

· 简 报 ·

## 抗肌萎缩蛋白基因缺失热区50号和51号 内含子的克隆和测序\*

张 成<sup>1</sup> 柴建华<sup>2</sup> 刘焯霖<sup>1</sup> 梁秀龄<sup>1</sup>

( 1. 神经病学教研室 2. 复旦大学遗传学研究所 )

**关键词** 抗肌萎缩蛋白基因(dystrophin 基因); 内含子; 克隆; 测序**中图分类号** R746.2

抗肌萎缩蛋白(dystrophin)<sup>[1]</sup>基因是迄今发现的人类最大基因,长约2 300 kb,含有75个外显子,编码14 kb mRNA<sup>[2]</sup>。该基因的异常导致其蛋白产物抗肌萎缩蛋白异常,从而在临床上出现病情严重的假肥大型肌营养不良症(DMD)和病情缓和的Becker肌营养不良症(BMD)<sup>[3]</sup>。60%以上的DMD/BMD是由于该基因部分外显子缺失所致,其中位于缺失热区的50号和51号内含子断裂造成51号外显子丢失相当多见<sup>[4]</sup>,提示50号和51号内含子核苷酸顺序有某些特征。为了探讨该基因DNA缺失的原因,我们克隆了50号和51号内含子并测序,用计算机分析其特征,结果如下:

**1. 阳性噬菌斑的筛选** 应用0.9 kb cDMD 8探针,经噬菌斑原位杂交初筛和复筛,从人X染色体噬菌体文库中筛选出10个充分孤立的阳性噬菌斑。

**2. ZFD-801噬菌体克隆的鉴定** 制备噬菌体克隆DNA,经HindⅢ酶切,Southern印迹转移,cDMD8探针杂交,鉴定出ZFD-801噬菌体克隆含有3.1 kb的杂交片段,该片段含有此基因部分50号内含子,51号外显子和部分51号内含子。

**3. 亚克隆** 回收ZFD-801克隆DNA 3.1 kb HindⅢ片段,用KpnⅠ酶切,连接到KpnⅠ和HindⅢ双酶切的M<sub>13</sub>mp19载体上,转化后得到2个分别带有50号和51号内含子的亚克隆。

**4. DNA 测序** 测序结果表明50号内含子的305 bp和51号内含子的402 bp AT含量均高,分别为73.2%和70.1%,且呈聚集性分布。在已测的50号和51号内含子中,相同的碱基顺序有:TTTTAAAAA,CTAAACAA,TTAAATT,TTTTTCTT,这些顺序可能与DNA缺失有关。

根据实验结果,我们提出内含子中AT富集区的重复顺序与DNA断裂有密切关系。

### 参 考 文 献

1. 张 成,等.关于 dystrophin 中文译名的商讨. 中华医学遗传学杂志 1992; 9(4):232
2. Den Dunnen JT, et al. Topography of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) gene: FLGE and cDNA analysis of 194 cases reveals 115 deletion and 13 duplications. Am J Hum Genet 1989; 45:835
3. Hoffman EP, et al. Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. N Engl J Med 1988; 318:1363
4. Koenig M, et al. The molecular basis for Duchenne versus Berker muscular dystrophy: Correlation of severity with type of deletion. Am J Hum Genet 1989; 45:498

( 1992-12-14收稿 1993-01-12修回 )

\* 国家自然科学基金和部分国家 863 高技术科学基金资助项目