· 论著 ·

乌鲁木齐地区 23 例 ABO 亚型的三代测序分子遗传分析及新等位基因鉴定

乔艳辉　郭伟鹏　木耶赛尔·伊斯马依力　徐保红
（乌鲁木齐市血液中心，新疆 乌鲁木齐 830000）

摘要：目的　探讨乌鲁木齐地区 23 例含多民族的无偿献血者 ABO 亚型分子遗传背景。**方法**　筛选血清学试管法 ABO 正反定型不符的 ABO 亚型献血者标本共 23 例，采用 PCR-SSP 法或荧光 PCR（RT-PCR）法进行初步的 ABO 基因分型，采用 PacBio 三代测序技术（third-generation sequencing, TGS）对所有标本进行 ABO 基因全长测序及单倍型分析。**结果**　23 例标本通过三代测序得到 46 个具有 ABO 等位基因单核苷酸变异（Single nucleotide variants, SNVs）的全长单倍型序列，获得常见已知 ABO 等位基因：*ABO*A1.02*、*ABO*B.01*、*ABO*O.01.01*、*ABO*O.01.02*、*ABO*B102*，已知 ABO 亚型等位基因：*ABO*A2.01*、*ABO*AW.37*、*ABO*AW.25*、*ABO*AW.06*、*ABO*B3.01*、*ABO*BW.07* 和 *ABO*Bw34*，并鉴定出 3 个 ABO 新等位基因：*ABO*A2.NEW*（c.1040_1041insA）、*ABO*B.NEW*（c.949A>G）、*ABO*B.NEW*（c.1029G>A），均已被 NCBI GenBank 收录并公布。**结论**　三代测序可以准确获得完整的 ABO 基因序列，区分单倍型，研究阐释了 23 例 ABO 亚型的分子遗传背景，为血型的准确鉴定和保障输血安全提供了参考依据。

关键词：ABO 亚型；三代测序；单倍型；新等位基因
中图分类号：R457.1⁺1　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1004-549X（2026）6-0750-08
DOI：10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2026.06.007

Third-generation sequencing-based molecular genetic analysis and novel alleles identification of 23 ABO subtypes in Urumqi

QIAO Yanhui, GUO Weipeng, MUYESAIER·Yisimayili, XU Baohong.
Urumqi Blood Center, Urumqi 830000, *China.*

Abstract: Objective　To investigate the molecular genetic background of ABO subgroups among 23 multi-ethnic voluntary unpaid blood donors in Urumqi. **Methods**　A total of 23 blood donor samples of ABO subgroups with ABO group discrepancies detected by serological tube test were collected. Preliminary ABO genotyping was performed by polymerase chain reaction with sequence-specific primers (PCR-SSP) or real-time fluorescence polymerase chain reaction (RT-PCR). PacBio third-generation sequencing (TGS) was then applied for full-length ABO gene sequencing and haplotype analysis for all samples. **Results**　A total of 46 haplotype sequences containing single nucleotide variants (SNVs) of ABO alleles were obtained from 23 samples by TGS. Common known ABO alleles were identified including *ABO*A1.02*, *ABO*B.01*, *ABO*O.01.01*, *ABO*O.01.02* and *ABO*O.01.02*. Known ABO subtype alleles included *ABO*A2.01*, *ABO*AW.37*, *ABO*AW.25*, *ABO*AW.06*, *ABO*B3.01*, *ABO*BW.07* and *ABO*BW34*. Three novel ABO alleles were identified: *ABO*A2.NEW*（c.1040_1041insA）, *ABO*B.NEW*（c.949A>G）and *ABO*B.NEW*（c.1029G>A）, all of which have been deposited and released in NCBI GenBank. **Conclusion**　Third-generation sequencing can accurately obtain the complete sequence of ABO gene and distinguish haplotypes. This study elucidates the molecular genetic background of 23 ABO subtypes, providing a reference for accurate blood group typing and ensuring transfusion safety.

Key words: ABO subtype; third-generation sequencing; haplotype; novel allele

ABO 血型系统是第一个被发现的血型系统，也是输血和移植医学中最具临床意义的血型系统[1]。ABO 血型的准确鉴定对保障输血安全至关重要。ABO 血型系统包含 4 个主要的表型：A 型、B 型、O 型和 AB 型，自 1900 年发现以来，至今仍以血清学鉴定为主，该方法基于 Landsteiner 定律，是

基金项目：新疆维吾尔自治区“天山英才”医药卫生高层次人才培养计划项目（TSYC202301B089）
第一作者简介：乔艳辉（1980-），女，主任技师，Email：qyh721@163.com

实验室常规判定 ABO 血型的核心技术。ABO 亚型大多发现于 A/B 抗原的弱表型,有的伴随产生弱的不规则抗-A/抗-B 致使 ABO 血型正反定型不符,给血型鉴定工作带来困难和影响临床输血[2]。近年来,随着科学技术的快速发展,以及实验室技术人员的专业能力与检测水平的持续提升,ABO 亚型及其新等位基因在我国人群中不断被精准识别和报道。分子生物学技术的引入和应用已成为血清学方法的有益补充,为 ABO 亚型的鉴定提供了可靠依据。经典的 Sanger 测序(一代测序)被公认为基因检测的金标准,准确性很高,但仅支持生成 800~1 000 bp 的 DNA 序列,不能直接区分单倍型,且通量低、成本较高[3-4]。二代测序(next-generation sequencing,NGS)相较于一代测序具有高通量、低成本等优点,但仍然受限于短读长、无法区分单倍型,以及对基因重组、长片段插入缺失等复杂结构变异的解析困难[5]。为了突破这些局限,三代测序技术(third-generation sequencing,TGS)应运而生,其两大主流技术平台为美国太平洋生物公司(Pacific Biosciences, PacBio)开发的单分子实时测序技术(single molecule real-time, SMRT)和英国牛津纳米孔公司的牛津纳米孔测序技术(oxford nanopore technology, ONT)[6],这两种技术均凭借其长读长(>10 kb)和单分子测序的独特优势,可捕获包含 ABO 基因全长和侧翼调控区的序列,并明确区分两个同源染色体上的单倍型[5,7],已为疑难复杂的 ABO 亚型问题的解析提供了新途径。

