET			-
	FN1	HET	c.141A>C p.Gln47His rs145263539	X. t.	0,99 T -	0/46/280652	G -			HET; WT			-
B2760 Singleton	SLC25 A16	HOM	c.797G>A p.Arg266Gln rs370997821	S. c.	0,99 D -	0/10/276940	G -	M	294	NA; NA	HUFEISEN-NIERE, L HYDRO-NEPHROSE		-
	MSS51	HOM	c.871C>T p.Pro291Ser rs781742879	D. r.	0,63 D DC	0/31/277192	G -			NA; NA			-
	WDR6 2	HOM	c.1576G>A p.Glu526Lys rs147875659	D. r.	0,99 T DC	0/33/282550	V -			NA; NA			MGI:1923696
B278 Duo	COL7 A1	HET	c.682+1G>A p.? -	-	- - -	0/5/282716	G -	W	8	NA; HET (betroffene Mutter)	BL UPJO		-
	IFT57	HET	c.850-2A>G p.? -	-	- - -	-	G -			NA; HET (betroffene Mutter)			-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
B2723 Trio	NUP153	HET	c.2717G>T p.Gly906Val -	C. e.	- T DC	-	G -	M	10	WT; HET	R HYPOPLASTISCHE NIERE, HYDRONEPHROSE, URACHUSZYZTE, HYPOSPADIE	-	-
	NUP153	HET	c.685C>A p.Pro229Thr rs140571428	C. e.	- D DC	0/151/282 634	G -			HET; WT			-
B2379 Singleton	CUTA	HOM	c.482C>T p.Pro161Leu rs769406157	D. m.	0,97 D DC	0/6/24527 0	G -	M	301	NA; NA	HENMAN SYNDROM, VUR, HYDRONEPHROSE	-	MGI:1914 925
	RAB3GAP2	HOM	c.2522C>T p.Ala841Val rs764713903	D. r.	0,98 T DC	0/13/2461 10	G -			NA; NA			-
	PKP4	HOM	c.3380A>T p.Asp1127Val rs148782148	D. r.	0,99 D DC	0/894/276 874	- -			NA; NA			-
	TFAP2B	HOM	c.1360_1362delA AG p.Lys463del -	-	- - -	-	G -			NA; NA			MGI:1046 72
B1749 Singleton	ARSF	HOM	c.1187T>A p.Leu396* -	-	- - -	-	G -	M	297	NA; NA	L PUV, L VUR, L EKTOPIISCHE NIERE, CKD	WACHSTUMSVERZÖGERUNG, SKELETALE ANOMALIEN	-
	MTFP1	HOM	c.58C>T p.Arg20* rs1463084359	-	- - -	0/1/12511 6	- -			NA; NA			-
	IDH3A	HOM	c.587C>T p.Thr196Met rs375984261	D. m.	0,96 D DC	0/7/25136 4	G -			NA; NA			-
	LGALS1	HOM	c.10G>T p.Gly4Cys rs769577233	C. i.	- D DC	1/35/2819 20	- -			NA; NA			-
	MFN2	HOM	c.485A>C p.Gln162Pro -	D. m.	0,99 D DC	-	G -			NA; NA			-

