

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

گروه های خونی انسانی

(جلد اول)

مترجم :

جهانگیر عبدی

کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون

سازمان انتقال خون ایران

زیر نظر:

دکتر سهیلا ناسی زاده

متخصص آسیب شناسی تشریحی و بالینی

سازمان انتقال خون ایران



سازمان انتقال خون ایران
مرکز تحقیقات

تهیه و تدوین در انتشارات مرکز تحقیقات

سازمان انتقال خون ایران

سرشناسه : دانیلز ، جف

Daniels, Geoff

عنوان و پدیدآور: گروه های خونی انسانی / { جف دانیلز } : مترجم: جهانگیر عبدی زیر نظر سهیلا ناسی زاده.

مشخصات نشر: تهران : زهد : ۱۳۸۶.

مشخصات ظاهری : ۲ج: مصور ، جدول، نمودار

شابک : (دوره ۵) 978-964-2740-05-8 (۲.ج) 978-964-2740-04-8 (۱.ج) 978-964-2740-06-2

وضعیت فهرست نویسی : فیپا.

یادداشت : عنوان اصلی Human Blood Groups, 2 nd, 2002 .

یادداشت : کتابنامه .

موضوع : خون - - گروه ها.

شناسه افزوده: عبدی ، جهانگیر، ۱۳۴۸

شناسه افزوده : ناسی زاده ، سهیلا، ۱۳۳۵-

رده بندی کنگره : ۱۳۸۶ ۴ ۲۴۴ QA98.

رده بندی دیویی : ۶۱۲ / ۱۸۲۵

شماره کتابخانه ملی : ۱۰۵۶۳۷۵

گروه های خونی انسانی

(جلد اول)

مترجم: جهانگیر عبدی

(کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون)

زیر نظر : دکتر سهیلا ناسی زاده

(متخصص آسیب شناسی تشریحی و بالینی)

ناشر: انتشارات زهد با همکاری مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

نوبت چاپ : اول، پاییز ۸۶

شمارگان : ۱۸۰۰ نسخه

لیتوگرافی، چاپ و صحافی : مؤسسه فرهنگی انتشاراتی زهد

شابک دوره ۵ : ۹۷۸-۹۶۴-۲۷۴۰-۰۵

شابک جلد اول : ۹۷۸-۹۶۴-۲۷۴۰-۰۶-۲

قیمت : ۵۲۰۰ تومان

نشانی : تهران - بزرگراه شیخ فضل الله نوری - بزرگراه شهید همت - جنب برج میلاد

www.ibto.ir

سازمان انتقال خون ایران

فهرست مطالب

پیشگفتار.....	iiiv
دیباچه	ix xi
مقدمه مؤلف	xi
مقدمه مترجم	i xi
برخی علائم اختصاری بکار رفته در کتاب	xv و xvi
۱- گروه های خونی انسانی : مقدمه ، اصطلاحات ، و عملکرد	۱
۲- سیستم های ABO ، Hh و لوئیس	۱۳
بخش ۱ : تاریخچه و مقدمه	۱۴
بخش ۲ : بیوشیمی ، توارث و بیوستیز آنتی ژنهای ABH و لوئیس	۱۷
بخش ۳ : سیستم های ABO ، Hh و سکر تور	۴۷
بخش ۴ : سیستم لوئیس	۱۱۶
بخش ۵ : توزیع بافتی ، ارتباطات با بیماری ، و جنبه های عملکردی	۱۳۱
۳- سیستم گروه خونی MNS	۱۶۹
۴- گروه های خونی P	۳۰۱
۵- سیستم گروه خونی Rh	۳۳۹

کاشکی هستی، زبانی داشتی تا ز هستان پرده ها برداشتی
هرچه گوئی دم هستی از آن پرده ای دیگر بر او بسته بدان «مولانا»

سپاس خداوند یکتا و آفریدگار توانا را که همه خوبی ها از اوست و بزرگی سزاوار او. رشته ایمنوهماتولوژی در زمره آن دسته از علوم پزشکی است که امروزه تحولات قابل توجه خود بویژه در زمینه های مولکولی را پشت سر می گذارد و شاهد پیشرفت روزافزون این حیطه از علم، چه از جنبه پایه ای و چه بالینی در گوشه و کنار جهان هستیم. بدون شک بیماری ها و اختلالات متعددی وجود دارند که مکانیسم های ایمنوهماتولوژیک بخشی از پاتورنز آنها را توضیح می دهد و لازمه تشخیص، درمان و پیگیری آنها پرداختن به آزمایشات تخصصی در زمینه ایمنوهماتولوژی و بانک خون است. کتاب حاضر که حاصل تلاش، دقت و نظارت کارشنا سان سازمان انتقال خون ایران است، ترجمه متن انگلیسی *Human Blood Groups* می باشد که باید پذیرفت یکی از کامل ترین منابع موجود در زمینه ایمنوهماتولوژی و بانک خون است، و مترجم و ناظر محترم این کتاب ضمن بکارگیری اصول صحیح نگارش سعی در امانت داری و حفظ محتوی علمی آن نموده اند. از طرفی نظر به کمبود منابعی از این قبیل در کشورمان، مطالعه این کتاب را به کلیه متخصصین، پزشکان، دانشجویان و کارشناسان علوم آزمایشگاهی بخصوص محققینی که در زمینه ایمنوهماتولوژی و بانک خون تلاش می کنند، توصیه می نمایم.

در پایان امیدوارم که این کتاب مورد استفاده بهینه علاقه مندان این رشته از علم قرار بگیرد و بتواند بعنوان دست آوردی نوین راهگشای پاره ای از مشکلات علمی سر راه دانشمندان و اندیشمندان این مرز و بوم باشد.

دکتر حسن ابوالقاسمی

مدیر عامل سازمان انتقال خون ایران

دیباچه

از این که پذیرای این کتاب جدید پیرامون گروه های خونی انسانی هستم، درخود لذت خاصی حس می کنم، بویژه اینکه کتاب مذکور از نشریات *واحد گروه خون شورای تحقیقات پزشکی* است. این واحد در طی ۲۵ سال تمامی تلاش و توان خود را صرف تحقیقات پیرامون آنتی ژنهای جدید گلبول قرمز و بکارگیری آنتی ژنهای قبلاً شناخته شده در موارد متعدد، بویژه در زمینه ژنتیک انسانی نموده است. در طی این سالها بنده و آقای راب ریس^۱ شش دوره چاپ کتاب *گروه های خونی در انسان* را به ثمر رساندیم.

در سال ۱۹۷۳ با بازنشستگی دکتر ریس^۲، آقای دکتر ژئوف دانیلز^۳ به واحد گروه خون ملحق گردید، که اندکی بعد، همزمان با انتقال واحد از انستیتو لیستر^۴ به کالج دانشگاه، دامنه علائق و گرایشات واحد وسعت یافت. بنده با اینکه از گروه های خونی کاملاً جدا شده و در طی دوازده سال بازنشستگی به شغل دیگری روی آورده ام، از پیشرفت های سریع در سال های اخیر بسیار خوشنود و متعجب می باشم. تعداد لوکوس های گروه خونی تا ۲۳ عدد افزایش یافته است و جایگاه کروموزومی همه آنها، بجز یک مورد، شناسایی شده است. پایه های بیوشیمیایی اکثر آنتی ژنهای مربوط به این لوکوس ها توصیف شده و به همین دلیل چندین آنتی ژن با شیوع کم و زیاد درون سیستم هایی جمع آوری شده اند. اساس مولکولی بسیاری از آنتی ژنهای گلبول قرمز، ارتباطات سرولوژیکی گیج کننده ای که چندین سال قبل مشاهده شدند را تفهیم نموده است.

به آقای دکتر ژئوف دانیلز به خاطر توان و حوصله قابل توجه ایشان در خلق چنین متن جامع و کتاب مرجع در باره گروه های خونی انسانی، که درقبال آن بسیاری از دانشمندان سپاسگذار خواهند بود، باید تبریک گفت.

رات سانگر^۵

دسامبر ۱۹۹۴

1 - Rob Race
2- Dr.Race
3 - Dr.Geoff Daniels
4 - Lister Institute
5 - Ruth Sanger

هدف اولیه این کتاب، همچون چاپ اول کتاب، توصیف آنتی ژنهای گروه خونی انسانی و توارث آنها، ساختار و عملکرد ماکرومولکولهای غشاء گلبول قرمز که حامل این آنتی ژنها هستند، و ژنهایی که آنها را رمزدهی کرده و یا بیوسنتز آنها را کنترل می نمایند، می باشد. بعلاوه این کتاب اطلاعاتی را در خصوص ارتباط بالینی گروه های خونی و بویژه اهمیت آنتی بادی های گروه خونی در طب انتقال خون فراهم می نماید. چاپ اول **گروه های خونی انسانی** در سال ۱۹۹۵ انتشار یافت، این چاپ جدید هفت سال بعد ظهور یافته است. در طول آن هفت سال یافته های جدید بسیاری در جهان گروه خونی حاصل شده است، لذا بخش عمده چاپ اول بازنویسی شده است. برای اینکه از خسته کنندگی کتاب جلوگیری شود، هدف من (نویسنده کتاب) ایجاد چاپ دوم با تقریباً همان اندازه چاپ اول بوده است. من سعی نموده ام که این عمل را انجام دهم بدون اینکه چیز خیلی مهمی را حذف کنم، بلکه موضوعات جدید بسیار زیادی را در کتاب بگنجانم، هرچند که این کار بسیار دشوار بوده است. در طی هفت سال گذشته، پیشرفت های عمده ای که در علم گروه های خونی انسانی حاصل شده اند عمدتاً شامل ژنتیک مولکولی بوده است. به استثناء سیستم های گروه خونی P، RAPH، Scianna و احتمالاً P، ژنهای مربوط به دیگر سیستم های گروه خونی کلون شده و پایه های مولکولی تقریباً تمامی پلی مرفیسم ها شناخته شده اند. در حال حاضر بخش بیوشیمی و بیولوژی مولکولی در ابتدای اکثر فصول وجود دارد، بطوری که هرگاه متعاقباً پلی مرفیسم های سرولوژیک و واریان ها توضیح داده می شوند، می توان آنها را به همراه تغییرات ژنتیکی مسبب آنها توصیف نمود. موضوع دیگری که سرعت پیشرفت نموده است اهمیت بیولوژیک پروتئین های سطح گلبول قرمز می باشد. بنابراین، در چاپ دوم تاکید بیشتری را در مقایسه با چاپ اول روی جنبه های عملکردی بعمل آورده ام.

مایلم که مجدداً مراتب تشکر و قدردانی خود را از کلیه افرادی که بنده را در به نتیجه رساندن چاپ اول کمک نمودند، بویژه پاتریسیا تپت^۱، کارول گرین^۲، و ژوان دانیلز^۳ بعمل آورم. از زمانی که چاپ اول منتشر گردید، واحد گروه خون شورای تحقیقات پزشکی تعطیل شد و من به انستیتوی علوم انتقال خون بریستول^۴ منتقل شدم. مشتاقم که از دیوید آنستی^۵ به خاطر حمایت اینجانب در زمان تهیه این چاپ جدید تشکر نمایم. افتخار دارم که پیشگفتار ارائه شده در چاپ اول را که از سوی رات سانگر نوشته شد در اینجا حفظ نمایم. رات سانگر مؤلف کتاب گروه های خونی در انسان در شش دوره چاپ بود، که چند هفته قبل از ارسال دست نوشته این چاپ دوم جهت انتشار، محزونانه فوت نمودند.

1 - Patricia Tippet

2 - Carole Green

3 - Joan Daniels

4 - Bristol Institute for Transfusion Sciences

5 - David Anstee

به نام آنکه جان را فکرت آموخت

سپاس خداوند دو جهان را که به بنده حقیر استطاعت فرمود تا بتوانم یکی از کاملترین منابع تخصصی در زمینه علم ایمنوهماتولوژی به نام **Human Blood Groups** را به زبان فارسی برگردانم که در دو جلد به چاپ خواهد رسید. جلد اول که مشتمل بر پنج فصل است به بحث پیرامون سیستم های گروه خونی ABH، لوئیس، Rh و P می پردازد، در جلد دوم نیز سایر گروه های خونی شامل لوتران، Kidd، Kell، دافی و... مورد بحث قرار می گیرد و امیدوارم که توانسته باشم محتویات علمی کتاب مذکور را در خور بینش علمی دوستداران، دانشجویان و متخصصین این زمینه ترجمه نمایم، آنچنانکه بعنوان یک دست آورد علمی جدید با هدف ارتقاء سطح علمی مورد استفاده قرار گیرد. این مهم را بدون شک مرهون دقت و تلاش دلسوزانه استاد بزرگوارم سرکار خانم دکتر ناسی زاده هستم که بی وقفه کار ویراستاری علمی و ادبی و مطابقت کامل ترجمه و متن اصلی را به انجام رسانده اند. در ضمن وظیفه خود می دانم که از زحمات بیدریغ مدیر کل محترم انتقال خون استان لرستان جناب آقای دکتر حمیدرضا معظمی گودرزی در پیگیری مراحل اولیه تصویب، هماهنگی های ضروری با معاونت آموزشی و پژوهشی سازمان و همکاری های ایشان در جهت رفع موانع، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم. از معاونت محترم آموزشی و پژوهشی سازمان جناب آقای دکتر قره باغیان به خاطر تصویب ترجمه کتاب و پذیرش چاپ آن نهایت تشکر را دارم و همینطور زحمات جناب آقای دکتر کریمی مدیریت محترم پژوهشی سازمان در زمینه راهنمایی های ضروری در این خصوص را ارج می نهیم.

با توجه به اینکه هر دو جلد کتاب چندین بار با متن اصلی مطابقت داده شده تا میزان خطاهای تایپ و ترجمه به حداقل برسد اما با این اوصاف احتمال وجود خطاهای نوشتاری، ادبی و تایپی همواره وجود خواهد داشت، لذا از شما خواننده گرامی درخواست می گردد در صورت مشاهده هر گونه غلط املائی یا ترجمه ای و یا هر گونه پیشنهاد در این خصوص، آن را به آدرس پست الکترونیک زیر ارسال نمائید تا در چاپ بعدی کتاب اصلاح گردد، بدون شک شما با این عمل ما را در ارتقاء هر چه بیشتر کیفیت ترجمه، حفظ و امانت داری محتوی علمی این کتاب که ما حاصل چندین سال تحقیق و تلاش مستمر جناب آقای ژئوف دانیلز (Geoff Daniels) می باشد، یاری خواهید نمود.

e-mail: soheila_nasizadeh @ yahoo.com

در پایان ذکر این نکته را برای خوانندگان محترم ضروری می دانم که بخش عمده این مجموعه نتیجه مطالعات انجام شده از سوی مؤلف و محققین و همکاران مختلف ایشان بوده است، لذا بیشتر افعال بکار رفته مربوط به زمان گذشته می باشند. نکته ای دیگر اینکه در کتاب لاتین از ذکر کلمه دالتون بعد از اوزان مولکولی، که به کرات در سراسر فصول و بخش ها بیان شده اند، خودداری شده است، در متن ترجمه شده نیز ضمن رعایت این اصل، هر جا که لازم دیده شده به منظور فهم بهتر مطلب کلمه دالتون ذکر گردیده است.

جهانگیر عبدی

خرداد ۱۳۸۶

بعضی از علائم اختصاری بکار رفته در کتاب

ADP	Adenosine diphosphate	آدنوزین دی فسفات
ATP	Adenosine triphosphate	آدنوزین تری فسفات
AET2	aminoethylisothiuronium bromide	۲- آمینواتیل ایزوتیوارونیوم بروماید
AIDS	Acquired immunodeficiency syndrome	سندرم نقص ایمنی اکتسابی
AIHA	Autoimmune hemolytic anemia	کم خونی همولیتیک اتوایمیون
BFU-E	Burst-forming unit-erythroid	واحد سازنده توده کلنی-اریتروئید
bp	base pair	جفت باز
CDA	Congenital dyserythropoietic anemia	کم خونی دیس اریتروپوئیتیک مادرزادی
CGD	Chronic granulomatous disease	بیماری گرانولوماتوز مزمن
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid	مکمل DNA
CFU-E	Colony-forming unit-erythroid	واحد کلنی ساز-اریتروئید
CFU-GM	Colony-forming unit-granulocyte/macrophage	واحد کلنی ساز-گرانولوسیت/ماکروفاژ
CFU-MK	Colony-forming unit-megakaryocyte	واحد کلنی ساز-مگاکاریوسیت
DAT	Direct antiglobulin test(direct antiglobulin reaction)	آزمایش آنتی گلوبولین مستقیم
DHTR	Delayed hemolytic transfusion reaction	واکنش همولیتیک تاخیری انتقال خون
DL	Donath-Landsteiner	آنتی بادی دونات-لنداشتاینر
DNA	Deoxyribonucleic acid	دی اکسی ریبونوکلیک اسید
DTT	Dithiothreitol	دی تیوتریتول
EBV	Ebstein-Barr virus	ویروس ابشتین بار
EST	Expressed sequence tag	برچسب توالی بیان شده
GDP	Guanosine diphosphate	گوانوزین دی فسفات
GPI	Glycosylphosphatidylinositol	گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول
HCF	Hytatid cyst fluid	مایع کیست هیداتید

HDN	Hemolytic disease of the newborn	بیماری همولیتیک نوزاد
IHTR reaction	Immediate hemolytic transfusion reaction	واکنش همولیتیک فوری انتقال خون
ISBT Transfusion	International Society of Blood Transfusion	انجمن بین المللی انتقال خون
kb	Kilobase	کیلوباز
LISS	Low ionic-strength solution	محلول دارای قدرت یونی کم
MAIEA	monoclonal antibody-specific immobilization of erythrocyte antigens	تثبیت آنتی ژنهای اریتروسیتهی به کمک آنتی بادی مونوکلونال اختصاصی
M_r	relative molecular mass(or molecular Weight)	جرم مولکولی نسبی (یا وزن مولکولی)
mRNA	Messenger ribonucleic acid	پایامبر RNA
PAS	Periodic acid-schiff	پریدیک اسید شیف
PCR	Polymerase chain reaction	واکنش زنجیره ای پلیمرز
PCH	Paroxysmal cold hemoglobinuria	هموگلوبینوری حمله ای سرد
PNH	Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	هموگلوبینوری حمله ای شبانه
RFLP polymorphism	Restriction fragment-length polymorphism	پلی مرفیسم طول قطعه محدود شده
RNA	Ribonucleic acid	ریبونوکلئیک اسید
RT-PCR	Reverse transcriptase-polymerase chain reaction	واکنش زنجیره ای پلیمرز-ترانسکریپتاز معکوس
SAO	South-East asian ovalocytosis	اوالوسیتوز آسیای جنوب شرقی
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulphate-poly acrylamide gel electrophoresis	الکتروفورز با ژل پلی آکریلامید در حضور سدیم ددسیل سولفات
SNP	Single nucleotide polymorphism	پلی مرفیسم تک نوکلئوتیدی
SSEA	Stage-specific embryonic antigen	آنتی ژن رویانی ویژه مرحله (تکامل)
UDP	Uridine diphosphate	اوریدین دی فسفات

فصل ۱

گروههای خونی انسانی

۱-۱ مقدمه

۲-۱ اصطلاحات گروه خون

۳-۱ ساختار و عملکرد آنتی‌ژن‌های گروه خونی

۱-۱ مقدمه

تعریف یک گروه خونی چیست؟ با بیانی ساده، هر گونه تغییر یا پلی مرفیسم را که در خون ظاهر می‌گردد، می‌توان گروه خون نامید. در هر حال اصطلاح گروه خون معمولاً به آنتی‌ژن‌های سطح سلول‌های خونی و عموماً گلبول‌های قرمز محدود می‌گردد. این کتاب روی تغییرات موروثی در پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدهای غشاء گلبول‌های قرمز انسانی متمرکز شده است. این تغییرات از طریق آلوآنتی‌بادی‌ها که به شکل طبیعی در اثر ایمونیزاسیون با آنتی‌ژن‌های پراکنده در طبیعت بوجود می‌آیند و یا نتیجه آلو ایمونیزاسیون با گلبول‌های قرمز انسانی، معمولاً ناشی از انتقال خون یا حاملگی، می‌باشند شناسایی می‌گردند. گرچه تشخیص پلی مرفیسم در پروتئین‌های سطح گلبول قرمز با روش‌های دیگر (نظیر تجزیه و تحلیل توالی DNA انسانی) نیز امکان پذیر است، اما چنین تغییراتی را نمی‌توان گروه خون نامید مگر اینکه توسط یک آنتی‌بادی شناسایی شده باشند.

گروههای خونی در آغاز قرن بیستم توسط لندشتاینر^۱ [۲۱] کشف شدند، وی در آن زمان متوجه شد که پلاسمای بعضی افراد گلبول‌های قرمز افراد دیگر را آگلوتینه می‌کند. در طول ۴۵ سال بعدی، فقط آنتی‌بادی‌هایی که مستقیماً گلبول‌های قرمز را آگلوتینه می‌کردند، قابل مطالعه و بررسی بودند. با تکامل آزمایش آنتی گلوبین در سال ۱۹۴۵ [۳۴] توسط کومبس، مورانت و ریس^۲، امکان شناسایی آنتی‌بادی‌هایی که مستقیماً آگلوتینه نمی‌کنند نیز میسر گردید و سرولوژی گروههای خونی پا به عرصه ظهور نهاد. در حال حاضر حدود ۲۷۰ آنتی ژن گروه خونی تایید شده موجود می‌باشند که اکثر آنها در یکی از ۲۶ سیستم گروه خونی جای می‌گیرند. سیستم شامل گروهایی از آنتی‌ژن‌ها است که از لحاظ ژنتیکی مستقل بوده توسط یک ژن منفرد و یا خوشه‌ای از ۲ یا ۳ ژن همسان (هومولوگ^۳) مرتبط، کنترل می‌گردند (جدول ۱-۱).

1 - Landsteiner

2 - Coomb's , Moorant , and Race

3 - homologous

جدول ۱-۱. سیستم‌های گروه خونی

No.	Name	Symbol	No. of antigens	Associated membrane structures	Gene name(s)	Chromosome
001	ABO	ABO	4	Carbohydrate	<i>ABO</i>	9
002	MNS	MNS	43	GPA (CD235A), GPB (CD235B)	<i>GYPA, GYPB, GYPE</i>	4
003	P	P1	1	Carbohydrate	<i>P1</i>	22
004	Rh	RH	46	RhD (CD240D), RhCcEe (CD240CE)	<i>RHD, RHCE</i>	1
005	Lutheran	LU	18	CD239, IgSF	<i>LU</i>	19
006	Kell	KEL	24	CD238, endopeptidase	<i>KEL</i>	7
007	Lewis	LE	6	Carbohydrate	<i>FUT3</i>	19
008	Duffy	FY	6	CD234, chemokine receptor	<i>FY</i>	1
009	Kidd	JK	3	Urea transporter	<i>SLC14A1</i>	18
010	Diego	DI	21	Band 3, anion exchanger (CD233)	<i>SLC4A1 (AE1)</i>	17
011	Yt	YT	2	Acetylcholinesterase	<i>ACHE</i>	7
012	Xg	XG	2	Glycoproteins, including CD99	<i>XG, MIC2</i>	X/Y
013	Scianna	SC	3	Glycoprotein	<i>SC</i>	1
014	Dombrock	DO	5	ADP-ribosyltransferase?	<i>DO</i>	12
015	Colton	CO	3	Aquaporin-1	<i>AQP1</i>	7
016	Landsteiner-Wiener	LW	3	ICAM-4, IgSF, CD242	<i>LW</i>	19
017	Chido/Rodgers	CH/RG	9	C4A, C4B (C')	<i>C4A, C4B</i>	6
018	Hh	H	1	CD173 (Type 2 H), carbohydrate	<i>FUT1</i>	19
019	Kx	XK	1	Protein	<i>XK</i>	X
020	Gerbich	GE	7	GPC, GPD (CD236)	<i>GYPE</i>	2
021	Cromer	CROM	10	CD55, DAF, C' regulator	<i>DAF</i>	1
022	Knops	KN	7	CD35, CR1, C' regulator	<i>CR1</i>	1
023	Indian	IN	2	CD44	<i>CD44</i>	11
024	Ok	OK	1	CD147, EMMPRIN, IgSF	<i>CD147</i>	19
025	Raph	RAPH	1	Glycoprotein	<i>MER2</i>	11
026	John Milton Hagen	JMH	1	CDw108, semaphorin	<i>SEMA7A</i>	15

C', complement; IgSF, immunoglobulin superfamily.

بعضی از این سیستم‌ها بویژه Rh و MNs فوق العاده پیچیده می‌باشند.

اکثر آنتی‌ژن‌های گروه خونی توسط خود گلبول قرمز ساخته می‌شوند، اما آنتی‌ژن‌های سیستم لوئیس و چیدو / روجرز، از پلاسما بر سطح گلبول‌های قرمز جذب می‌گردند. بعضی از آنتی‌ژن‌های گروه خونی فقط در سطح گلبول‌های قرمز شناسایی شده‌اند و بعضی‌ها در تمام بدن یافت می‌شوند و بهتر است که آنتی‌ژن‌های گروه خونی - بافتی نامیده شوند.

بررسی بیوشیمیایی آنتی‌ژن‌های گروه خونی انسان نشان داده است که آنها را می‌توان در دو نوع اصلی قرار داد:

- ۱- شاخص‌های پروتئینی که نمایانگر محصولات اولیه ژن‌های گروه خونی هستند
- ۲- شاخص‌های کربوهیدراتی روی گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها، که در آنها محصول ژن‌های کنترل کننده بیان آنتی ژن، آنزیم‌های گلیکوزیل ترانسفراز می‌باشند.

بعضی از آنتی‌ژن‌ها از طریق توالی اسید آمینه یک گلیکوپروتئین مشخص می‌شوند، اما شناسایی سرولوژیکی آنها بستگی به حضور کربوهیدرات دارد. در سال‌های اخیر تکنیک‌های ژنتیک مولکولی وارد عرصه مطالعه سیستم‌های گروه خونی انسانی شده‌اند و در حال حاضر اکثر ژن‌های حاکم بر این سیستم‌ها کلون و تعیین توالی شده‌اند (جدول ۱-۱). اکنون بسیاری از پیچیدگی‌هایی که در آزمایشات سرولوژیک گروههای خونی بواسطه مکانیسم‌های متعددی همچون جهش نقطه‌ای، کراسینگ اورنابرابر، تبدیل ژنی و پیرایش^۱ نامناسب RNA توضیح داده می‌شوند، توجیه شده‌اند.

کشف گروههای خونی ABO برای نخستین بار، انتقال خون را امکان پذیر ساخت و سپس شناخت کامل آنتی‌ژن‌های Rh منجر به درک و متعاقباً پیشگیری از بیماری همولیتیک نوزاد (HDN)^۲ گردید. گرچه ABO و Rh مهمترین سیستم‌های گروه خونی در طب انتقال خون محسوب می‌شوند، بسیاری از آنتی‌بادی‌های دیگر سیستم‌های گروه خونی نیز قادر به ایجاد واکنش همولیتیک انتقال خون (HTR)^۳ یا HDN می‌باشند. آنتی‌ژن‌های (گروه خونی) گلبول قرمز بعنوان ابزارهای مهمی در پزشکی قانونی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، گرچه این نقش آنها با آزمایش HLA^۴ کاهش یافته و حتی اخیراً جای خود را به «اثر نگاری DNA»^۵ داده است. در طول سالیان متمادی، گروههای خونی بهترین مارک‌های ژنتیکی بوده و نقش عمده‌ای را در نقشه برداری از ژنوم انسانی ایفا نموده‌اند.

هنوز از گروههای خونی دانستنی‌های زیادی هست که بیاموزیم. به خاطر اینکه گلبول‌های قرمز به راحتی در دسترس هستند و انجام آزمایشات هم‌آگلوتیناسیون راحت می‌باشد، با رفع پیچیدگی سیستم‌های گروه خونی به کمک ژنتیک مولکولی، اطلاعات زیادی در در ارتباط با ساختار و ژنتیک پروتئین‌ها و لیپیدهای غشاء گلبول قرمز حاصل شده است. همچنین اطلاعات قابل توجهی پیرامون مکانیسم‌های مسئول ایجاد تنوع در ساختار پروتئین‌ها و ماهیت پاسخ ایمنی علیه پروتئین‌های با اشکال مختلف (که ناشی از تغییرات در توالی اسید آمینه است)، کسب خواهد شد.

۱-۲ اصطلاحات مربوط به گروه خون

در آخر دو قلوها متولد می‌شوند که قابل توصیف نیستند، زیرا ما باید مطمئن شویم که قل اشتباه را

توصیف ننموده‌ایم (J.M.Barrie)

مشکل برقراری یک سیستم نامگذرای منطقی و جهان پسند، تقریباً از زمان کشف سیستم ABO سرولوژیست‌های گروه خون را سر سخت نموده است. قبل از هر گونه پیشروی بیشتر باید بفهمیم که

1 - Splicing
2 - Hemolytic Disease of the Newborne
3 - Hemolytic Transfusion Reaction
4 - Human Leukocyte Antigen
5 - DNA fingerprinting

گروههای خونی چگونه نامگذاری می شوند و چگونه درون سیستم ها، کلکسیون ها و سری ها طبقه بندی می شوند.

۱-۲-۱ یک سیستم نامگذاری که بصورت بین المللی پذیرفته شده است

گروه فعال انجمن بین المللی انتقال خون^۱ با حوضه مطالعه روی آنتی ژن های سطح گلبول قرمز در سال ۱۹۸۰ به منظور برقراری یک سیستم هماهنگ نامگذاری (که هم با چشم و هم با کامپیوتر خوانده شود) تاسیس گردید. بخشی از فعالیت این گروه، ایجاد روند نامگذاری موافق با اساس ژنتیکی گروههای خونی بود و لذا مجموعه ای از اصطلاحات اصولاً بر پایه سیستم های گروه خونی، طراحی گردید. در ابتدا سیستم ها و آنتی ژن های موجود در آنها شماره گذاری شدند، سپس به آنتی ژن های با فراوانی کم و زیاد شماره اطلاق گردید و سپس در سال ۱۹۸۸ کلکسیون ها معرفی شدند. شماره ها مجدداً تکرار نمی شوند: آنتی ژن هایی که بخشی از یک سیستم یا کلکسیون می شوند، یک شماره جدید می گیرند و شماره اصلی آنها متروک می گردد.

آنتی ژن های گروه خونی در ۲۶ سیستم، ۵ کلکسیون و ۲ سری طبقه بندی می شوند. اهمیت این طبقات، و اصول کلی که مبنای اصطلاحات ISBT می باشد، در زیر توضیح داده خواهد شد. گروه فعال یک مونوگراف را در سال ۱۹۹۵ به منظور توصیف اصطلاحات ایجاد نمود [۵] که اخیراً به روز درآمده دارای یک Website می باشد: <http://www.iccbb.com/page25.htm>

۱-۲-۲ علائم مربوط به آنتی ژن، فنوتیپ، ژن و ژنوتیپ

به هر آنتی ژن گروه خونی تایید شده، یک شماره شناسایی ۶ رقمی داده میشود. سه رقم اول نشانگر سیستم (001-026)، کلکسیون (205-210) و یا سری (700 برای فراوانی کم و 901 برای فراوانی زیاد) می باشند، سه رقم دوم نیز آنتی ژن را نمایش می دهند. بعنوان مثال، سیستم لوتران دارای شماره 005 است لذا Lu^a اولین آنتی ژن این سیستم، شماره 005001 دارد. علاوه بر این هر سیستم دارای یک علامت الفبایی نیز هست: مثلاً در مورد لوتران Lu می باشد، بنابراین Lu^a نیز $Lu001$ و یا در صورت حذف صفرهای اضافی، $LU1$ خواهد بود.

در مورد فنوتیپ ها، به دنبال علامت سیستم ابتدا دو نقطه و سپس فهرستی از آنتی ژن های موجود که هر کدام توسط یک ویرگول از هم جدا شده اند، می آیند.

اگر آنتی ژنی وجود نداشته باشد، قبل از شماره آن یک علامت منفی می آید. بعنوان مثال، $LU(a-b+)$ بصورت $LU:-1,2$ نوشته می شود. ژن ها علامت سیستم را دارند و به دنبال آنها یک فضا یا علامت ستاره می آید، و سپس بعد از این علامت نیز شماره آنتی ژن که معرف آن ژن است قرار می گیرد. بعنوان مثال،

تعلق دارد. ژنهای تنظیم کننده ممکن است تجلی آنتیژن‌ها در بیش از یک سیستم را تحت تاثیر قرار دهند In(Lu): بیان آنتیژن‌ها در سیستم‌های لوتران و P را کاهش می‌دهد. جهش‌ها در RHAG مسئول ایجاد فنوتیپ Rhnull می‌باشند اما ممکن است باعث عدم بروز آنتیژن‌های MNSsU و Fy5 نیز گردند. بنابراین فقدان یک آنتی ژن در گلبول‌های فنوتیپ null، اصلاً یک شاهد کافی برای اختصاص به یک سیستم نمی‌باشد. چهار سیستم متشکل از بیش از یک لوکوس ژنی می‌باشند: MNSs شامل سه لوکوس می‌باشد، Rh و Xg و چیدو/ روجرز هر کدام دو لوکوس دارند.

۱-۲-۴ کلکسیون‌ها

کلکسیون‌ها در سال ۱۹۸۸ وارد اصطلاحات مربوط به گروههای خونی شدند تا مجموعه‌ای از آنتیژن‌ها را که از لحاظ ژنتیکی، بیوشیمیایی و یا سرولوژیکی بهم مرتبط بودند و در آن زمان وضعیت یک سیستم را نداشتند، در کنار هم قرار بدهند. بعنوان مثال، قبل از ایجاد کلکسیون کرومر، آنتیژن‌های آللیک: Tc^a, Tc^b, Tc^c به ترتیب دارای شماره‌های 900020, 700035, 700036 و WES^b و WES^a نیز دارای شماره‌های 700042, 900033 بودند، با این حال هر پنج آنتیژن روی یک ماکرومولکول قرار دارند. این آنتیژن‌ها به همراه پنج آنتیژن دیگر که از لحاظ سرولوژیکی و بیوشیمیایی بهم مرتبط بودند کلکسیون کرومر را ایجاد نمودند. در ابتدا این آنتیژن‌ها نمی‌توانستند سیستم کرومر باشند، زیرا مشخص نشده بود که از لحاظ ژنتیکی متمایز از تمامی سیستم‌های موجود هستند که این خود یک دوره زمانی دو ساله را می‌طلبید.

یازده کلکسیون ایجاد شده‌اند که شش تا از آنها بعداً بعنوان لایستعمل اعلام شده‌اند: کلکسیون‌های Gerbich(201) و Cromer(202) و Indian(203) در حال حاضر به صورت سیستم در آمده‌اند. (204)Auberger, (211)Wright, (206)Gregory به ترتیب در سیستم‌های لوتران، دیگو و دمبروک ادغام شده‌اند (جدول ۱-۳).

جدول ۱-۳. کلکسیونهای گروه خونی

شماره	نام	نشان	شماره آنتیژن‌ها
205	Cost	COST	2
207	li	I	2
208	Er	ER	2
209	گلوبوزید	GLOB	3
210	Le^c و Le^d		2

۱-۲-۵ آنتی‌ژن‌های با شیوع کم، سری 700

آنتی‌ژن‌های گلبول قرمز که قابل تخصیص به هیچ سیستم یا کلکسیون نیستند و در اکثر جمعیت‌های آزمایش شده شیوع کمتر از ۱٪ دارند یک شماره 700 می‌گیرند (جدول ۱-۲۷). امروزه سری 700 از ۲۲ آنتی‌ژن تشکیل شده است، در حال حاضر سی و دو شماره 700 بدون استفاده اعلام شده‌اند زیرا آنتی‌ژن‌های مربوط به آنها یا درون سیستم‌ها جای گرفته‌اند و یا بعلاوه وجود معرف‌ها، دیگر قابل توصیف نمی‌باشند.

۱-۲-۶ آنتی‌ژن‌های با شیوع کم، سری 901

در ابتدا ژن‌های با فراوانی بالای ۹۹٪ درون یک فایل بزرگ به نام 900 قرار داده می‌شدند، مشابه سری 700 برای آنتی‌ژن‌های با شیوع کم. با ایجاد کلکسیون‌ها چون بسیاری از این شماره‌های 900 بلا استفاده ماندند، کل سری کنار گذاشته شد و چند آنتی‌ژن باقی مانده مجدداً درون یک سری جدید «سری 901» جای داده شدند که در حال حاضر متشکل از یازده آنتی‌ژن می‌باشد (جدول ۱-۲۸).

۱-۲-۷ اصطلاحات گروه خونی بکار رفته در این کتاب

اصطلاحات ISBT یک سیستم نام‌گذاری هماهنگ را برای گروه‌های خونی فراهم می‌نماید که می‌توان آنرا به طور مستمر، نوین و بروز نمود و به منظور نگهداری داده‌ها در کامپیوتر نیز مناسب می‌باشد. گروه فعال که روی این اصطلاحات مطالعه می‌کند، انتظار ندارد که این اصطلاحات عددی در تمامی شرایط استفاده شود، گرچه فهمیدن آنها از نظر کمک به فهم تقسیم‌بندی بر اساس ژنتیک مهم است. در این کتاب نام‌گذاری رایج تر و جایگزین که توسط گروه فعال پیشنهاد شده [۵] استفاده می‌گردد. این منعکس‌کننده عدم اطمینان در اصطلاحات عددی نمی‌باشد، بلکه به سادگی حاکی از این است که اکثر خوانندگان این کتاب با شماره‌های گروه خونی کاملاً آشنا نیستند و در صورتی که اسامی آشنا به کار رود، فهم محتویات کتاب راحت تر خواهد بود.

اصطلاحات شماره‌ای در سراسر متن کتاب در جدول‌ها و در پرانتزها، ارائه خواهد شد. ترتیب فصول این کتاب بر اساس ترتیب سیستم‌های گروه خونی، کلکسیون‌ها و سری‌ها خواهد بود. در هر حال استثنائات معدودی وجود دارند که مشهورترین آنها سیستم‌های ABO، H و لوئیس می‌باشند که هر سه با هم در یک فصل حجیم (فصل ۲) مورد بحث قرار گرفته‌اند زیرا از لحاظ بیوشیمیایی دارای ارتباط نزدیکی می‌باشند.

۳-۱ ساختار و عملکرد آنتی‌ژن‌های گروه خونی

در طول نیم قرن بعد از اکتشاف لنداشتاینر، گروههای خونی انسانی غالباً به عنوان الگوهایی از واکنش‌های سرولوژیک موروثی شناخته شده بودند. از دهه ۱۹۵۰ اطلاعاتی از ساختار (آنتی‌ژن‌ها)، ابتدا آنتی‌ژن‌های کربوهیدراتی و سپس پروتئین‌ها، از طریق تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی حاصل گردید. در سال ۱۹۸۶ ژنی که آنتی ژن MN را رمزدهی می کند (GYPA) کلون شد و این عمل به عرصه مولکولی گروههای خونی منتهی گردید. در حال حاضر اطلاعات فراوانی پیرامون ساختار بسیاری از آنتی‌ژن‌های گروه خونی در دست می‌باشد. با این حال دانسته‌های ما از عملکرد آنها فوق العاده کم می‌باشد و قسمت اعظم آنچه را که می دانیم از ساختار آنها استنتاج شده است. جنبه‌های عملکردی آنتی‌ژن‌های گروه خونی در فصول اختصاصی این کتاب گنجانیده شده‌اند، اما در اینجا به صورت اجمالی ارتباط بین ساختار و عملکرد (فرضی) آنها مطرح شده است. این موضوع توسط دانیلز^۱ [۷] نیز بازنگری شده است.

۱-۳-۱ انتقال دهنده‌های غشایی

این عوامل، انتقال مولکول‌های مهم بیولوژیک به داخل و خارج سلول را تسهیل می‌نمایند. در گلبول قرمز آنها پلی توپیک هستند، بعبارت دیگر غشاها را چندین بار طی می‌کنند، دارای پایانه‌های آمینی و کربوکسیلی سیتوپلاسمی هستند، و روی یکی از حلقه‌های بیرونی N- گلیکوزیله شده‌اند. باند ۳، آنتی ژن گروه خونی Diego (فصل ۱۰) یک انتقال دهنده آنیونی است، گلیکوپروتئین Kidd (فصل ۹) یک انتقال دهنده اوره است و گلیکوپروتئین Colton (فصل ۱۵) یک کانال آبی است. پروتئین‌های Rh و گلیکو پروتئین وابسته به Rh (RhAG) دارای ساختمان خاص انتقال دهنده‌های غشایی می‌باشند (بجز اینکه پروتئین‌های Rh گلیکوزیله نیستند). شواهدی حاکی از نقش کمپلکس Rh در انتقال آمونیوم نیز در دست می‌باشد (فصل ۵).

۲-۳-۱ گیرنده‌ها و مولکولهای چسبندگی

گلیکوپروتئین دافی پلی‌توپیک است، اما یک انتهای آمینی خارج سلولی دارد. این پروتئین عضوی از ابرخانواده گیرنده‌های مرتبط با G می‌باشد و ممکن است بعنوان گیرنده‌ای برای کموکاین‌ها عمل نماید (فصل ۸).

گلیکوپروتئین‌های لوتران (فصل ۶)، گلیکوپروتئین LW (فصل ۱۶)، CD147 و گلیکوپروتئین Ok (فصل ۲۲) اعضای ابر خانواده ایمونوگلوبولین^۲ می‌باشند (IgSF). IgSF خانواده‌ای است بزرگ از گیرنده‌ها و مولکول‌های چسبندگی با حوضه‌های تکرار شونده با تعداد متفاوت و خارج

1 -Daniel's

2 -Immunoglobulin Superfamily

سلولی که توالی مشابه با حوضه‌های ایمونوگلوبین دارند. CD47 (فصل ۵) و CD58 (فصل ۱۹) نیز گلیکوپروتئین‌های IgSF در گلبول‌های قرمز هستند، اما فعالیت گروه خونی بروز نمی‌دهند. عملکرد این ساختارهای روی گلبول‌های قرمز مشخص نمی‌باشد، اما ویژگی عملکردی اولیه آنها ممکن است در طول اریتروپوئز تظاهر نماید.

بعضی از آنتی‌ژن‌های سطح گلبول قرمز با ساختارهایی که حاکی از نقش آنها بعنوان گیرنده و مولکول چسبندگی می‌باشد، عبارتند از: CD44 آنتی ژن Indian (فصل ۲۱)، گلیکوپروتئین‌های CD99 و Xg (فصل ۱۲)، CDw180، آنتی ژن گروه خونی JMH (فصل ۲۴) و CDw75 (فصل ۶).

۳-۳-۱ گلیکوپروتئین‌های تنظیم کننده کمپلمان

گلبول‌های قرمز دارای حداقل سه گلیکو پروتئین هستند که نقش آنها تا حدودی حفاظت سلول در برابر کمپلمان خودی است. دو تا از آنها عامل تسریع کننده زوال^۱ (DAF, CD55) که همان گلیکوپروتئین کرومر است (فصل ۱۹) و گیرنده ۱ کمپلمان (CD35, CR1) یا گلیکوپروتئین Knops (فصل ۲۰) به ابرخانواده پروتئین‌های کنترلی کمپلمان تعلق دارند CD59 که مهمترین این گلیکوپروتئین‌ها به منظور حفاظت در برابر کمپلمان خودی می‌باشد، پلی مرفیک نیست و فعالیت گروه خونی ندارد (فصل ۱۹). عملکرد اصلی CR1 گلبول قرمز پیوند یافتن به C3b/C4b پوشیده شده از کمپلکس‌های ایمنی، پردازش و نیز انتقال آنها به کبد و طحال به منظور خارج ساختن آنها از گردش خون می‌باشد.

۳-۳-۲ آنزیم‌ها

دو گلیکو پروتئین گروه خونی دارای فعالیت آنزیمی می‌باشند: گلیکوپروتئین Yt یک استیل کولینستراز است که آنزیمی حیاتی در انتقال پیام‌های عصبی می‌باشد (فصل ۱۱). گلیکوپروتئین Kell یک اندو پیتیداز است که قادر است پیتیدی را که از لحاظ بیولوژیک غیر فعال است شکافته و اندوتلین که یک تنگ کننده فعال عروق است تولید نماید (فصل ۷). نقش این آنزیمها در گلبول‌های قرمز مشخص نمی‌باشد. ساختار گلیکوپروتئین دمبروک حاکی از این است که به خانواده‌ای از ADP-ریبوزیل ترانسفرازها تعلق دارد (فصل ۱۴).

۳-۳-۵ اجزا ساختمانی

شکل وقوام گلبول قرمز توسط اسکلت غشایی که شبکه‌ای از گلیکوپروتئین‌ها در زیرغشا آن است حفظ می‌گردد. دست کم دو گلیکوپروتئین غشایی دارای یک حوضه سیتوپلاسمی طویل می‌باشند که

1-Decay Accelerating Factor

غشا سلول را به اسکلت متصل می سازند. این پروتئین ها عبارتند از: باند ۳ با نام آنتی ژن دیگو^۱ (فصل ۲) و گلیکوپروتئین C همراه با ایزوفرم آن، گلیکوفورین D با نام آنتی ژن های گروه خونی گریچ^۲ (فصل ۱۸). بروز جهش در ژن هایی که این پروتئین ها را کد می کنند می تواند منجر به ایجاد گلبول های قرمز با اشکال غیر طبیعی گردد .

۱-۳-۶ اجزا گلیکوکالیکس

باند ۳ و گلیکوفورین A یا همان آنتی ژن MN (فصل ۳)، هردو فراوانترین گلیکوپروتئین های سطح گلبول قرمز می باشند. N-گلیکان های باند ۳ به همراه N-گلیکان های انتقال دهنده گلوکز، بخش عمده آنتی ژن های ABH گلبول قرمز هستند. آنها نیز بر روی بعضی از گلیکوپروتئین ها و گلیکولیپید های دیگر ظاهر می شوند (فصل ۲). حوزه های خارج سلولی گلیکوفورین A و دیگر مولکول های گلیکوفورینی، به شدت O-گلیکوزیده هستند. کربوهیدرات سطح گلبول قرمز، گلیکوکالیکس یا پوشش سلولی را تشکیل می دهد. این ماتریکس خارج سلولی کربوهیدراتی گلبول را در برابر آسیب مکانیکی و حمله میکروبی حفاظت می نماید.

۱-۳-۷ اهمیت بیولوژیکی پلی مرفیسم گروه خونی چیست؟

در مورد ارزش بیولوژیکی پلی مرفیسم هایی که گروه های خونی را آلوآنتی ژنیک می سازند اطلاعات بسیار اندکی در دست است. در هر پلی مرفیسمی، یکی از آلل ها احتمالاً "به طور انتخابی در یک جمعیت بزرگ فراوانی بیشتر از ۱٪ دارد و یا حداقل در گذشته داشته است. گلیکوپروتئین ها و گلیکولیپید های حامل ویژگی گروه خونی، غالباً از سوی میکروارگانیسم ها به عنوان گیرنده هایی برای اتصال و تهاجم به سلول به کار گرفته می شوند. این مسئله ممکن است به گلبول های قرمز ارتباطی نداشته باشد، هدف انگل می تواند سلول های دیگری باشد که پروتئین را حمل می کنند. احتمال می رود که پلی مرفیسم گروه خونی اساساً تاثیری از تعادل های انتخابی ناشی از جهش هایی باشد که باعث می شوند ساختارهای سطح سلول نتوانند به عنوان گیرنده مورد استفاده پاتوژن قرار گیرند و انگل در پاسخ به این فشارهای انتخابی سازگاری یابد. مهم است این نکته را بخاطر بسپاریم که، هرچند پلی مرفیسم گروه خونی بدون شک ناشی از تاثیرات فشارهای انتخابی است، اما این عوامل ممکن است مدت ها پیش ناپدید شده باشند، بطوری که امید اندکی به شناسایی آنها می رود.

1- Diego

2 -Gerbich

به نقل از چارلز داروین در « منشا گونه‌ها ۱۸۵۹ »: بخش عمده‌ای از سازماندهی هر موجود زنده ناشی از وراثت است و لذا گرچه هر موجود مطمئناً با جایگاه خویش در طبیعت تطابق کامل یافته است، در حال حاضر بسیاری از ساختارها ارتباطات مستقیم و خیلی نزدیک با عادات زندگی امروزی ندارند.

References

- 1 Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lyrischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. *Zbl Bakt* 1900;27:357-66.
- 2 Landsteiner K. Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wien Klin Wschr* 1901;14: 1132-4.
- 3 Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. Detection of weak and 'incomplete' Rh agglutinins: a new test. *Lancet* 1945;ii:15.
- 4 Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for detection of weak and 'incomplete' Rh agglutinins. *Br J Exp Pathol* 1945;26:255-66.
- 5 Daniels GL and members of the ISBT Working Party on Terminology for Red Cell Surface Antigens. Blood group terminology 1995. *Vox Sang* 1995;69:265-79.
- 6 Daniels GL and members of the ISBT Working Party on Terminology for Red Cell Surface Antigens. Reports and guidelines. *Vox Sang* 2001;80:193-6.
- 7 Daniels G. Functional aspects of red cell antigens. *Blood Rev* 1999;13:14-35.

فصل ۲

سیستم‌های ABO، Hh و لوئیس

بخش ۱ - تاریخچه و مقدمه

بخش ۲ - بیوشیمی، توارث و بیوسنتز آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس

۲-۲ ساختمان ABO، لوئیس و آنتی‌ژن‌های مرتبط

۳-۲ بیوسنتز، توارث و ژنتیک مولکولی

بخش ۳ - سیستم‌های ABO، Hh و ترشح کننده (سکرتور)

۴-۲ A_1 و A_2

۵-۲ فراوانی فنوتیپی و ژنی ABO

۶-۲ ترشح آنتی‌ژن‌های ABO و Hh

۷-۲ زیرگروه‌های A

۸-۲ زیرگروه‌های B

۹-۲ A_{mos} و B_{mos}

۱۰-۲ برهم کنش ژن‌های A و B

۱۱-۲ ویژگی‌های مشابه ترانسفرازهای A و B

۱۲-۲ CisAB

۱۳-۲ فنوتیپ‌های دارای نقصان H

۱۴-۲ تغییرات اکتسابی در آنتی‌ژن‌های A، B و H سطح گلبول‌های قرمز

۱۵-۲ آنتی‌بادی‌ها و لکتین‌های ABH

بخش ۴ - سیستم لوئیس

۱۶-۲ آنتی‌ژن‌ها و فنوتیپ‌های Le^b , Le^a

۱۷-۲ فراوانی‌های آنتی‌ژنی، فنوتیپی و ژنی

۱۸-۲ آنتی‌بادی‌های لوئیس

۱۹-۲ دیگر آنتی‌ژن‌های مرتبط با لوئیس

بخش ۵ - توزیع بافتی، ارتباط با بیماری و جنبه‌های عملکردی

۲۰-۲ تجلی آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس بر سطح دیگر سلول‌های خونی و بافت‌ها

۲-۲۱ ارتباط با بیماری

۲-۲۲ جنبه‌های عملکردی

بخش ۱- تاریخچه و مقدمه

در این فصل سه سیستم گروه خونی ABO، Hh و لوئیس توضیح داده می‌شوند (جدول ۱-۲)، هر چند که لوئیس در حقیقت یک سیستم «کسب شده» است، زیرا آنتی‌ژن‌های این سیستم از اجزا ساختاری گلبول قرمز نمی‌باشند بلکه از پلاسما بر سطح آن جذب می‌گردند. این سه سیستم گروه خونی از لحاظ ژنتیکی مجزا می‌باشند اما از آن جهت با هم در یک فصل مورد بحث قرار گرفته اند که از لحاظ فنوتیپی و بیوشیمیایی دارای ارتباط نزدیک می‌باشند و بر هم کنش پیچیده ژن‌ها در چندین لوکوس، ظهور آنتی‌ژن‌های ABO، Hh و لوئیس و دیگر آنتی‌ژن‌های مرتبط با آنها را بر سطح گلبول‌های قرمز و در ترشحات کنترل می‌نماید.

جدول ۱-۲. نشانه گذاری عددی سیستم‌های ABO، لوئیس و Hh و آنتی‌ژن‌های Le^c و Le^d

ABO (system 001)		Lewis (system 007)		Hh (system 018)		Collection 210	
ABO1	A	LE1	Le^a	H1	H	210001	Le^c
ABO2	B	LE2	Le^b			210002	Le^d
ABO3	A,B	LE3	Le^{ab}				
ABO4	A_1	LE4	Le^{bH}				
		LE5	Ale^b				
		LE6	BLe^b				

علم ایمنونوهما‌تولوژی در سال ۱۹۰۰ پا به عرصه ظهور نهاد، زمانی که لنداشتاینر [۱] گزارش نمود که سرم افراد سالم نه تنها دارای اثر آگلوتینه کنندگی بر روی گویچه‌های خونی حیوانی است، بلکه گویچه‌های خونی انسانی از افراد مختلف را نیز آگلوتینه می‌کند. سال بعد لنداشتاینر [۲] نشان داد که بواسطه مخلوط نمودن سرم‌ها و گلبول‌های قرمز افراد مختلف سه گروه A و B و C (که بعداً O نامیده شد) را می‌توان شناسایی نمود. در گروه A، سرم گلبول‌های گروه B (اما نه دیگر گلبول‌های A) و در گروه B، سرم گلبول‌های گروه A (اما نه دیگر گلبول‌های B) را آگلوتینه نمودند و در گروه C (O)

گلبول‌ها توسط هیچ سرمی آگلوتینه نشدند و به نظر می‌رسید که سرم حاوی مخلوطی از دو آگلوتینین باشد که قادر به آگلوتینه نمودن سلول‌های A و B است.

دکاستلو واستورلی^۱ [۳] یک گروه چهارمی (AB) را اضافه نمودند که در آن سلول‌ها توسط سرم تمامی گروه‌ها آگلوتینه می‌شدند و سرم حاوی هیچ آگلوتینینی نبود. افراد بالغ در سرم خود همیشه آگلوتینین‌های A یا B را دارند و این در صورتی است که فاقد آگلوتینوژن مربوطه بر سطح گلبول‌های قرمز خود باشند (جدول ۲-۲).

اپستین واتنبرگ^۲ [۴] پیشنهاد نمودند که گروه‌های خونی ممکن است به ارث برسند و در سال ۱۹۱۰ وان دانگرن و هیرشفلد^۳ [۵] این واقعیت را که وراثت آنتی‌ژن‌های A و B تابع قوانین مندلی است تایید نمودند، بطوری که حضور ژن‌های A و B بر عدم حضورشان غالب می‌باشد. برنشتین^۴ [۶] در سال ۱۹۲۴ نشان داد که فقط سه آلل در یک لوکوس به منظور توصیف وراثت ABO ضروری می‌باشند (جدول ۲-۲).

جدول ۲-۲. سیستم ABO در ساده ترین سطح آن

ABO group	Antigens on red cells	Antibodies in serum	Genotype
O	None	Anti-A,B	O/O
A	A	Anti-B	A/A or A/O
B	B	Anti-A	B/B or B/O
AB	A and B	None	A/B

بعضی از افراد گروه A نوعی آنتی‌بادی تولید می‌کردند که گلبول‌های قرمز اکثر دیگر افراد گروه A را آگلوتینه می‌نمود. لذا گروه A به دو زیر گروه A_1 و A_2 تقسیم شد و تئوری سه آللی برنشتین توسط تامسن و همکاران^۵ [۸] به چهار آلل: A^1 و A^2 و B و O بسط داده شد (بخش ۲-۴). در حال حاضر بسیاری از زیر گروه‌های نادر A و B شناسایی شده اند (بخش‌های ۲-۷ و ۲-۸).

-
- 1 - Decastello and Sturli
 2 - Epstein and Ottenberg
 3 - von Dungern and Hirschfeld
 4 - Bernstein
 5 - Thomsen et al.

فهم و درک ما از ساختمان و بیوسنتز آنتی‌ژن‌های ABO، H و لوئیس کامل شده است که مدیون کار پیشگامانه مورگان و واتکینز^۱ [۹ و ۱۰] و کابات^۲ [۱۱] در سال ۱۹۵۰ می‌باشیم. آنتی‌ژن‌های A و B شاخص‌های کربوهیدراتی در گلیکوپروتئین‌ها و لیپوپروتئین‌ها می‌باشند و وجه افتراق آنها ماهیت یک مونوساکارید غالب ایمنی انتهایی است: N-اسیتیل-گالاکتوزآمین در گروه A و گالاکتوزدر گروه B

ژن‌های A و B گلیکوزیل ترانسفرازها را کد می‌کنند که به نوبه خود انتقال قند غالب ایمنی اختصاصی را از یک دهنده نوکلئوتیدی به یک سوبسترای پذیرنده (آنتی‌ژن H) کاتالیز می‌نمایند. ژن O هیچ ترانسفراز فعالی را تولید نمی‌کند (بخش‌های ۲-۲ و ۳-۲). توالی ژن‌های A و B نشان می‌دهد که اختلاف ترانسفرازهای A و B در چهار اسید آمینه است. ژن O، شایعترین ژن، دارای یک حذف نوکلئوتیدی است و پروتئینی ناقص را کد می‌کند.

آنتی‌ژن H توسط یک گلیکوزیل ترانسفراز، که محصول یک ژن مستقل از ABO (ژن *FUT1*) می‌باشد، سنتز می‌گردد. افراد بسیار معدودی که فاقد ژن H می‌باشند بر سطح گلبول‌های قرمز هیچ آنتی‌ژن H ندارند، لذا قادر به تولید آنتی‌ژن‌های A یا B نخواهند بود ولو اینکه محصولات آنزیمی ژن‌های A یا B موجود باشند (بخش ۲-۱۳).

آنتی‌ژن H در ترشحات بدن حدود ۸۰٪ افراد وجود دارد. حضور آن در ترشحات تحت کنترل یک ژن (*FUT2*) مستقل از ژن *FUT1* اما دارای ارتباط نزدیک با آن می‌باشد. افرادی که آنتی‌ژن H را ترشح می‌کنند در صورتی که ژن‌های ABO را داشته باشند، آنتی‌ژن‌های A یا B را نیز وارد ترشحات بدن خود می‌نمایند. افراد غیر ترشح کننده H، آنتی‌ژن‌های A یا B را ترشح نخواهند کرد ولو اینکه این آنتی‌ژن‌ها بر سطح گلبول‌هایشان ظاهر شده باشند (بخش ۲-۶). ترشح آنتی‌ژن H در تعیین فنوتیپ‌های لوئیس نیز اهمیت دارد.

اولین دو مورد آنتی‌بادی‌های ضد لوئیس، که بعدها آنتی-Le^a نامیده شد، در سال ۱۹۴۶ توسط مورانت^۳ [۱۲] توضیح داده شدند. این آنتی‌بادی‌ها گلبول‌های قرمز حدود ۲۵٪ افراد انگلیسی را آگلوتینه نمودند. آندرسن^۴ [۱۳] به آنتی‌بادی دیگری، که بعدها آنتی-Le^b نامیده شد، دست یافت که شاخصی را که فقط بر سطح گلبول‌های قرمز افراد بالغ Le(a-) وجود داشت شناسایی می‌نمود.

شش درصد بالغین گروه O فاقد هر دو آنتی‌ژن بودند. گرچه Le^a و Le^b توسط گلبول قرمز سنتز نمی‌شوند بلکه از پلاسما بر سطح آنها جذب می‌گردند، اما بدین دلیل بعنوان آنتی‌ژن‌های گروه خونی در

1 - Morgan and Watkins

2 - Kabat

3 - Mourant

4 - Andresen

نظر گرفته می‌شوند که نخستین بار بر سطح گلبول‌های قرمز شناسایی شدند. اصطلاحات Le^a و Le^b همراه کننده هستند زیرا این آنتی‌ژن‌ها آللیک نمی‌باشند.

ژن لوئیس ($FUT3$) گلیکوزیل ترانسفرازی را رمزدهی می‌کند که افزوده شدن یک ریشه فوکوز به آنتی‌ژن H در ترشحات را کاتالیزمی‌نماید تا آنتی‌ژن Le^b تولید شود و یا در صورتی که H موجود نباشد (غیرسکرتور) به ماده پیشساز H اضافه می‌کند تا Le^a تولید گردد. در نتیجه از آنجایی که این ترکیبات از پلاسما برروی غشاء گلبول قرمز جذب می‌شوند، گلبول‌های قرمز اکثر ترشح کنندگان H، $Le(a-b+)$ و اکثر غیر ترشح کنندگان $Le(a+b-)$ هستند. ترانسفراز لوئیس همچنین قادر است ماده A را به ALe^b و B را به BLE^b تبدیل نماید. حدود ۶٪ افراد سفید پوست و ۲۵٪ افراد سیاه‌پوست برای یک ژن خاموش در لوکوس لوئیس هموزیگوت می‌باشند و چون آنزیم‌های لوئیس را تولید نمی‌کنند دارای گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ بوده و در ترشحاتشان فاقد ساختارهای لوئیس می‌باشند (بخش‌های ۲-۳ و ۱۶). در آسیا فنوتیپ $Le(a+b+)$ گلبول قرمز شایع است که این ناشی از وجود یک آلل ضعیف سکرتور می‌باشد (بخش‌های ۲-۳-۶).

آنتی‌ژن‌های Le^c و Le^d بعنوان پیشساز آنتی‌ژن‌های لوئیس مطرح می‌شوند و به مقدار زیاد در پلاسمای افراد $Le(a-b-)$ موجود می‌باشند. Le^e روی گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ افراد غیر ترشح کننده H و Le^d روی گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ افراد ترشح کننده H شناسایی می‌شوند. آنتی‌ژن‌های Le^x و Le^y (به عنوان ایزومرهای Le^a و Le^b) به مقادیر قابل توجه روی گلبول‌های قرمز دیده نمی‌شوند.

آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس غالباً به عنوان آنتی‌ژن‌های گروه خونی - بافتی مورد توجه می‌باشند [۱۴]، زیرا ساختارهایی با انتشار وسیع بر سطح سلول‌های اندوتلیال و اکثر سلول‌های پوششی می‌باشند. بواسطه پیچیدگی بر هم کنش‌های ژنی، ماهیت دقیق آنتی‌ژن‌های خونی - بافتی بیان شده، درون بافت‌های مختلف یک شخص متغیر می‌باشد (بخش‌های ۲-۲۰).

ژن ABO روی کروموزم شماره ۹ و ژن‌های $FUT1$ و $FUT2$ و $FUT3$ روی کروموزم شماره ۱۹ واقع شده‌اند (فصل ۳۲).

بخش ۲ - بیوشیمی، توارث و بیوسنتز آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس

۲-۲ ساختمان آنتی‌ژن‌های ABH، لوئیس و آنتی‌ژن‌های مرتبط

آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس ساختارهای کربوهیدراتی هستند و این زنجیره‌های الیگوساکاریدی، عموماً با پلی پیپتدها برای تولید گلیکوپروتئین‌ها و با سرامید بمنظور تولید گلیکواسفنگولیپیدکانژوگه می‌شوند. سنتز این الیگوساکاریدها به طریقی مرحله ای صورت می‌پذیرد و در هر مرحله یک گلیکوزیل ترانسفراز اختصاصی افزوده شدن یک مونوساکارید را کاتالیز می‌نماید. ریشه‌های الیگوساکاریدی مسئول بیان آنتی‌ژن‌های ABH، لوئیس و آنتی‌ژن‌های مرتبط در جدول ۲-۳ و علائم اختصاری مونوساکارید در

جدول ۲-۴ ارائه شده اند. بیوستنز این ساختمان‌ها در بخش ۲-۳ توصیف و در شکل ۲-۱ به صورت دیگرامی ارائه می‌شوند. در مورد بیوشیمی این آنتی‌ژن‌های گروه خونی مقالات بسیار زیادی وجود دارد، اما در این فصل صرفاً پاره‌ای از منابع مربوطه معرفی می‌شوند (منابع ۱۰ و ۱۲ تا ۲۴ پیشنهاد می‌شوند).

۲-۱-۲ گلیکوکانژوگه‌های نمایانگر آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس

دو دسته اصلی از زنجیره‌های کربوهیدراتی روی گلیکوپروتئین‌ها، معرف آنتی‌ژن‌های ABH می‌باشند:

(۱) N-گلیکان‌ها، ساختارهای بسیار منشعب که به نیتروژن آمیدی آسپاراژین از طریق N-استیل-گلوکزآمین متصل می‌گردند.

(۲) O-گلیکان‌ها، ساختارهای ساده یا پیچیده که از طریق N-استیل-گالاکتوز آمین به گروه هیدروکسیل سرین یا ترئونین متصل می‌شوند.

گلیکو اسفنگولیپیدها، از زنجیره‌های کربوهیدراتی متصل به سرامید تشکیل می‌شوند و بر اساس ماهیت این زنجیره در دسته‌های: لاکتو، گلوبو و یا گانگلیو قرار می‌گیرند. آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس مشتق از گلیکواسفنگولیپیدها، غالباً روی گلیکولیپیدهای سری لاکتو مشاهده می‌شوند، گرچه آنتی‌ژن‌های ABH بر روی گلیکولیپیدهای سری گلوبو و گانگلیو نیز شناسایی شده اند. زنجیره کربوهیدراتی اکثر گلیکوپروتئین‌های حامل ABH و گلیکولیپیدهای سری لاکتو، دارای یک ساختار پایه ای پلی-N-استیل لاکتوز آمین می‌باشند، یعنی اینکه از طریق دی ساکاریدهای تکرار شونده می‌یابند (به مثال‌های جدول ۲-۵ مراجعه شود).

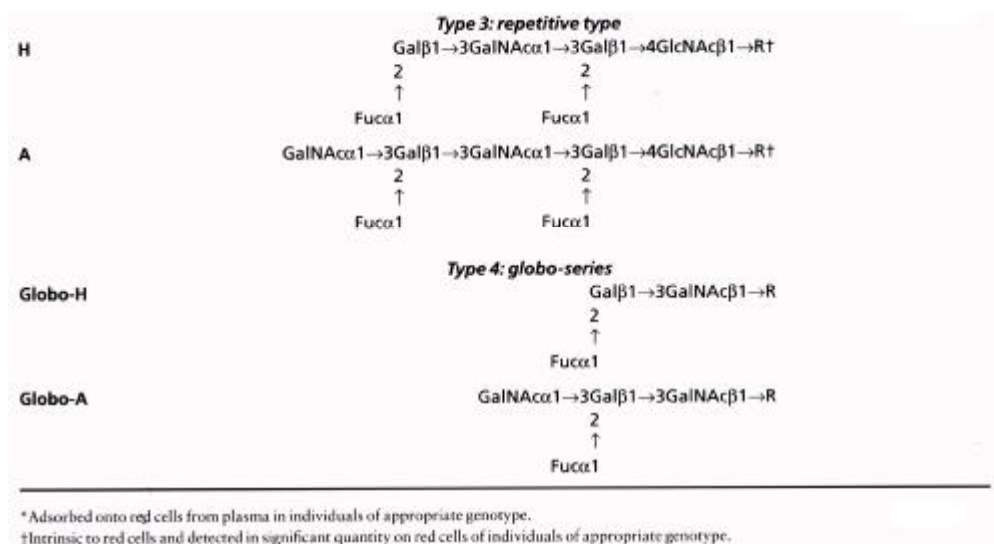
تا قبل از سال ۱۹۸۰ اعتقاد کلی بر این بود که اکثر شاخص‌های آنتی‌ژنی ABH در سطح گلبول‌های قرمز توسط گلیکواسفنگولیپیدها حمل می‌شوند [۱۰ و ۱۵]، اما در سال ۱۹۸۰ متعاقب انتشار گزارشات متعدد، مشخص شد که نقش گلیکولیپیدها، در مقایسه با گلیکوپروتئین‌ها، جزئی می‌باشد [۲۹-۲۵]. بر سطح گلبول‌های قرمز اکثر آنتی‌ژن‌های ABH روی N-گلیکان‌های منفرد و بسیار منشعب پلی-N-استیل لاکتوز آمین مربوط به پروتئین‌های بانده ۳ (پروتئین مبادله کننده یونی) و بانده ۴/۵ (پروتئین انتقال دهنده گلوکز) قرار گرفته اند [۳۰]. در هر گلبول قرمز تقریباً یک میلیون مونومر پروتئین بانده ۳ و نیم میلیون مونومر پروتئین ۴/۵ وجود دارد [۳۱]. گلیکوپروتئین اصلی دیگر گلبول قرمز، گلیکوفورین A، ظاهراً حامل هیچ کدام از آنتی‌ژن‌های ABH نمی‌باشد [۲۹ و ۳۲]، اما این شاخص‌ها بر سطح گلیکوپروتئین مربوط به Rh شناسایی شده اند [۳۳]. آنتی‌ژن‌های لوئیس گلبول‌های قرمز، بر سطح گلیکوپروتئین‌ها ظاهر نمی‌شوند. این آنتی‌ژن‌ها از ساختارهای ذاتی گلبول‌های قرمز نیستند بلکه از پلاسما جذب شده اند. گلیکواسفنگولیپیدهای نوع پلی-N-استیل لاکتوز آمین که

آنتی‌ژن‌های ABH را ظاهر می‌سازند ممکن است دارای زنجیره‌های کربوهیدراتی نسبتاً ساده خطی یا منشعب باشند [۱۵] (جدول ۲-۵) و یا به شکل ساختمان‌های به شدت پیچیده و منشعب به نام پلی‌گلیکوزیل سرامید باشند که به ازاء هر مولکول تا ۶۰ ریشه کربوهیدراتی دارند [۳۴].

تمامی تحقیقات اولیه در جهت شناسایی ساختمان شاخص‌های آنتی‌ژنیک ABH و لوئیس، بر روی ترشحات بدن صورت پذیرفتند، به خصوص مایع پاتولوژیک کیست‌های تخمدانی که به عنوان منبع غنی از مواد محلول A، B، H و شناخته شده بود [۳۵]. آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس گلیکوپروتئین‌هایی هستند متشکل از زنجیره‌های الیگوساکاریدی که از طریق ارتباطات O-گلیکوزیدیک با سرین یا ترئونین، به مولکول‌های موسینی متصل می‌گردند (بمنظور بازنگری به منابع [۹ و ۱۰] مراجعه شود). وزن مولکولی این ماکرو مولکول‌ها از ۲۰۰۰۰۰ تا چندین میلیون متغیر است. الیگوساکاریدهای آزاد با فعالیت ABH و لوئیس در ادرار و شیر نیز یافت می‌شوند [۳۶ و ۳۷]. شاخص‌های آنتی‌ژنیک ABH و لوئیس در پلاسما بر سطح گلیکواسفنگولیپیدها وجود دارند و تعدادی از آنها ممکن است به غشا گلبول قرمز متصل گردند.

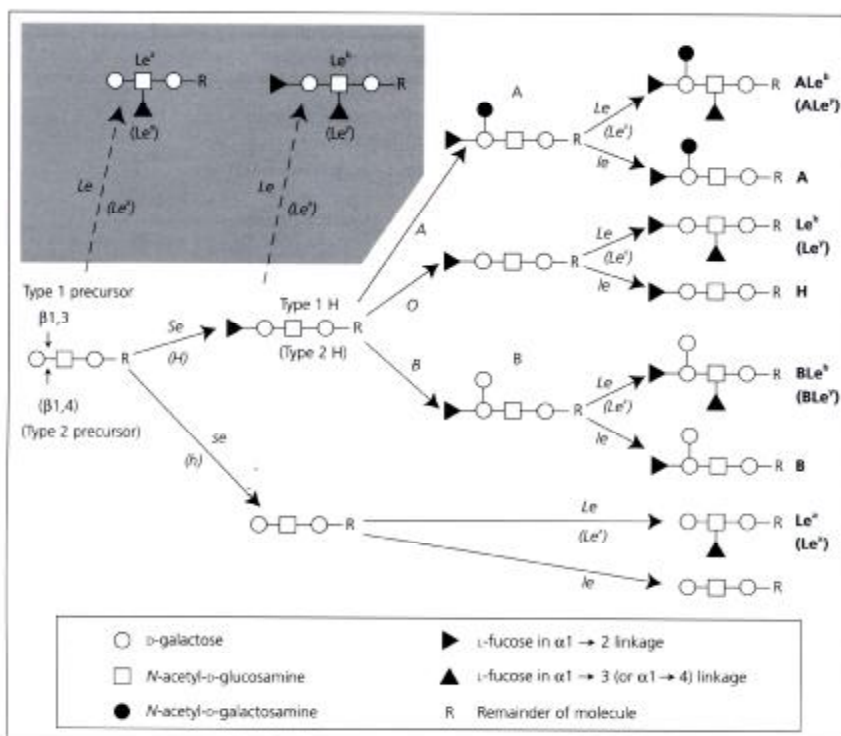
جدول ۲-۳. ساختار A، B، H و آنتی‌ژن‌های وابسته (به منظور آشنایی با علائم اختصاری به جدول ۲-۴ رجوع شود)

Type 1		Type 2	
Precursor (Le^x)	Galβ1→3GlcNAcβ1→R*	Precursor	Galβ1→4GlcNAcβ1→R
H (Le^y)	Galβ1→3GlcNAcβ1→R* 2 ↑ Fuca1	H (CD173)	Galβ1→4GlcNAcβ1→R† 2 ↑ Fuca1
A	GalNAcα1→3Galβ1→3GlcNAcβ1→R* 2 ↑ Fuca1	A	GalNAcα1→3Galβ1→4GlcNAcβ1→R† 2 ↑ Fuca1
B	Galα1→3Galβ1→3GlcNAcβ1→R* 2 ↑ Fuca1	B	Galα1→3Galβ1→4GlcNAcβ1→R† 2 ↑ Fuca1
Le^a	Galβ1→3GlcNAcβ1→R* 4 ↑ Fuca1	Le^x	Galβ1→4GlcNAcβ1→R 3 ↑ Fuca1
Le^b	Galβ1→3GlcNAcβ1→R* 2 4 ↑ ↑ Fuca1 Fuca1	Le^y	Galβ1→4GlcNAcβ1→R 2 3 ↑ ↑ Fuca1 Fuca1
ALe^b	GalNAcα1→3Galβ1→3GlcNAcβ1→R* 2 4 ↑ ↑ Fuca1 Fuca1	ALe^y	GalNAcα1→3Galβ1→4GlcNAcβ1→R 2 3 ↑ ↑ Fuca1 Fuca1
BLe^b	Galα1→3Galβ1→3GlcNAcβ1→R* 2 4 ↑ ↑ Fuca1 Fuca1	BLe^y	Galα1→3Galβ1→4GlcNAcβ1→R 2 3 ↑ ↑ Fuca1 Fuca1
sialyl-Le^a	Galβ1→3GlcNAcβ1→R 3 4 ↑ ↑ NeuAcα2 Fuca1	sialyl-Le^x	Galβ1→4GlcNAcβ1→R 3 3 ↑ ↑ NeuAcα2 Fuca1
Type 3: O-linked mucin type			
Precursor (T antigen)	Galβ1→3GalNAcα1→O-Ser/Thr	H	Galβ1→3GalNAcα1→O-Ser/Thr 2 ↑ Fuca1
A	GalNAcα1→3Galβ1→3GalNAcα1→O-Ser/Thr 2 ↑ Fuca1	B	Galα1→3Galβ1→3GalNAcα1→O-Ser/Thr 2 ↑ Fuca1



جدول ۲-۴. بعضی از علائم اختصاری مربوط به مونوساکاریدها و ساختارهایی که به آنها اتصال می یابند

ASP	Asparagine
Cer	Ceramide
Fuc	L-Fucose
Gal	D-galactose
GalNAc	N-acetyl-D-galactosamine
Glc	Glucose
GlcNAc	N-acetyl-D-galacosamine
Man	Mannose
NeuAc	Sialic acid (N-acetylneuraminic acid)
R	Remainder of molecule
Ser	Serine
Thr	Threonine



شکل ۱-۲. دیاگرام مسیرهای بیوسنتزی آنتی ژنهای ABH، لوئیس، Le^a و Le^b را که از زنجیره‌های مرکزی نوع ۱ و ۲ مشتق شده‌اند، نمایش می‌دهد. ژنهایی که مراحل را در طول مسیر کنترل می‌کنند بصورت ایتالیک (خوابیده) نشان داده شده و محصولات ژنی در جدول ۶-۲ فهرست شده‌اند. پیشسازهای نوع ۱ و ۲ در ماهیت اتصال بین گالاکتوز غیراحیاکننده انتهایی و N-استیل گلوکزآمین با هم تفاوت دارند: 3 → b1 در نوع ۱ و 4 → b1 در نوع ۲. ساختارهای نوع ۱ و ۲ ژنهایی که روی آنها اثر می‌گذارند درون پرانتزها نشان داده شده‌اند. خطوط منقطع نشان می‌دهند که چگونه Le^a(Le^x) و Le^b(Le^y)، که به ترتیب از ساختارهای پیشساز و H تولید می‌گردند، سویسترای ترانسفرازهای H، Se یا ABO نبوده و بدون تغییر می‌مانند.

۲-۲-۲ شاخص‌های کربوهیدراتی

تجلی آنتی‌ژن‌های A، B و H به حضور مونوساکاریدهای اختصاصی که به پیشسازهای دی ساکاریدی مختلف متصل می‌شوند، بستگی دارد. دست کم شش دی ساکارید پیشساز وجود دارند که ساختارهای هسته‌ای محیطی نیز نامیده می‌شوند [به منظور بازنگری به منابع ۱۴، ۱۸، ۲۱، ۲۴ و ۳۸ مراجعه شود]:

نوع ۱- $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow \text{R}$

نوع ۲- $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow \text{R}$

نوع ۳- $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}\alpha 1 \rightarrow \text{R}$

نوع ۴- $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}\beta 1 \rightarrow \text{R}$

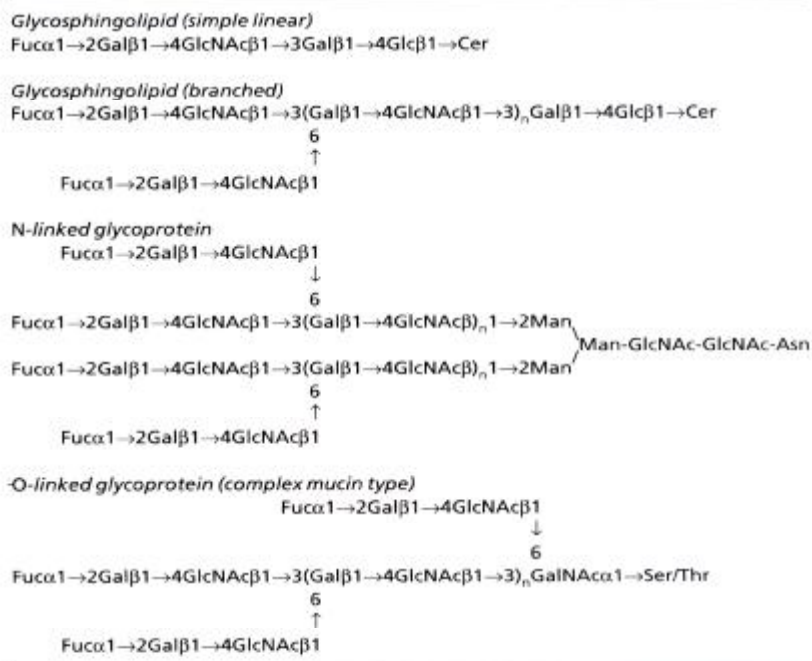
نوع ۵- $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{Gal}\beta 1 \rightarrow \text{R}$

نوع ۶- $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 4\text{Glc}\beta 1 \rightarrow \text{R}$

انواع ۱ تا ۴ و ۶ در انسان‌ها وجود دارند، نوع ۵ صرفاً به طور شیمیایی سنتز شده است. ساختارهای داری فعالیت H، یک آلفا-L- فوکوز دارند که از طریق آلفا به C-2 در گالاکتوز انتهای متصل شده است [۳۹ و ۴۰]، موادی که فعالیت A یا B دارند به ترتیب دارای N-استیل -D- گالاکتوز آمین و D- گالاکتوز می‌باشند که از طریق اتصال آلفا به C3 در گالاکتوز فوکوزیله مذکور متصل می‌شوند (جدول ۲-۳). گرچه فوکوز شاخص آنتی‌ژنیک کامل H نمی‌باشد، اما قند غالب ایمنی آن هست، زیرا که از دست رفتن آن منجر به از دست دادن فعالیت H می‌گردد. به همین ترتیب N-استیل گالاکتوز آمین قند غالب ایمنی A و گالاکتوز قند غالب ایمنی B می‌باشند.

برای تولید آنتی‌ژن Le^a ، فوکوز باید به N-استیل- گلوکز آمین زنجیره پیشساز نوع ۱ و برای Le^b به ماده H نوع ۱ متصل گردد [۴۵-۴۱]. Le^x و Le^y ایزومرهای نوع ۲ آنتی‌ژن‌های Le^a و Le^b می‌باشند [۴۰، ۴۴، ۴۶ و ۴۷]. قند فوکوز از طریق اتصال $a1 \rightarrow 4$ به N-استیل- گلوکز آمین زنجیره نوع ۱ در ساختمان Le^a و Le^b ، و از طریق اتصال $a1 \rightarrow 3$ به N-استیل- گلوکز آمین زنجیره نوع ۲ در ساختمان Le^x و Le^y متصل می‌گردد. Le^x و Le^y به مقادیر قابل توجهی روی گلبول‌های قرمز وجود ندارند [۴۸]. ساختارهای مونوفوکوزیله Le^a و Le^x ممکن است در نقطه C3 گالاکتوز سیالیه شوند [۵۱-۴۹] (جدول ۲-۳).

جدول ۲-۵. مثالهایی از گلیکوکانزوگه های با فعالیت H که دارای زنجیره های پیشساز نوع ۲ می باشند(به منظور آشنایی با علائم اختصاری به جدول ۲-۴ مراجعه شود)



$n = 0-5$ or more.

ساختارهای نوع ۱ ABH و لوئیس در ترشحات، پلاسما و بافت‌های مشتق از اندودرم وجود دارند [۲۱]. آنها توسط گلبول‌های قرمز سنتز نمی‌شوند، بلکه از پلاسما به غشا گلبول قرمز متصل می‌گردند [۵۲]. آنتی‌ژن‌های لوئیس (Le^b و Le^a) صرفاً روی ساختارهای نوع ۱ وجود دارند.

زنجیره‌های کربوهیدراتی طویل با ساختمان‌های محیطی نوع ۱ عموماً به واسطه دی ساکاریدهای تکرار شونده پلی N-استیل لاکتوزآمین از طریق اتصال $4 \rightarrow b1$ نوع ۲ امتداد می‌یابند [۵۳] (جدول ۲-۵). ساختارهای نوع ۱ طویل با فعالیت Le^b و Le^a را در پلاسما، بویژه در پلاسمای افراد $Le(a+b+)$ [۶۴-۵۴] و در رده سلول‌های سرطانی [۵۷ و ۵۸] شناسایی نموده‌اند.

آنتی‌ژن‌هایی که دارای زنجیره نوع ۲ هستند، الیگوساکاریدهای اصلی گلبول قرمز بوده که فعالیت آنتی‌ژن‌های A و B را دارند و در ترشحات و بافت‌های متعددی که از مزودرم یا اکتودرم مشتق شده‌اند نیز مشاهده می‌گردند [۱۵ و ۲۱]. ساختارهای نوع ۲ در ترشحات بیشتر از اینکه مونوفوکوزیله باشند (A و B و H) دی فوکوزیله هستند (Le^y, Ble^y, Ale^y) [۵۹ و ۶۰].

آنتی‌ژن‌های ABH نوع ۳ به دو شکل وجود دارند: نوع موسینی با اتصال O^۱ و نوع تکرار شونده وابسته به A در نوع موسینی با اتصال O، ماده پیشساز به شکل یک دی ساکارید وجود دارد که با پیوند O-گلیکوزیدی مستقیماً به سرین یا ترئونین در ساختمان موسین متصل می‌گردد [۶۱]. این ماده پیشساز همان آنتی‌ژن مخفی T می‌باشد (به بخش ۳-۱۸-۲ مراجعه شود)، اما در حالت معمول بارز نمی‌گردد، زیرا توسط ریشه‌های اسید سیالیک یا دیگر قندها پوشیده شده است. آنتی‌ژن‌های ABH نوع ۳ (از نوع موسینی با اتصال O) روی گلبول‌های قرمز یافت نمی‌شوند [۶۲]. زنجیره‌های تکرار شونده نوع ۳ روی گلیکو لیپیدهای گلبول‌های قرمز و موسین‌های ترشح شده افراد گروه A موجود می‌باشند. این زنجیره‌ها بدین دلیل محدود به افراد گروه A هستند که برای بیوستز آنها، گالاکتوز از طریق اتصال $3 \rightarrow b1$ به N-استیل گالاکتوزآمین انتهایی یک زنجیره نوع ۲ با فعالیت آنتی‌ژنیک A متصل می‌گردد [۴۸ و ۶۵-۶۲]. این شکل وابسته به A زنجیره نوع ۳ به طور کامل در بخش ۲-۴ مورد بحث قرار می‌گیرد. ساختارهای نوع ۴ ABH فقط روی گلیکولیپیدها وجود دارند. زنجیره پیشساز نوع ۴ از سری گلوبو، از طریق اضافه شدن گالاکتوز انتهایی به گلوبوزید حاصل می‌گردد [۶۶] (آنتی‌ژن P، به فصل ۴ مراجعه گردد). گلوبو- A و گلوبو- H نوع ۴ به مقادیر بسیار جزئی بر سطح گلبول‌های قرمز شناسایی شده‌اند [۶۷ و ۶۸]، اما در بافت کلیه به وفور وجود دارند [۶۸]. گلوبو- B نوع ۴ به مقادیر بسیار کم فقط در کلیه شناسایی شده است [۶۹]. کلیه یک فرد گروه A با فنوتیپ p، که در آن طویل شدن ساختارهای سری گلوبو مهار می‌گردد، فاقد آنتی‌ژن‌های A نوع ۴ بود [۷۰] (به فصل ۴ مراجعه شود). زنجیره‌های نوع ۶ به شکل الیگوساکاریدهای آزاد در شیر [۳۶] و ادرار [۳۷] یافت شده‌اند.

زنجیره‌های کربوهیدراتی درونی، آنتی‌ژن‌های I و i را بروز می‌دهند. در سلول‌های جنینی که زنجیره‌های خطی غالب می‌باشند، آنتی‌ژن i بارز می‌گردد در صورتی که در گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدهای بالغین، زنجیره درونی انشعابات بیشتری را به وجود می‌آورد و آنتی‌ژن I متجلی گردد (به فصل ۲۵ مراجعه گردد).

۳-۲ بیوستز، توارث و ژنتیک مولکولی

در سیستم‌های گروه خونی ABO، Hh و لوئیس، آنتی‌ژن‌ها کربوهیدرات بوده و محصولات اولیه ژن‌هایی که بروز آنها را کنترل می‌کنند نمی‌باشند. زنجیره‌های کربوهیدراتی با افزایش ترتیبی مونوساکاریدهای متعدد ساخته می‌شوند و هر مرحله افزایش طول این زنجیره‌ها توسط یک گلیکوزیل ترانسفراز اختصاصی کاتالیز می‌گردد. این آنزیم انتقال یک مونوساکارید را از دهنده نوکلئوتیدی آن و انتقال، از طریق یک ارتباط گلیکوزیدیک اختصاصی، به سوبسترای پذیرنده آن کاتالیز می‌نمایند. گلیکوزیل ترانسفرازها به عنوان محصولات اولیه ژن‌های ABO، H(FUT1)، Se(FUT2) و Le(FUT3) پذیرفته شده اند (جدول ۶-۲).

جدول ۶-۲. بعضی از ژن‌های گلیکوزیل ترانسفرازی و آنزیم‌هایی که آنها تولید می‌کنند

لوکوس	آلل	ترانسفراز
FUT1(H)	H	آلفا-۱ و ۲-L- فوکوزیل ترانسفراز
	h	هیچ ترانسفرازی تولید نمی‌کند
FUT2(SE)	SE	آلفا-۱ و ۲-L- فوکوزیل ترانسفراز
	se	هیچ ترانسفرازی تولید نمی‌کند
ABO	A	آلفا-۱ و ۳-N- استیل -D- گالاکتوز آمینیل ترانسفراز
	B	آلفا-۱ و ۳-D- گالاکتوزیل ترانسفراز
	O	هیچ ترانسفرازی تولید نمی‌کند
FUT3(LE)	Le	آلفا-۱ و ۴/۳-L- فوکوزیل ترانسفراز
	le	هیچ ترانسفرازی تولید نمی‌کند
FUT4 FUT5 FUT6 FUT7	{	آلفا-۱ و ۳-L- فوکوزیل ترانسفراز
FUT8		آلفا-۱ و ۶-L- فوکوزیل ترانسفراز

برآورد شده است که دست کم صد گلیکوزیل ترانسفراز به منظور سنتز کربوهیدرات‌های شناخته شده انسانی مورد نیاز می‌باشند. ژن‌های تولید کننده اکثر آنها، از جمله ژن‌های سیستم‌های گروه خونی ABO، Hh و لوئیس و ژن ترشح H، کلون شده و توالی آنها مشخص گردیده است. این محصولات ژنی، پروتئین‌های میان غشایی دستگاه گلژی می‌باشند. تمامی این پروتئین‌ها دارای یک ساختار حوضه ای مشترک در ساختمان خود هستند که متشکل از اجزای زیر می‌باشد: یک دم کوتاه سیتوپلاسمی در انتهای آمینی، یک حوضه ۲۰-۱۶ اسید آمینه ای طی کننده غشا و یک منطقه طویل ساقه ای که به دنبال آن یک حوضه بزرگ کاتالیزوری در انتهای کربوکسیلی واقع شده است.

گلیکوزیل ترانسفرازهای محلول در ترشحات ممکن است آنزیم‌های مرتبط با غشا باشند که تحت تاثیر پروتئازهای آندوژن از سطح غشا آزاد شده اند و یا اینکه ممکن است در نتیجه شروع ترجمه mRNA در یک جایگاه نامناسب، فاقد حوزه طی کننده غشا باشند (به منظور بازنگری به منابع ۷۲ و ۷۱ مراجعه شود).

مکانیسم‌های تنظیمی ضروری به منظور تولید زنجیره‌های کربوهیدراتی با توالی‌های اختصاصی، پیچیده می‌باشند. این مکانیسم‌ها شامل حضور یا عدم حضور آنزیم‌های خاص مطابق با ژن‌های بیان شده در بافت‌های متعدد و در مراحل مختلف تکامل و نیز بر اساس ژنوتیپ فرد می‌باشند. رقابت بین ترانسفرازهای مختلف برای یک دهنده نوکلئوتیدی و یا سوبسترای پذیرنده نیز، در تعیین زنجیره‌های کربوهیدراتی تولید شده اهمیت دارد [۱۶].

۲-۳-۱ آنتی‌ژن H

این آنتی‌ژن زمانی تولید می‌شود که آلفا-۱ و ۲-L-فوکوزیل ترانسفراز، انتقال L-فوکوز از یک دهنده گوانوزین دی فسفات^۱ (GDP) - ال-فوکوز به C-2 در گالاتوز انتهایی یکی از ساختارهای ارائه شده در بخش ۲-۲-۲ (جدول ۳-۲، شکل ۱-۲) را کاتالیز نماید. دو آلفا-۱ و ۲-L-فوکوزیل ترانسفراز، که توسط دو ژن *FUT1(H)*، *FUT2(SE)* تولید می‌گردند، بیوسنتز ساختارهای دارای فعالیت H در بافت‌های مختلف را کاتالیز می‌نمایند. ترانسفراز H (محصول ژن *FUT1*) در بافت‌هایی که منشا آندودرمی و مزودرمی دارند فعال می‌باشد، و آنتی‌ژن H گلبول قرمز را تولید می‌نماید. ترانسفراز SE (محصول ژن *FUT2*) در بافت‌های با منشا اکتودرم فعال است و مسئول تولید آنتی‌ژن محلول H در ترشحات می‌باشد (بمنظور بازنگری به منبع ۷۲ رجوع شود).

میل پیوندی *FUT1* برای سوبسترای پذیرنده نوع ۲ بیشتر از نوع ۱ می‌باشد، حال آنکه *FUT2* نوع ۱ را ترجیح می‌دهد [۷۶-۷۳]. *FUT1* و *FUT2* دارای حدود ۷۰٪ تشابه در توالی می‌باشند و روی بازوی بلند کروموزم ۱۹ با فاصله ۳۵ کیلوبازی از همدیگر واقع شده اند [۷۷ و ۷۸] (به فصل ۳۲ مراجعه شود)

1 - Guanosine di phosphate

و این گونه به نظر می‌رسد که این دو ژن در اثر مضاعف شدن یک ژن اجدادی بوجود آمده اند.

FUT1 از چهار اگزون و *FUT2* از دو اگزون تشکیل شده اند، اما در هر دو ژن فقط یک اگزون (اگزون ۴ در *FUT1* و اگزون ۲ در *FUT2*) محصول پروتئینی را رمزدهی می‌نماید [۷۰ و ۸۰].

۲-۱-۳-۱ گلبول‌های قرمز

ارنست، راجان، لارنس و همکاران^۱ [۸۳ - ۸۱]، بواسطه وجود مشکلاتی در تخلیص مقادیر بسیار کم ترانسفراز H در بافت‌ها، یک روش انتقال ژن را بمنظور جداسازی *FUT1* (H) بکار گرفتند. در این روش DNA ژنومی انسانی به درون سلول‌های کشت داده شده موش تزریق گردید، این سلول‌ها دارای تمامی امکانات لازم برای تولید زنجیره‌های کربوهیدراتی با فعالیت H، مستقل از محصول ژن H یعنی آلفا-۱ و ۲-L- فوکوزیل ترانسفراز بودند. سلول‌های آلوده شده ای که آنتی‌ژن H را بروز می‌دادند، با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال اختصاصی علیه H ایزوله شده، DNA موجود در آنها بمنظور آلوده سازی ثانویه موش‌ها مورد استفاده قرار گرفت. مجدداً سلول‌هایی که آنتی‌ژن H را ظاهر می‌ساختند با تکنیک ایمونولوژیک جدا شدند. با استفاده از یک قطعه محدود شده مربوط به آنزیم *EcoR1* بعنوان پروب، که بین تمامی سلول‌های آلوده شده ثانوی که آنتی‌ژن H را بروز داده بودند مشترک بود، یک کتابخانه cDNA پستانداران مورد غربالگری قرار گرفت که به موجب آن ژن H ایزوله، کلون، تعیین توالی و در سلول‌های کشت داده شده میمون (COS-1) متجلی گردید [۸۱ و ۸۲]. آنزیم بیان شده یک آلفا-۱ و ۲-L- فوکوزیل ترانسفراز بود که Km آن شباهت بسیاری به ترانسفراز H داشت ولی متفاوت از محصول ژن سکرتر بود. تجزیه و تحلیل ساترن^۲ نشان داد که cDNA مربوط به توالی‌هایی از ژنوم بود که نسبت به لوکوس *FUT1* روی کروموزم ۱۹ در وضعیت syntenic بودند [۸۳].

آلوده سازی پایدار سلول‌های تخمدان‌ها مستر چینی (CHO) با cDNA مربوط به *FUT1* انسانی نشان داد که ترانسفراز H ترجیحاً در جهت فوکوزیله نمودن توالی‌های پلی لاکتوز آمین عمل می‌نماید [۸۴]. لذا این آنزیم بدون افتراق روی تمامی گلیکان‌های گلیکوپروتئینی عمل نمی‌کند، بلکه صرفاً به گلیکوپروتئین‌هایی تمایل دارد که حاوی توالی‌های پلی لاکتوز آمین باشند. این توضیحی بر این مسئله است که چرا بیان ABH صرفاً به تعداد نسبتاً کمی از گلیکوپروتئین‌های سطح گلبول قرمز محدود شده است.

اکثر افراد بر سطح گلبول‌های قرمز خود آنتی‌ژن H را دارا می‌باشند. آلل‌های نادری در لوکوس *FUT1* مقدار بسیار کمی از ترانسفراز فعال تولید می‌کنند و یا اصلاً تولید نمی‌کنند و تشخیصی که برای

1 - Ernst , Rajan ,Larsen et al.

2 - Southern Analysis

این آلل‌ها هموزیگوت هستند بر سطح گلبول‌های قرمز خود مقدار بسیار کمی آنتی‌ژن H دارند و یا اصلاً این آنتی‌ژن را ندارند (به بخش ۲-۱۳ مراجعه شود).

۲-۱-۳-۲ ترشحات

تقریباً همه افراد آنتی‌ژن H را بر سطح گلبول‌های قرمز خود بیان می‌کنند، اما فقط حدود ۸۰٪ اروپایی‌ها آن را در ترشحات بدن خود دارند. این افراد را سکرته‌های ABH می‌نامند زیرا در صورتی که ژن A یا ژن B را داشته باشند، آنتی‌ژن‌های A و B را نیز ترشح خواهند کرد. ۲۰٪ باقی مانده غیر سکرته‌های ABH هستند، زیرا آنتی‌ژن‌های A، B و H را صرفنظر از ژنوتیپ ABO ترشح نخواهد کرد. در افراد اروپایی اصل حالت سکرته‌ها ظاهراً توسط یک جفت آلل *Se* و *se* در لوکوس سکرته‌ها *FUT2* کنترل می‌گردد. *Se* (ژن مسئول ترشح H) بر ژن *se* غالب می‌باشد [۸۶ و ۸۵] (به بخش ۲-۶ مراجعه شود).

تا قبل از ۱۹۸۰ تصور عمومی از ژن سکرته‌ها، یک ژن تنظیم کننده بود، بطوری که بروز ژن H در بافت‌های ترشح کننده را کنترل می‌نماید. ساختارهای فضایی کاملاً مختلف دی ساکاریدهای نوع ۱ ($\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GlcNAc}$) و نوع ۲ ($\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}$) در مدل‌های دو بعدی، لمیو^۱ [۸۷] را برآن داشت که وجود احتمالی دو فوکوزیل ترانسفراز مجزا را پیشنهاد نماید: یکی اختصاصی برای زنجیره نوع ۱ و دیگری هم برای نوع ۲. کاملاً ثابت شده بود که گلبول‌های قرمز فقط ساختارهای H نوع ۲ را تولید می‌کنند، در صورتی که ترشحات افراد سکرته‌ها ABH حاوی هر دو نوع H می‌باشد [۱۱].

اوریل و همکاران^۲ [۹۰-۸۸] معتقد بودند که ژن H یک آلفا -۱-۲-L- فوکوزیل ترانسفراز را کد می‌کند که برای سوسترای نوع ۲ اختصاصی است و در بافت‌های خونساز حضور دارد و اینکه ژن *Se* یک آلفا -۱-۲-L- فوکوزیل ترانسفراز را رمزدهی می‌کند که هر دو سوسترای ۱ و ۲ را مصرف می‌کند و در غدد ترشحی موجود است. شناسایی دو نوع آلفا -۱-۲-L- فوکوزیل ترانسفراز انسانی با ویژگی نسبتاً متفاوت و متعاقب آن کلون کردن دو ژن آلفا -۱-۲-L- فوکوزیل ترانسفراز نظریه وجود دو ژن ساختمانی برای آنزیم‌های فوق را تایید نموده است.

لپندو و همکاران^۳ [۷۳]، آلفا -۱-۲-L- فوکوزیل ترانسفراز سرم افراد غیر سکرته‌ها را با همان آنزیم در سرم افراد سکرته‌ها نادر ABH که فاقد H بر سطح گلبول‌های قرمز خود هستند (فنوتیپ پارابمبی) مقایسه نمودند (به بخش ۲-۱۳-۲ مراجعه شود). ترانسفراز اولی عمدتاً از بافت‌های خونساز منشاء می‌گیرد و محصول ژن H می‌باشد، اما ترانسفراز دومی احتمال می‌رود که محصول ژن *Se* باشد [۷۳ و ۹۱]. فوکوزیل ترانسفرازهای دو منبع مذکور در بسیاری از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی، همچون

1 - Lemiux

2 - Oriol et al.

3 - Le pendu et al.

Km مربوط به GDP - فوکوزو حساسیت به غیر فعال شدن در برابر دما با هم تفاوت داشتند. ترانسفراز موجود در سرم افراد غیرسکرتور (محصول ژن H) تمایل به پذیرنده پیشساز نوع ۲ داشت، در صورتی که ترانسفراز موجود در سرم افراد سکرتور با گلبول‌های قرمز فاقد H (محصول ژن Se) سوبسترای نوع ۱ را ترجیح می‌داد. در مطالعات مشابه دیگری نیز نتایج قابل مقایسه ای حاصل شد [۷۴ و ۷۵] و دو آلفا-۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز با مقادیر Km و حرکات الکتروفورزی متفاوت، از سرم پولد شده انسانی جداسازی و تخلیص گردید [۹۲].

در سال ۱۹۹۵ روکویر و همکاران^۱ [۷۷] با استفاده از شباهت زیاد بین دو آنزیم فوق، ژن *FUT2(Se)* را از یک کتابخانه کاسمیدی کروموزم ۱۹ انسانی و از طریق هیبریدیزاسیون متقاطع با cDNA ژن *FUT1* کلون نمودند.

ژن *FUT2(Se)* یک پلی پپتید ۳۳۲ اسید آمینه ای را کد می‌کند که از تشابه قابل توجهی در توالی با محصول ژن *FUT1* برخوردار می‌باشد، مضاف بر اینکه یک ایزوفرم با ۱۱ اسید آمینه اضافی در انتهای آمینی نیز تولید می‌گردد [۷۸]. محصول بیان شده دارای فعالیت آلفا-۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز با یک pH اپتیمم و Km مشابه با ترانسفراز حالت سکرتور بود. یک جهش بی معنی (Trp143stop) آلل شایعی را که مسئول بروز فنوتیپ غیر سکرتور می‌باشد ایجاد نمود [۷۸]. علاوه بر *FUT2(Se)* یک ژن کاذب به نام *sec1* نیز جدا سازی گردید [۷۷ و ۷۸]. *FUT2* و *sec1* در فاصله ۱۲ کیلو بازی از هم واقع شده اند و حدود ۸۰٪ تشابه توالی نوکلئوتیدی دارند، اما *sec1* حاوی کدون‌های اختتام ترجمه است که چهارچوب‌های باز قرائت^۲ را از بین می‌برند. دو ژن کد کننده آلفا-۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز (*FUT1* و *FUT2*) و ژن کاذب *sec1* درون یک قطعه ۵۰ کیلوبازی روی کروموزوم ۱۹ قرار گرفته اند و احتمال می‌رود که از طریق مضاعف شدن ژنی بروز نموده باشند [۷۲].

آلفا-۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز کد شده توسط ژن Se قادر است در محیط آزمایشگاه (*In Vitro*) روی گلبول‌های قرمز اثر نماید. گلبول‌های قرمز فنوتیپ بمبئی که فاقد ترانسفراز H بوده و بر سطح خود هیچکدام از آنتی‌ژن‌های H، A یا B را ندارند (بخش ۲-۱۳)، متعاقب مواجه سازی با فوکوزیل ترانسفراز تهیه شده از مخاط معده انسان گروه O سکرتور، در حضور GDP- فوکوز فعالیت H را کسب می‌کنند، اما این خاصیت با آنزیم جدا شده از شخص غیر سکرتور ایجاد نمی‌گردد [۹۳]. این تحول صرفاً با گلبول‌های قرمزی که با سیالیداز مجاور شده بودند حاصل گردید، گواهی بر این مطلب که مولکول‌های پیشساز H بر سطح سلول‌های بمبئی توسط گروه‌های سیالیل پوشیده می‌شوند. سپس این سلول‌های بمبئی حاصل شده دارای فعالیت H را می‌توان با استفاده از ترانسفراز A و در حضور دهنده نوکلئوتیدی خاص به گلبول‌های A تبدیل نمود [۹۳].

1 - Rouquier et al.

2 - open reading frames

آلل شایع غیر ترشعی *FUT2* در افراد اروپایی و آفریقای الاصل (se^{428}) حاوی یک جهش بی معنی G428A می‌باشد که کدون Trp143 را به یک کدون توقف ترجمه تبدیل می‌نماید بطوری که هیچ آنزیم فعالی تولید نمی‌شود [۹۶، ۷۸ - ۹۴] (جدول ۲-۷).

آلل se^{428} نیز یک جایگزینی Gly247Ser را کد می‌کند. اما این تغییر به تنهایی فعالیت آلفا-۲-فوکوزیل ترانسفراز را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد [۷۸ و ۷۶]. این آلل se^{428} در ژاپن و تایوان یافت نشده است [۹۵ و ۹۸ و ۹۹ و ۱۰۲]، اما شش آلل غیر سکرتور دیگر که چهار تایی آنها حاوی جهش‌های بی معنی و دو تا حاوی حذف‌های سه نوکلئوتیدی می‌باشند، در افراد غیر سکرتور شرقی، پلی نزیایی و فیلیپینی مشاهده شده اند [۹۴، ۷۶، ۹۸ و ۱۰۴ - ۱۰۱] و (جدول ۲-۷).

آللی با یک حذف تک بازی (Xhosa) در دو نفر از ۱۰۱ سیاهپوست در آفریقای جنوبی یافت شده است [۹۶]. دیگر آلل غیر سکرتور که در ژاپنی‌ها مشاهده می‌شود یک ژن الحاقی^۱ است که از مناطق ۵' ژن کاذب *sec1* و ۳' ژن *FUT2* تشکیل شده است [۹۸]. سلول‌های COS که به این ژن الحاقی آلوده شده بودند، فعالیت آلفا-۲-فوکوزیل ترانسفرازشان در مقایسه با سلول‌هایی که با ژن طبیعی آلوده شده بودند، حدود ۲۰٪ بیشتر بود با این حال آنتی ژن H را اصلاً ظاهر نکردند. اگر چه توالی ژن الحاقی حاکی از این است که یک پروتئین با ساختار عملکردی را کد می‌کند.

به نظر می‌رسد که منطقه آغازگر آن با منطقه ژن کاذب یکسان باشد. این ممکن است دلیلی بر این امر باشد که چرا ژن در سلول‌های COS آلوده بیان می‌شود اما در بافت‌های طبیعی بارز نمی‌گردد [۹۸]. افراد هندی با فنوتیپ نادر بمبئی، بر سطح گلبول‌های قرمز و در ترشحات خود هیچ آنتی ژن H ندارند. این فنوتیپ نتیجه حالت هموزیگوت برای یک جهش غیر فعال کننده بدمعنی^۲ در ژن *FUT1* به همراه حذف اگزون دوم ژن *FUT2*، یعنی کل منطقه کد کننده ژن، می‌باشد [۱۰۵ و ۱۰۶]. در میان خانواده‌های هندی که در جزیره Reunion زندگی می‌کنند، یک هاپلوتیپ شناسایی گردید که در آن ژن حذف شده *FUT2* نسبت به یک *FUT1* ظاهراً فعال، در موقعیت «*cis*» قرار گرفته بود [۱۰۶]. احتمال می‌رود که حذف *FUT2* در میان غیر سکرتورها در هندوستان شایع باشد.

آللی از *FUT2* (Se^{w385}) که در خاور دور و جنوب اقیانوس آرام شایع می‌باشد، یک جایگزینی Ile129Phe را در منطقه بنیادی^۳ آلفا-۲-فوکوزیل ترانسفراز کد می‌کند [۷۶، ۱۰۰ - ۷۹]. سوبسترای اختصاصی این آنزیم و محصول ژن *FUT2* طبیعی یکسان می‌باشند، اما فعالیت این حداقل ۵ برابر کمتر است [۷۶ و ۹۸ و ۹۹]. فراوانی ژنی این آلل در ژاپنی‌ها ۴۴٪ است [۹۸]، اما در میان اروپایی‌ها یا آفریقایی‌ها شناسایی نشده است [۷۶ و ۹۸]. حالت هموزیگوت برای ال Se^{w385} و یا حالت هتروزیگوت برای این

1 - Fusion gene

2 - missense

3 - stem region

آلل و یک آلل غیرسکرتور منجر به کاهش ترشح H و بروز فنوتیپ Le(a+b+) گلبول قرمز می‌گردد که در خاور دور و مناطق اقیانوس آرام شایع می‌باشد (بخش ۲-۶-۳).

یک تکنیک منفرد و multiplex واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) و متعاقب آن، بررسی پلی مرفیسم طول قطعه محدود شده^۱ (RFLP)، به منظور شناسایی اکثر جهش‌های شناخته شده FUT2 طراحی شده است [۱۰۷].

چهار آلل FUT2 که جایگزینی‌های اسید آمینه ای را کد می‌کنند ظاهراً مسئول کاهش فعالیت آنزیم بین ۵۰ و ۸۰ درصد می‌باشند [۹۶]. سه مورد از این آلل‌ها در سیاه پوستان آفریقای جنوبی مشاهده شدند: se^{40} (Ile14Val)، se^{481} (Asp161Asn)، $se^{40,481}$ (Ile14Val, Asp161Asn). آلل دیگر، se^{379} (Arg127Cys) در یک سفید پوست آفریقای جنوبی وجود داشت [۹۶].

جدول ۲-۷. آلل‌های FUT2 مسئول فنوتیپ‌های غیر سکرتور (se) یا فنوتیپ سکرتور جزئی (se^w) ABH.

Allele	Mutation	Amino acid substitution	Population	Reference
se^{w385}	A385T	Ile129Phe	Taiwan Chinese, Japanese, Indonesian, Polynesian, Filipino	[76,97-101]
se^{428}	G428A	Trp143Stop	European, African	[78,96,99]
se^{571}	C571T	Arg191Stop	Polynesian, Taiwanese, Japanese, European, Filipino	[76,94,96,98,101,102]
se^{628}	C628T	Arg210Stop	Japanese	[98]
se^{658}	C658T	Arg220Stop	Chinese	[103]
se^{685}	del GTG 685-689	del Val229 or 230	Taiwanese	[104]
se^{688}	del GTC 688-690	del Val230	Filipino	[101]
se^{778}	del C778	RFS Pro260, Stop at 275	African	[96]
se^{849}	G849A	Trp283Stop	Taiwanese, Filipino	[101,102]
se^{del}	del exon 2		Indian	[105,106]
se^{fus}	Sec1-FUT2 fusion		Japanese	[98]

del, deletion; RFS, reading frameshift.

1- Restricted Fragment Length Polymorphism

۲-۳-۱-۳ دیگر بافت‌ها

کنترل بروز H در بافت‌های مختلف انسانی از یک روند کلی تبعیت می‌کند که به شکل زیر خلاصه شده است: آنتی‌ژن‌های H بر روی بافت‌هایی که منشاء اکتودرمی و مزودرمی دارند (نظیر نرون‌های اولیه حسی، پوست، اندوتلیوم عروق و مغز استخوان) دارای ساختارهای نوع ۲ هستند و بوسیله آلفا-۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز کد شده توسط ژن *FUT1 (H)* تولید می‌گردند، و آن دسته از آنتی‌ژن‌های H که بر سطح بافت‌های با منشاء اندودرم وجود دارند (مخاط‌های تنفسی و گوارشی، غدد بزاقی) ساختارهای نوع ۱ و ۲ هستند و بوسیله آلفا-۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز کد شده توسط ژن *Se* تولید می‌شوند [۲۱]. در هر حال بر این اصول استثنائاتی نیز وارد می‌شود (بخش ۲-۲۰-۳). آلفا-۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز پلاسمایی غالباً منشاء بافت خونساز دارد [۱۰۸] و ممکن است از گلبول‌های قرمز و پلاکت‌های موجود در گردش خون منشاء گرفته باشد [۱۰۹]. مقادیر بسیار بالایی از رونوشت‌های *FUT2* در روده بزرگ و کوچک و به مقدار کم در ریه شناسایی شد اما رونوشتی از آن در کبد و کلیه مشاهده نگردید [۷۷].

۲-۳-۲ آنتی‌ژن‌های ABO

۲-۳-۱-۲ ترانسفرازهای A و B

آنتی‌ژن H چه محصول ترانسفراز H باشد چه ترانسفراز se، سوبسترای پذیرنده برای گلیکوزیل ترانسفرازهای کد شده توسط ژن A یا B می‌باشد (شکل ۱-۲). محصول ژن A یک آلفا-۱ و ۳- N - استیل -D - گالاکتوز آمینیل ترانسفراز است که N - استیل -D - گالاکتوز آمین را از یک دهنده یوریدین دی فسفات (UDP) - N - استیل -D - گالاکتوز آمین به گالاکتوز فوکوزیله آنتی‌ژن H منتقل می‌سازد. محصول ژن B، یک آلفا-۱ و ۳- D - گالاکتوزیل ترانسفراز، D - گالاکتوز را از UDP - گالاکتوز به گالاکتوز فوکوزیله H منتقل می‌سازد. ژنهای A و B در لوکوس ABO روی کروموزم شماره ۱۹، آلل یکدیگر هستند. آلل سوم، O، آنزیم فعالی را تولید نمی‌کند و در اشخاصی که برای آن هموزیگوت هستند آنتی‌ژن H بدون تغییر می‌ماند. اگر بواسطه عدم وجود ترانسفراز H یا ترانسفراز se، هیچگونه ساختار H موجود نباشد، علیرغم وجود ترانسفرازهای A یا B، آنتی‌ژن‌های A یا B تولید نمی‌شوند. این وضعیت در ترشحات افراد غیر سکر تور ABH و روی گلبول‌های قرمز فاقد H (فنوتیپ بمبی) اتفاق می‌افتد. نمونه‌های مختلف ترانسفراز A در ارتباط با فنوتیپ‌های A_1 و A_2 در بخش ۲-۴-۱ توضیح داده می‌شوند.

معرف‌های آنتی -H، گلبول‌های گروه O را خیلی راحتتر از گلبول‌های A و B آگلوتینه می‌نمایند، زیرا آنتی‌ژن H توسط N - استیل - گالاکتوز آمین و گالاکتوز به ترتیب در ساختارهای A و B پوشیده می‌شود. فعالیت ترانسفرازهای A، B و H در آزمایشگاه نشان داده شده است. ترانسفراز A تهیه شده از

مخاط معده انسان گلبول‌های O یا B را در حضور UDP-N-استیل -D- گالاکتوز آمین به A یا AB تبدیل می‌کند [۱۱۰]. مخاط معده، سرم، بزاق و شیر افراد گروه B همگی بعنوان منابع ترانسفراز B برای تبدیل گلبول‌های O به B در حضور UDP-گالاکتوز مورد استفاده قرار گرفته اند [۱۱۳ - ۱۱۰]. گلبول‌های فنوتیپ بمبی که فاقد سوبسترای H فعال می‌باشند، با استفاده از آلفا- گالاکتوزیل ترانسفرازها به گلبول‌های B تبدیل نشدند [۱۱۱].

گلیکوزیل ترانسفرازها ساختارهای آنتی‌ژنیک هستند. آنتی‌بادی‌های انسانی علیه ترانسفرازهای گروه خونی غالباً متعاقب پیوند عضو ایجاد می‌شوند [۱۱۷-۱۱۴]. شاخص‌های Le^y, Le^x, Le^a, H, B همگی روی زنجیرهای کربو هیدراتی گلیکوزیل ترانسفرازها در شیر انسان شناسایی شده اند [۱۱۸]. آنتی‌بادی‌های خرگوشی [۱۱۹] و آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موشی [۱۲۰] ایجاد شده علیه ترانسفراز A، با ترانسفراز B واکنش متقاطع می‌دهند.

۲-۲-۳-۲ ژنتیک مولکولی

ترانسفراز A تا حد هموژنی از ریه انسان جداسازی و تخلیص شد، و توالی اسید آمینه ای آن تاحدودی تعیین گردید [۱۲۱ و ۱۲۲]. یاماموتو و همکاران^۱ [۱۲۳] با استفاده از الیگودی اکسی نوکلئوتیدهای صناعی بر اساس توالی جزئی اسید آمینه ترانسفراز A، cDNA ژن A را جداسازی و کلون نمودند. کتابخانه cDNA از روی RNA جدا شده از رده کارسینومای معده انسانی که سطح بالایی از آنتی‌ژن A را بروز می‌دهد، ساخته شد.

توالی ۱۰۶۲ جفت بازی، یک پروتئین ۳۵۳ اسید آمینه ای با ساختار سه حوضه ای را که مشخصه یک گلیکوزیل ترانسفراز می‌باشد، پیش بینی نمود. متعاقب انتشار نتایج اولیه این تحقیقات [۱۲۳] مشخص شد که کلون اولیه (منشا) از کارسینومای معده ای حاوی یک حذف سه جفت بازی منحصر بفرد بود [۱۲۴]. شماره نوکلئوتیدها و نیز اسیدهای آمینه کد شده در این فصل و در اکثر انتشارات، توالی صحیح ژن را منعکس می‌سازد.

بر اساس کلون cDNA که ترانسفراز A را کد می‌کند، cDNA مربوط به B و O نیز کلون و تعیین توالی گردید [۱۲۵ و ۱۲۶]. مشخص شد که تفاوت cDNA های B و O در هفت نوکلئوتید می‌باشد، که چهارتای آنها مسئول جایگزینی اسید آمینه در موقعیت‌های ۱۷۶، ۲۳۵، ۲۶۶ و ۲۶۸ می‌باشند (شکل‌های ۲-۲ و ۳-۲). توالی O (O^1) مشابه توالی A (A^1) می‌باشد، به جز اینکه حذف نوکلئوتید شماره ۲۶۱ منجر به یک انتقال در چهارچوب قرائت و ایجاد پیام توقف زودرس ترجمه در کدون مربوط به اسید آمینه شماره ۱۱۶ می‌گردد، این آلل یک پروتئین ناقص را کد می‌کند که هیچ نوع حوضه کاتالیزوری^۲ ندارد

1 - Yamamoto et al.

2 - Catalytic site

(شکل ۲-۳) و یا ممکن است یک رونوشت mRNA ناپایدار را تولید نماید [۱۲۷]. cDNA کلون شده A و B وارد سلول‌هایی که آنتی‌ژن H را بروز می‌دادند گردید و فنوتیپ‌های حاصله A و B با تکنیک‌های ایمونولوژیک شناسایی شدند. توالی شایع A^1 غالباً توالی هماهنگ^۱ نامیده می‌شود و بعنوان یک مرجع برای توالی دیگر آل‌های ABO مورد استفاده قرار می‌گیرد. آلل A^2 دارای یک حذف تک نوکلئوتیدی در کدون قبل از کدون توقف ترجمه آلل A^1 می‌باشد که باعث می‌شود این کدون توقف گسیخته شده و یک ترانسفراز A با ۲۱ اسید آمینه اضافی در انتهای کربوکسیلی، تولید گردد [۱۲۸] (به بخش ۲-۴-۱ مراجعه شود).

آلل O توصیف شده توسط یاماماتو و همکاران^۲ [۱۲۵ و ۱۲۶] که دارای یک حذف تک بازی در موقعیت ۲۶۱ می‌باشد، اکنون O^1 نامیده می‌شود. دو آلل دیگر O با فراوانی قابل توجه وجود دارند: یک آلل خیلی شایع O^{1v} (O^۱ واریان^۳) در موقعیت ۲۶۱ ژن O^1 دارای حذف تک بازی می‌باشد که این از تولید ترانسفراز فعال جلوگیری می‌کند، اما دست کم نه اختلاف نوکلئوتیدی دیگر با A^1 و O^1 دارد [۱۲۹]. شیوع آل‌های O با حذف $G261(O^{1v})$ به شرح زیر می‌باشد:

سوئدی‌ها ۴۲٪ [۱۲۹]، استرالیایی‌ها ۴۲٪ [۱۳۰]، سیاهپوستان برزیلی ۳۱٪ [۱۳۱]، برزیلی‌های بومی ۹۱٪ [۱۳۱]، ژاپنی‌ها ۴۹ تا ۵۵٪ [۱۳۲ و ۱۳۳] و چینی‌ها ۳۹٪ [۱۳۴]. آللی دیگر، O^2 ، فاقد حذف نوکلئوتیدی G261 می‌باشد، اما دو اختلاف نوکلئوتیدی با توالی A^1 دارد که تغییرات اسیدآمینه ای زیر را کد می‌کنند: Arg176Gly (مشابه جایگزینی اسید آمینه در ترانسفراز B) و Gly268Arg [۱۳۵ و ۱۳۶] (شکل ۲-۲).

جایگزینی در موقعیت ۲۶۸، آرژینین با دار را با گلیسین بدون بار مبادله می‌نماید که احتمال می‌رود جایگاه کاتالیزوری ترانسفراز را از بین ببرد (شکل ۲-۳).

تجلی یک سازه^۴ cDNA مربوط به A^1 در محیط آزمایشگاه، که در آن از طریق ایجاد جهش هدفدار^۵ در موقعیت ۲۶۸، کدون گلیسین به کدون باردار آرژینین تبدیل شد، منجر به بروز فعالیت ترانسفراز A یا بیان آنتی‌ژن A نگردید [۱۳۷]. دو الی شش درصد آل‌های O در اهداکنندگان سفید پوست اروپا، استرالیا و ایالات متحده آمریکا، O^2 می‌باشند [۱۳۶، ۱۳۰ و ۱۴۱-۱۳۸]، اما این آلل در میان ژاپنی‌ها مشاهده نشده است [۱۳۴-۱۳۲].

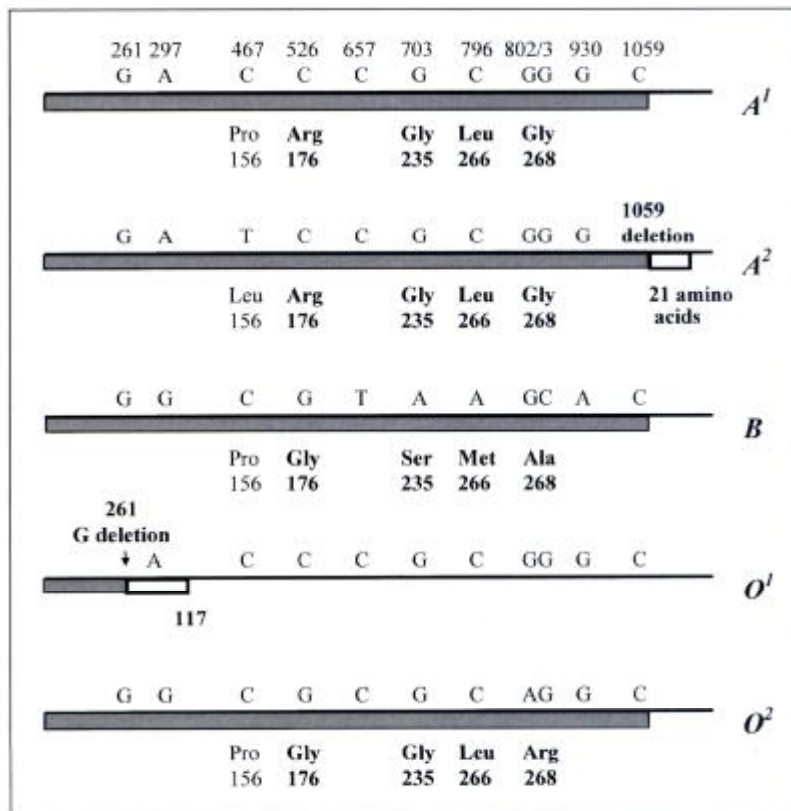
1 - Consensus sequence

2 - Yamamoto et al.

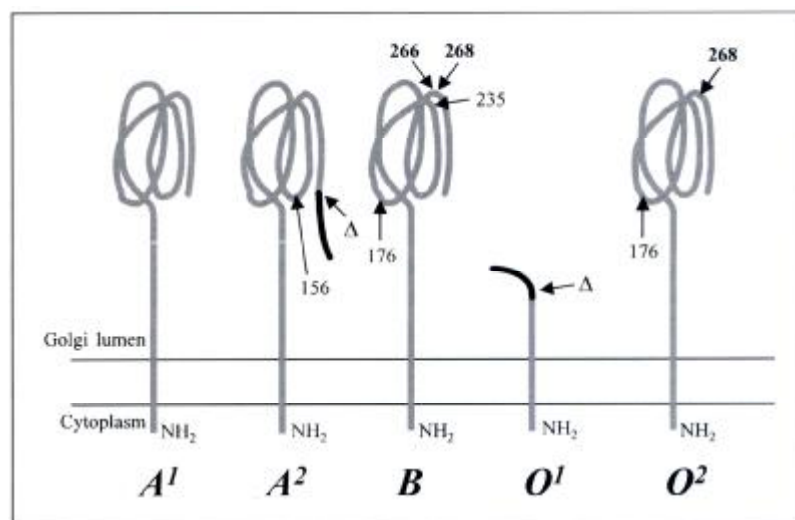
3 - O^1 -variant

4- cDNA construct (DNA صنعتی)

5 - site-directed mutagenesis



شکل ۲-۲. دیاگرام، cDNA و محصولات پروتئینی پنج آلل شایع ABO را نمایش می‌دهد. هفت تغییر توکلویتیدی آلل‌های A و B را از هم متمایز می‌سازند و مسبب چهار اختلاف اسید آمینه ای بین ترانسفرازهای A و B می‌باشند. حذف‌های تک‌بازی در A^2 و O^1 منجر به انتقالات چهارچوب قرائت و به ترتیب ظهور و فروپاشی کدون‌های توقف در O^1 و A^1 می‌شوند. جایگزینی اسید آمینه در موقعیت ۲۶۸ مسئول غیرفعال شدن محصول O^2 است.



شکل ۲-۳. نمایش دیاگرامی محصولات پنج آلل ABO که در غشاء دستگاه گلژی استقرار یافته اند (برگرفته بصورت اصلاح شده از [Clausen et al ۲۰]۲۰)، در این طرح موقعیت‌های اسید آمینه ای که متفاوت از موقعیت ترانسفراز A_۱ هستند و نیز موقعیت حذف‌های نوکلئوتیدی (Δ) در ژن‌های A^۲ و O^۱ به نمایش درآمده است. مناطقی که با رنگ سیاه نشان داده شده اند، ۲۱ اسید آمینه اضافی در ترانسفراز A_۲ و توالی رمزدهی شده بین حذف نوکلئوتیدی و کدون توقف در محصول O^۱ می‌باشند.

علائم *O101 و *O201 نیز به ترتیب برای آلل‌های O^۱ و O^{۱۷} استفاده شده اند [۱۳۳].
 یاماموتو و هاکوموری^۱ [۱۲۶] با ساخت کیمرای‌های A-BcDNA، شانزده ترکیب ممکن از چهار جایگزینی اسید آمینه ای را ارائه دادند که cDNA های A و B را از هم افتراق می‌داد. با استفاده از آزمایشات آلوده سازی^۲ در یک رده سلولی انسانی گروه O، اثبات گردید که سومین [۲۶۶] و چهارمین [۲۶۸] جایگزینی اسید آمینه ای (شکل ۲-۲) مهمترین جایگزینی‌ها در تعیین اختصاصیت ترانسفراز می‌باشند. آنزیمی که دارای جایگزینی‌های Met266 و Gly268 بود فعالیت دوگانه ترانسفراز A و B داشت. در جریان آزمایشات جهش زایی در آزمایشگاه، که در آنها قطعات cDNA کد کننده هر اسید آمینه ممکن در موقعیت ۲۶۸، بیان شده بودند، این نتیجه حاصل شد که زنجیره جانبی اسید آمینه موقعیت ۲۶۸، مسئول تعیین فعالیت و اختصاصیت ترانسفراز می‌باشد [۱۳۷].

1 - Yamamoto and Hakomori

2 - Transfection

منطقه کننده در ژن ABO دارای طولی معادل ۱۸ کیلوباز و هفت اگزون می‌باشد. اگزون‌های ۶ و ۷، ۷۷٪ توالی کد کننده را تشکیل می‌دهند [۱۲۴ و ۱۴۲] (شکل ۴-۲). حذف ژن‌های O^{1v} و O^1 در اگزون ۶ و تغییرات نوکلئوتیدی که A و B و O^2 را از هم متمایز می‌سازند در اگزون ۷ واقع شده‌اند. چندین جعبه GC در منطقه ای واقع در فرادست^۱ کدون شروع رونویسی یافت شدند، اما هیچ نوع توالی کد کننده برای پروتئین‌های پیوند کننده DNA اختصاصی بافت، مشاهده نشد [۱۲۴]. در هر حال اضافه شدن گروه متیل به DNA در یک جزیره CpG درون منطقه پروموتور (آغازگر) ژن ممکن است نقش مهمی در تنظیم بیان ABO در بافت‌های مختلف داشته باشد [۴۳].

