(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 953 614**

(51) Int. CI.:

C12N 15/86 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.01.2019 PCT/SG2019/050033**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **25.07.2019 WO19143300**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.01.2019 E 19741662 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023 EP 3740246**

(54) Título: **Alteración del complejo linc para tratar la laminopatía**

(30) Prioridad:

19.01.2018 SG 10201800530Q

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.11.2023

(73) Titular/es:

AGENCY FOR SCIENCE, TECHNOLOGY AND RESEARCH (100.0%)
1 Fusionopolis Way 20-10, Connexis North Tower Singapore 138632, SG

(72) Inventor/es:

STEWART, COLIN LAWSON;
CHAI, JINFEN;
LEE, YIN LOON y
BURKE, BRIAN EDMUND

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Alteración del complejo linc para tratar la laminopatía

Campo de la invención

La presente divulgación se refiere al uso de vectores de expresión y otros compuestos en métodos para alterar el complejo Enlazador del Nucleoesqueleto y el Citoesqueleto (LINC), desacoplar el núcleo de su unión al citoesqueleto, dando como resultado la mejoría de enfermedades provocadas por una o más mutaciones de *Lmna*, denominadas laminopatías. Más particularmente, la presente divulgación se refiere a la expresión de proteína de dominio SUN dominante negativa o mutada y/o proteína de dominio KASH dominante negativa o mutada para alterar el complejo LINC en, por ejemplo, cardiomiocitos para suprimir la progresión de la enfermedad en la miocardiopatía dilatada (MCD, por sus siglas en inglés).

Antecedentes

La miocardiopatía dilatada (MCD) es la enfermedad más frecuente que afecta al músculo cardíaco, representa aproximadamente el 60 % de todas las miocardiopatías. Se caracteriza por una función sistólica (contráctil) reducida debido al agrandamiento y adelgazamiento de la pared del ventrículo izquierdo o, en algunos casos, de ambos ventrículos. La MCD se asocia a la insuficiencia cardíaca súbita y la muerte cardíaca, dando como resultado altas tasas de hospitalización, la necesidad de un trasplante de corazón y, en consecuencia, una carga de alto coste [J. L. Jefferies y J. A. Towbin, *Lancet* 375: 752-762 (2010); R. E. Hershberger, *et al.*, *Nat Rev Cardiol* 10: 531-547 (2013)]. Las causas de la MCD son variadas, pero incluyen una diversidad de factores extrínsecos, (víricos, infiltración autoinmunitaria, alcohol y fármacos). Sin embargo, el 30-40 % de todos los casos tienen una base monogénica, con mutaciones en unos 40 genes vinculados a la MCD. El gen mutado con más frecuencia en la MCD es *TTN,* que codifica la proteína sarcomérica gigante titina, representando las variantes truncadas en *TTN* casi el 15-25 % de todas las formas congénitas de MCD [D. S. Herman *et al.*, *N Engl J Med* 366: 619-628 (2012); U. Tayal, S. *et al.*, *Genome Med* 9: 20 (2017)]. El segundo gen mutado con más frecuencia es Lamina A *(LMNA)* que representa hasta el 6-8 % de los pacientes con MCD congénita [U. Tayal, S. *et al.*, *Genome Med* 9: 20 (2017)].

La MCD inducida por *LMNA* se caracteriza por una enfermedad de la conducción cardíaca que se manifiesta por anomalías electrofisiológicas (ECG), que incluye bloqueo auriculoventricular, arritmias ventriculares y fibrilación. El riesgo de muerte cardíaca súbita es mayor en pacientes con miocardiopatía-LMNA que en pacientes con otras formas de MCD [J. H. Van Berlo *et al.*, *Hum Mol Genet* 14: 2839-2849 (2005)]. Se han identificado unas 450 mutaciones diferentes en el gen *LMNA*, siendo la mayoría un sentido erróneo, dando como resultado que la mayoría de los casos de MCD se heredan como autosómicos dominantes, complicando esta diversidad de mutaciones los enfoques genéticos para tratar la MCD inducida por *LMNA*. En un grado limitado la MCD inducida por *LMNA* puede tratarse colocando un marcapasos. En última instancia, sin embargo, el tratamiento eficaz en la actualidad se logra mediante el trasplante de corazón (R. E. Hershberger y A. Morales, en *GeneReviews((R))*, M. P. Adam *et al.*, Eds. (Seattle (WA), 1993); G. Captur *et al.*, *Heart* 104: 468-479 (2018)].

La estirpes de ratón que portan mutaciones de *Lmna* por lo general mueren unas pocas semanas después del nacimiento [T. Sullivan *et al.*, *J Cell Biol* 147: 913-920 (1999); A. T. Bertrand *et al.*, *Hum Mol Genet* 21: 1037-1048 (2012); V. Nikolova *et al.*, *J Clin Invest* 113: 357-369 (2004); A. S. Wang, *et al.*, *Differentiation; research in biological diversity*, (2015)]. La causa de muerte prematura en ratones que carecen de *Lmna* es incierta debido a que múltiples tejidos están afectados. Se cree que la miopatía cardíaca es una de las principales causas contribuyentes, ya que los ratones con *Lmna* mutante desarrollan MCD con anomalías de conducción y degeneración focal de miocitos [V. Nikolova *et al.*, *J Clin Invest* 113: 357-369 (2004); L. C. Mounkes, *et al.*, *Hum Mol Genet* 14: 2167-2180 (2005)], aunque los efectos sobre otros músculos esqueléticos, aún por definir, pueden contribuir a la muerte precoz después del nacimiento.

Las laminas son proteínas de filamentos intermedios nucleares y son los principales constituyentes de la lamina nuclear, la matriz proteica subyacente a la membrana nuclear interna (MNI). La lamina consiste en las laminas de tipo A, que consiste en 2 formas predominantes, laminas A y lamina C, derivado por corte y empalme alterno de *LMNA,* mientras que las dos laminas de tipo B *(LMNB* 1 y 2) están codificadas cada una por dos genes: *LMNB1* y *LMNB2* [B. Burke y C. L. Stewart, *Nat Rev Mol Cell Biol* 14: 13-24 (2013)]. La lamina proporciona integridad estructural y mecánica al núcleo, mantiene la forma y la posición nucleares dentro de la célula, además de ser determinantes de la organización de la cromatina [T. Sullivan *et al.*, *J Cell Biol* 147: 913-920 (1999); I. Solovei *et al.*, *Cell* 152: 584-598 (2013)]. Las laminas interactúan con numerosas proteínas de MNI, incluyendo Emerina, los Polipéptidos asociados a lamina (PAL) y las proteínas de dominio SUN [B. van Steensel y A. S. Belmont, *Cell* 169: 780-791 (2017)], muchos de los cuales, cuando mutan o se presentan en forma de una variante, están relacionados con enfermedades del corazón [H. J. Worman, *et al.*, *Cold Spring Harbor perspectives in biology 2:* a000760 (2010); C. L. Stewart, *et al.*, *Exp Cell Res* 313: 2144-2156 (2007)]. Juntas, estas proteínas comprenden una red de proteínas integrada, centrada en la lamina, donde la pérdida o mutación de las laminas puede dar como resultado una localización errónea o un cambio en los niveles de expresión de muchas proteínas asociadas a lamina, (emerina, SUN1, LBR y Lap2α) [T. Sullivan *et al.*, *J Cell Biol* 147: 913-920 (1999); I. Solovei *et al.*, *Cell* 152: 584-598 (2013); C. Y. Chen *et al.*, *Cell* 149: 565-577 (2012);

T. V. Cohen *et al.*, *Hum Mol Genet* 22: 2852-2869 (2013); F. Haque *et al.*, *J Biol Chem* 285: 3487-3498 (2010)]. Entre estas proteínas, donde la expresión se ve afectada por la pérdida o la mutación de *Lmna*, están SUN1 y Lap2, cuyos niveles aumentan. En el caso de SUN1, el aumento del nivel se debe al recambio reducido, en lugar de la expresión aumentada, dando como resultado niveles altos acumulados en el aparato de Golgi que parecían ser citotóxicos al menos en los modelos de enfermedades en ratones *Lmna*$^{-/-}$ y *LmnaΔ9* [C. Y. Chen *et al.*, *Cell* 149: 565-577 (2012); C. Stewart y B. Burke, documento WO/2013/158046]. Sin embargo, cuando los niveles de SUN1 se eliminan genéticamente en ratones con mutaciones de *Lmna*, esto aumenta la longevidad 3 veces y mejora gran parte de la patología [C. Y. Chen *et al.*, *Cell* 149: 565-577 (2012); C. Stewart y B. Burke, documento WO/2013/158046]. La mediana de supervivencia de tipo silvestre o *Sun1*$^{-/-}$ es > 210 días en un seguimiento de 7 meses; los ratones *Lmna*$^{-/-}$ tenían una mediana de supervivencia de 41 días; los ratones *Lmna*$^{-/-}$ *Sun1*$^{+/-}$ tenían una mediana de supervivencia de 54 días; los ratones *Lmna*$^{-/-}$ *Sun1*$^{-/-}$ tenían una mediana de supervivencia de 104 días ($p < 0,01$ comparando y *Lmna*$^{-/-}$ *Sun1*$^{-/-}$). Análogamente, mientras que todos los ratones *Lmna*Δ9 expiraron 30 días después del nacimiento, sus compañeros de camada *Lmna*Δ9*Sun1*$^{-/-}$ prosperaron más allá de esta fecha, y la mayoría logró esperanzas de vida de más del doble de esta duración [C. Y. Chen *et al.*, *Cell* 149: 565-577 (2012)]. A nivel celular, los fibroblastos humanos que albergan una mutación de *LMNA* que da como resultado el síndrome de progeria de Hutchison-Gilford también presentaron niveles elevados de Sun1. El agotamiento de Sun1 en estas células alivió los defectos de morfología nuclear, sugiriendo nuevamente que el exceso de Sun1 resultante de la mutación en LMNA es citotóxico [C. Y. Chen *et al.*, *Cell* 149: 565-577 (2012); C. Stewart y B. Burke, documento WO/2013/158046]

Las proteínas de dominio SUN (Sad1p, UNC-84) comparten un dominio SUN C-terminal conservado y se localizan en la MNI [C. J. Malone, *et al.*, *Development* 126: 3171-3181 (1999)]. En mamíferos, SUN1 y SUN2 son las 2 proteínas SUN principales que se expresan ampliamente en prácticamente todos los tejidos. En el espacio perinuclear, entre la MNI y la membrana nuclear externa (MNE), los extremos C de SUN1 y/o 2 se unen a los extremos C (dominios KASH) de las diferentes proteínas Nesprinas/SYNE/KASH que atraviesan la MNE. Juntas, estas 2 familias de proteínas comprenden los complejos LINC que acoplan físicamente los núcleos en interfase al citoesqueleto [M. Crisp *et al.*, *J Cell Biol* 172: 41-53 (2006); E. C. Tapley y D. A. Starr, *Curr Opin Cell Biol* 25: 57-62 (2013)]. Los extremos N de las proteínas de dominio SUN sobresalen en el nucleoplasma y con SUN1, esta región interactúa con pre-laminaA y complejos de poros nucleares. No está claro si el extremo N de SUN2 interactúa con alguna proteína nucleoplásmica/de la EN. Por el contrario, la mayor parte de las proteínas Nesprinas/de dominio KASH se prolongan hacia el citoplasma adyacente a la MNE. Allí, dependiendo de la proteína Nesprina/KASH particular, interactúan directa o indirectamente con las 3 redes de proteínas del citoesqueleto (microtúbulos, microfilamentos de actina y filamentos intermedios) [H. F. Horn, *Current topics in developmental biology* 109: 287-321 (2014)]. En conjunto, las proteínas SUN y KASH/Nesprina del complejo LINC establecen una conexión física directa entre las redes del citoesqueleto citoplasmático (y sus conexiones, por ejemplo, los complejos de adhesión celular en la membrana celular) y el interior nuclear de la interfase o nucleoplasma. Se cree que el complejo LINC media la transmisión de fuerza entre el núcleo y el citoesqueleto y, en consecuencia, regula los cambios en la expresión génica/organización de la cromatina en respuesta a estímulos mecánicos/físicos [S. G. Alam *et al.*, Scientific reports 6: 38063 (2016)]. Aunque la pérdida de SUN1 o SUN2 por sí sola no tiene un efecto manifiesto sobre el crecimiento y la viabilidad después del nacimiento, los ratones nulos en SUN1 son infértiles y sordos. La pérdida simultánea de *Sun1* y *Sun2* da como resultado letalidad perinatal, indicando un grado de redundancia durante la embriogénesis [K. Lei *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 10207-10212 (2009)].

Lombardi *et al.*, *J Biol Chem* (2011) 286(30): 26743-26753, Crisp *et al. J Cell Biol* (2006) 172(1): 41-53, Zhou *et al. Human Molecular Genetics* (2017) 26 (12): 2258-2276 y Razafsky and Hodzic, *Genesis* (2014) 52(4): 359-365 desvelan versiones dominantes negativas de las proteínas Nesprina y SUN. Chen *et al.*, *Cell* (2012) 149(3): 565-577 publica que modelos en ratones *Lmna*-/- y *LmnaΔ9* de enfermedad asociada a mutación de *LMNA* se caracterizan por la acumulación de proteína Sun1, y que la inactivación de *Sun1* mejora la patología en dichos modelos.

Existe la necesidad de desarrollar métodos alternativos para mejorar los efectos negativos que tiene la sobreacumulación de Sun1 sobre las células que portan mutaciones de *Lmna*. La presente divulgación tiene como objetivo proporcionar un método de este tipo.

Sumario de la invención

Sorprendentemente, los inventores han descubierto que la alteración del complejo LINC en lugar de la eliminación de la proteína Sun1 acumulada puede mejorar las enfermedades provocadas por una o más mutaciones de *Lmna*. Una forma de lograr la alteración es a través de un vector/construcción de expresión que comprende un transgén unido operativamente, cuya expresión genera proteína de dominio SUN dominante negativo o proteína de dominio SUN endógeno mutado y/o proteína de dominio KASH dominante negativo o proteína de dominio KASH endógeno mutado. El dominio SUN dominante negativo exógeno y las proteínas del dominio KASH actúan como competidores de unión al complejo LINC, desacoplando de este modo el núcleo de su unión con el citoesqueleto. Las proteínas de dominio SUN y de dominio KASH mutadas son proteínas Sun y Nesprina endógenas que se han mutado en el dominio SUN o KASH, respectivamente, y no pueden formar un complejo LINC porque no pueden unirse a su compañero de complejo LINC afín. Estas estrategias pueden usarse para alterar el complejo LINC para tratar, por ejemplo, laminopatías. El resultado se logró sin reducir activamente los niveles de proteína SUN1 endógena. Los resultados que se muestran en el presente documento respaldan estas reivindicaciones.

La presente invención se define en las reivindicaciones.

De acuerdo con un primer aspecto de la presente divulgación, se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada, en donde la molécula de ácido nucleico comprende un vector de expresión y un transgén, por lo que el transgén se une operativamente al vector de expresión, en donde la expresión del transgén en una célula transfectada da como resultado la alteración de un complejo LINC en la célula transfectada.

En algunas realizaciones, el vector de expresión es un vector de expresión cardíaco o específico de cardiomiocitos.

En algunas realizaciones, el vector de expresión comprende un promotor cardíaco o específico de cardiomiocitos seleccionado del grupo que comprende un promotor de troponina T cardíaca (cTnT), un promotor de cadena pesada de α-miosina (α-MHC) y un promotor de cadena ligera de miosina (MLC2v). Preferentemente, el promotor es el promotor de troponina T cardíaca (cTnT).

En algunas realizaciones, el promotor específico de cardiomiocitos es el promotor de troponina T cardíaca de pollo (cTnT).

En algunas realizaciones, el vector de expresión tiene tropismo cardíaco/es cardiotrópico.

En algunas realizaciones, el vector de expresión es un vector de expresión vírico.

En algunas realizaciones, el vector de expresión vírico se selecciona del grupo que comprende Lentivirus, Adenovirus y virus adenoasociados (AAV, por sus siglas en inglés). Preferentemente, el vector de expresión vírico es un virus adenoasociado (AAV).

En algunas realizaciones, el vector de AAV se selecciona del grupo que consiste en AAV9 (serotipo 9), AAV1 (serotipo 1), AAV6 (serotipo 6), AAV8 (serotipo 8), AAV2i8 y AAV9.45.

En algunas realizaciones, el vector AAV es AAV9 (serotipo 9).

En algunas realizaciones, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un dominio luminal de una proteína que contiene el dominio SUN, una secuencia señal N-terminal, un sitio de escisión de peptidasa señal y una secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal.

En algunas realizaciones, el dominio luminal de la proteína que contiene el dominio SUN comprende un dominio de superenrollamiento y un dominio SUN.

En una realización preferida, el dominio de superenrollamiento está corriente arriba del dominio SUN.

En algunas realizaciones, el transgén comprende además secuencias de ácido nucleico para expresar una secuencia señal N-terminal, un sitio de escisión de peptidasa señal y una secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal.

En algunas realizaciones, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar una secuencia señal N-terminal, un sitio de escisión de peptidasa señal y una secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal y el dominio luminal de la proteína que contiene el dominio SUN o el dominio SUN.

Preferentemente, la proteína de dominio SUN es SUN1 o SUN2.

En algunas realizaciones, el dominio luminal de Sun1 comprende los aminoácidos 458-913 de Sun1 de ratón de longitud completa (Uniprot: Q9D666) o su equivalente humano que comprende el dominio de superenrollamiento y el dominio SUN y que carece del dominio transmembrana. En la Figura 7 se muestra un esquema de la estructura de una forma dominante negativa de Sun1.

Para las construcciones de dominio SUN, se espera que el dominio SUN solo (estructura cristalina resuelta por los laboratorios de Kutay y Schwartz [Sosa *et al.*, *Cell* 149(5):1035-47 (2012)], en lugar del dominio luminal completo (dominio de superenrollamiento y dominio SUN) es suficiente para alterar la interacción SUN-KASH, ya que es capaz de unirse al dominio KASH. La secuencia de ácido nucleico del dominio de SUN Sun1 humano se expone en SEQ ID NO: 80. Sin embargo, la presencia de la secuencia señal y la secuencia KDEL son importantes para dirigir la construcción al espacio perinuclear.

En algunas realizaciones, la secuencia señal N-terminal deriva de una proteína secretora o una proteína transmembrana de Tipo I.

Preferentemente, la proteína secretora o proteína transmembrana de Tipo I se selecciona del grupo que consiste en albúmina sérica humana, proinsulina, receptor de transferrina, receptor de EGF, pre-pro-opiomelanocortina, enzimas

digestivas pancreáticas (por ejemplo, proteasas, amilasas y lipasas), proteínas luminales del retículo endoplásmico, por ejemplo, isomerasas de disulfuro de proteína, GRP94 y combinaciones de los mismos. Más preferentemente, la secuencia señal N-terminal deriva de la albúmina sérica humana.

En algunas realizaciones, la secuencia señal N-terminal no está precedida en su extremo N por ningún otro marcador.

En algunas realizaciones, el sitio de escisión de peptidasa señal es un sitio de escisión de peptidasa señal derivado de o es uno del grupo que consiste en albúmina sérica humana, proinsulina, receptor de transferrina, receptor de EGF, pre-pro-opiomelanocortina, enzimas digestivas pancreáticas (por ejemplo, proteasas, amilasas y lipasas), proteínas de la luz del retículo endoplásmico, tales como proteínas disulfuro isomerasas, GRP94 y combinaciones de los mismos. Preferentemente, el sitio de escisión de peptidasa señal es un sitio de escisión de peptidasa señal derivado de la albúmina sérica humana.

En algunas realizaciones, la secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal evita la secreción de un péptido expresado a partir del transgén de acuerdo con cualquier aspecto de la presente divulgación.

En algunas realizaciones, la secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal es una secuencia de recuperación de Golgi del tetrapéptido KDEL. Los ejemplos de dichas estructuras se muestran en las Figuras 11 y 12.

En algunas realizaciones, el transgén comprende una secuencia de ácido nucleico de Sun1DN humanizado o una secuencia de ácido nucleico de Sun2DN humanizado. En una realización preferida, el transgén comprende una secuencia señal, una secuencia de ácido nucleico de Sun1DN humanizado y una secuencia de KDEL como se expone en SEQ ID NO: 4; o el transgén comprende una secuencia señal, una secuencia de ácido nucleico de Sun2DN humanizado y una secuencia de KDEL como se expone en SEQ ID NO: 5.

En algunas realizaciones, el transgén comprende además un marcador de epítopo. Preferentemente, el marcador de epítopo es N-terminal, o está ubicado en cualquier lugar de la molécula de ácido nucleico, excepto en dirección 3' (después) de la secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal [por ejemplo, KDEL], o está ubicada en cualquier lugar de la molécula de ácido nucleico, excepto en dirección 5' (antes) de la secuencia señal N-terminal.

En algunas realizaciones, el marcador de epítopo se selecciona del grupo que consiste en dominio de unión a celulosa (CBD), cloranfenicol acetil transferasa (CAT), dihidrofolato reductasa (DHFR), uno o más marcadores FLAG, glutatión S-transferasa (GST), proteína verde fluorescente (GFP), hemaglutinina A (HA), histidina (His), virus del herpes simple (VHS), luciferasa, proteína de unión a maltosa (MBP), c-Myc, Proteína A, Proteína G, estreptavidina, T7, tiorredoxina, V5, glucoproteína del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G), y combinaciones de los mismos. Preferentemente, el marcador de epítopo es la hemaglutinina A (HA).

En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico de la presente divulgación comprende un vector de virus adenoasociado (AAV) que comprende un promotor de troponina T cardíaca de pollo (cTnT), un transgén de acuerdo con cualquier aspecto de la presente divulgación que comprende el dominio luminal de la proteína que contiene el dominio SUN derivada de SUN1, una secuencia señal N-terminal y un sitio de escisión de peptidasa señal, cada uno de los cuales deriva de albúmina sérica humana, una secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal que es una secuencia de KDEL, y en donde el transgén opcionalmente comprende además hemaglutinina (HA) como marcador de epítopo N-terminal.

De acuerdo con una realización, un ejemplo de un vector de este tipo se muestra en la Figura 10 y comprende la secuencia de ácido nucleico expuesta en SEQ ID NO: 3.

En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico de la presente divulgación comprende un vector de virus adenoasociado (AAV) que comprende un promotor de troponina T cardíaca de pollo (cTnT), un transgén de acuerdo con cualquier aspecto de la presente divulgación que comprende el dominio luminal de la proteína que contiene el dominio SUN derivada de SUN2, una secuencia señal N-terminal y un sitio de escisión de peptidasa señal, cada uno de los cuales deriva de albúmina sérica humana, una secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal que es una secuencia de KDEL, y en donde el transgén opcionalmente comprende además hemaglutinina (HA) como el marcador de epítopo N-terminal.

De acuerdo con una realización, una molécula de ácido nucleico de ejemplo comprendería la estructura de vector que se muestra en la Figura 10 y la secuencia de ácido nucleico del transgén expuesta en SEQ ID NO: 5.

En lugar de expresar componentes de un dominio luminal de una proteína que contiene dominio SUN, puede expresarse un dominio KASH para alterar un complejo LING compitiendo con Nesprinas endógenas (que comprenden un dominio KASH) para unirse a los dominios SUN1 y SUN2.

En consecuencia, en algunas realizaciones de la molécula de ácido nucleico de la presente divulgación, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un dominio KASH y una secuencia polipeptídica estabilizadora N-terminal.

Preferentemente, el dominio KASH comprende un dominio transmembrana y un péptido que interactúa con SUN.

Preferentemente, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un dominio KASH que atraviesa la membrana nuclear externa, un péptido KASH que interactúa con SUN que se prolonga hacia el espacio perinuclear en el extremo C, y una secuencia polipeptídica estabilizadora N-terminal en el citoplasma.

Se entendería que no se espere que funcionen las construcciones del dominio KASH con extensiones después del último aminoácido C-terminal del dominio KASH de origen natural, es decir, marcadores C-terminales, o incluso un único aminoácido carboxiterminal adicional, alterará la interacción de KASH con SUN. Además, una secuencia señal en el extremo N de las construcciones de dominio SUN no puede estar precedida por ningún marcador.

En algunas realizaciones, el dominio KASH se selecciona del grupo que consiste en KASH1 (derivado de Nesprina-1 (gen SYNE1)), KASH2 (derivado de Nesprina-2 (gen SYNE2)), KASH3 (derivado de Nesprina-3 (gen SYNE3)), KASH4 (derivado de Nesprina-4 (gen SYNE4)) y KASH5 (derivado de KASH5/CCDC155 (gen KASH5)).

En realizaciones preferidas, el dominio KASH 1 comprende la secuencia de aminoácidos humana expuesta en SEQ ID NO: 7; el dominio KASH 2 comprende la secuencia de aminoácidos humana expuesta en SEQ ID NO: 9; el dominio KASH 3 comprende la secuencia de aminoácidos humana expuesta en SEQ ID NO: 11; el dominio KASH 4 comprende la secuencia de aminoácidos humana expuesta en SEQ ID NO: 13; y el dominio KASH 5 comprende la secuencia de aminoácidos humana expuesta en SEQ ID NO: 15. En la Figura 14 se muestra una alineación de las cinco secuencias de aminoácidos de KASH.

En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico del dominio KASH tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % de identidad de secuencia o el 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de ácido nucleico del dominio KASH1 expuesta en SEQ ID NO: 6; la secuencia de ácido nucleico del dominio KASH2 expuesta en SEQ ID NO: 8; la secuencia de ácido nucleico del dominio KASH3 expuesta en SEQ ID NO: 10; la secuencia de ácido nucleico del dominio KASH4 expuesta en SEQ ID NO: 12; o la secuencia de ácido nucleico del dominio KASH5 expuesta en SEQ ID NO: 14.

Más preferentemente, con fines de uso clínico, el dominio KASH es el dominio KASH1 humano de SYNE1 que tiene al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % de identidad de secuencia o el 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de ácido nucleico del dominio KASH1 humano expuesta en SEQ ID NO: 6.

Se entendería que debido a la redundancia en el código genético, una secuencia de ácido nucleico puede tener menos del 100 % de identidad y aun así codificar la misma secuencia de aminoácidos.

En algunas realizaciones, el dominio KASH no comprende ninguna prolongación después del último aminoácido C-terminal en comparación con un dominio KASH de origen natural.

En algunas realizaciones, la secuencia polipeptídica estabilizadora N-terminal se selecciona del grupo que consiste en proteína verde fluorescente (GFP), dominio de unión a celulosa (CBD), cloranfenicol acetil transferasa (CAT), dihidrofolato reductasa (DHFR), glutatión S-transferasa (GST), luciferasa, proteína de unión a maltosa (MBP), Proteína A, Proteína G, estreptavidina, tiorredoxina, DHFR, incluyendo múltiples y combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la secuencia polipeptídica estabilizadora N-terminal forma un dominio discretamente plegado.

En algunas realizaciones, el vector es el vector de virus adenoasociado (AAV) que comprende un promotor de troponina T cardíaca (cTnT), y el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un dominio KASH y una secuencia polipeptídica estabilizadora N-terminal, en donde el dominio KASH se selecciona del grupo que comprende KASH1, KASH2, KASH3, KASH4 y KASH5.

En algunas realizaciones, la secuencia polipeptídica estabilizadora N-terminal es proteína verde fluorescente (GFP).

En lugar de expresar componentes de un dominio luminal de una proteína que contiene dominio SUN o un dominio KASH para alterar un complejo LING compitiendo por la unión con Nesprinas endógenas (que comprenden un dominio KASH) o Sun1 y Sun2 (que comprenden un dominio SUN), otro enfoque para alterar el complejo LING es modificar el dominio SUN endógeno o el dominio KASH de manera que no se una o tenga una capacidad de unión reducida para su compañero de unión a complejo LING afín.

Como tanto el dominio SUN como el dominio KASH están ubicados en los extremos C de sus respectivas proteínas, una forma de producir un dominio SUN o KASH modificado es usar un sistema CRISPR/Cas para modificar los genes que codifican las proteínas de dominio SUN o KASH para generar un codón de parada prematuro en el extremo 3' de las secuencias proteínicas respectivas después de la unión de extremos no homólogos inducida por CRISPR. Esto

daría como resultado una proteína truncada con su dominio C-terminal SUN o KASH mutado. La proteína truncada se expresaría y se localizaría en la membrana, pero sería incapaz de interactuar con sus compañeros de complejo LING afines.

En consecuencia, en algunas realizaciones de la molécula de ácido nucleico de la presente divulgación, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un CRISPR-Cas u otro sistema de nucleasa sintética para modificar el ácido nucleico que codifica el dominio SUN o el dominio KASH de la proteína Sun o Nesprin endógena, respectivamente.

Los datos que se muestran en el presente documento (Ejemplo 6) sugieren que la modificación del dominio SUN2 o el dominio KASH2 no mejora la patología de Lmna.

En algunas realizaciones, CRISPR-Cas modifica el dominio SUN endógeno o el dominio KASH de la proteína Sun1 o Nesprina-1, respectivamente, para alterar un complejo LINC. Los ácidos nucleicos respectivos son Sun1 y Syne1.

En algunas realizaciones, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un CRISPR-Cas con una secuencia de ácido nucleico de ARNg que comprende 5'-GCACAATAGCCTCGGATGTCG-3' (SEQ ID NO: 66) para modificar el dominio SUN del ratón Sun1.

En algunas realizaciones, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un CRISPR-Cas con una secuencia de ácido nucleico de ARNg dirigida al dominio SUN1 humano expuesta en SEQ ID NO: 80. Preferentemente, la secuencia de ácido nucleico de ARNg se dirige al extremo del exón 20 que comprende una secuencia de ácido nucleico expuesta en SEQ ID NO: 81. Más preferentemente, la secuencia de ácido nucleico de ARNg se dirige a una secuencia de ácido nucleico de SUN1 seleccionada del grupo que comprende SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 56; SEQ ID NO: 57; SEQ ID NO: 58; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60; SEQ ID NO: 61; SEQ ID NO: 62; SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 65 expuesta en la Tabla 3.

En algunas realizaciones, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un CRISPR-Cas con una secuencia de ácido nucleico de ARNg que comprende 5'-CCGTTGGTATATCTGAGCAT-3' (SEQ ID NO: 34) para modificar el dominio KASH del ratón Syne-1.

En algunas realizaciones, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un CRISPR-Cas con una secuencia de ácido nucleico de ARNg dirigida al dominio KASH humano expuesta en SEQ ID NO: 6. Preferentemente, la secuencia de ácido nucleico de ARNg comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que comprende SEQ ID NO: 44; SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 46; SEQ ID NO: 47; SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 49; SEQ ID NO: 50; SEQ ID NO: 51; SEQ ID NO: 52; SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 54 expuesta en la Tabla 3.

En algunas realizaciones, el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar un CRISPR-Cas9 o una variante del mismo.

En realizaciones preferidas, el transgén es una construcción dominante negativa.

En algunas realizaciones, el transgén es un transgén humanizado.

En algunas realizaciones, la expresión del transgén da como resultado la alteración de la interacción proteína-proteína entre los dominios SUN y KASH del complejo LINC. Preferentemente, la alteración de la interacción proteína-proteína entre SUN y KASH del complejo LINC se produce entre las interacciones de proteínas seleccionadas del grupo que consiste en Sun1+Nesprina-1, Sun2+Nesprina-1, Sun1+Nesprina-2, Sun1+Nesprina-3, Sun2+Nesprina-2 y Sun2+Nesprina-3. Más preferentemente, la alteración de la interacción proteína-proteína entre SUN y KASH del complejo LINC se produce entre las interacciones de proteínas de Sun1 y Nesprina-1.

En algunas realizaciones, el vector AAV se formula para su suministro en el miocardio de un sujeto.

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente divulgación, se proporciona una molécula de ácido nucleico de cualquier realización de la presente divulgación para su uso en el tratamiento de una enfermedad provocada por una o más mutaciones de *Lmna* en un sujeto.

En algunas realizaciones del segundo aspecto, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en dermopatía restrictiva, lipodistrofia parcial familiar (por ejemplo, de tipo Dunnigan), displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A, síndrome metabólico, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1 y enfermedades presentadas en letra normal en la Tabla 1.

Tabla 1

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17811	c.1771T>A	Sustitución	p.Cys591Ser	Sustitución	Cola	-	Acrogeria, Tipo Gottron	201200	#
18255	c.418_438dupCTGCTGAACTCCAAGGAGGCC	Duplicación	p.Leu140 Ala146dup	Duplicación	1B	-	Miocardiopatía arritmogénica	-	-
17439	c.1039G>A	Sustitución	p.Glu347Lys	Sustitución	2B	ARVD7	Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho	609160	%
18492	c.1930C>T	Sustitución	p.Arg644Cys	Sustitución	Cola	ARVD7	Miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho	609160	%
9157	c.1718C>T	Sustitución	p.Ser573Leu	Sustitución	Cola	-	Síndrome de artropatía, autosómico recesivo	-	-
18299	c.1494G>A	Sustitución	p.Trp498X	Sustitución	Cola	FA	Fibrilación auricular	-	-
18301	c.175C>G	Sustitución	p.Leu59Val	Sustitución	1A	SPA	Síndrome de progeria atípica	-	-
8885	c.169G>C	Sustitución	p.Ala57Pro	Sustitución	1A	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#
8886	c.398G>T	Sustitución	p.Arg133Leu	Sustitución	1B	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#
11462	c.398G>T	Sustitución	p.Arg133Leu	Sustitución	1B	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#
9232	c.398G>T	Sustitución	p.Arg133Leu	Sustitución	1B	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#
11509	c.398G>T	Sustitución	p.Arg133Leu	Sustitución	1B	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#
11670	c.398G>T	Sustitución	p.Arg133Leu	Sustitución	1B	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#
8888	c.419T>G	Sustitución	p.Leu140Arg	Sustitución	1B	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#
13457	c.506delT	Supresión	p.Val169GlyfsX7	Desplazamiento del marco	1B	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#
13350	c.898G>A	Sustitución	p.Asp300Asn	Sustitución	2B	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#
17875	c.898G>A	Sustitución	p.Asp300Asn	Sustitución	2B	WRN	Síndrome de Werner atípico	277700	#

ES 2 953 614 T3

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11767	**c.1130G>T**	**Sustitución**	**p.Arg377Leu**	**Sustitución**	**2B**	**AME-AD**	**Distrofia muscular espinal autosómica dominante**	**182980**	**#**
11766	**c.1477C>T**	**Sustitución**	**p.Gln493X**	**Sustitución**	**Cola**	**AME-AD**	**Distrofia muscular espinal autosómica dominante**	**182980**	**#**
9205	**¿c.?**	**Desconocido**	**p.Glu33Asp**	**Sustitución**	**1A**	**-**	**Neuropatía axonal, distrofia muscular, cardiopatía**	**-**	**-**
8994	**c.99G>T**	**Sustitución**	**p.Glu33Asp**	**Sustitución**	**1A**	**-**	**Neuropatía axonal, distrofia muscular, cardiopatía, leuconiquia**	**-**	**-**
12416	**c.1621C>T**	**Sustitución**	**p.Arg541Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**-**	**Arritmia cardíaca**	**-**	**-**
12399	**c.673C>T**	**Sustitución**	**p.Arg225X**	**Sustitución**	**L12**	**DCC**	**Defecto de conducción cardíaca**	**115080**	**#**
17808	**c.695G>T**	**Sustitución**	**p.Gly232Val**	**Sustitución**	**L12**	**DCC**	**Defecto de conducción cardíaca**	**115080**	**#**
13449	**c.799T>C**	**Sustitución**	**p.Tyr267His**	**Sustitución**	**2B**	**DCC**	**Defecto de conducción cardíaca**	**115080**	**#**
14260	**c.178C>G**	**Sustitución**	**p.Arg60Gly**	**Sustitución**	**1A**	**-**	**Miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia**	**-**	**-**
14256	**c.184C>G**	**Sustitución**	**p.Arg62Gly**	**Sustitución**	**1A**	**-**	**Miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia**	**-**	**-**
14018	**c.497G>C**	**Sustitución**	**p.Arg166Pro**	**Sustitución**	**1B**	**-**	**Miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia**	**-**	**-**
14258	**c.575A>T**	**Sustitución**	**p.Asp192Val**	**Sustitución**	**1B**	**-**	**Miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia**	**-**	**-**
14007	**c.673C>T**	**Sustitución**	**p.Arg225X**	**Sustitución**	**L12**	**-**	**Miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia**	**-**	**-**
14015	**c.775T>C**	**Sustitución**	**p.Tyr259His**	**Sustitución**	**L2**	**-**	**Miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia**	**-**	**-**
14016	**c.775T>C**	**Sustitución**	**p.Tyr259His**	**Sustitución**	**L2**	**-**	**Miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia**	**-**	**-**

ES 2 953 614 T3

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
14011	c.815_818delACAAinsCCAGAC	Indel	p.Asp272AlafsX208	Desplazamiento del marco	2B	-	Miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia	-	-
14012	c.815_818delACAAinsCCAGAC	Indel	p.Asp272AlafsX208	Desplazamiento del marco	2B	-	Miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia	-	-
11652	c.-3_12delGCCATGGAGACCCCG	Supresión	p.Met1_Pro4del	Supresión	Cabeza	CMT2	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2	118210	#
13374	c.1496_1496delC	Supresión	p.Ala499ValfsX141	Desplazamiento del marco	Cola	CMT2	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2	118210	#
17199	c.1910T>C	Sustitución	p.Phe637Ser	Sustitución	Cola	CMT2	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2	118210	#
8840	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
11415	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
11416	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
8997	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
11840	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
11839	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
11838	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
11837	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
12087	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
13414	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
13415	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
13416	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#
13417	c.892C>T	Sustitución	p.Arg298Cys	Sustitución	2B	CMT2B1	Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1	605588	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
13418	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13419	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13420	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13421	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13422	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13423	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13424	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13425	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13426	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13427	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13428	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13429	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13430	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13431	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13432	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13433	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13434	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13435	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13436	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**
13437	**c.892C>T**	**Sustitución**	**p.Arg298Cys**	**Sustitución**	**2B**	**CMT2B1**	**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1**	**605588**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17886	**c.80C>T**	**Sustitución**	**p.Thr27Ile**	**Sustitución**	**Cabeza**	**MDTFC**	**Desproporción de tipo fibroso congénita**	**255310**	**#**
18472	**c.907T>C**	**Sustitución**	**p.Ser303Pro**	**Sustitución**	**2B**	**MDTFC**	**Desproporción de tipo fibroso congénita**	**255310**	**#**
18473	**c.907T>C**	**Sustitución**	**p.Ser303Pro**	**Sustitución**	**2B**	**MDTFC**	**Desproporción de tipo fibroso congénita**	**255310**	**#**
18474	**c.907T>C**	**Sustitución**	**p.Ser303Pro**	**Sustitución**	**2B**	**MDTFC**	**Desproporción de tipo fibroso congénita**	**255310**	**#**
18475	**c.907T>C**	**Sustitución**	**p.Ser303Pro**	**Sustitución**	**2B**	**MDTFC**	**Desproporción de tipo fibroso congénita**	**255310**	**#**
18144	**c.91G>A**	**Sustitución**	**p.Glu31Lys**	**Sustitución**	**Cabeza**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
18148	**c.91_93delGAG**	**Supresión**	**p.Glu31X**	**Sustitución**	**Cabeza**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
17813	**c.93G>C**	**Sustitución**	**p.Glu31Asp**	**Sustitución**	**Cabeza**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
18146	**c.94_96delAAG**	**Supresión**	**p.Lys32X**	**Sustitución**	**1A**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
16402	**c.104T>C**	**Sustitución**	**p.Leu35Pro**	**Sustitución**	**1A**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
16287	**c.115A>T**	**Sustitución**	**p.Asn39Tyr**	**Sustitución**	**1A**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
18150	**c.117T>G**	**Sustitución**	**p.Asn39Lys**	**Sustitución**	**1A**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
18153	**c.143G>C**	**Sustitución**	**p.Arg48Pro**	**Sustitución**	**1A**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
18156	**c.422T>C**	**Sustitución**	**p.Leu141Pro**	**Sustitución**	**1B**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
13462	**c.745C>T**	**Sustitución**	**p.Arg249Trp**	**Sustitución**	**2A**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
16404	**c.745C>T**	**Sustitución**	**p.Arg249Trp**	**Sustitución**	**2A**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
17758	**c.745C>T**	**Sustitución**	**p.Arg249Trp**	**Sustitución**	**2A**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
18158	**c.745C>T**	**Sustitución**	**p.Arg249Trp**	**Sustitución**	**2A**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
11816	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**
18161	**c.1117A>G**	**Sustitución**	**p.Ile373Val**	**Sustitución**	**2B**	**DMC**	**Distrofia muscular congénita**	**-**	**-**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
18166	c.1118T>A	Sustitución	p.Ile373Asn	Sustitución	2B	DMC	Distrofia muscular congénita	-	-
13460	c.1139T>C	Sustitución	p.Leu380Ser	Sustitución	2B	DMC	Distrofia muscular congénita	-	-
18169	c.1147G>A	Sustitución	p.Glu383Lys	Sustitución	2B	DMC	Distrofia muscular congénita	-	-
18171	c.1147G>A	Sustitución	p.Glu383Lys	Sustitución	2B	DMC	Distrofia muscular congénita	-	-
18163	c.1151A>G	Sustitución	p.Glu384Gly	Sustitución	2B	DMC	Distrofia muscular congénita	-	-
11817	c.1162C>T	Sustitución	p.Arg388Cys	Sustitución	Cola	DMC	Distrofia muscular congénita	-	-
17473	c.1330_1338dupGAGGTGGAT	Duplicación	p.Glu444_Asp446dup	Duplicación	Cola	DMC	Distrofia muscular congénita	-	-
11818	c.1368_1370delCAA	Supresión	p.Asn456del	Supresión	Cola	DMC	Distrofia muscular congénita	-	-
18238	c.1489-14_1489-7delTTTCTCCT	Supresión	¿P?	Desconocido	Desconocido	DMC	Distrofia muscular congénita	-	-
16951	c.1445G>A	Sustitución	p.Arg482Gln	Sustitución	Cola	T2D	DIABETES MELLITUS, NO INSULINO DEPENDIENTE; DMNID	125853	#
13171	¿c.?	Desconocido	p.Lys260Asn	Sustitución	L2	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
8832	c.16C>T	Sustitución	p.Gln6X	Sustitución	Cabeza	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9397	c.28_29insA	Inserción	p.Thr10AsnfsX31	Desplazamiento del marco	Cabeza	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11627	c.31delC	Supresión	p.Arg11AlafsX85	Desplazamiento del marco	Cabeza	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14254	c.73C>G	Sustitución	p.Arg25Gly	Sustitución	Cabeza	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13155	c.82C>T	Sustitución	p.Arg28Trp	Sustitución	Cabeza	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13563	c.155T>C	Sustitución	p.Leu52Pro	Sustitución	1A	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13379	c.176T>G	Sustitución	p.Leu59Arg	Sustitución	1A	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13378	c.176T>G	Sustitución	p.Leu59Arg	Sustitución	1A	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
8748	**c.178C>G**	**Sustitución**	**p.Arg60Gly**	**Sustitución**	**1A**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13192	**c.203_208delAGGTGG**	**Supresión**	**p.Glu68_Val69del**	**Supresión**	**1A**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17742	**c.232G>A**	**Sustitución**	**p.Lys78Glu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9163	**c.244G>A**	**Sustitución**	**p.Glu82Lys**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16139	**c.244G>A**	**Sustitución**	**p.Glu82Lys**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8749	**c.254T>G**	**Sustitución**	**p.Leu85Arg**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8865	**c.266G>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Leu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11618	**c.266G>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Leu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13080	**c.266G>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Leu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13157	**c.266G>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Leu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
14030	**c.266G>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Leu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16966	**c.266G>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Leu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17777	**c.266G>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Leu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13613	**c.274C>T**	**Sustitución**	**p.Leu92Phe**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8844	**c.289A>G**	**Sustitución**	**p.Lys97Glu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11620	**c.289A>G**	**Sustitución**	**p.Lys97Glu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13159	**c.289A>G**	**Sustitución**	**p.Lys97Glu**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13082	**c.302G>C**	**Sustitución**	**p.Arg101Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16954	**c.302G>C**	**Sustitución**	**p.Arg101Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8843	**c.331G>T**	**Sustitución**	**p.Glu111X**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11619	**c.331G>T**	**Sustitución**	**p.Glu111X**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13199	**c.331G>T**	**Sustitución**	**p.Glu111X**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16935	**c.348_349insG**	**Inserción**	**p.Lys117GlufsX10**	**Desplazamiento del marco**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13089	**c.357-1 G>T**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9148	**c.394G>C**	**Sustitución**	**p.Ala132Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17029	**c.394G>C**	**Sustitución**	**p.Ala132Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17028	**c.394G>C**	**Sustitución**	**p.Ala132Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9297	**c.425_426insGGCACTGGAGGCTCTGCTGAA**	**Inserción**	**p.Leu141_Asn142insLysAspLeuAspAlaLeuLeu**	**Inserción**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9010	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11473	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11474	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11475	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11476	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11477	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9150	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16162	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16163	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16164	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16165	**c.427T>C**	**Sustitución**	**p.Ser143Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17038	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17037	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17036	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17024	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17022	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17021	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17020	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17019	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17018	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17023	c.427T>C	Sustitución	p.Ser143Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17661	c.448A>T	Sustitución	p.Thr150Ser	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
8879	c.481G>A	Sustitución	p.Glu161Lys	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13161	c.481G>A	Sustitución	p.Glu161Lys	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13162	c.481G>A	Sustitución	p.Glu161Lys	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13163	c.481G>A	Sustitución	p.Glu161Lys	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13328	c.481G>A	Sustitución	p.Glu161Lys	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13617	c.481G>A	Sustitución	p.Glu161Lys	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13091	c.497G>C	Sustitución	p.Arg166Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
16968	c.497G>C	Sustitución	p.Arg166Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
16969	c.497G>C	Sustitución	p.Arg166Pro	Sustitución	1B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
13165	**c.548T>C**	**Sustitución**	**p.Leu183Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
18267	**c.563T>G**	**Sustitución**	**p.Leu188Arg**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16160	**c.565C>T**	**Sustitución**	**p.Arg189Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8845	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9011	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11507	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9149	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11621	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11782	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11790	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13167	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16167	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17034	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17033	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17032	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17031	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13093	**c.569G>A**	**Sustitución**	**p.Arg190Gln**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13330	**c.569G>A**	**Sustitución**	**p.Arg190Gln**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16976	**c.569G>A**	**Sustitución**	**p.Arg190Gln**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9165	**c.575A>G**	**Sustitución**	**p.Asp192Gly**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
14200	**c.575A>G**	**Sustitución**	**p.Asp192Gly**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8750	**c.585C>G**	**Sustitución**	**p.Asn195Lys**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
12393	**c.585OA**	**Sustitución**	**p.Asn195Lys**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11668	**c.607G>A**	**Sustitución**	**p.Glu203Lys**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16978	**c.607G>A**	**Sustitución**	**p.Glu203Lys**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8751	**c.608A>G**	**Sustitución**	**p.Glu203Gly**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13332	**c.608A>T**	**Sustitución**	**p.Glu203Val**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13095	**c.629T>G**	**Sustitución**	**p.Ile210Ser**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16971	**c.629T>G**	**Sustitución**	**p.Ile210Ser**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8901	**c.640-10A>G**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8864	**c.644T>C**	**Sustitución**	**p.Leu215Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16980	**c.644T>C**	**Sustitución**	**p.Leu215Pro**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13169	**c.656A>C**	**Sustitución**	**p.Lys219Thr**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13335	**c.656A>C**	**Sustitución**	**p.Lys219Thr**	**Sustitución**	**1B**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11669	**c.673C>T**	**Sustitución**	**p.Arg225X**	**Sustitución**	**L12**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17607	**c.673C>T**	**Sustitución**	**p.Arg225X**	**Sustitución**	**L12**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17609	**c.673C>T**	**Sustitución**	**p.Arg225X**	**Sustitución**	**L12**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13097	**c.700C>T**	**Sustitución**	**p.Gln234X**	**Sustitución**	**L12**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13201	**c.736C>T**	**Sustitución**	**p.Gln246X**	**Sustitución**	**2A**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17786	**c.736C>T**	**Sustitución**	**p.Gln246X**	**Sustitución**	**2A**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17779	c.767T>G	Sustitución	p.Val256Gly	Sustitución	2A	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11809	c.800A>G	Sustitución	p.Tyr267Cys	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13173	c.800A>G	Sustitución	p.Tyr267Cys	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11810	c.855delG	Supresión	p.Ala287LeufsX191	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11613	c.908_909delCT	Supresión	p.Ser303CysfsX26	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
12384	c.908_909delCT	Supresión	p.Ser303CysfsX26	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13206	c.936+1G>T	Sustitución	¿P?	Desconocido	Desconocido	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
16805	c.937-11OG	Sustitución	p.Leu313GlyfsX31	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
8846	c.949G>A	Sustitución	p.Glu317Lys	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11617	c.949G>A	Sustitución	p.Glu317Lys	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13175	c.949G>A	Sustitución	p.Glu317Lys	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13176	c.949G>A	Sustitución	p.Glu317Lys	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13621	c.949G>A	Sustitución	p.Glu317Lys	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13100	c.952G>A	Sustitución	p.Ala318Thr	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
16956	c.952G>A	Sustitución	p.Ala318Thr	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11700	c.959delT	Supresión	p.Leu320fsX160	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9409	c.959delT	Supresión	p.Leu320fsX160	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9391	c.959delT	Supresión	p.Leu320fsX160	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14032	c.959delT	Supresión	p.Leu320fsX160	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
12389	c.961C>T	Sustitución	p.Arg321X	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
14077	c.961C>T	Sustitución	p.Arg321X	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14093	c.961C>T	Sustitución	p.Arg321X	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17737	c.961C>T	Sustitución	p.Arg321X	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17738	c.961C>T	Sustitución	p.Arg321X	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9155	c.976T>A	Sustitución	p.Ser326Thr	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11760	c.[992G>A; =]+[=; 1039G>A]	Sustitución	p.[Arg331Glu; =]+[=; Glu347Lys]	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11811	c.992G>C	Sustitución	p.Arg331Pro	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14075	c.992G>A	Sustitución	p.Arg331Gln	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17477	c.1003C>T	Sustitución	p.Arg335Trp	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
18486	c.1039G>A	Sustitución	p.Glu347Lys	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9012	c.1046G>T	Sustitución	p.Arg349Leu	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13561	c.1048G>C	Sustitución	p.Ala350Pro	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14204	c.1057C>A	Sustitución	p.Gln353Lys	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14072	c.1063C>T	Sustitución	p.Gln355X	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17475	c.1070A>C	Sustitución	p.Asp357Ala	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13116	c.1072G>T	Sustitución	p.Glu358X	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9152	c.1085_1085delT	Supresión	p.Leu363TrpfsX117	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17026	c.1085_1085delT	Supresión	p.Leu362TrpfsX117	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
16157	c.1102_1130dupGCCCTGGACATGGAGATCCACGCCTACCG	Duplicación	p.Lys378ProfsX112	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
13102	c.1114delG	Supresión	p.Glu372ArgfsX107	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
8866	c.1130G>A	Sustitución	p.Arg377His	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
8869	c.1130G>A	Sustitución	p.Arg377His	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
8880	c.1130G>A	Sustitución	p.Arg377His	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9160	c.1130G>A	Sustitución	p.Arg377His	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9162	c.1130G>A	Sustitución	p.Arg377His	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
12330	c.1130G>A	Sustitución	p.Arg377His	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13178	c.1130G>T	Sustitución	p.Arg377Leu	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13623	c.1130G>A	Sustitución	p.Arg377His	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14034	c.1130G>A	Sustitución	p.Arg377His	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17664	c.1150G>T	Sustitución	p.Glu384X	Sustitución	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17482	c.1157+1G>T	Sustitución	p.Arg386SerfsX21	Desplazamiento del marco	2B	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13104	c.1163G>A	Sustitución	p.Arg388His	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
16958	c.1163G>A	Sustitución	p.Arg388His	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13106	c.1195C>T	Sustitución	p.Arg399Cys	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
16960	c.1195C>T	Sustitución	p.Arg399Cys	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17782	c.1197_1240delTGGCCGTGCTTCCTCTCACTCATCCCAGACACAGGGTGGGGGCA	Supresión	p.Gly400ArgfsX11	Desplazamiento del marco	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17789	c.1292C>G	Sustitución	p.Ser431X	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14082	c.1294C>T	Sustitución	p.Gln432X	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
14084	c.1294C>T	Sustitución	p.Gln432X	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14085	c.1294C>T	Sustitución	p.Gln432X	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14086	c.1294C>T	Sustitución	p.Gln432X	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13108	c.1307_1308insGCAC	Inserción	p.Ser437HisfsX1	Desplazamiento del marco	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
16962	c.1307_1308insGCAC	Inserción	p.Ser437HisfsX1	Desplazamiento del marco	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14088	c.1318G>A	Sustitución	p.Val440Met	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14090	c.1318G>A	Sustitución	p.Val440Met	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
14091	c.1318G>A	Sustitución	p.Val440Met	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11812	c.1370delA	Supresión	p.Lys457SerfsX21	Desplazamiento del marco	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
12397	c.1380+1 G>A	Sustitución	¿P?	Desconocido	Desconocido	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9413	c.1397_1397delA	Supresión	p.Asn466IlefsX14	Desplazamiento del marco	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9161	c.1397_1397delA	Supresión	p.Asn466IlefsX14	Desplazamiento del marco	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13110	c.1412G>A	Sustitución	p.Arg471His	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
16973	c.1412G>A	Sustitución	p.Arg471His	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13112	c.1424_1425insAGA	Inserción	p.Gly474_Asp475ins Glu	Inserción	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
11508	c.1443C>G	Sustitución	p.Tyr481X	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17791	c.1443C>G	Sustitución	p.Tyr481X	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
17480	c.1489-1G>T	Sustitución	p.Ile497_Glu536del	Supresión	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
13180	c.1492T>A	Sustitución	p.Trp498Arg	Sustitución	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#
9153	c.1493_1493delG	Supresión	p.Ala499LeufsX47	Desplazamiento del marco	Cola	MCD1A	Miocardiopatía dilatada 1A	115200	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
12395	**c.1512_1513insAG**	**Inserción**	**p.Thr505ArgfsX44**	**Desplazamiento del marco**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17784	**c.1526_1527insC**	**Inserción**	**p.Thr510TyrfsX42**	**Desplazamiento del marco**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17797	**c.1526_1527insA**	**Inserción**	**p.Thr510TyrfsX42**	**Desplazamiento del marco**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17486	**c.1549C>T**	**Sustitución**	**p.Gln517X**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17484	**c.1560G>A**	**Sustitución**	**p.Trp520X**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13625	**c.1567G>A**	**Sustitución**	**p.Gly523Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11624	**c.1579_1580insCTGC**	**Inserción**	**p.Arg527ProfsX26**	**Desplazamiento del marco**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17558	**c.1583C>T**	**Sustitución**	**p.Thr528Met**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9307	**c.1621C>T**	**Sustitución**	**p.Arg541Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9283	**c.1621OA**	**Sustitución**	**p.Arg541Ser**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9151	**c.1621OA**	**Sustitución**	**p.Arg541Ser**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13592	**c.1621C>T**	**Sustitución**	**p.Arg541Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
14202	**c.1621OA**	**Sustitución**	**p.Arg541Ser**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16472	**c.1621OG**	**Sustitución**	**p.Arg541Gly**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17774	**c.1621C>T**	**Sustitución**	**p.Arg541Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17775	**c.1621C>T**	**Sustitución**	**p.Arg541Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13559	**c.1622G>A**	**Sustitución**	**p.Arg541His**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9392	**c.1718C>T**	**Sustitución**	**p.Ser573Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13182	**c.1718C>T**	**Sustitución**	**p.Ser573Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13183	**c.1718C>T**	**Sustitución**	**p.Ser573Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
14038	**c.1718C>T**	**Sustitución**	**p.Ser573Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
17667	**c.1879C>T**	**Sustitución**	**p.Arg624Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13565	**c.1904G>A**	**Sustitución**	**p.Gly635Asp**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
8833	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
9018	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11500	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11501	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11502	**c.1930OA**	**Sustitución**	**p.Arg644His**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13185	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13337	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
14080	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
13114	**c.1960C>T**	**Sustitución**	**p.Arg654X**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
16964	**c.1960C>T**	**Sustitución**	**p.Arg654X**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD1A**	**Miocardiopatía dilatada 1A**	**115200**	**#**
11788	**¿c.?**	**Desconocido**	**p.Tyr481X**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
17886	**c.80C>T**	**Sustitución**	**p.Thr27Ile**	**Sustitución**	**Cabeza**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
13486	**c.106C>T**	**Sustitución**	**p.Gln36X**	**Sustitución**	**1A**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
11792	**c.158A>T**	**Sustitución**	**p.Glu53Val**	**Sustitución**	**1A**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
18301	**c.175OG**	**Sustitución**	**p.Leu59Val**	**Sustitución**	**1A**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
11791	**c.481G>A**	**Sustitución**	**p.Glu161Lys**	**Sustitución**	**1B**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
13204	**c.514-1G>A**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
11793	**c.556G>A**	**Sustitución**	**p.Glu186Lys**	**Sustitución**	**1B**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
11789	**c.568C>T**	**Sustitución**	**p.Arg190Trp**	**Sustitución**	**1B**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
11787	**c.575A>G**	**Sustitución**	**p.Asp192Gly**	**Sustitución**	**1B**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
18470	**c.683A>T**	**Sustitución**	**p.Glu228Val**	**Sustitución**	**L12**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
17868	**c.871G>A**	**Sustitución**	**p.Glu291Lys**	**Sustitución**	**2B**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
17870	**c.949G>A**	**Sustitución**	**p.Glu317Lys**	**Sustitución**	**2B**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
13078	**c.1069G>C**	**Sustitución**	**p.Asp357His**	**Sustitución**	**2B**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
13208	**c.1157+1G>A**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
18490	**c.1412G>A**	**Sustitución**	**p.Arg471His**	**Sustitución**	**Cola**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**
11814	**c.1526_1527insC**	**Inserción**	**p.Thr510TyrfsX42**	**Desplazamiento del marco**	**Cola**	**MCD-DC**	**Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción**	**-**	**-**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
9008	c.1621C>T	Sustitución	p.Arg541Cys	Sustitución	Cola	MCD-DC	Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción	-	-
17578	c.1711OA	Sustitución	P =	Silencioso	No	MCD-DC afectado	Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción	-	-
17880	c.1930C>T	Sustitución	p.Arg644Cys	Sustitución	Cola	MCD-DC	Miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción	-	-
18305	c.1774G>A	Sustitución	p.Gly592Arg	Sustitución	Cola	ADPA	Acroosteólisis distal, poiquilodermia y rigidez articular	-	-
13581	c.1 930C>T	Sustitución	p.Arg644Cys	Sustitución	Cola	-	Neuropatía motora distal	-	-
17813	c.93G>C	Sustitución	p.Glu31Asp	Sustitución	Cabeza	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
9020	c.94_96delAAG	Supresión	p.Lys32del	Supresión	1A	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13476	c.116A>G	Sustitución	p.Asn39Ser	Sustitución	1A	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13466	c.149G>C	Sustitución	p.ArgΔOPro	Sustitución	1A	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13464	c.745C>T	Sustitución	p.Arg249Trp	Sustitución	2A	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13470	c.905T>C	Sustitución	p.Leu302Pro	Sustitución	2B	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13468	c.1072G>A	Sustitución	p.Glu358Lys	Sustitución	2B	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13482	c.1072G>A	Sustitución	p.Glu358Lys	Sustitución	2B	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13484	c.1072G>A	Sustitución	p.Glu358Lys	Sustitución	2B	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13474	c.1358G>C	Sustitución	p.Arg453Pro	Sustitución	Cola	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13472	c.1364G>C	Sustitución	p.Arg455Pro	Sustitución	Cola	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13478	c.1366A>G	Sustitución	p.Asn456Asp	Sustitución	Cola	-	Síndrome de cabeza caída	-	-
13480	c.1381-2A>G	Sustitución	¿P?	Desconocido	Desconocido	-	Síndrome de cabeza caída	-	-

