

Diagnostic Mutational Analysis of MECP2 in Korean patients with Rett syndrome

In-Joo Kim¹, Yeon-Joo Kim⁴, Byeong-Hee Son⁵, Sang-Ook Nam⁶, Hoon-Chul Kang⁷,
Heung-Dong Kim⁸, Ook-Hwan Choi^{3,4}, Mi-Ae Yoo⁹, Cheol-Min Kim^{1,2,3*}

Department of Biochemistry¹, BioMedical Informatics Unit², College of Medicine, Pusan National University, Medical Research Institute³, Department of Obstetrics&Gynecology⁴, Department of Pediatrics⁶, College of Medicine, Pusan National University, Department of Pediatrics⁵, St. Benedict Hospital, Department of Pediatrics, Epilepsy Center⁷, College of Medicine, Inje University, Sang-gye Paik Hospital, Department of Pediatrics⁸, College of Medicine, Yonsei University, Severance Hospital, Handicapped Children's Research Institute, Brain Research Institute, Department of Molecular Biology⁹, College of Natural Science, Pusan National University

≡ Abstract ≡

Purpose: Rett syndrome (RTT) is an X-linked dominant neurodevelopmental disorder affecting 1 per 10,000~15,000 female births worldwide. The disease-causing gene has been identified as *MECP2* (methyl-CpG-binding protein). In this study, we carried out diagnostic mutational analysis of *MECP2* gene in RTT patients.

Methods: We analyzed four exons and putative promoter of *MECP2* gene from the peripheral blood of 43 Korean patients with RTT by PCR-RFLP and direct sequencing.

Results: Mutations were detected in *MECP2* gene about 60.5% of patients. The mutations consisted of 14 different types including 9 missense mutations, 4 nonsense mutations and 1 frameshift mutation. Of these, three mutations (G161E, T311M, P385fsX409) were newly identified and these were determined as disease-causing mutations by PCR-RFLP and direct sequencing analysis. Most of the mutations were located within MBD (42.3%) and TRD (50%). T158M, R270X, and R306C mutations were identified with high frequency. An intronic SNP (IVS3+23C>G) was newly identified in only three of the patients. It may be a disease-related and Korea-specific SNP with RTT.

The L100V and A201V have been reported to be unclassified variant and SNP. However, these mutations were not found in more than 100 normal Korean control samples. These

base substitutions seem to be the disease-causing mutations in Korean RTT contrary to previous studies.

Conclusion: Disease-causing mutations and polymorphisms would be very important for diagnosing of RTT in Korean. The experimental procedure used in this study might be considered for molecular biologic diagnosis used in clinical field.

Key words: Rett syndrome, *MECP2*, mutational analysis, polymorphism, diagnosis

서론

레트 증후군(Rett syndrome, RTT, MIM# 312750)은 진행성 신경계 발달 장애를 보이는 X 염색체 우성 유전의 유전 질환으로 전 세계적으로 여아 10,000-15,000 출생 당 한명의 발생률을 보인다. RTT는 여아에서 Down syndrome 다음으로 정신 지체를 보이는 가장 흔한 산발성 유전 질환이다¹⁾. RTT는 1966년 Andreas Rett에 의해서 처음 보고²⁾ 된 이후 지금까지 임상 의들의 관심을 끌고 있다.

RTT 환아들은 출생 후 비교적 정상적인 발달 상태를 보이다가 6-18개월경에 급격하게 발병하여, 기술적인 손 운동을 잃어버리고 두위의 발달이 감소하며 특징적으로 반복되는 상동성의 손동작을 보인다. 이와 함께 동반되는 임상상으로는 실조형 뇌성마비, 자폐증 양상, 간질, 이상한 호흡양상 (과호흡과/또는 무호흡), 그리고 성장 지연 (특히 손과 발) 등이 있다. RTT는 99% 이상이 산발성으로 발생하며 드물게 가족성으로 발생이 보고되고 있다³⁾. RTT는 임상 증상이 다양하기 때문에 국제적인 진단 기준에 따라 의학적으로 진단된다⁴⁾.

