

Duchenne씨 근 이영양증(DMD) 가계에서의 pERT 87-8 유전자의 변이*

계명대학교 의과대학 해부학교실

이인환 · 김대광 · 정용욱 · 김홍태 · 장성의 · 최인장

서 론

인류의 Duchenne씨 이영양증(Duchenne muscular dystrophy; 이하 DMD)의 역사는 기원전 15세기의 Egypt의 벽화에서 이미 발견되고 있으며 1868년 Duchenne이 이 질병 15례를 잡지(Arch Gen Med)에 발표함으로 비롯된다(Emery, 1987). DMD는 발육 부전으로 시작되며 근육의 이상으로는 중간 둔부근(gluteus medius) 및 작은 둔부근(gluteus minimus)의 약화로 시작되어 여러근육으로 진행한다. 가족력으로는 Duchenne씨의 보고이전에 Meryon(1852)의 보고가 이미 있었으며 X-linked 열성으로 유전되는 치사성 질병임이 알려져 있다. 또 DMD는 근 이영양증의 분류중 proximal type으로 분류된다(표 1). 이

Table 1. X-linked dystrophies

Proximal
Duchenne
Becker
Others(Mabry, Emery-Dreifuss)
Scapuloperoneal
Quadriceps
Quadriceps myopathy

질병을 유발시키는 X 염색체의 단완(Xp21)에 위치하며(그림 1) 2 mega bp정도의 아주 큰 유전자이다(Chelly 등, 1988). 크기가 큼으로 인해서 유전자의 결손이나 돌연 변이를 일으킬 확율이 많아져 DMD 가계 1/3의 경우에서 조상에서 전혀 유례가 없는 돌연 변이로 초래된다(Bartlett 등, 1988). 그러므로 다른 유전 질환의 돌연 변이 기회보다 월등히 높은 80~100

/10⁶의 돌연변이율(mutation rate)을 보이고 있다(표 2).

Table 2. Average estimates of mutation rates various genetic disorders

Disorder	Mutation rate ($\times 10^{-6}$)
Autosomal dominants	
Achondroplasia	10
Retinoblastoma	8
Tuberous sclerosis	8
Polyposis coli	13
Neuroblastomatosis	70
Huntington's chorea	5
Myotonic dystrophy	10
Autosomal recessives	
Albinism	28
Total colour blindness	28
Phenylketonuria	25
X-linked recessives	
Haemophilia A	32~57
Haemophilia B	2~3
Duchenne muscular dystrophy	80~100

변이 또한 다양해서, DMD가 있는 가계끼리 유전자 결합의 양태를 비교하면 서로 아주 상이하여 돌연 변이율이 아주 높음이 증명된다. 또 한번 변이를 일으킨 것은 안정한 상태로 유지 유전되어 같은 DMD 가계에서는 같은 모양의 유전자 결합이 보인다(Darras 등, 1988). 돌연변이 이외의 요인으로는 유전자의 결손, 복제(duplication)로 인한 miss-pairing 혹은 unequal cross-over 등이 유발요인으로 알려져 있다

* 이 논문은 1991년도 계명대학교 을종연구비 및 동산의료원 조사연구비에 의하여 이루어졌다.

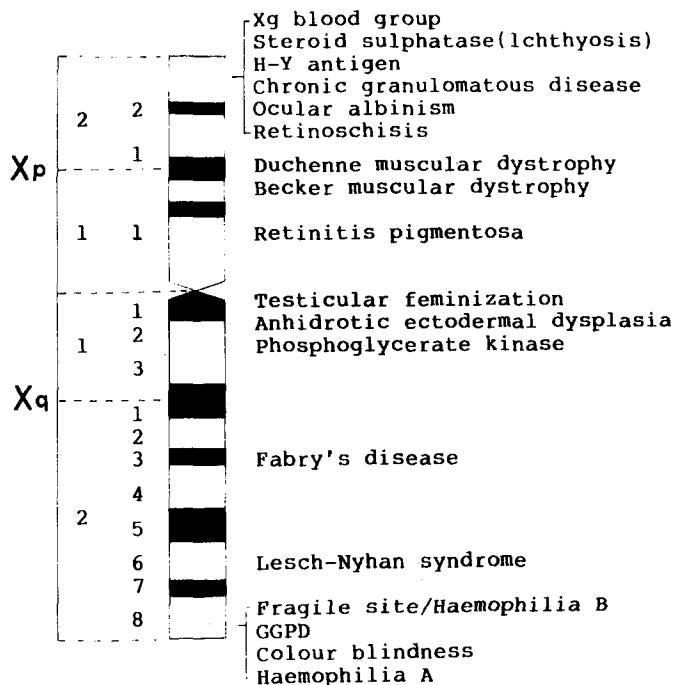


Fig 1. Simplified gene map of the X-chromosome and its banding pattern.