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11652	**c.-3_12delGCCATGGAGACCCCG**	**Supresión**	**p.Met1_Pro4del**	**Supresión**	**Cabeza**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8743	**c.16C>T**	**Sustitución**	**p.Gln6X**	**Sustitución**	**Cabeza**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8796	**c.16C>T**	**Sustitución**	**p.Gln6X**	**Sustitución**	**Cabeza**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11746	**c.31delC**	**Supresión**	**p.Arg11AlafsX85**	**Desplazamiento del marco**	**Cabeza**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9262	**c.73C>G**	**Sustitución**	**p.Arg25Gly**	**Sustitución**	**Cabeza**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9376	**c.74G>C**	**Sustitución**	**p.Arg25Pro**	**Sustitución**	**Cabeza**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9177	**c.94_96delAAG**	**Supresión**	**p.Lys32del**	**Supresión**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8998	**c.94_96delAAG**	**Supresión**	**p.Lys32del**	**Supresión**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9014	**c.94_96delAAG**	**Supresión**	**p.Lys32del**	**Supresión**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13594	**c.98A>G**	**Sustitución**	**p.Glu33Gly**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11747	**c.99G>C**	**Sustitución**	**p.Glu33Asp**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8999	**c.103OG**	**Sustitución**	**p.Leu35Val**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11748	**c.116A>G**	**Sustitución**	**p.Asn39Ser**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
16329	**c.116A>G**	**Sustitución**	**p.Asn39Ser**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18174	**c.116A>G**	**Sustitución**	**p.Asn39Ser**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9377	**c.127G>A**	**Sustitución**	**p.Ala43Thr**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8797	**c.134A>G**	**Sustitución**	**p.Tyr45Cys**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16331	**c.134A>G**	**Sustitución**	**p.Tyr45Cys**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13605	**c.136A>G**	**Sustitución**	**p.Ile46Val**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13545	**c.139G>C**	**Sustitución**	**p.Asp47His**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9378	**c.148C>A**	**Sustitución**	**p.Arg50Ser**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8798	**c.149G>C**	**Sustitución**	**p.Arg50Pro**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8799	**c.188T>G**	**Sustitución**	**p.Ile63Ser**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9175	**c.188T>A**	**Sustitución**	**p.Ile63Asn**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11633	**c.188T>A**	**Sustitución**	**p.Ile63Asn**	**Sustitución**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13192	**c.203_208delAGGTGG**	**Supresión**	**p.Glu68_Val69del**	**Supresión**	**1A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
12477	**c.265C>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Cys**	**Sustitución**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13596	**c.265C>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Cys**	**Sustitución**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
17193	**c.266G>T**	**Sustitución**	**p.Arg89Leu**	**Sustitución**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9410	**c.334_336delGAG**	**Supresión**	**p.Glu112del**	**Supresión**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9000	**c.334_336delGAG**	**Supresión**	**p.Glu112del**	**Supresión**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16291	**c.357C>T**	**Sustitución**	**P =**	**Silencioso**	**No afectado**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
17182	**c.367_369delAAG**	**Supresión**	**p.Lys123del**	**Supresión**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9379	**c.398G>C**	**Sustitución**	**p.Arg133Pro**	**Sustitución**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11632	**c.419T>C**	**Sustitución**	**p.Leu140Pro**	**Sustitución**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9015	**c.428C>T**	**Sustitución**	**p.Ser143Phe**	**Sustitución**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
12609	**c.428C>T**	**Sustitución**	**p.Ser143Phe**	**Sustitución**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8795	**c.448A>C**	**Sustitución**	**p.Thr150Pro**	**Sustitución**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16334	**c.448A>C**	**Sustitución**	**p.Thr150Pro**	**Sustitución**	**1B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
13453	c.485T>C	Sustitución	p.Leu162Pro	Sustitución	1B	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
16396	c.566_567delGGinsCC	Indel	p.Arg189Pro	Sustitución	1B	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
16299	c.568_570dupCGG	Duplicación	p.Arg190dup	Duplicación	1B	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
9380	c.588_596delGCTGCAGAC	Supresión	p.Arg196_Thr199delinsSer	Indel	1B	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
16301	c.618OG	Sustitución	p.Phe206Leu	Sustitución	1B	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
12382	c.625delA	Supresión	p.Asn209ThrfsX271	Desplazamiento del marco	1B	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
8800	c.665A>C	Sustitución	p.His222Pro	Sustitución	L12	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
13547	c.694G>C	Sustitución	p.Gly232Arg	Sustitución	L12	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
8801	c.695G>A	Sustitución	p.Gly232Glu	Sustitución	L12	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
12485	c.695G>A	Sustitución	p.Gly232Glu	Sustitución	L12	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
9001	c.743T>C	Sustitución	p.Leu248Pro	Sustitución	2A	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
16336	c.745C>T	Sustitución	p.Arg249Trp	Sustitución	2A	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#
16337	c.745C>T	Sustitución	p.Arg249Trp	Sustitución	2A	DMED2	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante	181350	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
16338	**c.745C>T**	**Sustitución**	**p.Arg249Trp**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16342	**c.[745C>T; 1930C>T]**	**Sustitución**	**p.[Arg249Trp; Arg644Cys]**	**Sustitución**	**2A, Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8783	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11380	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11381	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8802	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9002	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9023	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11631	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11749	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11750	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13552	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16344	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
16345	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18176	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11751	**c.775T>G**	**Sustitución**	**p.Tyr259Asp**	**Sustitución**	**L2**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9640	**c.781_783delAAG**	**Supresión**	**p.Lys261del**	**Supresión**	**L2**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9411	**c.781_783delAAG**	**Supresión**	**p.Lys261del**	**Supresión**	**L2**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9381	**c.781_783delAAG**	**Supresión**	**p.Lys261del**	**Supresión**	**L2**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13584	**c.781_783delAAGinsGTGGAGCAGTATAAGAAA**	**Indel**	**p.Lys261delinsValGluGlnTyrLysLys**	**Indel**	**L2**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16149	**c.788T>C**	**Sustitución**	**p.Leu263Pro**	**Sustitución**	**L2**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
17403	**c.788T>C**	**Sustitución**	**p.Leu263Pro**	**Sustitución**	**L2**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
17751	**c.788T>C**	**Sustitución**	**p.Leu263Pro**	**Sustitución**	**L2**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
17405	**c.799T>C**	**Sustitución**	**p.Tyr267His**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9003	**c.800A>G**	**Sustitución**	**p.Tyr267Cys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11809	**c.800A>G**	**Sustitución**	**p.Tyr267Cys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
13173	**c.800A>G**	**Sustitución**	**p.Tyr267Cys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16303	**c.802T>C**	**Sustitución**	**p.Ser268Pro**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16305	**c.810G>A**	**Sustitución**	**P =**	**Silencioso**	**No afectado**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16307	**c.810G>A**	**Sustitución**	**P =**	**Silencioso**	**No afectado**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16309	**c.810+1G>A**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16347	**c.812T>C**	**Sustitución**	**p.Leu271Pro**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18186	**c.832G>C**	**Sustitución**	**p.Ala278Pro**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8803	**c.881A>C**	**Sustitución**	**p.Gln294Pro**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16349	**c.881A>C**	**Sustitución**	**p.Gln294Pro**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16311	**c.883T>C**	**Sustitución**	**p.Ser295Pro**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8863	**c.907T>C**	**Sustitución**	**p.Ser303Pro**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16351	**c.907T>C**	**Sustitución**	**p.Ser303Pro**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8786	**c.1007G>A**	**Sustitución**	**p.Arg336Gln**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
16314	**c.1064_1066delAGC**	**Supresión**	**p.Gln355del**	**Supresión**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8804	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11388	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11816	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9167	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11478	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11479	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11480	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11752	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
12479	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
12483	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13598	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13603	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
16353	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16354	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16355	**c.1072G>A**	**Sustitución**	**p.Glu358Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16316	**c.1081G>A**	**Sustitución**	**p.Glu361Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8806	**c.1112T>A**	**Sustitución**	**p.Met371Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18184	**c.1124OG**	**Sustitución**	**p.Ala375Gly**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11634	**c.1130G>T**	**Sustitución**	**p.Arg377Leu**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11693	**c.1130G>A**	**Sustitución**	**p.Arg377His**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
12405	**c.1130G>A**	**Sustitución**	**p.Arg377His**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18223	**c.1130G>A**	**Sustitución**	**p.Arg377His**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
12474	**c.1142A>C**	**Sustitución**	**p.Glu381Ala**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11629	**c.1157G>A**	**Sustitución**	**p.Arg386Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13653	**c.1157G>T**	**Sustitución**	**p.Arg386Met**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
16357	**c.1157G>A**	**Sustitución**	**p.Arg386Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16358	**c.1157G>A**	**Sustitución**	**p.Arg386Lys**	**Sustitución**	**2B**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16319	**c.1158-2A>G**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11817	**c.1162C>T**	**Sustitución**	**p.Arg388Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9281	**c.1187A>G**	**Sustitución**	**p.Gln396Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8862	**c.1201C>T**	**Sustitución**	**p.Arg401Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9176	**c.1201C>T**	**Sustitución**	**p.Arg401Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9302	**c.1201C>T**	**Sustitución**	**p.Arg401Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9004	**c.1337A>T**	**Sustitución**	**p.Asp446Val**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16321	**c.1346G>A**	**Sustitución**	**p.Gly449Asp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18192	**c.1346G>T**	**Sustitución**	**p.Gly449Val**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8744	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8787	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11382	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11383	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11384	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8807	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11389	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11390	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8836	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9005	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9304	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11614	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11753	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
12481	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13590	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
13607	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13609	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13611	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16363	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16364	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16365	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16366	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16367	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16368	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16323	**c.1361T>C**	**Sustitución**	**p.Leu454Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9513	**c.1367A>T**	**Sustitución**	**p.Asn456Ile**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8810	**c.1368C>A**	**Sustitución**	**p.Asn456Lys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11818	**c.1368_1370delCAA**	**Supresión**	**p.Asn456del**	**Supresión**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17446	**c.1368_1370delCAA**	**Supresión**	**p.Asn456del**	**Supresión**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
17447	**c.1368_1370delCAA**	**Supresión**	**p.Asn456del**	**Supresión**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16370	**c.1381-2A>G**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16372	**c.[1381-1G>T; 1381G>η**	**Sustitución**	**p.[?; Asp461 Tyr]**	**Desconocido, Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16325	**c.1399T>C**	**Sustitución**	**p.Trp467Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8791	**c.1406T>C**	**Sustitución**	**p.Ile469Thr**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18194	**c.1466T>C**	**Sustitución**	**p.Leu489Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16327	**c.1488+1G>A**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13180	**c.1492T>A**	**Sustitución**	**p.Trp498Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16375	**c.1526dupC**	**Duplicación**	**p.Thr510TyrfsX42**	**Desplazamiento del marco**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18188	**c.1540T>A**	**Sustitución**	**p.Trp514Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18190	**c.1540T>A**	**Sustitución**	**p.Trp514Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
12434	**c.1558T>G**	**Sustitución**	**p.Trp520Gly**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
18179	**c.1558T>C**	**Sustitución**	**p.Trp520Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8811	**c.1559G>C**	**Sustitución**	**p.Trp520Ser**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8745	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11344	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8792	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8812	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11391	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8838	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8859	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11423	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11630	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11754	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16377	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
18182	**c.1580G>C**	**Sustitución**	**p.Arg527Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8793	**c.1583C>A**	**Sustitución**	**p.Thr528Lys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8814	**c.1583C>A**	**Sustitución**	**p.Thr528Lys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
11392	**c.1583C>A**	**Sustitución**	**p.Thr528Lys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9006	**c.1583OG**	**Sustitución**	**p.Thr528Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16379	**c.1583C>A**	**Sustitución**	**p.Thr528Lys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16381	**c.1583OG**	**Sustitución**	**p.Thr528Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16382	**c.1583OG**	**Sustitución**	**p.Thr528Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16407	**c.1583OG**	**Sustitución**	**p.Thr528Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18196	**c.1583OG**	**Sustitución**	**p.Thr528Arg**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
18297	**c.1588C>T**	**Sustitución**	**p.Leu530Phe**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
8747	**c.1589T>C**	**Sustitución**	**p.Leu530Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16384	**c.1621OA**	**Sustitución**	**p.Arg541Ser**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
9007	**c.1622G>A**	**Sustitución**	**p.Arg541His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16387	**c.1622G>C**	**Sustitución**	**p.Arg541 Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13588	**c.1633C>T**	**Sustitución**	**p.Arg545Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16389	**c.1804G>A**	**Sustitución**	**p.Arg541 Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9383	**c.1871G>A**	**Sustitución**	**p.Arg624His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9154	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13570	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13571	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13572	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
13573	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
16392	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMED2**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómica dominante**	**181350**	**#**
9523	**c.664C>T**	**Sustitución**	**p.His222Tyr**	**Sustitución**	**L12**	**DMED3**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómico recesivo**	**604929**	**#**
17407	**c.674G>A**	**Sustitución**	**p.Arg225Gln**	**Sustitución**	**L12**	**DMED3**	**Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómico recesivo**	**604929**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17573	c.1445G>A	Sustitución	p.Arg482Gln	Sustitución	Cola	DMED3	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómico recesivo	604929	#
13319	c.1580G>C	Sustitución	p.Arg527Pro	Sustitución	Cola	DMED3	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, autosómico recesivo	604929	#
18345	¿c.?	Desconocido	p.Arg482Trp	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
8847	c.82C>T	Sustitución	p.Arg28Trp	Sustitución	Cabeza	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
18291	c.139G>A	Sustitución	p.Asp47Asn	Sustitución	1A	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
8861	c.178OG	Sustitución	p.ArgθOGly	Sustitución	1A	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
14260	c.178C>G	Sustitución	p.ArgθOGly	Sustitución	1A	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
8848	c.184C>G	Sustitución	p.Arg62Gly	Sustitución	1A	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
14256	c.184C>G	Sustitución	p.Arg62Gly	Sustitución	1A	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
12100	c.398G>T	Sustitución	p.Arg133Leu	Sustitución	1B	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
14258	c.575A>T	Sustitución	p.Asp192Val	Sustitución	1B	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
17624	c.667G>A	Sustitución	p.Glu223Lys	Sustitución	L12	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
11775	c.688G>A	Sustitución	p.Asp230Asn	Sustitución	L12	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
11776	c.1195C>T	Sustitución	p.Arg399Cys	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
17066	c.1232G>A	Sustitución	p.Gly411Asp	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
12096	c.1315C>T	Sustitución	p.Arg439Cys	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
17208	c.1315C>T	Sustitución	p.Arg439Cys	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
11542	c.[1318G>A; =]+[=; 1445G>A]	Sustitución	p.[Val440Met; =]+[=; Arg482Gln]	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
8781	c.1394G>A	Sustitución	p.Gly465Asp	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
12601	**c.1411C>G**	**Sustitución**	**p.Arg471Gly**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8754	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11358	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11359	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11360	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11361	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11362	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11363	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11364	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11365	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8773	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11374	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11375	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11376	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11377	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11378	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11379	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8816	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11393	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11394	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11395	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11396	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11397	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8834	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
9213	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
9156	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11543	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11544	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11662	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11692	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11699	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
12101	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
12102	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
12103	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
12104	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
12105	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
14066	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
16433	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
16434	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
16682	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17866	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
17195	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
17464	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
17465	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
17466	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
17467	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
17733	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
17735	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
17744	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
17936	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
18484	**c.1444C>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8753	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11354	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11355	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11356	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11357	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8763	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8764	**c.1445G>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8768	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11370	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11371	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11372	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11373	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8822	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
8868	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
9305	**c.1445G>T**	**Sustitución**	**p.Arg482Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11663	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
11667	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
12098	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
12387	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Desconocido**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
12418	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Desconocido**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
12423	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
13150	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
13367	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
16285	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
16436	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
16437	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
16438	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
16439	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**
16440	**c.1445G>A**	**Sustitución**	**p.Arg482Gln**	**Sustitución**	**Cola**	**LDPF2**	**Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)**	**151660**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
18138	c.1445G>A	Sustitución	p.Arg482Gln	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
8765	c.1458G>C	Sustitución	p.Lys486Asn	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
11366	c.1458G>C	Sustitución	p.Lys486Asn	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
8767	c.1458G>T	Sustitución	p.Lys486Asn	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
9319	c.1488+5G>C	Sustitución	p.Ile497_Met664delinsValThrGlyArgAlaLeuGlyThrLeuGlyArgProTrpValAlaMetGlyAlaLeuGlyX	Indel	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
17455	c.1683G>C	Sustitución	P =	Silencioso	No afectado	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
11777	c.1718C>T	Sustitución	p.Ser573Leu	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
8780	c.1745G>A	Sustitución	p.Arg582His	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
16429	c.1745G>A	Sustitución	p.Arg582His	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
16430	c.1745G>A	Sustitución	p.Arg582His	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
16431	c.1745G>A	Sustitución	p.Arg582His	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
9452	c.1751G>A	Sustitución	p.Arg584His	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
11545	c.1751G>A	Sustitución	p.Arg584His	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
12429	c.1 772G>T	Sustitución	p.Arg156Cys	Sustitución	1B	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
17068	c.1892G>A	Sustitución	p.Gly631Asp	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
13575	c.1930C>T	Sustitución	p.Arg644Cys	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
13576	c.1930C>T	Sustitución	p.Arg644Cys	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
13579	c.1930C>T	Sustitución	p.Arg644Cys	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17461	c.1930C>T	Sustitución	p.Arg644Cys	Sustitución	Cola	LDPF2	Lipodistrofia parcial familiar (tipo Dunnigan)	151660	#
12601	c.1411C>G	Sustitución	p.Arg471Gly	Sustitución	Cola	LDPF1	Lipodistrofia parcial familiar (Kobberling)	608600	%
11482	c.[1583C>T; =]+[=; 1748C>T]	Sustitución	p.[Thr528Met; =]+[=; Ser583Leu]	Sustitución	Cola	LDPF1	Lipodistrofia parcial familiar (Kobberling)	608600	%
9183	c.1748C>T	Sustitución	p.Ser583Leu	Sustitución	Cola	LDPF1	Lipodistrofia parcial familiar (Kobberling)	608600	%
11481	c.1748C>T	Sustitución	p.Ser583Leu	Sustitución	Cola	LDPF1	Lipodistrofia parcial familiar (Kobberling)	608600	%
13490	c.29C>T	Sustitución	p.ThrIOIle	Sustitución	Cabeza	-	Síndrome de lipoatrofia generalizada	-	-
8867	c.398G>T	Sustitución	p.Arg133Leu	Sustitución	1B	-	Síndrome de lipoatrofia generalizada	-	-
17762	c.1609-12T>G	Sustitución	p.Glu536fsX14	Desplazamiento del marco	Cola	SHS	Síndrome de Hallermann-Streiff	234100	%
17260	c.1930C>T	Sustitución	p.Arg644Cys	Sustitución	Cola	SHS	Síndrome de Hallermann-Streiff	234100	%
13153	c.1609-12T>G	Sustitución	p.Glu536fsX14	Desplazamiento del marco	Cola	-	Síndrome de corazón-mano, de tipo esloveno	610140	%
14097	c.11OG	Sustitución	p.Pro4Arg	Sustitución	Cabeza	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
14112	c.11OG	Sustitución	p.Pro4Arg	Sustitución	Cabeza	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
9172	c.29C>T	Sustitución	p.Thr10Ile	Sustitución	Cabeza	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
14108	c.29C>T	Sustitución	p.Thr10Ile	Sustitución	Cabeza	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
14110	c.29C>T	Sustitución	p.Thr10Ile	Sustitución	Cabeza	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
14101	c.331G>T	Sustitución	p.Glu111Lys	Sustitución	1B	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
14095	c.406G>C	Sustitución	p.Asp136His	Sustitución	1B	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
17070	c.412G>A	Sustitución	p.Glu138Lys	Sustitución	1B	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
9016	c.428C>T	Sustitución	p.Ser143Phe	Sustitución	1B	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
12609	c.428C>T	Sustitución	p.Ser143Phe	Sustitución	1B	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
8871	c.433G>A	Sustitución	p.Glu145Lys	Sustitución	1B	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
14106	c.475G>A	Sustitución	p.Glu159Lys	Sustitución	1B	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
17626	c.899A>G	Sustitución	p.Asp300Gly	Sustitución	2B	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
17903	c.917T>G	Sustitución	p.Leu306Arg	Sustitución	2B	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
14114	c.1303C>T	Sustitución	p.Arg435Cys	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
9393	c.1411C>T	Sustitución	p.Arg471Cys	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
12615	c.1411C>T	Sustitución	p.Arg471Cys	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
9394	c.1579C>T	Sustitución	p.Arg527Cys	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
13119	c.1579C>T	Sustitución	p.Arg527Cys	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
13651	c.1579C>T	Sustitución	p.Arg527Cys	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
11671	c.[1583C>T; =]+[=; 1619T>C]	Sustitución	p.[Thr528Met; =]+[=; Met540Thr]	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
9013	c.1626G>C	Sustitución	p.Lys542Asn	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
9173	c.1733A>T	Sustitución	p.Glu578Val	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
14099	c.1762T>C	Sustitución	p.Cys588Arg	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
14104	c.1762T>C	Sustitución	p.Cys588Arg	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
11785	c.1821G>A	Sustitución	p =	Silencioso	No afectado	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
9527	c.1822G>A	Sustitución	p.Gly608Ser	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
8876	c.1822G>A	Sustitución	p.Gly608Ser	Sustitución	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
9396	c.1824C>T	Sustitución	p.[=,Val607_Gln656del]	Silencioso, Supresión	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
9398	c.1824C>T	Sustitución	p.[=,Val607_Gln656del]	Silencioso, Supresión	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11428	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11429	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11430	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11431	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11432	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11433	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=,Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11434	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=,Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11435	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11436	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11437	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11438	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11439	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11440	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11441	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11442	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11443	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=,Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11444	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=,Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
9395	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11449	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11450	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11451	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11452	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**¿P?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
9171	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
9017	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
9019	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
12074	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=,Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
12075	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=,Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
12076	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
12085	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
12354	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**P =**	**Silencioso**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
13533	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p.[=, Val607_Gln656del]**	**Silencioso, Supresión**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
17393	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p =**	**Silencioso**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
17395	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p =**	**Silencioso**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
17564	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p =**	**Silencioso**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
17729	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p =**	**Silencioso**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
17818	**c.1824C>T**	**Sustitución**	**p =**	**Silencioso**	**No afectado**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
9009	**c.1868OG**	**Sustitución**	**p.[Thr623Ser, Val622_Gln656del]**	**Supresión, Sustitución**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
12457	**c.1868C>G**	**Sustitución**	**p.[Thr623Ser, Val622_Gln656del]**	**Supresión, Sustitución**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
9174	**c.1930C>T**	**Sustitución**	**p.Arg644Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**
11615	**c.1960C>T**	**Sustitución**	**p.Arg654X**	**Sustitución**	**Cola**	**SPHG**	**Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford**	**176670**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17159	c.1968G>A	Sustitución	p =	Silencioso	No afectado	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
11784	c.1968+1G>A	Sustitución	p.Val607-_Gln656del	Supresión	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
17161	c.1968+5G>A	Sustitución	p.Val607_Gln656del	Supresión	Cola	SPHG	Síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford	176670	#
12615	c.1411C>T	Sustitución	p.Arg471Cys	Sustitución	Cola	-	Distrofia muscular de columna rígida relacionada con lamina	-	-
17426	c.31delC	Supresión	p.Arg11AlafsX85	Desplazamiento del marco	Cabeza	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
14254	c.73C>G	Sustitución	p.Arg25Gly	Sustitución	Cabeza	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17886	c.80C>T	Sustitución	p.Thr27Ile	Sustitución	Cabeza	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
18488	c.80C>T	Sustitución	p.Thr27Ile	Sustitución	Cabeza	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17428	c.99G>C	Sustitución	p.Glu33Asp	Sustitución	1A	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17429	c.99G>C	Sustitución	p.Glu33Asp	Sustitución	1A	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17430	c.99G>C	Sustitución	p.Glu33Asp	Sustitución	1A	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17434	c.194A>G	Sustitución	p.Glu65Gly	Sustitución	1A	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17435	c.194A>G	Sustitución	p.Glu65Gly	Sustitución	1A	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
16283	c.302G>C	Sustitución	p.Arg101Pro	Sustitución	1B	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17399	c.388G>T	Sustitución	p.Ala130Ser	Sustitución	1B	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17755	c.388G>T	Sustitución	p.Ala130Ser	Sustitución	1B	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17432	c.471G>A	Sustitución	p =	Silencioso	No afectado	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
9216	c.513G>A	Sustitución	p =	Silencioso	No afectado	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
17575	c.513+1G>A	Sustitución	¿p?	Desconocido	Desconocido	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17437	**c.565C>T**	**Sustitución**	**p.Arg189Trp**	**Sustitución**	**1B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
9639	**c.622_624delAAG**	**Supresión**	**p.Lys208del**	**Supresión**	**1B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
12403	**c.624_626delGAA**	**Supresión**	**p.Lys208del**	**Supresión**	**1B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
16145	**c.673C>T**	**Sustitución**	**p.Arg225X**	**Sustitución**	**L12**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
17401	**c.673C>T**	**Sustitución**	**p.Arg225X**	**Sustitución**	**L12**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
17753	**c.673C>T**	**Sustitución**	**p.Arg225X**	**Sustitución**	**L12**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
13555	**c.746G>A**	**Sustitución**	**p.Arg249Gln**	**Sustitución**	**2A**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
9164	**c.777T>A**	**Sustitución**	**p.Tyr259X**	**Sustitución**	**L2**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
12401	**c.777T>A**	**Sustitución**	**p.Tyr259X**	**Sustitución**	**L2**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
17760	**c.777T>A**	**Sustitución**	**p.Tyr259X**	**Sustitución**	**L2**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
11810	**c.855delG**	**Supresión**	**p.Ala287LeufsX191**	**Desplazamiento del marco**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
9021	**c.864_867delCCAC**	**Supresión**	**p.His289ArgfsX190**	**Desplazamiento del marco**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
11759	**c.864_867delCCAC**	**Supresión**	**p.His289ArgfsX190**	**Desplazamiento del marco**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
12384	**c.908_909delCT**	**Supresión**	**p.Ser303CysfsX26**	**Desplazamiento del marco**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
11811	**c.992G>C**	**Sustitución**	**p.Arg331Pro**	**Sustitución**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
18309	**c.1001_1003delGCC**	**Supresión**	**p.Ser334del**	**Supresión**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
8794	**c.1130G>A**	**Sustitución**	**p.Arg377His**	**Sustitución**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
8850	**c.1130G>T**	**Sustitución**	**p.Arg377Leu**	**Sustitución**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
9301	**c.1130G>A**	**Sustitución**	**p.Arg377His**	**Sustitución**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
9024	**c.1130G>T**	**Sustitución**	**p.Arg377Leu**	**Sustitución**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11762	**c.1130G>A**	**Sustitución**	**p.Arg377His**	**Sustitución**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
13557	**c.1130G>A**	**Sustitución**	**p.Arg377His**	**Sustitución**	**2B**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
11755	**c.1146C>T**	**Sustitución**	**p =**	**Silencioso**	**No afectado**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
11756	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
17443	**c.1357C>T**	**Sustitución**	**p.Arg453Trp**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
11812	**c.1370delA**	**Supresión**	**p.Lys457SerfsX21**	**Desplazamiento del marco**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
17441	**c.1380+1 G>A**	**Sustitución**	**¿p?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
8839	**c.1441T>C**	**Sustitución**	**p.Tyr481His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
13376	**c.1488+5G>A**	**Sustitución**	**¿p?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
9181	**c.1494G>T**	**Sustitución**	**p.Trp498Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
9158	**c.1494G>T**	**Sustitución**	**p.Trp498Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
16442	**c.1494G>T**	**Sustitución**	**p.Trp498Cys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
9159	**c.1535T>C**	**Sustitución**	**p.Leu512Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
11763	**c.1535T>C**	**Sustitución**	**p.Leu512Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
17449	**c.1535T>C**	**Sustitución**	**p.Leu512Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
17452	**c.1535T>C**	**Sustitución**	**p.Leu512Pro**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
11758	**c.1583C>A**	**Sustitución**	**p.Thr528Lys**	**Sustitución**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
13446	**c.1608+1 G>A**	**Sustitución**	**¿p?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
9412	**c.1608+5G>C**	**Sustitución**	**p.Glu537ValfsX36**	**Desplazamiento del marco**	**Cola**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**
13151	**c.1609-3C>G**	**Sustitución**	**¿p?**	**Desconocido**	**Desconocido**	**DMC1B**	**Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B**	**159001**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
11764	c.1718C>T	Sustitución	p.Ser573Leu	Sustitución	Cola	DMC1B	Distrofia muscular de cinturas de tipo 1B	159001	#
13505	c.373G>A	Sustitución	p.Gly125Ser	Sustitución	1B	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
13509	c.[373G>A; =]+[=; 1243G>A]	Sustitución	p.[Gly125Ser; =]+[=; Val415Ile]	Sustitución	1B, Cola	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
13492	c.810+63C>A	Sustitución	¿p?	Desconocido	Desconocido	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
13495	c.937-46A>G	Sustitución	¿p?	Desconocido	Desconocido	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
13501	c.1149G>A	Sustitución	p =	Silencioso	No afectado	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
13497	c.1158-44C>T	Sustitución	¿p?	Desconocido	Desconocido	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
13499	c.1158-44C>T	Sustitución	¿p?	Desconocido	Desconocido	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
13507	c.1243G>A	Sustitución	p.Val415Ile	Sustitución	Cola	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
13511	c.1462A>C	Sustitución	p.Thr488Pro	Sustitución	Cola	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
13503	c.1803C>T	Sustitución	p =	Silencioso	No afectado	FAS	Fibrilación auricular solitaria	-	-
11783	c.176T>G	Sustitución	p.Leu59Arg	Sustitución	1A	DMAA	Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A	248370	#
18470	c.683A>T	Sustitución	p.Glu228Val	Sustitución	L12	DMAA	Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A	248370	#
12380	c.[1318G>A; =]+[=; 1580G>A]	Sustitución	p.[Val440Met; =]+[=; Arg527His]	Sustitución	Cola	DMAA	Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A	248370	#
12615	c.1411C>T	Sustitución	p.Arg471Cys	Sustitución	Cola	DMAA	Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A	248370	#
13119	c.1579C>T	Sustitución	p.Arg527Cys	Sustitución	Cola	DMAA	Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A	248370	#
17878	c.1579C>T	Sustitución	p.Arg527Cys	Sustitución	Cola	DMAA	Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A	248370	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
8851	**c.1580G>A**	**Sustitución**	**p.Arg527His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
11419	**c.1580G>A**	**Sustitución**	**p.Arg527His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
11420	**c.1580G>A**	**Sustitución**	**p.Arg527His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
11421	**c.1580G>A**	**Sustitución**	**p.Arg527His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
11422	**c.1580G>A**	**Sustitución**	**p.Arg527His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
8877	**c.1580G>A**	**Sustitución**	**p.Arg527His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
11453	**c.1580G>A**	**Sustitución**	**p.Arg527His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
8995	**c.1580G>A**	**Sustitución**	**p.Arg527His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
9224	**c.1580G>A**	**Sustitución**	**p.Ala527His**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
17602	**c.1580G>T**	**Sustitución**	**p.Arg527Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
17603	**c.1580G>T**	**Sustitución**	**p.Arg527Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
17747	**c.1 580G>T**	**Sustitución**	**p.Arg527Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**
17748	**c.1580G>T**	**Sustitución**	**p.Arg527Leu**	**Sustitución**	**Cola**	**DMAA**	**Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A**	**248370**	**#**

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
12598	c.1585G>A	Sustitución	p.Ala529Thr	Sustitución	Cola	DMAA	Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A	248370	#
9317	c.1586C>T	Sustitución	p.Ala529Val	Sustitución	Cola	DMAA	Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A	248370	#
18478	c.1620G>A	Sustitución	p.Met540Ile	Sustitución	Cola	DMAA	Displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A	248370	#
13054	c.82C>T	Sustitución	p.Arg28Trp	Sustitución	Cabeza	-	Síndrome metabólico	-	-
13056	c.274C>T	Sustitución	p.Leu92Phe	Sustitución	1B	-	Síndrome metabólico	-	-
13059	c.1159OG	Sustitución	p.Leu387Val	Sustitución	2B	-	Síndrome metabólico	-	-
13061	c.1184C>T	Sustitución	p.Ser395Leu	Sustitución	No afectado	-	Síndrome metabólico	-	-
13063	c.1196G>A	Sustitución	p.Arg399His	Sustitución	Cola	-	Síndrome metabólico	-	-
13065	c.1262T>C	Sustitución	p.Leu421 Pro	Sustitución	Cola	-	Síndrome metabólico	-	-
13067	c.1 315C>T	Sustitución	p.Arg439Cys	Sustitución	Cola	-	Síndrome metabólico	-	-
13069	c.1516OG	Sustitución	p.His506Asp	Sustitución	Cola	-	Síndrome metabólico	-	-
13047	c.1698C>T	Sustitución	p =	Silencioso	No afectado	-	Síndrome metabólico	-	-
13071	c.1961_1962insG	Inserción	p.Thr655AsnfsX49	Desplazamiento del marco	Cola	-	Síndrome metabólico	-	-
12408	c.73C>T	Sustitución	p.Arg25Cys	Sustitución	Cabeza	-	Distrofia muscular	-	-
12410	c.1130G>T	Sustitución	p.Arg377Leu	Sustitución	2B	-	Distrofia muscular	-	-
12412	c.1622G>C	Sustitución	p.Arg541 Pro	Sustitución	Cola	-	Distrofia muscular	-	-
12414	c.1045C>T	Sustitución	p.Arg349Trp	Sustitución	2B	-	Distrofia muscular y lipodistrofia	-	-
17411	c.1821G>A	Sustitución	p =	Silencioso	No afectado	WRS	Síndromes progeroide, neonatal	264090	%
18482	c.1940T>G	Sustitución	p.Leu647Arg	Sustitución	Cola	WRS	Síndromes progeroide, neonatal	264090	%
17009	c.1303C>T	Sustitución	p.Arg435Cys	Sustitución	Cola	DR	Dermopatía restrictiva	275210	#
17731	c.1303C>T	Sustitución	p.Arg435Cys	Sustitución	Cola	DR	Dermopatía restrictiva	275210	#
17801	c.1303C>T	Sustitución	p.Arg435Cys	Sustitución	Cola	DR	Dermopatía restrictiva	275210	#
9166	c.1824C>T	Sustitución	p.[=, Val607_Gln656del]	Silencioso, Supresión	Cola	DR	Dermopatía restrictiva	275210	#
9208	c.1968+1 G>A	Sustitución	p.Gly567_Gln656del	Supresión	Cola	DR	Dermopatía restrictiva	275210	#
17980	c.1057C>T	Sustitución	p.Gln353X	Sustitución	2B	-	Atrofia muscular espinal con afectación cardíaca	-	-
18424	c.868G>A	Sustitución	p.Glu290Lys	Sustitución	2B	MCS	Muerte cardíaca súbita	115080	#

(continuación)

ID de la base de datos	Variante de ADNc	Tipos de variante de ADNc	Variante de proteína	Tipos de variante de proteína	Dominio	Abreviatura de la enfermedad	Nombre de la enfermedad	ID Omim	Símbolo Omim
17189	**c.908_909delCT**	**Supresión**	**p.Ser303CysfsX26**	**Desplazamiento del marco**	**2B**	**MCS**	**Muerte cardíaca súbita**	**115080**	**#**
17901	**c.1334T>A**	**Sustitución**	**p.Val445Glu**	**Sustitución**	**Cola**	**MCS**	**Muerte cardíaca súbita**	**115080**	**#**
9022	**c.1804G>A**	**Sustitución**	**p.Gly602Ser**	**Sustitución**	**Cola**	**-**	**Síndrome de resistencia a la insulina de tipo A**	**-**	**-**

En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico de acuerdo con cualquier aspecto de la presente divulgación es para su uso en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares en un sujeto.

En algunas realizaciones, la enfermedad o la enfermedad cardiovascular se caracteriza por la presencia de al menos una mutación de *Lmna*.

Preferentemente, la enfermedad cardiovascular se selecciona del grupo que consiste en laminopatía, miocardiopatía, tal como miocardiopatía dilatada (MCD), miocardiopatía dilatada 1A, miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción, miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia, fibrilación auricular solitaria; distrofia muscular (con frecuencia asociada a miocardiopatía), tal como miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de Emery-Dreifuss (autosómica dominante), miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de Emery-Dreifuss (autosómica recesiva), miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de cinturas de tipo 1B, miocardiopatía asociada a la distrofia muscular congénita; síndromes de envejecimiento prematuro (que se cree que son principalmente vasculares, pero pueden tener compromiso cardíaco) tales como miocardiopatía asociada al síndrome de Werner atípico, miocardiopatía asociada al síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford y similares, así como enfermedades presentadas en negrita en la Tabla 1.

De acuerdo con un tercer aspecto de la presente divulgación, se proporciona un vector de virus adenoasociado (AAV) que comprende un promotor de troponina T cardíaca (cTnT) y el transgén de acuerdo con cualquier aspecto de la presente divulgación.

De acuerdo con un cuarto aspecto de la presente divulgación, se proporciona una composición farmacéutica que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con cualquier realización de la presente divulgación para tratar una enfermedad.

En algunas realizaciones, la enfermedad es una laminopatía.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la presente divulgación es para su uso en el tratamiento de una enfermedad cardiovascular en un sujeto.

De acuerdo con un quinto aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, comprendiendo el método la administración de una cantidad farmacéuticamente eficaz de la molécula de ácido nucleico de acuerdo con cualquier realización de la presente divulgación, o la composición farmacéutica de la presente divulgación.

En algunas realizaciones del método de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, la enfermedad se caracteriza por la presencia de al menos una mutación de *Lmna*.

En algunas realizaciones del método de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, el método comprende:

(i) someter a ensayo una muestra obtenida de un sujeto que se sospecha que tiene una enfermedad para detectar la presencia o ausencia de al menos una mutación de *Lmna*;
en donde la presencia de al menos una mutación de *Lmna* indica que al sujeto se le ha de administrar la composición farmacéutica de la presente divulgación o la molécula de ácido nucleico de la presente divulgación.

En algunas realizaciones del método de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, la mutación o mutaciones de *Lmna* afectan a la isoforma A de lamina, o la isoforma C de lamina del gen *Lmna*, o ambas isoformas A/C de lámina.

En algunas realizaciones del método de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en dermopatía restrictiva, lipodistrofia parcial familiar (por ejemplo, de tipo Dunnigan), displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A, síndrome metabólico, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1 y enfermedades presentadas en letra normal en la Tabla 1.

En algunas realizaciones del método de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, la enfermedad es una enfermedad cardiovascular, en donde la enfermedad cardiovascular se selecciona del grupo que consiste en laminopatía, miocardiopatía, tal como miocardiopatía dilatada (MCD), miocardiopatía dilatada 1A, miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción, miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia, fibrilación auricular solitaria; distrofia muscular (con frecuencia asociada a miocardiopatía), tal como miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de Emery-Dreifuss (autosómica dominante), miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de Emery-Dreifuss (autosómica recesiva), miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de cinturas de tipo 1B, miocardiopatía asociada a la distrofia muscular congénita; síndromes de envejecimiento prematuro (que se cree que son principalmente vasculares, pero pueden tener compromiso cardíaco) tales como miocardiopatía asociada al síndrome de Werner atípico, miocardiopatía asociada al síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford; y enfermedades presentadas en negrita en la Tabla 1.

En algunas realizaciones del método de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, el sujeto es un mamífero no

humano, tal como un ratón o un ser humano.

En algunas realizaciones del método, el ratón es un ratón N195K (Lmna N195K/ N195K) o uno nuligénico condicional de *Lmna* (Lmnaflox/flox).

De acuerdo con un sexto aspecto de la presente divulgación, se proporciona el uso de la composición farmacéutica de acuerdo con la presente divulgación o la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la presente divulgación en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad provocada por una o más mutaciones de *Lmna*.

En algunas realizaciones, la enfermedad es una enfermedad cardiovascular relacionadas con mutaciones de *Lmna*.

En algunas realizaciones, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en dermopatía restrictiva, lipodistrofia parcial familiar (por ejemplo, de tipo Dunnigan), displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A, síndrome metabólico, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1 y enfermedades presentadas en letra normal en la Tabla 1.

En algunas realizaciones, la enfermedad cardiovascular se selecciona del grupo que consiste en laminopatía, miocardiopatía, tal como miocardiopatía dilatada (MCD), miocardiopatía dilatada 1A, miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción, miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia, fibrilación auricular solitaria; distrofia muscular (con frecuencia asociada a miocardiopatía), tal como miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de Emery-Dreifuss (autosómica dominante), miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de Emery-Dreifuss (autosómica recesiva), miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de cinturas de tipo 1B, miocardiopatía asociada a la distrofia muscular congénita; síndromes de envejecimiento prematuro (que se cree que son principalmente vasculares, pero pueden tener compromiso cardíaco) tales como miocardiopatía asociada al síndrome de Werner atípico, miocardiopatía asociada al síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford y similares, así como enfermedades presentadas en negrita en la Tabla 1.

De acuerdo con un séptimo aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método para cribar candidatos a fármacos capaces de inhibir o alterar el complejo LINC en una célula.

En consecuencia, en algunas realizaciones, se proporciona un método para cribar candidatos a fármacos capaces de inhibir la interacción de las proteínas de un complejo LINC en una célula, que comprende:

(a) combinar las proteínas de dicho complejo LINC en presencia de un fármaco para formar un primer complejo;

(b) combinar las proteínas en ausencia de dicho fármaco para formar un segundo complejo;

(c) medir la cantidad de dicho primer complejo y dicho segundo complejo; y

(d) comparar la cantidad de dicho primer complejo con la cantidad de dicho segundo complejo,

en donde si la cantidad de dicho primer complejo es menor que la cantidad de dicho segundo complejo, entonces el fármaco es un fármaco candidato para inhibir la interacción de las proteínas de dicho complejo de LINC en una célula.

En algunas realizaciones, el fármaco candidato interrumpe la interacción proteína-proteína entre SUN y KASH del complejo LINC. Preferentemente, el fármaco candidato interrumpe la interacción entre las proteínas Sun1 y Nesprina-1.

En algunas realizaciones, dicho cribado es un cribado *in vitro*.

En algunas realizaciones, dicho complejo se mide mediante un método de ELISA.

En algunas realizaciones, el dominio SUN recombinante se inmoviliza en una superficie sólida y el dominio KASH recombinante se marca con una enzima que puede generar una lectura colorimétrica o quimioluminiscente. Los compuestos que no logran inhibir la interacción SUN-KASH darán como resultado un pocillo en la placa donde el SUN recombinante se uniría al dominio KASH unido a enzima. Después de las etapas de lavado y la incubación con sustratos enzimáticos colorimétricos o quimioluminiscentes, la presencia de la interacción SUN-KASH puede detectarse en lectores de placas convencionales. Si el compuesto puede inhibir la interacción SUN-KASH, entonces siguiendo la etapa de lavado, el dominio KASH se eliminaría y se reduciría o no se produciría ninguna reacción enzimática en el pocillo.

En algunas realizaciones, si la cantidad de dicho primer complejo es menor que la cantidad de dicho segundo complejo, entonces dicho fármaco es un fármaco candidato para inhibir la interacción de dichas proteínas.

En algunas realizaciones, dicho complejo se mide mediante un método de anisotropía de fluorescencia.

En algunas realizaciones, el método de anisotropía de fluorescencia emplea dominios SUN y KASH recombinantes. En algunas realizaciones, el dominio KASH se marca con fluorescencia con un resto de fluoresceína y la anisotropía de fluorescencia del dominio KASH que interactúa con el dominio SUN puede medirse usando un equipo convencional, tal como un lector de placas que incorpora una función de espectrómetro de fluorescencia.

En algunas realizaciones, si la cantidad de dicho primer complejo es menor que la cantidad de dicho segundo complejo, habrá una diferencia en la anisotropía de fluorescencia del KASH fluorescente y dicho fármaco es un fármaco candidato para inhibir la interacción de dichas proteínas.

Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** muestra un esquema de las mutaciones en el gen de lamina A/C *LMNA* y las laminopatías resultantes de las mutaciones.

La **Figura 2** muestra un esquema del posicionamiento de los componentes de la membrana de la envoltura nuclear y lámina.

La **Figura 3** muestra un esquema de las conexiones entre el núcleo y la matriz extracelular a través del complejo LINC y cómo las mutaciones en lamin A/C pueden dar como resultado una MCD. La membrana plasmática, el citoesqueleto y el núcleo forman una entidad unida mecánica y físicamente. En mutantes de Lmna, el núcleo es estructuralmente débil. Es mucho más susceptible al estrés mecánico de las fuerzas del citoesqueleto. Esto conduce a un daño grave en los núcleos de los miocitos que, a su vez, conduce a una cascada de eventos tales como la apoptosis y la fibrosis que en última instancia da como resultado la MCD.

La **Figura 4** muestra el efecto de la microinyección de dextrano en el núcleo de ratones *Lmna*$^{+/+}$ y *Lmna*$^{-/-}$ a baja presión. En las células de tipo silvestre, el dextrano permanece en el núcleo, mientras que en las células de mutantes de Lmna, el dextrano se escapa del núcleo hacia el citoplasma.

Las **Figuras 5A - 5B** muestran esquemas de un complejo LINC (**Fig. 5A**) y la interacción entre KASH y SUN (**Fig. 5B**).

La **Figura 6** muestra defectos en el peso corporal y la longevidad en ratones *Lmna*$^{-/-}$ y *Lmna*Δ9 mejoran en animales *Lmna*$^{-/-}$*Sun1*$^{-/-}$ y *Lmna*Δ9*Sun1*$^{-/-}$ con inactivación homocigótica de Sun1. (**A**) Los pesos corporales son promedios de ratones con los genotipos indicados. Se indica el número (n) de animales utilizados. (**B**) Gráfico de Kaplan-Meier que muestra una esperanza de vida aumentada de ratones *Lmna*$^{-/-}$*Sun1*$^{-/-}$ en comparación con *Lmna*$^{-/-}$. La mediana de supervivencia de tipo silvestre o *Sun1*$^{-/-}$ es > 210 días en un seguimiento de 7 meses; los ratones *Lmna*$^{-/-}$ tienen una mediana de supervivencia de 41 días; los ratones *Lmna*$^{-/-}$*Sun1*$^{+/-}$ tienen una mediana de supervivencia de 54 días; los ratones *Lmna*$^{-/-}$*Sun1*$^{-/-}$ tienen una mediana de supervivencia de 104 días ($p < 0,01$ comparando *Lmna*$^{-/-}$ y *Lmna*$^{-/-}$*Sun1*$^{-/-}$). (**C**) Pesos corporales de ratones *Lmna*Δ9 que son de tipo silvestre, heterocigotos u homocigotos para la deficiencia de *Sun1*. Las cohortes de tipo silvestre y *Sun1*$^{-/-}$ se representan para su comparación. Los valores son promedios ± ETM de animales en cada cohorte. Se indica el número (n) de animales ($p < 0,0001$ comparando *Lmna*Δ9*Sun1*$^{+/+}$ y *Lmna*Δ9*Sun1*$^{-/-}$). (**D**) Gráfico de Kaplan-Meier que muestra una esperanza de vida aumentada de ratones *Lmna*Δ9*Sun1*$^{-/-}$ en comparación con *Lmna*Δ9*Sun1*$^{+/+}$. Los ratones *Lmna*Δ9*Sun1*$^{+/-}$ también se representan. ($p < 0,0001$ comparando *Lmna*Δ9*Sun1*$^{+/+}$ y *LmnaΔ9Sun1*$^{-/-}$). (**E**) Proliferación celular de los MEF indicados. Las curvas son promedios ± DT, representante de > 3 aislados independientes de embriones de los genotipos indicados. (**F**) Curvas de proliferación de MAF (fibroblastos adultos de ratón, por sus siglas en inglés) de ratones WT (de tipo silvestre, del inglés *wildtype*), *Sun1*$^{-/-}$, *Lmna*Δ9*Sun1*$^{+/+}$ y *Lmna*Δ9*Sun1*$^{-/-}$. Los MAF se sembraron a una densidad de 1000 células por pocillo. Se midió el crecimiento y se presentan los índices celulares normalizados (promedios ± DT).

La **Figura 7** muestra un esquema de las características de la proteína Sun1 y los componentes utilizados para generar una proteína Sun1 dominante negativa, incluyendo una secuencia señal, una secuencia de superenrollamiento, una secuencia de dominio SUN y una secuencia de KDEL.

La **Figura 8** muestra un esquema de un plásmido (SEQ ID NO: 1) utilizado para la producción de AAV.

La **Figura 9** muestra un esquema de un plásmido (SEQ ID NO: 2) que comprende secuencias de AAV2 y AAV9 para la producción de AAV.

La **Figura 10** muestra un esquema de una construcción de expresión de AAV (SEQ ID NO: 3) que comprende un promotor específico cardíaco y una secuencia dominante negativa de Sun1.

La **Figura 11** muestra un esquema de las características de la proteína Sun1 dominante negativa, incluyendo una secuencia señal, una secuencia de superenrollamiento, una secuencia de dominio SUN y una secuencia de KDEL (SEQ ID NO: 4).

La **Figura 12** muestra un esquema de las características de una proteína Sun2 dominante negativa, incluyendo una secuencia señal, una secuencia de dominio luminal y una secuencia de KDEL (SEQ ID NO: 5).

La **Figura 13** muestra un esquema de la región de la proteína Sun1 utilizada en construcciones dominantes negativas.

La **Figura 14** muestra una alineación de las secuencias de aminoácidos del dominio KASH1-KASH5 con restos conservados (SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13 y 15, respectivamente).

La **Figura 15** muestra un esquema del complejo LINC en ratones de tipo silvestre, ratones Sun1 KO, ratones SUN negativos dominantes AAV y ratones con dominio KASH alterado. El esquema para ratones de tipo silvestre se obtiene de Brian Burke, 2012. El esquema para ratones Sun1 KO representa los resultados de Chen *et al.*, 2012. El SUN dominante negativo AAV y los esquemas de dominio KASH alterados representan propuestas de inventores en la fecha de prioridad sobre métodos para la alteración del complejo LINC para mejorar las laminopatías, basándose en los datos obtenidos en ese momento.

La **Figura 16** muestra una curva de Kaplan Meier de ratones *Lmna* KO que sobreviven un promedio de 28 días, ratones *Sun1* KO que viven más de 300 días y ratones *Lmna* cardíaco KO/*Sun1* KO que viven más de 300 días.

La **Figura 17** muestra secciones teñidas con HyE de los corazones de ratones *Sun1* KO, ratones *Lmna* cardíaco KO y ratones *Lmna* cardíacos KO/*Sun1* KO, con corazones de LmnaKO/Sun1WT que muestran agrandamiento del ventrículo izquierdo (MCD) en comparación con los corazones WT y LmnaKo/Sun1KO.

