

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/23640>

Please be advised that this information was generated on 2021-03-08 and may be subject to change.

ribonucleïnezuur (RNA) geïsoleerd uit geïmmortaliseerde lymfoblastoïde cellijnen van Gitelman-patiënten. Via 'reverse transcriptase'-polymerase-kettingreactie (RT-PCR) en directe sequentieanalyse werd het TSC-cDNA gescreend op de aanwezigheid van mutaties. Er was 1 patiënt 'compound' heterozygoot voor 2 verschillende mutaties, een glycine naar arginine-aminozuursubstitutie en een arginine naar stopmutatie. Tevens is er een 'splice'-variant gedetecteerd bij controlepersonen en patiënten.

Onze resultaten bevestigen de bevindingen van een recente studie van Simon et al.,¹ waarin mutaties in het TSC-gen werden gevonden bij patiënten met het Gitelman-syndroom. Het functionele effect van individuele TSC-mutaties wordt bestudeerd door de thiazide-gevoelige ³⁶Cl-opname te bepalen in *Xenopus laevis*-oöcyten na injectie met controle- en mutant-TSC-cRNA's.

LITERATUUR

¹ Simon DB, Nelson-Williams C, Bia MJ, Ellison D, Karet FE, Molina AM, et al. Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalaemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet* 1996;12:24-30.

Y.J.M.de Kok, C.W.R.J.Cremers, E.R.Vossenaar, N.Dahl, L.Parnes, L.Hu, J.L.Mandel, H.H.Ropers en F.P.M.Cremers (Nijmegen), *De moleculaire basis van X-gebonden doofheid type 3 (DFN₃): identificatie van 6 nieuwe deleties 900 kb proximaal van het DFN₃-gen, POU₃F₄*

Geslachtsgebonden doofheid met fixatie van de stijgbeugel (DFN₃) is de meest voorkomende vorm van X-gebonden doofheid. DFN₃-patiënten vertonen meestal een gemengd progressief gehoorverlies en een kenmerkende, abnormaal wijde opening tussen de binnenste gehoorgang en het slakkenhuis. Door gebruik te maken van microdeleties geassocieerd met DFN₃, kon het oorzakelijke gen, POU₃F₄, geïdentificeerd worden. Bij 9 DFN₃-patiënten werden puntmutaties in het POU₃F₄-gen gevonden. Een van de 'sporadische' patiënten bleek een somatisch mosaïcisme te tonen voor een 'missense'-mutatie. De helft van zijn perifere bloedlymfocyten bleek een Arg323Gly-mutatie te bevatten; de andere helft een normale POU₃F₄-aminozuursequentie.

Het POU₃F₄-gen bevindt zich buiten 3 van 4 bekende deleties, een deletie/inversie en een duplicatie/inversie geassocieerd met DFN₃; 2 van de deleties bevinden zich op een afstand van meer dan 400 kb proximaal van het POU₃F₄-gen. Om het chromosomale gebied proximaal van het POU₃F₄-gen meer in detail te bestuderen, hebben wij een 'cosmide contig' van in totaal 1500 kb geconstrueerd. Gebruikmakend van polymerase-kettingreactie en Southern-blot-test vonden wij 6 nieuwe met DFN₃ geassocieerde microdeleties die elkaar overlappen in een 10 kb-segment 900 kb proximaal van het POU₃F₄-gen. In totaal vonden wij deleties bij 13 van 23 DFN₃-patiënten, waarvan er 10 het POU₃F₄-gen niet omvatten.

Deze bevindingen suggereren dat zich 900 kb proximaal van het POU₃F₄-gen een tweede DFN₃-gen bevindt. Wij kunnen echter niet uitsluiten dat zich in dit segment de promotor (5'-exon) of een transcriptieregulerend element van het POU₃F₄-gen bevindt.