1999년에 Amir 등⁵⁾은 methyl-CpG binding

protein 2 (*MECP2*, AF30876) 유전자 변이가 RTT의 원인이라는 것을 밝혀 분자 유전학 진단이 RTT의 진단적 기준에 추가되게 되었다. 이 유전자는 76 kb 길이의 DNA가 4개의 exon으로 구성된 1775 bp 길이의 mRNA로 전사되고, 발현되면 486 아미노산으로 구성된 전사 억제 단백질인 methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2)를 생산한다⁶⁾. MeCP2는 조직에 따라 특이적인 발현을 보이지만 여러 곳에서 발현되는 nuclear protein이다. MeCP2 뉴클레오솜과 크로마틴에서 메틸화된 DNA에 결합하여 전사 억제 (transcriptional silencing)에 관여한다^{7,8)}.

2004년에 *MECP2*는 alternative splice variants로써 *MECP2A* (MeCP2 β) and *MECP2B* (MeCP2 α)가 존재한다는 것이 밝혀졌다^{9,10)}. *MECP2A*는 이미 알려져 있는 것과 같이 exon 2에서의 전사체인 반면, *MECP2B*는 exon 1에서 결정되는 새로운 이형 전사체이다. *MECP2B*의 발현이 *MECP2A*보다 10배 높고, α 와 β 전사체의 기능은 동일하지 않다¹⁰⁾.

MECP2 유전자에는 4가지의 중요한 기능 영역이 있는데 첫째는 methyl-CpG-binding domain (MBD)으로서 메틸화된 DNA에 결합하는 부위이고, 두 번째는 transcriptional repression

domain (TRD)으로서 corepressor인 Sin3A와 histone deacetylase (HDAC)와 함께 작용하여 DNA의 중심에 있는 histone을 deacetylation시켜 염색체가 비활성화 되게 한다³⁾. 세 번째는 nuclear localization signal (NLS)로 MeCP2를 핵 속으로 운반하는 역할을 하고 있다¹¹⁾. 마지막으로 group II WW domain binding region (WDR)는 nucleosome core에의 결합을 촉진하는 역할을 한다고 한다¹²⁾.

MECP2 (MIM# 300005) 유전자의 이상은 RTT 환아들에서 적게는 60%에서 많게는 90%까지 관찰되고 있다¹³⁾. 최근에는 *MECP2* 유전자의 돌연변이를 가진 남자 환아가 보고되고 있으며, 다양한 증상의 비전형적 RTT환자가 보고되고 있어 RTT와 *MECP2*의 관계가 단순하지 않음을 보여주고 있다^{14,15)}. 국내에서는 Chae 등¹⁶⁾이 보고한 20례의 한국인 RTT 환아에서의 *MECP2* 유전자 이상에 대한 보고가 유일하다.

본 연구는 이 질환의 임상적 중요성에 비하여 국내에서는 연구가 미흡한 한국인 RTT 환아들에서 *MECP2* 유전자의 돌연변이 여부를 조사하여 기존의 연구들과 비교하고 염기서열분석과 PCR-RFLP를 이용한 임상에서 고려해야할 분자생물학적 진단에 관한 방침을 제시하기 위하여 시행되었다.

대상 및 방법

1. 대상

임상적 기준이 RTT으로 확진된 환아 중 유전자 검사에 동의한 환아 43례 (여아 41명, 남아 2명)의 말초 혈액을 EDTA 처리된 튜브에 채혈하여 냉동 보관한 후 500 μ L를 해빙하여 검체로 사용하였다. 말초 혈액의 유전자를 포함한 DNA

는 E.Z.N.A. blood DNA kit (Omega Biotech Inc., Norcross, USA)를 사용하여 추출하였다. 1% agarose gel electrophoresis를 이용하여 100V에서 40분간 정제된 DNA의 농도와 순도를 분석하였다.