新疆乌鲁木齐地区是多民族聚居区,人群以汉族、维吾尔族、回族、哈萨克族等为主,ABO 亚型的分子遗传背景可能具有区域特点。目前,本地区 ABO 亚型的分子特征尚缺乏调查研究,基于 TGS 技术的 ABO 亚型等位基因分析和研究仍是空白。为此,本研究采用 PacBio TGS,对乌鲁木齐地区 23 例 ABO 亚型献血者标本进行 ABO 基因全长测序,分析等位基因的多态性,寻找新的等位基因,以期填补本地区 ABO 亚型分子分型数据的空白,为临床安全输血提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

筛选 2019 年 5 月—2024 年 8 月乌鲁木齐市血液中心检验科因正反定型不符送检至本室、经试管法鉴定为 ABO 亚型的无偿献血者标本 23 例,所有献血者均无亲属血缘关系,民族分布为维吾尔族 13 例,汉族 5 例,哈萨克族 3 例,塔吉克族 1 例,乌孜别克族 1 例。

1.2 试剂与仪器

抗-A、抗-B(单克隆抗体)血型试剂(批号:20180512、20220816),ABO 反定型红细胞试剂(批号:20195314、20235337),抗-A1 试剂(20181119、20230328),抗-H(单克隆抗体)试剂(批号:20190114、20221110),以上试剂均由上海血液生物医药有限公司生产;血液基因组 DNA 提取试剂盒(磁珠法)(西安天隆科技有限公司,批号:20241610T46),人类红细胞 ABO 血型基因分型试剂盒(PCR-SSP 法)(天津秀鹏生物技术开发有限公司,批号:202406001)、人类 ABO 血型基因分型检测试剂盒(荧光 PCR 法)(江苏伟禾生物科技有限公司,批号:202104C),所用试剂均在有效期内。KA-2200 血型血清学离心机(日本久保田)、NP968-C 核酸提取仪(西安天隆科技有限公司)、ABI9700 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)、Nanodrop One 超微量分光光度计(美国 Thermo Fisher 公司)、Gel Doc XR 凝胶自动成像系统(美国 Bio-Rad 公司)、电泳仪(美国 Bio-Rad 公司),ABI7500 荧光 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)。

1.3 方法

1.3.1 血型血清学检测

血清学检测严格参照《全国临床检验操作规程》(第四版)[8]的技术规范执行。采用经典的试管法进行 ABO 正反定型、抗-A1、抗-H、自身对照及抗体筛查检测,需要时再加做吸收放散试验。通过分析抗-A,抗-B 反应强度,是否检出不规则抗-A 或抗-B,H 抗原是否异常增强,吸收放散试验是否检出弱的 A 抗原或 B 抗原,结合文献[9]对亚型进行血清学分类。

1.3.2 分子生物学检测

1.3.2.1 血液基因组 DNA 提取

血液 DNA 提取使用磁珠法按照试剂盒说明书在核酸提取仪平台上完成,使用超微量分光光度计测定 DNA 浓度,并调整最佳浓度 40~60 ng/μL,纯度 1.8~2.0。

1.3.2.2 ABO 基因初步分型

采用 PCR-SSP 或荧光 PCR(RT-PCR)方法对 23 例 ABO 亚型标本进行基因分型,按试剂说明书要求进行操作,PCR 扩增结果与试剂说明书提供的判读表进行比对分析,初步判定 ABO 亚型基因型。

1.3.2.3　三代测序与比对分析

采用 PacBio TGS 对 ABO 基因全长序列测序，包括侧翼调控区及内含子区域。此部分实验委托西安浩瑞基因技术有限公司完成。ABO 测序原始数据使用 SnapGene 软件进行人工序列比对。将三段交叠的 ABO 基因序列，根据生物信息学分析，拼接组装成一条完整的 ABO 单倍型，将单倍型序列与参考等位基因 *ABO*A1.01*（GenBank：NG_006669.1）应用 SnapGene 的序列比对功能进行逐一分析，确定突变位点。查找国际输血协会 Names for ABO（ISBT 001）blood group alleles v1.1 171023 数据库，确定 ABO 亚型等位基因型别，查找 GenBank（NCBI）、dbRBC（NCBI）数据库、BGMP 数据库以及既往文献等，判断是否是新等位基因。

2　结果

2.1　23 例 ABO 亚型标本的血清学、PCR-SSP/RT-PCR 和 TGS 结果

23 例 ABO 亚型标本血清学鉴定结果是：$A_{亚}$ B 型 16 例、$A_{亚}$ 型 3 例、$AB_{亚}$ 型 3 例，$B_{亚}$ 型 1 例，所有标本的自身对照和抗体筛查试验均为阴性，其血清学表型特征和初步的 ABO 基因分型结果，以及通过 TGS 得到的 ABO 基因型结果详见表 1。