تنظیم رونویسی از ژن ABO وابسته به یک قطعه minisatellite می‌باشد که تقریباً در فاصله چهار کیلوبازی فرادست شروع توالی ترجمه شده قرار گرفته و حاوی یک توالی خاص (موتیف^۲) پیوند کننده فاکتور رونویسی CBF/NF-Y می‌باشد [۱۴۴]. این minisatellite از چهار نسخه یک توالی تکرار شونده ۴۳ جفت بازی در آلل‌های A^2 ، B، O^1 و O^{1v} تشکیل شده است اما در آلل‌های A^1 و O^2 فقط یک نسخه از آن وجود دارد [۱۴۶-۱۴۴]. بعلاوه، تکنیک‌های انتقال ژن گذرا، نشان دادند که توانایی القاء رونویسی توسط تشدید کننده A^۳ تقریباً صد برابر کمتر از توانایی تشدید کننده B می‌باشد [۱۴۶]، اما اهمیت این مسئله در بدن مشخص نمی‌باشد.

بسیاری از پیچیدگی‌های ژنی سیستم ABO مشخص شده‌اند. اکثر این پیچیدگی‌ها نسبتاً نادر هستند، اما تعدادی از آنها در جمعیت‌های خاص شایع می‌باشند. حدود ۸۰٪ ژن‌های A^1 در ژاپنی‌ها (A^{102}) با ژن‌های A^1 در اروپایی‌ها (A^{101}) تفاوت دارند که ناشی از کد شدن لوسین در موقعیت ۱۵۶ به جای پرولین می‌باشد [۱۳۲ و ۱۳۳]. این تفاوت ظاهراً هیچ تاثیری روی فنوتیپ ندارد. بعضی از ژن‌های غیر معمول ABO فعالیت محصولات ژنی را تحت تاثیر قرار می‌دهند و اینها ممکن است زیر گروه‌های A و B را ایجاد نمایند (به بخش‌های ۲-۷ و ۲-۸ مراجعه شود).

یک قطعه دخولی^۴ متشکل از هفت گوانوزین، نوکلئوتیدهای ۷۹۸ تا ۸۰۴ در آلل A^2 یک چارچوب قرائت را ایجاد نمود که محصول آن فاقد فعالیت آنزیمی بود (O^3) [۱۴۷]. ژن‌های متعددی شناسایی شده که به نظر هیبرید می‌آیند، به طوری که قسمتی از آنها توالی‌های یک آلل ABO و قسمتی دیگر توالی‌های مربوط به آللی دیگر می‌باشند [۱۴۱، ۱۴۹، ۱۵۰ و ۱۴۸].

این ژن‌های الحاقی احتمالاً بواسطه کراسینگ اور^۵ در تقسیم میوز حاصل شده‌اند. در اکثر این ژن‌های هیبرید، ترکیب درون اینترون ۶ اتفاق افتاده است. السون و چستر^۶ [۱۵۰] حضور توالی‌های

1 - Upstream

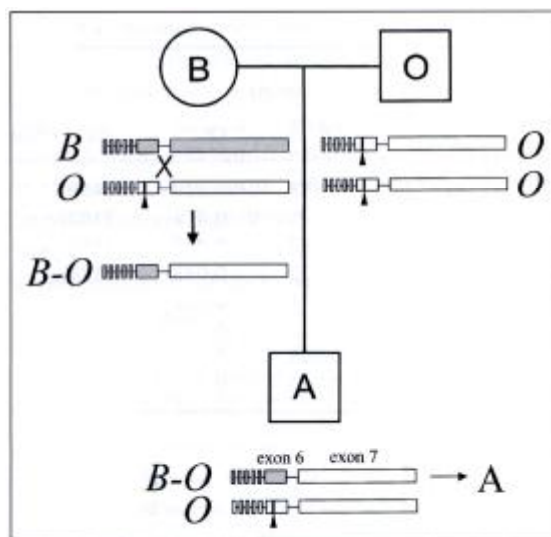
2 - Motif

3 - Enhancer

4 - Insertion

5 - Crossing over

6 - Olsson and Chester



شکل ۵-۲. یک خانواده که در آن مادر گروه B، پدر گروه O و بچه گروه A می‌باشند (نمونه‌ای واضح از یک رد ابوت رده یک). سوزوکی و همکاران [۱۴۹] پیشنهاد نمودند که کراسینگ اور بین آلل‌های O^1 و B در ژرم لاین مادر، منجر به تولید یک ژن الحاقی B-O شده است که یک محصول پروتئینی با فعالیت ترانسفراز A را کد می‌نماید، زیرا اگزون ۷ در ژن O^1 با اگزون ۷ در ژن A^1 دارای تشابه کامل در توالی می‌باشند. X: جایگاه نوترکیبی، Δ : جایگاه حذف نوکلئوتید در آلل O^1 ، کادرهای خالی معرف اگزون‌هایی هستند که از ژن O^1 و کادرهای مشکی حاکی از اگزون‌هایی هستند که از ژن B مشتق شده‌اند.

در طول تکامل، ژن‌های ABO کاملاً حفظ شده‌اند [۱۵۳-۱۵۱]. ژن‌های ABO انسانی دارای تشابه قابل ملاحظه‌ای در توالی با ژن‌های غیر پرماتی^۱ آلفا-۱ و ۳-گالاکتوزیل ترانسفراز و نیز با دو ژن کاذب انسانی، که یکی از آنها همچون ABO روی کروموزوم 9q33-34 واقع شده است، می‌باشند [۱۵۴ و ۱۵۵].

دست کم یک تشابه ۹۵ درصدی در توالی‌های نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌ای ژن‌های ABO پرمات‌ها نشان داده شده است [۱۵۱]. بعلاوه، جایگزینی‌های بحرانی که ژن‌های A و B را از هم تمییز می‌دهند، قبل از اینکه مسیرهای تکاملی انسان‌ها، شیمپانزه‌ها، گوریل‌ها و اورانگوتان‌ها از هم جدا شوند، ایجاد شده‌اند [۱۴۴]. لذا این پلی مرفسیم قدمتی حداقل ۱۳ میلیون ساله دارد و به احتمال زیاد به واسطه انتخاب حفظ شده است [۱۴۴]. یک پروب نشاندار ژن ABO با DNA ژنومیک مارموسست، هامستر،

1 - non-Primates

موش صحرایی و خانگی، گوسفند، گاو، خرگوش، گربه و سگ هیبرید شده است. ژن ABO موش خانگی تشکیلاتی شبیه ژن ABO انسانی دارد، اما دارای فعالیت دوگانه ترانسفراز A و B می‌باشد [۱۵۴].

۲-۳-۳ تعیین ژنوتیپ ABO با استفاده از DNA

روش‌های متعددی به منظور تعیین ژنوتیپ ABO با استفاده از DNA ژنومیک، توسعه یافته‌اند. این روش‌ها عمدتاً شامل آنالیز محصولات PCR به کمک آنزیم‌های محدود کننده [۱۲۵، ۱۲۹، ۱۳۲، ۱۳۶، ۱۳۸، ۱۶۱-۱۵۷] و یا PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آلل [۱۳۹ و ۱۴۱ و ۱۶۲] می‌باشند. روش‌های دیگر شامل: بررسی محصولات PCR به کمک الکتروفورز ژل با شیب چگالی و اسرشته کننده^۱ (DGGE) [۱۶۳ و ۱۶۴]، مطابقت سازی تک رشته ای^۲ [۱۳۳ و ۱۳۳] و بررسی نوکلئوتیدی ویژه توالی^۳ [۱۳۰] و استفاده از PCR به کمک پرایمرهای اختصاصی توالی با طول‌های مختلف [۱۶۵]. در ابتدا فقط A، B و O قابل شناسایی بودند، اما روش‌های بعدی امکان شناسایی B^۱، A^۲، O^۲ و O^۲ را نیز بوجود آوردند [۱۲۹، ۱۳۰، ۱۳۴، ۱۴۱ - ۱۶۰، ۱۳۸].

بواسطه وجود واریان‌های فراوان و نسبتاً شایع نظیر ژن‌های الحاقی، نتایج بدست آمده از طریق این روش‌ها همیشه دقیق نخواهد بود. به هر حال در صورتی که حذف G261 در آگزون ۶ شناسایی و A و B و O^۲ در آگزون ۷ از هم افتراق داده شوند، این آزمایشات از روایی معقول برخوردار خواهند بود. السون و همکاران^۴ [۱۶۶] روشی را طراحی نمودند که در آن از PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آلل که طول آنها به اندازه اینترون ۶ بود، به منظور شناسایی آلل‌های هیبرید ABO استفاده می‌شد. بعضی از فراوانی‌های ژنی که با استفاده از روش‌های مبتنی بر PCR تعیین شده اند، در جدول ۲-۸ ارائه شده‌اند.

۲-۳-۳ آنتی‌ژن‌های لوئیس

در سال ۱۹۴۸ گروپ^۵ [۱۶۷] مشاهده نمود که افراد دارای گلبول‌های قرمز Le(a+) عمدتاً غیر ترشح کنندگان ABH هستند، لذا قاعده کلی زیر در مورد فنوتیپ‌های لوئیس در گلبول‌های قرمز بالغین پذیرفته شده است:

۱- گلبول‌های قرمز Le(a+b-) مربوط به غیر سکرته‌های ABH می‌باشند.

۲- گلبول‌های قرمز Le(a-b+) مربوط به سکرته‌های ABH می‌باشند.

-
- 1 - Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
 - 2 - Single Strand Conformation
 - 3 - Sequence-specific Oligonucleotide Probing
 - 4- Olsson *et al.*
 - 5 - Grubb

۳- گلبول‌های قرمز Le(a-b-) مربوط به سکرورها و یا غیرسکرورهای ABH می‌باشند. مجدا گروب [۱۶۷] به منظور توضیح وراثت گروهای لوئیس، یک تئوری را پیشنهاد نمود که، متعاقب پژوهش‌ها و تحقیقات خانوادگی از سوی سپلینی^۱ تأیید و بسط داده شد [۱۶۹]. اساساً تئوری گروب و سپلینی بیان می‌کند که حضور Le^a در بزاق تحت کنترل یک لوکوس می‌باشد (که امروزه LE یا $FUT3$ نامیده می‌شود) و Le^a ممکن است ناشی از برهم کنش بین محصولات ژن‌های لوئیس و سکرور باشد. افرادی که هر دو ژن لوئیس و سکرور (se) را دارند در بزاق خود Le^b و Le^a و گلبول‌های قرمز Le(a-b+) خواهد داشت، حال آنکه افرادی که یک ژن لوئیس دارند اما برای آل غیر سکرور (se) هموزیگوت هستند فقط Le^a را در بزاق خود و گلبول‌های قرمز Le(a+b-) خواهند داشت. با استفاده از مطالعات خانوادگی نشان داده شده که لوکوس‌های سکرور و لوئیس از لحاظ ژنتیکی مستقل می‌باشند [۱۷۰]، گرچه روی یک کروموزوم واقع شده‌اند (فصل ۳۲). تئوری‌های گروب و سپلینی اکنون به کمک شواهد بیوشیمیایی مورد تأیید قرار گرفته اند، گرچه در مورد افراد آسیای شرقی و منطقه اقیانوس آرام وضعیت پیچیده تر می‌باشد، در این مناطق یک فنوتیپ چهارم گلبول قرمز Le(a+b+) شایع می‌باشد. آنتی‌ژن‌های مربوط به لوئیس، Le^c و Le^d ، در بخش ۲-۱۹-۲ توصیف شده‌اند.

۲-۳-۳-۱ بیوسنتز آنتی‌ژن‌های لوئیس

محصول ژن لوئیس (Le) یک آلفا-۱ و ۴-L- فوکوزیل ترانسفراز می‌باشد [۱۷۱ و ۱۷۲] که انتقال L- فوکوز را از GDP- فوکوز به N- استیل گلوکز آمین سوبستراهای پذیرنده نوع ۱ کاتالیز می‌نماید: با انتقال L- فوکوز به ماده پیشساز نوع ۱، آنتی‌ژن Le^a را می‌سازد، به ماده H نوع ۱، آنتی‌ژن Le^b و به B نوع ۱ نیز BL^b را می‌سازد. نوع برهم کنش بین ژن‌ها در لوکوس‌های ABO ($FUT2$) و $LE(FUT3)$ ، تعیین کننده حضور Le^a ، Le^b ، هر دو و یا هیچکدام در ترشحات، پلاسما و بر سطح گلبول‌های قرمز می‌باشد (شکل ۱-۲).

در ساده ترین حالت، دو آلل در لوکوس $LE(FUT3)$ وجود دارند: Le که آلفا-۱ و ۴-L- فوکوزیل ترانسفراز را رمزدهی می‌کند و یک le که ظاهراً خاموش می‌باشد. اشخاصی که برای le هموزیگوت هستند، هیچکدام از آنتی‌ژن‌های Le^a و Le^b را ترشح نمی‌کنند و دارای فنوتیپ گلبول قرمز Le(a-b-)، صرفنظر از فنوتیپ ABH و سکرور آنها، می‌باشند. در افراد غیر سکرور ABH (se/se)، آلفا-۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز در ترشحات وجود ندارد تا ماده پیشساز نوع ۱ را به ماده H نوع ۱ تبدیل نماید. لذا پیشساز نوع ۱ در دسترس بوده به عنوان یک سوبسترای پذیرنده برای ترانسفراز لوئیس عمل می‌کند و آنتی‌ژن مونوفوکوزیله Le^a را تولید می‌نماید بطوری که ترشحات حاوی Le^a و

1- Ceppellini

گلوبول‌های قرمز به صورت $Le(a+b-)$ می‌باشند. افراد دارای ژن Se ماده H نوع ۱ را تولید می‌کنند که به نوبه خود توسط ترانسفراز لوئیس به آنتی‌ژن دی فوکوزیل Le^b تبدیل می‌گردد. در صورتی که این افراد یک ژن A یا B داشته باشند، قسمت اعظم ماده H نوع ۱ به ساختارهای A یا B تبدیل خواهد شد و به همین ترتیب ترانسفراز لوئیس آنتی‌ژن‌های ALe^b یا BLe^b را تولید خواهد نمود. گرچه ترانسفراز لوئیس می‌تواند هر دو سوبسترای پذیرنده، پیشساز نوع ۱ یا سوبسترای پذیرنده H نوع ۱ را به ترتیب به منظور تولید Le^a و Le^b مورد استفاده قرار دهد، اما Le^a یک سوبسترای بسیار ضعیف برای آلفا-۱، ۲- فوکوزیل ترانسفرازی است که توسط ژن Se کد شده باشد [۱۰ و ۱۶].

لذا بین این دو آنزیم برای سوبسترا رقابت وجود دارد [۱۷۳ و ۱۷۴]. اگر مقداری Le^a توسط ترانسفراز لوئیس از پیشساز نوع ۱ تولید شود، نمی‌تواند توسط ترانسفراز se به Le^b تبدیل شود، بدین ترتیب ترشحات شخصی که ژن‌های Le و le را دارد حاوی Le^a و Le^b می‌باشد هر چند که مقادیر بسیار کمی Le^a در پلاسما یا روی گلوبول‌های قرمز شناسایی شده است. همینطور Le^b یک سوبسترای پذیرنده برای ترانسفراز A یا B نمی‌باشد [۱۶، ۱۰] و ترشحات افرادی که ژن‌های لوئیس، Se و A را دارند حاوی Le^a ، Le^b ، ALe^b می‌باشد (شکل ۱-۲).

محصول ژن سکرتور ضعیف (Se^w) که در خاور دور شایع است، غیرموثر تر از محصول آلل Se با ترانسفراز لوئیس رقابت می‌کند، لذا Le^a را بیشتر از افراد سکرتور تولید می‌کند. افرادی که برای Se^w هموزیگوت یا هتروزیگوت (Se/Se^w) هستند در ترشحات و پلاسمای خود Le^a و Le^b را دارند و فنوتیپ گلوبول‌های قرمز آنها $Le(a+b+)$ می‌باشد [۵۴، ۷۶، ۱۰۰، ۱۷۵ و ۱۷۶].

ترانسفراز لوئیس در کاتالیز نمودن دو پیوند مجزای گلیکوزیدیک از یک توانایی استثنایی برخوردار است. علاوه بر فعالیت آلفا-۱، ۴- L - فوکوزیل ترانسفراز، مقداری فعالیت آلفا-۱، ۳- فوکوزیل - ترانسفراز نیز دارد و معمولاً یک آلفا - ۱ و ۳/۴- L - فوکوزیل ترانسفراز نامیده می‌شود [۱۷۸-۱۸۰]، گرچه تاثیر آن روی پذیرنده H نوع ۱ صد برابر بیشتر از نوع ۲ می‌باشد [۱۸۱]. ایجاد جایگزینی $Arg \rightarrow Trp111$ با استفاده از جهش زایی هدفدار، اختصاصیت آن برای پذیرنده H نوع ۱ را به پذیرنده H نوع ۲ تبدیل نمود [۱۸۲].

۲-۳-۳-۲ ژنتیک مولکولی

کوکوسکا-لاتالو و همکاران^۱ [۱۸۰] با بهره‌گیری از یک تکنیک انتقال ژن (مشابه آن که در بخش ۲-۳-۱ برای جداسازی ژن H توضیح داده شد)، cDNA کد کننده آلفا- ۱ و ۳/۴- L - فوکوزیل ترانسفراز (که محصول ژن Le می‌باشد) را کلون و تعیین توالی نمودند. این ژن حاوی یک منطقه کدکننده بدون ایترون می‌باشد، که یک پروتئین ۳۶۱ اسید آمینه ای با ساختار سه بعدی مختص

¹ - Kukowska-Latallo et al.

گلیکوزیل ترانسفرازها را رمزدهی می‌نماید. بین ژن محصولات آلفا-۱ و ۲، و آلفا-۳ و فوکوزیل ترانسفراز تشابه توالی به میزان زیادی وجود دارد.

اساس ژنتیکی فنوتیپ گلبولی Le(a-b-) ناهمگن است، اما همواره در ارتباط با یک یا چند جهش بدمعنی^۱ درون منطقه *FUT3* که حوزه کاتالیزوری ترانسفراز را کد مینماید، می‌باشد [۱۹۳-۱۸۳] (جدول ۲-۹). هیچ نوع جهش بی معنی^۲ لوئیس یافت نشده است. در آزمایشات آلوده سازی با استفاده از قطعات cDNA یا *FUT3* کیمریک نشان داده شد که جایگزینی‌های اسید آمینه ای زیر منجر به غیر فعال سازی کامل یا تقریباً کامل آنزیم آلفا-۱ و ۳/۴-L-فوکوزیل ترانسفراز می‌گردند: [۱۹۴] Trp68Arg ، Gly170Ser [۱۸۶] و Ile356Lys [۱۸۵ و ۱۸۶]. این آنزیم توسط جایگزینی Thr105Met که همواره در ارتباط با Trp68Arg [۱۹۴] می‌باشد، غیر فعال نمی‌گردد. جهشی که جایگزینی Leu20Arg را کد می‌نماید در آل‌های لوئیس منفی شایع است (جدول ۲-۹). این جایگزینی در قسمت درون غشایی آنزیم اتفاق می‌افتد و فعالیت کاتالیزوری آن را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد [۱۸۳ و ۱۸۵]، اما ممکن است اتصال آنزیم به غشا دستگاه گلژی را مختل سازد [۱۸۳ و ۱۹۳]. Leu20Arg در غیاب هر نوع جهش دیگر لوئیس در اندونزیایی‌ها نسبتاً شایع می‌باشد و افرادی که برای این آل هموزیگوت هستند، گلوبول‌های قرمز Le(a-b-) دارند اما آنتی‌ژن‌های لوئیس را ترشح می‌کنند [۱۸۵]. دو جهش بد معنی دیگر ($Le^{370}(Ser124Ala)$ ، $Le^{304}(Gln102Lys)$) هیچ تاثیری روی فعالیت آنزیم ندارند [۱۹۱].

جدول ۲-۸. فراوانی‌های آللی ABO که براساس بررسی‌های ژنومیک بر پایه PCR تعیین شده اند.

Population	No. of alleles tested	Alleles					Reference
		A ¹	A ²	B	O ¹	O ²	
Europeans	600	0.215	0.062	0.112	0.583	0.028	[139]
English	172	0.198	0.075	0.105	0.605	0.017	[140]
Germans	234	0.214	0.068	0.051	0.650	0.017	[165]
Swedes	299	0.191	0.070	0.104	0.602	0.033	[138]
White Americans	240	0.188	0.017	0.108	0.671	0.017	[141]
Japanese	1040	0.287	ND	0.178	0.535	0	[132]
Japanese	208	0.288	0	0.178	0.534	0	[165]
Chinese	125	0.192	0	0.168	0.630	0	[134]

ND, not determined.

1 - missense

2 - nonsense

جدول ۲-۹. آلل‌های *FUT3* در ارتباط با غیرفعال بودن ترانسفراز لوئیس و جایگزینی‌های اسید آمینه ای رمزدهی شده.

Symbol*	Amino acid position										Populations	References
	20	68	105	146	162	170	223	270	356			
†Le	Leu	Trp	Thr	Leu	Asp	Gly	Gly	Val	Ile			
‡Le ²⁹	Arg	-	-	-	-	-	-	-	-	Indonesians, Europeans, Japanese, Chinese	[185,188,191-193]	
le ¹⁰⁶⁷	-	-	-	-	-	-	-	-	Lys	Indonesians, Europeans, Japanese, Chinese	[185,189,191,192]	
le ^{58,1067}	Arg	-	-	-	-	-	-	-	Lys	Europeans, Japanese, Indonesians, Africans, Chinese	[185,186,188-193]	
le ^{58,508}	Arg	-	-	-	-	Ser	-	-	-	Europeans, Japanese, Chinese, Africans	[183,184,186-188,190-193]	
le ^{202,314}	-	Arg	Met	-	-	-	-	-	-	Europeans, Africans, Chinese	[188,190-192]	
le ^{58,68,1067}	Arg	Arg	-	-	-	-	-	-	Lys	Europeans	[188]	
le ^{58,445}	Arg	-	-	Met	-	-	-	-	-	Europeans	[188]	
le ²⁰²	-	Arg	-	-	-	-	-	-	-	Europeans, Africans	[191]	
le ^{484,667}	-	-	-	-	Asn	-	Arg	-	-	Africans	[191]	
le ^{484,667,808}	-	-	-	-	Asn	-	Arg	Met	-	Africans	[191]	
le ^{202,314,484}	-	Arg	Met	-	Asn	-	-	-	-	Europeans	[191]	

*Numbers represent nucleotide position of mutation.

†Common active allele.

‡Product enzymatically active, but may affect Golgi anchoring.

در جمعیت‌های سفید پوست، $le^{202,314}$ و $le^{59,1067}$ شایع‌ترین آلل لوئیس منفی می‌باشند [۱۹۱ و ۱۹۲]، حال آنکه $le^{59,508}$ در سیاهپوستان آفریقایی و ژاپنی‌ها شایع‌ترین آلل است [۱۸۹، ۱۸۶، ۱۸۹ و ۱۹۱] (جدول ۲-۱۰). موقعیت جهش‌های غیرفعال کننده در *FUT3* نشان می‌دهد که حوضه کاتالیزوری ترانسفراز لوئیس، از منطقه ای که شامل اسید آمینه‌های ۶۸ تا ۳۵۶ می‌باشد، تشکیل شده است.

بیان قطعات *FUT3* که پروتئین‌های ناقص را تولید می‌کنند، نشان داد پروتئینی که از اسید آمینه‌های ۶۸ تا ۳۵۶ تشکیل شده دارای فعالیت آنزیمی است اما قطعات کوتاه‌تر غیرفعال می‌باشند [۱۹۵]. آنزیم آلفا-۱ و ۴-L- فوکوزیل ترانسفراز در بعضی بافت‌ها و ترشحات شناسایی شده است: کلیه، مخاط معده، غدد تحت فکی، پوشش کیست‌های تخمدانی، بزاق و شیر [۱۰]. فعالیت این دو آنزیم در سرم، گلبول‌های قرمز، لنفوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و پلاکت‌ها مشاهده نشده است [۱۷۸، ۱۹۸-۱۹۶]، گواهی بر این مطلب که این آنزیم هیچ نوع منشأ بافت خونساز ندارد. سطوح بالایی از رونوشت‌های *FUT3* (LE) در روده بزرگ، معده، روده کوچک، شش و کلیه و مقادیر کمتر آن در غدد بزاقی، مثانه، رحم و کبد یافت می‌شوند [۱۹۹].

۲-۳-۴ Le^x, Le^y و Le^x سیالیه

Le^x (CD15) و Le^y به ترتیب نمایانگر ایزومرهای نوع Le^a و Le^b می‌باشند (جدول ۲-۳). یک آلفا-۱ و ۳-فوکوزیل ترانسفراز، انتقال L-فوکوز را از یک دهنده نوکلئوتیدی به موقعیت C-3 در N-استیل - گلوکزآمین انتهایی ماده پیشساز نوع ۲، ماده H نوع ۲، A نوع ۲، و یا B نوع ۲ کاتالیز می‌نماید تا به ترتیب آنتی‌ژن‌های Le^x ، Le^y ، ALe^y و BLe^y را تولید نماید (شکل ۲-۱).

آنتی‌ژن Le^x در مقایسه با ساختارهای لوئیس توسط ترانسفراز H یا ترانسفراز Se به Le^y تبدیل نمی‌شود و آنتی‌ژن Le^y نیز توسط ترانسفرازهای A یا B به ALe^y یا BLe^y تبدیل نمی‌گردد (آنتی‌ژنی که در اینجا تحت عنوان Le^x توصیف شده است با آنتی‌ژن اصلی Le^x که در این فصل Le^{abx} نامیده شده متفاوت می‌باشد، به بخش ۲-۱۹-۱ مراجعه شود). علاوه بر ژن لوئیس، $FUT3$ ، چهار ژن دیگر نیز که آنزیم‌هایی با فعالیت آلفا-۱ و ۳-فوکوزیل ترانسفراز کد می‌کنند کلون شده اند [۲۰۶-۲۰۰] (جدول ۲-۶). $FUT3$ ، $FUT5$ و $FUT6$ (ژن پلاسمایی) دارای تقریباً ۹۵٪ تشابه توالی می‌باشند و روی کروموزم 19p13.3 تشکیل یک خوشه می‌دهند (به فصل ۳۲ مراجعه شود). $FUT4$ (ژن میلوئید) و $FUT7$ (ژن لوکوسیت) به ترتیب روی کروموزم‌های ۱۱ و ۱۹ واقع شده اند [۲۰۷-۲۰۵]. فوکوزیله شدن یک پذیرنده (که در موقعیت‌های ۲ و ۳ سیالیه شده است) تولید Le^x سیالیه (CD15 سیالیه) [۲۰۳ و ۲۰۴] (جدول ۲-۳) می‌نماید که لیگاند خانواده سلکتین (از پروتئین‌های چسبندگی سلولی) می‌باشد [۲۱۰-۲۰۸] (بخش ۲-۱۹-۳). $FUT4$ بیان Le^x روی لوکوسیت‌ها و سلول‌های مغزی را کنترل می‌نماید، در حالی که $FUT7$ مسئول سنتز Le^x سیالیه روی لوکوسیت‌ها می‌باشد. $FUT6$ یک آلفا-۱ و ۳-فوکوزیل ترانسفراز را تولید می‌کند که در پلاسما، کبد، کلیه، روده بزرگ و غدد بزاقی وجود دارد. توزیع بافتی آنزیم $FUT5$ مشخص نشده است (جهت بازنگری به منبع ۷۲ مراجعه شود). آنزیم $FUT2$ ممکن است علاوه بر پذیرنده‌های نوع ۲، پذیرنده‌های نوع ۱ را نیز مورد استفاده قرار دهد [۸۲ و ۲۱۱] و لذا قادر به سنتز آنتی‌ژن‌های لوئیس باشد.

احتمال می‌رود که خوشه سه ژن همسان (هومولوگ)^۱ فوکوزیل ترانسفراز $FUT3$ ، $FUT5$ ، $FUT6$ و احتمالاً دیگر ژن‌های فوکوزیل ترانسفراز (جدول ۲-۶) از طریق مضاعف شدن متوالی و متعاقب آن جابجایی و تکامل واگرایی^۲ یک ژن اجدادی ظهور یافته باشند. $FUT8$ ، که یک آلفا-۱ و ۶-فوکوزیل ترانسفراز را رمزدهی می‌کند، ممکن است همان ژن اجدادی باشد [۱۸۱]. حالت هموزیگوت برای آلل‌هایی از $FUT6$ که حاوی یک جهش بد معنی (Glu24Lys) و یا یک جهش بی معنی (Tyr315stop) باشند، مسئول کمبود آلفا-۱ و ۳-فوکوزیل ترانسفراز پلاسمایی در اندونزی [۲۱۲]،

1 - homologous

2 - Divergent evolution

پلینزی^۱ و سوئد [۲۱۳] می‌باشد. نه درصد اندونزیایی‌های ساکن جاوه نقصان آلفا-۱ و ۳-فوکوزیل ترانسفراز دارند و ۹۵٪ این افراد دارای گلبول‌های قرمز Le(a-b-) می‌باشند که این حاکی از وجود عدم تعادل اتصالی^۲ بین لوکوس‌های بسیار نزدیک *FUT3(LE)* و *FUT6* می‌باشند [۲۱۲].

بخش ۳- سیستم‌های ABO، Hh و سکر تور

۲-۴ A_1 و A_2

وجود زیر گروه‌های A نخستین بار توسط وان دانگرن و هیرشفیلد^۳ [۲۱۴] در سال ۱۹۱۱ اثبات گردید، آنها متوجه شدند که گلبول‌های یک زیر گروه، آنتی‌ژن A را ضعیف‌تر از زیر گروه دیگر بیان می‌نمایند. لنداشتاینر و لوین [۲۱۵]، دو گروه اصلی را A_1 و A_2 نامیدند. طریق معمول تفسیر نمودن زیر گروه‌های A به صورت زیر می‌باشد:

آنتی - A (سرم گروه B)		آنتی‌ژن‌ها	گروه
آنتی - A_1	آنتی - A		
+	+	A A_1	A_1
-	+	A	A_2

سرم افراد گروه B ظاهراً حاوی دو جزء آنتی‌بادی است: آنتی - A و آنتی - A_1 . سلول‌های A_1 با هر دو جزء واکنش می‌دهند، حال آنکه سلول‌های A_2 فقط با جزء آنتی - A واکنش می‌دهند. در صورتی که سرم افراد گروه B مجاور گلبول‌های A_2 قرار گیرد، آنتی - A حذف شده و آنتی - A_1 باقی می‌ماند [۲۱۴]. در هر حال با ادامه این عمل جذب سرم گروه B با گلبول‌های A، کل آنتی‌بادی‌ها (A و A_1) حذف می‌شوند [۲۱۶].

متأسفانه اصطلاح آنتی - A دارای دو مفهوم می‌باشد: آنتی سرمی که با سلول‌های A و AB واکنش می‌دهد، و یکی از دو جزء آنتی‌بادی که در سرم افراد گروه B می‌باشد. در این فصل مفهوم دقیق «آنتی - A» بایستی با توجه به زمینه کاربردی آن مشخص گردد. آنتی - A_1 در سرم بعضی از افراد گروه A_2 و A_2B وجود دارد [۲۱۷ و ۲۱۸]. آنتی - A در سرم ۲-۱٪ درصد افراد A_2 و ۲۲ الی ۲۶ درصد افراد

1 - Polynesia

2 - Linkage Disequilibrium

3 - Von Dungen and Hirszfild

گروه A_2B بواسطه آگلوتیناسیون گلبول‌های A_1 در دمای اتاق، مشاهده شد [۲۱۹ و ۲۲۰]. تکنیک‌های حساس تر، آنتی- A_1 را در درصد بالاتری از اهداکنندگان A_2 و A_2B شناسایی نمودند [۲۲۱ و ۲۲۲]. احتمالاً بهترین و متداولترین معرف آنتی- A_1 ، لکتین دولیکوس بیفلوروس می‌باشد [۲۲۳]. عصاره خام دانه‌های آن گلبول‌های A_1 و A_2 را آگلوتینه می‌نماید، اما در یک رقت مناسب A_1 و A_1B را به راحتی از A_2 و A_2B افتراق می‌دهد.

گلبول‌های قرمز شیرخواران گروه A معمولاً به طور ضعیف با این لکتین واکنش می‌دهند و ممکن است با آنتی- A_1 انسانی اصلاً آگلوتینه نشوند [۲۲۴]. این نکته را بایستی به خاطر داشت که لکتین دولیکوس، گلبول‌های نادری که آنتی‌ژن قوی Sd^a را دارند و گلبول‌های Tn (که توسط تمامی سرم‌ها آگلوتینه می‌شوند)^۱ را صرف‌نظر از گروه ABO آگلوتینه می‌نماید (فصول ۲۹ و ۳۱). گلبول‌های قرمز A_2 اساساً آنتی‌ژن H را به میزان بیشتری از سلول‌های A_1 بیان می‌کنند.

با استفاده از روش‌های سرولوژیک، ژن A^1 بر ژن A^2 غالب بنظر می‌رسد و ژنوتیپ‌های A^1/A^1 و A^2/A^2 را نمی‌توان با تکنیک‌های تعیین گروه خون از هم تمییز داد (جدول ۲-۱۱). این ژنوتیپ‌ها را می‌توان از طریق مطالعات خانوادگی، سنجش ترانسفراز و یا ژنتیک مولکولی تعیین نمود.

۲-۴-۱ ترانسفراز A_1 و A_2 و ژن‌هایی که آنها را تولید می‌نمایند

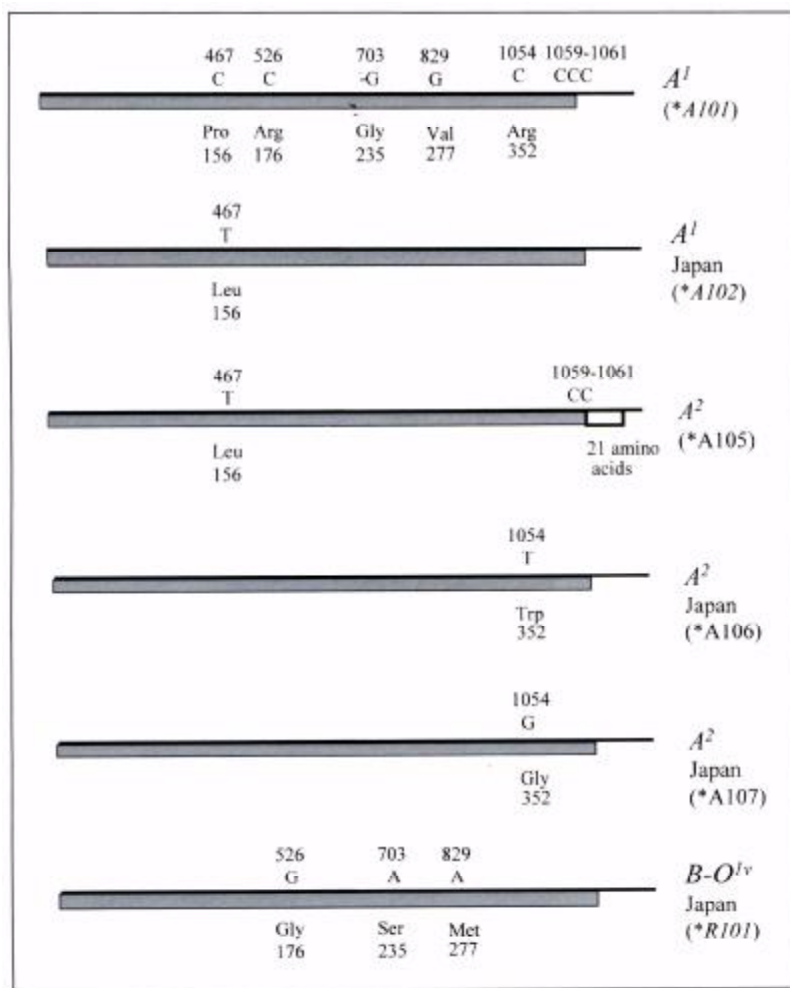
محصول ژن A یک N-استیل گالاکتوز آمینیل ترانسفراز است (بخش ۲-۳-۱). ترانسفراز A جدا شده از سرم یا مخاط معده افراد A_1 ، در تبدیل گلبول‌های O به گلبول‌های A فعال تر از ترانسفراز A افراد A_2 می‌باشد [۲۲۵ - ۲۲۸]. هر گاه آنزیم A_2 استفاده شود واکنش خیلی کندتر است و تحت شرایط طبیعی، گلبول‌های O فقط به فنوتیپ A_2 تبدیل می‌شوند، در هر حال، گلبول‌های O متعاقب انکوباسیون طولانی مدت با آنزیم A_2 ، می‌توانند توسط معرف‌های آنتی- A_1 آگلوتینه شوند [۲۲۸]. آنزیم A_1 قادر است سلول A_2 را به فنوتیپ A_1 تبدیل نماید [۲۲۶ و ۲۲۷]. N-استیل -گالاکتوز آمینیل ترانسفرازهای با منشا A_1 و A_2 برای پذیرنده‌هایی با وزن مولکولی کم ویژگی یکسان دارند و هر دو یک شاخص A را تولید می‌نمایند [۱۰]، با این حال در $pH = 5/5$ فعالیت ترانسفراز A جدا شده از سرم A_1 در کنار سوبسترای با وزن مولکولی کم، ۱۰-۵ برابر بیشتر از فعالیت آن در سرم A_2 می‌باشد [۲۲۹].

اسشاکتر و همکاران^۲ [۲۸۰] تایید نمودند که ترانسفرازهای سرمی A_1 و A_2 اختلاف کیفی دارند. این دو آنزیم pH های اپتیمم متفاوت دارند: ۵/۶ برای ترانسفراز A_1 و بین ۷ و ۸ برای ترانسفراز A_2 . سرم افراد هتروزیگوت (A^1/A^2) را می‌توان از سرم افراد هموزیگوت (A^1/A^2) و یا A^1/O با استفاده از pH های اپتیمم و نقطه ایزوالکتریک افتراق داد [۲۳۱]. در $pH = 7/2$ ، Km ترانسفراز A_2 (که کارایی

1- Polyagglutinable Tn RBCs

2 - Schachter et al.

کمتری دارد) ۱۰ برابر بیشتر از Km ترانسفراز A_1 می‌باشد [۲۳۰]. تبدیل گلبول‌های O در آزمایشگاه به گلبول‌های A ، توسط ترانسفراز A ، معمولاً مستلزم وجود یون‌های Mn^{2+} می‌باشد. در صورتی که به جای Mn^{2+} از Mg^{2+} استفاده شود، ترانسفراز A_1 همچنان فعال می‌ماند، اما ترانسفراز A_2 غیر فعال می‌شود [۲۳۰].



شکل ۲-۶. نمودار، cDNA محصولات پروتئینی ۶ آلل ABO را ارائه می‌دهد. توالی بالایی، توالی هماهنگ (consensus) می‌باشد (A^1 اروپایی). دیگر توالی‌ها، A^1 ژاپنی و چهار آلل A^2 را نشان می‌دهند، ضمن اینکه تفاوت آنها با توالی هماهنگ نیز نشان داده شده است. بعضی از تغییرات نوکلئوتیدی خاموش نشان داده نشده‌اند.

آلل A^2 در افراد اروپایی الاصل حاوی یک حذف سه سیتوزینی در موقعیت‌های ۱۰۵۹ تا ۱۰۶۱ (از CCC به CC) می‌باشد. این حذف در کدون قبل از کدون توقف ترجمه واقع شده و باعث انتقال چهارچوب قرائت و از بین رفتن کدون توقف می‌گردد که در نهایت یک محصول ژنی با ۲۱ اسید آمینه اضافی را در انتهای کربوکسیلی بوجود می‌آورد [۱۲۸] (شکل‌های ۲-۳ و ۲-۶). آلل A^2 همچنین Leu156 را به جای Pro156 توالی هم‌هنگ در آلل A^1 کد می‌نماید. یک رده سلولی انسانی که با یک قطعه (سازه) A_1 cDNA حاوی حذف مصنوعی C1059 آلوده شده بود، نوعی ترانسفراز A را با فعالیت فوق العاده پایین تولید نمود. جایگزینی Pro156Leu تاثیر بسیار جزئی روی فعالیت آنزیم داشت [۱۷۸]. در ژاپن وضعیت به شکل دیگر است [۲۳۲ و ۲۳۳]. آللی که در بالا توصیف شد و دارای حذف C1059 بود (که A_{105} - نیز نامیده می‌شود) نادر می‌باشد. دو آلل بسیار شایع A^2 ، حذف C1059 را ندارند، بلکه درون کدون ۳۵۲ که فقط سه کدون قبل از کدون توقف واقع شده است، جهش‌های بد معنی مختلفی دارند: Arg352Trp (- A_{106})، Arg352Gly (- A_{107}) [شکل ۲-۶].

آلل هیبرید $AB-O^{IV}$ (- R_{101})، که در ژاپن نیز خیلی شایع است، در صورتی که با O جفت شود فنوتیپ A_1 و اگر با B جفت شود فنوتیپ A_2B را بوجود می‌آورد که احتمالاً به دلیل رقابت ترانسفراز B و ترانسفراز هیبرید با فعالیت A برای یک پذیرنده مشترک می‌باشد [۲۳۳]. این آلل مسئول یک حالت عدم تعادل در فراوانی فنوتیپ A_2 و A_2B در ژاپن می‌باشد.

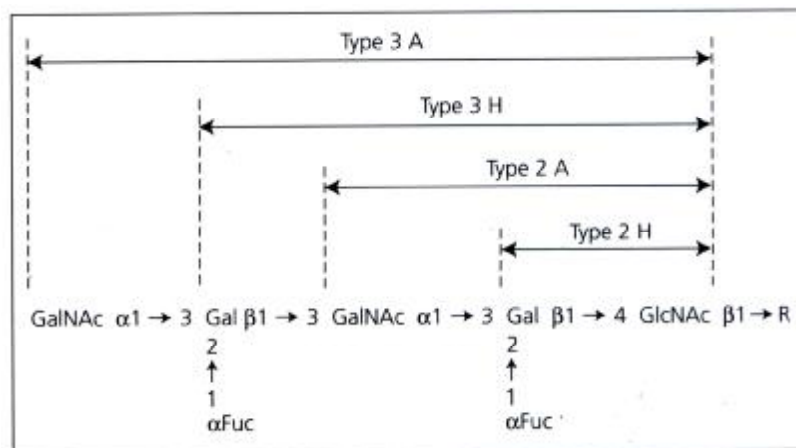
۲-۴-۲: آیا شاخص‌ها دارای هر دو اختلاف کمی و کیفی هستند ؟

زمانیکه اولین بار زیر گروه‌های A_1 و A_2 توصیف شدند، در مورد اینکه آیا سلول‌های A_1 و A_2 در تعداد شاخص‌های A با هم تفاوت دارند و نیز اینکه آیا آنتی‌ژن‌ها واقعاً اختلاف‌های ساختاری را نشان می‌دهند، بحث و جدل وجود داشته است. جذب مکرر آنتی- A_1 از سرم گروه B با استفاده از سلول‌های A_2 ، کل آنتی‌بادی را حذف خواهد کرد که این حاکی از یک اختلاف کمی می‌باشد [۲۱۶ و ۲۳۴] و اما افراد A_2 و A_2B غالباً آنتی- A_1 می‌سازند و این دال بر این واقعیت است که سلول‌های A_2 فاقد یک شاخص که روی گلبول‌های A_1 موجود است، می‌باشند [۲۱۷ و ۲۱۸].

در مورد وجود یک اختلاف کمی بین گلبول‌های A_1 و A_2 هیچ شک و شبهه‌ای وجود ندارد. تکنیک‌های متعددی به منظور برآورد تعداد جایگاه‌های آنتی‌ژنیک روی گلبول‌های قرمز مورد استفاده قرار گرفته اند، که شامل: رادیوایمونواسی با استفاده از آنتی‌بادی یا لکتین نشان دار [۲۳۵ و ۲۴۱]، مطالعه گلبول‌های قرمز حساس شده بالکتین‌های نشاندار شده با فرتین به کمک میکروسکوپ الکترونی [۲۴۲]، تبدیل جایگاه‌های H به کمک یوریدین دی فسفات (UDP)-N - استیل - گالاکتوزآمین و ترانسفراز A

[۲۷، ۲۳۸ و ۲۳۹]، و فلوسایتومتري با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال [۲۴۳]. تعدا برآورد شده جایگاه‌های آنتی‌ژنیک A به ازای هر گلبول قرمز به شکل زیر خلاصه شده است:

A ₁	$8-12 \times 10^5$	
A ₂	$1-4 \times 10^5$	
A ₁ B	$5-9 \times 10^5$	
A ₂ B	1×10^5	[۲۴۰-۲۳۵، ۲۴۲ و ۲۴۳]



شکل ۲-۷. دیاگرام نشان می‌دهد که چگونه یک زنجیره A نوع ۳ از یک زنجیره H ساخته می‌شود. از راست به چپ، H نوع ۲ در افراد گروه A به A نوع ۲ تبدیل می‌شود، A نوع ۲ ممکن است به H نوع ۳ تبدیل گردد. سپس H نوع ۳ در افراد A₁ (اما نه A₂) به A نوع ۳ تبدیل می‌شود.

روشانت و همکاران^۱ [۲۴۴] پی بردند که اکثر گلبول‌های قرمز افراد A₂ در مجاورت لکتین فلورسان دولیکوس، فلورسانس ضعیف در حالی که تعداد کمی از گلبول‌ها فلورسانس بسیار قوی را نشان می‌دهند، برعکس در جمعیتی از گلبول‌های A₁، قسمت اعظم آنها واکنش قوی و فقط حدود ۱۰٪ فلورسانس ضعیف را نشان می‌دهند. این یافته ممکن است الگوی «زمینه مخلوط آگلوتیناسیون» را که گاهی اوقات در ارتباط با معرف‌های آنتی-A₁ مشاهده می‌شود توجیه کند. A₁ و A₂ دارای اختلاف کمی نیز می‌باشند. ساختارهای تکرار شونده نوع ۳ آنتی‌ژن A (به بخش ۲-۲-۲ و جدول ۳-۲ مراجعه شود) روی گلبول‌های قرمز A₁ وجود دارند اما بر سطح گلبول‌های A₂ مشاهده نمی‌شوند [۶۲، ۶۴ و ۶۵]. زنجیره‌های تکرار شونده نوع ۳ فقط بر سطح گلبول‌های قرمز گروه A وجود دارند زیرا از طریق اضافه

¹ - Rochant et al.

شدن یک ریشه گالاکتوز به N - استیل - گالاکتوز آمین انتهایی یک زنجیره A نوع ۲ و به دنبال آن فوکوزیله شدن گالاکتوز مذکور به منظور تولید H نوع ۳ ساخته می شوند (شکل ۲-۷). ترانسفراز A_1 ، اما نه A_2 ، قادر است H نوع ۳ را با افزودن یک ریشه N - استیل - گالاکتوز آمین به A نوع ۳ تبدیل نماید [۶۵]، بطوری که H نوع ۳، اما نه A نوع ۳، روی گلبول‌های A_2 یافت می‌گردد. همینطور H نوع ۴، اما نه A نوع A_4 ، روی گلیکولیپیدهای سلول‌های A_2 شناسایی می‌شود [۶۵ و ۶۲]. احتمال می‌رود که آنتی- A_1 برای ساختارهای A نوع ۳ یا A نوع ۴ اختصاصی باشد و یا تمایل بیشتری را نسبت به آنها نشان دهد. در هر حال لکتین دولیکوس، N - استیل - گالاکتوز آمین را شناسایی می‌کند و در یک غلظت مناسب سلول‌های A_2 را آگلوتینه می‌نماید بطوری که استفاده از آن بعنوان یک معرف برای تعیین زیر گروه‌های A احتمالاً بیشتر به واسطه اختلاف کمی بین فنوتیپ‌های A_1 و A_2 است تا اختلاف کیفی.

۲-۴-۳ A_{int}

لنداشاینر و لوین [۲۱۵] متوجه شدند که گلبول‌های قرمز بعضی از افراد گروه A را نمی‌توان به عنوان A_1 یا A_2 توصیف نمود، بلکه باید آنها را در یک دسته حد واسط قرار داد. در هر حال A_{int} حاکی از یک حد واسط واقعی نمی‌باشد، زیرا میزان H سطح آنها به اندازه گلبول‌های A_2 و حتی بیشتر از آنها می‌باشد [۲۲۴ و ۲۴۹ - ۲۴۵]. A_{int} در سیاهپوستان شایعتر از سفید پوستان است. از میان آمریکایی‌های آفریقایی تبار گروه A ۸/۵٪ دارای فنوتیپ A_{int} بودند که در مقایسه با آمریکایی‌های سفیدپوست گروه A این رقم حدود ۱٪ بود [۲۴۹]. از میان سیاهپوستان گروه A آفریقایی جنوبی، ۱۳/۷٪ A_{int} بودند [۲۴۵]. A_{int} ظاهراً به صورت یک آلل در لوکوس ABO به ارث می‌رسد [۲۴۶ و ۲۴۷].

یوشیدا و همکاران^۲ [۲۵۰] شکل منحصر به فردی از ترانسفراز A را در سرم افراد A_{int} شناسایی نمودند که اختلاف آن با ترانسفراز A_2 در داشتن میل پیوندی بالا برای N-UDP - استیل - گالاکتوز آمین و با ترانسفراز A_1 در داشتن میل پیوندی پائین برای ۲' - فوکوزیل لاکتوز، یک آنالوگ محلول برای ماده H متصل به غشا، بود.

۲-۵ فراوانی‌های ژنی و فنوتیپی ABO

گروه بندی ABO برای میلیون‌ها نفر انجام شده و فراوانی چهار فنوتیپ A، B، AB و O در سراسر جهان دارای اختلافات اساسی است و حتی درون کشورهای خیلی کوچک هم نوسانات قابل توجهی مشاهده می‌شود.

1 - Landsteiner and Levine

2 - Yoshida et al.

در سال ۱۹۷۶ مورانت و همکاران^۱ [۲۵۱] نتایج آزمایشات ABO روی تقریباً ۸ میلیون نفر را به همراه نتایج قبلاً اعلام شده مربوط به ۷ میلیون نفر، منتشر نمودند. یک جلد مکمل این کتاب نیز حاوی اطلاعات مربوط به تقریباً یک میلیون نفر دیگر بود [۲۵۲]. توصیه می‌گردد هر شخصی که نیازمند اطلاعات مربوط به فراوانی ABO اساساً در هر کشور جهان می‌باشد به کتاب‌های فوق مراجعه نماید.

بعنوان نمونه ای از فراوانی‌های ABO در بریتانیا، مطالعه ای که روی افراد غیر خویشاوند از جنوب انگلستان انجام شد اطلاعات آن در جدول ۱۲-۲ نمایش داده شده است. گلبول‌های قرمز با آنتی-A، آنتی-B و آنتی-A₁ مورد آزمایش قرار گرفته و سرم‌ها نیز به منظور وجود آگلوتینین‌های معکوس^۲ مورد بررسی قرار گرفتند. روش‌های محاسبه فراوانی‌های ژنی ABO در جایی دیگر ارائه می‌شوند [۸۶] و برنامه‌های رایانه‌ای نیز بدین منظور در دسترس می‌باشند. تجزیه و تحلیل مفصل خانواده‌هایی که به منظور گروه‌های A₁، A₂، B و O مورد آزمایش قرار گرفتند، صحت نظریه‌های ژنتیکی برنشتین^۳ [۶ و ۷] برای ABO و تامسن و همکاران^۴ [۸] برای A₁، A₂، B و O را تایید نمود. جمعیت‌های با فراوانی بالای O (فراوانی ژنی بیشتر از ۰/۷، یعنی ۷۰٪) در آمریکای شمالی و آمریکای جنوبی و در بخش‌هایی از آفریقا و استرالیا یافت میشوند، اما این رقم در قسمت اعظم اروپا و آسیا مشاهده نمی‌شود. بعضی از مردمان بومی آمریکای جنوبی و آمریکای مرکزی تقریباً همگی گروه O هستند و احتمال می‌رود که قبل از تهاجم اروپا، بطور کامل بدین صورت بوده اند. فراوانی گروه A در اروپا خیلی بالا است (۲۵٪ تا ۵۵٪)، بویژه در اسکندیناوی و بخش‌هایی از اروپای مرکزی. فراوانی بالای گروه A همچنین در بومی‌های جنوب استرالیا (تا ۴۵٪) و در قبایل بومی خاصی از آمریکا (تا ۳۵٪) مشاهده می‌شود. A₂ اساساً در اروپا، خاور نزدیک و آفریقا یافت می‌شود، اما در سایر جمعیت‌های بومی دیگر مناطق جهان، یا خیلی نادر است و یا اصلاً وجود ندارد.

فراوانی A₂ در لاپلاند به ۳۷٪ می‌رسد اما در هر جای دیگر اروپا از ۱٪ تجاوز نمی‌کند. B که در میان آمریکایی‌های بومی و اکثر بومی‌های استرالیا تقریباً مشاهده نمی‌شود، احتمال می‌رود که قبل از ورود اروپایی‌ها هم اصلاً وجود نداشته است.

B در آسیای مرکزی از فراوانی بالایی برخوردار است (۲٪ تا ۳۰٪). در اروپا فراوانی B از حدود ۱۵٪ در شرق به کمتر از ۵٪ در هلند، فرانسه، اسپانیا و پرتغال کاهش می‌یابد (اطلاعات جمع آوری شده از سوی مورانت و همکاران^۵ [۲۵۱]). به منظور آشنایی با نمایش دیاگرامی چند نمونه از فراوانی‌های ژنی در جمعیت‌های مختلف به شکل ۲-۸ مراجعه شود. بعضی از فراوانی‌های ژنی که با

1 - Mourant *et al.*

۱- Reciprocal: بدین معنی که مثلاً در صورت واکنش گلبول قرمز با آنتی-A، در سرم باید آنتی-B وجود داشته باشد.

3 - Bernstein

4- Thomsen *et al.*

5 - Mourant *et al.*

روش‌های مولکولی تعیین شده اند در جدول ۲-۸ ارائه شده اند. این فراوانی‌ها در مورد اهدا کنندگان خون انگلیسی با فراوانی‌های بدست آمده از محاسبات روش‌های سرولوژیک هماهنگی کامل دارد (جدول ۲-۱۲)، ضمن اینکه تغییرات مربوط به نژاد در جمعیت‌های اهداکننده نیز در نظر گرفته شده است. بخاطر داشته باشید که فنوتیپ‌هایی که با روش‌های سرلوژی تعیین شده اند - A₁، A₂، O و به میزان کمتر B - از لحاظ ژنتیکی ناهمگن می‌باشند (بخش‌های ۲-۳-۲ و ۲-۴-۱).

جدول ۲-۱۲. فراوانی‌های فنوتیپی، ژنی و ژنوتیپی ABO در جنوب انگلستان در سال ۱۹۳۹ [۲۵۳].

Phenotype			Gene	Genotype		
	No.	Frequency	Calculated frequency	Calculated frequency		
O	1503	0.4345	O	0.6602	O/O	0.4349
A ₁	1204	0.3481	A ¹	0.2090	A ¹ /A ¹	0.0437
					A ¹ /O	0.2760
					A ¹ /A ²	0.0291
A ₂	342	0.0989	A ²	0.0696	A ² /A ²	0.0048
					A ² /O	0.0919
B	297	0.0859	B	0.0612	B/B	0.0037
					B/O	0.0808
A ₁ B	91	0.0263			A ¹ /B	0.0256
A ₂ B	22	0.0063			A ² /B	0.0085
Total	3459	1.0000		1.0000		1.0000

جدول ۲-۱۳. فراوانی‌های فنوتیپی، ژنی و ژنوتیپی برای حالت سکرتر در جمعیت به طور تصادفی انتخاب شده لیورپول در سال ۱۹۶۰ [۲۲۴].

Phenotype			Gene	Genotype		
	No.	Frequency	Calculated frequency	Calculated frequency		
Secretors	864	0.7728	Se	0.5233	Se/Se	0.2739
					Se/se	0.4989
Non-secretors	254	0.2272	se	0.4767	se/se	0.2272

۶-۲ ترشح آنتی‌ژن‌های ABO

تا سال ۱۹۲۶ محرز شده بود که آنتی‌ژن‌های A و B محدود به گلبول‌های قرمز نیستند بلکه به صورت محلول در منی و بزاق نیز وجود دارند [۲۵۵]. در سال ۱۹۳۰ پوتکونن^۱ [۲۵۶] متوجه شد که نسبتی از افراد A و AB، در ترشحات خود آنتی‌ژن‌های A یا B را ندارند، معلوم شد که توانایی ترشح A و B و «O» به شیوه مندلی و از لحاظ ژنتیکی مستقل از ABO، به ارث می‌رسد [۸۵].

لوکس تنظیم کننده ترشح ABH، سکر تور (Se و FUT2) نامیده می‌شود: توانایی ترشح (Se) به عدم ترشح (se) غالب می‌باشد [۸۵]. گرچه تعدادی از دیگر آنتی‌ژن‌های گروه خونی نیز در ترشحات وجود دارند، اصطلاحات «سکر تور» و «و غیر سکر تور» صرفاً به ترشح ABH اشاره می‌کند.

در افراد ترشح کننده گروه ABO، آنتی‌ژن‌های ABH در ترشحات سلول‌های گوبلت^۲ و غدد مخاطی دستگاه گوارش (بزاق- شیره معده - صفرا و مکنونیوم)، دستگاه ادراری- تناسلی (مایع منی، ترشحات واژن، مایع کیست تخمدان، ادرار) و دستگاه تنفسی، همچنین در شیر، عرق، اشک و مایع آمنیوتیک، موجود می‌باشند [۲۵۴، ۳۵ و ۲۵۷]. آنتی‌ژن‌های ترشح شده ABH اساساً روی گلیکوپروتئین‌هایی با وزن مولکولی بالا به نام موسین حمل می‌گردند، اما در شیر و ادرار به شکل الیگوساکاریدهای آزاد نیز وجود دارند [۳۶ و ۳۷]. آنتی‌ژن‌های ترشح شده A، B و H بر روی ساختارهای نوع ۱ و ۲ و ۳ بیان می‌گردند [۱۴، ۱۰، ۴۴ و ۶۱].

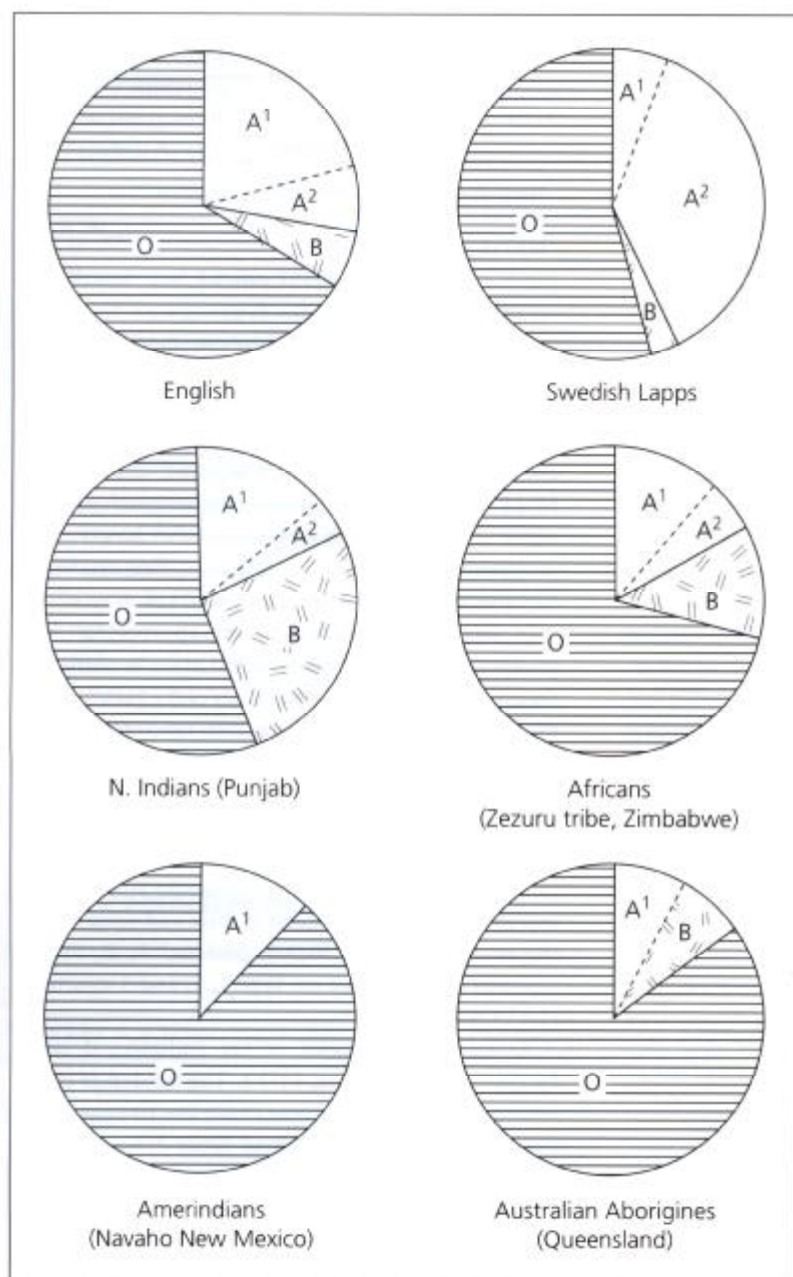
Se و se آل‌هایی از ژن آلفا - ۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز اندودرمال (FUT2) می‌باشند. علامت Se حاکی از تعدادی آلل است که حاوی جهش‌های غیر فعال کننده می‌باشند (به جدول ۲-۷ و بخش ۲-۳-۱-۲ مراجعه شود). Se و se، حضور یا عدم حضور H را در ترشحات تعیین می‌نمایند، ترانسفرازهای A و B تحت کنترل ژن سکر تور نمی‌باشند، کلیه مایعات بدن افراد غیر ترشح کننده قادر به تولید مواد A و B نیستند زیرا آنتی‌ژن H را که سوبسترای پذیرنده آنهاست ندارند (به بخش ۲-۳-۲ مراجعه شود). مطالعه کیمراهای دو اسپرمی نشان داده است که به منظور ترشح A باید یک ژن A و یک ژن Se در همان سلول بیان گردند و همین وضعیت در مورد سلول‌های ترشح کننده B نیز صادق است [۲۵۸ و ۲۵۹].

ساده ترین روش تعیین حالت سکر تور، مهار هماگلوتیناسیون می‌باشد. بزاق به آنتی‌سرم‌های انتخاب شده و به مقدار مورد نیاز رقیق شده آنتی-A، آنتی-B و آنتی-H (معمولاً لکتین اولکس یوروپائوس^۳) اضافه می‌شود، و مهار هماگلوتیناسیون با عدم توانایی آنتی‌سرم‌های فوق در آگلوتینه کردن گلبول‌های A2، B و O (به ترتیب) مشخص می‌گردد.

1 - Putkonen

2 - Goblet cells

3 - Ulex europaeus



شکل ۲-۸. دیاگرام فراوانی‌های ژنی A^1A^2BO را در شش جمعیت انتخاب شده نشان می‌دهد.

۲-۶-۱ فراوانی‌ها

در اکثریت جمعیت‌های اروپایی فراوانی سکرتورها حدود ۸۰٪ می‌باشد [۲۵۱]. جدول ۲-۱۳ نتایج آزمایشات سکرتور روی بیش از ۱۰۰۰ نفر از لیورپول به همراه فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی استنباط شده را نشان می‌دهد [۲۲۴].

لکتین اولکس یوروپائوس (آنتی-H) در آزمایشات مهار اگلوتیناسیون بکار برده شد و تمامی غیر سکرتورهای A_1B ، A_1 و B نیز بمنظور توانایی مهار اگلوتیناسیون توسط آنتی A یا آنتی B مورد بررسی قرار گرفتند.

فراوانی ژن se در اکثریت گروه‌های نژادی از ۵/۰ فاصله زیادی ندارد. گرچه در بومی‌های استرالیایی، Inuit، بعضی از آمریکایی‌های بومی و بعضی از ملانزی‌ها این رقم به ۱/۰ می‌رسد [۲۵۱]. در هندوستان نوسان بیشتری در فراوانی دیده می‌شود، بطوری که فراوانی se در شمال زیاد (تا ۷۵/۰) و در جنوب کم (۲۲/۰) می‌باشد.

۲-۶-۲ جنبه‌های کمی

کلارک و همکاران^۱ [۲۶۰] با مطالعه روی زوج فرزندها، گزارش می‌کنند که تغییرات و نوسانات کمی آنتی‌ژن‌های A ، B یا H تا حدودی ارثی بوده و به شیوه پلی ژنیک (چند ژنی) به ارث می‌رسند. از ۱۰ تا ۸۰ سالگی، سن و جنس روی غلظت مواد ABH در بزاق تأثیری ندارند [۲۶۱]. غدد بزاقی اولیه جنین انسان از حدود هفته نهم بارداری، ترشحات غنی از آنتی‌ژن‌های ABH را تولید می‌کنند [۲۶۲] و این آنتی‌ژن‌ها در بزاق نوزاد کاملاً تکامل یافته هستند [۲۶۳ و ۲۶۴].

تکنیک‌های متنوعی، که عمدتاً از آنتی- A انسانی و یا لکتین دولیکوس بیفلوروس بهره می‌گیرند، شواهدی اساسی دال بر اینکه بزاق فرد A_1 حاوی آنتی‌ژن A بیشتری از فرد A_2 می‌باشد را فراهم نموده اند [۱۷۳، ۲۶۱، ۲۶۹ و ۲۶۵].

کلاوسن^۲ [۱۴]، A نوع ۳ را روی موسین‌های کیست تخمدانی فرد A_1 (اما نه A_2) شناسایی نموده است. بطوری که، حداقل تا حدودی، همان اساسی که برای اختلاف کیفی بین شاخص‌های A_1 و A_2 در ترشحات وجود دارد، درمورد سطح گلبول‌های قرمز نیز صادق می‌باشد (به بخش ۲-۴-۲ مراجعه شود). بزاق سکرتورهای گروه AB مواد A و B کمتری از بزاق سکرتورهای گروه A و گروه B دارد (جدول ۲-۱۴) [۲۶۱، ۲۶۸ و ۲۶۹]. این امر حاکی از این است که در بزاق سکرتورهای AB ، بین ترانسفرازهای A و B برای یک سوبسترای مشترک رقابت وجود دارد.

1 - Clarke et al.

2 - Clausen

مقادیر نسبی آنتی ژن H در بزاق سکرته‌های با گروه ABO مختلف، که در جدول ۱۴-۲ نشان داده شده است، عمدتاً از طریق مهار لکتین یولکس یوروپائوس تعیین شده است [۲۶۰، ۲۶۱، ۲۶۶، ۲۶۸ و ۲۷۰]، اما عصاره دانه‌های *Cytisus sessilifolius* [۲۶۵] و *Laburnum alpinum* [۲۶۹] نیز استفاده شده است.

ترتیب نزولی مقدار H، که به کمک لکتین یولکس یوروپائوس تعیین می‌شود [۲۶۶] در بزاق گروه‌های مختلف ABO با ترتیب آن روی گلبول‌های قرمز ($O > A_2 > B > A_1$) متفاوت است. نتیجه مشترک سه مطالعه جداگانه این بوده است که مقدار ماده H ترشح شده بطور ژنتیکی کنترل می‌شود و برای کنترل آن، ژن‌های بیشتری از ژن‌های موجود در لوکوس ABO وارد عمل می‌شوند [۲۶۰، ۲۷۰ و ۲۷۱].

مقادیر کم مواد A، B و H را می‌توان در بزاق اکثر افراد غیرسکرته‌آور آشکار نمود [۱۷۴، ۲۵۴، ۲۷۵-۲۷۳]. تولید آنتی ژن H در بزاق افراد غیرسکرته‌آور احتمالاً توسط محصول ژن *H* (*FUT1*)، آلفا - ۱ و ۲-فوکوزیل ترانسفراز (نه محصول ژن *Se*) کاتالیز می‌گردد. بتریج و واتکینز^۱ [۷۵] مقادیر کم آلفا- ۱ و ۲-فوکوزیل ترانسفراز را در نمونه ترشح شده از غده تحت فکی افراد غیر سکرته‌آوری نمودند که پذیرنده نوع ۲ را ترجیح می‌داد: مشخصه ترانسفراز تولید شده توسط ژن *H*.

جدول ۲-۱۴. میانگین غلظت نسبی مواد گروه خونی بزاق در ترشحات که با یک روش مهارسازی کمی خودکار و روابط درصدی تقریبی برحسب نوع سلول تعیین شده است [۲۶۱].

نوع گلبول قرمز	ماده
A1>A1B>A2>A2B ۱۰ ۴۰ ۶۰ ۱۰۰	A
B>A2B>A1B ۲۵ ۷۵ ۱۰۰	B
O>A2>A1>B≈A2B≈A1B ۲۰ ۲۰ ۴۰ ۶۰ ۱۰۰	H

۲-۶-۳ Se^w

یک ژن سکرته‌آور ضعیف (Se^w یا Se^{w358})، حاوی یک جهش بد معنی^۲ که جایگزینی Ile129Phe را کد می‌کنند [۷۶ و ۱۰۰ - ۹۷]، مسئول ایجاد فنوتیپ گلبولی $Le(a+b+)$ است که در میان شرقی‌ها و

1 - Betteridge and Watkins

2 - missense

پلی نزیها^۱ شایع می‌باشد [۵۴، ۱۷۵ و ۱۷۶]. یک آلفا-۱ و ۲- فوکوزیل ترانسفراز که کارایی کمتری از محصول ژن Se طبیعی دارد، با ترانسفراز لوئیس برای سوبسترای پیشساز نوع ۱، رقابت ضعیف تری دارد. لذا مقدار بیشتری از سوبسترا به آنتی ژن Le^a تبدیل خواهد شد و مقدار کمتری از آن برای تبدیل به H و متعاقباً به Le^b در دسترس خواهد بود (به بخش ۲-۳-۱-۱ مراجعه شود).

۲-۶-۴ آنتی ژن‌های A و B و H در پلاسما

آنتی ژن‌های A و B و H در پلاسمای سکرورها و غیر سکرورهای ABH یافت می‌شوند، گرچه مقادیر بیشتر آنها در سکرورها وجود دارد [۹۰ و ۲۷۸-۲۷۶].

لپندو و همکاران^۲ [۹۰] با استفاده از آنتی بادی‌های اختصاصی علیه H نوع ۱ (سرم بز که با بزاق انسان مصون شده و با استفاده از مواد جاذب ایمنی پوشیده شده از تری ساکارید H نوع ۲ جذب گردیده بود) و نیز لکتین آنتی H نوع ۲ (اولکس یوروپائوس)، نشان دادند که پلاسمای سکرورهای ABH حاوی H نوع ۱ و ۲ می‌باشد، اما پلاسمای غیر سکرورها فقط H نوع ۲ را دارد. آنها برآورده نمودند که تمام H نوع ۱ و حدود یک سوم H نوع ۲ در پلاسما توسط سیستم سکرور کنترل می‌شود، در حالی که قسمت عمده H نوع ۲ مستقل از سکرور و احتمالاً دارای منشا هموپوئیتیک است. مواد A و B داخل پلاسما روی گلیکولیپیدها و گلیکوپروتئین‌ها حمل می‌گردند [۲۷۰ و ۲۸۰]. مقدار آنها تا حدود زیادی تحت تاثیر فنوتیپ لوئیس می‌باشد و سکرورهای Le(a-b-) در پلاسمایشان، اساساً شاخص‌های ABH بیشتری از سکرورهای Le(a-b+) دارند [۹۰، ۲۷۸، ۲۷۹ و ۲۸۱]. در طول یک دوره دو هفته ای، گلبول‌های O تزریق شده آنتی ژن‌های A و B را از پلاسمای یک فردگیرنده AB بر سطح خود جذب می‌کنند و با بعضی از سرم‌های گروه O (که حاوی آنتی-AB می‌باشد) و تعداد کمی از سرم‌های گروه A یا B آگلوتینه می‌شوند [۲۸۲]. آنتی ژن‌های A و B که در محیط آزمایشگاه از پلاسما بر سطح گلبول‌های O جذب شده اند، گلیکواسفنگولیپید بوده حاوی زنجیره‌های نوع ۱ می‌باشند [۲۷۸].

۲-۷ زیر گروه‌های A

علاوه بر دو فنوتیپ شایع A₁ و A₂، فنوتیپ‌های متعددی با بیان ضعیف آنتی ژن A بر سطح گلبول‌های قرمز شناسایی و اسامی فراوانی نیز برای آنها اتخاذ شده است. بیشتر این فنوتیپ‌ها را می‌توان در طبقه بندی زیر جا داد: A₃، A_x، A_{end}، A_y، A_{el}. خصوصیات سرولوژیک این فنوتیپ‌ها در جدول ۲-۱۵ ارائه شده است. بروز آنتی ژن H در همه آنها طبیعی یا افزایش یافته است. در اکثریت موارد فنوتیپ واریان بواسطه به ارث رسیدن یک آلل نادر در لوکوس ABO حاصل می‌گردد، که هر گاه

1 - Polynesians

2 - Le Pendu et al.

با O یا B (اما نه با A_1 یا A_2) جفت می‌شود، شناسایی می‌گردد. A_y احتمالاً ناشی از جهش ژرم لاین یا حالت هموزیگوت برای یک ژن نادر در لوکوسی مستقل از ABO می‌باشد.

گلبول‌های قرمز A_{el} ، A_y ، A_{end} ، A_x ، A_m توسط اکثر آنتی-A ها آگلوتینه نمی‌شوند و در آزمایشات روتین خودنمایی نمی‌کنند زیرا شبیه گلبول‌های قرمز B یا O هستند، اما در سرم هیچ آنتی-A وجود ندارد. گلبول‌های A_x توسط سرم گروه O (که حاوی آنتی-AB می‌باشد) آگلوتینه می‌شوند. در زیر گروه‌های A اگر گلبول‌ها با پروتئاز مجاور شوند آنتی‌ژن A راحت تر شناسایی می‌شود.

کارترون و همکاران¹ [۲۳۸ و ۲۳۹] از طریق شمارش تعداد سلول‌های آگلوتینه شده توسط آنتی A در یک کولترکاتر و سنجش چگالی جایگاه‌های آنتی‌ژنیک با استفاده از یک آنتی-A خرگوشی نشان دار از کلاس IgG، آگلوتینه شونده‌گی نسبی را تعیین نمودند (جدول ۲-۱۶). این تکنیک‌های کمی، نوسانات اساسی خاص درون یک زیر گروه را ظاهر می‌سازند، اما در حقیقت یک سلسله مراتب را بر حسب میزان بیان آنتی‌ژن A گلبول قرمز معین می‌نمایند. تکنیک‌های مولکولی، ناهمگن بودن زیر گروه‌های A را تایید نموده اند و نشان داده اند که در طبقه بندی فنوتیپیک، ژنتیک نقش جزئی دارد (جدول ۲-۱۷).

۲-۷-۱ A_3

A_3 شایع ترین فنوتیپ A ضعیف است، فراوانی آن در دانمارکی‌های گروه A ۱ در [۲۶۵]، در اهدا کنندگان فرانسوی ۹ در ۱۵۰۰۰ (۰/۰۱۳۶ درصد گروه A) و در کانادایی‌ها تقریباً ۲ در ۱۸۰۰۰ [۲۸۴] تخمین زده شده است. خصیصه برجسته سرولوژیک فنوتیپ A_3 ، که نخستین بار توسط فرایدریچ^۲ [۲۸۵] در سال ۱۹۳۶ توصیف گردید، یک «آگلوتیناسیون زمینه مخلوط» خاص هنگامی که گلبول‌های قرمز با آنتی-A و یا آنتی-AB مخلوط شوند، می‌باشد. بدین صورت که توده‌های کوچک گلبولی توسط توده ای از گلبول‌های آگلوتینه نشده و آزاد احاطه شده اند. گاهی اوقات سرم A_3 حاوی آنتی- A_1 می‌باشد و ماده A نیز در بزاق سکر تورها شناسایی می‌گردد.

A_3 ، بر خلاف A_{mos} (در بخش ۲-۹ توصیف شده است)، ظاهراً موزاییکی از گلبول‌های A_2 و O می‌باشد: در مورد فنوتیپ A_3 ، آنتی-A را می‌توان از جمعیتی از گلبول‌ها که توسط آن آگلوتینه نشده‌اند، به روش جذب و جداسازی^۳ (Elution) جدا نمود [۲۶۶]. هنگامی که گلبول‌های A_3 با استفاده از آنتی-A فلورسان رنگ آمیزی شدند، تمامی آنها خاصیت فلورسان را به نمایش

1 – Carton *et al.*

2 – Friedenreich

3 – elution: فرایند جداسازی مولکولهای آنتی بادی متصل شده به سطح گلبول قرمز با روشهای مختلف به منظور تعیین هویت آنها. محلول جدا شده از سطح گلبول که حاوی آنتی بادی های جدا شده است eluate نامیده می شود (م).

گذاشتند، گرچه در شدت آن تغییرات و نوساناتی مشاهده می‌شد [۲۸۶]. بنظر می‌رسد که فقط ۳ الی ۴ درصد گلبول‌ها از جایگاه‌های آنتی‌ژنیک کافی برای ایجاد آگلوتیناسیون با آنتی - A برخوردارند [۲۸۶].
A₃ را می‌توان بر اساس آلفا - N - استیل - گالاکتوز آمینیل ترانسفرازهای سرم به سه نوع تقسیم بندی نمود [۲۸۷ - ۲۸۹]:

۱- آنزیم دارای یک pH اپتیمم حدود ۶، شبیه ترانسفراز A₁، می‌باشد، اما فعالیت آنزیم حدود یک سوم فعالیت آن در سرم افراد گروه A₁ است.
۲- آنزیم یک pH اپتیمم حدود ۷ دارد و لذا مشابه ترانسفراز A₂ است، اما فعالیت آن بسیار پایین است.

۳- هیچگونه ترانسفراز A قابل شناسایی نیست.

تحت شرایط اپتیمم، آنزیم نوع اول قادر است گلبول‌های O را به گلبول‌هایی با فعالیت A تبدیل نماید که هر گاه با آنتی - A مجاور شوند، الگوی آگلوتیناسیون ویژه A₃ را نمایش نمی‌دهند و قوی تراز گلبول‌های O، که با سرم A₂ به گلبول‌های A تبدیل شده‌اند، آگلوتینه می‌گردند [۲۸۷ و ۲۸۹]. تعجب آور اینکه، با توجه به سطح بالای آنتی‌ژن H روی گلبول‌های A₃، میزان ترانسفراز H در سرم افراد A₃ بطور قابل ملاحظه‌ای کمتر از میزان آن در سرم گروه‌های A₁ یا A₂ می‌باشد [۲۸۹].

تعیین توالی اگزون‌های ۶ و ۷ ژن A در دو فرد A₃B، یک توالی A₁ را ظاهر ساخت که دارای یک جایگزینی Asp291Asn بود [۲۹۱] (جدول ۲-۱۷). یک جایگزینی Val277Met در ژنی که دارای حذف نوکلئوتیدی مختص A₂ بود، در دو عضو A₃ از یک خانواده برزیلیایی مشاهده شد و یک برزیلیایی A₃ غیر خویشاوند دیگر، برای این آلل هموزیگوت بود [۲۹۲] (جدول ۲-۱۷). دو فرد A₃ برزیلیایی دیگر دارای جهش Phe216Ile، مشخصه فنوتیپ A_x، بودند [۲۹۲]. بسیاری از دیگر افراد A₃ در اگزون‌های ۶ و ۷ دارای توالی طبیعی A₁ یا A₂ بودند [۲۹۲ - ۲۹۶، ۲۹۰]. گرچه می‌توانستند جهش‌هایی در اگزون‌های دیگر، در یک جایگاه برش^۱ یا در یک منطقه آغازگر نیز داشته باشند.

جدول ۲-۱۵. خصوصیات سرولوژیک و ترانسفرازی زیرگروه‌های ضعیف A

Name	Reactions of cells with		Antibodies in serum		Antigens in saliva of secretors	A-transferase in serum
	Anti-A	Anti-A,B	Anti-A	Anti-A ₁		
A ₃	mf	mf	No	Sometimes	A H	Sometimes
A _{end}	mf	mf	No	Sometimes	H	No
A _x	-*/w	+	-/+	Usually	(A ₂) H	Rarely
A _m	-*/w	-/+	No	No	A H	Yes
A _y	-*	-	No	No	A H	Trace
A _{el}	-*	-	Some	Yes	H	No

Red cells of none of the subgroups reacted with anti-A₁; all reacted with anti-H.

* Anti-A may be adsorbed onto and eluted from these cells.

(A_x), may require inhibition of agglutination of A₂ cells for detection.

mf, mixed field agglutination; w, very weak agglutination.

جدول ۲-۱۶. قابلیت آگلوتیناسیون نسبی با آنتی-A و چگالی جایگاه آنتی‌ژنیک A به ازاء هر گلبول قرمز

Phenotype	No. of subjects	Agglutinability	Antigen site density (A sites per red cell $\times 10^5$)
A ₁	4	100	10.5 (7.95–14.56)
A ₂	10	96 $\pm$ 2	2.21 (1.29–3.53)
A ₃	11	63 $\pm$ 10	0.35 (0.07–1.0)
A _{end}	7	10 $\pm$ 5	0.035 (0.011–0.044)
A _x	9	33 $\pm$ 10	0.048 (0.014–0.10)
A _m , A _y	4	0	0.012 (0.001–0.019)
A _{el}	4	0	0.007 (0.001–0.014)

جدول ۲-۱۷. آلل‌های ABO در ارتباط با بیان ضعیف A

Phenotype	Allele	Nucleotide change [†]	Amino acid change [†]	Reference
A ₃	A ³ -1‡	G871A	Asp291Asn	[291]
A ₃	A ³ -2	G829A, del C1060	Val277Met, Pro354 FS	[292]
A _{finn}		5' splice site intron 6		[293]
A _x	A ^x -1	T646A	Phe216Ile	[150,232,290,294]
A ₂	A ² -2, -4, -5§; A ¹ -O ^{1v}	T646A, G681A, C771T, G829A	Phe216Ile, Val277Met	[150,290]
A _x	A ^x -3; B/O ² -O ^{1v}	A297G, T646A, G681A, C771T, G829A	Phe216Ile, Val277Met	[150,290]
A _x	A ^x -6	G996A	Trp332Stop	[290]
A _{el}	A ^{el} -1; A*109	+G G798-B04	Phe269 frameshift	[232,290,295]
A _{el}	A ^{el} -2; A*110	C467T, T646A, G681A	Pro156Leu, Phe216Ile	[232]
A _w	A ^w -1	C407T, C467T, del C1060	Thr136Met, Pro156Leu	[290]
A _w	A ^w -2	C350G, C467T, del C1060	Pro156Leu, Gly177Ala, Pro354 FS	[290]
A _w	A ^w -3	G203C, C467T, del C1060	Arg68Thr, Pro156Leu, Pro354 FS	[290]
A _w	A ^w -4	C712T	Arg241Trp	[290]
A _w	A ^w -5	A965G	Glu322Gly	[290]

FS, reading frameshift; del, deletion.

†Changes from the A¹ consensus sequence.

‡See Olsson *et al.* [290].

§These alleles differ by the position of the cross-over site in intron 6 [290].

۲-۷-۲ (A_{bantu}A_{finn}A_{end})

A_{end} نخستین بار توسط وینر و همکاران^۱ [۲۹۷] در سال ۱۹۵۹ توضیح داده شد و ۵ سال بعد از سوی استورجن و همکاران^۲ [۲۹۸] نامگذاری گردید. گلبول‌های A_{end}، همچون گلبول‌های A₃ ضعیف عمل میکنند و با بعضی از معرف‌های آنتی-A و آنتی-AB آگلوتیناسیون بسیار ضعیف

1- Weiner *et al.*

2- Sturgeon *et al.*

۳- بزاق سکر تورهای A_x علاوه بر ماده H حاوی مقدار بسیار کمی از ماده A نیز می‌باشد، که در مواردی که از گلبول‌های A_x به عنوان سلول‌های نشانگر در مهار آنتی - A استفاده می‌شود، بخوبی آشکار می‌گردد.

فنوتیپ A_x خیلی ناهمگن است. علائم متعدد دیگری A_0 ، A_z ، A_6 ، A_5 ، A_4 - به منظور توصیف زیرگروه‌های A استفاده شده اند که تفاوت آنها با A_x اصلی صرفاً در جزئیات ظریف سرولوژیک می‌باشد [۲۶۵ و ۳۰۷-۳۰۵]. اصطلاح A_x برای توصیف تمامی این واریان‌ها استفاده می‌شود. زیر گروهی به نام A_{pae} [۳۰۸] نیز ممکن است وارسته ای از A_x باشد.

بیشتر سرم‌های اهدا کنندگان گروه B، گلبول‌های A_x را آگلوتینه نمی‌کنند، هرچند که سرم داوطلبان گروه B که با ماده A مصون شده اند، قادر به این آگلوتینا سیون می‌باشند [۳۰۹].

معرف‌های آنتی - A مونوکلونالی تولید شده اند که در شناسایی گلبول A_x کارآمد می‌باشند، گرچه تحت شرایط خاص ممکن است گلبول‌های بعضی از افراد گروه B را نیز آگلوتینه نمایند [۳۱۳-۳۱۰]. آنتی - A را نمی‌توان به راحتی روی گلبول‌های A_x جذب و از سطح آنها جدا (elute) نمود.

در دو مطالعه جداگانه فراوانی A_x در فرانسه ۱ در ۷۷۰۰۰ (۰/۰۰۳ درصد افراد گروه A) [۲۸۳] و ۱ در ۴۰۰۰۰ [۳۰۴] برآورد شده است.

معمولاً ترانسفراز A را نمی‌توان در سرم افراد گروه A_x و یا غشا گلبول‌های قرمز آنها شناسایی نمود [۲۳۲ و ۲۸۹-۲۸۷]. فعالیت ترانسفراز H در سرم افراد A_x خیلی پائین است [۲۸۹].

با استفاده از ژنتیک مولکولی، متنوع بودن فنوتیپ‌های سرولوژیک محرز می‌گردد. شایع ترین آلل A_x دارای توالی هماهنگ A_1 می‌باشد، با یک جهش بدمعنی که جایگزینی Phe216Ile را کد می‌کند (جدول ۲-۱۷) [۱۵۰ و ۲۳۲ و ۲۹۰ و ۲۹۴]. ژن‌های هیبرید با کراسینگ اوردرون اینترون ۶ به فنوتیپ A_x نسبت داده شده اند.

در ششش خانواده سوئدی، اگزون ۶ دارای توالی هماهنگ و اگزون ۷ دارای توالی O^{IV} بودند [۱۵۰ و ۲۹۰]. در سه خانواده سوئدی، یک خانواده ساکن قطب و یک خانواده آمریکایی، اگزون ۶ دارای توالی B یا O^2 و اگزون ۷ دارای توالی O^{IV} بودند. در سه منطقه ساکن قطب کراسینگ اور درون اینترون ۶ شناسایی گردید [۲۹۰]. جای تعجب نیست که این آلل‌های هیبرید به عنوان A^x عمل کنند، زیرا توالی اگزون ۷ مربوط به O^{IV} اسیدهای آمینه ای را که برای ویژگی A مهم هستند کد می‌کند، اما همچون آلل بارز A^x ، Ile216 را نیزرمزدهی می‌نماید. یک فرد A_x اهل نیوزیلند آللی شبیه A^I داشت که یک جهش بی معنی $Trp332stop$ را کد می‌کرد، به واسطه این جهش، ۲۳ اسید آمینه انتهای کربوکسیلی آنزیم ترانسفراز A از بین می‌روند [۲۹۰].

1 - Consensus sequence

2 - Nonsense

در مطالعات انجام شده روی بسیاری از خانواده‌ها، نشان داده شده که A_x به شیوای متداول و معمولی به شکل یک آل نادر در لوکس ABO به ارث می‌رسد [۲۶۵ و ۳۰۷ - ۳۰۳]، اما در خانواده‌های معدودی، زمینه ژنتیکی مشخص نمی‌باشد: به عنوان مثال خانواده‌هایی که بچه‌های A_x و والدین O داشتند [۳۱۴ و ۳۱۵] و خانواده‌ای که در آن سه فرزند با فنوتیپ‌های غیرمعمول A_x دارای والدین O و A^1/O^{1v} بودند [۳۱۶]. در این خانواده‌ها اگر یکی از والدین گروه O هتروزیگوت می‌بود (O^2/O^{1v})، در آن صورت کراسینگ اوردرن اینترون ۶ در هنگام میوز، با تولید یک ژن هیبرید O^{1v}/O^2 ، منجر به ظهور بچه‌های A_x می‌شد. همینطور، والد A^1/O^{1v} با بچه‌های A_x ، احتمالاً هتروزیگوت (A^1/O^{1v}) بوده و کراسینگ اور قادر به ایجاد یک ژن هیبرید A^1/O^{1v} بوده است. این وضعیت‌ها مشابه آنچه بوده که توسط سوزوکی و همکاران^۱ [۱۴۹] در توضیح وراثت غیر طبیعی ABO پیشنهاد شده است (شکل ۲-۵). اما توضیحات ارائه شده، تا زمانی که چنین خانواده‌هایی در سطح مولکولی مورد مطالعه قرار نگیرند، به شکل ذهنیات و تفکرات باقی می‌مانند. A_x ممکن است از طریق یک والد A_2B به ارث برسد [۳۰۴، ۳۱۹ - ۳۱۷]، زیرا حضور یک ژن B گاهی اوقات بیان A^* را تا حدی که از یک ژن A^2 انتظار می‌رود، افزایش می‌دهد (به بخش ۲-۱۰-۲ مراجعه شود).

سالم و کارترن^۲ [۳۱۹] فعالیت ضعیف ترانسفراز A را در سرم افرادی که فنوتیپ A_2B (ژنوتیپ A^x/B) ناشی از تقویت آلی داشتند محرز نمودند؛ در سرم فرزندان‌شان که فنوتیپ A_x و ژن A مشابه داشتند، هیچ آزمایشی یافت نشد. یک ترانسفراز بسیار ضعیف A، که فعالیت آن در pH=۸ بیشتر از pH=۶ می‌باشد (نوع A_2)، در سرم مادر A_x یک کودک شناسایی شد که در زمان تولد A_2 بوده، اما ظرف دو سال تبدیل به A_x شد [۲۸۹ و ۲۳۰].

A_m ۴-۷-۲

گلوبول‌های قرمز A_m توسط آنتی - A و آنتی - AB آگلوتینه نمی‌شوند و یا بسیار ضعیف آگلوتینه می‌شوند. آنتی - A را می‌توان بر سطح این سلول‌ها جذب و یا از سطح آنها جدا (elute) نمود. بزاق افراد سکریتور A_m حاوی مقادیر طبیعی مواد A و H می‌باشد. در سرم افراد A_m معمولاً آنتی - A_1 وجود ندارد.

A_m به صورت یک آل نادر در لوکس ABO به ارث می‌رسد [۳۲۶ - ۳۲۱]. عنوان A_m در ابتدا توسط وینر و همکاران^۳ [۳۲۷] برای یک فنوتیپ A ضعیف انتخاب شد که گمان می‌رفت ناشی از حالت هموزیگوت برای یک ژن تنظیم کننده در لوکس مستقل از ABO باشد، اما این فنوتیپ اکنون A_y نامیده می‌شود و در زیر مورد بحث قرار خواهد گرفت.

1- Suzuki et al.

2 - Salmon and Cartron

3 - Weiner et al.

یک مورد A_m در میان ۱۵۰۰۰۰ اهدا کننده فرانسوی (۰۰۱۵٪ در صد افراد گروه A) [۲۸۳]، و یک مورد نیز در بین ۴۰۰۰۰۰ چینی ساکن تایوان شناسایی شدند [۳۲۸].

کارترون و همکاران^۱ [۲۸۷، ۲۸۸، ۳۲۴ و ۳۲۹]، دو نوع A_m را به دنبال بررسی آلفا-۱ و N-۳ - استیل - گالاکتوز آمینیل ترانسفراز سرمی، از هم تمییز دادند. در اکثر موارد ترانسفراز A دارای pH اپتیمم ۶ و خصوصیات کینتیک ترانسفراز A_1 بود، حال آنکه در سرم یک شخص A_m ، pH اپتیمم آن ۷ و شبیه ترانسفراز A_2 بود. در تمامی موارد فعالیت آنزیم بین ۳۰ و ۵۰ درصد فعالیت آن در سرم افراد A_1 و A_2 بود و احتمالاً از بافت‌هایی غیر از بافت خونساز منشأ گرفته بود [۳۳۰].

یک ژن A در مادر و دختری نروژی با فنوتیپ A_m دارای توالی توالی هماهنگ A^1 در اگزون‌های ۶ و ۷ بود [۳۳۱]، به نظر می‌رسد که فنوتیپ A_m ماحصل توقف ژن‌های A^1 یا A^2 احتمالاً به واسطه جهش در منطقه آغازگر ژن، در سلول‌های مغز استخوان، اما نه در سلول‌های ترشح کننده مخاط، باشد.

۲-۷-۵ A_y

فنوتیپ A_y مشابه A_m است، اما قطعی ترین و مهم ترین راه پی بردن به اختلاف آنها، الگوی توارث می‌باشد. A_y نتیجه یک آلل نادر در لوکوس ABO نیست، بلکه احتمالاً ناشی از یک جهش در ژن بازآرایی نشده A^2 درون یک خانواده می‌باشد. وینر و همکاران^۳ [۳۲۷] دو خانواده را گزارش نمودند: در یکی از این خانواده‌ها فردی A_y مورد مطالعه^۴ (که در آن زمان A_m نامیده می‌شد)، دارای یک والد گروه O و صاحب فرزندان A_1 و O بود، اما دیگری A_yB بود و والدین A_1B و B داشت. خانواده‌های مشابه دیگر نیز تا کنون توصیف شده اند [۳۳۵-۳۳۳]. با این حال هیچ کدام از A_y های مورد مطالعه امروزی، فرزند (دختر یا پسر) A_y نداشتند. در یک خانواده، فرزند A_y والدین A^1/O و B، دارای یک فرزند پسر A_yB بود که به نوبه خود یک فرزند پسر A_y داشت [۳۳۶].

تفاوت فنوتیپ‌های A_y و A_m از راهای ذیل محرز می‌گردد:

- ۱- پس از انکوبه کردن گلبول‌های A_x و A_m با آنتی - A، میزان آنتی - A جدا شده (eluate) از سطح گلول‌های A_y کمتر از گلبول‌های A_m می‌باشد [۳۳۲].
- ۲- میزان ماده A در بزاق سکرتور A_y ، خیلی کمتر از مقدار آن در بزاق A_m می‌باشد [۲۸۷، ۳۲۹].

1- Cartron et al.
2 - germline
3 - Weiner et al.
4 - Propositus

۳- سرم فرد A_y فقط مقدار بسیار کمی ترانسفراز A دارد، حال آنکه در سرم شخص A_m ، این آنزیم به راحتی قابل شناسایی است [۲۸۸].

۲-۷-۶ A_{el}

تحت شرایط معمول، گلبول‌های A_{el} توسط آنتی-AB آگلوتینه نمی‌شوند، گرچه با استفاده از تکنیک‌های جذب و جداسازی (elution)، مشخص شده که این گلبول‌ها به آنتی‌بادی‌های مذکور پیوند می‌یابند [۲۹۸، ۳۳۹-۳۳۷]. بزاق افراد سکرتر A_{el} حاوی ماده H، اما فاقد A، می‌باشد. سرم افراد A_{el} معمولاً حاوی آنتی- A_1 است و ممکن است حاوی نوعی آنتی‌بادی نیز باشد که گلبول‌های A_2 را آگلوتینه می‌کند [۳۳۷ و ۳۳۹]. هیچ نوع ترانسفراز A در سرم و یا بر سطح غشا گلبول‌های قرمز A_{el} شناسایی نشده است [۲۸۹، ۲۳۲-۲۸۷].

ترانسفراز H سرم A_{el} ضعیفتر از ترانسفراز H در سرم افراد A_1 یا A_2 می‌باشد [۲۸۹]. هیچ موردی از A_{el} در میان ۱۵۰۰۰۰ اهدا کننده فرانسوی مشاهده نشد [۲۸۳]، اما در میان ۶۰۰۰۰۰ چینی اهل تایوان پنج مورد شناسایی گردید [۳۲۸]. ظاهراً A_{el} به صورت یک ژن نادر در لوکوس ABO به ارث می‌رسد [۳۳۷-۳۳۹]. در نتیجه تقویت آللیک (بخش ۲-۱۰-۲) گلبول‌های A_{el} B احتمالاً توسط بعضی از آنتی- A های مونوکلونال به طور ضعیف آگلوتینه می‌شوند و ممکن است شبیه فنوتیپ A(B) باشند [۳۴۰] (بخش ۲-۱۲).

شکل معمول A_{el} دارای توالی هماهنگ A_1 می‌باشد، بجزء یک G وارد شده^۱ در زنجیره نوکلئوتیدی متشکل از هفت گوانوزین در موقعیت‌های ۷۹۸ تا ۸۰۴ [۲۹۰ و ۲۹۵] (جدول ۲-۱۷). این قطعه وارد شده یک انتقال چهار چوب قرائت ایجاد می‌کند که باعث می‌شود توالی اسید آمینه ای بعد از Gly268 تغییر یافته، کدون توقف ترجمه به هم ریزد، به همین ترتیب محصول ژنی ۳۷ اسید آمینه طولانی‌تر از ترانسفراز A_1 و ۱۶ اسید آمینه طولانی‌تر از ترانسفراز A_2 می‌باشد. از میان ۴ ژاپنی A_{el} فقط یک نفر دارای آلل مربوط به قطعه وارد شده گوانوزینی بود ($A109$ -). یک نفر دو آلل A با دو جهش بد معنی ($A110$ -) داشت، که جایگزینی‌های Pro156Leu و Phe216Ile را کد می‌نمودند (جدول ۲-۱۷). دو A_{el} ژاپنی دیگر و دو A_{el} نروژی دارای آلل A_1 با توالی طبیعی در اگزون‌های ۷ و ۸ بودند [۳۳۱ و ۳۳۲]. در یک خانواده یک گوانوزین وارد شده در G798-804 در یک آلل A_2 که از جهات دیگر طبیعی بود، وجود داشت [۱۴۷]. انتقال چهار چوب که توسط گوانوزین وارد شده ایجاد شده بود به واسطه حذف C1059، مشخصه A^2 ، اصلاح شد، اما این آلل، که O^3 نامیده شد، علی‌رغم اینکه محصولی با طول طبیعی را کد می‌کرد، با بیان آنتی‌ژن A همراه نبود.

1- G insert

اگر چه اکثر گلبول‌های افراد با فنوتیپ‌های A_{el} یا A_m ، آنتی‌ژن A بسیار کمی دارند، ۱-۲٪ گلبول‌ها با آنتی A مونوکلونال بطور قوی نشاندار شدند، همانگونه که با روش میکروسکوپ الکترونی نوع scanning immunogold مشخص گردید. این یافته توضیحی بر این مسئله است که چرا گلبول‌های قرمز این فنوتیپ‌ها ممکن است آنتی A را جذب کنند بدون اینکه توسط آن آگلوتینه شوند.

A_w ۷-۷-۲

السون و همکاران^[۲۹۰] توالی اگزون‌ها، جایگاه‌های برش و مناطق آغازگر ژن‌های ABO را در افرادی که دارای آنتی‌ژن‌های ضعیف A بودند، تعیین نمودند. از آنجایی که قرار دادن فنوتیپ‌ها درون طبقه بندی‌های موجود به راحتی امکان پذیر نبود، ژن‌های غیر طبیعی A^w نامیده شدند^[۵-۱] (جدول ۷-۲). از میان آل‌ها، سه تا آل A^2 (جایگزینی Pro156Leu و حذف C1060) با جهش‌های بی معنی دیگر بودند. جهش در آل A^{w-3} که Arg68Thr را رمزدهی می‌کند، درون اگزون ۴ و جهش در A^{w-2} که Gly177Ala را کد می‌کند درون اگزون ۶ واقع شده اند. اینها تنها جهش‌های بدمعنی هستند که در ارتباط با یک زیر گروه ضعیف، خارج از اگزون ۷ می‌باشند. دو آل دیگر (A^{w-4} ، A^{w-5}) آل‌های A^1 هستند که دارای یک جهش بدمعنی دیگر درون اگزون ۷ می‌باشند.

۸-۲ زیرگروه‌های B

واریان‌های ضعیف B، خیلی نادر هستند و به نظر می‌رسد که از زیر گروه‌های ضعیف A خیلی نادرتر باشند، گرچه احتمالاً این فراوانی نسبتاً پایین ژن B در بسیاری از جمعیت‌ها را منعکس می‌سازد. در ژاپن که شیوع B تقریباً نصف شیوع A می‌باشد، یاماگوچی و همکاران^[۳۴۲] گلبول‌های قرمز بیش از ۷۰۰۰۰۰ اهدا کننده را مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند و پی بردند که فراوانی فنوتیپ‌های B_x و B_m به طور قابل ملاحظه ای بالاتر از فراوانی A_m و A_x می‌باشد. طبقه بندی زیر گروه‌های ضعیف B مشکل می‌باشد. سالمون^[۳۴۳] به این نتیجه رسید که بهترین سیستم طبقه بندی واریان‌های B با یک قیاس ضعیف با واریان‌های A به صورت زیر می‌باشد: B_{el} ، B_m ، B_x و B_3 (برای انواعی که در این چهار زیر گروه قرار نمی‌گیرند) (جدول ۷-۱۸).

لوپز و همکاران^[۳۴۴]، سه دسته از واریان‌های B (B_0 ، B_{20} و B_{60}) را بر اساس سنجش میانگین درصد آگلوتیناسیون با آنتی-B توسط شمارشگر کولتر تعریف نمودند. در هر گروه بویژه B_{60} ، علیرغم ثبات درون یک خانواده، ناهمگونی اساسی مشاهده می‌شد^[۳۴۴-۳۴۶].

1 - Olsson et al.

2 - Yamaguchi et al.

3- Salmon

4 - Lopez et al.

۲-۸-۱ B₃

این فنوتیپ که نخستین بار در سال ۱۹۷۲ توسط وینر و سیوفی^۱ [۳۴۷] در یک فرد غیرسکرتور ABH گزارش شده، بواسطه هماگلوتیناسیون زمینه مخلوط با آنتی- A و آنتی- AB، عدم وجود آنتی- B در سرم و آنتی ژن B طبیعی در بزاق مشخص می‌گردد، علیرغم اینکه یکی از واریان‌های غیر نادر B می‌باشد [۳۴۳]. گزارشات بسیار کمی از موارد آن ارائه شده است. در یک گزارش از میان ۳۵۰۰۰ اهدا کننده فرانسوی (تقریباً یک در ۱۰۰۰۰ نفر گروه B)، سه مورد دارای فنوتیپ B₃ بودند [۳۴۸]. B₃ در میان چینی‌ها از فراوانی بالاتری برخوردار است: در ۹۰۰ اهدا کننده گروه B یک نفر B₃ و در ۱۸۰۰ اهدا کننده گروه A₁B یک نفر A₁B₃ بود [۳۴۹].

B₃ عموماً نتیجه توارث یک ژن نادر در لوکوس ABO می‌باشد [۳۴۳، ۳۴۵، ۳۴۷، ۳۴۸ و ۳۵۰]. در هر حال دو برادر A₁B₃ با والدین B/O و A₁ [۳۴۸] و یک شخص A_{int}B با والدین A_{int} و B₃ [۳۵۱] گزارش شده‌اند.

بادت و همکاران^۲ [۳۵۲] موفق شدند ترانسفراز B را در سرم افراد B₃، اما نه در غشا گلبول‌های قرمزشان، شناسایی نمایند. ژن B یک فرد A₁B₃ در مقایسه با ژن طبیعی B دارای یک تغییر تک بازی است که منجر به جایگزینی Arg352Trp شده است [۲۹۱] (جدول ۲-۱۹). این جایگزینی همچنین در ارتباط با یک آلل A² ژاپنی و نیز یک نوع آلل O^{1v} می‌باشد [۱۴۸ و ۲۳۲]. در آگزون‌های ۶ و ۷ ژن ترانسفراز B در دو فرد B₃ (B³/O) هیچ نوع تغییر در توالی نوکلئوتیدی مشاهده نشد [۲۱۹].

جدول ۲-۱۸. خصوصیات بارز سرولوژیک و ترانسفرازی زیرگروه‌های ضعیف B

Name	Reactions of cells with				Antigens in saliva of secretors	B-transferase in	
	Anti-B	Anti-A,B	Anti-H	Anti-B in serum		Serum	Red cell membrane
B ₃	mf	mf	+	No	B H	Yes	No
B _x	w	w	+	Yes	(B _x) H	No	No
B _{mi}	-*/w	-/w	+	No	B H	Yes	Trace
B _{el}	-*	-	+	Sometimes	H	No	No

* Anti-B may be adsorbed onto and eluted from these cells.
(B_x) may require inhibition of agglutination of B_x cells for detection.
mf, mixed field agglutination; w, very weak agglutination.

1 - Weiner and Cioffi

2 - Badet *et al.*

جدول ۲-۱۹. آلل‌های ABO در ارتباط با بیان ضعیف B

Phenotype	Allele	Nucleotide change†	Amino acid change†	References
B ₃	B ³ -1‡	C1054T	Arg352Trp	[291]
B _x	B ^w -1	G871A	Asp291Asn	[232]
B _{el}	B ^{el} -1	T641G	Met214Arg	[232]
B _{el}	B ^{el} -2	G669T	Glu223Asp	[232]
B _w	B ^w -2	C873G	Asp291Glu	[290]
B _w	B ^w -3	C721T	Arg241Trp	[290]
B _w	B ^w -4	A548G	Asp183Gly	[290]
B _w	B ^w -5	G539A	Arg180His	[290]
B _w	B ^w -6	A1036G	Lys346Glu	[290]
B _w	B ^w -7	G1055A	Arg352Gln	[290]
B _w	B ^w -8	T863G	Met288Arg	[290]

†Changes from the B sequence.

‡See Olsson *et al.* [290].

B_x ۲-۸-۲

گلبول‌های قرمز B_x یک گروه ناهمگن هستند که توسط آنتی-B و آنتی-AB به طور ضعیف آگلوتینه می‌شوند. سرم افراد B_x حاوی آنتی-B ضعیف و بزاق سکرته‌های B_x حاوی مقداری ماده B می‌باشد که غالباً فقط از طریق مهار آگلوتیناسیون گلبول‌های B_x توسط آنتی-B، شناسایی می‌گردد. مطالعات انجام گرفته بر روی خانواده‌هایی که واریان‌های B دارند، که احتمالاً می‌توانند به عنوان B_x طبقه بندی شوند، حاکی از این است که B_x یک آلل نادر در لوکوس ABO می‌باشد [۳۴۲، ۳۴۳ و ۳۴۵].

ترانسفراز B در سرم یا غشا گلبول‌های قرمز افراد B_x قابل تشخیص نبود [۲۳۲ و ۳۵۲]. در تنها مورد مطالعه شده، تفاوت یک آلل ABO در فردی با گلبول‌های قرمز B_x، در یک تغییر تک بازی بود که جایگزینی Asp291Asn را کد می‌نمود [۲۳۲] (جدول ۲-۱۹)، این جایگزینی با فنوتیپ A₃ نیز همراه بوده است [۲۹۱] (جدول ۲-۱۷).

B_m ۳-۸-۲

گلبول‌های B_m توسط آنتی-A یا آنتی-AB آگلوتینه نمی‌شوند، آنتی‌ژن B فقط توسط تکنیک‌های حساس همچون جذب و جداسازی (elution) آنتی-B قابل شناسایی است. بزاق افراد سکرته‌ور B_m تقریباً به همان اندازه افراد سکرته‌ور طبیعی B، حاوی ماده B می‌باشد. بطور مشخص، سرم افراد B_m حاوی آنتی-B نمی‌باشد.

B_m ظاهراً به صورت یک ژن واریان در لوکوس ABO به ارث می‌رسد [۱۱۲ و ۳۵۸-۳۵۳]، اما تعدادی استثنا در زیر توصیف خواهند شد. در غشا گلبول‌های قرمز افراد B_m ترانسفراز B به سختی

شناسایی شد [۳۵۷] و فعالیت آن در سرم افراد B_m کمتر از یک دوم فعالیت آن در سرم افراد B بود [۱۱۲، ۳۵۹-۳۵۶]. در بزاق افراد B_m سکر تور در مقایسه با افراد B سکر تور، فعالیت این آنزیم طبیعی و یا بسیار کم بود. یوشیدا و همکاران^۱ [۳۵۸] پی بردند که ترانسفراز B یک شخص B_m در مقایسه با ترانسفراز B طبیعی، میل پیوندی پایینی برای UDP-گالاکتوز دارد و در سایر خصوصیات فیزیکوشیمیایی نظیر pH ایتیم نیز با هم تفاوت دارند. ترانسفراز B در اعضای A_1B_m خانواده ای دیگر ظاهراً طبیعی بود [۳۶۱]. در خانواده‌هایی که دارای اعضای B_m و A_1B_m بودند، فعالیت ترانسفراز B در سرم افراد A_1B_m خیلی بیشتر از فعالیت آن در سرم افراد B_m بود، که احتمال می‌رود ناشی از تقویت آلی بوده است [۳۵۶ و ۳۵۷] (بخش ۲-۱۰-۲).

حالت هموزیگوت برای یک ژن مغلوب که ژن B را در بافت‌های خونساز سرکوب می‌نماید، بعنوان روند توارث غیر طبیعی فنوتیپ شبیه B_m در تعداد معدودی از خانواده‌ها پیشنهاد شده است [۳۶۴-۳۶۲].

گلبول‌های قرمز فرزند والدین O و A_2B ، فنوتیپی شبیه B_m داشتند و شاید بهتر باشد در قیاس با A_y ، B_y نامیده شود (بخش ۲-۷-۵). سرم او حاوی ترانسفراز H طبیعی بود، اما فعالیت آن فقط حدود ۷۰٪ فعالیت آنزیم طبیعی بود [۳۶۴]، میزانی که اگر کل این آنزیم منشا غیر هموپوئیتیک می‌داشت، انتظار می‌رفت [۳۳۹].

B_{el} ۴-۸-۲

گلبول‌های قرمز B_{el} توسط آنتی-AB آگلوتینه نمی‌شوند، اما واقعا به آنتی-B پیوند می‌یابند، به طوری که در مایع جدا شده از سطح آنها (eluate)، این آنتی‌بادی قابل شناسایی است. ماده B در بزاق افراد سکر تور B_{el} وجود ندارد، آنتی-B ممکن است در سرم وجود داشته باشد. B_{el} به صورت یک ژن نادر در لوکوس ABO به ارث می‌رسد [۳۶۵ و ۳۶۶]. در سرم افراد B_{el} و یا غشا گلبول قرمز آنها، ترانسفراز B شناسایی نشده است [۲۳۲، ۳۵۲ و ۳۶۶]. در خانواده ای با اعضای B_{el} و A_1B_{el} ، گلبول‌های قرمز A_1B_{el} توسط بعضی از معرف‌های آنتی-B بطور ضعیف آگلوتینه شدند [۳۶۶]. در خانواده ای دیگر B_{el} در یک هتروزیگوت A/B (به واسطه تقویت آللیک.م)، به B_3 ارتقا یافت [۳۶۷] (به بخش ۲-۱۰-۲ مراجعه شود). در دو فرد با گلبول‌های قرمز B_{el} ، دو آلل غیر طبیعی مختلف یافت شد. هر آلل در اگزون ۷، با آلل B طبیعی فقط در یک نوکلئوتید تفاوت داشت، یکی از این آلل‌ها جایگزینی Met214Arg و دیگری Glu223Asp را کد می‌نمودند [۲۳۲].

1 - Yoshida et al.

۲-۸-۵ Bw

السون و همکاران^۱ [۲۹۰] ۷ آلل جدید ABO را شناسایی نمودند که تفاوت آنها با توالی شایع B در تغییرات تک نوکلئوتیدی بود که یک جایگزینی اسید آمینه ای را کد می‌نمودند (B^w-2 تا B^w-8). جدول ۲-۱۹). تمامی این آلل‌ها با بیان ضعیف B همراه بودند، اما قابل تقسیم بندی بیشتر نبودند.

۲-۸-۶ دیگر زیر گروههای B

یک واریان آنتی‌ژن B به نام B_v ، به واسطه عدم توانایی گلبول‌های قرمز حامل آن در آگلوتینه شدن توسط بعضی از معرف‌های آنتی-B انسانی که با گلبول‌های قرمز خرگوشی جذب شده اند، شناسایی گردید [۳۶۸ و ۳۶۹]. بنظر می‌رسد گلبول‌های قرمز و ترشحات فرد B_v فاقد آنتی‌ژن B طبیعی انسانی هستند، اما حاوی یک شاخص شبیه B، احتمالاً آنتی‌ژن غیرفوکوزیله شبیه B روی گلبول‌های قرمز خرگوش، می‌باشند. B_v همچنین از لحاظ سرولوژیک شبیه آنتی‌ژن B در cis-AB می‌باشد (بخش ۲-۱۲-۲). سرم افراد B_v حاوی یک نوع آنتی-B است و فعالیت ترانسفراز B نیز قابل تجسس نمی‌باشد. در میان ۵۶۷۲۱۰ اهدا کننده هنگ کنگی، ۴۶ مورد B_v و ۸ مورد AB^v شناسایی شدند [۳۶۹].

زیر گروهی از B به نام B_2 ، مشابه A_2 ، در یک زن یونانی و دو بچه اش یافت شد [۳۷۱].

بر اساس یک بررسی آگلوتیناسیون کمی، گیپس و همکاران^۲ [۳۷۲] «B طبیعی» را به سه نوع تقسیم بندی کردند. گلبول‌های قرمز اکثر افراد سفید پوست گروه B در دسته ای با قدرت متوسط قرار گرفتند، در حالی که نصف افراد سیاهپوست گروه B در دسته متوسط و نصف دیگر دارای یک آنتی‌ژن B قوی تر بودند. بادت و همکاران^۳ [۳۷۳] با ارزیابی فعالیت ترانسفراز B، دو نوع را در افراد سفیدپوست شناسایی نمودند. ۸۴٪ آنها (گروه I) دارای فعالیت آنزیمی در حدود نصف فعالیت آنزیمی گروه دیگر (گروه II که ۱۶٪ را شامل می‌شدند) بودند. اکثریت افراد سیاهپوست گروه B در هیچ کدام از این گروهها قرار نمی‌گرفتند بلکه به عنوان یک گروه سوم با فعالیت ترانسفراز حتی بالاتر از گروه II در نظر گرفته شدند. این ژن‌های قوی B می‌توانند در بعضی از افراد سیاهپوست گروه AB، در نتیجه رقابت برای سوبسترای پذیرنده، منجر به کاهش بیان A شوند (بخش ۲-۱۰-۱).

۲-۹-۲ B_{mos} ، A_{mos}

در سال ۱۹۷۵ مارش و همکاران^۴ [۳۷۴]، اسامی A_{mos} و B_{mos} را به انواعی از A و B که شباهت زیادی به هم داشتند اطلاق نمودند. در A_{mos} آزمایشات آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی-A و آنتی-AB دو جمعیت سلولی مجزا را ظاهر ساختند: یکی A_2 و دیگری O. سرم افراد A_{mos} حاوی آنتی-A نبود

1 - Olsson et al.

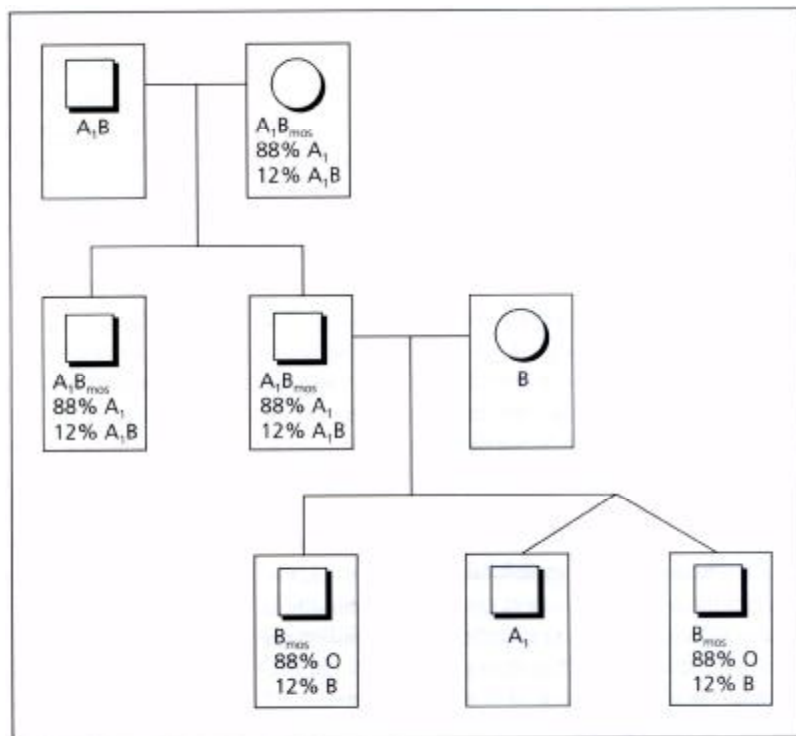
2 - Gibbs et al.

3 - Badet et al.

4 - Marsh et al.

و در بزاق آنها ماده H و احتمالاً مقدار بسیار کمی A وجود داشت. علاوه بر دو خانواده A_{mos} ، فنوتیپ‌های B_{mos} ، AB_{mos} و $A_{mos}B$ نیز توصیف شدند [۳۷۴]. موارد موزائیک موروثی $A+O$ و $B+O$ که سابقاً در ژاپن گزارش شده بودند، احتمالاً نمایانگر موارد قبلی تر A_{mos} و B_{mos} می‌باشند [۳۷۷-۳۷۵].

A_{mos} ظاهراً در لوکوس ABO به ارث می‌رسد، خصیصه ای که آن را از اکثریت دیگر اشکال موزائیکم گلبول‌های قرمز متمایز می‌سازد. تمام اعضای A_{mos} درون یک خانواده، تقریباً نسبت‌های یکسانی از گلبول‌های A و O دارند، گرچه این نسبت‌ها اساساً بین خانواده‌های مختلف متفاوت می‌باشد. تفاوت A_{mos} و A_3 از لحاظ سرولوژیکی محرز می‌گردد، بطوری که اگر گلبول‌هایی که آگلوتینه نشده‌اند برای مدتی با آنتی-A مجاور شوند، آنتی-A را جذب نمی‌کنند و نسبت گلبول‌های آگلوتینه شده به آگلوتینه نشده ثابت می‌ماند، صرف نظر از قدرت آنتی-A یا آنتی-AB استفاده شده و اینکه گلبول‌ها به پروتئاز آغشته شده باشند یا خیر.



شکل ۲-۹. خانواده ای با اعضای B_{mos} و A_1B_{mos} که نشان می‌دهد تمامی اعضای که یک ژن B^{mos} را به ارث برده‌اند، ۱۲٪ گلبولهایشان B و ۸۸٪ دیگر گروه O یا A_1 می‌باشند [۳۷۸].

خانواده‌ای با اعضای B_{mos} و AB_{mos} در شکل ۲-۹ نشان داده شده است. در تمام افرادی که ژن B_{mos} را داشتند ۱۲٪ گلبول‌های قرمز آنتی‌ژن B را بیان نمودند، مابقی گلبول‌های قرمز در افراد B_{mos} و O و در افراد A ، AB_{mos} بودند [۳۷۸]. تمامی آنها افراد غیرسکرتور ABH بودند. میزان فعالیت ترانسفراز B سرم در اعضا B_{mos} تقریباً ۷-۲۰٪ فعالیت آن در کنترل‌های B طبیعی بود. یک اهدا کننده سالم خون که دارای ۶۰٪ گلبول‌های A_1B و ۴۰٪ A_1 بود، نمی‌توانست A_1B_{mos} باشد، چون والدینش گلبول‌های A_1 و A_1B طبیعی داشتند [۳۷۹]. جهش سوماتیک که ژن B را در بعضی از سلول‌های اریتروپوئیتیک درگیر می‌سازد، می‌تواند دلیل احتمالی این موزائیسیم باشد.

۲-۱۰ برهم کنش ژن‌های A، B

۲-۱۰-۱ رقابت آللیک

امروزه کاملاً ثابت شده است که آنتی‌ژن A بر سطح گلبول‌های A_2B ضعیفتر از گلبول‌های A_2 و نیز آنتی‌ژن A_1 بر سطح گلبول‌های A_1B ضعیفتر از گلبول‌های A_1 می‌باشند، که این امر نتیجه تأثیر دو گلیکوزیل ترانسفراز متفاوت است که برای یک سوبسترای پذیرنده رقابت می‌کنند. آنتی‌ژن B در A_1B نیز ضعیفتر از B به تنهایی است که علت آن دقیقاً مشخص نمی‌باشد [۳۸۳، ۳۴۰ - ۳۸۰].

در بعضی موارد ژنوتیپ A^1/B ممکن است به صورت یک فنوتیپ A_2B [۲۴۷، ۳۸۲، ۳۸۶ - ۳۸۴] و A^2/B به صورت یک فنوتیپ A_3B [۳۸۴ و ۳۸۷] ظاهر شوند. در جمعیت‌های سیاهپوست نسبت $A_2B : A_1B$ غالباً بالاتر از میزانی است که از نسبت $A_2:A_1$ انتظار می‌رود [۳۶۷ و ۳۸۵]. در مطالعه‌ای که روی ۵۰۰۰ آمریکایی آفریقایی تبار صورت پذیرفت، ۸۰٪ افراد گروه A، A_1 و ۲۰٪ A_2 بودند، حال آنکه ۵۳٪ افراد گروه AB، A_1B و ۴۷٪ A_2B بودند [۳۸۵]. اختلافات مشابهی نیز در میان جمعیت‌های سفید پوست [۲۴۷، ۳۶۷]، چینی [۳۴۹] و ژاپنی [۲۳۳ و ۳۸۶] مشاهده شده است. در ژاپنی‌ها چنین عدم تعادلی احتمالاً تا حدودی ناشی از وجود یک آلل ABO ($R101$ -) است که بصورت A_1 در ژنوتیپ A^1/o اما بصورت A_2 در ژنوتیپ A^2/B بروز می‌نماید [۲۳۳].

سرم بعضی از افراد سیاهپوست A_2B ، حاوی ترانسفراز A_1 اما بدون ترانسفراز A_2 می‌باشد، بعلاوه اینکه دارای یک ترانسفراز B است که فعالیت آن به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از فعالیت آن در اکثریت سرم‌های گروه B می‌باشد [۳۶۷، ۳۸۸، ۳۸۹]. در سرم ۵۰٪ آمریکایی‌های آفریقایی تبار گروه A_2B ، فعالیت بیشتر ترانسفراز B به همراه یک ترانسفراز A_1 مشاهده شده است [۳۸۵]، این ترانسفراز بسیار فعال B، قسمت اعظم جایگاه‌های موجود H را مصرف می‌کند به طوری که ترانسفراز A_1 قادر به تولید آنتی‌ژن کافی به منظور فراهم نمودن جایگاه‌های با چگالی بالای مورد نیاز حالت A_1 نمی‌باشد.

۲-۱۰-۲ تقویت آللیک

تقویت آللیک، برهم کنش ژنی است، یا به عبارتی عکس حالت رقابت آللیک است که در بخش قبلی توضیح داده شد [۳۰۴ و ۳۱۹]. این حالت اصولاً تقویت بروز ژن‌های A یا B در هتروزیگوت‌های A/B می‌باشد. در خانواده ای فرانسوی، یک ژن A به صورت A_x در اعضای A/O، اما بصورت A_2 در اعضای A/B ظاهر گردید [۳۱۸]، گلبول‌های A_x ، ۱۱۲۰۰ جایگاه A به ازای هر سلول داشتند، در صورتی که گلبول‌های A_2B دارای ۹۶۰۰ جایگاه A به ازای هر سلول بودند [۳۱۹]. فعالیت ترانسفراز A در سرم افراد A_x وجود نداشت حال آنکه در سرم افراد A_2B قابل سنجش بود، هر چند که همگی دارای یک ژن A بودند [۳۱۹]. در یک خانواده سوئدی، یک آلل ABO با توالی A^2 در اگزون‌های ۶ و ۷، به صورت A_2 در مادر A_2B و به صورت A_x در بچه‌ها و نوه‌های A/O^{IV} او ظاهر شده بود [۱۵۰]. بررسی دیگر خانواده‌ها حاکی از این بود که ژن B مسئول فنوتیپ B_x در اعضای A_1B قویتر ظاهر شده بود [۳۹۰ و ۳۹۱] و یک ژن که بصورت B_e در اعضای B/O ظاهر شده بود، توسط یک فنوتیپ B_3 در افراد A/B بارز گردیده بود [۳۹۲].

۲-۱۱ ویژگی بسیار نزدیک (هم پوشان) ترانسفرازهای A و B: فنوتیپ‌های A(B) و B(A)

گلیکو ترانسفرازهایی که توسط آلل‌های A و B تولید می‌شوند، از لحاظ اختصاصیت سوبسترای دهنده با هم فرق دارند، گرچه دارای یک سوبسترای پذیرنده مشترک می‌باشند. این وضعیت، ژن ABO را فوق العاده غیر عادی می‌سازد و زمانی این تصور را باعث شده بود که A و B ممکن است آلل نباشند. امروزه ثابت شده است که ترانسفرازهای A و B در انتخاب سوبسترای دهنده خود دقیق نیستند و همواره بین محصولات ژن‌های A و B، همپوشانی به میزان اندک مشاهده می‌شود [۳۹۷-۳۹۳]. تحت شرایط خاص، ترانسفراز موجود در سرم افراد گروه B قادر است انتقال N - استیل - گالاکتوز آمین را از یوریدین دی فسفات (UDP) - N - استیل - گالاکتوز آمین به ۲' - فوکوزیل لاکتوز (آنالوگی از H با وزن مولکولی کم) کاتالیز نموده تولید ساختاری با فعالیت A نماید.

ترانسفراز B تغلیظ شده حتی قادر به تولید نوعی از گلبول‌های O است که با آنتی - A شدیداً آگلوتینه می‌شوند. اگر مقادیر UDP - گالاکتوز و UDP - N - استیل گالاکتوز آمین یکسان می‌بود، فقط B قابل شناسایی بود، در حضور UDP - گالاکتوز، سه برابر غلظت UDP - N - استیل - گالاکتوز آمین به منظور تولید ساختاری با فعالیت A مورد نیاز بود. همانطوری که انتظار نیز می‌رفت وقتی رقابت بر سر سوبسترا باشد، ترانسفراز B در کاتالیز نمودن انتقال گالاکتوز خیلی کارآمدتر از انتقال N - استیل - گالاکتوز آمین عمل مینماید [۳۹۳، ۳۹۵ و ۳۹۶]. همینطور ترانسفراز A نیز قادر است تحت شرایط خاصی، سنتز ساختارهای دارای فعالیت B را کاتالیز نماید [۱۲۲ و ۳۹۴]. در بعضی از آزمایشگاهها، این مشاهده که معرف‌های آنتی - A مونوکلونال بسیار قوی که گلبول‌های قرمز A_x را آگلوتینه می‌نمایند قادرند به طور ضعیف بعضی از گلبول‌های گروه B را نیز آگلوتینه کنند، منجر به این استنباط شده است

که پدیده فوق، یعنی توانایی ترانسفراز B در تولید شاخص‌های A در محیط آزمایشگاه، ممکن است در داخل بدن نیز اتفاق افتد [۳۱۱]. گلبول‌های قرمز ۲۵ اهداکننده گروه B، از میان ۳۴۵۸ اهداکننده گروه B، با یک نمونه از آنتی -A مونوکلونال وارد واکنش شدند [۳۹۸]. واکنش این سلول‌های B(A) با بعضی از معرف‌های آنتی -A، توسط بزاق افراد سکوتور گروه A مهار گردید [۳۹۸] و فعالیت A، با مجاور نمودن گلبول‌ها با آلفا -N -استیل - گالاکتوز آمینیداز از بین رفت، اما این حالت با آلفا - گالاکتوزیداز مشاهده نشد [۳۹۹]. افراد دارای گلبول‌های B (A) عمدتاً سیاهپوست بودند و فعالیت ترانسفراز B سر می آنها بسیار بالا بود بطوری که در بعضی موارد ۵ الی ۶ برابر فعالیت آن در دیگر افراد گروه B بود [۳۹۷] و [۳۹۸]. در فنوتیپ B(A)، آنزیم بسیار فعال آلفا - ۳و - گالاکتوزیل ترانسفراز، انتقال N-استیل - گالاکتوز آمین را به سوبسترای پذیرنده آن به میزان کافی کاتالیز می‌نماید تا آگلوتیناسیون توسط معرف‌های خاص آنتی -A را امکان پذیر سازد. بعلاوه، آن دسته از معرف‌های آنتی -A که قادر به شناسایی B (A) باشند تمامی گلبول‌های قرمز گروه B را که به پائین مجاور شده اند، آگلوتینه خواهند نمود، که این حاکی از بروز فعالیت اندک ترانسفرازی A از سوی اکثریت ترانسفرازهای B در داخل بدن می‌باشد [۳۹۹]. نتایج مطالعات ژنتیک مولکولی بر روی سه فرد B(A)، که هیچ کدام منشأ آفریقایی نداشتند، با نظریه یک ترانسفراز B بسیار فعال که تولید مقداری آنتی‌ژن A می‌نماید، توافق کامل ندارد. توالی نوکلئیدی در این دو شخص با توالی نوکلئیدی یک ژن طبیعی B یکسان بود به استثناء یک جایگزینی Ser235Gly، همان کدون A در جایگاه دوم که آلل‌های A و B را از هم متمایز می‌سازد [۲۹۰ و ۲۹۴] (جدول ۲-۲۰).