La **Figura 18** muestra un esquema de la alteración de un complejo LINC en un ratón Nesprina-1 ΔKASH. Los ratones *LmnaKO* Nesprina-1WT tienen una esperanza de vida de aproximadamente 20 días. *LmnaKO* Nesprina-1-ΔKASH sobreviven aproximadamente 40 días, que es similar a ratones *Lmna*KO*Sun1* KO.

Las **Figuras 19A-19B** muestran un esquema de la expresión anticipada de AAV-cTNT-ON-SUN y la competencia entre ON-SUN exógeno y Sun1 nativo para unirse al dominio KASH **(Figura 19A)** con el ON-SUN mostrado en 19B (panel superior) y el efecto del ON-SUN transfectado en el posicionamiento nativo de Nesprin2G en células donde los 2 núcleos en el panel central expresan el ON-SUN y en el panel de fusión ambos muestran pérdida de Nesprina2 de las membranas nucleares (**Fig. 19B**).

La **Figura 20** es una curva de Kaplan Meier que muestra que la alteración de la interacción SUN-KASH *in vivo*, usando AAV9-cTNT-Sun1 dominante negativo (DNSun1), prolonga la longevidad del *Lmna* KO específico de corazón en ratones machos y hembras.

La **Figura 21** muestra los aminoácidos C-terminales del dominio KASH de Nesprina-2 (KASH2). La secuencia de 14 o 18 aminoácidos del extremo C de KASH2 puede interactuar físicamente con el dominio SUN de SUN2. La pérdida de los últimos 4 aminoácidos de KASH2 o la adición de un único aminoácido alanina en el extremo C de KASH2 es suficiente para alterar la interacción del dominio KASH2 con el dominio SUN.

La **Figura 22** muestra un esquema de un método de cribado para detectar agentes que alteran el complejo LINC.

La **Figura 23** muestra un diagrama de flujo que muestra un método de cribado más detallado para identificar una molécula pequeña para alterar el complejo LINC.

La **Figura 24** es una curva de Kaplan Meier que muestra que los ratones de tipo silvestre (C57/Bl6) con o sin una mutación de alteración de Nesprina-1 KASH (C'TΔ8) tienen una esperanza de vida normal. Los ratones con una mutación Lmna nulo/KO (LA-ZP3cre$^{\Delta/\Delta}$) y de tipo silvestre (Nesp1$^{+/+}$) o heterocigoto (Nesp1$^{+/C'T\Delta8}$) para Nesp1-C'TΔ8 tienen una mediana de esperanza de vida de 15 o 18 días, que aumenta a 38 días en ratones Lmna KO/mutantes de Nesp1 homocigotos (LA-ZP3cre$^{\Delta/\Delta}$; Nesp1 $^{C'T\Delta8/C'T\Delta8}$).

La **Figura 25** es una curva de Kaplan Meier que muestra que los ratones con Lmna de tipo silvestre (N1$^{CT\Delta8/CT\Delta8}$LA$^{+/+}$Mcre$^{+/-}$), o alelos floxados de Lmna pero que carecen de un impulsor de Cre específico para el corazón (N1$^{CT\Delta8/CT\Delta8}$LA$^{f/f}$Mcre$^{+/+}$ y N1$^{WT/WT}$LA$^{f/f}$Mcre$^{+/+}$), viven durante la duración del experimento (~ 80 días en la presentación de prioridad, que se extendió a 120 días sin cambios). Los ratones con una supresión específica de cardiomiocitos de Lmna (N1$^{WT/WT}$LA$^{f/f}$Mcre$^{+/-}$) tienen una esperanza de vida de 22-24 días después de la inducción de la supresión mediada por Cre/loxP mediante el suministro de tamoxifeno (TMX), que aumenta a lo largo del experimento en ratones con una supresión específica de cardiomiocitos de Lmna inducida por TMX y también mutante homocigoto para Nesprina-1 (N1CTΔ8/CTΔ8LAf/fMCre+/-).

Las **Figuras 26A-26D** muestran curvas de Kaplan Meier de pérdida de Sun1 que prolonga la longevidad de ratones mutantes de *Lmna*. (**Fig. 26A**) Los ratones de tipo silvestre (C57/Bl6) con o sin Sun1 tienen una esperanza de vida normal, mientras que la esperanza de vida promedio posnatal de los ratones *Lmna$^{Flx/Flx:Zp3}$* en los que se suprime LaminaA en todos los tejidos fue de 17,5 días (***P = <0,0001; ensayo del rango logarítmico). En un entorno *Sun1*-

$^{/-}$ la longevidad aumenta a 32,5 días. (**Fig. 26B**) Cuando se suprimió *Lmna*$^{Flx/Flx}$ específica y constitutivamente en corazones cruzando los ratones con la estirpe *Cre*$^{\alpha MyHC}$, los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:\alpha MyHc}$ vivieron en promedio 26,5 días. En un entorno de *Sun1*$^{-/-}$ estos ratones vivieron durante más de 6 meses. (**Fig. 26C**) Se cruzaron *Lmna*$^{Flx/Flx}$ de 3-5 meses de edad con el Cre específico de cardiomiocitos inducible por Tmx *Tg(Myh6-cre/Esr1),* (abreviado a *mcm),* después de una única inyección de Tmx, los ratones mueren en 3-4 semanas. En un entorno de *Sun1*$^{-/-}$ estos ratones vivieron durante más de 1 año. (**Fig. 26D**) Los ratones *Lmna*$^{N195K/N195K}$ vivieron un promedio de 78 días en comparación con los ratones *Lmna*$^{N195K/N195K}$*Sun1*$^{-/-}$ que tuvieron una esperanza de vida promedio de 111 días. (***P = <0,0001, **P = 0,0073 ensayo del rango logarítmico).

Las **Figuras 27A-27E** muestran la esperanza de vida y el fenotipo de los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ + Tmx. (**Fig. 27A**) La esperanza de vida promedio de los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ fue de 27 días después de una única inyección de Tmx (***P = <0,0001; ensayo del rango logarítmico). (**Fig. 27B**) La PCR detectó el gen *Lmna* (punta de flecha) floxed (suprimido) solamente en el tejido cardíaco después de la inyección de Tmx y no en otros tejidos o cuando no se inyectó Tmx (**Fig. 27C**) Los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$+Tmx desarrollaron cifosis (punta de flecha) 21 días después de la inyección. (**Fig. 27D**) Las proteínas LaminaA/C, detectada por inmunofluorescencia, estuvieron presentes en el control (i, iii), pero reducidas/ausentes en núcleos de cardiomiocitos (CM) tanto en CM aislados (ii segundo panel) como en secciones de corazón (iv) (puntas de flecha de color blanco) con núcleos de CM detectados por tinción PCM-1, 21 días después de Tmx. (**Fig. 27E**) Los niveles de LaminaA/C se cuantificaron mediante análisis por Western de lisados de corazón completo 21 días después de la inyección. Se detectó una reducción significativa (***P = <0,0001; ensayo T) en la proteína Lamina de tipo A, aunque los niveles de Lamina C no se redujeron tanto en los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$+Tmx en comparación con *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$+CTL. (**Fig. 27F**) El análisis cuantitativo se realizó 21 días después de Tmx. La presencia de los sitios *LoxP* en el gen *WT-Lmna* (*Lmna*$^{Flx/Flx}$) da como resultado una reducción de los niveles de transcrito de *Lmna* en comparación con los niveles de *Lmna*$^{Wt/Wt}$, aunque esto no tuvo un efecto manifiesto sobre la longevidad o el crecimiento/viabilidad.

Las **Figuras 28A-28D** muestran ecocardiogramas, la función cardíaca y la histología de ratones *Lmna*$^{Flx/Flxmcm}$ + Tmx. (**Fig. 28A**) Los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ + Tmx muestran una función contráctil cardíaca reducida. **(Fig. 28B) Los corazones** *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ muestran un % de FE y un % de AF reducidos, y un DIVI aumentado (***P = <0,0001, **P = 0,0010; ANOVA de dos vías). (**Fig. 28C**) El análisis histológico de los corazones reveló una mayor infiltración de células nucleadas y espacios intercelulares en corazones *Lmna*$^{Flx/Flxmcm}$ (i y ii). Se aislaron significativamente menos CM viables (similares a un ladrillo) de los corazones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ en comparación con controles de *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ (iii). Con mayor aumento, los cardiomiocitos aislados de los corazones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ contenían grandes vacuolas intracelulares (punta de flecha, iv). (**Fig. 28D**) La luz del ventrículo izquierdo en los corazones *Lmna* $^{Flx/Flx:mcm}$ se agrandó (i) junto con un aumento de la fibrosis (ii) (** P = 0,0007 visible como áreas grises más claras en el 28D ii, los paneles centrales y el panel izquierdo de iv) y núcleos apoptóticos revelados por tinción TUNEL (* P = 0,0220; ANOVA de una vía) (panel derecho iii y iv). Todas las muestras y análisis se realizaron en corazones de 21 días después de la inyección de Tmx.

Las **Figuras29A-29D** muestran cambios en las morfologías nucleares y la estructura del corazón con y sin Sun1 en los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ después de la inyección de Tmx. (**Fig. 29A**) Los núcleos de CM con expresión de Lamina A/C reducida o ausente se indican mediante puntas de flecha de color blanco (1, 3). Los núcleos (2, 4) de CM con niveles normales de Lamina A/C se indican mediante puntas de flecha de color gris. Los niveles de proteína LMNA, medidos tanto por la intensidad de la fluorescencia (5) como por la transferencia Western (6), se redujeron significativamente en *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{+/+}$+Tmx (***P = 0,0009; ensayo T) y *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{-/-}$+Tmx (*P = 0,0359; ensayo T) en comparación con controles *Lmna*$^{Flx/Flxmcm}$ Sun1$^{+/+}$ (gráfico inferior, 6) (**Fig. 29B**). El agrandamiento del ventrículo izquierdo (VI) fue evidente en los corazones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{+/+}$+Tmx (panel 1) pero no en el VI de los corazones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{-/-}$+Tmx (panel 2). Los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{+/+}$+Tmx tenían una fibrosis significativamente mayor (panel 3, fibrosis en gris) en comparación con los controles, pero no hubo un aumento significativo de la fibrosis en los corazones *Lmna*$^{Flx/Flxmcm}$ *Sun1*$^{-/-}$+Tmx (panel 3) en comparación con los controles (panel 4, cuantificado en el panel 5, ***P = 0,0001; ANOVA de una vía). Las mediciones de la fuerza activa del músculo papilar cardíaco se redujeron significativamente a partir de los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{+/+}$+Tmx en comparación con los controles *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{+/+}$ (**P = 0,0047; ensayo T) y *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{-/-}$+Tmx (*P = 0,0113; ensayo T) (panel 6). (**Fig. 29C**) Las morfologías nucleares de CM se alteraron significativamente en los ratones *L_mna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{+/+}$+Tmx (Panel 1, puntas de flecha continuas). En ausencia de TMX, las secciones del corazón de control (CTL, panel 2) muestran pocas anomalías nucleares. En ausencia de Sun1, los cardiomiocitos *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{-/-}$+Tmx no mostraron anomalías nucleares (Paneles 3 y 4). En resumen, el panel 5 de la Figura 29C revela que, el 70 % de los CM en los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{+/+}$+Tmx tenían rupturas/distorsiones de EN o núcleos deformados en comparación con menos del 1 % de los núcleos de CM en los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{-/-}$+Tmx. (Fig. 29D) Se realizaron análisis de eco en ratones tratados con TMX y de control después de la inducción con Tmx. Los ecocardiogramas (ECG) se realizaron 28 días después de la inyección de Tmx en ratones de 3 a 5 meses de edad (panel 1). Los ECG realizados antes y después de la inducción por Cre revelaron un empeoramiento progresivo de la contractilidad cardíaca en los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{+/+}$ +Tmx (línea de color negro continua) en comparación con los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{-/-}$ + Tmx (paneles 2-4). La pérdida de SUN1 conservó la FE (panel 2), el AF (panel 3) y la Deformación longitudinal global (DLG, panel 4) en los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{-/-}$ + Tmx en comparación con los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ *Sun1*$^{+/+}$ +Tmx.

Las **Figuras 30A-30B** muestran el gráfico de Kaplan Meier y los efectos de la función cardíaca de la supresión de SUN1 en la patología cardíaca inducida por una mutación de sentido erróneo en el gen *Lmna* (N195K). **(Fig. 30A)** La ausencia de Sun1 aumenta significativamente la esperanza de vida de los ratones $Lma^{N195K7Flx:mm}Sun1^{-/-}$+ Tmx en comparación con los ratones $Lmna^{N195K/FLX:mcm}Sun1^{+/+}$+ Tmx (*P = 0.0101; ensayo del rango logarítmico). Los ratones con una sola copia de la mutación N195K ($Lmna^{N195K/-:mcm}Sun1^{+/+}$ + Tmx) tuvo una esperanza de vida promedio de 47 días, aproximadamente la mitad de la esperanza de vida de los ratones homocigotos, es decir, con dos copias del alelo N195K. **(Fig. 30B)** Los ecocardiogramas (ECG) realizados antes y después de la inducción por Cre revelaron un empeoramiento progresivo de la contractilidad cardíaca en los ratones $Lmna^{N195K/-:mcm}Sun1^{+/+}$ + Tmx en comparación con los ratones $Lmna^{N195K/-:mcm}Sun1^{-/-}$ + Tmx a lo largo del tiempo. Las imágenes de ECG se registraron 28 días después de la inyección de Tmx (paneles del lado izquierdo). La pérdida de SUN1 preservó la FE, el AF y la DLG en los ratones $Lmna^{N195K/Flx:mcm}$ $Sun1^{-/-}$ + Tmx en comparación con los ratones $Lmna^{N195K/Flx:mcm}$ $Sun1^{+/+}$ + Tmx (3 paneles inferiores del lado derecho).

Las **Figuras 31A-31G** muestran que los ratones $Lmna^{Flxx/Flx:mcm}$+Tmx que expresan un DNSun1 transducido por AAV presentan una función cardíaca mejorada y una longevidad aumentada. **(Fig. 31A)** Protocolo para la transducción mediada por AAV de la miniproteína DN-Sun1 en ratones $Lmna^{Flxx/Flx:mcm}$ +Tmx. Se administra una única inyección de Tmx (IP) en D14 después del nacimiento para inducir la supresión de *Lmna*. Después, las partículas víricas AAV9-DNSun1 o AAV9-GFP se inyectan en la cavidad torácica el D15 después del nacimiento. El punto final experimental se fijó en 100 días después de Tmx. **(Fig. 31B)** La miniproteína DNSun1 compite con Sun1 endógena por unirse al dominio KASH de las Nesprinas (en CM, esto es Nesprina1). La miniproteína compite con la SUN1 endógena por la unión al dominio KASH de las Nesprinas. Como la miniproteína DNSun1 no está anclada en la MNI, esto desconecta eficazmente las proteínas SUN endógenas para que no se unan a los dominios KASH, rompiendo así el LINC. **(Fig. 31C)** La presencia del gen *Lmna* recombinado después de la inyección de Tmx se confirmó mediante PCR de los tejidos cardíacos (panel superior). Se detectó la expresión robusta de la proteína AAV9-DNSun1 y AAV9-GFP (dosis: 5x10**^**10 vg/g de ratón) en extractos de corazones enteros 99 días después de la inyección de AAV (panel inferior). **(Fig. 31D)** Los CM derivados de células madre iPS humanas se transdujeron con DNSun1 usando AVV-OJ como vector. En los CM que expresan altos niveles de DNSun1, indicado por flechas de color gris, la localización de Nesprin1 en la EN está reducida o ausente. La localización de Nesprina1 en la EN se mantiene en CM que no expresan AVV-OJ-ONSun1 o cuando se expresa en niveles más bajos (puntas de flecha de color blanco). (**Fig. 31E**) Los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$+Tmx+AAV9-GFP vivieron un promedio de 34,5 d después de la inducción con Tmx, mientras que los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx inyectados con AA9-DNSun1 (5×10**^**10 vg/g/ratón) vivieron significativamente más tiempo (**P = 0,0038; ensayo del rango logarítmico) a al menos 100D después de Tmx, después de lo cual los ratones se sacrificaron para su análisis. Este conjunto de datos derivó del que se muestra en la Fig. 20, se ajustó retirando los ratones que eran hembras y los que tenían una dosis diferente de virus. La Fig. E(i) representa ratones macho y la Fig. E(ii) representa ratones hembra. **(Fig. 31F)** 35d después de Tmx, se detectó fibrosis extensa (color azul en la imagen original, color gris en el presente documento) y agrandamiento ventricular en los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$+Tmx+AAV9-GFP en comparación con los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx + AAV9- DNSun1. **(Fig. 31G)** El análisis por ECG confirmadó que los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx+AAV9-DNSun1 tenían una mejor función cardíaca en comparación con los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx +AAV9-GFP 35 días después de la inyección de Tmx.

Las **Figuras 32A-32D** muestran modelos de cómo romper el LINC alterando Sun1 protege a los cardiomiocitos del estrés inducido por la contracción **(Fig. 32A)** Los núcleos de cardiomiocitos que expresan LmnaA/C, son capaces de soportar el estrés mecánico y las fuerzas de tensión transmitidas a través del complejo LINC desde el citoplasma hasta la EN. **(Fig. 32B)** La pérdida o introducción de una mutación dentro del gen *Lmna* da como resultado la pérdida o el ensamblaje incorrecto de la lámina nuclear, lo que debilita la Lámina/EN. Los núcleos debilitados se dañan debido a las fuerzas de tensión/esfuerzo ejercidas a través del complejo LINC desde los sarcómeros contráctiles de los cardiomiocitos. **(Fig. 32C**, **D**). En ausencia de SUN1 o interrumpiendo su unión a los dominios KASH por expresión de ONSun1, los complejos LINC no conectados ejercen menos fuerza de tensión sobre los núcleos de los cardiomiocitos, permitiendo la supervivencia de los cardiomiocitos mutantes de *Lmna*.

Figura 33: muestra la estructura del alelo condicional $Lmna^{Flx/Flx}$. Las ubicaciones de cebadores para genotipificar el gen *Lmna* tanto antes como después de la recombinación Cre están indicadas para el alelo $Lmna^{Flx}$ alelo (Flox), el alelo *Lmna* suprimido (Δ) y el alelo de tipo silvestre [A. S. Wang, *et al.*, *Differentiation* 89: 11-21 (2015)].

La **Figura 34** muestra un diagrama de las miniproteínas recombinantes AAV9-DNSun1 y AAV9-GFP. La DN-Sun1 incluye el dominio Sun, un marcador HA, una Secuencia señal (SS, para dirigir la proteína al ER) y el KDEL (señal de retención del RE) [M. Crisp *et al.*, *J Cell Biol*. 172: 41-53 (2006)]. La AAV9-GFP incluye las secuencias SS y KDEL. Se usó GFP como control en lugar de Sun1L-KDEL.

La **Figura 35** muestra fotomicrografías de expresión específica de cardiomiocitos de Cre recombinasa después de la inyección de Tmx. Los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ se cruzaron con los ratones indicadores mT/mG (JAX: Gt(ROSA)26Sortm4(ACTB-tdTomato,-EGFP)Luo/J). En ausencia de Cre, se expresa RFP. Cuando se induce Cre, se expresa GFP. Solo los CM de los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ expresan GFP tras la inyección de TMX. Los tejidos cardíacos se analizaron 7 días después de la inyección de Tmx.

La **Figuras 36** muestra que la pérdida de Sun2 no rescata la pérdida de *Lmna.* La pérdida de Sun2 no prolonga la esperanza de vida de los ratones *Lmna*$^{\Delta/\Delta}$*dom2*$^{-/-}$.

Las **Figuras 37A-37E** muestran los fenotipos de los corazones *Lmna*$^{Flx/Flxmcm}$ *Sun1*$^{+/+}$ y *Lmna*$^{Flx/Flxmcm}$ *Sun1*$^{-/-}$ 12-14 meses después de la inyección de Tmx. **(Fig. 37A)** El análisis histológico de los corazones envejecidos *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$*Sun1*$^{+/+}$, 12-14 meses después de la inyección de Tmx, no reveló cambios morfológicos significativos, por ejemplo, agrandamiento del VI o **(Fig. 37B)** en la fibrosis en comparación con los controles. (**Fig. 37C**) El análisis por PCR confirmó la supresión sostenida del gen *Lmna*. **(Fig. 37D)** La cuantificación de proteínas reveló una reducción significativa de los niveles de LMNA en los corazones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$*Sun1*$^{-/-}$+Tmx 14 meses después de TMX. **(Fig. 37E)** Los ecocardiogramas (panel del lado izquierdo) de los ratones envejecidos mostraron FE y AF reducidos (paneles del lado derecho) en ambos ratones envejecidos *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$Sun1$^{+/+}$ + CTL y *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$*Sun1*$^{-/-}$ + Tmx.

La **Figura 38** muestra que el rescate por AAV9-DNSun1 depende de la dosis de partículas víricas inyectadas. La esperanza de los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ +TMX depende de la dosis de AAV9-DNSun1, dando como resultado las concentraciones más bajas una esperanza de vida más corta. Cada punto representa un ratón, las líneas horizontales indican la media.

Las **Figuras 39A-39C** muestran los niveles de LaminaA/C después de la inducción por Tmx y la expresión de proteínas expresadas por AAV. **(Fig. 39A)** Los niveles de LaminaA/C se redujeron significativamente después de la inducción por Tmx, y la presencia de la proteína AAV9-DNSun1 o AAV9-GFP no alteró los niveles de proteína LMNA (Cuantificación de la intensidad de inmunofluorescencia de LaminaA/C). Las cantidades de proteína LaminaA/C, ONSun1 y GFP en corazones completos también se cuantificaron mediante análisis por Western (3 gráficos inferiores). (Análisis realizado 35 días después de Tmx). **(Fig. 39B)** La expresión de las proteínas DNSun1 y GFP era dependiente de la concentración de partículas víricas inyectadas. **(Fig. 39C)** La inmunofluorescencia reveló que la mayoría de los CM se infectaron con éxito y expresaron GFP con 5×10^10 vg/g de AAV9-GFP (imagen de la izquierda) en comparación con la infección con una concentración 10 veces inferior (5×10^9 AAV9-GFP, imagen derecha) de partículas víricas.

Las **Figuras 40A-40C** muestran que el direccionamiento de CRISPR del dominio Sun1 SUN da como resultado la pérdida de la proteína Sun1. **(A, B)** Alineación clustal de ADN de Sun1 **(Fig. 40A)** y las secuencias de aminoácidos **(Fig. 40B)** (SEQ ID NO: 69 y 72, respectivamente) adyacentes a la mutación inducida por CRISPR en Sun1 de tipo silvestre, Sun1 con inserción de 4 pb (Sun1_plus4; SEQ ID NO: 70 y 73, respectivamente) y Sun1 con supresión de 7 pb (Sun1_del7; SEQ ID NO: 71 y 74, respectivamente). La numeración es de la secuencia codificante de Sun1 (A) y la secuencia de proteína (B). Las letras en negrita en (B) indican el dominio SUN. **(Fig. 40C)** Tinción de inmunofluorescencia de fibroblastos adultos de ratón derivados de ratones de tipo silvestre y mutantes de Sun1. La expresión de Sun1 se pierde en ratones mutantes, pero la expresión de Sun2 y Nesprina-1 es similar en los 3 genotipos. Barra de escala = 10 µm.

La **Figura 41A-D** muestra que el direccionamiento de CRISPR del extremo C de Syne1 da como resultado la expresión de una proteína Nesprina-1 mutante. **(A, B)** Alineación clustal del ADN de Nesprina-1 de tipo silvestre (SEQ ID NO; 75) y Nesprina-1C'TΔ8 (Nesprin1_CTdel8) (SEQ ID NO: 76) **(A)** y secuencia de aminoácidos adyacente a la mutación inducida por CRISPR en Nesprina-1 de tipo silvestre (SEQ ID NO: 77) y Nesprina-1C'TΔ8 (Nesprin1_CTdel8) (SEQ ID NO: 78) **(B).** TGA en negrita indica el codón de parada del gen Syne1/Nesprina-1. **(C, D)** Inmunotransferencias de Nesprina-1 de Syne1/Nesprina-1 de tipo silvestre y Syne1/Nesprina-1C'TΔ8 mutante de tejido cardíaco y muscular.

La **Figura 42A-B** son fotomicrografías que muestran que la mutación de Syne1 inducida por CRISPR produce resultados en la proteína Nesprina-1 mal localizada y "sin KASH". Tinción de inmunofluorescencia de fibroblastos adultos de ratón **(A)** y miotubos primarios **(B)** derivados de ratones de tipo silvestre (WT) y mutantes de Syne1C'TΔ8. La Nesprina-1 está mal localizada con respecto a la envoltura nuclear en las muestras de mutantes. Las imágenes fusionadas muestran la tinción de Nesprina-1 y ADN. Barra de escala = 10 µm.

La **Figura 43A-C** son fotomicrografías que muestran que la mutación de Syne1 no altera la localización de determinadas proteínas de la envoltura nuclear. **(A-C)** Tinción de inmunofluorescencia de miotubos primarios de ratón derivados de ratones de tipo silvestre (WT) y mutantes de Syne1C'TΔ8. Sun1 (A), Sun2 y emerina (B) y lamina A/C (C) se localizan normalmente en la envoltura nuclear. Las imágenes fusionadas muestran la tinción de proteínas y ADN. Las flechas indican ejemplos de proteínas de envoltura nuclear localizadas normalmente. Barra de escala = 10 µm.

La **Figura 44A-C** son fotomicrografías que muestran que la mutación de Syne1 altera la localización de proteínas centrosómicas localizadas en la envoltura nuclear. **(A-C)** Tinción de inmunofluorescencia de miotubos primarios de ratón derivados de ratones de tipo silvestre (WT) y mutantes de Syne1C'TΔ8. Pcm1, Pericentrina (Pent) y Akap450, que normalmente se localizan en la envoltura nuclear de los miotubos, se desplazan de la envoltura nuclear en los miotubos mutantes de Syne1C'TΔ8. MF20 es un anticuerpo para la cadena pesada de miosina, un

marcador de miotubos. Las imágenes fusionadas muestran la tinción de proteínas y ADN. Las flechas indican la tinción típica de la envoltura nuclear para estas proteínas centrosómicas. Barra de escala = 10 µm.

La **Figura 45A-C** muestra que la mutación de Syne1 no afecta el fenotipo del ratón. **(A-B)** Imágenes representativas de ratones macho (A) y hembra (B) de 12 semanas de edad. **(C)** Peso corporal de ratones machos y hembras, de tipo silvestre (WT) y mutantes de Syne1C'TΔ8, durante 6 semanas.

Las **Figuras 46A-46C** muestran construcciones de Syne2 y los ratones mutantes dobles de Syne1/Syne2 experimentan letalidad perinatal. **(Fig. 46A)** Diseño de construcción de direccionamiento de IRES-**β**gal PGK-Neo para generar la mutación de Syne2. **(Fig. 46B)** Tinción de inmunofluorescencia de fibroblastos adultos de ratón derivados de ratones de tipo silvestre (WT) y mutantes de Syne2 que muestran pérdida de Nesprina-2. **(Fig. 46C)** Imágenes de cachorros recién nacidos. La fila superior son ratones con al menos 1 alelo Syne1 o Syne2 de tipo silvestre que aparecen de un rosa saludable. La fila inferior muestra los cachorros doble mutantes cianóticos Syne1 $^{C'T\Delta 8/C'T\Delta 8}$:Syne2$^{-/-}$ que aparecen azules y mueren al nacer.

La **Figura 47** es un gráfico de Kaplan Meier que muestra que una mutación Syne2 no mejora la patología de Lmna. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier que muestra que, independientemente de su estado de mutación de Syne2 (tipo silvestre, heterocigoto o mutante), los ratones Lmna$^{\Delta/\Delta}$ mueren a las 3 semanas posteriores al nacimiento.

Descripción detallada de realizaciones preferidas

Definiciones

Determinados términos empleados en la memoria descriptiva, los ejemplos y las reivindicaciones adjuntas se recopilan en el presente documento por comodidad.

Las expresiones "aminoácido" o "secuencia de aminoácidos", como se usan en el presente documento, se refieren a un oligopéptido, péptido, polipéptido o secuencia de proteína, o a un fragmento de cualquiera de estos, y a moléculas de origen natural o sintéticas. Cuando se cita "secuencia de aminoácidos" en el presente documento para referirse a una secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína de origen natural, "secuencia de aminoácidos" y términos similares no pretenden limitar la secuencia de aminoácidos a la secuencia de aminoácidos nativa completa asociada a la molécula de proteína citada.

Como se usa en el presente documento, la expresión "que comprende" o "que incluye" ha de interpretarse como que especifica la presencia de las características señaladas, números enteros, etapas o componentes referidos, pero no excluye la presencia o la adición de una o más características, números enteros, etapas o componentes, o grupos de los mismos. Sin embargo, en el contexto con la presente divulgación, la expresión "que comprende" o "que incluye" también incluye "que consiste en". Las variaciones de la expresión "que comprende", tal como "comprender" y "comprende", y de "que incluye", tal como "incluir" e "incluye", tienen correspondientemente significados variados.

Como se usa en el presente documento, los términos "CRISPR-Cas" y sistema "CRISPR" se usan algo indistintamente para referirse a un sistema inmunitario adaptativo microbiano que usa nucleasas guiadas por ARN para escindir elementos genéticos extraños. Comprende repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente interespaciadas (CRISPR, por sus siglas en inglés), una endonucleasa asociada a CRISPR (Cas) y un ARN guía sintético que puede programarse para identificar e introducir una rotura de doble cadena en un sitio específico dentro de una secuencia de genes diana. Las repeticiones palindrómicas están intercaladas por secuencias variables cortas derivadas de dianas de ADN exógeno conocidas como protoespaciadores, y juntas constituyen la matriz de ARN de CRISPR (ARNcr). Dentro de la diana de ADN, cada protoespaciador siempre está asociado a un motivo adyacente protoespaciador (PAM, por sus siglas en inglés), que puede variar dependiendo del sistema CRISPR específico. CRISPR-Cas9 es una versión específica del sistema que se refiere al uso de la nucleasa Cas9 guiada por ARN, originalmente derivada de *Streptococcus pyogenes,* por lo que el ADN diana debe preceder inmediatamente a un 5'-NGG PAM. Se conocen variaciones del sistema CRISPR-Cas9 [Ran FA, *et al.*, *Nat. Protoc* 8, 2281-2308 (2013); Ran FA, *et al.*, *Cell* 154, 1380-1389 (2013)], incluyendo CRISPR-Cpf1, y aunque CRISPR-Cas9 se ha utilizado en el presente documento en los Ejemplos, no se pretende que la presente divulgación se limite a un sistema CRISPR-Cas particular.

Como se usa en el presente documento, la expresión "dominante negativo" se refiere a una mutación cuyo producto génico afecta negativamente al producto génico de tipo silvestre normal dentro de la misma célula. Esto por lo general ocurre si el producto todavía puede interactuar con los mismos elementos que el producto de tipo silvestre, pero bloquean algún aspecto de su función. En un ejemplo, el transgén se expresa como una proteína y dicha proteína es funcional como un dímero. Una mutación que elimina el dominio funcional, pero conserva el dominio de dimerización provocaría un fenotipo dominante negativo, porque a alguna fracción de dímeros de proteína le faltaría uno de los dominios funcionales.

Como se usa en el presente documento, la expresión "fuente normal" en referencia a las enfermedades enumeradas

en la Tabla 1 se refiere a aquellas enfermedades que están en texto sin formato y no en negrita. La expresión "texto en negrita" tiene su significado ordinario.

Como se usa en el presente documento, la expresión "polipéptido estabilizador" o "proteína estabilizadora" se refiere a un polipéptido inerte que se pliega en un dominio discreto, garantizando de este modo que el resto del péptido mantenga, por ejemplo, la topología adecuada. En un ejemplo, la proteína estabilizadora garantiza que la proteína KASH mantenga la topología adecuada en la membrana del retículo endoplásmico y la membrana nuclear externa. En otro ejemplo, el polipéptido estabilizador evita que un polipéptido unido se trasloque, por ejemplo, el espacio perinuclear.

Como se usa en el presente documento, la expresión "unido operativamente" significa que los componentes a los que se aplica la expresión se encuentran en una relación que les permite realizar sus funciones inherentes en condiciones adecuadas. Por ejemplo, una secuencia de control que está "unida operativamente" a una secuencia codificante de proteína está ligada a la misma, de manera que la expresión de la secuencia codificante de la proteína se consigue en condiciones compatibles con la actividad de transcripción de las secuencias de control. A modo de ejemplo, una primera secuencia de ácido nucleico está unida operativamente con una segunda secuencia de ácido nucleico cuando la primera secuencia de ácido nucleico se coloca en una relación funcional con la segunda secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, un promotor está unido operativamente a una secuencia codificante si el promotor afecta a la transcripción o expresión de la secuencia codificante. Generalmente, las secuencias de ADN unidas operativamente son contiguas y, cuando es necesario unir dos regiones codificantes de proteínas, están en el mismo marco de lectura.

Como se usa en el presente documento, el término "prolongación" se refiere a uno o más aminoácidos que pueden encontrarse unidos al extremo N o C de un péptido deseado.

Como se usan en el presente documento, los términos "polipéptido", "péptido" o "proteína" se refieren a una o más cadenas de aminoácidos, en donde cada cadena comprende aminoácidos unidos de manera covalente por enlaces peptídicos, y en donde dicho polipéptido o péptido puede comprender una pluralidad de cadenas unidas entre sí de manera no covalente y/o de manera covalente mediante enlaces peptídicos, que tienen la secuencia de las proteínas nativas, es decir, de las proteínas producidas por células de origen natural y específicamente no recombinantes o células modificadas por ingeniería genética o recombinantes, y comprenden moléculas que tienen la secuencia de aminoácidos de la proteína nativa, o moléculas que tienen supresiones, adiciones y/o sustituciones de uno o más aminoácidos de la secuencia nativa. Un "polipéptido", "péptido" o "proteína" puede comprender una cadena de aminoácidos (denominada "un monómero") o una pluralidad de las mismas (denominadas "un multímero").

El término "sujeto" se define en el presente documento como vertebrado, particularmente mamífero, más particularmente, ser humano. Con fines de investigación, el sujeto puede ser particularmente al menos un modelo animal, por ejemplo, un ratón, rata y similares. En particular, para el tratamiento o la profilaxis de una laminopatía, tal como MCD, el sujeto puede ser un ser humano.

El término "tratamiento", como se usa en el contexto de la presente divulgación se refiere a un tratamiento de mejoría, terapéutico o curativo.

Sin quedar ligados a teoría alguna, los inventores afirman que toda la base de la terapia es que la alteración de la función del complejo LINC suprime la mutación de *Lmna*. Se observa además que el objetivo de los métodos reivindicados es la interacción SUN-KASH en el complejo LINC. Los niveles de proteína endógena no deberían verse afectados.

Se observa además que el transgén (por ejemplo, el transgén dominante negativo) no funcionará si la proteína de dominio SUN de longitud completa se inserta entre la secuencia señal y el KDEL, ya que invertirá la topología de la membrana de la proteína de modo que el dominio SUN ya no esté en el espacio perinuclear/luz del RE. Solo pueden usarse las regiones que siguen al dominio transmembrana, es decir, el dominio luminal.

Un experto en la materia apreciará que la presente divulgación puede ponerse en práctica sin experimentación indebida de acuerdo con los métodos proporcionados en el presente documento. Los métodos, las técnicas y los productos químicos son como se describen en las referencias proporcionadas o en los protocolos de los libros de texto convencionales de biotecnología y biología molecular.

Ejemplos

Ejemplo 1

Materiales y métodos

Los ratones se mantuvieron en las instalaciones del Centro de Recursos Biológicos A*STAR y en las Instalaciones para Animales de la NUS de acuerdo con las pautas del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales para cada instalación. Los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx}$ se generaron y caracterizaron como se describió anteriormente [A. S. Wang, *et al.*,

Differentiation; research in biological diversity, (2015); I. Solovei *et al.*, *Cell* 152: 584-598 (2013)] (Figura 33). Para derivar ratones con una supresión global *Lmna* (*Lmna*$^{\Delta/\Delta}$), los presentes inventores cruzaron el alelo floxado (*Lmna*$^{Flx/Flx}$) a ratones en los que la recombinasa Cre es impulsada por las secuencias reguladoras del gen de la zona pelúcida 3 del ratón (Zp3;Tg(Zp3-cre)93Knw, reserva JAX 003651) [W. N. de Vries *et al.*, *Genesis* 26: 110-112 (2000)]. Para obtener la supresión específica de cardiomiocitos de *Lmna* (*Lmna*$^{Fix/Flx/NlMhc}$), los presentes inventores cruzaron en primer lugar los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx}$ a ratones en los que la expresión de Cre fue impulsada por el promotor (MyHC;Tg(Myhca-cre)2182Mds, reserva JAX 011038) de la cadena pesada de miosina alfa murina específica cardíaca (Myh6, miosina, polipéptido pesado 6, músculo cardíaco, alfa). Para obtener una supresión específica de cardiomiocitos inducible por tamoxifeno de *Lmna* (*LmnaFlx*/*Flx:mcm*), los presentes inventores cruzaron los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx}$ con ratones en los que la expresión de Cre fue impulsada por el promotor de la cadena pesada de la alfa-miosina específica del corazón de ratón (**α**MHC o alfa-MHC;Myh6) que expresó una recombinasa Cre inducible por tamoxifeno (MerCreMer) específicamente en miocitos cardíacos juveniles y adultos (mcm;Tg(Myh6-cre/Esr1*)1Jmk, reserva JAX 005657). La especificidad de la expresión de mcm Cre para los cardiomiocitos se confirmó cruzando estirpes de Cre con los ratones indicadores mT/mG [M. D. Muzumdar, *et al.*, *Genesis* 45: 593-605 (2007)] (Figura 35). La generación de los ratones *Sun1*$^{-/-}$ se describió anteriormente [Y. H. Chi *et al.*, *Development* 136: 965-973 (2009)] como lo fueron los ratones *Lmna*$^{N195K/N195K}$ [L. C. Mounkes, *et al.*, *Hum Mol Genet* 14: 2167-2180 (2005)]. Los ratones *Lmna*$^{\Delta/\Delta}$*:Sun1*$^{-/-}$ y *Lmna*$^{Flx/}$*Flxmcm:Sun1*$^{-/-}$ se obtuvieron cruzando las respectivas cepas de ratones Lamina-Cre con ratones *Sun1*$^{+/-}$ ya que los ratones *Sun1*$^{-/-}$ son infértiles.

Para someter a ensayo la inserción de sitios loxP y alelo suprimido condicional, el genotipado se realizó con un protocolo de PCR dúplex con los siguientes cebadores:

FLX/FLX-F1: 5'-CCAGCTTACAGAGCACCGAGCT-3',	SEQ ID NO: 16
FLX/FLX-F2: 5'-TCCTTGCAGTCCCTCTTGCATC-3',	SEQ ID NO: 17
FLX/FLX-R1: 5'-AGGCACCATTGTCACAGGGTC-3'.	SEQ ID NO: 18

Para someter a ensayo la supresión de Sun1, se usaron los siguientes cebadores:

Sun1-F: 5'-GGC AAG TGG ATC TCT TGT GAA TTC TTG AC-3'	SEQ ID NO: 19
Sun1-R: 5'-GTA GCA CCC ACC TTG GTG AGC TGG TAC-3'	SEQ ID NO: 20
Sun1-E8: 5'-AGC CAC ATA ACC ACC TGG AG-3'	SEQ ID NO: 21

Para someter a ensayo el transgén MyHC, se usaron los siguientes cebadores:

MyHC-tF: 5'-ATG ACA GAC AGA TCC CTC CTA TCT CC-3'	SEQ ID NO: 22
MyHC-tR: 5'-CTC ATC ACT CGT TGC ATC ATC GAC-3'	SEQ ID NO: 23
MyHC-F: 5'-CAA ATG TTG CTT GTC TGG TG-3'	SEQ ID NO: 24
MyHC-R: 5'-GTC AGT CGA GTG CAC AGT TT-3'	SEQ ID NO: 25

Para someter a ensayo la presencia del transgén mcm, se usaron los siguientes cebadores:

mcm-3798t: 5'-AGG TGG ACC TGA TCA TGG AG-3'	SEQ ID NO: 26
mcm-8346t: 5'-ATA CCG GAG ATC ATG CAA GC-3'	SEQ ID NO: 27
mcm-7338: 5'-CTA GGC CAC AGA ATT GAA AGA TCT-3'	SEQ ID NO: 28
mcm-7339: 5'-GTA GGT GGA AAT TCT AGC ATC ATC C-3'	SEQ ID NO: 29

Inyección de tamoxifeno y recolección de tejido

A ratones jóvenes (14 días de edad) y ratones adultos (3-5 meses de edad) se les inyectaron una vez 40 mg/kg de tamoxifeno (Sigma) disueltos en aceite de maíz (Sigma). Los ratones se sacrificaron mediante eutanasia por CO_2 o se anestesiaron con una mezcla gaseosa de Isoflurano al 1,5 % (BioMac) y 1,5LO_2 en diversos puntos temporales después de la inyección de tamoxifeno. Se indujo un paro cardíaco mediante la inyección de KCl al 15 %, seguido de lavado con PBS para retirar la sangre. Los corazones para la inclusión en parafina se aclararon adicionalmente con paraformaldehído (PFA) al 4 %, se dejaron en paraformaldehído (PFA) al 4 % durante la noche, se deshidrataron en etanol al 70 % durante al menos 24 h y se incluyeron en parafina. Los corazones para la criosección se incluyeron en goma de tragacanto (Sigma), se congelaron en isopentano (BDH-AnalaR) enfriado en N_2 líquido, se cortaron en secciones de 9 µm con criostato (Leica CM3050), se recogieron en portaobjetos cargados y se almacenaron a -20 °C para la tinción histológica y de inmunofluorescencia. Los corazones para la extracción de proteínas y ARN se congelaron instantáneamente en N2 líquido y se almacenaron para su posterior procesamiento.

Aislamiento de cardiomiocitos

El aislamiento de cardiomiocitos se realizó de acuerdo con el protocolo convencional [M. Ackers Johnson *et al.*, *Circulation Research* 119: 909 (2016)]. Brevemente, los ratones se anestesiaron con isoflurano (O_2 al 100 % a 0,5 l/min, dial del atomizador de isoflurano al 4 %). Los corazones de los ratones se detuvieron con KCl al 15 %, la

aorta descendente se cortó y los corazones se lavaron con 7 ml de tampón EDTA en el ventrículo derecho. Se pinzó la aorta ascendente usando pinzas de Reynolds, se extrajo todo el corazón y se colocó en un plato de 60 mm que contenía tampón EDTA fresco. Los corazones se digirieron mediante inyecciones secuenciales de 10 ml de tampón EDTA, 3 ml de tampón de perfusión y 30-50 ml de tampón de colagenasa en el ventrículo izquierdo. Se usaron pinzas para tirar suavemente del corazón digerido en trozos más pequeños ~ 1 mm y trituración suave. La actividad enzimática se inhibió mediante la adición de 5 ml de tampón de Parada. La suspensión celular se hizo pasar a través de un filtro de 100 um y cuatro rondas secuenciales de sedimentación por gravedad para enriquecer los miocitos, obteniendo en última instancia una fracción de miocitos altamente pura. El sedimento de miocitos se congeló instantáneamente en N_2 líquido y se almacenó a -80 °C hasta su posterior procesamiento.

Microscopía histológica y de inmunofluorescencia

Para los estudios histológicos, se tiñeron secciones (9 mm) con Hematoxilina y Eosina convencionales para la morfología celular, tinción tricrómica de Masson para detectar colágeno y ensayo TUNEL para detectar núcleos apoptóticos. Las imágenes se obtuvieron en un microscopio Zeiss Axio Imager. Para la inmunofluorescencia en cortes de corazón congelados, las secciones se calentaron a temperatura ambiente, se rehidrataron con PBS, se bloquearon con bloque M.O.M (Vector Shields) y suero de burro (Sigma-Aldrich), y se incubaron con anticuerpos primarios durante la noche a 4 °C. Después, los portaobjetos se lavaron en PBS y se incubaron con anticuerpos secundarios y colorante Hoechst (Sigma-Aldrich) durante 60 minutos, se lavaron con PBS y se montaron en reactivo Prolong-Gold Anti-fade (Invitrogen). Anticuerpos primarios: LMNA/C N-18 (cabra, 1:50, Santa Cruz), Sun1 monoclonal (ratón, puro, de B. Burke), PCM-1 (conejo, 1:200, Sigma) y sarcómero-α-actinina (ratón, 1:100, abcam); Los anticuerpos secundarios fueron: Alexa Fluor 488, 568 y 647 (1:250, Invitrogen). Para la inmunofluorescencia de cardiomiocitos aislados, los miocitos se tiñeron en suspensión y se centrifugaron suavemente para cada cambio de solución, después se sembraron en portaobjetos de vidrio para obtener imágenes con un microscopio confocal invertido Zeiss LSM510.

Análisis Western para LMNA, SUN1, marcador Ha y GFP.

Se homogeneizaron músculos enteros de los corazones y cuádriceps en tampón de lisis RIPA y se centrifugaron a 13.200 g, 10 min, 4 °C. Los lisados celulares totales se sometieron a electroforesis y se transfirieron a una membrana de PVDF y se bloquearon con Tampón Odyssey Blocking (Li-Cor Biosciences). La membrana se incubó con anticuerpos primarios durante 2 h a temperatura ambiente. Después de esto, la membrana se lavó en solución de lavado de TBST y se incubó en anticuerpos secundarios Odyssey IRDye durante 1 h antes de la visualización en el sistema de imágenes por infrarrojos Odyssey (Li-Cor Biosciences). Los anticuerpos primarios utilizados para la detección de LMNA/C (conejo, Cell Signalling) que es específico de un epítopo en los primeros 50 aminoácidos en LMNA, fueron Sun1 monoclonal (ratón, 1:500, Burke) y beta-tubulina de control (conejo, 1:1000, Abcam).

Medición de la fuerza activa del músculo papilar cardíaco.

Se preparó músculo papilar de ratón del ventrículo izquierdo de ratón de acuerdo con los métodos descritos antes [C. N. Toepfer, *et al.*, *J Physiol* 594: 5237-5254 (2016)]. Brevemente, el corazón de ratón explantado se aclaró inmediatamente con solución oxigenada de Krebs-Henseleit enfriada con hielo con 12 unidades/ml de heparina de sodio (EDQM) y monoxima de 2,3-butanodiona 30 mM (BDM, Sigma) y se retiró el exceso de sangre. Después de eso, el corazón se transfirió a una solución de Krebs-Henseleit enfriada con hielo en una placa de Petri de vidrio bajo un microscopio de disección con una fase de enfriamiento. Se extirparon papilas cilíndricas (200-300 mm de diámetro y 1,5-2 mm de longitud) del ventrículo izquierdo. Se engarzaron clips de aluminio en forma de T con un orificio en los extremos de una preparación papilar y los trozos papilares preparados se fijaron con alfileres en una placa de Petri de vidrio con una capa de PDMS sylgard 184 (Dow Corning). Las preparaciones papilares se sumergieron en una solución Triton X-100 al 2 % a 4 °C durante la noche.

La medición de la fuerza se realizó como se describió anteriormente [C. Toepfer *et al.*, *J Biol Chem* 288: 13446-13454 (2013)]. Los clips de aluminio en forma de T en los extremos de las preparaciones papilares se unieron a los ganchos de un transductor de fuerza (AE801, HJK Sensoren+Systeme) y un servomotor en el equipo experimental y se pegaron con goma laca en etanol (Sigma) para minimizar el movimiento durante el experimento. La fuerza de contracción papilar se midió a 20 °C. La fuerza de contracción máxima se midió en solución activa (TES 100 mM, MgCl2 6,5 Mm, Ca-EGTA 25 mM, Na2ATP 5,7 mM, Glutatión 20 mM, fosfato de creatina de sodio 21,5 mM, pH = 7,1, la fuerza iónica es de 150 mmol/l) con 32 mmol/l de Ca2+ libre. Los datos se recopilaron y procesaron desde el transductor de fuerza y el dispositivo de obtención de datos DAQ (National Instrument) usando un software personalizado programado por LabVIEW 2013 (National instrument). Se sometieron a ensayo al menos 5 fibras en cada ratón y al menos 3 ratones para cada grupo experimental.

Virus AAV9-DN-Sun1 y AAV9-GFP

Los vectores DN-Sun1 (SS-HA-Sun1L-KDEL) y GFP (SS-GFP-KDEL) fueron como se describe [M. Crisp *et al.*, *J Cell Biol*. 172: 41-53 (2006)]. Brevemente, casi todo el dominio luminal de Sun1 se marcó en su extremo NH_2 con HA (HA-Sun1L). Para introducir el HA-Sun1L como una forma soluble en el lumen del RE y EPN, la secuencia señal y el sitio de escisión de peptidasa señal de la albúmina sérica humana se fusionaron con el extremo NH_2 de HA-Sun1L para

producir SS-HA-Sun1L. Para evitar su secreción, un tetrapéptido KDEL se fusionó con el extremo COOH de SS-HA-Sun1L para formar el SS-HA-Sun1L-KDEL final. La región HA-Sun1L se reemplazó con la secuencia de GFP para generar SS-GFP-KDEL.

Los fragmentos de DN-Sun1 y GFP se amplificaron con los cebadores que se enumeran a continuación (se usó el mismo cebador directo para ambos fragmentos) y se ligaron en el plásmido pENN-AAV-cTnT-PI-eGFP (amable regalo del Dr. Jian), se digirieron con Ncol y Kpnl, para producir Penn-AAV-cTnT-Sun1DN (Figura 10; SEQ ID NO: 3).

Sun1 F de aav	5'-CgagaattcacgcgggccgccATGAAGTGGGTAACCTTTATTTC-3'	SEQ ID NO: 30
Sun1 R de aav	5'-CgggtcgactctagaggtaccttaCTACAACTCATCTTTCTGGATG-3'	SEQ ID NO: 31
aav GFP Sun R	5'-CgggtcgactctagaggtacttaCTACAACTCATCTTTGGATCC-3'	SEQ ID NO: 32

Todas las enzimas de restricción se adquirieron en NEB. Las reacciones de PCR se realizaron usando la mezcla maestra Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix (NEB, M0494L). Las ligaduras se realizaron usando ensamblaje isotérmico con mezcla maestra NEBuilder® HiFi DNA Assembly Master Mix (NEB, E2621L). Los cebadores utilizados para construir los plásmidos se solicitaron a IDT.

Los virus AAV se produjeron de acuerdo con el protocolo convencional [H. wakimoto, *et al.*, en *Current Protocols in Molecular Biology*. (John Wiley & Sons, Inc., 2001)]. Materiales suministrados por R. Foo: pAAV2/9- el trans-plásmido que codifica el gen de la cápside y la replicasa de AAV (SEQ ID NO: 2; disponible en la Universidad de Pensilvania Penn Vector Core); pAdDeltaF6 - el plásmido auxiliar adenovírico (SEQ ID NO: 1) (disponible en University of Pennsylvania Penn Vector Core); QIAGEN Plasmid Maxi Kit; Células HEK293T (ATCC); Reactivo de transfección (polietilenimina, por ejemplo, Polysciences). La cápside de AAV-DJ se obtuvo de Cell Biolabs, Inc. Los plásmidos pAAV2/9, AAV-DJ, pAdDeltaF6, DN-Sun1 y GFP se purificaron usando un kit QIAGEN Plasmid Maxi Kit. Las células HEK293T se transfectaron con la combinación vírica de pAAV2/9, pAdDeltaF6 y plásmidos DN-Sun1 o GFP. Las células se recogieron y el virus se purificó mediante ultracentrifugación en gradiente de lodixanol.

Se usó la siguiente línea temporal para la infección de los corazones de los ratones. Los ratones se genotiparon a los 10 días después del nacimiento. Después se sometieron a 1 inyección IP de Tmx (40 mg/kg de peso del ratón) 14 días después del nacimiento, seguido de una concentración de 5×10^10 vg/g de virus AAV9-DN-Sun1 o AAV9-GFP inyectado en la cavidad torácica 15 días después del nacimiento. A ratones adultos (3-5 meses de edad) se les inyectó IP una dosis única de Tmx (40 mg/kg de peso del ratón), seguido de inyección de AAV a una concentración de 5×10^10 vg/g del virus AAV9-DN-Sun1 o AAV9-GFP en la cavidad torácica. Se anestesiaron ratones jóvenes y adultos con una mezcla gaseosa de Isoflurano al 1,5 % (BioMac) y 1,5 l de O_2 antes de las inyecciones de virus.

Construcción de plásmidos y generación de ARNm y ARNgu de Cas9

Se obtuvo pX330 de Addgene (n.º 42230, Cambridge, MA, EE.UU.). Las secuencias de ARN de guía única (ARNgu) de Sun1 y Syne1 de 20 nt se diseñaron con la ayuda de la herramienta de diseño CRISPR (crispr.genome-engineering.org). Se envió una región del gen de interés a la herramienta para identificar sitios diana adecuados. Puesto que las mutaciones inespecíficas son posibles en la mutagénesis dirigida mediada por CRISPR/Cas9 en el ratón, la herramienta de diseño CRISPR es capaz de evaluar experimentalmente modificaciones genómicas inespecíficas para cada sitio diana de ARNg y proporcionar sitios inespecíficos predichos por ordenador para cada diana prevista, clasificar la secuencia diana de acuerdo con el análisis de especificidad cuantitativa sobre los efectos de la identidad, posición y distribución del emparejamiento erróneo de pares de bases. Los oligonucleótidos complementarios que contenían las secuencias diana de ARNg se hibridaron y clonaron en el sitio Bbsl de pX330. Las secuencias de ARN guía fueron las siguientes:

5'-GCACAATAGCCTCGGATGTCG-3' para Sun1ΔSUN,	(SEQ ID NO: 33)
5'-CCGTTGGTATATCTGAGCAT-3' para Syne1-parada,	(SEQ ID NO: 34)
5'-GGTTATGGCCGATAGGTGCAT-3' para Tirosinasa4a	(SEQ ID NO: 35)

Después, estos plásmidos (pSun1ΔSUN, pSyne1-parada y pTyrosinase4a) se secuenciaron para verificar la inserción correcta de las secuencias diana. Para la transcripción *in vitro*, se realizó una PCR para generar las plantillas de transcripción apropiadas usando un cebador inverso común (AAAAGCACCGACTCGGTGCC-3'; SEQ ID NO: 36) y cebadores directos específicos de ARNg que codificaban la secuencia del promotor T7 de la siguiente manera:

Sun1ΔSUN: 5'-TTAATACGACTCACTATAGCACAATAGCCTCGGATGTCG-3' (SEQ ID NO: 37);
Syne1-parada: 5'-TTAATACGACTCACTATAGCCGTTGGTATATCTGAGCAT-3' (SEQ ID NO: 38);

Tyrosinase4a: 5'-TTAATACGACTCACTATAGGTTATGGCCGATAGGTGCAT-3' (SEQ ID NO: 39)

Los productos de la PCR de ARNg se sometieron después a electroforesis en gel de agarosa (agarosa al 1,5 %) para confirmar la PCR satisfactoria, el gel se purificó y se usó como molde para la transcripción *in vitro* usando el kit MEGAshortscript T7 (Life Technologies). Los ARNg se purificaron usando el kit MEGAclear (Life Technologies) y se eluyeron en agua libre de ARNasa. Después, una muestra de ARNg purificado se sometió a electroforesis en gel de agarosa para realizar controles de calidad antes de inyectarlos en los cigotos.