TGS 共鉴定出 15 种 ABO 等位基因，包括 5 种常见已知 ABO 等位基因（*ABO*A1.02*、*ABO*B.01*、*ABO*O.01.01*、*ABO*O.01.02*、*ABO*B102*），1 种 *ABO*B.NEW*（血清学表型正常），9 种 ABO 亚型等位基因（*ABO*A2.01*、*ABO*AW.37*、*ABO*AW.25*、*ABO*AW.06*、*ABO*B3.01*、*ABO*BW.07* 和 *ABO*Bw34*、*ABO*A2.NEW*、*ABO*B.NEW*）。

2.2　ABO 等位基因单倍型序列比对分析

通过对 23 例标本 ABO 基因进行 TGS，共得到 46 个 ABO 单倍型序列，包括 13 个 *ABO*B.01*，2 个 *ABO*B102*，3 个 *ABO*A1.02*，2 个 *ABO*O.01.01*，2 个 *ABO*O.01.02*，6 个 *ABO*A2.01*，8 个 *ABO*AW.37*，2 个 *ABO*A2.NEW*（c.1040_1041insA），2 个 *ABO*AW.25*，此外 *ABO*B3.01*、*ABO*BW.07*、*ABO*Bw34*、*ABO*B.NEW*（*c.*949*A*>*G*）和 *ABO*B.NEW*（*c.*1029*G*>*A*）、*ABO*AW.06* 各 1 个，其中 *ABO* 亚型单倍型序列共 23 个，比对分析其关键位点突变碱基变化，结果见表 2 和图 1。

表 1　23 例 ABO 亚型标本血清学特征及基因型

Table 1　Serological characteristics and genotypes of 23 ABO subtype specimens

标本	族别	正定型				反定型			吸收放散	表型	PCR-SSP/RT-PCR	PacBio TGS
		−A	−B	−A1	−H	A_1c	Bc	Oc				
1	维吾尔族	2+	4+	0	1+^{s}	1+^{w}	0	0		A_wB	*A201B*	*ABO*A2.01/ABO*B.01*
2	维吾尔族	1+^{s}	4+	0	2+^{s}	1+	0	0		A_wB	*AB*	*ABO*AW.37/ABO*B.01*
3	哈萨克族	3+mf	4+	0	2+^{s}	1+^{s}	0	0		A_wB	*AB*	*ABO*AW.06/ABO*B.01*
4	汉 族	4+	2+	0	3+	0	0	0		AB_w	*AB*	*ABO*A1.02/ABO*B3.01*
5	乌孜别克族	2+	4+	0	2+^{s}	1+	0	0		A_wB	*A201B*	*ABO*A2.NEW/ABO*B.01*
6	哈萨克族	2+^{s}	4+	0	2+^{s}	2+^{s}	0	0		A_wB	*A201B*	*ABO*A2.NEW/ABO*B.01*
7	维吾尔族	1+^{s}	4+	0	2+	1+^{w}	0	0		A_wB	*AB*	*ABO*AW.37/ABO*B.NEW*
8	维吾尔族	1+mf	4+	0	2+^{s}	1+	0	0		A_wB	*AB*	*ABO*AW.37/ABO*B.01*
9	汉 族	4+	1+	2+	2+^{s}	0	1+^{w}	0		AB_x	*AB*	*ABO*A1.02/ABO*Bw34*
10	维吾尔族	3+	4+	0	2+	2+	0	0		A_2B	*A201B*	*ABO*A2.01/ABO*B102*
11	汉 族	4+	2+^{s}	3+	1+	0	1+^{w}	0		AB_x	*AB*	*ABO*A1.02/ABO*BW.07*
12	维吾尔族	3+	4+	0	2+	1+^{w}	0	0		A_2B	*A201B*	*ABO*A2.01/ABO*B.01*
13	维吾尔族	2+	4+	0	2+	0	0	0		A_wB	*AB*	*ABO*AW.37/ABO*B.01*
14	维吾尔族	2+mf	4+	0	2+mf	0	0	0		A_3B	*AB*	*ABO*AW.37/ABO*B.01*
15	塔吉克族	3+	4+	0	2+	1+^{s}	0	0		A_2B	*A201B*	*ABO*A2.01/ABO*B.01*
16	维吾尔族	2+	0	0	3+	1+	3+	0		A_x	*A201O1*	*ABO*AW.25/ABO*O.01.01*
17	维吾尔族	0	0	0	4+	1+	2+	0	A	A_{el}	*AO1*	*ABO*AW.37/ABO*O.01.02*
18	维吾尔族	0	0	0	4+	1+^{w}	3+	0	A	A_{el}	*AO1*	*ABO*AW.37/ABO*O.01.02*
19	汉 族	0	0	0	4+	3+	0	0	B	B_m	*BO1*	*ABO*B.NEW/ABO*O.01.01*
20	维吾尔族	2+^{w}	4+	0	2+	1+	0	0		A_wB	*AB*	*ABO*AW.37/ABO*B102*
21	汉 族	1+mf	4+	0	1+^{s}	1+^{w}	0	0		A_wB	*A201B*	*ABO*AW.25/ABO*B.01*
22	维吾尔族	2+	4+	0	2+mf	1+^{w}	0	0		A_wB	*A201B*	*ABO*A2.01/ABO*B.01*
23	哈萨克族	3+	4+	0	2+w	1+^{s}	0	0		A_2B	*A201B*	*ABO*A2.01/ABO*B.01*