جدول ۲-۲۰. آنزیم‌هایی با فعالیت‌های ترانسفرازی A و B جایگزینی‌های اسید آمینه ای در چهار موقعیت، ۱۷۶ و ۲۳۵ و ۲۶۶ و ۲۶۸، که مشخصه محصولات ژن‌های A و B هستند، و نیز در موقعیت ۲۳۴.

اسیدهای آمینه						فنوتیپ ها
منابع	۲۶۸	۲۶۶	۲۳۵	۲۳۴	۱۷۶	
[۴۰۰]	Gly	Leu	Gly	Pro	Arg	A
[۴۰۱] و	Ala	Leu	Gly	Pro	Arg	Cis AB
	Ala	Met	Ser	Pro	Gly	B
[۴۰۲]	Ala	Met	Gly	Pro	Gly	B(A)
[۴۰۲]	Ala	Met	Ser	Ala	Gly	B(A)
(۴۰۳)	Ala	Leu	Ser	Pro	Gly	Cis AB

دو فرزند B(A) یک زن شبیه B داشتند که جایگزینی Pro234Ala، موقعیت قبل از Ser235، را کد می‌نمود[۴۰۲] (جدول ۲-۲۰). فرزندان، $B(A)/O^{Iv}$ هتروزیگوت و پدرشان A_1B با یک ژنوتیپ $A^I/B(A)$ بودند. بیان B در پدر و دو فرزند، اندکی ضعیفتر از حالت طبیعی بود. با وجود این دو جهش، احتمال می‌رود که فنوتیپ B(A) بیشتر از اینکه ناشی فعالیت بیش از حد ترانسفراز B باشد، در اثر تغییر ویژگی سوبسترای آنزیم ایجاد شده باشد. وواک و همکاران^۱ [۴۰۴] نوعی آنتی-B مونوکلونال را توصیف نمودند که گلبول‌های قرمز ۱/۴۲٪ افراد گروه A و گلبولهای قرمز تمامی افراد A_1 را آگلوتینه می‌نمود، این حالت حاکی از فنوتیپ A(B) بود، که در آن فعالیت B ناشی از عملکرد ترانسفراز A_1 بوده است. A(B) در ارتباط با افزایش فعالیت ترانسفراز A نبود، اما گلبول‌های $A_1(B)$ دارای سطوح افزایش یافته آنتی‌ژن H و فعالیت بالای ترانسفراز H پلاسمایی بودند.

۱۲-۲ cis AB

در سال ۱۹۶۴ سی فرید و همکاران^۲ [۴۰۵] یک خانواده لهستانی را توصیف نمودند که در آن توارث گروه‌های ABO، مطابق با نظریه لوکوس منفرد برای ژنتیک ABO نبود. به نظر می‌رسید که در این خانواده A و B با هم به ارث رسیده بودند: یک زن A_2B با همسر گروه O و مادر گروه O، دو فرزند A_2B داشت. از آن زمان تاکنون خانواده‌های بشمار دیگری از این قبیل گزارش شده‌اند [۲۳۲، ۴۰۰، ۴۰۳، ۴۱۷-۴۰۶]. یاماگوچی و همکاران^۳ [۴۰۶] اصطلاح cisAB را برای این فنوتیپ پیشنهاد نمودند. از میان یک میلیون اهداکننده ژاپنی چهارده مورد cisAB شناسایی گردید (به عبارت دیگر ۰/۰۱۲ درصد ۱۱۲۷۱۰ گروه خون AB که مورد آزمایش قرار گرفتند) [۴۱۰].

۱-۱۲-۲ خصوصیات سرولوژیک

اگر چه خصیصه اصلی cisAB شیوه عادی توارث آن می‌باشد، اما این فنوتیپ از لحاظ سرولوژیکی تقریباً همیشه با $trans AB$ فرق می‌کند. خصوصیات سرولوژیک از یک خانواده به خانواده ای دیگر متغیر است اما معمولاً درون یک خانواده ثابت می‌ماند [۴۱۱ و ۴۱۸].

۱- آنتی‌ژن A معمولاً به صورت A_2 توصیف می‌گردد، اما گلبول‌های AB عموماً آنتی‌ژن A را بیشتر از A_2B و کمتر از A_1B بروز می‌دهند [۴۱۱، ۴۱۳ و ۴۱۷]. فنوتیپ cis A_1B شناخته نشده است [۴۰۸ و ۴۰۹].

۲- آنتی‌ژن B تقریباً همیشه بطور خفیف بیان می‌گردد، که غالباً بعنوان B_3 توصیف می‌شود [۴۱۰]. گلبول‌های cisAB، با سرم‌های A_2 قویتر از سرم‌های A_1 واکنش می‌دهند [۴۰۸ و ۴۱۴]. جذب

1 - Voak *et al.*

2 - Seyfried *et al.*

3 - Yamguchi *etal*

آنتی-B ایمیون با استفاده از گلبول‌های B، واکنش گلبول‌های cisAB را بطور کامل از بین می‌برد، اما آنتی-B که بطور کامل توسط گلبول‌های cisAB جذب شده است، همچنان گلبول‌های B طبیعی را آگلوتینه خواهد نمود [۴۱۴]. آنتی‌ژن B در cisAB ممکن است شبیه B_v (بخش ۲-۸-۶) باشد بطوری که در یک آزمایش آنتی-B خرگوش با گلبول‌های cisAB واکنش نداد و جذب آنتی-B ایمیون انسانی با استفاده از گلبول‌های قرمز خرگوش واکنش گلبول‌های cisAB را بطور کامل مهار نمود [۴۱۴]. آنتی‌ژن B در cisAB ممکن است همیشه غیر عادی نباشد، بطوری که یک مادر A_2B با دو بچه گروه O، ظاهراً دارای آنتی‌ژن B طبیعی بود [۴۱۵].

۳- گلبول‌های cisAB به طور غیر عادی دارای سطح بالایی از آنتی‌ژن H می‌باشند که با سطح آن روی گلبول‌های A_2 تقریباً برابر اما بالاتر از گلبول‌های A_2B طبیعی می‌باشد [۴۱۱].

۴- سرم افراد cisAB تقریباً همیشه حاوی آنتی-B ضعیف می‌باشد این آنتی‌بادی ظاهراً بخشی از آنتی‌ژن B را که در گلبول‌های cisAB وجود ندارد، شناسایی می‌نماید [۴۰۷ و ۴۰۸]. سرم خانمی که به نظر می‌رسید AB/O با آنتی‌ژن B طبیعی باشد، حاوی آنتی-B نبود [۴۱۵].

۵- بزاق افراد سکر تور cisAB حاوی مقادیر طبیعی ماده A و مقادیر بالای ماده H می‌باشد، به اضافه مقدار بسیار کمی از ماده B که صرفاً از طریق مهار آگلوتیناسیون گلبول‌های cisAB توسط آنتی-B شناسایی می‌گردد [۴۱۱ و ۴۱۸].

۲-۱۲-۲ ژنتیک مولکولی و مطالعات مربوط به ترانسفراز

در مورد پدیده cisAB دو تعبیر محتمل است: یکی کراسینگ اور نابرابر که منجر به ایجاد ژن‌های A و B مجاور هم و احتمالاً محصولات ژنی (آنزیم‌های ترانسفراز) جدا از هم می‌گردد. دیگری جهش یک ژن A یا B به ژنی که آنزیمی را تولید می‌نماید که قادر است مقادیر قابل توجهی از N-استیل - گالاکتوز آمین و گالاکتوز را به سوبسترای پذیرنده H انتقال دهد.

بررسی‌هایی که روی آنزیم ترانسفراز در سرم افراد cis AB بعمل آمده اند حاکی از ناهمگنی^۱ بین خانواده‌ها و همگنی^۲ درون خانواده‌ها می‌باشند [۴۱۹]. بطور کلی سرم‌های cisAB سطوح نسبتاً پایینی از فعالیت ترانسفرازهای A و B را دارا می‌باشند [۴۱۴ - ۴۱۲، ۴۱۶، ۴۱۷، ۴۱۹ و ۴۲۰].

یوشیدا و همکاران^۳ [۴۱۶ و ۴۲۰] به منظور جداسازی ترانسفرازهای A و B در سرم از این واقعیت بهره جستند که Sepharose 4B در یک ستون به ترانسفراز A، اما نه به ترانسفراز B، پیوند می‌یابد. در دو سرم cisAB هیچ نوع جداسازی میسر نبود زیرا هر دو ترانسفراز جذب شده بودند، که این نظریه

1 - Heterogeneity

2 - Homogeneity

3 - Yoshida et al.

وجود یک ژن منفرد جهش یافته را حمایت می‌نماید [۴۲۰]. تعیین توالی آگزون‌های ۶ و ۷ ABO در ۲۱ فرد غیرخویشاوند با فنوتیپ cisAB (نوزده نفر از ژاپن و دو نفر از ایالات متحده آمریکا) یک توالی A^1 را ظاهر ساخت که یک تغییر نوکلئوتیدی که جایگزینی Gly268Ala را کد می‌نمود، داشت [۲۳۲، ۴۰۰ و ۴۲۰] (جدول ۲-۲۰). این وضعیت حاکی از وجود توالی ژن B در موقعیت چهارم مرز افتراق آل‌های A و B می‌باشد و احتمالاً مسئول تولید محصول ژنی است که دارای فعالیت قابل توجه ترانسفرازی A و B می‌باشد. بعلاوه تمامی افراد دارای جهش Pro156Leu در ارتباط با A^1 ژاپنی و A^2 بودند که گمان نمی‌رود ترانسفراز A را تحت تأثیر قرار دهد [۱۲۸].

در یک خانواده ویتنامی، cisAB از ژنی شبیه B ناشی شده بود که در آن یک تغییر تک نوکلئوتیدی، کدون متیونین در موقعیت ۲۶۶، موقعیت سوم مرز افتراق آل‌های A و B، را به کدون لوسین، کدون مشخصه A، تبدیل نموده بود [۴۳] (جدول ۲-۲۰). یوشیدا و همکاران [۴۱۶] توانستند در یک شخص cisAB دو جزء آنزیمی را از سرم جدا نمایند: یکی شبیه به ترانسفراز A_2 طبیعی و دیگری شبیه به ترانسفراز B، حاکی از اینکه دو ژن مجزا روی یک کروموزوم وجود دارند.

۲-۱۳ فنوتیپ‌های فاقد H

فنوتیپ‌هایی هستند که در آنها گلبول‌های قرمز به طور کامل و یا جزئی نقصان آنتی‌ژن H را نشان می‌دهند. H ممکن است در ترشحات وجود داشته و یا نداشته باشد، به عبارتی دیگر افرادی که این فنوتیپ‌ها را دارند ممکن است سکرترور و یا غیر سکرترور ABH باشند. فنوتیپ‌های متعدد فاقد H در جدول ۲-۲۱ خلاصه شده اند.

۲-۱۳-۱ گلبول قرمز فاقد H، غیر سکرترور، فنوتیپ بمبی

در سال ۱۹۵۲ بنده و همکاران [۴۲۱] نوعی گروه خون غیر طبیعی را در سه مرد اهل بمبی توصیف نمودند که گلبول‌های قرمزشان گروه O اما H منفی بودند. هر سه نفر در سرم خود آنتی-H را داشتند. این فنوتیپ نادر، بعدها فنوتیپ بمبی یا O_h نامیده شد. از آن زمان تاکنون موارد دیگری نیز یافت شده اند که همگی به واسطه وجود آنتی-H در سرم شناسایی شده‌اند.

1 - Yoshida *etal.*

2 - Bhende *etal.*

۲-۱۳-۱-۱ صوصیات سرولوژیک (جدول ۲-۲۱)

گلبول‌های قرمز توسط آنتی سرم‌های A، B، و AB و یا H آگلوتینه نمی‌شوند و بر سطح آنها آنتی‌ژن A یا B، حتی با تکنیک‌های جذب و جدا سازی قابل شناسایی نمی‌باشد [۴۲۲ و ۴۲۳]. در هر حال گلبول‌های قرمز فنوتیپ‌هایی که « O_h غیر معمول» نامیده می‌شوند به آنتی-H که در مایع جدا شده (eluate) قابل شناسایی است، پیوند می‌یابند [۴۲۴ و ۴۲۵]. علاوه بر این، جذب آنتی-A / آنتی-B بر سطح این گلبول‌ها و جداسازی آنها نیز امکان پذیر است [۴۲۴، ۴۲۶ و ۴۲۷]. همچون اکثر افراد غیر اسکرتور ABH، گلبول‌های قرمز O_h معمولاً Le(a+b-) هستند اما ممکن است Le(a-b-) نیز باشند. این گلبول‌ها هرگز Le^b را بروز نمی‌دهند. در بزاق افراد O_h آنتی‌ژن‌های A، B، H و Le^b اصلاً وجود ندارند، اما ممکن است Le^a یافت شود و در سرم این افراد همواره آنتی‌بادی‌های A، B و H وجود دارند.

جدول ۲-۲۱. فنوتیپ‌های فاقد H

Type	Notation	Antigens						Antibodies	Glycosyltransferases						
		Red cells*			Secretions				Serum			Red cells			
		A	B	H	A	B	H		A	B	H	A	B	H	
H-deficient, non-secretor (Bombay)	O_h	O_h^O	-	-	-	-	-	-	Anti-H	-	-	-	-	-	-
		O_h^A	-	-	-	-	-	-	Anti-H	+	-	-	+	-	-
		O_h^B	-	-	-	-	-	-	Anti-H	-	+	-	-	+	-
H-partially deficient, non-secretor	O_h^I	-	-	-/w	-	-	-	-	Anti-H	-	-	-/+	-	-	-
	A_o	+w	-	-/w	-	-	-	-	Anti-H	+	-	-/+	+	-	-
	B_o	-	+w	-/w	-	-	-	-	Anti-H	-	+	-/+	-	+	-
H-deficient, secretor (para-Bombay)	O_h^O -secretor	-	-	-/w	-	-	+	+	Anti-HI	-	-	-/+	-	-	-
	O_h^A -secretor	+w	-	-/w	+	-	+	+	Anti-HI	+	-	-/+	+	-	-
	O_h^B -secretor	-	+w	-/w	-	+	+	+	Anti-HI	-	+	-/+	-	+	-
H_o (dominant)	OH_o	-	-	w	-	-	+	+	None	-	-	+	-	-	+
	AH_o	w	-	w	+	-	+	+	None	+	-	+	+	-	+
LADII		-	-	-	-	-	-	-	None	-	+	+	NT	NT	NT

*Tested by direct agglutination.

†Only distinguished from 'atypical' O_h -non-secretor by family studies.

NT, not tested; w, weak expression of antigen.

۲-۱-۱۳-۲ توارث

سپلینی و همکاران^۱ [۴۲۸] برای نخستین بار پیشنهاد نمودند که احتمالاً یک ژن مهار کننده مسئول ایجاد فنوتیپ بمبی است. در سال ۱۹۵۵، واتکینز و مورگان^۲ [۴۲۹] اظهار داشتند که تجلی H ممکن است تحت کنترل یک ژن در لوکوسی مستقل از ABO باشد، و اینکه فنوتیپ بمبی ممکن است ناشی از حالت هموزیگوت برای یک آلل نادر در این لوکوس باشد. این پیش بینی از آن زمان تاکنون به واسطه شواهد بیوشیمیایی و ژنتیک مولکولی مورد تأیید واقع شده است. افراد هموزیگوت برای «h» ممکن است ژن‌های A و یا B را داشته باشند زیرا از طریق گروه خون والدین و یا بچه‌هایشان مشخص می‌گردد، اما این ژن‌ها به شکل آنتی‌ژن بر سطح گلبول‌های قرمز و یا در ترشحات بروز نمی‌یابند [۴۲۶، ۴۲۷، ۴۳۰ و ۴۳۱]، هنگام توصیف فنوتیپ‌های بمبی و در مواردی که ژنوتیپ ABO از طریق مطالعات خانوادگی، بررسی گلیکوزیل ترانسفراز و یا آزمایشات ژنتیک مولکولی تعیین شده است، در قسمت بالایی O_h ژن مربوطه نوشته می‌شود - O_h^{AB} , O_h^B , O_h^A , O_h^O .

۳-۱-۱۳-۳ گلیکوزیل ترانسفرازها

در سرم و یا غشاء گلبول‌های قرمز افراد O_h آنزیم ترانسفراز H شناسایی نشده است [۱۰۸]، در عوض سرم و غشاء گلبول‌های قرمز این افراد در صورت وجود ژن‌های A و B حاوی ترانسفرازهای A و B خواهند بود [۱۰۸ و ۲۲۵]. این آنزیم‌ها قادر نیستند در غیاب سوبسترای پذیرنده خود، یعنی آنتی‌ژن H، عمل کنند و لذا هیچ کدام از ساختارهای A و یا B تولید نمی‌شوند. گلبول‌های قرمز O_h که در محیط آزمایشگاه و در حضور ترانسفراز H آنتی‌ژن H کسب نموده اند، با استفاده از ترانسفرازهای اختصاصی (A یا B) قابل تبدیل به گلبول‌های قرمز B یا A خواهند بود [۹۳]. در خانواده‌ها، فعالیت ترانسفراز H در اعضای هتروزیگوت H/h نصف فعالیت آن در سرم اعضای هموزیگوت H/H می‌باشد [۴۳۵].

۲-۱-۱۳-۴ بقاء گلبول‌های قرمز O_h در داخل بدن

برخلاف گلبول‌های Rh_{null} هیچ نوع شاهد و مدرکی دال بر اینکه گلبول‌های فنوتیپ بمبی از لحاظ هماتولوژیک غیر طبیعی هستند در دست نمی‌باشد. گلبول‌های قرمز O_h که با ^{51}Cr نشان دار شده اند بقاء طبیعی دارند [۴۳۶ و ۴۳۷].

1 - Ceppellini et al

2 - Watkins and Morgan

۲-۱۳-۵ فراوانی و توزیع

فنوتیپ بمبئی بسیار نادر است اما ظاهراً شدت کمیابی آن در هندوستان کمتر از هر جای دیگر می‌باشد. باتیا و ساته^۱ [۴۳۸]، ۱۶۷۴۰۴ هندی رادر بمبئی مورد آزمایش قرار دادند و یک فراوانی O_h حدوداً در ۷۶۰۰ و یک فراوانی ژنی ۰/۰۱۱۵ را برای ژن h بدست آوردند. لوپندو و همکاران^۲ [۴۳۹] به یک منبع ارزشمند از دو نوع فنوتیپ نقصان H در جزیره Reunion اقیانوس هند دست یافتند: O_h بارز در جمعیت هندی Tamoul و نقصان جزئی H در گلبول‌های قرمز جمعیتی غیر سکرترور با منشأ اروپایی. O_h همچنین در گروه‌های نژادی زیر مشاهده شده است: مردمان اروپایی الاصل [۴۲۶، ۴۲۷، ۴۳۰، ۴۳۴، ۴۳۶، ۴۴۰] که در میان آنها فنوتیپ « O_h غیر معمول» جلب توجه می‌نماید [۴۴۳]، ژاپنی‌ها [۴۴۱ و ۴۴۲]، آمریکایی‌های آفریقایی تبار [۴۴۳]، تائی‌ها [۴۴۴] و یک خانواده سودانی با منشأ عرب و سیاه آفریقائی [۴۳۱].

۲-۱۳-۲ گلبول‌های قرمز با نقصان جزئی H ، غیر سکرترور

لوین و همکاران^۳ [۴۴۵] با استفاده از نشان A_h ، فنوتیپی را در یک زن غیر سکرترور اهل چکسلواکی توصیف نمودند که گلبول‌های قرمز فاقد H بودند، اما بصورت ضعیف توسط آنتی- A آگلوتینه می‌شدند. علاوه بر این فنوتیپ B مشابه آن (B_h) نیز در یک چکسلواکیایی، توسط برانوا و همکاران^۴ [۴۴۱] یافت شد. AB_h نیز توصیف شده است [۴۳۹ و ۴۴۷].

A_h ، B_h و AB_h عمدتاً در مردمان اروپایی الاصل گزارش شده اند [۴۳۹، ۴۴۹-۴۴۵]. اصطلاح پارابمبئی برای این گلبول‌های قرمز با نقصان جزئی H و فنوتیپ‌های غیر سکرترور استفاده شده است، اما در مورد افراد سکرترور فاقد H و یا نقصان جزئی H مناسب تر می‌باشد.

۲-۱۳-۱ خصوصیات سرولوژیک (جدول ۲-۲۱)

قدرت بروز A بر سطح گلبول‌های قرمز بعضی از افراد A_h مشابه A_2 ضعیف می‌باشد [۴۴۵ و ۴۴۸]. حال آنکه گلبول‌های سایر آنها بیشتر شبیه A_x بوده توسط تعداد بسیار کمی از سرم‌های آنتی- A آگلوتینه می‌شوند [۴۵۱-۴۴۹]. همینطور، گلبول‌های B_h نیز دارای آنتی‌ژن ضعیف B می‌باشند [۴۴۶ و ۴۵۲] و بر سطح آنها مقدار بسیار کمی آنتی‌ژن H قابل شناسایی است و یا اصلاً وجود ندارد. درون بزاق، هیچکدام از آنتی‌ژن‌های A ، B و یا H وجود ندارد و همچون گلبول‌های قرمز اکثر افراد غیر

1- Bathia and Sathe

2 - Le Pendu

3 - Levine *et al.*

4 - Beranova *et al.*

سکرتور، گلبول‌های قرمز A_h و B_h معمولاً $Le(a+b-)$ هستند اما ممکن است $Le(a-b-)$ نیز باشند (۴۳۵ و ۴۴۷). سرم حاوی آنتی H می‌باشد.

در سرم افراد گروه A_h آنتی-B، اما نه آنتی-A، وجود دارد گرچه معمولاً آنتی- A_1 نیز وجود دارد (۴۴۵، ۴۵۰ و ۴۵۱). در سرم افراد گروه B_h آنتی-A همیشه وجود دارد و آنتی-B نیز ممکن است یافت شود (۴۴۶ و ۴۵۲).

بسیاری از موارد A_h , B_h , AB_h و O_h در میان مردمان فرانسوی الاصل ساکن جزیره کوچک Reunion به دور از کرانه شرقی آفریقا، نیز یافت شده اند [۴۳۹ و ۴۴۷]. O_h در این جمعیت ناشی از همان ژنوتیپ H می باشد که در فنوتیپ های A_h , B_h , AB_h وجود دارد، زیرا این ها در یک خانواده وجود دارند و دارای یک جهش « h » می باشند [۱۰۶]. این «فنوتیپ $Reunion O_h$ » به واسطه میزان H سطح گلبول های قرمز از فنوتیپ بمبی قابل افتراق می باشد [۴۳۹]. لکتین تخلیص شده اولکس یوروپائوس، گلبول های فنوتیپ $Reunion$ را که به پاپائین آغشته شده بودند، آگلوتینه نمود اما روی گلبول های فنوتیپ بمبی تأثیری نداشت، و آنتی H با عیار بالا که در سرم هندی های دارای فنوتیپ بمبی وجود داشت گلبول های قرمز فنوتیپ $Reunion$ را آگلوتینه نمود. از طرفی همین سرم ها گلبول های قرمز بعضی از اروپایی های دارای فنوتیپ O_h را آگلوتینه نمودند [۴۳۹]. اصطلاح O_h نامفهوم است. این می تواند نشانگر حالت هموزیگوت برای یک آلل h که هیچ آلفا - ۲- فوکوزیل ترانسفرازی را تولید نمی کند (فنوتیپ بمبی)، یا حالت هموزیگوت برای یک آلل h که آنزیم مذکور را اما با فعالیت ضعیف در افراد فاقد ژن های A یا B (و لذا فاقد بروز آنتی ژن های A یا B) تولید می کند، باشد. همانطوری که باتیا^۱ نیز پیش بینی نموده است [۴۲۳]، یک سری از آلل های ضعیف H وجود دارند که درجات متفاوتی از نقصان H در گلبول قرمز را باعث می شوند.

۲-۲-۱۳-۲ گلیکوزیل، ترانسفرازها

مولت و همکاران^۲ [۱۰۸ و ۴۳۳] و شنکل-برونر و همکاران^۳ [۱۹۶] قادر به شناسایی ترانسفراز H در سرم یا غشاء گلبول‌های قرمز افراد A_h یا B_h نبودند. لوپندو و همکاران^۴ [۴۳۰] به وجود میزان بسیار کمی از ترانسفراز H در سرم افراد غیرسکرتور ساکن جزیره Reunion که گلبول‌هایشان نقصان جزئی H داشتند، پی بردند. همچون افراد O_h^A و O_h^B ، سرم افراد A_h و B_h به ترتیب حاوی گلیکوزیل ترانسفرازهای تولید شده توسط ژن‌های A و B می‌باشد [۱۰۸ و ۴۳۳]. فوتیپ‌های گلبول قرمز با نقصان جزئی H ناشی از حالت هموزیگوت برای یک ژن جهش یافته در لوکوس $H(FUT1)$ ، که صرفاً یک

1 - Bathia

2 - Mullet *et al.*

3- Schenkel-Brunner *et al.*

4- Le Pendu *et al.*

ترانسفراز بسیار ضعیف را تولید می‌نماید، می‌باشند. لذا، مقدار کم ماده H تولید شده به طور کامل به A یا B تبدیل می‌گردد (به بخش ۲-۱۳-۴ مراجعه شود). مولت و همکاران [۴۵۳] به نحو ماهرانه ای نشان دادند که ماده H، پیشاز B بر سطح گلبول‌های قرمز یک فرد B_h می‌باشد. آنها گلبول‌های $B_h(B+H-)$ را با آلفا- گالاکتوزیداز موجود در عصاره تریکوموناس فیتوس^۱ مجاور نمودند و مشاهده کردند که این گلبول‌ها آنتی‌ژن B خود را از دست داده و آنتی‌ژن H کسب نموده اند. این گلبول‌های $B+H-$ نیز با استفاده از ترانسفراز A به گلبول‌های $A(A+H-)$ تبدیل شدند. اگر گلبول‌های قرمز $B_h(B+H-)$ آغشته شده به آلفا - گالاکتوزیداز، در معرض آلفا- فوکوزیداز (تجزیه کننده H) موجود در عصاره تریکوموناس فیتوس قرار می‌گرفتند، دیگر قابل تبدیل به گلبول‌های قرمز با فعالیت A نبودند.

۲-۱۳-۳ گلبول‌های قرمز فاقد H، سکر تور

گلبول‌های قرمز در نوعی دیگر از فنوتیپ نقصان H، هیچ نوع آنتی‌ژن H، A یا B ندارند و یا به مقدار بسیار کم دارند، با این حال افراد دارای این فنوتیپ، افراد سکر تور ABH می‌باشند به طوری که مقادیر طبیعی مواد A و B و H را در ترشحات خود دارند. نخستین خانواده ای که در سال ۱۹۶۵ توسط سولومون و همکاران^۲ [۴۵۴] مورد مطالعه قرار گرفت نشان داد که افرادی که گلبول‌های قرمزشان فاقد H هستند قادر به ترشح H می‌باشند. دو برادر که گلبول‌هایشان فاقد H بودند و به آنتی A- پیوند می‌یافتند اما توسط آن آگلوتینه نمی‌شدند، A و H را ترشح می‌کردند، برادر سوم با گروه خونی O و گلبول‌های H منفی، فقط H را ترشح می‌نمود. بعدها یک مورد سکر تور B و H با گلبول‌های قرمز فاقد H نیز شناسایی گردید [۴۵۵]. نظر به فهم امروزی ما از زمینه ژنتیکی فنوتیپ‌های سکر تور با گلبول‌های قرمز فاقد H، علائم متعددی که به منظور توصیف این فنوتیپ‌ها ارائه شده اند A_m^h و B_m^h [۴۵۴]، O_{Hm} [۴۵۶]، H_z [۴۵۷] - دیگر مناسب به نظر نمی‌رسند. اصطلاحات O_h سکر تور، A_h سکر تور و B_h سکر تور توصیه می‌شوند (جدول ۲-۲۱).

۲-۱۳-۱ خصوصیات سرولوژیک

گلبول‌های قرمز افراد سکر تور O_h توسط اکثر آنتی‌بادی‌های H آگلوتینه نمی‌شوند، اما ممکن است توسط آنتی - H قوی موجود در بعضی از سرم‌های O_h و دیگر معرف‌های تجارتي قوی آنتی - H، بطور ضعیف آگلوتینه شوند [۴۲۳ و ۴۵۸ و ۴۵۹]. جذب و جداسازی آنتی - H ممکن است آنتی‌ژن H بر سطح گلبول‌های قرمز افراد سکر تور O_h را ظاهر سازد و یا نسازد [۴۴۰ و ۴۵۵]. گلبول‌های قرمز O_h

1 - Trichomonas Foetus

2- Solomon et al.

سکرتور معمولاً توسط آنتی - A یا آنتی - B آگلوتینه نمی‌شوند، اما بعضی از گلبول‌های O_h^A سکرتور مثل گلبول‌های A_x عمل نموده توسط آنتی - AB و آنتی - A بسیار قوی آگلوتینه می‌شوند [۴۵۴ و ۴۶۰]. گاهی اوقات آنتی ژن A فقط به واسطه جذب و جداسازی آنتی - A قابل شناسایی است [۴۵۸ و ۹۱]. نوسان مشابه ای در قدرت آنتی ژن B در افراد سکرتور O_h^B نیز وجود دارد [۴۵۵ و ۹۱ و ۴۶۰ و ۴۶۱].

گلبول‌های قرمز O_h سکرتور، همچون گلبول‌های اکثر افراد سکرتور، معمولاً $Le(a-b+)$ هستند اما ممکن است $Le(a-b-)$ نیز باشند. فنوتیپ $Le(a+b+)$ که در خاور دور شایع است، در میان ۲۵ تایوانی O_h غیر سکرتور مشاهده نشد [۴۶۲]، اما در دو نفر از ۵۱ چینی هونگ کونگی O_h سکرتور (حدوداً نصف میزان بروز طبیعی) شناسایی گردید [۴۵۹]. در بزاق یک فرد O سکرتور، ماده H تقریباً به مقادیر طبیعی وجود دارد [۴۵۴ و ۴۵۵ و ۴۶۰ - ۴۵۹ و ۴۶۳]. مواد A و B در صورت وجود ژن‌های A, B به مقادیر طبیعی در ترشحات یافت می‌شوند. سرم تقریباً همیشه حاوی یک آنتی‌بادی مشابه آنتی - H می‌باشد که معمولاً ضعیف بوده و صرفاً در دماهای پایین واکنش می‌دهد. این آنتی‌بادی که آنتی - HI نامیده می‌شود توسط بزاق فرد سکرتور مهار نمی‌گردد و با گلبول‌های قرمز بند ناف گروه O واکنش نمی‌دهد [۴۶۰ و ۴۵۸ و ۲۲۴]. دو سوم افراد O_h سکرتور در هنگ کنگ آنتی - HI یا آنتی - H داشتند که در ۳۷ درجه فعال بودند [۴۵۹].

۲-۱۳-۳-۲ گلیکوزیل ترانسفرازها

در ابتدا فعالیت ترانسفراز H در سرم افراد سکرتور O_h یا بر سطح غشاء گلبول‌های قرمز آنها قابل سنجش نبود، اگر چه ترانسفرازهای مربوطه A و B وجود داشتند [۴۳۳ و ۴۵۸ و ۴۶۴]. لوپندو و همکاران [۹۱] در سرم چهار فرد O_h سکرتور به فعالیت ترانسفراز H پی بردند که پنج الی ده درصد فعالیت آن در سرم افرادی بود که فنوتیپ‌های طبیعی H را نشان می‌دادند و نیز حاکی از این بود که این آنزیم از بافت‌های مترشح مشتق شده است.

۲-۱۳-۳-۳ فراوانی و توزیع

افراد سکرتور فاقد H در ملیت‌ها و گروه‌های نژادی متنوعی مشاهده شده اند: هندی [۴۲۳]، اروپایی [۴۶۱، ۹۱ و ۴۶۵]، ژاپنی [۴۴۲، ۴۵۵ و ۴۶۶] و چینی [۴۵۹، ۴۶۲، ۴۶۹ و ۴۶۷]، آسیای جنوب شرقی [۴۵۸ و ۴۶۰]، خاور میانه ای [۴۵۸ و ۹۱]، آمریکایی بومی [۴۷۰]. فراوانی‌های ۱ در ۵۰۰۰ تایی [۴۶۰]، ۱ در ۸۰۰۰ تایوانی [۴۷۱]، و ۱ در ۱۵۶۲۰ چینی هنگ کنگی [۴۵۹] برآورد شده اند.

۲-۱۳-۴ ژنتیک فنوتیپ‌های گلبول قرمز با نقصان H

قبل از سال ۱۹۸۰، تصور عمومی بر این بود که یک ژن در لوکوس H مسئول تولید آنتی‌ژن H بر سطح گلبول‌ها و در ترشحات می‌باشد، اما حضور آن در ترشحات تحت کنترل ژن‌هایی در یک لوکوس تنظیم کننده به نام سکر تور است. افرادی که فنوتیپ‌های غیر سکر تور و فاقد H گلبول‌های قرمز را داشتند، برای آلل نادر «h» (یا H^w) در لوکوس H، که از سنتز آنتی‌ژن H در ترشحات و سطح گلبول‌های قرمز جلوگیری می‌نماید، هموزیگوت بودند (صرفنظر از ژنوتیپ سکر تور). شناسایی افراد سکر تور دارای گلبول قرمز فاقد H پیچیدگی بیشتری را ایجاد نمود و یک لوکوس سوم به نام Z که تنظیم کننده بیان H بر سطح گلبول‌های قرمز، اما نه در ترشحات، بود مورد توجه قرار گرفت [۴۵۴-۴۵۶].

افراد سکر تور که گلبول‌های قرمز فاقد H داشتند، دارای ژن‌های H و سکر تور طبیعی بودند اما برای یک ژن نادر مغلوب z که سنتز آنتی‌ژن H گلبول قرمز را مهار اما ترشح آن را میسر می‌ساخت، هموزیگوت بودند.

همانطوری که در بخش ۲-۳-۱ نیز توضیح داده شد، امروزه مشخص شده است که لوکوس H (*FUT1*) فعالیت آنزیم آلفا - ۲- فوکوزیل ترانسفراز در بافت هموپوئیتیک و لذا بروز آنتی‌ژن H بر سطح گلبول‌های قرمز را کنترل می‌نماید. لوکوس سکر تور (*FUT2*) فعالیت آنزیم آلفا - ۲- فوکوزیل ترانسفراز را در بافت ترشحي کنترل می‌کند. در جدول ۲-۲۲، تعداد ۲۶ آلل *FUT1* که در ارتباط با فنوتیپ‌های گلبول قرمز فاقد H می‌باشند فهرست شده اند. آنها شامل ۱۹ آلل حاوی جهش‌های بد معنی^۱ هستند که از میان اینها ۱۷ مورد جایگزینی‌های تک اسید آمینه ای و ۲ مورد جایگزینی‌های دو اسید آمینه‌ای را کد می‌نمایند. همچنین ۳ جهش بی معنی^۲ که کدون یک اسید آمینه را به کدون توقف ترجمه تبدیل می‌کنند و ۴ جهش انتقال چهارچوب که حذف‌های تک یا دو نوکلئوتیدی را در بر می‌گیرند، نیز وجود دارند. اکثر افرادی که گلبول‌های قرمز فاقد H داشتند برای یک آلل جهش یافته هموزیگوت بودند، اما بعضی‌ها نیز برای دو جهش مختلف هتروزیگوت بودند [۴۴۲، ۴۶۲، ۴۶۸، ۴۶۹، ۴۷۲ و ۴۷۳]. یک فرد آلمانی با گلبول‌های قرمز فاقد H، برای آللی که یک جایگزینی اسید آمینه ای را کد می‌کرد و آللی که در منطقه کد کننده ژن توالی طبیعی داشت، هتروزیگوت بود [۴۷۲]. فنوتیپ بمبئی بارز در مردمانی که اصل و نسب هندی دارند ناشی از حالت هموزیگوت برای T725G در *FUT1* که Leu242Arg را کد می‌نماید، به همراه حالت هموزیگوت برای یک حذف در *FUT2* می‌باشد [۱۰۵ و ۱۰۶]. فنوتیپ گلبول قرمز فاقد H و غیر سکر تور که در جمعیت اروپایی جزیره Reunion نسبتاً شایع است، به واسطه حالت هموزیگوت برای یک آلل *FUT1* که جایگزینی

1- Missense

2- Nonsense

جدول ۲-۲۲. جهش‌های ایجاد شده در *FUT1* که در ارتباط با فنوتیپ‌های گلبول قرمز فاقد H می‌باشند.

Symbol	Mutation	Amino acid change	H-transferase expression	Secretor phenotype*	Population	References
<i>h</i> ^{35/980}	C35T A980C	Ala12Val Asn327Thr	NT	Secretor	Taiwanese	[462]
<i>h</i> ³⁴⁹	C349T	His117Tyr	Low	Non-sec	Réunion	[106]
<i>h</i> ⁴⁴²	G442T	Asp148Tyr	Low	Non-sec†	Japanese	[442]
<i>h</i> ⁴⁶⁰	T460C	Tyr154His	NT	Secretor	Taiwanese	[462]
<i>h</i> ^{460, 1042}	T460C G1042A	Tyr154His Glu348Lys	Low/none	Secretor	Japanese	[442, 466]
<i>h</i> ⁴⁶¹	A461G‡	Tyr154Cys	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ⁴⁹⁷	T491A	Leu164His	None	Secretor	White US	[22, 473]
<i>h</i> ⁵¹³	G513C	Trp171Cys	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ⁵²²	C522A	Phe174Leu	NT	Secretor	Chinese	[469]
<i>h</i> ^{del 547/548}	del AG547-552	codon 183/184	NT	Secretor	Taiwanese, Chinese	[462, 469]
<i>h</i> ⁵⁵⁸	C658T	Arg220Cys	NT	Secretor	Taiwanese	[462, 468]
<i>h</i> ⁵⁵⁹	G659A	Arg220His	NT	Secretor	Taiwanese	[468]
<i>h</i> ⁵⁹⁵	G695A	Trp232stop	None	Non-sec†	Japanese	[442]
<i>h</i> ⁷²⁷	T721C	Tyr241His	Low	Secretor	Japanese	[442]
<i>h</i> ⁷²⁵	T725G	Leu242Arg	None	Non-sec	Indian	[105, 106]
<i>h</i> ⁷⁷⁶	T776A	Val259Glu	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ^{785, 786}	G785A C786A	Ser262Lys	None	Non-sec	European	[434]
<i>h</i> ⁸⁰⁷	G801C or T	Trp267Cys	NT	NR	NR	[474]
<i>h</i> ⁸²⁶	C826T	Gln276stop	None	Secretor	White US	[22, 473]
<i>h</i> ⁸³²	G832A	Asp278Asn	NT	NR	NR	[474]
<i>h</i> ^{del 880/881}	del TT880-882	codon 294	NT	Secretor	Taiwanese, Chinese	[462, 469, 474]
<i>h</i> ⁹⁴⁴	C944T	Ala315Val	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ⁹⁴⁸	C948G	Tyr316stop	None	Non-sec	White US	[473]
<i>h</i> ^{del 969/970}	del CT969, 970	codon 323/324	NT	NR	European	[472]
<i>h</i> ^{del 990}	del G990	codon 330	Low	Secretor	Japanese	[442, 474]
<i>h</i> ¹⁰⁴⁷	G1047C	Trp349Cys	NT	NR	European	[472]
	None detected		NT	NR	European	[472]

* Secretor phenotypes of individuals with *FUT1* mutation shown.

† Homozygous for the weak secretor gene *Se*^{w183} [442] and would be expected to be weak secretors (Section 2.3.1.2).

‡ Silent mutations, A474G and T954A, also present.

NT, not tested; NR, not reported; del, deletion.

لوکوس‌های ساختمانی *FUT1* و *FUT1* در ارتباط بسیار نزدیکی با هم می‌باشند (فصل ۳۲). در اکثریت موارد، آلل‌های جهش یافته *FUT1* در ارتباط با یک آلل مشترک جهش یافته *FUT2*، حتی در افراد غیر خویشاوند، می‌باشند [۴۴۲ و ۱۰۶]. در شش ژاپنی با فنوتیپ فاقد H، ۹ آلل *h*⁶⁹⁵ متصل به *Se*^{w385} بودند، در صورتی که یک آلل *h*⁶⁹⁵ با *Se* مرتبط بود، دو آلل دیگر *H*، *h*⁷²¹ بودند [۴۴۲]. دو خانواده توصیف شده اند که در آنها امکان نوترکیبی بین لوکوس‌های *FUT1* و *FUT2* مطرح شده است [۴۴۰ و ۸۹]. یک خانواده دارای اعضای سکر تور و غیر سکر تور با گلبول‌های قرمز فاقد H می‌باشد [۴۴۰]. در خانواده دیگر می‌توان چنین استنباط نمود که پدر آلل‌های *h* و *se* را به پنج فرزند فنوتیپ بمبئی خود انتقال داده است: *Se* و *H* را به چهار فرزند سکر تور گروه B، *H* و *se* را به دختر غیر سکر تور گروه B [۴۷۵ و ۸۹].

۲-۱۳-۵ دیگر فنوتیپ‌های فاقد H

H_m ۱-۵-۱۳-۲

مشخصه اولیه فنوتیپ H_m (جدول ۲-۲۱) شیوه غالب توارث آن می‌باشد، به طوری که این فنوتیپ نادر قادر است در چندین نسل یک خانواده ظاهر گردد. هرویسکو^۱ [۴۵۷] سه خانواده چکسلواکیایی با فنوتیپ H_m را گزارش نمود و از آن زمان تاکنون چندین خانواده دیگر نیز توصیف شده‌اند [۴۳۳ و ۴۶۵ و ۴۷۶]. نقصان H در این فنوتیپ به برجستگی نقصان آن در فنوتیپ‌های بمبئی یا پارا بمبئی نیست: گلبول‌های قرمز H_m بطور ضعیف توسط آنتی-H آگلوتینه می‌شوند. بزاق حاوی مقادیر طبیعی ماده H است و ترانسفراز در سرم و غشاء گلبول‌های قرمز موجود می‌باشد.

گلبول‌های AH_m کاهش آنتی‌ژن A را نشان می‌دهند. در یک خانواده فرد، فرد مورد مطالعه^۲، A₂ بود اما بر سطح گلبول‌های خود مقدار بسیار کمی H داشت، ترانسفراز A از نوع A₁ بود اما احتمال می‌رفت که میزان H برای بیان آنتی‌ژن A₁ کافی نبوده است [۴۳۳ و ۴۶۶]. سالمون و همکاران^۳ [۴۷۷] اظهار می‌دارند که نقصان H در H_m احتمالاً ناشی از یک نقص ژنتیکی غالب بدون ارتباط با لوکوس H می‌باشد زیرا میزان ترانسفراز H در سرم و غشاء گلبول قرمز طبیعی است.

۲-۱۳-۲-۵ نقص چسبندگی لوکوسیت نوع II (LADII)

LADII در پنج بیمار تشخیص داده شده است: چهار بچه عرب [۴۷۸ و ۴۷۹] و یک پسر ترک [۴۸۰ و ۴۸۱]. LADII نقص فوکوزیلاسیون عمومی است که در ارتباط با عفونت‌های اخیر، قد و قامت کوتاه، عقب ماندگی ذهنی و یک ظاهر خاص چهره ای و همچنین با گلبول‌های قرمز فاقد H (فنوتیپ بمبئی)، عدم ترشح ABH و فنوتیپ Le (a-b-) گلبول قرمز می‌باشد (بازنگری‌ها در منابع [۴۸۲ و ۴۸۳]).

سنجش‌های ترانسفراز روی یکی از بیماران عرب، سطوح طبیعی ترانسفرازهای H و B سرم و ترانسفراز Le در بزاق را نشان دادند [۴۸۲]. نقص چسبندگی لوکوسیت ناشی از نقصان سیالین - Le^x یک لیگاند فوکوزیله برای سلکتین‌های E و P، می‌باشد (بخش ۲-۱۹-۳). توضیح احتمالی برای نقصان فوکوزیلاسیون عمومی در بچه‌های عرب، یک نقص در بیوستتیزگوانوزین دی فسفات^۴ (GDP) - ال - فوکوز، سوسترای دهنده برای فوکوزیل ترانسفرازها، از GDP - D-مانوز بود [۴۸۲ و ۴۸۳]. در بیمار ترکیه ای بیوستتیز GDP - فوکوز طبیعی بود، لذا وجود نقصی در ورود GDP - فوکوز به درون دستگاه گلژی به عنوان علت احتمالی LADII در این بیمار پیشنهاد شد [۴۸۱]. یک نقص فوکوزیلاسیون عمومی

1 - Hrubisko

2 - propositus

3 - Salmon *et al.*

4- Leukocyte Adhesion Deficiency-type II

5- Guanosine DiPhosphate

مشابه نیز ممکن است فنوتیپ غیر عادی یک زن انگلیسی را توضیح دهد که دارای بیان ضعیف آنتی‌ژن‌های A و B و عدم ظهور H بر سطح گلبول‌های قرمز، میزان کم A, B (اما بدون H) در بزاق و گلیکوزیل ترانسفرازهای سرمی و گلبولی A, B, H طبیعی بود [۴۸۶]. بزاق وی حاوی ترانسفراز Le بود اما گلبول‌های قرمز $Le(a^-)$ و دارای Le^b ضعیف بودند. بعلاوه یک نقص فوکوزیلاسیون نیز توانست توضیحی براساس فنوتیپ H_m باشد [۱۰].

۲-۱۳-۶ تجلی I و i در فنوتیپ‌های فاقد H

ساختارهای آنتی‌ژنی I, i, زنجیره‌هایی کربوهیدراتی دارند که پیشسازهای مواد A, B, H, Le^a و Le^b می‌باشند، لذا جای تعجب نیست اگر بیان I و i در گلبول‌های قرمز فاقد H افزایش داشته باشد (به فصل ۲۵ مراجعه گردد). این ویژگی، روی گلبول‌های O_h با استفاده از عیارسنجی‌های آگلوتیناسیون با آنتی - I و آنتی - i نشان داده شده است [۴۲۴- ۴۲۲- ۴۵۸]. سنجش درصد آگلوتیناسیون با استفاده از یک شمارشگر سلولی الکترونیک، میزان آن را با آنتی - I در مجاورت گلبول‌های O_h , A_h و B_h افراد غیرسکرتور (۹۰/۲٪) در مقایسه با گلبول‌های کنترل (۷۳/۵٪)، به صورت قابل توجهی بالاتر نشان داد [۴۸۲]. علی رغم تمایل بالاتر آنتی - I و آنتی - i برای گلبول‌های O_h نسبت به گلبول‌های O, دویلز [۴۸۸]، افزایشی را در تعداد جایگاههای I و i مشاهده نمود. دانیلز [۴۵۸] در میان اعضای سکرتور دو خانواده از سه خانواده آزمایش شده، که دارای گلبول‌های قرمز فاقد H بودند، به افزایش بروز I بر روی گلبول‌های قرمز آنها پی برد.

۲-۱۴ تغییرات اکتسابی آنتی‌ژن‌های A, B, H بر سطح گلبول‌های قرمز

از زمانی که ثابت شد گروه‌های خونی ABO صفات ارثی هستند، چندین واریان نادر شناسایی شده اند که بسیاری از آنها در این فصل توصیف شده اند. اکثر این واریان‌ها ارثی هستند، بطوری که ناشی از ژن‌های جهش یافته در لوکوس‌های ABO و H و احتمالاً دیگر لوکوس‌ها می‌باشند. در هر حال بعضی از موارد غیر طبیعی ABO اکتسابی هستند که در نتیجه عفونت یا بدخیمی و گاهی اوقات در غیاب هر نوع بیماری واضح ایجاد می‌گردند.

1 - Doinels

2- Daniels

۲-۱-۱۴- B/اكتسابی

کامرون و همکاران^۱ [۴۸۹] در طی یک دوره ۴ ساله، هفت بیمار را شناسایی نمودند که نوع خاصی از آنتی‌ژن B گلبولی داشتند اما ظاهراً در سرم خود دارای آنتی - B طبیعی بودند. آنتی - B با گلبول‌های قرمز خود بیماران واکنش نمی‌داد. آنها به تدریج بدین استنباط رسیدند که این آنتی‌ژن شبیه B، یک صفت اکتسابی است که احتمالاً در ارتباط با بیماری می‌باشد، هر هفت بیمار A₁ بودند، آنهایی که سکرتر بودند A و H را ترشح می‌کردند اما B را ترشح نمی‌کردند، و چهار نفر دارای بچه‌های با گروه O و لذا یک ژنوتیپ A¹/O بودند.

اکثر افرادی که دارای B اکتسابی هستند بیمار می‌باشند، گرچه نمونه‌هایی از آن در افراد سالم نیز گزارش شده است [۴۹۲-۴۹۰]. گربال و رپارز^۲ {۴۹۳} برآورد نمودند که ۶۴٪ موارد گزارش شده، بیماری‌های مربوط به دستگاه گوارش داشتند که اکثر آنها کارسینومای کولون بودند. در یک بررسی بعمل آمده روی ۲۰۰ بیمار مبتلا به بیماری دستگاه گوارش (۱۰۶ نفر گروه O و ۹۴ نفر گروه A)، ۱۰ مورد B اکتسابی شناسایی شدند که همگی در بیماران گروه A بودند [۴۹۳ و ۴۹۴]. B اکتسابی ممکن است یک پدیده گذرا باشد. سرم بیماران دارای B اکتسابی حاوی ترانسفراز A اما بدون ترانسفراز B می‌باشد [۴۹۵]، علاوه بر این در ژنوم این بیماران هیچ ژن B وجود نداشت [۲۹۰ و ۴۹۶ و ۴۹۷].

۲-۱-۱۴-۱ خصوصیات سرولوژیک

B اکتسابی فقط روی گلبول‌های گروه A یافت می‌شود. این گلبول‌ها تقریباً همیشه A₁ هستند، گرچه بیان A ممکن است کاهش یابد [۴۹۳]. چند مورد A₂ با B اکتسابی شناسایی شده اند: در یک مورد گلبول‌ها تبدیل به A₁ شدند ضمن اینکه بروز B کاهش یافت [۴۹۸]، در بیمار دیگر، ترانسفراز A₂ در سرم وجود داشت [۴۹۹] و در دو مورد نیز بیماران دارای ژنوتیپ A²/O بودند [۲۹۰]. یک نمونه از B اکتسابی در ارتباط با بیان ضعیف آنتی‌ژن‌های A و H بود [۵۰۰].

آنتی‌ژن B اکتسابی معمولاً ضعیف است، اما در افراد و زمان‌های مختلف متغیر می‌باشد، در اکثر موارد نسبتی از گلبول‌ها با آنتی - B آگلوتینه نشده بصورت آزاد در محیط باقی می‌مانند. سرم اهدا کنندگان گروه A₂ در شناسایی B اکتسابی بهتر از سرم اهدا کنندگان گروه A₁ عمل می‌کند [۴۹۵]، ۴۹۸ و ۵۰۱]. ده درصد سرم‌های A₁، گلبول‌های B اکتسابی را آگلوتینه نمی‌نمایند. بعضی از سرم‌های گروه A و O حاوی یک آنتی‌بادی اختصاصی ضد B اکتسابی می‌باشند که با گلبول‌های B طبیعی واکنش نمی‌دهد و می‌توان آنرا با تکنیک‌های جذب و جداسازی، از آنتی - B تفکیک نمود [۴۹۱ و ۵۰۲].

1- Cameron *et al.*

2- Gerbal and Ropars

هرون و همکاران^۱ [۴۹۱] با مصون کردن یک خرگوش با گلبول‌های B اکتسابی آنتی‌بادی ضد B اکتسابی را تولید نمودند که با گلبول‌های B اکتسابی، اما نه گلبول‌های معمولی، واکنش می‌داد. بعضی از آنتی B های مونوکلونال با گلبول‌های B اکتسابی واکنش می‌دهند [۵۰۵-۵۰۲] و آنتی‌بادی ضد B اکتسابی از طریق مصون نمودن موش‌ها با گلبول‌های B اکتسابی تولید شده اند [۵۰۶ و ۵۰۷]. ظهور یک آنتی B مونوکلونال (ES4) بعنوان یک معرف تعیین گروه خون، که گلبول‌های B اکتسابی را قویاً آگلوتینه می‌نماید تا حدود زیادی سرعت شناسایی این فنوتیپ را افزایش داده است [۵۰۵]. یک بیمار گروه A دارای B اکتسابی، با استفاده از معرف‌های حاوی ES4 بعنوان AB گروه‌بندی شد و متعاقب گرفتن چهار واحد خون AB دچار یک واکنش همولیتیک کشنده گردید [۵۰۸]. آنتی B ضعیف بیمار با استفاده از آزمایش سازگاری سریع، شناسایی نشد. امروزه سازندگان آنتی-B مونوکلونال pH معرف‌هایی را که حاوی ES4 هستند پایین آورده اند بطوری که فقط نمونه‌های بسیار قوی B اکتسابی را شناسایی می‌نمایند. در هر حل این کاهش دادن pH مشکلاتی را نیز باعث شده است، بطوری که یک پانصدم اهدا کنندگان خون دارای اتوآگلوتینین‌های وابسته به pH پایین می‌باشند [۵۰۹ و ۵۱۰]. شناسایی B اکتسابی دارای مزیت‌هایی می‌باشد به شرط اینکه با B معمولی اشتباه نگردد. شناسایی آن در یک اهدا کننده به ظاهر سالم، با استفاده از معرف‌های حاوی ES4، کمک به تشخیص لنفوم و جابجایی روده کوچک نمود [۵۱۱]. سرم افراد دارای B اکتسابی حاوی نوعی آنتی-B می‌باشد که با گلبول‌های B اکتسابی واکنش نمی‌دهد. بزاق افراد سکرترور B اکتسابی حاوی A و H اما بدون B می‌باشد. گلبول‌های B اکتسابی غالباً در سرم تمامی افراد آگلوتینه می‌شوند^۲ (پلی آگلوتینابل).

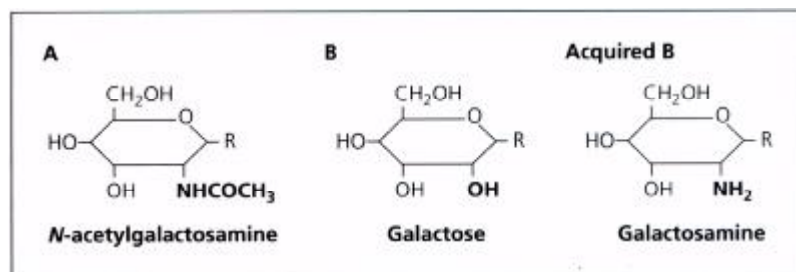
۲-۱-۱۴-۲ علت B اکتسابی

علی رغم اظهارات قبلی مبنی بر اینکه B اکتسابی ناشی از جذب گلیکولیپیدهای باکتریایی شبیه B می‌باشد [۵۱۲ و ۵۱۳]، مارش و همکاران [۵۱۴ و ۵۱۵] پی بردند که B اکتسابی نتیجه یک تأثیر آنزیمی است. به منظور شبیه سازی B اکتسابی در آزمایشگاه، آنها از صاف شده‌های باکتریال استفاده کردند [۵۱۵]. سرم تعداد محدودی از افراد دارای B اکتسابی قادر به تبدیل گلبول‌های گروه A در محیط آزمایشگاه به گروه B اکتسابی بود [۴۹۲ و ۵۱۶ و ۵۱۷]. گربال و همکاران^۳ [۵۰۰] این فرضیه را ابراز نمودند که دی استیلازهای باکتریال N-استیل گالاکتوزآمین، قند غالب ایمنی A، را به گالاکتوزآمین تبدیل می‌نمایند. این گالاکتوزآمین به واسطه شباهت زیاد با گالاکتوز، قند غالب ایمنی B، با آنتی-B وارد واکنش می‌شود (شکل ۲-۱۰).

1- Herron *et al.*

2 - Polyagglutinable

3- Gerbal *et al.*



شکل ۱۰-۲. قندهای غالب ایمنی انتهایی ویژه A، B و B اکتسابی، که شباهت بین گالاکتوز و گالاکتوزآمین (N-استیل گالاکتوزآمین دی استیل) را نشان می‌دهند، R= باقیمانده مولکول.

گربال و همکاران [۴۹۵] معتقدند که B اکتسابی شایع نیست زیرا تمامی افراد A₂ و ۹۵٪ افراد A₁ در سرم خود دارای آنتی‌بادی ضد B اکتسابی هستند و نیز بدین دلیل که اکثر باکتری‌ها دی استیلازهای اختصاصی را تولید نمی‌کنند. امروزه شواهد تأیید کننده فراوانی مبنی براینکه شایع ترین علت B اکتسابی دی استیلاسیون N- استیل گالاکتوزآمین است، وجود دارند [۴۹۵، ۴۹۳، ۵۰۸، ۵۱۸].

۲-۱-۳- شواهدی که حاکی از دی استیلاسیون A به عنوان علت B اکتسابی می‌باشند

- ۱- فقط گلبول‌های گروه A آنتی‌ژن B را کسب می‌کنند.
- ۲- قدرت بیان آنتی‌ژن A بر سطح گلبول‌های B اکتسابی ارتباط معکوس با قدرت آنتی‌ژن B اکتسابی دارد [۴۹۵] (شکل ۱۱-۲). گربال و رپارز^۱ [۴۹۳] با استفاده از عصاره لکتین دولیکوس بیفلوروس^۲ دو جمعیت از گلبول‌های قرمز را از بیماری با آنتی‌ژن B اکتسابی جدا نمودند: گلبول‌های A₁ که توسط لکتین آگلوتینه می‌شدند صرفاً دارای B اکتسابی ضعیف بودند، حال آنکه گلبول‌های A₂ باقیمانده، آنتی‌ژن B اکتسابی را قویا بیان نموده بودند.
- ۳- دی استیلازها از باکتری‌های اشیریشیا کولی^۳ K12 و کلستریدیوم ترتیوم^۴ A جدا شده اند [۵۱۹ و ۵۲۰]. از طریق مجاور نمودن گلبول‌های A₁ با صاف شده کشت کلستریدیوم ترتیوم و یا یکی از شش سوش اشیریشیا کولی، امکان تولید گلبول‌های B اکتسابی در آزمایشگاه وجود داشت [۴۹۳ و ۴۹۵]، اما گلبول‌های O قابل تبدیل به گلبول‌های گروه B نبودند.

1- Gerbal and Roparz

2- Dolichos Biflorus

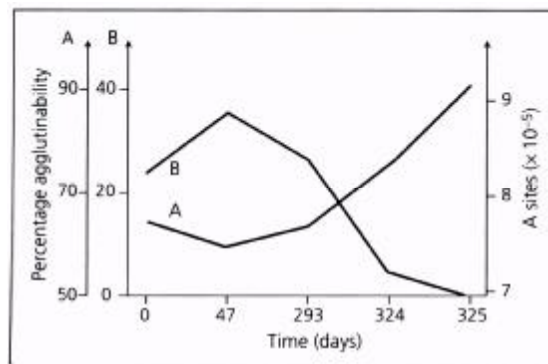
3- Escherichia Coli K12

4- Chlostridium Tertium

۴- استیلاسیون شیمیایی گلبول‌های B اکتسابی با استیک آنهیدرید آنتی‌ژن B را از بین برد و فعالیت آنتی‌ژنیک A را به وضعیت طبیعی آن روی گلبول‌های A₁ برگشت داد [۵۱۸].

۵- تری ساکارید A [CalNAcα1→3(Fuca1→2)Gal] که بصورت شیمیایی دی استیله شده است، واکنش آنتی-B با گلبول‌های B اکتسابی (اما نه با گلبول‌های B طبیعی) را مهار می‌نماید [۵۲۱]. تری ساکارید B [Galα1→3(Fuca1→2)Gal] که در آن گروه هیدروکسیل کربن شماره ۲ ریشه آلفا - گالاکتوز توسط یک گروه آمینی جایگزینی شده است نیز همان تأثیر را نشان داد [۵۲۲] (شکل ۲-۱۰). آگلوتیناسیون گلبول‌های B اکتسابی با آنتی-B، در صورت اضافه شدن گالاکتوزآمین دچار فروپاشی می‌گردد [۵۲۳].

۶- سوسپانسیون گلبول‌های قرمز B اکتسابی در یک محیط اسیدی (pH=۶)، شدت واکنش با آنتی-B را کاهش می‌دهد [۴۹۵]، احتمالاً بدین دلیل که گروه NH₂ گالاکتوزآمین به NH₃⁺ تبدیل می‌گردد.



شکل ۲-۱۱. منحنی ارتباط معکوس بین بروز B اکتسابی و A را که براساس درصد آگلوتیناسیون و تعداد جایگاههای A مورد سنجش قرار گرفته است، در یک بیمار مورد مطالعه ظرف چندین ماه نشان می‌دهد.

۲-۱۴-۱-۴ پلی آگلوتیناسیون

گلبول‌های B اکتسابی معمولاً توسط اکثر سرم‌ها آگلوتینه می‌شوند^۱ [۴۹۳ و ۵۲۴]، اکثر سرم‌های AB، دست کم بصورت ضعیف، این گلبول‌ها را آگلوتینه می‌نمایند. این پلی آگلوتیناسیون به موازات پدیده B اکتسابی تکامل می‌یابد، اما در طول بهبودی بیمار، قبل از حذف B، ناپدید می‌گردد. در pH=۴/۵ یا پایین تر ظاهر نمی‌گردد و متعاقب استیلاسیون شیمیایی گلبول‌ها از بین می‌رود [۴۹۳، ۵۰۲ و ۵۱۸]. آگلوتیناسیون گلبول‌های B اکتسابی در سرم AB، توسط تری ساکارید A دی استیله و نیز توسط گالاکتوزآمین مهار می‌گردد [۵۰۲ و ۵۲۱ و ۵۲۲]. این احتمال وجود دارد که در اکثر سرم‌های انسانی

1- Polyagglutinable

آنتی‌بادی‌های اختصاصی آنتی‌ژن A دی استیله وجود دارند که مسئول ایجاد پدیده B اکتسابی می‌باشند. چون گلبول‌های پلی آگلوتینابل را می‌توان از طریق دی استیلاسیون گلبول‌های O، و همین‌طور گلبول‌های A، با استفاده از صاف شده کشت کلستریدیوم ترتیوم تولید نمود [۴۹۳]، ممکن است یک آنتی‌ژن متفاوت با B اکتسابی شرکت داشته باشد، که احتمال می‌رود گلوکز آمین تولید شده به واسطه دی استیلاسیون N – استیل گلوکز آمین باشد [۵۲۵].

B اکتسابی نمونه ایی منحصر به فرد از پلی آگلوتیناسیون می‌باشد. گلبول‌های B اکتسابی با سرم‌های AB که آنتی‌بادی‌های ضد : T, Tk, Tn, Cad, HEMPAS موجود در آنها از طریق جذب جدا شده اند، واکنش می‌دهند [۵۱۸ و ۵۲۶] (به فصل ۳۱ مراجعه شود). در هر حال سایر آنتی‌ژن‌های مخفی^۱، که مسئول دیگر اشکال پلی آگلوتیناسیون هستند نیز غالباً بر سطح گلبول‌های B اکتسابی ظاهر می‌گردند، به خصوص Tk، اما T و Tn نیز بروز می‌یابند [۴۹۲، ۵۰۲، ۵۱۶، ۵۲۷ و ۵۲۸].

۲-۱۴-۲ تغییرات در بیماران لوسمیک

۲-۱۴-۲-۱ سرولوژی

در سال ۱۹۵۷ وان لقم و همکاران^۲ [۵۲۹] اظهار داشتند که تضعیف بروز آنتی‌ژن A بر سطح گلبول‌های قرمز یک بیمار مبتلا به لوسمی میلوبلاستیک، که قبلاً یک آنتی‌ژن A طبیعی داشته است، ممکن است ناشی از بیماری وی باشد. اندکی بعد از این، گزارش مورد مشابهی ارائه گردید : یک شخص گروه A که گلبول‌هایش در طول سیر لوسمی حاد، دیگر توسط آنتی – A آگلوتینه نمی‌شدند، هر چند که آنها جذب می‌کردند [۵۳۰ و ۵۳۱]. امروزه ارتباط تجلی ضعیف آنتی‌ژن A با لوسمی حاد کاملاً تأیید و مستند شده است (بازنگری شده در منابع [۵۳۴، ۲۲۴ – ۵۳۲]). در بعضی موارد، تمامی گلبول‌های قرمز، کاهش بروز آنتی‌ژن A را نشان می‌دهند، حال آنکه در سایر موارد دو جمعیت گلبولی به وضوح قابل مشاهده می‌باشند [۵۳۱ و ۵۳۷ – ۵۳۵]. گلد و همکاران^۳ [۵۳۱] دو جمعیت گلبول قرمز را از بیماری با لوسمی حاد مونوبلاستیک^۴ جدا نمودند. در ابتدا فقط ۲٪ آنها با آنتی – A آگلوتینه شدند، اما در فاز برگشت^۵ نسبت گلبول‌های آگلوتینه شونده به ۵۶٪ افزایش پیدا کرد و اندکی قبل از مرگ مجدداً افت نمود. در بیماری که توسط رنتون و همکاران^۶ [۵۳۸] مورد مطالعه قرار گرفته و اطلاعات مربوط به او ثبت شده بود، ۲۶٪ گلبول‌های قرمز گروه AB، ۱۲٪ A، ۴۲٪ B و ۲۰٪ O بودند. چنین احتمال می‌رفت که بیمار از لحاظ ژنتیکی AB بود، ۶۲٪ گلبول‌هایش آنتی‌ژن A و ۳۲٪ آنتی‌ژن B خود را از دست داده

1 - Cryptantigen

2 - van Loghem et al.

3- Gold et al.

4- Acute Monoblastic Leukemia

5 - Remission

6- Renton et al.

بودند. علاوه بر این، تغییرات وابسته به لوکمی به آنتی‌ژن‌های B و H نیز نسبت داده شده اند [۵۳۹ - ۵۳۷].

بین ۱۷ و ۳۷ درصد بیماران مبتلا به لوسمی، در مقایسه با افراد سالم کنترل به نحو قابل توجهی کاهش بیان آنتی‌ژن‌های A، B یا H را نشان می‌دهند [۵۴۲-۵۳۹]. با استفاده از فلوسایتومتری، ۵۵٪ بیماران A، B یا AB مبتلا به بدخیمی‌های میلوئیدی، در مقایسه با گروه‌های کنترل سالم با همان ژنوتیپ ABO، کاهش بروز A یا B را نشان می‌دادند، ۲۱٪ بیماران گروه O کاهش H را نشان می‌دادند [۵۳۴]. تقریباً در تمامی موارد، تغییرات حاکی از یک اتلاف یا کاهش قدرت آنتی‌ژن، نه بروز یک آنتی‌ژن جدید، می‌باشند، گرچه گزارشی از یک بیمار مبتلا به سندرم میلودیسپلاستیک با گروه O (O^{IV}/O^{IV}) که یک آنتی‌ژن A را کسب نموده است وجود دارد [۲۹۰]. گرچه تغییرات آنتی‌ژن‌های ABH معمولاً در ارتباط با لوسمی هستند، آنها غالباً قبل از تشخیص بدخیمی ظاهر می‌نمایند و لذا حاکی از حالات پره لوسمی نیز هستند [۵۳۲]. از دست رفتن یکی از آنتی‌ژن‌های ABH در بیماری با یک اختلال هماتولوژیک، پیش آگهی لوسمی حاد می‌باشد [۵۲۴].

۲-۱۴-۲ ترانسفرازها

تنزل آنتی‌ژن‌های A یا B در لوسمی حاد میلوئیدی^۱ و در حالات پره لوسمیک^۲، عموماً در ارتباط با یک کاهش شدید در فعالیت ترانسفرازهای A یا B می‌باشد، اما در فعالیت ترانسفراز H کاهشی مشاهده نمی‌شود و یا بسیار اندک است [۵۴۵، ۵۴۷، ۵۴۸]. در بیمارانی که جمعیت‌های قابل تفکیک گلبول‌های قرمز داشتند، فعالیت ترانسفراز A یا B در غشاء گلبول‌هایی که آنتی‌ژن‌های A یا B خود را از دست داده بودند، بسیار افزایش داشت اما در گلبول‌هایی که آنها را از دست نداده بودند، طبیعی بود [۵۴۷]. بین جمعیت‌های مختلف گلبولی، اختلاف معنی داری در فعالیت ترانسفراز H مشاهده نشد. بعلاوه بروز آنتی‌ژن A یا B در سلول‌هایی که این آنتی‌ژن‌ها را از دست داده بودند، در آزمایشگاه امکان پذیر بود. در طول برگشت بالینی، آنتی‌ژن A و همینطور فعالیت ترانسفراز A غشائی یکی از بیماران به حالت طبیعی بازگشت نمود [۵۴۷]. بدین ترتیب عدم بروز آنتی‌ژن A یا B در لوسمی حاد، ناشی از یک نقص یا نقصان در محصول ژن‌های A یا B است، نه در سوبستراهای آنزیمی.

فعالیت ترانسفراز H در بیماران مبتلا به لوسمی حاد میلوئیدی معمولاً کاهش [۵۴۷، ۵۵۱، ۵۴۹] اما در مبتلایان به لوسمی مزمن گرانولوسیتیک^۳ افزایش می‌یابد [۵۵۱ و ۵۵۲]، به نظر می‌رسد که این تغییرات، شمارش‌های غیر طبیعی پلاکت در این بیماران را منعکس می‌سازد [۵۵۱]. علاوه بر این فعالیت

1- Acute Myeloblastic Leukemia
2- preLeukemic states
3- Chronic Granulocytic Leukemia

ترانسفرازهای سرمی A و B نیز در بیماران مبتلا به لوسمی حاد میلوئیدی اندکی کاهش می‌یابد [۵۴۹]. در یک بیمار مبتلا به اریترولوکمی، حدود ۵۰٪ گلبول‌های قرمز آنتی‌ژن A خود را از دست داده بودند و همین سلول‌ها فعالیت بسیار کم آدنیلات کیناز- 1 (AK_1)، آنزیمی که توسط یک ژن در مجاورت ژن ABO روی کروموزوم ۹ کد می‌گردد، را نشان می‌دادند [۵۵۳] (فصل ۳۲). احتمال می‌رفت که این حالت ناشی از یک ضایعه کروموزومی در بخشی از کروموزوم که حاوی هردولوکوس ABO و Ak_1 می‌باشد، بوده است. لوکوس آنکوژن $ABL1$ بین ABO و $AK1$ روی کروموزوم 9q34 قرار دارد [۵۵۴]. $ABL1$ در محل نقطه شکست کروموزوم فیلادلفیا می‌باشد، این کروموزوم یک جابجایی دو جانبه اختصاصی لوسمی است که کروموزوم ۹ پدری و ۲۲ مادری را در بر می‌گیرد [۵۵۵]. در چهار مورد تضييع آنتی‌ژن A یا B در جریان لوسمی حاد میلوئیدی، آلی که از دست رفته بود فقط منشأ مادری داشت [۵۵۶]. ارزش و اهمیت این وضعیت مشخص نمی‌باشد، اما نتایج حاکی از این است که $Imprinting$ دیگر لوکوس‌های روی کروموزوم 9q34 علاوه بر $ABL1$ را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. این احتمال وجود دارد که روند تنظیم در راستای کاهش بروز ژن‌های ABO^۲ در اختلالات هماتولوژیک، شامل اضافه شدن متیل به منطقه آغازگر ژن می‌باشد [۱۴۳].

۲-۱-۳ دیگر تغییرات اکتسابی در آنتی‌ژن‌های A، B و H

گاهی اوقات در افراد سالم مسن، تضييع آنتی‌ژن A در نسبتی از گلبول‌های قرمز اتفاق می‌افتد [۵۵۷ و ۵۵۸]. در یک زن مسن، دو جمعیت گلبول قرمز با استفاده از لکتین آنتی-A₁، دولیکوس بیفلوروس، جدا شدند [۵۵۷]. گلبول‌های A₁ که توسط لکتین آگلوتینه شدند، AK_12-1 بودند، حال آنکه گلبول‌های A ضعیف (A_x) ایزوآنزیم AK_12 را از دست داده بودند و در آنها فقط AK_11 قابل شناسایی بود. در یک کلون، به نظر می‌رسد که بخشی از کروموزوم ۹ بطور جزئی غیر فعال شده باشد. یک کودک مبتلا به عفونت سرخچه مادرزادی در طول چند ماه اول زندگی، آنتی‌ژن A خود را از دست داد [۵۵۹]. در بخش ۲-۷-۳ نیز یک بچه سالم توصیف شده است که در زمان تولد A_2 بود اما بعداً به A_x تغییر نمود [۳۲۰]. متعاقب پیوند کبد از یک دهنده گروه AB، نسبتی از گلبول‌های قرمز بچه گروه O (گیرنده پیوند) به گروه AB تبدیل شدند و همین اتفاق در مورد گلبول‌های قرمز O تزریق شده نیز اتفاق افتاد [۵۶۰]. علت این پدیده مشخص نیست اما می‌تواند ناشی از فعالیت ترانسفراز کبدی باشد. فعالیت A ضعیف روی گلبول‌های قرمز یک بیمار گروه A که پیوند مغز استخوان از دهنده گروه O دریافت نموده است، ممکن است ناشی از جذب ماده A از پلاسمای گیرنده باشد [۵۶۱].

1- Adenylate Kinase-1

2- Down regulation

۲-۱۴-۴ تخریب آنزیمی آنتی‌ژن‌های A، B و H در محیط آزمایشگاه

آنتی‌ژن‌های A یا B سطح گلبول‌های قرمز را می‌توان از طریق حذف قند غالب ایمنی با استفاده از یک آگروگلیکوزیداز اختصاصی، به آنتی‌ژن H تبدیل نمود: آلفا-N-استیل گالاکتوز آمینیداز (A-zyne) یا آلفا - گالاکتوزیداز (B-zyne). این آنزیم‌ها از منابع مختلف به ویژه باکتری‌ها تهیه می‌شوند [۵۶۲]. آنزیمی که در تولید گلبول‌های گروه O مصنوعی از گلبول‌های B، بیشترین موفقیت را حاصل نموده است، آلفا - گالاکتوزیداز تهیه شده از دانه‌های سبز قهوه می‌باشد [۵۶۲-۵۶۴]. بر سطح گلبول‌های گروه B که با این آنزیم اثر داده شده بودند، هیچ آنتی‌ژن B شناسایی نشد و آسیب غشائی ظاهری نیز به چشم نمی‌خورد. کار آزمایشی‌های بالینی فاز I و II به ترتیب روی داوطلبین سالم و بیماران، نشان داده است که گلبول‌های قرمز B مجاور شده با آنزیم طبیعی و یا نو ترکیب آلفا-گالاکتوزیداز، در صورتی که یکبار در حجم‌های چند واحدی و یا بیش از یکبار به افراد گروه A یا O تزریق شوند، بی‌خطر و کارآمد خواهند بود [۵۶۵ و ۵۶۶]. تعداد بسیار کمی از گیرندگان متعاقب تزریق، افزایشی را در عیار آنتی - B نشان دادند که حاکی از وجود آنتی‌ژن‌های B باقی مانده بود. بعلاوه، سرم ۴۰٪ افراد گروه O و ۲۰٪ افراد گروه A، بطور ضعیف گلبول‌های قرمز گروه B تغییر یافته توسط آنزیم را آگلوتینه نمود [۵۶۶].

تلاش‌های بعمل آمده در جهت یافتن یک آلفا - N - استیل گالاکتوز آمینیداز مناسب ثمربخش نبوده‌اند، احتمالاً بدین دلیل که آنتی‌ژن‌های A بر سطح گلبول‌های A₁ در موقعیت‌های داخلی، علاوه بر موقعیت‌های بیرونی، زنجیره‌های الیگوساکاریدی قرار گرفته و توسط آگروگلیکوزیدازها شکافته نمی‌شوند. A-zyne‌های جدا شده از کبد جوجه و یا از باکتری روده ای رومینوکوک ترک IX-70^۱، گلبول‌های A₂ را به گلبول‌های O تبدیل خواهند کرد، اما تأثیرشان روی گلبول‌های A₁ کمتر است [۵۶۲ و ۵۶۷]. یک آلفا - فوکوزیداز جدا شده از قارچ آسپرژیلوس نیگر^۲ نیز فعالیت H روی گلبول‌های O را حذف می‌نماید [۵۶۸].

۲-۱۵-۲ آنتی‌بادی‌ها و لکتین‌های ABH

۲-۱۵-۲-۱ آنتی - A و آنتی - B

آنتی - A و آنتی - B تقریباً همیشه در سرم افرادی که فاقد آنتی‌ژن مربوطه بر سطح گلبول‌های قرمز خود هستند وجود دارند (جدول ۲-۲). به استثنای نوزادان، مواردی که از این قاعده تبعیت نمی‌کنند فوق العاده نادر می‌باشند. دابسون و ایکین^۳ [۵۶۹] برآورد نمودند که از هر ۱۲۰۰۰ فرد بالغ فقط یک

1 - Ruminococcus torques IX-70

2- Aspergillus niger

3- Dobson and Ikin

نفر فاقد آنتی - A یا آنتی - B مورد انتظار می‌باشد. عدم وجود آگلوتینین‌ها ممکن است حاکی از یک گروه ضعیف A یا B، یک دو قلو ی کیمرا، دو اسپرمی، کاهش گاماگلوبولین‌های خون و یا کهولت باشد. چند مورد از فقدان آگلوتینین‌ها بدون هیچ علت مشخصی، ثبت شده اند [۵۷۰ و ۵۷۱].

تگت میر و اسپرینگر^۱ [۵۷۱] نشان دادند که در یک زن سالم گروه A فاقد آنتی - B، در صورت تزریق گلیکوپروتئین گروه B انسانی، هیچ نوع پاسخ ایمنی ایجاد نخواهد شد. وان لوقم و همکاران^۲ [۵۷۰] سه شخص سالم گروه A را توصیف نمودند که، علی رغم عدم وجود آنتی - B، طول عمر گلوبول‌های گروه B تزریق شده در بدن آنها مختل شده بود. آنتی‌بادی‌های شناسایی شده در سرم نوزادان معمولاً IgG بوده و دارای منشأ مادری می‌باشند [۵۷۲] اما گاهی اوقات ممکن است IgM باشند که توسط جنین تولید شده اند [۵۷۳]. به طور کلی، آگلوتینین‌های ABO ابتدائاً در حدود سه ماهگی ظاهر می‌شوند و عیار آنها به تدریج افزایش می‌یابد تا اینکه بین سنین پنج و ده سالگی به سطح بالغین می‌رسد [۵۷۳ و ۵۷۴]. عیارهای پایین آنتی - A و آنتی - B در افراد پیر که در مطالعات اولیه گزارش شده بود [۵۷۵ و ۵۷۶] مورد تأیید قرار نگرفته است [۵۷۴]. به نظر می‌رسد که سطوح آنتی‌بادی‌های A و B تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد و نقش ژنتیک در این میان فرعی است [۵۷۷ و ۵۷۸]. غالباً به آنتی - A و آنتی - B آنتی‌بادی‌های طبیعی اطلاق می‌شود، اما احتمال می‌رود که در بچه‌ها در نتیجهٔ مصون شدن با مواد A و B موجود در طبیعت ظاهر گردند. اسپرینگر و همکاران^۳ [۵۷۹ و ۵۸۰] دریافتند که جوجه‌ها، که بطور طبیعی ظرف چند ماه پس از خروج از تخم در مقابل گلوبول‌های قرمز B انسانی یک آنتی‌بادی تولید می‌کنند، در صورتی که در یک محیط عاری از میکروب قرار داده شوند قادر به انجام چنین عملی نخواهند بود. وقتی به کودکان انسانی باکتری‌های کشته شده اشیریشیا کولی O₈₆ خورانده شد، عیار آنتی - B آنها به شدت افزایش یافت [۵۸۱]. به واسطهٔ مصون سازی بیشتر، از طریق حاملگی و یا طرق مصنوعی مثل تزریق گلوبول‌های قرمز و دیگر فرآورده‌های ناسازگار، خصوصیات آنتی - A و آنتی - B دچار تغییراتی خواهند شد که مهم ترین آنها، که بصورت سرولوژیک نیز قابل تشخیص خواهند بود، عبارتند از: افزایش عیار و قدرت^۴ آگلوتینین، افزایش فعالیت همولیتیک و افزایش فعالیت در ۳۷ درجه سانتیگراد. چنین سرم‌های «ایمیونی» معمولاً به سختی توسط بزاق یا مواد A و B مهار می‌گردند. مولکول‌های آنتی - A و آنتی - B ممکن است IgM، IgG یا IgA باشند، بعضی از سرم‌ها ممکن است حاوی هر سه کلاس آنتی‌بادی باشند [۵۳۷ و ۵۸۲]. آنتی - A و آنتی - B افراد تحریک نشده، غالباً از کلاس IgM می‌باشند گرچه IgA و IgG نیز ممکن است وجود داشته باشند [۵۸۳ و

1- Tegtmeier and Springer

2- van Loghem *et al.*

3- Springer *et al.*

4- avidity

۵۸۴]. کنتراس و همکاران^۱ [۵۸۵] در جریان یک برنامه مصون سازی اهدا کنندگان با گلیکوپروتئین‌های A یا B انسانی با هدف تولید معرف‌های قوی تعیین گروه خون مقداری آنتی - A یا آنتی - B از کلاس IgG را در تمامی اهدا کنندگان قبل از مصون سازی، شناسایی نمودند. این اهدا کنندگان، که به خاطر عیارهای بالای آنتی‌بادی انتخاب شده بودند، همگی افزایشی را در IgG بعد از تحریک سازی نشان می‌دادند و آنتی - A و آنتی - B از کلاس IgA که در هیچ کدام از سرم‌ها قبل از مصون سازی قابل شناسایی نبودند، بعد از آن در تمامی سرم‌ها وجود داشتند. جدول ۲-۲۳ پاره ای از خصوصیات آنتی‌بادی‌های ABO (IgA , IgG , IgM) را نشان می‌دهد.

جدول ۲-۲۳. بعضی از خصوصیات آنتی‌بادی‌های A و B از کلاس‌های IgA , IgG , IgM
(عمدتاً از منبع شماره ۵۷۳ گردآوری شده اند).

خصوصیت	IgM	IgG	IgA
در سرم وجود دارد :			
اهدا کنندگان غیر مصون	بلی	گاهی اوقات	بندرت
اهدا کنندگان مصون شده	بلی	معمولاً	معمولاً
گلوبول‌های قرمز را آگلوتینه می‌کند	بلی	بلی	بلی
آگلوتیناسیون در محیط سرمی تقویت می‌گردد	خیر	بلی	-
همولیتیک	بلی	بلی	خیر
به کمپلمان پیوند می‌یابد	بلی	بلی	خیر
عیار در تست آنتی گلوبولین افزایش می‌یابد	خیر	بلی	بلی
توسط بزاق فرد سکرتور یا گلیکوپروتئین	بلی به را	به طور	بلی
تخلیص شده مهار می‌گردد	حتی	ضعیف	ضعیف تر از IgM
دمای اپتیمم	۴ درجه	۴ تا ۳۷ درجه	-
فعالیت توسط 2-ME یا DTT از بین می‌رود	بلی	خیر	به طور جزئی
فعالیت با افزایش دما تا ۵۶ درجه سانتیگراد از بین می‌رود	بلی	خیر	خیر
در آغوز وجود دارد	گاهی اوقات	خیر	بلی

آنتی - A و یا آنتی - B از نوع IgG1 و IgG2 در سرم اکثر مادران بچه‌های A یا B وجود داشت، علاوه بر این تقریباً ۴۰٪ این سرم‌ها حاوی آنتی - A یا آنتی - B از زیر کلاس IgG3 و یا IgG4 بودند [۵۸۶]. IgG2 معمولاً دارای عیاری بالاتر از سایر زیر کلاس‌ها بود. از طرفی دیگر بررسی کمی سرم‌های ۲۳۵ اهدا کننده سالم نیز حاکی از ارجحیت آنتی - A / آنتی - B از زیر کلاس‌های IgG2 و IgG1 بود، در حالی که IgG3 و IgG4 صرفاً سهم اندکی را به خود اختصاص میدادند [۵۸۲]. آنتی‌بادی‌های ABO ممکن است در مایعات مختلف بدن مثل: بزاق - شیر - ترشحات رحمی - اشک و محتویات کیست‌ها یافت شوند [۲۵۴، ۵۹۲-۵۸۷]. آنها اصولاً IgA هستند [۵۹۰] و معمولاً بیشترین فعالیت را در مایعات و ترشحات افراد گروه O دارند. آنتی - A₁ در بخش ۲-۴ توضیح داده شده است. یک آنتی‌بادی جالب که در سال ۱۹۵۳ توسط ایکین و همکاران^۱ [۵۹۳] توصیف گردید همچنان منحصر بفرد مانده است. این آنتی‌بادی در یک محیط نمکی فقط گلبول‌های گروه ARhD⁺ را آگلوتینه می‌نمود و واکنش با گلبول‌های A₁D⁺ قوی تری از گلبول‌های A₂D⁺ بود. گلبول‌های OD⁺، AD⁻ آگلوتینه نشدند. وقتی قدرت واکنش آنتی‌بادی با افزودن آلبومین تقویت گردید، مثل آنتی - D عمل نمود. آنتی‌بادی به طور کامل توسط گلبول‌های OD⁺ قابل جذب بود اما با گلبول‌های A₁D⁻ جذب نمی‌شد. احتمال می‌رفت که این آنتی‌بادی شبیه آنتی - D، تغییرات آرایش ساختاری^۲ کمپلکس Rh توأم با وجود یا عدم وجود یک شاخص A روی گلیکوپروتئین وابسته به Rh را شناسایی می‌نمود (به بخش ۵-۷ مراجعه شود).

۲-۱۵-۲ آنتی - AB در سرم گروه O

سرم افراد گروه O صرفاً حاوی دو آنتی‌بادی قابل تفکیک، آنتی - A و آنتی - B نمی‌باشد، بلکه یک آنتی‌بادی با واکنش متقاطع به نام آنتی - AB نیز وجود دارد. اگر آنتی‌بادی متصل به سطح گلبول‌های گروه A که در سرم O انکوبه شده اند جداسازی شود، گلبول‌های A و B را آگلوتینه خواهد نمود [۲۱۷]. همین نتیجه در صورتی که گلبول‌های B استفاده شوند نیز مشاهده می‌گردد. در هر حال در صورتی که آنتی - A+B مصنوعی با مخلوط کردن سرم‌های گروه A و گروه B تهیه شود، هرگز چنین اثری مشاهده نخواهد شد [۵۹۴ و ۵۹۵]. واکنش متقاطع سرم‌های گروه O غالباً نامتقارن است، بعضی از این سرم‌ها که از گلبول‌های A جدا (elute) شده اند با گلبول‌های B واکنش می‌دهند، با این حال وقتی که از سطح گلبول‌های B جدا می‌شوند با گلبول‌های A واکنش نخواهند داد [۵۹۵]. در افراد گروه O که با گلبول‌های A و یا ماده A ایمن شده اند، آنتی‌بادی واکنش متقاطع دهنده معمولاً گلبول‌های A را ترجیح می‌دهد [۵۸۵ و ۵۹۶]، بدین معنی که ثابت پیوندی^۳ آن برای گلبول‌های A

1- Ikin et al.

2- conformational changes

3- binding constant

بیشتر از گلبول‌های B می‌باشد [۵۹۷]. عکس این وضعیت، در افراد گروه O که با آنتی‌ژن B مصون شده اند صادق است. گرچه به منظور توضیح واکنش سرم‌های گروه O تئوری‌های متعددی ارائه شده است، اما محتمل‌ترین آنها این است که افراد گروه O نوعی آنتی‌بادی می‌سازند که یک ساختار مشترک بین شاخص‌های A و B را شناسایی مینماید [۱۱، ۱۰۰ و ۵۹۸].

بررسی مونوکلونال انسانی با روش ترقیق محدود کننده^۱ تأیید نموده است که آنتی‌بادی‌هایی که توسط اهدا کنندگان گروه O تولید می‌شوند به هر دو تری ساکارید A و B پیوند می‌یابند [۶۰۱]. آنتی-AB اساساً IgG است اما ممکن است IgM یا IgA نیز باشد [۵۷۳].

۲-۱۵-۳ اهمیت بالینی آنتی‌بادی‌های ABO

تزریق گلبول‌های قرمز ناسازگار ABO تقریباً همیشه منجر به بروز علائم واکنش همولیتیک انتقال خون می‌گردد و ممکن است باعث ایجاد انعقاد منتشره داخل عروق^۲، نارسائی کلیوی و مرگ شود. گاهی اوقات متعاقب تزریق گلبول‌های گروه O به گیرندگان دیگر گروه‌های ABO نشانه‌های تخریب گلبول قرمز ظاهر می‌گردد که نتیجه تخریب گلبول‌های قرمز بیمار توسط آنتی‌بادی‌های تزریق شده ABO می‌باشند [به منظور فراگیری جزئیات واکنشی‌های انتقال خون به منبع شماره ۵۷۳ مراجعه شود]. آنتی-A₁ به ندرت دارای ارزش بالینی است و اکثر نمونه‌های آن در دمای بالاتر از ۲۵ درجه سانتیگراد فعال نمی‌باشند. در هر حال گزارشات اندکی از واکنش‌های همولیتیک انتقال خون در اثر آنتی-A₁ در دست می‌باشند [۶۰۵-۶۰۲].

بیماری همولیتیک نوزاد (HDN) و جنین ناشی از ABO معمولاً در کودکان A₁B یا B از مادران گروه O اتفاق می‌افتد، با این حال غالباً آنتی-A یا آنتی-B از نوع IgG بیشتر از آنتی-AB مسئول ایجاد آن و بروز علائم شدیدتر می‌باشد [۶۰۶ و ۶۰۷]. در موارد بسیار نادری، کودکان گروه B از مادران A₂ نیز ممکن است گرفتار شوند. حدود ۱۵٪ حاملگی‌ها در زنان اروپائی الاصل یک مادر گروه O با یک جنین گروه A یا B را شامل می‌شوند، با این حال ABO HDN بندرت نیازمند مداخله بالینی است گرچه علائم جزئی، که شامل درجه خفیفی از تخریب گلبول‌های قرمز، ممکن است نسبتاً شایع باشد. هیدروپس جنینی ناشی از ABO HDN فوق‌العاده نادر است، اما گاهی اوقات به منظور جلوگیری از بروز کرنیکتروس^۳، تعویض خون تجویز می‌گردد. ABO HDN شدید نسبتاً نادر است که علی‌رغم وجود آنتی‌بادی‌های ABO از کلاس IgG در سرم اکثر زنان گروه O، به تراکم نسبتاً کم آنتی‌ژن‌های A و B بر سطح گلبول قرمزهای جنین و حضور مواد محلول A و B در پلاسما^۴ جنین که آنتی‌بادی‌های

1- limiting dilution

2- Disseminated Intravascular Coagulation

3 - Kernicterus

مادری را خشتی می‌نمایند، نسبت داده می‌شود. نقصان کمپلمان در پلاسمای جنین نیز ممکن است تا حدودی در نادر بودن ABO HDN شدید ایفای نقش نماید زیرا آنتی - A (IgG) که گلبول‌های قرمز را در حضور کمپلمان لیز می‌نماید، در صورتی که از سرم نوزاد به عنوان منشأ کمپلمان استفاده شود گلبول‌های قرمز بند ناف را لیز نخواهند کرد [۶۰۸]. آنتی - A و آنتی - B باعث رد پیوندهای ناسازگار کلیه، کبد و قلب خواهند شد، پیوند کلیه و کبد افراد A₂ به بیماران گروه‌های B و O در صورتی که این بیماران به خاطر عیار پائین آنتی - A انتخاب شده باشند رضایت بخش خواهد بود [۶۰۹ و ۶۱۰] و پیوند قلب‌های ناسازگار در نوزادان موفقیت آمیز بوده است [۶۱۱]. در هر حال آنتی - A و آنتی - B را معمولاً می‌توان در مورد پیوندهای بافتی شامل قرنیه، پوست و استخوان از نظر دور داشت [۶۱۲]. اگر چه عموماً ABO در انتخاب یک اهدا کننده مغز استخون مورد توجه قرار نمی‌گیرد، اما ناسازگاری اصلی ABO ممکن است بقاء پیوند را کاهش دهد [۶۱۳].

از نقطه نظر تزریق گلبول قرمز، معمولاً گروه O به عنوان «دهنده عمومی» تلقی می‌گردد و تزریق خون O به گیرنده A یا B یک تزریق سازگار می‌باشد. شواهد روز افزون حاکی از این است که تزریق مقادیر نسبتاً زیاد پلاسمای ناسازگار ABO که معمولاً همواره در تزریق پلاکت‌ها اتفاق می‌افتد، قادر است از طریق مکانیسمی که غیر مرتبط با همولیز است منجر به اختلال در عملکرد ایمنی سلولی، عفونت و نارسائی اعضا و اندام‌های متعدد گردد [۶۱۴]. این پدیده ممکن است ناشی از آسیب بافتی باشد که به واسطه وجود آنتی‌بادی‌های ABO در پلاسمای تزریق شده یا حضور کمپلکس‌های ایمنی موجود در گردش خون که متشکل از مواد محلول ABO در پلاسمای تزریق شده و آنتی‌بادی‌های گیرنده می‌باشند، ایجاد شده باشد. هیل و بلومبرگ^۱ [۶۱۴] پیشنهاد می‌کنند که: «فقط فرآورده‌های ABO مشابه یا آنهایی که فاقد آنتی‌ژن و آنتی‌بادی ناسازگار هستند به بیماران سرطانی تزریق گردند، مگر در مواردی که ناچار باشیم». بعضی از دیگر اثرات ناسازگاری فرعی ABO دربخش ۲-۱۵-۵ توضیح داده می‌شوند.

۲-۱۵-۴ اتو آنتی‌بادی‌های ABO

اتو آنتی‌بادی‌های ABO ظاهراً نادر می‌باشند. در یک مرکز خون انگلیسی، از میان ۶۶۸ بیمار دارای اتو آنتی‌بادی که در طول ۳۲ سال مورد مطالعه قرار گرفته بودند، فقط شش مورد دارای اتو آنتی‌بادی با ویژگی ABO بودند [۶۱۵].

بعضی از اتو آنتی‌بادی‌های A یا B با گلبول‌های بند ناف گروه A یا B واکنش نمی‌دهند و لذا ویژگی واقعی آنها آنتی - AI یا آنتی - BI می‌باشد (بخش ۲۵-۷-۵). چندین نمونه اتوآنتی - A و اتو آنتی - B ایجاد کم خونی همولیتیک اتوایمیون نموده اند [۶۱۵] که یک مورد منتهی به همولیز کشنده و

1 - Heal and Blumberg

نارسایی کلیوی گردید [۶۱۶]، اتو آنتی - A₁ نیز گزارش شده است اما ظاهراً با کم خونی همولیتیک همراه نبوده است [۶۱۵]. اتو آنتی‌بادی‌های A و B با میل پیوندی کم به ترتیب در سرم افراد گروه B و A در جزء تخلیص شده IgG و IgM وجود دارند [۶۱۷]. این اتو آنتی‌بادی‌ها در تمام اجزای^۱ سرم قابل شناسایی نمی‌باشند که علت این، بر هم کنش‌های مکمل بین مناطق متغیر (V) آنتی‌بادی‌ها می‌باشد. این مسئله حاکی از این است که بروز تحمل علیه آنتی‌ژن‌های ABO بستگی به کنترل محیطی دارد نه به حذف کلونال یا آنرژي در سطح سلول B یا T [۶۱۷].

۲-۱۵-۵ آنتی‌بادی‌های پس از پیوند با منشأ بافت پیوند شده

در سال ۱۹۷۱، بک و همکاران^۲ [۶۱۸] چنین تصور نمودند که آنتی - A موجود در سرم یک زن گروه A متعاقب دریافت پیوند ریه از یک اهدا کننده گروه O ممکن است توسط بافت لنفورتیکولار که توأم با شش پیوند یافته است تولید شده باشد. از آن زمان به بعد گزارشات متعددی از اتو آنتی‌بادی‌های A₁ , A یا B به دنبال پیوند کلیه، قلب، کبد، شش، پانکراس یا طحال ارائه شده اند [بازنگری در منبع شماره ۶۱۹]. این آنتی‌بادی‌های ABO بطور بارز IgG هستند، ۷-۱۰ روز بعد از پیوند ظاهر می‌گردند و حدود یک ماه دوام می‌یابند. آنها غالباً مسئول همولیز بوده منجر به نارسایی کلیوی و در یک مورد، مرگ شده اند [۶۱۹ و ۶۲۰]. آلوتایپ IgG آنتی - A که از سطح گلبول‌های قرمز یک زن گروه A₁ ۱۴۰ روز پس از دریافت یک کلیه گروه O، جدا (elute) شده بود، حاکی از این بود که آنتی‌بادی از اهدا کننده منشأ گرفته است و غیر ممکن است که توسط بیمار تولید شده باشد [۶۲۱].

همولیز ناشی از آنتی - A یا آنتی - B که توسط لنفوسیت‌های منتقل شده با پیوند تولید می‌گردد نیز ممکن است یکی از عوارض ناسازگاری فرعی ABO در پیوند مغز استخوان یا سلول‌های پیشساز^۳ خون محیطی باشد [۶۲۲-۶۲۵]. این مسئله در بیمارانی که با هدف پروفیلاکسی در مقابل GVHD با سایکلواسپورین درمان می‌شوند شایع تر از آنانی است که به این منظور متوترکسات دریافت می‌دارند [۶۲۶]. این همولیز ممکن است شدید و حتی کشنده باشد [۶۲۵].

۲-۱۵-۶ آنتی‌بادی‌های مونوکلونال

سه سال بعد از اینکه میلشتین و کهلر^۴ [۶۲۷] روش خود را به منظور تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال از هیبریدومای سلول‌های میلومایی موش و لنفوسیت‌های موش‌های مصون شده توصیف نمودند،

1- fraction

2- Beck et al.

3- progenitor cells

4- Milstein and Kohler

بارنستابل و همکاران^۱ [۶۲۸] اولین آنتی‌بادی مونوکلونال گروه خونی، **آنتی-A** را گزارش نمودند، این آنتی‌بادی به واسطهٔ مصون سازی یک موش با نمونه‌های لنفوسیتی تهیه شده از لوزه انسان ایجاد شده بود. آنها اظهار داشتند که این آنتی-A ممکن است در تعیین گروه خون کاربرد داشته باشد، اما بعدها ثابت شد که فاقد قدرت و کارایی کافی در مورد گلبول‌های A₂ و A₂B می‌باشد [۶۲۹]. بزودی موارد بیشمار دیگری از آنتی-A مونوکلونال متعاقباً ظاهر گردیدند: بعضی‌ها با مصون سازی موش‌ها با گلبول قرمزهای گروه A یا با مادهٔ تخلیص شده A تولید شدند [۶۳۳-۶۳۰] و سایر موارد بصورت تصادفی با مصون سازی با استفاده از رده‌های سلولی سرطانی، سلول‌های دیگر و یا فاکتور رشد اپیدرمال ایجاد گردیدند [۶۲۹، ۶۳۷-۶۳۴]. مواردی از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال که بصورت آنتی-A₁ عمل می‌نمایند نیز گزارش شده است [۶۳، ۶۳۲ و ۶۳۵].

آنتی‌بادی‌های مونوکلونال A و A₁ انسانی، از طریق دگرگون سازی^۲ لنفوسیت‌های تهیه شده از اهدا کنندگان بسیار مصون شده^۳ پلاسما فرزیس و یا از بافت طحالی پس از تحریک سازی با گلبول‌های قرمز گروه A در آزمایشگاه، تولید شده اند (لازم به ذکر است که دگرگون سازی لنفوسیت‌ها با ویروس ابشتین بار^۴، EBV، صورت پذیرفت). آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه A نوع ۲ و A دی فوکوزیله با استفاده از یک هتروهمیبریدومای متشکل از لنفوسیت‌های انسانی تغییر یافته با EBV و سلول‌های میلومائی موش تولید شدند [۶۴۰].

آنتی‌بادی‌های مونوکلونال به منظور مطالعه انواع متعدد زنجیره‌های کربوهیدراتی که فعالیت A را بروز می‌دهند مؤثر و سودمند نبوده اند. آنتی‌بادی‌های تولید شده بر علیه انواع ۱، ۲، ۳ و ۴ A [۶۴۱، ۶۳۵، ۶۳۴، ۶۳، ۶۲، ۶۱، ۶۴۰] و همینطور آنتی‌بادی‌هایی که تمایل به ساختار A دی فوکوزیله (چه نوع ۱ [ALe^b] و چه نوع ۲ [ALe^v]) [۶۴۲-۶۴۵] دارند همگی شناسایی شده اند. به منظور بازنگری به منابع [۶۴۶ و ۳۱۲، ۳۸، ۲۱، ۱۸، ۱۴] مراجعه گردد. بعضی از آنتی-Aهای مونوکلونال ترجیحاً به تری ساکارید انتهایی A پیوند می‌یابند، حال آنکه سایر انواع آن، اپی‌تی را که در پیکرهٔ الیگوساکاریدی قرار دارد شناسایی می‌نمایند. انواع اولی آنتی-A در آگلوتینه کردن گلبول‌های قرمز A₂B با بیان ضعیف A، مؤثرتر از انواع دومی هستند و به منظور استفاده بعنوان معرف مناسب ترمی‌باشند [۶۴۷ و ۶۴۸].

آنتی-B مونوکلونال متعاقب مصون سازی موش‌ها با گلبول‌های B یا AB [۶۳۲ و ۵۰۳]، ماده B تخلیص شده [۶۳۲ و ۵۰۴، ۳۸۴] یا تری ساکارید B ساخته شده به روش شیمیایی [۶۴۹] تولید شده است. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال متعددی که هم با گلبول‌های A و هم B واکنش می‌دهند (آنتی-AB)، به دنبال مصون سازی موش‌ها با ماده A، گلبول‌های قرمز گروه A یا گروه AB تولید شده اند

1- Barnstable *et al.*

2- transformation

3- hyperimmunized

4- Epstein Bar Virus

[۶۵۰، ۶۳۳، ۶۳۲، ۳۱۰]. بعضی از این آنتی‌بادی‌ها با گلبول‌های A قوی تر از گلبول‌های B واکنش می‌دهند [۳۱۰ و ۶۵۰].

با استفاده از پانلی از گلبول‌های گروه B، یک فاژ Fab از کتابخانه فاژ انسانی IgG1 مشتق شده از سلول‌های طحالی یک اهدا کننده گروه O، جدا گردید. این «آنتی‌بادی» گلبول‌های قرمز B (اما نه A یا O) را آگلوتینه نمود ولی با استفاده از تکنیک‌های مهارسازی، برهم کنشی را با ایتپ‌های A و B نشان می‌داد [۶۵۱]. جزئیات آنتی‌بادی‌های ABO مونوکلونال متعددی که به ۳ کارگاه بین المللی ارائه شده اند در گزارشات کارگاهی توصیف شده اند [۶۵۴-۶۵۲].

۲-۱۵-۱ آنتی‌بادی‌های مونوکلونال بعنوان معرف‌های گروه بندی خون

برتری آنتی‌بادی‌های مونوکلونال بر آلوآنتی‌بادی‌های پلی کلونال، به عنوان معرف‌های گروه بندی ABO، ماهیت مونوکلونال بودن آنها نیست (که حتی ممکن است یک عیب آنها هم باشد) بلکه این واقعیت است که آنها بصورت آزمایشگاهی تولید می‌گردند. مقادیر هنگفتی از آنتی‌بادی اختصاصی را بدون هیچ نوع آنتی‌بادی ناخواسته آلوده کننده می‌توان تولید نمود و در استفاده از پلاسما انسانی و هزینه بسیار بالای تهیه و کنترل کیفیت معرف‌های قرار دادی که از ذخائر پلاسما انسانی تهیه می‌شوند، صرفه جویی نمود. بعلاوه، با این عمل لزوم مصون سازی داوطلبین انسانی به منظور ساخت معرف‌های قوی نیز از بین می‌رود. آنتی - A و آنتی - B مونوکلونال به عنوان معرف‌های رضایت بخشی در تکنیک‌های دستی و اتوماتیک گروه بندی خون وارد عمل شده اند و امروزه در اکثر مراکز انتقال خون و بانک خون‌های بیمارستانی در سراسر جهان مورد استفاده قرار گرفته اند [۵۰۹ و ۶۵۵]. معرف‌های مونوکلونال آنتی - A قوی تولید شده اند که گلبول‌های قرمز A_x را آگلوتینه می‌کنند [۳۱۲ و ۳۱۳]. این نیاز به استفاده از آنتی - AB را مرتفع می‌سازد. خطر استفاده از معرف‌های آنتی - B مونوکلونال که آنتی ژن B اکتسابی راشناسایی می‌نمایند در بخش ۲-۱۴-۱ ذکر شده است

جودسون و اسمایت^۱ [۶۵۶] دریافتند که بعضی از معرف‌های آنتی - B مونوکلونال در ۴ درجه سانتیگراد رسوب می‌نمایند. آنها چنین استنباط نمودند که این امر ناشی از وجود فعالیت شبیه B بر سطح مولکول‌های IgM می‌باشد، عبارتی همان آلفا - ۱ و ۳-گالاکتوز انتهای روی بعضی از N-گلیکان‌های IgM موش. راه اصلاحی پیشنهاد شده برای این رسوب در سرما، اثر دادن آلفا - گالاکتوزیداز بر IgM نسبتاً خالص یا کشت دادن هیبریدوما در حضور آلفاگالاکتوزیداز یا مهارکننده‌های پردازش N-گلیکان می‌باشد.

1- Judson and Smythe

۲-۱۵-۷ آنتی-H

آنتی‌بادی‌های H، ماده پیش ساز آنتی‌ژن‌های A و B را شناسایی می‌نمایند و بطور مشخص گلبول‌های O و A₂ را قوی تر از گلبول‌های A₁ و B آگلوتینه می‌نمایند. آنتی‌بادی‌های H توسط بزاق فرد سکرترور مهار می‌گردند و با گلبول‌های قرمز بند ناف گروه O، هر چند ضعیف تر از گلبول‌های O بالغین، واکنش می‌دهند. مورگان و واتکینز^۱ [۶۵۷] آنتی-H را، که توسط بزاق فرد سکرترور مهار می‌گردید، از «آنتی-O» که توسط آن مهار نمی‌شد، افتراق دادند. امروزه این ویژگی اخیر معمولاً آنتی-HI نامیده می‌شود (بخش ۲-۱۵-۸). آنتی‌بادی‌های اختصاصی H نوع ۱ (جدول ۲-۳) غالباً آنتی-Le^d و یا آنتی-Le^{dh} نامیده می‌شوند [۲۸۱ و ۶۵۸] (بخش ۲-۱۱-۱).

۲-۱۵-۷-۱ آنتی-H در سرم گروه بمبی

آنتی H عموماً در سرم افراد دارای فنوتیپ‌های سکرترور فاقد H (بمبی، O_h، A_h، B_h) وجود دارد. این آنتی-H ها از لحاظ قدرت، توانایی آگلوتینه نمودن گلبول‌های قرمز بند ناف، درجه مهار توسط بزاق فرد سکرترور گروه O و محتوی IgG با هم تفاوت دارند [۴۵۸]. سرم‌هایی که محتوی IgG بیشتری دارند کمترین اختلاف را در قدرت آگلوتیناسیون بین گلبول‌های O بند ناف و O بالغین نشان می‌دهند و به سختی توسط بزاق مهار می‌گردند. سرم‌های O_h حاوی هردو نوع ۱ و ۲ آنتی-H- میباشند [۶۵۹ و ۶۶۰]. در هر حال افراد دارای فنوتیپ Reunion (غیر سکرترور با نقصان جزئی H) آنتی-H نوع ۱، اما فقط مقدار بسیار کمی از نوع ۱، را تولید می‌نمایند، احتمالاً بدین علت که مقدار کمی آنتی‌ژن H نوع ۲ بر سطح گلبول‌هایشان وجود دارد [۶۶۰]. آنتی-H در سرم افراد غیر سکرترور دارای گلبول قرمز با فقدان کامل و جزئی H، اهمیت بالینی دارد و ممکن است HDN شدید ایجاد نماید [۶۶۱]. فقط ۲٪ گلبول‌های گروه O تزریق شده به یک بیمار O_h به مدت ۲۴ ساعت زنده ماندند [۶۶۲]. در یک بیمار A_h ۶۷٪ گلبول‌های A₁ ظرف یکساعت از زمان تزریق نابود شدند، علی‌رغم اینکه صرفاً بطور ضعیف توسط سرم بیمار در ۳۷ درجه آگلوتینه می‌شدند [۶۳۲]. یک واکنش انتقال خون در بیمار B_h که خون H مثبت را دریافت نمود ایجاد گردید [۴۵۲].

۲-۱۵-۷-۲ دیگر منابع آنتی-H انسانی

آنتی-H در سرم افرادی که دارای فنوتیپ‌های گلبول قرمز فاقد H نمی‌باشند، معمولاً ضعیف بوده فقط در دماهای پایین فعال می‌باشد. این آنتی‌بادی‌ها در صورت وجود، معمولاً در افراد غیر سکرترور ABH یافت می‌گردند [۶۶۴]. یک آنتی-H بسیار قوی در یک بیمار A₁Le(a-b+) (Toml) توسط بزاق فرد سکرترور از جمله بزاق خود بیمار مهار گردید، با گلبول‌های قرمز بند ناف وارد واکنش شد اما با

1- Morgan and Watkins

گلبول‌های قرمز O_h واکنشی نشان نداد [۶۶۵]. برخلاف سرم افراد غیر سکرترور فاقد H، آنتی - H Toml H و یک اتوآگلوتینین H با عیار بالا از یک بیمار گروه B، به تری ساکارید H نوع ۲ (اما نه نوع ۱) پیوند یافتند [۶۵۹ و ۶۶۶]. اتوآنتی - H مونوکلونال در یک بیمار لنفومی، مسئول آنمی همولیتیک اتوایمیون کشنده بود [۶۶۷]. چندین نمونه اتو آنتی - H یا اتو آنتی - HI گزارش شده اند که فقط در حضور عوامل شلاته کننده کلسیم نظیر سیترات و EDTA فعال می‌باشند [۶۶۸ و ۶۶۹].

۲-۱۵-۷-۳ آنتی - H مونوکلونال

آنتی - H های مونوکلونال موشی متعددی از طریق مصون سازی (در اکثر موارد بصورت تصادفی) با بسیاری از ایمونوژن‌ها تولید شده اند [۶۴، ۶۰، ۶۵۴-۶۵۲ و ۶۷۶-۶۷۰]. برخلاف آنتی - H انسانی، آنتی - H های مونوکلونال موشی غالباً توسط بزاق افراد سکرترور مهار نمی‌شوند و یا حداقل توسط تعداد معدودی از آنها مهار می‌گردند [۶۷۱ و ۶۷۷].

فوروکاوا و همکاران^۱ [۶۰] ۱۱ مورد آنتی‌بادی مونوکلونال شبیه H را مورد مطالعه قرار دادند: همه آنها با H نوع ۲ مونوفوکوزیل، Le^y دی فوکوزیل و یا با هر دو واکنش دادند، اما هیچکدام با ساختارهای H نوع ۱ واکنشی نشان ندادند. آنتی‌بادی‌هایی که فقط علیه H نوع ۲ فعال بودند با گلبول‌های قرمز واکنش داده اما با مواد بزاقی واکنش نمی‌دادند (احتمالاً بدلیل وفور ساختارهای دی فوکوزیل در بزاق)، آنهایی که اختصاصی برای ساختار Le^y دی فوکوزیل بودند با مواد بزاقی واکنش داده اما با گلبول‌های قرمز واکنش نمی‌دادند، و آنهایی که علیه هر دو ساختار مونو و دی فوکوزیل فعال بودند هم با گلبول‌های قرمز و هم با مواد بزاقی وارد واکنش شدند. مولیکون و همکاران^۲ [۶۷۵] ۲۸ آنتی‌بادی مونوکلونال ضد H نوع ۲ را براساس واکنش متقاطع آنها با الیگوساکاریدهای مصنوعی به ۷ دسته تقسیم بندی نمودند.

۲-۱۵-۷-۴ آنتی - H تهیه شده از دیگر منابع

آنتی - H در تعدادی از حیوانات از طریق مصون سازی آنها با گلبول‌های قرمز O یا ماده H تخلیص شده و سپس جذب آن با گلبول‌های O_h ، ساخته شده است. باتیا^۳ [۶۷۸] آنتی - H را در جوجه، گاو، بوفالو، بز و گوسفند تولید نمود. لکتین‌های اختصاصی H نیز در بخش ۲-۱۵-۹-۴ توضیح داده شده‌اند.

1- Furukawa et al.

2- Mollicone et al.

3- Bhatia

۲-۵-۱۸ آنتی-HI و آنتی-H

آنتی‌بادی‌های HI گلبول‌های قرمزی را که حامل هر دو شاخص H و I باشند آگلوتینه می‌نمایند [۶۷۹] اما گلبول‌های فاقد H (سکرتور و غیر سکرتور) یا فاقد I (گلبول‌های i بند ناف و بالغین) را یا آگلوتینه نمی‌کنند و یا بصورت خیلی ضعیف آگلوتینه می‌نمایند. این آنتی‌بادی‌ها معمولاً آنتی‌بادی‌هایی ضعیف بوده که فقط در دماهای پایین واکنش می‌دهند. براساس مشاهده سانگر [۶۶۴] مبنی بر اینکه آنتی-H فقط توسط افراد غیرسکرتور ABH ساخته می‌شود، آگلوتینین شبیه آنتی-H که در سرم افراد سکرتور فاقد H یافت می‌شود، معمولاً آنتی HI می‌باشد [۵۸، ۲۲۴ و ۴۶۰]. گرچه آنتی-HI در سرم افراد سکرتور فاقد H مسئول تخریب سریع مقادیر کم گلبول‌های O نشاندار بود، اما پیش بینی شد که تزریق واحدهای کامل خونی، بقاء تقریباً طبیعی گلبول‌های قرمز را میسر خواهد ساخت [۶۸۰]. اتو آنتی-HI معمولاً به عنوان یک آنتی‌بادی خوش خیم تلقی می‌گردد، اما نوع عیار بالا و فعال در ۳۷ درجه آن ایجاد واکنش همولیتیک حاد انتقال خون در یک زن گروه B مبتلا به کم خونی سلول داسی شکل، متعاقب تزریق ۱۰۰ میلی لیتر گلبول قرمز O، نمود [۶۸۱]، تزریق بعدی گلبول‌های B از طریق یک گرم کننده خون رضایت بخش بود. اتو آگلوتینین در سرم یک زن A₁ که مشابه آنتی-H عمل می‌کرد اما توسط بزاق فرد سکرتور مهار نمی‌شد و به طور استثنائی با گلبول‌های A₂I بالغین واکنش قوی می‌داد، آنتی-Hi نامیده شد [۶۸۲]. سه نمونه دیگر از این قبیل نیز از آن زمان به بعد گزارش شده اند [۶۸۳].

۳-۱۵-۹ لکتین‌ها

نام لکتین در ابتدا عصاره‌های گیاهی را که قادر به آگلوتینه نمودن گلبول‌های قرمز بودند، توصیف می‌نمود [۶۸۴]. در سال ۱۹۸۰، گلدشتین و همکاران^۱ [۶۸۵] توصیف فوق را بدین شکل بسط دادند: «یک پروتئین پیوند کننده قند و یا یک گلیکوپروتئین با منشأ غیر ایمون که گلبول‌های قرمز را آگلوتینه و یا کانژوگه‌های قندی را رسوب می‌دهد». بدین ترتیب طیف وسیعی از مواد هم‌آگلوتینه کننده را که در عصاره‌های گیاهی (عمدتاً دانه) و در بعضی از جانوران همچون حلزون، ماهی و مار یافت می‌شوند می‌توان تماماً لکتین نامید. فعالیت آگلوتینه کنندگی لکتین‌ها توسط قندهای کوچک، معمولاً مونوساکاریدها، مهار می‌گردد.

احتمال می‌رود که این قندها نمایانگر جایگاه پیوند کننده لکتین بر سطح گلبول‌های قرمز باشند. مورگان و واتکینز^۲ {۶۸۶} با استفاده از لکتین‌ها، اطلاعات محدودی را پیرامون ماهیت آنتی‌ژن‌های A و B به دست آوردند. بعضی از عصاره‌های گیاهی همچون: اولکس یوروپیوس^۳ و باندیرنا

1- Goldstein et al.

2- Morgan and Watkins

3- Ulex europaeus

سیمپلیسیفولیا^۱ حاوی بیش از یک نوع لکتین هستند. تنوع لکتین‌ها با ویژگی‌های A و B یا H به اندازه ای است که ذکر تمامی آنها امکان پذیر نمی‌باشد. اکثر آنها عصاره‌های دانه ای، غالباً از خانواده لگومینوسه^۲، هستند، گرچه منابع فراوان دیگری نیز وجود دارند. لکتین‌هایی که ویژگی A و B یا H دارند در اجسام بارده^۳ بسیاری از قارچ‌ها یافت می‌گردند [۶۸۷]. تعدادی از لکتین‌ها در جدول ۲-۲۴ فهرست شده‌اند. به منظور بازنگری به منابع [۶۹۱-۶۸۸] مراجعه گردد.

جدول ۲-۲۴. پاره‌ای از لکتین‌ها با فعالیت AB, B, A یا H

Species	Source	Blood group activity	Monosaccharide specificity	Comments
<i>Dolichos biflorus</i>	Seed	Anti-A ₁	GalNAc	Anti-Tn, -Cad also
<i>Phaseolus limensis</i>	Seed (lima bean)	Anti-A		
<i>Phaseolus lunatus</i>	Seed (lima bean)	Anti-A	GalNAc	
<i>Helix pomatia</i>	Snail	Anti-A	GalNAc	
<i>Helix hortensis</i>	Snail	Anti-A	GalNAc, NeuAc	
<i>Fomes fometarius</i>	Tree fungus	Anti-B		Anti-P ^k also
<i>Ptilota plumosa</i>	Seaweed	Anti-B		
<i>Salmo salar</i>	Salmon roe	Anti-B	Gal	Anti-P also
<i>Sophora japonica</i>	Seed	Anti-A, B		Reacts strongly with En(a-) cells. Anti-B strongest
<i>Phlomis fructosa</i>	Seed (Jerusalem sage)	Anti-A, B	GalNAc, Gal	
<i>Bandeiraea simplicifolia</i>	Seed	Anti-A, B	GalNAc, Gal	BSI, one of 3 lectins. Anti-B strongest
<i>Ulex europaeus</i>	Seed (gorse)	Anti-H	I Fuc II GlcNAc*	Lectin most commonly used for detecting H secretion
<i>Lotus tetragonolobus</i>	Seed	Anti-H (-HI)	Fuc	
<i>Anguilla anguilla</i>	Eel serum	Anti-H (-HI)	Fuc	
<i>Cystisus sessifolius</i>	Seed	Anti-H	GlcNAc*	
<i>Laburnum alpinum</i>	Seed	Anti-H	GlcNAc*	

*Probably requires terminal Fuc residue.

1- *Bandeiraea Simplicifolia*

2- Leguminosae

3 - fruiting bodies

۲-۱۵-۹-۱ آنتی-A

رنکونن^۱ [۶۹۲] به فعالیت آنتی-A در عصاره دانه‌های ویسیا کراکا^۲، اولین لکتین گروه خون که شناخته شد، پی برد. از آن زمان به بعد ویژگی گروه A در تعدادی از دانه‌ها از جمله دولیکوس بیفلوروس^۳ یافت شده است، این لکتین یک معرف گروه‌بندی فوق العاده سودمند است زیرا گلبول‌های قرمز A_۱ را راحت تر از گلبول‌های A_۲ آگلوتینه می‌نماید و لذا در صورتی که بطور مناسب رقیق گردد، A_۱B و A_۱ را از A_۲ و A_۲B افتراق می‌دهد [۲۲۳]. لکتین دولیکوس مختص N-استیل گالاکتوز آمین انتهایی است [۶۹۳] و بنابراین گلبول‌های Tn+ و Sd(a++) را آگلوتینه خواهد نمود (به فصول ۲۹ و ۳۱ مراجعه گردد). فوروکاوا و همکاران^۴ [۶۷۰] معتقدند که لکتین فوق گلبول‌های A_۱ و A_۲ را بیشتر براساس اختلافات کمی از هم افتراق می‌دهد تا اختلاف کیفی. تخم‌ها و غدد آلبومینی گونه‌های متعددی از حلزون‌ها (عمدتاً از خانواده هلیسیده^۵) دارای فعالیت آنتی-A (N-استیل - گالاکتوز آمین) می‌باشند و غالباً در گروه بندی اتوماتیک ABO مورد استفاده قرار گرفته اند [۶۹۴، ۶۹۵ و ۶۹۶].

۲-۱۵-۹-۲ آنتی-B

فراوانی لکتین‌های با ویژگی B کمتر از لکتین‌های مختص A می‌باشد. آنها به همراه آنتی-H در دانه گونه‌های متعددی از اوونیموس^۶ [۶۹۶ و ۶۹۷]، در قارچ فومس فومتاریوس^۷ [۶۹۸] و در علف دریایی پتیلوتا پلوموسا^۸ یافت می‌گردند. فعالیت آنتی-B همچنین در گونه‌های متعددی از ماهی‌ها، به ویژه از خانواده ماهی آزاد و شاه ماهی مشاهده می‌گردد [۷۰۱-۶۹۹]. این لکتین‌ها اختصاصی برای D-گالاکتوز هستند و ممکن است مقداری ویژگی P^k, P^۱, P را نیز نشان دهند که علت آن اشتراک شاخص‌های گالاکتوزیل بین این آنتی‌ژن‌ها می‌باشد [۷۰۱ و ۷۰۲].

۲-۱۵-۹-۳ آنتی-AB

عصاره‌های دانه ای متعددی گلبول‌های A و B را آگلوتینه می‌کنند اما با گلبول‌های O واکنشی نشان نمی‌دهند. در بعضی موارد این ممکن است ناشی از لکتینی باشد که با هر دو ساختارهای A و B واکنش متقاطع ایجاد می‌نماید. BSI، یکی از حداقل سه لکتین موجود در دانه‌های باندریثا سیمپلیسیفولیا، خود

1- Renkonen

2- Vicia Cracca

3- Dolichos Biflorus

4- Furukawa *et al.*

5- Helicidae

6- Evonymus

7- Fomes Fomentarius

8 - Ptilota plumosa

شامل پنج ایزولکتین است که هر کدام از نسبت‌های مختلفی از دو واحد ساختمانی تشکیل شده اند. هر دو واحد ساختمانی دارای یک میل پیوندی بالا برای گالاکتوز می‌باشند اما یکی از آنها بطور قوی به N - استیل - گالاکتوز آمین نیز پیوند می‌یابد [۷۰۳]. فعالیت A و B در لکتین فلو میس فروکتیکوز^۱ توسط N - استیل - گالاکتوز آمین مهار گردید، حال آنکه گالاکتوز فقط فعالیت B را مهار نمود [۷۵۴]. اگر مولکول‌های اختصاصی جداگانه A و B در این لکتین‌ها یافت شوند، عبارت آنتی - AB نامناسب و آنتی A+B مناسب تر خواهد بود.

۲-۱۵-۹-۴ آنتی - H

کازال و لالوری^۲ [۷۰۵] نشان دادند که لکتین‌های موجود در دانه مشهور اولکس یوروپائوس بصورت آنتی - H عمل می‌نمایند. این لکتین پرکاربردترین و شاید بهترین معرف به منظور تشخیص وضعیت سکر تور در بزاق افراد گروه O می‌باشد. دست کم دو لکتین در عصاره این دانه وجود دارند [۷۰۶]: اولکس I که توسط L - فوکوز مهار می‌شود و اولکس II که توسط L - فوکوز مهار نمی‌شود اما با دی - N - استیل چیتوبیوز، قندی که یک ریشه N - استیل گلوکز آمینیل دارد، مهار می‌گردد [۷۰۷]. هر دو لکتین، اختصاصی برای H هستند و قادر به واکنش با گلبول‌های O که با آلفا - L - فوکوزیداز مواجه شده اند نمی‌باشند [۷۰۸]. به نظر می‌رسد که اولکس II با N - استیل گلوکز آمین ساب ترمینال در ساختار H واکنش می‌دهد، اما فقط در حضور L - فوکوز انتهایی. دیگر لکتین‌های اختصاصی H در دو دسته قرار می‌گیرند [۶۸۶ و ۷۰۹]:

۱- آنهایی که همچون اولکس I توسط L - فوکوز مهار می‌شوند، مثل: دانه‌های لوتوس تترگونولوبوس^۳ و سرم مار ماهی

۲- آنهایی که همچون اولکس II توسط مشتقات N - استیل گلوکز آمین مهار می‌گردند، مثل دانه‌های: سیستیسوس سسیلیفولیوس^۴ و لابر نوم آلیوم^۵

اولکس I توسط الیگوساکاریدهایی که زنجیره‌های نوع ۲ دارند (از جمله آنهایی که ساختارهای دی فوکوزیل دارند)، راحت تر از الیگوساکاریدهایی که زنجیره‌های نوع ۱ دارند مهار می‌گردد [۷۱۰، ۷۱۱ و ۶۵۸، ۶۵۹].

لکتین لوتوس تترگونولوبوس بطور قوی با زنجیره‌های نوع ۲ واکنش داده اما با نوع ۱ واکنشی نشان نمی‌دهد [۷۱۲] که این امر عدم کاربرد آن به عنوان یک معرف مفید در آزمایشات مهار سازی را توضیح

-
- 1- Phlomis Fructisosa
 - 2- Cazal and Lalaurie
 - 3- Lotus Tetragonolobus
 - 4- Cystisus sessilifolius
 - 5- Laburnum alpinum

می‌دهد. عصاره دانه اولکس یوروپائوس دارای قدرت واکنش یکسان با گلبول‌های I-مثبت یا I-منفی (i بالغین) می‌باشد، اما لکتین‌های لوتوس تتراگونولوبوس و لکتین سرم مار ماهی، نظیر آنتی-HI عمل می‌کنند، بطوری که با گلبول‌های قرمزبند ناف یا i بالغین، واکنش بسیار ضعیف ایجاد می‌نمایند [۷۱۳ و ۶۵۹]. لکتین‌های سیستم‌های سسیلیفولیوس و لابرئوم آلیوم در یک وضعیت حد واسط قرار می‌گیرند بطوری که با گلبول‌های i بالغین ضعیف‌تر از گلبول‌های I-مثبت واکنش می‌دهند [۷۱۳].

بخش ۴- سیستم لوئیس

۱۶-۲ آنتی ژن‌ها و فنوتیپ‌های Le^a و Le^b

ساختمان و پیوستن آنتی ژن‌های لوئیس در بخش ۲ این فصل توصیف شده‌اند. جزئیاتی که در این بخش مورد بحث قرار می‌گیرد اساساً در ارتباط با بروز سرولوژیکی آنتی ژن‌های لوئیس به انضمام پاره‌ای از خصوصیات ساختاری آنها می‌باشد

۱-۱۶-۲ گلبول‌های قرمز

یک قاعده کلی در مورد فنوتیپ لوئیس گلبول‌های قرمز افراد سفید پوست و سیاه‌پوست اعمال می‌گردد:

بالغینی که یک ژن Le دارند، $Le(a-b+)$ یا $Le(a+b-)$ هستند، در صورتی که افراد سکرتر ABH باشند، گلبول‌های قرمزشان $Le(a-b+)$ و اگر غیر سکرتر باشند، $Le(a+b-)$ خواهند بود. افراد هموزیگوت برای آلل le گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ خواهند داشت (جدول ۲-۲۵). همانطوری که ممکن است انتظار داشته باشیم، استثنائاتی بر این قاعده وارد می‌شوند. بسیاری از نمونه‌های آنتی- Le^b که غالباً آنتی- Le^{bH} نیز نامیده می‌شوند، قادر به آگلوتینه کردن گلبول‌های $A_1Le(a-b+)$ نخواهند بود (بخش ۲-۱۸-۲) و این گلبول‌ها ممکن است بصورت کاذب به عنوان $Le(a-b-)$ شناسائی گردند. گلبول‌های قرمز جنین‌ها، نمونه‌های بند ناف و نوزادان عموماً $Le(a-b-)$ می‌باشند. کودکان ممکن است قبل از اینکه فنوتیپ $Le(a+b-)$ را کسب نمایند، بطور موقت $Le(a+b+)$ باشند. زنان لوئیس مثبت ممکن است در طول حاملگی موقتاً $Le(a-b-)$ شوند (بخش ۲-۱۶-۶). به نظر می‌رسد که فلوئوسایتومتری یک روش مطمئن‌تر از تکنیک‌های سرولوژیک قراردادی به منظور تعیین فنوتیپ لوئیس گلبول‌های قرمز باشد.

