

六例 *KIF1A* 基因变异相关常染色体显性遗传神经发育障碍患儿临床和遗传学分析

林静琦¹, 李牛¹, 姚如恩², 郁婷婷², 王秀敏³, 王剑¹

1. 上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院中心实验室, 上海 200030
2. 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心遗传分子诊断科, 上海 200127
3. 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心内分泌代谢科, 上海 200127

[摘要] **目的:** 分析驱动蛋白家族成员1A(*KIF1A*)基因变异致常染色体显性遗传神经发育障碍患儿的临床和遗传学特点。**方法:** 收集并回顾性分析2018至2020年在上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心就诊的6例*KIF1A*基因新生杂合变异患儿的临床及基因检测资料。致病性变异的确定基于对先证者行全外显子组基因测序,同时使用桑格测序对家系成员进行验证,并进一步采用生物信息学方法分析变异对蛋白三维结构以及稳定性的影响。**结果:** 6例患儿中男性4例,女性2例,确诊年龄7月龄~18岁。6例患儿自幼即有不同程度的大运动发育迟缓,其中4例可走路患儿存在步态异常或易摔倒;2例患儿同时合并智力发育迟缓、癫痫以及眼部发育异常。基因检测发现6例患儿均存在*KIF1A*基因杂合新生突变,包括4个错义突变和1个剪接突变。除c.296C>T(p.T99M)和c.761G>A(p.R254Q)外,c.326G>T(p.G109V)、c.745C>G(p.L249V)和c.798+1G>A均未曾报道。生物信息学分析表明G109V和L249V可损害其与邻近氨基酸残基的结合从而损害蛋白质功能,并降低蛋白质的稳定性,评估为“可能致病”;而c.798+1G>A可能导致*KIF1A*蛋白运动结构域中一个 α 螺旋结构严重受损,评估为“可能致病”。**结论:** *KIF1A*基因变异相关疾病临床异质性较强,大运动发育迟缓以及步态异常是临床常见的特征,其中T99M变异携带者的临床症状较重,R254Q变异携带者症状相对较轻。



[关键词] *KIF1A*基因;常染色体显性遗传;新生突变;运动发育迟缓

[中图分类号] R596 **[文献标志码]** A

Autosomal dominant neurodevelopmental disorders associated with *KIF1A* gene variants in 6 pediatric patients

收稿日期(Received):2023-09-25 接受日期(Accepted):2023-11-17 网络预发表日期(Online):2023-12-12

基金项目(Funding):国家重点研发计划(2020YFA0804001)

第一作者(First author):林静琦,硕士研究生,主要从事罕见神经发育障碍致病机制研究;E-mail:lin_j7@sjtu.edu.cn;
<https://orcid.org/0009-0009-1473-4690>

通信作者(Corresponding author):王剑,研究员,博士生导师,主要从事罕见病分子诊断及致病机制研究;E-mail:
labwangjian@shsmu.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0002-6433-0733>

LIN Jingqi¹, LI Niu¹, YAO Ru'en², YU Tingting², WANG Xiumin³, WANG Jian¹ (1. Central Laboratory, International Peace Maternity and Child Health Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200030, China; 2. Department of Medical Genetics and Molecular Diagnostic Laboratory, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China; 3. Department of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China)

Corresponding author: WANG Jian, E-mail: labwangjian@shsmu.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0002-6433-0733>

[**Abstract**] **Objective:** To analyze the clinical and genetic characteristics of children with autosomal dominant neurodevelopmental disorders caused by kinesin family member 1A (KIF1A) gene variation. **Methods:** Clinical and genetic testing data of 6 children with *KIF1A* gene *de novo* heterozygous variation diagnosed in Shanghai Children's Medical Center Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine from the year 2018 to 2020 were retrospectively analyzed. Pathogenic variants were identified based on whole exome sequencing, and verified by Sanger sequencing. Moreover, the effect of variants on three-dimensional structure and stability of protein was analyzed by bioinformatics. **Results:** Among 6 patients there were 4 males and 2 females, and the age of consultation varied from 7 months to 18 years. All cases had varying degrees of motor developmental delay since childhood, and 4 of them had gait abnormalities or fell easily. In addition, 2 children were accompanied by delayed mental development, epilepsy and abnormal eye development. Genetic tests showed that all 6 cases had heterozygous *de novo* variations of *KIF1A* gene, including 4 missense mutations c.296C>T (p.T99M), c.761G>A (p.R254Q), c.326G>T (p.G109V), c.745C>G (p.L249V) and one splicing mutation c.798+1G>A, among which the last three variants have not been previously reported. Bioinformatics analysis showed that G109V and L249V may impair their interaction with the neighboring amino acid residues, thereby impacting protein function and reducing protein stability, and were assessed as "likely pathogenic". Meanwhile, c.798+1G>A may damage an alpha helix in the motor domain of the KIF1A protein, and was assessed as "likely pathogenic". **Conclusions:** *KIF1A*-associated neurological diseases are clinically heterogeneous, with motor developmental delay and abnormal gait often being the most common clinical features. The clinical symptoms in T99M carriers are more severe, while those in R254Q carriers are relatively mild.