(Monaco 등, 1985).

DMD 유전자는 genomic DNA가 아주 크지만 실제 표현(expression) 되는 exon은 14kb 정도이며 60개 정도로 나누어져 있다(Chelly 등, 1988). 이 유전자가 표현 전사되면 dystrophin 단백질을 구성하며 이 단백질은 근육 세포 내막(intracellular membrane) 구성요소의 일부가 된다. 근육세포에서 전사되는 전 mRNA의 0.02~0.12%를 차지하여 근육외 다른 세포에 비해 25,000배나 되는 것으로 근육세포에서 특이하게 표현되는 유전자이다.

Dystrophin이 근육세포 내막의 구성요소로서 DMD 환자의 근육세포에서 특이한 세포막결손이 면역 학적 방법으로 증명되어 있으나(Carpenter와 Karpati, 1984; Arahata 등, 1988) 근육세포의 sarcoplasmic reticulum의 변이 (Samaha와 Congedo, 1977), 근육 강도의 변화(Cohen 등, 1982) 등이 보고되어 있어 이 물질이 세포막이외의 세포소기관(cell organelles)에도 영향을 주는 것으로 추정된다.

저자는 DMD 가계의 말초 혈액 임파구에서 핵형(karyotype)을 분석하여 X염색체 band의 변이를 조사하고 DMD의 genomic DNA인 pERT 87 probes를 사용하여 유전자 변이의 위치와 carrier를 확인하고자

한다.

재료 및 방법

재료 : Duchenne씨 근 이영양증으로 두 아들이 사망한 가계에서 모와 그 자손 7명을 대상으로 말초혈액에서 추출한 DNA를 이용하였다.

방법 :

A. 핵형 분석(karyotyping) : 말초혈액 임파구를 10% 우혈청이 든 RPMI 1640 배지에서 3일간 배양하여 G-band 및 H-R(high resolution) band하여 X염색체의 변화를 조사하였다.

B. DNA 추출 : Matsumoto 등(1986)의 방법을 변형하여 사용하였다. Heparine으로 처리된 말초혈액 10ml를 conical 250ml polypropylene tube에 옮기고, 여기에 10배(100ml)의 차가운 Triton X lysis buffer (0.32M sucrose, 10mM Tris-HCl pH 7.5, 5mM MgCl₂, 1% Triton X 100)를 가하여 5분동안 얼음위에 둔 후 원심하여(2400 rpm, 10 min) 핵들을 isolation 시킨다. pellet을 9ml nuclei dropping buffer (0.075M NaCl, 0.024M EDTA pH 8.0)를 이용하여 50ml tube 옮기고 재부유시켜 1ml의 5% SDS(최종농도 0.5%)

와 proteinase K (0.2mg/ml)를 섞어 천천히 혼들면서 37°C에서 12~16시간 배양한 후 동량의(10ml) equilibrated phenol을 넣어 1시간동안 뒤집으며 섞은후 2400rpm으로 20분간 원침후 상충을 다른 tube에 옮기고 같은 량의 chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) 용액을 섞어 다시 원침한다(2400rpm, 10min). 상충에 1/10량의 3M Na-acetate와 1.5배 량의 95% isopropanol로 써 DNA를 침전시킨다. 10ml TE buffer (10mM Tris-HCl pH8.0, 1mM EDTA pH 8.0)로 다시 녹인후 1/2량의 7.5M NH4-acetate와 2배 량의 차가운 무수 alcohol을 넣어 혼들면 DNA의 엉짐을 볼 수 있다.

이를 굽은 pasteur pipette로 건져내어 95% ethanol로 수세한 후 ethanol이 휘발되게 말린후 1ml TE buffer에 녹이고 spectrophotometer에서 260nm의 흡광도를 측정하여 DNA의 농도를 결정한다.