نتایج ذیل متعاقب استفاده از معرف‌های آنتی-A تجارتي با گلبول‌های قرمز اروپایی‌هایی که ژنوتیپ *FUT2* و *FUT3* آنها مشخص شده بود حاصل گردید: $A_1Le(a-b+)$ ۷۱٪ مثبت، $BL_e(a-b+)$ ۹۵٪ مثبت، $OL_e(a-b+)$ و یا $A_2Le(a-b+)$ ۹۹٪ مثبت، $Le(a-b+)$ و $Le(a+b-)$ کمتر از ۱۰٪ مثبت. فنوتیپ گلبولی $Le(a+b+)$ که در آن هردو آنتی ژن Le^a و Le^b بطور قوی ظاهر شده اند در افراد بالغ اروپایی بسیار نادر اما در آسیای شرقی، آسیای جنوب شرقی و منطقه آقیانوس آرام شایع می باشد [۷۱۵، ۱۷۶، ۱۷۵، ۵۴، ۲۵۱ و ۷۱۵]. توضیحی که براین مسئله می توان ابراز داشت، وجود یک ژن ضعیف *Se* و نادر بودن *se* می باشد (توضیح کامل در بخش ۲-۶-۳). بعضی از معرف‌های آنتی- Le^b ، آنتی ژن Le^b گلبول‌های قرمز $Le(a+b+)$ را شناسائی نمی کنند که این منجر به عدم تشخیص $Le(a+b+)$ در بعضی از مطالعات گردیده است [۲۳]. در صورتی که از تکنیک‌های حساس استفاده شود (نظیر آزمایش آنتی گلوبولین غیر مستقیم با گلبول‌های مجاور شده با آنزیم) ممکن است مقداری آنتی ژن Le^a با استفاده از آنتی- Le^a ، بر سطح گلبول‌های قرمز بالغین $OL_e(a-b+)$ و یا $A_2Le(a-b+)$ شناسایی شود [۵۷۳]. در بیماری که دارای آنتی- Le^a قوی بود گلبول‌های قرمز $Le(a-b+)$ تزیق شده، در داخل بدن تخریب شدند [۷۱۶].

۲-۱۶-۲ ترشحات

آنتی ژن‌های لوئیس به راحتی با استفاده از مهار آگلوتیناسیون در بزاق انسان‌ها شناسایی می گردند. آنتی- Le^a توسط بزاق افرادی که گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ یا $Le(a-b+)$ دارند مهار می گردد، که البته قدرت فنوتیپ اولی در مهار کردن آن بیشتر است [۷۱۷، ۱۶۸، ۱۶۷]. Le^b در بزاق افرادی که گلبول‌های قرمز $Le(a-b+)$ دارند وجود دارد [۷۱۸، ۱۶۸]، Le^a و Le^b در بزاق افراد دارای گلبول‌های قرمز $Le(a+b+)$ یافت می گردند [۷۱۵ و ۱۷۵] (جدول ۲-۲۵). آنتی ژن‌های لوئیس همچنین در شیر انسان [۴۱ و ۴۲]، شیرهای دستگاه گوارش [۷۱۹ و ۷۲۰]، ادرار [۷۱۹ و ۷۲۱ و ۷۲۲]، مایع منی [۷۱۹ و ۷۲۳]، مایع کیست تخمدانی [۱۰ و ۹] و مایع آمنیوتیک [۷۲۴] شناسایی و جدا شده اند.

جدول ۲-۲۵. برهم کنش ژن‌های سکر تور و لوئیس، و فنوتیپ‌های گلبول قرمز و سکر تور حاصله (در افراد گروه O)

ژنوتیپ			آنتی ژن‌ها در ترشحات	
لوئیس	سکر تور	فنوتیپ RBC	Le^a	Le^b
Le/Le or Le/le	Se/Se or Se/se	$Le(a-b+)$	+	-
Le/Le or Le/le	Se^w/Se^w or Se^w/se	$Le(a+b+)$	+	-
Le/Le or Le/le	se/se	$Le(a+b-)$	+	-
le/le	Any	$Le(a-b-)$	-	-

۲-۱۶-۳ پلاسما

Le^a به راحتی در پلاسمای افرادی که گلبول‌های قرمز $Le(a+b-)$ دارند شناسایی نمی شود [۷۱۷]. برخلاف بزاق، فقط مقادیر بسیار کم Le^a ممکن است در پلاسمای افراد داری فنوتیپ گلبولی $Le(a-b+)$ قابل سنجش باشد [۷۲۵]. Le^b در پلاسمای افرادی که گلبول‌های قرمز $Le(a-b+)$ دارند وجود دارد [۷۲۵-۷۲۷]. جایگاه سنتز ماده پلاسمایی لوئیس شناخته شده نمی باشد. گیرندگان پیوندهای مغز استخوان [۷۲۹ و ۷۲۸]، کبد [۷۳۰] و کلیه [۷۲۱] فنوتیپ‌های گلبولی لوئیس خود را حفظ می کنند، ولو اینکه آنتی ژن‌های لوئیس اهداکننده، در ادرار گیرندگان کلیه و یا در صفرا گیرندگان کبد یافت می شوند [۷۲۱ و ۷۳۰]. نظر به سطوح خیلی بالای گلیکولیپیدهای فعال Le^a در روده، هانفلاند و گراهام^۱ [۶۵۸] اظهار داشتند که مواد پلاسمایی لوئیس ممکن است از روده منشأ گرفته باشند. در ادرار بیماران غیرسکرتور مبتلا به بیماری سلایک میزان آنتی- Le^a کاهش می یابد [۷۲۲]. اوانس و همکاران^۲ [۷۲۱] پیشنهاد نمودند که Le^a در ادرار و پلاسما، از مولکول‌های بزرگ Le^a فعال در روده کوچک که به مولکول‌های کوچکتر تجزیه شده جذب گردش خون می گردند، مشتق می شود. مقداری از این مولکول‌های کوچک بعداً از طریق کلیه‌ها دفع می گردند. در بیماری سلایک این مولکول‌ها نمی توانند توسط روده جذب شوند و لذا سطح ماد Le^a در ادرار کاهش می یابد و متعاقب بازسازی مخاط روده سطح آن در ادرار طبیعی می گردد. بعلاوه تمامی هشت بیمار مبتلا به نارسائی روده ای که هفت نفرشان تحت عمل جراحی برش ایلئوم و ۸۰٪ ژژونوم قرار گرفته بودند، دارای گلبول‌های قرمز- $Le(a-b-)$ (بودند) [۷۳۱]. این از لحاظ آماری در مقایسه با ۶٪ مورد انتظار، معنی دار می باشد و مدرکی است دال بر اینکه گلیکولیپیدهای لوئیس پلاسما (وبالتبع گلبول‌های قرمز) از روده منشأ گرفته اند. هنری و همکاران^۳ [۲۳] معتقدند که دیگر اندام‌های اگزوکراین نظیر کبد، کلیه و پانکراس ممکن است سهمی را در تولید گلیکولیپیدهای پلاسمایی با فعالیت لوئیس داشته باشند، که این توضیحی بر تفاوت سطوح پلاسمایی و روده ای گلیکولیپید می باشد. مقادیر بسیار کم گلیکولیپیدها با ساختار Le^b در پلاسمای افرادی که فنوتیپ گلبولی $Le(a-b-)$ دارند شناسائی شده است که این حاکی از وجود فعالیت آلفا-۱ و ۴-فوکوزیل ترانسفراز به میزان اندک می‌باشد [۷۳۲ و ۷۳۳]. احتمال می رود که این حالت به دو دلیل اتفاق افتد: یا فوکوزیل ترانسفراز لوئیس که توسط آلل le کد می‌گردد کاملاً غیر فعال نیست، و یا اینکه یکی از آلفا-۱ و ۳- فوکوزیل ترانسفرازها (احتمالاً محصول $FUT5$) دارای سطح پائینی از فعالیت

1- Hanfland and Graham

2 - Evans *et al.*3 - Henry *et al.*

آلفا-۱و-۴- فوکوزیل ترانسفراز می باشد [۷۳۳]. افزایش میزان Le^a سیالیه^۱ (یا CA 19-9) پلاسما در ارتباط با سرطان پانکراس ورودی بزرگ می باشد و به منظور کمک به تشخیص استفاده شده است.

۲-۱۶-۴ جذب آنتی ژن‌های لوئیس توسط گلبول‌های قرمز

گلبول‌های قرمز زنجیره‌های کربوهیدراتی با اسکلت بندی نوع ۱ را سنتز نمی کنند و لذا قادر به تولید آنتی ژن‌های لوئیس نمی باشند. چربی‌های پلاسمائی به آهستگی اما آزادانه با چربی‌های غشا گلبول قرمز در تبادل می‌باشند و ترکیب فسفولیپیدها و اسیدهای چرب در غشا گلبول قرمز مشابه ترکیب این اجزا در پلاسما می باشد [۷۳۴]. لذا گلیکواسفنگولیپیدهای پلاسمائی که حامل ساختارهای لوئیس هستند درون غشا گلبول قرمز ادغام می گردند [۵۲]. اسنیت و اسنیت^۲ [۷۳۵] نخستین بار متوجه شدند که گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ در صورتی که با پلاسمای افراد $Le(a+b-)$ و $Le(a-b+)$ انکوبه شوند به ترتیب آنتی ژن‌های Le^a و Le^b را کسب می کنند و گلبول‌های $Le(a+b-)$ و $Le(a-b+)$ در صورتی که در پلاسمای $Le(a-b-)$ انکوبه شوند آنتی ژن‌های لوئیس خود را از دست خواهند داد. در این آزمایشات یک حجم گلبول‌های قرمز مترکم درده حجم پلاسما مخلوط و در دمای ۳۵ درجه به مدت سه روز به طور مداوم تکان داده شد و پلاسما نیز به صورت روزانه تعویض می‌شد.

آنتی ژن Le^a را نمی توان به راحتی از گلبول‌های قرمز لوئیس مثبت با شستشوی مکرر گلبول‌ها جدا نمود. گلبول‌های قرمز O تزریق شده به شخصی با گروه $A_1Le(b+)$ ، در روزهای اول و دوم پس از تزریق، با آنتی- A_1Le^b آگلوتینه نشدند اما در روزهای ۴ و ۵ به طور ضعیف و در روز ۶ بطور قوی آگلوتینه شدند [۷۳۵]. دو روز بعد از تزریق گلبول‌های $Le(b+)$ به یک بیمار $Le(a-b-)$ ، این گلبول‌های تزریق شده هنوز با آنتی- Le^b واکنش قوی داشتند اما بعد از هفت روز واکنش به سختی قابل مشاهده بود [۷۳۶]. مارکوس و کاس^۳ [۵۲] گلیکواسفنگولیپیدها را از پلاسما جدا کردند و پی بردند که این ترکیبات در تبدیل گلبول‌های قرمز $Le(b-)$ به $Le(b+)$ فوق العاده موثر می باشند و انکوباسیون صرفاً پنج دقیقه ای در ۳۷ درجه، آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز $Le(b-)$ با آنتی- Le^b را امکان پذیر ساخت. گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ که با اجزای گلیکواسفنگولیپیدی جدا شده از پلاسمای اهداکنندگان $A_1Le(a-b+)$ مواجه شده بودند، توسط آنتی- A_1Le^b آگلوتینه شدند [۲۷۸]. این گلیکواسفنگولیپیدها هنگامی که جذب شدند، قابل جداسازی از سطح گلبول با شستشو در سالین نبودند. حدود یک سوم کل گلیکولیپید با فعالیت Le^b در خون کامل وابسته به گلبول‌های قرمز و بقیه آن در پلاسما موجود می باشد [۷۲۷]. کیمراهی دوقلو در دوران زندگی داخل رحمی از یکدیگر پیوندهای دائمی مغز استخوان

1 - sLe^a (sialyl Le^a)

2 - Sneath & Sneath

3 - Marcus abd Cass

دریافت می‌دارند. جمعیت گلبول‌های قرمز محیطی اشان غالباً مخلوطی از گلبول‌های یکدیگر می‌باشد، با این حال بر خلاف دیگر گروه‌های خونی، ژن‌های خود آنها فنوتیپ لوئیس هردو جمعیت گلبول قرمز را می‌سازند: دلیلی دیگر مبنی بر اینکه آنتی ژن‌های لوئیس دارای منشا بافت خونساز نمی‌باشند. در یک قل کیمریک که ترشح کننده H بود، تمام گلبول‌های قرمز $Le(a-b+)$ بودند و علی‌رغم اینکه نیمی از گلبول‌ها از برادر غیر سکرطورش منشا گرفته بود، تمام گلبول‌های قرمز برادر $Le(a+b-)$ بودند (از جمله گلبول‌های قرمز خواهر سکرطور) [۷۳۸]. A_1Le^b فقط توسط افرادی که ژن‌های A^1, Se, Le را دارند تولید می‌گردد. گلبول‌های قرمز گروه A_1 که توسط بافت پیوند شده در یک میزبان سکرطور گروه O تولید شده‌اند، به وسیله آنتی- A_1Le^b آگلوتینه نمی‌شوند هرچند که حامل هردو آنتی ژن Le^b و A_1 می‌باشند زیرا A_1 از بافت پیوند یافته و Le^b از میزبان منشا می‌گیرند [۷۳۵، ۷۳۹ و ۷۳۰]. یک قل کیمریک دیگر که توسط کروکستون و همکاران^۱ [۷۳۵] گزارش شد تولید آنتی- A_1Le^b نموده بود هرچند که ۵۰٪ گلبول‌های قرمز $A_1Le(b+)$ بودند. این آنتی بادی با هیچکدام از گلبول‌های قرمز خود او واکنش نداد اما با تمامی گلبول‌های قرمز قل دیگر (برادرش) که سکرطور A و H بود واکنش نشان داد. گیرندگان پیوندهای موفق مغز استخوان، گروه خونی دهندگان را کسب می‌نمایند به استثناء لوئیس که فنوتیپ آن در شخص گیرنده ثابت می‌ماند [۷۲۸ و ۷۲۹].

۲-۱۶-۵ تکامل آنتی ژن‌های لوئیس

معمولاً نمی‌توان با استفاده از آگلوتیناسیون مستقیم، Le^a و Le^b را بر سطح گلبول‌های قرمز بند ناف آشکار نمود [۱۳]. در صورت استفاده از تکنیک‌های سرولوژیک حساس نظیر آزمایش آنتی گلوبولین غیر مستقیم و یا آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز مجاور شده با آنزیم توسط آنتی بادی‌های قوی، مقادیر بسیار کم Le^a و احتمالاً Le^b را می‌توان بر سطح بعضی از گلبول‌های قرمز بند ناف یا جنینی شناسائی نمود [۷۱۶]. آنتی ژن‌های لوئیس اندکی بعد از تولد بر سطح گلبول‌های قرمز ظاهر می‌شوند [۷۴۰]. ابتدا Le^a بروز می‌یابد، گلبول‌های قرمز کودکانی که ژن Le دارند عموماً در طول چند ماه اول زندگی $Le(a+)$ می‌باشند. در افراد سفید پوست در سن سه ماهگی ۸۰٪ کودکان $Le(a+)$ هستند، که این رقم تا دوسالگی به سطح بالغین تنزل می‌نماید [۷۴۳-۷۴۱]. در طول این دوره فنوتیپ گلبولی $Le(a+b+)$ شایع است [۷۴۳ و ۷۴۴]. تا سن شش سالگی نسبت $Le(b+)$ به سطح بالغین میرسد [۷۴۳]. ظهور Le^a و Le^b در پلاسمای کودکان با ظهور این آنتی ژن‌ها بر سطح گلبول‌های قرمز همبستگی دارد [۷۴۴] و گلبول‌های قرمز بند ناف را می‌توان از طریق انکوباسیون در پلاسمای یک فرد بالغ $Le(b+)$ ، به گلبول‌های $Le(b+)$ تبدیل نمود [۷۲۷]. در کودکانی که یک ژن Se دارند، در جایگاه تولید مواد پلاسمائی لوئیس قبل از اینکه فوکوزیل ترانسفراز کد شده توسط ژن Se فعال شود، ترانسفراز لوئیس فعال می‌گردد و باعث می‌شود که Le^a قبل از Le^b در پلازما ظهور نماید. در چینی‌ها ۵۰٪ نمونه‌های

1 - Crookston et al.

بند ناف $Le(a-b+)$ و $Le(a+b+)/.50$ بودند. گلبول‌های قرمز $Le(a-b+)$ تبدیل به گلبول‌های $Le(a+b+)$ شدند قبل از اینکه مجدداً به حالت اولیه $Le(a-b+)$ برگردند، گلبول‌های $Le(a-b-)$ یا تبدیل به $Le(a+b+)$ شدند و یا فنوتیپ اولیه خود $Le(a-b-)$ را حفظ نمودند. آنتی ژن‌های لوئیس در بزاق نوزادانی که یک ژن Le دارند مشابه همان آنتی ژن‌ها در بزاق بزرگسالان می‌باشند: افراد سکر تور ABH در بزاق خود دارای Le^a و Le^b هستند و افراد غیر سکر تور ABH فقط دارای Le^a می‌باشند [۷۴۴]. مواد لوئیس موجود در مایع آمنیوتیک که با تکنیک آمینوستز تهیه شد مربوط به فنوتیپ‌های لوئیس و سکر تور جنین بود و در ابتدای هفته پانزده حاملگی وجود داشت [۷۲۴].

۲-۱۶-۶ آنتی ژن‌های لوئیس در طول حاملگی

قابلیت آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز با آنتی- Le^a و آنتی- Le^b ممکن است در طول حاملگی کاهش یابد [۷۴۵-۷۴۸] و زنان حامله ای که دارای فنوتیپ گذرای $Le(a-b-)$ هستند ممکن است آنتی بادی‌های لوئیس را تولید نمایند [۶۰۷]. زنی در ماه هفتم حاملگی در سرم خود آنتی- Le^b قوی داشت، با این حال سه ماه بعد از وضع حمل، این آنتی بادی اصلاً قابل شناسایی نبود و گلبول‌های قرمز $Le(a-b+)$ بودند [۶۰۷].

هامر و همکاران^۱ [۷۴۸] بدین نتیجه رسیدند که فراوانی فنوتیپ $Le(a-b-)$ گلبول قرمز در زنان غیر حامله ۱۱٪ است (از ۷۳ نفر ۸ مورد)، اما در هنگام وضع حمل این رقم ۳۶٪ است (۲۷ مورد از ۷۴ نفر). زنانی که A_1 بودند در اکثر موارد در طول حاملگی $Le(b-)$ شدند. تغییر در فنوتیپ لوئیس در اوایل هفته ۲۴ حاملگی اتفاق افتاد و آنتی ژن Le^b مجدداً شش هفته پس از زایمان قابل شناسایی بود. غلظت گلیکولیپید Le^b در پلاسما در طول حاملگی صرفاً اندکی کاهش یافت، بنابراین بر خلاف وضعیتی که در کودکان مشاهده می‌شود تغییرات در تجلی Le^b گلبول قرمز در طول حاملگی ظاهراً به طور مستقیم ناشی از میزان Le^b در پلاسما نمی‌باشد.

هامر و همکاران [۷۴۸] معتقدند که در نتیجه افزایش غلظت لیپوپروتئین پلاسما در طول حاملگی، بیشتر شاخص‌های لوئیس به لیپوپروتئین‌های پلاسما منتقل می‌شوند و لذا تعداد کمتری جهت اتصال به غشا گلبول قرمز در دسترس می‌باشند. سطح الیگوساکاریدهای با فعالیت Le^b که در زنان $Le(a-b+)$ ترشح می‌شوند در طول حاملگی و شیردهی افزایش می‌یابد [۷۴۸].

1- Hammer et al.

۱۷-۲ فراوانی‌های آنتی‌ژنی، فنوتیپی و ژنی

۱-۱۷-۲ گلبول‌های قرمز

براساس نتایج ۱۷۹۶ آزمایش انجام شده روی گلبول‌های قرمز، فراوانی Le^a در انگلستان ۲۲/۳۸٪ تعیین گردید [۷۴۸]. این فراوانی خیلی مشابه فراوانی مشاهده شده در دیگر کشورهای اروپائی [۷۴۹ و ۲۵۱] و در آمریکائی‌های سفید پوست [۷۵۰ و ۷۵۱] می‌باشد. جدول ۲-۲۶ فراوانی‌های فنوتیپی را برای اروپایی‌ها و آمریکائی‌ها که براساس آزمایش‌های انجام شده با آنتی- Le^a و آنتی- Le^b روی گلبول‌های A_2 و O تعیین شده اند، نشان می‌دهد. فراوانی ژن $lele$ در سفید پوستان از ۰/۶۷ تا ۰/۸۰ متغیر می‌باشد. دو مطالعه روی آمریکایی‌های آفریقایی تبار فراوانی‌های بالاتری را برای فنوتیپ $Le(a-b)$ (نشان دادند) (جدول ۲-۲۶) [۷۵۱ و ۷۲۶] و فراوانی ژن Le را ۰/۵۳-۰/۴۶ تعیین نمودند. میزان بروز $Le(a-b)$ در آفریقایی‌های غربی تا ۳۵٪ ($Le=0/59$) و $Le(a+)$ تا ۱۵٪ بود (فقط گروه‌های A_2 و O مورد آزمایش قرار گرفتند) [۷۵۴].

فنوتیپ $Le(a+b+)$ گلبول قرمز که در مردان اروپایی و آفریقایی نادر است، در شرق آسیا، آسیای جنوب شرقی، منطقه اقیانوس آرام و استرالیا نسبتاً شایع می‌باشد [۲۵۱]. $Le(a+b+)$ دارای یک شیوع ۲۷٪ در چینی‌های هنگ کنگ [۷۵۳] (جدول ۲-۲۶)، ۲۵-۱۶٪ در چینی‌های تایوانی [۷۱۵]، ۴۰-۱۰٪ در پلی‌نزیایی‌ها [۷۵۶] و ۱۰٪ در بومی‌های استرالیایی [۷۵۶] می‌باشد. $Le(a+b-)$ در میان چینی‌ها نادر است و یا اصلاً وجود ندارد [۷۵۳، ۷۱۵ و ۷۵۷]. فراوانی‌های ژنی لوئیس که با بررسی DNA مشخص شده اند در جدول ۲-۲۰ ارائه شده اند.

جدول ۲-۲۶. فراوانی فنوتیپ‌های لوئیس در سه جمعیت

جمعیت (%)			
چینی‌های هنگ کنگ	آمریکایی‌های آفریقایی تبار	اروپایی‌ها و آمریکایی‌های سفیدپوست	فنوتیپ
۶۲	۵۲-۵۵	۷۰-۷۲	$Le(a-b+)$
۰	۱۹-۲۳	۱۹-۲۲	$Le(a+b-)$
۲۷	۰	۰	$Le(a+b+)$
۱۱	۲۲-۲۹	۴-۱۱	$Le(a-b-)$
(۷۵۳)	(۷۲۶ و ۷۵۱)	(۷۵۲-۷۵۰ و ۱۶۸)	منبع

۲-۱۸ آنتی‌بادی‌های لوئیس

۲-۱۸-۱ آنتی- Le^a ۲-۱۸-۱-۱ آنتی- Le^a /انسانی

آنتی- Le^a نادر نمی‌باشد، آزمایشات آگلوتیناسیون در دانمارک [۷۵۸] و فرانسه [۷۵۹] آنتی- Le^a را تقریباً در یک مورد از هر ۳۰۰ سرم آزمایش شده ظاهر ساختند. آلو آنتی- Le^a با قدرت آگلوتینه کنندگی صرفاً در افرادی که گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ دارند (احتمالاً آنهایی که سکر تور ABH هستند) یافت می‌شود [۷۲۴ و ۷۲۶] و در افراد گروه O نسبت به دیگر گروه‌های خونی کمتر دیده می‌شود [۷۵۸]. آنتی‌بادی‌های Le معمولاً به صورت طبیعی وجود دارند و غالباً IgM می‌باشند [۵۷۳].

در موارد بسیار نادری آنتی- Le^a ، IgG خالص می‌باشد [۵۷۳ و ۷۶۰]. اکثر سرم‌های قوی آنتی- Le^a حاوی یک جزء IgG می‌باشند که با آزمایشات رادیوایمونواسی^۱ (RIA) و الایزا^۲ (ELISA) قابل سنجش است اما با آزمایش آنتی‌گلوبولین با استفاده از آنتی- IgG به سختی شناسائی می‌گردد [۵۷۹]. آنتی- Le^a معمولاً با الیگوساکارید^b Le^b واکنش متقاطع می‌دهد و گاهی اوقات با دی ساکارید لوئیس، $Fuc\alpha 1 \rightarrow 4GLcNAc$ ، و یا Le^x (ایزومرنوع^۲ Le^a : جدول ۲-۳) وارد واکنش می‌گردد [۷۶۳]. آنتی- Le^a از کلاس IgM اختصاصیتی وسیعتر از آنتی- Le^a نوع IgG برای الیگوساکاریدهای صناعتی دارد [۷۶۴]. علی‌رغم بروز شایع آنتی- Le^a ، آنتی‌بادی‌های انسانی که بعنوان معرف‌هایی مفید و به اندازه کافی قوی مد نظر باشند، نادر هستند.

از آنجا که بیشتر سرم‌هایی که حاوی آنتی- Le^a هستند دارای آنتی- Le^b ضعیف نیز می‌باشند و یا با Le^b واکنش متقاطع می‌دهند، روش‌های تقویت واکنش ممکن است منجر به بروز واکنش‌های «مثبت کاذب» با گلبول‌های $Le(a-b+)$ گردند. آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز با آنتی- Le^a معمولاً در دماهای پایین از بالاترین قدرت خود برخوردار است و غالباً در ۳۷ درجه اتفاق نمی‌افتد. آنتی- Le^a معمولاً کمپلمان را تثبیت می‌کند [۷۶۵ و ۷۶۶]، یک آزمایش آنتی‌گلوبولین دو مرحله‌ای با افزودن کمپلمان، غالباً یک راه موفق در شناسایی آنتی- Le^a می‌باشد. بعضی از نمونه‌های آنتی- Le^a گلبول‌های $Le(a+)$ را در حضور کمپلمان لیز می‌نمایند. روش دیگر به منظور افزایش قدرت واکنش با آنتی- Le^a ، استفاده از گلبول‌های قرمز «مجاور شده با پروتئاز» می‌باشد. بعضی از آنتی‌بادی‌های ضد Le^a سیتوتوکسیک هستند [۷۶۷ و ۷۶۸].

1- RadioImmunoAssay

2 -Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

۲-۱۸-۱-۲ آنتی- Le^a مونوکلونال

آنتی- Le^a های مونوکلونال موشی متعددی تولید شده اند [۶۵۴-۶۵۲ و ۷۷۲-۷۶۹] که بعضی از آنها به عنوان معرف‌های بسیار عالی گروه‌بندی خون استفاده می‌شوند [۷۷۱] و معمولاً انواع مونوکلونال آن که به صورت تجارتي تهیه شده اند استفاده می‌شوند [۷۷۱]. از میان چهار آنتی- Le^a مونوکلونال که توسط یانگ و همکاران^۱ [۷۶۹] توصیف شدند، یک نمونه، $Gal\beta 1 \rightarrow 3(Fuc\alpha 1 \rightarrow 4)GLcNAc$ (تری ساکارید^۲ Le^a) و دیگری تتراساکارید $Gal\beta 1 \rightarrow 3Gal \rightarrow 4GLcNAc\beta 1 \rightarrow 3(Fuc\alpha 1 \rightarrow 4)GLcNAc$ را شناسائی نمودند و دو نمونه دیگر اساساً علیه دی ساکارید $Fuc\alpha 1 \rightarrow 4GLcNAc$ تمایل نشان می‌دادند. تمامی آنتی بادی های Le^a مونوکلونال با ماده پیشساز نوع ۱ ($Gal\beta 1 \rightarrow 3GLcNAc$) یا Le^c واکنش متقاطع ایجاد می‌نمایند [۷۷۳] (به فصل ۳۱ مراجعه شود) و بعضی از آنها با دی ساکارید T: $Gal\beta 1 \rightarrow 3GalNAc$ واکنش متقاطع داده گلبول‌های قرمزی را که $Le(a-)$ هستند و آنتی ژن آنها فعال شده است، آگلوتینه می‌نمایند [۷۷۴] (به فصل ۳۱ مراجعه شود).

۲-۱۸-۲ آنتی- Le^b ۲-۱۸-۲-۱ آنتی- Le^b انسانی

آنتی- Le^b اولیه که توسط آندرسن^۲ [۱۳] توصیف شد، صرفاً با گلبول‌های قرمز گروه $OLe(b+)$ یا $A_2Le(b+)$ واکنش می‌داد، در صورتی که آنتی- Le^b گزارش شده از سوی برندمو^۳ [۷۱۸] با تمامی گلبول‌های قرمز $Le(b+)$ وارد واکنش می‌شد. دو نوع از آنتی-بادی‌های ضد Le^b ، از سوی سپلینی و همکاران^۴ [۷۵۵] آنتی- Le^{Bh} و آنتی- Le^{bL} نامگذاری شدند. آنتی- Le^{Bh} که با H واکنش متقاطع می‌دهد فقط به منظور شناسائی گلبول‌های O یا A_2 با اطمینان قابل استفاده است زیرا نمی‌تواند گلبول‌های $A_1Le(a-b+)$ یا $OLe(a-b+)$ را آگلوتینه نماید. آنتی- Le^{Bh} توسط بزاق تمامی افراد سکر تور ABH، صرف نظر از اینکه گلبول‌های قرمزشان $Le(a-b+)$ یا $Le(a-b-)$ باشند، مهار می‌گردد. آنتی- Le^{bL} گلبول‌های قرمز $Le(b+)$ را صرف نظر از گروه ABO آگلوتینه می‌نماید. این آنتی-بادی فقط توسط بزاق سکر تورهای ABH که Le^a را نیز ترشح می‌کنند، یعنی نه آنهایی که گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ دارند، مهار می‌گردد. فقط معرف‌های آنتی- Le^{bL} بعنوان معرف‌های مناسب گروه‌بندی آنتی- Le^b استفاده می‌شوند.

همچون آنتی- Le^a ، آنتی- Le^b غالب اوقات در افرادی که گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ دارند یافت می‌شود و بر خلاف آنتی- Le^a ، این افراد عموماً غیر سکر تور ABH می‌باشند [۷۲۶]. در هر حال

1 - Young et al.

2- Andressen

3- Brendemoen

4 - Ceppeleni et al.

گزارشاتی از افراد Le(a-b+) با گروه‌های A₁ یا A₁B وجود دارد که آنتی-Le^b از نوع آنتی-Le^{bH} را ساخته اند [۷۷۶ و ۷۱۸]. آنتی-Le^b در مقایسه با آنتی-Le^a یک آنتی‌بادی نسبتاً کمیاب است. سالمون و کارتون^۱ [۷۵۹] در آزمایشاتی که روی سرم ۷۲۰۰۰ پاریسی انجام دادند، به ۲۵۹ آنتی-Le^a، ۲۹ آنتی-Le^b و فقط دو آنتی-Le^{bL} دست یافتند. آنتی-Le^b بسیاری از خصوصیات سرولوژیکی را که در مورد آنتی-Le^a توضیح داده شد نشان می‌دهد. آنتی‌بادی‌های Le^b ها معمولاً IgM هستند [۵۷۳]. فرانکوئیس و همکاران^۲ [۷۶۳] ۱۴ سرم آنتی-Le^b را با الیگوساکاریدهای مصنوعی آزمایش کردند: چهار نمونه با تری ساکارید Le^a و هفت نمونه با تتراساکارید Le^y (ایزومر نوع ۲ Le^b) واکنش متقاطع ایجاد نمودند، از هفت مورد آخر چهار مورد با تری ساکارید H نیز واکنش دادند (به جدول ۲-۳ مراجعه کنید). بعضی از نمونه‌های آنتی-Le^b لنفوسیتوتوکسیک هستند [۷۷۷ و ۷۱۸].

۲-۱۸-۲ آنتی-Le^b حیوانی، پلی کلونال و مونوکلونال

آنتی-Le^b پلی کلونال که در بزهای مصون شده با مواد گروه خونی بزاق ساخته شده بود، گلبول‌های Le(a-b+) تمامی گروه‌های ABO را آگلوتینه می‌نمود اما بعد از جذب با گلبول‌های A₁Le(a-b+) یا BLe(a-b+)، فقط گلبول‌های OLe(a-b+) یا A₂Le(a-b+) را آگلوتینه می‌کرد [۲۸۱]. چنین به نظر می‌رسید که بز دو آنتی‌بادی قابل تفکیک را تولید نموده است: آنتی-Le^{bL} و آنتی-Le^{bH}. آنتی-Le^b های مونوکلونال بسیاری تولید شده اند، بعضی آنتی-Le^{bL}، بعضی آنتی-Le^{bH} و بعضی نیز دارای واکنش حدواسط می‌باشند (آنتی-Le^{bH,L}) [۶۵۴-۶۵۲، ۷۷۳، ۷۷۸ و ۷۷۹]. تمام نمونه‌های آنتی-Le^{bL} و آنتی-Le^{bH,L} با Le^a واکنش متقاطع می‌دهند و تمام نمونه‌های آنتی-Le^{bH,L} و آنتی-Le^{bH} با H نوع ۱ (Le^d) و Le^y واکنش متقاطع ایجاد می‌نمایند [۷۷۳]. علی‌رغم این واکنش‌های متقاطع، در صورتی که روش‌های مناسب اختصاصی بکار گرفته شوند آنتی-Le^b به عنوان یک معرف بسیار عالی گروهبندی خون عمل خواهد نمود.

۲-۱۸-۳ آنتی-ALe^b

آنتی-ALe^b، آنتی‌بادی که فقط با گلبول‌های قرمز سکرته‌های A₁ لوئیس مثبت (A₁Le(a-b+)) واکنش می‌دهد، ابتدا در سرم یک مرد A₁B با فنوتیپ Le(a-b-) یافت گردید [۷۸۰]، از آن زمان به بعد نمونه‌های دیگری نیز توصیف شدند [۷۳۵ و ۷۸۱]. آنتی-ALe^b ممکن است لنفوسیتوتوکسیک باشد [۷۶۸]. آنتی-ALe^b مونوکلونال ممکن است با ALe^y (ایزومر نوع ۲) واکنش متقاطع ایجاد نماید یا ننماید [۶۴۳ و ۶۴۴]. آنتی-BLe^b گزارش نشده است.

1 - Salmon and Carton

2 - Francois et al.

۲-۱۸-۴ اهمیت بالینی آنتی‌بادی‌های لوئیس

آنتی- Le^a و آنتی- Le^b ، علی‌رغم اینکه آنتی‌بادی‌های نسبتاً شایعی هستند فقط چند مورد واکنش همولیتیک انتقال خون^۱ (HTR) به آنها نسبت داده شده است [۷۸۵-۷۸۲] و بخصوص در مورد آنتی- Le^b کمتر می‌باشد [۷۸۹-۷۸۶]. این احتمالاً بدین دلیل است که اکثر آنتی‌بادی‌های لوئیس در ۳۷ درجه فعال نیستند، زیرا آنتی‌ژن‌های لوئیس در پلاسمای اهداکننده، آنتی‌بادی‌های لوئیس گیرنده را خنثی می‌نمایند و نیز به خاطر اینکه آنتی‌ژن‌های Le^a یا Le^b از سطح گلبول‌های قرمز تزریق شده به یک گیرنده Le(a-b-) کنده (elute) می‌شوند. آنتی‌بادی‌های لوئیس که فقط در آزمایشگاه در دماهای زیر ۳۷ درجه فعال هستند، باعث تشدید کلیرانس گلبول‌های قرمز آنتی‌ژن مثبت تزریق شده در داخل بدن نمی‌گردند [۷۹۰ و ۶۰۷، ۵۷۳]. بدین ترتیب، بیمارانی که آنتی‌بادی‌های لوئیس دارند می‌توانند گلبول‌های قرمزی را که در ۳۷ درجه سازگاری نشان می‌دهند دریافت دارند.

در هر حال ادعا براین است که آنتی‌بادی‌های لوئیس در آسیای جنوب شرقی به طور قابل توجهی قوی‌تر از این آنتی‌بادی‌ها در اروپا هستند و باعث بروز واکنش‌های همولیتیک انتقال خون می‌گردند (د.چاندانا ینگ یونگ^۲، مشاهدات منتشر نشده که در منبع [۵۷۳] عنوان شده است). آنتی‌بادی‌های لوئیس ایجاد بیماری همولیتیک شدید نوزاد (HDN) نمی‌کنند، احتمالاً بدین دلیل که آنتی‌ژن‌ها در ترشحات جنینی وجود دارند و در حالت عادی روی گلبول‌های قرمز جنینی یافت نمی‌شوند.

دو مورد گزارش شده است که در آنها آنتی‌بادی‌های لوئیس، یکی آنتی- Le^a [۷۹۱] و دیگری آنتی- Le^b [۷۹۲] در ایجاد علائم خفیف HDN مطرح شده‌اند. در هر دو مورد آنتی‌بادی‌ها IgG، فعال در ۳۷ درجه و از سطح گلبول‌های قرمز DAT مثبت نوزاد قابل جداسازی (elution) بودند.

۲-۱۸-۵ آنتی‌بادی‌های لوئیس و پیوند کلیه

سلول‌های کلیوی آنتی‌ژن‌های لوئیس را بی‌سوخت می‌نمایند [۷۲۱]. نقش آنتی‌بادی‌های سیتوتوکسیک لوئیس در بقاء پیوند کلیه مورد بحث و مناظره است. در سال ۱۹۷۸، اُریول و همکاران^۳ [۷۹۳] با مطالعه گذشته نگر روی ۲۵۵ گیرنده پیوند کلیه دریافتند که احتمال بقاء دوساله پیوند در گیرندگان Le(a-b-) به صورت معنی‌داری کمتر از گیرندگان لوئیس مثبت است و لذا این نظریه ارائه شد که آنتی‌ژن‌های سیستم لوئیس بعنوان آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی در پیوند کلیه ایفای نقش می‌نمایند. این نظریه با دیگر مطالعات گذشته نگر [۷۹۶-۷۹۴] و نیز با یک مطالعه آینده نگر [۷۹۷] که در آن نشان داده شد

1 - hemolytic transfusion reaction

2 - D.Chandanayingyong

3- Oriol *et al.*

داده شد گیرندگانی که تشابه لوئیس با دهنده خود دارند، بقاء پیوندشان بیشتر از گیرندگانی است که ناسازگاری لوئیس با دهنده خود دارند، حمایت شده است. موارد دیگری نیز که در آنها آنتی‌بادی‌های لوئیس بعنوان دلیل احتمالی رد پیوند کلیوی مطرح شده اند به حمایت بیشتر نظریه فوق منجر شده است [۷۹۸]. اسپیتالنیک و همکاران^۱ [۷۹۹] با استفاده از روش کیتیک ELISA بسیار حساس خود، حضور آنتی- Le^a را در تمامی هشت بیمار $Le(a-b-)$ با پیوندهای رد شده کلیوی، نشان دادند. اما در یک گیرنده $Le(a-b-)$ که پیوند $Le(a-b-)$ در یافت نموده بود یا فت نشد.

بیشتر این آنتی‌بادی‌ها از طریق هماگلوتیناسیون قابل شناسایی نبودند. در هر حال در دو مطالعه آینده نگر دیگر و یک مطالعه گذشته نگر [۸۰۲-۸۰۰]، هیچ اختلاف معنی داری در بقاء پیوند بین گیرندگان پیوند از دهنده لوئیس سازگار و دهنده لوئیس ناسازگار مشاهده نشد، گرچه بیماران $Le(a-b-)$ وقتی کلیه‌های ناسازگار از نظر HLA را دریافت داشتند، در معرض خطر نارسائی پیوند بالاتری بودند. این اطلاعات منتهی به این نظریه شد که نباید کلیه‌ها را بر اساس فنوتیپ لوئیس به منظور پیوند انتخاب نمود [۸۰۱]. آنتی- Le^a ، که احتمال می‌رود از پیوند منشا گرفته باشد، در گیرندگان پیوند کلیه به عنوان عامل بروز نارسائی کلیوی مطرح شده است [۷۲۹ و ۸۰۳].

اتوانتی- Le^{bH} در یک بیمار $Le(a-b+)$ که دو پیوند کلیه دریافت نموده و هردو رد شده بودند، گلبول‌های قرمز خود بیمار را آگلوتینه نمود و توسط بزاق او مهار شد [۷۹۸ و ۸۰۴].

۲-۱۹ دیگر آنتی‌ژن‌های مرتبط با لوئیس

۲-۱۹-۱ Le^{abx} ، آنتی‌ژنی که در ابتدا Le^x نامیده شد

یک آنتی‌ژن که توسط آندرسن و جوردال^۲ [۷۴۳، ۸۰۵ و ۸۰۶] Le^x نامگذاری شد و بر سطح گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ و $Le(a-b+)$ موجود اما بر سطح گلبول‌های $Le(a-b-)$ وجود ندارد، با آنتی- Le^{ab} غیر قابل جداسازی تفاوت دارد زیرا این آنتی‌بادی با ۹۰٪ نمونه‌های گلبول قرمز بند ناف واکنش می‌دهد، علی‌رغم اینکه گلبول‌های قرمز بندناف $Le(a-b-)$ هستند. این ۹۰٪ مربوط به کودکانی است که یک ژن Le دارند و بزودی آنتی‌ژن‌های Le^a یا Le^b گلبول قرمز را ظاهر می‌سازند [۸۰۷]. چون علامت « Le^x » در حال حاضر برای ایزومر نوع ۲ تراساکارید مونوفوکوزیله Le^a (CD15) استفاده می‌شود (بخش ۲-۱۹-۳)، آنتی‌ژنی که در ابتدا Le^x نامیده می‌شد با Le^{abx} معرفی خواهد شد. آنتی- Le^{abx} بطور یکسان با گلبول‌های $A1, A2, OLe(abx+)$ واکنش قوی می‌دهد [۸۰۵ و ۸۰۶]. این آنتی‌بادی توسط بزاق، مایع آمنیوتیک و سرم افراد لوئیس مثبت مهار می‌گردد [۸۰۷]. آنتی‌بادی‌های ضد Le^{abx} ظاهراً ناهمگن هستند: بعضی دی ساکارید لوئیس، $Fuca1 \rightarrow 4GlcNAc$ ، و بعضی شاخص‌های بزرگتر که بین

1- Spitalnik et al.

2 - Andressen and Jordal

Le^a و Le^b مشترک هستند را شناسائی می‌نمایند [۷۶۳، ۸۰۸ و ۸۰۹]، به احتمال زیاد دسترسی آنتی- Le^{abx} به این شاخص‌ها بر سطح گلبول‌های قرمز بند ناف راحت تر از آنتی- Le^a می‌باشد.

۲-۱۹-۲ Le^d و Le^c

Le^c و Le^d آنتی‌ژن‌هایی هستند که به ترتیب بر سطح گلبول‌های قرمز ($Le(a-b-)$) افراد بالغ غیرسکرتور و سکرتور ABH وجود دارند. علائم Le^c و Le^d تا حدودی غیر اختصاصی می‌باشند زیرا هیچ کدام توسط ترانسفراز کد شده ژن لوئیس تولید نمی‌شوند، و امروزه مشخص شده که Le^d ماده H نوع ۱ می‌باشد. Le^c و Le^d همچون Le^a و Le^b ، ساختارهای ذاتی گلبول قرمز نیستند و از پلاسما جذب غشا آن می‌گردند [۸۱۰]. فنوتیپ ($Le(a-b-c-d-)$) فوق العاده نادر است و در ارتباط با کمبود آلفا-۱-فوکوزیل ترانسفراز می‌باشد [۸۱۱].

۲-۱۹-۲-۱ Le^d یا H نوع ۱ (210002)

پتاپو^۱ [۸۱۲] در نتیجه مصون سازی یک بز با بزاق شخص $Le(a-b+)$ و سپس جذب سرم با گلبول‌های $Le(a+b-)$ ، دو نوع آنتی‌بادی را شناسائی نمود: آنتی- Le^b و یک آنتی‌بادی جدید که گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ افراد سکرتور ABH (اما نه غیر سکرتور) را آگلوتینه می‌نمود. وی این آنتی‌بادی دوم را آنتی- Le^d نامید و عنوان آنتی- Le^c را نیز برای آنتی‌بادی احتمالی که با گلبول‌های $Le(a-b-)$ افراد غیر سکرتور واکنش می‌دهد انتخاب نمود. پتاپو و چهار فنوتیپ لوئیس و ژنوتیپ‌های مربوطه را به شرح ذیل پیشنهاد نمود:

$Le(a+b-c-d-)$	Le/Le or Le/le	se/se
$Le(a-b+c-d-)$	Le/Le or Le/le	Se/Se or Se/se
$Le(a-b-c+d-)$	le/le	se/se
$Le(a-b-c-d+)$	le/le	Se/Se or Se/se

دو سال بعد آنتی- Le^a انسانی شناسائی گردید [۸۱۳]. Le^d و H نوع ۱ مترادف می‌باشند. آنتی- Le^d با الیگوساکاریدهایی که حاوی شاخص H نوع ۱ (اما نه نوع ۲) هستند واکنش می‌دهد (جدول ۲-۳) و گلیکواسفنگولیپیدهای دارای فعالیت H که از پلاسمای افراد سکرتور $OLe(a-b-)$ جدا شدند آنتی- Le^d بز را مهار نمودند [۶۵۸]. آنتی- Le^d که از طریق مصون سازی خرگوش‌ها با الیگوساکارید مصنوعی H نوع ۱ تولید شد، با بافت‌های افراد سکرتور ($Le(a-b-)$) واکنش نشان داد [۸۱۴]. H نوع ۱ در پلاسمای افراد سکرتور ABH (فنوتیپ ($Le(a-b-)$)) به Le^b تبدیل نمی‌شود و لذا به مقادیر قابل سنجش بر سطح گلبول‌های قرمز جذب می‌گردد که منجر به ظهور فنوتیپ ($Le(a-b-c-d+)$) می‌شود. Le^d در افراد گروه A و B به ترتیب روی A نوع ۱ (ALe^d) و B نوع ۱ (BLE^d) حمل می‌گردد (به جدول ۲-۳ مراجعه شود). آنتی- A- مونوکلونال نوع ۱ (آنتی- ALe^d) (آنتی‌بادی مونوکلونال علیه A نوع ۱) در بررسی

بیوشیمیائی گلیکولیپیدهای گلبول قرمز مورد استفاده قرار گرفته است [۶۴۲]. آنتی- A_1Le^d مونوکلونال موشی لنفوسیتوتوکسیک گلبول‌های قرمز را آگلوتینه نکرد، اما متعاقب افزودن کمپلمان خرگوش گلبول‌های $A_1Le(d+)$ را لیز نمود [۶۴۱]. آنتی‌بادی‌هایی که با گلبول‌های قرمز افراد سکریتور $Le(a-b-)$ گروه O و A_2 واکنش می‌دهند اما با گلبول‌های قرمز افراد سکریتور $A_1Le(a-b-)$ واکنشی ندارند، آنتی- Le^{dH} نامیده شده اند [۲۸۱].

۲-۱۹-۲ Le^c (210001)

در سال ۱۹۵۷ ایسکی و همکاران^۱ [۸۱۵ و ۸۱۶] با تزریق بزاق سکریتور $Le(a-b-)$ به یک خرگوش، نوعی آنتی‌بادی ضعیف را تولید نمودند. این آنتی‌بادی که آن را آنتی- Le^c نامیدند، با گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ افراد سکریتور و غیر سکریتور واکنش می‌داد و لذا ممکن است در نوشتجات بعدی بصورت آنتی- Le^c+Le^d ذکر شده باشد [۸۱۲]. آنتی- Le^c از نوعی که توسط پتاپو [۸۱۲] پیشنهاد شد، یعنی آنتی‌بادی که فقط با گلبول‌های قرمز افراد غیر سکریتور $Le(a-b-)$ واکنش می‌دهد، از سوی گانسون و لاتام^۲ [۸۱۳] در سال ۱۹۷۲ توصیف گردید. آنتی‌بادی در طول حاملگی چهارم یک زن $OLe(a-b+)$ (ARM) و سکریتور H ، Le^a و Le^b شناسائی شد. نمونه ای دیگر از آنتی- Le^c انسانی در یک مرد $Le(a-b+)$ گروه A که هرگز خون دریافت نکرده بود شناسائی شد [۸۱۷]. دیگر موارد آنتی- Le^c متعاقباً در بزها، به واسطه تزریق بزاق غیر سکریتور $Le(a-b-)$ و جذب سرم ایمنون با گلبول‌های قرمز $Le(c-)$ ایجاد شده اند [۸۱۸، ۸۱۹]. ساختمان Le^c به شفافیت Le^d مشخص نشده است.

گراهام و همکاران^۳ [۲۸۱] معتقد بودند که Le^c می‌تواند نشانگر زنجیره نوع ۱ $Gal\beta 1 \rightarrow 3GlcNAc$ غیر فوکوزیله (ماده پیشساز Le^a و H نوع ۱) باشد که تحت تاثیر فوکوزیل ترانسفرازهای Le یا Se قرار نمی‌گیرد. شواهد بیشتر حاکی از اینکه شاخص Le^c حاوی دی ساکارید مذکور است زمانی حاصل شد که آنتی‌بادی‌های با ویژگی آنتی- Le^c در خرگوش‌های مصون شده با $Gal\beta 1 \rightarrow 3GlcNAc$ ظاهر شدند [۸۱۹]. بعلاوه آنتی‌بادی‌های حاصل شده در بزهای مصون شده با بزاق غیر سکریتور $Le(a-b-)$ و سپس تخلیص شده با استفاده از مواد جاذب $Gal\beta 1 \rightarrow 3GlcNAc$ بصورت آنتی- Le^c عمل نمودند [۸۱۹]. هان فلاند و همکاران^۴ [۸۲۰] پی بردند که اجزاء گلیکواسفنگولیپیدی جدا شده از پلاسمای $OLe(a-b-)$ غیر سکریتور، در مهار نمودن آنتی- Le^c با منشأ انسان یا بز که حامل یک زنجیره الیگوساکاریدی منشعب هستند، بسیار کارآمد و مؤثر می‌باشند. در ساختمان این زنجیره یک شاخه حاوی ماده پیشساز نوع ۱، $Gal\beta 1 \rightarrow 3GlcNAc$ ، و دیگری حاوی یک ساختار مونوفوکوزیله نوع ۲

1 - Iseki *et al.*

2 - Gunson and Latham

3- Graham *et al.*

4 - Hanfland *et al.*

می‌باشد. آنها بدین نتیجه رسیدند که زنجیره نوع ۱ بدون استخلاف، نشانگر Le^c نمی‌باشد، گرچه نقشی را ایفا می‌نماید. شواهد بیشتر حاکی از اینکه یک ساختار نوع ۲ مونوفوکوزیله بخشی اساسی از شاخص Le^c می‌باشد به واسطه فنوتیپ بسیار نادر ($Le(a-b-c-d-)$ فراهم می‌گردد، این فنوتیپ فقط در دو فرد که هر دو نقصان آلفا-۱ و ۳-فوکوزیل ترانسفراز داشتند مشاهده شده است [۸۱]. احتمال می‌رود که آنتی- Le^c حاکی از گروهی غیرهمگن از آنتی‌بادی‌ها باشد که ساختارهای مختلفی را شناسائی مینمایند، این ساختارها که به وفور در پلاسمای افرادی که فاقد هر دو ژن Le و Se هستند یافت می‌شوند به غشاء گلبول‌های قرمز متصل می‌گردند.

۲-۱۹-۳ Le^x ، Le^y و $sialyl-Le^x$

Le^x (CD15) و Le^y ، (ایزومرهای نوع ۲ Le^a و Le^b)، آنتی‌ژن‌های گروه خونی حقیقی نیستند زیرا بر سطح گلبول‌های قرمز قابل شناسائی نمی‌باشند [۴۸]. ساختمان و بیوسنتز آنها در بخش ۲ این فصل توصیف شده است و به واسطه ارتباط بیوشیمیایی آنها با آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس به طور مختصر در اینجا نیز مورد بحث قرار می‌گیرند (جدول ۲-۳). همچون Le^a و Le^b ، حضور یا عدم حضور Le^y در ترشحات اصولاً وابسته به ژن‌هایی در لوکوس سکر‌تور می‌باشد. آنتی‌ژن Le^x با آنتی‌ژن Le^{abx} که در بخش ۲-۱۹-۱ بحث شده تفاوت دارد. آلوانتی‌بادی‌های انسانی بر علیه شاخص‌های Le^x و Le^y مشاهده نشده‌اند، گرچه بعضی از نمونه‌های آنتی- Le^a با آنتی- Le^x و بعضی از نمونه‌های آنتی- Le^b با آنتی- Le^y واکنش متقاطع می‌دهند [۷۶۳]. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موشی علیه شاخص‌های Le^x ، Le^y و ALe^y توصیف شده‌اند [۴۷، ۵۹، ۶۴۳ و ۸۲۱].

sLe^x مشتق سیالیه آنتی‌ژن Le^x می‌باشد و به میزان کمتری بعنوان لیگاند برای حوزه‌های انتهایی آمینی شبیه لکتین در ساختمان سلکتین‌ها عمل می‌کند، سلکتین‌ها خانواده‌ای از مولکول‌های چسبندگی بر سطح اندوتلیوم (سلکتین-E)، لوکوسیت‌ها (سلکتین-L) و پلاکت‌ها (سلکتین-P) می‌باشند [۱۹ و ۲۱۰-۲۰۸]. اتصال سلکتین‌ها به لیگاندهای کربوهیدراتی خود، در پیوند نمودن لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها به اندوتلیوم به ویژه در کانون التهاب اهمیت دارد.

بخش ۵- توزیع بافتی، ارتباطات با بیماری و جنبه‌های عملکردی

۲-۲۰ تجلی آنتی‌ژن‌های لوئیس و ABH روی دیگر گلبول‌های خونی و در دیگر بافت‌ها

۲-۲۰-۱ لکوسیت‌ها

آنتی‌ژن‌های A، B و H ممکن است بر سطح لنفوسیت‌ها شناسائی شوند، اما آنها از پلاسما کسب می‌گردند و لذا بروزشان تحت کنترل لوکوس سکر تور (*FUT2*) می‌باشد [۷۳۸ و ۸۲۵-۸۲۲]. آنتی-A های سیتوتوکسیک با لنفوسیت‌های افراد سکر تور A واکنش می‌دهند اما با لنفوسیت‌های افراد غیر سکر تور A واکنشی نشان نمی‌دهند، قوی ترین واکنش‌ها مربوط به لنفوسیت‌های افراد سکر تور ALe(a-b-) (می‌باشند) [۸۲۳]. همین آنتی‌بادی‌ها با لنفوسیت‌های گروه O که با یک جزء گلیکواسفنگولیپیدی جدا شده از پلاسمای افراد سکر تور ALe(a-b-) مجاور شده بودند، واکنش دادند. لنفوسیت‌های کشت داده شده در سرم افراد A یا B، آنتی‌ژن‌های A یا B را کسب نمودند [۷۶۸]. متعاقب پیوند مغز استخوان، لنفوسیت‌های اهداکنندگان گروه O ممکن است آنتی‌ژن‌های A و B را از پلاسمای گیرنده کسب نمایند [۷۲۸]. تمامی لنفوسیت‌ها در یک کیمر با ژن‌های A^1 و Se بطور یکسان نسبت به لیزتوسط آنتی-A سیتوتوکسیک حساس بودند، با این حال نیمی از آنها مشتق از قل O/O (برادر) بودند [۸۲۲]. لنفوسیت‌ها حاوی آلفا-۱ و ۲-فوکوزیل ترانسفراز [۸۲۶ و ۱۰۹] نمی‌باشند و گزارشات قبلی [۱۹۷ و ۱۹۸] در مورد وجود فعالیت آلفا-۱ و ۲-فوکوزیل ترانسفراز در آنها احتمالا بدلیل آلودگی با پلاکت‌ها بوده است. لنفوسیت‌ها همچون گلبول‌های قرمز آنتی‌ژن‌های لوئیس را از پلاسما جذب می‌نمایند [۷۶۸]. گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها آنتی‌ژن‌های لوئیس را صرفنظر از فنوتیپ سکر تور بیان نمی‌کنند [۸۲۵ و ۸۲۹-۸۲۷]. فعالیت آلفا-۱ و ۲-فوکوزیل ترانسفراز اصلا در گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها مشاهده نشده است [۱۰۹]. در هر حال گرانولوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها دارای فعالیت آلفا-۱ و ۳-فوکوزیل ترانسفراز می‌باشند [۱۰۹] و بر سطح خود Le^x و sLe^x را بروز می‌دهند، شاخص‌های اخیر بعنوان لیگاند‌هایی برای سلکتین‌ها، خانواده ای از مولکول‌های چسبندگی سلولی، عمل می‌نمایند [۲۱۰-۲۰۸].

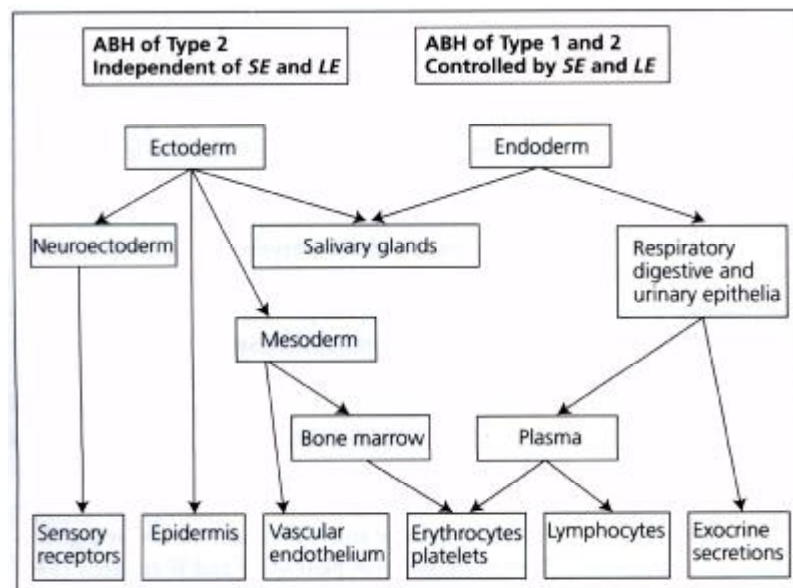
۲-۲۰-۲ پلاکت‌ها

آنتی‌ژن‌های ABH روی پلاکت‌ها و مگاکاریوسیت‌ها نیز موجود می‌باشند [۸۲۶ و ۸۳۲-۸۳۰]. ساختارهای نوع ۱ ABH از پلاسما بر سطح پلاکت‌ها جذب شده و وابسته به فنوتیپ سکر تور می‌باشند، ساختارهای نوع ۲ جزء اجزای ذاتی بوده تحت کنترل ژن *H(FUT1)* می‌باشند [۸۲۶]. آنتی‌ژن‌های ABH پلاکت بر سطح گلیکولیپیدها و نیز گلیکوپروتئین‌های IIb، IIa، IIIa، IV، V، CD31(PECAM) و CD109 متجلی می‌گردند [۸۲۶، ۸۳۸ و ۸۳۳]. پلاکت‌های افراد گروه A2 حامل مقدار بسیار کمی از آنتی‌ژن A می‌باشند [۸۳۸]. پلاکت‌ها حاوی ترانسفرازهای A، B و H می‌باشند [۱۹۷] و رها سازی آلفا-۱ و ۲-فوکوزیل ترانسفراز در طول انعقاد خون ممکن است حاکی از وجود یک منبع عمده پلاسمایی

برای این آنزیم باشد [۵۵۱ و ۱۰۹]. بر خلاف لکوسیت‌ها، پلاکت‌ها حاوی آلفا-۱ و ۳-فوکوزیل ترانسفراز نمی‌باشند [۱۰۹]. آنتی‌ژن Le^a که از پلاسما جذب غشا پلاکت‌ها می‌گردد، بر سطح آنها قابل شناسایی است [۸۳۹]. ناسازگاری ABO ممکن است منجر به تضعیف کارایی تزریق پلاکت در تعداد معدودی از بیمارانی که دارای آنتی-A یا آنتی-B از نوع IgG و با عیار بالا هستند و یا در بیمارانی که نیاز به حمایت طولیل‌المدت دارند، گردد [۸۴۲-۸۴۰ و ۸۳۲]. حدود ۷-۴٪ ژاپنی‌ها و آمریکایی‌های سفید پوست گروه A_1 و A_2 ، آنتی‌ژن‌های A و B پلاکتی را در سطح بالایی بروز می‌دهند [۸۳۴ و ۸۴۳] و ۲٪ آمریکایی‌های گروه A_1 دارای سطح آنتی‌ژن پلاکتی به میزان هفت برابر سطح طبیعی آن می‌باشند [۸۴۳]. این نوسان کمی اثری آنتی‌ژن‌های A و B پلاکتی ممکن است مقاومت پلاکتی ناشی از آنتی-A یا آنتی-B را تحت تاثیر قرار دهد.

۲-۲۰-۳ دیگر بافت‌ها

آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس دارای انتشار وسیعی در بدن انسان می‌باشند و بهتر است که آنتی‌ژن‌های گروه خونی-بافتی نامیده شوند [۱۴]. مقالات فراوانی پیرامون این موضوع در دسترس می‌باشند (بازنگری‌ها در منابع [۸۴۴ و ۲۱، ۱۷، ۱۴]). طرحی که توسط اریول^۱ [۲۱] به منظور توضیح مختصر کنترل ژنتیکی ABH و آنتی‌ژن‌های مربوطه ارائه شد در شکل ۲-۱۲ ترسیم شده است.



شکل ۲-۱۲. نمودار ارائه شده توسط اریول [۲۱] به منظور نشان دادن کنترل ژنتیکی ABH و آنتی‌ژن‌های مربوطه در بافت‌های انسانی مشتق از اکودرم و اندودرم. بعضی از استثنائات بر این مدل در متن توصیف شده‌اند.

قوانین کلی زیر عمومیت یافته اند اگرچه استثنائات معدودی نیز وجود دارند :

۱- در بافت‌های مشتق شده از اکتودرم و مزودرم، آنتی‌ژن‌های ABH تحت کنترل لوکوس *H* (*FUT1*) می‌باشند. ساختارهای ABH نوع ۲، غالباً به همراه آنتی‌ژن‌های Le^x و یا Le^y بیان می‌گردند. بافت‌های مذکور علاوه بر بافت خونساز شامل بافت‌های: پوست، نرون‌های حسی اولیه، اندوتلیوم عروق و گلومرول‌ها و توبول‌های خمیده کلیوی می‌باشند.

۲- در بافت‌هایی که منشأ اندودرم دارند-نظیر مخاط مجاری گوارشی و تنفسی، اپیتلیوم مجاری ادراری-ABH، لوئیس و ساختارهای وابسته به لوئیس ممکن است از انواع ۱ و ۲ باشند و اصولاً تحت کنترل لوکوس‌های سکرترور (*FUT2*) و لوئیس (*FUT3*) می‌باشند. استثنائاتی که براین قواعد وجود دارند شامل بعضی مناطق عمیق مخاط گوارشی که در آنها علی‌رغم دارا بودن منشأ اندودرمی آنتی‌ژن‌های گروه خونی-بافتی، مستقل از ژن‌های لوئیس و سکرترور می‌باشند، و نیز بخش‌هایی از غدد عرقی و پستانی (بافت‌هایی که منشأ اکتودرم دارند) که در آنها آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس تحت کنترل ژن‌های لوئیس و سکرترور هستند. راون و دابل استین^۱ [۸۴۴] طرح دیگری را ارائه داده اند که در آن بیشتر فرآیند تمایز سلول‌های اپیتلیال است (تا منشأ جنینی آنها) که تعیین می‌کند آیا آنتی‌ژن‌های *H* توسط *FUT1* کنترل شوند و یا *FUT2*. به کمک تکنیک‌های ایمونوشیمی و تجزیه و تحلیل‌های ساختمانی، Le^a و Le^b در روده کوچک و روده بزرگ افرادی که گلبول‌های قرمز $Le(a-b-)$ دارند و در بزاقشان فعالیت ترانسفراز لوئیس مشاهده نمی‌شود، شناسائی شده اند [۸۴۷-۸۴۵] (به بخش ۲-۱۶-۳ برای یک توضیح احتمالی مراجعه شود).

۲-۲۰-۴-تومورها

کی و والاس^۲ [۸۴۸] نخستین بار متوجه شدند که آنتی‌ژن‌های ABH گاهی اوقات در بافت‌های بدخیم یافت نمی‌شوند علی‌رغم اینکه در بافت‌های اطراف آنها وجود دارند. دیویدسون^۳ [۸۴۹] متوجه کاربرد بالقوه پیش‌آگهی دهنده^۴ **عدم بروز آنتی‌ژن‌های ABH** در سلول‌های توموری گردید. وی بدنبال مطالعه موارد بسیاری از کارسینوم گردن رحم، ریه، پانکراس و معده بدین نتیجه رسید که از دست رفتن آنتی‌ژن‌های ABH قبل از شروع متاستازها اتفاق می‌افتد و لذا، بجز در موارد استثنائی نادر، حاکی از یک پیش‌آگهی بد می‌باشد. در عوض ناکاگوئه و همکاران^۵ [۸۵۰] دریافتند که عدم بروز آنتی‌ژن‌های ABH تومور در سرطان کولورکتال در ارتباط با یک پیش‌آگهی بد می‌باشد. تغییرات

1 - Ravn and Dabelsteen

2 - Key and Wallace

3- Davidson

4 - prognostic

5 - Nakgoe et al.

آنتی‌ژن‌های ABH و لوئیس در ارتباط با تعداد متنوعی از سرطان‌ها، از سوی لپندو و همکاران^۱ [۸۵۱] بازنگری شده است. ماهیت آنتی‌ژن‌های تغییر یافته ABH، لوئیس و آنتی‌ژن‌های مربوطه گروه خونی-بافتی، با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال و بررسی ترانسفراز مورد مطالعه قرار گرفته است [۱۸، ۱۷، ۱۴]. بطور کلی از دست رفتن آنتی‌ژن‌های A یا B ناشی از عدم فعالیت ترانسفرازهای A یا B می‌باشد که منجر به انباشتگی مواد H، Le^b یا Le^x می‌گردد. این پدیده ممکن است از طریق مختل نمودن برهم کنش سلول توموری با مولکول‌های چسبندگی نقشی را در متاستاز بازی نماید [۱۸]. از دست رفتن آنتی‌ژن‌های A و B از تومورهای بدخیم مثانه ناشی از رونویسی کاهش یافته^۲ ژن ABO می‌باشد، بطوری که mRNA هیچکدام از ژن‌های A یا B در تومورهای درجه بالا^۳ قابل شناسایی نمی‌باشد [۴۸۵]. با مقایسه کلون‌های A⁺ و A⁻ مشتق شده از رده‌های سلولی یکسان سرطان روده بزرگ، در کلونی که فعالیت A از بین رفته بود، اثر تشدید کنندگی واحدهای تکرار شونده پشت سرهم ۴۳ جفت بازی^۴ در منطقه آغازگر ژن ABO کاهش نشان می‌داد در صورتی که متیله شدن CpG این منطقه افزایش یافته بود [۸۵۲].

ساختارهای ABH نوع ۲ و ۱ آنتی‌ژن‌های Le^b ، Le^x و Le^y بر سطح منطقه انتهایی روده بزرگ جنین وجود دارند و با اینکه در این قسمت از روده بزرگ افراد بالغ سالم مشاهده نمی‌شوند اما غالباً در بزرگسالان مبتلا به کارسینوم انتهایی روده بزرگ، بروز مجدد می‌یابند [۸۵۳]. ارتفت و همکاران^۵ [۸۵۴] نشان دادند که بدخیمی انتهایی روده بزرگ در ارتباط با افزایش فعالیت آلفا-۱ و ۲-فوکوزیل ترانسفرازهای H و Se می‌باشد. آنها نتیجه گرفتند که این آنزیم‌ها، حداقل تا حدودی، تجلی سرطانزایی^۶ ABH و آنتی‌ژن‌های مربوطه را در روده بزرگ کنترل می‌نمایند. افزایش بروز گلیکوزیل ترانسفرازها^۷ در تومورها ممکن است منجر به افزایش سطوح ساختارهای کربوهیدراتی خاص در پلاسما گردد [۸۵۵].

مقدار Le^a سیالیه (sLe^a)، که آنتی‌ژن CA19-9 نیز نامیده می‌شود، بعنوان یک مارکر تشخیصی در سرطان کولورکتال، پانکراس و معده و نیز در تعیین پیش آگهی بعد از جراحی کاربرد وسیعی یافته است [۸۵۶، ۸۵۷]. سطوح CA19-9 بسته به ژنوتیپ‌های لوئیس و سکریتور متغیر می‌باشد که این تشخیص سرطان را پیچیده می‌نماید. افراد $Le(a-b-)$ (le/le) هیچ CA19-9 در گردش خون ندارند [۸۵۷]. یک مارکر برای مناطق درگیر در سرطان روده بزرگ در افراد $Le(a-b-)$ ، Le^a سیالیه

1 - Le Pendu *et al.*

2 - down-regulated

3 - High grade

4 - 43bp tandem repeat units

5 - Ørntoft

6 - oncogenic

7 - upregulation

(sLe^a) می‌باشد [۸۵۷]. پدیده ای دیگر که در ارتباط با بدخیمی است، آنتی‌ژن A ناسازگار می‌باشد که گاهی اوقات روی تومورهای افراد گروه O یا B بروز می‌نماید [۸۵۸]. حدود ۱۰٪ تومورهای روده ای بیماران گروه O که برای آلل O^I هموزیگوت می‌باشند، آنتی‌ژن A را بیان می‌نمایند و دارای فعالیت ترانسفراز A می‌باشند [۸۵۹ و ۸۶۰]. اساس مولکولی این تبدیل O به A مشخص نیست اما یاماموتو و همکاران^۱ [۱۲۴] خاطر نشان نمودند که پیرایش متفاوت ABOMRNA^۲، که منجر به از دست رفتن آگزون‌های ۵ و ۶ می‌گردد، هیچ نوع کدون انتقال چهارچوب و یا اختتام ترجمه را ایجاد نخواهد کرد. محصول ژنی پیشنهاد شده، یک گلیکوزیل ترانسفراز ناقص خواهد بود که فاقد حذف نوکلئوتید G261 (مشخصه آلل O^I) و دارای فعالیت ترانسفراز A می‌باشد (به بخش ۲-۳-۲ مراجعه گردد). این مسئله که شیوع بالاتر آدنوکارسینوماهای معده و تخمدان در افراد گروه A ممکن است ناشی از سرکوب رشد و تکامل تومورهای حامل آنتی‌ژن A توسط آنتی-A (که بطور طبیعی در خون افراد گروه O و B وجود دارد) باشد، به نظر امکان پذیر می‌آید.

۲-۲۱ ارتباط با بیماری‌ها

بعضی از موارد ارتباط بین گروه ABO و بیماری قبلا ذکر شده اند، بویژه بیماری همولیتیک نوزاد (بخش ۲-۱۵-۳)، لوکمی (بخش ۲-۱۴-۲)، سرطان (بخش ۲-۲۰-۴)، B اکتسابی ناشی از عفونت باکتریال (بخش ۲-۱۴-۱)، و نقص چسبندگی لوکوسیت نوع ۲ (بخش ۲-۱۳-۵-۲). موارد بسیار دیگری از این ارتباط‌ها گزارش شده اند که عمدتاً بر اساس اختلافات در فراوانی مشاهده شده فنوتیپ ABO بین بیماران و جمعیت سالم می‌باشند (بازنگری‌ها در منابع [۸۶۱، ۸۶۲]). حساسیت در برابر عفونت باکتریایی ناشی از میکروارگانیسم‌های متعدد پاتوژن، در ارتباط با فنوتیپ ABO و یا حالت سکرتر می‌باشد [۲۴]. هنری و ساموئلسون^۳ [۲۴] در یک مقاله بازنگری بسیار جامع، اظهارات خویش را بدین شکل بیان می‌دارند: "معمولاً عفونت‌های باکتریایی به اشخاص گروه A حمله می‌کنند، حال آنکه عفونت‌های ویروسی تمایل دارند به طریقی کاملاً عمومی در ارتباط با افراد گروه O باشند. سرطان‌ها و همینطور بیماری‌های انعقادی، عمدتاً در ارتباط با گروه A هستند، حال آنکه بیماری‌های اتوایمیون و خونریزی دهنده در ارتباط با گروه O می‌باشند. آنتی‌ژن‌های لوئیس ممکن است بعنوان گیرنده‌هایی برای چندین باکتری پاتوژن عمل نمایند [۷۲ و ۸۶۳]. هلیکوباکتر پیلوری^۴ مورد توجه فراوانی قرار گرفته است، یک باکتری گرم منفی که در بیش از ۵۰٪ افراد جمعیت وجود دارد و در ارتباط با ظهور گاستریت،

1 - Yamamoto *et al.*

2 - alternative splicing

3 - Henry and Samuelsson

4 - Helicobacter pylori

زخم‌های معده، اثنی عشر و آدنوکارسینوما می‌باشد [۸۶۴]. در سال ۱۹۹۳ برن و همکاران^۱ [۸۶۵] این مدرک را ارائه دادند که Le^b چسبندگی سوش‌های خاصی از هلیکوباکتر پیلوری به سلول‌های مخاطی معده را وساطت می‌نماید. اتصال باکتری‌ها به سلول‌های مخاطی معده، در حضور گلیکوپروتئین‌های محلول با فعالیت Le^b و نیز آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ویژه Le^b از بین رفت. سلول‌های مخاطی معده که Le^b را بیان می‌نمودند به هلیکوباکتر P466 پیوند یافتند، در صورتی که سلول‌های فاقد Le^b قادر به این اتصال نبودند. H نوع ۱ نیز این اتصال را، گرچه به میزان کمتری، وساطت می‌نمود. ALe^b و BLE^b نیز همچون Le^a به باکتری‌ها اتصال نیافتند که این توضیحی بر این مسئله است که چرا در افراد گروه O احتمال بروز زخم‌های معده و اثنی عشر بالاست [۸۶۱]، اما نه اینکه چرا در افراد غیر سکریتور احتمال زخم اثنی عشر بالا می‌باشد [۸۶۷]. گرچه بعضی مطالعات هیچ نوع ارتباطی را بین گروه خون و حالت سکریتور با بروز آلودگی هلیکوباکتر پیلوری و یا با لنفوم‌های وابسته به این آلودگی نشان نداده‌اند [۸۶۸]، آلکوت و همکاران^۲ [۸۶۹] با بهره‌گیری از تکنیک‌های مختلف دریافتند که H نوع ۲، Le^a و Le^b به هلیکوباکتر پیلوری پیوند می‌یابند، و نیز پیشنهاد نمودند که H نوع ۲ گیرنده اصلی می‌باشد. این مشاهده حساسیت بالای افراد گروه O به زخم‌های گوارشی را توضیح خواهد داد.

بعلاوه اگر Le^b به منظور چسبیدن به مخاط کارآمدتر از Le^a رقابت نماید، این پدیده قادر خواهد بود شدت کولونیزه شدن باکتری در میان افراد سکریتور را کاهش و خطر بالای بروز زخم در افراد غیر سکریتور را توضیح دهد. آنتی‌ژن O لیپوپلی ساکاریدها در اکثر سوش‌های هلیکوباکتر پیلوری، sLe^x , A , Le^b , Le^a , Le^y , Le^x ، و H نوع ۱ را بیان می‌نماید (بازنگری در منبع [۸۷۰]). این آنتی‌ژن‌ها متحمل دگرگونی مرحله ای^۳، به عبارتی تبدیل تصادفی^۴، برگشت پذیر و با فراوانی بالای فنوتیپ، می‌گردند. Le^x سطح هلیکوباکتر پیلوری، واسطه اتصال باکتری به سلول‌های پوششی معده بوده و به منظور کولونیزه شدن ضروری می‌باشد. بر خلاف عقاید قبلی، به نظر نمی‌رسد که شباهت مولکولی بین هلیکوباکتر پیلوری و گلیکو کانژوگه‌های میزبان نقش مهمی را در فرار از سیستم دفاعی میزبان و یا خود ایمنی بازی نماید [۸۷۰]. فوکوزیدوز یک بیماری ذخیره ای نادر لیزوزومی با شیوه توارث اتوزومی مغلوب است که غالباً در طول پنج سال اول حیات کشنده می‌باشد. ویژگی آن انباشتگی گلیکولیپیدها و گلیکوپروتئین‌های فوکوزیله در بافت‌های عصبی و احشائی بعلت کمبود یک آلفا-ال-فوکوزیل ترانسفراز در نتیجه جهش‌های غیر فعال کننده است. فوکوزیدوز منجر به زوال حرکتی و ذهنی می‌گردد [۸۷۱ و ۸۷۲]. افراد مبتلا به این بیماری ممکن است تجلی آنتی‌ژن‌های لوئیس بر سطح گلبول‌های قرمز و در بزاق خود را افزایش دهند [۸۷۵-۸۷۳]. دو فرزند مبتلا به فوکوزیدوز، که از سوی کوسف و

1 - Boren et al.

2 - Alkout et al.

3- Phase variation

4 - random switching

همکاران^۱ [۸۷۴] توصیف شدند، هردو سکتور H بودند و با این حال گلبول‌های قرمز Le(a+b+) داشتند و آنتی‌ژن‌های Le^a و Le^b گلبولی و بزاقی رادر سطوح بسیار بالا بیان نموده بودند. هردو بیمار H به میزان طبیعی داشتند، حاکی از اینکه فوکوزیداز ناقص برای اتصال 4→1α به N-استیل-گلوکزآمین که در ساختارهای با فعالیت لوئیس یافت می‌شود اختصاصی است، نه برای اتصال 2→1α به گالاکتوز در ساختارهای با فعالیت H (جدول ۲-۳ را ببینید). بعلاوه این نتایج حاکی از این است که بیوسنتز ساختارهای فوکوزیده در افراد سالم به یک تعادل بین فعالیت آنزیم‌های فوکوزیل ترانسفراز و فوکوزیداز بستگی دارد. عدم تجلی آنتی‌ژن لوئیس گلبول قرمز ممکن است در مونونوکلئوز عفونی توام با همولیز ایمیون [۸۷۶]، در اشکال متعدد سرطان (پانکراس، معده، کولورکتال، مجرای صفراوی و مثانه) [۸۷۷] و [۸۷۸] و در سیروز الکلی، پانکراتیت الکلی و بیماری شدید کلیوی [۸۹۷] حادث گردد (اما نه در بیماری کبدی غیر الکلی).

۲-۲ جنبه‌های عملکردی

نقشی که از سوی Le^x سیالیده (sLe^x) و به میزان کمتری sLe^a به عنوان لیگاندهایی برای مولکول‌های چسبندگی سلولی شبیه لکتین (سلکتین‌ها) ایفا می‌گردد در بخش‌های ۲-۳-۴ و ۲-۱۹-۳ ذکر گردیده است. غیر از آن اطلاعاتی دیگر در مورد عملکرد آنتی‌ژن‌های ABO و لوئیس تقریباً در دسترس نمی‌باشد. غشا گلبول قرمز دارای تقریباً ۱۰^۶ مولکول باند ۳ (مبادله کننده آنیون)، ۷×۱۰^۵ مولکول انتقال دهنده گلوکز و حدود ۱۰^۶ مولکول از لیپیدهای پلی گلیکوزیده می‌باشد [۸۸۰]. تمامی این مولکول‌ها به اضافه بعضی از مولکول‌های دیگر با فراوانی کمتر، آنتی‌ژن‌های ABH را حمل می‌نمایند. الیگوساکاریدهای دارای فعالیت ABH بخشی از گلیکوکالیکس یا پوشش سلولی را می‌سازند، یک ماتریکس خارج سلولی از کربوهیدرات که سلول را در برابر آسیب مکانیکی و حمله میکروارگانیسم‌های پاتوژن محافظت می‌نماید [۸۸۰ و ۸۸۱]. مارتینکو و همکاران^۲ [۱۵۲] معتقدند که پلی مرفیسم A/B دارای یک قدمت حداقل ۱۳ میلیون ساله است و احتمالاً از طریق انتخاب حفظ شده است. ماهیت پایداری این انتخاب به صورت یک راز باقی مانده است، اما احتمال می‌رود که در ایجاد حساسیت در مقابل عفونت‌های میکروبی در سراسر بدن مشارکت داشته باشد.

1- Koussef et al.

2 - Martinko et al.

References

- 1 Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. *Zentralbl Bakt* 1900;27: 357-66.
- 2 Landsteiner K. Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. Agglutination phenomena in normal human blood. *Wien Klin Wochenschr* 1901;14:1132-4.
- 3 von Decastello A, Stürli A. Über die Isoagglutinin im Serum gesunder und kranker Menschen. *München Med Wochenschr* 1902;26:1090-5.
- 4 Epstein AA, Ottenberg R. A simple method of performing serum reactions. *Proc NY Path Soc* 1908;8:117-23.
- 5 von Dungern E, Hirschfeld L. Ueber Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes. *Z Immun Forsch* 1910;6:284-92. [For translation see *Transfusion* 1962;2:70-4.]
- 6 Bernstein F. Ergebnisse einer biostatistischen zusammenfassenden Betrachtung über die erblichen Blutstrukturen des Menschen. *Klin Wochenschr* 1924;3:1495-7.
- 7 Bernstein F. Zusammenfassende Betrachtungen über die erblichen Blutstrukturen des Menschen. *Z Indukt Abstamm u Vererb Lehre* 1925;37:237-70.
- 8 Thomsen O, Friedenreich V, Worsaae E. Über die Möglichkeit der Existenz zweier neuer Blutgruppen; auch ein Beitrag zur Beleuchtung sogenannter Untergruppen. *Acta Path Microbiol Scand* 1930;7:157-90.
- 9 Morgan WTJ. A contribution to human biochemical genetics the chemical basis of blood-group specificity. *Proc R Soc Lond B* 1960;151:308-47.
- 10 Watkins WM. Biochemistry and genetics of the ABO, Lewis, and P blood group systems. In: Harris H, Hirschhorn K, eds. *Advances in Human Genetics* Vol. 10. New York: Plenum Press 1981:1-136.
- 11 Kabat EA. *Blood Group Substances: Their Chemistry and Immunochemistry*. New York: Academic Press 1956.
- 12 Mourant AE. A 'new' human blood group antigen of frequent occurrence. *Nature* 1946;158:237-8.
- 13 Andresen PH. The blood group system L: a new blood group L_2 . A case of epistasy within the blood groups. *Acta Path Microbiol Scand* 1948;25:728-31.

- 14 Clausen H, Hakomori S. ABH and related histo-blood group antigens; immunochemical differences in carrier isotypes and their distribution. *Vox Sang* 1989;56:1-20.
- 15 Watkins WM, Greenwell P, Yates AD, Johnson PH. Regulation of expression of carbohydrate blood group antigens. *Biochimie* 1988;70:1597-611.
- 16 Hakomori S. Blood group ABH and Ii antigens of human erythrocytes: chemistry, polymorphism, and their developmental change. *Semin Hematol* 1981;18:39-62.
- 17 Lloyd KO. Blood group antigens as markers for normal differentiation and malignant change in human tissues. *Am J Clin Pathol* 1987;87:129-39.
- 18 Hakomori S. Antigen structure and genetic basis of histo-blood groups A, B and O: their changes associated with human cancer. *Biochim Biophys Acta* 1999;1473:247-66.
- 19 Watkins WM, Skacel PO, Johnson PH. Human fucosyltransferases. In: Garegg PJ, Lindber AA, eds. *Carbohydrate Antigens. Amer Chem Soc Symp Ser* 1992;34-63.
- 20 Clausen H, Bennett EP, Grunnet N. Molecular genetics of the ABO histo-blood groups. *Transfus Clin Biol* 1994;1:79-89.
- 21 Oriol R. ABO, Hh, Lewis, and secretion: serology, genetics, and tissue distribution. In: Cartron J-P, Rouger P, eds. *Blood Cell Biochemistry Vol. 6*. New York: Plenum Press 1995:36-73.
- 22 Lowe JB. Biochemistry and biosynthesis of ABH and Lewis antigens: characterization of blood group-specific glycosyltransferases. In: Cartron J-P, Rouger P, eds. *Blood Cell Biochemistry Vol. 6*. New York: Plenum Press 1995:75-115.
- 23 Henry S, Oriol R, Samuelsson B. Lewis histo-blood group system and associated secretory phenotypes. *Vox Sang* 1995;69:166-82.
- 24 Henry S, Samuelsson B. ABO polymorphisms and their putative biological relationships with disease. In: King M-J, ed. *Human Blood Cells: Consequences of Genetic Polymorphism and Variations*. London: Imperial College Press 2000:1-103.
- 25 Finne J. Identification of the blood-group ABH-active glycoprotein components of human erythrocyte membrane. *Eur J Biochem* 1980;104:181-9.
- 26 Finne J, Krusius T, Rauvala H, Järnefelt J. Molecular nature of the blood-group ABH antigens of the human erythrocyte membrane. *Rev Franc Transfus Immunohémat* 1980;23:545-52.
- 27 Schenkel-Brunner H. Blood-group-ABH antigens of human erythrocytes. *Eur J Biochem* 1980;104:529-34.
- 28 Wilczynska Z, Miller-Podraza H, Koscielak J. The contribution of different glycoconjugates to the total ABH blood group activity of human erythrocytes. *FEBS Lett* 1980;112:277-9.
- 29 Karhi KK, Gahmberg CG. Identification of blood group A-active glycoproteins in the human erythrocyte membrane. *Biochim Biophys Acta* 1980;622:344-54.
- 30 Fukuda M, Fukuda MN. Changes in cell surface glycoproteins and carbohydrate structures during the development and differentiation of human erythroid cells. *J Supramol Struct* 1981;17:313-24.
- 31 Anstee DJ. Blood group-active surface molecules of the human red blood cell. *Vox Sang* 1990;58:1-20.
- 32 Anstee DJ, Tanner MJA. Separation of ABH, I, Ss antigenic activity from the MN-active sialoglycoprotein of the human erythrocyte membrane. *Vox Sang* 1975;29:378-89.
- 33 Moore S, Green C. The identification of specific Rhesus polypeptide blood group ABH active glycoprotein complexes in the human red-cell membrane. *Biochem J* 1987;244:735-41.
- 34 Koscielak J, Miller-Podraza H, Krauze R, Piasek A. Isolation and characterization of poly (glycosyl) ceramides (megalogycolipids) with A, H and I blood-group activities. *Eur J Biochem* 1976;71:9-18.
- 35 Morgan WTJ, Van Heyningen R. The occurrence of A, B and O blood group substances in pseudo-mucinous ovarian cyst fluids. *Br J Exp Path* 1944;25:5-15.
- 36 Kobata A. Isolation of oligosaccharides from human milk. *Methods Enzymol* 1972;28:262-71.
- 37 Lundblad A. Oligosaccharides from human urine. *Methods Enzymol* 1978;50:226-35.
- 38 Oriol R. Genetic control of the fucosylation of ABH precursor chains: evidence for new epistatic interactions in different cells and tissues. *J Immunogenet* 1990;17:235-45.
- 39 Rege VP, Painter TJ, Watkins WM, Morgan WTJ. Isolation of serologically active fucose-containing oligosaccharides from human blood-group H substance. *Nature* 1964;203:360-3.
- 40 Lloyd KO, Kabat EA, Layug EJ, Gruezo F. Immunochemical studies on blood groups. XXXIV. Structures of some oligosaccharides produced by alkaline degradation of blood group A, B, and H substances. *Biochemistry* 1966;5:1489-501.
- 41 Watkins WM, Morgan WTJ. Specific inhibition studies relating to the Lewis blood-group system. *Nature* 1957;180:1038-40.
- 42 Watkins WM, Morgan WTJ. Further observations on the inhibition of blood-group specific serological reactions by simple sugars of known structure. *Vox Sang* 1962;7:129-50.
- 43 Rege VP, Painter TJ, Watkins WM, Morgan WTJ. Isolation of a serologically active, fucose-containing, trisaccharide from human blood-group Le^a substance. *Nature* 1964;204:740-2.
- 44 Lloyd KO, Kabat EA, Licerio E. Immunochemical studies on blood groups. XXXVIII. Structures and activities of oligosaccharides produced by alkaline degradation of blood-group Lewis^x substance: proposed structure of the carbohydrate chains of human blood-

- group A, B, H, Le^a, and Le^b substances. *Biochemistry* 1968;7:2967-90.
- 45 Marr AMS, Donald ASR, Watkins WM, Morgan WTJ. Molecular and genetic aspects of human blood-group Le^b specificity. *Nature* 1967;215:1345-9.
 - 46 Marr AMS, Donald ASR, Morgan WTJ. Two new oligosaccharides obtained from an Le^a-active glycoprotein. *Biochem J* 1968;110:789-91.
 - 47 Gooi HC, Feizi T, Kapadia A *et al*. Stage-specific embryonic antigen involves $\alpha 1 \rightarrow 3$ fucosylated type 2 blood group chains. *Nature* 1981;292:156-8.
 - 48 Clausen H, Lavery SB, Nudelman E, Baldwin M, Hakomori S. Further characterization of Type 2 and Type 3 chain blood group A glycosphingolipids from human erythrocyte membranes. *Biochemistry* 1986;25:7075-8.
 - 49 Magnani JL, Nilsson B, Brockhaus M *et al*. A monoclonal antibody-defined antigen associated with gastrointestinal cancer is a ganglioside containing sialylated lacto-N-fucopentaose II. *J Biol Chem* 1982;257:14365-9.
 - 50 Picard JK, Loveday D, Feizi T. Evidence for sialylated Type 1 blood group chains on human erythrocyte membranes revealed by agglutination of neuraminidase-treated erythrocytes with Waldenström's macroglobulin IgM^{W00} and hybridoma antibody FC 10.2. *Vox Sang* 1985;48:26-33.
 - 51 Fukushima K, Hirota M, Terasaki PI *et al*. Characterization of sialosylated Lewis^x as a new tumor-associated antigen. *Cancer Res* 1984;44:5279-85.
 - 52 Marcus DM, Cass LE. Glycosphingolipids with Lewis blood group activity: uptake by human erythrocytes. *Science* 1969;164:553-5.
 - 53 Kannagi R, Lavery SB, Hakomori S. Le^a-active heptaglycosylceramide, a hybrid of Type 1 and Type 2 chain, and the pattern of glycolipids with Le^a, Le^b, X (Le^x), and Y (Le^y) determinants in human blood cell membranes (ghosts). *J Biol Chem* 1984;260:6410-5.
 - 54 Henry SM, Woodfield DG, Samuelsson BE, Oriol R. Plasma and red-cell glycolipid patterns of Le (a+b+) and Le (a+b-) Polynesians as further evidence of the weak secretor gene Se^W. *Vox Sang* 1993;65:62-9.
 - 55 Henry SM, Oriol R, Samuelsson BE. Detection and characterization of Lewis antigens in plasma of Lewis-negative individuals: evidence of chain extension as a result of reduced fucosyltransferase competition. *Vox Sang* 1994;67:387-96.
 - 56 Henry SM, Oriol R, Samuelsson BE. Expression of Lewis histo-blood group glycolipids in the plasma of individuals of Le (a+b+) and partial secretor phenotypes. *Glycocon J* 1994;11:593-9.
 - 57 Stroud MR, Lavery SB, Nudelman ED *et al*. Extended Type 1 chain glycosphingolipids: dimeric Le^a (III^aV^aFuc₂Lc₆) as human tumor-associated antigen. *J Biol Chem* 1991;266:8439-46.
 - 58 Stroud MR, Lavery SB, Salyan MEK, Roberts CE, Hakomori S. Extended type-1 chain glycosphingolipid antigens: isolation and characterization of trifucosyl-Le^b antigen (III^aV^aVI^aFuc₃Lc₆). *Eur J Biochem* 1992;203:577-86.
 - 59 Sakamoto J, Yin BWT, Lloyd KO. Analysis of the expression of H, Lewis, X, Y and precursor blood group determinants in saliva and red cells using a panel of mouse monoclonal antibodies. *Mol Immunol* 1984;21:1093-8.
 - 60 Furukawa K, Welt S, Yin BWT *et al*. Analysis of the fine specificities of 11 mouse monoclonal antibodies reactive with Type 2 blood group determinants. *Mol Immunol* 1990;27:723-32.
 - 61 Donald ASR. A-active trisaccharides isolated from A₁ and A₂ blood-group-specific glycoproteins. *Eur J Biochem* 1981;120:243-9.
 - 62 Le Pendu J, Lambert F, Samuelsson B *et al*. Monoclonal antibodies specific for Type 3 and Type 4 chain-based blood group determinants: relationship to the A₁ and A₂ subgroups. *Glycocon J* 1986;3:255-71.
 - 63 Clausen H, Lavery SB, Nudelman E, Tsuchiya S, Hakomori S. Repetitive A epitope (type 3 chain A) defined by blood group A₁-specific monoclonal antibody TH-1: chemical basis of qualitative A₁ and A₂ distinction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:1199-203.
 - 64 Clausen H, Lavery SB, Kannagi R, Hakomori S. Novel blood group H glycolipid antigens exclusively expressed in blood group A and AB erythrocytes (Type 3 chain H). I. Isolation and chemical characterization. *J Biol Chem* 1986;261:1380-7.
 - 65 Clausen H, Holmes E, Hakomori S. Novel blood group H glycolipid antigens exclusively expressed in blood group A and AB erythrocytes (Type 3 chain H). II. Differential conversion of different H substrates by A₁ and A₂ enzymes, and Type 3 chain H expression in relation to secretor status. *J Biol Chem* 1986;261:1388-92.
 - 66 Kannagi R, Lavery SB, Hakomori S. Blood group H antigen with globo-series structure: isolation and characterization from human blood group O erythrocytes. *FEBS Lett* 1984;175:397-401.
 - 67 Clausen H, Watanabe K, Kannagi R *et al*. Blood group A glycolipid (A^x) with globo-series structure which is specific for blood group A₁ erythrocytes: one of the chemical bases for A₁ and A₂ distinction. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;124:523-9.
 - 68 Breimer ME, Jovall P-Å. Structural characterization of a blood group A heptaglycosylceramide with globo-series structure: the major glycolipid based blood group A antigen of human kidney. *FEBS Lett* 1985;179:165-72.
 - 69 Holgersson J, Båcker AE, Breimer ME *et al*. The blood group B type-4 heptaglycosylceramide is a minor blood group B structure in human B kidneys in contrast to the corresponding A type-4 compound in A kidneys: structural and *in vitro* biosynthetic studies. *Biochim Biophys Acta* 1992;1180:33-43.
 - 70 Lindström K, Jovall P-Å, Ghardashkani S, Samuelsson

- BE, Breimer ME. Blood group glycosphingolipid expression in kidney of an individual with the rare blood group A₁ Le (a-b+), p phenotype: absence of blood group structures based on the globoseries. *Glycocon J* 1996;13:307-13.
- 71 Paulson JC, Colley KJ. Glycosyltransferases: structure, localization, and control of cell type-specific glycosylation. *J Biol Chem* 1989;264:17615-18.
- 72 Costache M, Cailleau A, Fernandez-Mateos P, Oriol R, Mollicone R. Advances in molecular genetics of α -2- and α -3/4-fucosyltransferases. *Transfus Clin Biol* 1997;4:367-82.
- 73 Le Pendu J, Cartron JP, Lemieux RU, Oriol R. The presence of at least two different H-blood-group-related β -D-Gal α -2-L-fucosyltransferases in human serum and the genetics of blood group H substances. *Am J Hum Genet* 1985;37:749-60.
- 74 Kumazaki T, Yoshida A. Biochemical evidence that secretor gene, Se, is a structural gene encoding a specific fucosyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:4193-7.
- 75 Betteridge A, Watkins WM. Variant forms of α -2-L-fucosyltransferase in human submaxillary glands from blood group ABH 'secretor' and 'non-secretor' individuals. *Glycocon J* 1985;2:61-78.
- 76 Henry S, Mollicone R, Fernandez P *et al*. Molecular basis for erythrocyte Le (a+b+) and salivary ABH partial-secretor phenotypes: expression of a FUT2 secretor allele with an A $\rightarrow$ T mutation at nucleotide 385 correlates with reduced α (1,2)fucosyltransferase activity. *Glycocon J* 1996;13:985-93.
- 77 Rouquier S, Lowe JB, Kelly RJ *et al*. Molecular cloning of a human genomic region containing the H blood group α (1,2)fucosyltransferase gene and two H locus-related DNA restriction fragments: isolation of a candidate gene for the human Secretor blood group locus. *J Biol Chem* 1995;270:4632-4639.
- 78 Kelly RJ, Rouquier S, Giorgi D, Lennon GG, Lowe JB. Sequence and expression of a candidate for the human Secretor blood group α (1,2)fucosyltransferase gene (FUT2): homozygosity for an enzyme-inactivating nonsense mutation commonly correlates with the non-secretor phenotype. *J Biol Chem* 1995;270:4640-4649.
- 79 Koda Y, Soejima M, Kimura H. Structure and expression of H-type GDP-L-fucose: β -D-galactoside 2- α -L-fucosyltransferase gene (FUT1). *J Biol Chem* 1997;272:7501-5.
- 80 Koda Y, Soejima M, Wang B, Kimura H. Structure and expression of the gene encoding 2- α -L-fucosyltransferase (FUT2). *Eur J Biochem* 1997;246:750-5.
- 81 Ernst LK, Rajan VP, Larsen RD, Ruff MM, Lowe JB. Stable expression of blood group H determinants and GDP-L-fucose: β -D-galactoside 2- α -L-fucosyltransferase in mouse cells after transfection with human DNA. *J Biol Chem* 1989;264:3436-47.
- 82 Rajan VP, Larsen RD, Aimera S, Ernst LK, Lowe JB. A cloned human DNA restriction fragment determines expression of a GDP-L-fucose: β -D-galactoside 2- α -L-fucosyltransferase in transfected cells: evidence for isolation and transfer of the human H blood group locus. *J Biol Chem* 1989;264:11158-67.
- 83 Larsen RD, Ernst LK, Nair RP, Lowe JB. Molecular cloning, sequence, and expression of a human GDP-L-fucose: β -D-galactoside 2- α -L-fucosyltransferase cDNA that can form the H blood group antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:6674-8.
- 84 Prieto PA, Larsen RD, Cho M *et al*. Expression of human H-type α 1,2-fucosyltransferase encoding for blood group H (O) antigen in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1997;272:2089-97.
- 85 Schiff F, Sasaki H. Der Ausscheidungstypus, ein auf serologischem Wege nachweisbares Mendelndes Merkmal. *Klin Wochenschr* 1932;11:1426-9.
- 86 Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 5th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1968.
- 87 Lemieux RU. Human blood groups and carbohydrate chemistry. *Chem Soc Rev* 1978;7:423-52.
- 88 Oriol R. Interactions of ABO, Hh, secretor and Lewis systems. *Rev Franc Transfus Immuno-Hemat* 1980;23:517-26.
- 89 Oriol R, Danilovs J, Hawkins BR. A new genetic model proposing that the Se gene is a structural gene closely linked to the H gene. *Am J Hum Genet* 1981;33:421-31.
- 90 Le Pendu J, Lemieux RU, Lambert F, Dalix A-M, Oriol R. Distribution of H Type 1 and H Type 2 antigenic determinants in human sera and saliva. *Am J Hum Genet* 1982;34:402-15.
- 91 Le Pendu J, Oriol R, Juszcak G *et al*. α -2-L-fucosyltransferase activity in sera of individuals with H-deficient red cells and normal H antigen in secretions. *Vox Sang* 1983;44:360-5.
- 92 Sarnesto A, Köhlin T, Thurin J, Blaszczyk-Thurin M. Purification of H gene-encoded β -galactoside α 1 $\rightarrow$ 2 fucosyltransferase from human serum. *J Biol Chem* 1990;265:15067-75.
- 93 Schenkel-Brunner H, Prohaska R, Tuppy H. Action of glycosyl transferases upon 'Bombay' (O_B) erythrocytes. *Eur J Biochem* 1975;56:591-4.
- 94 Henry S, Mollicone R, Lowe JB, Samuelsson B, Larson GA. A second nonsecretor allele of the blood group α (1,2)-fucosyltransferase gene (FUT2). *Vox Sang* 1996;70:21-25.
- 95 Yazawa S, Kishi K, Akamatsu S, Oh-kawara H, Seno T, Okubo Y. A search for the Secretor gene nonsense mutation (G428 to A428) in Japanese nonsecretors. *Transfusion* 1996;36:286 [letter].
- 96 Liu Y, Koda Y, Soejima M *et al*. Extensive polymorphism of the FUT2 gene in an African (Xhosa) population of South Africa. *Hum Genet* 1998;103:204-10.
- 97 Yu L-C, Yang Y-H, Broadberry RE, Chen Y-H, Chan

- Y-S, Lin M. Correlation of a missense mutation in the human *Secretor* α 1,2-fucosyltransferase gene with the Lewis (a+b+) phenotype: a potential molecular basis for the weak *Secretor* allele (*Se*^w). *Biochem J* 1995;312:329-32.
- 98 Koda Y, Soejima M, Liu Y, Kimura H. Molecular basis for secretor type α 1,2-fucosyltransferase gene deficiency in a Japanese population: a fusion gene generated by unequal crossover responsible for the enzyme deficiency. *Am J Hum Genet* 1996;59:343-50.
- 99 Kudo T, Iwasaki H, Nishihara S *et al*. Molecular genetic analysis of the human Lewis histo-blood groups system. II. Secretor gene inactivation by a novel missense mutation A385T in Japanese nonsecretor individuals. *J Biol Chem* 1996;271:9830-7.
- 100 Henry S, Mollicone R, Fernandez P *et al*. Homozygous expression of a missense mutation at nucleotide 385 in the *FUT2* gene associates with the Le (a+b+) partial-secretor phenotype in an Indonesian family. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;219:675-8.
- 101 Peng CT, Tsai CH, Lin TP *et al*. Molecular characterization of secretor type α (1,2)fucosyltransferase gene deficiency in the Philippine population. *Ann Hematol* 1999;78:463-7.
- 102 Yu L-C, Broadberry RE, Yang Y-H, Chen Y-H, Lin M. Heterogeneity of the human *Secretor* α 1,2fucosyltransferase gene among Lewis(a+b-) non-secretors. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;222:390-4.
- 103 Liu Y-H, Koda Y, Soejima M *et al*. The fusion gene at the ABO-secretor locus (*FUT2*): absence in Chinese populations. *J Hum Genet* 1999; 1996;44:181-4.
- 104 Yu L-C, Lee HL, Chu C-C, Broadberry RE, Lin MA. A newly identified nonsecretor allele of the human histo-blood group α (1,2) fucosyltransferase gene (*FUT2*). *Vox Sang* 1999;76:115-9.
- 105 Koda Y, Soejima M, Johnson PH, Smart E, Kimura H. Missense mutation of *FUT1* and deletion of *FUT2* are responsible for Indian Bombay phenotype of ABO blood group system. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;238:21-5.
- 106 Fernandez-Mateos P, Cailleau A, Henry S *et al*. Point mutations and deletion responsible for the Bombay H null and the Révillon H weak blood groups. *Vox Sang* 1998;75:37-46.
- 107 Svensson L, Petersson A, Henry SM. Secretor genotyping for A385T, G428A, C571T, C628T, 685delTGG, G849A, and other mutations from a single PCR. *Transfusion* 2000;40:856-60.
- 108 Mulet C, Cartron JP, Badet J, Salmon C. Activity of 2- α -L-fucosyltransferase in human sera and red cell membranes. *FEBS Lett* 1977;84:74-8.
- 109 Skacel PO, Watkins WM. Fucosyltransferase expression in human platelets and leucocytes. *Glycocon J* 1987;4:267-72.
- 110 Schenkel-Brunner H, Tuppy H. Enzymes from human gastric mucosa conferring blood-group A and B specificities upon erythrocytes. *Eur J Biochem* 1970;17:218-22.
- 111 Race C, Watkins WM. The action of blood group B gene-specified α -galactosyltransferase from human serum and stomach mucosal extracts on group O and 'Bombay' O_h erythrocytes. *Vox Sang* 1972;23:385-401.
- 112 Kogure T, Furukawa K. Enzymatic conversion of human group O red cells into group B active cells by α -D-galactosyltransferases of sera and salivas from group B and its variant types. *J Immunogenet* 1976;3:147-54.
- 113 Pacuszka T, Koscielak J. The biosynthesis of blood-group-B character on human O-erythrocytes by a soluble α -galactosyltransferase from milk. *Eur J Biochem* 1972;31:574-7.
- 114 Barbolla L, Mojena M, Cienfuegos JA, Escartin P. Presence of an inhibitor of glycosyltransferase activity in a patient following an ABO incompatible liver transplant. *Br J Haematol* 1988;69:93-6.
- 115 Barbolla L, Mojena M, Bosca L. Presence of antibody to A- and B-transferases in minor incompatible bone marrow transplants. *Br J Haematol* 1988;70:471-6.
- 116 Kominato Y, Fujikura T, Shimada I *et al*. Monoclonal antibody to blood group glycosyltransferases, produced by hybrids constructed with Epstein-Barr-virus-transformed B lymphocytes from a patient with ABO-incompatible bone marrow transplant and mouse myeloma cells. *Vox Sang* 1990;59:116-8.
- 117 Rydberg L, Samuelsson BE. Presence of glycosyltransferase inhibitors in the sera of patients with long-term surviving ABO incompatible (A₂ to O) kidney grafts. *Transfus Med* 1991;1:177-82.
- 118 Amano J, Straehl P, Berger EG, Kochibe N, Kobata A. Structures of mucin-type sugar chains of the galactosyltransferase purified from human milk: occurrence of the ABO and Lewis blood group determinants. *J Biol Chem* 1991;266:11461-77.
- 119 Yoshida A, Yamaguchi YF, Dave V. Immunologic homology of human blood group glycosyltransferases and genetic background of blood group (ABO) determination. *Blood* 1979;54:344-50.
- 120 White T, Mandel U, Ørntoft TF *et al*. Murine monoclonal antibodies directed to the human histo-blood group A transferase (UDP-GalNAc: Fuc α 1 $\rightarrow$ 2Gal α 1 $\rightarrow$ 3-N-acetylgalactosaminyltransferase) and the presence therein of N-linked histo-blood group A determinant. *Biochemistry* 1990;29:2740-7.
- 121 Clausen H, White T, Takio K *et al*. Isolation to homogeneity and partial characterization of a histo-blood group A defined Fuc α 1 $\rightarrow$ 2Gal α 1 $\rightarrow$ 3-N-acetylgalactosaminyltransferase from human lung tissue. *J Biol Chem* 1990;265:1139-45.
- 122 Navaratnam N, Findlay JBC, Keen JN, Watkins WM. Purification, properties and partial amino acid sequence of the blood-group-A-gene-associated α -3-N-

- acetylgalactosaminyltransferase from human gut mucosal tissue. *Biochem J* 1990;271:93-8.
- 123 Yamamoto F, Marken J, Tsuji T *et al*. Cloning and characterisation of DNA complementary to human UDP-GalNAc:Fuc α 1 $\rightarrow$ 2Gal α 1 $\rightarrow$ 3GalNAc transferase (histo-blood group A transferase) mRNA. *J Biol Chem* 1990;265:1146-51.
 - 124 Yamamoto F, McNeill PD, Hakomori S. Genomic organization of human histo-blood group ABO genes. *Glycobiology* 1995;5:51-8.
 - 125 Yamamoto F, Clausen H, White T, Marken J, Hakomori S. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature* 1990;345:229-33.
 - 126 Yamamoto F, Hakomori S. Sugar-nucleotide donor specificity of histo-blood group A and B transferases is based on amino acid substitutions. *J Biol Chem* 1990;265:19257-62.
 - 127 O'Keefe DS, Dobrovic A. Decreased stability of the O allele mRNA transcript of the ABO gene. *Blood* 1996;87:3061-8 [letter].
 - 128 Yamamoto F, McNeill PD, Hakomori S. Human histo-blood group A² transferase coded by A² allele, one of the A subtypes, is characterized by a single base deletion in the coding sequence, which results in an additional domain at the carboxyl terminal. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;187:366-74.
 - 129 Olsson ML, Chester MA. Frequent occurrence of a variant O² gene at the blood group ABO locus. *Vox Sang* 1996;70:26-30.
 - 130 Mifsud NA, Haddad AP, Condon JA, Sparrow RL. ABO genotyping-identification of O¹, O^{1*}, and O² alleles using the polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide (PCR-SSO) technique. *Immunohematology* 1996;12:149-53.
 - 131 Olsson ML, Santos SEB, Guerreiro JF, Zago MA, Chester MA. Heterogeneity of the O alleles at the blood group ABO locus in Amerindians. *Vox Sang* 1998;74:46-50.
 - 132 Fukumori Y, Ohnoki S, Shibata H, Nishimukai H. Sub-alleles of the ABO blood group system in a Japanese population. *Hum Hered* 1996;46:85-91.
 - 133 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. *Hum Genet* 1996;97:777-83.
 - 134 Yip SP. Single-tube multiplex PCR-SSCP analysis distinguishes 7 common ABO alleles and readily identifies new alleles. *Blood* 2000;95:1487-92.
 - 135 Yamamoto F, McNeill PD, Yamamoto M *et al*. Molecular genetic analysis of the ABO blood group system. IV. Another type of O allele. *Vox Sang* 1993;64:175-8.
 - 136 Grunnet N, Steffensen R, Bennett EP, Clausen H. Evaluation of histo-blood group ABO genotyping in a Danish population: frequency of a novel O allele defined as O². *Vox Sang* 1994;67:210-5.
 - 137 Yamamoto F, McNeill PD. Amino acid residue at codon 268 determines both activity and nucleotide-sugar donor substrate specificity of human histo-blood group A and B transferases: *in vitro* mutagenesis study. *J Biol Chem* 1996;271:10515-20.
 - 138 Olsson ML, Chester MA. A rapid and simple ABO genotype screening method using a novel B/O² versus A/O² discriminating nucleotide substitution at the ABO locus. *Vox Sang* 1995;69:242-7.
 - 139 Gassner C, Schmarda A, Nussbaumer W, Schönitzer D. ABO glycosyltransferase genotyping by polymerase chain reaction using sequence-specific primers. *Blood* 1996;88:1852-6.
 - 140 Procter J, Crawford J, Bunce M, Welsh KIA. rapid molecular method (polymerase chain reaction with sequence-specific primers) to genotype for ABO blood group and secretor status and its potential for organ transplants. *Tissue Antigens* 1997;50:475-83 and *Tissue Antigens* 1998;51:319 [erratum].
 - 141 Pearson SL, Hessner MJ. A^{1,2}BO^{1,2} genotyping by multiplexed allele-specific PCR. *Br J Haematol* 1998;100:229-34.
 - 142 Bennett EP, Steffensen R, Clausen H, Weghuis DO, van Kessel AG. Genomic cloning of the human histo-blood group ABO locus. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;206:318-25.
 - 143 Kominato Y, Hata Y, Takizawa H *et al*. Expression of human histo-blood group ABO genes is dependent upon DNA methylation of the promoter region. *J Biol Chem* 1999;274:37240-50.
 - 144 Kominato Y, Tsuchiya T, Hata N, Takizawa H, Yamamoto F. Transcription of human ABO histo-blood group genes is dependent upon binding of transcription factor CBF/NF-Y to minisatellite sequence. *J Biol Chem* 1997;272:5890-8.
 - 145 Irshaid NM, Chester MA, Olsson ML. Allele-related variation in minisatellite repeats involved in the transcription of the blood group ABO gene. *Transfus Med* 1999;9:219-26.
 - 146 Yu L-C, Chang C-Y, Twu Y-C, Lin M. Human histo-blood group ABO glycosyltransferase genes: different enhancer structures with different transcriptional activities. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;273:459-66.
 - 147 Olsson ML, Chester MA. Evidence for a new type of O allele at the ABO locus, due to combination of the A² nucleotide deletion and the A⁴ nucleotide insertion. *Vox Sang* 1996;71:113-7.
 - 148 Olsson ML, Guerreiro JF, Zago MA, Chester MA. Molecular analysis of the O alleles at the blood group ABO locus in populations of different ethnic origin reveals novel crossing-over events and point mutations. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;234:779-82.
 - 149 Suzuki K, Iwata M, Tsuji H *et al*. A de novo recombination in the ABO blood group gene and evidence for the occurrence of recombination products. *Hum Genet* 1997;99:454-61.

- 150 Olsson ML, Chester MA. Heterogeneity of the blood group A⁺ allele: genetic recombination of common alleles can result in the A₂ phenotype. *Transfus Med* 1998;8:231-8.
- 151 Kominato Y, McNeill PD, Yamamoto M *et al*. Animal histo-blood group ABO genes. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;189:154-64.
- 152 Martinko JM, Vincek V, Klein D, Klein J. Primate ABO glycosyltransferases: evidence for trans-species evolution. *Immunogenetics* 1993;37:274-8.
- 153 Saitou N, Yamamoto F. Evolution of primate ABO blood group genes and their homologous genes. *Mol Biol Evol* 1997;14:399-411.
- 154 Joziassie DH, Shaper JH, Jabs EW, Shaper NL. Characterization of an $\alpha 1 \rightarrow 3$ -galactosyltransferase homologue on human chromosome 12 that is organized as a processed pseudogene. *J Biol Chem* 1991;266:6991-8.
- 155 Shaper NL, Lin S, Joziassie DH, Kim DY, Yang-Feng TL. Assignment of two human α -1,3-galactosyltransferase gene sequences (GGTA1 and GGTA1P) to chromosomes 9q33-q34 and 12q14-q15. *Genomics* 1992;12:613-15 and *Genomics* 1992;13:493[erratum].
- 156 Yamamoto M, Lin X-H, Kominato Y *et al*. Murine equivalent of the human histo-blood group ABO gene is a cisAB gene and encodes a glycosyltransferase with both A and B transferase activity. *J Biol Chem* 2001;276:13701-8.
- 157 Chang J-G, Lee L-S, Chen P-H *et al*. Rapid genotyping of ABO blood group. *Blood* 1992;79:2176-7.
- 158 O'Keefe DS, Dobrovic A. A rapid and reliable PCR method for genotyping the ABO blood group. *Hum Mutat* 1993;2:67-70.
- 159 Stroncek DF, Konz R, Clay ME, Houchins JP, McCullough J. Determination of ABO glycosyltransferase genotypes by use of polymerase chain reaction and restriction enzymes. *Transfusion* 1995;35:231-40.
- 160 O'Keefe DS, Dobrovic A. A rapid and reliable PCR method for genotyping the ABO blood group. II. A² and O² alleles. *Hum Mutat* 1996;8:358-61.
- 161 Zago MA, Tavella MH, Simoes BP *et al*. Racial heterogeneity of DNA polymorphisms linked to the A and the O alleles of the ABO blood group gene. *Ann Hum Genet* 1996;60:67-72.
- 162 Ugozzoli L, Wallace RB. Application of an allele-specific polymerase chain reaction to the direct determination of the ABO blood group genotypes. *Genomics* 1992;12:670-4.
- 163 Johnson PH, Hopkinson DA. Detection of ABO blood group polymorphism by denaturing gradient gel electrophoresis. *Hum Mol Genet* 1992;1:341-4.
- 164 Yip SP, Yow CM, Lewis WHP. DNA polymorphism at the ABO locus in the Chinese population of Hong Kong. *Hum Hered* 1995;45:266-71.
- 165 Watanabe G, Umetsu K, Yuasa I, Suzuki T. Amplified product length polymorphism (APLP): a novel strategy for genotyping the ABO blood group. *Hum Genet* 1997;99:34-7.
- 166 Olsson ML, Hosseini-Maaf B, Hellberg Å, Chester MA. Allele-specific primer PCR across intron 6 resolves potential genotyping errors caused by recombinant hybrid alleles at the ABO locus [Abstract]. *Transfusion* 1998;38 (Suppl.):35.
- 167 Grubb R. Correlation between Lewis blood group and secretor character in man. *Nature* 1948;162:933.
- 168 Grubb R. Observations on the human group system Lewis. *Acta Path Microbiol Scand* 1951;28:61-81.
- 169 Ceppellini R. On the genetics of secretor and Lewis characters: a family study. *Proc 5th Congr Int Soc Blood Transf*, 1955:207-11.
- 170 Sanger R, Race RR. The Lutheran-secretor linkage in man: support for Mohr's findings. *Heredity* 1958;12:513-20.
- 171 Grolman EF, Kobata A, Ginsburg V. An enzymatic basis for Lewis blood types in man. *J Clin Invest* 1969;48:1489-94.
- 172 Chester MA, Watkins WM. α -1-Fucosyltransferases in human submaxillary gland and stomach tissues associated with the H, Le^a and Le^b blood-group characters and ABH secretor status. *Biochem Biophys Res Commun* 1969;34:835-42.
- 173 Le Pendu J, Lemieux RU, Dalix AM, Lambert F, Oriol R. Competition between ABO and Le gene specified enzymes. I. A Lewis related difference in the amount of A antigen in saliva of A₁ and A₂ secretors. *Vox Sang* 1983;45:349-58.
- 174 Le Pendu J, Oriol R, Lambert F, Dalix AM, Lemieux RU. Competition between ABO and Le gene specified enzymes. II. Quantitative analysis of A and B antigens in saliva of ABH non-secretors. *Vox Sang* 1983;45:421-5.
- 175 Sturgeon P, Arcilla MB. Studies on the secretion of blood group substances. I. Observations on the red cell phenotype Le (a+b+x+). *Vox Sang* 1970;18:301-22.
- 176 Henry SM, Benny AG, Woodfield DG. Investigation of Lewis phenotypes in Polynesians: evidence of a weak secretor phenotype. *Vox Sang* 1990;58:61-6.
- 177 Prieels J-P, Monnom D, Dolmans M, Beyer TA, Hill RL. Co-purification of the Lewis blood group N-acetylglucosaminide $\alpha 1 \rightarrow 4$ fucosyltransferase and an N-acetylglucosaminide $\alpha 1 \rightarrow 3$ fucosyltransferase from human milk. *J Biol Chem* 1981;256:10456-63.
- 178 Clamagirand-Mulet C, Badet J, Cartron JP. Isoelectrofocusing pattern of 2- α -L, 3- α -L and 4- α -L-fucosyltransferases from human milk and serum. *FEBS Lett* 1981;126:123-6.
- 179 Johnson PH, Yates AD, Watkins WM. Human salivary fucosyltransferases: evidence for two distinct α -3-L-fucosyltransferase activities one of which is associated with the Lewis blood group Le gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1981;100:1611-8.