[**Key words**] *KIF1A* gene; Autosomal dominant; *De novo* mutation; Motor developmental delay

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2023, 52(6): 693-700.]

[**缩略语**] 驱动蛋白家族成员 1A (kinesin family member 1A, KIF1A); 腺苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP); 伴或不伴小脑萎缩或皮质性视觉障碍的神经变性和痉挛 (neurodegeneration and spasticity with or without cerebellar atrophy or cortical visual impairment, NESCAVS); 痉挛性截瘫 30 型 (spastic paraplegia type 30, SPG30); 遗传性感觉和自主神经病变 2 型 (hereditary sensory neuropathy type II C, HSN2C);

美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)

*KIF1A*基因位于2号染色体q37.3区域,编码一种神经元特异性ATP依赖驱动蛋白;因可介导神经轴突运输囊泡、细胞器和蛋白质复合物等,其对神经元功能至关重要^[1]。目前已知*KIF1A*基因变异可导致多种神经系统疾病,包括常染色体显性遗传发病的NESCOAVS(OMIM#614255)、常染色体显性或隐性遗传发病的SPG30(OMIM#610357)以及常染色体隐性遗传发病的HSN2C(OMIM#614213)。NESCOAVS是一种早发型儿童神经退行性疾病,通常表现为全面发育迟缓,一方面是主要影响下肢的进行性痉挛所引起的行走困难,并可能导致独立行走能力的丧失,另一方面是不同程度的智力发育迟缓、语言迟缓、学习障碍和/或行为异常;受累患者还可能合并皮质性视觉障碍、视神经萎缩、轴突周围神经病变、癫痫发作、自主神经障碍、共济失调和肌张力障碍等^[2]。SPG30则主要表现为双侧下肢痉挛和无力,伴有下肢反射亢进,下肢进行性僵硬和收缩,在部分复杂病例中还可能伴有其他神经系统异常,如癫痫发作、智力障碍和周围神经病变等一系列异常^[3]。而HSN2C的特征是在儿童期进行性远端感觉丧失,导致手指和脚趾溃疡和截肢,患者还会出现远端肌肉无力,主要影响下肢^[4]。

目前,国内数据库中检索到3例*KIF1A*基因变异相关病例报道^[5-7],患者表型不一。本研究对收治的6例*KIF1A*基因变异神经发育障碍患儿的临床特征及基因型进行分析,以期拓展这类疾病的基因谱和表型谱,并提高临床医生对这类疾病的认知。

1 对象和方法

1.1 对象

回顾性分析2018—2020年在上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心就诊的6例*KIF1A*基因变异患儿的临床及基因检测资料。6例均为临床发病并寻求鉴定遗传学病因患儿,其中男性4例,女性2例,确诊年龄7月龄~18岁。本研究通过上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心伦理委员会审查(SCMCIRB-K2020060-1),所有检查均获得患儿父母知情同意。

1.2 仪器及试剂

SureSelect XT Human All Exon V6试剂盒为美国Agilent公司产品;M220核酸打断仪为美国Covaris公司产品;NovaSeq 6000测序仪为美国Illumina公司产品;ABI 3500测序仪为美国ABI公司产品。

1.3 全外显子组基因测序检查基因变异

使用M220核酸打断仪将先证者基因组DNA打断成150~200 bp大小的片段,采用SureSelect XT Human All Exon V6试剂盒进行外显子组文库构建及捕获,NovaSeq 6000测序仪进行高通量测序。利用美国SoftGenetics公司NextGENe[®]软件将测序数据与参考基因组(Human 37.3,SNP135)进行匹配比对,并使用上海闪译生物科技有限公司TGex[™]软件分析基因变异;使用ABI 3500测序仪对先证者及其家系成员对鉴定到的*KIF1A*基因变异进行桑格测序验证。

