

# 非经典型苯丙酮尿症的基因突变检测

刘晓青 刘孜孜 萧广仁 张眉  
张雅芬 叶军 陈瑞冠 顾学范

**摘要** 为探讨非经典型苯丙酮尿症的基因突变特征,应用高效液相层析法技术、反转录-聚合酶链反应和 cDNA 序列分析等方法,对2例6-丙酮酰-四氢生物喋呤合成酶(6-pyruvoyl tetrahydrobiopterin synthase, PTPS)缺陷症患者及其家系进行了基因分析。其结果发现2个基因突变位点,分别为第155A G突变和第259C T突变,为早期诊断 PKU 患儿提供了依据。

**关键词** 四氢生物喋呤 6-丙酮酰-四氢生物喋呤合成酶缺陷症 基因突变

**IDENTIFICATION OF MUTATION GENE IN ATYPICAL PHENYLKETONURIA** Liu Xiaqing, Liu Zizi, Xiao Guang ren, et al Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Second Medical University, Shanghai 200092

**Abstract** To explore the characterization of mutation gene in atypical phenylketonuria, two patients with 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase (PTPS) deficiency and their families were studied using HPLC technique, RT-PCR and DNA sequencing methods. The presence of two novel mutations of PTPS 155A G and 259C T were identified in our group.

**Key words** Tetrahydrobiopterin 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase Mutation

四氢生物喋呤(tetrahydrobiopterin, BH<sub>4</sub>)是芳香族氨基酸(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸)羟化酶辅助因子,缺乏时可出现不同类型的高苯丙氨酸血症,导致不同程度的神经系统发育障碍。这是一组常染色体隐性遗传性疾病,以往被认为是恶性苯丙酮尿症(PKU),现称之为非经典型 PKU,在 PKU 中约占1%~3%<sup>[1,2]</sup>。最常见的酶缺陷是6-丙酮酰-四氢生物喋呤合成酶(6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase, PTPS)缺陷症,约占BH<sub>4</sub>缺乏的59%<sup>[3]</sup>。早期诊断的患儿如果及时给予BH<sub>4</sub>和多巴或5-羟色胺治疗,将可以纠正神经系统的发育障碍。我们在对这些患儿进行生化研究的基础上<sup>[4]</sup>,又运用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和直接

cDNA 序列分析方法研究 PTPS 缺陷症的基因突变特征,现报告如下。

## 1 对象与方法

**1.1 病例** 2例 PTPS 缺陷症患者及其家族成员共9人。

**1.2 生化方法** 应用高效液相层析法(HPLC)对受检者进行尿喋呤谱分析,以生物喋呤/生物喋呤+新喋呤(B%)计算,标本为新鲜尿滤纸片。

### 1.3 基因检测

**1.3.1 总RNA 抽提** 本实验用经PHA刺激3~5天的外周血淋巴细胞,集细胞于尖底50ml试管中,应用Ultraspec RNA Kit(Biotecx USA)提取总RNA,最后加水20μl溶解,置-70℃保存备用。

**1.3.2 RT-PCR** 取已稀释的RNA 5μl为模板,加入反转录引物为PTPS1 5'-CTCTGGAGTGCCTATTTATTG-3、反转录酶MMLV、dNTP和缓冲液(cDNA合成试剂盒Gibco/BRL USA),在PCR仪中42℃转录反应60分钟,反应总体积为20μl,取cDNA 10μl,另加入PCR引物PTPS25 -A GCA CCGCA GACA GCGC-

本课题为上海市科委科学研究基金资助项目

作者单位: 200092 上海第二医科大学附属新华医院(刘晓青、张眉、张雅芬、叶军、陈瑞冠、顾学范); 台北阳明大学临床生化研究室(刘孜孜、萧广仁)