

· 实验研究 ·

抗肌萎缩蛋白基因 DNA 缺失机制的探讨^①张成^② 柴建华^③ 刘焯霖 梁秀龄

(中山医科大学神经病学教研室; 广州, 510080)

提 要 用 Genepro 程序在计算机上对抗肌萎缩蛋白基因缺失热区部分 44 号、50 号和 51 号内含子进行分析, 结果表明该基因缺失热区 AT(腺嘌呤-胸腺嘧啶)含量高, 呈聚集性分布, 并存在多个同源顺序。该结果支持作者以前提出的“不同内含子中 AT 富集区的同源顺序与 DNA 缺失有关”的结论。

主题词 肌萎缩/遗传学; 基因缺失; 序列同源性

中图分类号 R746.2

60% 以上的 Duchenne 型和 Becker 型肌营养不良症患者是由于抗肌萎缩蛋白基因^[1](dystrophin gene)部分 DNA 缺失所致^[2], 但缺失机制不清。我们曾通过测定和分析该基因缺失热点 50 和 51 号内含子顺序, 首次提出不同内含子中 AT(腺嘌呤-胸腺嘧啶)富集区的 DNA 同源顺序与 DNA 缺失密切相关^[3]。为了进一步论证这一观点, 我们将 50 和 51 号内含子顺序与文献发表的抗肌萎缩蛋白基因另一缺失热点(44 号内含子)的内含子顺序进行同源分析, 其结果支持作者以前的观点。

1 材料和方法

部分 50 号内含子的 307 bp 和部分 51 号内含子的 402 bp 来自作者本人^[3]。部分 44 号内含子的 245 bp 来自 Blonden^[4]。核苷酸分析程序 Genepro 来自 Kyte J, 其中包括 AT 含量及分布分析程序, 同源顺序分析程序。

2 结 果

2.1 44、50 和 51 号内含子的碱基组成

将已测序的抗肌萎缩蛋白基因 44、50 和 51 号内含子的碱基成份^[3,4]分析, 发现它们的 AT 含量高, 分别为 63.6%, 73.4% 和 70.2%, 见表 1。

表 1 抗肌萎缩蛋白基因部分 44、50 和 51 号内含子的碱基含量(bp)

	内含子 44		内含子 50		内含子 51	
	数目	%	数目	%	数目	%
A	64	26.1	97	31.8	164	40.7
T	92	37.5	127	41.6	118	29.4
G	47	19.1	43	14.1	47	11.7
C	42	17.1	38	12.5	73	18.1
AT	156	63.6	224	73.4	282	70.2
GC	89	36.3	81	26.6	120	29.8
合计	245		305		402	

(A: 腺嘌呤 T: 胸腺嘧啶 G: 鸟嘌呤 C: 胞嘧啶)