1.4 生物信息学分析蛋白质三维结构和变异的致病性

基于PDB数据库*KIF1A*运动结构域的晶体结构(<https://www.rcsb.org/structure/2ZF1>),采用Swiss model(<https://swissmodel.expasy.org/>)软件对变异序列进行建模,并使用分子可视化软件PyMOL(<https://pymol.org/>)生成*KIF1A*野生型蛋白质和变异体的三维结构图像。通过mCSM^[8](<http://biosig.unimelb.edu.au/mcsm/>)、SAAFEC-SEQ^[9](<http://compbio.clemson.edu/SAAFEC-SEQ/index.php>)和MUPRO^[10](<http://mupro.proteomics.ics.uci.edu/>)工具分析蛋白质稳定性的变化。分别采用REVEL软件^[11]和Splice AI软件^[12]对错义突变和剪接突变的有害性进行评估,使用ACMG联合美国分子病理学协会颁布的遗传变异分类标准与指南^[13]对变异进行致病性分析。

2 结果

2.1 临床特征

6例患儿的临床特征总结见表1。所有患儿均有不同程度的运动发育迟缓,其中4例会走路的患儿存在步态异常或易摔倒,例1尚不能独坐,例2仍坐不稳且不会走路;3例患儿同时合并智力

表1 6例 *KIF1A* 基因变异患儿临床特征一览Table 1 Clinical characteristics of 6 patients with variants in the *KIF1A* gene

序号	变异	性别	年龄	智力发育	运动发育	步态	肌张力	癫痫/痉挛	眼	颅脑核磁共振
1	c.296C>T(p.T99M)	男	7月龄	迟缓	不能独坐	不适合评估	正常	婴儿痉挛	不追视	正常
2	c.296C>T(p.T99M)	女	2岁	迟缓	不能独坐、 独站	不适合评估	双侧肢体 增高	癫痫	不追视	两侧小脑半球脑 沟裂增宽加深
3	c.761G>A(p.R254Q)	男	6岁	正常	2岁独走	易摔倒	正常	正常	正常	—
4	c.326G>T(p.G109V)	男	18岁	迟缓	22个月 独走	剪刀步	正常	正常	正常	—
5	c.745C>G(p.L249V)	男	2岁	正常	2岁独走	异常	下肢增高	双下肢踝阵挛	正常	正常
6	c.798+1G>A	女	3岁	正常	20个月独走	鸭步	正常	正常	正常	—

—:无相关检查记录. *KIF1A*:驱动蛋白家族成员1A.

发育迟缓。例1和例2同时存在目不追物以及癫痫或痉挛发作,而其余4例暂未出现此类临床异常。2例患儿存在肌张力异常,其中例2双侧肢体肌张力增高,例5下肢肌张力增高。3例有头颅核磁共振记录的患儿中,仅例2存在两侧小脑半球脑沟裂增宽加深。6例患儿的血尿串联质谱检测均未见异常。所有患儿父母未见相关临床表现。

2.2 基因检测结果

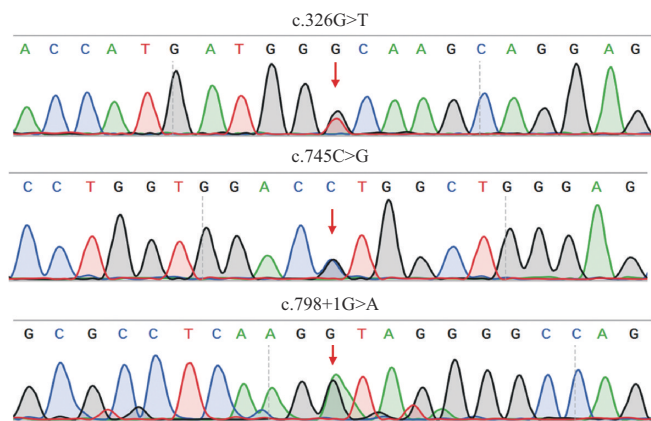
6例患儿共检测到5个 *KIF1A* 基因杂合变异(NM_001244008.2),均未在 gnomAD 对照数据库(<http://gnomad.broadinstitute.org/>)收录。其中2例患儿检出 c.296C>T(p.T99M) 错义突变,为 *KIF1A* 基因热点突变;1例患儿检测到 c.761G>A(p.R254Q) 错义突变,亦有报道。其余3例患儿分别携带 c.326G>T(p.G109V) 错义突变、c.745C>G(p.L249V) 错义突变和 c.798+1G>A 剪接突变(图1),均未曾报道。桑格测序显示6例患儿的父母 *KIF1A* 基因均为正常野生型,提示所检测到的变异均为新生突变(*De novo*)。结合临床表型和基因检测结果,6例患儿均诊断为 *KIF1A* 基因变异导致的常染色体显性遗传神经发育障碍。

2.3 *KIF1A* 变异致病性分析

对首次报道的两个错义突变对应的蛋白质(G109V和L249V)进行三维建模分析发现,109位的甘氨酸(G)突变为缬氨酸(V)后,将导致其与115位的谷氨酰胺之间的氢键消失(图2A);249位的亮氨酸(L)突变为缬氨酸(V)后,会与218位的组