- 180 Kukowska-Latallo JF, Larsen RD, Nair RP, Lowe JB. A cloned human cDNA determines expression of a mouse stage-specific embryonic antigen and the Lewis blood group $\alpha(1,3/1,4)$ -fucosyltransferase. *Genes Dev* 1990;4:1288-303.
- 181 Costache M, Apoil P-A, Cailleau A *et al.* Evolution of fucosyltransferase genes in vertebrates. *J Biol Chem* 1997;272:29721-8.
- 182 Dupuy F, Petit J-M, Mollicone R *et al.* A single amino acid in the hypervariable stem domain of vertebrate $\alpha(1,3/1,4)$ -fucosyltransferases determines the Type 1/Type 2 transfer. *J Biol Chem* 1999;274:12257-62.
- 183 Koda Y, Kimura H, Mekada E. Analysis of Lewis fucosyltransferase genes from the human gastric mucosa of Lewis-positive and -negative individuals. *Blood* 1993;82:2915-9.
- 184 Nishihara S, Yazawa S, Iwasaki H *et al.* $\alpha(1,3/1,4)$ -fucosyltransferase (FucT-III) gene is inactivated by a single amino acid substitution in Lewis histo-blood type negative individuals. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;196:624-31.
- 185 Mollicone R, Reguigne I, Kelly RJ *et al.* Molecular basis for Lewis $\alpha(1,3/1,4)$ -fucosyltransferase gene deficiency (FUT3) found in Lewis-negative Indonesian pedigrees. *J Biol Chem* 1994;269:20987-94.
- 186 Nishihara S, Narimatsu H, Iwasaki H *et al.* Molecular genetic analysis of the human Lewis histo-blood group system. *J Biol Chem* 1994;269:29271-8.
- 187 Koda Y, Soejima M, Kimura H. Detection of G to A missense mutation of Lewis-negative gene by PCR on genomic DNA. *Vox Sang* 1994;67:327-8.
- 188 Ørntoft TF, Vestergaard EM, Holmes E *et al.* Influence of Lewis $\alpha(1-3/4)$ -fucosyltransferase (FUT3) gene mutations on enzyme activity, erythrocyte phenotyping, and circulating tumor marker sialyl-Lewis a levels. *J Biol Chem* 1996;271:32260-8.
- 189 Liu Y, Koda Y, Soejima M, Uchida N, Kimura H. PCR analysis of Lewis-negative gene mutations and the distribution of Lewis alleles in a Japanese population. *J Forensic Sci* 1996;41:1018-21.
- 190 Elmgren A, Börjeson C, Svensson L, Rydberg L, Larson G. DNA sequencing and screening for point mutations in the human Lewis (FUT3) gene enables molecular genotyping of the human Lewis blood group system. *Vox Sang* 1996;70:97-103.
- 191 Pang H, Liu Y, Koda Y *et al.* Five novel missense mutations of the Lewis gene (FUT3) in African (Xhosa) and Caucasian populations in South Africa. *Hum Genet* 1998;102:675-80.
- 192 Liu Y-H, Koda Y, Soejima M, Pang H, Wang B, Kimura H. Lewis (FUT3) genotypes in two different Chinese populations. *J Forensic Med* 1999;44:82-6.
- 193 Nishihara S, Hiraga T, Ikehara Y *et al.* Molecular behavior of mutant Lewis enzymes *in vivo*. *Glycobiology* 1999;9:373-82.
- 194 Elmgren A, Mollicone R, Costache M *et al.* Significance of individual point mutations, T202C and C314T, in the human Lewis (FUT3) gene for expression of Lewis antigens by the human $\alpha(1,3/1,4)$ -fucosyltransferase, Fuc-TIII. *J Biol Chem* 1997;272:21994-8.
- 195 Xu Z, Vo L, Macher BA. Structure-function analysis of human $\alpha(1,3)$ -fucosyltransferase: amino acids involved in acceptor substrate specificity. *J Biol Chem* 1996;271:8818-23.
- 196 Schenkel-Brunner H, Chester MA, Watkins WM. α -L-fucosyltransferases in human serum from donors of different ABO, secretor and Lewis blood-group phenotypes. *Eur J Biochem* 1972;30:269-77.
- 197 Cartron JP, Mulet C, Bauvois B, Rahuel C, Salmon C. ABH and Lewis glycosyltransferases in human red cells, lymphocytes and platelets. *Rev Franc Transfus Immun-Hémat* 1980;23:271-82.
- 198 Greenwell P, Ball MG, Watkins WM. Fucosyltransferase activities in human lymphocytes and granulocytes: blood group H-gene-specified α -2-L-fucosyltransferase is a discriminatory marker of peripheral blood lymphocytes. *FEBS Lett* 1983;164:314-17.
- 199 Cameron HS, Szczepaniak D, Weston BW. Expression of human chromosome 19p $\alpha(1,3)$ -fucosyltransferase genes in normal tissues: alternative splicing, polyadenylation, and isoforms. *J Biol Chem* 1995;270:20112-22.
- 200 Lowe JB, Stoolman LM, Nair RP *et al.* ELAM-1-dependent cell adhesion to vascular endothelium determined by a transfected human fucosyltransferase cDNA. *Cell* 1990;63:475-84.
- 201 Goelz SE, Hession C, Goff D *et al.* ELFT: a gene that directs the expression of an ELAM-1 ligand. *Cell* 1990;63:1349-56.
- 202 Weston BW, Nair RP, Larsen RD, Lowe JB. Isolation of a novel human $\alpha(1,3)$ -fucosyltransferase gene and molecular comparison to the human Lewis blood group $\alpha(1,3/1,4)$ -fucosyltransferase gene: syntenic, homologous, nonallelic genes encoding enzymes with distinct acceptor substrate specificities. *J Biol Chem* 1992;267:4152-4160.
- 203 Koszdin KL, Bowen BR. The cloning and expression of a human α -1,3-fucosyltransferase capable of forming the E-selectin ligand. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;187:152-7.
- 204 Weston BW, Smith PL, Kelly RJ, Lowe JB. Molecular cloning of a fourth member of a human $\alpha(1,3)$ -fucosyltransferase gene family: multiple homologous sequences that determine expression of the Lewis x, sialyl Lewis x, and difucosyl sialyl Lewis x epitopes. *J Biol Chem* 1992;267:24575-84.
- 205 Sasaki K, Kurata K, Funayama K *et al.* Expression cloning of a novel α 1,3-fucosyltransferase that is involved in biosynthesis of the sialyl Lewis x carbohydrate

- determinants in leukocytes. *J Biol Chem* 1994; 269:14730-7.
- 206 Natsuka S, Gersten KM, Zenita K, Kannagi R, Lowe JB. Molecular cloning of a cDNA encoding a novel human leukocyte α -1,3-fucosyltransferase capable of synthesizing the sialyl Lewis x determinant. *J Biol Chem* 1994;269:16789-94; and *J Biol Chem* 1994;269: 20806.
 - 207 Tetteroo FAT, de Heij HT, Van den Eijnden DH, Visser FJ, Schoenmaker E, van Kessel AHMG. A GDP-fucose:[Gal β 1 $\rightarrow$ 4]GlcNAc α 1 $\rightarrow$ 3-fucosyltransferase activity is correlated with the presence of human chromosome 11 and the expression of the Le^x, Le^y, and sialyl-Le^x antigens in human-mouse cell hybrids. *J Biol Chem* 1987;262:15984-9.
 - 208 Lasky LA. Selectin-carbohydrate interactions and the initiation of the inflammatory response. *Ann Rev Biochem* 1995;64:113-39.
 - 209 McEver RP, Moore KL, Cummings RD. Leukocyte trafficking mediated by selectin-carbohydrate interactions. *J Biol Chem* 1995;270:11025-8.
 - 210 Kansas GS. Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood* 1996;88:3259-87.
 - 211 de Vries T, Srnka CA, Paleic MM *et al*. Acceptor specificity of different length constructs of human recombinant α 1,3/4-fucosyltransferases: replacement of the stem region and the transmembrane domain of fucosyltransferase V by protein A results in an enzyme with GDP-fucose hydrolyzing activity. *J Biol Chem* 1995; 270:8712-22.
 - 212 Mollicone R, Reguigne I, Fletcher A *et al*. Molecular basis for plasma α (1,3)-fucosyltransferase gene deficiency (FUT6). *J Biol Chem* 1994;269:12662-71.
 - 213 Larson G, Börjeson C, Elmgren A *et al*. Identification of a new plasma α (1,3)-fucosyltransferase (FUT6) allele requires an extended genotyping strategy. *Vox Sang* 1996;71:233-41.
 - 214 von Dungern E, Hirsfeld L. Über gruppenspezifische Strukturen des Blutes. III. *Z Immunforsch* 1911; 8:526-62.
 - 215 Landsteiner K, Levine P. On the inheritance and racial distribution of agglutinable properties of human blood. *J Immunol* 1930;18:87-94.
 - 216 Lattes L, Cavazzuti A. Sur l'existence d'un troisième élément d'isoagglutination. *J Immunol* 1924;9:407-25.
 - 217 Landsteiner K, Witt DH. Observations on the human blood groups: irregular reactions. Isoagglutinins in sera of group IV. The factor A¹. *J Immunol* 1926;11:221-47.
 - 218 Landsteiner K, Levine P. On the cold agglutinins in human serum. *J Immunol* 1926;12:441-60.
 - 219 Taylor GL, Race RR, Prior AM, Ikin EW. Frequency of the iso-agglutinin α_1 in the serum of the subgroups A₂ and A₂B. *J Pathol Bacteriol* 1942;54:514-6.
 - 220 Juel E. Anti-A agglutinins in sera from A₂B individuals. *Acta Path Microbiol Scand* 1959;46:91-5.
 - 221 Juel E. Studies in the subgroups of the blood group A. *Acta Path Microbiol Scand* 1959;46:251-65.
 - 222 Lenkiewicz B, Sarul B. Anti-A₁ antibodies in blood donors in the Warsaw region. *Arch Immunol Ther Exp* 1971;19:643-7.
 - 223 Bird GWG. Relationship of the blood sub-groups A₁, A₂ and A₂B, A₂B to haemagglutinins present in the seeds of *Dolichos biflorus*. *Nature* 1952;170:674.
 - 224 Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 6th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1975.
 - 225 Race C, Watkins WM. The enzymic products of the human A and B blood group genes in the serum of 'Bombay' O_h donors. *FEBS Lett* 1972;27:125-30.
 - 226 Schenkel-Brunner H, Tuppy H. Enzymatic conversion of human blood-group-O erythrocytes into A₂ and A₁ cells by a α -N-Acetyl-D-galactosaminyl transferases of blood-group-A individuals. *Eur J Biochem* 1973; 34:125-8.
 - 227 Fujii H, Yoshida A. Multiple components of blood group A and B antigens in human erythrocyte membranes and their difference between A₁ and A₂ status. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980;77:2951-4.
 - 228 Schenkel-Brunner H. Studies on blood-groups A₁ and A₂. *Eur J Biochem* 1982;122:511-4.
 - 229 Schachter H, Michaels MA, Crookston MC, Tilley CA, Crookston JH. A quantitative difference in the activity of blood group A-specific N-acetylgalactosaminyltransferase in serum from A₁ and A₂ human subjects. *Biochem Biophys Res Commun* 1971;45:1011-8.
 - 230 Schachter H, Michaels MA, Tilley CA, Crookston MC, Crookston JH. Qualitative differences in the N-acetyl-D-galactosaminyltransferases produced by human A¹ and A² genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973;70:220-4.
 - 231 Topping MD, Watkins WM. Isoelectric points of the human blood group A¹, A² and B gene-associated glycosyltransferases in ovarian cyst fluids and serum. *Biochem Biophys Res Commun* 1975;64:89-96.
 - 232 Ogasawara K, Yabe R, Uchikawa M *et al*. Molecular genetic analysis of variant phenotypes of the ABO blood group system. *Blood* 1996;88:2732-7.
 - 233 Ogasawara K, Yabe R, Uchikawa M *et al*. Different alleles cause an imbalance in A₂ and A₂B phenotypes of the ABO blood group. *Vox Sang* 1998;74:242-7.
 - 234 Mäkelä O, Ruoslahti E, Ehnholm C. Subtypes of human ABO blood groups and subtype-specific antibodies. *J Immunol* 1969;102:763-71.
 - 235 Greenbury CL, Moore DH, Nunn LAC. Reaction of 7S and 19S components of immune rabbit antisera with human group A and AB red cells. *Immunology* 1963;6:421-33.
 - 236 Economidou J, Hughes-Jones NC, Gardner B. Quantitative measurements concerning A and B antigen sites. *Vox Sang* 1967;12:321-8.
 - 237 Lopez M, Benali J, Cartron JP, Salmon C. Some notes on

- the specificity of anti-A₁ reagents. *Vox Sang* 1980; 39:271-6.
- 238 Cartron JP. Etude quantitative et thermodynamique des phénotypes érythrocytaires 'A faible'. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1976;19:35-54.
 - 239 Cartron JP, Gerbal A, Hughes-Jones NC, Salmon C. 'Weak A' phenotypes: relationship between red cell agglutinability and antigen site density. *Immunology* 1974;27:723-7.
 - 240 Romano EL, Zabner-Oziel P, Soyano A, Linares J. Studies on the binding of IgG and F (ab) anti-A to adult and newborn group A red cells. *Vox Sang* 1983;45:378-83.
 - 241 Matsumoto I, Osawa T. Specific purification of eel serum and *Cytisus sessilifolius* anti-H hemagglutinins by affinity chromatography and their binding to human erythrocytes. *Biochemistry* 1974;13:582-8.
 - 242 Williams MA, Voak D. Studies with ferritin-labelled *Dolichos biflorus* lectin on the numbers and distribution of A sites on A₁ and A₂ erythrocytes, and on the nature of its specificity and enhancement by enzymes. *Br J Haematol* 1972;23:427-41.
 - 243 Rouger P, Kornprobst M, Salmon C. Study of ABH red cell antigens by flow cytometry using monoclonal antigens [Abstract] 18th Congr International Soc Blood Transfus 1984;32.
 - 244 Rochant H, Tonthat H, Henri A, Titeux M, Dreyfus B. Abnormal distribution of erythrocyte A₁ antigens in preleukemia as demonstrated by an immunofluorescence technique. *Blood Cells* 1976;2:237-55.
 - 245 Brain P. Subgroups of A in the South African Bantus. *Vox Sang* 1966;11:686-98.
 - 246 Salmon C, De Grouchy J, Liberge G. Un nouvel antigène du système ABO: A₁₁₈₀. *Nouv Rev Franc Hémat* 1965;5:631-7.
 - 247 Voak D, Lodge TW, Stapleton RR, Fogg H, Roberts HE. The incidence of H deficient A₂ and A₂B bloods and family studies on the AH/ABH status of an A₁₀₁ and some new variant blood types (A₁₀₁1^{A1}, A₂7^HW^{A1}, A₂7^HB₁W^{A1B} and A₂7^HB₁W^{A2B}). *Vox Sang* 1970;19:73-84.
 - 248 Davey MG. Editorial note on paper 'Serology and genetics of the A₁ high H subgroup' by Malti Sarthe and HM Bhatia. *Vox Sang* 1974;26:383-4.
 - 249 Wiener AS. Heredity of the Rh blood types. IX. Observations in a series of 526 cases of disputed parentage. *Am J Hum Genet* 1950;2:177-97.
 - 250 Yoshida A, Davé V, Branch DR, Yamaguchi H, Okubo Y. An enzyme basis for blood type A intermediate status. *Am J Hum Genet* 1982;34:919-24.
 - 251 Mourant AE, Kopec AC, Domaniewska K. *The Distribution of Human Blood Groups and Other Polymorphisms*. London: Oxford University Press 1976.
 - 252 Tills D, Kopec AC, Tills RE. *The Distribution of Human Blood Groups and Other Polymorphisms (Suppl. 1)*. Oxford: Oxford University Press 1983.
 - 253 Ikin EW, Prior AM, Race RR, Taylor GL. The distributions in the A₁A₂BO blood groups in England. *Ann Eugen* 1939;9:409-11.
 - 254 Wiener AS. *Blood Groups and Transfusion*, 3rd edn. Springfield: Thomas 1943.
 - 255 Yamakami K. The individuality of semen, with reference to its property of inhibiting specifically isohemagglutination. *J Immunol* 1926;12:185-9.
 - 256 Putkonen T. Über die gruppenspezifischen Eigenschaften Verschiedener Körperflüssigkeiten. *Acta Soc Med Fenn Duodecim Ser A* 1930;14:113-53.
 - 257 Buchanan DJ, Rapoport S. Composition of meconium: serological study of blood-group-specific substances found in individual meconiums. *Proc Soc Exp Biol NY* 1951;77:114-7.
 - 258 Zuelzer WW, Beattie KM, Reisman LE. Generalized unbalanced mosaicism attributable to dispermy and probable fertilization of a polar body. *Am J Hum Genet* 1964;16:38-51.
 - 259 Moores P. Blood group and tissue mosaicism in a Natal Indian woman. *Acta Haematol* 1973;50:299-304.
 - 260 Clarke CA, McConnell RB, Sheppard PM. A genetical study of the variations in ABH secretion. *Ann Hum Genet* 1960;24:295-301.
 - 261 Sturgeon P, McQuiston D, Van Camp S. Quantitative studies on salivary blood group substances. II. Normal values. *Vox Sang* 1973;24:114-25.
 - 262 Szulman AE. The ABH antigens in human tissues and secretions during embryonal development. *J Histochem Cytochem* 1965;13:752-4.
 - 263 Wiener AS, Belkin RB. Group-specific substances in the saliva of the new-born. *J Immunol* 1943;47:467-70.
 - 264 Formaggio TG. Development and secretion of blood group factor O in the newborn. *Proc Soc Exp Biol NY* 1951;76:554-6.
 - 265 Gammelgaard A. *Om Sjældne, Svage a-Receptorer (A₁₁, A₁₄, A₁₅ og A₁₆) Hos Mennesket*. Copenhagen: Busck 1942.
 - 266 Boettcher B. Correlations between inhibition titres of blood group substances in salivas from A₁, A₂ and B secretors. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1967;45:495-506.
 - 267 Boettcher B. Precipitation of a substance in salivas from A₁ and A₂ secretors. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1967;45:485-93.
 - 268 Randeria KJ, Bhatia HM. Quantitative inhibition studies on the ABH and Lewis antigens in saliva. *Ind J Med Res* 1971;59:1737-53.
 - 269 Prodanov P. Etude quantitative des antigènes ABH dans la salive des nouveau-nés et des adultes. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1979;22:387-97.
 - 270 Plato CC, Gershowitz H. Specific differences in the inhibition titers of the anti-H lectins from *Cytisus sessilifolius* and *Ulex europaeus*. *Vox Sang* 1961;6:336-47.
 - 271 Plato CC, Gershowitz H. Differences between families in the amount of salivary H substances. *Ann Hum Genet* 1962;26:47-50.
 - 272 Giusti GV, Panari G, Floris MT. Population and family

- studies on the amount of salivary ABH blood group substances. *Vox Sang* 1972;22:54-63.
- 273 Fiori A, Giusti GV, Panari G. Gel filtration of ABH blood group substances. II. Individual gel chromatographic patterns of ABH substances in the saliva of secretors and non-secretors. *J Chromatogr A* 1971; 55:351-63.
 - 274 Kimberling WJ. The genetics of an expanded secretor system. *J Immunogenet* 1979;6:75-82.
 - 275 Mohn JE, Owens NA, Plunkett RW. The inhibitory properties of group A and B non-secretor saliva. *Immunol Commun* 1981;10:101-26.
 - 276 Hostrup H. A and B blood group substances in the serum of normal subjects. *Vox Sang* 1962;7:704-21.
 - 277 Denborough MA, Downing HJ, Doig AG. Serum blood group substances and ABO haemolytic disease. *Br J Haematol* 1969;16:103-9.
 - 278 Tilley CA, Crookston MC, Brown BL, Wherrett JR. A and B and A₁Le^b substances in glycosphingolipid fractions of human serum. *Vox Sang* 1975;28:25-33.
 - 279 Holburn AM, Masters CA. The radioimmunoassay of serum and salivary blood group A and Le^a glycoproteins. *Br J Haematol* 1974;28:157-67.
 - 280 Crookston MC. Antigens common to red blood cells and plasma. Plenary Sessions. *15th Congr Int Soc Blood Transfus*. Paris: Librairie Arnette 1978:51-61.
 - 281 Graham HA, Hirsch HF, Davies DM Jr. Genetic and immunochemical relationships between soluble and cell-bound antigens of the Lewis system. *Human Blood Groups*. 5th Int Convoc Immunol. 1976. Basel: Karger 1977:257-67.
 - 282 Renton PH, Hancock JA. Uptake of A and B antigens by transfused group O erythrocytes. *Vox Sang* 1962;7:33-8.
 - 283 Garretta M, Muller A, Gener J, Matte C, Moullec J. Reliability in automatic determination of the ABO group by the groupmatic system. *Vox Sang* 1974;27:141-55.
 - 284 Reed TE. The frequency and nature of blood group A₃. *Transfusion* 1964;4:457-60.
 - 285 Friedenreich V. Eine bisher unbekannte Blutgruppeneigenschaft (A₃). *Z Immunforsch* 1936;89:409-22.
 - 286 Oguchi Y, Kawaguchi T, Suzuta T, Osawa T. The nature of human blood group A₃ erythrocytes. *Vox Sang* 1978;34:32-9.
 - 287 Cartron JP. Etude des propriétés α-N-acétylgalactosaminyltransférases des sérums de sujets A et 'A faible'. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1976;19:67-88.
 - 288 Cartron JP, Badet J, Mulet C, Salmon C. Study of the α-N-acetylgalactosaminyltransferase in sera and red cell membranes of human A subgroups. *J Immunogenet* 1978;5:107-16.
 - 289 Greenwell P, Watkins WM. Unpublished observations cited by Watkins WM, *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1978;21:201-28.
 - 290 Olsson ML, Irshaid NM, Hosseini-Maaf B *et al*. Genomic analysis of clinical samples with serological ABO blood grouping discrepancies: identification of fifteen novel A and B subgroup alleles. *Blood* 2001;98:1585-1593.
 - 291 Yamamoto F, McNeill PD, Yamamoto M *et al*. Molecular genetic analysis of the ABO blood group system. I. Weak subgroups: A₃ and B₃ Alleles. *Vox Sang* 1993; 64:116-9.
 - 292 Barjas-Castro ML, Carvalho MH, Locatelli MF, Bordin S, Saad STO. Molecular heterogeneity of the A₁ subgroup. *Clin Lab Haematol* 2000;22:73-8.
 - 293 Olsson ML, Irshaid NM, Kuosmanen M, Pirkola A, Chester M. A splice-site mutation defines the A⁶⁰¹ allele at the blood group ABO locus. *Transfusion* 2000;40 (Suppl.):135 [Abstract].
 - 294 Yamamoto F, McNeill PD, Yamamoto M, Hakomori S, Harris T. Molecular genetic analysis of the ABO blood group system. A^c and B^(A) alleles. *Vox Sang* 1993; 64:171-4.
 - 295 Olsson ML, Thuresson B, Chester MA. An A^d allele-specific nucleotide insertion at the blood group ABO locus and its detection using a sequence-specific polymerase chain reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;216:642-7.
 - 296 Olsson ML, Chester MA. Polymorphisms at the ABO locus in subgroup A individuals. *Transfusion* 1996; 36:309-13.
 - 297 Weiner W, Sanger R, Race RRA. Weak form of the blood group antigen A: an inherited character. *Proc 7th Congr Int Soc Blood Transfus* 1959:720-5.
 - 298 Sturgeon P, Moore BPL, Weiner W. Notations for two weak A variants: A_{end}A_{cl}. *Vox Sang* 1964;9:214-5.
 - 299 Mohn JE, Cunningham RK, Pirkola A, Furuhjelm U, Nevanlinna HR. An inherited blood group A variant in the Finnish population. I. Basic characteristics. *Vox Sang* 1973;25:193-211.
 - 300 Nevanlinna HR, Pirkola A. An inherited blood group A variant in the Finnish population. II. Population studies. *Vox Sang* 1973;24:404-16.
 - 301 Jenkins T. Blood group A_{hantu} population and family studies. *Vox Sang* 1974;26:537-50.
 - 302 Fischer W, Hahn E. Ueber auffallende Schwäche der gruppenspezifischen Reaktionsfähigkeit bei einem Erwachsenen. *Z Immunforsch* 1935;84:177-88.
 - 303 Vos GH. Five examples of red cells with the A₃ subgroup of blood group A. *Vox Sang* 1964;9:160-7.
 - 304 Salmon C, Salmon D, Reviron J. Etude immunologique et génétique de la variabilité du phénotype A₃. *Nouv Rev Franc Hémat* 1965;5:275-90.
 - 305 Jonsson B, Fast K. Ein eigentlicher, familiärer typus von extrem schwachem A-faktor, 'A₆'. *Acta Path Microbiol Scand* 1948;25:649-55.

- 306 Estola E, Elo J. Occurrence of an exceedingly weak 'A' blood group property in a family. *Ann Med Exp Fenn* 1952;30:79-87.
- 307 Grove-Rasmussen M, Soutter L, Levine P. A new blood subgroup (A_0) identifiable with group O serums. *Am J Clin Path* 1952;22:1157-63.
- 308 Stamps R, Sokol RJ, Leach M, Herron R, Smith G. A new variant of blood group A: A_{pss} . *Transfusion* 1987;27:315-8.
- 309 Mohn JF, Plunkett RW, Cunningham RK. Agglutination of group A_x erythrocytes by anti-A sera (group B). *Vox Sang* 1976;31:271-4.
- 310 Moore S, Chirnside A, Micklem LR, McClelland DBL, James K. A mouse monoclonal antibody with anti- $A_{(B)}$ specificity which agglutinates A_x cells. *Vox Sang* 1984;47:427-34.
- 311 Beck ML, Hardman JT, Kowalski MA, Yates AD. Monoclonal anti-A reagents: correlation between reactivity with A_x and group B red blood cells. In: Rouger P, Salmon C, eds. *Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens*. Paris: Arnette 1987:224-7.
- 312 Voak D. Monoclonal antibodies as blood grouping reagents. *Ballière's Best Pract Clin Haematol* 1990;3:219-42.
- 313 McDonald DF, Thompson JM. A new monoclonal anti-A antibody BIRMA-1: a potent culture supernatant which agglutinates A_x cells, but does not give undesirable reactions with B cells. *Vox Sang* 1991; 61:53-8.
- 314 van Loghem JJ, van der Hart M. The weak antigen A_4 occurring in the offspring of group O parents. *Vox Sang* 1954;4:69-75.
- 315 Beckers T, Dunsford I, van Loghem JJ. A second example of the weak antigen A_4 occurring in the offspring of group O parents. *Vox Sang* 1955;5:145-7.
- 316 Lanset S, Liberge G, Gerbal A, Ropartz C, Salmon C. Mise en évidence, dans une famille, d'une modification de l'expression des produits des locus ABO. *Rev Franc Transfus* 1970;13:431-4.
- 317 Cahan A, Jack JA, Scudder J et al. A family in which A_x is transmitted through a person of the blood group A_2B . *Vox Sang* 1957;2:8-15.
- 318 Ducos J, Marty Y, Ruffie J. A case of A_x phenotype transmitted by an A_2B parent. *Vox Sang* 1975;29: 390-3.
- 319 Salmon C, Cartron JP. Le renforcement allélique. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1976;19:145-55.
- 320 Bird GWG, Roberts KD, Wingham J. Change of blood group from A_2 to A_x in a child with congenital abnormalities. *J Clin Path* 1975;28:962-3.
- 321 Salmon C, Borin P, André R. Le group sanguin A_m dans deux générations d'une même famille. *Rev Hémat* 1958;13:529-37 and *Proc 7th Congr Int Soc Blood Transfus, Basel: Karger* 1959:709-15.
- 322 von Kindler M. Ein weiteres Beispiel einer schwachen A-Eigenschaft (A_m). *Blut* 1958, 1959;4:373-7.
- 323 Salmon C, Reviron J, Liberge G. Nouvel exemple d'une famille où le phénotype A_m est observé dans 2 générations. *Nouv Rev Franc Hémat* 1964;4:359-64.
- 324 Cartron JP, Ropars C, Calkovská Z, Salmon C. Detection of A_1A_2 and $A_2A_m^{A1}$ heterozygotes among human A blood group phenotypes. *J Immunogenet* 1976; 3:155-61.
- 325 Ukita M, Yamada N, Seno T, Okubo Y, Yamaguchi H. An example of A_m due to a rare allele at the ABO locus with special reference to N-acetylgalactosaminyl-transferase assay in serum. *Proc Jpn Acad* 1980;56:534-7.
- 326 Wiener AS, Gordon EB. A hitherto undescribed human blood group, A_m . *Br J Haematol* 1956;2:305-7.
- 327 Weiner W, Lewis HBM, Moores P, Sanger R, Race RR. A gene, y, modifying the blood group antigen A. *Vox Sang* 1957;2:25-37.
- 328 Lin-Chu M, Broadberry RE, Tsai SJL. Incidence of ABO subgroups in Chinese in Taiwan. *Transfusion* 1987;27:114-5.
- 329 Cartron JP, Gerbal A, Badet J, Ropars C, Salmon C. Assay of α -N-acetylgalactosaminyltransferases in human sera: further evidence for several types of A_m individuals. *Vox Sang* 1975;28:347-65.
- 330 Wrobel DM, McDonald I, Race C, Watkins WM. 'True' genotype of chimeric twins revealed by blood-group gene products in plasma. *Vox Sang* 1974;27: 395-402.
- 331 Hansen T, Namork E, Olsson ML, Chester MA, Heier HE. Different genotypes causing indiscernible patterns of A expression on A_x red blood cells as visualized by scanning immunogold electron microscopy. *Vox Sang* 1998;75:47-51.
- 332 Gerbal A, Liberge G, Cartron J-P, Salmon C. Les phénotypes A_{red} : étude immunologique et génétique. *Rev Franc Transfus* 1970;13:243-50.
- 333 Darnborough J, Voak D, Pepper RM. Observations on a new example of the A_m phenotype which demonstrates reduced A secretion. *Vox Sang* 1973;24:216-27.
- 334 Ducos J, Marty Y, Ruffie J. A family with one child of phenotype A_m providing further evidence for the existence of the modifier genes Yy. *Vox Sang* 1975;28:456-9.
- 335 Drozda EA, Dean JD. Another example of the rare A_x phenotype. *Transfusion* 1985;25:280-1.
- 336 Koscielak J, Lenkiewicz B, Zielinski J, Seyfried H. Weak A phenotypes possibly caused by mutation. *Vox Sang* 1986;50:187-90.
- 337 Reed TE, Moore BPL. A new variant of blood group A. *Vox Sang* 1964;9:363-6.
- 338 Solomon JM, Sturgeon P. Quantitative studies of the phenotype A_m . *Vox Sang* 1964;9:476-86.
- 339 Lanset S, Liberge G, Gerbal A, Ropartz C, Salmon C. Le

- phénotype Ael: étude immunologique et génétique. *Nouv Rev Franc Hémat* 1970;10:389-400.
- 340 Lau P, Sererat S, Beatty J, Olschlager R, Kini J. Group A variants defined with a monoclonal anti-A reagent. *Transfusion* 1990;30:142-5.
 - 341 Heier HE, Namork E, Calkovská Z, Sandin R, Kornstad L. Expression of A antigens on erythrocytes of weak blood group A subgroups. *Vox Sang* 1994;66:231-6.
 - 342 Yamaguchi H, Okubo Y, Tanaka M. A rare blood B₃ analogous to A₃ in a Japanese family. *Proc Jpn Acad* 1970;46:446-9.
 - 343 Salmon C. Les phénotypes B faibles B₃, B₄, B₄ classification pratique proposée. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1976;19:89-104.
 - 344 Lopez M, Le Meud J, Gerbal A, Salmon C. Mesures d'agglutination quantitative des phénotypes B faibles. *Nouv Rev Franc Hémat* 1973;13:107-18.
 - 345 Salmon C, Liberge G, Gerbal A, Lopez M. Heterogeneity of B₆₀ phenotype including B₃ and some B₄. *Biomedicine* 1974;21:465-70.
 - 346 Lopez M, Bouguerra A, Lemeud J, Badet J, Salmon C. Quantitative, kinetic and thermodynamic analysis of weak B₆₀ erythrocyte phenotypes: heterogeneity among families—identity within a family. *Vox Sang* 1974;27:243-53.
 - 347 Wiener AS, Cioffi AF. A group B analogue of subgroup A₃. *Am J Clin Path* 1972;58:693-7.
 - 348 Garretta M, Muller A, Salmon C. Fréquence réelle des phénotypes B faible. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1978;21:193-200.
 - 349 Lin-Chu M, Broadberry RE, Chiou PW. The B₃ phenotype in Chinese. *Transfusion* 1986;126:428-30.
 - 350 Chassaigne M, Lopez M, Krawczynska S, Saint-Paul B. Etude quantitative et thermodynamique de l'antigène B dans une famille comportant des sujets de phénotype B₃ et AB₃. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1977;20:565-73.
 - 351 Simie S. Weak B₃ antigen in a family. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1983;26:625-6.
 - 352 Badet J, Huet M, Mulet C *et al.* B-gene specified 3- α -D-galactosyltransferase activity in human blood group variants. *FEBS Lett* 1980;122:25-8.
 - 353 Yokoyama M, Stacey SM, Dunsford I. B₄: a new subgroup of the blood group B. *Vox Sang* 1957;2:348-56.
 - 354 Levine P, Celano M, Griset T. B₄: a new allele of the ABO locus. *Proc 6th Congr Int Soc Blood Transfus* 1958;132-5.
 - 355 Ikemoto S, Furuhashi T. Serology and genetics of a new blood type B₆₀. *Nature New Biol* 1971;231:184-5.
 - 356 Simmons A, Twaite J. Another example of a B variant. *Transfusion* 1975;15:359-62.
 - 357 Koscielak J, Pacuska T, Dzierzkowa-Borodej W. Activity of B-gene-specified galactosyltransferase in individuals with B_n phenotypes. *Vox Sang* 1976;30:58-67.
 - 358 Yoshida A, Yamato K, Davé V, Yamaguchi H, Okubo Y. A case of weak blood group B expression (B₆₀) associated with abnormal blood group galactosyltransferase. *Blood* 1982;59:323-7.
 - 359 Kogure T. The action of group B_n or CisAB sera on group O red cells in the presence of UDP-D-galactose. *Vox Sang* 1975;29:51-8.
 - 360 Takizawa H, Kishi K, Iseki S. Biochemical and serological studies on α -galactosyltransferases in the sera and salivas from blood group B_n and A₁B_n individuals. *Proc Jpn Acad* 1978;54:402-7.
 - 361 Yoshida A, Fujii H, Davé V, Cozant MJ, Morel PA. Membrane abnormality in red blood cells with weak type B expression. *Blood* 1980;56:881-5.
 - 362 Kogure T, Iseki S. A family of B₆₀ due to a modifying gene. *Proc Jpn Acad* 1970;46:728-32.
 - 363 Gundolf F, Andersen J. Variant of group B lacking the B antigen on the red cells. *Vox Sang* 1970;18:216-21.
 - 364 Marsh WL, Ferrari M, Nichols ME, Fernandez G, Cooper K. B₆₀¹: a weak B antigen variant. *Vox Sang* 1973;25:341-6.
 - 365 Yamaguchi H, Okazaki S, Hasegawa H *et al.* A weak B variant B₄ occurring in a Japanese family. *Proc Jpn Acad* 1976;52:145-7.
 - 366 Feng CS, Cook JL, Beattie KM *et al.* Variant type B blood in an El Salvador family: expression of a variant B gene enhanced by the presence of an A² gene. *Transfusion* 1984;24:264-6.
 - 367 Yoshida A. The existence of atypical blood group galactosyltransferase which causes an expression of A₂ character in A₁B red blood cells. *Am J Hum Genet* 1983;35:1117-25.
 - 368 Boorman KE, Zeitlin RA. B₃: a sub-group of B which lacks part of the normal human B antigen. *Vox Sang* 1964;9:278-88.
 - 369 Mak KH, Voak D, Chu RW, Leong S, Chua KM. B₃: a distinct category of B sub-group among Chinese blood donors in Hong Kong. *Transfus Med* 1992;2:129-33.
 - 370 Galili U. The two antibody specificities within human anti-blood group B antigens. *Transfus Med Rev* 1988;2:112-21.
 - 371 Jakobowicz R, Simmons RT, Whittingham S. A subgroup of group B blood. *Vox Sang* 1961;6:706-9.
 - 372 Gibbs MB, Akeroyd JH, Zapf JJ. Quantitative subgroups of the B antigen in man and their occurrence in three racial groups. *Nature* 1961;192:1196-7.
 - 373 Badet J, Ropars C, Cartron JP, Doinel C, Salmon C. Groups of α -D-galactosyltransferase activity in sera of individuals with normal B phenotype. *Vox Sang* 1976;30:105-13.
 - 374 Marsh WL, Nichols ME, Øyen R *et al.* Inherited mosaicism affecting the ABO blood groups. *Transfusion* 1975;15:589-95.
 - 375 Furuhashi T, Kitahama M, Nozawa T. A family study of the so-called blood group chimera. *Proc Jpn Acad* 1959;35:55-7.
 - 376 Kitahama M. Two families study of the erythrocyte antigen mosaicism. *Shinshu Med J* 1963;12:641-8.

- 377 Ogita Z, Kikkawa H, Yamamoto K, Murakami F. Erythrocyte antigen mosaicism in a Japanese family. *Jpn J Hum Genet* 1969;13:264-71.
- 378 Bird GWG, Wingham J, Watkins WM, Greenwell P, Cameron AH. Inherited 'mosaicism' within the ABO blood group system. *J Immunogenet* 1978;5:215-9.
- 379 Borley R, Hsu TCS, Sawitsky A, Johnson CL, Marsh WL. Mosaicism of red cell ABO type without recognizable cause. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1980;23:299-304.
- 380 Gillespie EM, Gold ER. Weakening of the B-antigen by the presence of A₁ as shown by reactions with *Fomes fomentarius* (anti-B) extract. *Vox Sang* 1960;5:497-502.
- 381 Downie DM, Madin DE, Voak D. An evaluation of salmon anti-B reagent in manual and automated blood grouping. *Med Lab Sci* 1977;34:319-24.
- 382 Fernandez-Cabadi Y. Interaction entre allèles normaux A₁ ou A₂ et B chez l'hétérozygote AB. étude comparative portant sur des familles Européennes et Africaines. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1980;23:661-74.
- 383 Sacks SH, Lennox ES. Monoclonal anti-B as a new blood-typing reagent. *Vox Sang* 1981;40:99-104.
- 384 Alter AA, Rosenfield RE. The nature of some subtypes of A. *Blood* 1964;23:605-20.
- 385 Morel PA, Watkins WM, Greenwell P. Genotype A¹B expressed as phenotype A²B in a Black population. *Transfusion* 1984;24:426 [Abstract].
- 386 Yoshida A, Davé V, Hamilton HB. Imbalance of blood group A subtypes and the existence of superactive B* gene in Japanese in Hiroshima and Nagasaki. *Am J Hum Genet* 1988;43:422-8.
- 387 Young LE, Witersky E. Studies on the sub-groups of blood group A and AB. II. The agglutinin A₂: its detection with potent B serum and an investigation of its inheritance. *J Immunol* 1945;51:111-6.
- 388 Watkins WM, Greenwell P. Molecular basis of human red cell antigens. *Proc 10th Int Congr Soc Forens Haemogenet* 1983:67-75.
- 389 Yoshida A. Identification of A₁B and A₂B blood types in paternity tests. *Transfusion* 1984;24:183-4.
- 390 Hrubisko M. Exemple d'une interaction allélique chez l'homme: interaction entre une variante du gène B (B_x ou B₂₀) et A₁. *Nouv Rev Franc Hémat* 1968;8:278-84.
- 391 Hrubisko M, Mergancová O, Prodanov P, Hammerová T, Racková M. Interallelic competition and complementation in the ABO blood group system. *Immunol Commun* 1980;9:139-53.
- 392 Salmon C, Cartron JP. Interactions in AB heterozygotes. In: Greenwalt TJ, Steane EA, eds. *CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science: Section D. Blood Banking* Vol. 1. Cleveland: CRC Press 1977:131-8.
- 393 Watkins WM, Greenwell P, Yates AD. The genetic and enzymic regulation of the synthesis of the A and B determinants in the ABO blood group system. *Immunol Commun* 1981;10:83-100.
- 394 Yates AD, Watkins WM. The biosynthesis of blood group B determinants by the blood group A gene-specified α -3-N-acetyl-D-galactosaminyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun* 1982;109:958-65.
- 395 Yates AD, Feeney J, Donald ASR, Watkins WM. Characterisation of a blood-group A-active tetrasaccharide synthesised by a blood-group B gene-specified glycosyltransferase. *Carbohydr Res* 1984;130:251-60.
- 396 Greenwell P, Yates AD, Watkins WM. UDP-N-acetyl-D-galactosamine as a donor substrate for the glycosyltransferase encoded by the B gene at the human blood group ABO locus. *Carbohydr Res* 1986;149:149-70.
- 397 Yates AD. Overlapping functions of the glycosyltransferases encoded by the blood group A and B genes: biochemical basis and practical implications. In: Moore, SB, ed. *Progress in Immunohematology*. Arlington VA: American Association of Blood Banks 1988:65-91.
- 398 Beck ML, Yates AD, Hardman J, Kowalski MA. Identification of a subset of group B donors reactive with monoclonal anti-A reagent. *Am J Clin Pathol* 1989;92:625-9.
- 399 Goldstein J, Lenny L, Davies D, Voak D. Further evidence for the presence of A antigen on group B erythrocytes through the use of specific exoglycosidases. *Vox Sang* 1989;57:142-6.
- 400 Fukumori Y, Ohnoki S, Yoshimura K *et al.* Rapid detection of the cisAB allele consisting of a chimera of normal A and B alleles by PCR-RFLPs. *Transfus Med* 1996;6:337-44.
- 401 Yamamoto F, McNeill PD, Kominato Y *et al.* Molecular genetic analysis of the ABO blood group system. cis-AB alleles. *Vox Sang* 1993;64:120-3.
- 402 Yu L-C, Lee H-L, Chan Y-S, Lin M. The molecular basis for the B(A) allele: an amino acid alteration in the human histoblood group B α -(1,3)-galactosyltransferase increases its intrinsic α -(1,3)-N-acetylgalactosaminyltransferase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;262:487-93.
- 403 Mifsud NA, Watt JM, Condon JA, Haddad AP, Sparrow RL. A novel cis-AB variant allele arising from a nucleotide substitution A796C in the B transferase gene. *Transfusion* 2000;40:1276-7.
- 404 Voak D, Sonnerborn H, Yates A. The A₁(B) phenomenon: a monoclonal anti-B (BS-85) demonstrates low level of B determinants on A₁ red cells. *Transfus Med* 1992;2:119-27.
- 405 Seyfried H, Walewska I, Werbilinska B. Unusual inheritance of ABO group in a family with weak B antigens. *Vox Sang* 1964;9:268-77.
- 406 Yamaguchi H, Okubo Y, Hazama F. Another Japanese A₂B₃ blood-group family with the propositus having O-group father. *Proc Jpn Acad* 1966;42:517-20.
- 407 Reviron J, Jacquet A, Delarue F *et al.* Interactions alléliques des gènes de groupes sanguins ABO: résultats préliminaires avec l'anti-B d'un sujet 'cis AB' et étude quantitative avec l'anti-B d'un sujet A₁O. *Nouv Rev Franc Hémat* 1967;7:425-33.

- 408 Reviron J, Jacquet A, Salmon C. Un exemple de chromosome 'cis A1': étude immunologique et génétique de phénotype induit. *Nouv Rev Franc Hémat* 1968;8:323-38.
- 409 Kogure T. A family with unusual inheritance of ABO blood groups. *Jpn J Hum Genet* 1971;16:69-87.
- 410 Yamaguchi H. A review of cisAB blood. *Jpn J Hum Genet* 1973;18:1-9.
- 411 Salmon C, Lopez M, Liberge G, Gerbal A. Le complexe CisAB du système ABO. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1975;18:11-25.
- 412 Pacuska T, Koscielak J, Seyfried H, Walewska I. Biochemical, serological and family studies in individuals with CisAB phenotypes. *Vox Sang* 1975;29:292-300.
- 413 Hummel K, Badet J, Bauermeister W *et al*. Inheritance of Cis-AB in three generations (family Lam). *Vox Sang* 1977;33:290-8.
- 414 Sabo BH, Bush M, German J, Carne LR, Yates AD, Watkins WM. The cisAB phenotype in three generations of one family: serological, enzymatic and cytogenetic studies. *J Immunogenet* 1978;5:87-106.
- 415 Valdes MD, Zoes C, Froker A. Unusual inheritance in the ABO blood group system: a group O child from a group A₁B mother. *Vox Sang* 1978;35:176-80.
- 416 Yoshida A, Yamaguchi H, Okubo Y. Genetic mechanism of CisAB inheritance. I. A case associated with unusual chromosomal crossing over. *Am J Hum Genet* 1980;32:332-8.
- 417 Bennett M, Levene C, Greenwell P. An Israeli family with six cisAB members: serologic and enzymatic studies. *Transfusion* 1998;38:441-8.
- 418 Lopez M. Le groupe sanguin Cis AB: étude quantitative et qualitative des antigènes ABH. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1976;19:117-26.
- 419 Badet J, Ropars C, Salmon C. α -N-acetyl-D-galactosaminyl- and α -D-galactosyltransferase activities in sera of cis AB blood group individuals. *J Immunogenet* 1978;5:221-31.
- 420 Yoshida A, Yamaguchi H, Okubo Y. Genetic mechanism of Cis-AB inheritance. II. Cases associated with structural mutation of blood group glycosyltransferase. *Am J Hum Genet* 1980;32:645-50.
- 421 Bhende YM, Deshpande CK, Bhatia HM *et al*. A 'new' blood-group character related to the ABO system. *Lancet* 1952;i:903-4.
- 422 Moores PP, Issitt PD, Pavone BG, McKeever BG. Some observations on 'Bombay' bloods, with comments on evidence for the existence of two different O_h phenotypes. *Transfusion* 1975;15:237-43.
- 423 Bhatia HM. Serologic reactions of ABO and O_h (Bombay) phenotypes due to variations in H antigens. In: *Human Blood Groups. 5th Int Convoc Immunol*. Buffalo NY: Basel: Karger 1977:296-305.
- 424 Dzierzkowa-Borodej W, Meinhard W, Nestorowicz S, Piróg J. Successful elution of anti-A and certain anti-H reagents from two 'Bombay' (O_h^A) blood samples and investigation of isoagglutinins in their sera. *Arch Immunol Ther Exp* 1972;20:841-9.
- 425 Rodier L, Lopez M, Liberge G *et al*. Anti-H absorbed by, and eluted from O_h (Bombay) red blood cells. *Biomedicine* 1974;21:312-6.
- 426 Levine P, Robinson E, Celano M, Briggs O, Falkenburg L. Gene interaction resulting in suppression of blood group substance B. *Blood* 1955;10:1100-8.
- 427 Lanset S, Ropartz C, Rousseau P-Y, Guébet Y, Salmon C. Une famille comportant les phénotypes Bombay: O_h^{AB} et O_h^B. *Transfusion (Paris)* 1966;9:255-63.
- 428 Ceppellini R, Nasso S, Tecilazich F. *La Malattia Emolitica de Neonato*. Istituto Sieroterapico Milanese Serafino Belfanti: Milano 1952;204.
- 429 Watkins WM, Morgan WTJ. Some observations on the O and H characters of human blood and secretions. *Vox Sang (Old Series)* 1955;5:1-14.
- 430 Aloysia M, Gelb AG, Fudenberg H *et al*. The expected 'Bombay' groups O_h^{A1} and O_h^{A2}. *Transfusion* 1961;1:212-17.
- 431 Abu Sin AYH, Abdelrazig H, Ayoub M, Sabo BH. Bombay (O_h) blood in a Sudanese family. *Vox Sang* 1976;31:48-53.
- 432 Bhatia HM, Sanghvi LD. Rare blood groups and consanguinity: 'Bombay' Phenotype. *Vox Sang* 1962;7:245-8.
- 433 Cartron JP, Mulet C. Etude des activités 2- α -L fucosyltransférases des sérums et des membranes érythrocytaires de sujets 'Bombay' et 'Para-Bombay'. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1978;21:29-46.
- 434 Wagner T, Vadon M, Staudacher E *et al*. A new h allele detected in Europe has a missense mutation in a α (1,2)-fucosyltransferase motif II. *Transfusion* 2001;41:31-8.
- 435 Le Pendu J, Clamagirand-Mulet C, Cartron J-P *et al*. H-deficient blood groups of Réunion Island. III. α -2-L-fucosyltransferase activity in sera of homozygous and heterozygous individuals. *Am J Hum Genet* 1983;35:497-507.
- 436 Poschmann A, Fischer K, Seidl S, Spielmann W. ABH receptors and red cell survival in a 'Bombay' blood. *Vox Sang* 1974;27:338-46.
- 437 Bhatia HM, Sathe M, Gandhi S, Mehta BC, Levine P. Difference between Bombay and Rh_{int} phenotypes. *Vox Sang* 1974;26:272-5.
- 438 Bhatia HM, Sathe MS. Incidence of 'Bombay' (O_h) phenotype and weaker variants of A and B antigen in Bombay (India). *Vox Sang* 1974;27:524-32.
- 439 Le Pendu J, Gerard G, Vitrac D *et al*. H deficient blood groups of Réunion Island. II. Differences between Indians (Bombay phenotype) Whites (Réunion Phenotype). *Am J Hum Genet* 1983;35:484-96.
- 440 Salmon C, Rouger P, Rodier L *et al*. Different H deficient

- phenotypes present in one kindred. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1980;23:251-8.
- 441 Iseki S, Takizawa H, Takizawa H. Immunological properties of 'Bombay' phenotype. *Proc Jpn Acad* 1970;46:803-7.
 - 442 Kaneko M, Nishihara S, Shinya N *et al*. Wide variety of point mutations in the *H* gene of Bombay and para-Bombay individuals that inactivate H enzyme. *Blood* 1997;90:839-49.
 - 443 Beattie KM, Saeed SM. Bombay phenotype. *Transfusion* 1976;16:290.
 - 444 Sringarm S, Sombatpanich B, Chandanayingyong D. A case of O_h (Bombay) blood found in a Thai-Muslim patient. *Vox Sang* 1977;33:364-8.
 - 445 Levine P, Uhlir M, White J. A_{h_1} , an incomplete suppression of A resembling O_{h_1} . *Vox Sang* 1961;6:561-7.
 - 446 Beranová G, Prodanov P, Hrubisko M, Smálik S. A new variant in the ABO blood group system: B_h . *Vox Sang* 1969;16:449-56.
 - 447 Gerard G, Vitrac D, Le Pendu J, Muller A, Oriol R. H-deficient blood groups (Bombay) of Réunion Island. *Am J Hum Genet* 1982;34:937-47.
 - 448 Voak D, Stapleton RR, Bowley CC. A_{2h}^{A1} : a new variant of A_{h_1} in two-group A members of an English family. *Vox Sang* 1968;14:18-30.
 - 449 Prodanov P, Drazhev G. A_{2h}^{A1} variant of A_h in a Bulgarian family. *Vox Sang* 1978;34:162-3.
 - 450 Gérard G, Guimbretière J, Guimbretière L. Difficultés de groupage chez un sujet vraisemblablement A_{h_1} . *Rev Franc Transfus* 1970;13:267-74.
 - 451 Gerard G, Guimbretière L, Lebot S, Guimbretière J. Un nouveau cas de A_h . *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1975;18:321-3.
 - 452 Liberge G, Salmon C, Gerbal A, Lopez M. Le phénotype B_h . *Rev Franc Transfus* 1970;13:357-63.
 - 453 Mulet C, Cartron J-P, Schenkel-Brunner H *et al*. Probable biosynthetic pathway for the synthesis of the B antigen from B_h variants. *Vox Sang* 1979;37:272-80.
 - 454 Solomon JM, Waggoner R, Leyshon WC. A quantitative immunogenetic study of gene suppression involving A_1 and H antigens of the erythrocyte without affecting secreted blood group substances: the ABH Phenotypes A^h O^h . *Blood* 1965;25:470-85.
 - 455 Kitahama M, Yamaguchi H, Okubo Y, Hazama E. An apparently new B_h -like human blood-type. *Vox Sang* 1967;12:354-60.
 - 456 Hrubisko M, Laluha J, Mergancová O, Zákovicová S. New variants in the ABOH blood group system due to interaction of recessive genes controlling the formation of H antigen in erythrocytes: the 'Bombay'-like phenotypes O_{hm} , O_{hm}^B and O_{hm}^{AB} . *Vox Sang* 1970;19:113-22.
 - 457 Hrubisko M. Deficient H phenotypes. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1976;19:157-74.
 - 458 Daniels GL. *Blood group antigens of high frequency: a serological and genetical study*. PhD thesis, University of London, 1980.
 - 459 Mak KH, Lubenko A, Greenwell P *et al*. Serologic characteristics of H-deficient phenotypes among Chinese in Hong Kong. *Transfusion* 1996;36:994-9.
 - 460 Sringarm S, Chupungart C, Giles CM. The use of *Ulex europaeus* and *Dolichos biflorus* extracts in routine ABO grouping of blood donors in Thailand: some unexpected findings. *Vox Sang* 1972;23:537-45.
 - 461 Fawcett KJ, Eckstein EG, Imella F, Yokoyama M. Four examples of B_{hm} blood in one family. *Vox Sang* 1970;19:457-67.
 - 462 Yu L-C, Yang Y-H, Broadberry RE, Chen Y-H, Lin M. Heterogeneity of the human H blood group $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase gene among para-Bombay individuals. *Vox Sang* 1997;72:36-40.
 - 463 Rouger P, Juszcak G, Doinel C *et al*. Relationship between I and H antigens. II. Study of the H and I deficient phenotypes. *Immunol Commun* 1980;9:161-72.
 - 464 Mulet C, Cartron JP, Lopez M, Salmon C. ABH glycosyltransferase levels in sera and red cell membranes from H_2 and H_{2h} variant bloods. *FEBS Lett* 1978;90:233-8.
 - 465 Prodanov P. Etude des variantes H-déficientes dans la population bulgare. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1978;21:1093-101.
 - 466 Wang B, Koda Y, Soejima M, Kimura H. Two missense mutations of H type $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase gene (*FUT1*) responsible for para-Bombay phenotype. *Vox Sang* 1997;72:31-5.
 - 467 Lin-Chu M, Broadberry RE, Tsai SJL, Chiou PW. The para-Bombay phenotype in Chinese persons. *Transfusion* 1987;27:388-90.
 - 468 Sun C-F, Lo M-D, Lee C-H, Chu D-C. Novel mutations, including a novel $G^{619}A$ missense mutation, of the *FUT1* gene are responsible for the para-Bombay phenotype. *Ann Clin Laboratory Sci* 2000;30:387-90.
 - 469 Chee K, Yip S, Chan P, Chow EY, Wong H. Molecular genetic analysis of para-Bombay phenotypes in Hong Kong Chinese. *Transfusion* 2000;40 (Suppl.):1185 [Abstract].
 - 470 Salmon C, Schwartzberg L, André R. Observations sérologiques et génétiques sur le groupe sanguin A_3 . *Sang* 1959;30:227-36.
 - 471 Lin M, Broadberry RE. Modification of standard Western pretransfusion testing procedures for Taiwan. *Vox Sang* 1994;67:199-202.
 - 472 Wagner FF, Flegel WA. Polymorphism of the *h* allele and the population frequency of sporadic nonfunctional alleles. *Transfusion* 1997;37:284-90.
 - 473 Kelly RJ, Ernst LK, Larsen RD *et al*. Molecular basis for H blood group deficiency in Bombay (O_h) and para-Bombay individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:5843-7.
 - 474 Johnson PH, Mak MK, Leong S *et al*. Analysis of muta-

- tions in the blood-group H gene in donors with H-deficient phenotypes. *Vox Sang* 1994;67 (Suppl. 2):25 [Abstract].
- 475 Yunis EJ, Svardal JM, Bridges RA. Genetics of the Bombay phenotype. *Blood* 1969;33:124-32.
 - 476 Salmon C, Juszczak G, Liberge G *et al*. Une famille où un phénotype 'Hm' est transmis à travers trois générations. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1978;21:21-7.
 - 477 Salmon C, Cartron JP, Rouger P *et al*. H deficient phenotypes: a proposed practical classification Bombay A_h , H_a , H_m . *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1980;23:233-48.
 - 478 Frydman M, Etzioni A, Eidlitz-Markus T *et al*. Rambam-Hasharon syndrome of psychomotor retardation, short stature, defective neutrophil motility, and Bombay phenotype. *Am J Med Genet* 1992;44:297-302.
 - 479 Frydman M, Vardimon D, Shalev E, Orlin JB. Prenatal diagnosis of Rambam-Hasharon syndrome. *Prenat Diagn* 1996;16:266-9.
 - 480 Marquardt T, Brune T, Lühn K *et al*. Leukocyte adhesion deficiency II syndrome: a generalized defect in fucose metabolism. *J Pediatr* 1999;134:681-8.
 - 481 Körner C, Linnebank M, Koch HG *et al*. Decreased availability of GDP-L-fucose in a patient with LADII with normal GDP-mannose dehydratase and FX protein activities. *J Leukoc Biol* 1999;66:95-8.
 - 482 Becker DJ, Lowe JB. Leukocyte adhesion deficiency type II. *Biochim Biophys Acta* 1999;1455:193-204.
 - 483 Etzioni A, Tonetti M. Leukocyte adhesion deficiency II: from A to almost Z. *Immunol Rev* 2000;178:138-47.
 - 484 Schechter Y, Etzioni A, Levene C, Greenwell P. A Bombay individual lacking H and Le antigens but expressing normal levels of α -2- and α -4-fucosyltransferases. *Transfusion* 1995;35:773-6.
 - 485 Ørntoft TF, Meldgaard P, Pedersen B, Wolf H. The blood group ABO gene transcript is down-regulated in human bladder tumors and growth-stimulated urothelial cell lines. *Cancer Res* 1996;56:1031-6.
 - 486 Herron R, Greenwell P, Westwood MC, Race AC, Smith DS, Watkins WM. An H-deficient blood with normal H transferase levels. *Vox Sang* 1980;39:186-94.
 - 487 Lopez M, Gerbal A, Salmon C. Excès d'antigène I dans les érythrocytes de phénotypes O_h , A_h et B_h . *Rev Franc Transfus* 1972;15:187-94.
 - 488 Doinel C. Antigénicité I des hématies Bombay. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1976;19:185-91.
 - 489 Cameron C, Graham F, Dunsford I *et al*. Acquisition of a B-like antigen by red blood cells. *Br Med J* 1959;ii:29-32.
 - 490 Lanset S, Ropartz C. A second example of acquired B-like antigen in a healthy person. *Vox Sang* 1971;20:82-4.
 - 491 Herron R, Young D, Clark M *et al*. A specific antibody for cells with acquired B antigen. *Transfusion* 1982;22:525-7.
 - 492 Kline WE, Sullivan CM, Bowman RJ, Linden M. Acquired B antigen and polyagglutination in a apparently healthy blood donor. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1982;25:119-26.
 - 493 Gerbal A, Ropars C. L'antigène B acquis. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1976;19:127-44.
 - 494 Gerbal A, Salmon C, Lichtenstein H, Wagner JC. Acquisition d'un antigène B chez des sujets de groupe A: recherche chez 200 malades d'un service de gastro-entérologie. *Nouv Press Med* 1975;4:2884-5.
 - 495 Gerbal A, Maslet C, Salmon C. Immunological aspects of the acquired B antigen. *Vox Sang* 1975;28:398-403.
 - 496 Fisher GF, Faé I, Dub E, Pickl WF. Analysis of the gene polymorphism of ABO blood group specific transferases helps diagnosis of acquired B status. *Vox Sang* 1992;62:113-6.
 - 497 Yip SP, Choy WL, Chan CW, Choi CH. The absence of a B allele in acquired B blood group phenotype confirmed by a DNA based genotyping method. *J Clin Pathol* 1996;49:180-1.
 - 498 Reznikoff-Etievant MF, Garretta M, Sylvestre R *et al*. Trois observations de phénotype érythrocytaire 'B acquis'. *Rev Franc Transfus* 1974;17:15-39.
 - 499 Andreu G, Mativet S, Simonneau M, Pierre J, Salmon C. Un antigène B acquis chez un sujet de groupe A_2 . *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1978;21:185-92.
 - 500 Gerbal A, Liberge G, Lopez M, Salmon C. Un antigène B acquis chez un sujet de phénotype érythrocytaire A_h^{m} . *Rev Franc Transfus* 1970;13:61-70.
 - 501 Andersen J. Weak atypical B-like character in the blood cells of 7 group A persons. *Acta Path Microbiol Scand* 1960;48:289-304.
 - 502 Janvier D, Reviron M, Biernat S, Saint Paul B, Reviron J. Etude immunohématologique de 7 transformations B acquis à l'aide d'anti-B et d'anti-B acquis sélectionnés. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1983;26:467-80.
 - 503 Rouger P, Edelman L, Doinel C *et al*. Study of blood group B antigen with a specific monoclonal antibody (anti-B, b-183). *Immunology* 1983;49:77-82.
 - 504 Barrie EK, Fraser RH, Munro AC *et al*. Monoclonal anti-B produced by the immunization of mice with soluble salivary glycoproteins. *J Immunogenet* 1983;10:41-4.
 - 505 Beck ML, Kowalski MA, Kirkegaard JR, Korth JL. Unexpected activity with monoclonal anti-B reagents. *Immunohematology* 1992;8:22.
 - 506 Janvier D, Veaux S, Reviron M, Guignier F, Benbunan M. Serological characterization of murine monoclonal antibodies directed against acquired B red cells. *Vox Sang* 1990;59:92-5.
 - 507 Okubo Y, Seno T, Tanaka M *et al*. Conversion of group A red cells by deacetylation to ones that react with monoclonal antibodies specific for the acquired B phenotype. *Transfusion* 1994;34:456-7.
 - 508 Garratty G, Arndt P, Co A, Rodberg K, Furmanski M. Fatal hemolytic transfusion reaction resulting from

- ABO mistyping of a patient with acquired B antigen detectable only by some monoclonal anti-B reagents. *Transfusion* 1996;36:351-7.
- 509 Beck ML, Kirkegaard JR. Annotation-monoclonal ABO blood grouping reagents: a decade later. *Immunohematology* 1995;11:67.
- 510 Kennedy MS, Waheed A, Moore J. ABO discrepancy with monoclonal ABO reagents caused by a pH-dependent autoantibody. *Immunohematology* 1995; 11:71-3.
- 511 Veneman SC, Mead JH, Boucock BP, Masterson KC. Acquired B antigen in a volunteer blood donor. *Transfusion* 1999;39:453-4.
- 512 Stratton F, Renton PH. Acquisition of B-like antigen. *Br Med J* 1959;ii:244.
- 513 Springer GF, Ansell Hahn NJ. Acquisition of blood-group B-like bacterial antigens by human A and O erythrocytes. *Proc 8th Congr Int Soc Blood Transfus* 1962:219-21.
- 514 Marsh WL, Jenkins WJ, Walther WW. Pseudo B: an acquired group antigen. *Br Med J* 1959;ii:63-6.
- 515 Marsh WL. The pseudo B antigen: a study of its development. *Vox Sang* 1960;5:387-97.
- 516 Stayboldt C, Rearden A, Lane TA. B antigen acquired by normal A₁ red cells exposed to a patient's serum. *Transfusion* 1987;27:41-4.
- 517 Herron R, Smith DS. *In vitro* conversion of group A₁ red cells to the acquired B state. *Transfusion* 1986;26:303.
- 518 Gerbal A, Ropars C, Gerbal R *et al*. Acquired B antigen disappearance by *in vitro* acetylation associated with A₁ activity restoration. *Vox Sang* 1976;31:64-6.
- 519 Yamamoto H, Iseki S. Development of H-specificity in A substance by A-decomposing enzyme from *Clostridium tertium* A. *Proc Jpn Acad* 1968;44:263-8.
- 520 Roseman S. Glucosamine metabolism. I. N-acetylglucosamine deacetylase. *J Biol Chem* 1957; 226:115-23.
- 521 Salmon C, Gerbal A. The acquired B antigen. In: Greenwalt TJ, Steane EA, eds. *CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science: Section D. Blood Banking*, Vol. 1. Cleveland: CRC Press 1977:193-200.
- 522 Rahuel C, Lubineau A, David S, Salmon C, Cartron JP. Acquired B antigen: further studies using synthetic oligosaccharides. *Blood Transfus Immuno-Hémat* 1983;26:347-58.
- 523 Beck ML, Kirkegaard J, Korth J, Judd WJ. Monoclonal anti-B reagents and the acquired B phenotype. *Transfusion* 1993;33:623-4.
- 524 Judd WJ, Annesley TM. The acquired B phenomenon. *Transfus Med Rev* 1996;10:111-7.
- 525 Janvier D, Guignier F, Reviron M, Reviron JA. A new polyagglutination, specific for acquired B + Tk red blood cells [Abstracts]. *20th Congr Int Soc Blood Transfus* 1988;302.
- 526 Andreu G, Doinel C, Cartron JP, Mativet S. Induction of Tk polyagglutination by bacteroides fragilis culture supernatants. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1979;22:551-61.
- 527 Judd WJ, McGuire-Mallory D, Anderson KM *et al*. Comcomitant T- and Tk-activation associated with acquired-B antigens. *Transfusion* 1979;19:293-8.
- 528 Klarkowski DB, Ford DS. A case of polyagglutination with features of Th and Tk activation associated with an acquired B antigen. *Transfusion* 1983;23:59-61.
- 529 Van Loghem JJ, Dorfmeier H, Van Der Hart M. Two A antigens with abnormal serologic properties. *Vox Sang* 1957;2:16-24.
- 530 Stratton F, Renton PH, Hancock JA. Red cell agglutinability affected by disease. *Nature* 1958;181:62-3.
- 531 Gold ER, Tovey GH, Benney WE, Lewis FJW. Changes in the group A antigen in a case of leukaemia. *Nature* 1959;183:892-3.
- 532 Salmon C. Blood groups changes in preleukemic states. *Blood Cells* 1976;2:211-20.
- 533 Crookston MC. Anomalous ABO, H and Ii phenotypes in disease. In: Garratty G, ed. *Blood Group Antigens and Disease*. Arlington VA: American Association of Blood Banks 1983:67-84.
- 534 Benson K. Decreased ABH blood group antigen expression associated with preleukemic conditions and acute leukemia: loss of detectable B, then A antigens in a group AB patient progressing from a myelodysplastic syndrome to leukemia. *Immunohematology* 1991; 7:89-93.
- 535 Salmon C, Dreyfus B, André R. Double population de globules différent seulement par l'antigène de groupe ABO, observée chez un malade leucémique. *Rev Hémat* 1958;13:148-53.
- 536 Salmon C, André R, Dreyfus B. Existe-t-il des mutations somatiques du gène de groupe sanguin A au cours de certaines leucémies aiguës? *Rev Franc Etud Clin Biol* 1959;4:468-71.
- 537 Popp HJ, Nelson M, Forsyth C, Falson M, Kronenberg H. Quantifying the loss of ABO antigenicity in a patient with acute myeloid leukaemia by flow cytometric analysis. *Immunohematology* 1995;11:5-7.
- 538 Renton PH, Stratton F, Gunson HH, Hancock JA. Red cells of all four ABO groups in a case of leukaemia. *Br Med J* 1962;i:294-7.
- 539 Salmon C, Salmon D. Déficit en antigène H chez certains sujets de groupe O atteints de leucémie aiguë. *Rev Franc Etud Clin Biol* 1965;10:212-4.
- 540 Ayres M, Salzano FM, Ludwig OK. Blood group changes in leukaemia. *J Med Genet* 1966;3:180-5.
- 541 Starling KA, Fernbach DJ. Changes in strength of A antigen in children with acute leukaemia. *Transfusion* 1970;10:3-5.
- 542 Saichua S, Chiewsilp P. Red cell ABH antigens in leukaemias and lymphomas. *Vox Sang* 1978;35: 154-9.
- 543 Bianco T, Farmer BJ, Sage RE, Dobrovic A. Loss of red

- cell A, B, and H antigens is frequent in myeloid malignancies. *Blood* 2001;97:3633-9.
- 544 Kolins J, Holland PV, McGinniss MH. Multiple red cell antigen loss in acute granulocytic leukemia. *Cancer* 1978;42:2248-53.
- 545 Lopez M, Bonnet-Gajdos M, Reviron M *et al.* An acute leukaemia augured before clinical signs by blood group antigen abnormalities and low levels of A and H blood group transferase activities in erythrocytes. *Br J Haematol* 1986;63:535-9.
- 546 Kolins J, Allgood JW, Burghardt DC, Klein HG, McGinniss MH. Modifications of B, I, i, and Lewis^b antigens in a patient with DiGuglielmo's erythroleukemia. *Transfusion* 1980;20:574-7.
- 547 Salmon C, Cartron JP, Lopez M *et al.* Level of the A, B and H blood group glycosyltransferases in red cell membranes from patients with malignant hemopathies. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1984;27:625-37.
- 548 Yoshida A, Kumazaki T, Davé V, Blank J, Dzik WH. Suppressed expression of blood group B antigen and blood group galactosyltransferase in a preleukemic subject. *Blood* 1985;66:990-2.
- 549 Kuhns WJ, Oliver RTD, Watkins WM, Greenwell P. Leukaemia-induced alterations of serum glycosyltransferase enzymes. *Cancer Res* 1980;40:268-75.
- 550 Kessel D, Ratanatharathorn V, Chou T-H. Electrofocusing patterns of fucosyltransferases in plasma of patients with neoplastic disease. *Cancer Res* 1979;39:3377-80.
- 551 Skacel PO, Watkins WM. Significance of altered α -2-L-fucosyltransferase levels in serum of leukemic patients. *Cancer Res* 1988;48:3998-4001.
- 552 Kessel D, Shah-Reddy I, Mirchandani I, Khilani P, Chou T-H. Electrofocusing patterns of fucosyltransferase activity in plasma of patients with chronic granulocytic leukemia. *Cancer Res* 1980;40:3576-8.
- 553 Kahn A, Vroclans M, Hakim J, Boivin P. Differences in the two red-cell populations in erythroleukemia. *Lancet* 1971;ii:933.
- 554 Ozelius LJ, Kwiatkowski DJ, Schuback DE *et al.* A genetic linkage map of human chromosome 9q. *Genomics* 1992;14:715-20.
- 555 Haas OA, Argyriou-Tirita A, Lion T. Parental origin of chromosomes involved in the translocation t(9;22). *Nature* 1992;359:414-416.
- 556 Dobrovic A, O'Keefe D, Sage RE, Batchelder E. Imprinting and loss of ABO antigens in leukemia. *Blood* 1993;82:1684-5.
- 557 Salmon C, Mannoni P, Séger J *et al.* Double population de globules rouges pour les antigènes ABH chez trois sujets âgés. *Nouv Rev Franc Hémat* 1970;10:303-12.
- 558 Race RR, Sanger R. Blood group mosaics. *Haematologia* 1972;6:63-71.
- 559 Sherman LA, Silberstein LE, Berkman EM. Altered blood group expression in a patient with congenital rubella infection. *Transfusion* 1984;24:267-9.
- 560 Comenzo RL, Malachowski ME, Rohrer RJ *et al.* Anomalous ABO phenotype in a child after an ABO-incompatible liver transplantation. *N Engl J Med* 1992;326:867-70.
- 561 Garratty G, Arndt PA, Noguero P, Plaza E, Jiménez J. Differentiation of post-bone marrow transplant chimerism versus adsorption of A antigen onto transplanted group O RBCs. *Transfusion* 1999;39 (Suppl.):44S [Abstract].
- 562 Goldstein J. Conversion of ABO blood groups. *Transfus Med Rev* 1989;3:206-12.
- 563 Harpaz N, Flowers HM, Sharon N. Studies on B-antigenic sites of human erythrocytes by use of coffee bean α -galactosidase. *Arch Biochem Biophys* 1975;170:676-83.
- 564 Zhu A, Leng L, Monahan C *et al.* Characterization of recombinant α -galactosidase for use in seroconversion from blood group B to O of human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys* 1996;327:324-9.
- 565 Lenny LL, Hurst R, Zhu A, Goldstein J, Galbraith RA. Multiple-unit and second transfusions of red cells enzymatically converted from group B to group O: report on the end of phase I trials. *Transfusion* 1995;35:899-902.
- 566 Kruskall MS, AuBuchon JP, Anthony KY *et al.* Transfusion to blood group A and O patients of group B RBCs that have been enzymatically converted to group O. *Transfusion* 2000;40:1290-8.
- 567 Hoskins LC, Larson G, Naff GB. Blood group A immunodeterminants on human red cells differ in biologic activity and sensitivity to α -N-acetylgalactosaminidase. *Transfusion* 1995;35:813-21.
- 568 Dornel C, Ropars C, Rufin JM. I and H activities of human red blood cells treated with an L-2- α -L-fucosidase from *aspergillus niger*. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1980;23:259-69.
- 569 Dobson AM, Ikin EW. The ABO blood groups in the United Kingdom: frequencies based on a very large sample. *J Pathol Bacteriol* 1946;48:221-7.
- 570 van Loghem JJ, van der Hart M, von Moes M, dem Borne AEGK. Increased red cell destruction in the absence of demonstrable antibodies *in vitro*. *Transfusion* 1965;5:525-32.
- 571 Springer GF, Tegtmeyer H. Absence of B antibody in a blood group A₁ person. *Vox Sang* 1974;26:247-58.
- 572 Kochwa S, Rosenfield RE, Tallal L, Wasserman LR. Isoagglutinins associated with ABO erythroblastosis. *J Clin Invest* 1961;40:874-83.
- 573 Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 10th edn. Oxford: Blackwell Science 1997.
- 574 Auf der Maur C, Hodel M, Nydegger UE, Rieben R. Age dependency of ABO histo-blood antibodies: reexamination of an old dogma. *Transfusion* 1993;33:915-8.
- 575 Somers H, Kuhns WJ. Blood group antibodies in old age (36943). *Proc Soc Exp Biol Med NY* 1972;141:1104-7.

- 576 Baumgarten A, Kruchok AH, Weirich F. High frequency of IgG anti-A and -B antibody in old age. *Vox Sang* 1976;30:253-60.
- 577 Nijenhuis LE, Bratlie K. ABO antibodies in twins. *Vox Sang* 1962;7:236-8.
- 578 Grundbacher FJ. Genetics of anti-A and anti-B levels. *Transfusion* 1976;16:48-55.
- 579 Springer GF, Horton RE, Forbes M. Origin of anti-human blood group B agglutinins in white Leghorn chicks. *J Exp Med* 1959;110:221-44.
- 580 Springer GF, Horton RE, Forbes M. Origin of antihuman blood group agglutinins in germfree chicks. *Ann NY Acad Sci* 1959;78:272-5.
- 581 Springer GF, Horton RE. Blood group isoantibody stimulation in man by feeding blood group-active bacteria. *J Clin Invest* 1969;48:1280-91.
- 582 Rieben R, Buchs JP, Flückiger E, Nydegger UE. Antibodies to histo-blood group substances A and B: agglutination titers, Ig class, and IgG subclasses in healthy persons of different age categories. *Transfusion* 1991;31:607-15.
- 583 Kunkel HG, Rockey JH. β_{2A} and other immunoglobulins in isolated anti-A antibodies. *Proc Soc Exp Biol NY* 1963;113:278-81.
- 584 Filitti-Wurmser S. Natural antibodies to immune antibodies of human ABO blood group system. *Biochimie* 1976;58:1345-53.
- 585 Contreras M, Armitage SE, Hewitt PE. Response to immunization with A and B human glycoproteins for the procurement of blood grouping reagents. *Vox Sang* 1984;47:224-35.
- 586 Brouwers HAA, Overbeeke MAM, Gemke RJB et al. Sensitive methods for determining subclasses of IgG anti-A and anti-B in sera of blood-group-O women with a blood-group-A or -B child. *Br J Haematol* 1987;66:267-70.
- 587 Putkonen T. Ubie die gruppenspezifischen Eigenschaften Verschiedener Koperflussigkeiten. *Acta Soc Med Fenn Duodecim Ser A* 1930;14:113.
- 588 Boettcher B. ABO blood group agglutinins in saliva. *Acta Haematol* 1967;38:351-60.
- 589 Jakobowicz R, Ehrlich M, Graydon JJ. Crossreacting antibody and saliva agglutinins. *Vox Sang* 1967;12:340-53.
- 590 Bell CE, Fortwengler HP. Salivary anti-A and anti-B activity of group O males. *Vox Sang* 1971;21:493-508.
- 591 Gershowitz H, Behrman SJ, Neel JV. Hemagglutinins in uterine secretions. *Science* 1958;128:719-20.
- 592 Solish GI, Gershowitz H, Behrman SJ. Occurrence and titer of isohemagglutinins in secretions of the human uterine cervix. *Proc Soc Exp Biol NY* 1961;108:645-9.
- 593 Ikin EW, Mourant AE, Pugh VW. An anti-Rh serum reacting differently with O and A red cells. *Vox Sang (Old Series)* 1953;3:74-8.
- 594 Dodd BE. Linked anti-A and anti-B antibodies from group O sera. *Br J Exp Path* 1952;33:1-17.
- 595 Bird GWG. Observations on haemagglutinin 'linkage' in relation to iso-agglutinins and auto-agglutinins. *Br J Exp Path* 1953;34:131-7.
- 596 Dodd BE, Lincoln PJ. The effect of elution on the reactivity of antibodies of the ABO system, including cross-reacting antibodies, as demonstrated by use of red cells of various subgroups of A, and group B. *Br J Haematol* 1974;26:93-104.
- 597 Holburn AM. Radioimmunoassay studies of the cross-reacting antibody of human group O sera. *Br J Haematol* 1976;32:589-99.
- 598 Owen RD. Heterogeneity of antibodies to the human blood groups in normal and immune sera. *J Immunol* 1954;73:29-39.
- 599 Schiffman G, Howe C. The specificity of blood group A-B cross-reacting antibody. *J Immunol* 1965;94:197-204.
- 600 Franks D, Liske R. The specificity of the cross-reacting antibodies in blood group O sera which produce mixed agglutination. *Immunology* 1968;14:433-44.
- 601 Conger JD, Chan MM, DePalma L. Analysis of the repertoire of human B-lymphocytes specific for type A and type B blood group terminal trisaccharide epitopes. *Transfusion* 1993;33:200-7.
- 602 Salmon C, Schwartzberg L, André R. Anémie hémolytique post-transfusionnelle chez un sujet A_2 à la suite d'une injection massive de sang A_1 . *Sang* 1959;30:223-7.
- 603 Boorman KE, Dodd BE, Loutit JE, Mollison PL. Some results of transfusion of blood to recipients with 'cold' agglutinins. *Br Med J* 1946;751-4.
- 604 Lundberg WB, McGinniss MH. Hemolytic transfusion reaction due to anti- A_1 . *Transfusion* 1975;15:1-9.
- 605 Pineda AA, Taswell HF, Bezica SM. Delayed hemolytic transfusion reaction: an immunologic hazard of blood transfusion. *Transfusion* 1978;18:1-7.
- 606 Voak D. The serological specificity of the sensitising antibodies in ABO heterospecific pregnancy of the group O mother. *Vox Sang* 1968;14:271-81.
- 607 Issitt PD, Anstee DJ. *Applied Blood Group Serology*, 4th edn. Miami: Montgomery Scientific Publications 1998.
- 608 Brouwers HAA, Overbeeke MAM, Huiskes E et al. Complement is not activated in ABO-haemolytic disease of the newborn. *Br J Haematol* 1988;68:363-6.
- 609 Nelson PW, Landreneau MD, Luger AM et al. Ten-year experience in transplantation of A_2 kidneys into B and O recipients. *Transplantation* 1998;65:256-60.
- 610 Fishbein TM, Emre S, Guy SR et al. Safe transplantation of blood group type A_1 livers to blood type O recipients. *Transplantation* 1999;67:1071-3.
- 611 West LJ, Pollock-Barziv SM, Dipchand AI et al. ABO-

- incompatible heart transplantation in infants. *N Engl J Med* 2001;344:793-800.
- 612 Eastlund T. The histo-blood group ABO system and tissue transplantation. *Transfusion* 1998;38:975-88.
- 613 Benjamin RJ, McGurk S, Ralston MS, Churchill WH, Antin JH. ABO incompatibility as an adverse risk factor for survival after alloantigenic bone marrow transplantation. *Transfusion* 1998;39:179-87.
- 614 Heal JM, Blumberg N. The second century of ABO: and now for something completely different. *Transfusion* 1999;39:1155-9.
- 615 Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R, Windle JA. Autoimmune haemolysis and red cell autoantibodies with ABO blood group specificity. *Haematologia* 1995;26:121-9.
- 616 Szymanski IO, Roberts PL, Rosenfield RE. Anti-A autoantibody with severe intravascular hemolysis. *N Engl J Med* 1976;294:995-6.
- 617 Spalter SH, Kaveri AV, Bonnin E *et al*. Normal human serum contains natural antibodies reactive with autologous ABO blood group antigens. *Blood* 1999;93:4418-24.
- 618 Beck ML, Haines RF, Oberman HA. Unexpected serologic findings following lung homotransplantation. *Prog 24th Mtg Am Assoc Blood Banks* 1971;98 [Abstract].
- 619 Ramsey G. Red cell antibodies arising from solid organ transplants. *Transfusion* 1991;31:76-86.
- 620 Minakuchi J, Toma H, Takahashi K, Ota K. Autoanti-A and -B antibody induced by ABO unmatched blood group kidney allograft. *Transplant Proc* 1985;17:2297-300.
- 621 Ahmed KY, Nunn G, Brazier DM, Bird GWG, Crockett RE. Hemolytic anemia resulting from autoantibodies produced by the donor's lymphocytes after renal transplantation. *Transplantation* 1987;43:163-4.
- 622 Petz LD. Immunohematologic problems associated with bone marrow transplantation. *Transfus Med Rev* 1987;1:85-100.
- 623 Petz LD. The expanding boundaries of transfusion medicine. In: Nance SJ, ed. *Clinical and Basic Science Aspects of Immunohematology*. Arlington VA: American Association of Blood Banks 1991:73-113.
- 624 Toren A, Dacosta Y, Manny N, Varadi G, Or R, Nagler A. Passenger B-lymphocyte-induced severe hemolytic disease after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 1996;87:843-4.
- 625 Bolan CD, Childs RW, Procter JL, Barrett AJ, Leitman AJ. Massive immune haemolysis after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with minor ABO incompatibility. *Br J Haematol* 2001;112:787-95.
- 626 Hows J, Beddow K, Gordon-Smith E *et al*. Donor-derived red blood cell antibodies and immune hemolysis after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1986;67:177-81.
- 627 Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495-7.
- 628 Barnstable CJ, Bodmer WF, Brown G *et al*. Production of monoclonal antibodies to group A erythrocytes, HLA and other human cell surface antigens: new tools for genetic analysis. *Cell* 1978;14:9-20.
- 629 Voak D, Sacks S, Alderson T *et al*. Monoclonal anti-A from a hybrid-myeloma: evaluation as a blood grouping reagent. *Vox Sang* 1980;39:134-40.
- 630 Edelman L, Rouger P, Doinel C *et al*. Thermodynamic and immunological properties of a monoclonal antibody to human blood group A. *Immunology* 1981;44:549-54.
- 631 Lowe AD, Lennox ES, Voak D. A new monoclonal anti-A: culture supernatants with the performance of hyperimmune human reagents. *Vox Sang* 1984;46:29-35.
- 632 Messeter L, Brodin T, Chester MA, Löw B, Lundblad A. Mouse monoclonal antibodies with anti-A, anti-B and anti-A,B specificities; some superior to human polyclonal ABO reagents. *Vox Sang* 1984;46:185-94.
- 633 Guest AR, Scott ML, Smythe J, Judson PA. Analysis of the structure and activity of A and A,B immunoglobulin A monoclonal antibodies. *Transfusion* 1992;32:239-45.
- 634 Abe K, Levery SB, Hakomori S-I. The antibody specific to type 1 chain blood group A determinant. *J Immunol* 1984;132:1951-4.
- 635 Furukawa K, Clausen H, Hakomori S *et al*. Analysis of the specificity of five murine anti-blood group A monoclonal antibodies, including one that identifies Type 3 and Type 4 A determinants. *Biochemistry* 1985;24:7820-6.
- 636 Gooi HC, Hounsell EF, Picard JK *et al*. Differing reactions of monoclonal anti-A antibodies with oligosaccharides related to blood group A. *J Biol Chem* 1985;260:13218-24.
- 637 Telen MJ. An antibody to human thymic Hassall's body epithelium recognizes a subset of blood group A antigens. *J Immunogenet* 1985;12:3-15.
- 638 Goossens D, Champomier F, Rouger P, Salmon C. Human monoclonal antibodies against blood group antigens: preparation of a series of stable EBV immortalized B clones producing high levels of antibody of different isotypes and specificities. *J Immunol Methods* 1987;101:193-200.
- 639 Raubitschek A, Senyk G, Larrick J, Lizak G, Fong S. Human monoclonal antibodies against group A red blood cells. *Vox Sang* 1985;48:305-8.
- 640 Inoue H, Hirohata S, Shimosato Y *et al*. Establishment of an anti-A human monoclonal antibody from a blood group A lung cancer patient: evidence for the occurrence of autoimmune response to difucosylated type-2 chain A. *Exp J Immunol* 1989;19:2197-203.
- 641 Iwaki Y, Kasai M, Terasaki PI *et al*. Monoclonal antibody against A₁ Lewis x antigen produced by the hy-

- bridoma immunized with a pulmonary carcinoma. *Cancer Res* 1982;42:409-11.
- 642 Clausen H, Lavery SB, McKibbin JM, Hakomori S. Blood group A determinants with mono- and difucosyl Type 1 chain in human erythrocyte membranes. *Biochemistry* 1985;24:3578-86.
- 643 Clausen H, McKibbin JM, Hakomori S. Monoclonal antibodies defining blood group A variants with difucosyl Type 1 chain (ALe^b) and difucosyl Type 2 chain (ALe^c). *Biochemistry* 1985;24:6190-4.
- 644 Gooi HC, Picard JK, Hounsell EF *et al*. Monoclonal antibody (EGR/G49) reactive with the epidermal growth factor receptor of A431 cells recognizes the blood group ALe^b and ALe^c structures. *Mol Immunol* 1985; 22:689-93.
- 645 Chen H-T, Kabat EA. Immunochemical studies on blood groups: the combining site specificities of mouse monoclonal hybridoma anti-A and anti-B. *J Biol Chem* 1985;260:13208-17.
- 646 Watkins WM. Monoclonal antibodies as tools in genetic studies on carbohydrate blood group antigens. *J Immunogenet* 1990;17:259-76.
- 647 Lubenko A, Ivanyi J. Epitope specificity of blood-group-A-reactive murine monoclonal antibodies. *Vox Sang* 1986;51:136-42.
- 648 Lubenko A, Savage J. Analysis of the heterogeneity of the binding site specificities of hyperimmune human anti-A and -A,B sera: the application of competition assays using murine monoclonal antibodies. *Vox Sang* 1989;57:254-60.
- 649 Bundle DR, Gidney MAJ, Kassam N, Rahman AFR. Hybridomas specific for carbohydrates: synthetic human blood group antigens for the production, selection, and characterization of monoclonal typing reagents. *J Immunol* 1982;129:678-82.
- 650 Voak D, Lowe AD, Lennox E. Monoclonal antibodies: ABO serology. *Biotech Bull* 1983;4:291-9.
- 651 Chang TY, Siegel DL. Isolation of an IgG anti-B from a human Fab-phage display library. *Transfusion* 2001; 41:6-12.
- 652 Rouger P, Anstee D, Salmon C, eds. First International Workshop on Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1987;30:353-717.
- 653 Chester MA, Johnson U, Lundblad A *et al*. eds. Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens. *Proceedings of the 2nd International Workshop and Symposium* 1990.
- 654 Beck ML, eds. Third International Workshop on Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens. *Transfus Clin Biol* 1997;4:13-54.
- 655 McGowan A, Tod A, Chirnside A *et al*. Stability of murine monoclonal anti-A, anti-B and anti-A,B ABO grouping reagents and a multi-centre evaluation of their performance in routine use. *Vox Sang* 1989;56:122-30.
- 656 Judson PA, Smythe JS. Mechanism of cryoprecipitation of anti-blood group B murine monoclonal antibodies. *Transfus Med* 1991;1:97-102.
- 657 Morgan WTJ, Watkins WM. The detection of a product of the blood group O gene and the relationship of the so-called O-substance to the agglutinogens A and B. *Br J Exp Path* 1948;29:159-73.
- 658 Hanfland P, Graham HA. Immunochemistry of the Lewis-blood-group system: partial characterization of Le^a, Le^b, and H-Type 1 (Le^{all})-blood-group active glycosphingolipids from human plasma. *Arch Biochem Biophys* 1981;210:383-95.
- 659 Daniels GL. Studies on anti-H reagents. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1984;27:603-12.
- 660 Le Pendu J, Lambert F, Gérard G *et al*. On the specificity of human anti-H antibodies. *Vox Sang* 1986;50:223-6.
- 661 Moores PP, Smart E, Gabriel B. Hemolytic disease of the newborn in infants of an O_h mother. *Transfusion* 1994;34:1015-6.
- 662 Davey RJ, Tourault MA, Holland PV. The clinical significance of anti-H in an individual with the O_h (Bombay) phenotype. *Transfusion* 1978;18:738-42.
- 663 Whitsett CF, Cobb M, Pierce JA, Parvin M. Immunological characteristics and clinical significance of anti-H in the A_h phenotype. *Transfusion* 1984;24:164-5.
- 664 Sanger R. A relationship between the secretion of the blood group antigens and the presence of anti-O or anti-H in human serum. *Nature* 1952;170:78.
- 665 Watkins WM, Morgan WTJ. A potent group-O cell-agglutinin of human origin with H-specific character. *Lancet* 1954;i:959-61.
- 666 Uchikawa M, Tohyama H. A potent cold autoagglutinin that recognizes Type 2H determinant on red cells. *Transfusion* 1986;26:240-2.
- 667 Kuipers EJ, van Imhoff GW, Hazenberg CAM, Smit J. Anti-H IgM (kappa) autoantibody mediated severe intravascular haemolysis associated with malignant lymphoma. *Br J Haematol* 1991;78:283-5.
- 668 Joshi SR. Citrate-dependent auto-antibody causing an error in blood grouping. *Vox Sang* 1997;72:229-32.
- 669 Janvier D, Reviron M, Maury J. Relationship between antibodies dependent on calcium chelators and the H antigen. *Vox Sang* 1998;75:79-80.
- 670 Furukawa K, Mattes MJ, Lloyd KO. A₁ and A₂ erythrocytes can be distinguished by reagents that do not detect structural differences between the two cell types. *J Immunol* 1985;135:4090-4.
- 671 Knowles RW, Bai Y, Daniels GL, Watkins WM. Monoclonal anti-Type 2H: an antibody detecting a precursor of the A and B blood group antigen. *J Immunogenet* 1982;9:69-76.
- 672 Anger BR, Lloyd KO, Oertgen HF, Old LO. Mouse monoclonal IgM antibody against human lung cancer line SK-LC-3 with specificity for H (O) blood group antigen. *Hybridoma* 1982;1:139-47.

- 673 Doinel C, Edelman L, Rouger P *et al.* A murine monoclonal antibody against blood group H type-1 and -2 structures. *Immunology* 1983;50:215-21.
- 674 Fredman P, Richert ND, Magnani JL *et al.* A monoclonal antibody that precipitates the glycoprotein receptor for epidermal growth factor is directed against the human blood group H Type 1 antigen. *J Biol Chem* 1983;258:11206-10.
- 675 Mollicone R, Cailleau A, Imberty A *et al.* Recognition of the blood group H type 2 trisaccharide epitope by 28 monoclonal antibodies and three lectins. *Glycocon J* 1996;13:263-71.
- 676 Kudryashov V, Ragupathi G, Kim IJ *et al.* Characterization of a mouse monoclonal IgG3 antibody to the tumor-associated globo H structure produced by immunization with a synthetic glycoconjugate. *Glycocon J* 1998;15:243-9.
- 677 Daniels GL. Unpublished observations.
- 678 Bhatia HM. Serological specificity of anti-H blood group antibodies. *Ind J Med Res* 1964;52:5-14.
- 679 Rosenfield RE, Schroeder R, Ballard R *et al.* Erythrocytic antigenic determinants characteristic of H, I in the presence of H [IH], or H in the absence of i [H(-i)]. *Vox Sang* 1964;9:415-9.
- 680 Lin-Chu M, Broadberry RE. Blood transfusion in the para-Bombay phenotype. *Br J Haematol* 1990;75:568-72.
- 681 Campbell SA, Shirey RS, King KE, Ness PM. An acute hemolytic transfusion reaction due to anti-IH in a patient with sickle cell disease. *Transfusion* 2000;40:828-31.
- 682 Bird GWG, Wingham J. Erythrocyte autoantibody with unusual specificity. *Vox Sang* 1977;32:280-2.
- 683 Pierce SR, Kowalski MA, Hardman JT, Beck ML. Anti-Hi: more common than previously thought? [Abstracts]. *Joint Congr Int Soc Blood Transfus and Am Assoc Blood Banks* 1990:79.
- 684 Boyd WC, Shapleigh E. Antigenic relations of blood group antigens as suggested by tests with lectins. *J Immunol* 1954;73:226-31.
- 685 Goldstein IJ, Hughes RC, Monsigny M, Osawa T, Sharon N. What should be called a lectin? *Nature* 1980;285:66.
- 686 Morgan WTJ, Watkins WM. The inhibitions of the haemagglutinins in plant seeds by human blood group substances and simple sugars. *Br J Exp Path* 1953;34:94-103.
- 687 Furukawa K, Ying R, Nakajima T, Matsuki T. Hemagglutinins in fungus extracts and their blood group specificity. *Exp Clin Immunogenet* 1995;12:223-31.
- 688 Boyd WC. The lectins: their present status. *Vox Sang* 1963;8:1-32.
- 689 Prokop O, Uhlenbruck G, Köhler W. A new source of antibody-like substances having anti-blood group specificity: discussion on the specificity of *Helix* agglutinins. *Vox Sang* 1968;14:321-33.
- 690 Sharon N, Lis H. Lectins: cell-agglutinating and sugar-specific proteins. *Science* 1972;177:949-59.
- 691 Bird GWG. Lectins in immunohematology. *Transfus Med Rev* 1989;3:55-62.
- 692 Renkonen KO. Studies on hemagglutinins present in seeds of some representatives of the family Leguminosae. *Ann Med Exp Fenn* 1948;26:66-72.
- 693 Etzler ME, Kabat EA. Purification and characterization of a lectin (plant hemagglutinin) with blood group A specificity from *Dolichos biflorus*. *Biochemistry* 1970;9:869-77.
- 694 Boyd WC, Brown R. A specific agglutinin in the snail *Otala (Helix) lactea*. *Nature* 1965;208:593-4.
- 695 Hammarström S, Kabat EA. Studies on specificity and binding properties of the blood group A reactive hemagglutinin from *Helix pomatia*. *Biochemistry* 1971;10:1684-92.
- 696 Potapov MI. Untersuchung von Blutflecken und menschlichen Ausscheidungsprodukten mit dem Gruppen-lyektin Anti-B₁ (*Evonymus alata*). *Folia Haemat* 1970;93:458-64.
- 697 Ottensooser F, Sato R, Sato M. A new anti-B lectin. *Transfusion* 1968;8:44-6.
- 698 Mäkelä O, Mäkelä P, Krüpe M. Zur spezifität der Anti-B-Phythaemagglutinine. *Z Immunforsch* 1959;117:220-9.
- 699 Prokop O, Schlesinger D, Geserick G. Thermostabiles B-agglutinin aus Konserven von Lachskaviar. *Z Immunforsch* 1967;132:491-4.
- 700 Todd GM. Blood group antibodies in *Salmonidae* roe. *Vox Sang* 1971;21:451-4.
- 701 Anstee DJ, Holt PDJ, Pardoe GI. Agglutinins from fish ova defining blood groups B and P. *Vox Sang* 1973;25:347-60.
- 702 Voak D, Todd GM, Pardoe GI. A study of the serological behaviour and nature of the anti-B/P activity of *Salmonidae* roe protectins. *Vox Sang* 1974;26:176-88.
- 703 Goldstein IJ, Blake DA, Ebisu S, Williams TJ, Murphy LA. Carbohydrate binding studies on the *Bandeiraea simplicifolia* I isolectins. *J Biol Chem* 1981;256:3890-3.
- 704 Bird GWG, Wingham J. Agglutinins from Jerusalem sage (*Phlomis fruticosa*). *Experientia* 1970;26:1257-8.
- 705 Cazal P, Lalaurie M. Recherches sur quelques phyto-agglutinines spécifiques des groupes sanguins ABO. *Acta Haemat* 1952;8:73-80.
- 706 Flory LL. Differences in H antigen on human buccal cells from secretor and non-secretor individuals. *Vox Sang* 1966;11:137-56.
- 707 Matsumoto I, Osawa T. Purification and characterization of an anti-H (O) phytohemagglutinin of *Ulex europaeus*. *Biochim Biophys Acta* 1969;194:180-9.
- 708 Matsumoto I, Osawa T. Purification and characterization of a *Cytisus*-type anti-H (O) phytohemagglutinin

- from *Ulex europaeus* seeds. *Arch Biochem Biophys* 1970;140:484-91.
- 709 Bird GWG. Heterogeneity of anti-H lectin. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1976;19:175-83.
- 710 Pereira MEA, Kisailus EC, Gruezo F, Kabat EA. Immunochemical studies on the combining site of the blood group H-specific lectin 1 from *Ulex europaeus* seeds. *Arch Biochem Biophys* 1978;185:108-15.
- 711 Hindsgaul O, Norberg T, Le Pendu J, Lemieux RU. Synthesis of Type 2 human blood-group antigenic determinants: the H, X, and Y haptens and variations of the H Type 2 determinant as probes for the combining site of the lectin 1 of *Ulex europaeus*. *Carbohydr Res* 1982;109:109-42.
- 712 Pereira MEA, Kabat EA. Specificity of purified hemagglutinin (lectin) from *Lotus tetragonolobus*. *Biochemistry* 1974;13:3184-92.
- 713 Voak D, Lodge TW. The demonstration of anti-H/H-H activity in seed anti-H reagents. *Vox Sang* 1971;20:36-45.
- 714 Larsson G, Svensson L, Hynsjö L, Elmgren A, Rydberg L. Typing of the human Lewis blood group system by quantitative fluorescence-activated flow cytometry: large differences in antigen presentation between A₁, A₂, B, O phenotypes. *Vox Sang* 1999;77:227-36.
- 715 Broadberry RE, Lin-Chu M. The Lewis blood group system among Chinese in Taiwan. *Hum Hered* 1991;41:290-4.
- 716 Cutbush M, Giblett ER, Mollison PL. Demonstration of the phenotype Le(a+b+) in infants and adults. *Br J Haematol* 1956;2:210-20.
- 717 Brendemoen OJ. Studies of agglutination and inhibition in two Lewis antibodies. *J Lab Clin Pathol* 1949;34:538-42.
- 718 Brendemoen OJ. Further studies of agglutination and inhibition in the Le^a-Le^b system. *J Lab Clin Med* 1950;36:335-41.
- 719 McConnell RB. Lewis blood group substances in body fluids. *Proc 2nd Congr Hum Genet* 1961:858-861.
- 720 Hounsell EF, Feizi T. Gastrointestinal mucins: structures and antigenicities of their carbohydrate chains in health and disease. *Med Biol* 1982;60:227-36.
- 721 Oriol R, Cartron JP, Cartron J, Mulet C. Biosynthesis of ABH and Lewis antigens in normal and transplanted kidneys. *Transplantation* 1980;29:184-8.
- 722 Evans DAP, Donohoe WTA, Hewitt S, Linaker BD. Le^a blood group substance degradation in the human alimentary tract and urinary Le^a in coeliac disease. *Vox Sang* 1982;43:177-87.
- 723 Lodge TW, Usher A. Lewis blood group substances in seminal fluid. *Vox Sang* 1962;7:329-33.
- 724 Arcilla MB, Sturgeon P. Lewis and ABH substances in amniotic fluid obtained by amniocentesis. *Pediatr Res* 1972;6:853-8.
- 725 Sneath JS, Sneath PHA. Transformation of the Lewis groups of human red cells. *Nature* 1955;176:172.
- 726 Miller EB, Rosenfield RE, Vogel P, Haber G, Gibbel N. The Lewis blood factors in American Negroes. *Am J Phys Anthropol* 1954;12:427-44.
- 727 Mäkelä O, Mäkelä P. Le^b antigen: studies on its occurrence in red cells, plasma and saliva. *Ann Med Exp Fenn* 1956;34:157-62.
- 728 Oriol R, Le Pendu J, Sparkes RS *et al*. Insights into the expression of ABH and Lewis antigens through human bone marrow transplantation. *Am J Hum Genet* 1981;33:551-60.
- 729 Blajchman MA, King DJ, Heddl NM *et al*. Association of renal failure with Lewis incompatibility after allogenic bone marrow transplantation. *Am J Med* 1985;79:143-6.
- 730 Dzik WH, Mondor LA, Maillet SM, Jenkins RL. ABO and Lewis blood group antigens of donor origin in the bile of patients after liver transplantation. *Transfusion* 1987;27:384-7.
- 731 Ramsey G, Fryer JP, Teruya J, Sherman LA. Lewis (a-b-) red blood cell phenotype in patients undergoing evaluation for small intestinal transplantation. *Transfusion* 2000;40 (Suppl.):1145 [Abstract].
- 732 Lin M, Shieh S-H. Postnatal development of red cell Le^a and Le^b antigens in Chinese infants. *Vox Sang* 1994;66:137-40.
- 733 Henry SM, Jovall P-E, Ghardashkani S, Gustavsson ML, Samuelsson BO. Structural and immunochemical identification of Le^b glycolipids in the plasma of a group O Le(a-b-) secretor. *Glycocon J* 1995;12:309-17.
- 734 Cooper RA. Abnormalities of cell-membrane fluidity in the pathogenesis of disease. *N Engl J Med* 1977;297:371-7.
- 735 Crookston MC, Tilley CA, Crookston JH. Human blood chimaera with seeming breakdown of immune tolerance. *Lancet* 1970;iii:1110-2.
- 736 Mollison PL, Polley MJ, Crome P. Temporary suppression of Lewis blood-group antibodies to permit incomplete transfusion. *Lancet* 1963;i:909-12.
- 737 Rohr TE, Smith DF, Zopf DA, Ginsburg V. Le^b-active glycolipid in human plasma: measurement by radioimmunoassay. *Arch Biochem Biophys* 1980;199:265-9.
- 738 Nicholas JW, Jenkins WJ, Marsh WL. Human blood chimeras: a study of surviving twins. *Br Med J* 1957;i:1458-60.
- 739 Swanson J, Crookston MC, Yunis E *et al*. Lewis substances in a human marrow-transplantation chimaera. *Lancet* 1971;i:396.
- 740 Brendemoen OJ. Development of the Lewis blood group in the newborn. *Acta Path Microbiol Scand* 1961;52:55-8.
- 741 Andresen PH. Blood group with characteristic phenotypical aspects. *Acta Path Microbiol Scand* 1948;24:616-8.

- 742 Jordal K, Lyndrup S. The distribution of C-D and Le^a in 1000 mother-child combinations. *Acta Path Microbiol Scand* 1952;31:476-80.
- 743 Jordal K. The Lewis blood groups in children. *Acta Path Microbiol Scand* 1956;39:399-406.
- 744 Lawler SD, Marshall R. Lewis and secretor characters in infancy. *Vox Sang* 1961;6:541-54.
- 745 Brendemoen OJ. Some factors influencing Rh immunization during pregnancy. *Acta Path Microbiol Scand* 1952;31:579-83.
- 746 Rosenfield RE, Haber GV, Kissmeyer-Nielsen F *et al*. Ge, a very common red-cell antigen. *Br J Haematol* 1960;6:344-9.
- 747 Zopf DA, Ginsburg V, Hallgren P *et al*. Determination of Le^b-active oligosaccharides in urine of pregnant and lactating women by radioimmunoassay. *Eur J Biochem* 1979;93:431-5.
- 748 Hammar L, Månsson S, Rohr T *et al*. Lewis phenotype of erythrocytes and Le^b-active glycolipid in serum of pregnant women. *Vox Sang* 1981;40:27-33.
- 749 Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 2nd edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1954:233-43.
- 750 Miller EB, Rosenfield RE, Vogel P. On the incidence of some of the new blood agglutinogens in Chinese and Negroes. *Am J Phys Anthropol* 1951;9:115-26.
- 751 Molthan L. Lewis phenotypes of American Caucasians, American Negroes and their children. *Vox Sang* 1980;39:327-30.
- 752 Salmon C, Malassenet R. Considérations sur les anticorps anti-Lewis et pourcentage des différents phénotypes Lewis chez les donneurs de sang de Paris. *Rev Hémat* 1953;8:183-8.
- 753 Mak KH, Cheng S, Yuen C *et al*. Survey of blood group distribution among Chinese blood donors in Hong Kong. *Vox Sang* 1994;67 (Suppl. 2):50 [Abstract].
- 754 Barnicot NA, Lawler SD. A study of the Lewis, Kell, Lutheran and P blood group systems and the ABH secretion in West African Negroes. *Am J Phys Anthropol* 1953;11:83-90.
- 755 Henry SM, Simpson LA, Woodfield DG. The Le(a+b+) phenotype in Polynesians. *Hum Hered* 1988;38:111-16.
- 756 Boettcher B, Kenny R. A quantitative study of Le^a, A and H antigens in salivas of Australian Caucasians and Aborigines. *Hum Hered* 1971;21:334-45.
- 757 Broadberry RE, Lin M. Comparison of the Lewis phenotypes among the different population groups of Taiwan. *Transfus Med* 1996;6:255-60.
- 758 Kissmeyer-Nielsen F. Irregular blood group antibodies in 200 000 individuals. *Scand J Haematol* 1965;2:331-42.
- 759 Salmon C, Cartron JP. The Lewis blood group system. In: Greenwalt TJ, Steane EA, eds. *CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science: Section D. Blood Banking*, Vol. 1. Cleveland: CRC Press 1977:309-40.
- 760 Spitalnik S, Cowles J, Cox MT *et al*. A new technique in quantitative immunohematology: solid-phase kinetic enzyme-linked immunosorbent assay. *Vox Sang* 1983;45:440-8.
- 761 Holburn AM. IgG anti-Le^a. *Br J Haematol* 1974;27:489-500.
- 762 Spitalnik S, Cowles J, Cox MT, Blumberg N. Detection of IgG anti-Lewis (a) antibodies in cord sera by kinetic elisa. *Vox Sang* 1985;48:235-8.
- 763 François A, Sansonetti N, Mollicone R *et al*. Heterogeneity of Lewis antibodies: a comparison of the reaction of human and animal reagents with synthetic oligosaccharides. *Vox Sang* 1986;50:227-34.
- 764 Cowles JW, Spitalnik SL, Blumberg N. The fine specificity of Lewis blood group antibodies: evidence for maturation of the immune response. *Vox Sang* 1989;56:107-11.
- 765 Polley MJ, Mollison PL. The role of complement in the detection of blood group antibodies: special reference to the antiglobulin test. *Transfusion* 1961;1:9-22.
- 766 Stratton F. Complement-fixing blood group antibodies with special reference to the nature of anti-Le^a. *Nature* 1961;190:240-1.
- 767 Dorf ME, Eguro SY, Cabrera G *et al*. Detection of cytotoxic non-HL-A antisera. I. Relationship to anti-Le^a. *Vox Sang* 1972;22:447-56.
- 768 Oriol R, Danilovs J, Lemieux R, Terasaki P, Bernoco D. Lymphocytotoxic definition of combined ABH and Lewis antigens and their transfer from sera to lymphocytes. *Hum Immunol* 1980;3:195-205.
- 769 Young WW, Johnson HJ, Tamura Y *et al*. Characterization of monoclonal antibodies specific for the Lewis a human blood group determinant. *J Biol Chem* 1983;258:4890-4.
- 770 Fraser RH, Allan EK, Inglis G *et al*. Production and immunochemical characterization of mouse monoclonal antibodies to human Lewis^a blood group structures. *Exp Clin Immunogenet* 1984;1:145-51.
- 771 Cowles JW, Cox MT, McMican A, Blumberg N. Comparison of monoclonal antisera with conventional antisera for Lewis blood group antigen determination. *Vox Sang* 1987;52:83-4.
- 772 Dickson L, Richman PI, Shaw M-A, Donald ASR, Swallow DM. Three antibodies to human intestinal brush border membrane are characterized as anti-Le^a. *J Immunogenet* 1989;16:193-202.
- 773 Good AH, Yau O, Lamontagne LR, Oriol R. Serological and chemical specificities of twelve monoclonal anti-Le^a and anti-Le^b antibodies. *Vox Sang* 1992;62:180-9.
- 774 Pisacka M, Stambergová M. Activation of Thomsen-Friedenreich antigen on red cells: a possible source of errors in antigen typing with some monoclonal antibodies. *Vox Sang* 1994;66:300.
- 775 Ceppellini R, Dunn LC, Filomena I. Immunogenetica II. Analisi genetica formale de caratteri Lewis con particolare riguardo alla natura epistatica della speci-

- ficita^a serologica Le^b. *Fol Hered Path* 1959;8:261-96.
- 776 Garratty G, Kleinschmidt G. Two examples of anti-Le^b detected in the sera of patients with the Lewis phenotype Le(a-b-). *Vox Sang* 1965;10:567-71.
- 777 Hudelson B, Liu J, Ocariz J, Martin D, Slater LM. Lymphocytotoxic anti-Lewis^{hst} antibody. *Transplantation* 1981;31:449-51.
- 778 Messeter L, Brodin T, Chester MA *et al*. Immunochemical characterization of a monoclonal anti-Le^b blood grouping reagent. *Vox Sang* 1984;46:66-74.
- 779 Brockhaus M, Magnani JL, Blaszczyk M *et al*. Monoclonal antibodies directed against the human Le^b blood group antigen. *J Biol Chem* 1981;256:13223-5.
- 780 Seaman MJ, Chalmers DG, Franks D. Siedler: an antibody which reacts with A₁Le(a-b+) red cells. *Vox Sang* 1968;15:25-30.
- 781 Gundolf F. Anti-A₁Le^b in serum of a person of a blood group A₁h. *Vox Sang* 1973;25:411-9.
- 782 de Vries SL, Smitskamp HS. Haemolytic transfusion reaction due to anti-Lewis^a agglutinin. *Br Med J* 1951;i:280-1.
- 783 Brendemoen OJ, Aas K. Hemolytic transfusion reaction probably caused by anti-Le^a. *Acta Med Scand* 1952;141:458-60.
- 784 Mollison PL, Cutbush M. Use of isotope-labelled red cells to demonstrate incompatibility in vivo. *Lancet* 1955;i:1290-5.
- 785 Roy RB, Wesley RH, Fitzgerald JDL. Haemolytic transfusion reaction caused by anti-Le^a. *Vox Sang* 1960;5:545-50.
- 786 Weir AB, Woods LL, Chesney C, Neitzer G. Delayed hemolytic transfusion reaction caused by anti-Le^{hst} antibody. *Vox Sang* 1987;53:105-7.
- 787 Contreras M, Mollison PL. Delayed haemolytic transfusion reaction caused by anti-Le^{hst} antibody. *Vox Sang* 1989;56:290.
- 788 Quiroga H, Leite A, Baia F *et al*. Clinically significant anti-Le^b. *Vox Sang* 2000;78 (Suppl. 1) [Abstract P125].
- 789 Jesse JK, Sheek KJ. Anti-Le^b implicated in acute hemolytic transfusion reaction: a rare occurrence. *Transfusion* 2000;40 (Suppl.):1155 [Abstract].
- 790 Waheed A, Kennedy MS, Gerhan S, Senhauser DA. Transfusion significance of Lewis system antibodies: success in transfusion with crossmatch-compatible blood. *Am J Clin Pathol* 1981;76:294-8.
- 791 Carreras Vescio LA, Torres OW, Virgilio OS, Pizzolato M. Mild hemolytic disease of the newborn due to anti-Lewis^a. *Vox Sang* 1993;64:194-5.
- 792 Bharucha ZS, Joshi SR, Bhatia HM. Hemolytic disease of the newborn due to anti-Le^b. *Vox Sang* 1981;41:36-9.
- 793 Oriol R, Cartron J, Yvart J *et al*. The Lewis system: new histocompatibility antigens in renal transplantation. *Lancet* 1978;i:574-5.
- 794 Fischer E, Lenhard V, Römer W *et al*. The Lewis antigen system and its relevance for clinical transplantation. *Z Immun Forsch* 1979;155:420-3.
- 795 Oriol R, Opelz G, Chun C, Terasaki PI. The Lewis system and kidney transplantation. *Transplantation* 1980;29:397-400.
- 796 Pfaff WW, Howard RJ, Ireland J, Scornik J. The effect of Lewis antigen and race on kidney graft survival. *Transplant Proc* 1983;15:1139-41.
- 797 Lenhard V, Roelcke D, Dreikorn K *et al*. Significance of Lewis and HLA system in kidney transplantation: a multicenter study in Germany. *Transplant Proc* 1981;13:930-3.
- 798 Williams G, Pegrum GD, Evans CA. Lewis antigens in renal transplantation. *Lancet* 1978;i:878.
- 799 Spitalnik S, Pfaff W, Cowles J *et al*. Relation of humoral immunity to Lewis blood group antigens with renal transplant rejection. *Transplantation* 1984;37:265-8.
- 800 Rydberg L, Samuelsson BE, Brynner H. Influence of Lewis incompatibility in living donor kidney transplantation. *Transplant Proc* 1985;17:2292-3.
- 801 Posner MP, McGeorge MB, Mendez-Picon G, Mohanakumar T, Lee HM. The importance of the Lewis system in cadaver renal transplantation. *Transplantation* 1986;41:474-7.
- 802 Gratama JWC, Hendriks GFJ, Persijn GG *et al*. The interaction between the Lewis blood group system and HLA-matching in renal transplantation. *Transplantation* 1988;45:926-9.
- 803 Myser T, Steedman M, Hunt K *et al*. A bone marrow transplant with an acquired anti-Le^a: a case study. *Hum Immunol* 1986;17:102-6.
- 804 Giles CM, Poole J. Auto-anti-Le^b in the serum of a renal dialysis patient. *Clin Lab Haematol* 1979;1:239-42.
- 805 Andresen PH, Jordal K. An incomplete agglutinin related to the L-(Lewis) system. *Acta Path Microbiol Scand* 1949;26:636-8.
- 806 Jordal K. The Lewis factors Le^b and Le^x and a family series tested by anti-Le^a, anti-Le^b, and anti-Le^x. *Acta Path Microbiol Scand* 1958;42:269-84.
- 807 Arcilla MB, Sturgeon P. Le^x, the spurned antigen of the Lewis blood group system. *Vox Sang* 1974;26:425-38.
- 808 Schenkel-Brunner H, Hanfland P. Immunochemistry of the Lewis blood-group system. III. Studies on the molecular basis of the Le^x property. *Vox Sang* 1981;40:358-66.
- 809 AuBuchon JP, Davey RJ, Anderson HJ *et al*. Specificity and clinical significance of anti-Le^x. *Transfusion* 1986;26:302-3.
- 810 Hirsch HE, Graham HA. Adsorption of Le^a and Le^b from plasma onto red blood cells. *Transfusion* 1980;20:474-5.
- 811 Greenwell P, Johnson PH, Edwards JM *et al*. Association of the human Lewis blood group Le(a-b-c-d-) with the failure of expression of α-3-L fucosyltrans-

- ferase. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1986; 24:233-49.
- 812 Potapov MI. Detection of the antigen of the Lewis system, characteristic of the erythrocytes of the secretory group Le(a-b-). *Probl Haematol (Moscow)* 1970; 11:45-9 [in Russian with English summary].
 - 813 Gunson HH, Latham V. An agglutinin in human serum reacting with cells from Le(a-b-) non-secretor individuals. *Vox Sang* 1972;22:344-53.
 - 814 Lemieux RU, Baker DA, Weinstein WM, Switzer CM. Artificial antigens: antibody preparations for the localization of Lewis determinants in tissues. *Biochemistry* 1981;20:199-205.
 - 815 Iseki S, Masaki S, Shibasaki K. Studies on Lewis blood group system. I. Le^x blood group factor. *Proc Jpn Acad* 1957;33:492-7.
 - 816 Iseki S, Masaki S, Shibasaki K. Studies on Lewis blood group system. II. Distribution and heredity of Le^x blood group factor. *Proc Jpn Acad* 1957;33:686-91.
 - 817 Sistonen P, Nevanlinna HRA. Second example of human anti-Le^x [Abstract]. *19th Congr Int Soc Blood Transfus* 1986:652.
 - 818 Potapov MI. Production of immune anti-Lewis sera in goats. *Vox Sang* 1976;30:211-13.
 - 819 Le Pendu J, Lemieux RU, Oriol R. Purification of anti-Le^x antibodies with specificity for β DGal(1 $\rightarrow$ 3) β DGlcNAcO- using a synthetic immunoadsorbent. *Vox Sang* 1982;43:188-95.
 - 820 Hanfland P, Kordowicz M, Peter-Katalinic J *et al.* Immunochimistry of the Lewis blood-group system: isolation and structures of Lewis-c active and related glycosphingolipids from the plasma of blood-group O Le(a-b-) nonsecretors. *Arch Biochem Biophys* 1986; 246:655-72.
 - 821 Solter D, Knowles BB. Monoclonal antibody defining a stage-specific mouse embryonic antigen (SSEA-1). *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:5565-9.
 - 822 Mayr WR, Pausch VP. RB, a determinant defined by lymphocytotoxicity being associated with ABO blood groups and ABH secretor status. *J Immunogenet* 1976;3:367-72.
 - 823 Rachkewich RA, Crookston MC, Tilley CA, Wherrett JR. Evidence that blood group A antigen on lymphocytes is derived from the plasma. *J Immunogenet* 1978;5:25-9.
 - 824 Bernoco M, Danilovs J, Terasaki PI *et al.* Detection of combined ABH and Lewis glycosphingolipids in sera of H-deficient donors. *Vox Sang* 1985;49:58-66.
 - 825 Dunstan RA. Status of major red cell blood group antigens on neutrophils, lymphocytes and monocytes. *Br J Haematol* 1986;62:301-9.
 - 826 Mollicone R, Caillard T, Le Pendu J *et al.* Expression of ABH and X (Le^x) antigens on platelets and lymphocytes. *Blood* 1988;71:1113-9.
 - 827 Kelton JG, Bebenek G. Granulocytes do not have surface ABO antigens. *Transfusion* 1985;25:567-9.
 - 828 Dunstan RA, Simpson MB, Borowitz M. Absence of ABH antigens on neutrophils. *Br J Haematol* 1985;60:651-7.
 - 829 Gaidulis L, Branch DR, Lazar GS, Petz LD, Blume KG. The red cell antigens A, B, D, U, Ge, Jk³ and Yt^a are not detected on human granulocytes. *Br J Haematol* 1985;60:659-68.
 - 830 Gurevitch J, Nelken D. ABO groups in platelets. *Nature* 1954;173:356.
 - 831 Dunstan RA, Simpson MB, Knowles RW, Rosse WF. The origin of ABH antigens on human platelets. *Blood* 1985;65:615-19.
 - 832 Dunstan RA. The expression of ABH antigens during *in vitro* megakaryocyte maturation: origin of heterogeneity of antigen density. *Br J Haematol* 1986;62:587-93.
 - 833 Santoso S, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. Blood group A and B determinants are expressed on platelet glycoproteins IIa, IIIa, and Ib. *Thromb Haemost* 1991;65:196-201.
 - 834 Ogasawara K, Ueki J, Takenaka M, Furihata K. Study on the expression of ABH antigens on platelets. *Blood* 1993;82:993-9.
 - 835 Hou M, Stockelberg D, Rydberg L, Kutti J, Wadenvik H. Blood group A antigen expression in platelets is prominently associated with glycoprotein Ib and IIb: evidence for A₁/A₂ difference. *Transfus Med* 1996;6:51-9.
 - 836 Stockelberg D, Hou M, Rydberg L, Kutti J, Wadenvik H. Evidence for expression of blood group A antigen on platelet glycoproteins IV and V. *Transfus Med* 1996;6:243-8.
 - 837 Kelton JG, Smith JW, Horsewood P *et al.* ABH antigens on human platelets: expression on the glycosyl phosphatidylinositol-anchored protein CD109. *J Lab Clin Med* 1998;132:142-8.
 - 838 Skogen B, Hansen B, Husebekk A, Haynes T, Hannestad K. Minimal expression of blood group A antigen on thrombocytes from A₂ individuals. *Transfusion* 1988;28:456-9.
 - 839 Dunstan RA, Simpson MB, Rosse WF. Le^x blood group antigen on human platelets. *Am J Clin Path* 1985; 83:90-4.
 - 840 Murphy S. ABO blood groups and platelet transfusion. *Transfusion* 1988;28:401-2.
 - 841 Lee EJ, Schiffer CA. ABO compatibility can influence the results of platelet transfusion: results of a randomized trial. *Transfusion* 1989;29:384-9.
 - 842 Heal JM, Rowe JM, McMican A *et al.* The role of ABO matching in platelet transfusion. *Eur J Haematol* 1993;50:110-7.
 - 843 Curtis BR, Edwards JT, Hessner MJ, Klein JP, Aster RH. Blood group A and B antigens are strongly expressed on platelets of some individuals. *Blood* 2000;96:1574-81.
 - 844 Ravn V, Dabelsteen E. Tissue distribution of histo-blood group antigens. *APMIS* 2000;108:1-28.
 - 845 Ørntoft TF, Holmes EH, Johnson P, Hakomori S, Clausen H. Differential tissue expression of the Lewis

- blood group antigens: enzymatic, immunohistologic, and immunochemical evidence for Lewis a and b antigen expression in Le(a-b-) individuals. *Blood* 1991;77:1389-96.
- 846 Henry SM, Samuelsson BO, Oriol R. Immunochemical and immunohistological expression of Lewis histo-blood group antigens in small intestine including individuals of the Le(a+b+) and Le(a-b-) nonsecretor phenotypes. *Glycocon J* 1994;11:600-7.
- 847 Henry S, Jovall P-A, Ghardashkani S *et al.* Structural and immunochemical identification of Le^a, Le^b, H type 1, and related glycolipids in small intestinal mucosa of a group O Le(a-b-) nonsecretor. *Glycocon J* 1997;14:209-23.
- 848 Kay HEM, Wallace DM. A and B antigens in tumors arising from urinary epithelium. *J Natl Cancer Inst* 1961;26:1349-65.
- 849 Davidsohn I. Early immunologic diagnosis and prognosis of carcinoma. *Am J Clin Path* 1972;57:715-30.
- 850 Nakagoe T, Nanshima A, Sawai T *et al.* Expression of blood group antigens A, B and H in carcinoma tissue correlates with a poor prognosis for colorectal cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000;126:375-82.
- 851 Le Pendu J, Marionneau S, Cailleau-Thomas A *et al.* ABH and Lewis histo-blood group antigens in cancer. *APMIS* 2001;109:9-31.
- 852 Iwamoto S, Withers DA, Handa K, Hakomori S. Deletion of A-antigen in a human cancer cell line is associated with reduced promoter activity of CBF/NF- κ B binding region, and possibly with enhanced DNA methylation of A transferase promoter. *Glycocon J* 1999;16:659-66.
- 853 Yuan M, Itzkowitz SH, Palekar A *et al.* Distribution of blood group antigens A, B, H, Lewis^a, and Lewis^b in human normal, fetal, and malignant colonic tissue. *Cancer Res* 1985;45:4499-511.
- 854 Ørntoft TF, Greenwell P, Clausen H, Watkins WM. Regulation of the oncodevelopmental expression of type 1 chain ABH and Lewis^b blood group antigens in human colon by α -2-L-fucosylation. *Gut* 1991;32:287-93.
- 855 Ørntoft TF, Bech E. Circulating blood group related carbohydrate antigens as tumour markers. *Glycocon J* 1995;12:200-5.
- 856 Steinberg W. The clinical utility of the CA 19-9 tumor-associated antigen. *Am J Gastroenterol* 1990;85:350-5.
- 857 Narimatsu H, Iwasaki H, Nakayama F *et al.* Lewis and Secretor gene dosages affect CA19-9 and DU-PAN-2 serum levels in normal individuals and colorectal cancer patients. *Cancer Res* 1998;58:512-8.
- 858 Häkkinen L. A-like blood group antigen in gastric cancer cells of patients in blood groups O or B. *J Natl Cancer Inst* 1970;44:1183-93.
- 859 Clausen H, Hakomori S, Graem N, Dabelsteen E. Incompatible A antigen expressed in tumors of blood group O individuals: immunochemical, immunohistologic, and enzymatic characterization. *J Immunol* 1986;136:326-30.
- 860 David L, Leitao D, Sobrinho-Simoes M *et al.* Biosynthetic basis of incompatible histo-blood group A antigen expression: anti-A transferase antibodies reactive with gastric cancer tissue of type O individuals. *Cancer Res* 1993;53:5494-500.
- 861 Mourant AE, Kopec AC, Domaniewska-Sobczak K. *Blood Groups and Diseases: A Study of Associations of Diseases with Blood Groups and Other Polymorphisms*. Oxford: Oxford University Press 1978.
- 862 Garratty G. Blood groups and disease: a historical perspective. *Transfus Med Rev* 2000;14:291-301.
- 863 Essery SD, Weir DM, James VS *et al.* Detection of microbial surface antigens that bind Lewis^x antigen. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1994;9:15-22.
- 864 Goodwin CS, Mendall MM, Northfield TC. *Helicobacter pylori* infection. *Lancet* 1997;349:265-9.
- 865 Borén T, Falk P, Roth KA, Larson G, Normark S. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science* 1993;262:1892-5.
- 866 Clarke CA, Cowan WK, Wyn Edwards J *et al.* The relationship of the ABO blood groups to duodenal and gastric ulceration. *Br Med J* 1955;ii:643-6.
- 867 Clarke CA, Edwards JW, Haddock DRW *et al.* ABO blood groups and secretor character in duodenal ulcer: population and sibship studies. *Br Med J* 1956;ii:725-31.
- 868 Oberhuber G, Kranz A, Dejaco C *et al.* Blood group Lewis^b and ABH expression in gastric mucosa: lack of inter-relation with *Helicobacter pylori* colonisation and occurrence of gastric MALT lymphoma. *Gut* 1997;41:37-42.
- 869 Alkout AM, Blackwell CC, Weir DM *et al.* Isolation of a cell surface component of *Helicobacter pylori* that binds H Type 2, Lewis^x, and Lewis^b antigens. *Gastroenterology* 1997;112:1179-87.
- 870 Appelmek BJ, Monteiro MA, Martin SL, Moran AP, Vandenbroucke-Grauls MJE. Why *Helicobacter pylori* has Lewis antigens. *Trends Microbiol* 2000;8:565-570.
- 871 Durand P, Borrone C, Cella GD. Fucosidosis. *J Pediatr* 1969;75:665-74.
- 872 Tiberio G, Filocamo M, Gatti R, Durand P. Mutations in fucosidosis gene: a review. *Acta Genet Med Gemellol* 1995;44:223-32.
- 873 Gatti R, Borrone C, Trias X, Durand P. Genetic heterogeneity in fucosidosis. *Lancet* 1973;ii:1024.
- 874 Kousseff BG, Beratis NG, Strauss L *et al.* Fucosidosis type 2. *Pediatrics* 1976;57:205-13.
- 875 Romeo G, Borrone C, Gatti R, Durand P. Fucosidosis in Calabria: founder effect or high gene frequency. *Lancet* 1977;i:368-9.
- 876 Lee CH, Hagen MA, Chong BH, Grace CS, Rozenberg MC. The Lewis system and secretor status in autoimmune

- immune hemolytic anemia complicating infectious mononucleosis. *Transfusion* 1980;20:585-8.
- 877 Hirano K, Kawa S, Oguchi H et al. Loss of Lewis antigen expression on erythrocytes in some cancer patients with high serum CA-19-9 levels. *J Natl Cancer Inst* 1987;79:1261-8.
- 878 Langkilde NC, Wolf H, Meldgård P, Ørntoft TF. Frequency and mechanism of Lewis antigen expression in human urinary bladder and colon carcinoma patients. *Br J Cancer* 1991;63:583-6.
- 879 Stigendal L, Olsson R, Rydberg L, Samuelsson BE. Blood group Lewis phenotype on erythrocytes and in saliva in alcoholic pancreatitis and chronic liver disease. *J Clin Pathol* 1984;37:778-82.
- 880 Viitala J, Järnefelt J. The red cell surface revisited. *Trends Biol Sci* 1985;14:392-5.
- 881 Koscielak J. A hypothesis on the biological role of ABH₁, Lewis and P blood group determinant structures in glycosphingolipids and glycoproteins. *Glycocon J* 1986;3:95-108.

فصل ۳

سیستم گروه خونی MNS

- ۱-۳ تاریخچه و مقدمه
- ۲-۳ فراوانی آنتی‌ژنی، ژنی و فنوتیپی
- ۳-۳ توارث
- ۴-۳ بیوشیمی و ژنتیک مولکولی
- ۵-۳ اثرات استفاده از آنزیم بر آنتی‌ژن‌های MNSs
- ۶-۳ فنوتیپ‌های نادر با نقصان گلیکوفورین A : $En(a^-)$ و M^k
- ۷-۳ آنتی‌ژن U و فنوتیپ‌های با نقصان گلیکوفورین B : $S-s-u^-$ و $S-s-U^{var}$
- ۸-۳ واریان‌های M و N که استخلاف‌های اسید آمینه‌ای را درون منطقه انتهای آمینی گلیکوفورین A و گلیکوفورین B نشان می‌دهند.
- ۹-۳ سری میلتنبرگر
- ۱۰-۳ گلیکوفورین‌های هیبرید و آنتی‌ژن‌های وابسته با فراوانی کم
- ۱۱-۳ واریان‌های وابسته به GP(A-B) (نوع Lepore)
- ۱۲-۳ واریان‌های وابسته به GP(B-A-B)
- ۱۳-۳ واریان‌های وابسته به GP(A-B-A)
- ۱۴-۳ جزئیات بیشتر در مورد Hil , Mi^a , Mur , $MINY$, $TSEN$: آنتی‌ژن‌های وابسته به گلیکوفورین‌های هیبرید GP(A-B), GP(A-B-A), GP(B-A-B)
- ۱۵-۳ واریان‌های وابسته به GP(B-A) (نوع ضد لپور)
- ۱۶-۳ آنتی‌ژن‌های مرتبط با بیان غیر طبیعی Wr^b
- ۱۷-۳ دیگر آنتی‌ژن‌های دارای بروز کم در سیستم MNS
- ۱۸-۳ آنتی‌ژن‌های مرتبط با گلیکوزیلاسیون غیر طبیعی گلیکوفورین
- ۱۹-۳ واریان‌های کمی
- ۲۰-۳ آنتی‌بادی‌های MNSsU
- ۲۱-۳ روش مطالعه جهش ژن GYPA
- ۲۲-۳ ارتباط سیستم MNSs با Rh

۲-۳ گلیکوفورین‌ها بعنوان گیرنده‌هایی برای عوامل بیماریزا

۲-۳ تکامل و توزیع آنتی‌ژن‌های MNS

۲۵-۳ عملکرد و ظهور تدریجی گلیکوفورین‌ها

۱-۳ تاریخچه و مقدمه

MNS، دومین سیستم گروه خونی کشف شده، از لحاظ پیچیدگی بعد از Rh احتمالاً مقام دوم را دارد. امروزه بسیاری از پیچیدگی‌های سرولوژیکی MNS در سطح مولکولی شناسایی شده‌اند. ۴۳ آنتی‌ژن سیستم MNS در جدول ۱-۳ فهرست شده‌اند. اولین آنتی‌بادی‌ها بر علیه آنتی‌ژن‌های M و N گلوبول قرمز در خرگوش‌های مصون شده با گلوبول‌های قرمز انسانی یافت شدند. این عمل نتیجه یک تحقیق سنجیده از سوی لنداشتاینرولین^۱ [۱-۴] در سال ۱۹۲۷ در مورد دیگر گروه‌های خونی انسانی، زمانی که A و B تنها آنتی‌ژن‌های شناخته شده گلوبول قرمز بودند، بود. اگر چه آلو آنتی - M و آلو آنتی - N وجود دارند، آنها آنتی‌بادی‌های نسبتاً غیر شایعی هستند و عموماً اهمیت بالینی ندارند. لنداشتاینرولین [۳ و ۴] نشان دادند که M و N بصورت محصول آلل‌ها به ارث می‌رسند، و این مسئله بزودی از طریق مطالعات خانوادگی بیشتر مورد تأیید قرار گرفت [۵ و ۶]. MN در تمامی جمعیت‌های آزمایش شده پلی مرفیک می‌باشد. فراوانی فنوتیپ‌های شایع در افراد سفید پوست، M+N- : ۲۸٪، M+N+ : ۵۰٪ و M-N+ : ۲۲٪ می‌باشد. در سال ۱۹۴۷، والش و مونتگومری^۲ [۷] به یک آلو آنتی‌بادی، آنتی - S، دست یافتند که آنتی‌ژنی مرتبط با M و N را شناسایی می‌نمود. سانگر و همکاران^۳ [۸ و ۹] به دنبال آزمایش ۱۹۰ نمونه خون از افراد انگلیسی، دریافتند که ۸۶٪ نمونه‌های S+، M+ نیز بودند، در حالی که فقط ۶۳٪ نمونه‌های S-، M+ بودند و این یک اختلاف بسیار معنی دار بود. ارتباط بین M، N، S و S بطور واضح آلیک نبود، بلکه می‌توانست ناشی از لوکوس‌های بسیار نزدیک بهم باشد، همانطوری که این نظریه به منظور توضیح ارتباط بین D، Ee و Cc در سیستم Rh نیز پیشنهاد شده بود. آنتی - S، یک آلوآنتی‌بادی که محصول یک آلل S را شناسایی می‌نماید، در سال ۱۹۵۱ از سوی لوین و همکاران^۴ [۱۰] گزارش شد. ارتباط بسیار نزدیک بین MN و Ss بعدها با مطالعات خانوادگی تأیید گردید [۱۱] و [۱۲]، موارد بسیار معدودی از نوترکیبی بین این لوکوس‌ها مستند شده‌اند. Ss در اکثریت جمعیت‌ها، پلی مرفیک می‌باشد.

1 - Landsteiner and Levine

2- Walsh and Montgomery

3 - Sanger *et al.*

4 - Levine *et al.*

جدول ۱-۳. آنتی‌ژن‌های سیستم MNS (سیستم 002)

Number	Name	Characteristics
MNS1	M	Polymorphic; GPA 1-5 Ser-Ser*-Thr*-Thr*-Gly-
MNS2	N	Polymorphic; GPA 1-5 Leu-Ser*-Thr*-Thr*-Glu-
MNS3	S	Polymorphic; GPB Met29
MNS4	s	Polymorphic; GPB Thr29
MNS5	U	HFA associated with presence of S or s
MNS6	He	LFA; GPB 1-5 Trp-Ser*-Thr*-Thr*-Gly-
MNS7	Mi ^a	LFA; probably product of junction of A2 and BΨ3 (or altered A3)
MNS8	M ^c	GPA 1-5 Ser-Ser*-Thr*-Thr*-Glu-
MNS9	Vw	LFA; GPA Thr28Met, Asn26 not glycosylated
MNS10	Mur	LFA associated with expression of GYPB pseudoexon
MNS11	M ^o	LFA; GPA 1-5 Leu-Ser-Thr-Asn-Glu-
MNS12	Vr	LFA; GPA Ser47Tyr
MNS13	M ^e	Determinant common to M on GPA and He on GPB
MNS14	Mt ^a	LFA; GPA Thr58Ile
MNS15	St ^a	LFA; product of junction of exons B2 or A2 and A4
MNS16	Ri ^a	LFA; GPA Glu55Lys
MNS17	Cl ^a	LFA; inherited with Ms
MNS18	Ny ^a	LFA; GPA Asp27Glu
MNS19	Hut	LFA; GPA Thr28Lys, Asn26 not glycosylated
MNS20	Hil	LFA; product of junction of exons A3 and B4 with s
MNS21	M ^v	LFA; GPB Thr3Ser
MNS22	Far	LFA; possibly inherited with MS or Ns
MNS23	s ^D	LFA; GPB Pro39Arg
MNS24	Mit	LFA; GPB Arg35His
MNS25	Dantu	LFA; probably product of junction of exons B4 and A5
MNS26	Hop	LFA; GPA Arg49Thr*
MNS27	Nob	LFA; GPA Arg49Thr* + GPA Tyr52Ser
MNS28	En ^a	Heterogeneous: HFAs on GPA
MNS29	ENKT	HFA; GPA, antithetical to Nob (MNS27)
MNS30	'N'	HFA; GPB 1-5 Leu-Ser*-Thr*-Thr*-Glu-
MNS31	Or	LFA; GPA Arg31Trp
MNS32	DANE	LFA; possibly Asn45 of GP(A-B-A)Dane (normal = Ile46)
MNS33	TSEN	LFA; product of junction of exons A3 and B4 with S
MNS34	MINY	LFA; product of junction of exons A3 and B4 with S or s
MNS35	MUT	LFA; generally behaves as anti-Mur + Hut
MNS36	SAT	LFA; probably product of junction of exons A4 and B5
MNS37	ERIK	LFA; GPA Gly59Arg
MNS38	Os ^a	LFA; GPA Pro54Ser
MNS39	ENEP	HFA; GPA, antithetical to HAG (MNS41)
MNS40	ENEH	HFA; GPA, antithetical to Vw (MNS9)
MNS41	HAG	LFA; GPA Ala65Pro
MNS42	ENAV	HFA; GPA, antithetical to MARS (MNS43)
MNS43	MARS	LFA; GPA Glu63Lys

* O-glycosylated.

HFA and LFA, high and low frequency antigens.