Generación de ratones mutantes usando CRISPR/Cas9

Se superovularon hembras C57BL/6N de 3 a 4 semanas de edad con gonadotropina de suero de yegua embarazada (Calbiochem, 36722, 5 UI/ml). 48 horas más tarde, a las hembras se les inyectó gonadotropina coriónica humana (Sigma, CG10, 5 UI/ml) y se aparearon con machos C57BL6. Al día siguiente, se recogieron embriones fertilizados de 0,5 dpc de los oviductos. Se coinyectaron ARNm de Cas9 (Sigma, CAS9MRNA, 100 ng/ul), ARNg de tirosinasa 4a (50 ng/ul) y ARNg específico de gen (50 ng/ul) en el citoplasma de los embriones en medio M2 (EmbryoMax® Sigma) usando un sistema de microinyección (Nikon). Se usó ARNgu de Syne1-parada para derivar ratones mutantes de Syne1 C'T y se usó ARNgu de Sun1ΔSUN para derivar ratones mutantes de Sun1ΔSUN. Los cigotos inyectados se cultivaron en KSOM con aminoácidos (EmbryoMax® Sigma) en una incubadora mantenida a 37 °C con CO_2 al 5 % y O_2 al 5 % durante 2 horas antes de implantarlo en hembras C3H-ICR pseudopreñadas de 0,5 dpc.

Extracción de ADN para genotipado de ratones CRISPR/Cas9

Se cortaron las colas de los ratones y se colocaron cada una en un tubo Eppendorf de 1,5 ml. Se dispensaron 80 *m*l de tampón de lisis (NaOH 25 mM, EDTA 0,2 mM, pH 12) en el tubo y se calentaron a 95 °C durante 60 minutos. Después del calentamiento, el tampón se neutralizó con un volumen igual de Tris-HCl 40 mM, pH 5. Para determinadas aplicaciones, el ADN se extrajo y se purificó a partir de colas de ratón usando el kit DNeasy Blood and Tissue (QIAGEN).

Genotipado de ratones CRISPR/Cas9

Los ratones mutantes modificados por CRISPR se genotipificaron mediante PCR seguida de electroforesis en gel usando una agarosa de alta resolución (agarosa MetaPhor al 2 %, Lonza).

Los cebadores para los ratones Syne1CT'Δ8 fueron:

Directo: 5'-TGCTCCTGCTGCTGCTTATT-3' SEQ ID NO: 40 y
Inverso: 5'- ACATGGTGGAGCATTTGTCTCC -3' SEQ ID NO: 41

Los cebadores para ratones de CRISPR de Sun1 fueron:

Directo: 5'-TGACCTTGAGCTGAAACTGC-3' SEQ ID NO: 42 y
Inverso: 5'-TCAGAACACTGGCACACACA-3' SEQ ID NO: 43

Los ratones mutantes de Lmna se genotipificaron como se describe en el Ejemplo 1. Para determinar la secuencia de mutaciones inducidas por CRISPR, los productos de PCR de ADN de cola de ratón se sometieron a clonación TOPO (Zero BluntTM TOPOTM PCR Cloning Kit, 450245, Thermo Fisher Scientific). Se aisló ADN plasmídico de al menos 10 colonias bacterianas usando un kit mini-prep (QIAGEN, QIAprepSpin, Miniprep Kit) y se envió para secuenciación Sanger.

Derivación de mioblastos, fibroblastos y cultivo celular para el estudio de CRISPR/Cas9

Para aislar mioblastos, se obtuvieron extremidades de ratones sacrificados y los músculos se diseccionaron del hueso. La digestión del tejido se realizó incubando los tejidos musculares en una solución enzimática que consistía en volúmenes iguales de dispasa II (Roche, cat. 04942078001) a una concentración de 2,4 U/ml y colagenasa II al 1 % (GIBCO® invitrogen, cat 17101-015) en un baño de agua a 37 °C durante 30 minutos, con mezcla ocasional a intervalos de 10 minutos. Después de 30 minutos, la solución enzimática se neutralizó en medio D10 (medio Eagle modificado de Dulbeco (DMEM) con suero bovino fetal al 10 %). Después, la mezcla se filtró a través de un filtro estéril de 70 µm (BD FalconTM, cat 352350) y un filtro estéril de 40 µm (BD FalconTM, cat 352340). Después, la suspensión se centrifugó, el sobrenadante se retiró y se resuspendió posteriormente en medio F10 (GIBCO® Invitrogen, cat. 11550043) suplementado con bFGF 10 µg/ml (GIBCO®, cat PHG0264) y se sembró en placas de 100 mm. Se permitió que los fibroblastos adultos de ratón se asentaran durante 2 a 3 horas antes de recoger el sobrenadante (con mioblastos flotantes) y se volvieron a sembrar en placas de 60 mm recubiertas con gelatina al 0,15 % (Sigma, cat G1393). Se añadió medio D10 a las placas de 100 mm con MAF. Para diferenciar terminalmente mioblastos a miotubos, el medio se cambió a DMEM suplementado con suero de caballo al 2 % (Thermo Fisher Scientific GIBCO®, cat 16050122).

Inmunotransferencia para el estudio de CRISPR/Cas9

Se generaron lisados de células completas usando la solución del kit Lysis-M (cOmplete; Roche). Las células se lavaron en PBS enfriado con hielo y se lisaron con tampón Roche Lysis M y se centrifugaron a 14.000 g durante 10 minutos para retirar los restos celulares. Para extraer proteínas de una muestra de tejido, se colocaron rápidamente pequeños cortes de tejido en tubos Lysing Matrix D (MP Biomedicals) y se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido. Después de la congelación rápida, los tubos se almacenaron a -80 °C o se usaron directamente para el análisis de proteínas. Se añadió a los tejidos tampón de extracción de proteínas (Tris 50 mM (pH 7,4), NaCl 500 mM, SDS al 0,4 %, EDTA 5 mM (pH 7,4), 1x inhibidor de proteasa (Cóctel de inhibidores de proteasa sin EDTA cOmpleteTM, N.º de Cat. 04693159001, Roche), Tritón al 2 %, Ditiotreitol 1 mM, en agua destilada), que después se homogeneizaron usando el instrumento FastPrepTM-24 (MP Biomedicals). Después, las muestras se centrifugaron a 14.000 g durante 10 minutos para retirar los residuos celulares. La concentración de proteína se cuantificó usando el kit de proteína de ácido bicinconínico (BCA) (Bio-Rad) antes de cargar las muestras de proteína en un gel de poliacrilamida para garantizar que se analizaran cantidades iguales. Todas las muestras de proteínas se resolvieron mediante análisis de gel de SDS-PAGE y se transfirieron a una membrana de fluoruro de polivinilideno (PVDF) (Millipore) mediante transferencia húmeda durante 48 horas a 20V a 4 °C. Las membranas se bloquearon en TBS que contenía Tween 20 al 0,1 % (TBST) suplementado con leche en polvo al 5 % (Anlene) durante 1 hora a temperatura ambiente. El análisis por transferencia Western se realizó usando anticuerpos primarios diluidos en leche en polvo al 5 % (diluida en TBST). Las membranas se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente o durante la noche a 4 °C. Para anticuerpos secundarios, se usaron anticuerpos conjugados con peroxidasa de rábano picante (HRP) (Invitrogen) para la formación de imágenes quimioluminiscentes. Las membranas se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente con los anticuerpos secundarios. Para inmunotransferencias visualizadas por quimioluminiscencia, las membranas se incubaron en sustrato ECL (Pierce) durante 1 minuto antes de exponerlas a una película sensible a la quimioluminiscencia (Thermo Scientific) y posteriormente se procesaron.

Inmunofluorescencia para el estudio de CRISPR/Cas9

Las células se cultivaron en portaobjetos de 8 pocillos (Ibidi) y se fijaron en metanol helado durante 15 minutos a -20 °C. Después se aclararon dos veces en PBS y se permeabilizaron y bloquearon con Triton X al 0,1 %, BSA al 3 % en PBS durante 15 minutos a temperatura ambiente. Después, las células fijadas y permeabilizadas se aclararon en PBS tres veces. Después, las muestras se incubaron con anticuerpos primarios (Tabla 2) durante 2 horas a temperatura ambiente o durante la noche a 4 °C. Después, las muestras se lavaron con PBS tres veces y posteriormente se incubaron con anticuerpos secundarios (Life Technologies) y DAPI (Life Technologies) durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de tres lavados en PBS, las células se montaron en Anti-fade (DABCO al 1 %, Glicerol al 90 %, PBS al 10 %) y se inspeccionaron usando un microscopio Zeiss 510 Meta Confocal o un microscopio de epifluorescencia invertida Axiovert 200 (Zeiss). Las imágenes se registraron y analizaron usando el software Zeiss ZEN, Software Metamorph o Image J (NIH).

Tabla 2: Anticuerpos utilizados para el estudio de inmunofluorescencia.

Anticuerpo	**Tipo y fuente**	**.Concentración**
Akap450, HPA-026109	Policlonal, Sigma	0,1:500
MF20	Monoclonal, DSHB	1:25.
Nesp1 (MANNES1A)	Monoclonal, Glenn Morris	1:1000 (Western) 1:50 (IF)
Nesp1-C'T	Monoclonal, Brian Burke	Sobrenadante sin diluir
LaminaA, ab8984	Monoclonal, Abeam	1:200
LaminaA, SSD	Monoclonal, Brian Burke	1:200
Pcm-1, HPA-023374	Policlonal, Sigma	1:100
Pent, ab4448	Policlonal, Abcam	1:100
Sun1-9F10	Monoclonal, Brian Burke	1:200
Sun2-3.1E	Monoclonal, Brian Burke	1:500
Nesprina-2	Policlonal, MyBiosource.com	1:500

Genética de ratones

Los ratones Lmna y la inyección de tamoxifeno se describieron en el Ejemplo 1. Para obtener ratones dobles mutantes de $Lmna^{\Delta/\Delta}$:$Syne1^{C'T\Delta8/C'T\Delta8}$ y $Lmna^{Fix/Flxmcm}$:$Syne1^{C'T\Delta8/C'T\Delta8}$, se intercruzaron ratones $Lmna^{\Delta/+}$ o $Lmna^{Flx/Flxmcm}$ con ratones $Syne1^{C'T\Delta8/C'T\Delta8}$. En el modelo de ratón de Syne2, se insertó un casete seleccionable de neomicina IRES-β-gal (PgkNeo) flanqueado por sitios loxP en el gen Syne2, dando como resultado la supresión de parte del exón 102 y todos los exones 103-104. El casete de neomicina se eliminó posteriormente cruzando con ratones Cre recombinasa. Los ratones $Syne1^{C'T\Delta8/+}$ o $Syne1^{C'T\Delta8/\ C'T\Delta8}$ se cruzaron con ratones $Syne2^{+/-}$ o $Syne2^{-/-}$ para obtener ratones con alelos Syne1 y Syne2 mutantes, que se entrecruzaron para obtener ratones mutantes dobles. Se usó el método de Kaplan-

Meier para dibujar las curvas de supervivencia.

Secuencias de ARN guía humano

Las posibles secuencias de ARN guía para alterar el dominio SYNE1 KASH humano o el dominio SUN1 SUN se determinaron usando la herramienta CRISPR en el software Benchling (Benchling Inc. EE.UU.) y se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Posibles secuencias de ARN guía para el direccionamiento a los exones finales en los genes humanos SYNE1 (Nesprina-1) o SUN1

Nombre del gen	ID del gen ENSEMBL	Cromosoma	Posición	Cadena	Secuencia	PAM	Enzima CRISPR	SEQ ID NO:
SYNE1	ENSG00000131018	6	515330	-	TCGTGTATCTGAGCATGGGG	TGGAAT	saCas9	44
SYNE1	ENSG00000131018	6	515335	-	GCCATTCGTGTATCTGAGCA	TGGGGT	saCas9	45
SYNE1	ENSG00000131018	6	515340	+	TCCACCCCATGCTCAGATAC	ACGAAT	saCas9	46
SYNE1	ENSG00000131018	6	515320	-	GAGCATGGGGTGGAATGACC	GGG	spCas9	47
SYNE1	ENSG00000131018	6	515321	-	TGAGCATGGGGTGGAATGAC	CGG	spCas9	48
SYNE1	ENSG00000131018	6	515330	-	TCGTGTATCTGAGCATGGGG	TGG	spCas9	49
SYNE1	ENSG00000131018	6	515333	-	CATTCGTGTATCTGAGCATG	GGG	spCas9	50
SYNE1	ENSG00000131018	6	515334	-	CCATTCGTGTATCTGAGCAT	GGG	spCas9	51
SYNE1	ENSG00000131018	6	515335	-	GCCATTCGTGTATCTGAGCA	TGG	spCas9	52
SYNE1	ENSG00000131018	6	515345	+	CCCATGCTCAGATACACGAA	TGG	spCas9	53
SYNE1	ENSG00000131018	6	515333	+	CCCGGTCATTCCACCCCATG	TTTG	Cpf1	54
SUN1	ENSG00000164828	7	873276	+	TTTTTCTAACTGGGGCCATC	CTGAGT	saCas9	55
SUN1	ENSG00000164828	7	873285	-	CCGATACAGACAGGTATACT	CAGGAT	saCas9	56
SUN1	ENSG00000164828	7	873266	+	AACTTCGGATTTTTTCTAAC	TGG	spCas9	57
SUN1	ENSG00000164828	7	873267	+	ACTTCGGATTTTTTCTAACT	GGG	spCas9	58
SUN1	ENSG00000164828	7	873268	+	CTTCGGATTTTTTCTAACTG	GGG	spCas9	59
SUN1	ENSG00000164828	7	873280	-	ACAGACAGGTATACTCAGGA	TGG	spCas9	60
SUN1	ENSG00000164828	7	873296	+	CTGAGTATACCTGTCTGTAT	CGG	spCas9	61
SUN1	ENSG00000164828	7	873281	+	TTCTAACTGGGGCCATCCTG	TTTT	Cpf1	62
SUN1	ENSG00000164828	7	873282	+	TCTAACTGGGGCCATCCTGA	TTTT	Cpf1	63
SUN1	ENSG00000164828	7	873283	+	CTAACTGGGGCCATCCTGAG	TTTT	Cpf1	64
SUN1	ENSG00000164828	7	873284	+	TAACTGGGGCCATCCTGAGT	TTTC	Cpf1	65

PAM, motivo adyacente al protoespaciador; saCas9, Cas9 de *Staphylococcus aureus*: Cas9 de *spCas9,-Streptococcus pyogenes*; Cpf1, CRISPR de *Prevotella y Francisella 1.*

Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el software Graphpad Prism.

Ejemplo 2

La pérdida específica de cardiomiocitos de *Lmna* da como resultado la aparición rápida de insuficiencia cardíaca

Para definir adicionalmente la interacción entre *Sun1* y *Lmna* en patología posnatal en ratones, los presentes inventores extirparon específicamente el gen *Lmna* en diferentes tejidos mediante el uso de una estirpe de ratones $Lmna^{Flx/Flx}$ condicional (Figura 33), que cuando se recombinan por activación por Cre, dan como resultado la pérdida completa de la proteína LaminaA/C [A. S. Wang, *et al.*, *Differentiation; research in biological diversity*, (2015); I. Solovei *et al.*, *Cell* 152: 584-598 (2013)]. Cuando se suprimió constitutivamente $Lmna^{Flx/Flx}$ en todos los tejidos cruzando los ratones $Lmna^{Flx/Flx}$ con ratones *Zp3-Cre* [W. N. de Vries *et al.*, *Genesis* 26: 110-112 (2000)], la esperanza de vida posnatal media fue de 17,5 días (Fig. 26A). Cuando se indujo la misma supresión en ausencia de *Sun1,* los ratones $Lmna^{\Delta/\Delta}$*:*$Sun1^{-/-}$ vivieron una media de 32,5 días, casi una duplicación de la longevidad (Fig. 26A). Realizando la misma supresión de *Lmna* en un entorno nulo en *Sun2* no prolongó la longevidad de los ratones $Lmna^{\Delta/\Delta}$, lo que revela que la prolongación de la longevidad es específica de la pérdida de *Sun1* (Figura 36). Puesto que las laminas de tipo A se expresan ampliamente en casi todos los tejidos adultos, los presentes inventores después determinaron en qué medida, la supresión de *Lmna*, específicamente en los cardiomiocitos, contribuye a la muerte precoz después del nacimiento de los ratones $Lmna^{\Delta/\Delta}$. Además, los inventores deseaban determinar si la pérdida de *Sun1* aumentaría la longevidad en estos ratones que albergan cardiomiocitos deficientes en *Lmna.* En primer lugar, los presentes inventores cruzaron los $Lmna^{Flx/Flx}$ con un myh6 Cre constitutivo [R. Agah *et al.*, *J Clin Invest* 100: 169-179 (1997)], en el que la expresión de Cre, aunque constitutiva, se limita a los cardiomiocitos pero comienza durante la embriogénesis. Estos ratones sobrevivieron ligeramiente más que los $Lmna^{\Delta/\Delta}$ a un promedio de 26,5 días después del nacimiento (Figura 26C). Cuando se realizó la misma supresión específica de cardiomiocitos en un entorno $Sun1^{-/-}$, esto dio como resultado un aumento significativo en la longevidad de al menos 6 meses y más después del nacimiento (Figura 26C). Para definir adicionalmente la pérdida de *Lmna* y su efecto en cardiomiocitos posnatales/adultos los presentes inventores derivaron ratones homocigotos para el alelo $Lmna^{Flx/Flx}$ que porta la Cre Tg (Myh6-cre/Esr1) específica de cardiomiocitos inducible, (en el presente documento abreviada *mcm)* en el que la Cre es inducida por una única inyección de tamoxifeno (Tmx) [D. S. Sohal *et al.*, *Circ Res* 89: 20-25 (2001)]. A partir de este cruce, la esperanza de vida promedio de 3-5 meses de edad de los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$, después de la inducción por Cre fue de 27 días (Figura 27A). Los controles no se vieron afectados por la inyección de Tmx. La PCR y el análisis por inmunofluorescencia confirmaron que la supresión de *Lmna* fue específica para los cardiomiocitos $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$, sin que se produjera una recombinación detectable en el cerebro, diafragma, pulmón, hígado y músculo esquelético, o en animales de control de tipo silvestre (Figura 27B). 21 días después de la inyección, los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ mostraron dificultad para respirar, un aspecto despeinado, no acicalado, aumento del letargo y cifosis (Figura 27C). El análisis por inmunofluorescencia de cardiomiocitos (CM) aislados y secciones de corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ mostraron niveles reducidos de proteína LaminaA y núcleos de cardiomiocitos sin ninguna expresión de LaminaA (Figura 27D). Los niveles de proteína LaminaA se redujeron 3,5 veces en los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ después de la inducción por Cre en comparación con los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ y $Lmna^{+/+/\,mcm}$ sin inducir (Figura 27E). Mediante el muestreo de los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ en puntos temporales específicos después de la inyección de Tmx, se estimó que se necesitan 7-14 días después de la inducción por Cre para que los niveles de proteína LMNA caigan un 50 % (datos no mostrados), una tasa coherente con un estudio usando inactivación de *LMNA* por ARNip en fibroblastos humanos en 1,3 veces después de 48 horas y una reducción adicional de 4 veces después de 10,5 días [A. Buchwalter y M. W. Hetzer, *Nature communications* 8: 328 (2017); T. Sieprath *et al.*, *Nucleus* 6: 236-246 (2015)]. Los ecocardiogramas (ECG) realizados 21 días después de la inducción por Cre revelaron una contractilidad cardíaca deficiente en los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ en comparación con los controles $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ (Figura 28A). Hubo una reducción significativa en la Fracción de eyección (% de FE) y el acortamiento fraccional (% de AF) ($P < 0,0001$) (Figura 28B). Los diámetros internos del ventrículo izquierdo sistólico y diastólico (DIVI) estaban aumentados, en comparación con los controles $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ (Figura 28B). Se aislaron significativamente menos cardiomiocitos viables (similares a un ladrillo) de los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx en comparación con controles de $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ (Figura 28C). El análisis visual reveló los cardiomiocitos aislados de los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx contenían vacuolas intracelulares grandes (Figura 28C). El análisis histológico de los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx, reveló la infiltración de células nucleadas y el aumento de los espacios intercelulares entre los cardiomiocitos en comparación con los corazones de control $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ (Figura 28D). La luz del ventrículo izquierdo en los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ + Tmx se agrandó significativamente, junto con niveles significativamente mayores ($P = 0,0098$) de fibrosis se observaron en los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx en comparación con en los controles $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ (Figura 28D). También se identificó un mayor número de células apoptóticas en los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx en comparación con los corazones de control (Figura 28D). Sin embargo, no hubo evidencia de daño extenso en el ADN detectable en los cardiomiocitos, según lo evaluado mediante Rad51, MRE11, H2AX fósforo-Ser e inmunotinción de 53BP1 (datos no mostrados).

Ejemplo 3

La supresión de *Sun1* mejora la patología cardíaca inducida por la pérdida de *Lmna*

Los ratones con mutaciones de *Lmna* muestran un aumento significativo en la longevidad y la salud en ausencia de *Sun1* [C. Y. Chen *et al.*, *Cell* 149: 565-577 (2012)]. Como se ha descrito, la supresión inducida de *Lmna* en cardiomiocitos ($Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx) da como resultado la muerte en 1 mes después de la inducción por Cre (Figura 26C). Sorprendentemente, cuando se indujo la misma supresión en un entorno nulo para *Sun1*, los ratones sobrevivieron durante más de 1 año después de la inducción por Cre (Figura 26C). Los corazones de los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{-/-}$+Tmx, 3 semanas después de la inducción, se compararon con los de $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{+/+}$+Tmx para determinar en qué medida la pérdida de SUN1 mejoró los cambios patológicos inducidos por la pérdida de *Lmna* en cardiomiocitos. Las imágenes inmunofluorescentes para Lamina A/C identificaron muchos núcleos alargados y distorsionados. En algunos de estos, la Lamina A/C residual se desplazó a un polo del núcleo (Figura 29A, panel 1 y recuadro) en los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{+/+}$+Tmx. A diferencia de los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{-/-}$ +Tmx, aunque había muchos núcleos alargados, estos mostraron pocas distorsiones, si es que alguna, incluso cuando no hubo tinción con Lamina A/C (Figura 29A, panel 3, puntas de flecha de color amarillo). El análisis por Western de los corazones enteros reveló una reducción significativa de Lamina A/C en los lisados de corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{-/-}$ +Tmx (P = 0,0359) en comparación con los controles $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{+/+}$ (Figura 29A, paneles inferiores). Los núcleos de cardiomiocitos $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{+/+}$+Tmx presentaron una longitud longitudinal aumentada, junto con un aspecto segmentado, con los segmentos conectados por puentes estrechos (Figura 29A y C, flechas del panel 1). Sin embargo, en ausencia de *Sun1,* los núcleos de cardiomiocitos $Lmna^{Flx/Flxmcm}Sun1^{-/-}$ no mostraron anomalías ni segmentación (Figura 29C, paneles 3 y 4). En total, el 70 % de los cardiomiocitos en los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{+/+}$ tenían núcleos rotos o deformados en comparación con menos del 1 % de los cardiomiocitos del $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{-/-}$ (Figura 29C, panel 5).

Se evidenció un claro agrandamiento del ventrículo izquierdo (VI) en los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{+/+}$ pero no en los VI de lo corazones $Lmna^{Flx/Flxmx:mcm}Sun1^{-/-}$ +Tmx (Figura 29B, paneles 1 y 2). Los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ $Sun1^{+/+}$ presentaron niveles significativamente mayores de fibrosis (P < 0,0001) en comparación con los controles, aunque no hubo fibrosis significativa en los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{-/-}$ (Figura 29B, paneles 3-5).

Como modelo para la mecánica del músculo ventricular, los presentes inventores midieron la fuerza activa en el músculo papilar cardíaco. La fuerza activa se redujo significativamente en un 66 % en el músculo papilar $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$:$Sun1^{+/+}$+Tmx (P = 0,0028) en comparación con $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ $Sun7^{+/+}$+CTL. En ausencia de SUN1, La fuerza activa papilar cardíaca $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{-/-}$+Tmx se mantuvo a niveles no significativamente diferentes de los de los controles (Figura 29B, panel 6).

Los ecocardiogramas realizados antes y después de la inducción por Cre revelaron un empeoramiento progresivo de la contractilidad cardíaca en los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ $Sun1^{+/+}$ +Tmx en comparación con los ratones $Lmna^{Flx/Fl:mcm}Sun1^{-/-}$+Tmx (Figura 29D). La pérdida de SUN1 conservó la FE, el AF y la Deformación longitudinal global (DLG) (DLG es un parámetro separado que se usa para evaluar la contractilidad miocárdica y es un mejor predictor de insuficiencia cardíaca) en los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{-/-}$ + Tmx en comparación con los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ $Sun1^{+/+}$ +Tmx.

El análisis por PCR de los corazones envejecidos $Lmna^{Flx/Flx:mcm}Sun1^{-/-}$+Tmx 12-14 meses después de la inyección de Tmx confirmó la supresión sostenida del gen *Lmna* (Figura 37C), mientras que la cuantificación de proteínas reveló una reducción significativa de los niveles de LMNA en los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ $Sun1^{-/-}$+ Tmx 12-14 meses después de Tmx (Figura 37D). El análisis histológico de los corazones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ $Sun1^{-/-}$+ Tmx de 12-14 meses no revelaron un aumento significativo de la fibrosis en comparación con los controles (Figuras 37A y B). Sin embargo, los ecocardiogramas en estos ratones envejecidos mostraron la FE y el AF reducidos en ambos ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$ $Sun1^{+/+}$ + CTL y $Lmna^{Flx/Flxmcm}Sun1^{-/-}$ + Tmx (Figura 37E), aunque la esperanza de vida promedio de los ratones $Lmna^{Flx/Flx}$ es de 13-14 meses (Figura 26C, por lo que la reducción de la función contráctil puede deberse al envejecimiento). Juntos, estos hallazgos demuestran que la pérdida de *Lmna,* en cardiomiocitos adultos (de 2-3 meses de edad) es suficiente para dar como resultado insuficiencia cardíaca 3-4 semanas después de la activación por Cre, pero la patología se reduce notablemente suprimiendo *Sun1,* manteniéndose esta reducción durante un año.

Ejemplo 4

La pérdida de SUN1 prolonga la longevidad de los mutantes de sentido erróneo de *Lmna*

Como la mayoría de los casos de MCD inducida por *LMNA* como resultado de mutaciones de sentido erróneo, los presentes inventores determinaron qué efecto tuvo la pérdida de SUN1 sobre la longevidad y la función cardíaca de una estirpe de ratón mutante en *Lmna* que porta la mutación de sentido erróneo N195K que muere de MCD [L. C. Mounkes, *et al.*, *Hum Mol Genet* 14: 2167-2180 (2005)], habiéndose identificado esta mutación en 2 pacientes no relacionados diagnosticados con DMED-AD [D. Fatkin *et al.*, *N Engl J Med* 341: 1715-1724 (1999); J. P. van Tintelen *et al.*, *Am Heart J* 154: 1130-1139 (2007)]. En este caso también, los presentes inventores descubrieron que la ausencia de SUN1 prolongó significativamente la esperanza de vida de esta estirpe de ratones mutantes con función cardíaca mejorada (Figura 26D). Los presentes inventores prolongaron estos hallazgos derivando ratones heterocigotos para la mutación de N195K, floxándose el alelo *WT-Lmna*, es decir, $Lmna^{N195K/Flx}3Sun1^{+/+}$. La inducción del alelo de Cre del cardiomiocito inducible por Tmx en estos ratones ($Lmna^{N195K/Fix:mcm}$ +Tmx) dio como resultado la

supresión del alelo de *Lmna* floxado WT que hace que los cardiomiocitos sean hemicigotos para la mutación $Lmna^{N195K/-}$. Estos ratones tenían una esperanza de vida media de menos de 50 días, una longevidad la mitad de los homocigotos $Lmna^{N195K/N195K}$ originales (Figura 30A). Cuando la mutación $Lmna^{N195K/Flx:mcm}$ +Tmx se indujo en un entorno nulo de *Sun1* la longevidad se prolongó significativamente de < 50 días a > 200 días (Figura 30A), lo que revela que la pérdida de *Sun1* también es eficaz para prevenir la MCD provocada por mutaciones de sentido erróneo *Lmna* específicamente en cardiomiocitos.

Los ecocardiogramas realizados antes y después de la inducción por Cre revelaron un empeoramiento progresivo de la contractilidad cardíaca en los ratones $Lmna^{N195K/Flx:mcm}$ $Sun1^{+/+}$ en comparación con los ratones $Lmna^{N195K/Fix:mcm}$ $Sun1^{-/-}$ (Figura 30B). La pérdida de SUN1 conservó la FE, el AF y la Deformación longitudinal global (DLG) en los ratones $Lmna^{N195K/-:mcm}Sun1^{-/-}$ en comparación con los ratones $Lmna^{N195K/-:mcm}$ $Sun1^{+/+}$ (Figura 30B).

Ejemplo 5

La transducción mediada por AAV9 y la expresión de un DNSun1 prolonga la esperanza de vida de los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$+Tmx.

Los resultados anteriores demostraron que la eliminación genética de las funciones de SUN1 o la reducción de los niveles de SUN1 podrían tener un valor terapéutico en el tratamiento de la MCD. Después, los presentes inventores sometieron a ensayo si esto se debió a la eliminación completa de las funciones de SUN1 para superar su sobreabundancia tóxica en lugar de dejar sus niveles intactos y alterar específicamente su función asociada al complejo LINC en la conexión de las proteínas de dominio KASH en la MNE, conectando de este modo el núcleo a los componentes del citoesqueleto. Para distinguir entre estas 2 posibilidades, se utilizó un virus asociado a adenovirus (AAV) para transducir y expresar, específicamente en los cardiomiocitos, un minigen SUN1 dominante negativo cuyo producto proteínico competiría con la unión de SUN1- y SUN2-KASH en el espacio perinuclear de los cardiomiocitos [M. Crisp *et al.*, *J Cell Biol* 172: 41-53 (2006)]. Una región correspondiente a todo el dominio luminal del gen *Sun1* se marcó en su extremo N con un epítopo de HA (HA-Sun1L). Para localizar el producto proteínico resultante en el retículo endoplásmico (RE) y el espacio perinuclear (entre la MNI y MNE - EPN), la secuencia señal y el sitio de escisión de peptidasa señal de la albúmina sérica humana se fusionaron con el extremo N de HA-Sun1L para producir SS-HA-Sun1L. Para evitar la secreción de la miniproteína, un tetrapéptido KDEL se unió al extremo C de SS-HA-Sun1L, formando SS-HA-Sun1L-KOEL (Figura 34). La secuencia señal garantizaría que HA-Sun1KDEL se acumule intracelularmente dentro de la luz periférica contigua del RE y el EPN. La secuencia de ADNc que codifica el minigen se fusionó con el promotor de cardiotroponina de pollo (cTnT) para garantizar que el minigen solamente se transcriba en cardiomiocitos [K. M. Prasad, *et al.*, *Gene Ther* 18: 43-52 (2011)]. En la Figura 15 (tercer panel) y la Figura 31B se presenta un diagrama de cómo SS-HA-Sun1L (DN-Sun1) desplaza las proteínas de dominio KASH del complejo LINC en el EPN al RE.

Para verificar que el ON-Sun1 funcionaba en cardiomiocitos (CM), inicialmente los presentes inventores transdujeron CM humanos derivados de células madre iPS usando el sistema AAV-DJ [D. Grimm, *et al.*, *J Virol*. 82(12):5887-911 (2008)] que proporciona una mayor tasa de infectividad en células cultivadas que el serotipo AAV9 utilizado para transducir el ON-Sun1, bajo el control de la transcripción del promotor cTnT, en los corazones de ratón. El ON-Sun1 fue eficaz para desplazar Nesprina-1 de las envolturas nucleares en los CM que expresaban los ON-Sun1 como se muestra en la Figura 31D. Las células que expresan niveles altos y bajos de ON-Sun1 se indican mediante puntas de flecha de color gris y blanco, respectivamente. Los niveles altos de expresión de ON-Sun1 dieron como resultado el desplazamiento de Nesprina-1 de la envoltura nuclear. Esto confirmó que el ON-Sun1 fue eficaz para alterar el complejo LINC en los CM.

Los presentes inventores usaron AAV (serotipo 9) para transducir y expresar el minigen ON-Sun1 en los corazones de ratones posnatales mediante inyección intratorácica. El procedimiento se resume en la Figura 31A y todos los ratones se sacrificaron 100 días después de la inyección de Tmx para su análisis. La detección por PCR de la supresión de *Lmna* en los corazones confirmó la inducción por Cre mediante inyección de Tmx (Figura 31C). Para determinar los niveles de localización y expresión del minigen ON-Sun1, la proteína total se extrajo de la mitad del corazón. El análisis por Western reveló una expresión robusta de la proteína de control AAV9-DNSun1 y AAV9-GFP (Dosis inyectada: 5x10^10 vg/g de ratón) 99 días después de la inyección de AAV (Figura 31C) dependiendo los niveles de expresión de ambas proteínas de la dosis de partículas víricas inyectadas (Figura 38). La expresión de las proteínas AAV9-DNSun1 o AAV9-GFP no afectó a los niveles de proteína LMNA (Figura 39A). El análisis por inmunofluorescencia reveló que un mayor porcentaje de cardiomiocitos expresaba GFP con 5×10^10 vg/g de AAV9-GFP en comparación con los niveles resultantes de una dosis 10 veces menor de partículas víricas (5×10^9 AAV9-GFP) (Fig. 39B y Fig. 39C).

Los ratones $Lmna^{Fix/Fix:mcm}$ +Tmx, inyectados con control de AAV9-GFP, vivieron un promedio de 34,5 días después de Tmx, mientras que los ratones $Lmna^{Flx/Flx:mcm}$+Tmx inyectados con AA9-DNSun1 (5310λ10 vg/g de ratón) vivieron significativamente más tiempo y la mayoría sobrevivió al menos 100 días después de Tmx, antes de su finalización para el análisis (P = 0,0002) (la Figura 20 muestra los resultados del período de tiempo temprano con ratones macho y hembra; la Figura 31E muestra los resultados a los 100 días con gráficos separados para ratones macho y hembra y ratones con diferente título de inyección de virus eliminado). El análisis de eco confirmó que los corazones

Lmna$^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx+AAV9-DNSun1 funcionaban mejor que llos corazones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx +AAV9-GFP 35 días después de Tmx (Figura 31G). Aunque los ratones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx+AAV9-DNSun1 estaban vivos 100 días después de la inducción, tanto el % de FE como el % de AF fueron significativamente más bajos en comparación con los ratones *Lmna*$^{Flx/FlxWT}$+ Tmx de control (Figura 31G). 35 días después de Tmx, se detectó un aumento de la fibrosis tanto en los corazones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx+AAV9-DNSun1 y *Lmna*$^{Flxx/Flxxmcm}$+Tmx+AAV9-GFP (Figura 31F), aunque la fibrosis en los corazones *Lmna*$^{Flx/Flx:mcm}$ +Tmx+AAV9-DNSun1 fue significativamente menor que en los corazones *Lmna*$^{Flxx/Flxxmcm}$+Tmx+AAV9-GFP (Figura 31F, paneles inferiores).

Ejemplo 6

Alteración del complejo LINC en ratones usando CRISPR/Cas9

Los ratones que albergan una diversidad de mutaciones de Lmna, tanto globales como específicas del corazón, muestran un aumento significativo en la longevidad y la salud en ausencia de Sun1 [(Chen *et al.*, *Cell* 149: 565-577 (2012) y los Ejemplos 2-4]. Antes de los hallazgos descritos en los Ejemplos 2-5, el mecanismo de este rescate no estaba claro, pero se especuló que se debía a los efectos tóxicos del exceso de Sun1 en mutantes de Lmna [Chen *et al.*, *Cell* 149: 565-577 (2012)]. La expresión mediada por AAV de un transgén disruptivo del complejo LINC dominante negativo mejora la patología asociada a la mutación de *Lmna* [Ejemplo 5]. Los hallazgos en los Ejemplos 2-5 son coherentes con la idea de que la función del complejo LINC, en lugar del exceso de Sun1, es el impulsor molecular de la patología de Lmna. Esto fue sorprendente, ya que la alteración genética del complejo LINC a través de la pérdida de Sun1 y Sun2 [K. Lei *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 10207-10212 (2009)] o la alteración cardíaca específica de Nesprina-1 y Nesprina-2 [Banerjee *et al.*, *PLOS Genet* 10(2): e1004114 (2014)], en ratones, dio como resultado diversas patologías.

Para desarrollar medios alternativos de alteración del complejo LINC. *in vivo,* se examinó la posibilidad de usar la edición genómica por CRISPR/Cas9 para desactivar los dominios SUN y KASH de las proteínas que constituyen el complejo LINC. Como tanto el dominio SUN como el dominio KASH están ubicados en los extremos C de sus respectivas proteínas, los presentes inventores plantearon la hipótesis de que un ARN guía de CRISPR dirigido al extremo 3' de los genes que codifican las proteínas de dominio SUN o KASH daría como resultado un codón de parada prematuro después de la unión del extremo no homólogo inducida por CRISPR. Esto daría como resultado una proteína truncada con su dominio C-terminal SUN o KASH mutado. La proteína truncada se expresaría y se localizaría en la membrana, pero sería incapaz de interactuar con sus compañeros de complejo LINC afines. En el Ejemplo 2, los presentes inventores descubrieron que la pérdida de Sun2 no mejoró las patologías asociadas a Lmna. Por lo tanto, los presentes inventores eligieron dirigirse al dominio Sun1 SUN usando CRISPR ya que Sun1 parece ser la proteína de dominio SUN dominante que media la patología de *Lmna*. De las proteínas de dominio KASH, solamente Nesprina-1, Nesprina-2 y Nesprina-3 se expresan ampliamente [H. F. Horno, *Current topics in developmental biology* 109: 287-321 (2014)). Nesprina-1 y Nesprina-2 son parálogos cercanos que son funcionalmente redundantes. Interactúan con la actina y el citoesqueleto de microtúbulos, mientras que Nesprina-3 parece interactuar específicamente con los filamentos intermedios [Kim *et al.*, *Biol. Chem.* 396: 295-310 (2015)]. Como ya teníamos cepas de ratones mutantes de Nesprina-2 y Nesprina-3 derivadas del direccionamiento genético convencional disponible en el laboratorio, los presentes inventores eligieron dirigirse al dominio KASH de Nesprina-1 usando CRISPR para someter a ensayo la posibilidad de usar CRISPR/Cas9 *in vivo* para el tratamiento de laminopatías.

El gen Sun1 y el gen Syne1 que codifican la proteína Nesprina-1 fueron la diana directamente *in vivo* microinyectando cigotos de ratón C57/Bl6 con ARNm de Cas9 y ARNg dirigidos a los dominios SUN1 (5'-GCACAATAGCCTCGGATGTCG-3'; SEQ ID NO: 66) o KASH1 (5'-CCGTTGGTATATCTGAGCAT-3' SEQ ID NO: 67), seguido de la implantación en madres sustitutas. Nótese que el ARNg de SUN1 se dirigió a Sun1 en dirección 5' del dominio SUN para eliminar el dominio SUN. Se coinyectó un ARNg (5'-GGTTATGGCCGATAGGTGCAT-3'; SEQ ID NO: 68) dirigido al gen de la tirosinasa: la descendencia que se había sometido a la edición del genoma por CRISPR tendría un color de pelaje blanco o en mosaico como resultado de la alteración de la tirosinasa. Estos cachorros se genotipificaron para confirmar la alteración exitosa del gen y se usaron como animales fundadores para establecer colonias de mutantes de Sun1 o Nesprina-1.

Caracterización de ratones mutantes

Después de la secuenciación de Sanger de los animales fundadores y la descendencia F1, los presentes inventores se enfocaron en caracterizar los alelos mutantes de Sun1 (Figura 40A) con una supresión de 7 pb (Sun1_del7 o Sun1Δ7; SEQ ID NO: 71) e inserción de 4 pb (Sun1_plus4; SEQ ID NO: 70), y un alelo mutante de Syne1 (Nesprina-1) (Figura 41A) con una supresión de 8 pb (Syne1_CTdel8, o Syne1 C'TΔ8; SEQ ID NO: 76). Se predijo que los alelos mutantes de Sun1 producirían ARNm con codones de parada prematuros que darían como resultado una proteína Sun1 truncada que carecía de un dominio SUN (Figura 40B). Se aislaron fibroblastos de la punta de la cola de animales mutantes homocigotos de Sun1. La tinción de inmunofluorescencia reveló la pérdida de la proteína Sun1 (Figura 40C), lo que sugiere que los indeles generados por CRISPR provocaron la descomposición mediada por sin sentido de ARNm de Sun1. No está claro si el sitio de la mutación, que está fuera del dominio SUN en lugar de estar dentro del dominio SUN, tuvo un efecto sobre la expresión del gen mutado. Como los presentes inventores no fueron capaces de obtener alelos mutantes de Sun1 que produjeran proteína Sun1 que careciera del dominio SUN, obteniendo en su

lugar esencialmente animales nulos en Sun1, los presentes inventores no caracterizaron adicionalmente estas estirpes mutantes.

Se predice que el alelo Syne1 C'TΔ8 produce una proteína donde los 11 aminoácidos finales en la secuencia de tipo silvestre (SEQ ID NO: 77) están mutados y van seguidos de 50 aminoácidos adicionales codificados por un marco de lectura alternativo (Figura 41B; SEQ ID NO: 78). La inmunotransferencia realizada en tejidos cardíacos y musculares Syne1WT y Syne1C'TΔ8 reveló una banda de ~120 kDa en WT correspondiente a la isoforma de Nesprina-1**α** enriquecida en músculo estriado del gen Syne1 (Figura 41C, D). En los tejidos cardíacos y musculares C'TΔ8, el presunto polipéptido Nesprina-1**α** parecía ser menos abundante y de menor movilidad electroforética que en el tipo silvestre (Figura 41C, D). Esto es coherente con la supresión de 8 pb en el alelo Syne1C'TΔ8 que introduce un codón de parada novedoso en dirección 3', dando como resultado una proteína de mayor peso molecular. Además, se observó una banda de ~1 MOa que probablemente corresponde a Nesprina-1Gigante en tejido cardíaco de ratones Syne1WT y Syne1C'TΔ8.

El análisis por inmunofluorescencia de fibroblastos adultos de ratón (MAF, por sus siglas en inglés) derivados de ratones de 12 semanas de edad reveló que Nesprina-1 estaba localizada erróneamente desde la envoltura nuclear hasta el citoplasma en los MAF Syne1C'TΔ8 (Figura 42A). De forma similar, en los miotubos, Nesp-1 se redistribuye al citoplasma en los miotubos Syne1C'TΔ8 en comparación con Syne1WT (Figura 42B). Otras proteínas del complejo LINC y la EN tales como SUN1, SUN2, Emerina y LaminaA permanecieron localizadas en la EN (Figura 43A-C). Coherente con informes anteriores [Gimpel *et al.*, *Curr. Biol.* 27: 2999-3009.e9. (2017)], la alteración de Nesprina-1 en los miotubos condujo a la localización errónea de las proteínas centrosómicas PCM1, Pent y Akap450 desde la envoltura nuclear de miotubos (Figura 44A-C). La localización incorrecta de Nesprina-1 de la envoltura nuclear es coherente con la alteración del dominio KASH de Nesprina-1, evitando que la proteína mutante de Nesprina-1C'TΔ8 interactúe con los dominios SUN de Sun1 y Sun2, que normalmente restringiría Nesprina-1 a la envoltura nuclear. Como la región transmembrana no se altera, es probable que la Nesprina-1 esté mal localizada en el retículo endoplásmico (RE) en el mutante de C'TΔ8, ya que el RE y el espacio perinuclear forman un sistema de membranas contiguas.

Similar a un modelo en ratón de Nesprina-1 publicado anteriormente [Zhang *et al.*, *Development* 134(5): 901-8 (2007)], y a diferencia de otros dos modelos [Puckelwartz *et al.*, *Hum Mol Genet* 18: 607-620 (2009); Zhang *et al.*, *Hum Mol Genet* 19: 329-341 (2010)], el dominio KASH alterado de Nesprina-1 no produce diferencias fenotípicas manifiestas entre el Syne1 de tipo silvestre (WT) y el mutante Syne1C'TΔ8 (Figura 45A-B). Los mutantes homocigotos tanto masculinos como femeninos fueron fértiles sin diferencias significativas en el peso corporal entre los ratones Syne1WT y Syne1C'TΔ8 (Figura 45C). Los ratones Syne1C'TΔ8 tampoco mostraron ningún retraso en el crecimiento ni distrofia muscular obvia, ni mostraron ninguna dificultad en el movimiento o acicalamiento, que pueden ser indicaciones de deterioro muscular.

Con el fin de probar la función de otras proteínas del dominio KASH en la patología de *Lmna*, se generaron ratones mutantes para Syne2, que codificaban Nesprina-2, mediante direccionamiento génico convencionales (Fig. 46A). Para caracterizar la mutación, se realizó una microscopía de inmunofluorescencia de los fibroblastos de la punta de la cola. Los fibroblastos mutantes homocigotos de $Syne2^{-/-}$ expresaron poca o ninguna Nesprina-2 (Fig. 46B). Coherente con hallazgos anteriores [Zhang *et al.*, *Development* 134(5): 901-8 (2007)], mientras que los ratones $Syne2^{-/-}$ eran abiertamente normales, sin retraso del crecimiento ni infertilidad, los ratones dobles mutantes de Nesprina-1/2 ($Syne1^{C'T\Delta8/C'T\Delta8}$:$Syne2^{-/-}$) eran letales perinatales (Fig. 46C).

La alteración del dominio Nesprina-1 KASH mejora las patologías de Lmna

Aunque todavía se expresaba Nesprina-1, no se formarían complejos LINC que contengan Nesprina-1 en células $Syne1^{C'T\Delta8/C'T\Delta8}$ y animales. Puesto que la alteración mediada por AAV del complejo LINC usando Sun1 dominante negativo *in vivo* rescata *Lmna* (Ejemplo 5), los presentes inventores razonaron que el alelo mutante de Nesprina-1 "sin KASH" que generaron también podría rescatar la patología de *Lmna*. Para someter a ensayo esta hipótesis, se entrecruzaron ratones heterocigotos para un alelo nulo en Lmna ($Lmna^{\Delta/\Delta}$) (Ejemplo 1) con ratones Syne1C'TΔ8 para obtener ratones mutantes dobles $Lmna^{\Delta/\Delta}$:$Syne1^{C'T\Delta8/}$ C'TΔ8. Mientras los ratones $Lmna^{\Delta/\Delta}$ vivieron durante 15-17 días, los ratones mutantes dobles $Lmna^{\Delta/\Delta}$:$Syne1^{C'T\Delta8/}$C'TΔ8 vivieron hasta 42 días (Figura 24). Los ratones nulos en Lmna heterocigotos para el alelo $Syne1^{C'T\Delta8}$ no experimentó ninguna prolongación de la esperanza de vida. Los ratones $Lmna^{\Delta/\Delta}$ en un entorno mutante homocigoto de $Syne2^{-/-}$ tampoco experimentaron una prolongación de la esperanza de vida (Figura 47), lo que indica que la patología Lmna está mediada principalmente por complejos LINC de Nesprina-1/Sun1.

Para examinar el efecto del alelo de $Syne1^{C'T\Delta8/C'T\Delta8}$ en ratones con pérdida cardíaca específica de Lmna, se usaron ratones homocigotos para un alelo de $Lmna^{Flx/Flx}$ condicional que portaba la Cre Tg específica de cardiomiocitos inducible (Myh6-cre/Esr1) (abreviada en el presente documento mcm), en la que Cre es inducida por una única inyección de tamoxifeno (Tmx), como se describe en los Ejemplos 1-2. La supresión cardíaca específica de Lmna da como resultado la muerte en un mes, pero ratones con la misma supresión inducida en un entorno de $Syne1^{C'T\Delta8/C'T\Delta8}$ homocigoto vivió durante al menos 120 días después de la inducción por Tmx (Figura 25; sin cambios desde el día 80-120).

Ejemplo 7

Método para cribar moléculas pequeñas que bloquean interacciones SUN-KASH

Los estudios cristalográficos de SUN2 humana revelan que el dominio SUN se ensambla como una estructura trimérica similar a un trébol [Sosa *et al.*, *Cell* 149(5): 1035-47 (2012)]. La trimerización está mediada por un superenrollamiento de triple hélice, con una longitud estimada de 40-45 nm. Esto es suficiente para salvar el espacio perinuclear (EPN), permitiendo que los dominios SUN y KASH interactúen directamente [Sosa *et al.*, *Cell* 149(5): 1035-47 (2012)]. El sitio de unión de KASH se forma principalmente dentro de un surco formado en la interfaz entre los dominios SUN adyacentes (Figura 5B; Figura 21, panel izquierdo). Este surco acomoda parte del dominio KASH, de aproximadamente 18 restos, en una conformación extendida. Sin embargo, es el tetrapéptido C-terminal del dominio KASH, con tres restos de prolina seguidos de un resto alifático terminal, Leu o Thr (para Nesp1 y Nesp2, respectivamente), que es crucial para la interacción SUN-KASH (Figura 21, panel derecho, adaptado de la Figura 1 de Sosa *et al.*, *Cell* 149(5): 1035-47 (2012). La importancia de este tetrapéptido es que está situado en un bolsillo bien definido formado dentro de un único monómero de SUN. La modificación de este péptido de cualquier forma, incluyendo la adición de un único resto (una Ala) en el extremo C, elimina por completo la asociación SUN-KASH en toda la región de contacto SUN-KASH (Sosa *et al.*, *Cell* 149(5): 1035-47 (2012) y Figura 22, panel izquierdo). La conclusión es que mientras que la unión estable del dominio KASH requiere 18-20 restos, es el tetrapéptido C-terminal el que realmente inicia la unión. Por lo tanto, el bloqueo del bolsillo de unión del tetrapéptido dentro del monómero SUN eliminará la asociación SUN-KASH. Los presentes inventores han descrito en esta divulgación una estrategia de terapia génica basada en AAV para romper las interacciones SUN-KASH endógenas como tratamiento para las laminopatías, incluyendo la miocardiopatía dilatada. Como alternativa, una molécula pequeña que bloquea la interacción SUN-KASH en el bolsillo de unión de SUN alteraría los complejos LINC y trataría las laminopatías de manera similar. Existe una diversidad de métodos convencionales para cribar fármacos de molécula pequeña *in vitro.*

Un cribado *in vitro* puede configurarse empleando dominios SUN y KASH recombinantes o péptido KASH, cuyos métodos de producción se han publicado anteriormente [Sosa *et al.*, *Cell* 149(5): 1035-47 (2012)]. Uno de dichos cribados implica una técnica de ensayo análoga a un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (Figura 22, panel derecho, similar a Lepourcelet *et al.*, *Cancer Cell*. 5(1): 91-102 (2004)). El dominio SUN recombinante se inmoviliza en una superficie sólida, normalmente en placas de 96 pocillos y después forma complejo con un dominio KASH recombinante unido a una enzima que puede generar una lectura colorimétrica o quimioluminiscente. Un método para permitir esta unión es sintetizar un péptido KASH biotinilado, que después puede unirse con el conjugado de estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (HRP) disponible en el mercado. Se obtienen compuestos candidatos de los proveedores apropiados y se criban por su capacidad para inhibir las asociaciones KASH-SUN *in vitro.* Los compuestos que no logran inhibir la interacción SUN-KASH darán como resultado un pocillo en la placa donde el SUN recombinante se une al dominio KASH unido a enzima. Después de las etapas de lavado y la incubación con sustratos HRP colorimétricos o quimioluminiscentes, la presencia de la interacción SUN-KASH se detecta en lectores de placas convencionales. Si el compuesto puede inhibir la interacción SUN-KASH entonces, después de la etapa de lavado, el dominio KASH se elimina y se reduce o no se produciría ninguna reacción enzimática en el pocillo.

Como alternativa, la anisotropía o la polarización de la fluorescencia puede usarse para detectar inhibidores de moléculas pequeñas de las interacciones SUN-KASH *in vitro* [Lea, W.A. y Simeonov, A. *Expert Opin Drug Discov* 6: 17-32 (2011)]. Este ensayo también emplea dominios SUN y KASH recombinantes. El dominio KASH está marcado con fluorescencia; por ejemplo, un péptido KASH sintetizado químicamente podría funcionalizarse fácilmente con un resto de fluoresceína. La anisotropía de fluorescencia del dominio KASH que interactúa con el dominio SUN puede medirse usando un equipo convencional tal como un lector de placas. Un inhibidor de molécula pequeña que interrumpe la interacción SUN-KASH puede detectarse fácilmente ya que la anisotropía de fluorescencia del KASH fluorescente cambiará si no está unido a SUN.

Como es típico en las campañas de detección de fármacos, los compuestos que superan con éxito el cribado primario *in vitro* después se someterá a cribados secundarios basados en células (Figura 23). En este caso, se empleará microscopía de inmunofluorescencia para identificar aquellos compuestos que pueden disociar los complejos LINC. Esto se manifiesta como la dispersión del componente KASH al retículo endoplásmico periférico mientras que la proteína SUN afín queda retenida en la membrana nuclear interna. Este ensayo basado en microscopía puede realizarse en primer lugar en células HeLa. Después, los compuestos activos se evalúan en células cultivadas de tejido pertinente para la enfermedad, tales como las células cardíacas. Un cribado secundario adicional puede incluir la capacidad del compuesto identificado para rescatar los defectos de proliferación en las células con inactivación de Lmna. Después de la optimización de acierto-a-cabeza de serie del compuesto identificado usando métodos convencionales, el compuesto puede someterse a ensayo en modelos en ratón de laminopatías tales como las descritas en el presente documento para la miocardiopatía dilatada de *Lmna.* La eficacia de los cabezas de serie puede evaluarse usando la esperanza de vida de los ratones mutantes y los ecocardiogramas, como se describe en el presente documento, para evaluar la función cardíaca.

ANÁLISIS

La MCD provocada por *LMNA* se considera agresiva y, con frecuencia, conduce a la muerte prematura o al trasplante cardíaco [M. Pasotti *et al.*, *J Am Coll Cardiol* 52: 1250-1260 (2008); M. R. Taylor *et al.*, *J Am Coll Cardiol* 41: 771-780 (2003)]. A los 60 años, el 55 % de portadores de mutaciones de *LMNA* mueren de insuficiencia cardiovascular o reciben un trasplante de corazón, en comparación con el 11 % de los pacientes con miocardiopatía idiopática. Los intentos de mejorar la MCD mediante la colocación de un marcapasos han sido, en el mejor de los casos, de beneficio transitorio. En consecuencia, es necesario desarrollar nuevas vías terapéuticas para tratar la MCD provocada por mutaciones de *LMNA*.