2. PCR 증폭

43례의 RTT 환아에서 *MECP2*의 네 가지 엑손과 추측한 프로모터 부분을 PCR로 증폭하였다. 본 연구에서는 엑손 3은 두 부위로 엑손 4는 다섯 부위로 나누어 분석하였다. Primer sequence는 1999년 Amir 등⁵⁾에 의해 제작된 것을 대부분 사용하였다 (AF030876) (Table 1). 증폭을 위한 환경은 최종 용량을 20 μ L로 하였고 조성은 다음과 같다. 100 ng of genomic DNA, 400 μ M of each primer, 200 μ M dNTPs, 1X reaction buffer (500 mM KCl, 100 mM Tris HCl; pH 9.0, 1% Triton X-100), 1 U Taq polymerase (Solgent, Daejeon, Korea). PCR 반응의 cycling condition을 위해 95°C에서 첫 4분간의 변성 (denaturation) 단계를 거친 후, 94°C에서 1분간 32회를 반복하였고 결합 반응 (annealing)은 72°C에서 1분간 시행하였다. 마지막 연장 반응 (extension)은 72°C에서 10분간 시행하였다. 결합 반응의 온도는 54°C에서 70°C 사이로 하였다. 증폭된 산물의 분석을 위해 2% agarose gel에서 100V로 30분간 전기 영동을 실시하였다.

3. DNA 염기 서열 분석

증폭된 산물은 QIAquick gel extraction kit (QIAGEN, Hiden, Germany)을 이용하여 정제하였다. Sequencing primer는 PCR과 같은 primer를 사용하였다. DNA 염기 서열 분석은 ABI

377 DNA sequencer와 ABI PRISM dye terminator cycle sequencing reaction kit (Perkin-Elmer, Foster City, California, USA)을 이용하여 실시한 후 정상 DNA 염기 (AF030876)와 결과를 비교하였다.

4. RFLP 분석

우리나라에서 처음 발견된 유전자 변이의 확인을 위해 RFLP 분석을 시행하였다. 제한효소 위치의 분석을 위해 GeneTyx program을 이용하였다. 특히, *Dde* I (New England Biolabs Co., MA, USA)은 G161E의 PCR 산물을 확인하기 위해서 그리고 *Bsm*BI (New England Biolabs Co.)은 T311M의 PCR 산물을 확인하기 위하여 사용하였다.

이전에 발표된 돌연변이인 L100V¹⁷⁾와 A201V^{18,19)}는 제한 효소를 사용하여 질병 유발 돌연변이인가를 조사하였다. L100V 유전자 변이는 제한 효소 절단 부위에서 분해가 되지 않아 mismatch PCR 기술이 이용되었다. 유전자 변이 L100V의 엑손 3의 두 번째 reverse primer는 새로 제작되었다. 사용된 primer의 염기 서열은 5'-GCTTAAGCTTCCGTGTCCAGCCTTCAGGTA-3'이다. Mismatch PCR에 사용된 primer 염기 서열은 밑줄 그어진 부분이다. L100V (C to G 염기 치환)을 위한 PCR 산물은 *Afa* I (Takara, Tokyo, Japan) 제한 효소 자리가 만들어졌다. 실험 환경은 최종 용량을 20 µl로 하였고 그 내용은 다음과 같다. 100 ng of genomic DNA, 400 µM of each primer, 200 µM dNTPs, 1X reaction buffer (500 mM KCl, 100 mM Tris HCl, pH 9.0, 1% Triton X-100, 2% tween 20, 5 M betain, and 1 U Taq. polymerase (Solgent). Cycling 환경으로는 첫 변성

(denaturation)을 94°C에서 4분간 동안 실시하였고 94°C에서 1분간 30회, 66°C에서 1분, 72°C에서 1분으로 하였다. 마지막 연장 단계를 72°C에서 10분간 시행하였다.

A201V는 *Bal* I (Takara) 제한 효소 자리가 만들어졌다. *Bal* I 제한 효소 자리가 있다면, PCR 산물은 잘릴 것이다. 제한 효소에 의해서 생산된 산물들은 2% agarose gel 또는 4% NuSieve gel (FMC bioproducts, Rockland, USA)에서 전기 영동에 의해 분리되었다.