氨酸形成一个新的氢键,并导致其与95位的丙氨酸之间的三个氢键消失两个(图2B)。通过比较变异体和野生型蛋白之间自由能变化的差值($\Delta\Delta G$)发现,G109V、L249V和R254Q变异均表现出蛋白稳定性下降(表2);虽然T99M在不同工具 $\Delta\Delta G$ 值预测上存在差异,但已有功能研究显示该变异削弱了蛋白质定位于神经突起远端的能力。此外,REVEL软件评估表明4个错义突变均为有害性变异(表2)。根据美国ACMG指南,c.296C>T为“致病”,其余3个错义突变为“可能致病”。

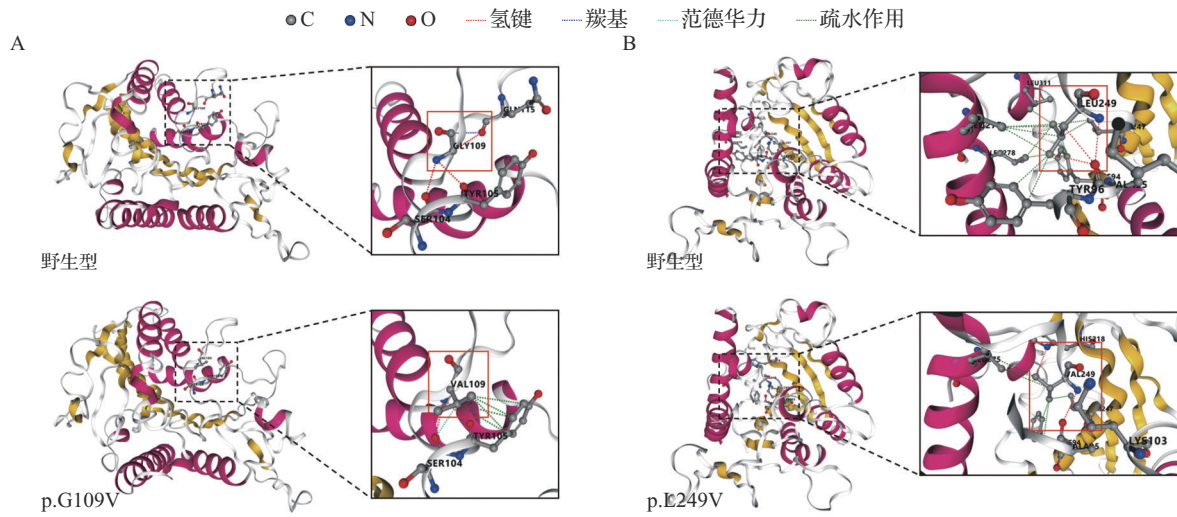
c.798+1G>A 剪接突变位于14号内含子第一个碱基位置,Splice AI软件预测可能导致 *KIF1A* 基因信使RNA剪接成熟过程中15号外显子跳跃,并因此丢失66个碱基(c.799_864 del),从而导致22个氨基酸的阅读框内整码缺失(p.267_288 del);



KIF1A:驱动蛋白家族成员1A. 红色箭头为突变碱基.

图1 3个 *KIF1A* 基因新发变异的桑格测序结果

Figure 1 Sanger sequencing results of the three novel variants of *KIF1A* gene



A: G109V 变异体与野生型比较; B: L249V 变异体与野生型比较. 红框为 KIF1A 蛋白结构模型的变异位点. KIF1A: 驱动蛋白家族成员 1A; GLY: 甘氨酸; VAL: 缬氨酸; LEU: 亮氨酸.

图2 KIF1A 蛋白新发错义突变的三维分子结构建模

Figure 2 The three-dimensional structure of the novel missense mutations of KIF1A protein

表2 KIF1A 基因错义突变的致病性分析

Table 2 Pathogenicity analysis of the missense mutations in KIF1A

变异	ΔΔG [*] (kcal/mol)			REVEL ^{**}	ACMG 分类
	mCSM	SAAFEC-SEQ	MUpro		
c.296C>T(p.T99M)	-0.913	-0.78	0.448	0.933	致病
c.326G>T(p.G109V)	-1.270	-1.51	-0.715	0.928	可能致病
c.745C>G(p.L249V)	-1.108	-1.86	-1.341	0.806	可能致病
c.761G>A(p.R254Q)	-0.771	-0.90	-0.768	0.784	可能致病

*ΔΔG<0 表示变异降低蛋白质稳定性; ΔΔG>0 表示变异增加蛋白质稳定性.
 **REVEL 评分值大于 0.75 即提示可能为有害性变异. KIF1A: 驱动蛋白家族成员 1A; ACMG: 美国医学遗传学与基因组学学会.