C. 효소처리 : Hind III(Takara 제) 효소로 37°C에서 overnight digestion하였다.

D. 전기영동 : minigel로 digestion을 확인하고 ELFO 완충액내에서 0.8% agarose로 전기영동하였다(size maker : Hind III digested Phage DNA, 20~40V).

E. Nylon membrane에 Southern transfer :

F. Plasmid amplification과 probe production : Cloning된 pERT 유전자 가운데 3가지(pERT 87-1, pERT 87-8, pERT 87-30)를 M-9 calcium 배지에 large scale 배양후 spectrophotometry 660nm에서

OD가 0.4정도되면 chloramphenicol(170 µg/ml)을 첨가하여 12~16시간 더 배양하고 원심분리한 후(25,000rpm, 20분) 침침물을 lysozyme 처리하고 alkali-SDS 방법으로 DNA를 추출하여 3가지 probe에 각각 KpnI/SalI, XbaI, Hind III 효소로 37°C에서 overnight 배양한후 0.8% LMT gel(agarose type VII)에 전기 영동하여 gel 조각을 Tris-HCl-EDTA 완충액에 녹여 포화 phenol 및 PCI 추출법으로 1.35kb, 1.3kb, 1.8kb DNA probe로 DMD 유전자가 coding 되어 있는 3개의 pERT 87probe(Kunkel, 1986)을 얻었다.

G. Probe labelling : DNA probe를 5분간 boiling 후 갑자기 -20°C에 얼려 denature 시킨후 multiprime kit(Amersham 제)로 $\alpha^{32}P$ 를 DNA에 labelling 시키고 sephadex G50 column에 통과시켜 labelled probe만을 분리하였다.

H. Prehybridization과 hybridization : (D)에서 gel의 DNA를 옮겨 baking된 nylon membrane에 salmon DNA(100~150 µl)을 같은 방법으로 denature시켜 prehybridization(65°C, 5분) 시킨후 denature된 ^{32}P -probe DNA 0.6×10^6 cpm/lane을 첨가 65°C에서 overnight 진탕하여 hybridization시켰다.

I. Washing : 65°C하에서 2×SSC/0.1% SDS로 15분간 2회 수세하였다.

J. Autoradiography와 현상 : -70°C에서 1~3일간 노출하고 필름을 현상하였다.

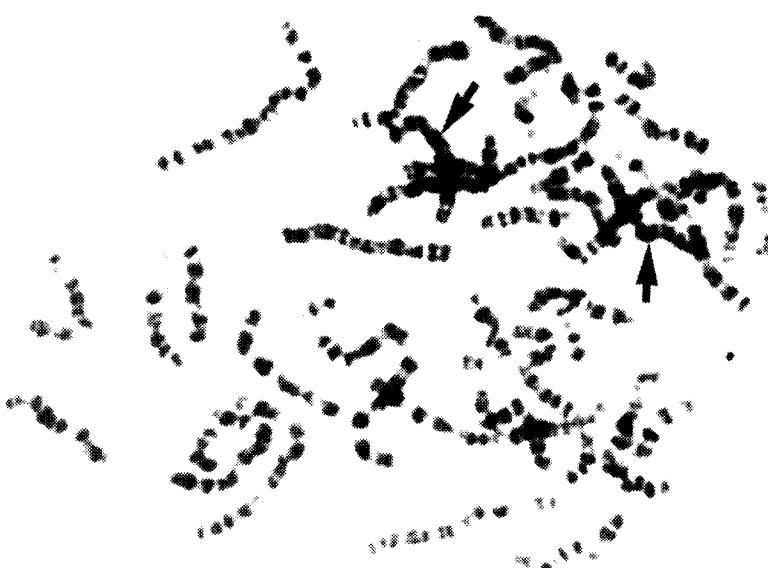


Fig 2. One sample of karyotype; normal banding pattern of X chromosome(arrow).