La mayoría de las mutaciones de *LMNA* que provocan MCD son de sentido erróneo dominantes negativas. El tratamiento mediante terapia génica convencional para reparar cada mutación sería desalentador y la eliminación del alelo mutado, dejando al paciente hemicigótico para el alelo WT normal restante, también puede dar como resultado insuficiencia cardíaca [G. Bonne *et al.*, *Nature genetics* 21: 285-288 (1999)]. Se han explorado diversas otras vías en dirección 3' del gen Lamina para una posible intervención terapéutica, y han incluido la inhibición de mTOR con rapamicina/rapálogos [J. C. Choi *et al.*, *Science translational medicine* 4: 144ra102 (2012); F. J. Ramos *et al.*, *Science translational medicine* 4: 144ra103 (2012)] y la inhibición de la vía de la cinasa MEK1/2 [W. Wu, *et al.*, *Circulation* 123: 53-61 (2011)*].* Ambas vías, dieron como resultado una función ventricular mejorada y una longevidad aumentada (10-40 %), pero el alcance y la eficacia a largo plazo fueron significativamente menores que los que los presentes inventores observaron con la pérdida de *Sun1.*

Los mecanismos moleculares que subyacen a los fenotipos variados de las laminopatías aún no se comprenden bien, aunque se han propuesto dos hipótesis alternativas para explicar las patologías específicas de tejido. La primera "hipótesis de regulación génica" propone que las mutaciones/pérdida de *LMNA* alteran el equilibrio de diversas vías moleculares debido a que las mutaciones alteran las interacciones con las proteínas de la EN y la cromatina, que a su vez alteran la expresión génica. La evidencia que respalda esta hipótesis proviene de estudios que publican cambios en las vías de señalización, incluyendo la vía AKT-MTOR [J. C. Choi *et al.*, *Science translational medicine* 4: 144ra102 (2012)], la vía de WNT/**β**-catenina [L. Hernández *et al.*, *Dev Cell* 19: 413-425 (2010); C. Le Dour *et al.*, *Hum Mol Genet* 26: 333-343 (2017)], TGF-**β**/Smad [JH Van Berlo *et al.*, *Hum Mol Genet* 14: 2839-2849 (2005); T. V. Cohen *et al.*, *Hum Mol Genet* 22: 2852-2869 (2013)], vía de la MAP cinasa [A. Brull, *et al.*, *Front Physiol* 9: 1533 (2018)] y la vía ERK1/2 - CTGF/CCN2 [M. Chatzifrangkeskou *et al.*, *Hum Mol Genet* 25: 2220-2233 (2016)]. Aunque estos cambios se han documentado, ninguno ha establecido claramente si estos cambios no son un efecto compensatorio secundario de un tejido enfermo. Sun1 también encaja en esta rúbrica de niveles de expresión alterados ya que la proteína Sun1, pero no el ARNm, está regulada positivamente en las laminopatías, conduciendo a la propuesta de que los fenotipos de laminopatía son causados por la toxicidad del exceso de Sun1 [C. Y. Chen *et al.*, *Cell* 149: 565-577 (2012)].

La segunda hipótesis sugirió que la pérdida o mutación de *Lmna* conduce a una mayor fragilidad nuclear. Como resultado, el estrés mecánico y las fuerzas de tensión transmitidas a través del complejo LINC desde el citoplasma a la EN provocan daños en la EN [J. Lammerding *et al.*, *J Clin Invest* 113: 370-378 (2004)]. Esta hipótesis es similar a la propuesta para la distrofia muscular de Duchenne (DMD), donde la pérdida de distrofina aumenta la fragilidad de la membrana de la célula muscular y cuando se aplican fuerzas de tensión-esfuerzo durante la contracción muscular, esto da como resultado la ruptura y la muerte de la célula muscular [D. J.Blake, *et al.*, *Physiol Rev* 82: 291-329 (2002)]. Los fibroblastos mutantes de *Lmna* muestran deformación nuclear, mecanotransducción defectuosa y viabilidad reducida cuando se somete a tensión mecánica, junto con un aumento de la ruptura nuclear a presiones bajas y moderadas en comparación con los núcleos WT [J. Lammerding *et al.*, *J Clin Invest* 113: 370-378 (2004); J. Lammerding *et al.*, *J Cell Biol* 170: 781-791 (2005); J. Lammerding *et al.*, *J Biol Chem* 281: 25768-25780 (2006)]. Al contraer cardiomiocitos de ratón, el esfuerzo mecánico y las fuerzas de tensión provocados por 500-600 contracciones por minuto se transmiten a la EN a través del complejo LINC, dando como resultado distorsión nuclear, daño y eventual muerte/pérdida como se describe en las Figuras 28 y 29. Presumiblemente, dichas fuerzas provocarían daños significativos la EN frágil de cardiomiocitos nulos en *Lmna*, dando como resultado la muerte de CM. Si la hipótesis tensión-esfuerzo es perjudicial para la EN, después desunir el complejo LINC, la alteración SUN1, reduciría la tensión-esfuerzo en los núcleos de CM y evitaría la muerte de células de CM en los CM mutantes (Figura 32A-C). Una advertencia en este caso es que la alteración completa del complejo LINC, como sería el caso después de la sobreexpresión de ON-Sun1, podría ser potencialmente perjudicial en lugar de terapéutico. A nivel celular, múltiples fenómenos mecánicos que incluyen la transmisión de fuerza intracelular, polarización celular y migración, se vieron afectados después de la alteración del complejo LINC por construcciones dominantes negativas de SUN y KASH [Lombardi *et al.*, *J Biol Chem* 286(30):26743-53 (2011)]. En modelos animales, los ratones mutantes dobles en Sun1/Sun2 [Lei *et al.*, *Proc Natl Acad Sci* 106(25):10207-12 (2009)] y Nesprina-1/Nesprina-2 [Zhang *et al.*, *Development* 134(5):901-8 (2007)] experimentan letalidad perinatal y alteración cardíaca específica de los dominios KASH de Nesprina-1 y Nesprina-2 usando un controlador de Cre cardíaco embrionario (Nkx2.5-Cre) dando como resultado la miocardiopatía de aparición temprana [Banerjee *et al.*, *PLOS Genet* 10(2):e1004114 (2014)].

Los presentes inventores intentaron distinguir la hipótesis de tensión-esfuerzo de la hipótesis del nivel de expresión en cardiomiocitos, usando una construcción de ON-Sun1 para competir con las proteínas endógenas Sun1 y Sun2 por la unión al dominio KASH y así desunir el complejo LINC sin alterar directamente los niveles de Sun1 (Figuras 32D y 34). El vector de AAV9, que tiene una alta afinidad por CM, se usó para suministrar ON-Sun1 bajo el promotor cTnT a CM [C. Zincarelli, *et al.*, *Mol Ther* 16: 1073-1080 (2008)]. Los resultados de los presentes inventores mostraron el suministro exitoso de GFP a los cardiomiocitos (Figura 31C) y una expresión robusta de las proteínas GFP y ON-Sun1

de control (Figura 31C), lo que dio como resultado la dispersión de las proteínas del dominio KASH de los núcleos de los cardiomiocitos (Figura 31D). Sorprendentemente, AAV-DN-Sun1 no solo mejoró la patología en ratones con niveles de Lmna cardíacos reducidos, tampoco tuvo un efecto perceptible sobre la salud cardíaca de los ratones de tipo silvestre, que se esperaría que también experimenten una alteración completa del complejo LINC en sus corazones (Figuras 31E y G). Esto sugiere que puede requerirse un complejo LINC intacto en el desarrollo embrionario, pero no después del nacimiento.

Además, usando CRISPR/Cas9 en ratones, los presentes inventores generaron un alelo mutante Syne1 (C'TΔ8) que dio lugar a una proteína Nesprina-1 truncada con un dominio KASH alterado, no funcional. Los ratones que carecen de Lmna globalmente o en el corazón tienen una esperanza de vida más corta, pero la presencia de una mutación de $Syne1^{C'T\Delta8/C'T\Delta8}$ homocigótica dio como resultado una prolongación significativa de la esperanza de vida. La pérdida de Sun1 o la alteración mediada por AAV del complejo LINC por transgenes negativos dominantes *in vivo* dieron como resultado un rescate similar de la patología de *Lmna* (Ejemplo 2-5), mientras que las mutaciones de Sun2 y Nesprina-2 no lo hicieron. Tomados juntos, estos datos sugieren que los complejos LINC compuestos por Sun1 y Nesprina-1 impulsan la patología en células y animales mutantes en *Lmna*.

Ha habido una serie de publicaciones sobre el uso de AAV para suministrar componentes de CRISPR/Cas *in vivo* para el tratamiento de enfermedades. Los resultados de los presentes inventores predicen que CRISPR/Cas mediado por AAV, tal como CRISPR/Cas9, suministrado para dirigirse al dominio Nesprina-1 KASH en el tejido afectado por la enfermedad puede usarse para tratar laminopatías, incluyendo la miocardiopatía dilatada. Por ejemplo, los AAV cardiotrópicos (por ejemplo, AAV9) pueden usarse para administrar uno o más casetes transgénicos que contienen un promotor específico cardíaco (por ejemplo, cTnT) que impulsa la expresión de la enzima endonucleasa Cas y un promotor apropiado (por ejemplo, U6) que impulsa la expresión de ARNg para tratar MCD de *LMNA*. Puesto que la capacidad de empaquetamiento de AAV se limita a 4,7 kb, un Cas9 más pequeño derivado de *Staphylococcus aureus* (saCas9) en lugar del más grande, de uso más común, puede preferirse Cas9 de *Streptococcus pyogenes*. Como alternativa, podrían usarse otras enzimas de CRISPR tales como Cpf1, que es lo suficientemente pequeña para el empaquetado de AAV y tiene un motivo adyacente protoespaciador (PAM) que se encuentra más comúnmente que saCas9 [Zetsche, B., *et al.*, Cpf1 es una endonucleasa guiada por ARN simple de un sistema CRISPR-Cas de clase 2. *Cell* 163, 759-771 (2015)].

Los ARN guía se dirigirían a la región 3' del gen de Nesprina-1 que codifica el dominio KASH (Tabla 3). Aunque los presentes inventores se han dirigido a la región adyacente al codón de parada, en principio, cualquier región genética que codifique el dominio KASH podría ser la diana, ya que los indeles generados por CRISPR probablemente darían como resultado mutaciones de desplazamiento de marco que deshabilitan el dominio KASH. Sin embargo, ya que se sabe que los 4 aminoácidos finales en el dominio KASH son absolutamente necesarios para la interacción del dominio SUN y, por lo tanto, para la formación del complejo LINC [Sosa *et al.*, *Cell* 149(5):1035-47 (2012)], es prudente seleccionar ARNg en la vecindad del codón de parada, ya que incluso los indeles que no dan como resultado un cambio de marco podrían mutar los aminoácidos KASH pertinentes necesarios para la interacción SUN-KASH. Además, cabe señalar que debido a que el gen Syne1 que codifica Nesprina-1 es muy grande y tiene múltiples isoformas de corte y empalme y sitios de inicio alternativos, los ARN guía dirigidos fuera del dominio KASH, aunque dan lugar a algunas isoformas mutantes de Nesprina-1, no pueden perturbar la expresión de otras isoformas de la proteína Nesprina-1, incluyendo las isoformas que contienen KASH. Esto daría como resultado la formación de complejos LINC de Nesprina-1/Sun1 funcionales o parcialmente funcionales que aún podrían ser capaces de impulsar la patología en mutantes en Lmna. Es probable que esta estrategia de CRISPR/Cas9 no pueda extenderse al dominio KASH de Nesprina-2, puesto que los ratones $Lmna^{\Delta/\Delta}$:$Syne2^{-/-}$ son fenotípicamente indistinguibles de los ratones $Lmna^{\Delta/\Delta}$.

Los presentes inventores no investigaron adicionalmente los ratones mutantes en Sun1 generados en este estudio, ya que en lugar de los ratones con Sun1 que carecen del dominio SUN, los presentes inventores esencialmente obtuvieron ratones nulos en Sun1, que ya se han caracterizado bien. Los presentes inventores sospechan que la inducción de la mutación por CRISPR en Sun1 dio como resultado una descomposición mediada por sinsentido (NMD, por sus siglas en inglés) de la transcripción de Sun1. La aparición de un codón de parada prematura (PTC, por sus siglas en inglés) 50-55 nucleótidos en dirección 5' de una unión exón-exón es un desencadenante de NMO [Popp, M.W., y Maquat, L.E. *Cell* 165: 1319-1322 (2016)]. Además, los PTC que ocurren en medio de una transcripción tienen más probabilidades de dar como resultado NMO [Eberle *et al.*, *PLOS Biology* 6: e92 (2008); Reber *et al.*, *MBoC* 29: 75-83 (2018)]. En el mutante Sun1_plus4, el PTC está más de 55 nucleótidos en dirección 5' de la unión exón-exón y es probable que desencadene NMD. Para el mutante Sun1Δ7, el PTC está a menos de 50 nucleótidos de la unión exón-exón. Sin embargo, para ambos mutantes, puesto que los presentes inventores se dirigieron en dirección 5' del dominio SUN dimensionable, los PTC están aproximadamente a 2/3 de la longitud de la transcripción y, por lo tanto, también es probable que desencadenen NMD. Con el fin de alterar específicamente el dominio SUN en Sun1 sin inducir una mutación nula, se puede adoptar una estrategia similar a la de Nesprina-1: dirigir el ARN guía al extremo 3' de la región codificante de la transcripción (Tabla 3). Trabajos anteriores demostraron que la mutación de un resto de tirosina a fenilalanina en el extremo C de SUN2 (Y707F) eliminó la unión de KASH [Sosa *et al.*, *Cell* 149(5):1035-47 (2012)]. Este resto de tirosina crítico se conserva en SUN1 (Y812 en Uniprot E9PHI4) y está presente en el exón codificante final del transcrito de SUN1. La selección de un ARNg 5' próximo al codón para Y812 produciría mutaciones indel que provocarían una mutación de desplazamiento de marco que mutaría Y812 y alteraría la unión de KASH.

Como el ARNg estaría en el exón codificante final, la probabilidad de desencadenar NMO sería baja. Por lo tanto, puede imaginarse una estrategia basada en CRISPR/Cas9 para tratar las laminopatías dirigiéndose a un resto crítico necesario para la unión de KASH en el dominio SUN1 SUN. Los AAV podrían usarse para suministrar la enzima de CRISPR y el ARNg dirigidos a SUN1 en el tejido enfermo apropiado, tal como el corazón. Entonces, la incapacitación de la unión de SUN1 KASH mejoraría los efectos nocivos de mutaciones de *Lmna*.

A partir de estos resultados los presentes inventores proponen que la pérdida o las mutaciones dentro de *Lmna* provocan inestabilidad en los núcleos de CM por pérdida o montaje incorrecto de la lámina nuclear. Esto hace que los núcleos sean susceptibles a las fuerzas de tensión/esfuerzo ejercidas a través del complejo LINC desde los sarcómeros contráctiles de los CM. En ausencia de SUN1, o después de la mutación del dominio KASH de Nesprina-1, los complejos LINC no conectados ejercen menos fuerza de tensión sobre los núcleos de CM, permitiendo la supervivencia del cardiomiocito deficiente en lamina.

Estos resultados proporcionan una oportunidad de usar el suministro mediado por AAV de DN-Sun, ON-KASH, o mutación directa de proteínas SUN o KASH endógenas como terapias potenciales para la MCD relacionada con laminopatía en pacientes. El sistema de AAV, como vía de suministro terapéutico en pacientes está establecido y ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de algunas enfermedades. Se está usando más ampliamente con múltiples ensayos clínicos en curso, incluyendo la introducción en pacientes con enfermedades cardíacas. Sin embargo, a pesar de que la tensión-esfuerzo puede ser la causa principal de muerte de CM deficientes en *Lmna*, alterar SUN1 puede no ser eficaz para prevenir la muerte celular inducida por mutación de *LMNA* en el músculo esquelético, ya que $Lmna^{\Delta/\Delta}$:$Sun^{-/-}$ mueren a una edad más temprana que aquellos ratones en los que *Lmna* se suprimió específicamente en los CM. Queda por identificar qué grupos de músculos (o incluso otros tejidos que carecen de *Lmna)* dan como resultado la letalidad temprana. Sin embargo en la mayoría de los pacientes con MCD de *LMNA*, la insuficiencia cardíaca es la causa de la muerte, y los resultados de los presentes inventores muestran que la alteración del complejo LINC en los CM podría ser eficaz para prevenir la insuficiencia cardíaca durante un período prolongado.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Ackers-Johnson *et al.*, *A Simplified, Langendorff-Free Method for Concomitant Isolation of Viable Cardiac Myocytes and Nonmyocytes From the Adult Mouse Heart. Circulation Research* 119: 909 (2016).

2. R. Agah *et al.*, *Gene recombination in postmitotic cells. Targeted expression of Cre recombinase provokes cardiac- restricted, site-specific rearrangement in adult ventricular muscle* in vivo. *The Journal of clinical investigation* 100: 169-179 (1997).

3. S. G. Alam *et al.*, *The mammalian LINC complex regulates genome transcriptional responses to substrate rigidity. Scientific reports* 6: 38063 (2016).

4. A. T. Bertrand *et al.*, *DelK32-lamin A/C has abnormal location and induces incomplete tissue maturation and severe metabolic defects leading to premature death. Hum Mol Genet* 21: 1037-1048 (2012).

5. D. J. Blake, A. Weir, S. E. Newey, K. E. Davies, *Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle. Physiol Rev* 82: 291-329 (2002).

6. G. Bonne *et al.*, *Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. Nature genetics* 21: 285-288 (1999).

7. A. Brull, B. Morales Rodriguez, G. Bonne, A. Muchir, A. T. Bertrand, *The Pathogenesis and Therapies of Striated Muscle Laminopathies. Front Physiol* 9: 1533 (2018).

8. A. Buchwalter, M. W. Hetzer, *Nucleolar expansion and elevated protein translation in premature aging. Nature communications* 8: 328 (2017).

9. B. Burke, C. L. Stewart, *The nuclear lamins: flexibility in function. Nat Rev Mol Cell Biol* 14: 13-24 (2013).

10. G. Captur *et al.*, *Lamin and the heart. Heart* 104: 468-479 (2018).

11. M. Chatzifrangkeskou *et al.*, *ERK1/2 directly acts on CTGF/CCN2 expression to mediate myocardial fibrosis in cardiomyopathy caused by mutations in the lamin A/C gene. Hum Mol Genet* 25: 2220-2233 (2016).

12. C. Y. Chen *et al.*, *Accumulation of the inner nuclear envelope protein Sun1 is pathogenic in progeric and dystrophic laminopathies. Cell* 149: 565-577 (2012).

13. Y. H. Chi *et al.*, *Requirement for Sun1 in the expression of meiotic reproductive genes and piRNA. Development* 136: 965-973 (2009).

14. J. C. Choi *et al.*, *Temsirolimus activates autophagy and ameliorates cardiomyopathy caused by lamin A/C gene mutation. Science translational medicine* 4: 144ra102 (2012).

15. M. Crisp *et al.*, *Coupling of the nucleus and cytoplasm: role of the LINC complex. J Cell Biol* 172: 41-53 (2006).

16. T. V. Cohen *et al.*, *Defective skeletal muscle growth in lamin A/C-deficient mice is rescued by loss of Lap2alpha. Hum Mol Genet* 22: 2852-2869 (2013).

17. W. N. de Vries *et al.*, *Expression of Cre recombinase in mouse oocytes: a means to study maternal effect genes. Genesis* 26: 110-112 (2000).

18. Eberle, A.B., Stalder, L., Mathys, H., Orozco, R.Z. y Muhlemann, O. *Posttranscriptional Gene Regulation by Spatial Rearrangement of the 3' Untranslated Region. PLOS Biology* 6: e92 (2008).

19. D. Fatkin *et al.*, *Missense mutations in the rod domain of the lamin A/C gene as causes of dilated cardiomyopathy and conduction-system disease. N Engl J Med* 341: 1715-1724 (1999).

20. Gimpel, P., *et al.*, *Nesprin-1α-Dependent Microtubule Nucleation from the Nuclear Envelope via Akap450 Is Necessary for Nuclear Positioning in Muscle Cells. Curr. Biol.* 27: 2999-3009.e9. (2017).

21. F. Haque *et al.*, *Mammalian SUN protein interaction networks at the inner nuclear membrane and their role in laminopathy disease processes. J Biol Chem* 285: 3487-3498 (2010).

22. L. Hernandez *et al.*, *Functional coupling between the extracellular matrix and nuclear lamina by Wnt signaling in progeria. Dev Cell* 19: 413-425 (2010).

23. R. E. Hershberger, A. Morales, en *GeneReviews((R))*, M. P. Adam *et al.*, Eds. (Seattle (WA), 1993).

24. R. E. Hershberger, D. J. Hedges, A. Morales, *Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture. Nat Rev Cardiol* 10: 531-547 (2013).

25. D. S. Herman *et al.*, *Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. N Engl J Med* 366: 619-628 (2012).

26. H. F. Horn, *LINC complex proteins in development and disease. Current topics in developmental biology* 109: 287-321 (2014).

27. J. L. Jefferies, J. A. Towbin, *Dilated cardiomyopathy. Lancet* 375: 752-762 (2010).

28. Kim, D.I., Birendra, K.C. y Roux, K.J. (2015). *Making the LINC: SUN and KASH protein interactions. Biol. Chem.* 396: 295-310.

29. T. J. Kirby, J. Lammerding, *Emerging views of the nucleus as a cellular mechanosensor. Nature cell biology* 20: 373-381 (2018).

30. J. Lammerding *et al.*, *Lamin A/C deficiency causes defective nuclear mechanics and mechanotransduction. The Journal of clinical investigation* 113: 370-378 (2004).

31. J. Lammerding *et al.*, *Abnormal nuclear shape and impaired mechanotransduction in emerin-deficient cells. J Cell Biol* 170: 781-791 (2005).

32. J. Lammerding *et al.*, *Lamins A and C but not lamin B1 regulate nuclear mechanics. J Biol Chem* 281: 25768-25780 (2006).

33. Lea, W.A. y Simeonov, *A. Fluorescence Polarization Assays in Small Molecule Screening. Expert Opin Drug Discov* 6: 17-32 (2011).

34. C. Le Dour *et al.*, *Decreased WNT/beta-catenin signalling contributes to the pathogenesis of dilated cardiomyopathy caused by mutations in the lamin a/C gene. Hum Mol Genet* 26: 333-343 (2017).

35. K. Lei *et al.*, *SUN1 and SUN2 play critical but partially redundant roles in anchoring nuclei in skeletal muscle cells in mice. Proc Natl Acad Sci USA* 106: 10207-10212 (2009).

36. Lepourcelet *et al.*, *Small-molecule antagonists of the oncogenic Tcf/beta-catenin protein complex. Cancer Cell*. 5(1): 91-102 (2004).

37. C. J. Malone, W. D. Fixsen, H. R. Horvitz, M. Han, *UNC-84 localizes to the nuclear envelope and is required for nuclear migration and anchoring during C. elegans development. Development* 126: 3171-3181 (1999).

38. L. C. Mounkes, S. V. Kozlov, J. N. Rottman, C. L. Stewart, *Expression of an LMNA-N195K variant of A-type lamins results in cardiac conduction defects and death in mice. Hum Mol Genet* 14: 2167-2180 (2005).

39. M. D. Muzumdar, B. Tasic, K. Miyamichi, L. Li, L. Luo, *A global double-fluorescent Cre reporter mouse. Genesis* 45: 593-605 (2007).

40. V. Nikolova *et al.*, *Defects in nuclear structure and function promote dilated cardiomyopathy in lamin A/C-deficient mice. The Journal of clinical investigation* 113: 357-369 (2004).

41. M. Pasotti *et al.*, *Long-term outcome and risk stratification in dilated cardiolaminopathies. J Am Coll Cardiol* 52: 1250-1260 (2008).

42. Popp, M.W., y Maquat, L.E. *Leveraging Rules of Nonsense-Mediated mRNA Decay for Genome Engineering and Personalized Medicine. Cell* 165: 1319-1322 (2016).

43. K. M. Prasad, Y. Xu, Z. Yang, S. T. Acton, B. A. French, *Robust cardiomyocyte-specific gene expression following systemic injection of AAV:* in vivo *gene delivery follows a Poisson distribution. Gene Ther* 18: 43-52 (2011).

44. Puckelwartz, M.J., *et al.*, *Disruption of nesprin-1 produces an Emery Dreifuss muscular dystrophy-like phenotype in mice. Hum Mol Genet* 18: 607-620 (2009).

45. Ran FA, *et al.*, *Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. Nat. Protoc* 8: 2281-2308 (2013);

46. Ran FA, *et al.*, *Double nicking by RNA-guided CRISPR Cas9 for enhanced genome editing specificity. Cell* 154: 1380-1389 (2013)

47. F. J. Ramos *et al.*, *Rapamycin reverses elevated mTORC1 signaling in lamin A/C-deficient mice, rescues cardiac and skeletal muscle function, and extends survival. Science translational medicine* 4: 144ra103 (2012).

48. Reber, S., *et al.*, *CRISPR-Trap: a clean approach for the generation of gene knockouts and gene replacements in human cells. MBoC* 29: 75-83 (2018).

49. T. Sieprath *et al.*, *Sustained accumulation of prelamin A and depletion of lamin A/C both cause oxidative stress and mitochondrial dysfunction but induce different cell fates. Nucleus* 6: 236-246 (2015).

50. D. S. Sohal *et al.*, *Temporally regulated and tissue-specific gene manipulations in the adult and embryonic heart using a tamoxifen-inducible Cre protein. Circ Res* 89: 20-25 (2001).

51. I. Solovei *et al.*, *LBR and lamin A/C sequentially tether peripheral heterochromatin and inversely regulate differentiation. Cell* 152: 584-598 (2013).

52. Sosa BA, Rothballer A, Kutay U, Schwartz TU, *LINC complexes form by binding of three KASH peptides to domain interfaces of trimeric SUN proteins. Cell* 149(5): 1035-47 (2012).

53. C. L. Stewart, S. Kozlov, L. G. Fong, S. G. Young, *Mouse models of the laminopathies. Exp Cell Res* 313: 2144-2156 (2007).

54. C. Stewart y B. Burke, *RNAi-based therapies for cardiomyopathies, muscular dystrophies and laminopathies.* WO2013/158046.

55. T. Sullivan *et al.*, *Loss of A-type lamin expression compromises nuclear envelope integrity leading to muscular dystrophy. J Cell Biol* 147: 913-920 (1999).

56. E. C. Tapley, D. A. Starr, *Connecting the nucleus to the cytoskeleton by SUN-KASH bridges across the nuclear envelope. Curr Opin Cell Biol* 25, 57-62 (2013).

57. U. Tayal, S. Prasad, S. A. Cook, *Genetics and genomics of dilated cardiomyopathy and systolic heart failure. Genome Med* 9: 20 (2017).

58. M. R. Taylor *et al.*, *Natural history of dilated cardiomyopathy due to lamin A/C gene mutations. J Am Coll Cardiol* 41: 771-780 (2003).

59. C. Toepfer *et al.*, *Myosin regulatory light chain (RLC) phosphorylation change as a modulator of cardiac muscle*

contraction in disease. J Biol Chem 288: 13446-13454 (2013).

60. C. N. Toepfer, T. G. West, M. A. Ferenczi, *Revisiting Frank-Starling: regulatory light chain phosphorylation alters the rate of force redevelopment (ktr) in a length-dependent fashion. J Physiol* 594: 5237-5254 (2016).

61. J. H. Van Berlo *et al.*, *A-type lamins are essential for TGF-beta1 induced PP2A to dephosphorylate transcription factors. Hum Mol Genet* 14: 2839-2849 (2005).

62. B. van Steensel, A. S. Belmont, *Lamina-Associated Domains: Links with Chromosome Architecture, Heterochromatin, and Gene Repression. Cell* 169: 780-791 (2017).

63. J. P. van Tintelen *et al.*, *High yield of LMNA mutations in patients with dilated cardiomyopathy and/or conduction disease referred to cardiogenetics outpatient clinics. Am Heart J* 154: 1130-1139 (2007).

64. H. Wakimoto, J. G. Seidman, R. S. Y. Foo, J. Jiang, en *Current Protocols in Molecular Biology*. (John Wiley & Sons, Inc., 2001).

65. A. S. Wang, S. V. Kozlov, C. L. Stewart, H. F. Horn, *Tissue specific loss of A-type lamins in the gastrointestinal epithelium can enhance polyp size. Differentiation* 89: 11-21 (2015).

66. H. J. Worman, C. Ostlund, Y. Wang, *Diseases of the nuclear envelope. Cold Spring Harbor perspectives in biology 2:* a000760 (2010).

67. W. Wu, A. Muchir, J. Shan, G. Bonne, H. J. Worman, *Mitogen-activated protein kinase inhibitors improve heart function and prevent fibrosis in cardiomyopathy caused by mutation in lamin A/C gene. Circulation* 123: 53-61 (2011).

68. Zetsche, B., *et al.*, *Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System. Cell* 163, 759-771 (2015).

69. Zhang, J., Felder, A., Liu, Y., Guo, L.T., Lange, S., Dalton, N.D., Gu, Y., Peterson, K.L., Mizisin, A.P., Shelton, G.D., *et al.* (2010). *Nesprin 1 is critical for nuclear positioning and anchorage. Hum Mol Genet* 19: 329-341.

70. Zhang, X., Xu, R., Zhu, B., Yang, X., Ding, X., Duan, S., Xu, T., Zhuang, Y. y Han, M. (2007). *Syne-1 and Syne-2 play crucial roles in myonuclear anchorage and motor neuron innervation. Development* 134: 901-908.

71. C. Zincarelli, S. Soltys, G. Rengo, J. E. Rabinowitz, *Analysis of AAV serotypes 1-9 mediated gene expression and tropism in mice after systemic injection. Mol Ther* 16: 1073-1080 (2008).

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ácido nucleico que comprende un vector de expresión de virus adenoasociado (vector de AAV) para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad provocada por una mutación de *LMNA,* en donde el vector de AAV comprende un transgén unido operativamente, en donde la expresión del transgén en una célula transfectada da como resultado la alteración de un complejo Enlazador de nucleoesqueleto y citoesqueleto (LINC) en la célula transfectada, y en donde el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar el dominio SUN de una proteína que contiene el dominio SUN, una secuencia señal N-terminal, un sitio de escisión de peptidasa señal y una secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal que evita la secreción de un péptido expresado a partir del transgén.

2. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la expresión del transgén da como resultado la alteración de la interacción proteína-proteína entre SUN y KASH del complejo LINC.

3. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el transgén comprende secuencias de ácido nucleico para expresar el dominio luminal de la proteína que contiene el dominio SUN, en donde el dominio luminal comprende un dominio de superenrollamiento y un dominio SUN.

4. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la proteína que contiene el dominio SUN es SUN1 o SUN2.

5. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la secuencia peptídica de direccionamiento C-terminal es una secuencia de KDEL.

6. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el vector de AAV es un vector de expresión cardíaco o específico de cardiomiocitos.

7. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el vector de AAV se selecciona del grupo que consiste en: AAV9, AAV1, AAV6, AAV8, AAV2i8 y AAV9.45.

8. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el vector de AAV comprende un promotor cardíaco o específico de cardiomiocitos.

9. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el vector de AAV comprende un promotor cardíaco o específico de cardiomiocitos seleccionado del grupo que comprende un promotor de troponina T cardíaca (cTnT), un promotor de cadena pesada de α-miosina (α-MHC) y un promotor de cadena ligera de miosina (MLC2v).

10. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en: una enfermedad cardiovascular, dermopatía restrictiva, lipodistrofia parcial familiar, displasia mandibuloacral con lipodistrofia de tipo A, síndrome metabólico, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2B1 y enfermedades presentadas en letra normal en la Tabla 1.

11. La molécula de ácido nucleico para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde la enfermedad cardiovascular se selecciona del grupo que consiste en: laminopatía, miocardiopatía, miocardiopatía dilatada (MCD), miocardiopatía dilatada 1A, miocardiopatía dilatada con defectos del sistema de conducción, miocardiopatía con bloqueo AV avanzado y arritmia, fibrilación auricular solitaria; distrofia muscular, miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de Emery-Dreifuss (autosómica dominante), miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de Emery-Dreifuss (autosómica recesiva), miocardiopatía asociada a la distrofia muscular de cinturas de tipo 1B, miocardiopatía asociada a la distrofia muscular congénita; síndromes de envejecimiento prematuro, miocardiopatía asociada al síndrome de Werner atípico, miocardiopatía asociada al síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford y enfermedades presentadas en negrita en la Tabla 1.

Fig. 1

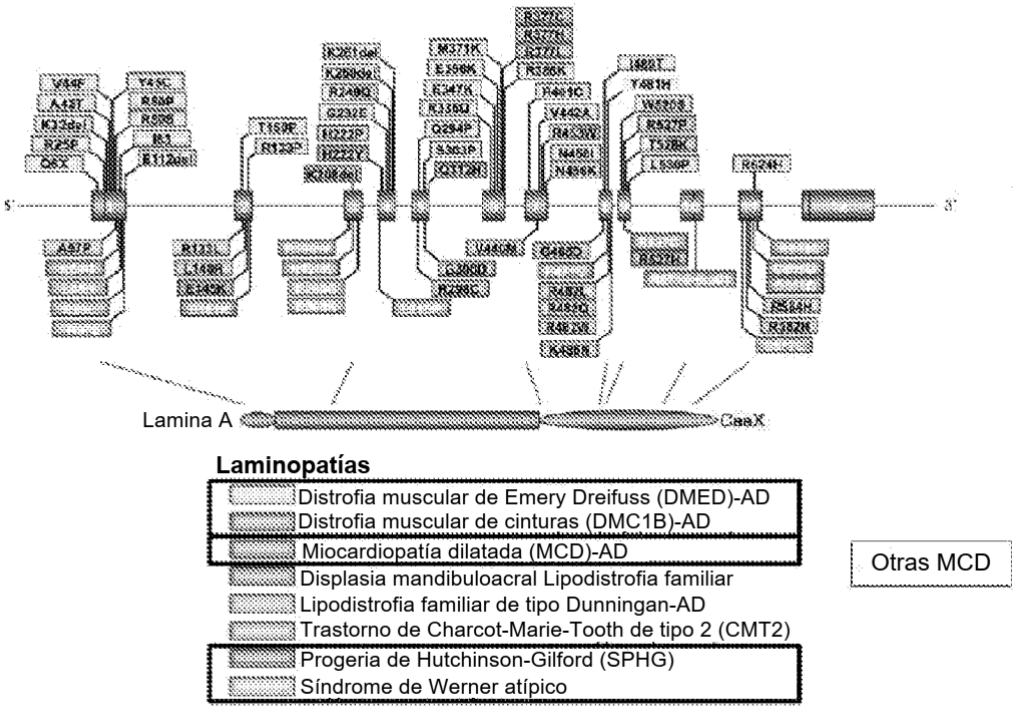

Lamina A
CaaX
Laminopatías
Distrofia muscular de Emery Dreifuss (DMED)-AD
Distrofia muscular de cinturas (DMC1B)-AD
Miocardiopatía dilatada (MCD)-AD
Displasia mandibuloacral Lipodistrofia familiar
Lipodistrofia familiar de tipo Dunningan-AD
Trastorno de Charcot-Marie-Tooth de tipo 2 (CMT2)
Progeria de Hutchinson-Gilford (SPHG)
Síndrome de Werner atípico
Otras MCD

Fig. 2

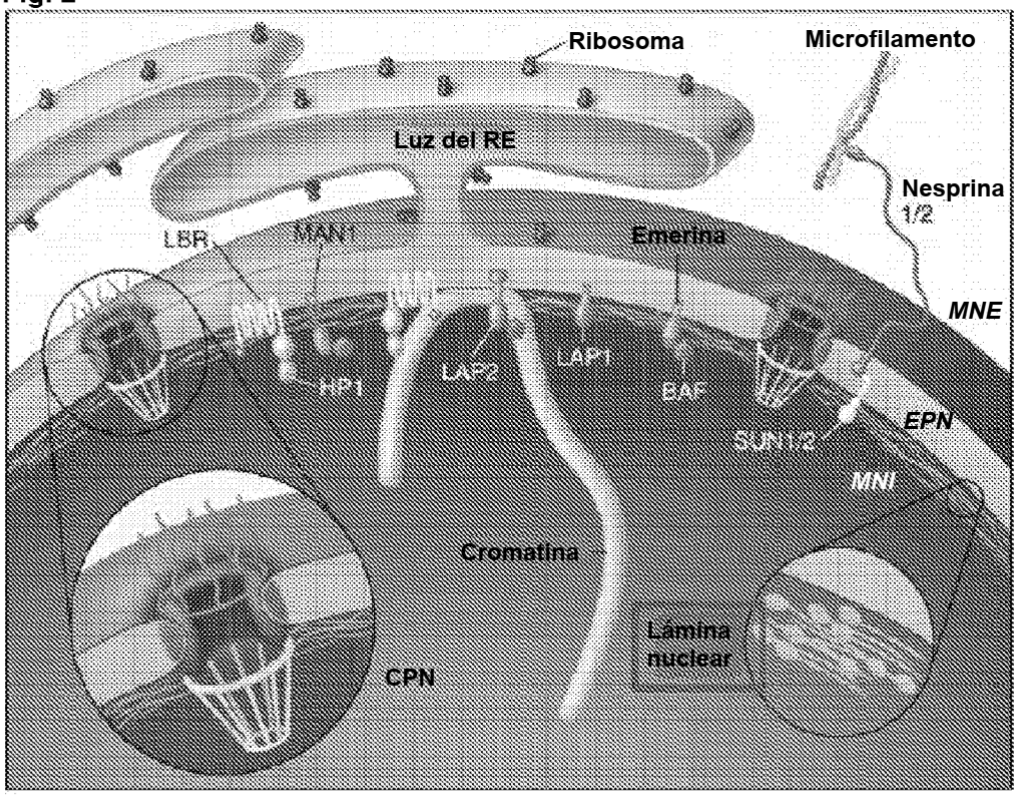

Ribosoma
Microfilamento
Luz del RE
Nesprina 1/2
LBR
MAN1
Emerina
MNE
HP1
LAP2
LAP1
BAF
SUN1,2
EPN
MNI
Cromatina
CPN
Lámina nuclear

Fig. 3

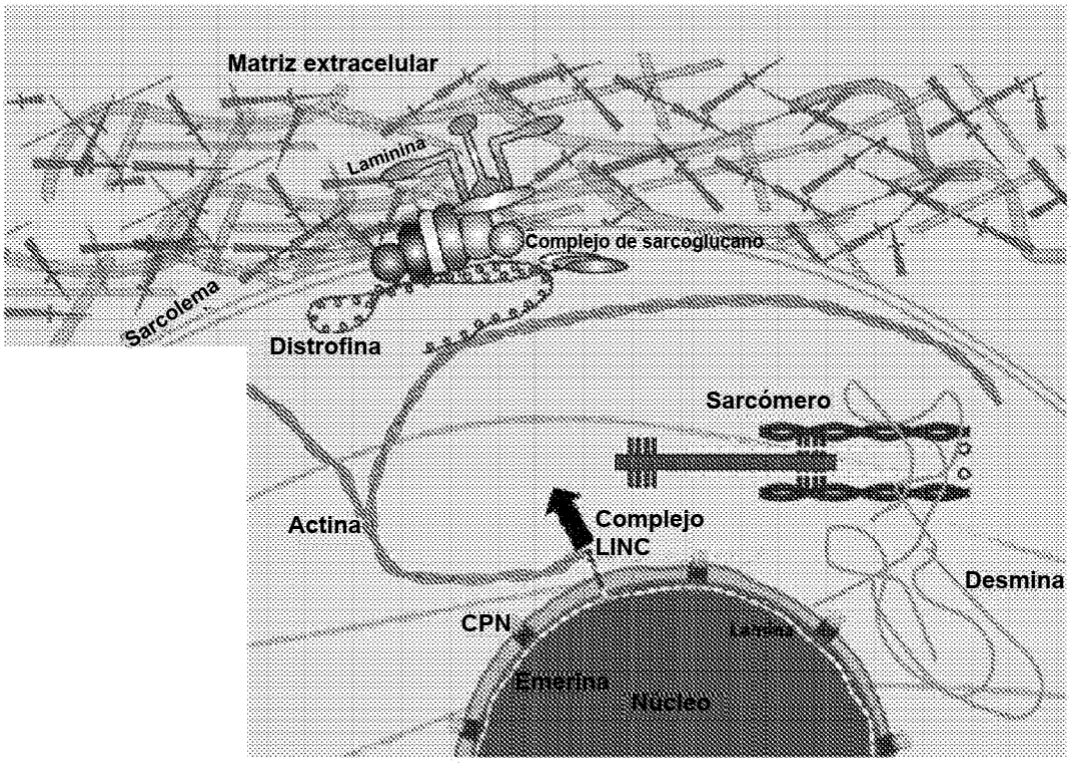

Matriz extracelular
Laminina
Complejo de sarcoglucano
Sarcolema
Distrofina
Sarcómero
Actina
Complejo
LINC
Desmina
CPN
Lamina
Emerina
Núcleo

Fig. 4

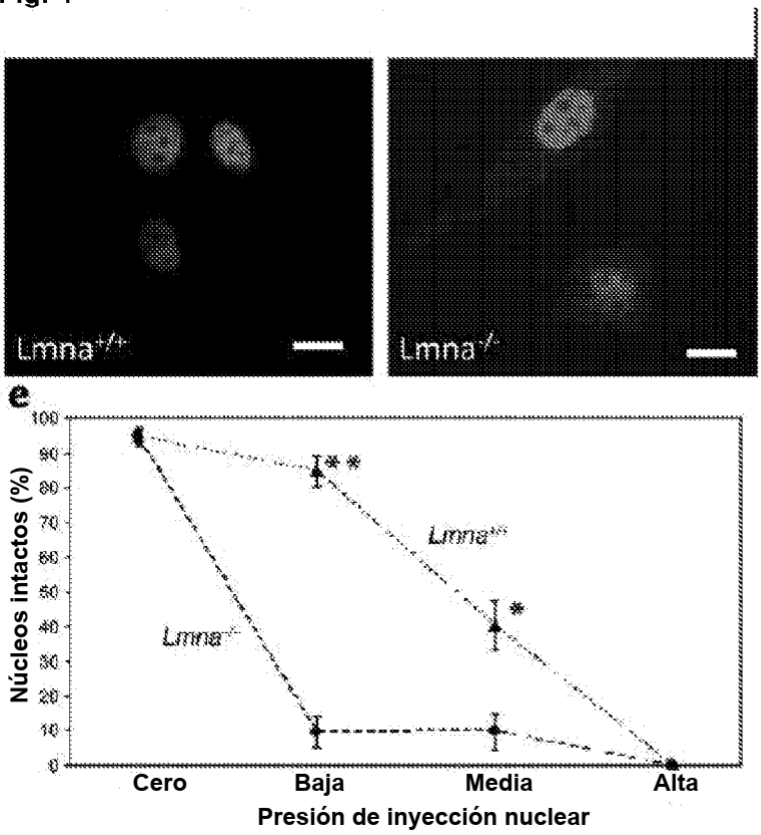

Lmna+/+
Lmna-/-
e
Núcleos intactos (%)
Lmna+/+
Lmna-/-
Cero
Baja
Media
Alta
Presión de inyección nuclear

Fig. 5A

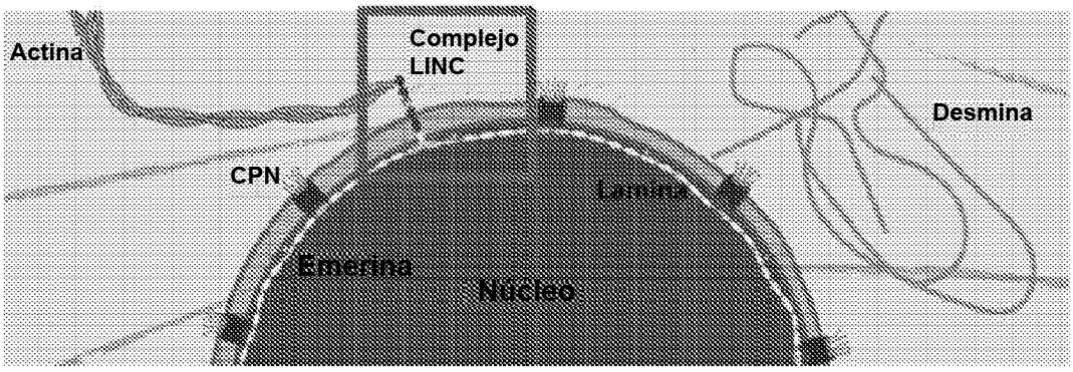

Actina
Complejo
LINC
Desmina
CPN
Lamina
Emerina
Nucleo

Fig. 5B

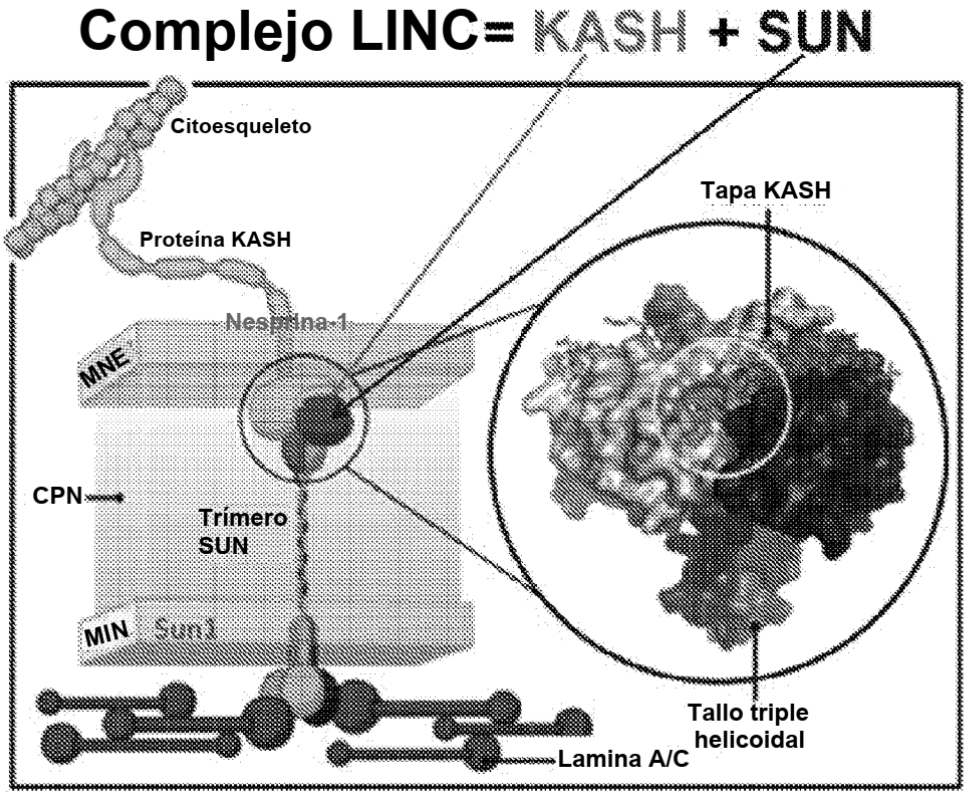

Complejo LINC= KASH + SUN
Citoesqueleto
Proteína KASH
Nesprina-1
MNE
CPN
Trímero
SUN
MIN
Sun1
Tapa KASH
Tallo triple
helicoidal
Lamina A/C

Fig. 6A

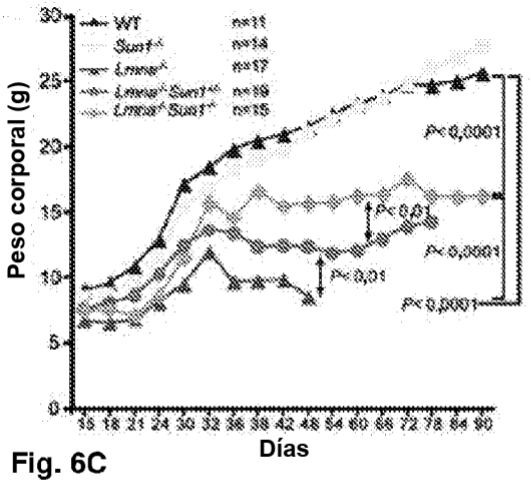


Fig. 6B

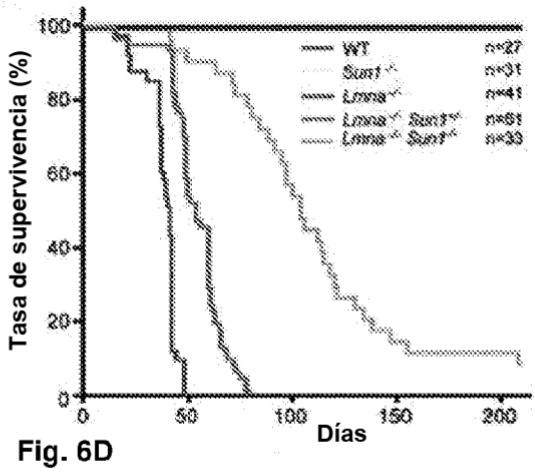


Fig. 6C

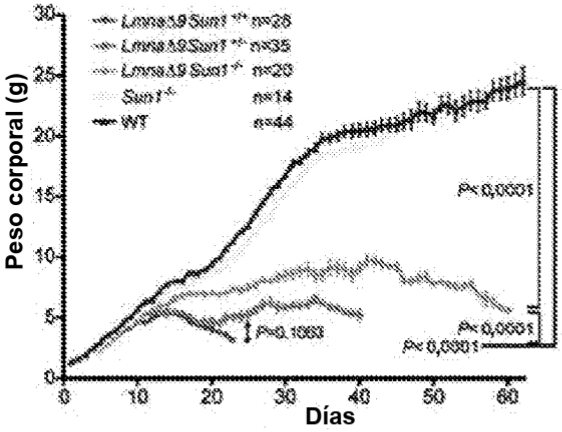


Fig. 6D

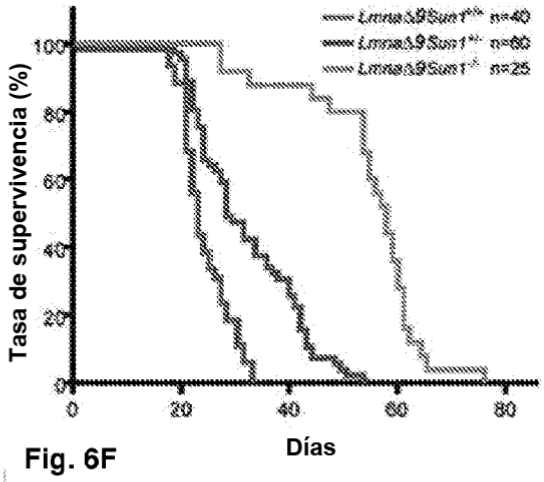


Fig. 6E

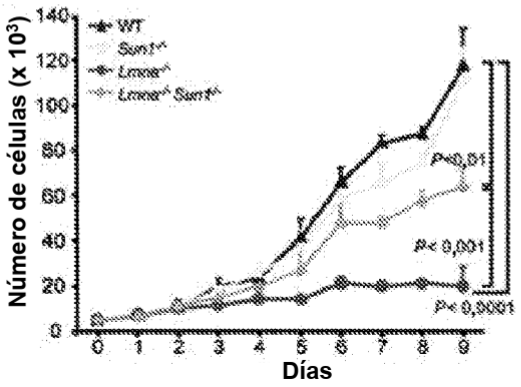


Fig. 6F

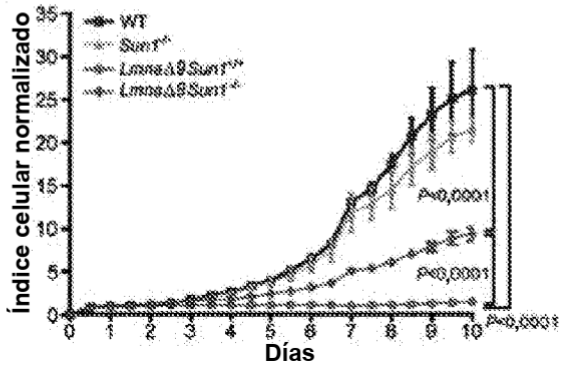


Fig. 7

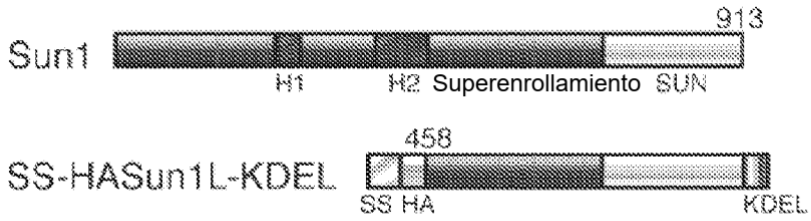

913
Sun1
H1
H2 Superenrollamiento SUN
458
SS-HASun1L-KDEL
SS HA
KDEL

Fig. 8

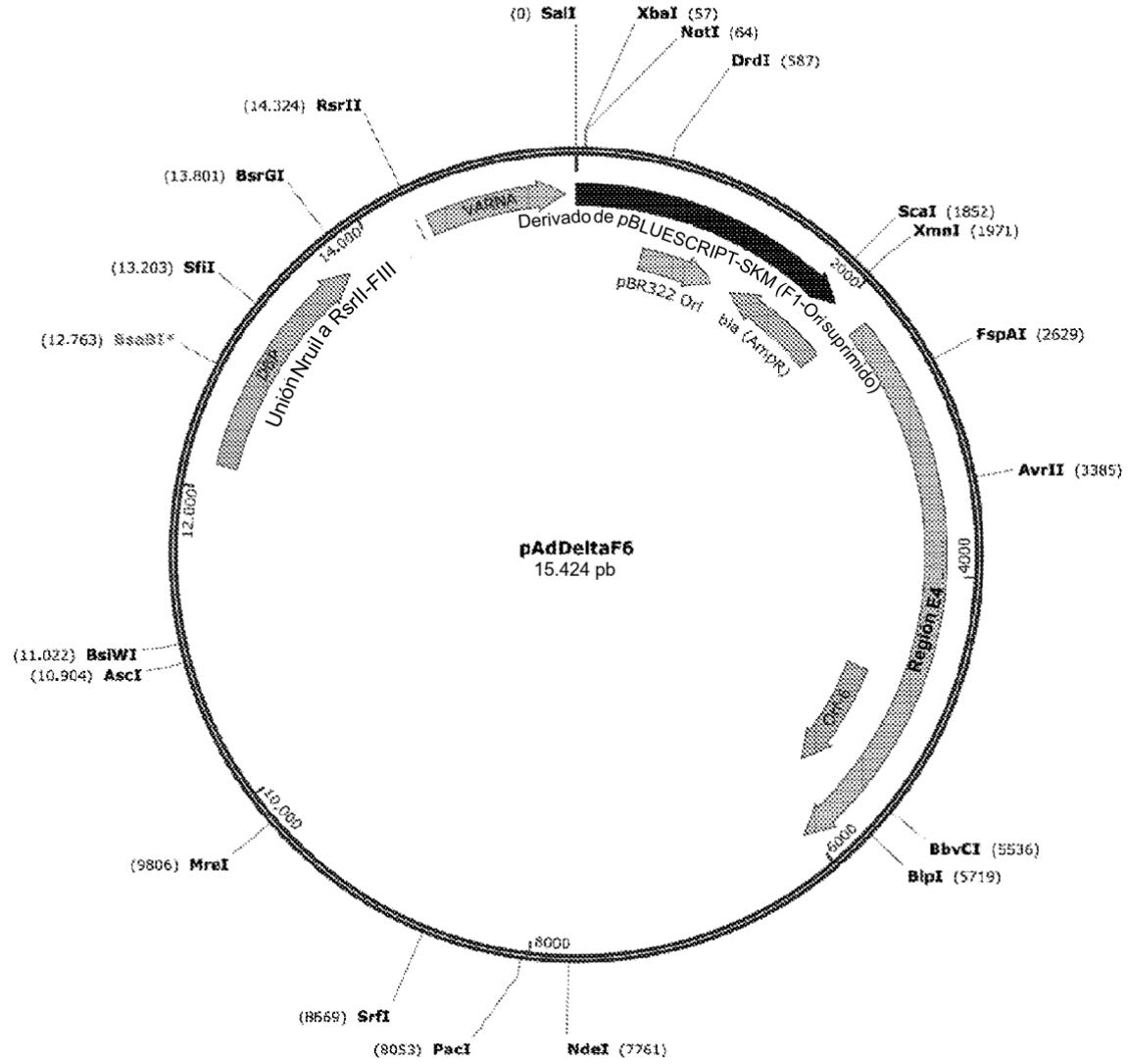

(0) SalI
XbaI (57)
NotI (64)
DrdI (587)
(14.324) RsrII
(13.801) BsrGI
(13.203) SfiI
(12.763) SspBI*
VA RNA
Derivado de pBLUESCRIPT-SKM (F1-Ori suprimido)
pBR322 Ori
bla (AmpR)
ScaI (1852)
XmnI (1971)
FspAI (2629)
AvrII (3385)
Unión NruI a RsrII-FIII
pAdDeltaF6
15.424 pb
Región E4
ORF6
(11.022) BsiWI
(10.904) AscI
(9806) MreI
(8669) SrfI
(8053) PacI
NdeI (7761)
BbvCI (5536)
BlpI (5719)

