

• 病例报告 •

1例ABO血型系统B*等位基因c.28G>A突变致B抗原减弱的遗传学分析

王雅茹¹,任晓艳¹,蔡忠鹤²,李萌¹,何婷^{1*}

¹南京医科大学附属儿童医院输血科,江苏 南京 210008;²吉林省妇幼保健院输血科,吉林 长春 130102

[关键词] ABO血型系统;B抗原弱表达;c.28G>A突变;家系分析;生物信息学分析

[中图分类号] R457.11

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2026)02-309-06

doi:10.7655/NYDXBNSN251177

A case report of genetic analysis of weakened B antigen caused by B* allele c.28G>A mutation in the ABO blood group system

WANG Yaru¹, REN Xiaoyan¹, CAI Zhonghe², LI Meng¹, HE Ting^{1*}

¹Department of Blood Transfusion, Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210008;

²Department of Blood Transfusion, Jilin Women and Children Health Hospital, Changchun 130102, China

[Key words] ABO blood group system; weakened B antigen; c.28G>A mutation; pedigree analysis; bioinformatics analysis

[J Nanjing Med Univ, 2026, 46(02): 309-314]

ABO血型系统是人类最重要的血型系统之一,其精准鉴定是临床安全输血的基石。常规血清学检测中,由于ABO抗原表达减弱或缺失导致的正反定型不符,是输血科工作面临的重要挑战。血型基因分型及测序技术的飞速发展,克服了血清学方法依赖抗原-抗体反应的局限性,为临床输血安全提供了更坚实的保障。长期以来,研究者对ABO亚型分子机制的探索多集中在编码催化结构域的第6、7外显子^[1]。然而,越来越多的证据表明,非编码区(如内含子)及非催化编码区(如第1外显子)的突变在ABO表型调控中扮演着不可忽视的角色^[2-4]。Cai等^[5]的研究表明,c.28G>A(p.Gly10Arg)突变可能并非通过改变酶学特性,而是通过干扰前体mRNA的剪接效率,导致功能性转录本减少,从而引起B抗原

弱表达,此外,该位点的进化保守性及其在中国人群中的家系遗传特征仍有待系统评估。本研究报道了1例携带此突变的中国家系,通过整合家系分析、测序与生物信息学分析,旨在验证该基因型与ABO表型的关联,探索其影响RNA剪接的具体分子基础,以丰富中国人群ABO血型数据库并为疑难血型的诊断提供依据。

1 病例资料

先证者为南京市儿童医院住院患儿,男,2岁,以狭窄性腱鞘炎就诊。利用微柱凝胶法及盐水试管法进行ABO血型血清学鉴定时发现正定型B抗原减弱,因此在征得先证者父母同意后,同时采集先证者父母外周血以便后续血清学及分子生物学鉴定。本研究已通过南京医科大学附属儿童医院医学伦理委员会审查(批件号:202504007-1)。

采用盐水试管法和微柱凝胶卡进行先证者及其父母ABO血型正反定型检测及不规则抗体筛查,结果显示不规则抗体筛查阴性,先证者及其母亲红

[基金项目] 江苏省输血协会爱康生物科研基金(JSJK2023003);江苏省输血协会英科新创科研基金(JSYK2024003)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hetingsxk@njmu.edu.cn (ORCID: 0009-0003-7483-3291)

细胞与抗-A抗体呈强凝集(4+),与抗-B抗体呈弱凝集(1+或1+w),与抗-H抗体反应增强,均判定为A1Bweak;先证者父亲为正常A型,血清学反应结果详见表1。

提取先证者及其父母DNA,委托长春博迅生物技术有限责任公司进行ABO血型基因Sanger测序。ABO血型基因第1~7外显子测序结果见表2,先证者及其母亲的一条等位基因为ABO*A1.02,另

一条等位基因为ABO*B.01,且存在1个国际输血协会未收录的c.28G>A新突变(已上传至Genbank, PX404713),表型均为A1Bweak型。先证者父亲ABO基因型与ABO*A1.02和ABO*O.01.02相符,表型为A1/O型。家系分析表明,先证者携带c.28G>A突变的ABO*B.01等位基因来自其母亲,而ABO*A1.02等位基因来自其父亲。先证者及其母亲c.28G>A杂合突变的Sanger测序峰图见图1(A、B),