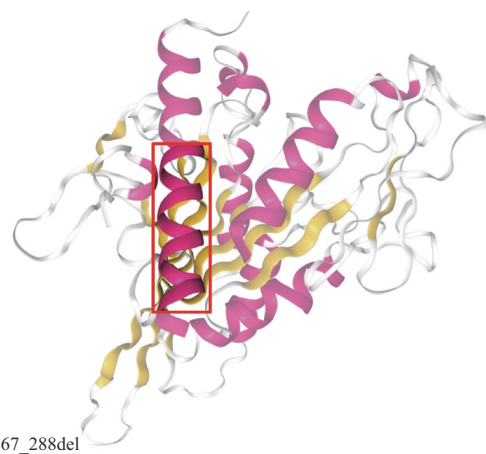
诊断为 NESCAVS。本文表 1 的 6 例患儿中, 例 1、2 和 4 符合 NESCAVS 临床诊断, 而例 3、5 和 6 临床特征更倾向 SPG30。虽然国内报道例数有限, 但仍可见 KIF1A 基因变异所致临床表型的复杂性。

基于 KIF1A 基因变异引起的临床表型异质性较强, 且 NESCAVS、SPG30 和 HSN2C 的表型互有重叠, 临床难以作出精准分型, 近年来已有文

三维建模分析表明该段氨基酸缺失将导致 KIF1A 蛋白运动结构域中一个 α 螺旋结构的严重受损 (图 3)。根据美国 ACMG 指南, c.798+1G>A 被判定为“可能致病”。

3 讨论

既往国内已报道的 KIF1A 基因变异患者中, 许钢等^[5]报道的 c.110T>C(p.I37T) 杂合新生突变患儿双下肢无力且力量逐年减弱、步态异常、下肢肌张力增高, 诊断为 SPG30; 黄延等^[6]报道的 c.664A>C(p.N222H) 新生突变患儿智力语言发育迟缓、社交困难, 诊断为孤独症谱系障碍; 沈茹等^[7]报道的 c.914C>T(p.P305L) 杂合新生突变患儿智力语言发育迟缓、走路不稳易摔倒、双侧足内翻, 看人时双眼角膜向上、外斜视, 头颅核磁共振显示双侧小脑半球体积减小、脑沟增宽加深,



p.267_288del

红框为 KIF1A 蛋白可能受损部位. KIF1A: 驱动蛋白家族成员 1A.

图3 KIF1A 蛋白新发剪接突变可能导致的氨基酸缺失

Figure 3 The three-dimensional structure of the novel splicing variant of KIF1A protein

将其统一归类为 *KIF1A* 基因相关神经系统疾病^[14]。有学者建议根据基因型(以表型作为参考)对 *KIF1A* 基因变异病例进行分类,而不是传统的根据表型(以基因型作为参考)分类的模式;即将重点放在患者变异位点和特定表型上,而不是单纯型或复杂型综合症的诊断上^[15]。这一分类依据已在部分变异位点得以验证,如 p.S58L、p.T99M、p.E253K 和 p.T258M 变异的患者往往行走困难且伴有癫痫,而 p.S69L、p.A255V、p.R350G 等变异的患者主要表现为痉挛性截瘫^[14]。

KIF1A 蛋白包含由氨基端第 1~361 个氨基酸残基构成的运动结构域、第 516~572 个氨基酸残基构成的叉头相关蛋白结构域和第 1676~1774 个氨基酸残基构成的普列克底物蛋白同源结构域^[16]。*KIF1A* 通过羧基端的普列克底物蛋白同源结构域高亲和力且特异性结合脂质囊泡中的磷脂酰肌醇,氨基端的运动结构域通过其下游的卷曲螺旋相互作用形成二聚体,利用 ATP 的水解作为能量来源,将物质从细胞体沿微管运送到神经元外周末梢^[17]。*KIF1A* 蛋白对神经发育至关重要,其在脑和脊髓中呈高表达^[18];研究表明,*KIF1A* 蛋白可调节小鼠海马区突触的发生和学习增强^[19],*Kif1a* 缺失小鼠表现出严重的运动和感觉障碍,并在出生后 1 d 左右死亡^[20]。本研究鉴定的变异均发生在 *KIF1A* 蛋白的运动结构域中,可能阻碍了驱动蛋白与微管的正确结合,导致其沿轴突的运动能力受损^[21]。