Familie	Gen	Zygo- sität	Nukleotid- & Protein- änderung dbSNP	Amino- säure- rekon- serv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Ho- mo- zyg. [Mb]	Segre- gation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT- Phänotyp
B2420 Singleton	SETX	HOM	c.6107G>C p.Gly2036Ala -	D. r.	1,00 D DC	-	G -	W	144	NA; NA	L NIEREN- AGENESIE	-	-
	PANX3	HOM	c.163G>A p.Ala55Thr rs142639637	D. r.	0,99 D DC	1/190/276 738	- -			NA; NA			-
B716 Singleton	ROBO 3	HOM	c.1379A>G p.Gln460Arg rs771613910	D. r.	0,87 D DC	1/4/24808 4	V LP	M	7	NA; NA	PUV, VUR, HYDRO- NEPHROSE	ANAL- ATRESIE	-
	SSX1	HOM	c.164A>G p.Tyr55Cys rs781822167	G. g.	0,99 D P	3/12/1953 71	- -			NA; NA			-
	NHSL2	HOM	c.574C>T p.Arg192Trp rs866909340	X. t.	- D P	0/2/11146 7	- -			NA; NA			MGI:3645 090
B1262 Singleton	COL4 A4	HOM	c.4760C>G p.Pro1587Arg rs190148408	D. r.	0,70 T P	2/575/279 544	G -	M	10	NA; NA	BL KLEINE NIEREN	-	MGI:1046 87
	PAM	HOM	c.1616C>G p.Ser539Trp rs78408340	C. e.	- T DC	3/1043/27 8834	- -			NA; NA			-
	SLITR K2	HOM	c.1582G>A p.Glu528Lys -	D. r.	0,92 D -	-	G -			NA; NA			-
B4089 Singleton	PCSK4	HOM	c.1805_1806delA G p.Glu602fs -	-	-	3/187/279 317	- -	M	5	NA; NA	R VUR IV	-	-
	ATG4 A	HOM	c.216T>G p.Asp72Glu -	S. c.	1,00 D B	-	- -			NA; NA			-
B3648 Singleton	SFXN3	HOM	c.733+2T>C - rs139685753	-	-	0/152/282 356	G -	M	102	NA; NA	BL NIEREN- BECKENER- WEITERUNG	POLYURIE, POLYDIPSIE	-

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurekonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Maus CAKUT-Phänotyp
	DGAT 1	HOM	c.797A>G p.Asn266Ser rs146196839	D. m.	0,96 T -	2/347/207 380	G -			NA; NA			-
B2375 Singleton	TRIM7 2	HOM	c.891delT p.Ala297fs rs751349807	-	- - -	0/25/2604 34	- - -	M	113	NA; NA	BL OBSTRUKTIVE NIERENBECKENSTEINE, HYPEROXALURIE	GESICHTSDYSMORPHIE, TIEFSITZENDE OHREN, VSD, LARYNXSTENOSE	-
	SEMA 4F	HOM	c.1028G>A p.Cys343Tyr rs757393861	D. r.	1,00 D DC	0/4/24600 6	- -			NA; NA			-

-, nicht verfügbar; Aminosäurenkonserv., Aminosäurenkonservierung; BL, bilateral; CKD, chronic kidney disease (dt. chronische Nierenerkrankung), DC, disease-causing (dt. krankheitsverursachend); D, deleterious (dt. schädlich); ESRD, end-stage renal disease (dt. terminales Nierenversagen); gnomAD, Genome Aggregation Database; HEMI, hemizygot; HET, heterozygot; HOM, homozygot; Homozyg., Homozygotie; L, links; M, male; MCDK, multicystic dysplastic kidney (dt. Multizystisch dysplastische Niere); MT, MutationTaster; NA, not available (DNA für Segregationstudien nicht verfügbar); P, Polymorphismus, PP2, PolyPhen-2 PUV, posterior urethral valves (dt. Harnröhrenklappen); RHD, renale Hypodysplasie; RTA, renale tubuläre Azidose; R, rechts; SIFT, Sorting intolerant from tolerant; SRNS, steroidresistentes nephrotisches Syndrom; T, toleriert; UPJO, ureteropelvic junction obstruction (dt. Obstruktion der ureteropelvinen Verbindung); UVJO, ureterovesical junction obstruction (dt. Obstruktion der ureterovesikalen Verbindung); VUR, vesikoureteraler Reflux; VSD, ventrikulärer septaler Defekt; W, weiblich; WT, Wildtyp

^a Evolutionäre Aminosäurenkonservierung wurde über die Phylogenie der folgenden Spezies erfasst: *Mus musculus* (M. m.), *Gallus gallus* (G. g.), *Xenopus tropicalis* (X. t.), *Danio rerio* (D. r.), *Ciona intestinalis* (C. i.), *Caenorhabditis elegans* (C. e.), *Drosophila melanogaster* (D. m.) und *Saccharomyces cerevisiae* (S. c.).

