

Haplotyp-spezifische Hochauflösung von Allelen der Blutgruppe ABO – Referenzsammlung eröffnet erstmals eine konkrete molekulare ABO*A1 Diagnostik

M. Gueuning¹, G. A. Thun¹, M. Wittig², A.-L. Galati³, S. Meyer⁴, N. Trost⁴, E. Gourri^{1,4}, J. Fuss², S. Sigurdardottir⁴, Y. Merki⁴, K. Neuenschwander⁴, Y. Busch³, J. Gottschalk⁵, A. Franke², C. Gassner^{2,6}, B. M. Frey⁵, W. Peter^{3,7}, M. P. Mattle-Greminger¹

¹Department of Research and Development, Blood Transfusion Service Zurich, Swiss Red Cross, Schlieren, Switzerland; ²Institute of Clinical Molecular Biology, Christian-Albrechts-University of Kiel, Kiel, Germany; ³Stefan-Morsch-Foundation, Birkenfeld, Germany; ⁴Department of Molecular Diagnostics and Cytometry, Blood Transfusion Service Zurich, Swiss Red Cross, Schlieren, Switzerland; ⁵Blood Transfusion Service Zurich, Swiss Red Cross, Schlieren, Switzerland; ⁶Institute for Translational Medicine, Private University in the Principality of Liechtenstein, Triesen, Liechtenstein; ⁷Transfusion Medicine, University Hospital of Cologne, Cologne, Germany

HINTERGRUND

Seit Mitte der 1990er Jahre spielt die Genetik menschlicher Blutgruppen-Eigenschaften eine grosse Rolle. Einerseits sind genetische Daten die ultimative und exakteste Art Blutgruppen-Antigene, analog zu HLA-Allelen, zu definieren. Andererseits, kommen molekulare Technologien zunehmend für Routine-Diagnosen von Blutgruppen zum Einsatz.