注：0：无凝集，1+~4+：凝集强度，w：强度减弱，s：强度增强，mf：混合视野，：未检测。

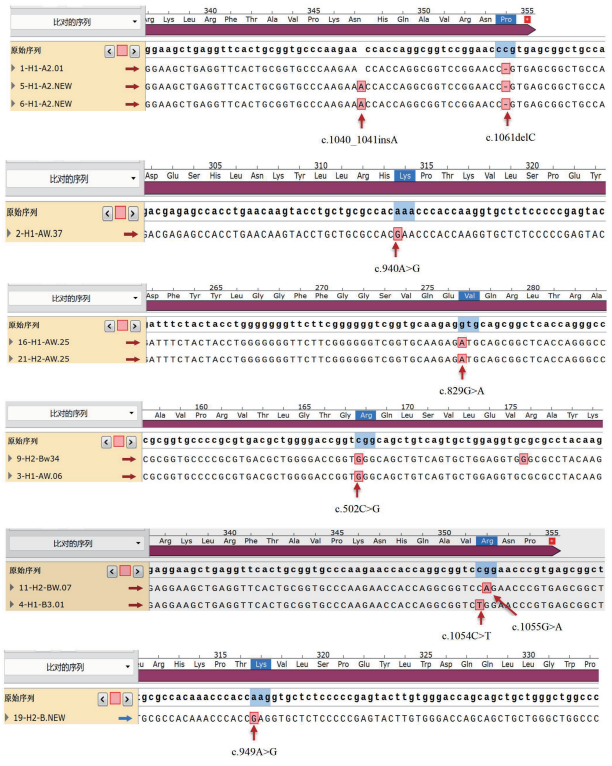
仔细观察了 6 个 *ABO*A2.01* 和 2 个 *ABO*AW.25* 以及 2 个 *ABO*A2.NEW* 单倍型图谱特征，并与 *ABO*B.01* 和 *ABO*A1.02* 全长序列对比分析时，发现这 10 个全长单倍型存在 *ABO*B-A* 重组，

其断裂点位于 c. 204-546C>T 和 c. 240-25A>G 之间,在 c. 204-546C>T 之前是 B 单倍型特征,在 c. 240-25A>G 之后是 A 单倍型的特征(图 2),从 c. 204-546C>T 到 c. 240-25A>G 之间是 *ABO* B-A* 同源的一段,推测这种重组现象可能源自祖先遗传。

表 2　ABO 亚型等位基因

Table 2　ABO subtype alleles

等位基因	核苷酸改变	位置	氨基酸改变	例数
ABO A2. 01*	c. 467C>T;c. 1061delC	exon 7	p. Pro156Leu; p. Pro354Argfs*23	6
ABO AW. 37*	c. 940A>G	exon 7	p. Lys314Glu	8
ABO AW. 06*	c. 502C>G,Intron1+5. 8 kb GATA 调控区域突变;c. 28+5806T>C	exon 7,Intron1	p. Arg168Gly	1
ABO AW. 25*	c. 467C>T;c. 829G>A;c. 1061delC	exon 7	p. Pro156Leu;p. Val277Met;p. Pro354Argfs*23	2
ABO B3. 01*	c. 297A>G;c. 526C>G;c. 657C>T; c. 703G>A; c. 796C>A;c. 803G>C; c. 930G>A;c. 1054C>T	exon 6,7	p. Arg176Gly;p. Gly235Ser; p. Leu266Met;p. Gly268Ala p. Arg352Trp	1
ABO BW. 07*	c. 297A>G;c. 526C>G;c. 657C>T; c. 703G>A; c. 796C>A;c. 803G>C; c. 930G>A;c. 1055G>A	exon 6,7	p. Arg176Gly;p. Gly235Ser; p. Leu266Met;p. Gly268Ala; p. Arg352Gln	1
ABO Bw34*	c. 297A>G;c. 502C>G;c. 526C>G; c. 657C>T; c. 703G>A;c. 796C>A; c. 803G>C;c. 930G>A	exon 6,7	p. Arg168Gly;p. Arg176Gly;p. Gly235Ser; p. Leu266Met;p. Gly268Ala	1
ABO A2. NEW*	c. 467C>T;c. 1040_1041insA;c. 1061delC	exon 7	p. Pro156Leu; p. Asn347Lys; p. His348Pro; p. Gln349Pro; p. Ala350Gly; p. Val351Gly; p. Arg352Pro; p. Asn353Glu	2
ABO B. NEW*	c. 297A>G;c. 526C>G;c. 657C>T; c. 703G>A; c. 796C>A;c. 803G>C; c. 930G>A;c. 949A>G	exon 6,7	p. Arg176Gly; p. Gly235Ser;p. Leu266Met; p. Gly268Ala;p. Lys317Glu	1



注:H1 和 H2 分别指单倍型 1 和单倍型 2,H1 和 H2 前面数字代表标本号,6 个 *ABO* A2. 01* 单倍型序列以 1 号标本为代表,8 个 *ABO* AW. 37* 单倍型序列以 2 号标本为例。

图 1　9 种 ABO 亚型等位基因关键位点突变碱基单倍型序列

Figure 1　Haplotype sequence map of key mutation bases in nine ABO subtype alleles

2. 3　发现 1 个 *ABO* A2* 新等位基因和 2 个 *ABO* B* 新等位基因

经 TGS 共鉴定出 3 个 ABO 新等位基因。其中 5 号、6 号标本检出一个 *ABO* A2. NEW*,该基因相较于 *ABO* A2. 01* 发生了 c. 1040_1041insA 插入突变,造成基因自第 347 位氨基酸起读码框发生偏移,使得 347~353 位共 7 个氨基酸出现序列改变,同时该基因存在 c. 1061delC 缺失突变,可抵消上述插入突变产生的后续效应,因此第 354 位氨基酸 Pro 及终止密码子位置均未改变。19 号标本的 Bm 亚型检出一个 *ABO* B. NEW*,与 *ABO* B. 01* 相比,增加了一个新的错义突变 c. 949A>G,致使相应氨基酸发生了改变:p. Lys317Glu。7 号标本血清学检测显示 B 抗原表达正常,测序结果检出 *ABO* B. NEW* 等位基因。该基因在 *ABO* B. 01* 主干序列上,发生了一个同义突变 c. 1029G>A,第 343 位 Ala 未发生改变。3 个 ABO 新等位基因均已被 NCBI Genbank 收录并公布,登录号分别为 PV755964、PV755966、PV872587。