^b Allelfrequenz in gnomAD ist angegeben mit homozygot/hemizygot (falls zutreffend)/heterozygot/totale Allelnummer.

^c Status der Variante in Human Gene Mutation Database (HGMD[®]): V, Variante wurde als pathogen beschrieben; G, die spezielle Variante wurde nicht beschrieben, allerdings sind andere pathogene Varianten in dem Gen bereits beschrieben.

^d ClinVar Klassifikation der Variante wie folgt: B, benign (dt. gutartig); LB, likely benign (dt. vermutlich gutartig); VUS, variant of uncertain significance (dt. Variante mit ungewisser Signifikanz); LP, likely pathogenic (dt. vermutlich pathogen); P, pathogenic (dt. pathogen).

^e Potenzieller Effekt auf Spleißvorgang.

- Die Variante wurde durch einen Kandidatengenansatz gefunden.
- Ⓜ Familie mit zusätzlichen *de novo* Varianten (siehe Tab. 1)

Tab. 4: Detaillierte Auskunft zu den Phäno- und Genotypen der 19 CAKUT-Familien mit einer Variante in einem kürzlich etablierten oder seltenen CAKUT-Gen (ohne 2 *de novo* Varianten, siehe Tab. 1).

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Protein-änderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Status
B998 Singleton	FOXA2	HO M	c.155T>A p.Met52Lys -	D. r.	0,99 D DC	-	G -	M	225	NA; NA	HUFEISENNIERE	G6PD MANGEL, ASTHMA, HYPEROPIE, ASTIGMATISMUS	Familie publiziert (PMID: 34473308)
B3411 Geschwisterpaar	WNT9B	HO M	c.11dup p.Pro5fs rs92679376 3	-	- - -	0/2/36870	G LP	W	178	NA; NA	BL RHD	TAUBHEIT	Familie publiziert (PMID: 34145744)
A3298 Trio	FOXC1^x	HET	c.785G>A p.Ser262Asn rs12269603 51	C. i.	0,00 D P	0/1/85316	G -	M	25	HET; WT (gesunder Vater)	R DYSPLASTISCHE NIERE, VUR	-	Gen publiziert (PMID: 32475988)
B1252 Singleton	FOXC1	HET	c.433_435del p.Lys145del rs76874117 6	-	- - -	0/2/25137 6	G -	M	22	WT; HET (Mutter mit extrarenalem Phänotyp)	R NIEREN-AGENSIE	GESICHTSDYSMORPHIEN KLINODAKTYLIE, BRACHYDAKTYLIE, BL GENU VALGUM, HALLUX VALGUS, PES PLANUS, SCOLIOSE, BIKUSPIDE AORTENKLAPPE, LARYNGOMALAZIE, SAKRALGRÜBCHEN	Familie publiziert (PMID: 32475988)
B2710 Singleton	FOXC1^x	HET	c.1090C>T p.Pro364Ser -	D. r.	0,02 T DC	-	G VUS	M	4	NA; NA	NEUROGENE BLASE, L VUR	-	Gen publiziert (PMID: 32475988)