表1 先证者家系ABO血型血清学反应结果

Table 1 ABO blood group serological profiles of the proband's family

Sample	Monoclonal antiserum			Reagent red blood cell			Antibody screening	Self	Result
	A	B	H	A1c	Bc	Oc			
Proband	4+	1+	3+	0	0	0	0	0	A1/Bweak
Proband's mother	4+	1+w	3+	0	0	0	0	0	A1/Bweak
Proband's father	4+	0	-	0	4+	0	0	0	A1/O

表2 3例样本ABO血型PCR直接测序结果

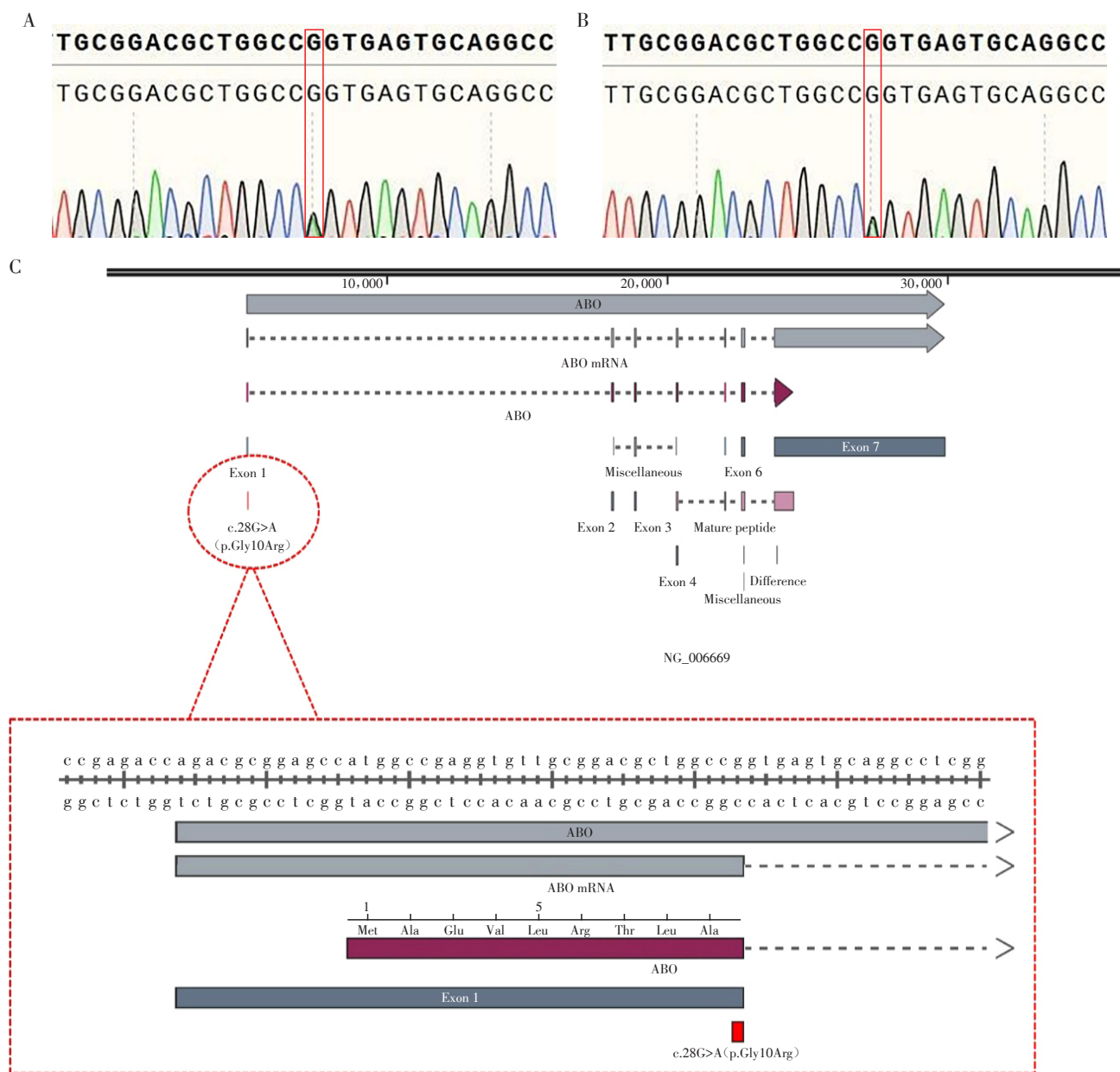
Table 2 ABO genotypes from PCR direct sequencing in three samples