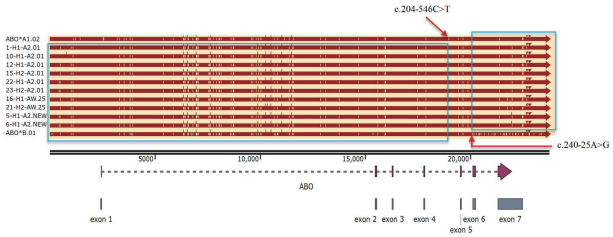


图 2　观察到的 *ABO* A1. 02-ABO* B. 01* 重组模式

Figure 2　Observed pattern of *ABO* A1. 02-B. 01* recombination

3　讨论

ABO 基因定位于染色体 9q34. 1~9q34. 2,由 7

个外显子和 6 个内含子组成,总长度约为 25 kb。ABO 基因不直接编码 A、B 抗原,而是编码特异性的糖基转移酶,通过糖基转移酶催化底物 H 抗原,控制 ABO 血型抗原的合成[10-11]。ABO 基因突变是导致正反定型差异及 ABO 表型血清学结果难以解释的主要因素。大多数 ABO 亚型是由编码 ABO 糖基转移酶的外显子 6 和 7 上的单核苷酸变异引起的[12],该区段为基因的最长编码区,编码大部分催化活性糖基转移酶区域,是 ABO 基因产物的主要部分,决定糖基转移酶的催化活性与性质[13]。目前已知与 ABO 亚型有关的基因突变类型包括:由碱基替换导致的错义突变、无义突变和终止密码突变,由碱基插入或缺失导致的移码突变,以及基因重排和剪接位点的突变等。

本研究 23 例 ABO 亚型标本中,维吾尔族及其他少数民族以 $A_{亚}$ B 表型为主,3 例 $AB_{亚}$ 和 1 例 $B_{亚}$ 均为汉族。采用 PacBio 技术平台对 23 例标本进行 TGS,获得了 46 个含 ABO 基因 SNVs 的全长单倍型序列,包括 15 种 ABO 等位基因,这些 ABO 等位基因的 SNVs 位点主要集中在外显子 6 和 7。其中 *ABO*B102* 和 *ABO*Bw34* 未被 ISBT 数据库收录,但曾在 NCBI 的 dbRBC 数据库中被收录并命名。10 号和 20 号标本检出 *ABO*B102*,与 *ABO*B. 01* 相比,未发生 c. 930G>A 同义突变,氨基酸未改变,B 抗原表型正常,该基因最早在日本人中被发现,与 *ABO*B. 01* 等位基因属于同一进化谱系[14],国内贾雯婷等[15]也报道过一例 *ABO*B102/ABO*O01*。

检出 *ABO*A2. 01* 共 6 例,血清学 A 抗原表达减弱,其中维吾尔族 4 例,哈萨克族 1 例,塔吉克族 1 例。*ABO*A2. 01* 在中国人群中并不多见,本研究在收集筛选 ABO 亚型标本时,并未把血清学典型的 A_2B 的个体纳入研究,推测实际 *ABO*A2. 01* 的检出率可能更高。*ABO*A2. 01* 除了含有 *c.* 467C>T,还存在一个 c. 1061delC,这个移码突变导致阅读框延长 64 个核苷酸,使原来 355 位的终止密码子的位置发生了改变,从 354 位 Arg 开始,翻译了 22 个异常氨基酸后,遇到新的终止密码子,结束翻译。*ABO*A2. 01* 由于取消了正常的终止密码子,在翻译最终停止之前,酶蛋白中添加了额外的 21 个氨基酸。编码的酶活性降低主要是由额外氨基酸的存在引起的,可能是由于受体偏好的改变[16]。

此外,另有 *ABO*AW. 25* 和 *ABO*A2. NEW*(c. 1040_1041insA),都是在 *ABO*A2. 01* 基础上各自增加了一个 SNV。它们连同 *ABO*A2. 01* 共 10 个单倍型,比对发现这些单倍型存在 *ABO*B-A* 重组现象。目前完整的 ABO 亚型全长序列的收集和研究较少[17],Gueuning 等[18]在瑞士献血者的 ABO 基因型数据集中选择了 77 个样本,并通过长读长 OXFORD NANOPORE 三代测序,观察到了独特的序列模式,首次系统获得了 *ABO*A1. 01*、*ABO*A2. 01*、*ABO*B. 01*、*ABO*O. 01. 01*、*ABO*O. 01. 02* 和 *ABO*O. 02* 6 种 *ABO* 基因全长单倍型序列。通过分析,作者提出 *ABO*B* 等位基因是由 *ABO*A2* 与 *ABO*O. 02* 等位基因通过祖先重组产生,并指出建立一个完整、完全解析的血型基因等位基因参考集合,将有助于解决血清型与基因型之间的差异问题,有力支持常规诊断中 ABO 杂交等位基因及其他结构变异的识别和精确的断点定位。本研究中观察到的基于 *ABO*A2. 01* 单倍型序列的 *ABO*B-A* 重组,在 c. 204-546C>T 位点之前呈现 B 单倍型特征,这一发现与 Gueuning 等[18]关于 *ABO*B* 等位基因源于 *ABO*A2* 与 *ABO*O. 02* 重组的结论一致,并进一步提示 *ABO*A2* 单倍型本身也可能在祖先中由 *ABO*B* 与 *ABO*A* 重组而来。考虑到标本数量有限,还需要更广泛地收集 *ABO*A2* 及其他 *ABO* 等位基因全长单倍型以进一步验证。