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Protein-änderung dbSNP	Aminosäurenkon-serv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Ho-mozyg. [Mb]	Segre-gation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Status
B2797 Singleton	CHRM5	HO M	c.551A>G p.Gln184Arg rs587651895	C. i.	0,97 T DC	0/6/23093 2	- VUS	M	11	HET; HET	PUV, NEUROGENE BLASE, BL VUR, HYDRO- NEPHROSE	-	Familie publiziert (PMID: 37213061)
B3089 Trio	ARHGE F6	HE MI	c.833G>A p.Ser278Asn rs148628394	D. r.	0,09 D DC	0/7/19/204 031	G -	M	10	WT; HET	L VUR, R RHD	-	Familie publiziert (PMID: 36414417)
B1717 Singleton	CHRNA 3	HO M	c.1010_101 1delCA p.Thr337fs -	-	- - -	-	G -	M	13	NA; NA	NEUROGENE BLASE, VUR	MYDRIASIS	Familie publiziert (PMID: 31708116)
B2323 Singleton	ZMYM3	HE MI	c.2596G>A p.Val866Met -	X. t.	0,99 D DC	-	- -	M	11	NA; NA	PUV, NEUROGENE BLASE, VUR	-	Familie publiziert (PMID: 32891193)
A3404 Trio	FOXA3	HET	c.464G>A p.Arg155Gln rs200377130	D. m.	0,98 D DC	0/6/28283 8	G -	M	8	HET; WT (betoffener Vater)	L UVJO	-	Familie publiziert (PMID: 34473308)
B583 Duo	ETV4	HO M	c.16A>T p.Lys6* rs75202146	-	- - -	0/84/1847 78	G -	M	4	NA; HET	PUV	-	Familie publiziert (PMID: 36694287)
B3111 Singleton	INTS1	HO M	c.6488T>C p.Phe2163Ser -	D. m.	1,00 D DC	-	G -	W	313	NA; NA	BL VUR, HYDRO- NEPHROSE	-	Gen publiziert (PMID: 28542170)
B3651 Trio	INTS1	HET	c.691A>G p.Ile231Val rs199811995	D. m.	0,95 T DC	0/4/24342 0	G VUS	W	5	WT; HET	BL URETER- EKTOPIE	-	Gen publiziert (PMID: 28542170)

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Protein-änderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Status
		HET	c.6248T>G p.Phe2083Cys rs201675191	X. t.	0,98 T DC	0/212/279 246	G VUS			HET; WT			
B3790 Duo	SHROOM4	HEMI	c.384G>T p.Trp128Cys rs147590774	D. r.	1,00 D P	0/4/4/1932 50	G VUS	M	4	WT; NA	BL DUPLEX-SYSTEM, BL HYDRO-NEPHROSE, R VUR	-	Gen publiziert (PMID: 36379543)
B4018 Singleton	FAM123B	HEMI	c.1441G>A p.Asp481Asn rs749609920	D. r.	0,86 D DC	0/1/2/1829 84	G -	M	8	NA; NA	DILATIERTE OBSTRUKTIVE L NIERE	-	Gen publiziert (PMID: 938023)
B2831 Singleton	CELSR3	HOM	c.3100G>C p.Glu1034Gln rs201106333	D. r.	0,79 D DC	1/67/2514 46	G -	W	89	NA; NA	BL UPJO	-	Familie publiziert (PMID: 38429302)
B1828 Singleton	CELSR3	HOM	c.3142C>T p.Arg1048Trp rs560173014	D. r.	0,99 D DC	0/10/2771 40	G -	W	409	NA; NA	BL VUR, L DUPLEX SAMMEL SYSTEM	-	Familie publiziert (PMID: 38429302)
B2782 Trio	MYH11	HOM	c.5247G>C p.Glu1749Asp -	D. r.	0,93 D DC	3/144/271 536	G -	W	46	HET; HET	R ZYSTISCHE NIERE	-	Gen publiziert (PMID: 25407000)
B1546 Singleton	22q11.2 1-13.31 Deletion^x	HET	chr22:16269934-46594555				G -	M	31	NA; NA	BL UPJO, HYDRO-NEPHROSE	DOLICHO-CEPHALIE	Erkrankung publiziert (PMID: 28121514)