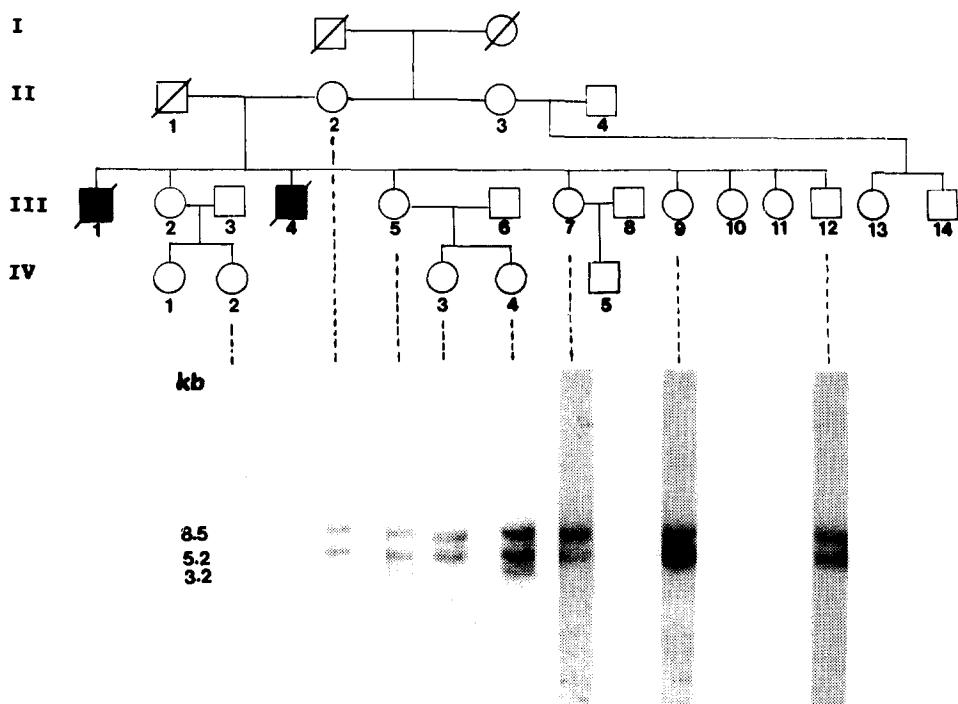


Fig 3. Provisional localization of various RFLPs around the Duchenne/Backer locus.

성 적

핵형 분석에서 G-band 법과 H-R band 법(그림 2)으로는 X염색체의 변화는 발견할 수 없었다.

그림 4의 가계도는 III-1과 III-4 DMD의 발병으로 각각 6세, 13세에 사망한 레의 가계도이다. 이 가계에서 남자 1명, 여자 7명의 말초혈액의 임파구에서 DNA를 추출하여 Hind III로 DNA를 절단하여 nylon membrane에 Southern blot하고 염색체 상에서 Xp21.1, Xp21.2, Xp21.3에 위치하는(그림 3) pERT 87-1, pERT 87-8, pERT 87-30의 genomic DNA probe를 hybridization한 결과 pERT 87-8 probe와의 hybridization에서 유의한 성적을 얻었다. 즉 8명 공히 임상적으로 정상적인 발육으로 DMD의 증상이 전혀 없었으나 이 probe를 이용한 절편에서는 상이한 면을 보였다(그림 4). III-7, III-9, III-12, IV-3에서는 (8.5/5.2)kb에서 정상적인 hybridization band를 보였고, II-2, III-5, IV-2, IV-4에서는 (8.5/5.2/3.2)kb에서 이상한 band를 보였다. 즉 II-2, III-5, IV-2, IV-4에서 DMD 유전자 중 중간 부위에서 DNA변이가

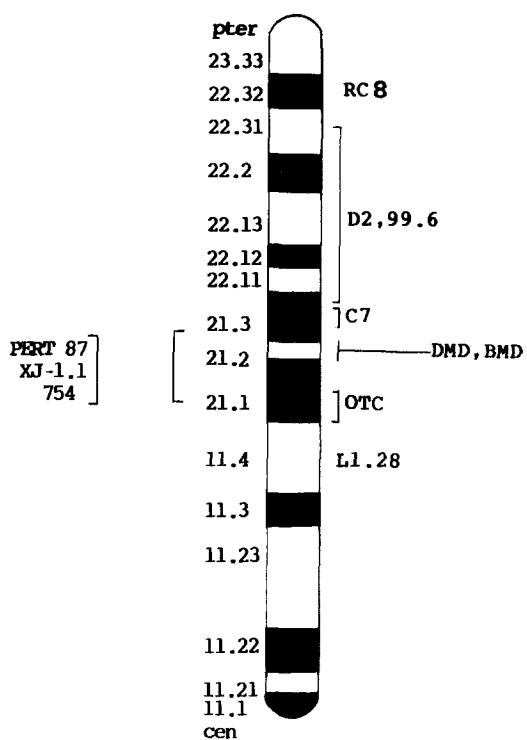


Fig 4. The pedigree of a DMD family.

일어나서 extra band(3.2kb)가 나타난 것으로 생각되며 이를 모두 carrier로 사료된다.