فراوانی‌های فنوتیپی در مردمان سفید پوست عبارتند از : $S+s- : ۱۱\%$ ، $S+s+ : ۴۴\%$ و $S-s+ : ۴۵\%$.
 گرین والت و همکاران^۱ [۱۳] دریافتند که حدود ۱٪ آمریکایی‌های آفریقائی تبار $S-s-$ بوده و فاقد آنتی‌ژن با شیوع زیاد U (که از سوی وینرو همکاران [۱۴ و ۱۵] نامگذاری شد) می‌باشند، $S-s-$ در اروپائی‌ها فوق العاده نادر است. طولی نکشید که پیچیدگی‌های $S-s-$ که در ارتباط با بیان ضعیف U بود، محرز گردید [۱۶]. جدول ۲-۳ فنوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌های شایع MNSs و فراوانی آنها در جمعیت‌های انگلیسی سفید پوست و آمریکایی آفریقائی تبار را نشان می‌دهد. شاخص‌های M و N بر روی گلیکوفورین A (GPA)، گلیکوپروتئین اصلی گلبول قرمز غنی از اسید سیالیک (سیالوگلیکوپروتئین، SGP)، حمل می‌گردند. تفاوت M با N در ترکیب اسیدآمینة قسمت انتهای خارج سلولی GPA می‌باشد : M در موقعیت ۱ دارای سرین و در موقعیت ۵ دارای گلاسیین می‌باشد، N در موقعیت ۱ اسیدآمینة لوسین و در موقعیت ۵ گلوتامیک اسید را دارد. کربوهیدرات، به ویژه اسید سیالیک، نیز در بیان آنتی‌ژن‌های N و M ایفای نقش می‌کند. S و s بوسیله سیالوگلیکوپروتئین دیگر گلبول قرمز به نام گلیکوفورین B (GPB) حمل می‌گردند. اختلاف S و s ناشی از یک جایگزینی اسیدآمینة ای در موقعیت ۲۹ گلیکوفورین B می‌باشد : در موقعیت ۲۹ آنتی ژن S دارای میتونین و آنتی ژن s دارای ترئونین می‌باشند. ۲۶ اسیدآمینة اول انتهای خارج سلولی GPB با همین تعداد اسیدآمینة در GPA دارای فعالیت « N » مشابه می‌باشند (GPA^N). لذا GPB فعالیت « N » را نیز بروز می‌دهد (و غالباً "N" نامیده می‌شود)، که توسط بعضی از معرف‌های آنتی - N بر سطح گلبول‌های قرمز افراد هموزیگوت M/M شناسایی می‌گردد.

جدول ۲-۳. فنوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌های شایع MNSs و فراوانی آنها در جمعیت‌های اروپایی سفید پوست و آمریکایی آفریقائی تبار

Phenotype	Europeans*		African American†	
	Genotype	%	Genotype	%
M+N-S+s-	MS/MS	5.7	MS/MS or MS/Mu	2.1
M+N-S+s+	MS/Ms	14.0	MS/Ms	7.0
M+N-S-s+	Ms/Ms	10.1	Ms/Ms or Ms/Mu	15.5
M+N-S-s-		0	Mu/Mu	0.4
M+N+S+s-	MS/NS	3.9	MS/NS, MS/Nu, Mu/NS	2.2
M+N+S+s+	MS/Ns or Ms/NS	22.4	MS/Ns or Ms/NS	13.0
M+N+S-s+	Ms/Ns	22.6	Ms/Ns, Ms/Nu, Mu/Ns	33.4
M+N+S-s-		0	Mu/Nu	0.4
M-N+S+s-	NS/NS	0.3	NS/NS or NS/Nu	1.6
M-N+S+s+	NS/NS	5.4	NS/NS	4.5
M-N+S-s+	Ns/Ns	15.6	Ns/Ns or Ns/Nu	19.2
M-N+S-s-		0	Nu/Nu	0.7

*Frequencies from tests on 1000 white English people [17].

†Frequencies compiled by Race and Sanger [18] from tests on 1322 African Americans.
 u represents all genes that result in no expression of S or s.

گلوبول‌های قرمز افرادی که برای ژن بسیار نادر MNS-null (M^k) هموزیگوت باشند، فاقد تمامی آنتی‌ژن‌های MNS بوده و هیچ نوع GPA یا GPB نخواهند داشت. گلوبول‌های قرمز فنوتیپ بسیار نادر دیگر به نام «En(a-)» فاقد GPA می‌باشند و لذا آنتی‌ژن‌های M و N (جدای از آنتی‌ژن 'N' که بر سطح PB حمل می‌گردد) بیان نمی‌شوند. گلوبول‌های En(a-) آنتی‌ژن‌های طبیعی Ss را بیان می‌کنند اما فاقد بسیاری از آنتی‌ژن‌های با فراوانی بالا که توسط GPA حمل شده و مجموعاً En^a نامیده می‌شوند، هستند. گلوبول‌های En(a-) همچنین فاقد Wr^b می‌باشند که بروز آن ناشی از برهم کنش بین GPA و گلیکوپروتئین باند ۳ گلوبول قرمز است (فصل ۱۰)، گلوبول‌های S-s-U- فاقد GPB می‌باشند اما آنتی‌ژن‌های MN طبیعی را بیان می‌نمایند. فنوتیپ‌های فاقد GPA و GPB عمدتاً ناشی از حذف‌های ژنی هستند. بسیاری از آنتی‌ژن‌های گلوبول قرمز با فراوانی کم که وابسته به سیستم MN می‌باشند شناسایی شده‌اند (جدول ۳-۱)، بعضی از آنها ثابت شده که ناشی از جایگزینی‌های اسیدآمینه‌ای و یا تغییرات گلیکوزیلاسیون در GPA یا GPB می‌باشند، اما بسیاری از آنها در ارتباط با مولکول‌های گلیکوفورین هیبرید غیر طبیعی که بخشی از آنها متشکل از GPA و بخشی دیگر GPB می‌باشد، هستند. گمان می‌رود که این گلیکوفورین‌های هیبرید در نتیجه جورشدن نادرست کروموزومی^۱ متعاقب کراسینگ اور نابرابر و یا به دنبال تبدیل ژنی در ژن‌های GPA و GPB حاصل شده باشند. GYPA و GYPB، ژن‌هایی که GPA و GPB را رمزدهی می‌نمایند، هومولوگ هستند و به همراه یک ژن هومولوگ سوم، GYPE، که ممکن است گلیکوفورین E را تولید نماید، تشکیل یک خوشه ژنی روی کروموزوم ۴ و در ناحیه 4q28 à q31 را می‌دهند (فصل ۳۲).

۳-۲ فراوانی‌های آنتی‌ژنی، ژنی و فنوتیپی

۳-۲-۱ M و N

تمامی مطالعات اولیه در مورد فراوانی و بسیاری از مطالعات دیگر از آن زمان به بعد، صرفاً با آنتی-M و آنتی-N به تنهایی بعمل آمدند [۱۹ و ۲۰]. فراوانی‌های MN در بین جمعیت‌های مختلف نوسانات کمتری از فراوانی آنتی‌ژن‌های ABO و Rh نشان می‌دهد. در اکثریت جمعیتها از جمله قسمت عمده اروپا، آفریقا و آسیای شرقی، فراوانی آلل M بین ۵۰٪ و ۶۰٪ می‌باشد و لذا فراوانی N بین ۴۰٪ و ۵۰٪ است. در کشورهای شرق بالتیک، از جمله روسیه اروپایی، و قسمت عمده آسیای جنوبی و غرب اندونزی، فراوانی بالاتری از M مشاهده می‌شود. بالاترین فراوانی M، بالای ۹۰٪، در میان ساکنین جزیره Inuit و بعضی از آمریکایی‌های بومی یافت می‌گردد. پایین‌ترین فراوانی آن در منطقه اقیانوس آرام و در میان بومی‌های استرالیا می‌باشد. در مناطقی از پاپوگینه نو شیوع M به زیر ۲٪ افت می‌نماید.

1 - misalignment

۳-۲-۲ S ، N ، M و s

فراوانی‌های متفاوت آنتی‌ژن S در بین افراد با سه فنوتیپ MN (جدول ۳-۳) به سانگر و همکاران^۱ [۸ و ۹] کمک نمود که ارتباط بین MN و S را شناسایی نمایند، اگر هیچ ارتباطی وجود نمی‌داشت، فراوانی S+ در میان افراد M-N+، M+N+ و M+N- یکسان می‌بود. تجزیه و تحلیل‌های خانوادگی (بخش ۳-۳) و ژنتیک مولکولی (بخش ۳-۴-۵) به طور قطعی نشان داده‌اند که پلی مرفیسم‌های MN و Ss توسط لوکوس‌های بسیار نزدیک بهم کنترل می‌گردند. در میان افراد سفید پوست چهارها پلوتیپ شایع وجود دارند: MS، Ms، NS و Ns. از آنتی-s غالباً به واسطهٔ کمیابی شدید، در مطالعه جمعیت‌های بزرگ استفاده نشده است. اما بخاطر اینکه u، یک آلل خاموش در لوکوس Ss، در جمعیت‌های سفید پوست فوق العاده نادر است، می‌توان اظهار داشت که فنوتیپ S- نتیجهٔ حالت هموزیگوت برای s در جمعیت‌های مذکور است و فراوانی‌های هاپلوتیپی را نیز می‌توان استنتاج نمود. فیشر^۲ [۲۱ و ۲۲] از روش حداکثر احتمال که برای Rh طراحی نموده بود استفاده کرد اما امروزه برنامه‌های کامپیوتری برای این منظور در دسترس می‌باشند. در اروپایی‌ها، Ms و MS دارای فراوانی‌های مشابه می‌باشند، اما Ns حدوداً پنج تا شش برابر شایع تر از NS می‌باشد. در اهدا کنندگان بریتانیایی سفید پوست فراوانی‌های هاپلوتیپی ذیل محاسبه گردید: MS ۲۵٪، Ms ۲۹٪، NS ۷٪ و Ns ۳۹٪ [۱۷ و ۱۸].

جدول ۳-۳. بعضی از فراوانی‌های تقریبی در سیستم MNS برای مردمان با منشأ اروپای شمالی

فنوتیپ MN	همگی (%)	S+ (%)	s+ (%)
همگی	۱۰۰	۵۵	۸۹
M+N-	۲۸	۷۲	۷۸
M+N+	۵۰	۵۶	۹۲
M-N+	۲۲	۳۱	۹۷

شیوع S در شرق دور کمتر از شیوع آن در اروپا می‌باشد [۱۹]: ۵۲۶۲۴ تایوانی همگی s+ بودند [۲۳]. آنتی ژن S حقیقتاً در میان بومی‌های استرالیایی وجود ندارد [۱۹]. گرچه آنتی‌ژن‌های Ss تقریباً همیشه در جمعیت‌های سفید پوست وجود دارند، فنوتیپ S-s در میان مردمان آفریقایی الاصل غیر شایع نمی‌باشد (به جدول ۲-۳ مراجعه شود). وجود آنتی ژن S و یا s در ارتباط با یک آنتی‌ژن با فراوانی بالا، U، می‌باشد. گلبول‌های S-s، یا U- هستند و یا دارای یک شکل واریان از U می‌باشند

1 - Sanger et al.

2 - Fisher

(بخش ۷-۳). وینر و همکاران^۱ [۱۵] پیشنهاد نمودند که یک جفت آلل بیان U را کنترل می‌نمایند: U که وجود آنتی‌ژن را مشخص می‌نماید و u ، که نسبت به U مغلوب است، عدم حضور آنرا معین می‌سازد. زمانی که ارتباط آن با بیان Ss مشخص گردید، عنوان S^u برای آلل خاموشی از S و s که آنتی‌ژن U را اصلاً تولید نمی‌نماید پیشنهاد گردید [۱۳]. به منظور توصیف فراوانی ژنی، در اینجا استفاده از u حاکی از یک ژن خاموش در لوکوس Ss می‌باشد (جدول ۳-۲). جدول ۳-۴ فراوانی شش هاپلوتیپ شایع را در سه جمعیت مختلف آمریکایی آفریقائی تبار و در دو منطقه از آفریقا نشان می‌دهد.

جدول ۳-۴. فراوانی هاپلوتیپ‌های MNSs در جمعیت‌های سیاهپوست.

Haplotype	USA (1000) [18-20,24]	Senegal (459) [19,25]
<i>MS</i>	0.1001	0.0244
<i>Ms</i>	0.3496	0.0492
<i>Mu</i>	0.0454	0.0747
<i>NS</i>	0.0614	0.0640
<i>Ns</i>	0.3744	0.2940
<i>Nu</i>	0.0691	0.1137

All tested with anti-M, -N, -S, and -s; *u* represents all genes that result in no expression of S or s.

۳-۳ توارث

شواهد خانوادگی بسیاری ثابت نموده‌اند که MN و Ss بصورت دولوکوس بسیار بهم مرتبط بدون هیچ گونه نوترکیبی بین آنها عمل می‌نمایند. نتایج مربوط به تجزیه و تحلیل ۸۸۲ خانواده سفید پوست با جمعاً ۲۳۵۴ فرزند که از نظر M ، N ، S و s مورد آزمایش قرار گرفتند، گزارش شده است [۱۲، ۱۱]. [۲۷ و ۲۶]. توارث MNSs در خانواده‌های سیاهپوست به واسطه وجود u پیچیده می‌گردد (بخش ۷-۳)، اما از نقطه نظر تجزیه و تحلیل‌های خانوادگی، u (که در جای دیگری S^u نامیده شده است) را می‌توان آللی در لوکوس Ss در نظر گرفت که نسبت به S و s مغلوب می‌باشد. خانواده‌های سیاه پوست زیادی از نظر MNSs مورد بررسی و تجزیه تحلیل واقع نشده‌اند، اما تعدادی شجره نامه توصیف شده است [۲۸-۳۰]. با علم به اینکه MN و Ss معرف دولوکوس ژنی مجزا هستند که پروتئین‌های مختلفی را کد می‌نمایند، جای تعجب نیست اگر نو ترکیبی، احتمالاً در نتیجه کراسینگ اور، بین آنها اتفاق افتد. در هر حال، موارد مستند شده چنین نو ترکیبی کمیاب می‌باشند.

در خانواده ای، یک پدر $M-N+S-s+$ و مادر $M+N+S+s$ دارای سه فرزند $M-N+S-s+$ ، سه فرزند $M+N+S+s+$ و یک فرزند $M+N+S-s+$ بودند [۳۱]. مادر احتمالاً MS/Ns بوده زیرا سه فرزند فرضی

1 - Wiener et al.

Ns/Ns و سه فرزند فرضی MS/Ns دارد (به خاطر اینکه پدر احتمالاً Ns/Ns بوده است)، با این حال فرزند دیگر به نظر می‌رسید که Ms/Ns باشد. بدین ترتیب مادر ظاهراً Ns را به سه فرزند، MS را به سه فرزند و Ms را به یک فرزند انتقال داده است. این ناهنجاری در توارث ممکن است با هر کدام از چندین مکانیسم ژنتیکی - سرکوب ژن، حذف ژن، جهش و یا نوترکیبی - توصیف گردد، اما چاون و همکاران^۱ [۳۱] معتقدند که نوترکیبی حاصل شده بین Ns و MS یک اووسیت Ms را در مادر تولید نموده است. گده-دال و همکاران^۲ [۳۲] شش خانواده را توصیف می‌نمایند که در آنها ناهنجاری در توارث MNSs ممکن است ناشی از نوترکیبی باشد.

۳-۴ بیوسیمی و ژنتیک مولکولی

۳-۴-۱ گلیکوفورین‌ها

بسیاری از پروتئین‌ها و گلیکوپروتئین‌های ذاتی غشائی، درون دو لایه فسفولیپیدی غشاء گلبول قرمز لنگر اندازی می‌کنند. بعضی از گلیکو پروتئین‌ها بشدت گلیکوزیله بوده غنی از اسید سیالیک (N - استیل نورامینیک اسید) می‌باشند و سیالوگلیکو پروتئین یا گلیکوفورین نامیده می‌شوند. دو نمونه از این گلیکوفورین‌ها شاخص‌های MN و Ss را حمل می‌نمایند. اصطلاحات متنوع فراوانی به منظور توصیف گلیکوفورین‌ها استفاده شده‌اند که در جدول ۳-۵ ارائه شده‌اند. سیالوگلیکو پروتئین اصلی، که حامل شاخص‌های M یا N می‌باشد، گلیکوفورین A (GPA) و سیالوگلیکو پروتئین فرعی، که شاخص‌های S یا s را حمل می‌نماید، گلیکوفورین B (GPB) نامیده می‌شوند (بازنگری در منابع [۳۳-۳۸]). گلیکوفورین‌های C و D که آنتی‌ژن‌های گریپ^۳ را حمل می‌نمایند از لحاظ ژنتیکی ارتباطی با سیستم MNS ندارند و در فصل ۱۸ توضیح داده شده‌اند.

جدول ۳-۵. گلیکوفورین‌های گلبول قرمز و بعضی از علائم استفاده شده در انتشارات اولیه

Glycophorin	Gene	M_r	Blood group antigens	Other notations
Glycophorin A	GPA	<i>GYPA</i>	43 000	M/N En*
Glycophorin B	GPB	<i>GYPB</i>	25 000	S/s 'N'
Glycophorin E*	GPE	<i>GYPE</i>		
Glycophorin A dimer	GPA_2	86 000	M/N En*	α
Glycophorin B dimer	GPB_2	50 000	S/s 'N'	δ
Glycophorin AB heterodimer	GPAB	68 000	M/N S/s En* 'N'	$\alpha\delta$
Glycophorin C	GPC	<i>GYPC</i>	40 000	Ge3 Ge4
Glycophorin D	GPD	<i>GYPD</i>	30 000	Ge2 Ge3

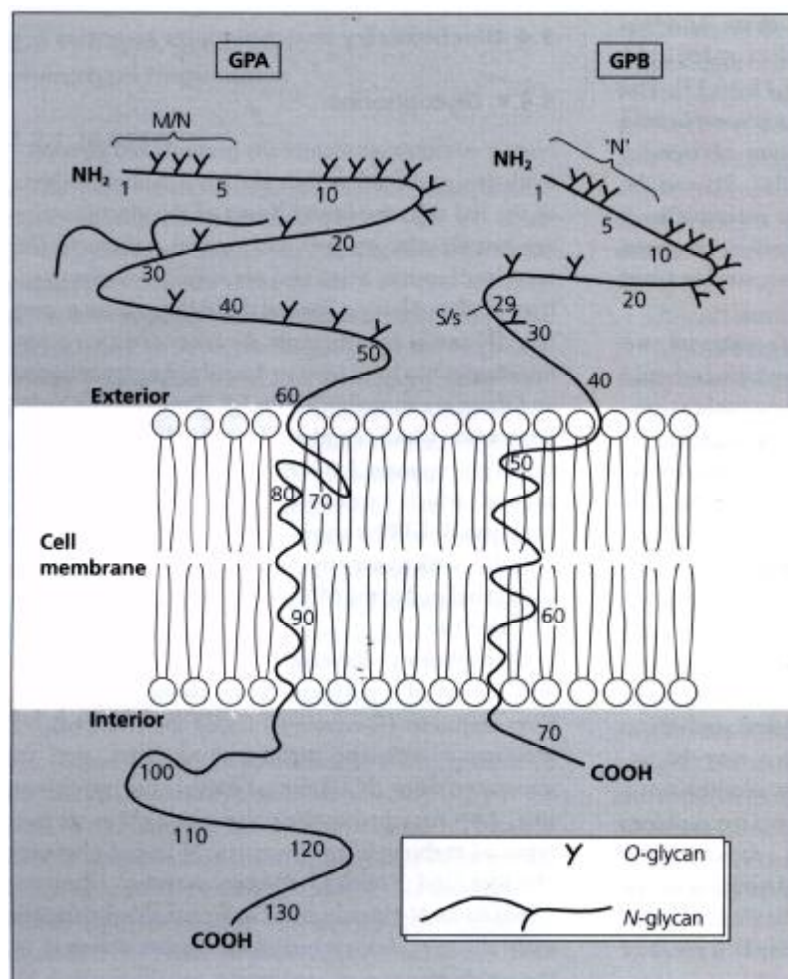
*Existence of a product of *GYPE* in the red cell membrane has not been confirmed.

1- Chawn *et al.*

2 - Gedde-dahl *et al.*

3 - Gerbich

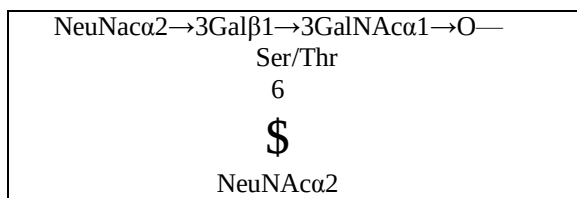
گلیکوفورین‌ها عرض غشاء گلبول قرمز را طی می‌کنند و از یک پیکربندی پلی پپتیدی تشکیل شده‌اند که انتهای کوبوکسیلی آن درون سلول قرار دارد و احتمال می‌رود که با داربست غشاء برهم کنش دهد، و انتهای آمینی آن خارج از غشاء گلبول قرار گرفته است (شکل ۳-۱). دو نوع از ساختارهای کربوهیدراتی به زنجیره پلی پپتیدی متصل شده‌اند: الیگوساکاریدهای متصل از طریق N و الیگوساکاریدهای متصل از طریق O که غالباً N- گلیکان و O- گلیکان نامیده می‌شوند. N- گلیکان‌ها به طور کلی زنجیره‌های کربوهیدراتی پیچیده‌ای هستند که به نیتروژن آمیدی آسپاراژین متصل می‌شوند، معمولاً از طریق N- استیل گلوکز آمین.



شکل ۳-۱. نمایش دیاگرامی گلیکوفورین A (GPA) و گلیکوفورین B (GPB) و وضعیت آنها در غشاء گلبول قرمز (GPA بعد از [۳۹]).

تری پپتید Asn-Xaa-Thr/Ser (که در اینجا Xaa می تواند هر نوع اسید آمینه ای غیر از پرولین می باشد) یک پیش نیاز برای N- گلیکوزیلاسیون محسوب می شود. GPA یک N- گلیکان دارد اما GPB فاقد N- گلیکوزیلاسیون می باشد. روی گلیکوفورین ها، O- گلیکان ها مولکول هایی کوچکتر از N- گلیکانها هستند و به اکسیژن هیدروکسیل (-OH) سرین یا توئونین متصل شده اند. در ساختار گلیکوفورین ها، O- گلیکان ها هستند که حامل قسمت اعظم اسید سیالیک می باشند. آنها به طور معمول دارای ساختمان دی سیالوتتراساکاریدی نشان داده شده در شکل ۳-۲ می باشند، هرچند که ساختارهای دیگری نیز شناسایی شده اند [۳۴]. تمامی زنجیره های کربوهیدراتی به حوزه خارج سلولی پیکره پلی پپتیدی متصل می شوند (شکل ۳-۱). آلوده سازی سلول های تخمدان هامسترچینی (از جمله سلول های جهش یافته با نقائص گلیکوزیلاسیون) با *GYPAcDNA* ثابت نمود که گلیکوزیلاسیون O به منظور ورود GPA به درون غشا پلاسمائی ضروری است [۱۴]، اما در غیاب گلیکوزیلاسیون O، یک N- گلیکان قادر است تا حدودی بروز GPA بر سطح سلول را حمایت نماید [۴۲]. گلیکوفورین ها، به ویژه GPA و GPB، احتمالاً در اشکال مونومریک (GPA و GPB) و دی مریک (GPA_2 و GPB_2) خود و نیز به صورت یک هترودایمر (GPAB) در غشا موجود می باشند (جدول ۳-۵).

شکل ۳-۲. دی سیالوتتراساکارید : O-گلیکان غالب گلیکوفورینها [۴۰].
در مورد اختصارات به جدول ۲-۴ مراجعه گردد.



۳-۴-۲ شناسایی گلیکوفورین ها

جداسازی و شناسایی گلیکوپروتئین های ذاتی غشاء گلوبول قرمز با استفاده از روش سدیم ددکیل سولفات -الکتروفورز در ژل پلی آکریلامید^۱ (SDS-PAGE) تسهیل گردید [۴۳ و ۴۴]. باقیمانده های غشائی شسته شده گلوبول های قرمز لیز شده، در دترژان یونی SDS، که گلیکوپروتئین ها را از دو لایه فسفولیپیدی آزاد می سازد و به آنها یک بار منفی می دهد، حل می گردند. در طول فرآیند الکتروفورز، گلیکوپروتئین های باردار توسط یک جریان الکتریکی از میان ژل پلی آکریلامید که بعنوان یک الک عمل می نماید، کشیده می شوند. مولکول های بزرگتر معمولاً آهسته تر از مولکول های کوچکتر در میان ژل حرکت می کنند و گلیکوپروتئین ها در سراسر ژل تقریباً براساس وزن مولکولی توزیع می یابند. سپس این گلیکوپروتئین ها را می توان با استفاده از روش های متعدد مشاهده نمود. رنگ آمیزی ژل ها با

1- SDS-PAGE(Sodium Dodecyl Sulphate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis)

استفاده از آبی کوماسی درخشان^۱ متعاقب SDS-PAGE، چندین پروتئین از جمله باند^۳ (مبادله کننده یونی، AE1)، باند^{۴/۵} (پروتئین انتقال دهند گلوکز) و اجزاء داربست غشاء: اسپکتین، اکتین، آنکیرین و پروتئین^{۴/۱}، را آشکار می سازد. کوماسی آبی به راحتی گلیکوفورین ها را رنگ آمیزی نمی کند که احتمال می رود ناشی از درجه بالای گلیکوزیلاسیون در آنها باشد. پریودیک اسید شیف^۲ (PAS) گلیکوپروتئین های غنی از اسید سیالیک را رنگ آمیزی می نماید، که این خاصیت، توانایی آنرا به منظور رنگ آمیزی گلیکوفورین ها ایده آل نموده است. هنگامی که ژل ها با PAS رنگ آمیزی می شوند حداقل هفت باند مشاهده می گردد که حاکی از GPA، GPB، GPC، GPD، دیمرهای GPA و GPB و یک هترو دimer از GPA و GPB می باشند (شکل ۳-۳، جدول ۳-۵). اتورادیوگرافی و فلوروگرافی بعنوان روش های حساس مشاهده گلیکوفورین ها در یک ژل پلی آکریل آمید محسوب می گردند. نخستین بار به کمک تکنیک های SDS-PAGE و رنگ آمیزی PAS روی عصاره استخراج شده غشاء گلبول های قرمز با استفاده از بوتانول، ارتباط آنتی ژن های MN و Ss به ترتیب با GPA و GPB محرز گردید. نشان داده شد که این اجزاء استخراج شده، با استفاده از روش مهار آگلوتیناسیون فعالیت S، N، M و یا s را بروز می دهند [۴۵ و ۴۶]. شواهد بیشتر بواسطه عدم وجود GPA در گلبول های افراد دارای فنوتیپ نادر M-N-En(a-) و عدم حضور GPB در گلبول های S-s-U، حاصل گردید (بخش های ۳-۶ و ۳-۷، شکل ۳-۳).

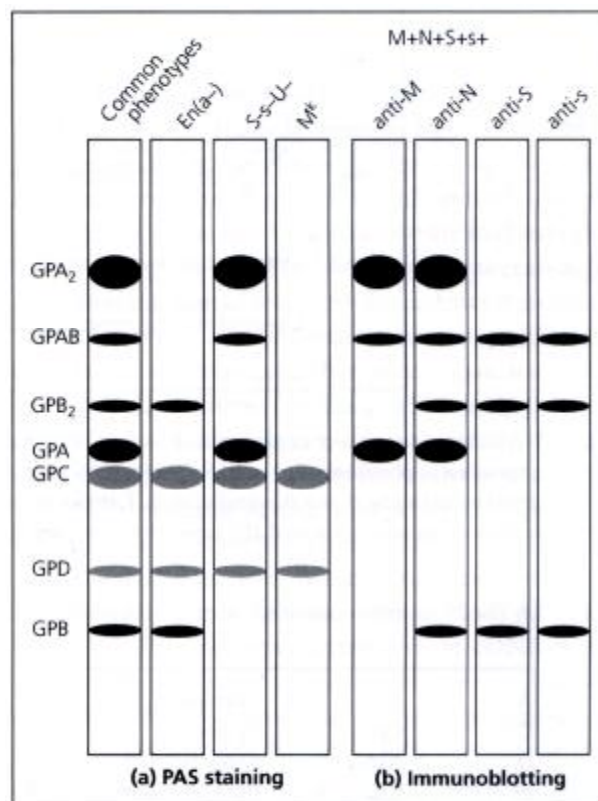
تکنیک ایمونوبلاتینگ (وسترن بلاتینگ)، که ابتدائاً از سوی توبین و همکاران^۳ [۴۷] طراحی گردید، بعنوان روشی بسیار موثر در شناسایی گلیکوفورین ها و دیگر گلیکوپروتئین های دارای فعالیت گروه خونی، مورد استفاده واقع شده است.

متعاقب SDS-PAGE، فیلتری از جنس نیتروسلولز، نایلون و یا مواد مشابه بر سطح ورقه ژل قرار داده می شود و پروتئین ها به کمک الکتروفورز به سطح فیلتر منتقل می شوند و در آن تثبیت می گردند، سپس فیلتر را می توان با یک آنتی بادی با ویژگی مشخص گروه خونی انکوبه نمود. رنگ پذیری ایمونولوژیک، با استفاده از معرف نشاندار آنتی گلوبولین قابل مشاهده می گردد. بعد از الکتروفورز و الکتروبلاتینگ غشاء گلبول های M+N+S+s+، آنتی-M: GPA، GPA₂ و GPAB را رنگ آمیزی ایمونولوژیک می نمایند و آنتی-N: GPAB، GPB₂، GPB، GPA₂، GPB، GPA، و آنتی-S / آنتی-s: GPAB، GPB و GPB₂ را رنگ می نمایند (شکل ۳-۳) [۴۸-۵۰].

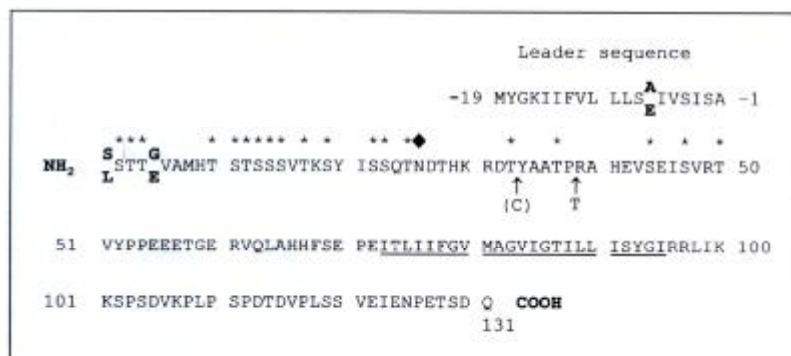
1 - Coomassie brilliant blue

2 - Periodic Acid Schiff

3 - Towbin et al.



شکل ۳-۳. نمایش دیاگرامی گلیکوفوربینهای غشاء گلبول قرمز متعاقب SDS-PAGE (a) -ژل با PAS رنگ آمیزی شده، سلول‌های مربوط به فنوتیپ‌های شایع و null استفاده شده‌اند. (b) -ژل به فیلترهای نیتروسلولز منتقل شده و با آنتی‌بادی‌های: M، N، S و s رنگ آمیزی ایمونولوژیک شده است. گلبول‌های M+N+S+s+ استفاده شده‌اند. آنتی-M، GPA و کمپلکس‌های آن را شناسایی می‌کند، آنتی-S و آنتی-s، GPB و کمپلکس‌های آن را شناسایی می‌کنند و آنتی-N، GPA و GPB و کمپلکس‌های آنها را شناسایی می‌کند.



شکل ۳-۴. توالی اسید آمینه‌ای گلیکوفورین A (به جدول ۳-۶ به منظور کدها مراجعه شود). توالی‌های GPA^M (بالای خط) و GPA^N (پایین خط) در موقعیت‌های ۷-، ۱ و ۵ از هم متمایز می‌گردند. *: حاکی از جایگاه‌های احتمالی O-گلیکوزیلاسیون می‌باشد. u : معرف جایگاه N-گلیکوزیلاسیون می‌باشد. زیر حوزه عبور کننده از غشاء خط کشیده شده است. T، جایگاه اصلی شکافت تریپسین روی سلول‌های سالم. (C) جایگاه شکافت جزئی کیموتریپسین. توالی رهبر متعاقب دخول پروتئین بدرون غشاء شکافته می‌گردد.

جدول ۳-۶. ۲۰ اسید آمینه شایع : کدهای یک و سه حرفی

A	Ala	Alanine
C	Cys	Cysteine
D	Asp	Aspartic acid
E	Glu	Glutamic acid
F	Phe	Phenylalanine
G	Gly	Glycine
H	His	Histidine
I	Ile	Isoleucine
K	Lys	Lysine
L	Leu	Leucine
M	Met	Methionine
N	Asn	Asparagine
P	Pro	Proline
Q	Gln	Glutamine
R	Arg	Arginine
S	Ser	Serine
T	Thr	Threonine
V	Val	Valine
W	Trp	Tryptophan
Y	Tyr	Tyrosine

۳-۴-۳ گلیکوفورین A (CD235A)

GPA فراوان ترین سیالوگلیکوپروتئین گلبول قرمز و، به همراه باند ۳ که با آن مرتبط می‌گردد [۵۱]، فراوان ترین گلیکوپروتئین غشاء گلبول قرمز می‌باشند. تعداد نسخه‌های GPA به ازای هر گلبول قرمز حدود 1×10^6 برآورد شده است [۵۲]. به منظور دستیابی به جزئیات بیشتر پیرامون ماهیت ارتباط بین GPA و باند ۳، به بخش‌های ۳-۶-۱ و ۳-۳ و ۲۵-۳ و فصل ۱۰ مراجعه گردد.

GPA از ۱۳۱ اسید آمینه تشکیل شده است که در سه حوزه سازماندهی یافته‌اند:

- ۱- یک حوزه خارج سلولی انتهای آمینی متشکل از ۷۲ اسید آمینه
- ۲- یک حوزه هیدروفوبیک ۲۳ اسید آمینه ای که عرض غشاء را طی می‌نماید
- ۳- یک حوزه سیتوپلاسمی انتهای کربوکسیلی متشکل از ۳۶ اسید آمینه

حوزه خارج سلولی حاوی نسبت بالایی از اسیدهای آمینه سرین و ترئونین بوده و به شدت گلیکوزیله است بطوری که دارای تقریباً پانزده O- گلیکان و یک N- گلیکان می‌باشد. GPA معمولاً به شکل دیمریک در غشاء وجود دارد و پلی پپتیدها در حوزه طی کننده غشاء بهم مرتبط شده‌اند [۳۹ و ۵۳]. وفور گلیسین‌ها و اسیدهای آمینه دارای انشعاب β در حوزه عرض غشائی GPA و بخصوص توالی Gly 79-x-x-x Gly 83، مسئول دیمریزه شدن GPA می‌باشد [۵۴ و ۵۵]. سازماندهی مولکولی GPA بطور مفصل توسط ولش و همکاران^۱ [۳۹] توصیف شده است.

توالی اسید آمینه‌ای GPA در شکل ۴-۳ و نمایش دیاگرامی چگونگی ارتباط آن با غشاء گلبول قرمز در شکل ۳-۱، ارائه شده‌اند. قسمت عمده توالی GPA به کمک تکنیک‌های تجزیه ای تعیین توالی اسید آمینه، مشخص گردید [۳۴ و ۵۶ و ۵۷]. توالی کامل در شکل ۴-۳ از روی توالی نوکلئوتیدی *GYPA cDNA* ایزوله شده توسط سیبرت و فوکودا^۲ [۵۸]، رمزگشائی و استخراج گردید. اسیدهای آمینه شماره‌های ۱- تا ۱۹- نشانگر یک توالی رهبر هستند که دخول دقیق کل مولکول به درون غشاء گلبول را امکان پذیر می‌سازد. ترجمه mRNA در کدون متیونین در موقعیت ۱۹- آغاز می‌گردد، و اسیدهای آمینه ۱۹- تا ۱-، که گمان می‌رود در زمان سنتز پروتئین در انتهای آمینی (N) حضور داشته باشند، پس از دخول غشائی شکافته خواهند شد [۵۸].

O- گلیکان اصلی گلیکوفورین‌ها، تتراساکارید منشعبی است که در شکل ۳-۲ نشان داده شده است و متشکل از دو مولکول اسید سیالیک، یک مولکول گالاکتوز و یک مولکول N-استیل گالاکتوز آمین می‌باشد [۴۰]. چندین شکل تغییر یافته این مولکول نیز شناسایی شده‌اند که شامل مونوسیالوتریساکاریدها و تری سیالوپنتاساکاریدها می‌باشند [۳۴ و ۵۹]. گلیکوزیلاسیون GPA ناقص و متغیر می‌باشد، از ۲۱ اسید آمینه سرین یا ترئونین خارج سلولی فقط حدود ۱۵ عدد گلیکوزیله شده‌اند

1 - Welsh et al.

2 - Siebert and Fukuda

[۵۷ و ۶۰] و نوسانات در O- گلیکوزیلاسیون مولکول‌های مختلف GPA در یک فرد اتفاق می‌افتد [۵۲ و ۶۱]. ریشه آسپاراژین در موقعیت ۲۶، یک الیگوساگارید متصل به N را حمل می‌نماید. این الیگوساگارید دارای ساختار منشعب بوده حدود ۱۳-۱۱ ریشه قندی دارد و وزن مولکولی تقریبی آن ۳۰۰۰ دالتون می‌باشد [۶۲ و ۶۳].

۳-۴-۱- آنتی‌ژن‌های M و N

توالی اسید آمینه ای GPA تغییرات پلی مرفیک را در موقعیت‌های ۱ و ۵ نشان می‌دهد که از لحاظ سرولوژیکی بعنوان گروه‌های خونی MN شناسایی می‌گردد. GPA جداسازی شده از افراد M+N، در موقعیت ۱ سرین و در موقعیت ۵ گلیسین دارد، GPA افراد M+N+ در موقعیت ۱ لوسین و در موقعیت ۵ اسید گلوتامیک دارد (جدول ۳-۷) [۶۰، ۶۴ و ۶۵]. هر دو شکل GPA را می‌توان از افراد M+N+ جداسازی نمود.

سرین انتهایی GPA با فعالیت M، گلیکوزیله نشده است. اسیدهای آمینه ۲ و ۳ و GPA^M و GPA^N O- گلیکوزیله شده‌اند. پلی مرفیسم Ser/Leu در موقعیت ۱ ناشی از یک تغییر تک بازی است (TCA/TTA) که یک جایگاه محدود شده SfaNI در آلل M و یک جایگاه MseI در آلل N را ایجاد می‌نماید، تغییر Gly/Glu در موقعیت ۵ ناشی از دو تغییر نوکلئوتیدی (GGT/GAG) است که یک جایگاه BsrI در آلل M و یک جایگاه DdeI در آلل N را بوجود می‌آورد [۶۶]. بعلاوه تعیین توالی نوکلئوتیدی پیش بینی نموده است که اسید گلوتامیک و آلانین به ترتیب در موقعیت ۷- پپتید رهبر GPA^M و GPA^N وجود دارند (شکل ۳-۴) [۶۷]. مجموعاً ۱۷ اختلاف نوکلئوتیدی در اگزون‌های ۱، ۲ و ۷ و ایترون‌های ۴-۱، آلل‌های M و N را از هم متمایز می‌سازند [۶۸]. آلل دیگر M، که در میان آسیائی‌ها شایع است، هم دارای خصوصیات M و هم N استاندارد می‌باشد [۶۸]. گرچه ریشه‌های اسید آمینه‌ای در موقعیت‌های ۱ و ۵ GPA، اصولاً مسئول پلی مرفیسم MN می‌باشند، گلیکوزیلاسیون نیز در بیان سرولوژیکی آنتی‌ژن‌های M و N دارای اهمیت می‌باشد. بسیاری از معرف‌های آنتی-M و آنتی-N، به گلبول‌های قرمز مجاور شده با سیالیداز پیوند نمی‌یابند [۴۸ و ۷۲-۶۹]. این مسئله می‌تواند بدلیل تغییر در آرایش فضایی گیرنده‌ها با تبعیت از برهم کنش بین اسید سیالیک و گروه‌های آمینی باشد [۷۳ و ۷۴]. GPA حاوی تعداد کمی از ریشه‌های N- استیل گالاکتوز آمین غیر گالاکتوزیله است که ممکن است بصورت جزئی سیالیده شده باشند. تعداد این ریشه‌ها روی Ser2، Thr3 و Thr4 در GPA^N اساساً بیشتر از GPA^M می‌باشد [۷۵]. نقش اسید سیالیک در ویژگی M و N، در بخش ۳-۵-۲ بیشتر مورد بحث قرار می‌گیرد.

تکنیک‌های PCR با پرایمرهای ویژه آلل به منظور تعیین ژنوتیپ MN از روی DNA ژنومیک [۷۹-۷۶] و cDNA مشتق از رتیکولوسیت توسعه یافته‌اند [۶۶]. اکثر روش‌ها پرایمرهایی را به کار می‌گیرند

که برای توالی مرتبط با M یا N که با یک پرایمر مشترک ویژه GYPA جفت شده است، اختصاصی می‌باشند. متأسفانه کنترل‌های درونی به منظور تقویت موفق همواره استفاده نشده‌اند. اگر پرایمرهای مختص M و N طوری طراحی شوند که جایگاه‌های ویژه آلل مختلفی را شناسایی نمایند (کدون‌های ۱ و ۵)، طول محصولات این آلل‌ها اندکی متفاوت خواهد بود [۷۸].

جدول ۳-۷. بعضی از پتاپتیدهای انتهای آمینی GPA و GPB

Glycophorin A	Human M	Ser-Ser*-Thr*-Thr*-Gly-
	Human N	Leu-Ser*-Thr*-Thr*-Glu-
	Human M ^g	Leu-Ser-Thr-Asn-Glu-
	Human M ^c	Ser-Ser*-Thr*-Thr*-Glu-
	Chimpanzee	Ser-Ser-Thr*-Thr*-Glu-
Glycophorin B	Human 'N'	Leu-Ser*-Thr*-Thr*-Glu-
	Human He	Trp-Ser*-Thr*-Ser*-Gly-

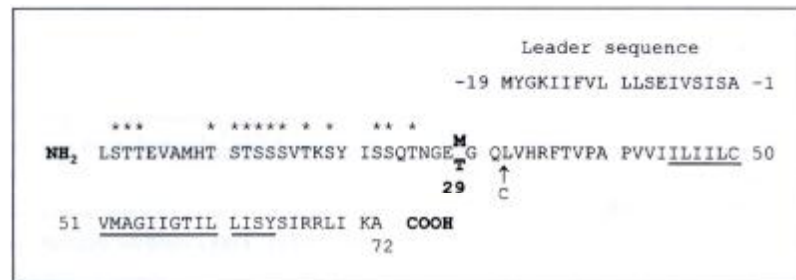
*O-glycosylated.

۳-۴-۴ گلیکوفورین B (CD235B)

GPB، دیگر گلیکوپروتئین غنی از اسید سیالیک غشاء گلبول قرمز، ارتباط ساختمانی نزدیکی با GPA دارد. از ۷۲ اسید آمینه تشکیل شده است که، همچون GPA، در سه حوزه سازماندهی یافته‌اند: ۱- یک حوزه خارج سلولی گلیکوزیده در انتهای آمینی که از ۴۴ اسید آمینه تشکیل شده است

۲- یک حوزه هیدروفوبیک طی کننده غشاء که متشکل از ۲۰ اسید آمینه می‌باشد

۳- یک دم سیتوپلاسمی بسیار کوتاه در انتهای کربوکسیل که از ۸ اسید آمینه تشکیل شده است



شکل ۳-۵. توالی اسید آمینه‌ای گلیکوفورین B (جدول ۳-۶ را برای کدها ببینید). اسید آمینه‌ای که مشخصه GPB^S در موقعیت ۲۹ است در بالای خط و در مورد GPB^S در پایین خط نشان داده شده است. * حاکی از جایگاه‌های احتمالی O- گلیکوزیلاسیون می‌باشد. در زیر حوزه عبور کننده از عرض غشا خط کشیده شده است. C، جایگاه شکافت کیموتریپسین. توالی رهبر متعاقب دخول پروتئین بدرون غشاء شکافته می‌شود.

توالی اسید آمینه ارائه شده در شکل ۳-۵، از توالی نوکلئوتیدی *GYPBcDNA* [۶۷ و ۸۰] استخراج گردیده است و صرفاً تفاوت اندکی با توالی حاصل شده از تکنیک‌های تعیین توالی پپتیدی دارد [۸۱]. شکل ۳-۱، یک نمایش دیاگرامی GPB در غشاء را نشان می‌دهد. GPB حدوداً یازده O- گلیکان دارد

ام-فاک N- گلیکان می‌باشد [۳۴]. اولین ۲۶ اسید آمینه در قسمت انتهایی آمینی (N) GPB، با همین تعداد در نوع GPA^N ، GPA^N ، مشابه می‌باشند. این ویژگی، وجود فعالیت N در GPB را توضیح می‌دهد و معمولاً با 'N' نشان داده می‌شود تا از فعالیت N در GPA^N متمایز گردد.

اسیدهای آمینه انتهایی آمینی GPB، بر خلاف GPA، به دنبال تأثیر تریپسین بر گلبول‌های قرمز سالم، شکافته نمی‌شوند، بنابراین آنتی‌ژن 'N'، یک آنتی‌ژن N مقاوم به تریپسین می‌باشد. تنها اختلاف بین اسیدهای آمینه ۱ الی ۲۶ در GPA^N و GPB این است که Asn26 در GPA، N- گلیکوزیده شده اما در GPB گلیکوزیده نشده است [۸۲]. این بدین دلیل است که، برخلاف GPA، GPB فاقد سرین یا ترئونین ضروری در موقعیت ۲۸ می‌باشد. GPA و GPB تشابهات دیگری را نیز نشان می‌دهند. اسیدهای آمینه ۶۷-۵۹ و ۱۰۰-۷۵ در GPA دارای شباهت زیادی با اسیدهای آمینه ۳۵-۲۷ و ۷۱-۴۶ در GPB می‌باشند [۳۴ و ۸۱]. علاوه بر این، توالی‌های رهبر GPA و GPB که از بررسی cDNA استخراج گردیده‌اند، تقریباً یکسان می‌باشند و تعیین توالی DNA ژنومیک تشابهات نزدیک بیشتری را نیز آشکار نموده است (به بخش ۳-۴-۵ مراجعه گردد).

تعداد مولکول‌های GPB به ازای هر گلبول قرمز حدود $10^5 \times 2/5 - 1/7$ برآورده شده است [۵۲]. این تعداد در گلبول‌های S+s- تقریباً ۱/۵ برابر تعداد آن در گلبول‌های S+s+ است و گلبول‌های S+s+ از یک مقدار حد واسطه برخوردار می‌باشند [۳۴ و ۸۳].

۳-۴-۱-۴-۳ آنتی‌ژن‌های S و s

پلی مرفیسم S/s به واسطه یک جایگزینی تک اسیدآمینه‌ای در GPB و در موقعیت ۲۹ محرز می‌گردد، GPB با فعالیت S دارای Met29 و GPB با فعالیت s دارای Thr29 می‌باشند [۸۳]. داهر و همکاران^۱ [۸۴] مشاهده نمودند که یک پپتید صناعی با اسیدآمینه‌های ۳۳-۲۵ در GPB ویژه S، بطور ضعیفی آنتی-S را مهار می‌نماید اما پپتید معادل آن با ویژگی s آنتی-S را اصلاً مهار نمی‌کند. این یافته حاکی از این است که جایگاه‌های آنتی‌ژنیک S/s پیچیده تر از صرفاً اسیدآمینه موقعیت ۲۹ می‌باشد و شواهدی وجود دارند دال بر اینکه اسیدآمینه‌های ۳۴ و ۳۵ و احتمالاً گلیکوزیلاسیون Thr25، همگی در بروز فعالیت S و s شرکت می‌نمایند [۸۵]. سرم‌های آنتی-S ناهمگن هستند، یک پپتید صناعی که دارای

1 - Dahr et al.

اسیدهای آمینه ۴۳-۲۵ در GPB^S بود، شش نمونه از شانزده آنتی-S را مهار نمود [۸۶] و دو مورد آنتی-S- مونوکلونال انسانی خصوصیات سرولوژیکی متفاوتی را نشان می دادند [۸۷] (بخش ۳-۲۰-۹). تعیین ژنوتیپ S/s از روی DNA ژنومیک را می توان به کمک تکنیکهای مبتنی بر PCR با یک پرایمر اختصاصی آلل بعمل آورد [۷۷].

۳-۵- کلون سازی و تشکیلات ژنهای مربوط به گلیکوفورینهای A، B و E

سیبرت و فوکودا^۱ [۵۸] الیگونوکلئوتیدهایی مخلوط را سنتز نمودند که مربوط به توالیهای اسیدآمینه ای در منطقه انتهای کربوکسیلی GPA بودند و آنها را به منظور شروع^۲ سنتز *GYPB cDNA* از یک کتابخانه *cDNA* رده سلولی K562 مورد استفاده قرار دادند. سپس *GYPB cDNA* از این کتابخانه ایزوله و با الیگونوکلئوتیدهای مربوط به منطقه مرکزی GPA مخلوط گردید. سیبرت و فوکودا [۸۰] از این مرحله نیز فراتر رفته *GYPB cDNA* را از یک کتابخانه K562 *cDNA* با استفاده از دو پروب نوکلئوتیدی جداسازی نمودند، یکی از این پروبها برای توالی *GYPB* و دیگری برای یک توالی مشترک بین *GYPB* و *GYPB cDNA* اختصاصی بودند. متعاقب آن کلونهای *cDNA* کامل مربوط به *GYPB* و *GYPB cDNA* از کتابخانههای *cDNA* رتیکولوسیتی انسانی [۶۷] و نیز از *GYPB cDNA* مربوط به یک کتابخانه سلولهای کبدی جنین انسانی جداسازی گردیدند [۸۸].

GPA و GPB توسط ژنهای مستقل^۳ و تک نسخه ای اختصاصی برای هر پلی پپتید رمزدهی می گردند [۸۹]. طول *GYPB* حدود ۴۰ کیلوباز و حاوی هفت گزون می باشد [۹۱ و ۹۰] (شکل ۳-۶، جدول ۳-۸). اگزون A1 قسمت عمده پپتید رهبر را رمزدهی می نماید و از اگزون A2 توسط یک اینترون بزرگ به طول تقریباً ۳۰ کیلوباز جدا می گردد، اگزون A2 باقیمانده پپتید رهبر و ۲۶ اسیدآمینه اولیه حوزه خارج سلولی را کد می نماید، اگزونهای A3 و A4 مابقی حوزه خارج سلولی، اگزون A5 بخش طی کننده غشا و اگزون A6 و قسمتی از اگزون A7، بخش سیتوپلاسمی پلی پپتید را رمزدهی می نمایند. قسمت عمده اگزون ۷ ترجمه نمی گردد. سه رونوشت *GYPB mRNA* با طولهای ۲/۸، ۱/۷ و ۱/۰ کیلوبازی که در طول مناطق ترجمه نشده^{۳'} با هم اختلاف دارند، در ردههای سلولی اریترولوکمیک [۵۸، ۹۲ و ۹۱]، کبد جنین [۸۸] و رتیکولوسیتها [۵۸ و ۶۷] شناسایی شده اند.

شکل ۳-۶ نشان می دهد که *GYPB* صرفاً پنج اگزون دارد [۹۱ و ۹۰]. اگزونهای B1 و B2 آن تقریباً مشابه اگزونهای A1 و A2 در *GYPB* می باشند. اگزون ۳، که به واسطه مشابهت با اگزون A4، با B4 شماره گذاری شده است، پلی مرفیسم S/s را کد می نماید. اگزون B5 قسمت عمده بخش انتهایی

1 - Siebert and Fukuda

2 - prime

3 - discrete

کربوکسیلی پلی پپتید و اگزون B6 اسیدآمینو انتهایی کربوکسیلی را رمزدهی می‌نمایند، باقیمانده اگزون B6 ترجمه نمی‌گردد (جدول ۳-۸)، یک توالی درون اینترون دوم *GYPB* هومولوگ اگزون سوم *GYPB* می‌باشد. این «اگزون کاذب» ترجمه نمی‌شود زیرا توالی gt (gu در RNA)، مربوط به جایگاه برش در انتهای ۵' اینترون ۳ به tt(uu) جهش می‌یابد [۹۰]، و دیگر تغییرات اینترون ۲ نیز ممکن است عمل برش را متأثر سازد. لذا «اگزون کاذب» به همراه مناطقی که هومولوگ اینترون‌های دوم و سوم *GYPB* هستند، با عمل برش از *GYPB mRNA* خارج می‌گردند [۹۳]. پس GPB قسمتی را که هومولوگ اسیدهای آمینه ۵۸-۲۷ در GPA باشد ندارد. اگزون کاذب *GYPB* ممکن است در فنوتیپ‌های نادری که در آنها یک جایگاه عملکردی پذیرنده برش به واسطه تبدیل ژنی، از *GYPB* به درون *GYPB* نفوذ یافته است، ترجمه گردد [۳۶] (به بخش ۳-۱۰ مراجعه گردد).

جدول ۳-۸: تشکیلات ساختاری *GYPB*، *GYPB* و *GYPE*. ریشه‌های اسیدآمینوای که توسط هراگزون رمزدهی می‌شوند، از سمت انتهایی آمینی پروتئین کامل (با فرض اینکه *GYPE* ترجمه شده) شماره گذاری شده‌اند. اگزون‌ها براساس سیستم استفاده شده توسط هوانگ و همکاران [۳۶] شماره گذاری شده‌اند، در این سیستم اگزون‌های کاذب به نحوی شماره گذاری می‌شوند که اگزون‌های هومولوگ آنها در هر سه ژن یک شماره را حفظ می‌کنند.

<i>GYPB</i>	<i>GYPB</i>	<i>GYPE</i>
A1 5'UT, -19 to -8	B1 5'UT, -19 to -8	E1 5'UT, -19 to -8
A2 -7 to 26	B2 -7 to 26	E2 -7 to 26
A3 27-58	B3 Pseudoexon	E3 Pseudoexon
A4 59-71	B4 27-39	E4 Pseudoexon
A5 72-100	B5 40-71	E5 27-58
A6 101-126	B6 72, 3'UT	E6 59, 3'UT
A7 127-131, 3'UT		

در طول جداسازی *GYPB* و *GYPB*، یک ژن بسیار مرتبط با آنها، *GYPE*، کشف گردید [۹۴، ۹۱ و ۹۵]. این سه ژن دارای ۹۰٪ تشابه در توالی نوکلئوتیدی می‌باشند و مناطق کدکننده بیشتر از اینترون‌های غیر کدکننده، تنوع نشان می‌دهند [۳۶ و ۹۰]. *GYPE* در تمامی DNAهای مطالعه شده انسانی، از جمله DNA افراد En(a-), S-s-U-, M^K هموزیگوت و افراد GYP(A-B) Hil هموزیگوت (Mi.V) وجود دارد [۹۱ و ۹۴-۹۸]. *GYPE* دارای یک ساختار ژنومی مشابه *GYPB* می‌باشد، اما چهاراگزون و دو اگزون کاذب دارد [۹۵ و ۹۸] (شکل ۳-۶ و جدول ۳-۸). پلی پپتید پیش بینی شده دارای ۷۸ اسیدآمینو از جمله یک پپتید رهبر با نوزده اسید آمینوای می‌باشد و گلیکوپروتئین کامل سطح سلولی طولی برابر با ۵۹ اسیدآمینو دارد، یازده O-گلیکان را حمل می‌کند و N-گلیکان ندارد، وزن مولکولی آن ۱۷۰۰۰ دالتون

بوده و آنتی ژن M را بیان می نماید. آنستی^۱ [۹۹] بدین نتیجه رسید که یک جزء غشاء گلبول قرمز با وزن مولکولی تقریبی ۲۰۰۰۰ که روی ایمونوبلات های مربوط به غشاء گلبول های قرمز تمامی گروه های MN توسط آنتی-M مونوکلونال شناسایی گردید، ممکن است GPE باشد. این گلیکوفورین نیز ممکن است آنتی ژن های S و s را بیان نماید [۱۰۰].

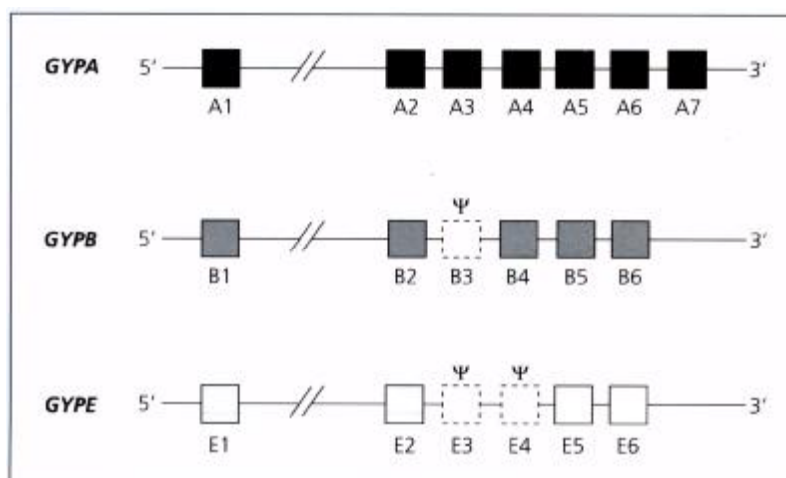
سه ژن بحث شده در فوق روی کروموزوم 4q31 با ترتیب '5'-GYPA-GYPB-GYBE-3' مستقر شده اند [۹۸ و ۹۷] و از منطقه جانبی ۵ تا یک توالی یک کیلو بازی تکرار شونده *Alu* که در سمت ۳' اگزون کد کننده حوزه طی کننده غشا قرار دارد، بیش از ۹۵٪ با هم تشابه دارند [۹۵]. جداسازی یک کروموزوم مصنوعی مخمر^۲ (YAC) که کل منطقه را رمزدهی می نمود، نشان داد که خانواده ژنی گلیکوفورین ۳۳۰ کیلوباز از DNA ژنوتیک را اشغال می کند و این سه ژن با فواصل یکسان از همدیگر جدا شده اند [۱۰۱] و به نظر می رسد که از یک ژن اجدادی مشترک به واسطه رویدادهای نوترکیبی هومولوگ در توالی های *Alu* تکامل یافته باشند [۹۵] (به شکل ۳-۱۳ مراجعه گردد). یک قطعه پیشساز فرضی از سمت ۳' *GYPA* جداسازی گردیده است [۱۰۲].

همچون دیگر ژن های فعال در بافت اریتروئید، آغازگرهای سه ژن گلیکوفورینی عمدتاً به واسطه اتصال *GATA-1* و *SP1* به عناصر کاملاً شناخته شده عمل کننده در وضعیت *cis*، تحریک می گردند [۱۰۳]. آغازگرهای مجاور این سه ژن گلیکوفورینی دارای توالی های بسیار مشابهی بودند و فعالیت های رونویسی مشابهی را نشان می دادند [۱۰۳ و ۱۰۴]. در هر حال رونوشت *GYPB mRNA* پایداری کمتری از رونوشت *GYPA* داشت، و رونوشت *GYPE* بسیار ناپایدار بود [۱۰۴]. بنابراین ممکن است تنظیم پس از رونویسی مسئول مقادیر بسیار متفاوت محصولات پروتئینی در سطح سلول باشد. عوامل تنظیم کننده که رونویسی از *GYPB* را کنترل می نمایند بطور مفصل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته اند و حداقل دو عامل (*Ku70* و عامل *U*)، که به نظر می رسد در مهار رونویسی از *GYPB* در سلول های غیر اریتروئیدی ایفای نقش نمایند، شناسایی شده اند [۱۰۵-۱۰۷].

به منظور بازنگری ژنتیک مولکولی گلیکوفورین ها منابع [۱۰۸ و ۳۸-۳۶] را ملاحظه فرمائید.

1- Anstee

2- Yeast Artificial Chromosome



شکل ۳-۶. سازماندهی ژنومیک *GYP A*، *GYP B* و *GYP E*

مربع‌ها نشانگر اگزون‌ها و اگزون‌های کاذب (Y) می‌باشند. اگزون‌ها براساس سیستم استفاده شده توسط هوانگ و همکاران [۳۶] شماره گذاری شده‌اند، در این سیستم اگزون‌های کاذب طوری شماره گذاری می‌شوند که اگزون‌های همولوگ در هر سه ژن، یک شماره را حفظ نمایند.

۳-۵ اثرات استفاده از آنزیم بر آنتی‌ژن‌های MNSs

۳-۵-۱ پروتئازها

ثابت شده است که آنزیم‌های پروتئولیتیک متعددی در شناسایی سرولوژیک، تجزیه و تحلیل و تعریف آنتی‌ژن‌های متعلق به سیستم MNS، بسیار موثر هستند. تأثیرات پروتئازها، گلیکانازها و مواد شیمیایی متعدد شکافنده پیوند پپتیدی همچون سیانوزن بروماید روی سیالوگلیکوپروتئین‌های جدا شده، در تعیین ساختار شیمیایی این گلیکوپروتئین‌ها و بعضی از آنتی‌ژن‌های مرتبط با آنها فوق العاده سودمند می‌باشد. پروتئازهای خاصی همچون تریپسین و کیموتریپسین، برای پیوندهای پپتیدی که می‌شکافند بسیار اختصاصی هستند گرچه دسترسی آنزیم‌ها به جایگاه‌های اثر ممکن است به علت حضور الیگوساکاریدهای مجاور و یا توسط غشاء گلبول قرمز یا دیگر اجزاء وابسته به غشا، زمانی که آنزیم با گلبول‌های قرمز کامل مجاور شود، محدود گردد.

۳-۵-۱-۱ تریپسین

تریپسین هیدرولیز پیوندهای پپتیدی در سمت کربوکسیل ریشه‌های لایزین و آرژینین را کاتالیز می‌نماید. دست کم هفت جایگاه شکافت برای تریپسین روی GPA وجود دارد که روی اسیدهای آمینه ۳۰، ۳۱، ۳۹، ۶۱، ۹۷، ۱۰۱ و ۱۰۲ قرار دارند، قبل از اینکه عمل شکافت در بعضی از این جایگاه‌ها اتفاق

بیافتد، دی سیالیه شدن مولکول الزامی است [۵۷ و ۶۱]. در بخشی از جایگاههای ۳۰ و ۳۱ شکافت اتفاق می‌افتد، ۵۰٪ مولکولهای GPA مادر در جایگاه ۳۱ و ۱۰٪ آنها در جایگاه ۳۰ شکافته می‌شوند [۶۱]. وقتی که تریپسین بر گلبولهای قرمز کامل اثر داده شود، ۳۹ اسید آمینه انتهای آمینی GPA شکافته و باعث از دست رفتن آنتی ژن M و آنتی ژنهای N مرتبط به GPA و نیز هر شاخص دیگر که روی این بخش از گلیکوپروتئین مستقر شده می‌گردد. GPB تخلیص شده ممکن است تحت تأثیر تریپسین در محل اسیدآمینه شماره ۳۵ شکافته شود [۸۳]، اما در صورتی که گلبولهای قرمز کامل با این آنزیم مجاور شوند GPB تخریب نمی‌گردد. بنابراین آنتی ژنهای گروه خونی S و s و نیز آنتی ژن 'N' که در انتهای آمینی GPB مستقر شده است، مقاوم به تریپسین می‌باشند [۱۰۹ و ۱۱۰].

۳-۱-۵-۲ کیموتریپسین

کیموتریپسین، یا به بیانی دقیق تر آلفا- کیموتریپسین، بطور طبیعی پیوند پپتیدی در سمت کربوکسیل اسیدهای آمینه آروماتیک مانند: فنیل آلانین، تریپتوفان و تیروزین و هم چنین لوسین، متیونین، آسپاراژین و گلوتامین، را هیدرولیز می‌نماید. GPA جداسازی شده ممکن است در محل اسیدهای آمینه ۳۴، ۶۴، ۹۸ و ۱۱۸ شکافته شود [۵۷ و ۶۱]. آنتی ژنهای M و N سطح گلبولهای قرمز کامل بطور جزئی در برابر کیموتریپسین مقاومند [۱۰۹ و ۱۱۰]، GPA متصل به غشاء ممکن است توسط این آنزیم در نقطه قبل از اسیدآمینه شماره ۳۴ قطع گردد اما فقط در مولکولهایی از GPA که فاقد O-گلیکان روی Thr33 می‌باشند [۶۱]. مواجه سازی گلبولهای قرمز با سیالیداز متعاقب کیموتریپسین، کل فعالیت M و N را از بین می‌برد. مجاورسازی گلبولهای قرمز با کیموتریپسین، منطقه انتهای آمینی GPB در محل اسیدآمینه شماره ۳۴ را می‌شکافد [۸۳ و ۸۰] که منجر به از بین رفتن فعالیت S، s و 'N' می‌گردد [۱۰۹ و ۱۱۰]. GPB با فعالیت S، در مقایسه با GPB با فعالیت s، توسط غلظت پایین تری از کیموتریپسین تخریب می‌گردد [۱۱۰].

۳-۱-۵-۳ پاپائین، فیسین، بروملین، پروناز

آنزیمهای پاپائین، فیسین و بروملین از ویژگی وسیعتری برخوردار بوده و در مقایسه با تریپسین و کیموتریپسین، معرفهای موجود آنها غالباً ناخالص می‌باشند. اکثر آنتی ژنهای وابسته به GPA و GPB بواسطه تأثیر این آنزیمها بر گلبولهای قرمز نابود می‌گردند و فقط آنهایی که در نزدیکی غشاء گلبول قرار گرفته‌اند مصون می‌مانند. پروناز، یک آنزیم باکتریایی، به طریقی مشابه عمل مینماید [۱۱۰]. فعالیت S متعاقب اثر دهی پاپائین یا فیسین بر گلبولهای قرمز به سختی از بین می‌رود، حال آنکه این عمل آنتی ژنهای 'N'، M و s را براحتی تخریب می‌نماید [۱۱۱-۱۰۹].

۳-۵-۲ سیالیداز

GPA و GPB به ترتیب حدود ۱۵ و ۱۱ الیگوساکارید با اتصال اکسیژنی را حمل می کنند که اکثر آنها حاوی دو مولکول اسید سیالیک می باشند. بعلاوه، GPA یک N- گلیکان نیز دارد که ممکن است سیالیده شده باشد. اثر دادن سیالیداز (نورامینیداز) بر گلبول های قرمز دست کم بعضی از این ریشه های اسید سیالیک را حذف می نماید که منجر به تغییر بار الکتریکی و احتمالاً شکل مولکول می گردد. اکثر سرم های انسانی حاوی یک آنتی بادی به نام آنتی - T هستند که الیگوساکاریدهای با اتصال اکسیژنی دی سیالیده را شناسایی می کند و لذا گلبول های قرمز مواجه شده با سیالیداز را آگلوتینه می نماید [بخش ۳-۱۷-۲]. غلظت های بالایی از سیالیداز به منظور حذف قسمت اعظم اسید سیالیک GPA مورد نیاز خواهد بود، اسید سیالیک با اتصال $3 \rightarrow 2a$ راحت تر از اسید سیالیک با اتصال $6 \rightarrow 2a$ ، توسط سیالیداز از GPA کنده می شود [۱۱۲].

آنتی بادی های M و N از لحاظ نیاز به اسید سیالیک به منظور آگلوتینه نمودن گلبول های قرمز، متفاوت می باشند. جود و همکاران^۱ [۷۱] متعاقب آزمایش سرم های MN انسانی (که به منظور حذف آنتی - T جذب شده بودند) با گلبول های اثر داده شده با سیالیداز به نتایج ذیل دست یافتند: از ۲۷ نمونه سرم آنتی - M، واکنش با نه نمونه از بین رفت، با شانزده نمونه بی تأثیر بود و با دو نمونه تقویت گردید، از هفت نمونه آنتی - N: واکنش با سه نمونه از بین رفت، با دو نمونه ضعیف شد و با دو نمونه بی تأثیر بود. آنتی بادی های M, N اختصاصی که از طریق مصون سازی خرگوش ها با گلیکوپروتئین های دی سیالیده گلبول قرمز تولید شده بودند، صرفاً گلبول های مواجه شده با سیالیداز را آگلوتینه نمودند [۱۱۳].

اکثر آنتی بادی های M و N مونوکلونال با گلبول های قرمز دی سیالیده یا گلیکوفورین های جداسازی شده واکنش نمی دهند و یا بصورت نسبی واکنش ضعیف می دهند (به بخش ۳-۲۰-۷ مراجعه گردد). تأثیر سیالیداز بطور یکسان بر N روی GPA و 'N' روی GPB اعمال می گردد. فعالیت M و N ممکن است مجدداً به گلبول های قرمز اثر داده شده با سیالیداز از طریق سیالیده سازی مجدد توسط سیالیل ترانسفرازها برگشت نماید [۱۱۴]. آنتی بادی های S و s و بیشتر آنتی بادی های دیگر سیستم MNS وابسته به اسید سیالیک نیستند.

۳-۶ فنوتیپ های نادر با نقصان گلیکوفورین A : En(a-) و M^k

قسمت بعدی فنوتیپ های غیر طبیعی MNS را که ناشی از دو جهش ژنی بسیار نادر می باشند توصیف می نماید: En، حذف منطقه کد کننده GYPA که باعث کمبود GPA (اما نه GPB) می گردد و

1 - Judd et al.

M^k ، حذف مناطق کد کننده $GYPB$ و $GYPB$ که مسئول کمبود GPA و GPB می باشد. آنتی بادی های متنوعی که شاخص های غیر پلی مرفیک سطح GPA را شناسایی نموده و مجموعاً آنتی- En^a نامیده می شوند، نیز در این جا توضیح داده خواهند شد. تعدادی زیادی از دیگر ژن های واریان MNS وجود دارند که GPA طبیعی را تولید نمی کنند و فنوتیپ های نادری نیز وجود دارند که در آنها بخشی از GPA وجود ندارد و نتیجتاً آنتی- En^a (و یا آنتی- Wt^b) ممکن است ساخته شود. این موارد در دیگر بخش ها توصیف می شوند به ویژه بخش هایی که در ارتباط با گلیکوفورین های هیبرید می باشند.

En(a-) ۱-۶-۳

زمانی که دارن بروق و همکاران^۱ [۱۱۵] یک آنتی بادی «جدید» علیه آنتی ژن های با فراوانی بالای گلبول قرمز را توصیف نمودند، متوجه شدند که گلبول های قرمز شخص مولد آنتی بادی، یک زن باردار انگلیسی (MEP) و چندین نفر از اعضای خانواده او، واکنش های تعیین گروه خون متنوع و غیر عادی را نشان می دهند. این نتایج به «وجود یک عامل که احتمال می رفت با تغییر دادن پوشش سلولی^۲، بر ساختار گلبول تاثیر گذاشته است» نسبت داده شدند. این آنتی بادی آنتی- En^a (En) اشاره به پوشش دارد) و فنوتیپ نادر گلبول قرمز $En(a-)$ نامیده شدند. یک فرد مورد مطالعه دوم $En(a-)$ (VB) که دارای آنتی- En^a بود، توسط فرورجلم و همکاران^۳ [۱۱۶] در فنلاند یافت شد و دو فرد مورد مطالعه بعدی دارای آنتی- En^a ، که یکی در فنلاند (GW) [۱۱۷] و دیگری در آمریکا (ERP) [۱۱۸] یافت شدند، بخشی از همان خانواده توسعه یافته هستند. دو فرد مورد مطالعه $En(a-)$ دیگر، یک فرد کانادایی - فرانسوی (RL) [۱۱۹] و یک پاکستانی (SD) [۱۲۰] نیز شناسایی شده اند که دارای آنتی- En^a می باشند. بدنبال غربالگری گلبول های قرمز با آنتی- En^a مونوکلونال، دو اهدا کننده ژاپنی $En(a-)$ فاقد آنتی- En^a شناسایی شدند [۱۲۱ و ۱۲۲]. آنتی- En^a یک اصطلاح کلی است که آنتی بادی های ضد شاخص های متعدد GPA را توصیف می نماید. فنوتیپ $En(a-)$ می تواند به چند طریق ظاهر گردد. معمولاً $En(a-)$ حاکی از حالت هموزیگوت برای یک حذف ژنی نادر (که برای سهولت En نامیده می شود) در لوکوس $GYPB$ است که منجر به عدم تولید GPA اما تولید طبیعی GPB می گردد. در هر حال فنوتیپ اولیه $En(a-)$ در یک خانواده انگلیسی [۱۱۵] بدین طریق ظاهر نشده بود و احتمالاً ناشی از حالت هتروزیگوت برای یک ژن پیچیده هیبرید $GYP(A-B)$ (که غالباً $En(UK)$ نامیده می شود) و یک ژن M^k بوده است [۱۲۳-۱۲۵]، این فنوتیپ $En(a-)UK$ با جزئیات بیشتر در بخش ۳-۱۱-۴ بحث خواهد شد. فنوتیپ های $[En(a-)Fin]$ فنلاندی [۱۱۸-۱۱۶]، فرانسوی - کانادایی [۱۱۹]، پاکستانی [۱۲۰]، و ژاپنی

1 - Darnborough et al.

2 - cell envelope

3 - Furuhielm et al.

[۱۲۱ و ۱۲۲] ظاهراً به واسطه حالت هموزیگوت برای En (که غالباً به اختصار $En(Fin)$ نامیده می‌شود) حاصل می‌گردند.

نه فرد $En(a-)$ شناسایی شده‌اند که گمان می‌رود دارای ژنوتیپ En/En باشند، پنج نفر آنها از سه شاخه خانواده فنلاندی ریشه می‌گیرند [۱۱۶-۱۱۸]. مطالعه این خانواده قویاً حاکی از این است که En بصورت یک صفت مغلوب به ارث می‌رسد و به عنوان یک آلل خاموش از M و N عمل می‌نماید. والدین دو فرد مورد مطالعه فنلاندی و فرد مورد مطالعه کانادایی پسر عمو بودند [۱۱۶، ۱۱۷، ۱۱۹]. در خانواده نشان داده شده در شکل^۱ ۳-۷ که در آن هیچ عضو $En(a-)$ وجود نداشت، حضور En حاکی از یک رد ابوت واضح بود، پدر $M+N-$ دارای سه فرزند $M-N+$ بود (ام.ایزات^۲، مذکور در منبع [۱۲۶]).

۳-۶-۱-۱ ویژگی‌های سرولوژیک گلبول‌های $En(a-)$

گلبول‌های $En(a-)$ با آنتی- En^a موجود در سرم افراد مورد مطالعه $En(a-)$ ، با اتوآنتی- En^a و یا با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه اپیتپ‌های محدود به GPA ، واکنش نمی‌دهند. گلبول‌های $En(a-)$ فاقد هر نوع آنتی‌ژن M یا آنتی‌ژن N حساس به تریپسین می‌باشند، اما آنتی‌ژن N مقاوم به تریپسین را به واسطه وجود آنتی‌ژن N' GPB ، بیان می‌نمایند. گلبول‌های $En(a-)$ UK (فاقد N و N' اما دارای یک آنتی‌ژن M' مقاوم به تریپسین می‌باشند [۱۲۳ و ۱۲۷ و ۱۲۸])، دلایل این امر در بخش ۳-۱۱-۴ توضیح داده خواهند شد.

گلبول‌های $En(a-)$ ، آنتی‌ژن S و یا s را بطور طبیعی و یا در سطح بالایی بیان می‌نمایند. گلبول‌های $En(a-)$ ، $Wr(a-b-)$ هستند که اهمیت آن بعداً در بخش ۳-۶-۲ بحث خواهد شد. گلبول‌های $En(a-)$ دارای ویژگی‌های سرولوژیک غیر معمول دیگری نیز می‌باشند که احتمالاً ناشی از کاهش محتوی اسید سیالیک آنها بعلت فقدان گلیکوپروتئین اصلی سطح گلبول قرمز که غنی از اسید سیالیک است، می‌باشد. عمده این خصوصیات به میزان کمتری در گلبول‌های قرمز افراد هتروزیگوت برای En و همچنین در دیگر واریان‌های MNS که منجر به کاهش محتوی اسید سیالیک غشاء گلبول قرمز می‌گردند، نیز مشاهده می‌شوند. گلبول‌های $En(a-)$ توسط پلی برن و پروتامین سولفات تجمع^۳ نمی‌یابند و یا دست کم بصورت بسیار ضعیف مجتمع می‌گردند [۱۱۸، ۱۱۹ و ۱۲۹]، توسط سرم‌های حیوانی غیر ایمون، قوی‌تر از گلبول‌های $En(a+)$ آگلوتینه می‌شوند [۱۱۶]. لذا گلبول‌های $En(a-)$ ممکن است بصورت غیر اختصاصی توسط سرم‌های آنتی- M یا آنتی- N خرگوشی، به واسطه وجود آنتی‌بادی‌های ضد انسانی باقیمانده، آگلوتینه شوند. سوسپانسیون‌های نمکی گلبول‌های $En(a-)$ مستقیماً

1 - در متن کتاب به زبان اصلی به غلط ۳-۸ قید شده است.م

2- M.Izatt

3 - aggregation

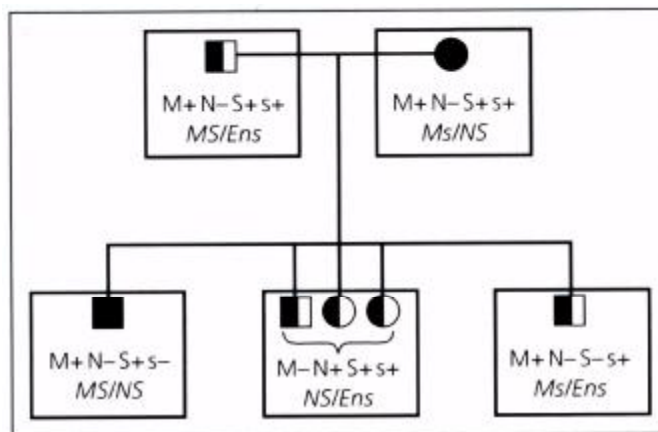
توسط آنتی بادی «ناقص»^۱ آنتی-D و دیگر آنتی‌بادی‌های Rh در صورت وجود آنتی‌ژن‌های اختصاصی مربوطه Rh بر سطح گلبول‌های قرمز آگلوتینه می‌شوند، این آنتی‌بادی‌ها گلبول‌های En(a+) با همان فنوتیپ Rh را آگلوتینه نخواهند کرد.

گلبول‌های En(a-) قوی‌تر از گلبول‌های En(a+) با لکتین‌های خاص واکنش می‌دهند [۱۱۶ و ۱۳۰]، به ویژه عصاره دانه‌های سوفورا ژاپنیکا^۲ (جذب شده با گلبول‌های AB جهت حذف فعالیت آنتی-A- (B+ و گلایسین سوچا^۳. هر چند که عصاره دانه‌های باوهینیا پورپورئا^۴ (آنتی-N)، دولیکوس بیفلوروس^۵ (آنتی-A_۱ -)، فازولئوس لوناتوس^۶ (آنتی-A)، و آراکس هیپوگئا^۷ (آنتی-T)، همگی قادرند گلبول‌های En(a-) را از گلبول‌های En(a+) متمایز سازند. لکتین مک‌لورا اورانتیاسا^۸ که به سیالوگلیکوپروتئین‌های گلبول قرمز پیوند می‌یابد [۱۲۷]، بصورت ضعیف با گلبول‌های En(a-) واکنش می‌دهد [۱۳۰].

هتروزیگوت‌های En عموماً قابل شناسایی هستند زیرا گلبول‌های قرمزشان برخی از ویژگی‌های سرولوژیک مرتبط با کاهش محتوی اسید سیالیک را نشان می‌دهند. والدین یا فرزندان یک فرد En(a-) و افرادی که احتمالاً، به خاطر خصوصیات سرولوژیک غیرمعمول گلبول‌های قرمزشان و یا توارث غیر طبیعی آنتی‌ژن‌های M یا N (شکل ۳-۷) برای En هتروزیگوت هستند، دارای فنوتیپ M+N- یا M+N+ می‌باشند، هیچکدام M+N+ نخواهند بود.

1 - منظور آنتی بادی از نوع IgG می باشد.

- 2 - Sophora Japonica
- 3 - Glicine soja
- 4- Bauhinia purpurea
- 5- Dolichos biflorus
- 6- Phaseolus lunatus
- 7 - Arachis hypogea
- 8 - Maclura aurantiaca



شکل ۳-۷. این خانواده نشان می‌دهد که چگونه حضور En قادر است پدری $M+N-$ با سه فرزند $M-N+$ و تغییرات مربوط به غشاء گلبول قرمز را توضیح دهد. گلبول‌های قرمز تمامی اعضای خانواده، $En(a+)$ می‌باشند. ژنوتیپ مادر از والدین و برادر و خواهرانش (نشان داده نشده‌اند) استخراج شده است.

~ < : عدم وجود تغییرات غشاء گلبول قرمز.

• E : غشاء تغییر یافته گلبول قرمز، دز منفرد M یا N . ترسیم مجدد از منبع شماره [۱۲۶].

۳-۱-۶-۳ فراوانی En

En بسیار نادر است، تنها پنج نفر En/En غیر خویشاوند شناخته شده‌اند. آزمایشات انجام شده با استفاده از آنتی- En^a بر روی ۱۲۵۰۰ اهدا کننده انگلیسی، ۸۸۰۰ اهدا کننده فنلاندی و ۲۰۰ اهدا کننده استونیایی، هیچ فرد $En(a-)$ را شناسایی نکرد [۱۱۵ و ۱۱۶]، آزمایشات انجام شده روی ۲۵۰۰۰۰ اهدا کننده ژاپنی یک نفر را شناسایی نمود [۱۲۱ و ۱۲۲]. همانطوری که در بالا به آن اشاره شد، گلبول‌های $En(a-)$ در محلولهای نمکی مستقیماً توسط آنتی‌بادی‌های «ناقص» Rh آگلوتینه می‌شوند. سه فرد هتروزیگوت احتمالی En به دنبال غربالگری ۶۲۰۲ اهدا کننده با استفاده از آنتی‌بادی‌های «ناقص» آنتی- D و آنتی- c شناسایی شدند [۱۳۱]. بررسی دقیق گلبول‌های قرمز ۱۳۰۰ اهدا کننده اسکاتلندی از لحاظ تجمع در پروتئامین سولفات، دو هتروزیگوت احتمالی En ، یکی دارای $En(UK)$ و دیگری $En(Fin)$ را شناسایی نمود [۱۲۹].

۳-۱-۶-۳ بیوشیمی

گلبول‌های قرمز معمول $En(a-)$ فاقد GPA هستند، با استفاده از SDS-PAGE در بررسی گلبول‌های GPA ، $En(a-)$ و یا دایمر (GPA_2) و هترو دایمر $(GPAB)$ آن، شناسایی نمی‌گردند (شکل ۳-۳)

[۴۸، ۴۹، ۶۰، ۱۲۰-۱۱۸، ۱۲۲، ۱۲۷، ۱۳۲ و ۱۳۳]. روی SDS-PAGE، GPB گلبول‌های En(a-) دارای حرکت طبیعی می‌باشد. در این گلبول‌ها باند ۳، پروتئین انتقال دهنده آنیونی، وزن مولکولی بالایی را نشان می‌دهد که ناشی از افزایش طول N-گلیکان آن می‌باشد [۱۱۹، ۱۲۰، ۱۲۲، ۱۲۷، ۱۲۸، ۱۳۲ و ۱۳۳]. اگر GPA حرکت باند ۳ از غشاءهای داخلی به سطح گلبول را تسهیل می‌نماید، همانطوری که در اووسیت‌های *Xenopus* مشاهده می‌گردد، پس در گلبول‌های فاقد GPA، پروتئین باند ۳ ممکن است در شبکه گلژی مدت طولانی تری باقی بماند که به نوبه خود فرصت بیشتری را برای طویل شدن N-گلیکان فراهم می‌نماید [۱۳۴] (به بخش ۳-۲۵ مراجعه گردد).

فوروچلم و همکاران^۱ [۱۱۶]، در مطالعه خود روی اولین فرد مورد مطالعه فنلاندی En(a-)، متوجه کاهش حرکت الکتروفورزی گلبول قرمز به علت پایین بودن محتوی اسید سیالیک شدند. گلبول‌های En(a-) دارای حدود ۴۰٪ و گلبول‌های افراد هتروزیگوت برای En، دارای حدود ۷۰٪ اسید سیالیک گلبول‌های طبیعی می‌باشند [۱۱۶، ۱۱۹ و ۱۳۲]. این کاهش در اسید سیالیک به نظر می‌رسد که حالت آگلوتینه شوندگی گلبول‌های قرمز را افزایش دهد، که این امر بسیاری از ویژگی‌های سرولوژیک غیر طبیعی گلبول‌های قرمز فاقد GPA را توضیح می‌دهد.

۳-۶-۴ ژنتیک مولکولی

نتایج ساترن بلاتینگ DNA ژنومیک^۲ از دو فرد با فنوتیپ En(a-)Fin در ابتدا حاکی از حذف کامل GYPA و وجود GYPB طبیعی بود [۹۶، ۹۴، ۸۸]. ویگنال و همکاران^۳ [۹۸ و ۱۰۳] متعاقباً نشان دادند که اگزون A1 و منطقه ترجمه نشده ناحیه ۳ GPA در En حذف نشده است و نیز اینکه عمل حذف، اگزون‌های A2-A7 در GYPA و اگزون B1 در GYPB را در بر می‌گیرد (شکل ۳-۸). چون اگزون A1 در هر دو ژن بخش عمده توالی رهبر، اما نه بخشی دیگر از پروتئین کامل، را رمزدهی می‌نماید، این منجر به تولید GPA نخواهد شد. در هر حال اجازه بیان طبیعی GPB داده می‌شود، بطوری که توسط یک ژن هیبرید *GYP(A-B)* که متشکل از توالی‌های آغازگر، اگزون A1 در GYPA و اگزون‌های B2-B6 در GYPB می‌باشد، تولید می‌گردد.

۳-۶-۲ M^k

عنوان M^k از سوی متاکساس و متاکساس-بوهلر^۴ [۱۳۵] برای یک آلل جدید از M و N که ظاهراً تولید هیچ آنتی‌ژن M یا N نمی‌نمود، معرفی گردید. مطالعات انجام شده روی خانواده ای دیگر نشان

1 - Furuhielm et al.

2 - genomic DNA Southern blotting

3 - Vignal et al

4 - Metaxas and Metaxas-Buhler

داد که M^k نه تنها در لوکوس MN بلکه در لوکوس Ss نیز یک آل خاموش است [۱۳۶]. تاثیر ژن M^k در این خانواده از طریق مستثنی سازی ظاهری مادر در سه نسل به خوبی روشن گردید: مادر $M+N-S-s+$ (ژنوتیپ احتمالی Ms/M^k) یک دختر $M-N+S-s+$ (Ns/M^k) داشت که با یک مرد $M+N-S-s+$ (MS/MS) ازدواج کرده بود و دارای یک دختر $M+N-S-s-$ (MS/M^k) و دو دختر $M+N-S-s+$ (Ms/M^k) بود که یکی از آنها فرزندی $M-N+S-s+$ (Ns/M^k) داشت. گلبول‌های قرمز افرادی که یک ژن M^k دارند مشابه گلبول‌های قرمز افرادی است که برای En هتروزیگوت می‌باشند (با در نظر گرفتن خصوصیات سرلژیکی غیر معمول مرتبط با کاهش سطوح اسید سیالیک) [۱۳۷-۱۴۰، ۱۳۱] (به بخش ۳-۶-۱ مراجعه شود). هشت فرد M^k هتروزیگوت از میان ۱۰۰۹۷ اهدا کننده سوئسی شناسایی گردیدند، که بدین منظور از آنتی-D و آنتی-C «ناقص» برای آگلوتیناسیون مستقیم گلبول‌های قرمز و یا از تعیین مقدار M و N استفاده شد [۱۳۱ و ۱۴۱]. جدای از این نمونه‌های سوئسی حداقل شش فرد M^k هتروزیگوت دیگر نیز شناسایی و گزارش شده‌اند: یک مورد دانمارکی [۱۳۶]، یک مورد سوئدی [۱۴۲]، دو مورد انگلیسی [۱۱۵، ۱۴۳]، یک مورد سفید پوست آمریکایی [۱۴۴]، یک مورد اهل شیلی [۱۴۵]، و یک مورد چینی [۱۳۸]. خانواده چینی هم چنین دارای یک ژن نادر برای $GP.Mur(Mi.III)$ بود [۱۳۸] (بخش ۳-۱۲-۱). آمریکایی‌ها [۱۴۴] و شیلی‌ها [۱۴۵] برای M^k و نیز برای ژن $GP.Hil(Mi.V)$ هتروزیگوت بودند (بخش ۳-۱۱-۱). یکی از افراد مورد مطالعه انگلیسی [۱۱۵] برای $En(UK)M^k$ ، هتروزیگوت بود [۱۲۳، ۱۲۴] (بخش ۳-۱۱-۴).

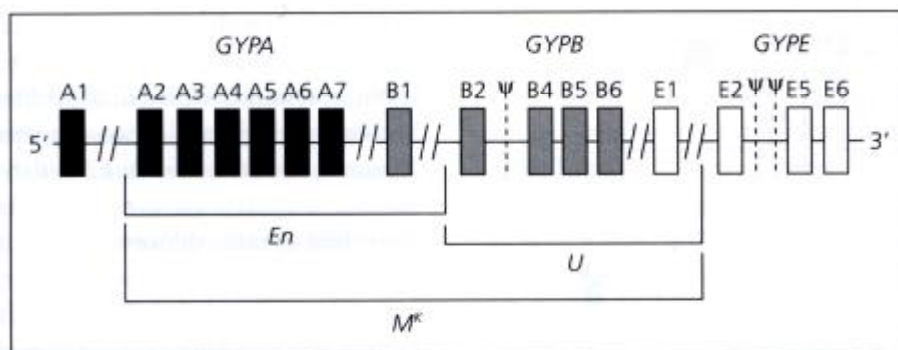
بچه‌ای با ظاهر غیر طبیعی و عقب افتادگی ذهنی که بخشی از بازوی بلند کروموزوم شماره ۲ او به بازوی بلند کروموزوم ۴ جابجا شده بود ظاهراً ژنوتیپ MS/M^k داشت [۱۴۶ و ۱۴۷]. پدر وی $M-N+S-s+$ با دز دوگانه آنتی ژن N ، و مادرش $M+N+S-s+$ بودند. بچه که گلبول‌های قرمزش دارای یک دز منفرد از آنتی ژن M بودند، احتمالاً M^k را از هیچکدام از والدینش به ارث نبرده بود بلکه این ژن نادر نتیجه جابجایی کروموزومی بوده است. MNS روی بازوی بلند کروموزوم ۴ قرار دارد (فصل ۳۲). اولین افراد هموزیگوت M^k/M^k یک اهدا کننده ژاپنی و برادرش بودند که از سوی توکوناگا و همکاران^۲ [۱۴۸] در سال ۱۹۷۹ گزارش شدند. گلبول‌های قرمز آنها $M-N-S-s-U$ ، $En(a-)$ و $Wr(a-b-)$ بودند و تمامی واکنش‌های مشخصه کاهش اسید سیالیک را نشان می‌دادند. این فنوتیپ M^k متعاقباً در دو خواهر ژاپنی [۱۴۹]، یک بچه آمریکایی آفریقایی تبار [۱۵۰]، و یک زن ترکیه‌ای و برادرش [۱۵۱] نیز بافت شده است. والدین هر کدام از افراد مورد مطالعه ژاپنی، همخون بودند.

1 - Dosage

2 - Tokunaga et al.

۳-۶-۱-۲-۱ بیوشیمی

M^k هیچکدام از دو محصول GPA یا GPB را تولید نمی‌کند. به طوری که گلبول‌های قرمز هموزیگوت‌های M^k/M^k فاقد GPA و GPB می‌باشند [۱۵۰-۱۴۸]. مقدار GPA و GPB گلبول‌های قرمز افراد M^k هتروزیگوت تقریباً نصف میزان طبیعی است [۱۵۴-۱۵۲]. پروتئین باند ۳ گلبول‌های M^k همچون گلبول‌های En(a-) افزایش وزن ملکولی را نشان می‌دهد که ناشی از افزایش گلیکوزیلاسیون می‌باشد (بخش ۳-۶-۱-۳). میزان این افزایش در وزن ملکولی باند ۳ افراد هموزیگوت [۱۴۸ و ۱۴۹] و هتروزیگوت [۱۵۲] برای M^k حدود ۳۰۰۰ می‌باشد. گلبول‌های قرمز M^k فعالیت انتقال سولفات پائینی دارند زیرا میل پیوندی باند ۳ برای یون‌های سولفات کاهش یافته است [۱۵۵]. همچنین به نظر می‌رسد که گلبول‌های قرمز M^k کاهشی را در اندازه انتقال دهنده گلوکز GLUT1 [۱۵۵] و یک افزایش ۲۰۰۰ در وزن ملکولی گلیکوپروتئین باند ۴/۱ [۱۴۸] نشان دهند. محتوی اسید سیالیک گلبول‌های قرمز افراد هتروزیگوت M^k حدود ۳۰٪ [۱۳۷، ۱۴۰، ۱۴۴ و ۱۵۲] و در افراد هموزیگوت M^k/M^k ۷۰٪ [۱۴۸] کاهش می‌یابد. ژنوتیپ M^k/M^k هیچ نوع تاثیر مغایر واضحی روی سلامت پنج فرد M^k نداشت و شواهد هماتولوژیک غیر طبیعی نیز مشاهده نشد [۱۴۸]. بنابراین ژنوتیپ M^k/M^k در خصوص عملکرد GPA، GPB، اطلاعات زیادی را بدست نداده است (به بخش ۳-۲۵ مراجعه شود).



شکل ۳-۸. نمودار، دامنه حذف‌ها را در GYPA، GYPB، و GYPE که مسئول فنوتیپ‌های En(a-)، En(u-)، M^k و U می‌باشند نشان می‌دهد [۹۸، ۱۰۳]. در هر مورد نقاط شکست در درون اینترون‌های بسیار طویل ابتدایی این ژن‌ها (---) ایجاد می‌گردند. En حاکی از حذف آگزون‌های A2-A7 و u حاکی از حذف آگزون‌های B2-B6، E1، و M^k حاکی از حذف آگزون‌های B1-B6، E1، A2-A7 می‌باشند. مکانیسم‌های دیگری ممکن است مسئول بروز فنوتیپ‌های S-S-U- باشند (به بخش ۳-۷-۴ مراجعه گردد).

۳-۲-۲ ژنتیک مولکولی

تیت و همکاران^۱ [۹۴] به کمک بررسی ساترن بلات نشان دادند که DNA ژنومیک یکی از افراد ژاپنی M^k/M^k فاقد تمامی قطعات $GYPB$ و $GYPB$ که GPA و GPB کامل را رمزدهی می نمایند است، که این حاکی از اینست که یک حذف منفرد هر دو ژن را در برگرفته است. این مشاهده با نتایجی که راهوئل و همکاران^۲ [۹۶] از مطالعه یک فرد $M^k (UK)$ به دست آوردند مطابقت دارد. $GYPE$ در M^k حذف نمی شود [۹۴ و ۹۸]. همانطوری که در شکل ۳-۸ نشان داده شده است عمل حذف، اگزون A1 و منطقه آغازگر فرادست $GYPB$ را شامل نمی شود اما اگزون E1 در $GYPE$ را در بر می گیرد به طوری که یک ژن هیبرید $GYP(A-E)$ را بر جای می گذارد [۹۸ و ۱۰۳].

۳-۲-۳ آنتی- En^a ، آنتی- Wr^b ، و شاخصی هایی که شناسایی می نمایند۳-۲-۳-۱ آلوآنتی- En^a

اولین سه مورد آنتی- En^a ، یکی در فرد مورد مطالعه $En(a-)$ انگلیسی (MEP) و دو مورد دیگر از دو فرد مورد مطالعه $En(a-)$ فنلاندی (GW و VB)، ظاهراً آنتی بادی هایی با ویژگی یکسان بودند که با تمامی گلبول های قرمز به غیر از گلبول های فنوتیپ $En(a-)$ واکنش می دادند [۱۱۷-۱۱۵]. هر سه فرد مورد مطالعه مذکور خون در یافت کرده بودند. هیچکدام از فرزندان افراد مورد مطالعه $En(a-)$ فوق آنتی بادی نساخته بود و به هیچکدام خون تزریق نشده بود اما یکی از آنها سابقه پنج بار حاملگی داشت. بعدها نشان داده شد که خود این سه سرم آنتی- En^a ، حاوی حداقل دو آنتی بادی بر علیه آنتی ژن های با شیوع زیاد، آنتی- En^a و آنتی Wr^b بودند [۱۱۶، ۱۵۸-۱۵۶]. هیچکدام از آنتی بادی های فوق با گلبول های قرمز فنوتیپ $En(a-)Wr(a-b-)$ واکنش نداد، اما آنتی- En^a بر خلاف آنتی- Wr^b با گلبول های قرمز $En(a+)Wr(a+b-)$ وارد واکنش گردید (در ذیل توضیح داده شده است).

دو فرد مورد مطالعه $En(a-)$ دیگر از خانواده فنلاندی (ERP) که هرگز خون دریافت نکرده اما دو بار حامله شده بودند مخلوطی از آنتی بادی ها را ساختند [۱۱۸]. فرد مورد مطالعه فرانسوی-کانادایی $En(a-)$ (RL)، مردی که هیچ سابقه تزریق خون نداشت، آنتی- En^a (اما نه آنتی- Wr^b) ساخت. آنتی- En^a او از آن جهت با دیگر نمونه های این آنتی بادی تفاوت داشت که یک آنتی ژن حساس به تریپسین را شناسایی می نمود و توسط مواد استخراج شده M و N مهار می شد [۱۱۹]. مطالعات جذب و جداسازی با استفاده از گلبول های مجاور شده با پروتئازهای مختلف (تریپسین، پاپائین و فیسین) و گلبول های قرمز فنوتیپ های نادر MNS که در آنها فقط بخشی از GPA وجود دارد،

1 - Tate et al.

2 - Rahuel et al.

نشان داده‌اند که آنتی- En^a یک اصطلاح کلی برای آنتی‌بادی‌هایی است که بر علیه جایگاه‌های متنوعی روی حوزه خارج سلولی GPA ساخته شده‌اند [۱۶۱ و ۱۵۸-۱۶۱].

ایسیت و همکاران^۱ [۱۶۲] به منظور سهولت، بر اساس تاثیر پروتئازها بر شاخص‌های آنتی‌ژنیک، سه دسته وسیع از آنتی- En^a را تعریف نمودند:

آنتی- $En^a TS$: یک شاخص حساس به تریپسین را شناسایی می‌کند و با استفاده از آنتی‌بادی فرد مورد مطالعه فرانسوی-کانادایی $En(a-)$ (RL)، نوع آن تعیین می‌شود [۱۱۹]. این آنتی‌بادی با گلبول‌های قرمز $En(a+)$ مجاور شده با تریپسین، فیسین یا پاپائین واکنش نمی‌دهد و توسط GPA ایزوله نیز مهار می‌گردد. GPA سطح گلبول‌های قرمز کامل و دست نخورده در محل اسید آمینه شماره ۳۹ توسط تریپسین شکافته می‌شود. داهر و همکاران^۲ [۶۱] دریافتند که سه نوع آنتی- $En^a TS$ (دو آلوانتی‌بادی و یک اتو آنتی‌بادی) جایگاه‌های پیوندی متفاوتی روی انتهای آمینی GPA دارند. آنتی‌بادی از نوع RL با شاخصی که در ناحیه اسید های آمینه ۳۹-۳۱ قرار گرفته است واکنش می‌دهد، اما فقط روی آن دسته از مولکول‌های GPA که در نقطه Thr33 گلیکوزیله نمی‌باشند [۶۱].

آنتی- $En^a FS$: حاکی از آن دسته از آنتی‌بادی‌های ضد En^a است که یک شاخص حساس به فیسین (یا حساس به پاپائین) اما مقاوم به تریپسین را شناسایی می‌کنند. این آنتی‌بادی به صورت یک جزء قابل جداسازی در سرم افراد مورد مطالعه MEP، VB، GW و ERP یافت می‌گردد و حتی ممکن است یک اتوآنتی‌بادی باشد [۱۶۳]. توسط CPA ایزوله مهار می‌گردد [۱۶۰-۱۵۸]. شش نمونه آنتی- $En^a FS$ که از سوی داهر و همکاران [۶۱] مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته بودند بسیار شبیه هم بودند، هر شش مورد علیه یک شاخص در فاصله اسیدهای آمینه ۵۶-۴۶ در GPA ساخته شده بودند و پنج مورد آنها به منظور اتصال نیاز به گلیکوزیلاسیون در موقعیت Thr50 داشتند.

آنتی- $En^a FR$: اشاره به آنتی‌بادی‌هایی دارد که با یک شاخص مقاوم به فیسین (مقاوم به پاپائین) و مقاوم به تریپسین واکنش می‌دهند. تفاوت آنها با آنتی- Wr^b ، واکنش با گلبول‌های $En(a+)Wr(a+b-)$ می‌باشد. آنتی- $En^a FR$ همچنین از سرم افراد مورد مطالعه MEP، VB و GW قابل جداسازی است؛ به راحتی توسط GPA ایزوله مهار نمی‌گردد. به نظر می‌رسد که $En^a FR$ حاکی از ساختاری ناپایدار درون اسیدهای آمینه ۷۲-۶۲ در GPA باشد که به منظور تجلی کامل آنتی‌ژنیک نیاز به لیپید دارد [۱۶۴].

1 - Issit *et al.*

2 - Dahr *et al.*

۳-۳-۶-۳ W_r^b و آنتی ژن W_r^b

عنوان آنتی- W_r^b در سال ۱۹۷۱ از سوی آدامس و همکاران^۱ [۱۶۵] در مورد یک آنتی-بادی که آنتی ژنی عمومی را در سرم زنی که گلبول‌های قرمز $W_r(a+)$ او ظاهراً دز دوگانه W_r^a داشتند شناسایی می نمود، به صورت پیشنهادی به کار رفت. این آنتی-بادی با گلبول‌های $W_r(a-)$ ، قویتر از گلبول‌های $W_r(a+)$ واکنش می داد. ارتباط بین W_r^b و MNS زمانی مشخص گردید که برای اولین بار ایسیت و همکاران [۱۵۶ و ۱۶۶] متوجه شدند که گلبول‌های قرمز $En(a-)$ نیز $W_r(a-b-)$ هستند و مطالعات ایمونو شیمی بعدی نیز حاکی از وجود شاخص W_r^b بر روی GPA بود [۱۶۴، ۱۶۷]. این مشاهده ایجاد یک معما نمود، زیرا در طی سالیان متمادی اعتقاد بر این بود که W_r^a از لحاظ ژنتیکی مستقل از MNS می باشد [۱۸]. جزئیات مربوط به ماهیت ارتباط W_r^b با سیستم MNS در فصل ۱۰ ارائه خواهد شد. دیمرفیسم W_r^a/W_r^b ناشی از یک جایگزینی اسید آمینه‌ای درون پروتئین باند ۳ می باشد [۱۶۸]. اما W_r^b فقط زمانی قابل شناسایی است که باند ۳ در ارتباط با GPA غشائی باشد. به همین سبب، گلبول‌های قرمز فاقد GPA، $W_r(b-)$ هستند. اینکه بیان W_r^a مستلزم حضور GPA است یا خیر مشخص نیست، آنچنان که تا کنون هیچ فرد فاقد GPA که یک آلل W_r^a داشته باشد شناسایی نشده است.

۳-۳-۶-۳ اهمیت بالینی آنتی- En^a

عواقب بالینی تزریق گلبول‌های قرمز $En(a+)$ به بیماران دارای آنتی- En^a ، متغیر می باشد. بیماری که آنتی-بادی ضد En^a TS داشت و بیان GPA بر سطح گلبول‌های قرمز به شدت کاهش یافته بود در اثر واکنش همولیتیک بعد از تزریق خون درگذشت [۱۶۹] و یک بیمار $En(a-)$ (GW) با آنتی- En^a و آنتی- W_r^b متعاقب دریافت شش واحد خون $En(a+)$ ، یک واکنش خفیف و تأخیری همولیتیک انتقال خون را بروز داد [۱۱۷]. در یک بیمار M^k/M^k آنتی- En^a ، که غالباً از کلاس IgG1 و به میزان کمتری IgG3 بود، منجر به ایجاد بیماری همولیتیک شدید نوزاد (HDN) گردید [۱۵۱]. آزمایشات عملکردی با استفاده از آنتی- En^aFR/W_r^b ، شواهدی بدست داد مبنی بر اینکه این آنتی-بادی‌ها دارای اهمیت بالینی می باشند [۱۷۰].

۳-۳-۹-۳ اتو آنتی- En^a

اتو آنتی-بادی‌هایی با ویژگی En^a شناسایی شده‌اند [۱۷۱] که بعضی از انواع آنها در بیماران مبتلا به کم خونی شدید و کشنده همولیتیک اتوایمون مشاهده شده‌اند [۱۶۳، ۱۷۲ و ۱۷۳]. این آنتی-بادی‌ها معمولاً از نوع آنتی- En^a FS هستند، اگر چه بعضی ممکن است از نوع آنتی- En^a FR نیز

1 - Adams et al.

باشند [۱۷۳]. مولد و همکاران^۱ [۱۷۴] دریافتند که آنتی-En^a FS خالص در ۱/۶٪ موارد اتو آنتی بادی گرم وجود دارد. آنتی-Wr^b یک اتو آنتی بادی غیر شایع نیست (فصل ۱۰).

۳-۶-۵ آنتی بادی هایی که توسط افراد M^K/M^K تولید می شوند.

هیچ کدام از دو مرد ژاپنی با ژنوتیپ M^K/M^K خون دریافت نکرده بود، اما با این حال هر دوی آنها علیه یک آنتی ژن عمومی آنتی بادی ساخته بودند [۱۴۸]. این آنتی بادی ها مستقیماً با گلبول های En(a-) واکنشی نداشتند، اما شدت واکنش آنها با گلبول های En(a+) به واسطه جذب با گلبول های En(a-) کاهش یافت. آنتی بادی های مذکور، که با گلبول های مجاور شده با سیالیداز یا پروناز واکنش نداده توسط معرف های سیالوگلیکو پروتئین مهار می شدند، احتمالاً یک شاخص شبیه Pr، مشترک بین GPA و GPB را شناسایی کرده اند (به بخش ۳-۶-۴ مراجعه گردد). یک فرد مورد مطالعه ژاپنی دیگر [۱۴۹] و نیز یک زن ترکیه ای [۱۵۱] آنتی-En^a ساخته بودند. هر دو چندین بار حامله شده اما خون دریافت نکرده بودند.

۳-۶-۶ آنتی بادی های مونوکلونال علیه شاخص های غیر پلی مورفیک سطح GPA

در سال ۱۹۸۲، آنستی و ادواردز^۲ [۱۷۵] سه آنتی بادی مونوکلونال را توصیف نمودند که به واسطه مصون سازی موش با گلبول های قرمز انسانی تولید شده و اپیتپ های مختلفی را بر سطح GPA شناسایی می کردند.

هیچدام از آنها آنتی-M یا آنتی-N نبود. از آن زمان به بعد آنتی بادی های مونوکلونال بسیاری علیه شاخص های غیر پلی مورفیک روی GPA توصیف شده اند [۸۷، ۵۲، ۴۸، ۱۷۶-۱۷۸]. این آنتی بادی ها را می توان در چهار دسته قرار داد:

۱- آنتی بادی های علیه اپیتپ های حساس به تریپسین، فیسین و پاپائین، موجود بر سطح GPA اما نه GPB (آنتی-En^aTS). این اپیتپ ها یا در سمت انتهایی آمینی جایگاه شکافت تریپسین در نقطه Arg39 هستند و یا اینکه با Arg39 هم پوشانی دارند. آنها عمدتاً درون منطقه اسیدهای آمینه ۴۵-۳۰ قرار گرفته اند.

۲- آنتی بادی های ضد اپیتپ های مقاوم به تریپسین، اما حساس به فیسین و پاپائین، موجود بر سطح GPA (آنتی-En^aFS). این اپیتپ ها عمدتاً در منطقه اسیدهای آمینه ۵۸-۴۹ واقع شده اند.

۳- آنتی بادی هایی که اپیتپ های وابسته به اسید سیالیک و مشترک بین GPA و GPB را شناسایی می نمایند. این اپیتپ ها که بین GPA^N و GPB یکسان می باشند عمدتاً در میان ۲۶ اسید آمینه انتهایی

1 - Mould *et al.*

2 - Anstee and Edwards

آمینی، واقع شده‌اند. آنتی‌بادی‌های از این نوع با گلبول‌های قرمز En(a-) و S-s-u- که به ترتیب فاقد GPA یا GPB می‌باشند، واکنش می‌دهند. این آنتی‌بادی‌ها با گلبول‌های M^k که فاقد GPA و GPB هستند و یا با گلبول‌های S-s-u- مجاور شده با تریپسین که فاقد GPB به همراه ۳۹ اسید آمینه انتهای آمینی GPA می‌باشند، واکنش نمی‌دهند.

۴- آنتی‌بادی‌های ضد اپیتپ‌های حوزه سیتو پلاسمی انتهای کربوکسیلی GPA. این آنتی‌بادی‌ها با گلبول‌های قرمز سالم و دست نخورده واکنش نمی‌دهند و معمولاً به کمک ایمونوبلاتینگ شناسایی می‌گردند.

یک آنتی‌بادی مونوکلونال موشی به قطعه پپتیدی $^{57}\text{Pro-Pro-Glu-Glu-Glu}$ در ساختمان GPA پیوند یافت (آنتی - En^aFS)، اما با قطعه $^{398}\text{Pro-Pro-Glu-Gln}$ پروتئین ۴/۱ (از اجزاء اسکلت سلولی غشاء گلبول) نیز وارد واکنش شد [۱۷۹]. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال که علیه اپیتپ‌های مختلف روی GPA القاء شده‌اند، در تجزیه و تحلیل بسیاری از واریان‌های نادر MNS که در ادامه همین فصل توضیح داده خواهند شد، فوق العاده سودمند و موثر هستند.

۳-۶-۴ آنتی‌ژن‌های Pr و Sa

آنتی‌ژن‌های Pr، که در برابر پروتئازها ناپایدار می‌باشند [۱۸۰ و ۱۸۱]، در ابتدا از سوی مارش و جنکینس^۱ [۱۸۲]، Sp1 و توسط رولک^۲ [۱۸۳]، HD نام گذاری شدند (فصل ۲۵). این آنتی‌ژن‌ها عموماً توسط اتوآنتی‌بادی‌های مونوکلونال انسانی IgM که در سرما فعال هستند و در بیماری هم‌گلوبینین سرد یا متعاقب عفونت به وجود می‌آیند، شناسایی می‌گردند [۱۸۴]، اما در موارد نادری ممکن است در ارتباط با کم خونی همولیتیک اتوایمیون گرم نیز باشند [۱۷۲ و ۱۷۳]. آنتی‌ژن‌های Pr به تعدادی زیر ویژگی تقسیم بندی شده‌اند: Pr₁، Pr₂ و Pr₃ که از طریق اصلاح شیمیایی ریشه‌های اسید سیالیک با استفاده از اکسیداسیون پریدوات و نیز کاربودی ایمیدات افتراق داده می‌شوند (بازنگری در منبع [۱۸۱]). آگلوتینین‌های سرد آنتی - Sa از این نظر مشابه آنتی - Pr می‌باشند که یک آنتی‌ژن وابسته به اسید سیالیک را شناسایی می‌کنند، اما آنتی - Sa با گلبول‌های مجاور شده با پائین تنها یک واکنش ضعیف نشان می‌دهد [۱۸۵].

آنتی‌بادی‌های ضد Pr₁، Pr₂، Pr₃ و Sa با دی سیالوتترا ساکاریدهایی که از طریق پیوند اکسیژنی با سیالوگلیکو پروتئین‌ها اتصال یافته‌اند، واکنش می‌دهند [۳۴، ۱۸۸-۱۸۶]. اکثر نمونه‌های آنتی - Pr و تمامی نمونه‌های آنتی - Sa گروه‌های غالب ایمنی آلفا - ۲ و ۳ - N- نورامینیک اسید متصل به گالاکتوز را شناسایی می‌نمایند، اما فقط موارد معدودی از آنتی - Pr ممکن است گروه‌های

1 - Marsh and Jenkins

2 - Roelke

آلفا - ۲ و ۶-N - نورامینیک اسید را شناسایی کنند [۱۸۹]. این احتمال وجود دارد که آنتی - Pr_{1-3} ، شکل غالب O - گلیکان، الیگو ساکارییدی که در شکل ۲-۳ نشان داده شده است، را شناسایی نمایند و نیز اینکه آنتی - Sa به صورت ناقص، گلیکوکانز و گه‌های سیالیه (تتراساکاریدهای مونو سیالیه) موجود در بخش‌های داخلی تر GPA را شناسایی نماید [۱۸۱].

GPA و GPB آنتی‌ژن‌های Pr_1 ، Pr_2 و Pr_3 را بروز می‌دهند [۳۴، ۱۸۶ و ۱۸۷]. GPA نیز حاوی Sa می‌باشد [۱۸۵، ۱۸۷]. علاوه بر این، Pr_2 و Sa بر سطح گانگلیوزیدهای گلبول قرمز نیز قابل شناسایی هستند [۱۸۸]. آنتی‌بادی‌های ضد Pr گلبول‌های قرمز En(a-) را به صورت خیلی ضعیف آگلوتینه می‌نمایند اما گلبول‌های M^K را اصلاً آگلوتینه نمی‌کنند [۱۸، ۱۹، ۱۹۰]. متأسفانه هیچ نوع مطالعه جذب و جداسازی با استفاده از گلبول‌های M^K صورت نگرفته است، زیرا با این روش‌ها انتظار می‌رود گلبول‌های مذکور حامل تعدادی شاخص Pr روی دیگر ضمائم غشائی همچون GPC و GPD باشند.

۷-۳ آنتی‌ژن U و فنوتیپ‌های فاقد GPB : S-s-U- و S-s-U+^{var} U-۷-۳ و آنتی-U

U اسمی بود که توسط وینر و همکاران^۱ [۱۵ و ۱۹۱] در سال ۱۹۵۳ به یک آنتی‌ژن گروه خونی جدید با شیوع زیاد اطلاق گردید، این آنتی‌ژن در سطح گلبول‌های قرمز ۹۷۷ نفر از ۹۸۹ آمریکایی آفریقائی تبار و تمامی ۱۱۰۰ آمریکایی سفیدپوست وجود داشت. وقتی که گرینوالد و همکاران^۲ [۱۳] در سال بعد به نمونه دومی از آنتی - U دست یافتند، مشخص شد که U در ارتباط با سیستم MNS است. هر دو نمونه U- موجود نیز S-s- بودند، فنوتیپی که قبلاً با آن برخورد نشده بود. بررسی‌های جذب و جداسازی نشان دادند که آنتی - U مخلوطی قابل تفکیک از آنتی - S و آنتی - s نمی‌باشد [۱۳ و ۱۹۲].

گرینوالد و همکاران [۱۳] پیشنهاد نمودند ژنی که تولید هیچکدام از آنتی‌ژن‌های S، s یا U را نمی‌کند، S^u نامیده شود. همان طوری که امروزه می‌دانیم این ژن را نمی‌توان به عنوان آللی از S یا s تلقی نمود لذا پیشنهاد اولیه وینر و همکاران [۱۹۱] در این جا استفاده خواهد شد: U برای ژنی که تولید آنتی‌ژن U می‌کند و u برای ژنی که تولید U نمی‌نماید.

گلبول‌های قرمز U- تقریباً همیشه S-s- هستند در صورتی که گلبول‌های S-s- غالباً U+ می‌باشند [۱۶، ۳۰، ۱۹۳ و ۱۹۴]. غالب اوقات به S-s-U+ با عنوان S-s- U+^{var} اشاره می‌گردد [۱۹۵]. شدت بیان آنتی‌ژن U در سطح گلبول‌های قرمز S-s-U+ متغیر است و به منظور شناسایی آن ممکن است نیاز به

1 - Wiener et al.

2 - Greenwalt et al.

آزمایشات جذب و جداسازی و یا آزمایشات حساس آگلوتیناسیون با آنتی بادی های قوی باشد [۱۶ و ۱۹۶].

فنوتیپ $S-s-U^{+var}$ همچون $S-s-U-$ در حقیقت منحصر به مردمان آفریقایی الاصل است. حدود ۵۰٪ نمونه های گلبول قرمز $S-s-U^{+var}$ می باشند [۱۹۴ و ۱۹۷].

تعریف سرولوژیک دقیق آنتی - U مشخص نیست، اما این اصطلاح بصورت سستی به منظور توصیف آنتی بادی هایی به کار می رود که توسط افراد $S-s-$ بر علیه شاخص های با فراوانی بالای سطح GPB ساخته می شوند. استوری و رید^۱ [۱۹۴] در مطالعه هفده مورد آنتی - U دریافتند که پنج مورد از آنها قادر به واکنش با تمامی گلبول های قرمز $S-s-$ نمی باشند. آنها این آنتی بادی ها را آنتی - U نامیدند. دوازده مورد دیگر که با گلبول های $S-s-U^{+var}$ ، اما نه با گلبول های $S-s-U-$ ، واکنش دادند آنتی - $U/GPB-$ نامیده شدند. بر اساس این تعاریف گلبول های $S-s-U-$ نیز $U-$ و $U/GPB-$ هستند. اما گلبول های $S-s-U^{+var}$ نیز $U-$ و $U/GPB+$ می باشند. لذا با این وجود آنتی - U و آنتی - $U/GPB-$ را می توان مشابه آنتی - En^a تلقی نمود [۱۹۴]. گلبول های $S-s-U-$ به طور کامل فاقد GPB هستند، در صورتی که گلبول های $S-s-U^{+var}$ دارای یک مولکول GPB واریان می باشند که هیچکدام از آنتی ژن های S یا s را بروز نمی دهد. متعاقب تزریق خون یا حاملگی ویژگی آنتی - U ممکن است وسعت یافته تبدیل به آنتی U/GPB شود و با گلبول های قرمز $S-s-U^{+var}$ که قبلاً با سرم همان شخص واکنشی نداشته اند واکنش دهد [۱۹۸ و ۱۹۹].

گلبول های قرمز $S-s-U-$ و $S-s-U^{+var}$ معمولاً فاقد آنتی ژن N مقاوم به تریپسین بر سطح GPB (' N ') هستند [۳۰، ۱۸، ۱۹۵، ۲۰۰ و ۲۰۱]، هر چند که داهر و همکاران^۲ [۲۰۲] به وجود فعالیت ضعیف ' N ' بر سطح سیالوگلیکو پروتئین ایزوله شده دو فرد $M+N-S-s-U^{+var}$ پی بردند. بنابراین جدای از گلبول های قرمز فنوتیپ های بسیار نادر MNS ، گلبول های $M+N-S-s-$ تنها سلول هایی هستند که بیان واضحی از آنتی ژن N ندارند. احتمال می رود که افراد $N-$ و $U-$ اگر مصون شوند، آنتی - U و یا آنتی - N قوی بسازند که با آنتی ژن N موجود بر سطح هر دو گلیکوفورین A و B قویاً واکنش دهد [۱۹۵]. آنتی ژن با شیوع کم He در انتهای آمینی یک مولکول GPB که ' N ' را بروز نمی دهد بیان می گردد (به بخش ۳-۸-۳ مراجعه شود). بین بروز آنتی ژن U واریان و He یک ارتباط قوی وجود دارد. رید و همکاران^۳ [۱۹۷ و ۲۰۳] دریافتند که از میان ۱۰۶ نمونه گلبول قرمز $S-s-$ ، ۵۴ مورد (۵۱٪) با آنتی - $U/GPB-$ (اما نه با آنتی - U) واکنش می دهند، از این ۵۴ نمونه $S-s-U^{+var}$ ، ۳۷ نمونه (۶۸٪) $He+$ بودند. هیچکدام از گلبول های قرمز $S-s-U-$ که با آنتی - $U/GPB-$ واکنشی نداشتند $He+$ نبودند. PCR با استفاده از برایمرهای ویژه آلل مشخص نمود که ۹۰٪ افراد دارای فنوتیپ $S-s-U^{+var}$ یک آلل

1 - Storry and Reid

2 - Dahr *et al.*

3 - Reid *et al.*

از He از $GYPB$ و مابقی آنها یک آلل N' از آن را دارند [۲۰۳]. این یافته، حصول $S-s-U^{+var}$ از یک مولکول GPB واریان را تأیید می‌نماید (به بخش‌های ۳-۷-۳ و ۴-۷-۳ مراجعه گردد).

استوری و رید^۱ [۱۹۴] معتقد بودند که آنتی- U/GPB را می‌توان یا به عنوان آنتی- He,N,U غیر قابل تفکیک و یا بصورت آنتی- He,U غیر قابل تفکیک دسته بندی نمود. آنتی ژن U معمولاً در مقابل اثر تخریب کنندگی آنزیم‌های سیالیداز، تریپسین، کیموتریپسین، پاپائین، و فیسین مقاوم می‌باشد. در هر حال نمونه‌های غیر معمول آنتی- U با گلبول‌های مجاور شده با پاپائین واکنش نمی‌دهند و در حدود ۵۰٪ سرم‌های آنتی- U یک جزء آنتی‌بادی علیه شاخص حساس به پاپائین شناسایی شد [۲۰۴]، بطوری که در ۲۱ مورد از ۴۰ سرم حاوی آنتی- U نوعی آنتی‌بادی علیه یک شاخص حساس به پاپائین وجود داشت.

گلبول‌های قرمز $S-s-U$ بیشتر واکنش‌های سرولوژیک غیر عادی مرتبط با کاهش اسید سیالیک را که مشخصه گلبول‌های قرمز فاقد GPA می‌باشند نشان نمی‌دهند (بخش ۳-۶-۱-۱) گرچه لکتین گلايسین سوجا ممکن است گلبول‌های فاقد U را آگلوتینه نماید [۲۰۵].

دیگر فنوتیپ‌های نادر که در آنها گلبول‌های قرمز ممکن است $S-s-U$ باشند شامل فنوتیپ‌های نقصان Rh (بخش ۵-۱۶-۵) و فنوتیپ‌های ناشی از حالت هموزیگوت برای ژن‌های هیبریدی که آنتی‌ژن‌های نادر SAT و St^a را کد می‌نمایند می‌باشند (بخش‌های ۳-۱۱-۳ و ۳-۱۵-۲). جزئیات بیشتر آنتی- U ، شامل اهمیت بالینی و اتوآنتی- U را می‌توان در بخش ۳-۲۰-۱۱ یافت، آنتی- U^2 و آنتی- U^x نیز در بخش ۳-۲۰-۱۲ توصیف می‌گردند.

۳-۷-۲ فراوانی و توارث U

نتایج غربالگری اهدا کنندگان با آنتی- U قابل اعتماد نمی‌باشد زیرا برحسب نسبت نمونه‌های $S-s-U^{+var}$ که با معرف آنتی‌بادی استفاده شده نتایج مثبت یا منفی می‌دهند متغیر است. ایسیت و آنستی^۲ [۱۹۵] توجه خود را به شش سری از آزمایشات انجام شده روی گلبول‌های قرمز افراد آمریکایی آفریقائی تبار معطوف نمودند. در سه سری، فراوانی- U بین ۰/۲٪ و ۰/۳٪ بود، این احتمالاً حاکی از یک رقم واقعی برای U است. در سه سری دیگر بین ۱/۲٪ و ۱/۴٪ بود، که احتمالاً شامل نه تنها افراد- U بلکه آنهایی که یک آنتی‌ژن ضعیف U واریان داشتند نیز می‌شد.

جدول ۳-۲ فراوانی فنوتیپ‌های S, N, M, s را در آمریکائی‌های آفریقائی تبار به همراه ژنوتیپ‌هایی که در آنها گمان می‌رود فنوتیپ $S-s$ به واسطه حالت هموزیگوت برای آلل u در لوکوس Ss ایجاد شده باشد نشان می‌دهد. فراوانی‌ها پلوتیپ‌های MN و Ss که از مطالعات انجام شده روی جمعیت‌های

1 - Storry and Reid

2 - Issit and Anstee

آفریقائی و آمریکائی آفریقائی تبار استخراج و در جدول ۳-۴ نشان داده شده‌اند نیز وضعیت مشابهی را منعکس می‌سازد. از ۱۲۶ نفر نژاد کوتوله^۱ اهل زئیر، ۳۵٪ -U بودند [۲۰۶]. در میان ۱۰۰۰ نفر Bantu زبان اهل ناتال [۲۰۷] هیچ مورد S-s-U شناسایی نشد، در صورتی که در میان ۱۰۰۰ بیمار سیاهپوست antenatal^۲ از شرق Cape، سه مورد یافت شد [۲۰۸]. در مورد MNSs خانواده‌های سیاهپوست زیادی مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند، اما تعداد محدودی در منابع [۲۸-۳۰] توصیف شده‌اند. در مردمان سیاهپوست وجود یک فرزند S-s+(s/u) برای یک والد با ژنوتیپ S+s-(S/u) و یا فرزند S+s-(S/u) برای یک والد S-s+(s/u) غیر شایع نمی‌باشد. آنتی ژن u و فنوتیپ U- گر چه فوق العاده نادرند، اما در مردمان با اصل و نسب غیر آفریقائی شناسایی شده‌اند. به طوری که در یک خانواده سفیدپوست فرانسوی [۲۰۹] و در یک خانواده هندی [۲۱۰] چهار نفر S-s-U یافت شدند. شش نفر از ۳۲۴ Lapp فنلاندی [۱۹] و دو نفر از ۶۳ هندی آمریکای مرکزی اهل هوندوراس [۲۰] نیز دارای فنوتیپ S-s- بودند. در خانواده‌های سفیدپوست غالباً از حضور یک ژن U به منظور توضیح رد غیر محتمل ابوت در میان گروه‌های Ss استفاده می‌شود [۱۸، ۲۱۱-۲۱۴]. گر چه این نظریه معمولاً با شواهد سرولوژیک حاصل از مطالعات دزاژ با استفاده از آنتی-S، آنتی-s و حتی آنتی-U حمایت می‌گردد، اثرات دزاژ در مورد آنتی-U، عموماً به سختی قابل تشخیص می‌باشد [۲۱۵].

۳-۷-۳ بیوشیمی

گلوبول‌های قرمز S-s-U نقصان GPB دارند، به طوریکه به واسطه ناتوانی در مهار آنتی-S، آنتی-s و یا آنتی-U با استفاده از سیالوگلیکوپروتئین‌های جدا شده از گلوبول‌های مذکور [۲۱۶]، از طریق الکتروفورز SDS-PAGE غشاء این گلوبول‌ها و یا سیالوگلیکوپروتئین‌های جدا شده [۲۰۹، ۲۰۲، ۲۰۰، ۲۱۸-۲۱۶] و نیز به کمک ایمونو بلاتینگ در حضور آنتی‌بادی‌ها و لکترین‌های ویژه شاخص‌های سطح GPB [۲۱۷، ۲۰۹، ۵۰، ۴۹]، این وضعیت به اثبات رسیده است. میزان GPB گلوبول‌های قرمز افرادی که برای u هتروزیگوت هستند نصف میزان طبیعی است [۲۱۶، ۲۰۱، ۲۰۰].

داهر و همکاران [۲۰۲] با استفاده از میزان زیادی ژل توانستند مقادیر کم GPB (حدود ۳-۲٪ میزان طبیعی) را در سطح گلوبول‌های S-s-U+^{var} شناسایی نمایند. GPB به طور طبیعی حدود یازده O-گلیکان را حمل می‌کند، و گلوبول‌های قرمز S-s-U- و S-s-U+^{var} یک کاهش حدوداً ۱۵٪ را در محتوی اسید سیالیک، در مقایسه با گلوبول‌های قرمز طبیعی نشان می‌دهند [۲۱۹، ۲۱۶]. گلوبول‌های افرادی که برای آلل u هتروزیگوت هستند، دارای یک کاهش حدود ۹٪ در محتوی اسید سیالیک خود می‌باشند [۲۱۶].

1 - Pygmie

2 - احتمالاً منظور، در مرحله قبل از زایمان است.م.

بر خلاف $En(a-)$ و M_k (فنتیپ‌های فاقد GPA)، $S-s-U-$ در ارتباط با تغییرات ساختمانی واضح پروتئین باند ۳ نمی‌باشد [۲۱۶].

به نظر می‌رسد که آنتی‌ژن U یک ساختار ناپایدار داشته به منظور تجلی کامل نیازمند چربی است [۲۲۰]، از این لحاظ شبیه En^aFR است که در نزدیکی غشاء و بر سطح GPA وجود دارد (بخش ۳-۶-۳). مولدز و داهر^۱ [۲۲۰] بر اساس نتایج حاصل از آزمایشات مهار هم‌آگلوتیناسیون آنتی- U با استفاده از عصاره‌های GPB و در حضور لیپیدها، ابراز داشتند که ریشه‌های اسید آمینه ۳۳ تا ۳۹ در GPB به منظور بیان آنتی‌ژن U ضروری می‌باشند. U بر خلاف S و s اثر تخریب‌کنندگی کیموتریپسین روی گلبول‌های قرمز کامل می‌گریزد زیرا جایگاه شکافت کیموتریپسین بین اسیدهای آمینه ۳۲ و ۳۳ قرار دارد.