-, nicht verfügbar; Aminosäurenkonserv., Aminosäurenkonservierung; BL, bilateral; DC, disease-causing (dt. krankheitsverursachend); D, deleterious (dt. schädlich); gnomAD, Genome Aggregation Database; HEMI, hemizygot; HET, heterozygot; HOM, homozygot; Homozyg., Homozygotie; L, links; M, männlich; MT, MutationTaster; NA, not available (DNA für Segregationstudien nicht verfügbar); P, Polymorphismus, PMID, PubMed Identifier; PP2, PolyPhen-2 PUV, posterior urethral valves (dt. Harnröhrenklappen); R, rechts; RHD, renale Hypodysplasie; SIFT, Sorting intolerant from tolerant; T,

toleriert; UPJO, ureteropelvic junction obstruction (dt. Obstruktion der ureteropelvinen Verbindung); UVJO, ureterovesical junction obstruction (dt. Obstruktion der ureterovesikalen Verbindung); VUR, vesikoureteraler Reflux; W, weiblich; WT, Wildtyp.

^a Evolutionäre Aminosäurenkonservierung wurde über die Phylogenie der folgenden Spezies erfasst: *Mus musculus* (M. m.), *Gallus gallus* (G. g.), *Xenopus tropicalis* (X. t.), *Danio rerio* (D. r.), *Ciona intestinalis* (C. i.), *Caenorhabditis elegans* (C. e.), *Drosophila melanogaster* (D. m.) und *Saccharomyces cerevisiae* (S. c.).

^b Allelfrequenz in gnomAD ist angegeben mit homozygot/hemizygot (falls zutreffend)/heterozygot/totale Allelnummer.

^c Status der Variante in Human Gene Mutation Database (HGMD[®]): V, Variante wurde als pathogen beschrieben; G, die spezielle Variante wurde nicht beschrieben, allerdings sind andere pathogene Varianten in dem Gen bereits beschrieben.

^d ClinVar Klassifikation der Variante wie folgt: B, benign (dt. gutartig); LB, likely benign (dt. vermutlich gutartig); VUS, variant of uncertain significance (dt. Variante mit ungewisser Signifikanz); LP, likely pathogenic (dt. vermutlich pathogen); P, pathogenic (dt. pathogen).

^x Keine Sanger-Sequenzierung in der Familie möglich.

Tab. 5: Detaillierte Auskunft zu den Phäno- und Genotypen der 3 Familien mit einer Variante in einem Phänokopie-Gen.

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Protein-änderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp
B1892 Trio	OFD1	HEMI	c.2467_2469del GAG p.Glu823del rs771984968	-	- - -	1/1/57729/1 82475	G VUS	M	10	WT; HET	BL HYDRO-NEPHROSE	-
B4191 Singleton	DCHS1	HOM	c.2749C>T p.Arg917Trp rs576117138	M. m.	1,00 D DC	0/15/249066	G -	W	20	NA; NA	BL DYSPLASTISCHE NIEREN, UROGENITALERL SINUS	HERZANOMALIEN, WACHSTUMS-VERZÖGERUNG
A1283 Duo	PKD1	HET	c.2085delC p.Ala696fs -	-	- - -	-	G -	W	10	NA; NA (Mutter eines CAKUT-Probanden, der die Variante nicht trägt)	ADPKD	-

-, **nicht** verfügbar; ADPKD, autosomal dominant polycystic kidney disease (dt. autosomal dominante polyzystische Nierenerkrankung); Aminosäurenkonserv., Aminosäurenkonservierung; BL, bilateral; DC, disease-causing (dt. krankheitsverursachend); D, deleterious (dt. schädlich); gnomAD, Genome Aggregation Database; HEMI, hemizygot; HET, heterozygot; HOM, homozygot; Homozyg., Homozygotie; L, links; M, männlich; MT, MutationTaster; NA, DNA für Segregationstudien nicht verfügbar; P, Polymorphismus; PP2, PolyPhen-2; SIFT, Sorting intolerant from tolerant; W, weiblich; WT, Wildtyp. 10 zusätzliche Familien mit Phänokopien wurden von Seltzam et al. publiziert (insgesamt 12 Familien; Abb. 7A; Seltzam et al., 2022).