또 I, II 세대에서 DMD 증상을 전혀 보인 데가 없기 때문에 II-2의 새로운 변이(new mutation)로 사료된다.

고 찰

DMD는 발육부전, 언어 발달장애, 둔부근육의 약화로 부터 시작하여 여러 관절의 운동장애로 이어지는 X-linked 열성 유전질환으로서 사망으로 진행된다. DMD 유전자는 RFLP linkage analysis(Hofker 등, 1985), 세포 유전학적 연구(Boyd 등, 1986) 등으로 Xp 21에 위치함이 알려져 있으며, Mandel 등(1989)은 DMD 유전자 속에서 14kb의 DMD의 cDNA가 적어도 75개의 exon으로 구성되며 2,300kb의 genomic DNA에 펴져 있다고 보고하고 있다. 이 유전자의 표현으로 구성되는 polypeptide는 근육세포의 막성 구조의 일부를 형성하는 dystrophin이란 물질이다(Hoffman 등, 1987). 19세기에 이미 유전적 소인을 가진 질병으로 가족력이 보고되어 있으며 출생 남아의 1/3, 500~4,000의 빈도로 발견되는 이 질환의 발병 원인은 크게 3가지로 대별된다(Moser, 1984). 첫째, DNA의 복제로 인한 mispairing 혹은 unequal crossing-over. 둘째, 유전자의 일부 결손으로 초래되는 것으로 이 중 66~67%를 Southern blot hybridization 기법으로 찾아낼 수 있다(Forrest 등, 1988). 셋째, 전 발생율의 1/3을 점하는 것으로 돌연변이가 있다(Gardner-Medwin, 1970). 이외에도 염색체의 재배열로 유발되는 것이 있으며 특히 상 염색체 중 11, 21, 3, 1, 5, 6, 9, 2, 8, 4, 5, 15번의 염색체와 X염색체의 전좌로 일어나는 DMD의 보고가 있다(Zatz 등, 1981; Verellen-Dumoulin 등, 1984; Ray 등, 1985; Thompson 등, 1986).

유전자의 결손으로 초래되는 DMD는 아주 다양한 양태를 보여 DMD 가족 계보마다 결손위치가 상이하나 hot spot가 있어 공통적으로 나타나는 결손 부위가 있다(그림 5 : Koenig 등, 1987). den Dunnen 등(1987)은 DMD의 50~70%는 유전자의 일부 결손으로 일어난다고 하며, 이런 경우 cDNA를 probe로 하여 RFLP linkage analysis(Monaco 등, 1987)나 Southern blot hybridization으로 screen하거나 산전 진단으로 heterozygous carrier를 감별 할 수 있다(Franke 등, 1985; Malhotra 등, 1988; Darras, 1988). 한편으로는 exon의

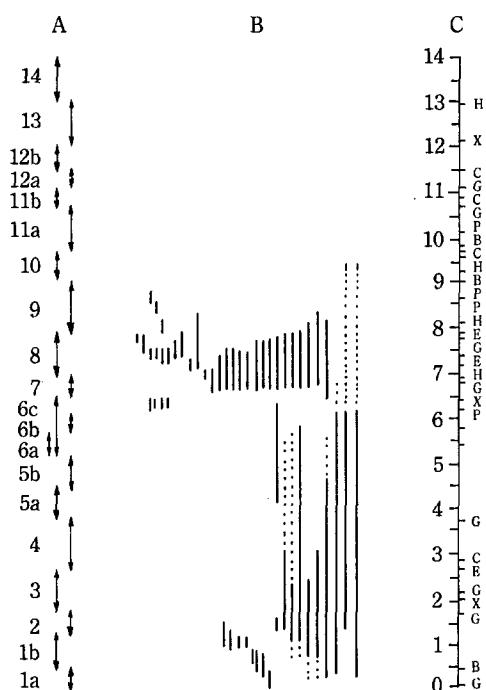


Fig 5. Schematic representation of the DMD locus and cDNA.
(a) cDNA fragments, (b) extension of 53 DMD deletions relative to the cDNA map,
(c) cDNA restriction map.

일부가 결손된 채로 유전되나 dystrophin의 정상적인 표현으로 근 이영양증으로의 임상적 증상이 전혀 없는 경우도 있어 이 질병의 표현을 위한 다른 인자가 있을 것으로 여겨진다(Nordenskjöld 등, 1990). 또 결손이 일어나더라도 single intron의 결손인 경우 정상적인 표현형(phenotype)을 보인다(Koh 등, 1987). 이외에도 carrier의 건강한 남형제가 DMD 아들을 가진 딸이 나와 penetrance가 보고되기도 한다(Thompson 등, 1962; Williams 등, 1983).