检出 *ABO*AW. 37* 共 8 例,均是维吾尔族,*ABO*AW. 37*(*c.* 940A>G),最早由 Cai 等[19]在上海人群中检出,国内其他地区的汉族人群中也有多次报道,除天津地区[20]外,其他各地多为零星散发案例[2,21-22],本研究中,*ABO*AW. 37* 等位基因检出例数最多,推测 *ABO*AW. 37* 也可能是本地区维吾尔族人群中除 *ABO*A2. 01* 外另一个常见的 *ABO* 亚型等位基因,有待进一步调查。此外,值得注意的是,该等位基因,黄娴等[20]发现 *ABO*AW. 37* 与 B 等位基因共同表达时存在等位基因增强现象,血清学表型为 AwB;*ABO*AW. 37* 与 O 等位基因共同遗传时血清学表型为 A_{el},存在漏检 A 抗原的可能而被判为 O 型。本研究也验证了这一现象:8 例 *ABO*AW. 37* 标本中,17 号和 18 号标本血清学 *Ael* 格局,吸收放散试验检出弱 A 抗原,基因型为 *ABO*AW. 37/ABO*O. 01. 02*,而其他 6 例血清学表型均为 $A_{亚}$ *B* 型(5 例为 A_wB,1 例为 A_3B)。

本研究中 9 号标本血清学正定型检出弱 B 抗原,反定型检出弱抗-B,表型特征为 AB_x,TGS 检出 *ABO*Bw34*,在 *ABO*B. 01* 等位基因基础上发生了 c. 502C>G(p. Arg168Gly),基因型为 *ABO*A1. 02/*

*ABO*Bw34*。该变异等位基因在 2015 年由 Chen 等[23]在中国 B 亚型个体中首次报道,基因型为 *ABO*Bw34/ABO*O.01*,其血清学正定型(微柱凝胶法)为 *O* 型,反定型未检出抗-B,试管法检测 B 抗原结果非常弱,通过吸收放散试验证实了红细胞上弱 B 抗原的存在。这与本研究中同样携带该变异等位基因的 9 号标本的血清学表型不一致,提示即使出现相同的等位基因,但不同等位基因之间的相互作用可能会导致表型不同,即可能存在等位基因增强或竞争作用,导致血清学结果存在差异[24]。本研究中的 9 号标本血清学表型与 Chen 报道的 $B_{亚}$ 案例相比,B 抗原表达有增强现象,这可能是由于等位基因增强作用,使得 B 突变等位基因在与正常 A 基因杂合遗传时的表达水平,强于反式等位基因为 O 时。目前,弱表达等位基因在反式功能等位基因存在时,出现抗原表达增强的具体分子机制仍未完全阐明。Chen 等[23]三维结构建模显示,新突变 p.Arg168Gly 未形成氢键,这可能降低了糖基转移酶 B 的稳定性,从而显著降低酶活性,导致 B 抗原的血清学表达降低。值得注意的是,本研究中的 3 号标本也检出 c.502C>G(p.Arg168Gly)突变,不同的是,该突变发生在 *ABO*A1.01* 等位基因基础上,ISBT 数据库将其命名为 *ABO*AW.06*,其血清学表型为 A_wB,*A* 抗原减弱,且存在混合视野,该等位基因于 2002 年在欧洲 3 名不相关的 Ax 个体中被发现和报道[11]。文献已报道,A/B 糖基转移酶 168 位氨基酸的变化可以显著减弱 A 或 B 抗原的表达[19,25-26],这表明 168 位氨基酸是影响 ABO 糖基转移酶效率的关键区域。3 号标本除检出 c.502C>G 外,还存在 Intron1+5.8kb GATA 调控区域 c.28+5806T>C 突变,已有研究显示,ABO 基因在此区域存在特异性调节活性,发现该区域可结合转录因子 GATA,当基因突变导致转录因子无法识别此区域的结合位点时,调节活性大大降低,导致 ABO 基因转录减少,进而使 A 或 B 抗原的产生减少[1]。此外,关于 B 亚型等位基因,4 号标本 AB_w 和 11 号标本 AB_x 分别检出 *ABO*B3.01*(*c.1054C>T*)、*ABO*BW.07*(*c.1055G>A*),巧合的是,它们均发生在 *ABO*B.01* 等位基因基础上,为相邻碱基的错义突变,导致同一位置(352 位)氨基酸发生了不同的改变,分别为 p.Arg352Trp 和 p.Arg352Gln,两例标本的血清学 B 抗原均减弱,国内其他地区也有零星散发案例的报道[21]。

综上所述,三代测序能够准确获取 ABO 基因全长序列并有效区分单倍型,在 ABO 亚型鉴定中具有独特的技术优势。本研究对乌鲁木齐地区 23 例多民族 ABO 亚型献血者标本进行了三代测序分析,获得了 46 个 ABO 基因全长单倍型序列,并发现 3 个新等位基因,丰富了 ABO 血型等位基因数据库,初步阐释了本地区 ABO 亚型的分子遗传背景,显示出一定的区域特点,对保障临床输血安全具有实际应用价值。本研究也存在一定的局限性,首先是样本量有限,仅纳入了 23 例 ABO 亚型标本,可能无法完全覆盖乌鲁木齐地区所有 ABO 亚型的突变类型,后续需进一步加大标本量继续补充研究;其次是未开展新等位基因的体外功能验证,有待后续完善。