Sample	Nucleotide change	Amino acid substitution	Genotype	Phenotype
Proband	c.28G>A	p.Gly10Arg	*Novel mutation	A1/Bweak
	c.297A>G		ABO*B.01	
	c.467C>T	p.Pro156Leu	ABO*A1.02	
	c.526C>G	p.Arg176Gly	ABO*B.01	
	c.657C>T	p.Gly235Ser	ABO*B.01	
	c.703G>A	p.Leu266Met	ABO*B.01	
	c.796C>A	p.Gly268Ala	ABO*B.01	
	c.803G>C	Synonymous mutation	ABO*B.01	
	c.930G>A	Synonymous mutation	ABO*B.01	
Proband's mother	c.28G>A	p.Gly10Arg	Novel mutation	A1/Bweak
	c.297A>G	Synonymous mutation	ABO*B.01	
	c.467C>T	p.Pro156Leu	ABO*A1.02	
	c.526C>G	p.Arg176Gly	ABO*B.01	
	c.657C>T	p.Gly235Ser	ABO*B.01	
	c.703G>A	p.Leu266Met	ABO*B.01	
	c.796C>A	p.Gly268Ala	ABO*B.01	
	c.803G>C	Synonymous mutation	ABO*B.01	
	c.930G>A	Synonymous mutation	ABO*B.01	
Proband's father	c.106G>T	p.Val36Phe	ABO*O.01.02	A1/O
	c.188G>A	p.Arg63His	ABO*O.01.02	
	c.189C>T		ABO*O.01.02	
	c.220C>T	p.Pro74Ser	ABO*O.01.02	
	c.261delG	p.Thr88Profs	ABO*O.01.02	
	c.297A>G			
	c.467C>T	p.Pro156Leu	ABO*A1.02	
	c.646T>A	Synonymous mutation	ABO*O.01.02	
	c.681G>A	Synonymous mutation	ABO*O.01.02	
	c.771C>T	Synonymous mutation	ABO*O.01.02	
	c.829G>A	Synonymous mutation	ABO*O.01.02	

c.28G>A在ABO基因中的位置见图1C。

为阐明该突变的致病机制,本研究进行了一系列生物信息学分析(图2)。从NCBI获取不同物种ABO基因同源序列,使用Jalview软件进行多序列比对,多物种序列比对结果显示,ABO糖基转移酶第10位的甘氨酸(Gly10)在人、黑猩猩、小鼠、大鼠、牛、狗等多种哺乳动物中完全保守(图2A),表明该位点在漫长的进化过程中承受了强大的纯化选择压力,对维持蛋白质的正常功能至关重要。PolyPhen-2预测p.Gly10Arg为“良性”(评分0.064),提示其不直接破

坏蛋白质结构功能。ESEfinder预测显示,c.28G>A突变创建了1个新的SC35蛋白结合位点,其评分从野生型的4.63(低于阈值)显著提升至突变型的5.06(超过4.67的阈值)(图2B)。RNAfold预测显示,野生型与突变型序列的最小自由能均为-29.70 kcal/mol,二级结构未见显著变化(图2C)。TMHMM跨膜拓扑预测显示,第10位氨基酸(p.Gly10)明确位于胞质侧,表明c.28G>A突变不改变蛋白质的跨膜拓扑结构(图2D、E)。IUPred2A-ANCHOR预测提示,突变后胞质尾区的蛋白相互作用倾向性评分略有增加



A: Chromatogram of the proband showing the c.28 site. B: Chromatogram of the proband's mother at the c.28 site. C: Schematic diagram of the ABO gene structure. The region within the red dashed box is magnified, indicating the location of the c.28G>A mutation at the terminus of exon 1.