그러나 유전자의 결손없이 mRNA의 alternative splicing이나(Feener, 1989), dystrophin을 근육세포 막성 구조에 붙이는 단백질의 이상과 같은 post-translational processing의 결핍으로 초래될 수도 있다(Cheilly 등, 1988). 이런 경우 DMD polypeptide의 항체를 만들어 근육세포 막성 구조의 특이한 결손을 면역 반응으로 찾아내어 확진할 수 있다(Mostaciuolo 등, 1987).

돌연변이의 경우, postzygotic mitotic origin으로 새로운 변이가 일어나며(Bakker 등, 1987; Wood와 McGillivray, 1988), 긴 유전자인 관계로 아주 높은

변이율(mutation rate)을 보인다(표 2). 즉 Halden(1935)의 간접적 변이율 계산($mr = 1/3 \times I(1-f)$; I =incidence of disease, f =reproductive fitness of affected individual)에 따르더라도 $I=240-300 \times 10^{-6}$ 으로 mr (mutation rate)가 $80-100 \times 10^{-6}$ gene/generation으로 계산되어 높은 발생빈도이다. 이런 높은 빈도로 말미암아 아주 다양한 돌연변이가 일어나며 유전자 결손 양상도 아주 다양하다. 그러나 한번 돌연변이나 결손등의 유전자변화가 일어나며 그대로 안정된 상태로 되어 동일 가계에서는 꼭같은 양태로 유전(transmittion) 된다(Darras 등, 1988). 본 실험에서도 비정상 band는 꼭같은 양상이었다. 그러나 이 실험의 맹점은 효소와 유전자 변이의 combination이 어떤 상태에서 맞을지 불확실하여 많은 양의 DNA와 효소를 써야하는 난점을 지니고 있다(Thomson 등, 1962; Vogel, 1983). 그래서 앞으로의 전망으로는 PCR(polymerase chain reaction)을 이용하는데 있다하겠다(Hentemann 등, 1990). 1985년 Saiki 등에서 비롯된 이 방법은 Chamberlain 등(1988), Roberts 등(1988)에 이르러 큰 응용을 보여 target specific primer(짧은 oligonucleotide)를 사용하여 대상 DNA 조각(dystrophin gene)을 증폭시켜 쓸 수 있어 소량의 DNA로 많은 검사를 할 수 있으며 blotting 과정을 거치지 않고 전기영동 만으로도 유전자 변화를 짐작할 수 있어 앞으로의 DMD 진단은 PCR의 응용이 기대된다(Dulau 등, 1989; Oudet 등, 1990; Reiss 등, 1990).

요 약

DMD로 두 자녀가 사망한 가계에서 모와 생존한 자손을 대상으로 핵형분석 및 유전자검사를 실시한 결과 전대(조상)에서 DMD의 가족력을 발견할 수 없으며 근자에 와서 2명의 남아가 DMD로 추정되는 질환으로 사망한 가족계보에서 8명의 말초혈액으로부터 세포유전학적 연구와 분자유전학적 조사를 하였다. 핵형 분석으로는 G-banding 및 high-resolution banding 분석으로 모두 정상적인 양태를 보였다. 분자유전학적 연구로, DNA를 추출하여 Hind III 제한효소로 자른 뒤 DMD의 genomic DNA인 pERT 87-1, pERT 87-8, pERT 87-30 probe를 적용하여 Southern blot hybridization하여 그 band를 조사하였다. 이중 기왕의 보고된 정상군의 band(8.5/5.2 kb)와 다른 extra-band를 가진 것으로 대상 II-2, III-5,