利益冲突说明/Conflict of Interests

所有作者均声明不存在利益冲突。

伦理批准及知情同意/Ethics Approval and Donor/Patient Consent

本研究已通过乌鲁木齐市血液中心伦理委员会审批(批准号:2025-01);本研究纳入的所有献血者均已签署知情同意书。

作者贡献/Authors' Contribution

乔艳辉:实验设计与实施、数据分析、论文撰写与修改;郭伟鹏、木耶赛尔·伊斯马依力、徐保红:完成部分 ABO 亚型血清学实验。

[参考文献]

[1] OGASAWARA K, SANO R, KOMINATO Y. Review of ABO expression and variations based on transcriptional regulation of the abo blood group gene[J]. Transfus Med Hemother, 2024,51(4):210-224.

[2] 章旭, 李晓丰, 周助人, 等. 沈阳地区 20 例 ABO 亚型的血清学和分子生物学研究及 2 例 ABO 新等位基因的认定[J]. 中国输血杂志, 2022, 35(1):86-89.
ZHANG X, LI X F, ZHOU Z R, et al. Serological and molecular study of 20 ABO subgroup samples in Shenyang, including identification of 2 ABO new alleles[J]. Chin J Blood Transfusion, 2022, 35(1):86-89.

[3] CROSSLEY B M, BAI J F, GLASER A, et al. Guidelines for sanger sequencing and molecular assay monitoring[J]. J Vet Diagn Invest, 2020, 32(6):767-775.

[4] 刘静怡, 崔丹荔, 王芳, 等. 重庆地区 RhD 变异型无偿献血者的基因多态性及其表型研究[J]. 中国输血杂志, 2024, 37(8):879-885.
LIU J Y, CUI D L, WANG F, et al. The gene polymorphism and phenotype of RhD variants among blood do-

nors in Chongqing[J]. Chin J Blood Transfusion, 2024, 37(8):879-885.

[5] WENGER A M, PELUSO P, ROWELL W J, et al. Accurate circular consensus long-read sequencing improves variant detection and assembly of a human genome[J]. Nat Biotechnol, 2019, 37(10):1155-1162.

[6] 梁丽欣, 梁结玲, 魏亚明, 等. 第三代测序技术在血型基因多态性研究的应用[J]. 临床输血与检验, 2025, 27(5):701-711.
LIANG L X, LIANG J L, WEI Y M, et al. The application of third-generation sequencing technology in the study of blood group gene polymorphISM[J]. J Clin Transfus Lab Med, 2025, 27(5):701-711.

[7] SHAO L N, XIA Y X, YANG Y C, et al. PacBio Third-Generation Sequencing Reveals an ABO Gene Promoter Mutation, c.-35_-18del, Leading to Weakened B Antigen Expression[J]. Ann Lab Med, 2024, 44(6):614-616.

[8] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 北京:人民卫生出版社, 2015:118-134.
SHANG H, WANG Y S, SHEN Z Y, et al. National clinic laboratory operating procedures[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015:118-137.

[9] 向东. ABO 亚型的检测[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(8):577-580.
XIANG D. Detection of ABO subtypes[J]. Chin J Blood Transfusion, 2010, 23(8):577-580.

[10] 宋文倩, 周世航. ABO 血型系统的分子生物学研究进展[J]. 临床血液学杂志, 2025, 28(2):157-160.
SONG W Q, ZHOU S H. Advances in molecular biology research on ABO blood group system[J]. J Clin Hematol (China), 2025, 28(2):157-160.

[11] SELTSAM A, HALLENSLEBEN M, EIZ-VESPER B, et al. A weak blood group A phenotype caused by a new mutation at the ABO locus[J]. Transfusion, 2002, 42(3):294-301.

[12] XU C, ZHU Z, ZHU M, et al. Identification of a novel ABO* O.01.01 allele with C.801G>T mutation in a chinese A_2 subtype individual[J]. Blood Transfus, 2025, 23(4):379-380.

[13] 张印则, 徐华, 周华友. 红细胞血型原理与检测策略[M]. 北京:人民卫生出版社, 2014:38-39.
ZHANG Y Z, XU H, ZHOU H Y. Principles of erythrocyte blood grouping and detection strategies[M]. Beijing:People's Medical Publishing House, 2014:38-39.

[14] OGASAWARA K, BANNAI M, SAITOU N, et al. Extensive polymorphism of ABO blood group gene: three major lineages of the alleles for the common ABO phenotypes[J]. Hum Genet, 1996, 97(6):777-783.

[15] 贾雯婷,张伟,崔丽敏. ABO 基因型与血清学结果不符特殊血型 1 例[J]. 中国输血杂志, 2026,39(1):118-122.
JIA W T, ZHANG W, CUI L M. A case of special blood type with discrepancy between ABO genotype and serological results[J]. Chin J Blood Transfusion, 2026, 39(1):118-122.

[16] HULT A K, YAZER M H, JORGENSEN R, et al. Weak a phenotypes associated with novel ABO alleles carrying the a2-related 1061c deletion and various missense substitutions[J]. Transfusion, 2010, 50(7):1471-1486.

[17] WANG Z, CHU Y, XIAO Y, et al. Detecting serologically difficult ABO blood groups using single-molecule real-time sequencing technology[J]. Vox Sang, 2024, 119(10):1096-1105.