图1 ABO基因c.28G>A突变测序结果

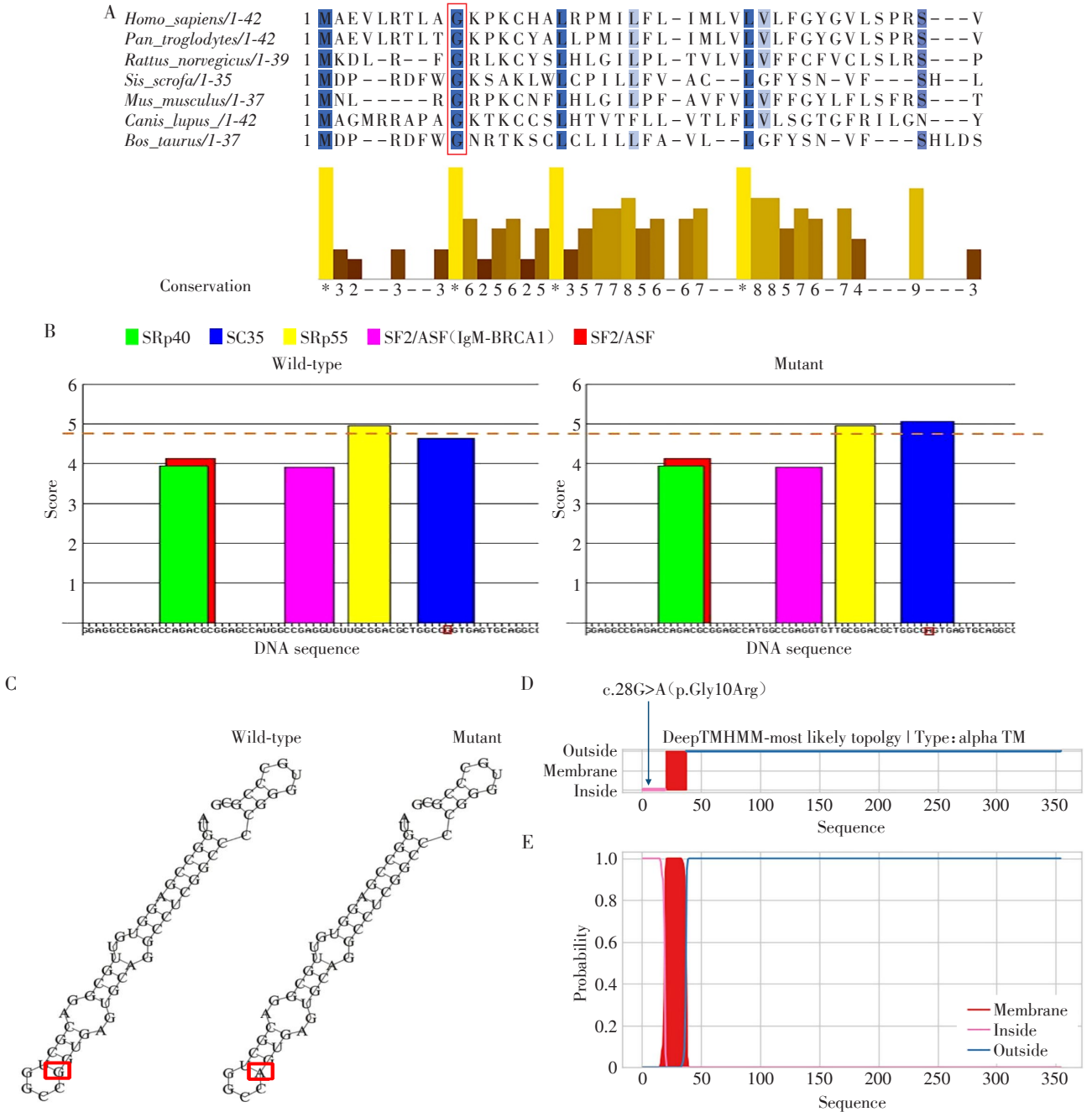
Figure 1 Sanger sequencing results of the ABO gene revealing the c.28G>A mutation

(从0.048 5上升至0.061 5)。

2 讨论

ABO血型基因位于人类第9号染色体(9q34.1-

34.2)上,长度19.5 kb,cDNA长度为1 062 bp,编码353个氨基酸,含7个外显子,其中第6、7外显子包含77%的基因编码序列,也包括了91%的糖基转移酶催化区域序列^[1,6],目前绝大多数研究报道和发现



A: Analysis of evolutionary conservation across multiple species. Sequence alignment shows that the glycine at position 10(p.Gly10) is completely conserved in the listed mammalian species (indicated by the red box). B: Prediction of splicing regulatory elements by ESEfinder. The mutation leads to the creation of a new binding site for the SC35 protein, with its score exceeding the default threshold (dashed line). C: Local RNA secondary structure predicted by RNAfold. D: Schematic of the most likely topology. This panel illustrates the overall topology model predicted for the RhD protein sequence as an alpha-helical transmembrane protein(alpha TM). The black arrow precisely indicates that the p.Gly10Arg mutation site is located within the N-terminal cytoplasmic tail. E: Posterior probabilities for membrane topology. This panel displays the predicted probability for each amino acid position in the sequence.