IV-2, IV-4에서 8.5/5.2/3.2kb로 나타났다. extra-band인 3.2kb band는 DMD 유전자의 돌연변이에 기인한 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Arahata K, Ishiura S, Ishiguro T, et al: Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide. *Nature* 1988; 333: 861-863.
- Bakker E, Van Broeckhoven C, Bonten EJ, et al: Germline mosaicism and Duchenne muscular dystrophy mutations. *Nature* 1987; 329: 554-556.
- Bartlett RJ, Pericak-Vance MA, Koh J, et al: Duchenne muscular dystrophy: High frequency of deletions. *Neurology* 1988; 38: 1-4.
- Boyd Y, Duckett DP, Lang GD: Cytogenetic heterogeneity of translocations associated with Duchenne muscular dystrophy. *Clin Genet* 1986; 29: 108-115.
- Carpenter S, Karpati G: *Pathology of Skeletal Muscle*. Churchill Livingstone Edinburg 1984, pp 124-125.
- Chelly J, Kaplan JC, Maire P, et al: Transcription of the dystrophin gene in human muscle and non-muscle tissues. *Nature* 1988; 333: 858-860.
- Chamberlain JS, Gibbs RA, Rainer JE, et al: Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 1141-1156.
- Cohen L, Morgan J, Babbs R, et al: A statistical analysis of the loss of muscle strength in Duchenne's muscular dystrophy. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1982; 37: 123-138.
- Darras BT, Blattner P, Harper JF, et al: Intronogenic deletions in 21 Duchenne muscular dystrophy (DMD)/Becker muscular dystrophy(BMD) families studied with the dystrophin cDNA: Location of breakpoints on Hind III and Bgl II exon-containing fragment maps, meiotic and mitotic origin of the mutations. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 620-629.
- den Dunnen JT, Bakker E, Klein Breteler EG, et al: Direct detection of more than 50% of the Duchenne Muscular dystrophy mutations by field inversion gel. *Nature* 1987; 329: 640-642.
- Dulau L, Cheryrou A, Angle M: Directed mutagenesis using PCR. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 2873.
- Emery AEH: *Duchenne Muscular Dystrophy*. Oxford monographs on medical genetics no. 15. Oxford Medical Publications, 1987, p 114.

- Feener CA, Koenig M, Kunkel LM: Alternative splicing of human dystrophin in muscle biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. *Nature* 1989; 338: 509-511.
- Forrest SM, Cross GS, Flint T, et al: Further studies of gene deletions that cause Duchenne and Becker muscular dystrophies. *Genomics* 1988; 2: 109-114.
- Franke U, Ochs HD, de Martinville B, et al: Minor Xp21 chromosome deletion in a male associated with expression of Duchenne muscular dystrophy, chronic granulomatous disease, retinitis pigmentosa and McLeod syndrome. *Am J Hum Genet* 1985; 37: 250-267.
- Gardner-Medwin D: Mutation rate in Duchenne type of muscular dystrophy. *J Med Genet* 1970; 7: 334-337.
- Hentemann M, Reiss J, Wagner M, et al: Rapid detection of deletions in the Duchenne muscular dystrophy gene by PCR amplification of deletion-prone exon sequences. *Hum Genet* 1990; 84: 228-232.
- Hoffman EP, Brown RH, Kunkel LM: Dystrophin: The protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell* 1987; 51: 919-928.
- Hofkr MH, Wapenaar MC, Goor N, et al: Isolation of probes detecting restriction fragment polymorphisms from X chromosome-specific libraries: Potential use for diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. *Hum Genet* 1985; 70: 148-156.
- Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ, et al: Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. *Cell* 1987; 50: 509-517.
- Koh J, Pericak-vance MA, Yamaoka LM, et al: Inherited deletion at Duchenne dystrophy locus in normal male. *Lancet* 1987; 2: 1154-1155.
- Kunkel LM: Analysis of deletion in DNA of patients with Becker and Duchenne muscular dystrophy. *Nature* 1986; 322: 73-77.
- Matsumoto T, Jinno Y, Kondo T, et al: Prenatal diagnosis of Duchenne muscular dystrophy in a carrier mother using DNA polymorphism(RFLP). 醫學のあゆみ 1986; 139: 349-350.
- Malhotra SB, Hart KA, Klamust HJ, et al: Frame-shift deletions in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Science* 1988; 242: 755-759.
- Mandel JL: The gene and its product. *Nature* 1989; 339: 584-586.
- Monaco AP, Bertelson CJ, Middlesworth W, et al: Detection of deletions spanning the duchenne muscular dystrophy locus using a tightly linked DNA segment. *Nature* 1985; 316: 842-845.
- Monaco AP, Bertelson CJ, Colletti-Feener C, et al: Localization and cloning of Xp21 deletion breakpoints involved in muscular dystrophy. *Hum Genet* 1987; 75: 221-227.
- Moser H: Duchenne muscular dystrophy: Pathogenic aspects genetic prevention. *Hum Genet* 1984; 66: 17-40.
- Mostacciulo ML, Lombardi A, Cambissa V, et al: Population data on benign and severe forms of X-linked muscular dystrophy. *Hum Genet* 1987; 75: 217-220.
- Nordenskjold M, Nicholson L, Edstroem L, et al: A normal male wth inherited deletion of one exon within the DMD gene. *Hum Genet* 1990; 84: 207-209.
- Oudet C, Heilig R, Mandel JL: An informative polymorphism detectable by polymerase chain reaction at the 3' end of the dystrophin gene. *Hum Genet* 1990; 84: 283-285.
- Ray PN, Belfall B, Duff C, et al: Cloning of breakpoint of an X:21 translocation associated with Duchenne muscular dystrophy. *Nature* 1985; 318: 672-675.
- Reiss J, Coper DN: Application of the polymerase chain reaction to the diagnosis of human genetic disease. *Hum Genet* 1990; 85: 1-8.
- Roberts E, Duckett DP, Lang GD: maternal cell contamination in chorionic villus samples assessed by direct preparations and three different culture methods. *Prenat Diagn* 1988; 8: 635-640.
- Saiki RK, Scharf S, Faloona F, et al: Enzymatic amplification of β-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230: 1350-1354.
- Samaha FJ, Congedo CZ: Two biochemical types of Duchenne dystrophy: Sarcoplasmic reticulum membrane proteins. *Ann Neurol* 1977; 1: 125-130.
- Thompson MW, Ray RN, Belfall B, et al: Linkage analysis of polymorphism within the DNA fragment XJ cloned from the breakpoint of an X: 21 translocation associated with X linked muscular dystrophy. *J Med Genet* 1986; 23: 548-555.
- Thomson PK, Ludvigsen B, Monckton G: Some problems in genetics of muscular dystrophy. *Rev Canad Biol* 1962; 21: 543-550.
- Verellen-Dumoulin C, Freund M, de Meyer R, et al: Expression of an X-linked muscular dystrophy

