



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Molekulargenetische Charakterisierung des ABO-Genlokus bei Individuen mit schwache Blutgruppe A Phänotypen

Autor: Linda Rütten
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. H. Klüter

Seit der Entschlüsselung der molekularen Grundlagen des ABO-Systems sind zahlreiche Subtypen der drei Hauptallele A, B und O beschrieben worden. Die Untergruppe A_x ist charakterisiert durch eine schwache Ausprägung des A-Antigens. Im Vergleich zum Wildtyp-Allel sind bislang sieben A^x -Allele beschrieben worden. Die Allele A^{x-1} bis A^{x-5} besitzen eine gemeinsame Nukleotidsubstitution an Position 646 (T646A). Das A^{x-6} -Allel dagegen ist durch die Nukleotidsubstitution G996A gekennzeichnet. Des Weiteren ist das A^{weak} -Allel mit der Nukleotidsubstitution C502G beschrieben worden, das phänotypisch als A_x reagiert.

Zur Etablierung der Methodik wurden zunächst die genetischen Merkmale von fünf Individuen untersucht, die serologisch als Blutgruppe A_x charakterisiert worden waren. Bei der initialen Genotypisierung mit einem herkömmlichen PCR-SSP System, das zwischen den Blutgruppen A, A_2 , B, O_1 und O_2 unterscheiden kann, wurden alle Individuen als AO^1 typisiert. Zur anschließenden Sequenzanalyse erfolgte die zusammenhängende Amplifikation des Genabschnittes bestehend aus Exon 6, Intron 6 und Exon 7 und dessen Klonierung. In vier Fällen konnte ein A^{x-1} -Allel mit der charakteristischen T646A Substitution und in einem Fall das A^{weak} -Allel mit der C502G Substitution nachgewiesen werden. Bei dem zweiten Allel handelte es sich in vier Fällen jeweils um ein O^{1v-1} - und in einem Fall um ein O^1 -Allel. Zur schnellen Genotypisierung der A^x -spezifischen Nukleotidsubstitutionen T646A und C502G wurden entsprechend PCR-SSP-Systeme entwickelt. Es zeigte sich, dass der alleinige Nachweis der Substitution T646A zur Charakterisierung des A^x -Allels nicht ausreicht. Aus diesem Grund wurde ein haplotyp-spezifisches PCR-SSP-System entwickelt, mit dem durch Verwendung sowohl sequenz-spezifischer Vorwärts- als auch Rückwärtsprimer zwischen A^x - und O^{1v-1} -Allelen diskriminiert werden kann.

Abschließend wurden die Frequenzen der Nukleotidsubstitution T646A und C502G in einer Population von insgesamt 230 Blutspendern mit normalem ABO-Phänotyp unter Verwendung der entwickelten PCR-SSP-Methoden bestimmt. Bei 11 von 85 (12,9%) Blutspendern mit normalem A-Phänotyp konnte die T646A Substitution nachgewiesen werden. Diese Sequenzeigenschaft war auf das O^{1v-1} -Allel zurückzuführen und konnte bei 42 von 92 (45,7%) Blutspendern mit O-Phänotyp gefunden werden. Die Nukleotidsubstitution C502G konnte bei keinem der 230 typisierten Blutspendern nachgewiesen werden. Somit kann die C502G Substitution als A^x -spezifische Mutation bezeichnet werden.

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die Blutgruppe A_x mit den Sequenzeigenschaften T646A und C502G im ABO-Gen assoziiert ist. Entsprechende PCR-Systeme zur schnellen Genotypisierung der Merkmale sind routinetauglich und tragen zur Verbesserung der ABO-Diagnostik bei.