۳-۷-۴ ژنتیک مولکولی

فنتیپ $S-s-$ دارای دو زمینه مولکولی اصلی است. در حدود ۵۳٪ آمریکایی‌های آفریقایی تبار $S-s-$ یک حذف اساسی $GYPB$ وجود دارد که آگزون‌های $B2$ تا $B6$ در $GYPB$ و E_1 در $GYPE$ را در بر می‌گیرد [۹۴، ۹۸، ۲۱۷، ۲۲۱ و ۲۲۲] (به شکل ۳-۸ رجوع شود). حالت هموزیگوت برای این حذف احتمالا مسئول فنتیپ $S-s-U-$ می‌باشد.

اساس مولکولی $S-s-U^{+var}$ وضوح کمتری دارد. فنتیپ‌های $S-s-U^{+var}$ احتمالا ناشی از حضور ژن‌های غیر طبیعی شبیه $GYPB$ می‌باشند. این ژن‌ها معمولا یک توالی ویژه He را درون آگزون $B2$ ظاهر می‌سازند [۲۰۳]. شایعترین فنتیپ حاصل شده از این ژن‌ها $GP.He(P_2)$ نامیده می‌شود [۲۲۳] که در حدود ۴۲٪ آمریکایی‌های آفریقایی تبار $S-s-$ مشاهده می‌شود [۲۲۲]. علاوه بر دخول $GYPB$ به درون آگزون ۲ که مسئول بیان He می‌باشد (به بخش ۳-۱۲-۲ مراجعه شود)، جهش‌های جایگاه برش در انتهای ۳' آگزون $B5$ و نزدیک انتهای ۵' اینترون مجاور (موقعیت +5) منجر به جست^۲ کامل از آگزون $B5$ و انتقال چارچوب درون آگزون $B6$ می‌گردد. جستن از آگزون $B5$ منجر به از دست رفتن منطقه ای می‌شود که معمولا حوزه طی‌کننده غشایی GPB را می‌سازد. انتقال چارچوب قرائت، کدون توقف ترجمه در نزدیکی انتهای ۵' آگزون $B6$ را دگرگون می‌سازد بطوری که انتهای کربوکسیلی گلیکو پروتئین، ۴۱ اسید آمینه طویل تر می‌گردد. بروز آنتی‌ژن He در سطح گلبول‌های قرمز کامل و نیز آزمایشات ایمونوبات حاکی از این است که این GPB غیر طبیعی در غشاء وجود دارد. این توالی جدید (۴۱ اسید آمینه‌ای) که توسط آگزون $B6$ رمز دهی می‌گردد به شدت آگریز است و احتمال می‌رود که به عنوان یک حوزه طی‌کننده غشا مورد استفاده قرار گیرد (شکل ۳-۹). به علاوه آمیختگی

1 – Moulds and Dahr

2 – Skipping : از کنار آن گذشتن، بطوری که ترجمه نشود.

حوزه خارج سلولی با یک توالی غیر طبیعی آگزیز باید مسئول ناتوانی ساختار در بیان S یا U باشد(گر چه U/GPB بیان می گردد)، علی رغم اینکه یک توالی خطی برای این آنتی ژن ها وجود دارد. این اهمیت آرایش فضایی منطقه اطراف دخول GPB بدرون غشاء به منظور بیان آنتی ژن های S، s و U را اثبات می نماید.

۳-۸ واریان های M و N که جانشینی های اسید آمینه ای را درون منطقه انتهای آمینی GPA و GPB نشان می دهند

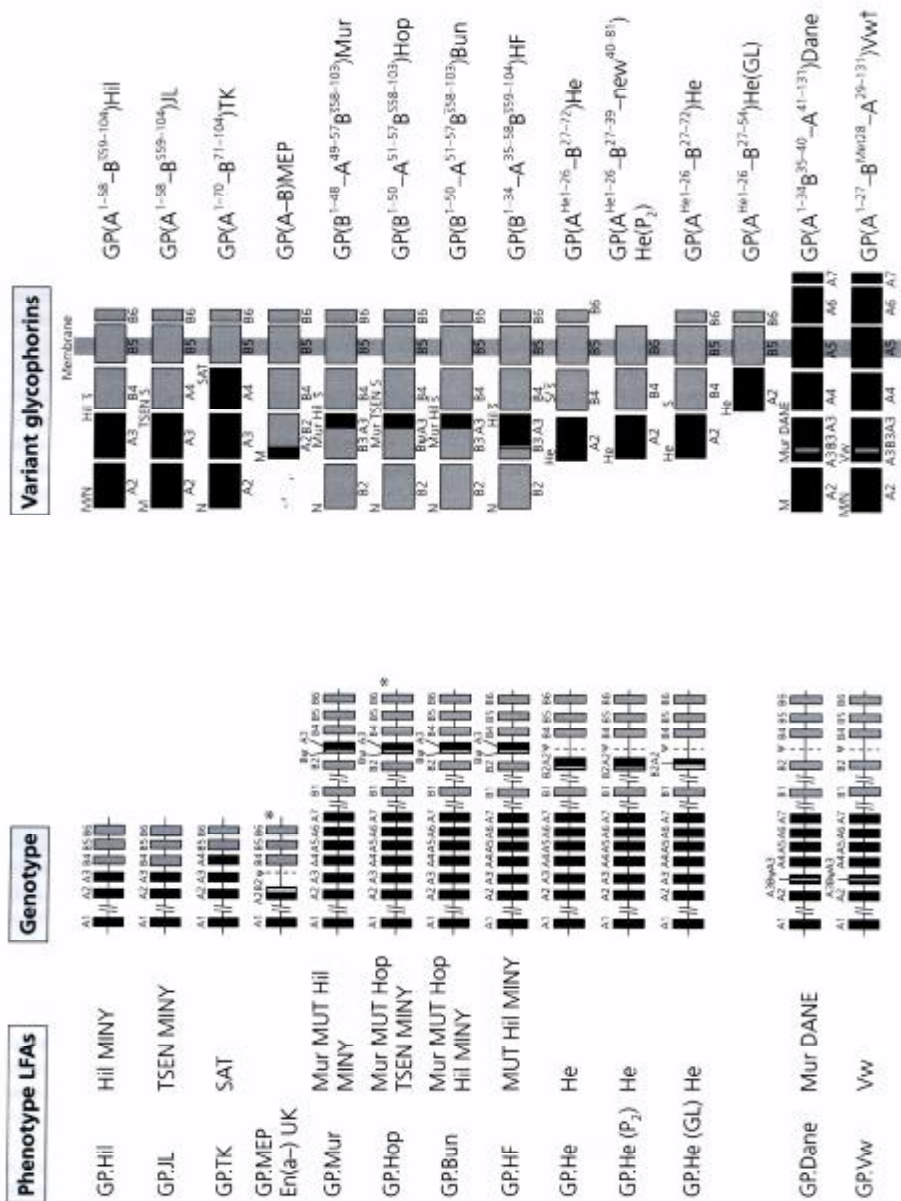
آنتی ژن های M و N به واسطه توالی و گلیکوزیلاسیون پنج اسید آمینه انتهای آمینی GPA و GPB متمایز میگردند (جدول ۳-۷). جایگزینی های اسد آمینه ای درون این پتاپتید ممکن است بیان M و N را تحت تأثیر قرار داده یک آنتی ژن جدید ایجاد نمایند. سه نمونه از این واریان ها در این بخش توضیح داده می شوند: M^g و M^C روی GPA و He روی GPB.

۳-۸-۱ M^g (MNS11)

M^g ، آنتی ژنی بسیار نادر که نخستین بار در سال ۱۹۵۸ توسط آلن و همکاران^۱ [۲۲۴] توصیف گردید، توسط ژنی کد می شود که در واقع تولید هیچکدام از آنتی ژن های M یا N نمی نماید. آل M^g در صورتی که در یک خانواده قابل شناسایی نباشد ممکن است منجر به رد ظاهری ابوت در موردی که یک والد $M+N-(M/M^g)$ می تواند یک فرزند $M-N+(M/M^g)$ داشته باشد، گردد. آزمایشاتی که با استفاده از آنتی- M^g روی ۱۰۰۰۰۰۰ اهدا کننده انگلیسی و آمریکائی به عمل آمدند هیچ مورد M^g+ را آشکار نمودند [۲۲۵]. در میان سوئسی ها و سیسیلی ها یک شیوع بالاتر حدود ۱ در ۶۰۰ مشاهده شد [۲۲۵-۲۲۷] (جدول ۳-۹). تجزیه و تحلیل ۲۱ خانواده سوئسی با الگوی آمیزشی $M^g+ \times M^g-$ و مجموع ۵۱ فرزند، رفتار M^g به صورت آلی از M و N را تأیید نمود [۲۲۵ و ۲۲۶]. در دو خانواده اهل بُستون [۲۲۴ و ۲۷۰]، یک خانواده ایتالیائی [۲۲۷] و تمامی خانواده های سوئسی [۲۲۵ و ۲۲۶]، M^g با s جور شده بود، در صورتی که در چهار خانواده سیلیسی [۲۲۷، ۲۷۱] جور شدن به صورت M^gS بود. دختر M^g+ یکی از افراد مورد مطالعه سوئسی دارای همسر M^g+ و یک فرزند $M-N-$ M^g+ بود [۲۲۵]، که این در حقیقت تنها شخص هموزیگوت شناخته شده برای M^g و منشأ قسمت عمده اطلاعات سرولوژیکی و بیوشیمیایی ما در مورد M^g بود. گلبول های قرمز افراد M^g هموزیگوت یک کاهش حدوداً ۱۲٪ میزان طبیعی در اسید سیالیک دارند و این رقم در مورد افراد هتروزیگوت ۷٪ است [۱۵۲]. این افراد بسیاری از خصائص سرولوژیک و فیزیوشیمیایی سلول هایی که سطوح کاهش یافته اسید سیالیک غشائی دارند را نشان می دهند [۱۳۷] (در بخش ۳-۶-۱-۱ توضیح داده شده است).

1 - Allen et al.

M^B ، همچون M و N ، به واسطه اثردهی تریپسین بر گلبول‌ها واسرشته می‌گردد اما این تأثیر با کیموتریپسین مشاهده نمی‌شود [۲۷۳، ۲۷۲، ۱۵۳]. برخلاف اکثر نمونه‌های آنتی- M و آنتی- N ، آنتی- M^B عموماً با گلبول‌های M^B مجاور شده با سیالید از واکنش می‌دهد [۲۷۵، ۲۷۴، ۷۱].



شکل ۹-۳. فنوتیپ‌های نادر MNS در ارتباط با گلیکوفورین‌های هیبرید. * ژنوتیپ‌های احتمالی که از شواهد سروزیک و بیوشیمیایی استنتاج شده‌اند. † گاهی اوقات می‌تواند ناشی از یک جهش نقطه‌ای باشد.



در سال ۱۹۸۱، سه تیم تحقیقاتی نشان دادند که فنوتیپ M^B ناشی از یک جایگزینی ترئونین به آسپاراژین در موقعیت ۴ GPA^N می‌باشد [۲۷۲، ۲۷۷-۲۷۵] که این خود نیز حاصل یک جهش نقطه ای در آلل N مربوط به $GYP A$ بود [۶۶]. این ریشه آسپاراژینی گلیکوزیده نیست و جایگزینی اسید آمینه ای مذکور نیز گلیکوزیلاسیون ریشه‌های سرین و ترئونین در موقعیت‌های ۳ و ۲ را مهار می‌نماید، و یا حداقل تا حد بسیار زیادی کاهش می‌دهد، و لذا کاهش مجموعاً سه O-گلیکان مسئول کمبود اسید سیالیک است (جدول ۳-۷). اگر چه فورت مایر و همکاران^۱ [۲۷۵] قادر به شناسایی گلیکوزیلاسیون اسید آمینه‌های ۳ و ۲ در ساختمان $GPAM^B$ نبودند، اما داهر و همکاران [۲۷۶] دریافتند که این واحدها در ۲۵٪ مولکول‌های $GPAM^B$ گلیکوزیده می‌باشند. به علاوه ۳۰٪ مولکول‌های $GPAM^B$ فاقد ریشه لوسین و حدود ۱۰٪ آنها فاقد ریشه‌های لوسین و سرین در انتهای آمینی خود می‌باشند که احتمال می‌رود به واسطه عمل آمینو پتیداز در بدن باشد [۸۴]. آنتی- M^B به راحتی توسط اکتاپتید گلیکوزیده انتهای آمینی که از $GPAM^B$ کنده شده، مهار می‌گردد اما این پدیده در مورد GPA^N مشاهده نمی‌شود [۲۷۵].

مطالعات مهار هم‌آگلوتیناسیون با استفاده از پتیدها و گلیکوپتیدهای صناعی متعدد که مشابه ناحیه انتهای آمینی GPA بودند نشان داد که اکثر نمونه‌های آنتی- M^B اصولاً یک ساختار غیر گلیکوزیده با لوسین ناحیه انتهای آمینی را شناسایی می‌نمایند و فقط تعداد اندکی از آنها به $Asn4$ متکی می‌باشند [۲۷۸، ۲۷۹]. گلیکوزیلاسیون پتیدهای دارای فعالیت M^B در موقعیت‌های ۲، ۳ یا ۴ این فعالیت را از بین می‌برد [۲۷۸]. دو نوع آنتی- M^B مونوکلونال موشی تولید شده‌اند [۲۸۰]: در مورد یکی از آنها اپیتپ، وابسته به $Glu5$ (اما نه به $Asn4$) می‌باشد و در مورد دیگری $Leu1$ و $Asn4$ اساسی ترین اجزای اپیتپ می‌باشند. جود و همکاران^۲ [۷۱] پی بردند که یکی از شش آنتی‌بادی M^B با یک آنتی‌ژن وابسته به اسید سیالیک واکنش می‌دهد. شاید این آنتی‌بادی شاخصی را بر روی شکل کمیاب گلیکوزیده $GPAM^B$ شناسایی می‌نماید [۳۴]. واریانی از M^B که در آن گلبول‌ها فقط با دو نمونه از شش آنتی‌بادی M^B واکنش می‌دادند، دارای توالی اسید آمینه‌ای انتهای آمینی مشابه $GPAM^B$ طبیعی بود اما ۷۵٪ این مولکول‌های تغییر یافته $GPAM^B$ در محل ریشه‌های ۳ و ۲ گلیکوزیده بودند [۲۸۱].

تقریباً نیمی از آنتی- M های مونوکلونال آزمایش شده، با گلبول‌های افراد M^g/N یا M^g/M^g واکنش دادند و روی ایمونوبلات به GPA با وزن مولکولی کم (مشخصه M^B) پیوند یافتند [۴۸] و ۱۷۶، ۲۸۴-۲۸۲]. آنتی- M مونوکلونال که گلبول‌های قرمز $M-M^{B+}$ را آگلوتینه می‌کند اپیتپی را شناسایی می‌نماید که وابسته به $Met8$ و $Val6$ در گلیکوفورین A دی گلیکوزیده می‌باشد (همانطوریکه در $GPAM^B$ وجود دارد)، اما در صورتی که GPA بطور طبیعی گلیکوزیده شده باشد نیز نیازمند وجود

1 - Furthmayer et al.

2 - Judd et al.

Gly5 می‌باشد [۲۸۵]. آنتی-N مونوکلونال ممکن است گلبول‌های قرمز افراد M^g/M یا M^g/M^g را آگلوتینه نماید [۴۸ و ۲۳۹]. ولی روی ایمونوبلات‌ها به GPB، اما نه به GPAM^B، پیوند یابد [۲۸۶]. آنتی- M^B مونوکلونال یا پلی کلونال در مجاورت با گلبول‌های قرمز M^B+ روی ایمونوبلات فقط مولکول GPA با وزن مولکولی کم (GPAM^B) را آشکار سازی نمود [۲۸۴، ۲۳۹]. گلبول‌های قرمز M^B+ با آنتی- DANE (MNS32) و با آنتی- Mur اصلی (Murrel) واکنش دادند، اما با دیگر چهارده نمونه آنتی- Mur (Murrel) واکنشی نشان ندادند [۲۸۴]. آزمایشات ایمونوبلات نشان داد که آنتی- Mur اصلی (Murrel) به GPAM^B پیوند می‌یابد. یک توضیح احتمالی این واکنش‌ها در بخش ۳-۱۴-۲ ارائه شده است.

۳-۱-۸-۱ آنتی- M^g

M^B فوق العاده نادر است با این حال احتمال می‌رود که آنتی- M^B شایع‌ترین آنتی‌بادی MNS باشد [۱۸]. به دنبال چهار سری تحقیق جداگانه بر روی آنتی- M^B موجود در سرم افراد طبیعی، فراوانی‌های ذیل بدست آمدند: چهار مورد از ۵۰۰ سرم (۰/۸٪) در ایالات متحده آمریکا [۲۲۴]، ۲۳ مورد از ۷۰۳ سرم (۳/۳٪) [۱۸] و ۶ مورد از ۳۴۰ سرم (۱/۸٪) [۱۵۳] در انگلستان، ۱۲ مورد از ۱۶۱۴ سرم (۰/۷٪) در هندوستان [۲۳۸].

داهر و همکاران^۱ [۲۷۶ و ۲۷۹] به منظور توضیح فراوانی بالای آنتی- M^B چنین فرض کردند که افراد ممکن است در طی تخریب طبیعی گلبول‌های قرمز به واسطه حذف کربوهیدرات از گلیکوفورین طبیعی، در معرض ساختارهای شبیه M^B قرار گیرند. آنتی- M^B در ۱۷/۶٪ سرم‌های افراد لیسای به سطح بالای عفونت انگلی نسبت داده شد [۲۸۷]. آنتی- M^B در خرگوش‌ها [۲۸۸] و نیز بصورت آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موشی [۲۸۰] تولید شده است.

۳-۲-۸-۱ M^c (MNS8)

M^c ، علی‌رغم اینکه دارای یک شماره ISBT مربوط به آنتی‌ژن‌های گلبول قرمز می‌باشد اما نمی‌تواند با قطعیت بعنوان یک آنتی‌ژن گروه خونی تلقی شود زیرا هیچ نوع آنتی- M^c وجود ندارد. M^c غالباً به عنوان یک آنتی‌ژن حد واسطه بین M و N مد نظر می‌باشد. M^c ، یک آلل نادر از M و N که از سوی دانسفورد و همکاران^۲ [۲۸۹] در یک خانواده انگلیسی شناسایی گردید، شاخصی را ایجاد می‌نماید که با اکثریت نمونه‌های آنتی- M ، که توسط گلبول‌های قرمز عضو N/M^c خانواده اثبات شد، و با اقلیت نمونه‌های آنتی- N خرگوشی، که توسط گلبول‌های قرمز دوعضو M/M^c خانواده اثبات گردید،

1 - Dahr et al.

2 - Dunsford et al.

جدول ۳-۹. بروز آنتی‌ژن‌های باشیوع کم مرتبط با MNS (به ترتیب شماره ISBT).

Antigen	Population	No. tested	No. positive	Antigen frequency (%)	References
He (MNS6)	African Americans	6 997	207	2.958	[24,228-230]
	West Africans	1 428	38	2.661	[231]
	Congolese	70	10	14.286	[230]
	South African Bantu	4 000	247	6.175	[232]
	Pygmy Bush people	428	32	7.477	[233]
	African Bushmen	188	4	2.128	[234]
	Hottentots	201	21	10.448	[234]
	Papuans	33	3	9.091	[235]
	Europeans	1 500	0		[231]
	White New Yorkers	500	4	0.800	[24]
	White South Africans	1 000	0		[232]
Vw (MNS9)	White people	52 635	30	0.057	[18]
	Grisons, SE Switzerland	1 541	22	1.428	[18]
	Thais	2 500	1	0.040	[236]
Mur (MNS10)	Thais	2 500	1	9.640	[236]
	Minnan Chinese (Taiwan)	400	18	4.500	[237]
	Hakka Chinese (Taiwan)	100	3	3.000	[237]
	Ami Taiwanese	138	122	88.406	[237]
	Bunun Taiwanese	100	0		[237]
	White people	50 101	6	0.012	[18]
M ^a (MNS11)	Boston, USA	44 000	0		[225]
	English	61 128	0		[225]
	Swiss	6 530	10	0.153	[225,226]
	Sicilians (in Belgium)	1 889	3	0.159	[227]
	Italians (in Belgium, non-Sicilians)	4 408	1	0.023	[227]
	Belgians	36 683	0		[227]
	Bombay	9 000	2	0.022	[238]
	African Americans	4 254	0		[239]
Vr (MNS12)	Dutch	1 200	3	0.250	[240]
Mt ^a (MNS14)	White Americans	11 907	28	0.235	[241]
	Swiss (Zürich)	1 435	5	0.348	[18]
	Irish	1 000	0		[242]
	African Americans	1 007	1	0.099	[241]
	Thais	318	3	0.943	[243]
St ^a (MNS15)	Chinese	490	8	1.633	[244,245]
	Japanese	220	14	6.364	[245]
	English	17 013	20	0.118	[246]
Ri ^a (MNS16)	Londoners	70 501	1	0.001	[246,247]
Cl ^a (MNS17)	Europeans	12 541	0		[18,248]
Ny ^a (MNS18)	Norwegians	9 687	18	0.186	[249-251]
	Swiss	9 395	1	0.010	[18]
	Germans	20 000	0		[252]
	Americans	7 400	0		[253]
	African Americans	350	0		[254]
	Japanese	3 281	0		[254]
	Chinese	1 032	0		[254]

ادامه جدول ۳-۹:

Antigen	Population	No. tested	No. positive	Antigen frequency (%)	References
Hut (MNS19)	White people	32 591	21	0.064	[18]
	Thais	2500	1	0.040	[236]
M ^s (MNS21)	English	2 372	14	0.590	[255]
Far (MNS22)	Europeans	15 373	0		[256,257]
s ^D (MNS23)	White South Africans	1 000	1*	0.100	[258]
	Black South Africans	1 000	0		[258]
	Indian South Africans	500	0		[258]
	'Coloured' South Africans	1 000	1	0.100	[258]
Mit (MNS24)	Canadians	3 311	4	0.121	[259]
	North Londoners	8 278	7	0.085	[260]
	Africans	662	0		[259]
	African East Indians	500	0		[259]
	Manitoba Cree	555	0		[259]
Dantu (MNS25)	African Americans	3 200	16	0.500	[261]
	N London (mostly white)	44 112	1†	0.002	[262]
Hop (MNS26)	Thais	2 500	17	0.680	[236]
Nob (MNS27)	English	4 929	3	0.061	[263]
	Mixed race Americans	1 766	0		[264]
Or (MNS31)	English	887	0		[265]
	African Americans	163	1	0.613	[265]
	Japanese	17 200	2	0.012	[266]
DANE (MNS32)	Danes	467‡	2	0.428	[267]
SAT (MNS36)	Japanese	10 480	1	0.010	[268]
Os ^s (MNS38)	Japanese	50 000	0		[269]

* Member of original family [258].

† Black/Indian/English/French donor from Mauritius.

‡ Trypsin-treated cells screened with anti-M.

واکنش می‌دهد. چندین مورد دیگر M^c نیز گزارش شده‌اند که جملگی در افراد اروپائی الاصل مشاهده شده‌اند [۱۸ و ۲۹۰]. M^c بصورت M^cS و M^cs وجود دارد [۱۸، ۲۸۹ و ۲۹۰]. بخاطر اینکه آنتی-M^c موجودیت ندارد اطلاعات بسیار کمی در خصوص فراوانی M^c وجود دارد. متاکساس و همکاران^۱ [۲۹۰]، گلبول‌های قرمز ۳۸۹۵ سوئسی را با معرف‌های آنتی-M⁻ و آنتی-N⁻، با هدف شناسایی واریان‌های MN، مورد غربالگری قرار دادند و به یک نفر M^c/M دست یافتند.

رفتار سرولوژیک گلبول‌های M^c در سال ۱۹۸۱ هنگامی که توالی اسید آمینه‌ای انتهای آمینی GPAM^g تعیین گردید توضیح داده شد [۲۷۵ و ۲۹۱]. در موقعیت ۱، سرین قرار گرفته که مشخصه M و در موقعیت ۵، اسیدگلوتامیک واقع شده است که مشخصه N می‌باشد (جدول ۳-۷). ریشه‌های

1 - Metaxas *et al.*

۳،۲ و ۴ دارای گلیکوزیلاسیون طبیعی می‌باشند. اگر M^c حاکی از یک ارتباط تکاملی بین M و N باشد، نادر بودن M^c حاکی از این است که احتمالاً نسبت به M و N فاقد ارجحیت بوده است. واکنش اکثر نمونه‌های آنتی- M و اقلیت نمونه‌های آنتی- N با گلبول‌های M^c نشان می‌دهد که اسید آمینه انتهای آمینی است که توسط آنتی بادی‌ها شناسایی می‌شود، اگر چه برای بعضی نمونه‌های این آنتی‌بادی‌ها، ریشه موجود در موقعیت ۵ اهمیت دارد. این نه تنها شامل معرف‌های پلی کلونال انسانی و خرگوشی بلکه همچنین آنتی‌بادی‌های مونوکلونال نیز می‌شود. [۲۸۲، ۱۷۶، ۴۸، ۲۹۲].

۳-۸-۳ He (MNS6) و M^c (MNS13).

۳-۸-۳-۱ He

آنتی- He اولیه توسط ایکین و مورانت^۱ [۲۹۳] در سرم یک خرگوش که حاوی آنتی- M بود شناسایی گردید. نمونه دیگر آن از طریق مصون سازی یک خرگوش با گلبول‌های قرمز He^+ (گلبول‌های قرمز آقای Henshaw که نام این آنتی‌ژن از اسم ایشان مشتق شد) بدست آمد [۲۳۱]. از آن زمان به بعد نمونه‌هایی از آلو آنتی- He شناسایی شده اند [۲۹۴، ۱۸، ۲۹۵]. آنتی- He های مونوکلونال از طریق مصون سازی موش‌ها با گلبول‌های قرمز He^+ نیز تولید شده‌اند [۸۷ و ۲۲۸].

آنتی‌ژن He در حدود ۳٪ آمریکایی‌های آفریقائی تبار و در جمعیت‌های متنوع آفریقائی با یک میزان بروز مشابه یا بالاتر مشاهده میشود (جدول ۳-۹). He در افراد سفید پوست بسیار نادر است، هیچ موردی از آن در میان ۱۵۰۰ اروپائی [۲۳۱] یا ۱۰۰۰ سفید پوست آفریقائی جنوبی [۲۳۲] یافت نشد، اما در میان ۵۰۰ سفید پوست اهل نیویورک چهار مورد He^+ شناسایی گردید [۲۴]. آنتی‌ژن He ممکن است در ارتباط با MS ، Ms ، NS و یا Ns ، به ویژه در ارتباط با NS در سیاهپوستان اهل نیویورک [۲۲۹] و آفریقائی غربی [۲۳۱]، با MS در کنگوئی‌ها [۲۳۵] و با Ns در گینه ای‌ها [۲۳۵] باشد.

جود و همکاران^۲ [۲۹۶] اعلام نمودند که یک زن He^+ که آنتی- N قوی ساخته بود و گلبول‌های قرمزش کاملاً فاقد آنتی‌ژن N (و نیز آنتی‌ژن ' N ' مرتبط با GPB) بودند، ژنوتیپ $MsHe/Mu$ داشت. کمپلکس ژنی که He را رمز دهی می نمود هیچ آنتی‌ژن ' N ' تولید نمی‌کرد، حاکی از اینکه He روی GPB واقع شده است. تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی GPB گلبول‌های قرمز He^+ ارتباط این دو را تأیید و عدم وجود ' N ' را نیز توضیح داد. سه تا از پنج اسید آمینه انتهای آمینی $GPBHe$ با این تعداد در GPB طبیعی با فعالیت N تفاوت دارند:

در موقعیت ۱ تریپتوفان به جای لوسین، در موقعیت ۴ سرین به جای ترئونین و در موقعیت ۵ گلايسین به جای اسید گلوتامیک قرار می گیرند [۹۷]. گلیکوزیلاسیون این منطقه بدون تغییر می ماند

1 - Ikin and Mourant

2 - Judd et al.

چرا که ریشه سیرینی در موقعیت ۴ GPBHe، O-گلیکوزیله می‌باشد (جدول ۳-۷). با استفاده از آزمایش ایمنوبلات در حضور آنتی-He موشی و انسانی موقعیت He روی GPB مورد تأیید واقع شد [۲۲۸ و ۲۹۸]. همانطوری که از یک شاخص روی GPB انتظار می‌رود، He به تأثیر تریپسین روی گلبول‌های قرمز مقاوم است، اما در برابر کیموتریپسین تضعیف یا تخریب می‌گردد [۲۷۳، ۲۹۶ و ۲۹۷]. لزوم وجود اسید سیالیک نیز متغیر می‌باشد [۷۱ و ۲۹۷].

تجزیه و تحلیل DNA نشان داده است که He مرتبط با GYPB می‌باشد که در آن قطعه کوچکی شامل بخشی از اگزون B2 و اینترون B2 توسط قطعه ای هومولوگ از GYPA جایگزین شده است [۲۹۸]. هوانگ و همکاران^۱ [۲۹۸] اظهار می‌دارند که یک پدیده تبدیل ژنی مسئول ایجاد این ژن $GYP(B-A-B)$ بوده است (به بخش ۳-۱۰ مراجعه شود). تعدادی از تغییرات نوکلئوتیدی بدون الگو در طول تبدیل ژنی اتفاق افتاده‌اند که بعضی از آنها توالی اسید آمینه‌ای ویژه آنتی ژن He را ایجاد نموده‌اند. گلیکوفورین‌های دارای فعالیت He توسط چندین ژن هیبرید دیگر نیز تولید می‌شوند (شکل ۳-۹) که در جایی دیگر در این فصل مورد بحث قرار می‌گیرند: $GYP(B-A-B) He(P_2)$ (بخش ۳-۷-۴)، $GYP(B-A-B) He(GL)$ (بخش ۳-۱۲-۲) و $GYP(B-A-B-A) Cal$ (بخش ۳-۱۵-۵).

مطالعات سرولوژیک و ایمنوشیمیایی با استفاده از آنتی-He مونوکلونال، یک نوسان قابل توجه در قدرت آنتی ژن He را ظاهر ساخت [۱۹۷ و ۲۲۸]. رید و همکاران^۲ [۱۹۷] شدت بیان He را به صورت قوی (He^s)، متوسط (He^{mod}) و ضعیف (He^w) تقسیم بندی نمودند. He^s با فنوتیپ‌های $S/s+U+$ ، He^w با فنوتیپ‌های $S-s$ و He^{mod} با هر دو فنوتیپ $S/s+$ یا $S-s$ ، در ارتباط می‌باشند (به بخش ۳-۷ مراجعه شود). He^w فقط با آنتی-He خرگوشی و مونوکلونال رقیق نشده واکنش سرولوژیک داد، اما با آنتی-He انسانی واکنشی نداشت. ۹۰٪ نمونه‌های گلبول قرمز $S-s$ که با آنتی-GPB/U واکنش دادند، دارای توالی نوکلئوتیدی خاص He بودند [۲۰۳].

از میان ۳۸ اهدا کننده آفریقائی الاصل، که همگی آنتی ژن He طبیعی (قوی) داشتند، ۳۵ نفر (۹۲٪) از آنها $S+$ بودند [۲۲۸]. همانطوری که انتظار می‌رود حدود ۳۰٪ کل جمعیت انسانی $S+$ می‌باشند. ژن $GYP(B-A-B)$ که He را رمزدهی می‌نماید، معمولاً آنتی ژن S را تولید می‌کند.

1 - Huang et al.

2 - Reid et al.

M^e ۲-۳-۸-۳

وینر و روزنفیلد^۱ [۲۹۹] نوعی آنتی-M خرگوشی را توصیف نمودند که به نحو غیر منتظره‌ای با گلبول‌های قرمز $M-N+He+$ واکنش می‌داد. فعالیت آنتی-M و آنتی-He، قابل تفکیک با آزمایشات جذب و جداسازی نبوده و شاخص مشترک بین M و M^e, He نامیده شد.

۲۰ سال بعد اولین آنتی-M^e انسانی کشف شد [۲۹۵]. در حینی که آنتی-M^e خرگوشی ترجیحاً با آنتی ژن M واکنش می‌داد، نوع انسانی آن بطور یکسان با گلبول‌های $M+He-$ و $M-He+$ واکنش قوی داشت. مشخص شد که آنتی-M^e در نه مورد از چهارده سرم آنتی-M از اهداکنندگان خون اسرائیلی $M-N+$ [۳۰۰] وجود دارد و پنج مورد از نه آنتی-M مونوکلونال دارای فعالیت آنتی-M^e بودند [۳۰۱]. واکنش دهندگی آنتی-M^e با گلبول‌های $M+He-$ ، نسبت به تریپسین حساس و با گلبول‌های $M-He+$ ، نسبت به آن مقاوم می‌باشد [۳۰۰]. در ایمونوبلات‌ها، آنتی-M^e مونوکلونال، GPA روی غشاءهای $M+He+$ ، GPB روی غشاءهای $M-He+$ و هر دوی GPA و GPB روی غشاءهای $M+He-$ را رنگ آمیزی می‌نماید.

وجود آنتی-M^e تعجب برانگیز نیست. آنتی-Mهایی که متکی به حضور لوسین انتهایی می‌باشند با یک شاخص He سطح GPB واکنش نخواهند داد، اما انواعی که گلیسین در موقعیت ۵ GPA را شناسایی می‌نمایند انتظار می‌رود که با GPA^M و GPBHe واکنش دهند (جدول ۳-۷).

۳-۹ سری میلتنبرگر (Miltenberger)

میلتنبرگر مجموعه ای متشکل از فنوتیپ‌های نسبتاً نادر مرتبط با سیستم MNS می‌باشد که به واسطه ویژگی‌های هم پوشان تعدادی از آلوانتی‌ژن‌های باشیوع کم، در ارتباط با همدیگر می‌باشند. خصوصیتی که یک فنوتیپ واریان MNS را درون سری میلتنبرگر می‌گنجاند، نه اینکه صرفاً به عنوان یکی از چندین فنوتیپ واریان MNS تلقی گردد، مطلقاً سرولوژیک هستند و بعضی از ارتباطات سرولوژیک بین این دسته‌ها بسیار ضعیف و غیر قطعی می‌باشد. دیگر امکان توسعه سری میلتنبرگر جهت پذیرش فنوتیپ‌های جدید، یا ادغام بعضی از فنوتیپ‌های واریان MNS همچون M^B ، که بر اساس یافته‌های سرولوژیک کاندیدای ورود به این سری می‌باشد، وجود ندارد. گرچه امروزه طبقه بندی میلتنبرگر منسوخ شده است، اما به خاطر اینکه سالیان متمادی در مقالات ظاهر شده و همچنان نیز بدین منوال پیش می‌رود، در اینجا بدان اشاره می‌شود. در متن زیر تاریخچه مختصری از سری میلتنبرگر و به دنبال آن یک طرح انتخابی علامت گذاری که توسط تیپت و همکاران^۲ [۳۰۲] پیشنهاد شده است، ارائه می‌گردد. این طرح با هدف پوشش دهی به کلیه فنوتیپ‌های واریان MNS ترسیم شده است. دسته‌های

1 - Wiener and Rosenfield

2 - Tippett et al.

میلتنبرگر به همراه اصطلاحات و علائم جدید در جدول ۳-۱۰ فهرست شده‌اند. داهر^۱ [۳۰۷] در مقاله خود با مطرح کردن یک نقطه نظر جدید اظهار می‌دارد که سیستم میلتنبرگر باید توسعه یافته تا پذیرای یافته‌های جدید باشد.

کلقرن^۲ [۳۰۸] در سال ۱۹۶۶ سری میلتنبرگر را ارائه نمود با سعی بر اینکه به الگوی پیچیده واکنش چندین آنتی‌بادی متفاوت با آنتی‌ژن‌های دارای شیوع کم، یک نظم خاص ببخشد. این آنتی‌بادی‌ها در چهار دسته سرم تعیین نوع قرار گرفتند:

۱- Verweyst (Vw)، که Graydon (Gr) نیز نامیده می‌شد [۳۰۹، ۳۰۵]

۲- میلتنبرگر (Mi^a) [۳۱۰]

۳- Murrel (Mur) [۳۱۱]

۴- Hill (Hil) [۱۸]

این چهار سرم تعیین نوع، چهار فنوتیپ را تعریف نمودند:

دسته I که در آن گلبول‌ها Mi(a+) و Vw+ بودند

دسته II که ابتدائاً [۳۱۳، ۳۱۲] Vw- Mi(a+) بودند و بعداً مشخص شد که با آنتی-Hut نیز واکنش می‌دهند [۳۱۳، ۳۰۸].

دسته III : Mi(a+)، Mur+، Hil+، Hut+

دسته IV : Mi(a+)، Mur+، Hut+

ارتباط اولیه با سیستم MNS، منشأ گرفته از این مشاهده بود که Vw ظاهراً به همراه MNS به ارث می‌رسد [۳۱۴]. کلقرن [۳۰۸] سرم تعیین نوعی را که با گلبول‌های قرمز هر چهار دسته فوق واکنش می‌داد سری میلتنبرگر نامید. از آن زمان به بعد شش دسته دیگر اضافه شده‌اند (جدول ۳-۱۰). مفهوم اولیه آنتی-Hut تغییر یافته است. گایلز^۳ [۳۰۴، ۲۷۳] پیشنهاد نموده است که Hut ویژه دسته II باشد. واکنش اولیه با گلبول‌های دیگر دسته‌ها ناشی از مخلوط آنتی-Hut و آنتی-Mur بوده است. از آنجایی که این دو ویژگی همیشه قابل تفکیک نیستند، تعریف اصلاح شده گایلز از آنتی-Hut (اختصاصی برای گلبول‌های دسته II) در جدول ۳-۱۰ به کار رفته است و اصطلاح آنتی-MUT برای ترکیب آنتی-Hut+Mur که در ابتدا از سوی کلقرن [۳۰۸] آنتی-Hut نامیده شده بود، مورد استفاده قرار گرفته است.

1 - Dahr

2 - Cleghorn

3 - Giles

در سال ۱۹۷۰ یک دسته پنجم به این سری اضافه شد [۲۵۵]. گلبول‌های Mi.V با هیچکدام از آنتی‌بادی‌های موجود در سرم‌های ویژه تعیین نوع میلتنبرگر واکنش ندادند اما در این سری گنجانده شدند زیرا، همچون گلبول‌های M.III، با آنتی-Hil واکنش دادند.

میلتنبرگر با اضافه شدن سه دسته دیگر: Mi.VI، Mi.VII و Mi.VIII [۳۱۶،۳۱۵،۲۷۳] متعاقب شناسایی سه سرم تعیین نوع دیگر، Anek، Raddon و Lane [۳۰۴،۲۶۳]، حتی پیچیده تر هم شد. گایلز [۲۷۳] اظهار نمود که میلتنبرگر را می‌توان با در نظر گرفتن شاخص‌ها (نه سرم‌های ویژه تعیین نوع) و با کنار گذاشتن واکنش‌های ضعیف در اثر واکنش متقاطع، ساده تر نمود. سرم Anek، که Mi. III را به آنتی-Hop گرفت. سرم‌های تعیین نوع Raddon و Lane، آنتی-Nob نامیده شدند. گلبول‌های Mi.VII با آنتی-Nob، اما نه با آنتی-Hop، واکنش می‌دهند. گلبول‌های Mi.VIII هم با آنتی-Hop و هم با آنتی-Nob واکنش می‌دهند [جدول ۳-۱۰]. حتی این توضیح و تفسیر، یک ساده سازی قابل توجه موضوع است، پاره‌ای از دیگر پیچیدگی‌های ویژگی Nob Hop، از سوی تپت و همکاران^۱ [۳۰۲] توصیف شده‌اند.

دسته IX میلتنبرگر توسط اسکوو و همکاران^۲ [۲۶۷] در سال ۱۹۹۱ معرفی گردید و این زمانی بود که آنها به چهار فرد مورد مطالعه دارای گلبول‌های Mur+ دست یافتند که با آنتی-DANE (یک آنتی‌بادی اختصاصی جدید برای Mi.IX) نیز واکنش می‌دادند. گلبول‌های Mi.IX، علی‌رغم Mur+ بودن، - MUT هستند. Mi.X، که در سال ۱۹۹۲ اضافه شد، به واسطه دارا بودن گلبول‌هایی که Hil+ و Mur+ و در این حال - Mur و - Hut هستند، معرفی می‌گردد [۳۱۷]. M.XI [۳۰۷] برای فنوتیپ‌های دو فرد مورد مطالعه، JR و JL، بر اساس واکنش گلبول‌های قرمزشان با آنتی-TSEN و آنتی-MINY، اضافه گردید [۳۱۸ و ۳۷۸].

سیستم علامت گذاری پیشنهاد شده توسط تپت و همکاران^۳ [۳۰۲]، دسته‌های میلتنبرگر را با یک علامت که متشکل از GP (گلیکوفورین)، یک نقطه و سپس نام خلاصه شده اولین فرد مورد مطالعه (به استثناء Mi.V که در مورد آن نام خانوادگی Hil به کار می‌رود) جایگزین می‌نماید. به عنوان مثال، در مورد Mi.III، Mur اسم کوتاه شده اولین فرد مورد مطالعه است، GP.Mur فنوتیپ، GP(B-A-B)Mur گلیکوفورین واریان، و GYP(B-A-B) Mur ژنی است که آن را تولید می‌نماید. این علائم و نشان‌ها برای دیگر فنوتیپ‌های غیرطبیعی MNS نیز قابل استفاده هستند و لذا نگرش زیر سیستم میلتنبرگر را منسوخ می‌سازد. اصطلاحات جدید برای بقیه این فصل استفاده خواهند شد و

1 - Tippett et al.

2 - Skov et al.

3 - Tippett et al.

« فنوتیپ‌های میلتنبرگر» با شرح و تفصیلات بیشتر مطابق با اساس بیوشیمی اشان، در قسمت‌های متعدد توصیف خواهند شد. به منظور راحت بودن خوانندگانی که به دسته‌های میلتنبرگر بیشتر خو گرفته‌اند، این‌ها درون پرانتز () در فواصل منظم ارائه خواهند شد.

جدول ۳-۱۰. تعریف سرولوژیکی فنوتیپ‌های میلتنبرگر و یک سیستم نام گذاری جایگزین که از سوی تپت و همکاران [۳۰۲] پیشنهاد گردید (و اندکی اصلاح شده است [۳۰۳]).

Mi class	New notation	Antigens										
		Mi ^a	Vw	Mur	Hil	Hut*	MUT†	Hop	Nob	DANE	TSEN	MINY
I	GP.Vw	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	GP.Hut	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
III	GP.Mur	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+
IV	GP.Hop	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+
V	GP.Hil	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
VI	GP.Bun	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+
VII	GP.Nob	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
VIII	GP.Joh	-	-	-	-	-	-	+	-	-	NT	-
IX	GP.Dane	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
X	GP.HF‡	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+
XI	GP.JL	-	-	-	-	-	NT	-	-	-	+	+

* As defined by Giles *et al.* [273,304].

† Originally called Hut [18,305,306].

‡ GP.HF previously named GP.Mor [302].

NT, not tested.

۳-۱۰ گلیکوفورین‌های هیبرید و آنتی‌ژن‌های باشیوع کم مرتبط با آنها

در سال ۱۹۷۹، آنستی و همکاران^۱ [۲۱۸] به منظور ارائه توضیحی بر خصوصیات سرولوژیک و بیوشیمیایی غیر معمول گلبول‌های قرمز فنوتیپ GP.Hil(Mi.V) به مطالعه هموگلوبین روی آوردند. مدلی که در شکل ۳-۱۰ ترسیم شده پیش بینی می‌کند که جور شدن نادرست بین *GYPB* و *GYPB* و به دنبال آن کراسینگ اور نابرابر، منجر به تولید دو هاپلوتیپ جدید می‌گردد. در یکی از آنها، بخشی از *GYPB* و *GYPB* حذف می‌شود و به دنبال آن یک ژن الحاقی جدید ایجاد می‌گردد که یک مولکول هیبرید GP(A-B) را تولید می‌کند که متشکل از منطقه انتهایی آمینی *GPA* و منطقه انتهایی کربوکسیلی *GPB* می‌باشد. این غالباً نوع لپور (Lepore) گلیکوفورین هیبرید نامیده می‌شود، مشابه واریان نادر هموگلوبین لپور که در آن زنجیره غیر آلفا، یک هیبرید است که بخشی از آن را زنجیره دلتا و بخشی دیگر زنجیره بتا تشکیل می‌دهند [۳۱۹]. در هاپلوتیپ متضاد (آنتی- لپور)، که طی همان رویداد ایجاد می‌گردد، نه تنها ژنی هیبرید به وجود می‌آید که یک گلیکوپروتئین GP(B-A) را که متشکل از انتهای

1 - Anstee *et al.*

آمینی GPB و انتهای کربوکسیلی GPA است تولید می‌نماید، بلکه همچنین GYPA و GYPB طبیعی در مجاورت ژن هیبرید وجود دارند.

امروزه شواهدی اساسی وجود دارند که نظریهٔ آنستی و همکاران [۲۱۸] را تأیید می‌نماید. هیبریدهای نوع لپور ممکن است فنوتیپ‌های غیر طبیعی MNS را که نه تنها با GP.Hil بلکه با چندین واریان دیگر از جمله En(UK) و GP.Sat نیز در ارتباط می‌باشند، توضیح دهد. هاپلوتیپ‌های آنتی- لپور مسئول فنوتیپ‌های غیر طبیعی مرتبط با بیان ژن‌های Dantu و St^a می‌باشند. این احتمال وجود دارد که جور شدن نادرست کروموزومی، که GYPA و GYPB را درگیر می‌کند، به واسطهٔ وجود مناطق مشابه بین این ژن‌ها اتفاق افتد. ایترون سوم GYPA و ایترون همولوگ آن در GYPB ظاهراً «نقاط داغ» جهت نوترکیبی هستند (مروری از آن در [۳۶، ۳۲۰]).

هیبریدهای پیچیده تر GP(B-A-B) و GP(A-B-A) نیز وجود دارند. اولی یک مولکول GPB است که درون آن یک مولکول کوچک GPA وارد شده و دومی یک مولکول GPA است که یک مولکول کوچک GPB به درون آن وارد شده است. احتمال بروز دو پدیدهٔ کراسینگ اور در چنین فاصلهٔ نزدیکی ضعیف است، لذا تبدیل ژنی توضیح محتمل تری در مورد این گلیکوفورین‌های غیر طبیعی است [۳۶]. مکانیسم پدیده تبدیل ژنی کاملاً درک نشده است، اما در واقع یک تبادل دو طرفه ماده ژنتیکی از یک ژن همولوگ به ژن دیگری است که منجر به ایجاد قطعه ای کوچک از یک ژن می‌شود که توسط قطعه همسان از همولوگ خود جایگزین می‌گردد. یک مدل تبدیل ژنی در شکل ۳-۱۱ ترسیم شده است. در بعضی موارد دخول یک توالی هماهنگ^۲ عملکردی جایگاه برش^۳ از GYPA به درون GYPB منجر به بیان اگزون کاذب GYPB شده است [۳۶].

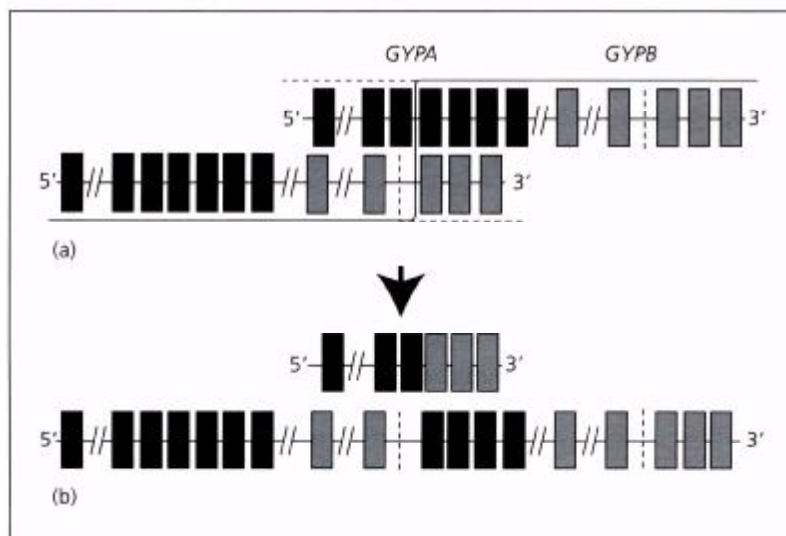
ایجاد توالی‌های اسید آمینه‌ای جدید به واسطه تولید گلیکوفورین‌های هیبرید، غالباً منجر به بروز آنتی‌ژن‌های باشیوع کم می‌گردد. بعضی از این توالی‌های اسید آمینه‌ای و شاخص‌های آنتی‌ژنیک مرتبط با آنها ممکن است با بیش از یک مکانیسم ژنتیکی ظهور یابند. مولکول‌های گلیکوفورین هیبریدی متعدد و آنتی‌ژن‌های باشیوع کم مرتبطشان در بخش‌های ۳-۱۱ تا ۳-۱۵ توصیف خواهند شد.

شکل ۳-۹ فنوتیپ‌های نادر ناشی از گلیکوفورین‌های هیبرید، هاپلوتیپ‌های مولد آنها و یک نمایش دیاگرامی از گلیکوفورین‌های هیبرید را نشان می‌دهد. غالب اوقات تعیین دقیق موقعیت نقاط نوترکیبی امکان پذیر نمی‌باشد. در شکل ۳-۹ کوچکترین قطعه ممکن دخول یافته، فرض شده است.

1 - Hot Spots

2 - consensus

3 - splice site



شکل ۳-۱۰. مدل فوق تکامل ژن‌های هیبرید در برگرنده *GYPA* و *GYPB* به واسطه جور شدن نادرست کروموزمی و کراسینگ اور نابرابر را به نمایش می‌گذارد (a) - دو ژن هومولوگ در مرحله میوز به طرز غلط با هم جور می‌شوند و کراسینگ اور بین ژنی اتفاق می‌افتد (b) - نتیجه: یک هاپلوتیپ حاوی ژن الحاقی *GYP(A-B)* است و هاپلوتیپ دیگر حاوی یک ژن الحاقی *GYP(B-A)* و در طرفین آنها *GYPA* و *GYPB* طبیعی وجود دارند. این دو ژن هیبرید تولید شده، نمونه بارز ژنهایی هستند که *GP(A-B)HIL* و *GP(B-A)Sch* را رمز دهی می‌نمایند

۳-۱۱ واریان‌های مرتبط با $GP(A-B)$ (نوع لپور)۳-۱۱-۱ $GP.Hil$ (Mi.IV) و آنتی‌ژن Hil (MNS20)

گلوبول‌های قرمز یک فنوتیپ جدید که توسط کراسلند و همکاران^۱ [۲۵۵] شناسایی گردید، با آنتی- Hil (که با گلوبول‌های $GP.Mur$ (Mi.III) نیز واکنش می‌داد) واکنش دادند، اما این واکنش با آنتی- Mur مشاهده نشد (جدول ۳-۱۰). مطالعات خانوادگی نشان داده است که ژن $GP.Hil$ ممکن است توأم با بروز پایین N یا M و بالای S به ارث برسد [۱۴۴، ۱۴۵، ۱۵۹، ۲۵۵ و ۳۲۲].

به واسطه ندرت آنتی- Hil هیچ مطالعه‌ای درخصوص فراوانی این آنتی‌ژن گزارش نشده است. تمامی افراد ثبت شده $GP.Hil$ احتمالاً اصل و نسب اروپایی دارند. از آنجایی که آنستی و همکاران [۲۱۸] اظهار داشتند که گلیکوفورین‌های غیر معمول مرتبط با $GP.Hil$ (Mi.V) حاکی از گلیکوفورین هیبرید نوع لپور می‌باشند، یعنی دیم‌های آن و یا هترویدیم‌های آن با GPA و GPB ، شواهد حمایت‌کننده سرولوژیک و بیوشیمیایی اساسی، از آن پس حاصل شده‌اند [۴۹، ۹۱، ۱۴۴، ۱۴۵، ۱۵۹، ۳۲۳ و ۳۲۴]. این مسئله به واسطه یافتن یک زن اسپانیایی-آمریکایی $M-N+S-S+$ که برای ژن $GP.Hil$ هموزیگوت بود [۱۵۹] و نیز دو فرد هتروزیگوت برای ژن $Gp.Hil$ و M^k [۱۴۴ و ۱۴۵] مرتفع گردید. مطالعات ایمونوشیمی فقط دو ساختار را ظاهر نمودند، هیبرید فرضی (ظاهراً با وزن مولکولی ۴۰۰۰۰) و دیم‌های آن. آنتی‌بادی‌های علیه منطقه انتهای آمینی GPA به این مولکول هیبرید فرضی اتصال یافتند اما آنهایی که علیه منطقه انتهای کربوکسیلی بودند متصل نشدند.

دلیل نهایی مبنی بر اینکه $GP.Hil$ یک مولکول گلیکوفورین هیبرید است از یک تجزیه و تحلیل DNA ژنومیک حاصل گردید [۳۲۵ و ۱۰۳، ۹۷، ۹۱]. $GYP(A-B) Hil$ ، آگزون‌های $A1-A3$ از $GYP A$ که به آگزون‌های $B4-6$ از $GYP A$ و $GYP B$ اتصال یافته‌اند را در بر گرفته است (شکل ۳-۹). نقطه کراسینگ اور درون اینترون سوم $GYP A$ و $GYP B$ واقع شده است [۳۲۵ و ۹۷] لذا ساختمان اولیه پلی پپتیدی که توسط $GYP(A-B)Hil$ کد می‌گردد شامل ریشه‌های اسیدآمینه‌ای ۱ تا ۵۸ از GPA می‌باشد که به ریشه‌های ۲۷ تا ۷۲ از GPB اتصال یافته‌اند.

امروزه این امکان وجود دارد که در مورد بسیاری از خصوصیات سرولوژیک غیرمعمول گلوبول‌های قرمز $GP.Hil$ بویژه آنهایی که مربوط به هموزیگوت‌های $GYP(A-B) Hil$ (و هتروزیگوت‌های دارای M^k) هستند، توضیحات بیشماری ارائه نمائیم.

۱- کاهش بیان M یا N ، عدم وجود ' N ': انتهای آمینی گلیکوفورین هیبرید، M یا N را حمل می‌کند، گرچه ژن، $GP(A-B)$ کمتری از GPA تولید شده توسط یک ژن طبیعی را تولید می‌نماید [۳۲۶ و ۲۱۸، ۹۱]. این آنتی‌ژن‌های M و N به تریسین حساس هستند زیرا در محل اسید آمینه

1 - Crossland et al.

شماره ۳۹ گلیکوفورین A یک جایگاه شکافت ترپسین دست نخورده وجود دارد. هیچ آثاری از 'N' مقاوم به ترپسین نیز وجود ندارد زیرا اصلاً GPB تولید نمی‌شود.

۲- **افزایش بیان**: هیبرید، حاوی Thr29 گلیکوفورین B است که مسئول بیان s می‌باشد گرچه میزان GP(A-B) کمتری از GPA طبیعی وجود دارد، اما اساساً بیشتر از GPB طبیعی است، آنتی‌ژن U نیز تولید می‌شود.

۳- **وجود En^aFS و En^aTS** ، بیان بسیار ضعیف En^aFR ، عدم وجود Wr^b : بخشی از GPA که در ارتباط با شاخص‌های حساس به فیسین و ترپسین می‌باشد درون هیبرید نگهداری شده اما بخشی که در ارتباط با Wr^b و قسمت عمده En^aFR می‌باشد از دست می‌رود. En^aFR فقط با آزمایشات جذب قابل شناسایی است [۱۵۹]. یک زن $GYP(A-B)Hil$ هموزیگوت و زنانی که برای $GYP(A-B)Hil$ و M^k هتروزیگوت بودند نیز شناسایی شدند زیرا آنها آنتی- Wr^b (و یا آنتی- En^aFR) ساخته بودند [۱۴۴، ۱۵۹ و ۱۴۵].

۴- **خصوصیات سرولوژیک در ارتباط با کاهش اسید سیالیک سطح گلبول قرمز [۱۳۱، ۱۴۴ و ۱۵۹]** (در بخش ۳-۶-۱ در مورد $En(a-)$ توضیح داده شده است): گلبول‌های قرمز هموزیگوت‌ها و هتروزیگوت‌های $GYP(A-B)Hil$ ، به ترتیب دارای ۵۳٪ و ۸۰٪ اسید سیالیک طبیعی هستند [۱۴۰ و ۱۵۹].

۵- **آنتی‌ژن Hil** : آنتی‌ژن Hil ، که مقاوم به ترپسین می‌باشد، در محل اتصال GPA و GPB دارای یک توالی اسیدآمینوای منحصر به فرد می‌باشد، اما این فقط در صورتی است که سومین ریشه اسیدآمینوای توالی مشتق از GPB، ترئونین باشد (که این مشخصه s است). جزئیات بیشتر در خصوص آنتی‌ژن Hil در بخش ۳-۱۴-۱ مطرح شده است.

۳-۱۱-۲ هیبریدهای GP(A-B) مرتبط با آنتی‌ژن S

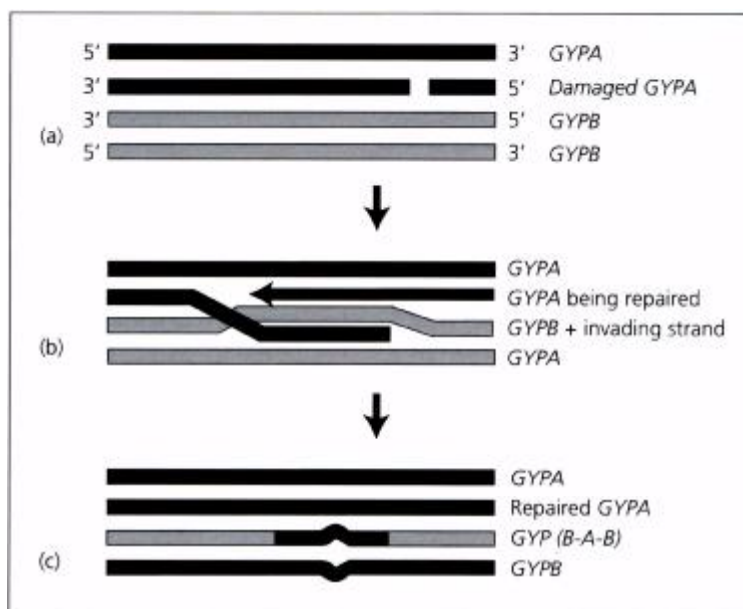
جو و همکاران^۱ [۳۲۷] فردی $M+N+S+s+$ (JL) را که برای Ns و یک ژن مولد گلیکوفورین هیبرید، هتروزیگوت بود، توصیف نمودند. گلبول‌های قرمز $Hil-$ و دارای S غیر معمول بودند، آنها فقط با چهارده مورد از نوزده نمونه آنتی-S واکنش می‌دادند. گلیکوفورین هیبرید مشابه $GP(A-B)Hil$ است بجز اینکه در موقعیت ۶۱ میتونین به جای ترئونین قرار گرفته است (همسان با موقعیت ۲۹ در GPB) که این دلیل وجود فعالیت S است (شکل ۳-۹). تعیین توالی ژنومیک نشان داده است که $GYP(A-B)Hil$ و $GYP(A-B)JL$ در موقعیت جایگاه‌های کراسینگ اور درون اینترون ۳ با هم تفاوت دارند [۳۲۵]. یک توالی غنی از پورین AAAGT، که در هر دو جهت مستقیم و معکوس قرار گرفته بود،

1 - Johe et al.

درون منطقه کراسینگ اور هر دو ژن هیبرید شناسایی شد. یک جایگزینی تک نوکلئوتیدی در اگزون ۴ از $GYP(A-B)Hil$ و $GYP(A-B)L$ که مسئول اختلافات Thr/Met و S/s بود، نشان داد که آلل‌های مختلف $GYPB$ در وقایع نوترکیبی مولد این دو ژن هیبرید، شرکت نموده‌اند [۳۲۵]. GP.JL، Mi.XI نیز نامیده می‌شود [۳۰۷].

دیگر نمونه‌های GP(A-B)JL در مردمان اروپایی الاصل و در چینی‌ها نیز توصیف شده‌اند [۱۶۰، ۱۶۱، ۱۷۰، ۳۱۸، ۳۲۸ و ۳۲۹]. فنوتیپی مشابه در یک زن اسپانیایی-آمریکائی (AG) که ظاهراً برای ژن‌های مولد گلیکوفورین‌های هیبرید GP(A-B) حامل S و M، هموزیگوت بود کشف گردید، اما گلوبول‌های قرمز وی بطور ضعیف Hil+ بودند [۳۳۰]. اکثر افراد مورد مطالعه آنتی- En^a و یا آنتی- Wr^b تولید نموده بودند.

تمامی این هیبریدهای GP(A-B) با فعالیت S، آنتی ژن TSEN را بیان می‌نمایند، در حالی که مولکول GP(A-B)Hil با فعالیت s آن را بروز نمی‌دهد [۳۱۸] (به بخش ۳-۱۴-۱ مراجعه شود).



شکل ۳-۱۱. مدلی برای تبدیل ژنی که در نتیجه آسیب به $GYPB$ ایجاد شده مناطق هومولوگ $GYPB$ و $GYPB$ را در بر می‌گیرد. (a)- هترو دوپلکس $GYPB/GYPB$ ، حاصل جور شدن نادرست کروموزمی، همراه با شکافی در یک رشته $GYPB$. (b)- یک نسخه اضافی از یک رشته $GYPB$ DNA سنتز می‌شود، جایگزین نسخه اولیه می‌گردد، با یک رشته از منطقه هومولوگ $GYPB$ DNA جفت می‌گردد سپس منطقه جفت نشده $GYPB$ تخریب می‌گردد. (c)- نتیجه: یک ژن $GYPB$ حاوی قطعه ای کوتاه از $GYPB$ DNA می‌باشد.

۳-۱۱-۳ SAT (MNS36)

یک آنتی‌ژن جدید با شیوع کم به نام SAT که در دو خانواده ژاپنی یافت شد، در اینجا توصیف می‌گردد زیرا با یک نوع جدید از گلیکوفورین هیبرید لپور در یکی از خانواده‌ها در ارتباط می‌باشد [۲۶۸]. فرد مورد مطالعه دوم SAT+ در نتیجه غربالگری ۱۰۴۸۰ اهدا کننده ژاپنی شناسایی گردید (جدول ۳-۹)، چهار نمونه آنتی-SAT شناسایی شده‌اند.

گلوبول‌های قرمز یکی از افراد مورد مطالعه SAT+ (TK)، که تولید آنتی-Wr^b و یا آنتی-En^a FR- نموده بود، (-) En^aFS+En^aFR-Wr(b-) M-N+S-s-U-En^aTS+En^aFS+En^aFR-Wr(b-) بودند. نتایج SDS-PAGE و ایمونوبلات، در خصوص فرد مورد مطالعه ای که برای ژن مولد هیبرید GP(A-B) هموزیگوت بود، سازگار بودند. تمامی اعضای SAT+ این خانواده دارای یک نوع گلیکوفورین واریان بودند، اما این در مورد اعضای SAT- صادق نبود. GP(A-B)TK، برخلاف دیگر مولکول‌های GP(A-B) توصیف شده، آنتی‌ژن‌های S و U را بیان نمی‌نمود [۲۶۸]. تحلیل cDNA، نشان داد که GP(A-B)TK توسط ژنی که متشکل از اگزون‌های 1-4 از GYPA و B5 و B6 از GYPB بوده و دارای یک نقطه کراسینگ اور درون ایترون ۴ می‌باشد، رمز دهی می‌گردد [۳۳۱] (شکل ۳-۹). این ترتیب و شکل گیری بر عکس چیزی است که در GP(A-B)Dantu مشاهده می‌شود (بخش ۳-۱۵). GP(A-B)TK یک گلیکوپروتئین ۱۰۴ اسید آمینه‌ای با توالی جدید Ser-Glu-Pro-Ala-Pro-Val است که به واسطه اتصال اگزون‌های A4 و A5 ایجاد می‌گردد [۳۳۱]. این توالی اسید آمینه‌ای ممکن است نشانگر آنتی‌ژن SAT باشد.

در تنها خانواده دیگر با اعضای SAT+ نشانه ای از یک مولکول هیبرید وجود نداشت و به نظر می‌رسید که SAT در ارتباط با GPA و GPB طبیعی باشد، بجز اینکه GPA حامل یک آنتی‌ژن بسیار ضعیف M بود [۲۶۸]. اوچیکاوا و همکاران^۱ [۳۳۲] شش فرد مورد مطالعه SAT+ دیگر را در ژاپن پیدا کردند که سه مورد از آنها گلیکوفورین هیبرید GP(A-B) و سه مورد دیگر ظاهراً GPA و GPB طبیعی داشتند. تجزیه و تحلیل GYPA cDNA سه مورد دوم، یک قطعه DNA وارد شده بین اگزون‌های A4 و A5 را آشکار نمود که شامل ۹ نوکلئوتید مشتق از انتهای ۵' اگزون B5 ژن GYPB بود. این یافته یک توالی دخول یافته Ala-Pro-Val را در یک مولکول GPA پیش بینی نمود که توالی اختصاصی SAT: Ser-Glu-Pro-Ala-Pro-Val را به وجود آورده بود.

۳-۱۱-۴ En(UK)

En(UK) یکی از ژن‌های مسئول فنوتیپ غیر طبیعی در افراد مورد مطالعه En(a-) اصلی (MEP) است [۱۱۵] که برای M^k و En(UK) هتروزیگوت می‌باشند [۱۲۵-۱۲۳]. بر خلاف En(Fin) (حذف GYPA، وجود GYPB طبیعی)، En(UK) احتمالاً تولید نوع لپور گلیکوفورین هیبرید می‌کند که وزن مولکولی

1 - Uchikawa et al.

آن مشابه GPB است [۱۲۵]. گلبول‌های $En(a-)$ UK فاقد آنتی‌ژن‌های En^a و Wr^b و شاخص‌های انتهایی کربوکسیلی GPA می‌باشند. آنها دارای یک آنتی‌ژن M مقاوم به تریپسین و فاقد 'N' مقاوم به تریپسین می‌باشند [۱۷، ۶۰، ۱۲۳، ۱۲۵، ۱۲۸ و ۳۲۶]. این گلبول‌ها همچنین آنتی‌ژن S را در سطح بالایی بیان می‌نمایند. احتمال می‌رود که $En(UK)$ ناشی از جور شدن نادرست و کراسینگ اور نابرابر بین یک آلل M از GYPB و یک آلل S از GYPB بوده است و این در حالی است که کراسینگ اور یا درون منطقه هومولوگ کدکننده ۲۶ اسید آمینه اول هر دو مولکول و یا درون اینترون ۱ اتفاق افتاده است. تجزیه و تحلیل مقدماتی DNA فرضیه وجود یک ژن که یک هیبرید GP(A-B) را رمزدهی می‌نماید، حمایت بخشید [۹۶].

غریبالگری گلبول‌های قرمز ۱۳۰۰ نفر بریتانیایی اهدا کننده خون به منظور بررسی کاهش اسید سیالیک با استفاده از تجمع^۱ در حضور پروتئین سولفات، یک اهدا کننده را شناسایی نمود که ظاهراً دارای $En(UK)$ و تولید M مقاوم به تریپسین و S نموده بود [۱۲۹]. دو شخص دارای $En(UK)$ که تولید M و S کرده بودند [۳۳۳]، احتمالاً یک رویداد نوترکیبی جدای از نوترکیبی مسئول $En(UK)$ در دیگر خانواده‌های مورد مطالعه را نشان می‌دادند [۱۱۵ و ۱۲۹]. معرف‌های آنتی-M که وابسته به Ser1 هستند با آنتی‌ژن M تولید شده توسط $En(UK)$ واکنش می‌دادند، حال آنکه انواع متکی به Gly5 واکنشی نشان نمی‌دادند. این یافته حاکی از این است که نوترکیبی اولیه ممکن است بین کدون‌های مربوط به اسیدهای آمینه ۱ و ۵ اتفاق افتاده باشد که تولید مولکولی مشابه GPB (متفاوت با جایگزینی Leu1Ser) نموده است.

۳-۱۲ واریان‌های وابسته به GP(B-A-B)

۳-۱۲-۱ $GP.Mur(Mi.III)$ ، $GP.Hop(Mi.IV)$ ، $GP.Bun(Mi.VI)$ و $GP.HF(Mi.X)$

۳-۱۲-۱-۱ سرولوژی، فراوانی و توارث

$GP.Mur$ و $GP.Bun$ فنوتیپ‌هایی مشابه می‌باشند. گلبول‌های قرمز $Mur+$ ، $MUT+$ ، $Hil+$ و $MINY+$ هستند، از طرفی دیگر گلبول‌های $GP.Bun$ ، $Hop+$ بوده در صورتی که گلبول‌های $GP.Mur$ ، $Hop-$ می‌باشند (جدول ۳-۱۰). $GP.Bun$ و $GP.Mur$ همیشه به همراه S به ارث می‌رسند. در مردمان اروپائی الاصل $GP.Mur$ ممکن است توأم با Ns یا با Ms توارث یابد که معمولاً این همراهی با Ns شایع‌تر است [۳۰۸]. در تایلندی‌ها [۲۳۶] و چینی‌ها [۲۴۴] $GP.Mur$ معمولاً همراه Ms توارث می‌یابد [۳۱۵]. در مورد مثال‌های مربوط به خانواده‌های $GP.Mur$ به منابع [۱۳۸، ۲۳۶، ۳۰۸، ۳۱۱، ۳۳۴ و ۳۳۵] و برای خانواده‌های $GP.Bun$ به منبع [۳۱۵] مراجعه شود. فنوتیپ‌های $GP.Bun$ و $GP.Mur$ در ارتباط با افزایش بیان 'N' یا آنتی‌ژن N مقاوم به تریپسین که بر روی GPB حمل می‌گردد می‌باشند [۱۳۸، ۲۴۴،

1 - aggregation

۳۰۸، ۳۱۵، ۳۳۴ و ۳۳۶]. آنتی ژن s تولید شده توسط ژن *GP.Mur* از لحاظ کیفی با s طبیعی تفاوت دارد. گلبول‌های قرمز *GP.Mur* ممکن است قادر به واکنش با بعضی از سرم‌های آنتی-s قوی نباشند [۳۰۸] و یک زن s+ با گلبول‌های قرمز *GP.Mur*، آنتی-s تولید نموده بود که با گلبول‌های قرمز خودش واکنش نمی‌داد (M.Moulds, C.Lomas, E.Holbrook)، مشاهدات منتشر نشده: (۱۹۸۱).

فقط دو فرد مورد مطالعه *GP.Hop* شناخته شده‌اند [۳۰۸ و ۳۳۷]. گلبول‌های قرمز *GP.Hop* همچون گلبول‌های قرمز *GP.Bun* نیز، *MINY+*، *Mur+*، *MUT+*، *Hop+* اما *Hil-* و *TSEN+* می‌باشند (جدول ۳-۱۰). در تنها خانواده مطالعه شده، *GP.Hop* به همراه *NS* به ارث رسیده است [۳۰۸]. گلبول‌های افراد هتروزیگوت برای *Ms* و ژن *GP.Hop* فقط با بعضی از سرم‌های آنتی-S واکنش دادند [۳۰۸ و ۳۳۷] و قادر به واکنش با یک آنتی-GPB مونوکلونال (MAB148)، که ترجیحاً با گلبول‌های S+ واکنش می‌دهد [۳۳۸] نبودند.

در آزمایشات انجام شده روی بیش از ۵۰۰۰۰ نفر سفید پوست، فقط شش نفر *Mur+* [۱۸] شناسایی گردید که از میان این‌ها پنج نفر *GP.Mur* (یا احتمالاً *GP.Bun*، چون آنتی-Hop استفاده نشده بود) و یک نفر *GP.Hop* بودند (جدول ۳-۹).

Mur در مردمان آسیای شرقی خیلی شایع تر است. حدود ۱۰٪ اهداکنندگان تایلندی *Mur+* بودند که از این میزان، ۹۳٪ *Hop-* (*GP.Mur*) و ۷٪ *Hop+* (*GP.Bun*) بودند [۳۱۵، ۲۳۶] (جدول ۳-۹). *GP.Mur* دارای یک فراوانی حدود ۶٪ در میان چینی‌های هنگ کنگی [۳۳۵] و حدود ۷٪ در میان چینی‌های تایوانی می‌باشد، هر چند که نوسانات اساسی منطقه ای وجود دارد [۲۳۷]. میانگین فراوانی *GP.Mur* به حدود ۸۸٪ در میان ساکنین کوهستان *Ami* در تایوان می‌رسد، اما در دیگر گروه‌های بومی تایوانی مشاهده نشده است [۲۳۷].

گلبول‌های *GP.Hf(Mi.X)* از این لحاظ که *MUT+* اما *Mur-* و *Hut-* هستند منحصر به فرد می‌باشند، آنها همچنین *Hop+*، *Hil+*، *MINY+*، و *TSEN-* هستند (جدول ۳-۱۰) و بعلاوه *M+* با افزایش بیان 'N' و 'S- با افزایش بیان s می‌باشند [۳۰۲ و ۳۱۷].

چندین فرد مورد مطالعه *GP.HF* شناسایی شده‌اند که همگی اصل و نصب ژاپنی دارند (M.Uchikawa مشاهدات منتشر نشده، ۱۹۹۳).

فنوتیپ دیگر به نام *GP.Kip* که در افراد مورد مطالعه آلمانی و استرالیایی مشاهده شد، خیلی شبیه *GP.Mur* است [۳۳۹]. گلبول‌های قرمز، *MUT+*، *Hil+*، *MINY+*، *Mur+* بودند، اما علی‌رغم عدم واکنش با آنتی-Hop و آنتی-Nob، با سرم‌های حاوی ویژگی‌های *Hop+Nob* واکنش دادند (سرم‌های Anek, Raddon).

۳-۱۲-۲-۱ بیوشیمی و ژنتیک مولکولی

گلوبول‌های GP.Mur، بر خلاف بسیاری از دیگر واریان‌های MNS، دارای سطح بالایی از اسید سیالیک می‌باشند [۱۴۰، ۱۵۴ و ۲۱۸]. گلوبول‌های قرمز افراد هتروزیگوت حدود ۱۳٪ و گلوبول‌های قرمز افراد هموزیگوت حدود ۲۱٪ بیشتر از گلوبول‌های طبیعی اسید سیالیک دارند [۲۱۸].

GP.Mur، GP.Hop و GP.Bun در ارتباط با جایگزینی GPB طبیعی توسط یک جزء شبیه GPB اما با وزن مولکولی ظاهراً بالاتر (۳۸۰۰۰-۳۱۰۰۰) می‌باشند [۵۰ و ۱۵۴ و ۲۱۸ و ۳۲۴ و ۳۴۰ و ۳۴۱]. این جز غیر طبیعی که معمولاً به شکل دیمرو نیز به شکل هترودیمرو با GPA و GPB وجود دارد، در هر سه فنوتیپ دارای یک وزن مولکولی است و میزان اسید سیالیکی که حمل می‌کند دو برابر میزان آن در GPB طبیعی است [۲۱۸ و ۳۲۴].

هاپلو تیپ GP.Mur، علاوه بر مولکول غیر طبیعی GPB، GPA طبیعی را نیز تولید می‌کند، اما GPB طبیعی را اصلاً نمی‌سازد [۱۵۴ و ۲۱۸]. کینگ و همکاران^۱ [۳۲۴] نشان دادند که R18، یک آنتی‌بادی مونوکلونال بر علیه اپیتپی روی GPA بین ریشه‌های اسید آمینه‌ای ۴۶ و ۵۶، به GPB غیر طبیعی گلوبول‌های GP.Mur پیوند می‌یابد. این مشاهده، یک نظریه قبلی مبنی بر اینکه فنوتیپ‌های GP.Hop، GP.Mur و GP.Bun ممکن است ناشی از تولید مولکول‌های GPB همراه با قطعات دخول یافته GPA باشند را حمایت می‌نمود [۳۴۲].

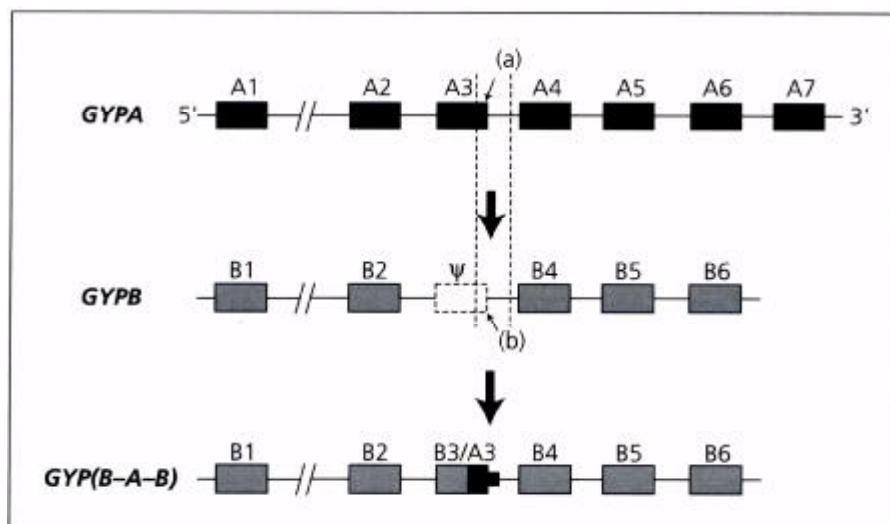
تجزیه و تحلیل DNA نشان داده است که GP.Mur، GP.Hop، GP.Bun و GP.HF به دنبال جایگزینی قطعه ای کوچک از GYPA با قطعه ای هومولوگ از انتهای ۵' اگزون A3 و انتهای ۳' اینترون سوم GYPB، که احتمال می‌رود نتیجه یک تبدیل ژنی باشد، ظهور می‌یابند [۳۱۷، ۳۳۷، ۳۴۵-۳۴۳] (به بخش ۳-۱۰ مراجعه شود). این قطعه از GYPA، جایگاه برش غیر عملکردی دهنده^۲ در اگزون کاذب GYPB را با توالی جایگاه برش عملکردی GYPA جابجا می‌سازد، لذا یک اگزون مرکب جدید ظاهر می‌شود که متشکل از انتهای ۵' اگزون کاذب GYPB و انتهای ۳' اگزون A3 از GYPA بوده و تولید یک مولکول GPB بزرگ می‌نماید (شکل ۳-۱۲). این مولکول GP(B-A-B) تشکیل می‌شود از: محصولات اگزون‌های B1 و B2 در GYPB به عنوان حوزه انتهای آمینی (گرچه محصول اگزون ۱ از پروتئین کامل، کنده می‌شود) و به دنبال اینها اگزون مرکب که قسمت عمده اگزون کاذب GYPB فعال شده و بخشی از اگزون A3 در GYPA را تشکیل می‌دهد و بعد از آن نیز اگزون‌های B4-6 به عنوان حوزه انتهای کربوکسیلی (هر چند که بخش عمده اگزون B6 ترجمه نمی‌شود) (شکل ۳-۹).

GP(B-A-B)Mur، GP(B-A-B)Bun و GP(B-A-B)HF دارای قطعات داخل شده GYPA به ترتیب با طول‌های ۹۸ و ۱۳۱،۵۵ جفت بازی می‌باشند. اندازه دقیق قطعه وارد شده GP(B-A-B)Hop

1 - King et al.

2 - non-functional donor splice site

مشخص نمی‌باشد. بین گلیکوپروتئین‌هایی که توسط این ژن‌ها رمزدهی می‌گردند اختلافات صرفاً جزئی وجود دارد. GP.(B-A-B)Mur و GP(B-A-B)Bun فقط در اسید آمینه شماره ۴۸ با هم تفاوت دارند، بطوری که در اولی آرژینین و در دومی ترئونین می‌باشد. GP(B-A-B)Hop، GP(B-A-B)Bun، قطعات داخل شده یکسانی دارند و تنها تفاوت آنها در Met60Thr (همسان با موقعیت ۲۹ در GPB) است، که مسئول بیان s و S می‌باشد. GP(B-A-B)Mur و GP(B-A-B)HF فقط در پنج اسید آمینه با هم تفاوت دارند.



شکل ۳-۱۲. نمودار جایگزینی یک قطعه کوچک از *GYPB* توسط قطعه ای هومولوگ از *GYPB* را که شامل بخشی از اگزون A3 و بخشی از اینترون ۳ میباشد نشان می‌دهد، این منجر به تولید یک ژن جدید *GYP(B-A-B)* می‌گردد که نتیجه نو ترکیبی غیر دو طرفه به علت تبدیل ژنی می‌باشد. جایگاه برش غیر عملکردی جهش یافته (b) که مسئول ایجاد اگزون کاذب (Ψ) است توسط یک جایگاه برش عملکردی از اینترون سوم *GYPB* (a) جایگزین می‌گردد، و یک اگزون مرکب که بخشی از آن اگزون کاذب *GYPB* و بخشی دیگر اگزون A3 است، بیان می‌گردد. ژن حاصله *GYP(B-A-B)* تولید یک گلیکوفورین هیبرید GP(B-A-B) می‌کند که نمونه بارز آن در فنوتیپ‌های GP.Bun، GP.HF و GP.Mur، GP.Hop وجود دارد.

۳-۱-۱۲-۳ *Mur* - آنتی- و دیگر آنتی‌بادی‌های علیه گلبول‌های قرمز *Gp.Mur*

آنتی-*Mur* یک جزء کاملاً شایع و قابل تفکیک در سرم‌های « آنتی- Mi^a » می‌باشد [۳۳۶، ۳۴۶ و ۳۴۷]، گرچه به تنهایی نیز وجود دارد [۳۰۸، ۳۳۶، ۳۴۶]. آنتی‌بادی‌های ضد گلبول‌های قرمز *Gp.Mur* (شاید اساساً آنتی-*Mur*، اما غالباً آنتی- Mi^a نامیده می‌شود) مسئول بروز واکنش‌های همولیتیک فوری و تاخیری انتقال خون [۳۴۸ و ۳۴۹] و بیماری همولیتیک شدید نوزاد بوده‌اند [۳۴۹ و ۳۵۰]. فنوتیپ *Gp.Mur* و آنتی‌بادی‌های ضد گلبول‌های *Gp.Mur* در آسیای جنوب شرقی نسبتاً شایع می‌باشند [۲۳۷، ۲۳۶ و ۳۳۵]. آنتی‌بادی‌های مذکور در هنگ کنگ در ۰/۳۴٪ بیماران و ۰/۴۶٪ زنان حامله مشاهده می‌شوند، در واقع شایع‌ترین آلوآنتی‌بادی غیر معمول، گنجاندن گلبول‌های قرمز *Gp.Mur* در پانل‌های روتین غربالگری آنتی‌بادی در آسیای جنوب شرقی اهمیت دارد، بخصوص در جاهایی که آزمایش کراس میچ در زمان کوتاه تری انجام می‌گیرد. تکنیک‌های پیچیده بر پایه PCR این امکان را به وجود می‌آورد که پیش‌بینی کنیم آیا جنین یک مادر با آنتی-*Mur* یا آنتی- Mi^a ، فنوتیپ *Gp.Mur* یا یک فنوتیپ وابسته به آن دارد یا خیر [۳۵۱].

آنتی-*Mur* مونوکلونال انسانی از نوع IgM از طریق الحاق (fusion) سلول‌های لنفوبلاستوئید، که توسط EBV دگرگون^۱ شده‌اند، با سلول‌های میلومائی تولید شده است [۳۵۲].

۳-۱-۱۲-۳ (MNS6) *He*

همانطوری که در بخش ۳-۸-۱ ذکر شد، یک گلیکوفورین هیبرید مسئول بروز آنتی‌ژن *He* است. ژنی که *He* را رمز دهی می‌نماید، *GYPB* است که در آن یک قطعه در نزدیکی انتهای ۵' توسط قطعه ای هومولوگ از *GYP A* جایگزین می‌گردد [۲۹۸]. تعدادی از تغییرات نوکلئوتیدی بدون الگو، که احتمال می‌رود در طول یک رویداد تبدیل ژنی ظاهر شده باشند، توالی غیر طبیعی اسید آمینه‌ای درون پنتاپتید انتهای آمینی گلیکوفورین هیبرید، مسئول بروز آنتی‌ژن *He*، را رمز دهی می‌نمایند (جدول ۳-۷). اگرچه ژن یک هیبرید *GYP(B-A-B)* است، جایگاه نوترکیبی B-A احتمالاً در منطقه اگزون ۲ که پپتید راهنما را کد می‌کند و جایگاه A-B در ایترون ۲ واقع شده است، بطوری که پروتئین کامل پس از شکافته شدن پپتید راهنما، یک هیبرید *GP(A-B)* می‌باشد (شکل ۳-۹).

واریان‌های *GYP(B-A-B)He*، که جهش‌های جایگاه برش را شامل می‌شوند، گزارش شده‌اند. در یکی از آنها [*GP.He(P₂)*]، برش و خروج اگزون B5 و بکارگیری یک توالی جدید به عنوان حوزه طی کننده غشائی، یک فنوتیپ $S-s-U^{var}$ را به وجود می‌آورد [۲۲۳] و در بخش ۳-۷-۴ توضیح داده شده است. در واریان دیگر [*GP.He(GL)*] یک جهش نقطه ای در اگزون B5 ژنی که گلیکوفورین با

فعالیت He را رمزدهی می‌نماید وجود دارد که یک جایگاه برش پذیرنده^۱ جدید را ایجاد می‌نماید، جهش دیگر در جایگاه برش پذیرنده اگزون B6 در ایترون B5 می‌باشد [۳۵۳]. این جهش‌ها برش اگزون B4 در تعدادی از رونوشت‌های mRNA را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بطوری که دو ایزوفرم گلیکوپروتئینی از یک ژن تولید می‌شوند: یکی که کاملاً مشابه GP(A-B)He است، دیگری که وزن مولکولی آن به واسطه عدم حضور محصول اگزون B6 حدود ۳۰۰۰ کاهش یافته است، He را بیان می‌نماید، اما نه s و S یا U را (شکل ۳-۹). این دو گلیکو پروتئین به راحتی با استفاده از ایمونوبلات در حضور آنتی-He، شناسایی شدند، اما فنوتیپ سرولوژیک به راحتی از فنوتیپ‌های شایع He+ افتراق داده نمی‌شود.

۱۲-۳ واریانهای مرتبط با GP(A-B-A)

GP.Dane(Mi.IX) ۱-۱۳-۳

DANE(MNS32) توسط اسکوو و همکاران^۲ [۲۶۷] در چهار خانواده دانمارکی شناسایی شد. در هر کدام از این خانواده‌ها، DANE به همراه MS به ارث رسیده بود، M در برابر تریپسین مقاوم بود. دو مورد از این چهار فرد مورد مطالعه از طریق غربالگری گلوبول‌های قرمز مجاور شده با تریپسین با استفاده از آنتی M مونوکلونال در میان ۴۶۷ اهدا کننده دانمارکی، شناسایی شدند (جدول ۳-۹). DANE به تریپسین حساس است. تمامی گلوبول‌های DANE+ در واقع Mur+، اما MUT- می‌باشند (جدول ۳-۱۰). ایمونوبلات گلوبول‌های M+N+DANE+ در حضور آنتی-M و دیگر آنتی‌بادی‌های ضد اپیتپ‌های موجود در حوضه‌های انتهای آمینی و کربوکسیلی GPA نشان داد که DANE در ارتباط با یک مولکول شبیه GPA است که وزن مولکولی آن حدوداً ۱۰۰۰ دالتون کمتر از GPA طبیعی است. این مولکول شبیه GPA ظاهراً فاقد جایگاه شکافت تریپسین در اسید آمینه شماره ۳۹ می‌باشد و نیز شاخص‌هایی که توسط آلو آنتی-En^aTS و تعدادی از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال که اپیتپ‌های بین ریشه‌های ۳۹-۲۶ از GPA را تشخیص می‌دهند، شناسایی می‌شوند در این مولکول وجود ندارند. اسکوو و همکاران [۲۶۷] ابراز داشتند که DANE در ارتباط با یک مولکول GPA غیر طبیعی توام با تغییری در منطقه بین اسیدهای آمینه ۳۹-۳۵ و احتمالاً از دست رفتن یک O-گلیکان می‌باشد.

تجزیه و تحلیل DNA نشان داد که گلیکوفورین غیر طبیعی مربوط به DANE یک مولکول GPA است که در آن یک قطعه کوچک، احتمالاً بعلت تبدیل ژنی، توسط GPB جایگزین شده است [۳۵۴]. قطعه داخل شده GYPB مشتق از اگزون کاذب است و جایگزین یک قطعه داخلی از اگزون A3 در GYPB می‌گردد که به دنبال آن دو اتصال هیبرید درون اگزون بوجود می‌آیند. حداقل میزان DNA

1 - acceptor splice site

2 - Skove et al.

منتقل شده شانزده نوکلئوتید است. ریشه‌های اسید آمینه‌ای ۴۱-۳۵ از گلیکوفورین A (Ala-Ala-Thr-Pro-Arg-Ala-His) توسط شش ریشه GPB (Pro-Ala-His-Thr-Ala-Asn) جایگزین می‌گردند. این پدیده منجر به از دست رفتن جایگاه شکافت در Arg39 از GPA و نیز حذف یک O-گلیکان می‌شود. توالی مشتق شده از آگزون کاذب *GYPB* ممکن است نشانگر شاخص *Mur* باشد، هر چند که ممکن است ریشه‌های اسید آمینه‌ای مجاور هم درگیر شده باشند (به بخش ۳-۱۴-۲ مراجعه شود). یک جهش نقطه‌ای اضافی بدون الگو نیز وجود دارد: Ile46 از GPA به Asn45 از GP(A-B-A)Dane. این جانشینی اسید آمینه‌ای ممکن است مسئول بیان آنتی‌ژن DANE باشد و حضور آسپاراژین ممکن است دلیل واکنش آنتی-DANE با گلبول‌های M^b باشد (به بخش ۳-۸-۱ رجوع شود). فقط یک مورد از آنتی-DANE شناسایی شده است [۲۶۷]، که توسط مردی بدون سابقه تزریق خون ساخته شده بود، وی اکنون فوت نموده است. مقدار بسیار کمی از این آنتی‌بادی باقی مانده است.

۳-۱۳-۲ *GP.Hut*، *GP.Vw* و آنتی‌ژن‌های *Hut(MNS19)* و *Vw(MNS9)*

۳-۱۳-۲-۱ سرولوژی، فراوانی و توارث *Vw*

آنتی-*Vw* فنوتیپ *GP.Vw(Mi.I)* را تعیین می‌کند (جدول ۳-۱۰). *Vw* هیچ نوع ارتباطی با بیان غیر طبیعی آنتی‌ژن‌های N یا M ندارد. فراوانی *Vw* در افراد سفید پوست حدود ۰/۰۶٪ است، گرچه در جنوب شرقی سوئیس یک فراوانی ۱/۴۳٪ مشاهده شد [۱۸] (جدول ۳-۹). مطالعات خانوادگی، ارتباط *Vw* با *NS*، *MS* و *Ms* (به ترتیب افزایش فراوانی) را ثابت نموده است [۳۰۸]. *Vw* مرتبط با M بسیار نادر است [۳۰۲]. مطالعات مذکور در منابع [۳۰۸، ۳۱۱، ۳۱۳، ۳۱۴، ۳۵۵ و ۳۵۶] ارائه شده‌اند. یک نفر که ظاهراً برای ژن مولد *Vw* هموزیگوت بود توصیف شده است. وی زنی چندزا *M-N+S+* و دارای یک آنتی‌بادی از نوع آنتی- En^aTS به نام آنتی-*ENEH* (آنتی-*MNS40*) بود [۳۵۷].

۳-۱۳-۲-۲ سرولوژی، فراوانی و توارث *Hut*

آنتی-*Hut*، که توسط گایلز^۱ [۲۷۳ و ۳۰۴] توصیف گردید، فنوتیپ *GP.Hut(Mi.II)* را معین می‌سازد. گلبول‌های *GP.Hut* با آنتی-*MUT*، که در ابتدا آنتی-*Hut* نامیده می‌شد [۱۸]، نیز واکنش می‌دهد. آنتی‌بادی اخیر با اکثر گلبول‌های *Hut+* یا *Mur+* واکنش می‌دهد. *Hut* در ارتباط با بیان غیر طبیعی آنتی‌ژن‌های M یا N نمی‌باشد. *Hut* دارای یک فراوانی حدود ۰/۰۶٪ در میان مردمان سفید پوست است [۱۸] که مشابه فراوانی *Vw* می‌باشد (جدول ۳-۹). نشان داده شده است که *Hut* با *MS*، *NS* و *Ms* (به ترتیب کاهش فراوانی) مرتبط می‌باشد اما با *NS* ارتباطی ندارد [۳۰۸]. مثالهایی از مطالعات خانوادگی در منابع [۳۱۱، ۳۱۳، ۳۵۸ و ۳۵۹] آورده شده است.

۳-۱۳-۲-۳ بیوشیمی و ژنتیک مولکولی *Hut* و *Vw*

Hut و *Vw* در ارتباط با حضور مولکول‌های غیر طبیعی *GPA* می‌باشند، که هر کدام دارای یک کاهش وزن مولکولی تقریبی ۳۰۰۰ دالتون در مقایسه با *GPA* طبیعی می‌باشند [۴۹، ۱۹۰، ۳۲۴، ۳۶۲-۳۶۰]. سطوح اسید سیالیک گلبول‌های قرمز *Vw+* و *Hut+*، طبیعی به نظر می‌رسند [۳۶۱]. تعیین توالی دستی اسید آمینه‌ای نشان داد که مولکول‌های *GPA* غیرمعمول در موقعیت ۲۸ جایگزینی‌های اسید آمینه‌ای ظاهر می‌سازند، بطوری که ترئونین توسط متیونین در *GPAVw* و توسط لیزین در *GPAHut* جایگزین شده بود [۳۶۱]. *Asn26* در *GPA* بطور طبیعی یک *N*-گلیکان را حمل می‌نماید. توالی اسید آمینه ای مورد نیاز به منظور *N*-گلیکوزیلاسیون، *Asn-Xaa-Thr/Ser* است، که در اینجا *Xaa* معرف هرنوع اسید آمینه بجز پرولین می‌باشد. در *GPA* طبیعی، که دارای *Asn26* و *Thr28* می‌باشد این معیارها حاصل شده‌اند، در *GPAVw* و *GPAHut*، *Thr28* جایگزینی یافته است بطوری که *Asn26*، *N*-گلیکوزیله نمی‌باشد. این فقدان گلیکوزیلاسیون، به واسطه عدم توانایی مولکول در پیوند یافتن به لکترین فاسیولوس ولگاریس^۱ [۳۶۱] نشان داده شد و این یافته کاهش ۳۰۰۰ دالتون در وزن مولکولی در مقایسه با *GPA* طبیعی را توضیح می‌دهد. اثر دادن *N*-گلیکاناز بر *GPA*، وزن مولکولی را تا حد *GPAVw* کاهش می‌دهد. اما این اثر دهی در مورد *GPAVw* بی‌تاثیر است [۳۶۳].

Hut و *Vw* به تریپسین حساس هستند و آنتی-*Vw* و آنتی-*Hut* را می‌توان توسط پپتیدهای هضم شده متشکل از ۳۰ یا ۳۹ اسید آمینه انتهای آمینی *GPA* به ترتیب در گلبول‌های *Vw+* و *Hut+* مهار نمود [۳۶۱]. *GPA* بیان شده توسط سلول‌های تخمدان هاستر چینی که توسط *cDNA* *GYPA* تغییر یافته از طریق جهش زائی هدفدار (به منظور رمز دهی *GPAVw* و *GPAHut*) آلوده شده بودند فاقد *N*-گلیکوزیلاسیون بود و به ترتیب به آنتی-*Vw* و آنتی-*Hut* پیوند یافت [۴۲]. آنتی-*Vw* به *GPA* غیر طبیعی مربوط به گلبول‌های *Vw+* روی ایمونوبلات‌ها متصل شد [۳۶۴]. احتمال می‌رود که آنتی-*ENEH*، نوعی آنتی‌بادی *En^oTS* که توسط یک زن هموزیگوت برای *GYPAVw* تولید شده بود [۳۵۷]، اختصاصی برای *Thr28* در *GPA*، برای *GPA* که در محل *Asn26* *N*-گلیکوزیله شده و یا برای هر دو باشد. کدون ریشه اسید آمینه‌ای ۲۸ در *GYPA*، *ACG(Thr)*، و در مورد *GYPAVw*، *ATG(Met)* است [۳۶۳]، که ظاهراً یک جهش نقطه ای است. یکی از کدون‌ها برای لیزین *AAG* است، بنابراین جهش نقطه ای می‌تواند عامل بروز *GYPAHut* نیز باشد. هوانگ و همکاران^۲ [۳۶۳، ۳۶] خاطر نشان می‌کنند که *AAG* در کدون اسید آمینه شماره ۲۸، با کدون همسان آن درون آگزون کاذب بیان نشده *GYPB* یکسان می‌باشد. *GYPAHut* ممکن است به واسطه تبدیل ژنی، به دنبال جایگزینی قطعه ای کوچک از *GYPA* با قطعه هومولوگ از *GYPB* بوجود آمده باشد

1 - Phaseolus vulgaris

2 - Huang et al.

(شکل ۳-۹). از آنجاییکه جایگزینی نوکلئوتیدی در *GYPVw* و *GYPVHUT* در یک نقطه مشابه اتفاق می افتد، *GYPVw* احتمالاً در نتیجه تبدیل ژنی، که در طی آن به علت نقص در ترمیم هتروودپلکس، یک جایگزینی بدون الگوی نوکلئوتیدی بی تطابق^۱ اتفاق افتاده است، ایجاد شده باشد [۳۶۳]. نوکلئوتیدهای تغییر یافته بین دو نیمه مربوط به جایگاههای توالی تکرار شونده که در رویداد نوترکیبی شرکت کرده اند و مسئول تولید دیگر گلیکوفورین های هیبرید می باشند قرار می گیرند. در هر حال باید متذکر شد که نظریه ایجاد دو ژن نادر از طریق جهش های نقطه ای غیر پیچیده، رد نشده است.

۳-۱۳-۲-۴ آنتی-*Vw*

آنتی بادی *Vw* در مخلوط آنتی بادی های علیه آنتی ژن های با شیوع کم MNS (به عنوان جزئی از آنتی-*Mi^a*) [۳۳۶] و یا به تنهایی [۳۱۴،۳۰۵] وجود دارد، که در این مورد مسئول بیماری همولیتیک شدید نوزاد [۳۶۲، ۳۶۷-۳۶۵] و احتمالاً یک واکنش کشنده انتقال خون [۳۶۸] (هر چند که این مورد بحث و جدل است) [۳۶۹] بوده است. می توان با استفاده از تعیین ژنوتیپ مولکولی، فنوتیپ *Vw* جنین را در صورتی که مادر آنتی-*Vw* داشته باشد، پیش بینی نمود [۳۵۱]. آنتی-*Vw* در سرم افراد سالم غیرشایع نیست، به طوری که حدود ۱٪ سرم های طبیعی حاوی آن هستند [۳۰۹، ۱۸، ۳۵۶، ۳۵۵، ۳۱۱]. این آنتی بادی به طور منظم در سرم بیمارانی که آنمی همولیتیک اتوایمیون دارند یافت می شود [۳۰۸]. از میان هشت سرم آنتی-*Vw*، هفت مورد از کلاس IgG به تنهایی و یک مورد IgG+IgM بود [۳۷۰].

۳-۱۳-۲-۵ آنتی-*Hut* و آنتی-*MUT*

آنتی-*Hut*، آنتی بادی که ویژه گلبول های GP.Hut(Mi.II) است، نخستین بار توسط گایلز [۳۰۴، ۲۷۳] تعریف و توصیف گردید. آنتی بادی های اولیه *Hut*، که در حال حاضر آنتی-*MUT* نامیده می شوند، از سرم های آنتی-*Mi^a* جدا شده شدند [۳۱۳، ۳۰۸]، اما نمونه های مستقل آن نیز شناسایی شده و بر اساس گزارشات، ایجاد بیماری همولیتیک نوزاد (HDN) نموده اند [۱۸]. آنتی-*MUT* یک آنتی بادی ساده نیست که با آنتی ژن های *Mur* و *Hut* واکنش متقاطع دهد. گلبول های GP.Dane، *Mur+*، اما *MUT-* می باشند [۲۶۷]، گلبول های GP.HF، *Mur-Hut-*، اما *MUT+* هستند [۳۰۲] و [۳۱۷] (جدول ۳-۱۰).

۳-۱۳-۳ GP.Joh(Mi.VIII) و GP.Nob(Mi.VII)، و آنتی‌ژن‌های Hop(MNS26) و Nob(MNS27) سرولوژی، فراوانی و توارث

آنتی - Nob، دو فنوتیپ را تعیین می کند، به نام GP.Nob و GP.Joh [۳۱۶،۳۰۴،۲۷۳،۲۶۳] (جدول ۳-۱۰). این فنوتیپ‌ها با استفاده از آنتی - Hop از هم افتراق داده می‌شوند به طوری که با گلبول‌های GP.Joh واکنش داده اما با گلبول‌های GP.Nob واکنش نمی‌دهد. آنتی - Hop همچنین به طور ضعیف با گلبول‌های فنوتیپ GP.Bun(Mi.VI) و CP.Hop(Mi.IV) واکنش می‌دهد (بخش ۳-۱۲-۱). این توصیف سرولوژیک، یک مبالغه در ساده سازی موضوع است، سرم‌های آنتی - Hop ممکن است حاوی آنتی - Nob ضعیف باشند و بالعکس، و این ویژگی‌ها قابل تفکیک نمی‌باشند. پاره ای از پیچیدگی‌ها در بخش‌های ۳-۱۳-۳ و ۳-۱۳-۳-۴، مطرح خواهند شد. آنتی‌ژن‌های Hop و Nob مقاوم به تریپسین اما حساس به پاپائین و فیسین می‌باشند [۳۱۶،۲۷۳،۲۶۴،۲۶۳].

بیان غیر معمول آنتی‌ژن‌های S، N، M، یا 'N' در مورد گلبول‌های فنوتیپ GP.Nob یا GP.Joh گزارش نشده است. گلبول‌های قرمز زنی که برای ژن مسئول فنوتیپ GP.Nob هموزیگوت بود، فاقد ENKT (شکلی از آنتی‌ژن En^aFS) بودند [۳۴۲]. خانواده‌های کمی با اعضای GP.Nob و GP.Joh شناخته شده‌اند. در سه خانواده، ژن GP.Nob با MS و در یک خانواده با Ms همراه شده بود [۳۱۶،۲۶۳]. در دو خانواده ژن GP.Joh با Ns ارتباط یافته بود [۳۷۱،۳۱۶]. Nob دارای فراوانی حدود ۱ در ۱۶۴۳ اهدا کننده خون انگلیسی بود [۲۶۳] (جدول ۳-۹).

۲-۳-۱۳-۳ بیوشیمی و ژنتیک مولکولی

فنوتیپ‌های GP.Nob و GP.Joh در نتیجه جایگزینی‌های اسید آمینه‌ای درون GPA ظهور می‌یابند. هر دوی آنها در موقعیت ۴۹ به جای آرژنین، ترئونین دارند که O - گلیکوزیله می‌باشد، اما GPANob به جای تیروزین در موقعیت ۵۲، سرین، که ممکن است O - گلیکوزیله باشد، نیز دارد [۳۷۲-۳۷۴]. هر دو جایگزینی می‌توانند به دنبال جهش نقطه‌ای یا توسط محصول تبدیل ژنی، ایجاد گردند [۳۶]. کدون‌های ویژه Thr49 و Ser52، که هر دو مختص GPANob هستند، در کدون‌های مربوط به اکزون کاذب یک GYPB طبیعی نیز وجود دارند. بنابراین، یک فرآیند تبدیل ژنی بین GYPB و GYPB می‌تواند دلیل هر دو جایگزینی اسید آمینه‌ای در GPANob باشد، و همین طور یک فرآیند مشابه که قطعه کوچکی از GYPB را درگیر می‌کند، قادر است جایگزینی تک اسید آمینه‌ای را در GPAJoh باعث گردد (شکل ۳-۹).

روش‌های آزمایشگاهی مهارسازی نشان دادند که آنتی‌ژن‌های Hop و Nob روی GP(A-B-A)Joh و GP(A-B-A)Nob، در میان ریشه‌های اسید آمینه‌ای ۶۱-۴۰ قرار

گرفته‌اند [۳۷۲-۳۷۴]. چون Hop و Nob هر دو شاخص‌های حساس به سیالیداز هستند [۳۷۲]، این احتمال وجود دارد که آنها برای پیوند یافتن به GP(A-B-A)Nob و GP(A-B-A)Joh متکی به گلیکوزیلاسیون Thr49 باشند، با این حال اتصال آنتی-Hop ظاهراً نیاز به Tyr52 نیز دارد. اتصال B-A در GP(B-A-B)Bun، اما نه در GP(B-A-B)Mur، یک توالی Thr-Thr-Val-Tyr(TTVY) را ایجاد می‌کند که در GP(A-B-A)Joh نیز وجود دارد. احتمال دارد که این توالی برای شاخص Hop ضروری باشد. در فنوتیپ GP.Nob ریشه Tyr توسط Ser جایگزین می‌گردد و گلبول‌های دارای این فنوتیپ، Hop- می‌باشند. یک دکاپتید (پروتئین ده اسید آمینه‌ای.م) صنایع (EISVTTVYPP)، که حاوی اسیدهای آمینه ۵۳-۴۴ از GP(B-A-B)Bun و ۵۴-۴۵ از GP(A-B-A)Joh و نیز توالی Thr-Thr-Val-Tyr (TTVY) بود، آنتی-Hop را مهار نمود [۳۷۵].

۳-۱۳-۳-۳ آنتی-Hop

آنتی-Hop اولیه، که در سرم یک مرد تایلندی (Anek) بدون هیچ نوع سابقه تزریق خون و دارای فنوتیپ گلبولی GP.Mur(Mi.III) [۳۱۵] یافت شد امروزه به عنوان آنتی-Hop + Nob در نظر گرفته می‌شود [۳۰۲]. از آن زمان به بعد، دیگر موارد مشاهده شده آنتی-Hop [۳۷۱، ۳۱۶، ۲۷۳] را می‌توان با صحت بیشتری آنتی-Hop نامید، زیرا برخلاف سرم Anek، با گلبول‌های GP.Nob(Mi.VII) واکنش نمی‌دهند [۳۰۲] (جدول ۳-۱۰).

۳-۱۳-۳-۴ آنتی-Nob

از دو سرم آنتی-Nob اولیه [۲۶۳]، امروزه فقط یکی از آنها (Lane) به عنوان آنتی-Nob تلقی می‌شود (جدول ۳-۱۰)، سرم دیگر (Raddon) به عنوان یک آنتی-Nob + Hop عمل می‌کند زیرا با گلبول‌های GP.Bun(Mi.VI) و GP.Hop(Mi.IV) واکنش ضعیفی ایجاد می‌نماید [۳۰۲]. آنتی‌بادی دیگری به عنوان آنتی-Nob گزارش شده [۲۶۴] که به صورت آنتی-Nob + Hop رفتار می‌کند. این آنتی‌بادی که «ظاهراً به طور طبیعی وجود دارد» ایجاد علائم خفیف یک واکنش همولیتیک متعاقب تزریق یک واحد خون GP.Nob(Mi.VII) نمود.

GP(A-B-A) KI ۴-۱۳-۳

گلوبول‌های قرمز یک اهدا کننده خون اهل چک (KI) و خواهر او، دارای یک فنوتیپ جدید بودند. این گلوبول‌ها HiL+ و در عین حال - MINY بوده و روی ایمونوبلات در حضور آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه GPA و GPB، هیچ نوع ساختار غیر طبیعی را نشان نمی‌دادند [۳۷۶]. در تعیین توالی ژنومیک مشخص شد که GYPA دو تغییر نوکلئوتیدی دارد که جایگزینی‌های Arg61Thr و Val62Gly را رمزدهی می‌نمایند [۳۷۷] (شکل ۳-۹). به دنبال این، توالی PEEETGETGQL ایجاد می‌گردد، یعنی همان توالی که توسط آنتی - HiL شناسایی می‌شود (به بخش ۳-۱۴ و جدول ۳-۱۱ رجوع شود). مولکول GPA غیرطبیعی احتمالاً محصول یک رویداد تبدیل ژنی است که به واسطه آن Thr61 و Gly62 توسط یک قطعه کوچک مشتق از GYPB رمز دهی می‌شوند.

GP(A-B-A) Sat ۵-۱۳-۳

فنوتیپ‌هایی که در آنها گلوبول‌های قرمز با آنتی - SAT واکنش می‌دهند، حاصل حداقل دواساس ژنتیکی می‌باشند:
یکی شامل یک هیبرید GP(A-B) و دیگری یک مولکول GP(A-B-A) با یک قطعه کوچک دخول یافته GPB [۳۳۲] که هر دوی آنها در بخش ۳-۱۱-۳ بحث شده‌اند.

جدول ۳-۱۱. نتایج آزمایشات مهارسازی با استفاده از پپتیدهای صناعی حاوی اسیدهای آمینه‌های که توسط انتهای ۳' از A3 از GYPA و انتهای ۵' از B4 از GYPB رمزدهی می‌شوند [۳۷۸، ۳۷۵، ۳۱۸].

آنتی‌بادی‌ها				پپتیدها
S ^{HL}	MINY	TSEN	HiL	GPA-GPB
-	+	-	+	PEEET- GETGQLVHR
				S
+	+	+	-	PEEET- GEMGQLVHR
				S

+ : مهار می‌شود، - : مهار نمی‌شود

۳-۱۴ جزئیات بیشتر در مورد HiL ، $TSEN$ ، $MINY$ ، Mur ، Mi^a ، آنتی‌ژن‌هایی که مرتبط با گلیکوفورین‌های هیبرید $GP(A-B)$ ، $GP(B-A-B)$ و $GP(B-A-B)$ می‌باشند

این آنتی‌ژن‌ها از آن جهت که بین گلیکوفورین‌های هیبرید از انواع $GP(A-B)$ و $GP(B-A-B)$ مشترک هستند در اینجا با هم در نظر گرفته می‌شوند، Mur و HiL در ارتباط با مولکول $GP(A-B-A)$ نیز می‌باشند.

۳-۱۴-۱ HiL (MNS20)، $TSEN$ (MNS33)، و $MINY$ (MNS34)

HiL ، $TSEN$ و $MINY$ آنتی‌ژن‌های با شیوع کم هستند که با گلیکوفورین‌های هیبرید $GP(A-B)$ و $GP(B-A-B)$ که توسط ژن‌های دارای اتصالات A-B درون اینترون ۳ تولید می‌شوند، واکنش می‌دهند، آنتی ژن HiL وقتی که S وجود دارد بیان می‌گردد. $TSEN$ وقتی که S وجود داشته باشد و $MINY$ زمانی که S یا S وجود داشته باشند، بروز می‌یابند [۳۷۸، ۳۷۵، ۳۱۸]. این گلیکوفورین‌های هیبرید دارای محصول انتهای ۳' از $A3$ از $GYP A$ ، یا از یک از $B-A$ ، هستند که به محصول انتهای ۵' از $B4$ از $GYP B$ متصل شده است (شکل ۳-۹، جدول ۳-۱۱).

$GP(A-B)HiL$ ، $GP(B-A-B)Mur$ ، $GP(B-A-B)Bun$ و $GP(B-A-B)HF$ همگی دارای $Thr29$ از GPB طبیعی بوده و یک آنتی‌ژن غیر معمول S را بروز می‌دهند، به علاوه تمامی آنها $HiL+TSEN$ ، $MINY+$ می‌باشند. $GP(A-B)JL$ ، هیبریدهای مشابه، $GP(B-A-B)Hop$ و $GP(A-B)$ یک آنتی‌ژن غیر معمول S را بروز می‌دهند و احتمالاً $Met29$ در GPB طبیعی را دارند، آنها $HiL+TSEN+MINY+$ می‌باشند.

یک پپتید صناعی چهارده اسید آمینه‌ای که دارای اسیدهای آمینه ۶۷-۵۴ در $GP(A-B)HiL$ ، از جمله اتصال $Thr-GlyA-B$ و ریشه ترئونین (مسئول فعالیت S) بود، آنتی- HiL را مهار کرد [۳۷۵]، اما آنتی- $TSEN$ را مهار ننمود [۳۱۸] (جدول ۳-۱۱). پپتید مشابه دیگری که در آن متیونین به جای ترئونین قرار گرفته بود، آنتی- $TSEN$ و آن دسته از سرم‌های آنتی-S (S^{JL}) که با گلبول‌های قرمز دارای گلیکوفورین هیبرید $GP(A-B)JL$ واکنش می‌دادند، را مهار نمود، اما روی آنتی- HiL بی‌تأثیر بود [۳۷۵، ۳۱۸]. هر دو پپتید آنتی- $MINY$ را مهار کردند [۳۷۸]. شاخص HiL احتمالاً کوچکتر از چیزی است که در جدول ۳-۱۱ نشان داده شده است، چون توالی $PEEETGETGQL$ در $GP(A-B-A) KL$ وجود دارد (بخش ۳-۱۳-۴) که HiL را متجلی می‌سازد [۳۷۷].

۳-۱-۱۴-۱ آنتی - Hil، آنتی - TSEN و آنتی - MINY

آنتی - Hil اولیه ایجاد HDN نمود [۳۰۸، ۱۸]. یک مورد دیگر نیز گزارش شده [۳۷۹] و چند مورد دیگر نیز امروزه شناخته شده‌اند. پنج نمونه آنتی - TSEN یافت شده‌اند، که چهار تا از آنها از طریق غربالگری ۸۰۰۰۰ اهدا کننده یافت شدند [۳۲۹، ۳۱۸]. فقط یک مورد آنتی - MINY گزارش شده است [۳۷۸].

۳-۱-۴-۲ Mur (MNS10)

GP(B-A-B)Hop و GP(B-A-B)Mur شامل محصول آگزون کاذب GYPB می‌باشند که توسط یک قطعه داخل شده GYPB فعال شده است و همگی آنتی‌ژن Mur را بروز می‌دهند. آنتی - Mur توسط یک پپتید صناعی سیزده اسید آمینه‌ای (DTYPAHTANEVSE) مهار گردید، این پپتید حاوی توالی کد شده توسط آگزون کاذب مذکور و ریشه‌های اسید آمینه‌ای ۳۲-۴۴ مربوط به GP(B-A-B)Mur و G(B-A-B)BUN می‌باشد [۳۷۵]. جایگاه Mur روی GP(B-A-B)BUN با آزمایش ایمونوبلات تأیید گردید [۳۶۴].

G(A-B-A)Dane حاوی توالی Pro-Ala-His-Thr-Ala-Asn (PAHTAN) می‌باشد که از آگزون کاذب GYPB منشأ گرفته است. گلبول‌های + DANE با آنتی - Mur واکنش می‌دهند، لذا احتمال می‌رود که این توالی نشانگر حداقل بخشی از شاخص Mur باشد [۳۵۴]. آنتی - Mur اولیه (Murrel) حاوی آنتی - M^B نیست اما با گلبول‌های M^B واکنش می‌دهد. تری پپتید Asn-Glu-Val (NEV) ممکن است حاکی از اپی‌تپی از این شکل آنتیپیک آنتی - Mur باشد زیرا در محصول آگزون کاذب GYPB (جدول ۳-۱۱)، در GP(B-A-B)Dane (آخرین ریشه قطعه داخل شده GPB و دو ریشه بعد از آن) و در GPAM^B (ریشه‌های ۶-۴) موجود می‌باشد. اهمیت بالینی آنتی - Mur در بخش ۳-۱۲-۳ مورد بحث قرار گرفته است.

۳-۱-۴-۳ Mi^a (MNS7)

اگر چه آنتی - Mi^a ، آنتی‌بادی بود که در ابتدا فنوتیپ‌های زیر سیستم میلتنبرگر را تعیین می‌نمود، بعدها مشخص شد که شامل مخلوطی از آنتی‌بادی‌ها به ویژه آنتی‌بادی‌های : MUT، Hut، Mur، Vw بر علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع کم است [۳۳۶، ۳۰۲، ۱۳۳].

در هر حال، تولید دو آنتی - Mi^a مونوکلونال موشی ثابت نمود که آنتی - Mi^a می‌تواند ماهیتی جداگانه داشته باشد [۳۸۰، ۳۵۲]. داهر^۱ [۳۰۷] چنین فرض نمود که آنتی - Mi^a ممکن است توالی اسید آمینه‌ای QTND(M or K)HKROTY را شناسایی نماید. این توالی معرف اتصال انتهای ۳' آگزون دوم

$GYPB$ و $GP(B-A-B)Mur$ و $GP(B-A-B)Hop$ و $GP(B-A-B)Bun$ و $GP(B-A-B)HF$ موجود می‌باشد، علاوه بر این در مولکول‌های فرضی $GP(B-A-B)$ مرتبط با $GP.Vw$ و $GP.Hut$ نیز وجود دارد.

۳-۱۵ واریان‌های مرتبط با $GP(A-B)$ (نوع لپور)

۳-۱۵-۱ $Dantu$ (MNS25)

وقتی که آنستی و همکاران^۱ [۲۱۸] فرض کردند که یک هیبرید $GP(A-B)$ علت بروز فنوتیپ واریان MNS ، $GP.Hil$ (Mi.V) است، مکانیسم ژنتیکی پیشنهاد شده به منظور تشکیل مولکول $GP(A-B)$ شامل تولید همزمان یک هاپلوتیپ بود که یک گلیکوفورین هیبرید از نوع $GP(B-A)$ را به همراه GPA و GPB طبیعی رمزدی می نمود (شکل ۳-۱۰). در سال ۱۹۸۰، تانر و همکاران^۲ [۳۸۱] یک واریان جدید MNS را در یک سیاهپوست زیمبابوه ای $M+N+S-s$ (Ph) و پدر $M+N+S-s$ او توضیح دادند که در آن یک گلیکوپروتئین جدید با وزن مولکولی ۳۲۰۰۰، دیمرهاي آن و نیز هترو دیمرهاي آن با GPA و GPB مورد شناسایی قرار گرفتند. ایشان معتقد بودند که این گلیکوپروتئین جدید، که حامل یک آنتی ژن N مقاوم به تریپسین بود، یک گلیکوفورین از نوع $GP(B-A)$ است. به نظر می رسد ژن مولد این مولکول $GP(B-A)$ همراه با ژنی به ارث رسیده باشد که یک مولکول GPA با فعالیت M طبیعی را رمزدی می نمود اما $GYPB$ وجود نداشت (شکل ۳-۹). لذا به نظر می رسد که نوترکیبی اولیه که هاپلوتیپ غیر معمول را بوجود آورده بود به احتمال زیاد یک ژن u را نیز درگیر نموده است. این ژن در آفریقایی‌ها غیر شایع نبوده تولید GPB نمی‌کند. مولکول پیشنهادی $GP(B-A)$ توسط یک آنتی‌بادی خرگوشی بر علیه شاخصی روی حوزه سیتوپلاسمی (انتهای کربوکسیلی) GPA رسوب داده شد، اما این را سبب سازی با یک آنتی‌بادی مونوکلونال بر علیه اپیتپی روی حوزه خارج سلولی (انتهای آمینی) GPA مشاهده نشد [۳۲۳]، این یافته متضاد نتیجه حاصل شده با $GP(A-B)Hil$ بود.

در سال ۱۹۸۴، کنتراس و همکاران^۳ [۲۶۲]، $Dantu$ را توصیف نمودند. یک آنتی ژن گلوبول قرمز با شیوع کم مرتبط با MNS که در هفت فرد مورد مطالعه سیاهپوست شامل اهداکننده زیمبابوه ای (Ph) [۳۸۱] و یک زن آمریکائی (NE)، که ظاهراً یک گلیکوفورین هیبرید $GP(B-A)$ نیز داشت، یافت گردید [۳۸۲]. گلوبول‌های $Dantu+$ علاوه بر آنتی ژن مقاوم به پروتئاز $Dantu$ ، آنتی ژن‌های N مقاوم به پروتئاز و s ضعیف را نیز حمل می کنند (آنتی ژن‌های اخیر توسط تریپسین، کیموتریپسین، پاپائین، فیسین یا پروناز واسرشته نمی‌شوند). در اولین نگاه، این خانواده، ظاهراً تفکیک $Dantu$ از MNS را نشان می داد، تا اینکه این مسئله که هاپلوتیپ $Dantu$ تولید آنتی ژن‌های M و N را می‌نماید درک شد.

1- Anstee et al.

2 - Tanner et al.

3 - Contreras et al.

فنونتیپ Dantu+ در Ph با فنونتیپ آن در NE فرق می کند. به طوری که دومی اساساً نسبت مولکول‌های GP(B-A) به GPA بیشتری در مقایسه با اولی دارد [۲۶۲، ۳۲۶ و ۳۸۳]. NE واریته معمول فنونتیپ Dantu+ است [۲۶۱]، یک فرد مورد مطالعه دوم + Dantu از واریته Ph هنوز پیدا نشده است. یک فرد مورد مطالعه سفیدپوست Dantu+ شناسایی شده است [۳۸۴] و فنونتیپ وی حاکی از یک واریته سوم است.

هاپلوتیپ Dantu معمولاً تولید یک GPA طبیعی با فعالیت M و یک گلیکوفورین واریان می نماید که متشکل از ۳۹ اسید آمینه انتهای آمینی GPB با فعالیت s که با ۱۳۱-۷۲ اسید آمینه از GPA الحاق یافته اند می باشد [۳۸۶، ۳۸۵، ۳۴۳]. نقطه شکست GYP(B-A) در ایترون ۴ مستقر می باشد [۳۴۴] و لذا Dantu GP(B-A) متضاد GP(A-B)TK (بخش ۳-۱۱-۳) است [۳۳۱].

Dantu GP(B-A) مقاوم به پروتئاز است [۳۸۵، ۳۸۷] که این امر حاکی از آنتی ژن‌های s و N مقاوم به تریپسین و پاپائین می باشد [۲۶۲، ۳۸۱ و ۳۸۳]. این آنتی ژن s از لحاظ کیفی با s طبیعی فرق می کند. هاپلوتیپ Dantu مقدار بسیار کمی U را تولید می کند و یا اصلاً تولید نمی کند [۲۶۲، ۳۸۲ و ۳۸۳] و Dantu GP(B-A) آنتی ژن W_r^b را اصلاً بروز نمی دهد [۳۸۸]. دلیل اینکه چرا مولکولی که حاوی ۳۹ اسید آمینه انتهای آمینی GPB است باید آنتی ژن s تغییر یافته داشته و بدون آنتی ژن U یا دارای مقدار کمی از آن باشد، واضح نیست، اما ممکن است ناشی از یک تغییر در آرایش فضایی مولکول باشد.

گلوبول‌های Dantu+ از نوع NE، اساساً Dantu GP(B-A) بیشتری (۳۱۵۰۰۰ جایگاه) از گلوبول‌های نوع Ph (۲۰۰۰۰۰ جایگاه) دارند [۳۲۶]. نسبت مولی GP(B-A) به GPA در گلوبول‌های نوع NE، حدوداً ۲/۴ به یک است [۳۸۵-۳۸۷]. در مقایسه با حدود ۱:۱ در Ph [۳۸۱]. افراد هتروزیگوت برای نوع NE مربوط به Dantu، علی رغم وجود دو ژن GYP^A فعال، فقط حدود ۴۳٪ میزان GPA طبیعی را که در گلوبول‌های قرمز فنونتیپ‌های شایع MNS یافت می شوند دارند. این از لحاظ سرولوژیک در بیان ضعیف M و بعضی از آنتی ژن‌های En^a منعکس می گردد [۳۸۲، ۲۶۲]. هوانگ و بلومنفلد^۱ [۳۴۳] نشان دادند که ژن مولد GP(B-A)Dantu به صورت مضاعف بوده و پشت سر هم قرار گرفته اند (شکل ۳-۹) که این، سطح بالای GP(B-A) را در گلوبول‌های Dantu+ نوع NE توضیح می دهد.

احتمال می رود که ژن تولید کننده GP(B-A) Dantu از نوع Ph، مضاعف نباشد. برخلاف $En(a-)$ ، M^K و دیگر فنونتیپ‌های مرتبط با کاهش GPA (بخش ۳-۱-۶)، وزن مولکولی ظاهری پروتئین باند ۳ حدود ۳۰۰۰ کاهش یافته است که ناشی از کوتاه شدن N-گلیکان می باشد [۳۸۷]. داهر و همکاران^۲ [۳۸۵] نشان دادند که GP(B-A) Dantu تخلیص شده، فعالیت آنتی بادی‌های ضد N و ضد s را مهار می سازد، اما فقط در حضور چربی قادر به اعمال این اثر روی آنتی بادی ضد Dantu

1 - Huang and Blumenfeld

2 - Dahr et al.

خواهد بود. آنان بدین نتیجه رسیدند که Dantu احتمالاً همچون En^aFR و U ، ساختمان ناپایداری دارد و ممکن است بین ریشه‌های ۴۰-۲۸ در $Dantu$ GP(B-A) واقع شده باشد. گلبول‌های قرمز $Dantu+$ از این لحاظ که دارای یک آنتی‌ژن N مقاوم به فیسین هستند، غیر عادی می‌باشند. یک راه ساده جستجو برای گلبول‌های $Dantu+$ ، غربالگری گلبول‌های مواجه شده با فیسین، با استفاده از لکتین ویشیا گرامینا^۱ است [۳۸۹، ۲۶۱]. با این روش شانزده نفر $Dantu+$ ، پس از آزمایش ۳۲۰۰ فرد آمریکائی آفریقائی تبار، یافت شدند (جدول ۳-۹) که هر شانزده نفر از نوع NE بودند [۲۶۱]. در آفریقائی جنوبی، $Dantu$ در جمعیت‌های سفیدپوست، سیاهپوست و آسیایی نادر است، اما در مردمان نژاد مخلوط (رنگی‌ها)، که دارای منشأ نژادی Khoi، آسیایی، سیاهپوست و اروپایی می‌باشند نسبتاً شایع است (۱/۱٪). این یافته حاکی از این است که ژن $Dantu$ از مردمان Khoi، یک گروه بومی آفریقائی جنوبی، نشأت گرفته است.

گلبول‌های قرمز تنها شخص سفیدپوست $Dantu+$ (MD) حاوی یک هیبرید GP(B-A) بودند که آنتی‌ژن‌های N و S را بروز داده قابل افتراق از انواع NE و Ph نبودند [۳۸۴]. نسبت مولی هیبرید به GPA فقط حدود ۰/۶ به یک بود، حاکی از اینکه ژن هیبرید در این فرد مضاعف نبود [۳۸۶، ۳۸۴]. هاپلوتیپ $Dantu$ ، علاوه بر تولید GP(B-A) $Dantu$ و GPA^M طبیعی، دارای $GYPB$ طبیعی نیز بود. برخلاف دو نوع $Dantu$ مشاهده شده در آفریقایی‌ها، $Dantu$ نوع MD ظاهراً از یک رویداد کراسینگ اور نابرابر که $GYPB$ و $GYPB$ فعال را درگیر می‌سازد، منشأ گرفته است. پذیرش این مطلب که ژن حذفی $GYPB$ (u) در افراد سفیدپوست فوق‌العاده نادر است، تعجبی ندارد.

به طور خلاصه، سه فنوتیپ $Dantu$ شناخته شده‌اند. در هر نوع، هاپلوتیپ $Dantu$ احتمالاً تولید یک گلیکوفورین هیبرید از نوع GP(B-A)، با فعالیت N و S مشابه به اضافه GPA^M می‌نماید. در نوع NE ژن مولد GP(B-A) مضاعف است، اما در انواع Ph و MD چنین نیست. در نوع MD سفیدپوستان، ژن کد کننده GP(B-A) دارای $GYPB$ و $GYPB$ در طرفین خود می‌باشد، در انواع Ph و NE آفریقایی $GYPB$ و $GYPB$ پشت سر هم قرار گرفته اما $GYPB$ وجود ندارد.

۳-۱۵-۱-۱ آنتی‌بادی ضد $Dantu$

چندین نمونه آنتی- $Dantu$ شناخته شده‌اند که همگی در سرم‌های حاوی ویژگی‌های دیگر بوده‌اند، به ویژه سرم‌های حاوی آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن‌های خاص، اما همچنین در معرف‌های آنتی-S و آنتی-S نیز وجود داشته‌اند [۲۶۲]. اکثر نمونه‌های این آنتی‌بادی غیر ایمنی هستند، گرچه یک مورد IgG ایمنی آن مسئول واکنش آنتی‌گلوبولین مستقیم مثبت در گلبول‌های قرمز یک نوزاد بود [۲۶۲]. غربالگری ۱۳۴۸ سرم از افراد اهدا کننده، با گلبول‌های قرمز $Dantu+$ ، هیچ نوع آنتی- $Dantu$ را آشکار ننمود [۲۶۲].