c.296C>T(p.T99M)是 *KIF1A* 热点突变,此前已有至少 9 例病例报道^[16, 21-25]。与本研究纳入的 2 例患儿类似,受累患者往往表型较为严重,存在中度到极重度不等的智力障碍和发育迟缓,大多丧失行走能力,出现痉挛或癫痫症状,多有眼部异常如视神经病变或萎缩,部分患者还可合并小头畸形。Thr99 位于 *KIF1A* 运动结构域高度保守的 p 环共识 ATP 结合位点,在原代大鼠海马神经元中的实验显示,与野生型比较,T99M 变异的 *KIF1A* 远端定位大大减少,整个细胞体和近端神经元的聚集增加^[22]。R254Q 变异已在 2 例病例中报道,分别为一例 8 岁男童(5 岁起病)^[26]和一例 5 岁女童(2~3 岁起病)^[27]。与本研究携带 R254Q 变异的患儿类似,3 例患儿均症状较轻,尽管存在步态障碍,但能够独立行走,病程进展较慢。L249V 虽为本研究首次发现,但已有 L249Q^[21]和

L249P^[28]的病例报道,表型均比本研究中携带 L249V 变异的患儿严重,除了共同存在的运动发育迟缓和痉挛,2 例已报道患儿还合并中等程度的智力障碍。此外,携带 L249Q 变异的患儿行走需要辅助,伴有视神经萎缩;携带 L249P 变异的患儿存在痉挛性截瘫、全身性癫痫发作、眼震颤,兴趣有限、沟通不畅,并且小脑萎缩。已报道的 c.798+1G>T 患儿存在中度痉挛步态^[27],但与本研究中 c.798+1G>A 变异患儿仅有运动发育迟缓和步态异常表现明显不同的是,前者还存在兴趣有限、社交困难等类似自闭症谱系障碍的特征。可见 *KIF1A* 基因相同位置的不同变异可造成表型和严重程度的不同。

目前已鉴定到的 *KIF1A* 变异主要集中在运动结构域,且大部分源自散发病例;目前已报道的 200 余例 *KIF1A* 基因变异患者中^[2, 15-16, 27, 29-30],近 70% 为患儿自发新生突变。除上述少数变异位点外,大部分 *KIF1A* 基因变异尚未建立显著的基因型-临床表型关联,仍需积累更多病例数据观察。最近有假说提出了一种变异特异性的剂量效应:一些变异可能仅涉及远端轴突顺行运输的轻微损伤,导致较轻的表型;而另一些变异可能损害近端轴突及其他神经元群体,导致严重的表型;少数已报道的功能丧失型变异会造成 *KIF1A* 蛋白水平降低而导致运输减少^[3]。然而即使是同一变异的患儿也存在临床异质性,或许需要考虑其他驱动蛋白的补偿机制以及其他未知的遗传或环境因素。

综上所述,本研究总结分析了 6 例 *KIF1A* 基因变异致神经发育障碍患儿,扩大了 *KIF1A* 基因变异相关疾病的基因型和临床表型谱,为患者的临床诊断和家系生殖遗传咨询提供了依据。

致谢 研究得到国家重点研发计划(2020YFA0804001)支持

Acknowledgements This work was supported by the National Key R&D Program of China (2020YFA0804001)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2023. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 License (<https://creativecommons.org/>)

licenses/by-nc-nd/4.0/)

参考文献 (References)