Fig. 9


(6983) NaeI
(6981) NgoMIV
NcoI (372)
SgrAI (706)
BclI* (713)
(6218) ScaI
Rep de AAV 2
BstBI (1371)
BstEII (1447)
ZraI (1617)
AatII (1619)
HindIII (1629)
pAAV 2/9 (p0008) Q
7330 pb
Promotor LacZ
Caperuza de AAV9
PasI (2788)
BsiWI (3007)
(4398) EcoRV
(4241) SbfI
(4232) PmeI
(4029) AfeI
(3972) XcmI

Fig. 10


ITR 5 prima
cTNT de Gallus gallus
Intrón 1
Secuencia señal
Marcador HA
Inserto
2000
1500
1000
500
Origen de replicación
AP (R)
Vector
4000
ori f1
3000
poli A de Globina de conejo
KDEL
pENN-AAV-cTnT-Sun1DN
5721 pb

Fig. 11

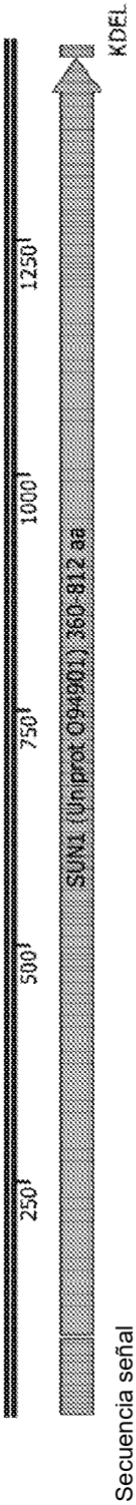

250
500
750
1000
1250
SUN1 (Uniprot O94901) 360-812 aa
KDEL
Secuencia señal

Fig. 12

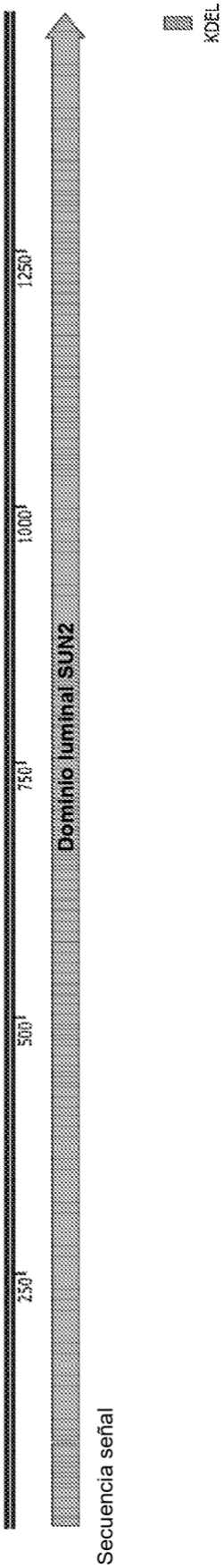

250
500
750
1000
1250
Dominio luminal SUN2
KDEL
Secuencia señal

Fig. 13

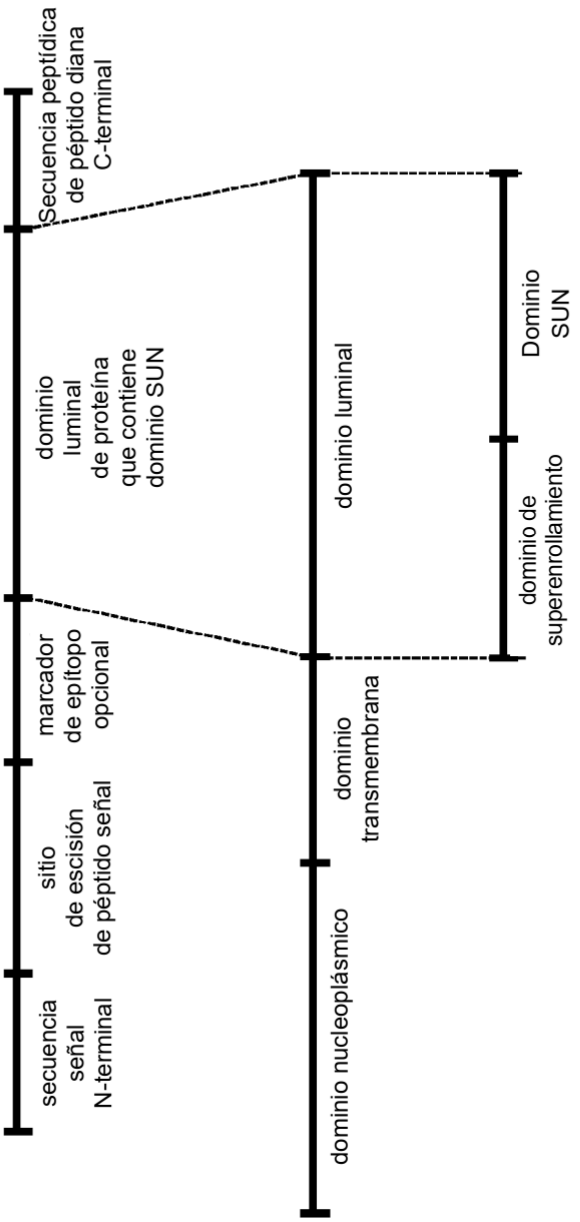


Fig. 14

```
SEQ ID NO:7  KASH1_aminoácido  RGFLFRVLRA-ALP----LQLLLLLIIGIACLVFMSEEDYSCALSNNFARSFHPMLRYTNG
SEQ ID NO:9  KASH2_aminoácido  RSFLSRVVRA-ALP----LQLLLLLLLLLACLLPSSEEDYSCTQANNFARSFYPMLRYTNG
SEQ ID NO:11 KASH3_aminoácido  GSLFRRRACCV-ALP----LQLLLLLFLLLLFLLPIREEDRSCTLANNFARSFTLMLRYNGP
SEQ ID NO:13 KASH4_aminoácido  -----DPASRQPLTFLLTLFILFLLFVCAMFLLP--ASGCPCCSHARIPRTPYLVLSYVNG
SEQ ID NO:15 KASH5_aminoácido  -----LRVTRHPLIPAPVLGILLLLLLSVLLLGPSPPPTWP----------HLQLCYLQP
                                                  * **;**::    * *

SEQ ID NO:7  KASH1_aminoácido PPPL
SEQ ID NO:9  KASH2_aminoácido PPPT
SEQ ID NO:11 KASH3_aminoácido PPT-
SEQ ID NO:13 KASH4_aminoácido LPPV
SEQ ID NO:15 KASH5_aminoácido PPV--
```

Fig. 15

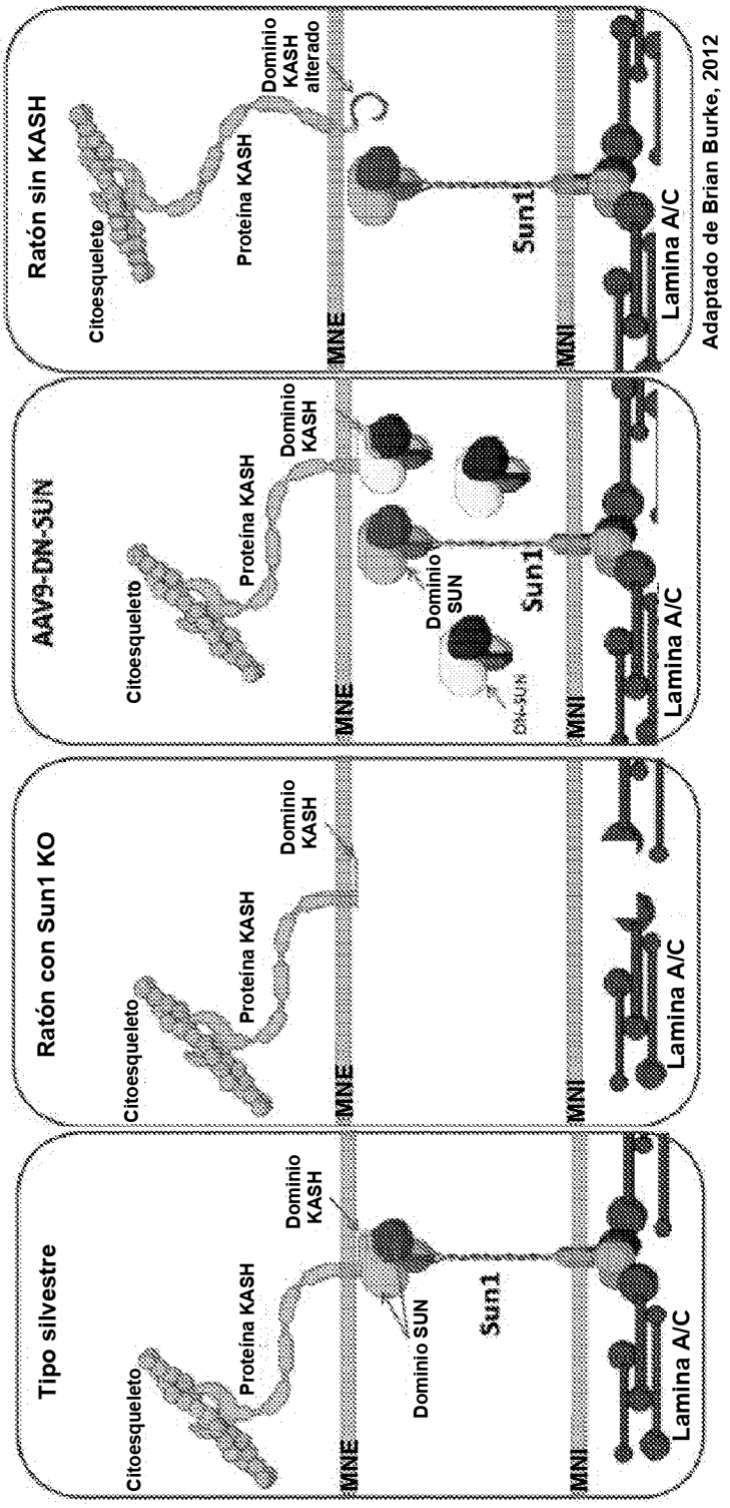

Tipo silvestre
Citoesqueleto
Proteína KASH
Dominio KASH
Dominio SUN
Sun1
MNE
MNI
Lamina A/C
Ratón con Sun1 KO
AAV9-DN-SUN
DN-SUN
Ratón sin KASH
Dominio KASH alterado
Adaptado de Brian Burke, 2012

Fig. 16

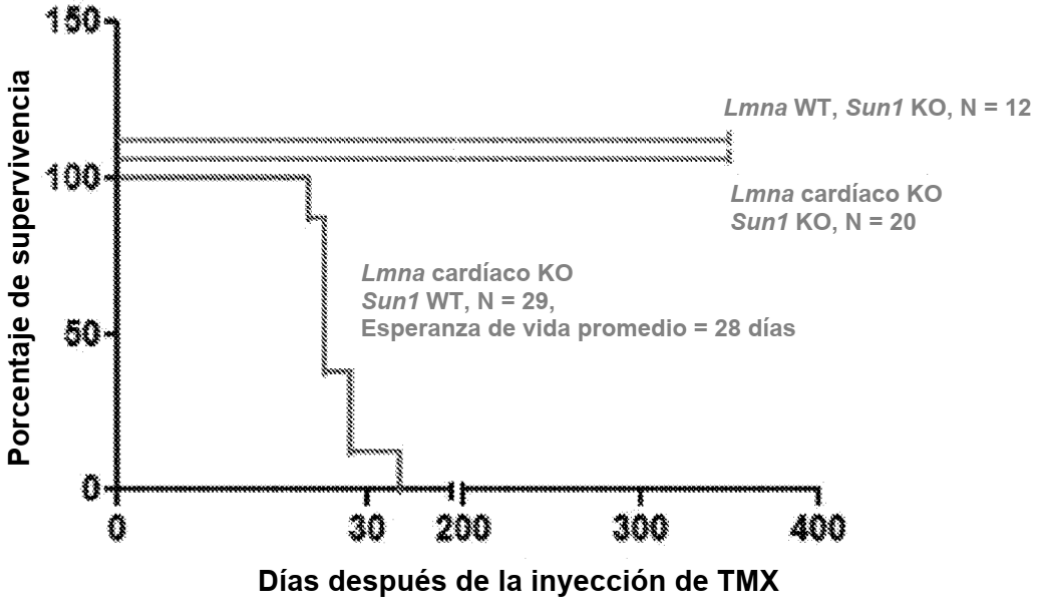

150
100
50
0
Porcentaje de supervivencia
Lmna WT, Sun1 KO, N = 12
Lmna cardíaco KO
Sun1 KO, N = 20
Lmna cardíaco KO
Sun1 WT, N = 29,
Esperanza de vida promedio = 28 días
0
30
200
300
400
Días después de la inyección de TMX

Fig. 17

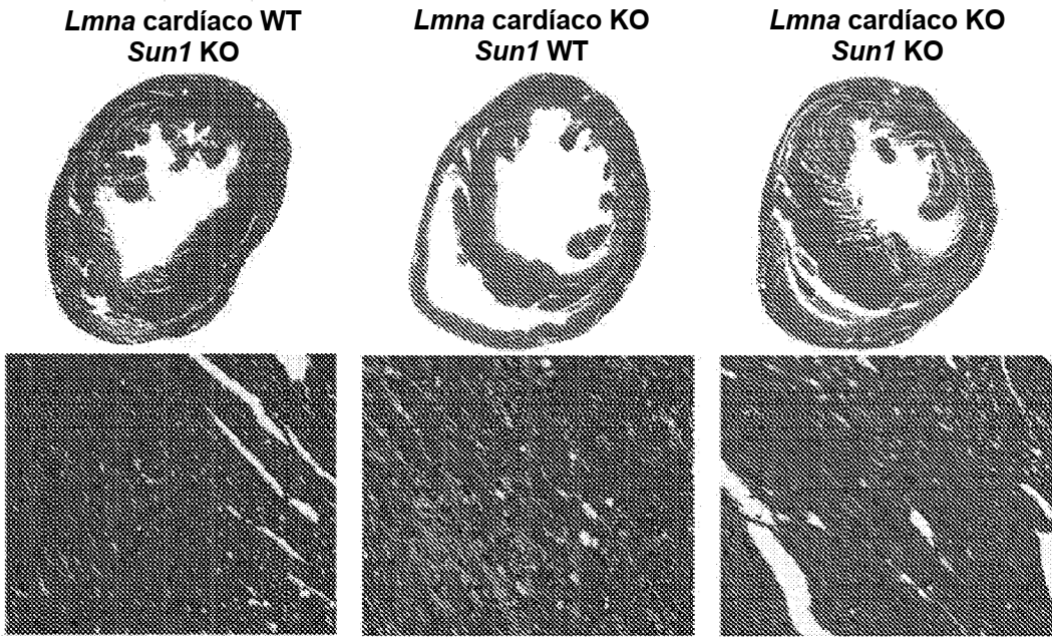

Lmna cardíaco WT
Sun1 KO
Lmna cardíaco KO
Sun1 WT
Lmna cardíaco KO
Sun1 KO

Fig. 18

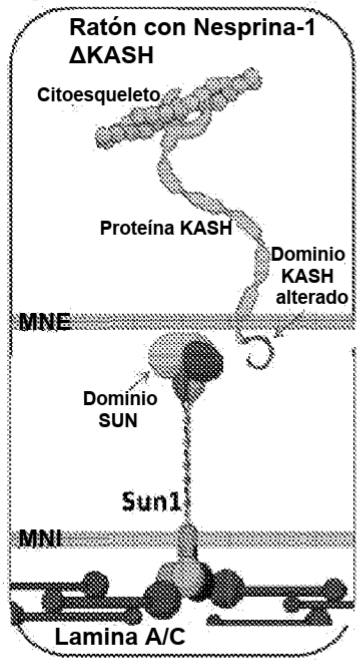


Fig. 19A

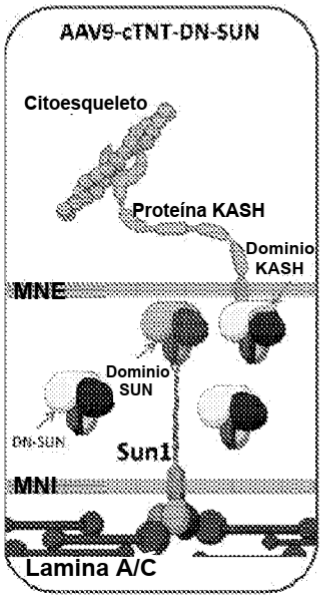


Fig. 19B

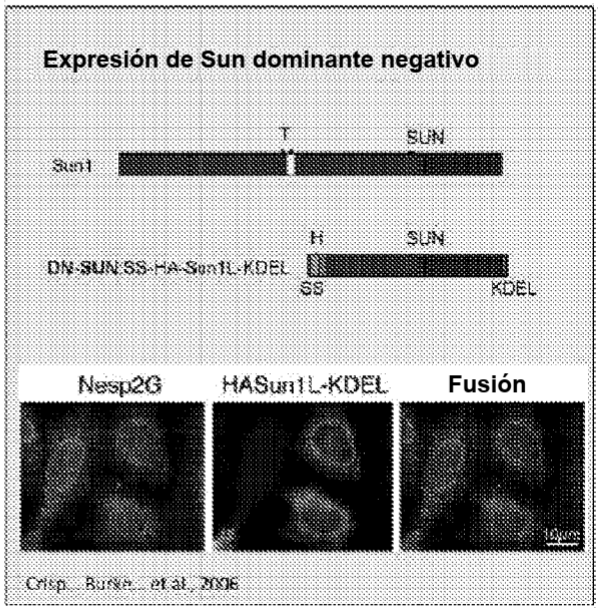


Fig. 20

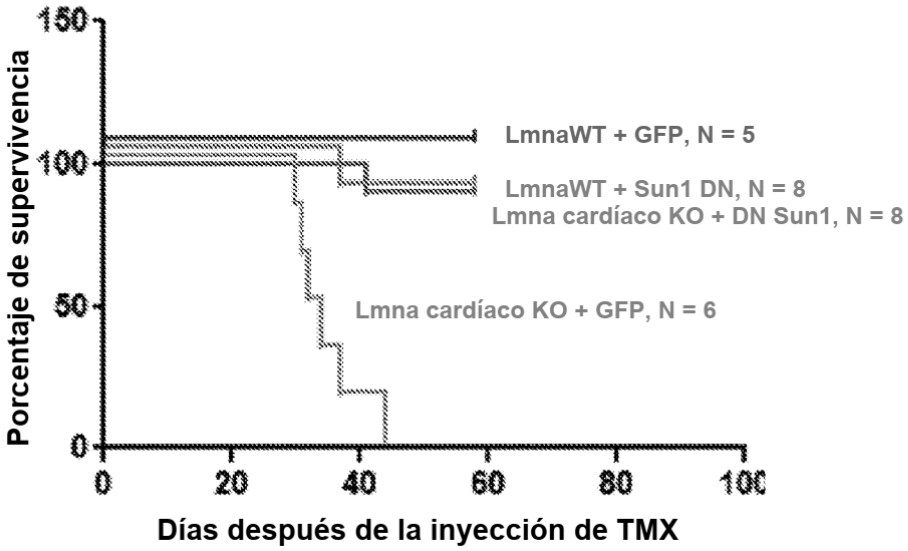

150
100
50
0
Porcentaje de supervivencia
0
20
40
60
80
100
Días después de la inyección de TMX
LmnaWT + GFP, N = 5
LmnaWT + Sun1 DN, N = 8
Lmna cardíaco KO + DN Sun1, N = 8
Lmna cardíaco KO + GFP, N = 6

Fig. 21

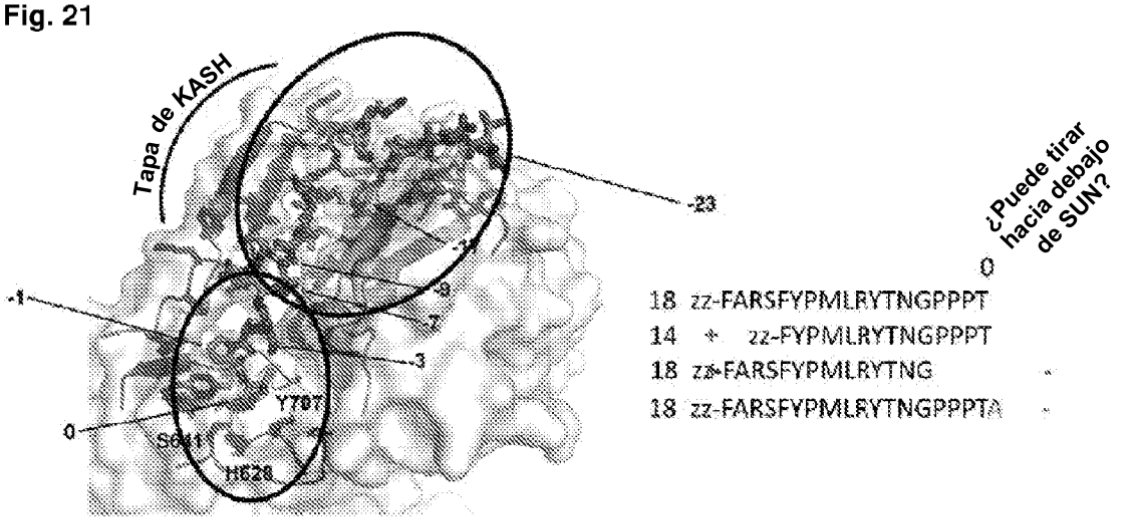

Tapa de KASH
-23
-11
-9
-7
-3
-1
0
Y707
S611
H628
¿Puede tirar hacia debajo de SUN?
0
18 zz-FARSFYPMLRYTNGPPPT
14 zz-FYPMLRYTNGPPPT
18 zz-FARSFYPMLRYTNG
18 zz-FARSFYPMLRYTNGPPPTA

Fig. 22

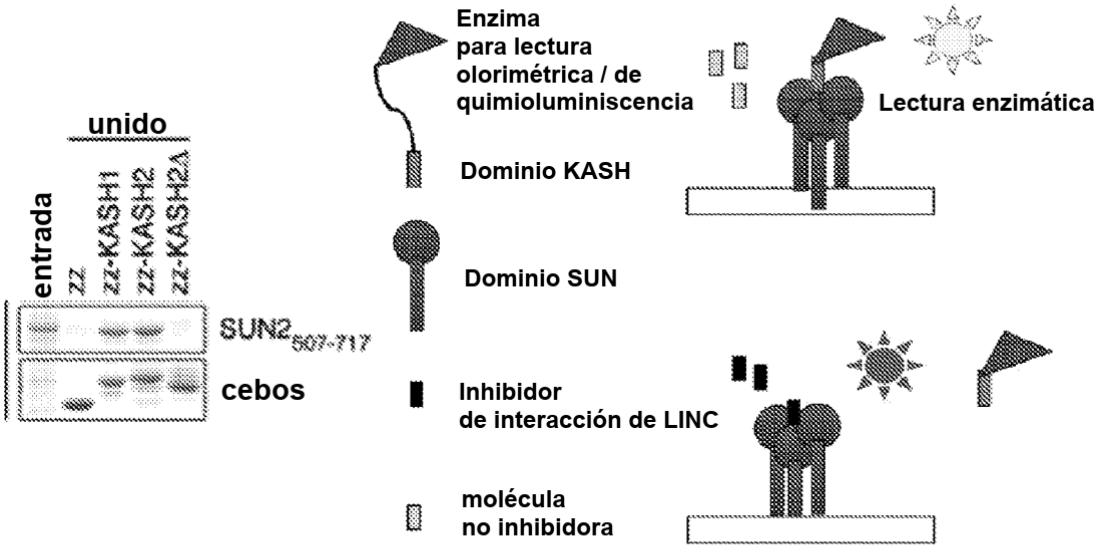

unido
entrada
ZZ
ZZ-KASH1
ZZ-KASH2
ZZ-KASH2Δ
SUN2507-717
cebos
Enzima para lectura olorimétrica / de quimioluminiscencia
Dominio KASH
Dominio SUN
Inhibidor de interacción de LINC
molécula no inhibidora
Lectura enzimática

Fig. 23

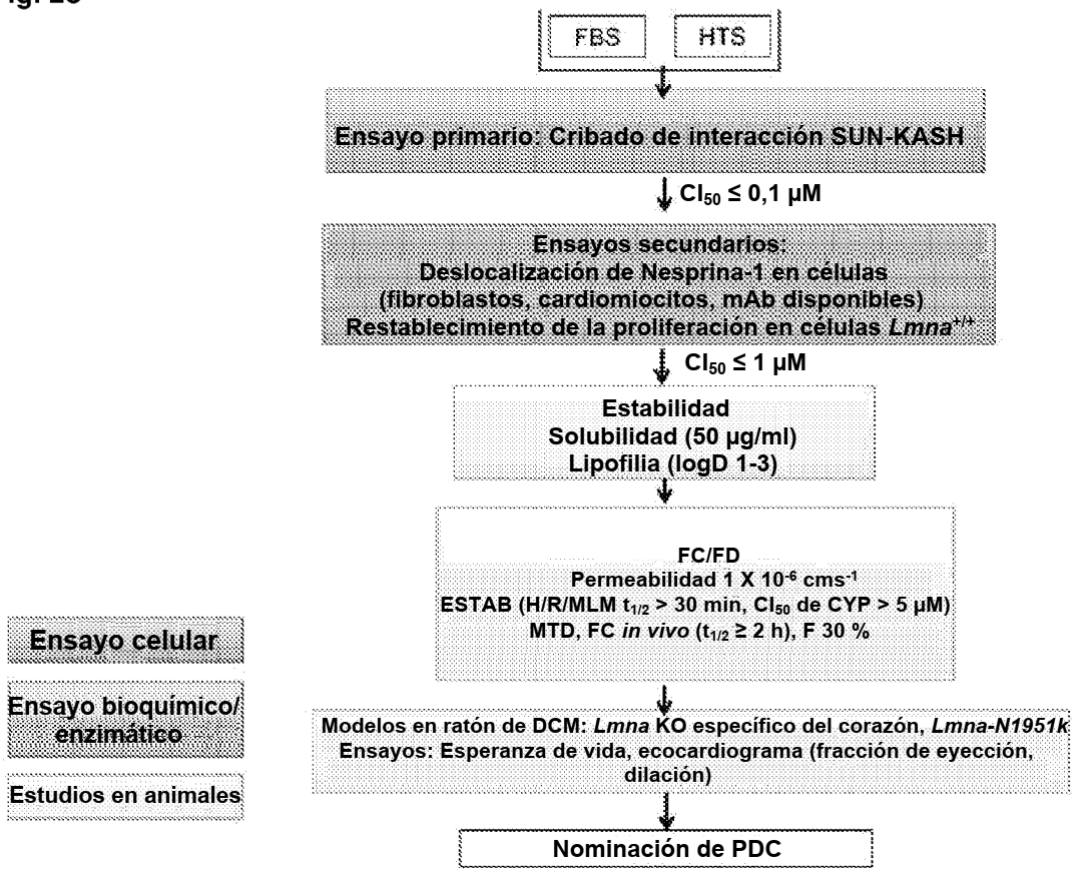

FBS
HTS
Ensayo primario: Cribado de interacción SUN-KASH
CI50 ≤ 0,1 µM
Ensayos secundarios:
Deslocalización de Nesprina-1 en células (fibroblastos, cardiomiocitos, mAb disponibles)
Restablecimiento de la proliferación en células Lmna+/+
CI50 ≤ 1 µM
Estabilidad
Solubilidad (50 µg/ml)
Lipofilia (logD 1-3)
FC/FD
Permeabilidad 1 X 10-6 cms-1
ESTAB (H/R/MLM t1/2 > 30 min, CI50 de CYP > 5 µM)
MTD, FC in vivo (t1/2 ≥ 2 h), F 30 %
Modelos en ratón de DCM: Lmna KO específico del corazón, Lmna-N1951k
Ensayos: Esperanza de vida, ecocardiograma (fracción de eyección, dilación)
Nominación de PDC
Ensayo celular
Ensayo bioquímico/ enzimático
Estudios en animales

Fig. 24

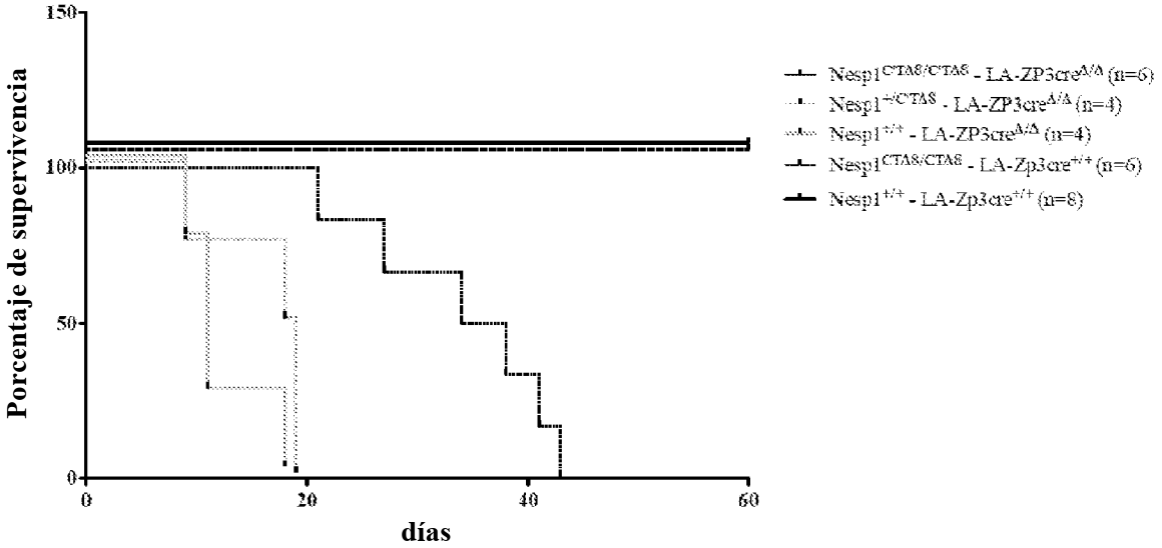

Porcentaje de supervivencia
150
100
50
0
0
20
40
60
días
Nesp1CTAδ/CTAδ - LA-ZP3creΔ/Δ (n=6)
Nesp1+/CTAδ - LA-ZP3creΔ/Δ (n=4)
Nesp1+/+ - LA-ZP3creΔ/Δ (n=4)
Nesp1CTAδ/CTAδ - LA-Zp3cre+/+ (n=6)
Nesp1+/+ - LA-Zp3cre+/+ (n=8)

Fig. 25

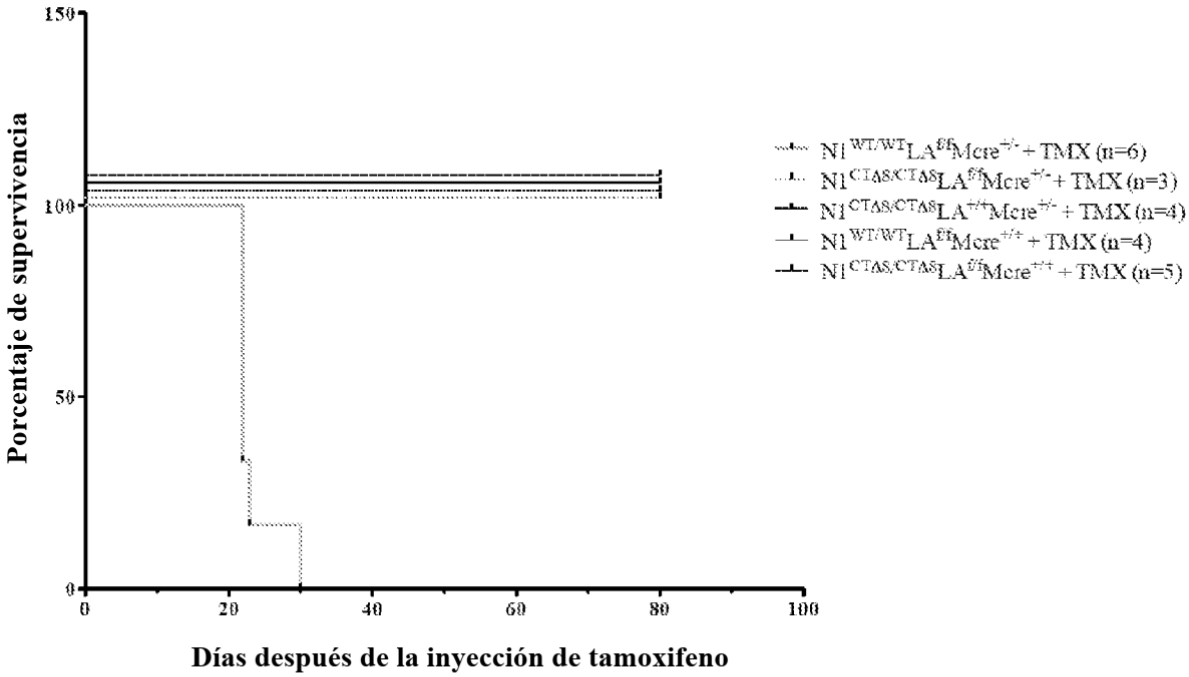

150
100
50
0
0
20
40
60
80
100
Porcentaje de supervivencia
Días después de la inyección de tamoxifeno
N1WT/WTLAfl/flMcre+/- + TMX (n=6)
N1CTΔS/CTΔSLAfl/flMcre+/- + TMX (n=3)
N1CTΔS/CTΔSLA+/+Mcre+/- + TMX (n=4)
N1WT/WTLAfl/flMcre+/+ + TMX (n=4)
N1CTΔS/CTΔSLAfl/flMcre+/+ + TMX (n=5)