결 과

Mutation analysis of MECP2

MECP2 유전자의 돌연변이를 찾아내기 위해 43례의 RTT 환자에서 염기 서열 분석을 통하여 *MECP2* 유전자 네 종류의 엑손과 프로모터를 분석하였다 (Table 1). 증폭된 PCR 산물들은 인트론과 엑손을 포함하고 있었다 (AF030876). *MECP2* 유전자에 이상이 있는 RTT 환자는 43례 중 26례로 60.5%였다. 이들 결과는 InterRETT (<http://www.ichr.uwa.edu.au/rett/irsa>)와 RettBASE (<http://mecp2.chw.edu.au>)의 *MECP2* 다양성 데이터베이스와 비교하였고²⁰⁾, 권고된 돌연변이 명명법을 따라 발견한 돌연변이를 명명하였다^{21,22)}. *MECP2* 유전자의 돌연변이 종류는 14가지였고 여기에는 9종의 missense mutation, 4종의 nonsense mutation, 그리고 1종의 frameshift mutation이 있었다. 대부분의 돌연변이는 *MECP2* 유전자 중 MBD (42.3%)와 TRD (50%)에서 집중적으로 발견되었다 (Fig. 1). 발견된 돌연변이 중 3종 (G161E, T311M, P385fsX409)은 우리나라에서 처음 발견된 종류이다 (Fig. 2). T158M (9.3%), R270X (11.6%),

이다 (Fig. 2). T158M (9.3%), R270X (11.6%), 그리고 R306C (7%)은 비교적 자주 발견되었다 (Table 2).

본 연구에서 RTT의 다양한 표현형을 가진 2명의 남아에서는 어떤 유전자 돌연변이도 관찰되지 않았다. 또한 두 종의 silent mutations (F142F, T442T) 이 발견되었다 (data not shown). 이들 silent mutations은 이전에 이미 보고된 것이었으나²³⁾, 이들 돌연변이는 4명의 환자 중 3명에서 다른 돌연변이와 동반되었다.

PCR-RFLP에 의한 돌연변이 확인

새로이 발견된 유전자 변이 3종을 확인하기 위해서 G161E와 T311A 돌연변이는 RFLP 분석을 수행하였고 (Table 3), *P385fsX409* 돌연변이는 염기 서열 분석을 수행하였다.

G161E (c.482G>A) 변이는 *Dde* I 제한 효소로 절단 시, 자연형이 241bp와 129bp를 보이는 반면 돌연변이가 있는 유전자는 241bp, 202bp, 129bp와 39 bp 분절들을 보였다 (Fig. 3A, lane 5 and 6).

T311M (c.932C>T) 변이는 *BsmB* I 제한 효소를 이용하여 절단하였을 때 자연형의 366bp는 198bp와 168bp로 절단되는 반면 (Fig. 3A, lane 8), 환자의 유전자는 365 bp 하나의 밴드만을 보였다 (Fig. 3A, lane 9).

새로 발견된 결실 돌연변이인 *P385fsX409* (1153del44bp)는 100명 이상의 정상인에서 염기 서열 분석에 의해 돌연변이가 발견되지 않았다. 따라서 새로 발견된 돌연변이들은 100명 이상의 정상인에서 나타나지 않았기 때문에, RFLP와 염기 서열 데이터는 DNA 염기 치환이 질병 관련 돌연변이일 가능성이 높다고 제안하였다.

L100V (c.298C>G)은 이전에 RTT와의 관련성

이 동정되지 않은 염기 치환이라고 보고되었다¹⁷⁾. 그래서 본 연구에서도 발견된 L100V가 한국인에서 SNP인지 질병 유발 돌연변이 인지를 알아보기 위해서 mismatch PCR-RFLP를 수행하였다. 그 결과 자연형은 CCCTACCTGAA을 증폭한 반면, 돌연변이가 있는 유전자는 CCG/TACCTGAA을 증폭하였고 이 염기 치환은 *Afa* I 제한효소 자리가 생성되어 199 bp PCR 산물이 170 bp와 29 bp로 잘렸다. (Fig. 3A, lane 2 and 3). Mismatch PCR-RFLP 결과, L100V는 정상인 100명 이상에서 보이지 않았고 이것은 질병 유발 돌연변이일 가능성이 있다.