- [1] LEE J R, SHIN H, KO J, et al. Characterization of the movement of the kinesin motor KIF1A in living cultured neurons[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(4): 2624-2629.
- [2] NEMANI T, STEEL D, KALIAKATSOS M, et al. KIF1A-related disorders in children: a wide spectrum of central and peripheral nervous system involvement [J]. *J Peripher Nerv Syst*, 2020, 25(2): 117-124.
- [3] PENNING S, SCHOUTEN M I, VAN GAALEN J, et al. *KIF1A* variants are a frequent cause of autosomal dominant hereditary spastic paraplegia[J]. *Eur J Hum Genet*, 2020, 28(1): 40-49.
- [4] RIVIÈRE J B, RAMALINGAM S, LAVASTRE V, et al. KIF1A, an axonal transporter of synaptic vesicles, is mutated in hereditary sensory and autonomic neuropathy type 2[J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 89(2): 219-230.
- [5] 许 钢, 李建伟, 邓展进, 等. 痉挛性截瘫 30 型一个家系的 *KIF1A* 基因变异分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2023, 40(4): 419-422.
XU Gang, LI Jianwei, DENG Zhanjin, et al. Analysis of *KIF1A* gene variant in a Chinese pedigree affected with Spastic paraplegia type 30[J]. *Chinese Journal of Medical Genetics*, 2023, 40(4): 419-422. (in Chinese)
- [6] 黄 延, 焦 建, 张漫雪, 等. 一个孤独症谱系障碍核心家系 *KIF1A* 基因错义变异及其蛋白表达和结构分析 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2021, 38(7): 620-625.
HUANG Yan, JIAO Jian, ZHANG Manxue, et al. A study on *KIF1A* gene missense variant analysis and its protein expression and structure profiles of an autism spectrum disorder family trio[J]. *Chinese Journal of Medical Genetics*, 2021, 38(7): 620-625. (in Chinese)
- [7] 沈 茹, 蒋鸿超, 吴建敏, 等. 1 例基因 *KIF1A* 错义突变致常染色体显性智力障碍 9 型病例报道[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(10): 1294-1297, 1302.
SHEN Ru, JIANG Hongchao, WU Jianmin, et al. A case report of autosomal dominant mental retardation type 9 caused by a missense mutation in gene *KIF1A* [J]. *Journal of Molecular Diagnostics and Therapy*, 2020, 12(10): 1294-1297, 1302. (in Chinese)
- [8] PIRES D E, ASCHER D B, BLUNDELL T L. mCSM: predicting the effects of mutations in proteins using graph-based signatures[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(3): 335-342.
- [9] LI G, PANDAY S K, ALEXOV E. SAAFEC-SEQ: a sequence-based method for predicting the effect of single point mutations on protein thermodynamic stability [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 606.
- [10] CHENG J, RANDALL A, BALDI P. Prediction of protein stability changes for single-site mutations using support vector machines[J]. *Proteins*, 2006, 62(4): 1125-1132.
- [11] IOANNIDIS N M, ROTHSTEIN J H, PEJAVER V, et al. REVEL: an ensemble method for predicting the pathogenicity of rare missense variants[J]. *Am J Hum Genet*, 2016, 99(4): 877-885.
- [12] JAGANATHAN K, KYRIAZOPOULOU PANAGIOTOPOULOU S, MCRAE J F, et al. Predicting splicing from primary sequence with deep learning[J]. *Cell*, 2019, 176(3): 535-548.e24.
- [13] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. *Genet Med*, 2015, 17(5): 405-424.
- [14] NAIR A, GREENY A, RAJENDRAN R, et al. KIF1A-associated neurological disorder: an overview of a rare mutational disease[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(2): 147.
- [15] MONTENEGRO-GARREAU X, HANSEN A W, KHAYAT M M, et al. Phenotypic expansion in KIF1A-related dominant disorders: a description of novel variants and review of published cases[J]. *Hum Mutat*, 2020, 41(12): 2094-2104.
- [16] NICITA F, GINEVRINO M, TRAVAGLINI L, et al. Heterozygous *KIF1A* variants underlie a wide spectrum of neurodevelopmental and neurodegenerative disorders [J]. *J Med Genet*, 2021, 58(7): 475-483.
- [17] CHEON C K, LIM S H, KIM Y M, et al. Autosomal dominant transmission of complicated hereditary spastic paraplegia due to a dominant negative mutation of *KIF1A*, *SPG30* gene[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 12527.
- [18] OKADA Y, YAMAZAKI H, SEKINE-AIZAWA Y, et al. The neuron-specific kinesin superfamily protein KIF1A is a unique monomeric motor for anterograde axonal transport of synaptic vesicle precursors[J]. *Cell*, 1995, 81(5): 769-780.
- [19] KONDO M, TAKEI Y, HIROKAWA N. Motor protein KIF1A is essential for hippocampal synaptogenesis and learning enhancement in an enriched environment [J]. *Neuron*, 2012, 73(4): 743-757.
- [20] YONEKAWA Y, HARADA A, OKADA Y, et al. Defect in synaptic vesicle precursor transport and neuronal cell death in KIF1A motor protein-deficient mice[J]. *J Cell Biol*, 1998, 141(2): 431-441.
- [21] LEE J R, SROUR M, KIM D, et al. *De novo* mutations in the motor domain of KIF1A cause cognitive impairment, spastic paraparesis, axonal neuropathy, and cerebellar atrophy[J]. *Hum Mutat*, 2015, 36(1): 69-78.
- [22] HAMDAN F F, GAUTHIER J, ARAKI Y, et al. Excess of *de novo* deleterious mutations in genes associated with glutamatergic systems in nonsyndromic intellectual disability[J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 88(3): 306-316.
- [23] OKAMOTO N, MIYA F, TSUNODA T, et al. *KIF1A* mutation in a patient with progressive neurodegeneration

