

广西地区正常人群 SCA3/MJD 基因多态性研究

罗 曼, 王 进, 李桂冰, 肖友生, 曹小丽, 甘 露

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院神经内科(罗 曼, 王 进, 肖友生, 曹小丽, 甘 露); 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院内科 ICU(李桂冰)

作者简介: 罗 曼(1980-), 女, 在读医学博士, 主治医师, 研究方向: 神经病学。E-mail: manro@yahoo.cn

[摘要] **目的** 探讨广西地区汉族正常人群 SCA3/MJD 基因(CAG)_n 重复拷贝数的正常变异范围。**方法** 应用荧光 PCR 及毛细管电泳片段长度分析对广西 75 名正常人 SCA3/MJD 基因(CAG)_n 重复拷贝数进行分析。**结果** 广西地区 SCA3/MJD 基因(CAG)_n 在正常人群中的变异范围为 13~34 个拷贝, 集中于 13 个拷贝, 其等位基因频率为 52.00%, 杂合频率为 69.33%, 共 17 种等位基因。**结论** SCA3/MJD 基因(CAG)_n 重复序列在广西正常人群中呈现多态性, SCA3/MJD 基因(CAG)_n 重复拷贝数正常变异范围存在地区差异。

[关键词] SCA3/MJD 基因; (CAG)_n 重复; 多态性

[中图分类号] R 744 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2012)03-0210-02

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2012.03.08

Research on the normal range of SCA3/MJD gene CAG repeats in Han population in Guangxi region LUO

Man, WANG Jin, LI Gui-bing, et al. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To study the normal range of SCA3/MJD gene (CAG)_n repeats in Han population in Guangxi region. **Methods** The (CAG)_n repeats polymorphism of SCA3/MJD gene was detected by fluorescence-polymerase chain reaction (PCR) and capillary electrophoresis (CE). **Results** The normal ranges of (CAG)_n of SCA3/MJD gene varied from 13 to 34 repeats, including a total of 17 alleles. The most common repeats number was 13 repeats, allele frequency was 52.00%, heterozygosity was 69.33%. **Conclusion** SCA3/MJD gene (CAG)_n repeats in the normal population in Guangxi showed polymorphism. There are regional differences in the normal range of variation.

[Key words] SCA3/MJD gene; (CAG)_n repeat; Polymorphism

脊髓小脑性共济失调 (spinocerebellar ataxia, SCAs) 是一大类以共济失调为主要表现的神经系统遗传变性病, 国内外研究证实脊髓小脑性共济失调 3 型 (spinocerebellar ataxia type 3, SCA3) 是 SCAs 中发病率最高的亚型^[1]。目前 SCA3/MJD 基因检测已成为公认的 SCA3 诊断方法。SCA3/MJD 基因由 Kawaguchi 等^[2]于 1994 年分离出, 该基因定位于 14 号染色体长臂上^[3], 羧基端 4 号外显子含有一段高度多态的 CAG 重复序列, 正常人重复 12~40 次, 患者重复 62~86 次, 介于 40~62 次之间的为中间等位基因^[4]。鉴于目前尚无广西地区正常人群 SCA3/MJD 基因(CAG)_n 重复拷贝数多态性的研究报道, 我们对其进行检测和分析, 报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 75 名检测对象来自广西医科大学第一

附属医院体检中心。检测对象身体健康, 无神经系统疾病及遗传病, 年龄 28~62 (44.91±8.88) 岁, 其中男 43 名, 女 32 名, 均为中国汉族, 祖籍均为广西。

1.2 SCA3/MJD 基因 CAG 重复拷贝数的测定

1.2.1 外周血 DNA 提取 抽取每位研究对象的外周静脉血 2 ml, 应用经典的酚/氯仿抽提法从外周静脉血白细胞中提取基因组 DNA。

1.2.2 引物 根据文献^[3]合成引物, 引文序列为: MJD52 5'-CCAGTGACTACTTTGATTTCG-3' MJD25 5'-TGGCCTTTCACATGGATGTGAA-3'。正向引物的 5' 端有 FAM 荧光标记, 由上海鼎安生物科技有限公司合成。

1.2.3 PCR 扩增 PCR 反应体系: 10×PCR Buffer 2.5 μl, 20 mM mg²⁺ 1.875 μl, dNTPs (2.5 mM) 2 μl, Taq 酶 (5 U/μl) 0.2 μl, Primers (0.1 μg/μl) 各 0.5

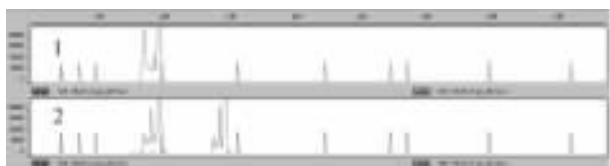
μl , DNA 模板 $1 \mu\text{l}$, ddH₂O 补足至 $25 \mu\text{l}$ 。PCR 反应条件: 95°C 预变性 4 min, 94°C 变性 40 s, 62°C 退火 50 s, 72°C 延伸 40 s, 共 35 个循环, 最后 72°C 延伸 7 min。PCR 扩增产物特异性确认: 取 $5 \mu\text{l}$ PCR 扩增产物, 在 1.5% 琼脂糖凝胶上作水平电泳。溴化乙锭染色, 在自动凝胶成像系统上成像观察结果。