게다가, A201V (c.602C>T)는 RTT 환자뿐만 아니라, 정상 일본인들에서 염기 치환이 나타났기 때문에 Japanese-specific characteristic로 알려져 있다^{18,19)}. A201V는 *Bal* I 제한효소 자리를 형성하여, 279 bp PCR 산물이 227 bp와 52 bp 단편으로 잘렸다 (Fig. 3B, lane 2, and 3~10). RFLP 결과, A201V는 정상인 100명 이상에서 보이지 않았고 이것은 질병 유발 돌연변이일 가능성이 있다.

*MECP2*의 단일 유전자 다형성 확인

우리 연구에서 IVS3+23C>G (g.C65494G)는 3명의 환자에서만 발견되었고 (7%) (Fig. 4), 기존에 알려지지 않은 인트론 다형성이었다. 이 SNP는 2명의 환자에서 다른 돌연변이를 동반하고 있었다.

고 찰

Andreas Rett²⁾에 의해서 레트 증후군이 알려진 이래로 많은 임상적 연구가 진행되어 1988년에는 국제적인 합의에 의하여 진단 기준이 마련되

었고, 1999년에는 이 병의 원인이 *MECP2* 유전자의 돌연변이에 의한다는 것을 밝혀내기에 이르렀다^{24,25}). 전형적인 경우, *MECP2*의 돌연변이는 환자의 80%에서 발견되는^{13,25}) 반면, 비전형적인 경우는 전형적인 경우보다 낮은 비율인 환자의 30%에서 돌연변이가 관찰되었다²⁴). *MECP2*는 RTT에서 중요한 역할을 하지만 *MECP2*의 돌연변이와 RTT의 유형 사이의 관계가 분명하지 않다¹¹). 본 연구에서는 43명의 한국인 RTT 환자에서 *MECP2* 유전자의 돌연변이 분석을 수행한 결과, 26명에서 돌연변이를 관찰하였다 (60.5%) (Table 2). 우리 실험에서 발견한 돌연변이의 빈도는 기존에 전세계적으로 보고된 결과들보다 낮다. 이것은 이전 보고들에서처럼 분석 대상 환자를 전형적인 RTT 환자로 제한하지 않고 RTT의 다양한 표현형을 가진 환자를 분석하였기 때문이다. 우리 연구에서 발견된 대부분의 돌연변이는 기능적으로 중요한 영역인 MBD, TRD와 WDR에 위치하였고 (25/26, 96.2%), 이것은 결과적으로 *MECP2*의 기능에 결정적인 영향을 미칠 것이다. 발견된 돌연변이 중 3종 (G161E, T311M, *P385fsX409*)은 아미노산 치환을 야기하는 처음 발견된 돌연변이였다. G161E 염기 치환은 아미노산 성질이 중성에서 음전기적으로 변화된다. 그리고, 염기 치환이 MBD에 위치하기 때문에 메틸-CpG 결합 능력이 감소되거나 없어질 수 있다. T311M은 TRD에 위치하며 아미노산 성질이 찬수성에서 소수성으로 변화된다. *P385fsX409*는 C-terminus내에 WDR의 활성을 감소하거나 상실한 결과를 야기할 것이다. 또한 결실 돌연변이는 WDR과 정상적으로 상호 결합하는 splicing factors인 FBP11과 HYPIC의 상실을 야기하여²⁷), *MECP2*와 연관된 splicing에 결함이 나타날 것이다. *MECP2*

유전자에서 돌연변이를 가지는 환자 26명 중에 22명의 환자에서 CpG 염기의 C→T 치환이 발견되었다 (84.6%).