- in a female due to translocation involving X21 and non-random X-inactivation. *Hum Genet* 1984; 67: 115-119.
- Vogel F: *Mutation in man, In Principles and Practice of Medical Genetics*. Churchill Livingstion, Edingburgh 1983, pp 26-48.
- Williams WR, Thompson MW, Morton ME: Complex segregation analysis and computer assisted genetic risk assessment for Duchenne muscular dystrophy. *Am J Med Genet* 1983; 14: 315-333.
- Wood S, McGillivray BC: Germinal mosaicism in Duchenne muscular dystrophy. *Hum Genet* 1988; 78: 282-284.
- Zatz M, Vianna-Morgante AM, Campos P, et al: Translocation (X:6) in a female with Duchenne muscular dystrophy: Implication for the localisation of the DMD locus. *J Med Genet* 1981; 18: 442-447.

=Abstract=

A Mutation of pERT 87-8 Gene in Duchenne Muscular Dystrophy

Ihn Hwan Lee, MD; Dae Kwang Kim, MD; Yong Wook Jeong, MD;
Hong Tae Kim, MD; Sung Ik Chang, MD; In Jang Choi, PhD

*Department of Anatomy, Keimyung University,
School of Medicine, Taegu, Korea*

Duchenne muscular dystrophy(DMD) is a severe human X-linked degenerative disorder of muscle with fatal evolution before the end of third decade of life. It affects about 1 in 3500 live born males. The high disease frequency correlates with the high rate of new mutations, estimated to represent one-third of all DMD cases, because this gene is very large size. The DNA of a DMD-deletion patient was used to isolate 7 pERT clones that were absent from this patient's DNA. One of these deletion specific clones, pERT(DXS 164), was found to be tightly linked to the DMD gene. We investigated DMD family in which 2 sons expired from this disease. We used the pERT 87-1, pERT 87-8, pERT 87-30 as genomic probes in Southern blot hybridization. The pERT 87 for a large gene is located in band Xp21 at DMD locus, sparing more than 2,000 kb of genomic distance. And we found abnormal bands, (8.5/5.2/5.3)kb, in Hind III/pERT 87-8 combination of II-2, III-5, IV-2, IV-4, that is, there was 3.2kb extra band. Those who have abnormal bands are normal phenotypically. They are, probably carrier and the gene of mother's DMD locus(II-2) is new mutation. In karyotyping, no chromosomal alteration was found in X chromosome of all cases.

Key Word: Duchenne muscular dystrophy(DMD), Genomic probes, Hind III, pERT(87-1, 87-8, 87-30), Xp21.