[18] GUEUNING M, THUN G A, WITTIG M, et al. Haplotype sequence collection of ABO blood group alleles by long-read sequencing reveals putative A1-diagnostic variants[J]. Blood Adv, 2023, 7(6):878-892.

[19] CAI X, JIN S, LIU X, et al. Molecular genetic analysis of ABO blood group variations reveals 29 novel ABO subgroup alleles[J]. Transfusion, 2013, 53(11 suppl 2):2910-2916.

[20] 黄娴,李双玉,李彤彤,等. 20 例 ABO* AW.37 等位基因增强现象的分析[J]. 中国输血杂志, 2024,37(8):886-889.
HUANG X, LI S Y, LI T T, et al. Analysis of ABO allelic enhancement phenomenon in 20 cases with ABO* AW.37 allele[J]. Chin J Blood Transfusion, 2024, 37(8):886-889.

[21] 宿军,王夕钢,杨红霞,等. ABO 亚型分子遗传学分析及罕见等位基因鉴定[J]. 中国输血杂志, 2024,37(2):145-150.
SU J, WANG X G, YANG H X, et al. Molecular genetic analysis and identification of novel alleles of ABO subtypes[J]. Chin J Blood Transfusion, 2024, 37(2):145-150.

[22] 陈兰兰,张燕华,车进,等. 献血者 ABO 疑难血型血清学与分子生物学检测结果分析[J]. 中国输血杂志, 2024,37(7):766-772.
CHEN L L, ZHANG Y H, CHE J, et al. Analysis of ABO serological phenotype and molecular biology results of 256 blood donors with ambiguous blood group[J]. Chin J Blood Transfusion, 2024, 37(7):766-772.

[23] CHEN Q, XIAO J Y, LU L, et al. A novel B allele with c.502C>G mutation identified in a Chinese individual[J]. Transfusion, 2015, 55(6):1582-1583.

(下转第 767 页)

[6] 医院消毒卫生标准[S]. GB 15982-2012.
Hygienic standard for disinfection in hospitals[S]. GB 15982-2012.
[7] 医疗机构消毒技术规范[S]. WS/T 367-2012
Technical specification for disinfection in medical institutions[S]. WS/T 367-2012.
[8] 医务人员手卫生规范[S]. WS/T 313-2019.
Hand hygiene standard for medical staff[S]. WS/T 313-2019.
[9] 医疗机构水污染物排放标准[S]. GB 18466-2005.
Discharge standard of water pollutants for medical institutions[S]. GB 18466-2005.
[10] 血站技术操作规程(2019 版)[Z]. 国卫医函(2019)98 号,2019.
Blood Station Technical Operating Procedures (2019 Edition)[z]. Guoweiyihan [2019] No. 98, 2019.
[11] PICKERING J B A B. Efficacy of alcohol-based hand sanitizer on hands soiled with dirt and cooking oil[J]. Journal of Water & Health, 2011, 9(3):429.
[12] SAHA T, KHADKA P, DAS S C. Alcohol-based hand sanitizer-composition, proper use and precautions[J]. Germs, 2021,11(3):408-417.
[13] LARSON EL, COHEN B, BAXTER KA. Analysis of alcohol-based hand sanitizer delivery systems: efficacy of foam, gel, and wipes against influenza A (H1N1) virus on hands[J]. Am J Infect Control, 2012,40(9):806-809.
[14] 修皓,徐炳轩,刘瑜,等. 微生物教学实验室中不同有效成分洗手/消毒液对手卫生效果的比较分析[J]. 医学研究前沿, 2024, 2(5):1-5.
XIU H, XU BK, LIU Y, et al. Comparison of effects of different hand sanitizers [J]. Front Med Res, 2024, 2(5):1-5.
[15] 曹克伟,肖素香,马艳华. 流动采血车在采血过程中空气消毒效果分析[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(6):1340-1341.
CAO K W, XIAO X X, MA Y H. Analysis of air disinfection effect in mobile blood collection vehicles [J]. Chin J Misdiagn,2008,8 (6):1340-1341.
[16] 王晓华,黄一炬,陈艳红,等. “三步洗手法”在检验采血过程中的效果评价[J]. 实用检验医师杂志, 2025, 17(3):274-277.
WANG X H, HUANG Y J, CHEN Y H, et al. Evaluation of three-step hand washing method [J]. J Practical Clin Pathol,2025,17 (3):274-277.

(2026-02-26 收稿,04-28 修回,05-27 接收)
本文编辑:李弘武

(上接第 756 页)

[24] 冯晨晨,史丽莉,李慧,等. c. 955C>G 变异致 ABO 等位基因增强现象的研究及文献复习[J]. 临床输血与检验,2022,24(2):147-150.
FENG C C, SHI L L, LI H, et al. A c. 955C>G variation causing ABO Allelic Enhancement Phenomenon: A Case and Literature Review[J]. J Clin Transfus Lab Med, 2022,24(2):147-150.
[25] LIN P H, LI L, LIN-TSAI S J, et al. A unique 502C>T mutation in exon 7 of ABO gene associated with the Bel phenotype in Taiwan[J]. Transfusion, 2003, 43(9):1254-1259.
[26] LEE S Y, IHM C, SHIN D J, et al. The p. R168Q mutation is associated with the Bw phenotype and a predicted decrease in the stability of the resulting ABO glycosyltransferase[J]. Transfusion, 2014, 54(5): 1298-1304.

(2026-05-06 收稿,05-22 修回,05-28 接收)
本文编辑:李宜蔓