발견된 염기 변화가 돌연변이인지 다형성인지를 판단하기 위해서 PCR-RFLP 분석을 수행하였다. 새로 발견된 돌연변이 중, G161E 돌연변이는 *Dde* I 제한 효소 자리를 만들고, T311A 돌연변이는 *Bsm*BI 제한 효소 자리를 상실하게 한다. 따라서 PCR-RFLP를 수행한 결과 100명 이상의 정상인에서 동일 부위의 돌연변이가 발견되지 않았으므로, G161E and T311M은 질병 유발 돌연변이일 가능성이 높은 것으로 예상된다.

이전 연구에서 L100V는 RTT와의 관련성이 동정되지 않은 돌연변이로 A201V는 SNP로 알려져 있다^{17,18,19}). *MECP2* 유전자에서 L100V 돌연변이는 *Afa* I 제한 효소 자리를 생산하고, A201V는 *Bal* I 제한 효소 자리를 생산하기에 정상인 100명 이상에서 동일부위를 확인하고자 PCR-RFLP를 수행하였다. 이전 연구와 달리 우리 연구에서는 L100V와 A201V가 100명 이상의 정상 한국인에서 발견되지 않아서 질병 유발 돌연변이일 가능성을 제시한다.

본 연구에서는 L100V 이외의 발견된 모든 돌연변이가 엑손 4에 위치하고 있었다 (25/26, 96.2%). *MECP2* 돌연변이는 엑손 4에서 빈도가 가장 높으므로 우선 엑손 4 전체를 증폭하여 염기 서열 분석하여야 한다고 제안한다. 그리고 4개의 엑손 중 엑손 3과 엑손 4의 분석이 한국인 RTT 환자에서 발견되는 *MECP2* 돌연변이를 거의 동정할 수 있다. 여기서 돌연변이가 있을 경우 기존의 보고와 비교하여 동일한 보고가 있을 경우 기존의 보고를 인정한다. 새로운 돌연변이 일 경우 돌연변이에 의한 아미노산 잔기 치

환 유형을 분석하고 정상인에도 존재하는지 확인하여야 할 것이다.

본 연구에서 2명의 RTT 남아에서는 *MECP2* 유전자에서 어떤 돌연변이도 발견되지 않았다. 일반적으로 *MECP2*에 돌연변이를 가진 남아는 대부분 죽지만, 드물게 RTT 남아에서 RTT 유발 *MECP2* 돌연변이가 발견되기도 한다^{14,15}.

본 연구에서 *MECP2*에서 염기 서열 분석으로 2종류의 silent 돌연변이 (F142F, T442T)와 인트론 3에서 C→G 다형성을 밝혔다. 이들 silent mutation이 발견된 3명의 환자 중 1명을 제외하고는 다른 돌연변이를 동반하고 있었다.

또한 IVS3+23C>G는 3명의 RTT 환자에서만 발견되었고 (7%), 그 중 2명의 환자에서는 다른 돌연변이를 동반하고 있었다. 때문에 이 다형성은 단백질 구조와 기능에 영향을 미치지 않는 intron 3에 위치하고 있지만, 그 다형성은 RTT의 표현형의 다양성과 연계되어 있을 가능성을 제시한다. 따라서 IVS3+23C>G는 RTT와 관련된 한국인 특이적인 SNP이다.

기존의 연구에 의하면, *MECP2*의 돌연변이를 가진 사람이 항상 RTT를 초래하지는 않는다고 알려져 있다. 그리고 RTT 또한 *MECP2*에서 항상 돌연변이가 동정되지는 않는다²⁰. 전형적인 산발성 RTT의 대략 20%에서 그리고 RTT 가진 가족의 50%에서 *MECP2* 유전자의 돌연변이가 관찰되지 않는다. 최근, 몇몇 연구에서 UBE3A (Ubiquitin-Protein ligase E3A), GABRB3 (beta3 subunit of the GABAA receptor), 또는 CDKL5 (Cyclin-dependent kinase-like5) 발현 조절이 RTT 환자에서 *MECP2*와 관련되어 있다고 보고되고 있다^{28,29}. UBE3A/E6AP와 GABRB3 발현이 RTT, Angelman syndrome (AS) 그리고 자폐증 환자

의 뇌에서 정상과 비교하여 확연히 감소되었다³⁰. CDKL5 유전자의 돌연변이는 RTT, AS 그리고 자폐증 같은 신경 발달 장애의 병인에 중요한 역할을 한다.