图2 c.28G>A突变生物信息学分析

Figure 2 Bioinformatics analysis of the c.28G>A mutation

主要是在这2个外显子编码序列上^[7-8]。ABO亚型的分子遗传基础非常复杂,涉及ABO基因编码区的单核苷酸变异、插入/缺失以及启动子、增强子或剪切位点等调控元件的突变,这些变异可通过影响糖基转移酶的活性、稳定性或表达量,最终导致抗原表型的改变^[9-12]。但是近年来也有诸多关于非编码区及非催化区域基因突变导致ABO血型抗原表达异常的报道^[13-14]。这些突变可能通过影响转录效率、mRNA剪接或蛋白翻译后加工等机制导致抗原弱表达,极大地拓展了对ABO血型系统遗传多样性的认知。本研究通过家系调查、基因测序与生物信息学分析,在中国人群中鉴定了一个由ABO血型基因第1外显子c.28G>A突变导致的新型A1Bweak亚型,并从RNA剪接调控层面深化了对ABO基因非催化区突变致病机制的理解。第1外显子编码的N端胞质尾区和跨膜区,虽不直接参与催化,但对于糖基转移酶在内质网和高尔基体中的正确锚定、空间构象以及与其他分子的相互作用至关重要^[15-16]。先证者及其母亲均携带c.28G>A杂合突变且表现一致的A1Bweak表型,而其未携带该突变的父亲表型正常,符合常染色体共显性遗传规律,形成了基因型与表型共分离的有力证据。

在机制探讨层面,生物信息学分析构建了一个从进化保守性到分子通路的清晰证据链。首先,进化保守性分析表明第10位甘氨酸在多个哺乳动物中高度保守,提示该位点对维持蛋白功能至关重要,其变异易产生表型后果。随后,TMHMM跨膜拓扑预测提供了一个关键信息:该突变位于蛋白质的胞质尾区,且不改变其固有的跨膜结构。这一发现与PolyPhen-2的“良性”预测相结合,共同排除了该突变通过破坏蛋白质跨膜定位或三维结构而直接损害酶活性的可能性。上述发现将研究焦点转向转录后调控层面。本研究揭示,c.28G>A突变可能通过创建1个新的SC35剪接因子高亲和力结合位点来发挥作用。SC35(SRSF2)作为重要的SR蛋白家族成员,主要通过结合外显子剪接增强子(exonic splicing enhancer, ESE)促进剪接位点的识别和使用^[17]。本研究中新生成的ESE位点位于第1外显子末端,且它紧邻第1个内含子的5'剪接位点。本研究推测,这一新位点可能通过异常招募剪接因子,竞争性干扰下游内含子的正常剪接,或诱导产生隐匿剪接位点,最终导致部分内含子滞留或外显子跳跃,生成含有部分内含子序列或缺失关键编码区的异常转录本。尽管RNAfold预测显示其并未改变局

部RNA二级结构的稳定性,但异常剪接增强子的出现,很可能通过扰乱剪接复合体的正常组装动力学,最终导致剪接效率下降。这一生物信息学预测与已发表的minigene实验证据相互印证^[5],共同将抗原减弱机制明确地指向“RNA剪接异常”。然而,本研究主要依赖生物信息学预测和家系关联分析,虽有文献支持,但本研究并未对先证者mRNA进行直接测序以捕获其体内真实的剪接产物,这是本研究的局限。

从临床诊断的角度看,本研究的发现具有重要实践价值。传统的ABO亚型分子检测多聚焦于第6、7外显子的催化结构域,而本研究结果表明,对于位于第1外显子等非催化编码区且涉及高度保守位点的突变,应充分考虑其对RNA剪接的潜在影响。对于在编码区发现的“同义”或“良性”错义突变,若其位于外显子末端或靠近剪接位点,也应当评估其对RNA剪接的潜在影响,以避免误判。因此,在临床ABO定型疑难病例中,有必要拓展检测范围,并结合生物信息学工具进行综合评估,这对于精准诊断、保障输血安全具有积极意义。

利益冲突声明:

所有作者均声明不存在任何可能影响本研究成果的财务或个人利益冲突。

Conflict of Interests:

All authors declare no financial or personal interests that could have influenced the work reported in this paper.

作者贡献声明:

王雅茹负责实验操作,论文初稿撰写;任晓艳负责数据分析;蔡忠鹤负责数据整理;李萌负责数据审核;何婷负责研究构思,项目指导,论文最终审阅与定稿。

Author's Contributions:

WANG Yaru was responsible for experimental performance, writing original draft; REN Xiaoyan was responsible for data analysis; CAI Zhonghe was responsible for data curation; LI Meng was responsible for data verification; HE Ting was responsible for research conception, project supervision, review and editing.