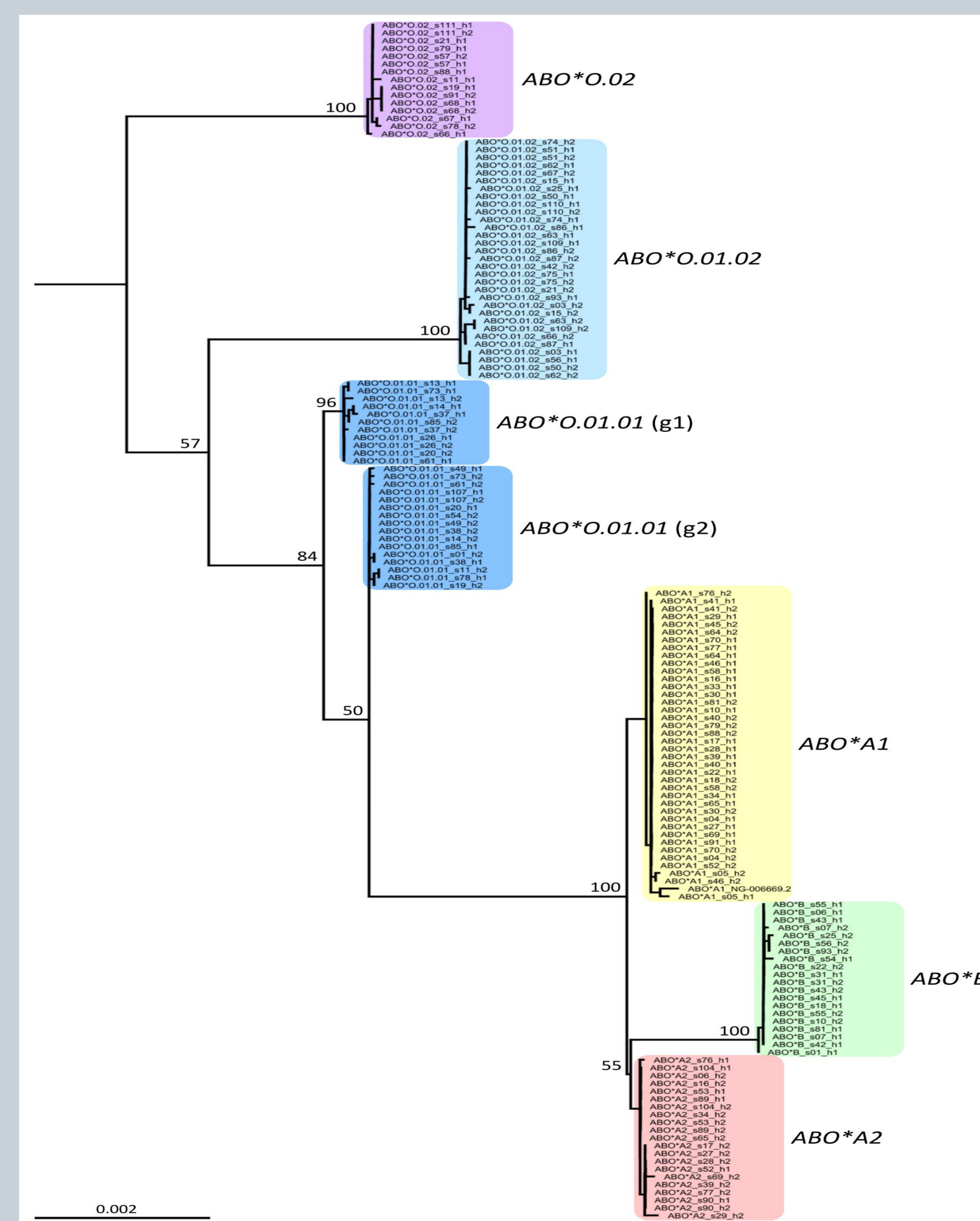
ZIEL

Unter Verwendung der neuesten 3rd Generation Long-Read-Sequenzierung «Oxford Nanopore Sequencing» sollte eine Sammlung vollständig aufgelöster Sequenzen für alle 6 Haupt-ABO-Allelgruppen (ABO*A1/A2/B/O.01.01/O.01.02/O.02) erstellt werden.

MATERIALIEN & METHODEN

- An 77 Blutspender-Proben aus der Region Zürich (CH) mit bereits serologisch und genetisch voruntersuchten ABO Werten wurde mittels 3rd Generation Sequencing, dem sg. «Oxford Nanopore Sequencing», Referenzsequenzen ermittelt.
- Das gesamte ABO-Gen (~23,6 kb) wurde in nur zwei überlappenden Langstrecken-PCRs amplifiziert, und mit einer neu programmierten Auswertesoftware analysiert.
- Die erhobenen Daten wurden mittels, Sanger, Illumina Next Generation und PacBio Sequenzierung überprüft und verifiziert.

Phylogenetischer Allel-Stammbaum des Blutgruppen-Systems ABO



RESULTAT

- Es entstand eine Referenz-Sammlung von 154 verschiedenen ABO-Allelen, jeweils in voller Länge des ca. 23,6 kb langen Gens für alle sechs wichtig ABO-Allelgruppen (ABO*A1, A2, B, O.01.01, O.01.02 und O.02).
- Alle Sequenzen wurden als GenBank Accessions deponiert und sind damit für Wissenschaft und Routine-Diagnostik öffentlich zugänglich.
- Berechnungen zeigen, dass die beschriebenen Allele zusammen 99,9% der insgesamt vorhandenen genetischen Vielfalt des ABO-Gens in der Schweiz abdecken.
- Für jede ABO-Gruppe wurden neuartige, unterschiedliche Sequenzmuster beobachtet. Die Entdeckung von spezifischen genetischen Varianten im Intron 1 innerhalb aller beobachteten ABO*A1 Allel-Subtypen weist erstmals einen Ansatz für dessen eindeutige genetische Diagnostik.
- Die Daten erlaubten die Erstellung eines phylogenetischen Allel-Stammbaums (siehe Abbildung). Überraschender Weise fand sich die höchste genetische Variation innerhalb jener ABO-Allele, welche für die Blutgruppe O kodieren.

SCHLUSSFOLGERUNG

- 3rd Generation Long-Read-Sequenzierungsstrategie, mittels z.B. «Oxford Nanopore Sequencigs» ist eine leistungsfähige Methode für die Erstellung umfassender Haplotyp-spezifischer Allel-Sammlungen, die nun für Referenzzwecke in weiterführender wissenschaftlicher Analytik oder routinemässig angewandter Diagnostik zur Anwendung gelangen. Die Methode kann für die Erstellung vergleichbarer Referenz-Sammlungen von Haplotyp-spezifischen Allelen anderer Blutgruppensysteme verwendet werden.

ORIGINALARBEIT

- Gueuning M, Thun GA, Wittig M, Galati A-L, Meyer S, Trost N et al. Haplotype sequence collection of ABO blood group alleles by long-read sequencing reveals putative A1-diagnostic variants. Blood Adv 2022. doi: 10.1182/bloodadvances.2022007133; PMID: 36129841.

INSTITUT FÜR TRANSLATIONALE MEDIZIN (ITM)

- Gründung März 2020
- Institutsleiter: Prof. Mag. Dr. rer. nat. Christoph Gassner
- Forschungsbereich: Immungenetik und Immunhämatologie
- Das molekularbiologische Labor des Instituts befindet sich im Aufbau
- <https://www.ufl.li/forschung/institut-fuer-translazionale-medizin>