본 연구에서 우리는 17명의 환자에서 어떤 돌연변이도 발견하지 못했다. 이들의 경우, 관련 유전자의 돌연변이 분석을 수행하고 여기서도 발견되지 않았을 경우 *MECP2*를 포함한 유전자의 기능적 분석을 수행할 것이다.

결론적으로 우리는 환자의 60.5% (26/43)에서 *MECP2* 유전자의 돌연변이를 동정하였다. 그리고 기존 연구에서는 발견되지 않은 새로운 3종류의 돌연변이 (G161E, T311M, P385fsX409)와 1종류의 intronic SNP (IVS3+23C>G)를 발견하였다. 이들 돌연변이는 정상인에서 발견되지 않고 3명의 RTT 환자에서만 나타난다. 이 다형성은 intronic SNP임에도 불구하고 3명의 RTT 환자에서만 나타난다. L100V과 A201V는 RFLP 분석으로 이전 보고와는 달리 한국인 RTT 환자에서 질병 유발 돌연변이일 가능성을 제시한다. PCR-RFLP는 발견된 염기 변화가 돌연변이인지 다형성인지를 결정하기 위해서 돌연변이 분석에서 필수적이고 유용한 단계이다(Fig.5). 질병 유발 돌연변이와 다형성은 한국인 RTT의 진단을 위해 매우 중요할 것이다. 본 연구에서 사용된 실험 과정은 임상 분야에서 사용된 분자생물학적 진단에서 고려해야 할 부분일 것이다.

Acknowledgement

This study was supported by Medical Research Institute Grant (2001-18), Pusan National University Hospital.

References

- 1) dos Santos JM, Abdalla CB, Campos M Jr, Santos-Reboucas CB, Pimentel MM. The A140V mutation in the MECP2 gene is not a common etiological factor among Brazilian mentally retarded males. *Neurosci Lett* 2005;379:13-6.
- 2) Rett VA. Über ein eigenartiges hirnatrophisches Syndrom bei Hyperammonämie im Kindesalter. *Weiner Medizinische Wochenschrift* 1996;37:723-26.
- 3) Bienvenu T, Carrie A, de Roux N, Vinet MC, Jonveaux P, Couvert P, *et al.* MECP2 mutations account for most cases of typical forms of Rett syndrome. *Hum Mol Genet* 2000;22:1377-84.
- 4) Smeets E, Terhal P, Casaer P, Peters A, Midro A, Schollen E, *et al.* Rett syndrome in females with CTS hot spot deletions: a disorder profile. *Am J Med Genet A* 2005;132:117-20.
- 5) Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet* 1999;23:185-8.
- 6) Reichwald K, Thiesen J, Wiehe T, Weitzel J, Poustka WA, Rosenthal A, *et al.* Comparative sequence analysis of the MECP2-locus in human and mouse reveals new transcribed regions. *Mamm Genome* 2000;11:182-90.
- 7) Van den Veyver IB, Zoghbi HY. Methyl-CpG-binding protein 2 mutations in Rett syndrome. *Curr Opin Genet Dev* 2000;10:275-9.
- 8) Pelka GJ, Watson CM, Christodoulou J, Tam PP. Distinct expression profiles of MeCP2 transcripts with different lengths of 3'UTR in the brain and visceral organs during mouse development. *Genomics* 2005;85:441-52.
- 9) Mnatzakanian GN, Lohi H, Munteanu I, Alfred SE, Yamada T, MacLeod PJ, *et al.* A previously unidentified MECP2 open reading frame defines a new protein isoform relevant to Rett syndrome. *Nat Genet* 2004;36:339-41.
- 10) Kriaucionis S, Bird A. The major form of MeCP2 has a novel N-terminus generated by alternative splicing. *Nucleic Acids Res* 2004;32:1818-23.
- 11) Jorgensen HF, Bird A. MeCP2 and other methyl-CpG binding proteins. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2002;8:87-93.
- 12) Vacca M, Filippini F, Budillon A, Rossi V, Della Ragione F, De Bonis ML, *et al.* MECP2 gene mutation analysis in the British and Italian Rett Syndrome patients: hot spot map of the most recurrent mutations and bioinformatic analysis of a new MECP2 conserved region. *Brain Dev* 2001;23:S246-50.
- 13) Hoffbuhr K, Devaney JM, LaFleur B, Sirianni N, Scacheri C, Giron J, *et al.* MeCP2 mutations in children with and without the phenotype of Rett syndrome. *Neurology* 2001;56:1486-95.
- 14) Ravn K, Nielsen JB, Uldall P, Hansen FJ, Schwartz M. No correlation between phenotype and genotype in boys with a truncating MECP2 mutation. *J Med Genet*