G.van der Steege, P.M.Grootscholten, J.M.Cobben, J.T.den Dunnen, S.Zappata, H.Scheffer, G.J.B.van Ommen, C.Brahe en C.H.C.M.Buys (Groningen), *Deleties en genconversies van het 'survival motor neuron'-gen in de regio rond de locus voor spinale musculaire atrofie op chromosoom 5*

Het 'survival motor neuron' (SMN)-gen wordt beschouwd als een gen dat betrokken is bij de ontwikkeling van spinale musculaire atrofie (SMA). De spierziekte SMA is na cystische fibrose de meest voorkomende autosomaal recessieve aandoening in Nederland, met een prevalentie van ongeveer 1 op 10.000. Op grond van klinische criteria wordt SMA onderverdeeld in 3 typen: I, II en III, ook wel 'acute', 'intermediaire' en 'chronische' SMA genoemd. Het SMN-gen, in 5q13, heeft een dichtbijgelegen, bijna identieke kopie (*^cBCD541*), waarvan de functie vooralsnog onduidelijk is. In de exonen zijn maar 2 verschillen te vinden tussen het gen en deze kopie. Met deze sequentieverschillen (in exon 7 en in exon 8) zijn het SMN-gen en de kopie van elkaar te onderscheiden. Het is gebleken dat de overgrote meerderheid (> 95%) van de SMA-patiënten een homozygote deletie kent voor tenminste exon 7 én 8 van het SMN-gen. Deze deletiefrequentie is onafhankelijk van het type SMA. Een minderheid van de patiënten wordt gekenmerkt door afwezigheid van exon 7 van het SMN-gen met behoud van exon 8. Uit onze resultaten van een analyse van 13 van deze patiënten blijkt, dat wij in deze gevallen vermoedelijk te maken hebben met genconversies tussen het SMN-gen en het kopie-gen.

In plaats van detectie van aan-/afwezigheid van de exonen 7 en 8 afzonderlijk hebben wij een methode ontworpen met een 1-staps-polymerase-kettingreactie gekoppeld aan een dubbele restrictie-enzymdigestie om aaneengesloten stukken DNA van intron 6 tot en met exon 8 te kunnen analyseren. Hierbij wordt gebruikgemaakt van een additioneel sequentieverschil tussen gen en kopie, namelijk in intron 6. In alle 13 genoemde gevallen vonden wij een chimeergen, bestaande uit een fusie van intron 6/exon 7 van het kopiegen gekoppeld aan exon 8 van het SMN-gen. Deze ogenschijnlijke genconversies werden ook gevonden in een controlegroep, evenals een conversie in de andere richting, namelijk een fusie tussen intron 6/exon 7 van de kopie en exon 8 van het SMN-gen.

Dit wijst erop dat genconversies niet ongewoon zijn in de SMA-regio en dit kan voor een gedeelte verklaren waarom men zo vaak deleties vindt van het SMN-gen. Bovendien zou uit deze resultaten de conclusie kunnen worden getrokken dat, mochten mutaties in het SMN-gen inderdaad SMA veroorzaken, het 3'-uiteinde van het gen blijkbaar geen rol speelt met betrekking tot het fenotype.

B.A.Oostra, R.Willemsen, F.Tamanini, A.Smits, B.de Vries, J.Oosterwijk, B.Smeets, C.Verheij, A.van den Ouweland en A.Hoogeveen (Rotterdam), *Immunohistochemische en biochemische studie van het FMR-1-eiwit*

Het fragiele X-syndroom is de meest voorkomende vorm van familiale mentale retardatie. De moleculaire basis voor het syndroom is de expansie van een triplet-'repeat' (CGG)_n in het 5' onvertaalde gebied van het FMR-1-gen. Ten gevolge van deze expansie wordt het FMR-1-gen gemethyleerd en niet afgeschreven en wordt er dus ook geen eiwit gemaakt.

De aanwezigheid van het eiwit is een maat voor genexpressie. Wij vonden bij een aantal individuen een grote expansie van de repeat die echter niet gemethyleerd bleek te zijn. Er werd een bijna normale hoeveelheid FMR-1-eiwit gevonden. Hieruit kan geconcludeerd worden dat de methylering en niet de lengte van de repeat zorgt voor de afwezigheid van het FMR-1-eiwit.

Wij hebben een FMR-1-eiwittest ontwikkeld die de huidige DNA-test voor fragiele X-syndroom zou kunnen vervangen of aanvullen. De test kan worden uitgevoerd op gedroogde bloeduitstrijkjes en maakt tests van grote groepen verstandelijk gehandicapte patiënten in korte tijd mogelijk. Eenzelfde eiwittest