



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Molekulargenetische und serologische Charakterisierung seltener,
klinisch relevanter Blutgruppenmerkmale**

Autor: Carola Wieckhusen
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. P. Bugert

Aktuell sind laut der ISBT (International Society of Blood Transfusion) 38 Blutgruppensysteme mit insgesamt mehr als 350 Blutgruppenantigenen bekannt. Eine besondere Herausforderung der Transfusionsmedizin besteht bei seltenen Blutgruppenmerkmalen. Die Blutgruppensysteme JR (ISBT 032), LAN (ISBT 033) und Vel (ISBT 034) wurden in dieser Arbeit untersucht. Ihre Antigene Jr(a), Lan und Vel sind – obwohl hochfrequent – stark immunogen, sodass es im Rahmen einer Bluttransfusion oder einer Schwangerschaft bei Blutgruppenunverträglichkeiten in diesen Systemen zu Transfusionsreaktionen oder der Ausbildung der hämolytischen Erkrankung des Fötus' und Neugeborenen kommen kann.

Die Genetische Grundlage der Blutgruppen JR und LAN ist komplexer, ihnen zu Grunde liegt jeweils ein ABC-Transporter. Für JR codiert das Gen *ABCG2* mit insgesamt über 80.000bp genomischer DNA, verteilt auf 16 Exone. Für LAN codiert das Gen *ABCG6* mit über 10.000bp genomischer DNA auf 19 Exonen. Die Blutgruppenantigene Jr(a) und Lan sind hochfrequent. Es sind viele Mutationen in diesen beiden Genen bekannt, die zum Jr(a-) beziehungsweise Lan- Phänotyp führen.

Die Genetik des VEL-Blutgruppensystems ist deutlich einfacher. Die Grundlage bildet das Gen *SMIM1* mit insgesamt 4 Exonen. Es sind zwar mehrere Mutationen im *SMIM1*-Gen beschrieben, bis heute ist jedoch nur eine Mutation bekannt die zum Vel- Phänotyp führt, die Mutation *SMIM1*c64_80del*.

In dieser Arbeit wurden sowohl molekulargenetische als auch serologische Methoden etabliert. Für JR und LAN wurden Sequenziermethoden mittels der Kettenabbruchmethode nach Sanger (am ABI3130xl Genetic Analyzer und dem Li-Cor 4300 DNA Analyzer) sowie mit einem Pyrosequenzierungsansatz (454-Sequencing, GS Junior) des *next generation sequencing* etabliert.

Für die bei diesen Sequenzierungen detektierten Mutationen wurden PCR-SSPs aufgebaut. Einzelne Proben standen für serologische Testungen zur Verfügung.

Auch das Gen der Blutgruppe Vel wurde untersucht, jedoch konzentrierte man sich hierbei auf die Etablierung der PCR-SSP und TaqMan-PCR als molekulargenetische, sowie zusätzlich serologische Testverfahren zur klinischen Implementierung im Rahmen eines Blutspenderscreenings.

Für die Blutgruppe JR konnte zum einen die bereits in der Literatur beschriebene Mutation *ABCG2*c706C>T* identifiziert werden. Zum anderen konnte eine neue Mutation *ABCG2*c439C>T*, die zur Ausbildung des Jr(a-) Phänotyps führt, gefunden werden. Im Blutspenderscreening konnte das *ABCG2*c706T*-Allel mit einer Frequenz von 0,029% und das *ABCG2*c439T*-Allel mit einer Frequenz von 0,015% unter Blutgruppe-0-Spendern aus Südwest-Deutschland gefunden werden.

Bei der Blutgruppe LAN konnte die bereits bekannte Mutation *ABCB6*c574C>T* mit allen Sequenziermethoden nachgewiesen werden. Das Screening von Blutgruppe-0-Spendern aus Südwest-Deutschland zeigte für das *ABCB6*c574T*-Allel eine Frequenz von 0,25%.

Die bekannte *SMIM1*c.64_80del*-Mutation, die dem Vel- Phänotyp zu Grunde liegt, konnte ebenfalls bestätigt werden. Das *SMIM1*c.64_80del*-Allel zeigte unter Blutgruppe-0-Spendern in Südwestdeutschland eine Allelfrequenz von 0,22%.

Für die Blutgruppe VEL ist, auf Grund der einfachen Genetik, ein Screening mittels PCR-SSP gut zu realisieren. Bei den Blutgruppen JR und LAN zeigt sich diese Methode durch die komplexe Genetik limitiert. Hier müssen andere Ansätze zum Screening, zum Beispiel neue Sequenzierverfahren, genutzt werden.

Die hier etablierten Methoden wurden bereits zum Screening auf Jr(a-), Lan- und Vel- Spender eingesetzt.

Die Erstellung einer Blutspenderdatenbank für seltene Blutgruppenmerkmale ist sinnvoll, um bei Bedarf blutgruppenkompatible Blutprodukte zur Verfügung stellen zu können.