- 2003;40:e5.
- 15) Jellinger KA. Rett Syndrome--an update. *J Neural Transm* 2003;110:681-701.
 - 16) Chae JH, Hwang YS, Kim KJ. Mutation analysis of MECP2 and clinical characterization in Korean patients with Rett syndrome. *J Child Neurol* 2002;17:33-6.
 - 17) Buyse IM, Fang P, Hoon KT, Amir RE, Zoghbi HY, Roa BB. Diagnostic testing for Rett syndrome by DHPLC and direct sequencing analysis of the MECP2 gene: identification of several novel mutations and polymorphisms. *Am J Hum Genet* 2000;67:1428-36.
 - 18) Amano K, Nomura Y, Segawa M, Yamakawa K. Mutational analysis of the MECP2 gene in Japanese patients with Rett syndrome. *J Hum Genet* 2000;45: 231-6.
 - 19) Fukuda T, Yamashita Y, Nagamitsu S, Miyamoto K, Jin JJ, Ohmori I, *et al*. Methyl-CpG binding protein 2 gene (MECP2) variations in Japanese patients with Rett syndrome: pathological mutations and polymorphisms. *Brain Dev* 2005;27:211-7.
 - 20) Fyfe S, Cream A, de Klerk N, Christodoulou J, Leonard H. InterRett and RettBASE: International Rett Syndrome Association databases for Rett syndrome. *J Child Neurol* 2003;18:709-13.
 - 21) den Dunnen JT, Antonarakis SE. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. *Hum Mutat* 2000;15:7-12.
 - 22) den Dunnen JT, Antonarakis SE. Nomenclature for the description of human sequence variations. *Hum Genet* 2001;109:121-4.
 - 23) Weaving LS, Ellaway CJ, Gecz J, Christodoulou J. Rett syndrome: clinical review and genetic update. *J Med Genet* 2005;42:1-7.
 - 24) Kerr AM, Nomura Y, Armstrong D, Anvret M, Belichenko PV, Budden S, *et al*. Guidelines for reporting clinical features in cases with MECP2 mutations. *Brain Dev* 2001;23:208-11.
 - 25) Hammer S, Dorrani N, Dragich J, Kudo S, Schanen C. The phenotypic consequences of MECP2 mutations extend beyond Rett syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2002;8:94-8.
 - 26) Buschdorf JP, Stratling WH. A WW domain binding region in methyl-CpG-binding protein MeCP2: impact on Rett syndrome. *J Mol Med* 2004;82:135-43.
 - 27) Segawa M, Nomura Y. Rett syndrome. *Curr Opin Neurol* 2005;18:97-104.
 - 28) Samaco RC, Hogart A, LaSalle JM. Epigenetic overlap in autism-spectrum neurodevelopmental disorders: MECP2 deficiency causes reduced expression of UBE3A and GABRB3. *Hum Mol Genet* 2005;14:483-92.
 - 29) Milani D, Pantaleoni C, D'arrigo S, Selicorni A, Riva D. Another Patient With MECP2 Mutation Without Classic Rett Syndrome Phenotype. *Pediatr Neurol* 2005;32:355-7.