[参考文献]

- [1] ABEGAZ S B. Human ABO blood groups and their associations with different diseases [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 6629060
- [2] YING Y L, HONG X Z, XU X G, et al. Molecular basis of ABO variants including identification of 16 novel ABO subgroup alleles in Chinese Han population [J]. *Transfus Med Hemother*, 2020, 47(2): 160-166
- [3] YAMAMOTO F. A historical overview of advances in molecular genetic/genomic studies of the ABO blood group

- system[J]. *Glycoconj J*, 2022, 39(2): 207–218
- [4] FENNEL K, KELLER M A, VILLA M A, et al. New ABO intron 1 variant alleles [J]. *Immunohematology*, 2021, 37(4): 178–184
- [5] CAI X H, QIAN C R, WU W M, et al. An exonic missense mutation c. 28G>A is associated with weak B blood group by affecting RNA splicing of the ABO gene [J]. *Transfusion*, 2017, 57(9): 2140–2149
- [6] YAMAMOTO F. Molecular genetics and genomics of the ABO blood group system [J]. *Ann Blood*, 2021, 6: 25
- [7] 李晓健, 黄象艳, 武文, 等. ABO 基因第 7 外显子 c.940A>G 变异致 A W37B 亚型及其家系的调查分析 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2021, 38(5): 496–498
LI X, HUANG X, WU W, et al. Identification and pedigree analysis for an A W37B subtype due to c. 940A>G variant of ABO gene [J]. *Chinese Journal of Medical Genetics*, 2021, 38(5): 496–498
- [8] 刘建成, 邵峰, 步晓筠, 等. 基因测序方法在 ABO 血型鉴定中的应用 [J]. *重庆医学*, 2024, 53(11): 1690–1694
LIU J, SHAO F, BU X, et al. Application of gene sequencing method in ABO blood group identification [J]. *Chongqing Medical Journal*, 2024, 53(11): 1690–1694
- [9] 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, SHI L, LI H, et al. c. 955C>G variation causing ABO allelic enhancement phenomenon: a case and literature review [J]. *Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine*, 2022, 24(2): 147–150
- [10] 雷航, 王学锋, 程晓文, 等. ABO 血型变异的分子基础研究 [J]. *中国输血杂志*, 2024, 37(4): 385–391
LEI H, WANG X, CHENG X, et al. Molecular mechanism of ABO blood group variation [J]. *Chinese Journal of Blood Transfusion*, 2024, 37(4): 385–391
- [11] 孙文杰, 何婷, 韩军, 等. 20 例 ABO 血型抗原表达异常样本的血型基因分析 [J]. *南方医科大学学报*, 2021, 41(9): 1431–1435
SUN W, HE T, HAN J, et al. Genetic analysis of weakened expression of ABO blood group antigen in 20 cases [J]. *Journal of Southern Medical University*, 2021, 41(9): 1431–1435
- [12] 李艳, 周丽玲, 马肇泽, 等. 25 例 B 亚型/AB 亚型的 ABO 基因序列分析 [J]. *临床输血与检验*, 2024, 26(6): 787–791
LI Y, ZHOU L, MA Z, et al. Genotypic identification and sequence analysis of B/AB subtypes in 25 Cases [J]. *Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine*, 2024, 26(6): 787–791
- [13] SHAO L, MA L, XIAO J Y, et al. PacBio third-generation sequencing detects a new variant, c. 27delC, in exon 1 of the ABO gene resulting in a weak B phenotype [J]. *Transfus Med*, 2025, 35(1): 103–105
- [14] KONG Y, WANG L, KONG C, et al. A novel c. 29-3C>G variant on the B allele forms the B_a phenotype [J]. *Transfusion*, 2024, 64(7): E28–E29
- [15] SELTSAM A, BLASCZYK R. Missense mutations outside the catalytic domain of the ABO glycosyltransferase can cause weak blood group A and B phenotypes [J]. *Transfusion*, 2005, 45(10): 1663–1669
- [16] HATA Y, KOMINATO Y, TAKIZAWA H, et al. Transcription starting from an alternative promoter leads to the expression of the human ABO histo-blood group antigen [J]. *Transfusion*, 2003, 43(5): 656–662
- [17] HOWARD J M, SANFORD J R. The RNAissance family: SR proteins as multifaceted regulators of gene expression [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2015, 6(1): 93–110
(收稿: 2025-10-27; 修回: 2025-12-16; 录用: 2025-12-26)
(本文编辑: 陈汐敏)