^a Evolutionäre Aminosäurenkonservierung wurde über die Phylogenie der folgenden Spezies erfasst: *Mus musculus* (M. m.), *Gallus gallus* (G. g.), *Xenopus tropicalis* (X. t.), *Danio rerio* (D. r.), *Ciona intestinalis* (C. i.), *Caenorhabditis elegans* (C. e.), *Drosophila melanogaster* (D. m.), and *Saccharomyces cerevisiae* (S. c.).

^b Allelfrequenz in gnomAD ist angegeben mit homozygot/hemizygot (falls zutreffend)/heterozygot/totale Allelnummer.

^c Status der Variante in Human Gene Mutation Database (HGMD[®]): V, Variante wurde als pathogen beschrieben; G, die spezielle Variante wurde nicht beschrieben, allerdings sind andere pathogene Varianten in dem Gen bereits beschrieben.

^d ClinVar Klassifikation der Variante wie folgt: B, benign (dt. gutartig); LB, likely benign (dt. vermutlich gutartig); VUS, variant of uncertain significance (dt. Variante mit ungewisser Signifikanz); LP, likely pathogenic (dt. vermutlich pathogen); P, pathogenic (dt. pathogen).

Tab. 6: Detaillierte Auskunft zu den Phäno- und Genotypen der 11 Familien mit einer Variante in einem Nicht-CAKUT-Gen.

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Phänotyp des Zufallbefundes
B3411 Geschwisterpaar	MYO15A	HOM	c.10043delT p.Leu3348fs -	-	- - -	-	G -	W	178	NA; NA (betroffener Bruder HOM)	BL RHD	TAUBHEIT	Taubheit, autosomal rezessiv 3 (OMIM: 600316)
B1861 Singleton	NPHS2	HOM	c.779T>A p.Val260Glu rs775006954	D. m.	0,99 D DC	0/8/27699 2	V P	M	183	NA; NA	L UPJO, HYDRO-NEPHROSE, R ECHOGENE NIERE	SRNS	Nephrotisches Syndrom, Typ 2 (OMIM: 600995)
B3879 Singleton	CYP1B1	HOM	c.182G>A p.Gly61Glu rs28936700	D. m.	1,00 D DC	2/67/2295 34	V P	W	63	NA; NA	BL VUR, MEDULLÄRE NEPHROKALZINOSE	ENTWICKLUNGSVERZÖGERUNG, BLINDHEIT, ASD	Vordersegmentdysgenese 6, multiple Subtypen (OMIM: 617315)
B2637 Singleton	HBB	HOM	c.315+1G>A p.? rs33945777	-	- - -	0/11/2825 62	V P	M	264	NA; NA	R RHD	BETA-THALASSÄMIE MAJOR	Thalassämie, beta (OMIM: 613985)
B2827 Singleton	NPHS1	HOM	c.3027C>G p.Tyr1009* rs180974014	-	- - -	0/31/2801 04	G B	W	263	NA; NA	L UPJO	ANGEBORENES NEPHROTISCHES SYNDROM	Nephrotisches Syndrom, Typ 1 (OMIM: 256300)
B3124 Singleton	LMX1B	HET	c.781C>T p.Arg261Cys rs886039576	D. m.	0,89 D DC	-	V VUS	M	4	NA; NA	BL VUR, R NARBENNIERE	NAGEL PATELLA SYNDROM, EPILEPSIE, PROTEINURIE	Nagel-Patella Syndrom (OMIM: 161200)
B2623 Singleton	PRKD1	HET	c.1672+2T>C p.? rs758403249	-	- - -	0/4/25086 0	G -	M	6	NA; NA	BL HYPOPLASTISCHE NIEREN	MIKROZEPHALIE, ENTWICKLUNGSVERZÖGERUNG	Angeborene Herzfehler und ektoдерmale Dysplasie (OMIM: 617364)
B3648 Singleton	AVP	HOM	c.120+2T>C p.? -	-	- - -	-	G -	M	102	NA; NA (betroffener Bruder HOM)	BL RENALE NIERENBECKENERWEITERUNG	POLYURIE, POLYDIPSIE	Diabetes insipidus, neurohypophysär (OMIM: 125700)