2.2 44、50 和 51 号内含子的 AT 碱基分布

将已测序的抗肌萎缩蛋白基因 44、50 和

① 广东省青年科学基金及国家自然科学基金资助项目; ② 第一作者, 1957 年 6 月出生, 男, 博士, 副教授; ③ 上海复旦大学遗传学研究所

51号内含子用 Genepro 程序,窗宽 100,进行 AT、GC 分布分析,均发现 AT 碱基呈聚集性分布(图 1)。

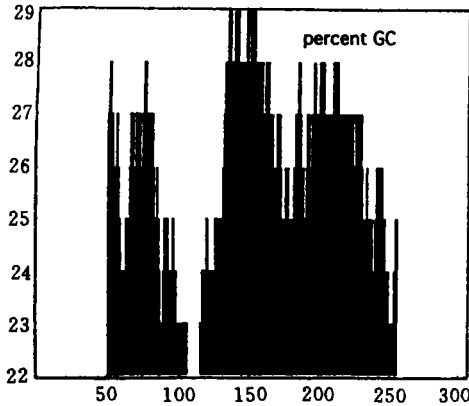


图 1 DMD 基因部分 50 号内含子的 AT GC 碱基分布图

x 轴: 50 号内含子碱基顺序; y 轴: GC 百分含量,最集中处仅为 29%,平均 26.6%。空白为 AT 碱基分布,呈聚集性分布,平均 73.4%

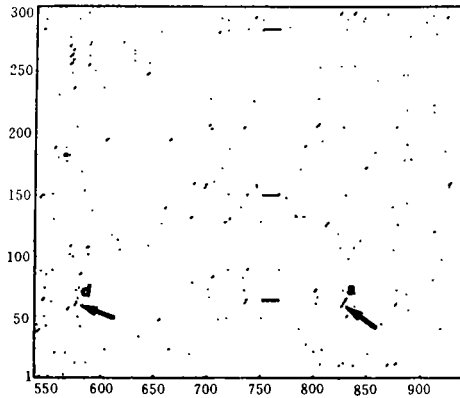


图 2 Dystrophin 基因 50 号与 51 号内含子点矩阵

x 轴: 51 号内含子 538~940 bp; y 轴: 50 号内含子 1~385 bp; 箭头所示为同源碱基部位

2.3 44、50 和 51 号内含子同源性比较

将已测序的 44、50 和 51 号内含子顺序,用 Genepro 程序在计算机上用点矩阵(dot matrix)两两分析,提示内含子间存在同源顺

序。例如 50 和 51 号内含子的同源性比较: x 轴表示 402 bp 51 号内含子(538~940), y 轴表示 305 bp 50 号内含子顺序(1~305), 箭头 a 显示 2 个内含子的同源顺序在 x 轴的 840 bp, y 轴的 60 bp 附近(图 2)。根据点矩阵提示的同源碱基部位,计算机分析表明,50 号内含子的 58~66 号碱基 TTTTAAAA 与 51 号内含子的 837~845 号碱基同源(图 3)。用相同的方法发现 44 和 50 号内含子的同源碱基有 AAAAAT, TTTTTT, AAATTT; 44 和 51 号内含子的同源碱基有 AAATAA, ATAAAA。值得注意的是,在以上的同源碱基中,AT 比例大。

3 讨 论

3.1 抗肌萎缩蛋白基因 DNA 缺失的可能机制

为了探讨抗肌萎缩蛋白基因 DNA 缺失的机制,我们根据 50 和 51 号内含子顺序分析^[3],首次提出抗肌萎缩蛋白内含子中 AT 富集区的重复顺序与 DNA 缺失有关,并推测该基因其它缺失热区的内含子中 AT 含量也高,因在同一染色单体上相隔一定距离的重复顺序发生同源重组,就会造成 2 个重复顺序之间的 DNA 片段丢失;而 AT 富集区常常是 DNA 高变区,因此,在 AT 富集区的重复顺序更易发生染色体内的同源重组,造成 DNA 缺失。为了进一步论证上述观点,作者选择另一 DNA 缺失热点^[4](44 号内含子)进行 AT 含量和同源分析,结果现有资料的 254 bp 部分 44 号内含子 AT 含量为 63.6%,与 50 号内含子的重复顺序有 AAAAAT, TTTTTT 等,与 51 号内含子的重复顺序有 AAATAA, ATAAAA 等,这些结果支持作者前面提出的观点。

3.2 抗肌萎缩蛋白基因不同缺失范围的可能的解释

统计资料表明,个体间抗肌萎缩蛋白基因缺失范围差异很大。小者可以缺失 1 kb,

	aagcttaca	aaataaaaac	tggagctaac	cgagaggtgc	tttttcctt	gacacataaa	60
intron44	agggtgattt	ctgtcttga	tcctttggat	atgggcatgt	●●●●●	gagacataaa	120
	Δ					ΔΔΔΔΔ	
	cacatggagc	ttttgtattt	ctttcttgc	cagtacaact	gcatgtggta	gcacactgtt	180
	taatcttttc	tcaaataaaa	agacatgggg	cttcattttt	gttttgccct	tttggatct	240
	xxxxxx						
	tacag	intron 44-----exon 45--50					245
	tgagaaggct	tatttaactt	aagttacttg	tccaggcatg	agaatgagca	aaatcgtttt	60
					●●●		
intron50	ttaaaaaatt	gttaaagtga	tattaatgaa	aaggttgaat	cttttcattt	tctaccatgt	120
	●●						
	attgctaaac	aaagtatcca	cattgttaga	aaaagatata	taatgtcatg	aataagagtt	180
					