- [J]. *J Hum Genet*, 2014, 59(11): 639-641.
- [24] ESMAEELI NIEH S, MADOU M R, SIRAJUDDIN M, et al. *De novo* mutations in KIF1A cause progressive encephalopathy and brain atrophy[J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2015, 2(6): 623-635.
- [25] LANGLOIS S, TARAILO-GRAOVAC M, SAYSON B, et al. *De novo* dominant variants affecting the motor domain of KIF1A are a cause of PEHO syndrome[J]. *Eur J Hum Genet*, 2016, 24(6): 949-953.
- [26] OHBA C, HAGINOYA K, OSAKA H, et al. *De novo* KIF1A mutations cause intellectual deficit, cerebellar atrophy, lower limb spasticity and visual disturbance [J]. *J Hum Genet*, 2015, 60(12): 739-742.
- [27] RUDENSKAYA G E, KADNIKOVA V A, RYZHKOVA O P, et al. KIF1A-related autosomal dominant spastic paraplegias (SPG30) in Russian families[J]. *BMC Neurol*, 2020, 20(1): 290.
- [28] DEMILY C, LESCA G, POISSON A, et al. Additive effect of variably penetrant 22q11.2 duplication and pathogenic mutations in autism spectrum disorder: to which extent does the tree hide the forest?[J]. *J Autism Dev Disord*, 2018, 48(8): 2886-2889.
- [29] KAUR S, VAN BERGEN N J, VERHEY K J, et al. Expansion of the phenotypic spectrum of *de novo* missense variants in kinesin family member 1A (KIF1A) [J]. *Hum Mutat*, 2020, 41(10): 1761-1774.
- [30] VECCHIA S D, TESSA A, DOSI C, et al. Monoallelic KIF1A-related disorders: a multicenter cross sectional study and systematic literature review[J]. *J Neurol*, 2022, 269(1): 437-450.
- [本文编辑 沈敏余方]

· 学术动态 ·

郭国骥教授团队发布高通量、高灵敏度单细胞核总 RNA 测序技术并绘制泛肿瘤单细胞图谱

2023年11月27日,《先进科学》(*Advanced Science*)在线刊登了浙江大学医学院郭国骥教授团队的研究成果“Pan-cancer single-nucleus total RNA sequencing using snHH-Seq”(DOI: 10.1002/advs.202304755)。论文报道了一种高通量、高灵敏度的单细胞核总 RNA 测序方法 snHH-seq (high-throughput and high-sensitivity single-nucleus total RNA sequencing), 并使用该方法绘制了囊括9种肿瘤、70余万单细胞的泛肿瘤单细胞图谱, 全面解析肿瘤转录组数据, 包括表达水平、突变、剪接模式、克隆动态等, 为全面理解癌症发病及进展的分子机制奠定基础, 为改善癌症诊断、预后和治疗结果提供助力。

研究人员首先将随机引物和预索引策略结合在液滴微流控平台上开发了 snHH-seq, 并建立了详细的分析流程用于更好地解析 snHH-seq 数据。使用细胞核进行单细胞测序, 解除了对非新鲜样本分析的限制, 降低了细胞解离的难度, 并减少解离过程中产生的应激反应, 使得跨时间维度样本分析成为可能。使用随机引物而不是 oligo-dT 引物捕获 RNA, 不仅可以拯救部分降解的样本, 而且具有更高的灵敏度(一个转录本有多个引物结合位点)和更高的覆盖率(转录本的3'和5'端, polyA尾RNA和非polyA尾RNA)。预索引策略应用于基于微流控液滴和微孔板的单细胞测序平台, 能够提高至少一个数量级的细胞通量, 并实现样品的并行分析。

研究人员采用 snHH-seq 分析了32份临床冷冻肿瘤标本(包括肺腺癌、肝细胞癌、肝内胆管癌、胶质瘤、结肠腺癌、直肠腺癌、乳腺浸润性癌、食管癌和胃腺癌), 在泛癌水平上通过对恶性细胞进行亚型分析来解析不同癌症类型的共性, 并对肿瘤体细胞突变及其对可变剪接的影响进行了分析。结果表明, 在肿瘤发展过程中, 非恶性的上皮细胞中可能积累了大量常见变异, 导致相关转录调控的变化, 同时 *RNU* 基因(剪切相关基因)变异可能影响恶性细胞中的剪接过程, 促进癌症干细胞基因转录亚型的表达。不同基因亚型的表达水平可能作为恶性细胞的特征和标签。

论文第一作者为良渚实验室陈海德博士、香港大学方秀南博士、良渚实验室邵纪凯博士研究生、浙江大学附属第一医院章琦副教授、浙江省肿瘤医院徐丽伟博士、杭州跃真生物科技有限公司陈嘉业工程师。研究获得了国家重点研发计划、国家自然科学基金的支持。