1.2.4 毛细管电泳片段长度分析 电泳介质: POP-4 胶(由美国 ABI 公司提供), $1 \times$ 电泳液(由美国 ABI 公司提供); 毛细管内径: 36 μm ; 内标: Rox DNA Size Standard-500; 电泳条件: 电压 15 kV, 温度 60°C , 时间 45 min; 软件: 使用 Genescan 软件读取分析结果。

1.2.5 测量 CAG 重复拷贝数 CAG 重复拷贝数为: $[\text{DNA 片段长度}(\text{bp}) - \text{侧翼区的长度}(\text{bp})] \div 3$ 。

2 结果

75 名广西地区正常人群共 150 条 SCA3/MJD 等位基因中 CAG 重复拷贝数为 13~34 次, 集中于 13 次, 等位基因频率为 52.00%。基因杂合频率为 69.33% (52/75)。未发现中间等位基因。见图 1, 2。



泳道 1 为纯合子(CAG 重复拷贝数为 13), 泳道 2 为杂合子(CAG 重复拷贝数为 13/26)

图 1 2 名广西地区正常人毛细管电泳片段长度分析图

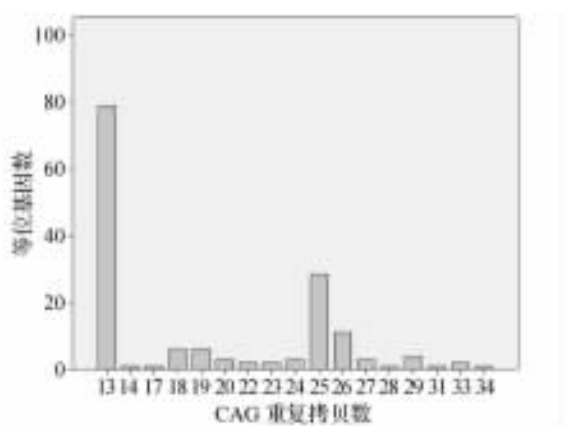


图 2 75 名正常人的 SCA3/MJD 基因 CAG 重复拷贝数分布情况

3 讨论

3.1 SCA3 临床表现多种多样, 表型存在高度的遗

传异质性。一般而言, SCA3 智能不受损, 常存在突眼, 凝视诱发的眼震, 眼肌麻痹, 面肌颤搐, 晚期有周围神经损害^[5]。由于临床表型复杂, 各亚型间存在重叠, SCA3 难以通过临床诊断同其他亚型相区别, 它的确诊有赖于基因诊断。

3.2 SCA3/MJD 基因是 SCA3 的致病基因。目前的研究表明, 不同国家、地区、种族, 不同人群的 SCA3/MJD 基因内正常 CAG 重复的范围存在差异, CAG 重复突变性扩展与正常扩展范围的界定是 SCA3 基因诊断、分型关键^[6]。

3.3 我们检测广西地区正常人群 SCA3/MJD 基因中 CAG 重复拷贝数为 13~34 次, Kawaguchi 等^[2]检测日本正常人 SCA3/MJD 基因中 CAG 重复拷贝数为 13~36 次, 两者结果基本一致。然而, 姜森等^[7]对东北地区汉族正常人群的检测显示: CAG 重复拷贝数为 14~38 次, 集中于 14 次。这种差异可能由 SCA3/MJD 基因(CAG)_n 重复序列在广西正常人群中呈现多态性产生, 也可能与样本量不同有关。

对广西正常人群的 SCA3/MJD 基因进行检测, 可为 SCA3 的基因诊断提供广西群体方面的基因资料, 有助于为广西 SCA3 的基因诊断提供可靠的依据, 但有待进一步扩大样本量来进行更为深入的研究。

参考文献

- Schöls L, Amoiridis G, Büttner T, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia: phenotypic differences in genetically defined subtypes? [J]. Ann Neurol, 1997, 42(6): 924-932.
 - Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, et al. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1 [J]. Nat Genet, 1994, 8(3): 221-228.
 - Takiyama Y, Nishizawa M, Tanaka H, et al. The gene for Machado-Joseph disease maps to human chromosome 14q [J]. Nat Genet, 1993, 4(3): 300-304.
 - van Alfen N, Sinke RJ, Zwarts MJ, et al. Intermediate CAG repeat lengths (53, 54) for MJD/SCA3 are associated with an abnormal phenotype [J]. Ann Neurol, 2001, 49(6): 805-807.
 - 王康, 王国相. 遗传性共济失调临床和基因诊断进展 [J]. 中华神经科杂志, 2001, 34(6): 378-381.
 - Schöls L, Bauer P, Schmidt T, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis [J]. Lancet Neurol, 2004, 3(5): 291-304.
 - 姜森, 金春莲, 林长坤, 等. 东北地区正常汉族人群 SCA1 及 SCA3/MJD 基因内 CAG 重复变异研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2004, 21(1): 83-85.
- [收稿日期 2011-11-08][本文编辑 杨光 吕文娟]