Familie	Gen	Zygotität	Nukleotid- & Proteinänderung dbSNP	Aminosäurenkonserv. ^a	PP2 SIFT MT	gnomAD ^b	HGMD ^c Clin Var ^d	Sex	Homozyg. [Mb]	Segregation paternal; maternal; (andere)	Nierenphänotyp	Extrarenaler Phänotyp	Phänotyp des Zufallbefundes
B3191 Singleton	KMT2B	HET	c.5909delC p.Pro1970Leufs	-	- -	-	G -	M	10	NA; NA	HYPOPLASTISCHE RNIERE	IDIOPATHISCHE CHOREOATHETOSE	Dystonie 28, (OMIM: 617284)
B2375 Singleton	HOGA1	HOM	c.908G>A p.Arg303His rs761150081	C. i.	1,00 D DC	0/14/2825 18	G LP	M	114	NA; NA	OBSTRUKTIVE BLNIERENBECKENSTEINE, HYPEROXALURIE	GESICHTSDYSMORPHIE, TIEFSITZENDE OHREN VSD, LARYNXSTENOSE	Hyperoxalurie, Primärtyp III (OMIM: 613616)
B3622 Trio	AVPR2	HEMI	c.911-1G>A p.? -	-	- -	-	G -	M	5	WT; HET	VUR, MEGAURETER, TRABEKULIERTE BLASE, CRYPTORCHIDISMUS	NEPHROGENER DIABETES INSIPIDUS	Diabetes insipidus, nephrogen, 1 (OMIM: 304800)

-, nicht verfügbar; Aminosäurenkonserv., Aminosäurenkonservierung; BL, bilateral; DC, disease-causing (dt. krankheitsverursachend); D, deleterious (dt. schädlich); gnomAD, Genome Aggregation Database; HEMI, hemizygot; HET, heterozygot; HOM, homozygot; L, links; M, männlich; MT, MutationTaster; NA, not available (DNA für Segregationstudien nicht verfügbar); SRNS, steroidresistentes nephrotisches Syndrom; PP2, PolyPhen-2 R, rechts; RHD, renale Hypodysplasie; SIFT, Sorting intolerant from tolerant; UPJO, ureteropelvic junction obstruction (dt. Obstruktion der ureteropelvinen Verbindung); VUR, vesikoureteraler Reflux; VSD, Ventrikelseptumdefekt; W, weiblich; WT, Wildtyp.

^a Evolutionäre Aminosäurenkonservierung wurde über die Phylogenie der folgenden Spezies erfasst: *Mus musculus* (M. m.), *Gallus gallus* (G. g.), *Xenopus tropicalis* (X. t.), *Danio rerio* (D. r.), *Ciona intestinalis* (C. i.), *Caenorhabditis elegans* (C. e.), *Drosophila melanogaster* (D. m.) und *Saccharomyces cerevisiae* (S. c.).

^b Allelfrequenz in gnomAD ist angegeben mit homozygot/hemizygot (falls zutreffend)/heterozygot/totale Allelnummer.

^c Status der Variante in Human Gene Mutation Database (HGMD[®]): V, Variante wurde als pathogen beschrieben; G, die spezielle Variante wurde nicht beschrieben, allerdings sind andere pathogene Varianten in dem Gen bereits beschrieben.

^d ClinVar Klassifikation der Variante wie folgt: B, benign (dt. gutartig); LB, likely benign (dt. vermutlich gutartig); VUS, variant of uncertain significance (dt. Variante mit ungewisser Signifikanz); LP, likely pathogenic (dt. vermutlich pathogen); P, pathogenic (dt. pathogen).