Fig. 26A

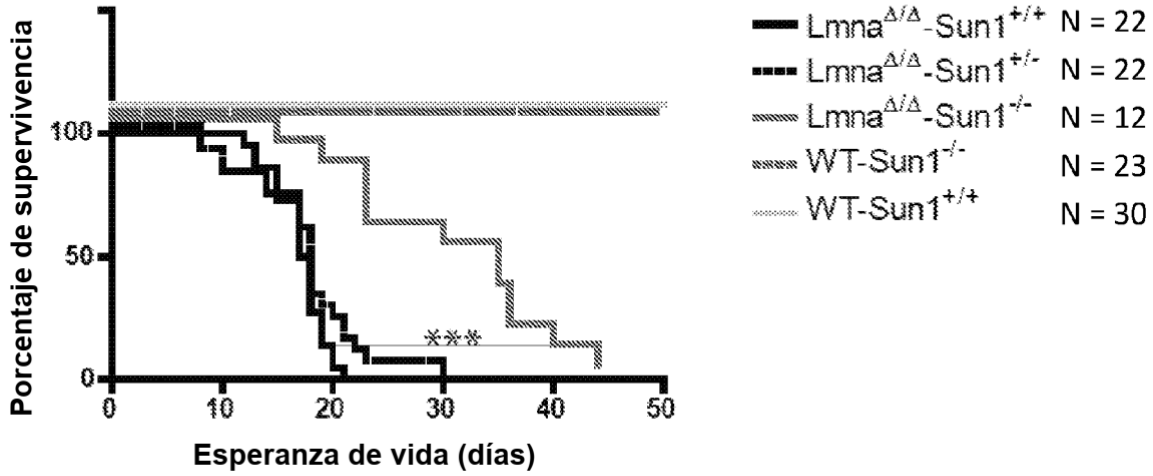


Fig. 26B

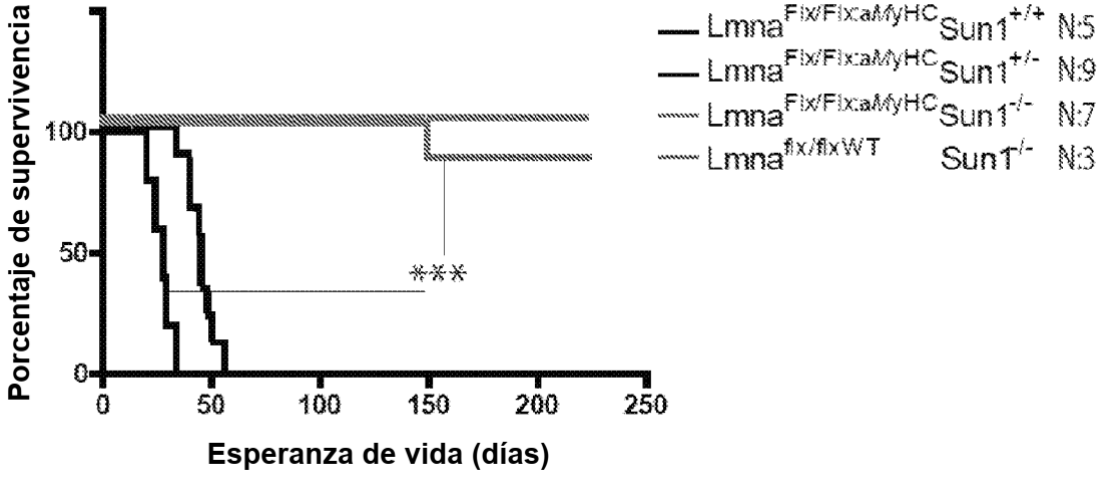


Fig. 26C

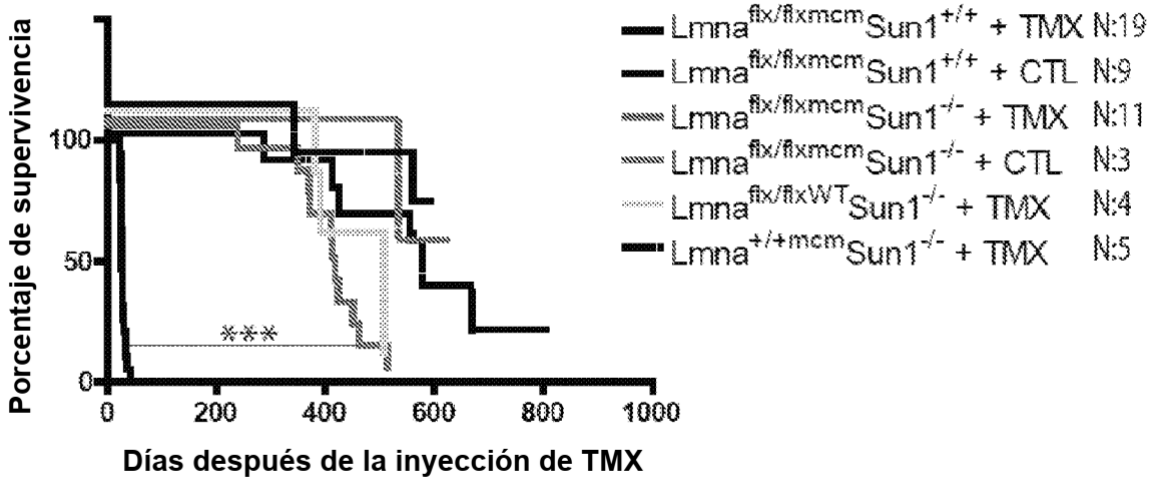


Fig. 26D

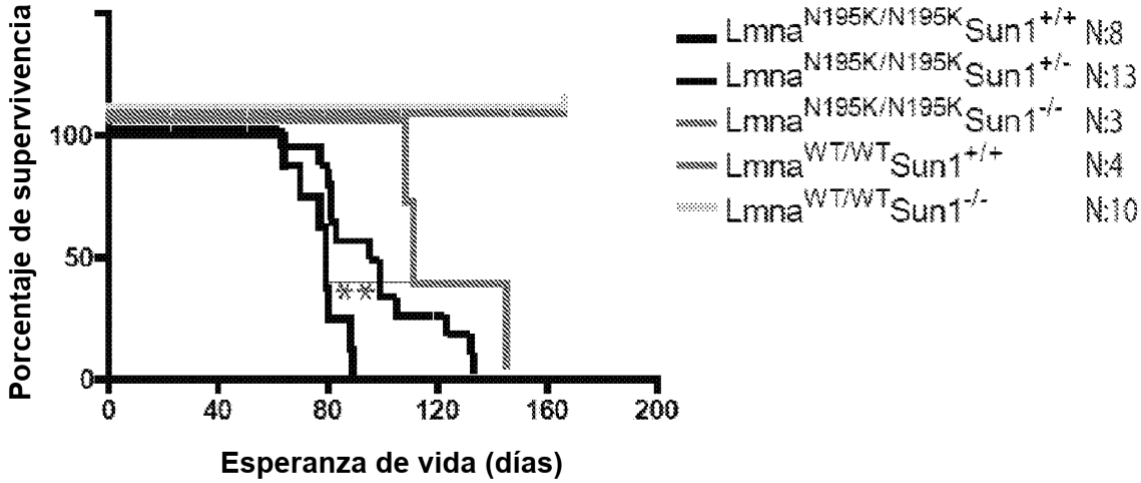


Fig. 27A

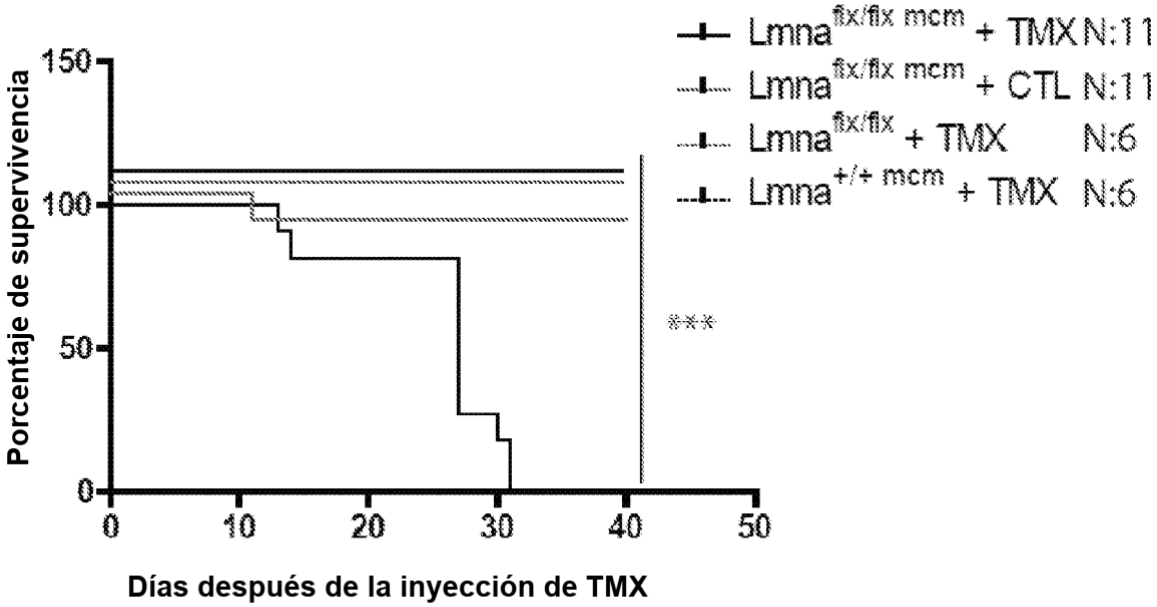


Fig. 27B

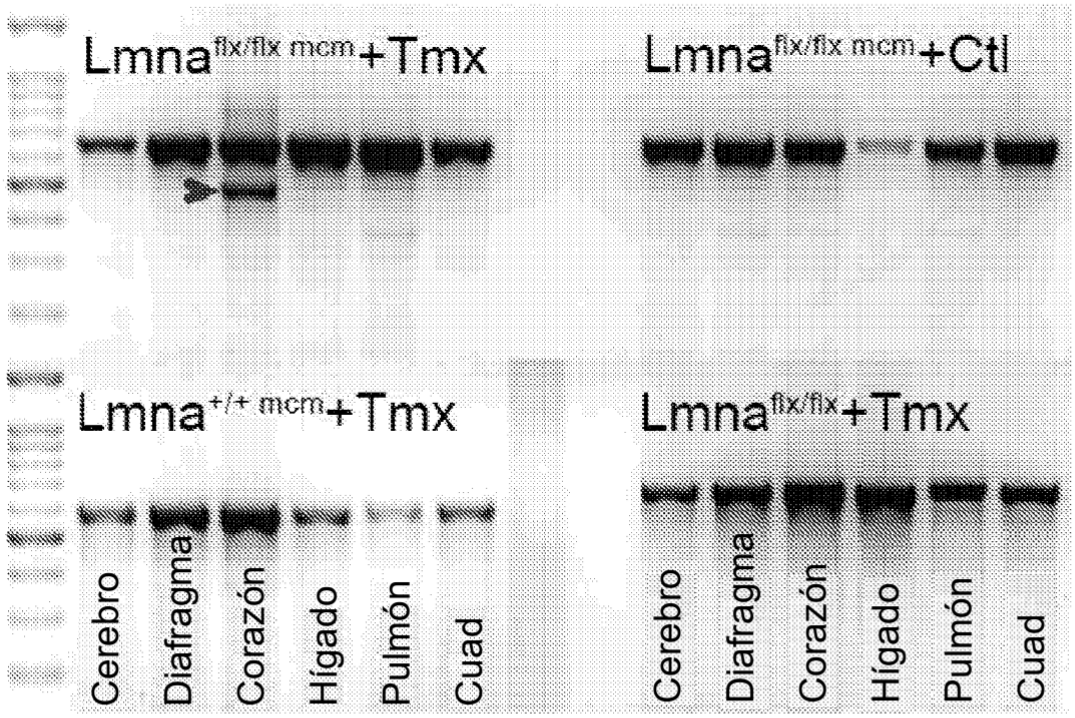


Fig. 27C

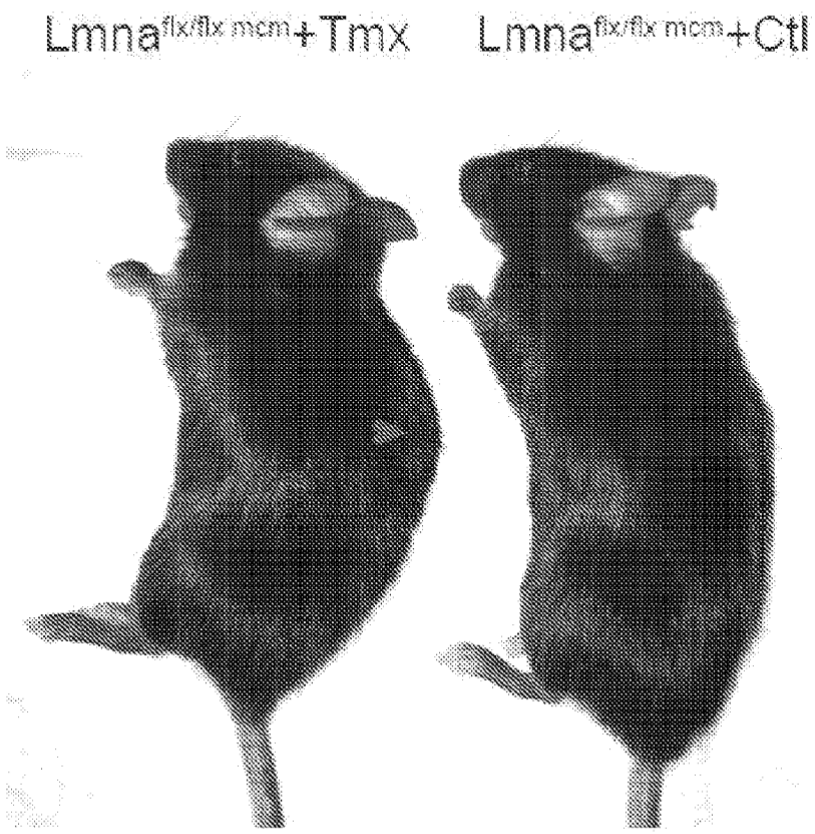


Fig. 27D

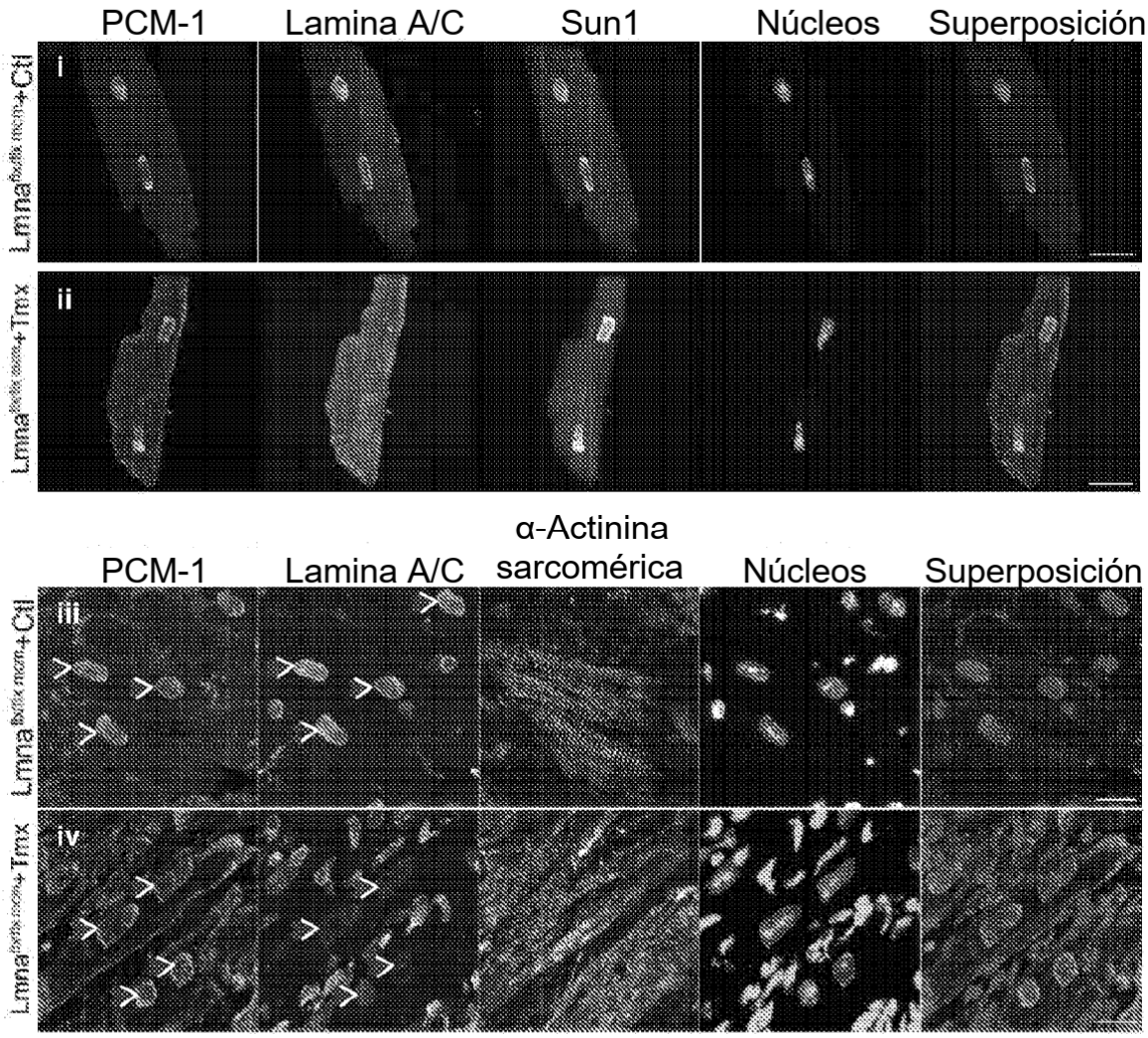

PCM-1
Lamina A/C
Sun1
Núcleos
Superposición
i
ii
α-Actinina sarcomérica
iii
iv

Fig. 27E

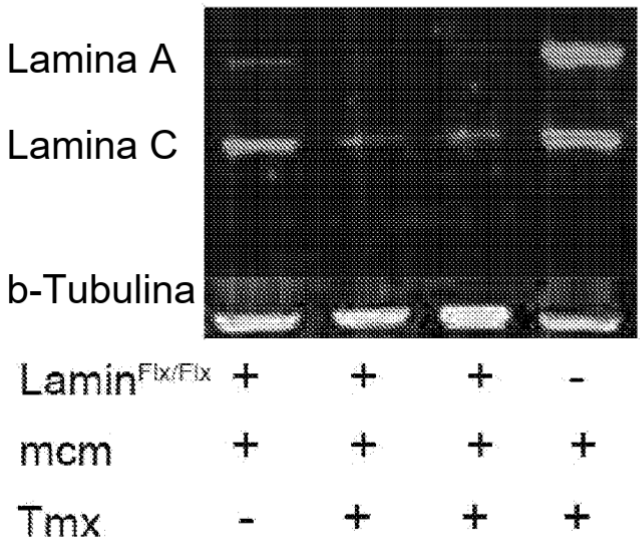


Fig. 27F

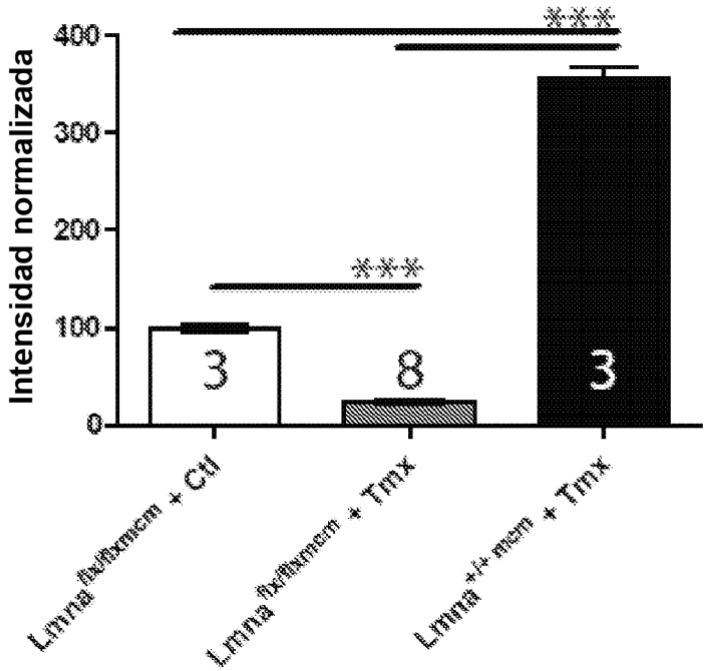


Fig. 28A

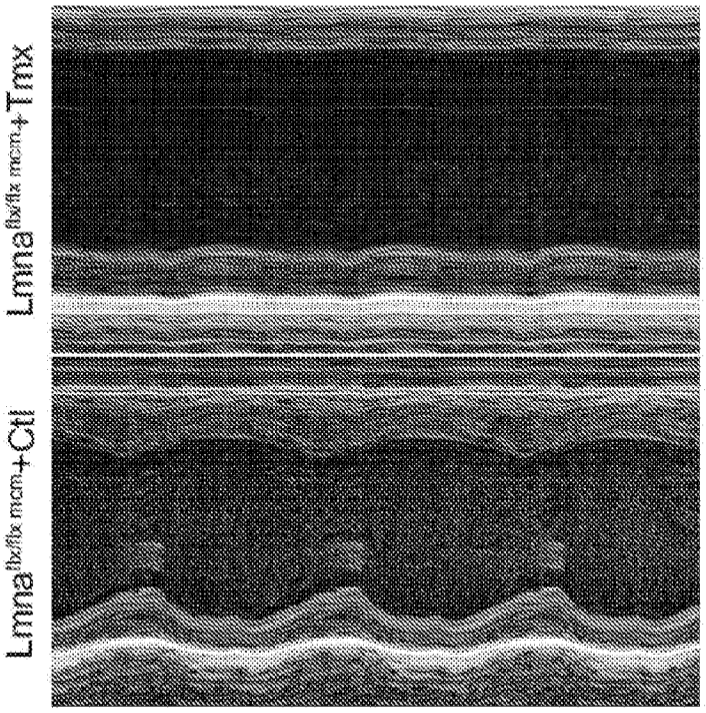


Fig. 28B

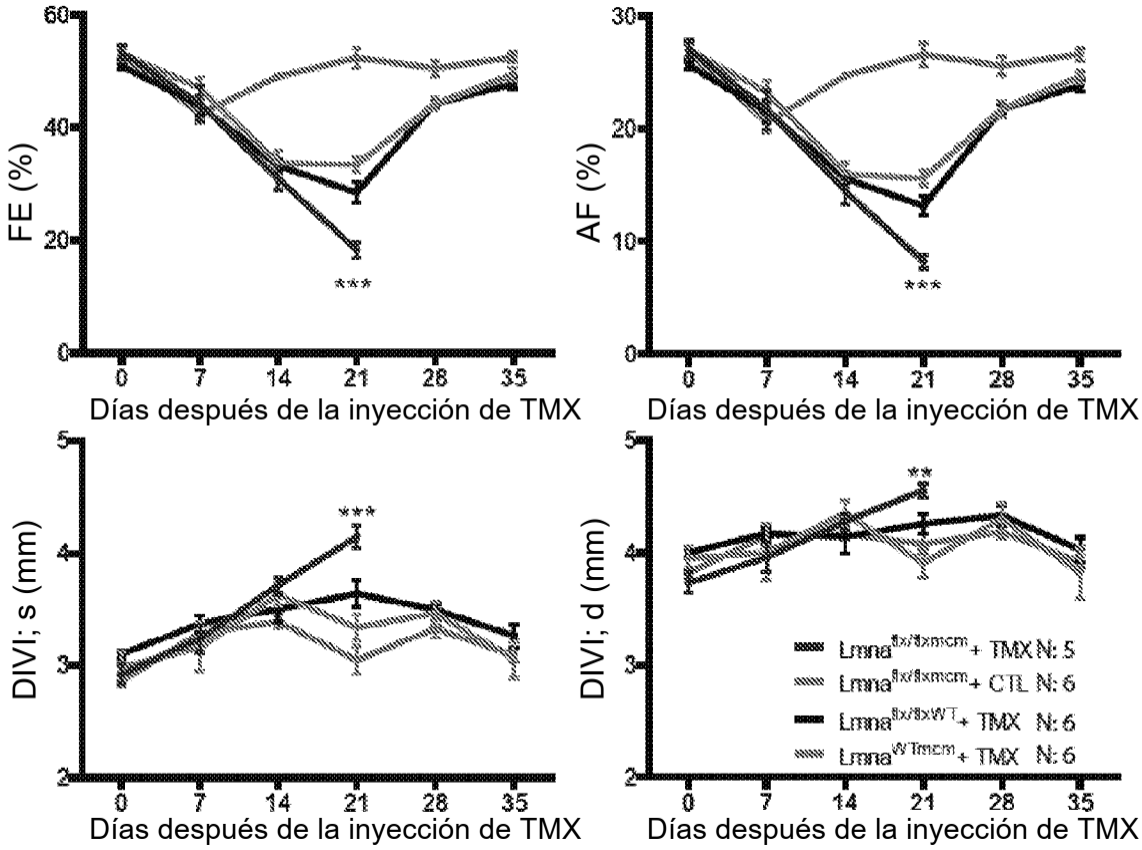


Fig. 28C

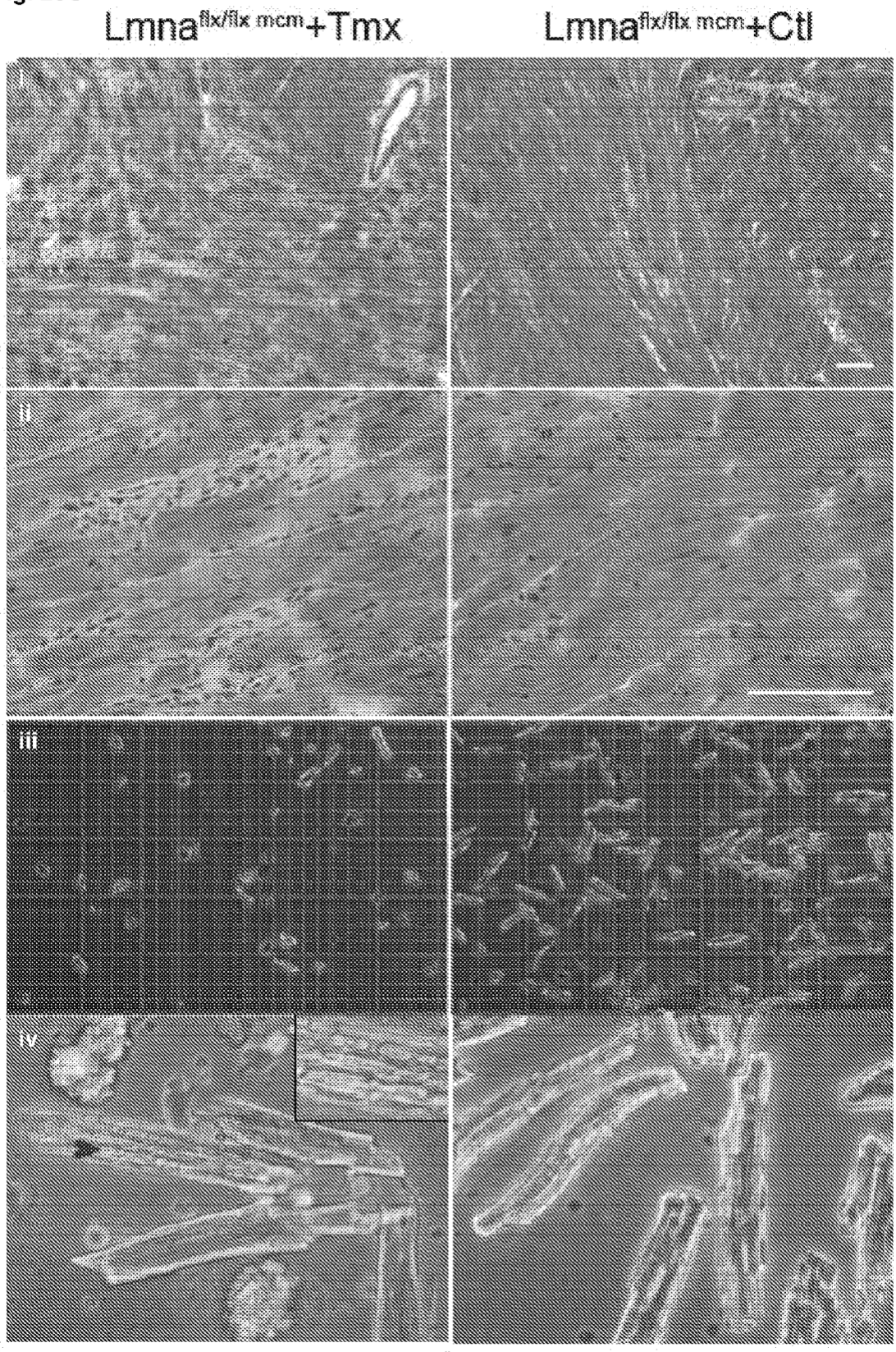


Fig. 28D

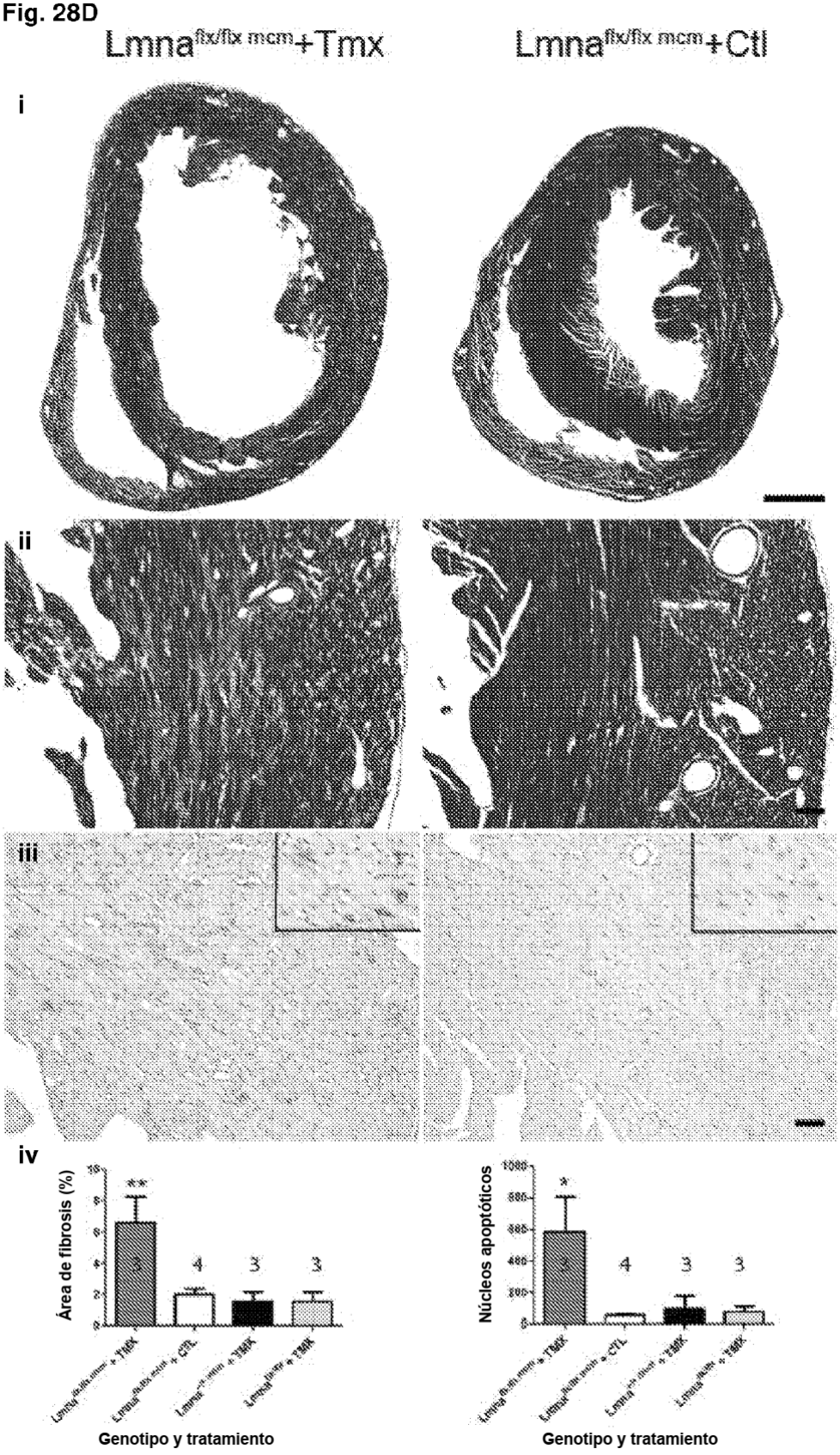

Lmna^flx/flx mcm+Tmx
Lmna^flx/flx mcm+Ctl
i
ii
iii
iv
Área de fibrosis (%)
Núcleos apoptóticos
Genotipo y tratamiento
Genotipo y tratamiento

Fig. 29A

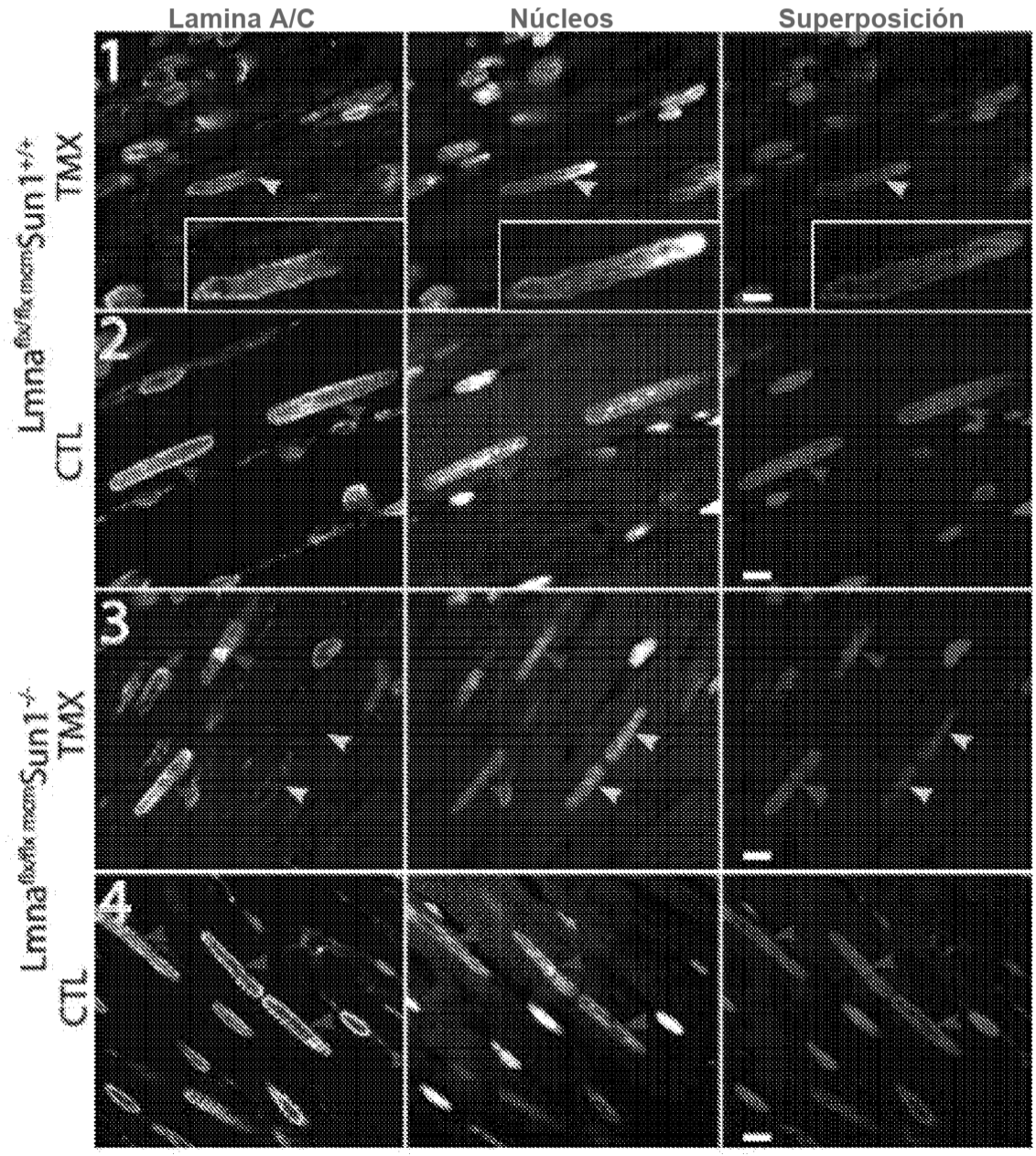
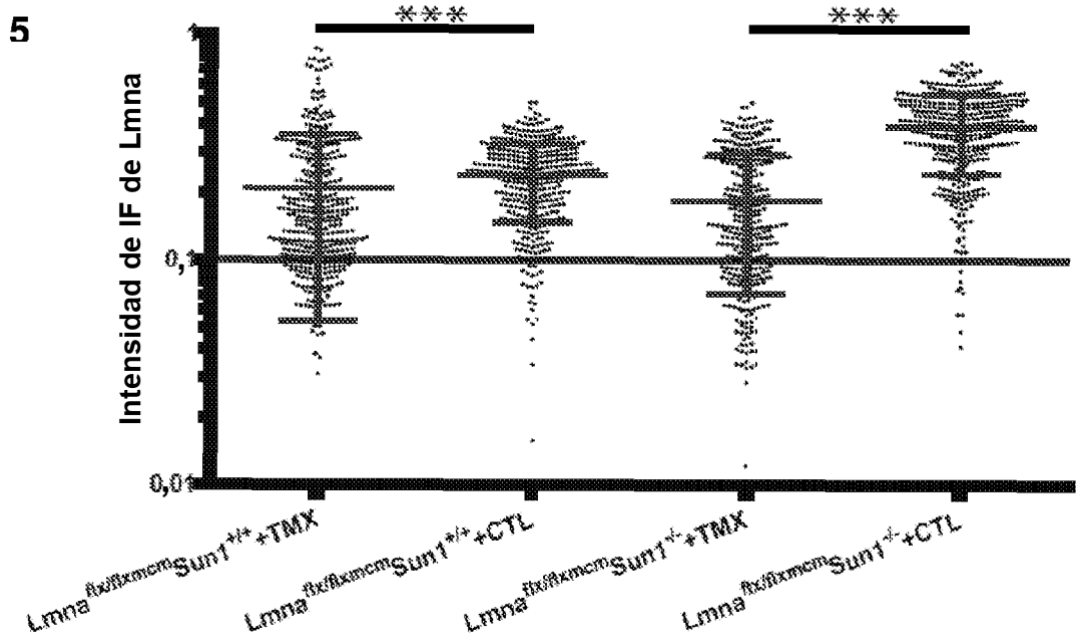

Lamina A/C
Núcleos
Superposición
1
2
3
4
Lmna flox/flox mcmSun1 +/+ TMX
CTL
Lmna flox/flox mcmSun1 -/- TMX
CTL

Fig. 29A (continuación)



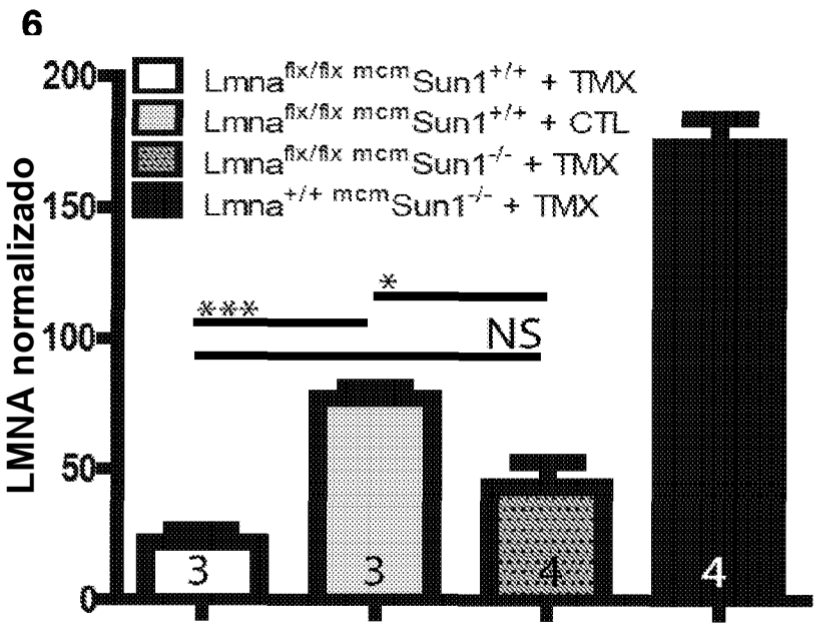


Fig. 29B

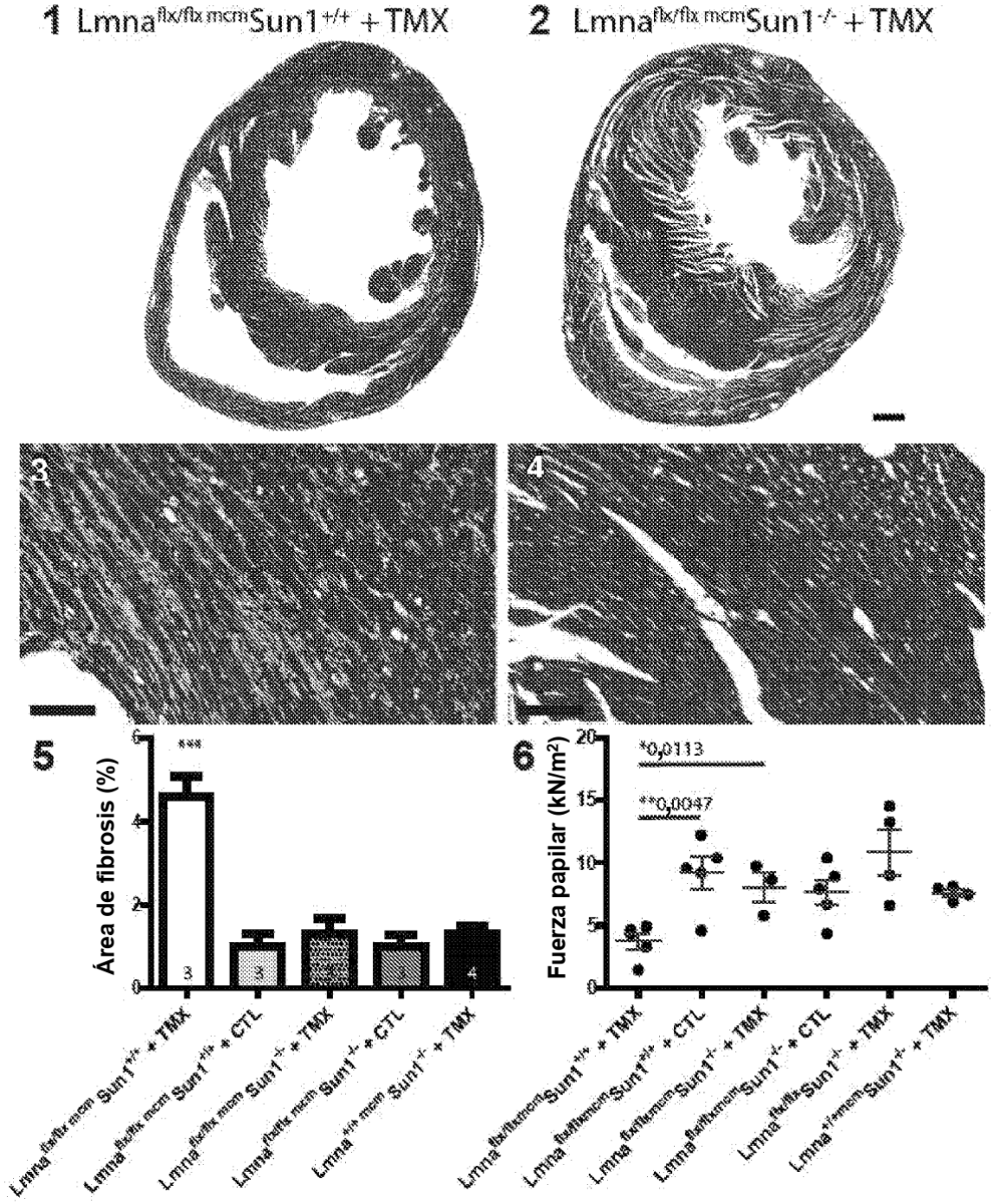

1 Lmna flx/flx mcm Sun1 +/+ + TMX
2 Lmna flx/flx mcm Sun1 -/- + TMX
3
4
5
Área de fibrosis (%)
***
6
Fuerza papilar (kN/m²)
*0,0113
**0,0047
Lmna flx/flx mcm Sun1 +/+ + TMX
Lmna flx/flx mcm Sun1 +/+ + CTL
Lmna flx/flx mcm Sun1 -/- + TMX
Lmna flx/flx mcm Sun1 -/- + CTL
Lmna +/+ mcm Sun1 -/- + TMX

Fig. 29C

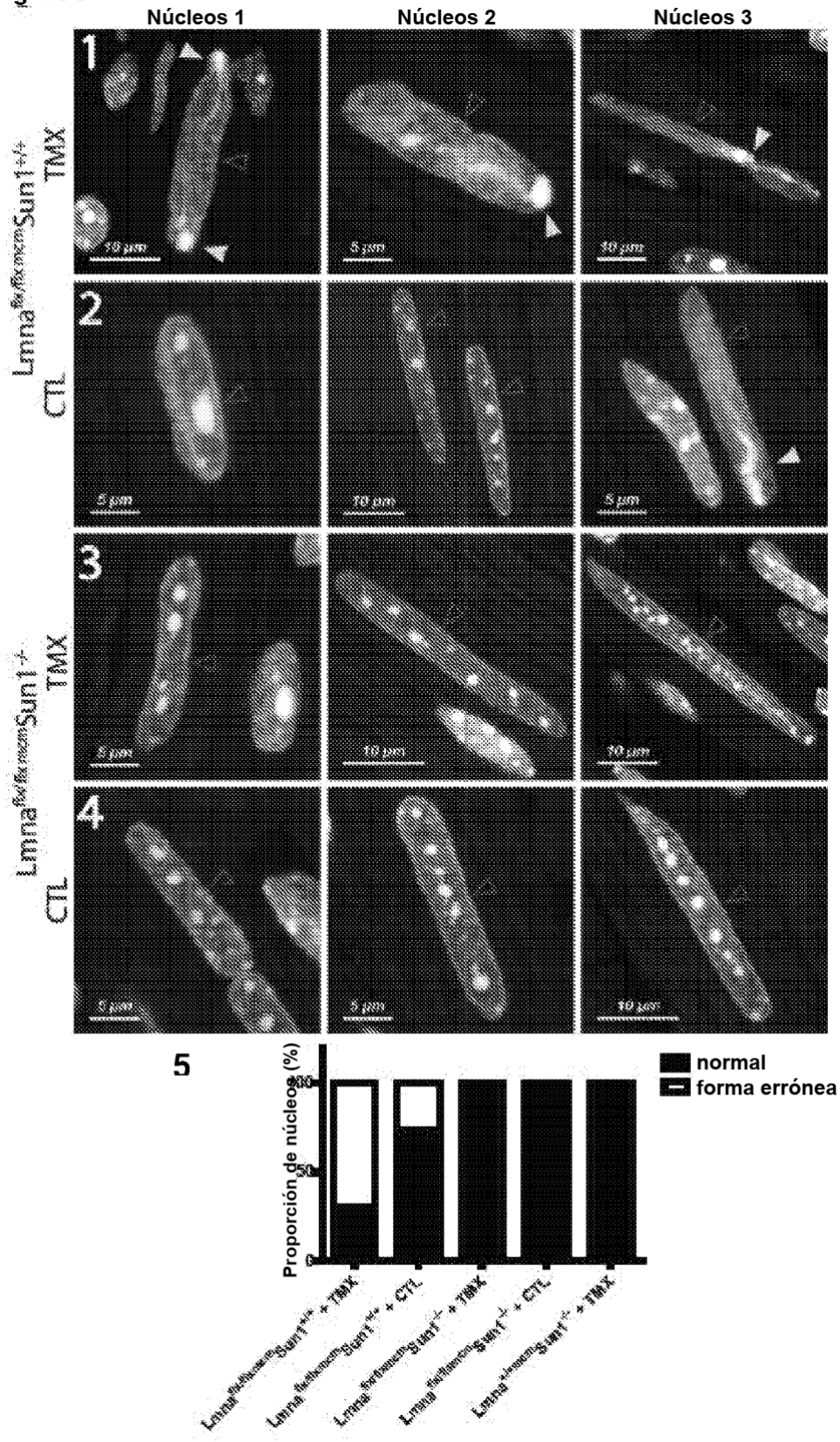

Núcleos 1
Núcleos 2
Núcleos 3
1
Lmna^flx/flx;mcmSun1^+/+ TMX
2
CTL
3
Lmna^flx/flx;mcmSun1^-/- TMX
4
CTL
5
Proporción de núcleos (%)
100
50
0
normal
forma errónea
Lmna^flx/flx;mcmSun1^+/+ + TMX
Lmna^flx/flx;mcmSun1^+/+ + CTL
Lmna^flx/flx;mcmSun1^-/- + TMX
Lmna^flx/flx;mcmSun1^-/- + CTL
Lmna^flx/flx;mcmSun1^-/- + TMX

Fig. 29D

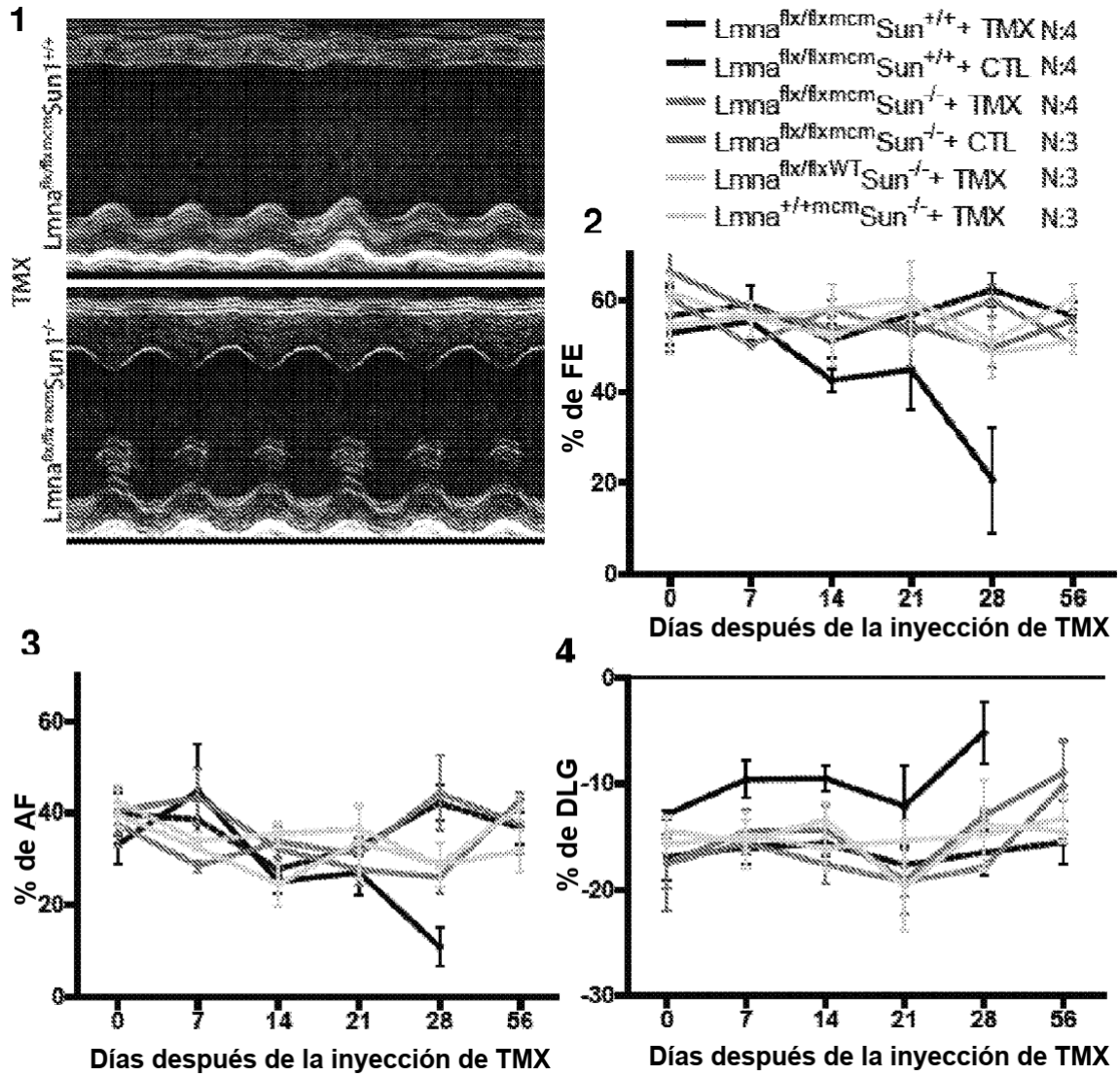

1
TMX
Lmna flx/flxmcm Sun 1+/+
Lmna flx/flxmcm Sun 1-/-
2
Lmna flx/flxmcm Sun +/+ + TMX N:4
Lmna flx/flxmcm Sun +/+ + CTL N:4
Lmna flx/flxmcm Sun -/- + TMX N:4
Lmna flx/flxmcm Sun -/- + CTL N:3
Lmna flx/flxWT Sun -/- + TMX N:3
Lmna +/+mcm Sun -/- + TMX N:3
% de FE
Días después de la inyección de TMX
3
% de AF
Días después de la inyección de TMX
4
% de DLG
Días después de la inyección de TMX

Fig. 30A

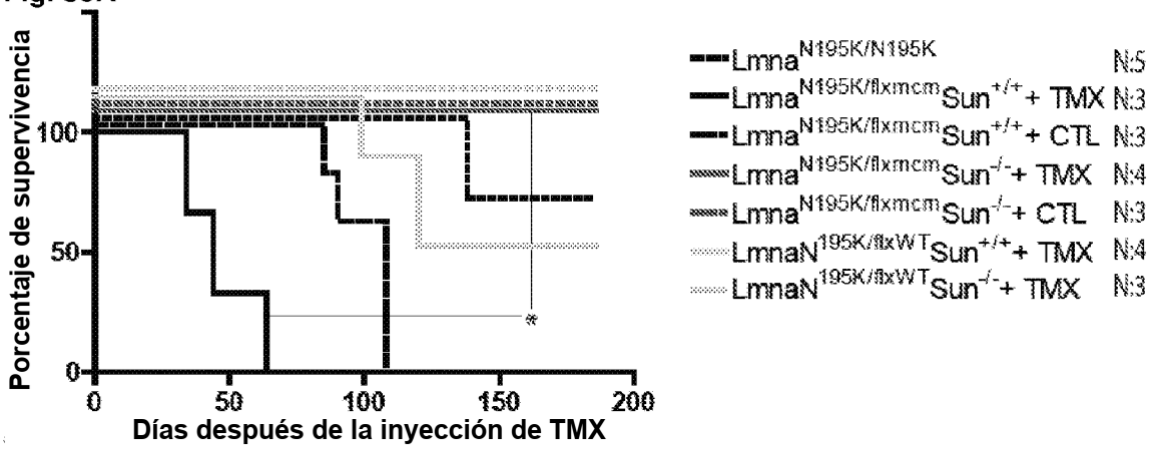


Fig. 30B

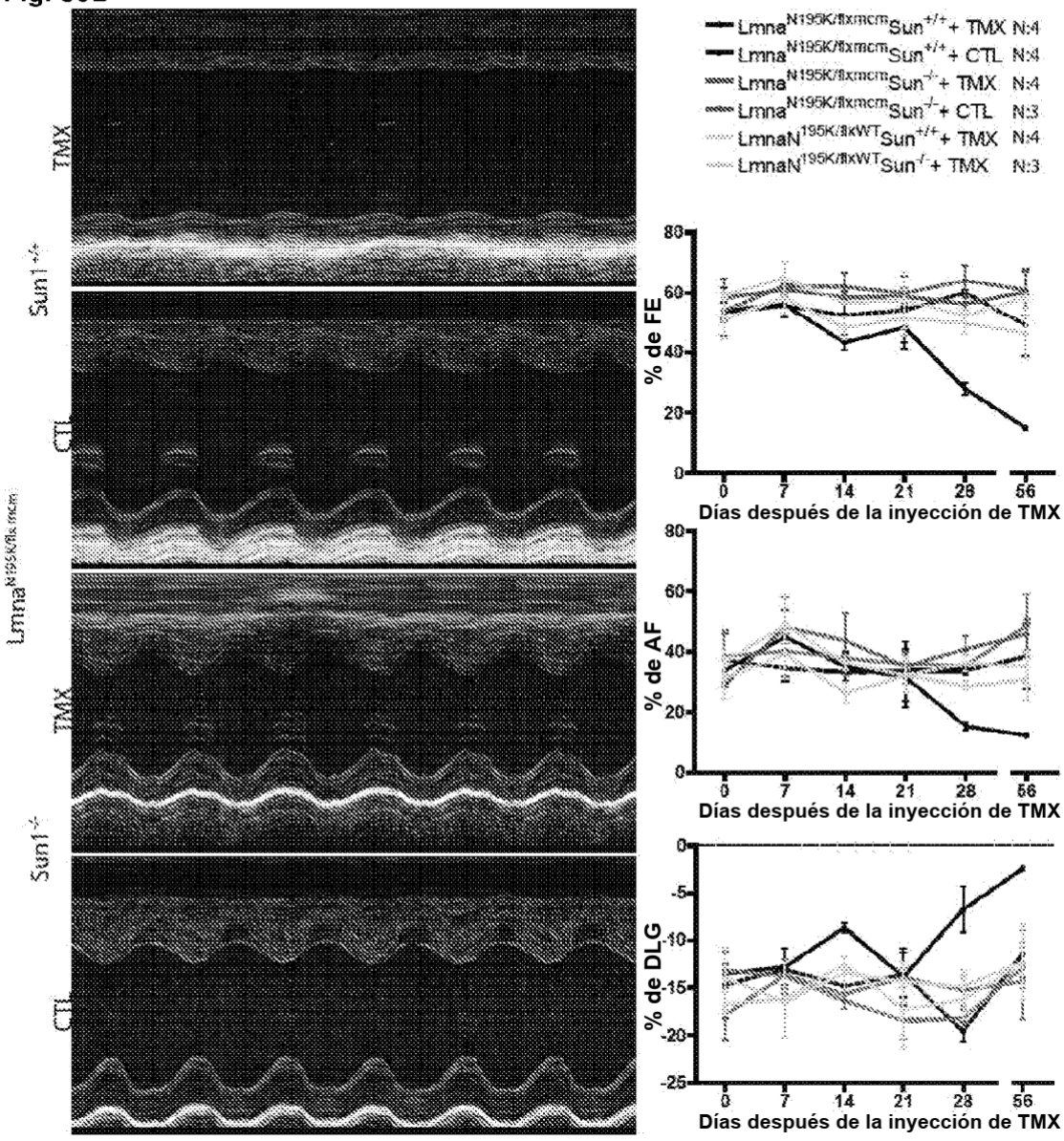


Fig. 31A

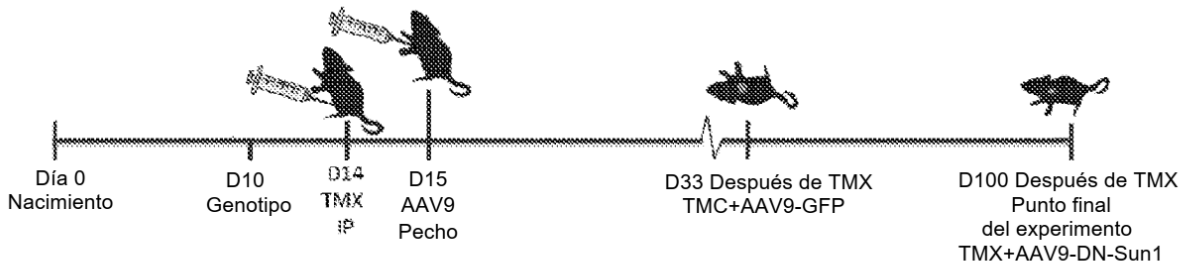


Fig. 31B

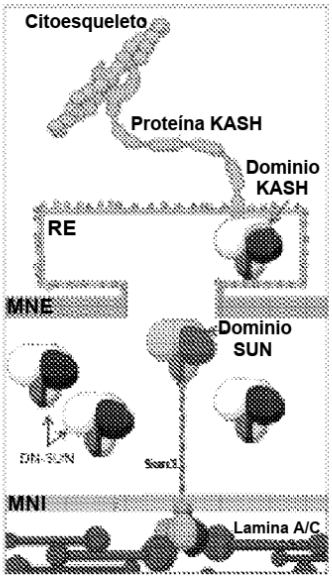


Fig. 31C

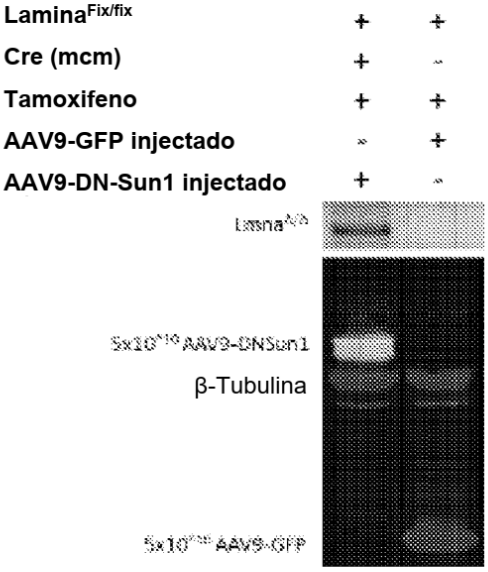


Fig. 31D

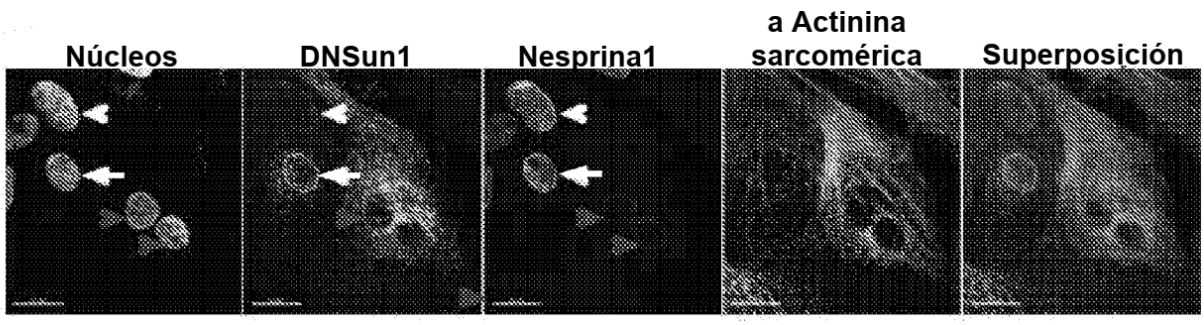


Fig. 31E (i)

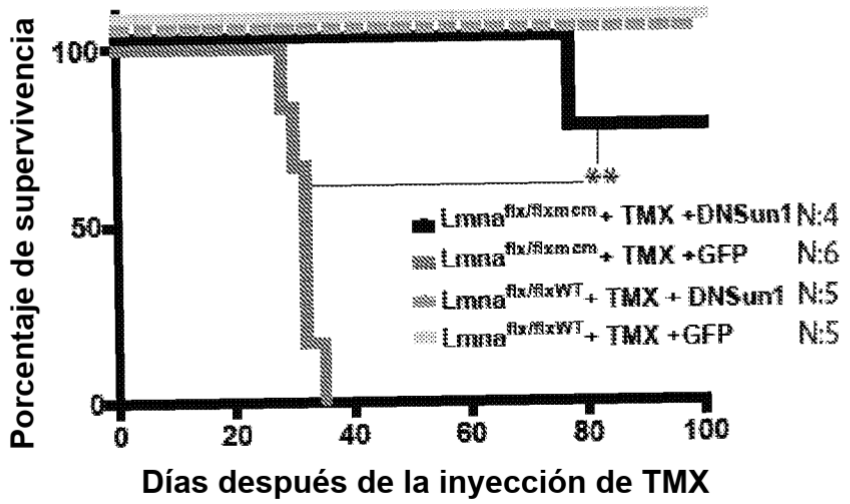


Fig. 31E (ii)

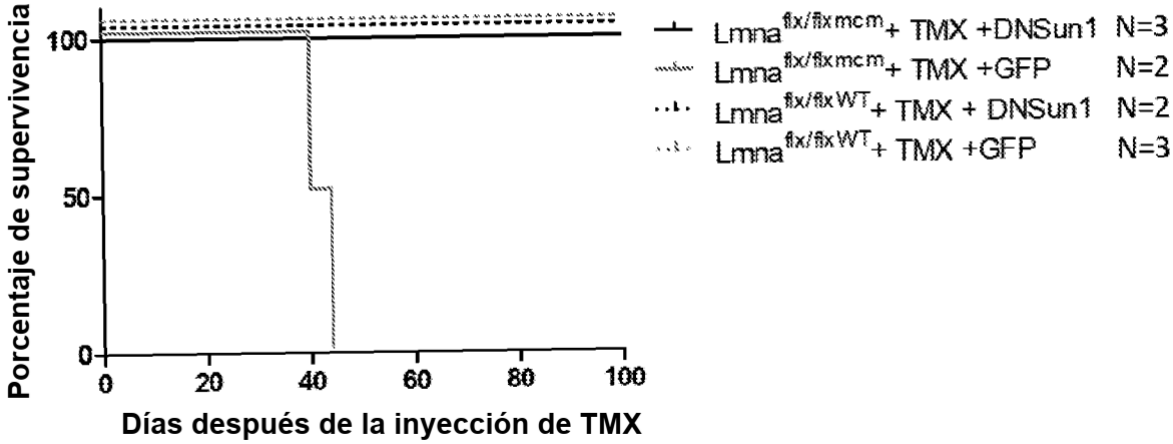


Fig. 31F

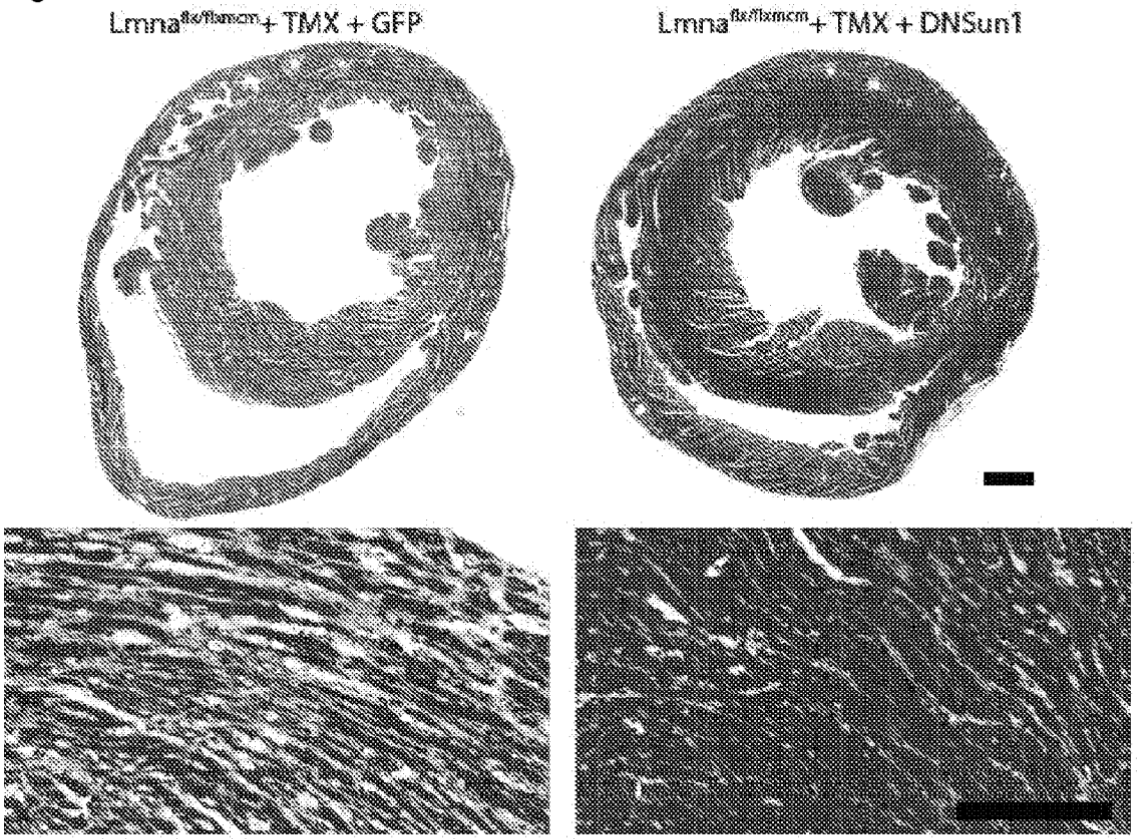


Fig. 31G

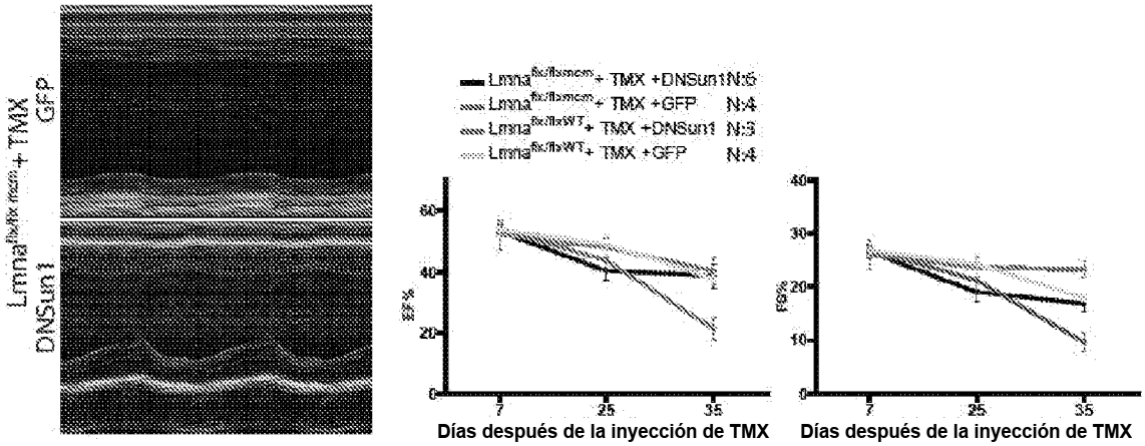


Fig. 32A

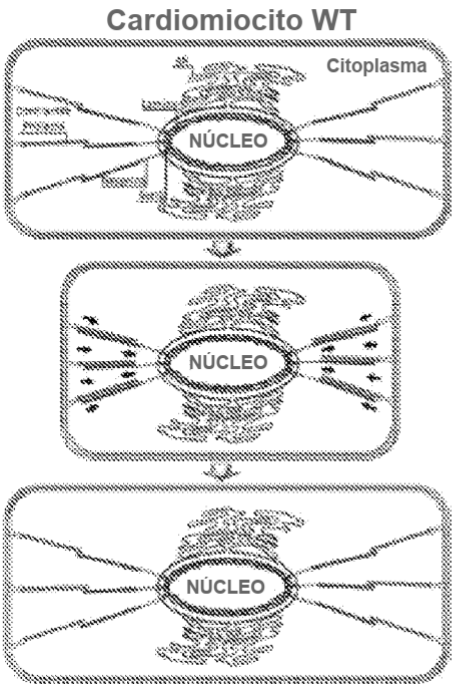


Fig. 32B

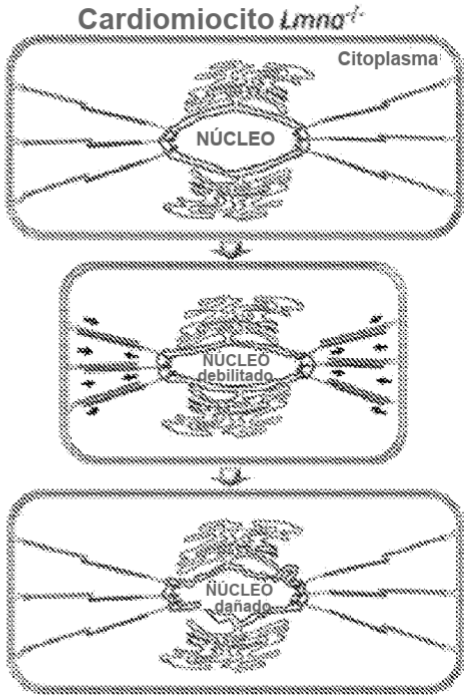


Fig. 32C

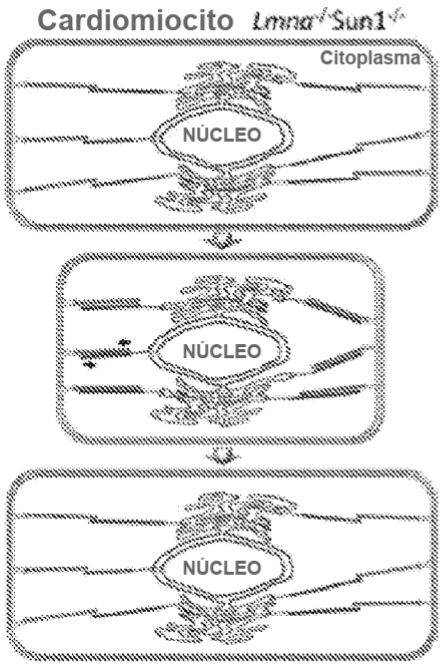


Fig. 32D

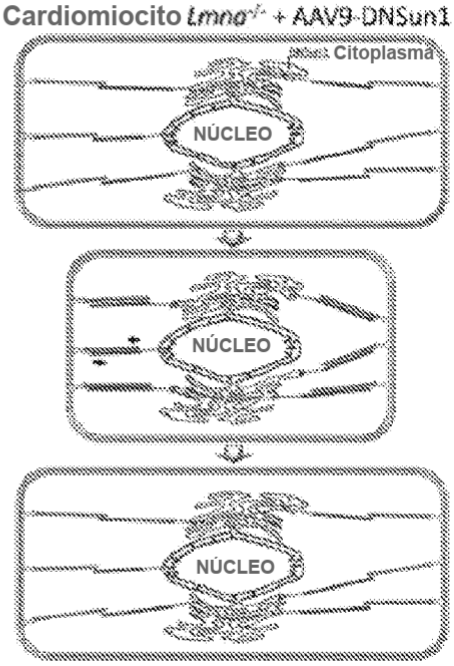


Fig. 33

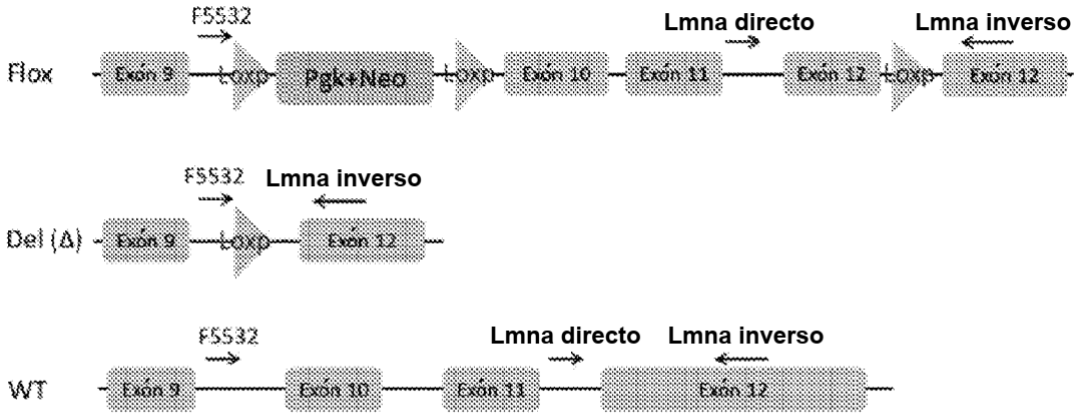


Fig. 34

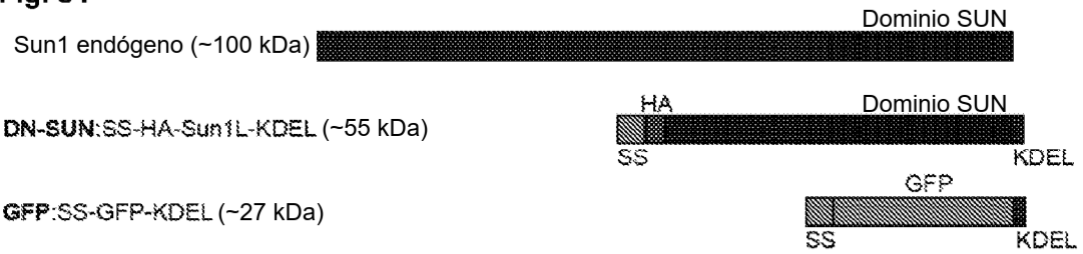


Fig. 35

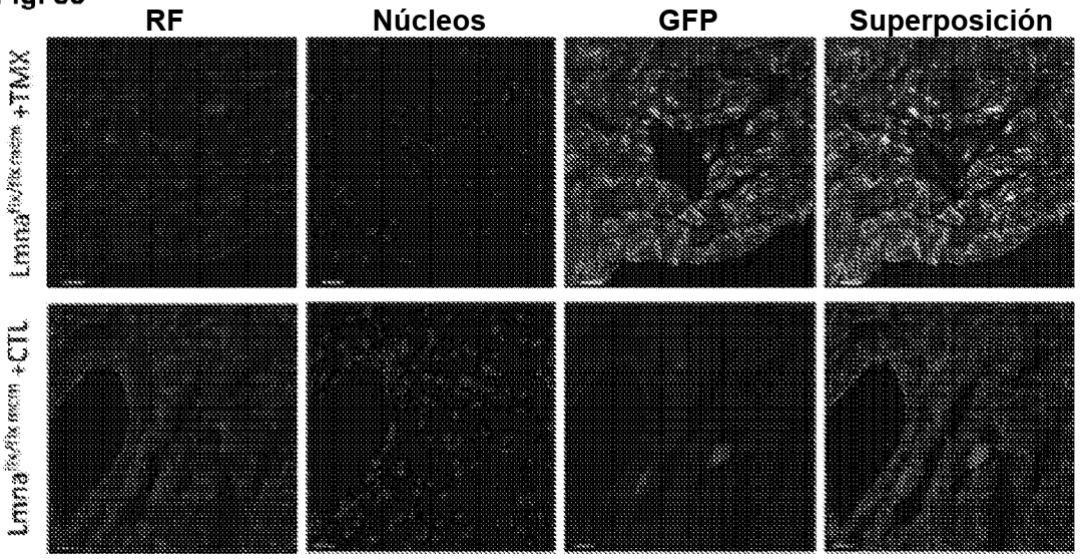
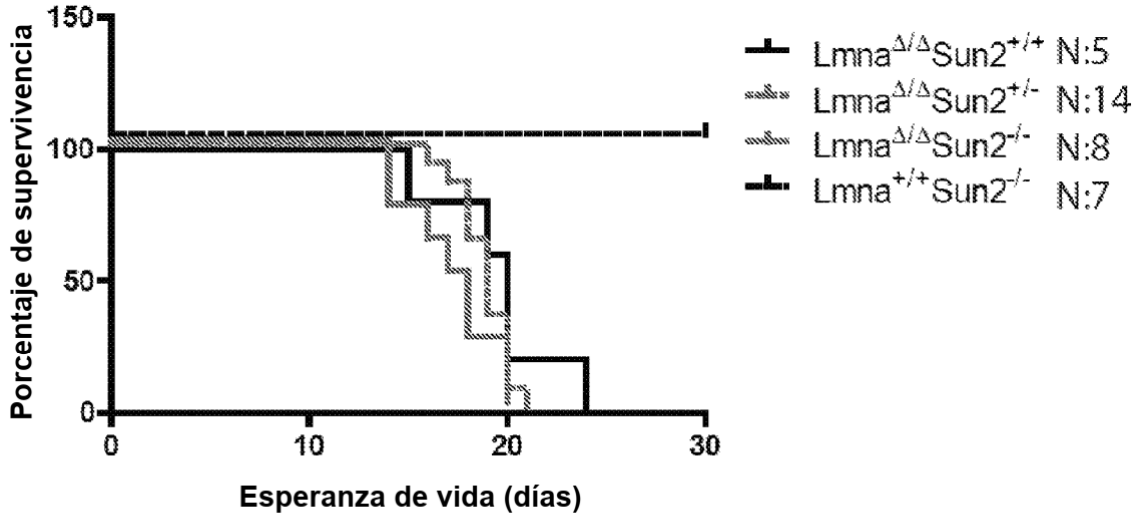