	tggctcaaag	ttgttactct	tcaattaat	ttgacttatt	gttattgaaa	ttggctcttt	240
			*****	●●			
	agcttggtt	tctaattttt	cttttcttc	tttttcctt	tttgcaaaa	cccaaaatat	300
		XXXXX	XXX	●●●●●			
exon51	tttagctcct	ACTCAGCACTG	TTACTCTGCT	GACACAACCT	GTGGTIACTA	AGGAAACTGC	360
	CATCTCCAAA	CTAGAAATGC	CATCTTCCTT	GATGTTGGAG	GTACTGCTC	TGGCAGATTT	420
	CAACCGCTT	GGACAGAACT	TACCGACTGG	CTTCTCTG	TTGATCAAGT	TATAAAATCA	480
	CAGACGGTGA	TGGTGGGTGA	CCTTGAGGAT	ATCAACGAGA	TCATCATCAA	GCAGAACgta	540
	tgagaaaaaa	tgataaaagt	tggcagaagt	tttctttaa	aatgaagatt	ttccaccaat	600
	ΔΔΔΔΔ	X	XXXXXXXX				
intron51	cacttactc	tcttagacca	tttccacca	gttcttaggc	aactgtttct	ctctcagcaa	660
	acacattact	ctcactattc	agcctaagta	taatcaagga	tataaattaa	tgcaaaatac	720
					XXXXXX		
	aaaagtagcc	atacattaaa	aaggaaatat	acaaaaaaa	aaaaaaaaa	aagcagaaac	780
cttacaagaa	tagttgtctc	agltaaattt	actaaacaac	ctggtatttt	aaaaatctat	840	
		*****				
	tttataccaa	ataagtcact	caactgagct	aatttacattt	aaactgtttg	ttttggacta	900
	cgcagcccaa	catattgcag	aatcaaatat	aatagtctgg			

图3 Dystrophin 基因 44,50 和 51 号内含子同源性比较

大写字母为 51 号外显子顺序;小写字母为内含子顺序。碱基下%、●、#、-、Δ、×为同源顺序

丢失1个外显子;大者可以缺失数百上千 kb,丢失数十个外显子^[2]。即使在同一内含子中,也可有多个断裂点,如 44 号内含子的断裂点有 13 处^[6]。如何解释这一现象?根据本文的结果,在不同的内含子中存在着多个不同的同源顺序,同源顺序之间的重组即可造成 DNA 的丢失,从而使得在 1 个内含子中有多个断裂点。这可解释为什么缺失断裂点并不固定在某一特定顺序^[6],为什么有的病人缺失范围大,有的缺失范围小,这是因为发生同源重组的顺序的位置规定了缺失断裂点的部位和缺失范围的大小。

参 考 文 献

- 1 张成,刘焯霖,梁秀龄.关于 dystrophin 中文译名的商讨.中华医学遗传学杂志,1992,9(4): 232
- 2 Koenig M, Beggs AH, Moger M, et al. The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: correlation of severity with type of deletion. Am J Hum Genet, 1989, 45(4): 498
- 3 张成,柴建华,刘焯霖,等. Dystrophin 基因缺失热区部分 50 和 51 号内含子核苷酸顺序分析.

- 中华医学遗传学杂志, 1993, 10(5) : 286
- 4 Blonden LA, den Dunnen JT, Van Paassen HM, *et al.* High resolution deletion breakpoint mapping in the DMD gene by whole cosmid hybridization. *Nucleic Acids Research*, 1989, 17(14) : 5611
- 5 刘焯霖, 梁秀龄著. 神经遗传病学. 北京: 人民卫生出版社, 1988. 215
- 6 Blonden LA, Grootsholten PM, den Dunnen JT, *et al.* 242 Breakpoints in the 200-kb deletion-prone p20 region of the DMD gene are widely spread. *Genomics*, 1991, 10(3) : 631
- (1994-11-07 收稿 1995-09-20 修回)

STUDY ON THE MECHANISM OF DNA DELETION IN THE DYSTROPHIN GENE

Zhang Cheng Chai Jianhua Liu Zhuolin Liang Xiuling

(Department of Neurology, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen
University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

The partial intron 44, 50, and 51 of deletion hot spot in the dystrophin gene was analyzed by software; Genepro. The results showed that the deletion hot spots contained an aggregated AT-rich sequences in different introns. The results support the idea, which the authors suggested before, that the homologous sequences among the AT-rich regions are related to the DNA deletion.

Subject headings muscular atrophy/genetics; gene deletion; sequence homology

· 简 讯 ·

中山医科大学与广州市红十字会医院 建立临床教学医院关系

1995年11月28日,广州市红十字会医院举行了中山医科大学、广州市红十字会医院建立临床教学医院关系签字暨教学医院挂牌仪式。广州市卫生局范孟浩书记、叶国雄局长、赖国光副局长、省卫生厅科教处曾广辉处长和本校许发茂副校长等出席了仪式并讲了话。本校出席仪式的还有:教务处唐廷勇处长、颜楚荣副处长,以及第一临床学院、岭南医学院、第三临床学院、眼科中心、肿瘤防治中心、外语教训中心的领导。

揭幕由许发茂副校长和市红十字会医院黄长抗副院长主持。仪式后全体人员参加合影留念。

广州红十字会临床教学基地由岭南医学院联系。

(崔 辉 张幼玲)