Fig. 36


150
100
50
0
0
10
20
30
Porcentaje de supervivencia
Esperanza de vida (días)
Lmna$^{\Delta/\Delta}$Sun2$^{+/+}$ N:5
Lmna$^{\Delta/\Delta}$Sun2$^{+/-}$ N:14
Lmna$^{\Delta/\Delta}$Sun2$^{-/-}$ N:8
Lmna$^{+/+}$Sun2$^{-/-}$ N:7

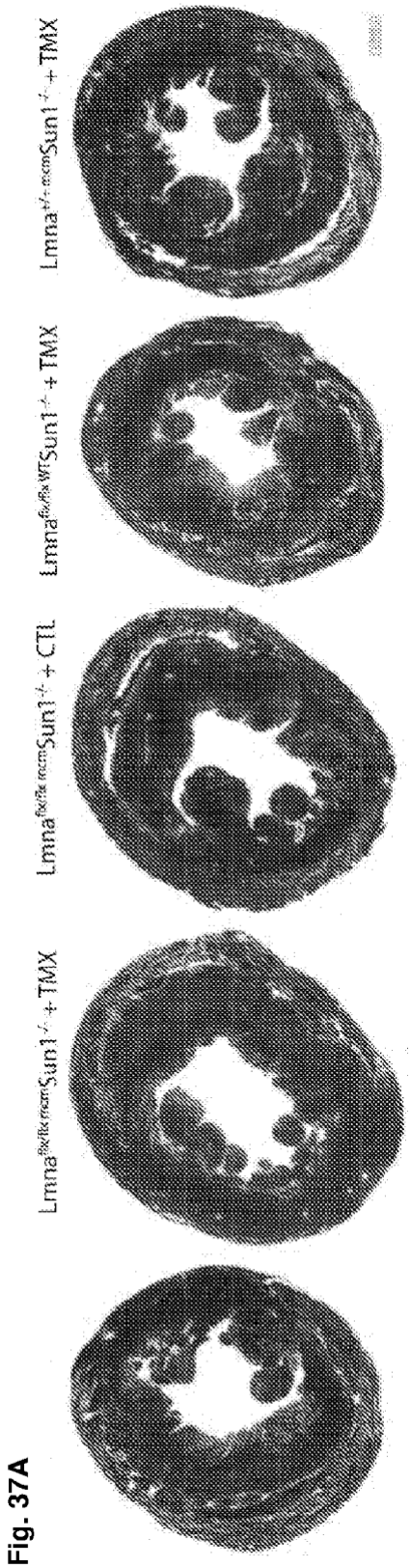

Lmna$^{flx/flx\ nscm}$Sun1$^{-/-}$ + TMX
Lmna$^{flx/flx\ nscm}$Sun1$^{-/-}$ + CTL
Lmna$^{flx/flx\ WT}$Sun1$^{-/-}$ + TMX
Lmna$^{+/+\ nscm}$Sun1$^{-/-}$ + TMX

Fig. 37A

Fig. 37C

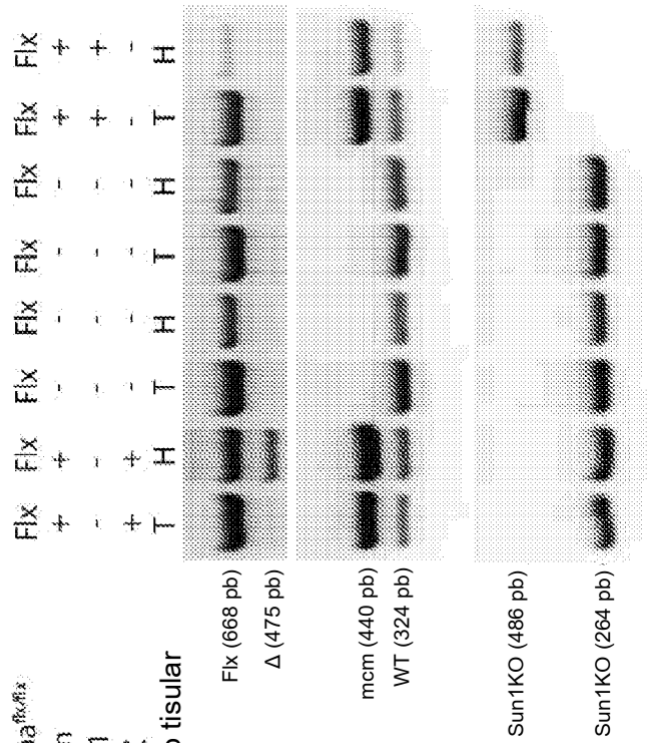


Fig. 37B

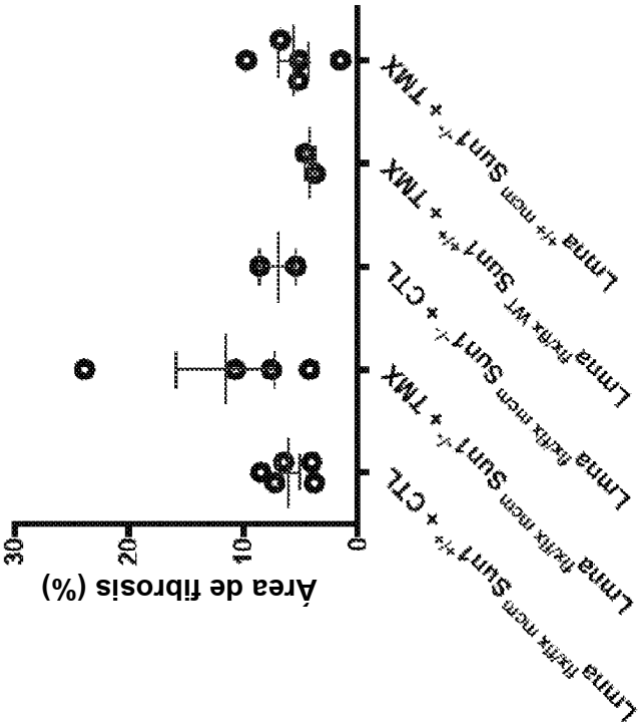


Fig. 37D

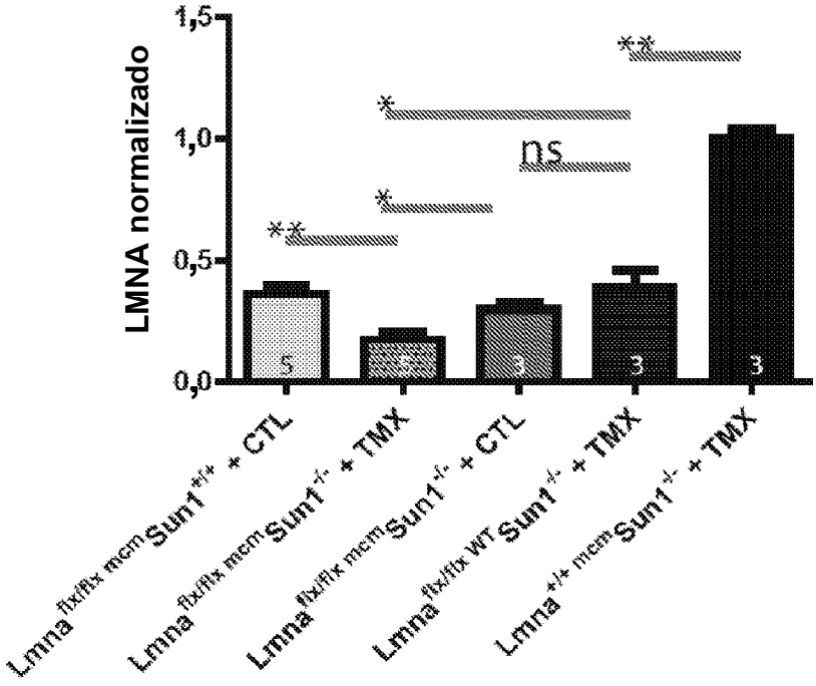

LMNA normalizado
1,5
1,0
0,5
0,0
**
*
*
ns
**
5
5
3
3
3
Lmna flx/flx mem Sun1 +/+ + CTL
Lmna flx/flx mem Sun1 -/- + TMX
Lmna flx/flx mem Sun1 -/- + CTL
Lmna flx/flx WT Sun1 -/- + TMX
Lmna +/+ mem Sun1 -/- + TMX

Fig. 37E

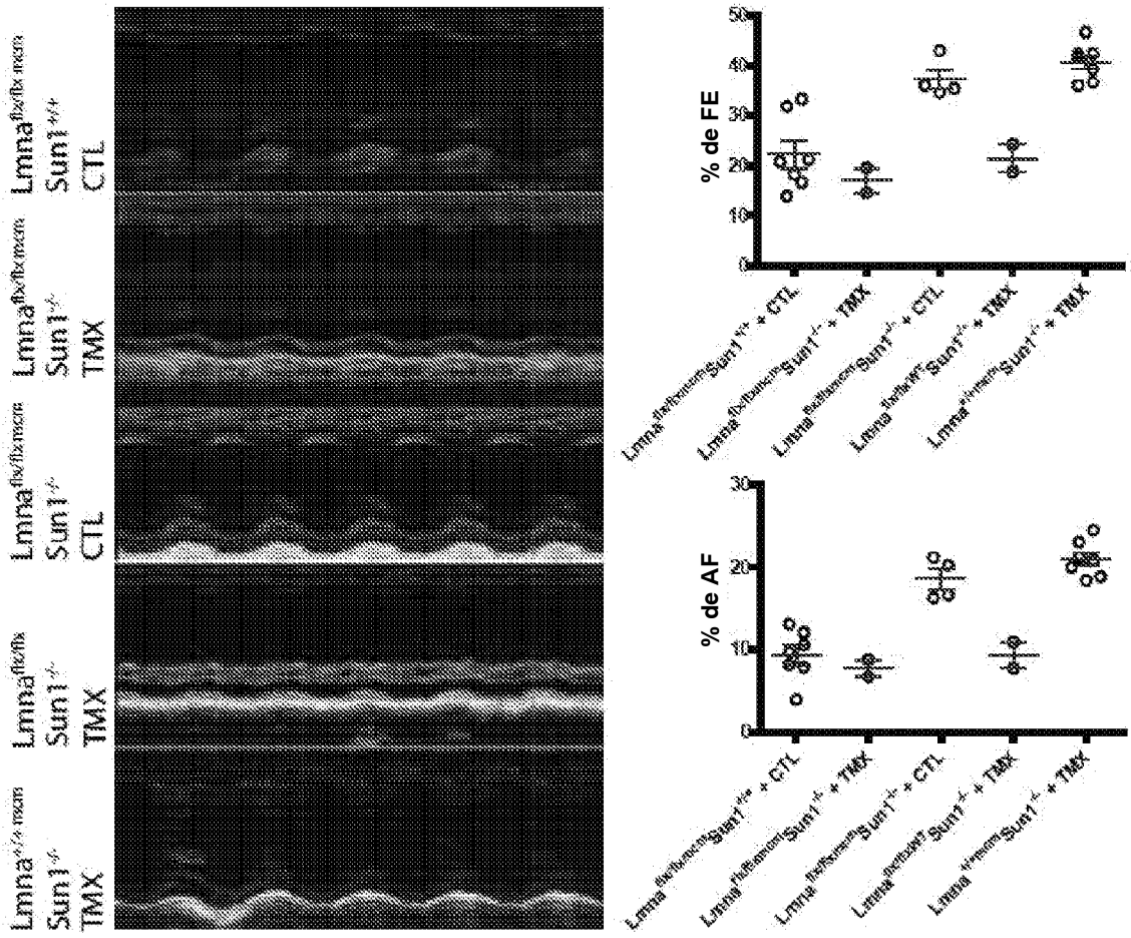

Lmna fl/fl mcm Sun1 +/+ CTL
Lmna fl/fl mcm Sun1 -/- TMX
Lmna fl/fl mcm Sun1 -/- CTL
Lmna fl/fl Sun1 -/- TMX
Lmna +/+ mcm Sun1 -/- TMX
% de FE
% de AF

Fig. 38

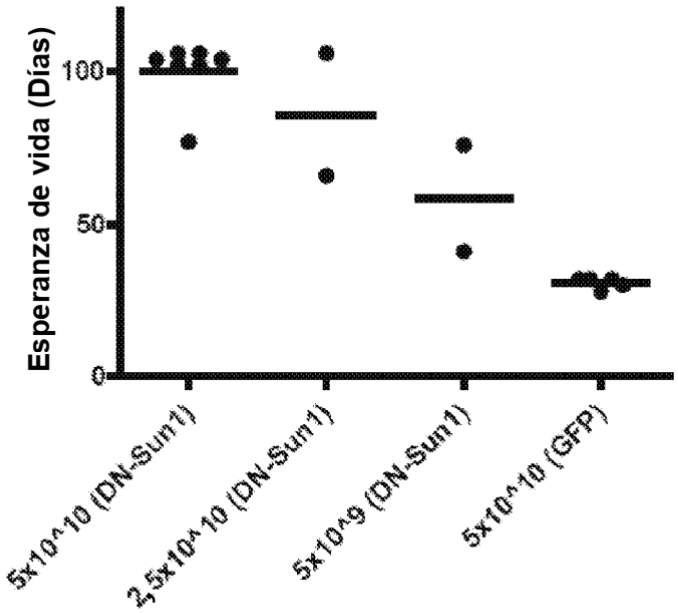

Esperanza de vida (Días)
100
50
0
5x10^10 (DN-Sun1)
2,5x10^10 (DN-Sun1)
5x10^9 (DN-Sun1)
5x10^10 (GFP)
Dosificación de AAV9 inyectado (vg/g de ratón)

Fig. 39A

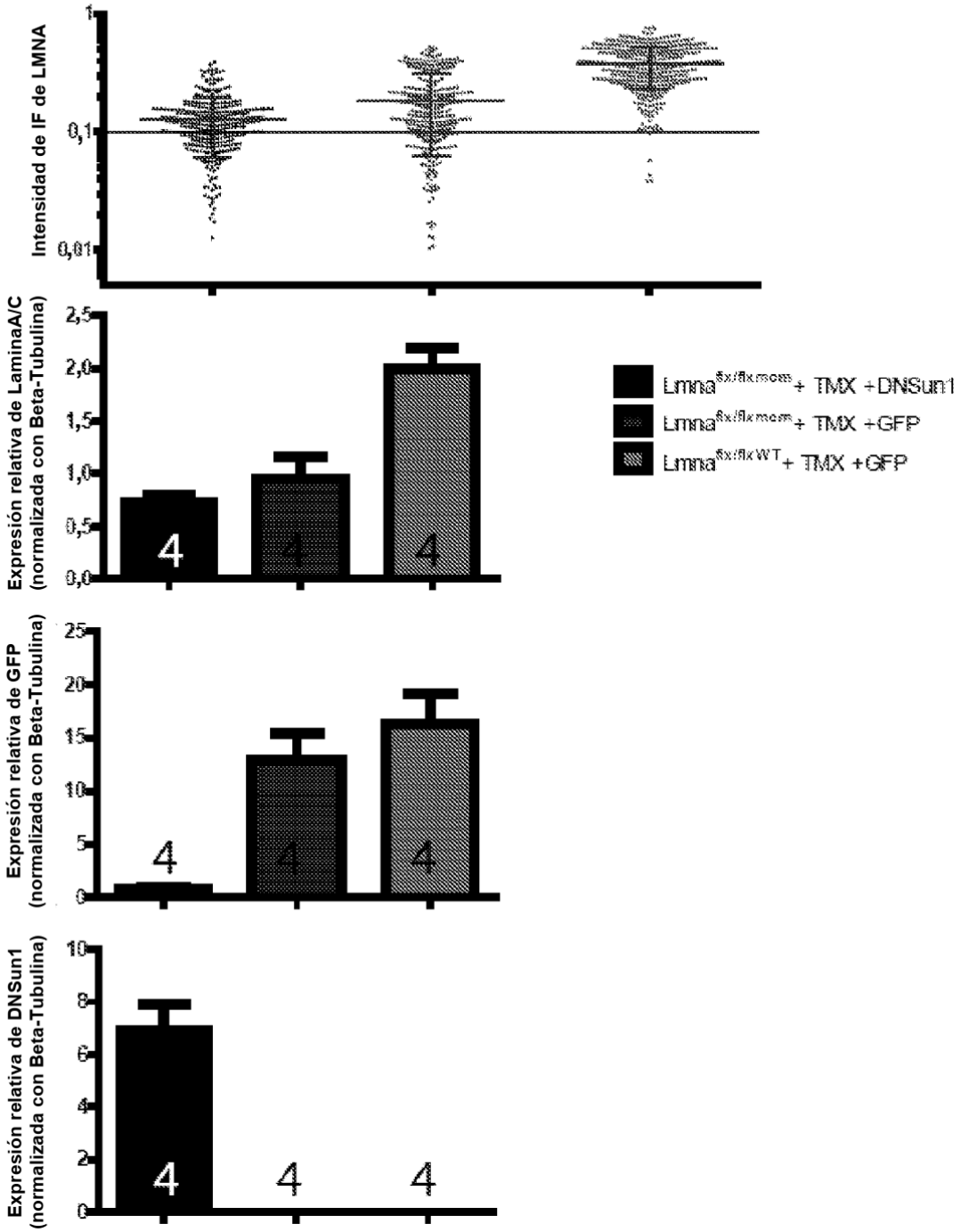

Intensidad de IF de LMNA
1
0,1
0,01
Expresión relativa de LaminaA/C (normalizada con Beta-Tubulina)
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
4
4
4
Expresión relativa de GFP (normalizada con Beta-Tubulina)
25
20
15
10
5
0
4
4
4
Expresión relativa de DNSun1 (normalizada con Beta-Tubulina)
10
8
6
4
2
0
4
4
4
Lmna6x/6xmem+ TMX +DNSun1
Lmna6x/6xmem+ TMX +GFP
Lmna6x/6xWT+ TMX +GFP

Fig. 39B

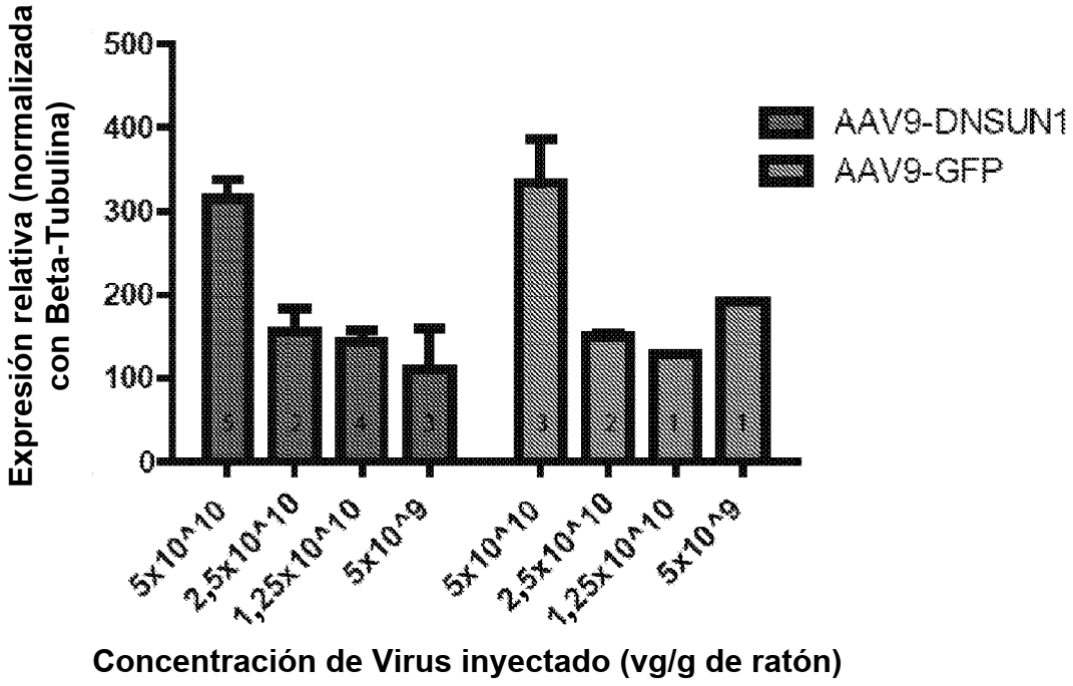


Fig. 39C

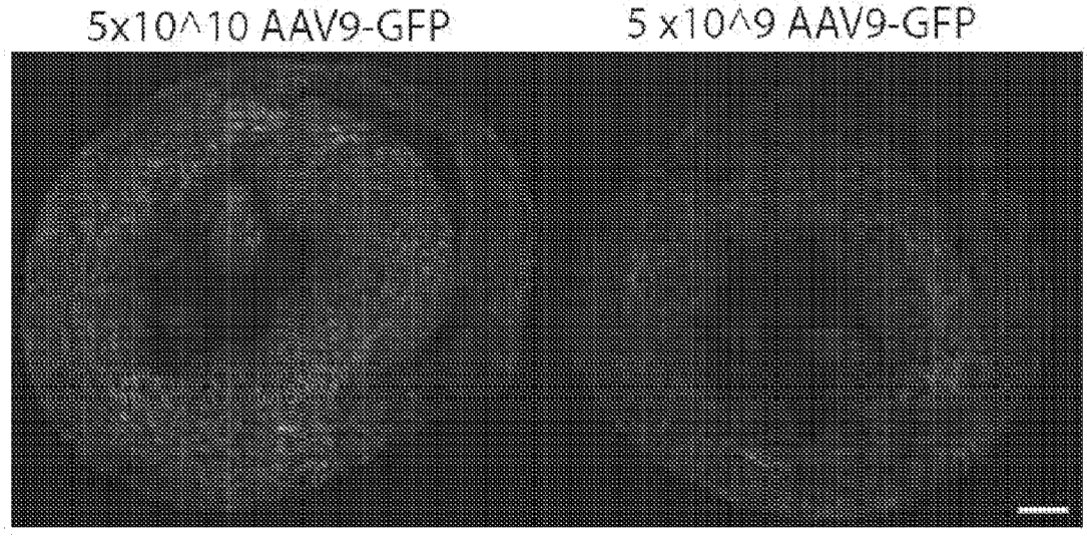


Fig. 40A

SEQ ID NO:69	tipo silvestre	CATGACCTTGAGCTGAAACTGCTGCAGAATATCACACACCACATCACCGTGACAGGACAG	2100
SEQ ID NO:70	Sun1_plus4	CATGACCTTGAGCTGAAACTGCTGCAGAATATCACACACCACATCACCGTGACAGGACAG	2100
SEQ ID NO:71	Sun1_del7	CATGACCTTGAGCTGAAACTGCTGCAGAATATCACACACCACATCACCGTGACAGGACAG	2100
		**********	
SEQ ID NO:69	tipo silvestre	GCCCCG----**ACATCCGAGGCTATTGTG**TCTGCCGTGAATCAGGCAGGGATTTCAGGAAT	2156
SEQ ID NO:70	Sun1_plus4	GCCCCGagaCACATCCGAGGCTATTGTGTCTGCCGTGAATCAGGCAGGGATTTCAGGAAT	2160
SEQ ID NO:71	Sun1_del7	GCCC----------CGAGGCTATTGTGTCTGCCGTGAATCAGGCAGGGATTTCAGGAAT	2149
		**** **********	
SEQ ID NO:69	tipo silvestre	CACAGAAGCGCaagcacatatcattgtgaacaatgctctgaagctgtactcccaagacaa	2216
SEQ ID NO:70	Sun1_plus4	CACAGAAGCGCaagcacatatcattgtgaacaatgctctgaagctgtactcccaagacaa	2220
SEQ ID NO:71	Sun1_del7	CACAGAAGCGCaagcacatatcattgtgaacaatgctctgaagctgtactcccaagacaa	2209
		**********	

Fig. 40B

```
SEQ ID NO:72   tipo silvestre   WLLEKLSSRFVSKDELQVLLHDLELKLLQNITHHITVTGQAPTSEAIVSAVNQAGISGIT   720
SEQ ID NO:73   Sun1_plus4       WLLEKLSSRFVSKDELQVLLHDLELKLLQNITHHITVTGQAPRHIRGYCVCRESGRDFRN   720
SEQ ID NO:74   Sun1_del7        WLLEKLSSRFVSKDELQVLLHDLELKLLQNITHHITVTGQAPRLLCLP---*--------   708
                                ****************************************

SEQ ID NO:72   tipo silvestre   EAQAHIIVNNALKLYSQDKTGMVDFALESGGGSILSTRCSETYETKTALLSLFGVPLWYF   780
SEQ ID NO:73   Sun1_plus4       --------HRSASTYHCEQCSEAVLPRQDGDGGL----C---------------SGVWRW   753
SEQ ID NO:74   Sun1_del7        ------------------------------------------------------------   708

SEQ ID NO:72   tipo silvestre   SQSPRVVIQPDIYPGNCWAFKGSQGYLVVRLSMKIYPTTFTMEHIPKTLSPTGNISSAPK   840
SEQ ID NO:73   Sun1_plus4       QHPKHSVL*-----------------------------------------------------   761
SEQ ID NO:74   Sun1_del7        ------------------------------------------------------------   708

SEQ ID NO:72   tipo silvestre   DFAVYGLETEYQEEGQPLGRFTYDQEGDSLQMFHTLERPDQAFQIVELRVLSNWGHPEYT   900
SEQ ID NO:73   Sun1_plus4       ------------------------------------------------------------   761
SEQ ID NO:74   Sun1_del7        ------------------------------------------------------------   708

SEQ ID NO:72   tipo silvestre   CLYRFRVHGEPIQ*   913
SEQ ID NO:73   Sun1_plus4       -------------   761
SEQ ID NO:74   Sun1_del7        -------------   708
```

Fig. 40C

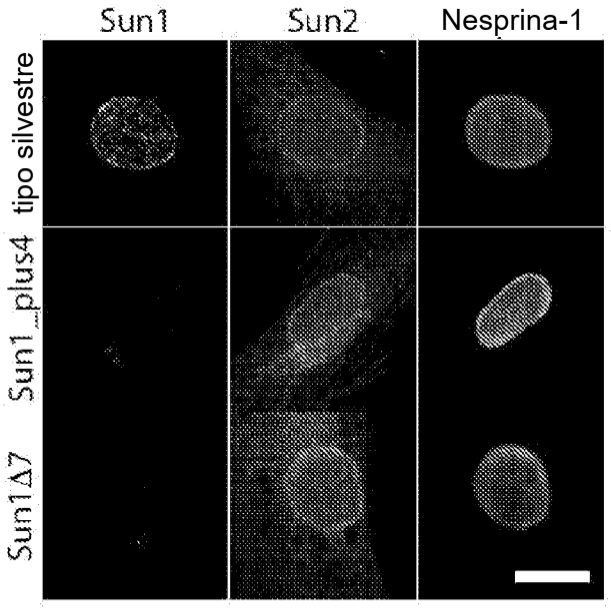


Fig. 41

A

```
SEQ ID NO:75  tipo silvestre  TATTGGACTCACCTGCCTTGTACCCATGTCAGAGAAAGACTACAGCTGTGCCCTCTCCAA  180
SEQ ID NO:76  Syne1_CTdel8   TATTGGACTCACCTGCCTTGTACCCATGTCAGAGAAAGACTACAGCTGTGCCCTCTCCAA  180
                             ************************************************************

SEQ ID NO:75  tipo silvestre  CAACTTTGCCCGATCCTTCCATCCGATGCTCAGATATACCAACGGTCCTCCTCCACTCTG  240
SEQ ID NO:76  Syne1_CTdel8   CAACTTTGCCCGATCCTTCCATCCG----------ATATACCAACGGTCCTCCTCCACTCTG  232
                             *************************          ************************

SEQ ID NO:75  tipo silvestre  AAGCAAGCAGACATCCCCACACACAAGTGcaggcagtaagaggagaaggaatatcaaatggc  300
SEQ ID NO:76  Syne1_CTdel8   AAGCAAGCAGACATCCCCACACAAGTGcaggcagtaagaggagaaggaatatcaaatggc  292
                             ************************************************************
```

B

```
SEQ ID NO:77  tipo silvestre  STRDGSDSSRSDPRPERVGRAFLFRILRAALPFQLLLLLLLIGLTCLVPMSEKDYSCALSN  60
SEQ ID NO:78  Nesprin1_CTdel8 STRDGSDSSRSDPRPERVGRAFLFRILRAALPFQLLLLLLLIGLTCLVPMSEKDYSCALSN  60
                              ************************************************************

SEQ ID NO:77  tipo silvestre  NFARSFHPMLRYTNGPPPL*-------------------------------------------  79
SEQ ID NO:78  Nesprin1_CTdel8 NFARSFHPIYQRSSSTLKQADIPTQVQAVRGEGISNGREAPKEKFNILNHQGNANQNNPE  120
                              *********: : :..
```

```
SEQ ID NO:77  tipo silvestre  ----------  79
SEQ ID NO:78  Nesprin1_CTdel8 METNAPPCS*  129
```

Fig. 41 (continuación)

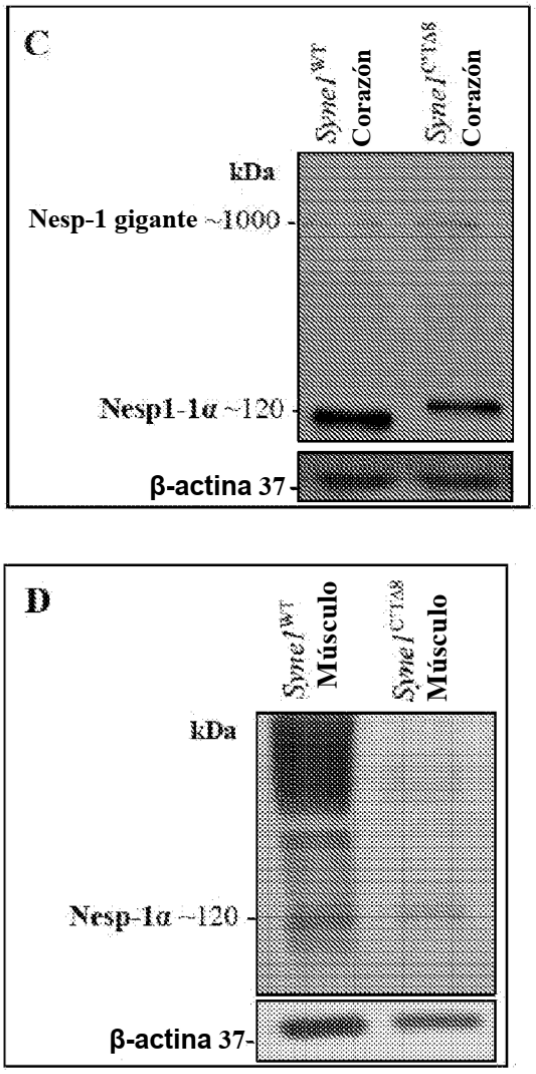


Fig. 42

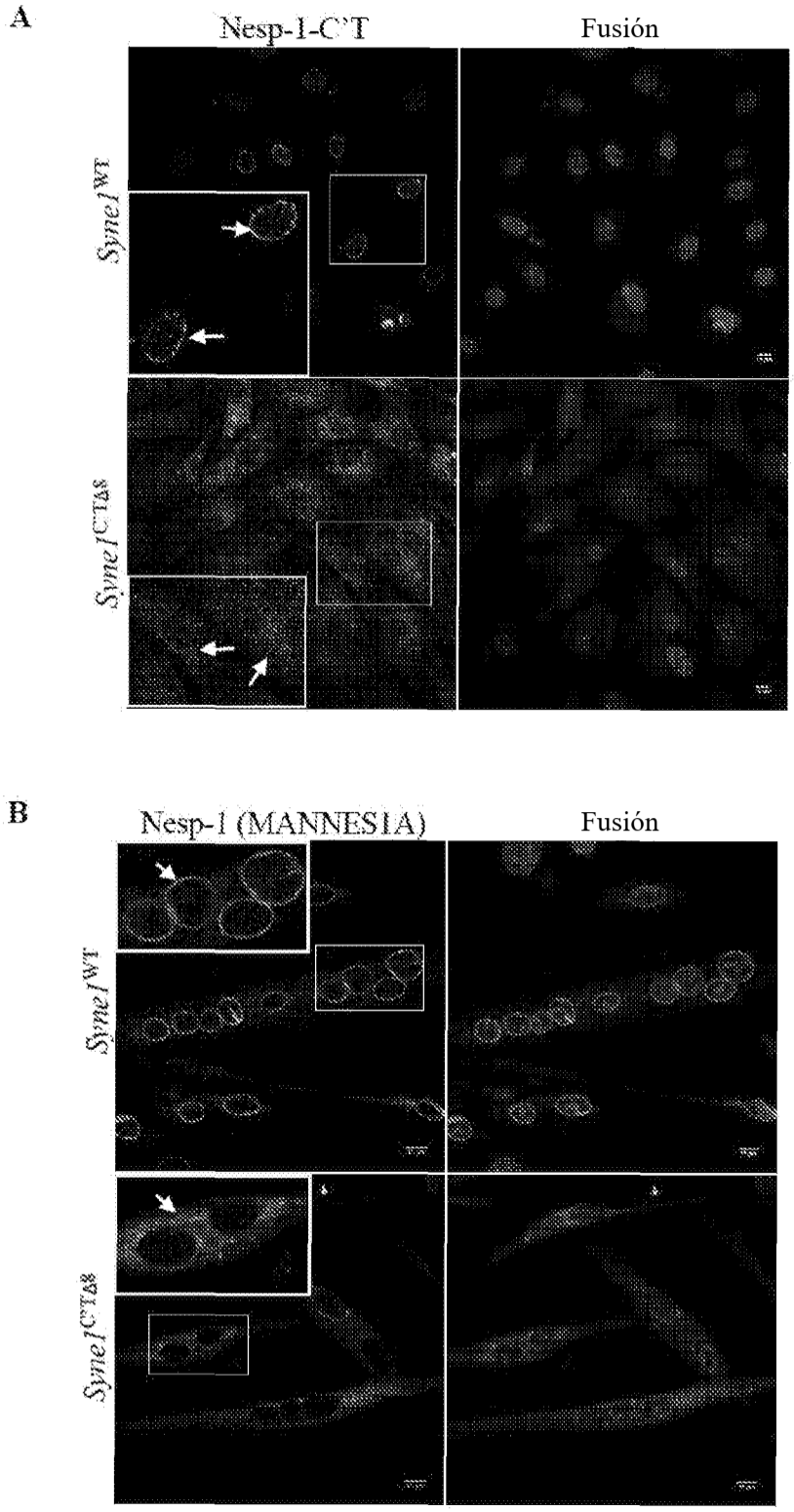

A
Nesp-1-CT
Fusión
Syne1WT
Syne1CTΔ8
B
Nesp-1 (MANNES1A)
Fusión
Syne1WT
Syne1CTΔ8

Fig. 43

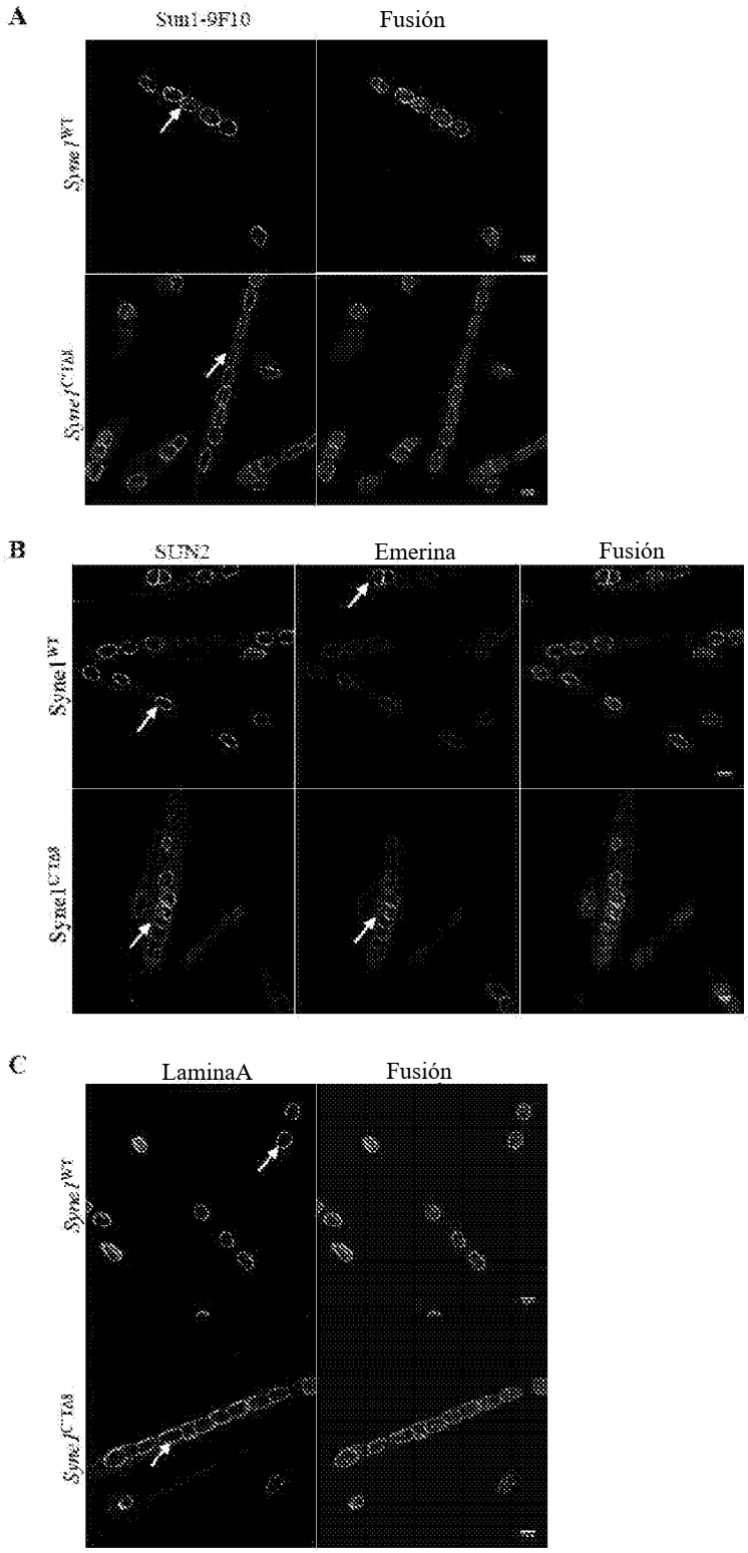

A
Sun1-9F10
Fusión
Syne1WT
Syne1CTA8
B
SUN2
Emerina
Fusión
Syne1WT
Syne1CTA8
C
LaminaA
Fusión
Syne1WT
Syne1CTA8

Fig. 44

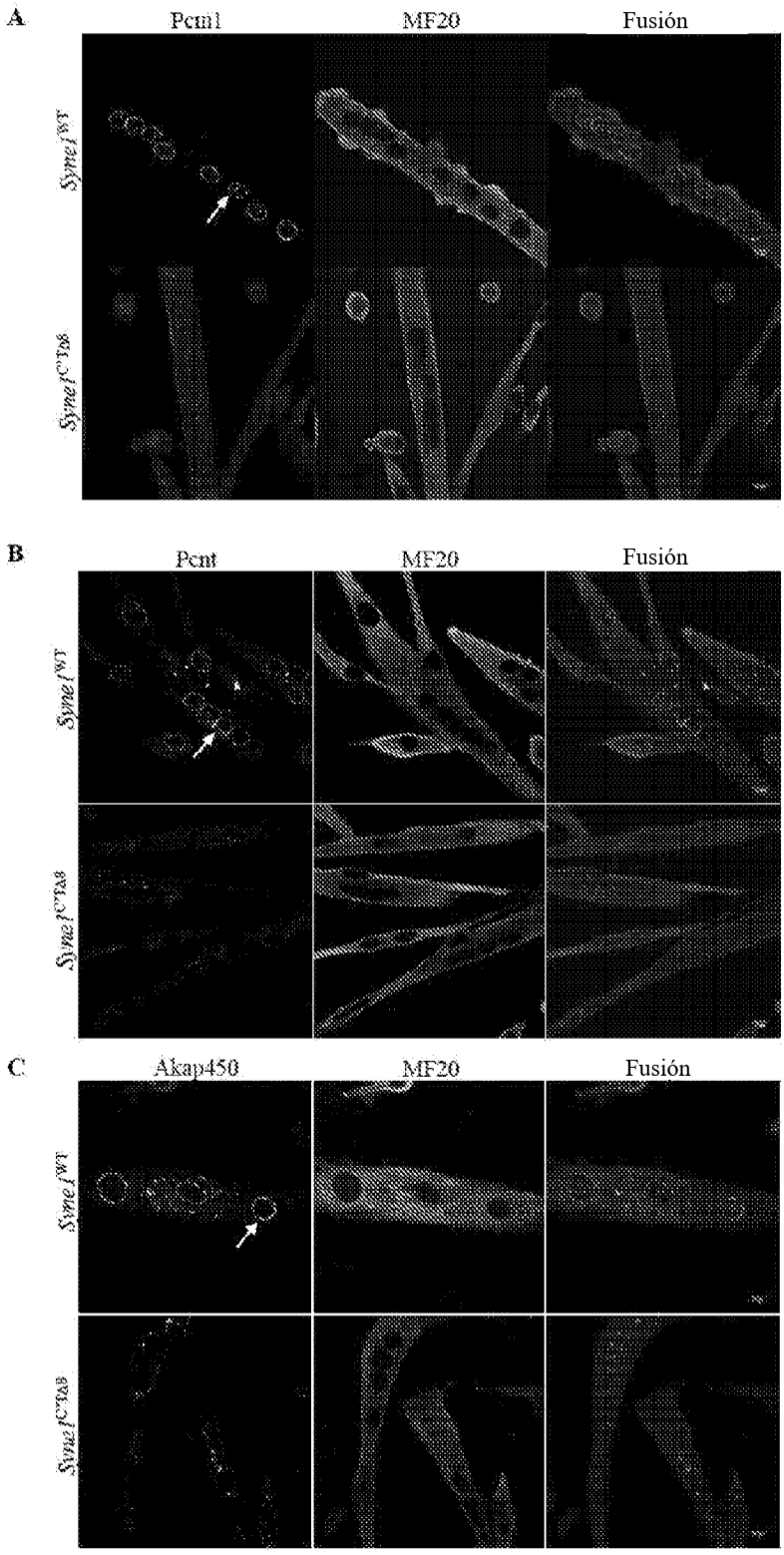
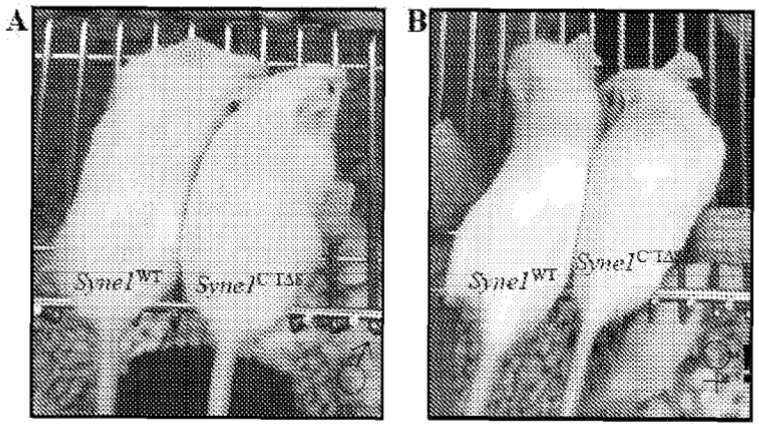

A
Pcm1
MF20
Fusión
Syne1WT
Syne1CTΔ8
B
Pcnt
MF20
Fusión
Syne1WT
Syne1CTΔ8
C
Akap450
MF20
Fusión
Syne1WT
Syne1CTΔ8

Fig. 45


A
B
Syne1WT
Syne1C'TΔβ
Syne1WT
Syne1C'TΔβ

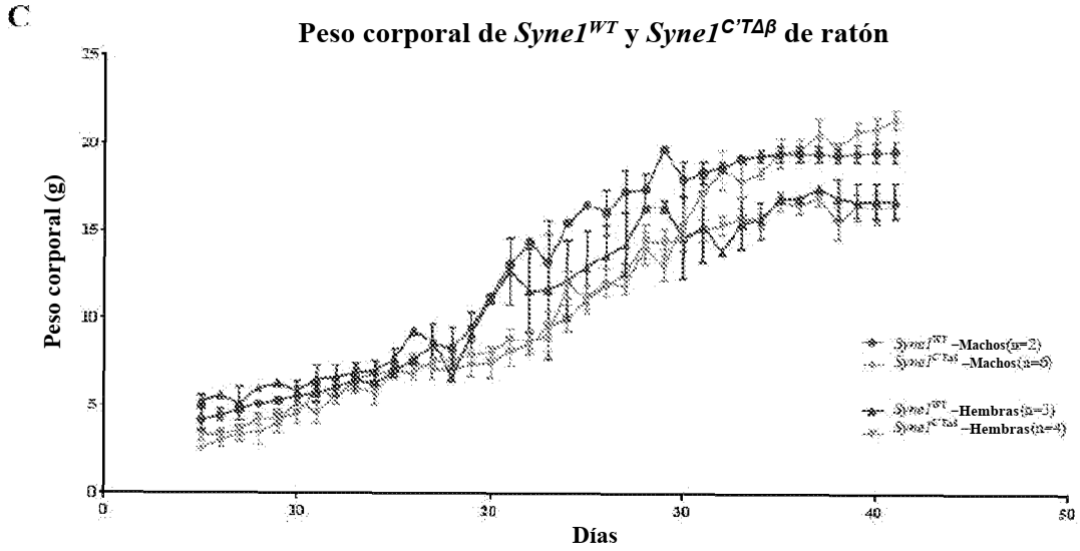

C
Peso corporal de Syne1WT y Syne1C'TΔβ de ratón
Peso corporal (g)
Días
0
5
10
15
20
25
0
10
20
30
40
50
Syne1WT –Machos(n=2)
Syne1C'TΔβ –Machos(n=6)
Syne1WT –Hembras(n=3)
Syne1C'TΔβ –Hembras(n=4)

Fig. 46A

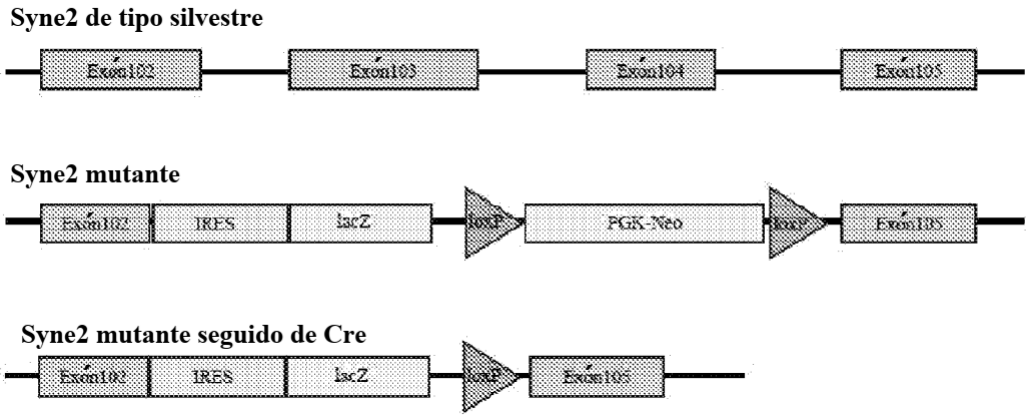


Fig. 46B

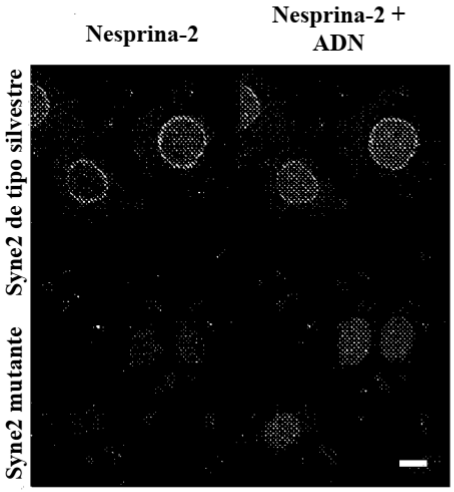


Fig. 46C

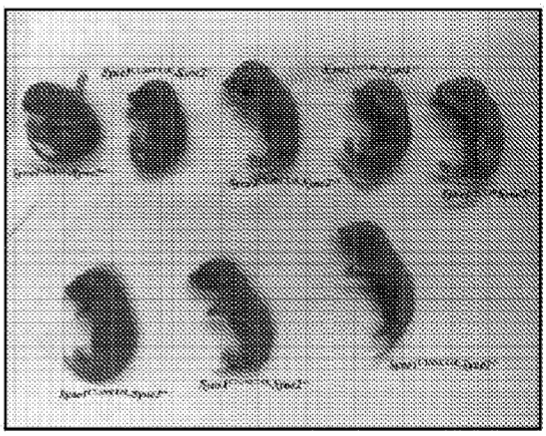
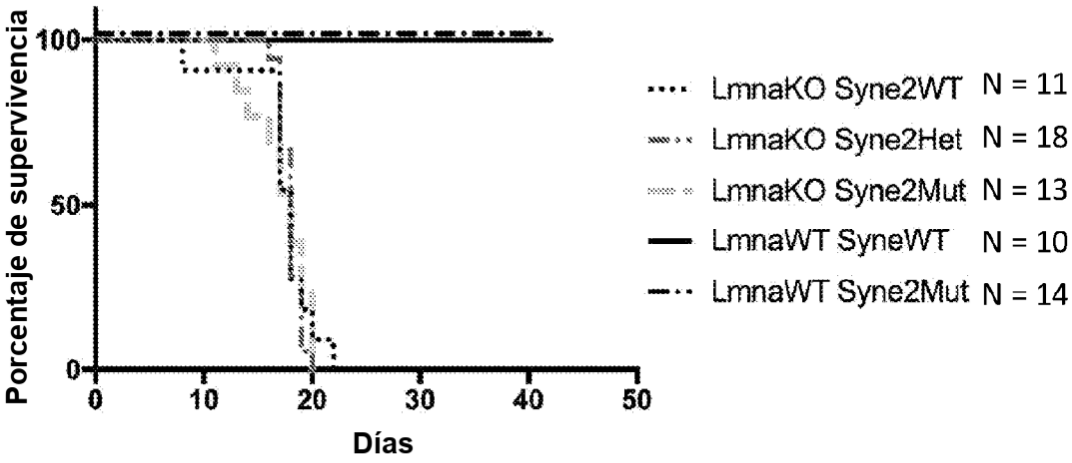


Fig. 47


Porcentaje de supervivencia
100
50
0
0
10
20
30
40
50
Días
LmnaKO Syne2WT N = 11
LmnaKO Syne2Het N = 18
LmnaKO Syne2Mut N = 13
LmnaWT SyneWT N = 10
LmnaWT Syne2Mut N = 14