1 - Vicia graminea

۲-۱۵-۳ St^a (MNS15, Stones) و ERIK (MNS37)

آنتی‌ژن با شیوع کم St^a که نخستین بار توسط کلقرن^۱ [۲۴۲] در سال ۱۹۶۲ توصیف گردید، در این بخش مطرح می‌گردد زیرا معمولاً در ارتباط با یک مولکول GP(B-A) می‌باشد. در هر حال در افراد بسیار معدودی St^a توسط ژن‌های $GYP(A-B-A)$ ، $GYP(A-E-A)$ و $GYP(B-A-B-A)$ رمزدهی می‌گردد. St^a در مردمان مشرق زمین شایع تر از افراد اروپایی الاصل می‌باشد، بطوری که فراوانی آن در ژاپن بیش از ۶٪ [۲۴۵] در مقایسه با فقط حدود ۰/۱٪ در اروپایی‌ها [۱۳۱ و ۲۴۶] می‌باشد. غربالگری با لکتین آنتی-N ویشیا گرامینا^۲ در مقابل گلبول‌های مجاور شده با فیسین فراوانی St^a را در جمعیت‌های مختلف چینی در تایوان [۳۹۱] بین ۱ و ۵/۲٪ مشخص نمود، اما در ۱۰۰ آمریکایی آفریقایی تبار، هیچکدام St^a مثبت نبودند [۳۸۶]. در یک خانواده ژاپنی حالت هموزیگوت برای St^a شناسایی شده است [۳۹۲].

۱-۲-۱۵-۳ $GP.Sch$ (M^r)

آنتی و همکاران^۳ [۳۹۳] برای نخستین بار ارتباط بین St^a با یک گلیکوفورین هیبرید از نوع GP(B-A) را تشخیص دادند. این مولکول هیبرید که امروز GP.(B-A)Sch نامیده می‌شود به آنتی‌بادی‌های ضد حوزه سیتوپلاسمی GPA پیوند می‌یابد اما به آنهایی که بر علیه حوزه خارج سلولی این مولکول ساخته شده‌اند متصل نمی‌گردد [۴۹، ۳۸۸، ۳۹۳ و ۳۹۴].

GP(B-A)Sch معمولاً آنتی‌ژن‌های N ، St^a ، Wt^b (اما نه s و S) را حمل می‌نماید [۳۸۸، ۳۹۲، ۳۹۶-۳۹۴]. این مولکول در مقابل تریپسین و غلظت‌های کم فیسین مقاوم است [۳۸۹، ۳۹۵-۳۹۳، ۳۹۷]، اما مقاومت آن در برابر پروتئاز کمتر از GP(B-A)Dantu می‌باشد [۳۲۶].

تجزیه و تحلیل DNA تأیید نموده است که GP(B-A)sch یک مولکول هیبرید است که متشکل از واحدهای اسید آمینه‌ای ۱-۲۶ از GPB در انتهای آمینی، و واحدهای ۱۳۱-۵۹ از GPA در انتهای کربوکسیلی خود می‌باشد [۳۹۸، ۳۹۹ و ۳۲۵] (شکل ۳-۹) که این در واقع نتیجه کراسینگ اور بین ایترون سوم $GYPB$ و ایترون سوم $GYPB$ روی جانب ۳' اگزون کاذب می‌باشد. اگزون کاذب $GYPB$ از mRNA مربوط به GP(B-A)Sch برش خورده خارج می‌گردد، همانگونه که در مورد $GYPB$ mRNA نیز اتفاق می‌افتد. Asn26 گلیکوزیله نمی‌باشد [۳۹۵]. محصول انتهای ۳' اگزون B2 در $GYPB$ که با محصول انتهای ۵' اگزون A4 در $GYPB$ الحاق یافته است، یک توالی اسید آمینه‌ای

1 - Cleghorn

2 - Vicia graminea

3 - Anstee et al.

جدید- Gln-Thr-Asn-Gly-Glu-Arg-Val، را به وجود می آورد که احتمالاً بیانگر آنتی ژن St^a می باشد.

هوانگ و بلومفلد [۴۰] سه نوع GYP(B-A)Sch را شناسایی نموده اند که همگی تولید گلیکو فورین های یکسان می کنند، اما در جایگاه های نو ترکیبی اینترونی خود با هم فرق دارند. دو نوع از آنها در آمریکایی های آفریقایی تبار و نوع سوم در ژاپنی ها کشف شدند. واضح است که فنوتیپ St^a از وقایع مختلف شامل کراسینگ اور نا برابر درون « نقطه داغ » نو ترکیبی اینترون سوم GYPA و منطقه هومولوگ GYPB، حاصل گردیده است. یک نوع GYP(B-A)Sch دارای جایگاه کراسینگ اور یکسان با GYP(A-B)Hil(Mi.V) می باشد اما با یک ترتیب متضاد هم. این دو ژن واریان ممکن است مشتق از یک رویداد نو ترکیبی منفرد باشند [۳۲۵ و ۴۰]. GYP(B-A)sch در مجاورت GYPA و GYPB واقع شده است [۳۹۴-۳۹۲، ۳۹۸ و ۳۹۹] (شکل ۳-۹). نسبت مولی گلیکوفورین واریان به GPA^m طبیعی در فردی که برای GYP(B-A)sch هموزیگوت است ۱:۱ و در یک هتروزیگوت بارز ۱:۰/۵ می باشد [۳۹۲ و ۴۰۱]. غربالگری ۲۶۴ تایوانی با استفاده از یک آزمایش مبتنی بر PCR به منظور تشخیص GYP(B-A)sch، هشت مورد مثبت را شناسایی نمود که یکی از آنها هموزیگوت بود، فراوانی ژنی نیز ۰/۰۱۷ تعیین گردید [۳۵۱].

۳-۱۵-۲ GP-Zan(M^z)

متاکساس و همکاران^۱ [۲۹۰] پی بردند که گلبول های قرمز $St(a+)$ اعضای یک خانواده، با یک آنتی بادی شبیه M به نام آنتی- M^z واکنش دادند. این آنتی بادی، که دیگر موجود نمی باشد، با دیگر نمونه های $St(a+)$ واکنش نداد. بر خلاف گلبول های قرمز فنوتیپ St^a معمول، که در ابتدا M^T نامیده می شد اما امروزه به GP.Sch معروف است، این گلبول های $St(a+)$ واریان (در ابتدا M^z اما امروزه GP.Zan) دارای M مقاوم به تریپسین می باشند [۳۹۶ و ۴۰۱]. یک گلیکوفورین واریان با همان توالی اسید آمینه ای که در گلبول های GP.Sch وجود داشت، بجز اینکه پنتاپتید انتهای آمینی دارای توالی M بود، از گلبول های قرمز تنها فرد مورد مطالعه شناخته شده GP.Zan و دخترش جداسازی گردید [۴۰۱]. نظریه داهر و همکاران^۲ [۴۰۱] مبنی بر اینکه گلیکوفورین با فعالیت M در گلبول های GP.Zan یک هبرید GP(B-A) نمی باشد بلکه یک مولکول GPA است که به واسطه حذف اگزون A3 از GYPA فاقد ریشه های اسید آمینه ای ۲۷-۵۸ می باشد، با بهره گیری از تجزیه و تحلیل DNA مورد تأیید قرار گرفت [۴۰۲]. یک مولکول GPA^M فاقد واحدهای ۲۷-۵۸ مشابه به GP(B-A)Sch بود، سوای اینکه به جای M، N را بیان می کرد زیرا اسیدهای آمینه ۲۶-۱ در GPA^M و GPB، فقط در موقعیت های ۱ و ۵ با

1 - Metaxas et al.

2 - Dahr et al.

هم تفاوت دارند. GP(A-A)zan محصول یک ژن هیبرید GYP(A-B-A) است، نتیجه یک تبدیل ژنی که در آن آگزون کامل A3 و انتهای 5' اینترون سوم GYP(A) توسط قطعه هومولوگ از GYPB جایگزین می‌گردد. این قطعه GYPB شامل آگزون کاذب و جایگاه معیوب برش می‌باشد. بنابراین هیچ محصولی از آگزون 3 در پروتئین کامل متجلی نمی‌گردد (شکل 3-9). بررسی cDNA نه تنها حذف آگزون 3 را تأیید نمود، بلکه حضور یک رونوشت کوچک را نیز نشان داد یعنی گونه ای از mRNA که در آن هر دو آگزون 3 و 4 حذف شده‌اند. با استفاده از ایمونو بلات محرز شد که هر دو رونوشت بصورت گلیکوفورین‌های غیر طبیعی بر سطح گلبول‌های قرمز بروز می‌یابند، یکی St^a و M، و دیگری فقط M را بیان می‌نمایند [402].

3-15-2-3 GP.EBH و آنتی ژن ERIK

واریان دیگری از ST^a در ارتباط با آنتی ژن با شیوع کم ERIK می‌باشد [396]. در گلبول‌های قرمز St(a)+ERIK+ یک گلیکوفورین واریان با وزن مولکولی برابر با وزن مولکولی GP(B-A)Sch شناسایی گردید. در دو خانواده، یکی ایتالیایی و دیگری استرالیایی، گلبول‌های قرمز St(a)+ERIK+ آنتی ژن M مقاوم به تریپسین داشتند و گلیکوفورین واریان M-St^a را بیان میکردند، در دو خانواده دیگری، یکی دانمارکی و دیگری از آفریقای جنوبی با نژاد مختلط، آنتی ژن M وجود نداشت و گلیکوفورین واریان N و St^a را بروز می‌داد. ایمونو بلاتینگ غشاء گلبول‌های قرمز در افراد مورد مطالعه دانمارکی و ایتالیایی نشان داد که ERIK نه بر روی مولکول گلیکوفورین واریان با فعالیت St^a، بلکه بر روی یک مولکول GPA ظاهراً طبیعی حمل می‌گردد.

فنتیپ GP.EBH در خانواده‌های دانمارکی و ایتالیایی، به دنبال یک جهش G به A در نوکلئوتید انتهای 3' آگزون A3 در GYP(A) ظهور می‌یابد [403] (شکل 3-9). این پدیده ایجاد یک جایگزینی Gly59Arg در یک مولکول GPA طبیعی می‌نماید که احتمال می‌رود مسئول آنتی ژن ERIK باشد. از آنجایی که جهش در بخش آگزونی توالی هماهنگ¹ جایگاه دهنده برش در اینترون 3 وجود دارد، گسیختگی جزئی برش RNA اتفاق می‌افتد. دست کم چهار رونوشت از این GYP(A) جهش یافته تولید می‌گردند:

- t1²- یک رونوشت که به طور طبیعی برش خورده تولید مولکول GPA با فعالیت ERIK می‌نماید
- t2- یک رونوشت فاقد آگزون A3 تولید مولکولی از GPA فاقد اسید آمینه‌های 59-27 را می‌نماید و لذا یک توالی اسید آمینه‌ای دارد که ویژه شاخص St^a است، اما آنتی ژن ERIK را ندارد

1 - consensus

2 - گرفته شده از ابتدای کلمه transcript به معنی رونوشت.

t3 و t4- دو رونوشت با برش غیر طبیعی که در آنها اگزون‌های A2 و A3 (t3) و A2، A3 و A4 (t4) حذف شده‌اند [۴۰۳]. محصولات پروتئینی مربوط به رونوشت‌های ۳ و ۴ شناسایی نشده‌اند، احتمالاً به دلیل از دست رفتن اگزون A2 که بخشی از توالی راهنما را که در ادغام گلیکوپروتئین به درون غشاء گلبول قرمز نقش دارد، رمزدهی می‌نماید.

۳-۱۵-۲-۴ مولکولی که ST^a و ERIK را بروز می‌دهد مشتق از ژن $GYP(A-E-A)$ می‌باشد

در خانواده استرالیایی با اعضای ERIK+ $St(a+)$ مکانیسم ژنتیکی دیگری نیز وارد عمل می‌شود [۴۰۴]. از دست رفتن اگزون A3 و تولید یک مولکول GP(A-A) با فعالیت ST^a ، نظیر این حالت در GP.Zan ناشی از جایگزینی اگزون A3 و جایگاه برش فعال انتهای ۵' ایترون ۳ توسط اگزون کاذب E3 و جایگاه برش غیر فعال آن در ایترون سوم $GYPE$ می‌باشد. بدین ترتیب GP(A-A)TF توسط یک ژن هیبرید $GYP(A-E-A)$ رمزدهی می‌گردد (شکل ۳-۹). هیچ گونه توضیحی در مورد تجلی آنتی‌ژن ERIK بر سطح این گلبول‌ها ارائه نشده است.

۳-۱۵-۲-۵ مولکولی که St^a و He را بروز می‌دهد، مشتق از یک ژن $GYP(B-A-B-A)$ می‌باشد.

ایمونوبلاتینگ غشاء گلبول‌های قرمزی که ST^a و He را بیان نموده بودند، نشان داد که هر دو آنتی‌ژن روی یک مولکول مستقر شده‌اند، یعنی یک گلیکوفورین غیر طبیعی که شبیه GP(B-A)SCh بود. بررسی DNA نشان داد که این مولکول گلیکوفورین غیر معمول توسط یک ژن $GYP(B-A-B-A)$ ، که احتمالاً نتیجه کراسینگ اور نا برابر بین $GYP(B-A-B)He$ و $GYP(A)$ است، رمزدهی می‌گردد [۲۹۸]. اولین قطعه (۵') $GYPB$ ، منطقه ترجمه نشده ۵' و بخشی از توالی راهنما را رمزدهی می‌نماید، دومین قطعه $GYPB$ ایترونی است و شامل اگزون کاذب $GYPB$ می‌باشد، هیچکدام از این دو قطعه در پروتئین کامل ظاهر نمی‌گردند. قطعه اول $GYP(A)$ حاوی اگزون A2 است و ۲۶ اسید آمینه انتهای آمینی پروتئین کامل از جمله توالی مرتبط با بیان آنتی‌ژن He را رمزدهی می‌نماید (به بخش ۳-۸-۳ مراجعه گردد)، قطعه دوم $GYP(A)$ حاوی اگزون‌های A4-A7 از $GYP(A)$ می‌باشد (شکل ۳-۹). اتصال محصولات اگزون‌های A2 و A4 مربوط به $GYP(A)$ ، آنتی‌ژن ST^a را ایجاد می‌نماید.

۳-۱۵-۲-۶ آنتی- ST^a و آنتی- ERIK

آنتی- ST^a اولیه در یک سرم به همراه آنتی‌بادی‌های قابل تفکیک Ri^a ، Wtr^a ، Sw^a یافت شد [۲۴۶]. گرچه نمونه‌های دیگری از آن زمان به بعد مشاهده شده‌اند [۲۴۵]، آنتی- ST^a یک ویژگی شایع نیست.

آنتی-ERIK در سرم همسر فرد مورد مطالعه دانمارکی $St(a+)ERIK+$ وجود داشت و مسبب یک آزمایش آنتی گلوبولین مستقیم (DAT^1) مثبت روی گلبول‌های قرمز کودکان بود [۳۹۶]. آنتی-ERIK علاوه بر این در دو سرم چند ویژگی، که حاوی آنتی‌بادی‌های متعدد علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع کم بود، نیز وجود داشت [۳۹۶].

۱۶-۳ آنتی‌ژن‌های مرتبط با بیان غیرطبیعی W_r^b

به نظر می‌رسد که GPA در غشاء با باند ۳، مبادله کننده آنیونی گلبول قرمز و آنتی‌ژن گروه خونی دیگو^۲، در ارتباط باشد. این ارتباط با جزئیات بیشتر در بخش ۳-۲۵ و نیز در فصل ۱۰ توصیف خواهد شد. یک جایگزینی اسید آمینه‌ای در پروتئین باند ۳، دی مرفیسم $W_r^a/W_r^b(DI3/DI4)$ را تعریف می‌نماید [۱۶۸]. همانطوری که در بخش ۳-۶-۳ ذکر گردید، در صورتی که GPA وجود نداشته باشد و یا به طور اختصاصی تر، اگر منطقه حول اتصال حوزه‌های خارج سلولی و طی کننده غشاء GPA موجود نباشد، W_r^b بیان نمی‌گردد (به بخش ۱۰-۴-۲ مراجعه گردد). در زیر، جایگزینی‌های اسید آمینه‌ای در موقعیت‌های ۶۳ و ۶۵ GPA، که تولید آنتی‌ژن‌های با شیوع کم MNS نموده و بیان W_r^b را تحت تأثیر قرار می‌دهند، مورد بحث قرار می‌گیرند.

۱-۱۶-۳ $ENEP (MNS39)$ و $HAG (MNS41)$

مردی با سابقه قبلی تزریق خون و یک آنتی‌بادی علیه شاخصی با شیوع زیاد روی GPA (آنتی-ENEP)، معلوم شد که برای یک تغییر G250C در آگزون A4 از GYPA هموزیگوت می‌باشد، تغییر مذکور یک جایگزینی Ala 654 Pro در GPA را رمزدهی می‌نماید [۴۰۵]. این جایگزینی، که ظاهراً یک آنتی‌ژن جدید با شیوع کم HAG ایجاد و آنتی‌ژن با شیوع زیاد ENEP را از بین برده بود، بیان آنتی‌ژن W_r^b را نیز تحت تأثیر قرار داده بود. فقط هشت مورد از پانزده آنتی- W_r^b مونوکلونال و پلی کلونال با گلبول‌های قرمز واکنش دادند. ژن‌های باند ۳ ظاهراً طبیعی بودند و توالی مربوط به حالت هموزیگوت برای W_r^b را داشتند. Pro65 ممکن است ماریپچ آلفای پیشنهادی بین ریشه‌های ۵۶ و ۷۰ GPA را بشکند، و شاید این مسئول بروز W_r^b غیر طبیعی باشد. یک شخص $HAG+$ (بدون ارتباط خویشاوندی)، هتروزیگوت برای جهش Ala65Pro، شناسایی شده است. آنتی- HAG در چندین سرم حاوی آنتی‌بادی‌های متعدد علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع کم و نیز در یک سرم تک ویژگی وجود داشت.

1 - Direct Antiglobulin Test

2- Diego

۳-۱۶-۲ ENAV (MNS42) و MARS (MNS43)

عدم وجود آنتی ژن با شیوع زیاد ENAV از سیستم MNS (در ابتدا به نام AVIS)، و توأم با آن حضور آنتی ژن با شیوع کم MARS در یک زن بومی آمریکایی، ناشی از حالت هموزیگوت برای یک تغییر تک نوکلئوتیدی در اگزون چهارم GYPA که یک جایگزینی Glu63Lys را در GPA رمزدهی می نماید، بود. گلوبول های قرمز وی همچنین Wr^b را به طور ضعیف بیان می کردند، با این حال هیچ گونه ناهنجاری در ژن باند ۳ مشاهده نشد [۴۰۶، ۴۰۷]. به نظر می رسد که آنتی ژن MARS منحصر به قبیله Choctaw آمریکائی های بومی باشد که در آنها، با Ms مرتبط شده دارای یک شیوع تقریبی ۱۵٪ می باشد [۴۰۸]. در میان ۲۰۰۰ فرد سفیدپوست، ۲۰۰ ژاپنی، ۱۱۵ تایلندی، ۱۲۸ آمریکائی مکزیک، ۹۶ Cree، ۷۵ نفر اهل پرو، ۳۸ نفر از Inuit و یا ۸۱ آمریکائی آفریقائی تبار، هیچ فرد + MARS یافت نشد [۴۰۸]. آنتی - MARS در سرم هایی که حاوی چندین آنتی بادی بر علیه آنتی ژن های با شیوع کم گلوبول قرمز بودند شناسایی شد.

۳-۱۷-۱ دیگر آنتی ژن های با شیوع کم سیستم MNS

گروه فعال ISBT در زمینه اصطلاحات گروه خونی، ۲۹ آنتی ژن با شیوع کم متعلق به سیستم MNS را شناسایی نموده است. بسیاری از این آنتی ژن ها قبلاً توضیح داده شده اند، در این قسمت مابقی آنها توصیف خواهند شد. تمامی آنها توارث می یابند و بعضی نیز با بیان غیرطبیعی آنتی ژن های MNS همراهی می کنند. شش مورد از آنها با تغییرات تک اسید آمینه ای در GPA و سه تا با تغییرات تک اسید آمینه ای در GPB مرتبط می باشند. این آنتی ژن ها به ترتیب شماره ای بر اساس نامگذاری ISBT ذکر خواهند شد. فراوانی های مربوط به آنها در جدول ۳-۹ ارائه شده اند.

۳-۱۷-۱ $Vr(MNS12)$

این آنتی ژن به صورت مرتبط با Ms در سه خانواده هلندی و یک خانواده Orcadian (با یک اسم هلندی) مشاهده شد [۴۰۹، ۲۴۰]. ضمن اینکه هیچ نوع آنتی ژن غیر معمول MNS وجود نداشت. Vr ناشی از یک جایگزینی Ser47Tyr در GPA، که توسط یک تغییر C197A در اگزون سوم GYPA رمزدهی می گردد، می باشد [۴۱۰]. Tyr47 یک جایگاه شکافت آلفا- کیموتریپسین را عرضه می کند، که این حساسیت Vr به کیموتریپسین علی رغم استقرار آن روی GPA را توضیح می دهد (۴۰۹). آنتی - Vr اولیه ظاهراً ایمنون بود، شخص تولید کننده آن سه بچه $Vr+$ داشت که هیچکدام مبتلا به بیماری همولیتیک نوزاد نشده بودند [۲۴۰]. دیگر نمونه های آنتی - Vr در سرم های آنتی - S و در سرم های چند ویژگی شناسایی شده اند، در یک بررسی به عمل آمده روی سرم ۲۰۲ اهدا کننده خون، هیچ موردی از آنتی - Vr مشاهده نشد [۲۴۰].

۲-۱۷-۳ Mt^a (MNS14, Martin)

Mt^a به صورت مرتبط با Ns در چهار خانواده گزارش شده است [۴۱۱، ۲۴۲، ۲۴۱]. Mt^a در مردمان سفید و سیاهپوست و در تایلندی‌ها یافت شده است (جدول ۳-۹). این آنتی‌ژن توسط پاپائین و فیسین، اما نه تریپسین، تخریب می‌گردد [۲۷۳، ۲۴۲]. یازده فرد $Mt(a+)$ برای C230T در انتهای ۳' اگزون A3 از $GYP A$ ، که یک جایگزینی Thr58Ile را رمزدهی می‌نماید، هتروزیگوت بودند [۴۱۰]. این جهش یک جایگاه محدود شده $MspI$ را تخریب می‌سازد.

آنتی- Mt^a اولیه در سرمی که حاوی آنتی‌بادهایی علیه دیگر آنتی‌ژن‌های با شیوع کم بود شناسایی شد. دو نمونه دیگر آن نیز به همین صورت پیدا شدند [۴۱۱]. در سرم ۳۵۰۰ اهدا کننده هیچ موردی از آنتی- Mt^a مشاهده نشد [۴۱۱]. در یک مورد بیماری همولیتیک نوزاد ناشی از آنتی- Mt^a نوزاد دچار یرقان شده بود و نیاز به تعویض خون داشت [۲۴۲].

۳-۱۷-۳ Ri^a (MNS16, Ridley)

Ri^a فوق العاده نادر است. فرد مورد مطالعه اولیه $Ri(a+)$ [۲۴۶] تنها مورد شناخته شده است علی‌رغم اینکه ۷۰۵۰۱ اهدا کننده خون اهل لندن مورد آزمایش قرار گرفتند [۲۴۷، ۲۴۶]. خانواده این فرد مورد مطالعه نشان می‌دهد که Ri^a همراه با MS به ارث رسیده و آنتی‌ژن‌های M و S به طور طبیعی متجلی می‌گردند [۲۴۷]. این آنتی‌ژن به تریپسین حساس است، اما نسبت به اثر کیموتریپسین، پاپائین یا پروناز مقاوم می‌باشد [۲۴۷]، الگویی که معمولاً در آنتی‌ژن‌های MNS مشاهده نمی‌شود. Ri^a در ارتباط با G220A در اگزون سوم $GYP A$ ، که یک جایگزینی Glu55Lys را در GPA رمزدهی می‌نماید، می‌باشد [۴۱۲]. این تغییر اسید آمینه‌ای یک جایگاه شکافت تریپسین را ایجاد و جایگاه شکافت پاپائین را از بین می‌برد.

غربالگری ۴۲۸۸۶ سرم به منظور یافتن آنتی- Ri^a ، یک نمونه از آن را شناسایی نمود که آنهم درزنی بود که فاقد سابقه تزریق خون یا حاملگی بود [۲۴۷]. دوازده مورد دیگر این آنتی‌بادی نیز شناخته شده‌اند که همگی در سرم‌هایی حاوی آنتی‌بادی‌های دیگر بر علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع کم، یافت شده‌اند [۲۴۷]. از این سیزده نمونه آنتی- Ri^a ، دوازده نمونه از کلاس IgM هستند.

۴-۱۷-۳ Cl^a (MNS17, Caldwell)

به صورت مرتبط با Ms در دو خانواده اسکاتلندی (یکی با اصل و نسب ایرلندی) شناسایی شد [۲۴۸]. ظاهراً بیان M و s طبیعی است. این آنتی‌ژن توسط تریپسین و پاپائین تخریب می‌گردد. آنتی- Cl^a در سرم ۲۴ نفر از ۵۳۲۶ اهدا کننده خون (۰/۴۵٪) مشاهده شد. در سرم پنج خانم $Cl(a-)$ با فرزندهای $Cl(a+)$ ، هیچ آثاری از آنتی- Cl^a وجود نداشت [۲۴۸].

۳-۱۷-۵ Ny^a (MNS18, Nyberg)

Ny^a بر روی گلبول‌های قرمز تقریباً ۰/۲٪ نروژی‌ها وجود دارد [۲۵۱-۲۴۹]. با این حال به دنبال غربالگری چندین هزار اهدا کننده اروپایی، سفیدپوست آمریکایی و شرقی، فقط یک فرد $Ny(a+)$ (یک سوئوسی [۱۸]) شناسایی شد (جدول ۳-۹). در نوزده خانواده نروژی و یک خانواده سوئوسی، Ny^a به همراه Ns به ارث رسیده بود [۲۵۱-۲۴۹، ۱۸]. آنتی‌ژن‌های N و s در گلبول‌های $Ny(a+)$ طبیعی به نظر می‌رسند [۲۵۰]، Ny^a توسط تریپسین، پاپائین و پروناز تخریب می‌گردد [۲۵۰، ۲۵۲، ۲۷۳]. دو فرد $Ny(a+)$ بدون هیچ ارتباط خویشاوندی، برای تغییر T138A در اگزون سوم *GYPa*، که یک جایگزینی Asp27Glu را در *GPA* رمزدهی می‌نمود، هتروزیگوت بودند [۴۱۳]. اسید آمینه شماره ۲۷ در *GPA* معرف ریشه Xaa در توالی هماهنگ Asn-Xaa-Ser/Thr به منظور N-گلیکوزیلاسیون Asn26 می‌باشد. SDS-PAGE و ایمونوبلاتینگ با استفاده از آنتی‌بادی‌های ضد *GPA*، هیچ گونه ناهنجاری در *GPA* گلبول‌های قرمز $Ny(a+)$ را محرز ننمود، لذا به نظر نمی‌رسد که جایگزینی Asp27Glu N-گلیکوزیلاسیون را تحت تأثیر قرار دهد [۴۱۳، ۱۹۰].

آنتی- Ny^a در حدود ۰/۱٪ اهداکنندگان نروژی و آلمانی یافت شد [۲۵۲، ۲۵۰]. آنتی- Ny^a معمولاً غیرایمیون است، به طوری که در سرم هفت زن $Ny(a-)$ با کودکان $Ny(a+)$ این آنتی‌بادی وجود نداشت [۲۵۰].

۳-۱۷-۶ M^V (MNS21)

M^V یک آنتی‌ژن با شیوع کم است که مرتبط با شکلی واریان از GPB می‌باشد. "آنتی- M^V " اولیه، که با تمامی گلبول‌های $N+$ و نیز با گلبول‌های یک نفر از ۴۰۰ آمریکایی سفید پوست - $M+N$ واکنش داد [۴۱۴]، بعدها به عنوان یک آنتی- NM^V غیر قابل تفکیک در نظر گرفته شد [۲۵۵]. نمونه دومی از آنتی- M^V ، که فاقد فعالیت آنتی- N بود، با گلبول‌های حدود ۰/۶٪ اهدا کنندگان انگلیسی واکنش داد [۲۵۵] (جدول ۳-۹). M^V در چهارده خانواده همراه با Ms و در دو خانواده با MS به ارث رسیده بود [۴۱۴، ۲۵۵]. در مواردی که M^V با Ms مرتبط بود آنتی‌ژن S به صورت ضعیف بیان می‌شد اما هنگامی که در ارتباط با MS قرار می‌گرفت، چنین اثری روی بیان آنتی‌ژن S مشهود نبود [۴۱۵، ۴۱۴، ۲۵۵]. M^V در مقابل تریپسین مقاوم است، اما توسط کیموتریپسین، پاپائین، فیسین و سیالیداز تخریب می‌گردد [۴۱۷، ۴۱۶، ۲۷۳].

گلبول‌های قرمز زنی که برای ژن‌های GP.Hil(Mi.V) و M^V هتروزیگوت بود، فاقد آنتی‌ژن 'N' مقاوم به تریپسین بودند و فقط حدود ۲۵٪ میزان طبیعی GPB را داشتند [۴۱۷، ۱۵۴، ۱۲۵].

GYP(A-B)HiL تولید 'N' یا GPB نمی‌کند (بخش ۳-۱۱-۱). بیان M^V و از دست رفتن 'N' از GPB در ارتباط با یک تغییر C65G در اگزون دوم *GYPB*، که یک جایگزینی Thr3Ser را رمزدهی می‌نماید، می‌باشد [۴۱۸]. مشخص نیست که آیا این تغییر اسید آمینه‌ای مسئول کاهش بیان GPB نیز هست یا خیر، زیرا جهش‌های دیگری، احتمالاً در منطقه آغازگر *GYPB*، هم ممکن است وجود داشته باشند. می‌توان یک قیاس را بین آنتی- NM^V (آنتی- M^V اولیه) و آنتی- M^e به عمل آورد، بدین صورت که اولی با M^V روی GPB و N روی GPA، و دومی با He روی GPB و M روی GPA، واکنش متقاطع می‌دهند. آنتی- M^V ممکن است در پاسخ به تزریق گلوبول قرمز تحریک گردد (ایمیون باشد) [۴۱۶، ۴۱۴]، یا اینکه "ظهور طبیعی" داشته باشد [۲۵۵]. آنتی- M^V از کلاس IgG در دو فرزند از پنج فرزند یک زن M^V با یک همسر M^V+ ، ایجاد بیماری همولیتیک نوزاد نمود [۴۱۶].

۳-۱۷-۷ Far (MNS22)

در خانواده Far، ژن مولد آنتی ژن Far ظاهراً در ارتباط با یک کمپلکس *Ns* بود [۴۱۹، ۲۵۶]. بعدها نشان داده شد که این آنتی ژن مشابه آنتی ژن Kamhuber است [۴۲۰، ۲۵۷]. در خانواده Far، Kamhuber، ممکن است مرتبط با *MS* باشد، اگر چه هیچکدام از این دو خانواده پیوستگی نزدیکی را با *MNS* نشان نمی‌دهد. آنتی ژن Far نسبت به تریپسین، فیسین و پاپائین مقاوم می‌باشد [۲۷۳، ۲۵۷]. آنتی-*Far* مسئول بیماری همولیتیک شدید نوزاد [۴۱۹] و یک واکنش همولیتیک انتقال خون [۲۵۷] بوده است. هر دو این آنتی‌بادی‌های Far احتمالاً ایمیون هستند، یکی ناشی از مصون سازی جنینی - مادری [۴۱۹، ۲۵۶] و دیگری ناشی از تزریق خون *Far+* [۲۵۷]. در سرم ۵۴۱ اهدا کننده خون طبیعی هیچ نمونه ای از آنتی-*Far* یافت نشد [۲۵۶].

۳-۱۷-۸ s^D (MNS23, Dreger)

به صورت مرتبط با *Ms* در یک خانواده سفید پوست آفریقایی جنوبی با ۴۱ عضو s^D+ در چهار نسل مشاهده شده است [۲۵۸]. غربالگری گلوبول‌های قرمز ۱۰۰۰ نفر سفید پوست از آفریقای جنوبی یک مورد s^D+ را شناسایی نمود که بعداً مشخص شد متعلق به خانواده اولیه می‌باشد [۲۵۸]. از میان هزار اهدا کننده از نژاد مختلط، یک نفر نیز s^D+ بود (جدول ۳-۹).

اگزون چهارم *GYPB* از دو فرد s^D+ حاوی یک تغییر C173G بود که Pro39Arg را در GPB^s رمز دهی می‌نمود [۴۱۸]. گلوبول‌های قرمز افراد $S+s+s^D+$ با چندین نمونه از سرم‌های آنتی-*s* واکنش ضعیف نشان می‌دادند و یا اصلاً واکنش نمی‌دادند [۲۵۸]. این بروز تغییرات یافته *s* ممکن است ناشی از تغییرات آرایش فضایی *GPB* به علت جایگزینی Pro39Ag باشد [۴۱۸]. آنتی- s^D با بیماری همولیتیک نوزاد همراه بوده است [۲۵۸].

۳-۱۷-۹ Mit (MNS24, Mitchell)

از میان پانزده خانواده گزارش شده، Mit در سیزده خانواده به همراه MS، در یک خانواده به همراه NS و در خانواده دیگر به همراه MS به ارث رسیده بود [۲۵۹، ۲۶۰ و ۴۲۱]. لوبنکو و همکاران^۱ [۲۶۰] با استفاده از آنتی-Mit با عیار پایین از میان ۱۷۹۵۱ اهدا کننده شمال لندن چهار نفر Mit+ را شناسایی نمودند، اما با استفاده از یک آنتی-Mit با عیار بالا، هفت مورد Mit+ را از میان ۸۲۷۸ اهدا کننده دیگر یافتند. در افراد S+s+Mit+ بیان S غالباً تضعیف می‌گردد [۴۱۸ و ۴۲۱] همینطور در مورد بیان آنتی ژن S در یک خانواده مورد مطالعه [۲۶۰]. میزان تضعیف آنتی ژن S متغیر است و به معرف آنتی-S استفاده شده بسیار وابسته است. یک تغییر G161A که جایگزینی Arg35His را رمز دهی نمود در اگزون چهارم GYPB^۵ سه فرد Mit+ وجود داشت [۴۱۸]. این مشاهده با این نظریه که Arg35 در GPB بخشی از ایستپ های S و s است مطابقت دارد [۸۵] (بخش ۳-۴-۴-۱). تکنیک‌های ایمونوشیمی هیچ گونه کاهش واضح در مقدار GPB موجود در گلبول‌های قرمز Mit+ را ظاهر نساختند [۲۶۰ و ۴۱۸ و ۴۲۱]، گرچه ایمونوبلاتینگ با آنتی-S بطور واضح کاهش را در شدت رنگ پذیری GPB با گلبول‌های S+s+Mit+ آشکار نمود [۵۰]. بیان Mit، به دنبال اثر دهی پروناز بر گلبول‌های قرمز، کاهش می‌یابد اما این حالت در مورد تریپسین یا کیموتریپسین مشاهده نمی‌شود [۲۶۰].

در سرم‌های مربوط به ۶۶۰ اهدا کننده خون و نیز ۵۰۰ سرم قبل از تولد هیچ موردی از آنتی-Mit مشاهده نشده [۲۵۹]. آنتی-Mit اولیه مسئول یرقان خفیف نوزادی بوده است [۲۵۹].

۳-۱۷-۱۰ Or (MNS31, Orriss)

Or در یک خانواده سفید پوست استرالیایی با هفت عضو Or+ به همراه MS در سه نسل منتقل شده بود [۴۲۲]. علاوه بر این در دو نفر ژاپنی [۲۶۶]، یک آمریکائی آفریقایی تبار [۲۶۵] و یک جامائیکایی [۴۲۳] نیز یافت شد (جدول ۳-۹). آنتی-Or توسط سیالوگلیکوپروتئین‌های جدا شده از گلبول‌های قرمز Or+ مهار گردید و در بررسی آنتی ژن‌های ارتیروسیت (تثبیت آنتی ژن‌های ارتیروسیتی در حضور آنتی‌بادی مونوکلونال اختصاصی^۲ [MAIEA]) با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه GPA، واکنش مثبت ایجاد نمود [۴۲۲ و ۲۶۶]. گلبول‌های Or+ متعاقب SDS-PAGE الگوهای رنگ پذیری طبیعی PAS را نشان می‌دهند [۴۲۲]. یک تغییر بازی C148T در اگزون سوم GYPA که جایگزینی Arg31Trp در GPA را رمز دهی می‌کند، در cDNA مربوط به سه فرد Or+ غیرخویشاوند تشخیص داده شد [۴۲۳، ۲۶۶]. آنتی ژن M افراد Or+ در مقابل اثر تخریب کنندگی تریپسین مقاوم تر از آنتی ژن M طبیعی می‌باشد. آنتی ژن Or توسط پروناز، فیسین و سیالیداز تخریب می‌شود، به کیموتریپسین مقاوم

1 - Lubenko *et al.*

2 - Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Erythrocyte Antigens

است و در مقابل تریپسین به همان اندازه مقاومت جزئی نشان می‌دهد که آنتی‌ژن M بر سطح گلبول‌های Or⁺ [۴۲۲ و ۴۲۳]. پنجاه درصد مولکول‌های طبیعی GPA توسط تریپسین در نقطه Arg31 شکافته می‌شوند [۶۱]. حساسیت به سیالیداز حاکی از این است که گلیکوزیلاسیون Thr33 و Thr37 در شکل‌گیری اپیتپ Or مشارکت دارند [۴۲۳].

آنتی-Or اولیه در سرم یک بیمار مبتلا به کم‌خونی همولیتیک اتوایمیون [۲۶۵] یافت شد. این آنتی‌بادی ایجاد HDN با شدت متوسط نموده است [۴۲۳]. بیست نمونه آنتی-Or در میان حدود ۱۷۰۰۰ سرم طبیعی و پنج مورد نیز در ۵۰ سرم حاوی آنتی‌بادی‌های علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع کم شناسایی شده‌اند [۲۶۵، ۲۶۶ و ۴۲۲].

۳-۱۷-۱۱ Os^a (MNS38)

Os^a در یک خانواده ژاپنی که در آن مرتبط با Ms بود شناسایی شده است [۲۶۹]. در میان ۵۰۰۰۰ اهدا کننده ژاپنی هیچ مورد Os(a+) دیگر تشخیص داده نشد. Os^a مقاوم به تریپسین است، اما توسط پاپائین، فیسین و پروناز تخریب می‌گردد. ایمونوبلاتینگ با آنتی-Os^a نشان داد که Os^a روی یک مولکول GPA با حرکت الکتروفورزی طبیعی استقرار یافته است و موقعیت Os^a روی GPA توسط یک آزمایش MAIEA تأیید شد [۴۱۳]. تعیین توالی اگزون سوم GYPA در یک فرد Os(a+) از تنها خانواده دارای Os^a نشان داد که برای یک تغییر نوکلئوتیدی C217T که جایگزینی Pro54Ser را رمز دهی می‌نمود حالت هموزیگوت وجود دارد [۴۱۳]. یک پپتید مصنوعی که نشانگر بخشی از GPA با جهش Os^a بود (VRTVYPSEEEETGE) آنتی-Os^a را مهار نمود، در حالی که در استفاده از پپتید کنترل (VRTVYPPEEEETGE) اثر مهار کنندگی مشاهده نشد.

آنتی-Os^a در چندین سرم که حاوی آنتی‌بادی‌های متعدد علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع کم بودند وجود داشته است، اما هیچ موردی از آن در آزمایش ۱۰۰/۰۰۰ سرم از اهدا کنندگان ژاپنی به دست نیامد [۲۶۹].

۳-۱۸ آنتی‌ژن‌های مرتبط با گلیکوزیلاسیون غیر معمول گلیکوفورین

۳-۱۸-۱ Can و Sj , Tm , M_1 , Hu

چندین آنتی‌بادی شناسایی شده‌اند که گرایش واضحی به گلبول‌های M^+ یا N^+ نشان می‌دهند اما آنتی- M یا آنتی- N نیستند. این آنتی‌بادی‌ها با گلبول‌های قرمز افراد سیاه پوست به نسبت بالاتری از افراد سفید پوست واکنش می‌دهند. این آنتی‌بادیها تنها نوسان در قدرت آنتی‌ژنی M یا N را نشان نمی‌دهند، بلکه آنتی‌بادی‌های مربوط به M غالباً با قدرت بیشتری با گلبول‌های $M+N^+$ (با یک دوز منفرد از آنتی‌ژن M) نسبت به گلبول‌های $M+N^-$ (با یک دوز دو گانه از آنتی‌ژن M) واکنش می‌دهند. همین قاعده نیز در مورد آنتی‌بادی‌های مربوط به N با گلبول‌های $M+N^+$ و $M+N^-$ صادق است. جدول ۳-۱۲ فراوانی آنتی‌ژن‌هایی را که توسط این آنتی‌بادی‌ها در جمعیت‌های سفیدپوست و سیاهپوست شناسایی می‌گردند نشان می‌دهد.

توانایی اتصال بسیاری از نمونه‌های آنتی- M و آنتی- N تا حدودی وابسته به واحدهای الیگوساکاریدی سطح GPA و GPB می‌باشد. در هر حال پلی مرفیسمی که توسط آنها محرز می‌گردد، اصولاً بواسطه توالی نوکلئوتیدی ژن‌های مسئول توالی اسیدآمینه ای زنجیره پلی پپتیدی $GPB-GPA$ تعیین می‌گردد. آنتی‌بادی‌هایی که در این بخش توصیف شده‌اند ظاهراً اختلافات موجود در ساختار الیگوساکاریدهای اطراف انتهای آمینی GPA و احتمالاً GPB را شناسایی می‌نمایند که ناشی از تغییرات به ارث رسیده گلیکوزیل ترانسفراز می‌باشد. این ناهمگونی در ویژگی ترانسفراز احتمالاً از پلی مرفیسم یک لوکوس ژنی جدای از لوکوس کمپلکس MNS مشتق می‌گردد.

۳-۱۸-۱-۱ سرولوژی و ژنتیک

Hu(Hunter): Hu قدیمی ترین آنتی‌ژن MNS بعد از آنتی ژنهای M و N می‌باشد. در سال ۱۹۳۴، لنداشتاینر و همکاران [۴۲۷]، گلبول‌های قرمز یک شخص آمریکایی آفریقایی تبار، به نام آقای Hunter، را به خرگوش تزریق کردند و آنتی‌بادی حاصله گلبول‌های قرمز حدود ۷٪ آمریکایی‌های آفریقایی تبار را آگلوتینه نمود [۴۲۷ و ۲۴]. بعداً مشخص شد که ۲۲ درصد افراد آفریقایی غربی Hu^+ هستند [۲۳۱]. Hu در افراد سفید پوست نسبتاً نادر است [۲۴] (جدول ۳-۱۲). تمام نمونه‌های Hu^+ که واکنشهای مثبت واضح با آنتی- Hu می‌دهند، N^+ هستند گرچه بسیاری از گلبول‌های قرمز N^+ ، Hu^- هستند. آنتی- Hu فقط از طریق مصون سازی خرگوش‌ها با گلبول‌های قرمز آقای Hunter تولید شده‌اند [۴۲۷ و ۴۲۸]، و حالا که این گلبول‌ها دیگر وجود ندارند، ویژگی Hu در شرف انقراض است. اطلاعات خانوادگی محدودی حاکی از این است که Hu به شیوه ای مندلی به ارث می‌رسد [۲۳۱].

رایت و همکاران^۱ [۴۲۴] یک آنتی‌بادی را، که به صورت مشروط آنتی-Sext نامیده شد، توصیف نمودند که ممکن است نشانگر آلوانتی-Hu باشد. این آنتی‌بادی با گلبول‌های قرمز ۲۴ درصد آمریکایی‌های آفریقایی تبار واکنش داد، اما با گلبول‌های قرمز هیچکدام از افراد سفید پوست واکنش نداد، تمامی گلبول‌های واکنش دهنده N+ بودند. گلبول‌های قرمز بسیار معدودی از نوع Hu شناخته شده در دسترس بودند اما سیزده نمونه Hu+ با آنتی-Sext واکنش دادند و سه نمونه Hu- واکنش ندادند.

M₁: فقط روی گلبول‌های قرمز M+ وجود دارد [۴۲۹]. نمونه‌های اولیه آنتی-M₁ بصورت مرتبط با آنتی-M در سرم افراد M-N+ یافت شدند [۱۹۳، ۳۶۲، ۴۲۹]. این سرم‌ها در pH و رقت مناسب به صورت آنتی-M₁ عمل نمودند و با استفاده از این سرم‌ها ۲۴ درصد آمریکایی‌های آفریقایی بعنوان M₁+ شناسایی شدند [۱۹۳ و ۲۴]. بعداً دو نمونه آنتی-M₁ از افراد M+N+ فراوانیهای کمتری را برای آنتی‌ژن M₁ مشخص نمود به طوریکه هفده درصد افراد سیاه پوست و کمتر از یک درصد افراد سفید پوست M₁+ بودند [۴۲۵ و ۴۳۰] (جدول ۳-۱۲).

Tm و S_j: آنتی-Tm ترجیحاً با گلبول‌های N+ واکنش می‌دهد [۴۳۱]. اکثر گلبول‌های M₁+، M+N+Tm+ نیز هستند [۴۳۲]. آنتی-S_j بعنوان یک آنتی‌بادی ثانویه در سرم حاوی آنتی-Tm- اولیه شناسایی گردید [۲۴]. S_j همچون Tm در مردمان سیاهپوست شیوع بیشتری از مردمان سفید پوست دارد. S_j فقط روی گلبول‌های N+ شناسایی شده است.

Can (Canner) Can: تنها نمونه آنتی-Can با گلبول‌های قرمز به ترتیب ۶۰٪ و ۲۷٪ افراد سیاهپوست و سفید پوست واکنش و تمایلی را به گلبول‌های M+ نشان می‌داد [۴۲۶]. نتایج آزمایشات با آنتی-Can در مقابل گلبول‌های قرمزی که اسید سیالیک آنها حذف شده اولین نظریه را مبنی بر اینکه ساختارهای کربوهیدراتی نقش مهمی در ویژگی آنتی-Can و آنتی‌بادی‌های مشابه ایفا می‌نمایند، بوجود آورد [۴۲۶]. اکثر گلبول‌های M₁+، Can+ نیز هستند [۴۳۲].

جدول ۳-۱۲. فراوانی‌های نسبی آنتی‌ژن‌هایی که بصورت جزئی توسط محتوی N- استیل گالاکتوز آمین O-گلیکان‌های سطح GPA تعیین می‌شوند، و بصورت درصد افراد آنتی‌ژن مثبت در کل گروه نژادی و در افراد هر کدام از فنوتیپ‌های MN، ارائه شده‌اند.

Antigen	African Americans					White people					References
	No. tested	Percentage antigen positive				No. tested	Percentage antigen positive				
		Whole pop.	M+N-	M+N+	M-N+		Whole pop.	M+N-	M+N+	M-N+	
Hu	500	7	1	8	12	500	1	0	2	3	[24]
Sext	335	24	0	28	33	167	0	0	0	0	[424]
M ₁ ^a	822	24	46	26	0	500	4	10	1	0	[24,193]
M ₁ ^b	230	13	32	10	0	218	1*	1	0	0	[425]
Tm	500	31	3	27	64	900	25	2	24	61	[24]
Sj	500	4	0	3	9	500	2	0	3	3	[24]
Can	447	60	74	67	37	541	27	44	24	5	[426]

*One sample positive.

^aAnti-M+M₁ used by condition in which only anti-M₁ reacts; ^banti-M₁ used.

۳-۱۸-۲-۱ بیوشیمی

آنتی-Can و آنتی-Tm وقتی با گلبول‌های قرمزی که اسید سیالیک آنها حذف شده بود آزمایش شدند به ترتیب همانند آنتی-M و آنتی-N عمل نمودند [۴۳۳و۴۲۶]. سرم‌ها برای عاری شدن از آنتی-T می‌بایست در مجاور گلبول‌هایی که با سیالیداز مواجه شده بودند و دارای فنوتیپ مناسب بودند قرار گیرند. به نظر می‌رسد که یکی از عوامل عمده‌ای که فعالیت Hu، Sext، M₁، Tm، Sj و Can را تعیین می‌نماید، محتوی N-استیل گلوکز آمین O-گلیکان‌های متصل شده به ریشه‌های اسید آمینه‌ای ۲ تا ۴ از GPA و GPB می‌باشد [۴۳۲]. O-گلیکان غالب سطح GPA، دی سیالوتتراساکارید می‌باشد که در شکل ۳-۲ نشان داده شده است. یک الیگوساکارید دیگر که در آن یکی از واحدهای اسید سیالیک توسط N-استیل-گلوکز آمین جایگزین می‌گردد نیز وجود دارد که شیوع آن در مردمان سیاهپوست بیشتر از مردمان سفیدپوست است [۴۳۴،۲۷۷]. داهر و همکاران^۱ [۴۳۲] اظهار داشته‌اند که آنتی‌بادی ضد Can، Sj، TM، M₁، Sext، Hu، با مولکول‌های GPA حاوی این O-گلیکانهای واریان زمانی که روی چارچوب پپتیدی مختص M یا N موجود باشند، واکنش می‌دهند. اگر سطح O-گلیکان به حد کافی بالا باشد، بعضی از این آنتی‌بادی‌ها صرف نظر از نوع MN با گلبول قرمز واکنش خواهند داد. ریس وسانگر^۲ [۱۸] به تضعیف آنتی‌ژن N روی گلبول‌های M₁+M+N+ در مقایسه با گلبول‌های M₁-M+N+ پی بردند. این وضعیت احتمالاً بدین علت بوده است که آنتی-N با کارایی کمتری به GPA^N، که نسبت بالایی از الیگوساکاریدهای حاوی N-استیل-گلوکز آمین را دارد، پیوند یافته است.

1 - Dahr *et al.*

2 - Race and Sanger

در اینکه مجموعه آنتی‌بادی‌های توصیف شده در این بخش نه تنها یک پلی مرفیسم را در جایگاه ژنی MN (GYP)، بلکه پلی مرفیسم ژن‌های مولد گلیکوزیل ترانسفرازهایی که مسئول بیوسنتز O- گلیکان‌های منطقه انتهای آمینی GPA هستند را نیز شناسایی می‌کنند، تقریباً تردیدی وجود ندارد. مطالعات محدود خانوادگی دال بر این بوده است که Tn ، M_1 و Hu از یک شیوه منظم توارث تبعیت می‌کنند [۴۳۵، ۲۳۱]، گرچه یک مطالعه خانوادگی حاکی از توارث غیر عادی M_1 بوده است [۴۳۶].

۳-۱۸-۲ Tn ، T و Cad

آنتی‌ژن‌های Tn ، T و Cad ، بدن‌بال تغییراتی در الیگوساکاریدهای دارای اتصال اکسیژنی در ساختمان گلیکوفورین‌ها ایجاد می‌گردند. شاخص‌های مذکور گرچه غالباً روی GPA مطالعه شده‌اند، فقط منحصر به سیالوگلیکوپروتئین‌های گلبول قرمز نیستند و ممکن است روی دیگر اجزاء گلبول قرمز و حتی دیگر سلول‌ها نیز یافت شوند. لذا در اینجا فقط به طور مختصر بحث خواهند شد.

T و Tn آنتی‌ژن‌های مخفی هستند و در حالت طبیعی قابل شناسایی نیستند. اکثر سرم‌های انسانی حاوی آنتی- T و آنتی- Tn می‌باشند، لذا گلبول‌های قرمزی که این آنتی‌ژن‌ها را بیان می‌سازند پلی آگلوتینابل^۱ هستند (توسط اکثر سرم‌های انسانی آگلوتینه می‌شوند) و به طور مفصل در فصل ۳۱ توضیح داده خواهند شد. گلبول‌های قرمز زمانی فعالیت T را ظاهر می‌سازند که دی استیله شوند، که یا به دنبال اثر دادن سیالیداز در آزمایشگاه و یا به واسطه عمل سیالیداز باکتریایی در داخل بدن اتفاق می‌افتد، این وضعیت منجر به کنده شدن واحدهای اسید سیالیک از تتراساکاریدهای دارای اتصال اکسیژنی و متعاقب آن ظهور ساختاری با فعالیت T ، $Gal\beta 1 \rightarrow 3GalNAc$ ، می‌گردد. بروز T در گلبول‌های دی سیالیده (فاقد اسید سیالیک) $En(a-)$ کاهش می‌یابد [۱۱۵، ۱۱۶ و ۱۱۹]. شاخص Tn از طریق N- استیل گالاتوز آمین به سرین یا ترئونین متصل می‌گردد، O- گلیکان‌های موجود در گلبول‌های دارای فعالیت Tn ، از این مونوساکارید و یا یک دی ساکارید سیالیده تشکیل می‌شوند. گلبول‌های قرمز دارای فعالیت Tn ، احتمالاً به دلیل جهش سوماتیک فاقد β -۱ و ۳-D- گالاتوزیل ترانسفراز (ترانسفراز T) می‌باشند. بنابراین گالاتوز نمی‌تواند به N- استیل- گالاتوز آمین (دارای اتصال اکسیژنی) گلیکوفورین‌ها و دیگر ساختارها متصل گردد. میزان بروز M و N در سطح گلبول‌های دارای فعالیت T و Tn پایین می‌باشد.

در فنوتیپ $Sd(a++)$ (که در فصل ۲۹ توصیف شده است) بعضی از الیگوساکاریدهای دارای اتصال اکسیژنی گلیکوفورین‌ها، یک ریشه N- استیل- گالاتوز آمین اضافی دارند که به گالاتوز متصل شده و تولید یک دی سیالوپتتاساکارید می‌نماید (بازنگری در منبع [۳۵]).

1 - polyagglutinable

۱۹-۳ واریان‌های کمی

به منظور توصیف بیان ضعیف N و S، علائم S_2N_2 و S_2 بکار رفته‌اند (به منبع [۴۳۷] مراجعه گردد)، به واسطه عدم وجود یک مطالعه بیوشیمیایی و یا آزمایشی با معرف‌های سرولوژیک امروزی، این فنوتیپ‌ها دیگر اهمیت چندانی ندارند.

چهار خانواده توصیف شده‌اند که در آنها یک آزمایش مثبت آنتی گلوبولین مستقیم (DAT)^۱، بدون هیچ نشانه ای از کم خونی همولیتیک، به صورت صفتی غالب به ارث رسیده است. در یکی از این خانواده‌ها [۴۳۸] آزمایش مثبت DAT همراه با بیان ضعیف M (که M_2 نامیده شد) به ارث رسیده بود. در دو خانواده [۴۳۹، ۴۴۰]، از جمله یکی با دوازده عضو DAT مثبت، به همراه N ضعیف (N_2)، اما متفاوت از N_2 که در قبل توصیف شده) به ارث رسیده بود. در خانواده چهارم [۱۸] بیان غیرطبیعی آنتی‌ژن‌های MN مشاهده نشد. آنتی-IgG، آنتی-IgA و آنتی-C3 موجود در معرف آنتی گلوبولین در واکنش نقشی نداشتند، اما حضور آنتی-IgM مهم به نظر می‌رسید [۴۳۹، ۴۴۰].

۲۰-۳ آنتی‌بادی‌های MNSsU

۱-۲۰-۳ آنتی-M انسانی

آنتی-M یک آنتی‌بادی نسبتاً شایع «با ظهور طبیعی» است. از زمان توصیف اولیه توسط ولف و جانسون^۲ [۴۴۱] در سال ۱۹۳۳، هزاران نمونه از آن شناسایی شده است. پراولت^۳ [۴۴۲] با استفاده از پلی برن با قدرت یونی کم در یک سیستم خود تحلیل گر و گلبول‌های غربالگر $M+N+$ ، ۶۴ مورد آنتی-M را در سرم‌های ۲۲۵۰۰ (۰/۳٪) اهداکننده شناسایی نمود که ۶۲ مورد آنها از اهداکنندگان M- و دو مورد آنها از اهداکنندگان M+ بودند. اکثر نمونه‌های آنتی-M فقط در دماهای پایین‌تر از ۳۷ درجه سانتیگراد، با یک دمای اپتیمم ۴ درجه سانتیگراد، واکنش می‌دهند، اما گاهی اوقات نمونه‌هایی از آن گلبول‌های قرمز را در دمای بدن آگلوتینه خواهند نمود [۴۴۳]. آنتی-M گرچه معمولاً به عنوان یک آنتی‌بادی «با ظهور طبیعی» مورد توجه می‌باشد، شواهدی مبنی بر این وجود دارد که ممکن است به واسطه انتقال خون [۴۴۴، ۴۴۵] یا عفونت باکتریایی در کودکان [۴۴۶] نیز تحریک گردد. بسیاری از نمونه‌های آنتی-M یک اثر قابل ملاحظه مقدار (دزاز^۴) را نشان می‌دهند، به طوری که با گلبول‌های M+N- قوی‌تر از گلبول‌های M+N+ واکنش می‌دهند [۱۸]، انواع ضعیف‌تر آن غالباً در آزمایشات با گلبول‌های M+N+ شناسایی نمی‌شوند.

1 - Direct Antiglobulin Test

2 - Wolf and Jonsson

3 - Perrault

4 - dosage effect

آلوبینکو^۱ [مذکور در منبع ۴۴۳] شیوع ۱ در ۲۵۰۰ سرم اهداکننده را برای آنتی-M مشخص نمود، اما وقتی از گلبول‌های M+N+ به منظور غربالگری استفاده کرد، این میزان فقط ۱ در ۵۰۰۰ سرم بود. شیوع آنتی-M در کودکان بیشتر از بزرگسالان است [۴۴۷]، به ویژه در بیماران دچار سوختگی [۴۴۸]. اکثر نمونه‌های آنتی-M حاوی یک جزء IgM هستند [۴۴۳]، گرچه مشخص شده که ۷۸٪ آنها حداقل دارای مقداری IgG هستند و این آنتی‌بادی‌های IgG می‌توانند گلبول‌های قرمز معلق در سالیین را آگلوتینه نمایند [۴۴۹]. آنتی-M پیوند بسیار ضعیفی با کمپلمان برقرار می‌کند، و یا اصلاً پیوند نمی‌یابد [۴۴۳، ۴۴۵، ۴۵۰]. آنتی‌بادی‌های MN غالباً وابسته به pH هستند و این موضوع به تفصیل در بخش ۳-۲۰-۷ مربوط به آنتی‌بادی‌های مونوکلونال بحث خواهد شد. بی‌تی و زولزر^۲ [۴۵۱] با اسیدی کردن سرم ۱۰۰۰ اهداکننده M-N+، ۲۱ مورد آنتی-M وابسته به pH پایین را شناسایی نمودند. این آنتی-M های نوع IgM دارای یک pH اپتیمم ۷/۵، عمدتاً در pH= ۷/۵ غیر فعال و در pH زیر ۶/۵ غیراختصاصی شدند. آلو آنتی‌بادی‌های شبیه M، که با گلبول‌های خودی واکنش نمی‌دهند، گاهی اوقات در سرم افراد M+N+ شناسایی شده‌اند [۴۵۲-۴۵۴]. در یک مورد، آلو آنتی‌بادی شبیه M بیمار با گلبول‌های چهار فرزند M+N+ او که M را از وی به ارث برده بودند واکنش نداد [۴۵۴]. در مثالی دیگر نیز، آنتی‌بادی شبیه M با گلبول‌های قرمز M+N+ خواهر بیمار واکنشی ایجاد ننمود [۴۵۲].

۳-۲۰-۲ آنتی-N انسانی

هر گونه بحثی پیرامون آنتی-N و آنتی‌ژن N، به واسطه حضور شاخص N، نه تنها بر سطح GPA افرادی که یک آلل N دارند، بلکه همچنین بر سطح GPB اکثر افراد، پیچیده می‌گردد. بنابراین اکثر افراد M/M (که غالباً M+N+ نوشته می‌شود) در سطح گلبول‌های قرمزشان N را دارند، که معمولاً به صورت 'N' مشخص می‌شود، و فقط در موارد بسیار نادر آنتی-N می‌سازند. اگر هم این آنتی‌بادی را بسازند معمولاً واکنش ضعیف می‌دهد. این آنتی‌بادی‌ها، که غالباً گلبول‌های M+N- را در دماهای پایین آگلوتینه نموده و قابل حذف از سرم به روش جذب با گلبول‌های M+N- هستند [۴۵۶، ۴۵۵، ۳۰]، مطلقاً آلوآنتی‌بادی نمی‌باشند.

گلبول‌های قرمز افرادی که فنوتیپ‌های نادر M+N-S-s- (U- یا U+^{var}) دارند فاقد آنتی‌ژن 'N' هستند و ممکن است یک آلوآنتی-N قوی تولید نمایند که تمامی گلبول‌های حامل یک شاخص N، چه در سطح GPA و چه GPB، را آگلوتینه خواهد نمود [۱۹۳، ۴۵۸-۴۵۶]. به این آنتی‌بادی‌ها اسامی آنتی 'N'، آنتی-N و یا آنتی-NU اطلاق شده است، اصطلاحاتی گمراه کننده حاکی از این که آنها از لحاظ ویژگی با آنتی-N تولید شده توسط افراد M+N-S+/s+ تفاوت دارند.

1 - A.Lubenko

2 - Beatti and Zuelzer

آنتی-N در مقایسه با آنتی-M نسبتاً نادر است [۴۴۲، ۱۸]، اکثر آنتی-N ها از نوع IgM « با ظهور طبیعی» بوده و در دمای بالای ۲۵ درجه سانتیگراد غیرفعال هستند [۴۴۳]. آنتی-N-ایمونیون به دنبال تزریق خونهای متعدد نیز ایجاد می‌شود [۴۵۸]، که معمولاً در مردمان آفریقائی‌الاصل با گلبول‌های قرمز M+N-S-S-u- مشاهده می‌شود. یک آنتی-N وابسته به pH در سرم یک مرد M+N-S-S+ واکنش اپتیمم خود را در pH زیر ۷ نشان می‌داد [۴۶۰]. آنتی-N غالباً یک اثر دزاژ قابل توجه را نشان می‌دهد [۱۸]. چند نفر M+N+ سالم، آنتی‌بادی‌های شبیه N ساختند که گلبول‌های خودی را آگلوتینه نمی‌کردند [۴۶۵-۴۶۱].

۳-۲۰-۳ اهمیت بالینی آنتی-M و آنتی-N

۳-۲۰-۳-۱ آلو آنتی‌بادی‌ها

اکثر انواع آنتی-M و آنتی-N در ۳۷ درجه سانتیگراد فعال نیستند و ارزش بالینی ندارند. عموماً این آنتی‌بادی‌ها را می‌توان در آزمایشات مربوط به انتقال خون نادیده گرفت و در صورتی که مرحله انکوباسیون در دمای اتاق از آزمایش سازگاری و غربالگری آنتی‌بادی حذف شود، تشخیص داده نخواهند شد. در صورتی که با مواردی از آنتی-M یا آنتی-N برخورد شود که در ۳۷ درجه سانتیگراد فعال هستند، باید خون سازگار در آزمایش کراس میج تهیه گردد.

آنتی-M و آنتی-N به عنوان عوامل واکنش‌های همولیتیک حاد و تأخیری انتقال خون مطرح شده‌اند [۴۴۷، ۴۵۸ و ۴۶۹-۴۶۶]، اگر چه ایسیت و آنستی^۱ [۱۹۵] در مورد اعتبار و سندیت بعضی از این ادعاها تردید دارند. این نظریه که آنتی-M و آنتی-N می‌توانند فعالیت همولیتیک داشته باشند به واسطه نتایج آزمایشات سنجش طول عمر گلبول قرمز با کروم ۵۱ (^{51}Cr) و نیز روش‌های سنجش فعالیت بیگانه خواری مونوسیت، حمایت شد [۴۶۸، ۴۵۸].

بیماری همولیتیک نوزاد ناشی از آنتی-M نادر است. گزارشاتی وجود دارند مبنی بر این که بیماری همولیتیک نوزاد ناشی از آنتی-M منجر به مرگ جنین شده و یا درمان با تعویض خون را طلبیده است [۴۵۹، ۴۷۵-۴۷۰]. یک آنتی-M با عیار بالای IgG+IgM مسئول آپلازی خالص گلبول قرمز نوزادی بود و در محیط کشت منجر به کاهش اساسی در میزان تکثیر سلول‌های اریتروئیدی شد [۴۷۵]. بنابراین آنتی-M همچون آنتی-K (بخش ۷-۳-۵-۲) ممکن است اصولاً با تخریب سلول‌های پیشساز اریتروئیدی، نه اریتروسیت‌های بالغ، ایجاد بیماری همولیتیک نوزاد نماید. هیچ موردی از بیماری همولیتیک نوزاد جدی ناشی از آنتی-N به ثبت نرسیده است، اما آنتی-N در زنی با فنوتیپ M+N-S-S-U^{var} ایجاد بیماری همولیتیک نوزاد خفیف در کودک M+N+ وی نموده بود [۴۵۷].

۳-۲۰-۲ اتو آنتی بادی ها

حداقل پانزده مورد از بیماران دارای اتو آنتی-M گزارش شده و توسط ساشر و همکاران^۱ [۴۷۶] بازنگری شده‌اند. از این پانزده اتو آنتی بادی، یازده مورد به عنوان بی ضرر تلقی شدند، حال آنکه چهار مورد دیگر علائم بیماری هم‌گلویتینین سرد را به وجود آوردند. مواردیکه کم خونی نیز مشاهده می شد، معمولاً خفیف بود و به راحتی کنترل می شد [۴۷۷، ۴۷۸]. یک آنتی بادی شبیه Pr با گرایش پیوندی برای گلبول های M+ در یک بیمار M+N+، ایجاد بیماری هم‌گلویتینین سرد مزمن و کم خونی همولیتیک اتو ایمنی نمود [۴۷۹]. چند مورد از کم خونی همولیتیک اتوایمنی گرم ناشی از اتو آنتی-N توصیف شده است [۱۷۳]، که یکی از آنها فرجامی کشنده داشته است [۴۸۰]. تا بحال اتو آنتی-M که مسئول کم خونی همولیتیک اتوایمنی گرم باشد، مشاهده نشده است [۱۷۳].

۳-۲۰-۴ آنتی-N و دیالیز کلیوی

در سال ۱۹۷۲، هاول و پرکینز^۲ [۴۸۱] دوازده نمونه به ظاهر آنتی-N واضح را در سرم ۴۱۶ بیمار که با همودیالیز مزمن نگهداری شده و کاندید دریافت پیوند کلیه در آینده بودند شناسایی نمودند. آنتی بادی ها بعد از عمل پیوند ناپدید شدند. تولید این آنتی بادی های شبیه N (آنتی-Nf) ناشی از مصون شدن بیماران توسط گلبول های قرمز باقیمانده ای است که شاخص N سطح شان تحت تأثیر فرمالدئید که در استریل سازی غشاء های دیالیز استفاده می شود، تغییر می یابد [۴۹۱-۴۸۱]. بین ۲۱٪ و ۲۷٪ بیماران دیالیزی که از غشاء های استریل شده با فرمالدئید استفاده می کنند، صرف نظر از فوتیپ MN دارای آنتی-Nf می باشند [۴۸۷، ۴۸۸، ۴۹۱].

آنتی-Nf وقتی که با گلبول های قرمز مواجه شده با محلول فرمالدئید آزمایش می شود، واکنش خیلی قوی نشان می دهد و گلبول های قرمز تمامی گروه های MN، از جمله گلبول های M+N-S-S را غالباً آگلوتینه می نماید [۴۸۳، ۴۸۸-۴۸۵، ۴۹۲]. به علاوه سرم های بسیاری از بیماران دیالیزی که فاقد آنتی-Nf می باشند، این ویژگی «آنتی فرمالدئید» را دارند. آنتی بادی هایی که علیه این گلبول های مواجه شده با فرمالدئید ایجاد می شوند از هر دو نوع IgG و IgM می باشند، حال آنکه آنتی بادی های ضد گلبول های N+ مواجه نشده با فرمالدئید (آنتی-Nf) IgM هستند و به عنوان آنتی بادی هایی که در مرحله انتهایی مصون سازی ظاهر می گردند مورد توجه می باشند [۴۸۹].

داهر و مولدز^۳ [۴۹۲] نشان دادند که اثر دهی فرمالدئید، توانایی گلیکوفورین را در مهار آگلوتیناسیون حاصل از آنتی-Nf، به شدت افزایش می دهد، اما فقط در صورتی که گروه های آمینوی

1 - Sacher *et al.*

2 - Howell and Perkins

3 - Dahr and Moulds

انتهای آمینی مولکول از قبل مهار نشده باشند. آنان بدین نتیجه رسیدند که آنتی-Nf، شاخصهای N سطح GPA و GPB که در آنها گروه آمینوی آزاد در لوسین انتهای آمینی به واسطه واکنش با فرمالدئید اصلاح شده است شناسایی می‌نماید. ریشه‌های اسید سیالیک متصل به اسید آمینه‌های دوم، سوم و چهارم ممکن است در جایگاه پیوند کننده شرکت داشته باشند. احتمال می‌رود که آنتی‌بادی‌های ضد فرمالدئید توسط دیگر پروتئین‌های تغییر یافته با فرمالدئید تحریک شوند، چرا که واکنش گلبول‌های قرمز M+N-S- با اکتاپتیدهای انتهای آمینی GPA که تحت تأثیر فرمالدئید واقع شده است، مهار نمی‌گردد.

۳-۲۰-۵ آنتی‌بادی‌های وابسته به گلوکز

بعضی از آنتی‌بادی‌ها که فقط با گلبول‌های قرمز از قبل مجاور شده با گلوکز واکنش می‌دهند دارای ویژگی M یا N هستند [۴۹۶-۴۹۴]. این آنتی‌بادی‌ها به واسطه حضور گلوکز در محلول‌های نگهدارنده گلبول قرمز، که در پانل‌های تعیین هویت آنتی‌بادی استفاده می‌شوند شناسایی شدند. انکوباسیون در محلول‌های ۱-۲٪ گلوکز در pH خنثی یا قلیایی به مدت چند ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد یا چند روز در ۴ درجه سانتیگراد، به گلبول‌های قرمز این امکان را می‌دهد که توسط آنتی‌بادی‌های وابسته به گلوکز آگلوتینه شوند. در مورد بعضی از آنتی‌بادی‌ها حضور قندهای دیگر همچون مانوز، گالاکتوز یا N-استیل گلوکز آمین، یک اثر مشابه داشتند [۴۹۶، ۴۹۴]. یک نمونه آنتی-M اختصاصی گلوکز، که در یک فرد دیابتی M-N+ تولید شده بود، گلبول‌های قرمز M+ شش مورد از هفت بیمار مبتلا به دیابت شیرین را بدون انکوباسیون قبلی در حضور گلوکز آگلوتینه نمود، که احتمال می‌رود این حالت ناشی از گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی پروتئین‌ها به علت افزایش سطح سرمی گلوکز بوده است [۴۹۵]. این احتمال نیز وجود دارد که گلوکز به گروه آمینوی ریشه‌های اسید آمینه انتهای آمینی GPA و GPB متصل شود و آرایش فضایی شاخص M یا N را تغییر دهد [۴۹۶-۴۹۴].

۳-۲۰-۶ آنتی-M و آنتی-N تولید شده در حیوانات

قبل از ظهور آنتی‌بادی مونوکلونال (بحث بعدی را ببینید)، معرف‌های آنتی-M و آنتی-N عموماً از طریق تزریق گلبول‌های قرمز انسانی با فنوتیپ مشخص MN به خرگوش‌ها تولید می‌شدند. آنتی‌بادی‌های اولیه M و N لندشتاینر و لوین [۴-۱]، که منجر به کشف سیستم MN گردید، هتروآگلوتینین‌هایی بودند که در خرگوش‌ها تولید می‌شدند.

۳-۲۰-۷ آنتی-M و آنتی-N مونوکلونال

آنتی‌بادی‌های مونوکلونال متعددی بر علیه آنتی‌ژن‌های M و N تولید شده و نمونه‌های بسیاری از آنها در سه کارگاه بین‌المللی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته‌اند [۴۸، ۱۷۶۸۷]. این آنتی‌بادی‌ها را به کمک تکنیک هیبریدومای موشی با بکارگیری سلول‌های طحال از موشهایی که با گلبول‌های قرمز انسانی و یا گلیکوفورین جدا شده از گلبول‌های قرمز انسانی مصون شده‌اند، تولید نموده‌اند. اکثر آنها از نوع IgG بوده‌اند، گرچه تعدادی آنتی-M و آنتی-N از نوع IgM نیز تولید شده‌اند.

فریزر و همکاران^۱ [۴۹۸، ۴۹۷] دو نوع آنتی-N مونوکلونال را به واسطه مصون‌سازی موش‌ها با گلبول‌های قرمز M+N-S-S+ تولید نمودند، در این مورد عامل ایمونوژن احتمالاً شاخص 'N' در سطح GPB بوده است. هر دو نوع آنتی‌بادی مذکور با GPB و GPA^N واکنش می‌دادند. از لحاظ میل پیوندیشان برای شاخص‌های N و 'N' دونوع آنتی-N مونوکلونال با هم تفاوت داشتند، به طوری که یکی از آنها شدت اتصال یا ولج^۲ بالایی برای شاخص N روی GPA و دیگری برای 'N' روی GPB نشان می‌دادند [۴۹۹]. گرچه ساختارهای اولیه N و 'N' یکسان می‌باشند، اما آنتی‌بادی‌های مونوکلونال مذکور ممکن است قادر به افتراق ساختمان نوع سوم آنها باشند [۴۹۹].

آنتی‌بادی‌های مونوکلونال معمولاً نسبت به تغییرات pH، حساس‌تر از آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال در سرم‌های انسانی و حیوانی می‌باشند. آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال، مخلوطی از مولکول‌های آنتی‌بادی بر علیه اپیتپ‌های مختلف یک شاخص آنتی‌ژنیک می‌باشند، که هر کدام از این آنتی‌بادی‌ها pH اپتیمم متفاوتی دارد. در منطقه شاخص‌های M و N تعدادی گروه‌های باردار وجود دارند که شامل: گروه‌های آمینوی اسید آمینه انتهایی، گروه کربوکسیل اسید سیالیک روی اسیدهای آمینه ۲، ۳ و ۴ و اسید گلوتامیک در موقعیت ۵ مربوط به N می‌باشند. تغییرات در pH، بار الکتریکی سطح این گروه‌ها را تغییر داده منجر به دگرگونی‌هایی در آرایش فضایی منطقه مربوط به شاخص‌های M و N می‌گردد، که این نیز به نوبه خود میل پیوندی برای آنتی‌بادی‌های مونوکلونال متعدد را تغییر می‌دهد [۵۰۰].

بسیاری از آنتی-M های (یا با بیان دقیق‌تر، آنتی‌بادی‌های شبیه آنتی-M) مونوکلونال، در pH، درجه حرارت و غلظت اپتیمم برای قدرت واکنش، گلبول‌های M-N+ را آگلوتینه خواهند نمود [۵۰۱، ۲۸۳، ۲۸۲]. از نقطه نظر تولید معرف، معمولاً می‌توان با رقیق‌سازی و یا با تنظیم pH بر این مشکل فائق آمد.

اکثر آنتی‌بادی‌های مونوکلونال MN با گلبول‌های قرمز یا گلیکوفورین‌های بدون اسید سیالیک واکنش نمی‌دهند و یا ولج بسیار پایینی را نسبت به آنها نشان می‌دهند. در هر حال نمونه‌های بسیار

1 - Fraser et al.

2 - Avidity

محدودی از آنتی-M و آنتی-N وجود دارند که اپیتپ‌های مستقل از اسید سیالیک را شناسایی می‌نمایند [۱۷۶، ۸۷، ۴۸].

آنتی‌ژن‌های M و N در اسیدهای آمینه اول و پنجم انتهای آمینی GPA با هم فرق دارند (به جدول ۳-۷ مراجعه شود)، آنتی-M، Ser1 یا Gly5 و آنتی-N، Leu1 یا Glu5 را شناسایی می‌نمایند. عواملی دیگر، به ویژه حضور الیگوساکاریدها، معمولاً برای حفظ قوام و پایداری اپیتپ اهمیت دارند.

گلبول‌های قرمزی که فنوتیپ‌های نادر M^C و He دارند (به جدول ۳-۷ مراجعه شود) در شفاف سازی این خصائص ظریف بسیار سودمند بوده‌اند، و همینطور روش‌های اصلاح اسید آمینه انتهای مثل استفاده از استیلاسیون گروه آمینی آزاد یا حذف اسید آمینه انتهای آمینی با روش تخریب ادمان^۱ [۵۰۲، ۱۷۶، ۸۷، ۴۸]. بطور کلی آنتی-M‌هایی که حضور Ser1 را تشخیص می‌دهند با گلبول‌های M^C/N اما نه با گلبول‌های استیله واکنش می‌دهند [۵۰۳، ۲۸۲]، حال آنکه نمونه‌هایی از آن که Gly5 را شناسایی می‌کنند با گلبول‌های M^C واکنش نداده اما با گلبول‌های استیله واکنش می‌دهند و ممکن است به GPB با فعالیت He که در موقعیت ۵ دارای گلاسن است، اتصال یابند [۵۰۱]. بعضی از انواع آنتی-M که با یک اپیتپ وابسته به Gly5 واکنش می‌دهند با M^B واکنش متقاطع خواهند داد [۲۸۵]. تعیین ویژگی دقیق آنتی‌بادی‌های N مشکل‌تر است. انواعی از آنتی-N که Leu1 (جای Glu5) را شناسایی می‌کنند نباید با GPA مربوط به گلبول‌های M^C/M واکنش دهند [۵۰۳ و ۵۰۴].

ویژگی دقیق آنتی‌بادی‌های MN با استفاده از آزمایشات مهار هم‌آگلوتیناسیون نیز مورد تجزیه و تحلیل واقع شده است، برای این منظور پودرهای تهیه شده در استون از سلول‌های تخمدان هامستر چینی آلوده شده به $GYP A \text{ cDNA}$ ، مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۵۰۵ و ۵۰۶]. این GPA^M ، $cDNA$ و GPA^N را رمز دهی می‌کرد و یا از طریق جهش زایی هدفدار اصلاح شد تا توالی M^C یا یک توالی جدید انتهای آمینی MN : Leu-Ser-Thr-Thr-Gly (به جدول ۳-۷ مراجعه شود)، را رمز دهی می‌نماید. به منظور پیوند یافتن، یک آنتی-M مونوکلونال به Gly5 و اسید سیالیک، سه آلوانتی-M انسانی نیاز به Ser1، نه Gly5، و دو آنتی-N مونوکلونال و لکتین ویشیا گرامینا^۲ نیاز به Leu1 (اما نه Glu5) داشتند.

قطعات Fab آنتی-M و آنتی-N مونوکلونال موشی که در سطح باکتریوفاژهای آلوده به cDNA مربوط به منطقه متغیر زنجیره سبک، متجلی شده بودند خصوصیات ایمونولوژیکی مشابهی با قطعات Fab مربوط به آنتی‌بادی‌های هیبریدومای اصلی اشان داشتند [۵۰۷، ۴۹۳]. میل پیوندی قطعه Fab مربوط به آنتی-N محلول و نو ترکیب که از cDNA موش مشتق شده بود، از طریق جابجاسازی^۳ قطعات Fd با زنجیره‌های سبک مشتق از کتابخانه، ۱۰۰ برابر تقویت شد. این قطعات جهش یافته Fab میل پیوندی

1 - Edman degradation

2 - Vicia graminea

3 - Shuffling

مشابه با مولکول‌های ایمونوگلوبولین اصلی داشتند و گلبول‌های قرمز N^+ را در حضور آنتی‌گلوبولین آگلوتینه نمودند [۵۰۸].

۳-۲۰-۸ لکتین‌ها

یک عصاره دانه ای مشتق از ایبریس آمارا^۱ دارای ویژگی M بود [۵۰۹]، اما هیچ نوع لکتین دانه‌ای رضایت بخش به عنوان یک معرف گروه بندی آنتی- M ، یافت نشده است [۵۱۰]. یکی از مفیدترین لکتین‌ها در سرولوژی گروه خون، از سوی اتنسوزر و سیلبراشمیت^۲ [۵۱۱] در دانه‌های یک گیاه برزیلی به نام ویشیا گرامینا شناسایی گردید. این لکتین در رقت مناسب، به عنوان یک آنتی- N عمل می‌کند و معرف تعیین گروه خونی مفیدی است.

تعداد مولکول‌هایی از لکتین ویشیا گرامینا که به گلبول‌های $M-N^+$ پیوند می‌یابند بیست برابر تعداد مولکول‌هایی است که به گلبول‌های $M+N^-$ اتصال می‌یابند [۵۱۲، ۵۱۳]. این لکتین به GPA و GPB مربوط به گلبول‌های $M-N^+$ و $M+N^+$ اما تنها به GPB گلبول‌های $M+N^-$ پیوند می‌یابد [۵۱۳، ۵۱۴]. اثردهی تریپسین بر گلبول‌های قرمز توانایی لکتین ویشیا گرامینا در پیوند به ' N ' را افزایش می‌دهد. این لکتین تمامی گلبول‌های مجاور شده با تریپسین را آگلوتینه می‌کند بجز گلبول‌های مربوط به فنوتیپ‌های $S-s-U^-$ و $S-s-U^{var}$ و نیز دیگر فنوتیپ‌های نادر که در آنها ' N ' وجود ندارد [۵۱۵]. لکتین ویشیا گرامینا به گلبول‌های مجاور شده با سیالیداز با قدرتی بیشتر از گلبول‌های مجاور نشده واکنش می‌دهد و گلبول‌های مجاور شده $M+N^-$ و $M-N^+$ را با قدرتی یکسان آگلوتینه می‌نماید، گلبول‌های $M+N^-$ و $M-N^+$ پس از حذف اسید سیالیک جایگاه‌های پیوند کننده یکسانی دارند [۵۱۳]. شاخصی که توسط ویشیا گرامینا شناسایی می‌گردد غالباً N_{vg} نامیده می‌شود تا از N متمایز گردد.

حداقل نیاز پیوندی لکتین ویشیا گرامینا دی ساکارید $Gal\beta 1 \rightarrow 3GalNAc$ [۵۱۶، ۵۱۹] است که در تراساکاریدهای دارای اتصال اکسیژنی گلیکوزیدیک مستقر در اطراف انتهای آمینی GPA و GPB موجود می‌باشد. به منظور اتصال با بیشترین کارایی، لوسین انتهای آمینی، که احتمالاً ترتیب فضایی O -گلیکان‌های مجاور را تحت تاثیر قرار می‌دهد، مورد نیاز می‌باشد. بدین سبب گرایش پیوندی به گلیکوفورین‌های با فعالیت N محرز می‌گردد. لکتین به $GPAM^C$ [۵۱۷] که همچون N دارای اسید گلوتامیک در موقعیت ۵ اما برخلاف آن دارای سرین در موقعیت ۱ می‌باشد (به جدول ۳-۷ مراجعه شود)، اتصال نمی‌یابد. تخریب GPA^N با روش ادمان، که ریشه اسید آمینه‌ای انتهای آمینی را برمی‌دارد، منجر به عدم توانایی مولکول در ایجاد پیوند با ویشیا گرامینا می‌گردد [۵۱۸].

1 - Iberis amara

2 - Ottensooser and Silberschmidt

بعضی از لکتین‌های دیگر به عنوان معرف‌های بسیار مفید آنتی-N عمل می‌کنند به ویژه عصاره‌های دانه‌ای حاصل از باوهینیا پورپورنا^۱ [۵۱۹] و ب.واریگاتا^۲ [۵۲۰] و نیز عصاره برگ‌های ویشیا یونیجوگا^۳ [۵۲۱]. لکتین‌های تهیه شده از دانه‌های مولوسلا لویس^۴ [۵۲۲] و باندیرنا سیمپلیسیفولیا^۵ [۵۲۳] فعالیت A+N دارند و تمامی گلبول‌های گروه A و نیز گلبول‌های گروه‌های O و B که N+ هستند را آگلوتینه می‌نمایند. تعدادی دیگر از لکتین‌ها که مفید واقع شده‌اند آنهایی هستند که واریان‌های نادر سیستم MNS را با تشخیص نقصان GPA و یا GPB طبیعی، دقیقاً شناسایی می‌نمایند. لکتین حاصل از دانه‌های مک‌لورا اورانتیاسا^۶ برای دی ساکارید Gal β1→3Gal1NAc اختصاصی است اما، برخلاف لکتین ویشیا گرامینا، M و N را از هم تمییز نمی‌دهد [۵۲۴]. هماگلوتیناسیون ناشی از این لکتین در مورد گلبول‌های En(a-) ضعیف تر از گلبول‌های En(a+) می‌باشد [۱۳۰]. لکتین فاسیولوس ولگاریس^۷ به الیگو ساکارید دارای اتصال نیتروژنی موجود در سطح GPA اتصال می‌یابد [۱۲۷]. لکتین فاسیولوس ولگاریس نشان دار شده با ید رادیواکتیو، همچون لکتین مولوسلا لویس، به منظور مشاهده GPA در ژل پس از الکتروفورز مفید بوده است [۱۲۷]. پاره ای از لکتین‌ها نظیر سوفورا ژاپنیکا^۸ (پس از جذب با گلبول‌های A₁B و گلاسیین سوچا^۹، ترجیحاً گلبول‌های قرمز فاقد اسید سیالیک را آگلوتینه می‌نمایند [۱۳۰، ۱۱۶]. این لکتین‌ها در غربالگری واریان‌های MNS که کمبود یا تغییر در GPA یا GPB دارند، استفاده شده‌اند.

۳-۲۰-۹ آنتی-S

از زمان کشف آنتی-S در سال ۱۹۴۷ [۸،۷]، نمونه‌های بیشتری از آن شناسایی شده‌اند [۵۲۶، ۵۲۵]. این آنتی‌بادی‌ها معمولاً ایمیون هستند [۵۲۵، ۴۴۳] گرچه مواردی از آنها که «ظهور طبیعی» دارند نیز شناخته شده‌اند [۵۲۷، ۵۲۵]. آنتی-S، آنتی-s و آنتی-U عموماً آنتی‌بادی‌های IgG هستند که به کمپلمان پیوند نمی‌یابند [۱۹۵ و ۴۴۳]، گرچه آنتی-S از نوع IgM نیز گزارش شده است [۵۲۸]. آنتی‌بادی‌های S، s و U معمولاً در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد واکنش می‌دهند اما فعالیت اپتیمم آنها با استفاده از آزمایشات دستی آنتی‌گلوبولین و تحت شرایط یونی طبیعی، بین دماهای ۱۰ و ۲۲ درجه می‌باشد [۵۳۰، ۵۲۹].

-
- 1 - Bauhinia purpurea
 - 2 - B. variegata
 - 3 - Vicia unijuga
 - 4 - Mollucella laevis
 - 5 - Bandeiraia simplicifolia
 - 6 - Maclura aurantiaca
 - 7 - Phaseolus vulgaris
 - 8 - Sophora Japonica
 - 9 - Glycine soja

معرف‌های آنتی-S به واسطه دارا بودن آنتی‌بادی‌هایی علیه آنتی‌ژن‌های خاص^۱ آزار دهنده هستند. لوبنکو^۲ [۵۳۱] متوجه شد که از میان سرم‌های آنتی-S مربوط به نه اهداکننده تحت آزمایش، چهار مورد حاوی یک آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژنی با شیوع پایین، یک مورد حاوی دو آنتی‌بادی از این قبیل و دو مورد نیز چند ویژگی با پانزده آنتی‌بادی علیه یک آنتی‌ژن با شیوع پایین، که در هر سرم شناسایی شد، بودند. آنتی-S در واکنش‌های همولیتیک انتقال خون مطرح شده [۵۳۳، ۵۳۲] و ایجاد بیماری همولیتیک نوزاد شدید و کشنده نموده است [۵۲۶، ۵۳۴].

اتو آنتی-S مسئول کم خونی همولیتیک اتو ایمیون بوده است [۵۳۶، ۵۳۵]، به طوری که یک مورد آن در سرم بیماری S+ دو ماه بعد از درمان کم خونی همولیتیک اتو ایمیون که ناشی از یک اتو آنتی‌بادی ظاهراً «غیر اختصاصی» بود، ظاهر گردید [۵۳۷]. اتو آنتی‌بادی‌هایی که احتمالاً شاخص‌های غیر پلی مرفیک در سطح GPB را شناسایی می کنند ممکن است مانند آنتی-S عمل نمایند که علت آن بیشتر بودن مقدار مولکول‌های GPB در سطح گلبول‌های S+ در مقایسه با گلبول‌های S- می‌باشد [۵۳۹، ۵۳۸] (به بخش ۳-۴-۴ مراجعه شود).

دو آنتی-S مونوکلونال IgM انسانی که به سومین کارگاه آنتی‌بادی مونوکلونال ارسال شده بودند به عنوان معرف‌های تعیین گروه خونی مفیدی مورد توجه واقع شدند [۸۷]. هردوی این آنتی‌بادی‌ها گلبول‌های قرمز S+ را آگلو تینه نمودند اما خصوصیات سرولوژیکی متفاوتی داشتند. MS94 یک اپیتپ حساس به سیالیداز را شناسایی می کرد و با آنتی‌ژن S غیر طبیعی مرتبط با TSEN (به بخش ۳-۱۴-۱ مراجعه شود) واکنش نمی‌داد، MS95 یک اپیتپ مقاوم به سیالیداز را شناسایی می کرد و با گلبول‌های TSEN+ واکنش می داد [۸۷].

یک آنتی‌بادی مونوکلونال موشی، MAb148، از طریق آزمایشات آگلوتیناسیون با آنتی- گلوبولین غیر مستقیم، همچون آنتی-S عمل می کرد، اما زمانی که آزمایشات حساس تر و یا $pH=7/5$ بکار گرفته می شد، آنتی‌بادی با تمامی گلبول‌های قرمز حاوی GPB واکنش می داد [۳۳۸]. با MAb148 نتایج غیرمنتظره بدست آمد. این آنتی‌بادی با گلبول‌های S-St(a+) و S-Dantu+ به صورت قوی واکنش داد، اما با گلبول‌های S+GP.Hop(Mi.IV) واکنشی ایجاد ننمود.

همینگ و رید^۳ [۳۳۸] استنباط نمودند که MAb148 تتراپپتید Thr-Asn-Gly-Glu در موقعیت‌های ۲۵-۲۸ از GPB را شناسایی می‌نماید، اما زمانی که در موقعیت ۲۹ اسید آمینه میتونین وجود دارد (S) موثرتر از زمانی که در این موقعیت ترئونین وجود داشته باشد (s) پیوند می یابد.

1 - private antigens
2 - Lubenko
3 - Hemming and Reid

بعضی از آلوانتی-S های انسانی زمانی که با گلبولهای مجاورشده با فیسین آزمایش می‌شوند همچون آنتی-GPB عمل می‌کنند به طوری که تمامی این گلبولها را آگلوتینه می‌کنند به استثنای گلبولهای قرمز فنوتیپهای S-s-U+^{var} و S-s-U- [۱۱۱].

۳-۲۰-۱۰ آنتی-s

آنتی-s، چهار سال پس از آنتی-S کشف شد [۱۰]. گر چه آنتی-s نادر است، نمونه‌های فراوانی از آن شناسایی شده‌اند. این آنتی‌بادی ممکن است IgM یا IgG باشد و از پنج مورد آنتی-s، چهار مورد فقط IgG3 بودند [۵۴۰]. هیچ موردی از آن که دارای «**ظهور طبیعی**» باشد گزارش نشده است. آنتی-s معمولاً واکنش اپتیمم خود را در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد یا پایین تر نشان می‌دهد [۵۲۹، ۵۳۰]. آنتی-s مسئول HDN شدید و کشنده [۵۴۱، ۵۴۲، ۱۰] و یک واکنش همولیتیک تأخیری انتقال خون [۵۴۳، ۵۳۳] بوده است.

۳-۲۰-۱۱ آنتی-U

بسیاری از خصوصیات سرولوژیکی پیچیده آنتی-U در بخش ۳-۷-۱ ارائه شده‌اند. در اینجا جزئیات مربوط به خود آنتی‌بادی‌ها و اهمیت بالینی آنها ذکر می‌شود. آنتی-U اولیه توسط وینر و همکاران [۱۹۱] در سال ۱۹۵۳ گزارش شد. از آن زمان به بعد نمونه‌های بسیاری از آن شناسایی شده‌اند، از آنجائی که فنوتیپ U نسبتاً نادر است، آنتی-U مشکلی وخیم تر از آنتی-S و یا آنتی-s را در انتقال خون ایجاد می‌نماید. آنتی‌بادی‌های U معمولاً از نوع IgG غیر متصل شونده به کمپلمان هستند [۱۹۵] که حاوی یک جزء IgG1 می‌باشند [۵۴۰]، هیچ موردی از آنتی-U که «**ظهور طبیعی**» داشته باشد گزارش نشده است. آنتی‌بادی‌های U، همچون آنتی-S و آنتی-s، ممکن است در دماهای زیر ۲۲ درجه، فعالیتی بیشتر از دمای بدن نشان دهند [۵۲۹، ۵۳۰]. اولین آنتی-U مسئول یک واکنش همولیتیک کشنده انتقال خون بود [۱۹۱] و چندین مورد از واکنش‌های همولیتیک تأخیری انتقال خون ناشی از آن مستند شده‌اند [۱۹۸، ۵۴۷-۵۴۴]. در یک مورد، گلبولهای تزریق شده مسئول واکنش فوق، S-s-U+^{var} بودند، آنتی‌ژن U به حدی ضعیف بود که شناسایی آن در طول آزمایش سازگاری امکان پذیر نبود [۱۹۸]. چندین نمونه از آنتی-U که ایجاد HDN نموده‌اند گزارش شده‌اند، از جمله یکی که منجر به تولد نوزاد مرد شده بود [۵۴۸]. در هر حال، در یک مورد، مادری آنتی-U با عیار ۱۰۲۴ داشت و در روش سیتوتوکسیسیته سلولی وابسته به آنتی‌بادی^۲ یک نمره خیلی بالا (>۱۰۰٪) به دست داد، با این حال علی‌رغم اینکه از گلبولهای قرمز نوزاد انواع IgG1

1 - Wiener et al.

2 - ADCC(Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity)

و IgG3 آنتی-U جداسازی (elute) شدند، اما سطح هموگلوبین ویبلیروبین بند ناف تقریباً طبیعی بودند، و نیاز به تزریق خون وجود نداشت [۵۴۹]. هیچ نوع آنتی‌بادی مهار کننده مونوسیت نیز شناسایی نشد. اتو آنتی-U، خواه به تنهایی یا به همراه دیگر آنتی‌بادی‌ها، در کم خونی همولیتیک اتوایمیون به طور ضمنی مطرح شده است [۵۵۰-۵۵۵]. یک اتو آنتی-U از نوع IgG2 مسئول کم خونی همولیتیک اتوایمیون شدید همراه با همولیز داخل رگی واضح و اختلال در تولید گلبول‌های قرمز (دیس اریتروپوئز) مغز استخوان بود [۵۵۵]. اتو آنتی-U همچنین در کم خونی همولیتیک ناشی از آلفا-متیل دوپا نقش داشته و در سرم این بیماران صرفاً با روشهای آنزیمی قابل شناسایی بوده است [۵۵۷]. از میان ۲۸ بیمار مبتلا به ایدز بستری شده، نه نفر (۳۲٪) دارای اتو آنتی-U بودند که در سرمشان فقط به کمک آزمایشات آنزیمی قابل شناسایی بود [۵۵۷]. بعضی از انواع اتو آنتی-U فقط در دما و pH پایین واکنش می‌دهند [۵۵۸، ۵۵۱] و یک مورد اتو آنتی-U وابسته به محلول دارای قدرت یونی کم (LISS) توصیف شده است [۵۵۹]. در حالی که افراد دارای آلواتی-U تقریباً به طور ثابت سیاهپوست هستند، اکثر بیماران با اتو آنتی-U، سفیدپوست می‌باشند.

۳-۲۰-۱۲ آنتی- U^z و آنتی- U^x

آنتی- U^z و آنتی- U^x توسط بوت^۲ [۵۶۱، ۵۶۰] در سرم جمعیت‌های ملانزیایی^۳ شناسایی شدند. آنتی- U^z با گلبول‌های قرمز ۳۶٪ این افراد و ۶۱٪ افراد سفیدپوست واکنش می‌دهد. U^z با S مرتبط است. اکثر نمونه‌های S^+ ، U^z^+ هستند، گرچه فنوتیپ‌های $S+U^z-$ و $S-U^z+$ واقعاً وجود دارند. آنتی- U^x یک آنتی‌بادی مشابه است. احتمال دارد که U^z و U^x نشانگر شاخص‌هایی روی GPB باشند و ارتباط ظاهری با S ناشی از بیشتر بودن میزان GPB در سطح گلبول‌های S^+ در مقایسه با گلبول‌های S^- می‌باشد (بخش ۳-۴-۴).

یک آنتی‌بادی که شباهت نزدیکی با آنتی- U^z داشت در سرم یک زن Hispanik $S-s+U+He+$ شناسایی شد که از eluate تهیه شده از گلبول‌های قرمز چهارمین فرزند تازه متولد شده اش بدست آمد [۵۶۲]. علی‌رغم وجود یک DAT مثبت قوی روی گلبول‌های قرمز، بیماری همولیتیک نوزاد مشاهده نشد.

1 - Low Ionic Strength Solution

2 - Booth

3- Melanesian

۲۱-۳ روش تشخیص جهش در GYPA

نسبت جمعیت بسیار محدود گلوبول‌های قرمز M-N+ یا M+N- در افراد M+N+ را می‌توان با بهره‌گیری از فلوسایتومتری در حضور آنتی-M و آنتی-N مونوکلونال تعیین نمود. این راهکار به منظور برآورد شیوع جهش سوماتیک در سلول‌های پیشساز اریثروئیدی بکار گرفته شده است [۵۶۴، ۵۶۳]. افزایش معنی‌دار در جهش ظاهری، در بیماران سرطانی متعاقب مواجه شدن با داروهای شیمی درمانی جهش زا [۵۶۳]، در بازماندگان بمب باران اتمی هیروشیما [۵۶۵] و در قربانیان واقعه چرنوبیل در اثر تماس با تشعشع یونیزان [۵۶۶] مشاهده شد. روش مذکور همچنین به منظور پایش اثرات جهش زائی ید رادیواکتیو که در درمان سرطان تیروئید بکار می‌رود، استفاده شده است [۵۶۷ و ۵۶۸].

در کارگران M+N+ صنایع شیمیایی چین که با بنزن مواجه شده بودند، حضور گلوبول‌های قرمز M-N+ با یک دز دوگانه N (NN)، اما نه با یک دوز منفرد N ($N \Phi$)، حاکی از این بود که بنزن مسئول جهش‌های مضاعف کننده (نه غیر فعال کننده) ژن بوده است [۵۶۹].

۲۲-۳ ارتباط با Rh

اولین نشانه‌های حاکی از وجود یک ارتباط بین آنتی ژنهای سیستم‌های MNS و Rh با این مشاهده حاصل شد که گلوبول‌های Rh_{null} که فاقد تمامی آنتی ژن‌های Rh هستند، میزان بروز آنتی ژن‌های S، s و U در آنها غالباً کاهش یافته است [۵۷۰، ۱۸]. کاهش بیان U، عموماً فاحش‌تر از کاهش بیان S یا s است. گلوبول‌های Rh_{null} ، از انواع تنظیم کننده و آمورف، و Rh_{mod} ، در مقایسه با گلبول‌های طبیعی، بین ۶۰٪ و ۷۰٪ کاهش در GPB را نشان می‌دهند [۵۷۲، ۵۷۱]. گلوبول‌های قرمز افرادی که برای آل‌های تنظیم کننده هتروزیگوت هستند، دارای یک کاهش حدود ۳۰٪ در محتوی GPB می‌باشند. داهر و همکاران^۱ [۵۷۱] معتقدند که پروتئین‌های Rh تشکیل یک کمپلکس با GPB می‌دهند که ممکن است ادغام GPB به درون غشاء را تسهیل نموده و در بروز کامل آنتی ژن U ایفای نقش نمایند.

آنتی-Duclos، یک آلو آنتی‌بادی بر علیه آنتی ژنی با شیوع بالا، با گلوبول‌های قرمزی که آنتی ژن‌های Rh و یا آنتی ژن U را بیان کرده بودند واکنش می‌داد اما با گلوبول‌های قرمز Rh_{null} U- واکنشی نشان نمی‌داد [۵۷۳]. گلوبول‌های قرمز شخصی که این آنتی‌بادی را ساخته بود دارای آنتی ژن‌های طبیعی Rh بودند و میزان آنتی ژن U آنها اندکی کاهش یافته بود. مهار آنتی-Duclos با استفاده از اجزاء متعدد GPB حاکی از این بود که این آنتی ژن دارای یک ساختمان ناپایدار وابسته به چربی در منطقه ریشه‌های اسید آمینه‌ای ۳۵-۴۰ از GPB می‌باشد [۲۲۰]. یک آنتی‌بادی مونوکلونال موشی، MB-2D10، از لحاظ سرولوژیکی به شیوه‌ای کاملاً مشابه با آنتی-Duclos عمل می‌نمود، به جزء اینکه MB-2D10 با گلوبول‌های قرمز فرد سازنده آنتی-Duclos واکنش می‌داد. ایمونوبلاتینگ نشان داد که آنتی‌بادی

1 - Dahr et al.

مونوکلونال به گلیکوپروتئین وابسته به Rh (RhAG) متصل شده است [۵۷۴]. شاخص‌های U، Duclos و MB-2D10 به نظر می‌رسد به منظور بیان اپتیمم نیاز به یک ارتباط بین GPB و ساختارهای وابسته به Rh داشته باشند [۵۷۴، ۵۷۵] (به بخش‌های ۵-۷ و ۵-۸ مراجعه گردد).

در یک بیمار RhD+S+ که بدنال جراحی قلب چندین بار خون گرفته بود نوعی آنتی بادی وجود داشت که فقط با گلبول‌هایی که حامل آنتی‌ژن‌های D و S بودند واکنش می‌داد [۵۷۶]. این ویژگی مرکب با مطالعات جذب تأیید شد و شواهدی سرولوژیک را در مورد وجود ارتباط بین پروتئین Rh و GPB در غشاء گلبول قرمز فراهم نمود.

۳-۲۳ گلیکوفورین‌ها به عنوان گیرنده‌هایی برای عوامل بیماری‌زا

۳-۲۳-۱ گلیکوفورین‌ها و مالاریا

از میان چهارگونه از پروتوزوآهای مالاریایی که انسانها را آلوده می‌کنند، پلاسمودیوم فالسیپاروم مسئول شدیدترین و شایع‌ترین شکل بیماری مالاریا می‌باشد. یک مرحله ضروری و اساسی در چرخه زندگی انگل‌های مالاریایی، هجوم مروزوئیت‌ها به گلبول‌های قرمز میزبان است. این تهاجم شامل یک برهم‌کنش بین گیرنده‌های سطح انگل و لیگاندهای آنها در سطح گلبول قرمز می‌باشد. اولین نظریه مبنی بر اینکه گلیکوفورین انسانی ممکن است در این برهم‌کنش شرکت داشته باشد حاصل این مشاهده می‌لرو همکاران^۱ [۵۷۷] بود که گلبول‌های قرمز فاقد GPA، (En(a-))، در برابر این تهاجم مقاوم‌تر از گلبول‌های طبیعی هستند. این نتیجه گیری توسط پاسول و همکاران^۲ [۵۷۸] (جدول ۳-۱۳) تأیید شد، آنان نشان دادند که تعداد کم مروزوئیت‌هایی که موفق به دخول به درون گلبول‌های En(a-) می‌شوند، به طور طبیعی رشد و تکامل می‌یابند (بازنگری شده در [۵۸۱، ۵۸۲]). گلبول‌های S-s-، که فاقد GPB هستند، حساسیت کمتری از گلبول‌های S+/s+ در برابر تهاجم انگل داشتند، اما اساساً مقاومت‌شان کمتر از گلبول‌های En(a-) بود [۵۷۹، ۵۸۳]. گلبول‌های قرمز فاقد GPC و GPD که مربوط به فنوتیپ نادر گریچ^۳ - منفی Leach می‌باشند، تا حدودی در برابر این تهاجم مقاومت نشان دادند [۵۸۰]، اما این ویژگی آنها احتمالاً ناشی از شکل بیضوی (الیپتوسیت) آنها بوده است [۵۸۴] (به فصل ۱۸ مراجعه شود).

اثر دادن تریپسین بر گلبول‌های قرمز، که قطعات انتهایی آمینی GPA، GPC و GPD را بر می‌دارد، آنها را در برابر تهاجم انگل نسبتاً مقاوم می‌نماید [۵۷۷، ۵۷۹، ۵۸۳، ۵۸۵]. میزان مقاومت در گلبول‌های S-s- مواجهه شده با تریپسین بالاتر است، این مسئله حاکی از این است که GPA و GPB و احتمالاً GPC و

1 - Miller et al.

2 - Pasvol et al.

3 - Gerbich

GPD به عنوان گیرنده‌هایی برای اتصال پلاسمودیوم فالسیپاروم عمل می‌کنند. نتایج نشان داده شده در جدول ۳-۱۳، از سوی پاسول و همکاران ارائه شده است. محققین دیگر که گاهی اوقات سوش‌های متفاوتی از انگل را مورد استفاده قرار داده‌اند، غالباً به اطلاعات متفاوتی دست یافته‌اند، اما الگوهای مشاهده شده خیلی مشابه بوده‌اند. مهار تهاجم انگل توسط آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه GPA، از جمله آنتی- Wt^b ، احتمالاً نتیجه افزایش سختی گلبول قرمز می‌باشد [۵۸۶]. اپیتپ‌های روی GPA که مختص اتصال آنتی‌بادی و انگل می‌باشند از طریق پوشاندن گلبول‌های قرمز با پلی اتیلن گلیکول پنهان می‌شوند و گلبول‌های قرمز را در برابر تهاجم پلاسمودیوم فالسیپاروم نسبتاً مقاوم می‌سازد [۵۸۷].

اسید سیالیکی که در سطح الیگوساکاریدهای دارای اتصال اکسیژنی با سیالوگلیکوپروتئین‌ها، تجمع یافته است برای فرآیند تهاجم پلاسمودیوم فالسیپاروم بحرانی می‌باشد. چون GPA حدود ۷۰٪ کل اسید سیالیک گلبول قرمز را حمل می‌کند، تعیین اهمیت GPA و اسید سیالیک به عنوان گیرنده‌هایی به منظور چسبندگی و تهاجم انگل، مشکل می‌باشد. مجاور نمودن گلبول‌های قرمز با سیالیداز تهاجم را حدود ۵۰٪ کاهش داد [۵۷۷]. به علاوه، گلبول‌های قرمز Tn ، که فاقد اسید سیالیک و گالاتکتوز در ساختمان الیگوساکاریدهای دارای اتصال اکسیژنی خود می‌باشند، واقعاً در برابر تهاجم بعضی از سوش‌های پلاسمودیوم فالسیپاروم مقاوم می‌باشند [۵۸۹، ۵۸۸، ۵۷۹] (جدول ۳-۱۳).

گلبول‌های $(Cad)Sd(a++)$ ، که دارای سطح طبیعی اسید سیالیک اما یک ریشه اضافی N - استیل گالاتکتوز آمین متصل به اکثر گلیکانهای اکسیژنی خود می‌باشند (فصل ۲۹) در مقابل تهاجم پلاسمودیوم فالسیپاروم نسبتاً مقاوم هستند، که دلیل احتمالی آن مهار دسترسی انگل به لیگاند اسید سیالیکی خود توسط ریشه اضافی N - استیل گالاتکتوز آمین می‌باشد [۵۸۸]. چسبیدن میکروگامت‌های پلاسمودیوم فالسیپاروم به گلبول‌های قرمز در طول مرحله تازک دارشدن^۱ نیز به نظر می‌رسد که وابسته به GPA و یا حداقل به اسید سیالیک باشد [۵۹۰].

EBA-175، پروتئینی در ساختمان پلاسمودیوم فالسیپاروم که به عنوان یک لیگاند برای اتصال به گلبول قرمز عمل می‌کند، به طور اختصاصی به GPA و نیز به یک گلیکوپپتید که ۶۴ اسید آمینه انتهای آمینی GPA را تشکیل می‌دهد پیوند یافت، اما با GPB پیوندی ایجاد نکرد [۵۹۱]. هم اسید سیالیک و هم چارچوب پپتیدی GPA به منظور اتصال یافتن EBA-175 ضروری بودند. این برخلاف شواهدی است که نشان می‌دهند GPA به عنوان یک گیرنده برای پلاسمودیوم فالسیپاروم مطلقاً براین اساس که حامل اسید سیالیک است عمل می‌کند. در هر حال درجه وابستگی به اسید سیالیک بسته به سوش انگل متغیر می‌باشد.

جدول ۳-۱۳. تهاجم به گلبول‌های قرمز از فنوتیپ‌های متعدد توسط مروزوئیت‌های پلاسمودیوم فالسیپاروم [۵۷۸-۵۸۰].

Phenotype	Deficient structure	Invasion (percentage of normal)
Normal		100
En(a-) GW	GPA	8
En(a-) RL	GPA	14
S-s-U-	GPB	72
Ge:-2,-3,-4 Leach	GPC	57
Tn*	Gal+ sialic acid	8
Trypsin-treated normal	GPA-T1, GPC-T1	38
Trypsin-treated S-s-U-	GPA-T1, GPC-T1, GPB	5

* Approximately 90% Tn and 10% normal cells.
GPA-T1 and GPC-T1, N-terminal glycopeptides of GPA and GPB.

۳-۲۳-۲ عوامل بیماری‌زای دیگر

GPA^M، به ویژه GPA^M، به عنوان گیرنده ای برای بعضی از باکتری‌ها عمل می‌کنند. سوش 1H1165 اشريشیاکولی که بیماری‌زای ویژه مجاری ادراری است، به طور اختصاصی گلبول‌های قرمز حامل آنتی‌ژن M را آگلو تینه می‌نماید [۵۹۲]. این آگلو تیناسیون با اثردهی سیالیداز بر گلبول‌های قرمز متاثر نمی‌گردد. GPA^M (اما نه GPA^N) به باکتری‌ها اتصال می‌یابد. این پیوند را می‌توان توسط اکتا پتید گلیکوزیله انتهای آمینی GPA^M مهار نمود. یک پروتئین چسبنده^۱ با توانایی هماگلوتیناسیون که از اشريشیاکولی F41 جدا شده بود، گلبول‌های قرمز M+ را موثرتر از گلبول‌های M- آگلو تینه نمود [۵۹۳]. به نظر می‌رسد که گلیکوفورین‌ها به عنوان گیرنده‌هایی برای سموم باکتریایی که گلبول‌های قرمز را لیز می‌کنند عمل نمایند. پوشاندن گلبول‌های قرمز با آنتی‌بادی‌های ضد GPA و GPB به ترتیب آنها را در برابر لیز توسط همولیزین‌های ناشی از اشريشیاکولی و ویبریوکلرا محافظت می‌نماید [۵۹۴، ۵۹۵]. GPA به عنوان گیرنده ای برای ویروس آنفلوآنزا [۵۹۶] و ویروس‌های خاص دیگر [۵۹۷، ۵۹۸] عمل می‌کند. GPA، GPB، GPC و GPD تخلیص شده، هماگلوتیناسیون ناشی از ویروس‌های آنفلوآنزا A و B را مهار نمودند [۵۹۹].

۳-۲۴ تکامل و توزیع آنتی‌ژن‌های MNS

آنتی ژنهای M، N، S، s، U و اکثر دیگر آنتی ژنهای سیستم MNS در زمان تولد بخوبی تکامل یافته اند، و ثابت شده که بعضی از آنها در مراحل کاملاً ابتدایی زندگی جنینی بر سطح گلبولهای قرمز وجود دارند [۱۸]. بیوسنتز GPA بطور کامل از سوی گامبرگ و همکاران^۱ [۶۰۰] مورد مطالعه و بازنگری قرار گرفته است. GPA بر سطح اریترو بلاست ها، اولین سلول های پیشساز گلبول قرمز که از لحاظ مرفولوژیک قابل شناسایی هستند، وجود دارد [۶۰۳-۶۰۱]، GPA در طول اریتروپوئیز در آزمایشگاه (in vitro)، بعد از گلیکوپروتئین وابسته به Rh و اندکی قبل از باند ۳ ظاهر می گردد [۶۰۶-۶۰۴]. با تمایز سلولهای پیشساز اریتروئیدی، درجه O- گلیکوزیلاسیون افزایش می یابد [۶۰۳]، به همین دلیل آنتی ژنهای M و N صرفاً در یک مرحله انتهایی در تکامل اریتروئیدی قابل شناسایی می باشند [۶۰۷]. GPA محدود به سلولهای رده اریتروئیدی است [۶۰۸] و غالباً به عنوان یک مارکر اریتروئیدی مورد استفاده قرار میگیرد. GPA بر سطح لنفوسیت ها، گرانولوسیت ها، مگاکاریوسیت ها، یا پلاکت ها وجود ندارد [۳۴، ۶۰۱ و ۶۰۹]. سیالوگلیکوپروتئینهای شبیه GPA و GPB بر سطح رده سلولی اریترولولومی K562 وجود دارند [۶۰۱، ۶۰۹ و ۶۱۰] که بعنوان منبعی از cDNA مربوط به GYPA و GYPB مورد استفاده قرار گرفته اند [۵۸ و ۸۰]. آنتی ژنهای M و N بر سطح سلولهای K562 شناسایی شده اند [۶۰۹]، متعاقب القاء سنتز هموگلوبین توسط همین^۲، آنتی ژن M راحت تر شناسایی می گردد [۶۱۱]. GPA، یا دست کم یک مولکول مشابه آن، بر روی اندوتلیوم کلیوی شناسایی شده است [۶۱۲]. مطالعات ایمونوسیتوشیمی نشان داده اند که آنتی ژنهای M، N و دیگر آنتی ژنهای خاص مرتبط با GPA بر سطح سلولهای اندوتلیال کلیه انسان بیان می گردند، اما تنها آن دسته از معرف های آنتی-M و آنتی-N که شاخص های مستقل از اسید سیالیک را شناسایی می کنند با بافت کلیه واکنش دادند، حاکی از این که GPA در اندوتلیوم کلیوی به طور ناقص سیالیده شده است [۶۱۳].

۳-۲۵ عملکرد و ظهور تدریجی گلیکوفورین ها

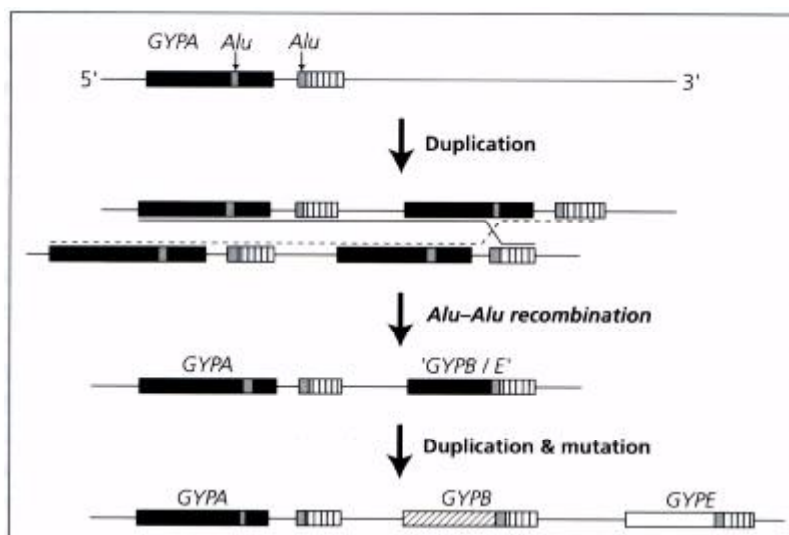
خصوصیت اصلی مشترک بین گلیکوفورین ها، وجود یک حوزه خارج سلولی شدیداً گلیکوزیله می باشد. عملکرد این حوزه ناشناخته است. گلیکوفورین ها حامل مقدار زیادی اسید سیالیک و لذا یک بار منفی قابل توجه می باشند. بنابراین، عملکرد اصلی آنها دور نگهداشتن گلبول های قرمز از یکدیگر و جلوگیری از به هم چسبیدن خودبخودی آنهاست. این مولکول ها علاوه بر این در تشکیل گلیکوکالیکس یا پوشش سلولی سهم بزرگی دارند، پوشش اخیر یک ماتریکس خارج سلولی از کربوهیدرات است که

1 - Gahmberg et al.

2 - Hemin

گلبول را در برابر صدمات مکانیکی و حمله میکروبی محافظت می‌نماید [۶۱۴]. فنوتیپ‌هایی که در آنها گلبول‌های قرمز به طور کامل فاقد GPA و GPB (M^k) و یا GPC و GPD (Leach) می‌باشند نادر بوده و در ارتباط با بیماری نیز نمی‌باشند. در فنوتیپ‌های فاقد GPA، که در آنها فراوان ترین گلیکوفورین وجود ندارد، کمبود اسید سیالیک تا حدودی به واسطه گلیکوزیلاسیون گلیکوپروتئین باند ۳ جبران می‌گردد. گلبول‌های قرمز M^k فقط ۲۰٪ کاهش در اسید سیالیک را نشان می‌دهند، در مقایسه با یک کاهش پیش بینی شده ۶۰٪ اگر هیچ گونه افزایشی در گلیکوزیلاسیون باند ۳ حاصل نمی‌شد [۶۱۵].

GPA در ارتباط با انتقال دهنده آنیون (باند ۳) در غشاء می‌باشد (به بخش ۱۰-۴-۲ مراجعه گردد). اووسیت‌های *Xenopus* که در آنها cDNA های مربوط به باند ۳ و *GYPA* انسانی به صورت همزمان بیان شده بودند، در غشاء پلاسمایی خود، سطح بالاتری از انتقال کلرید و سطح بالایی از باند ۳ را، در مقایسه با اووسیت‌هایی که فقط باند ۳ را بیان نموده بودند، نشان می‌دادند [۱۳۴]. به علاوه، باند ۳ با یک جهش Gly701Asp در غشاء اووسیت‌ها ناپایدار است مگر اینکه *GYPA* cDNA به همراه cDNA مربوط به باند ۳ جهش یافته، بروز یابد [۶۱۶].



شکل ۳-۱۳. طرحی به منظور توضیح تکامل تدریجی سه ژن گلیکو فورینی روی کروموزوم ۴. به دنبال مضاعف شدن یک ژن اجدادی GYPA، جور شدن نادرست (misalignment) کروموزومی و کراسینگ اور نابرابر بین یک توالی Alu درون اینترون A5 در GYPA و توالی Alu دیگر در ناحیه فرودست آن ژن اتفاق می افتد. سپس مضاعف شدن هیبرید پیشساز حاصل شده GYPB/E، GYPE و GYPB اجدادی را تولید نمود. هر سه ژن به واسطه دخول و حذف، دگرگونی‌های بیشتری یافته‌اند. اصلاح شده از منبع [۱۰۲].

یونگ و همکاران^۱ [۶۱۷] معتقدند که یک نقش GPA در گلبول قرمز، افزایش سرعت تاخوردگی و تکامل باند ۳ طی بیوستز آن در سلول در حال بلوغ اریتروئیدی است. در فنوتیپ‌های En(a-)، باند ۳ ممکن است مدت طولانی تری در دستگاه گلژی بماند، که این منجر به گسترش و توسعه زنجیره‌های الگوساکاریدی N-گلیکان روی باند ۳ می‌گردد.

گلبول‌های قرمز فاقد باند ۳ در موش‌هایی که در آنها ژن باند ۳ به صورت هدفدار غیرفعال شده بود، علی‌رغم حضور GYPA mRNA، GPA را در سطح خود بارز ننمودند، این یافته قویاً چنین نظریه‌ای را مطرح می‌سازد که باند ۳ ممکن است به عنوان یک چپرون^۲ برای GPA عمل کند، به طوری که جابجایی آن به غشاء پلاسمایی را تسهیل می‌نماید [۶۱۸]. در هر حال در گلبول‌های انسانی GPA قادر است در غیاب باند ۳ بیان گردد، به نظر می‌رسد که GPA قبل از باند ۳ روی سلول‌های پیشساز

1 - Young et al.

2 - Chaperon: مولکول‌های نگهدارنده یا پشتیبان که در فرآیند انتقالات داخل سلولی ایفای نقش می‌کنند. (م)

اریتروئیدی در طول اریتروپوئز خارج بدن^۱ [۶۰۶، ۶۰۴] بروز یابد و سلول‌های K562، GPA، اما نه باند ۳، را متجلی می‌سازند [۶۱۹].

GPA ممکن است نقشی را در انتقال سیگنال ناشی از لیگاند بعهده داشته باشد. این مولکول در حالت طبیعی^۲ با اسکلت غشائی، شبکه ای از پروتئین‌ها در زیر دو لایه چربی، بر هم کنش بسیار ضعیفی ایجاد می‌کند یا اصلاً بر هم کنش مستقیمی ندارد (به فصل ۱۸ مراجعه شود). پیوند یافتن آنتی‌بادی‌ها، قطعات Fab تک ظرفیتی و یا لکتین‌ها به GPA، منجر به کاهش انعطاف پذیری غشاء گلبول قرمز و کاهش تحرک جانبی GPA گردید [۶۱۵]. اگر یک سیگنال عرض غشائی را بتوان با اتصال لیگاند‌هایی به حوزه خارج سلولی GPA القاء نمود، احتمالاً از طریق باند ۳ در میان اسکلت غشاء عبور می‌نماید [۶۲۰].

GPA ممکن است به عنوان یک تنظیم کننده کمپلمان عمل کند، به طوری که به واسطه مهار تشکیل یا پیوند یافتن C5b-7، گلبول‌های قرمز را در مقابل لیز واکنشی ناشی از کمپلمان به صورت محدود محافظت می‌نماید [۶۲۱].

GPA که به کمک ارتعاشات الکتریکی^۳ وارد سلول‌های K562 شد مقاومت آنها را در برابر حمله سلول‌های کشنده طبیعی^۴ (NK) افزایش داد، تأثیری که به نظر می‌رسید وابسته به N-گلیکوزیلاسیون در GPA باشد، نه به اسید سیالیک یا O-گلیکوزیلاسیون [۶۲۲].

GPA یک عامل مهم برای تهاجم انگل‌های مالاریایی به گلبول‌های قرمز می‌باشد (بخش ۳-۲۳-۱). لذا فنوتیپ‌های فاقد GPA برتری انتخاب قوی در مناطقی نشان می‌دهند که پلاسمودیوم فالسیپاروم آندمیک است، به ویژه اینکه هیچ نوع آسیب شناسی خاصی در ارتباط با این فنوتیپ‌ها مشاهده نشده است. با این حال فنوتیپ‌های فاقد GPA فوق العاده نادر هستند. این امر حاکی از این است که GPA واقعاً عملکرد مهمی دارد، یا حداقل تا دوره تکاملی اخیر عملکردی مهم داشت.

سه ژن گلیکوفورینی روی کروموزوم شماره ۴ انسان شباهت قابل ملاحظه ای را از توالی‌های ۵' مجاورشان تا یک توالی Alu که تقریباً در فاصله یک کیلو بازی فرودست اگزون ۵ (اگزونی که حوزه‌های خارج سلولی را رمزدهی می‌نماید) وجود دارد، نشان می‌دهند [۹۵، ۹۰]. در شکل ۳-۱۳ سلسله وقایع احتمالی که منجر به تشکیل سه خوشه ژنی شدند ترسیم شده اند [۱۰۲]. مضاعف شدن یک ژن اجدادی GYP^N ، به دنبال خود کراسینگ اور نابرابر بین توالی Alu در درون اینترون پنجم ژن مضاعف شده GYP^A و توالی Alu دیگر در ناحیه فرودست این ژن را داشت. این پدیده تولید یک ژن هیبرید

1 – ex vivo

2 – native

3 – electro pulsation

4 – Natural Killer cells

پیشساز $GYPB/E$ نمود که فاقد آگزون‌های $3' GYPB$ بود، اما یک توالی جدید را از منطقه فرودست $GYPB$ اجدادی کسب نمود. مضاعف شدن این ژن $GYPB/E$ و متعاقب آن جدا شدن ژن‌ها^۱، $GYPB$ و $GYPE$ اجدادی را تولید نمود. $GYPE$ به نظر می‌رسید که از طریق تبدیل ژنی قطعه‌ای از $GYPB^M$ را که شامل آگزون ۲ بود کسب نموده باشد [۶۲۳، ۶۲۴]. مشاهده اخیر، این مسئله که چرا GPB توالی N دارد در صورتی که GPE توالی M، را توضیح می‌داد.

در تمامی گونه‌های پرماتی آزمایش شده، یک ژن $GYPB$ شناسایی شده است، یک ژن $GYPB$ در شیمپانزه‌ها، شیمپانزه‌های کوتوله و گوریل‌ها وجود دارد، اما در اوران گوتان و gibbon وجود ندارد و یک ژن $GYPE$ نیز در تمامی گونه‌های دارای $GYPB$ وجود دارد، اما از شانزده گوریل فقط هفت مورد دارای $GYPE$ بودند [۶۲۵]. $GYPE$ و $GYPB$ احتمالاً قبل از منشعب شدن سیر تکاملی گوریل، از ژن اجدادی $GYPB$ منشأ گرفتند [۶۲۵، ۶۲۶]. GPB شیمپانزه و گوریل بزرگتر از GPB انسانی است، که علت آن بیان آگزون B3، که در انسان‌ها بصورت آگزون کاذب $GYPB$ وجود دارد، می‌باشد، $GYPE$ خیلی سریعتر از $GYPB$ یا $GYPB$ دچار جهش شده است، دال بر این واقعیت که $GYPE$ غیرعملکردی بوده و یا عملکرد آن ضعیف‌تر از سایر ژن‌های گلیکوفورینی است [۶۲۵، ۶۲۶]. دو شکل آللیک از $GYPB$ در گوریل‌ها یافت شده است. یکی که در آن آگزون A3 در رونوشت mRNA نمایان می‌گردد و دیگری که آگزون A3 آن یک آگزون کاذب است [۶۲۶].

گلوبول‌های قرمز شیمپانزه، آنتی‌ژن شبیه M را بیان می‌سازند. این احتمالاً به دلیل وجود سرین انتهایی روی GPA شیمپانزه است که دارای یک توالی پنتاپتیدی انتهایی آمینی مشابه با توالی M^c انسانی است (به جدول ۳-۷ مراجعه شود) [۶۲۷]. فعالیت شبیه N در گلوبول‌های قرمز بعضی از شیمپانزه‌ها احتمالاً از GPB شیمپانزه‌ای منشأ گرفته است [۶۲۵، ۶۲۶]. فعالیت He در پاره‌ای از گوریل‌ها ممکن است از توالی انتهایی آمینی Trp-Ser-Trp در سطح GPA ، GPB و احتمالاً GPE ، ظهور یافته باشد [۶۲۶]. به منظور مروری بر بیان آنتی‌ژن‌های MNS در سطح گلوبول‌های قرمز غیر انسانی پرمیات‌ها به منبع [۶۲۸] مراجعه شود.

References

- 1 Landsteiner K, Levine P. A new agglutinable factor differentiating individual human bloods. *Proc Soc Exp Biol NY* 1927;24:600-2.
- 2 Landsteiner K, Levine P. Further observations on individual differences of human blood. *Proc Soc Exp Biol NY* 1927;24:941-2.
- 3 Landsteiner K, Levine P. On individual differences in human blood. *J Exp Med* 1928;47:757-75.
- 4 Landsteiner K, Levine P. On the inheritance of agglutinogens of human blood demonstrable by immune agglutinins. *J Exp Med* 1928;48:731-49.
- 5 Schiff E. Die Vererbungsweise der Faktoren M und N von Landsteiner und Levine. *Klin Wochenschr* 1930;2:1956-9.
- 6 Wiener AS, Vaisberg M. Heredity of the agglutinogens M and N of Landsteiner and Levine. *J Immunol* 1931;20:371-88.
- 7 Walsh RJ, Montgomery CM. A new human isoagglutinin subdividing the MN blood groups. *Nature* 1947;160:504-6.
- 8 Sanger R, Race RR. Subdivisions of the MN blood groups in man. *Nature* 1947;160:505.
- 9 Sanger R, Race RR, Walsh RJ, Montgomery C. An antibody which subdivides the human MN blood groups. *Heredity* 1948;2:131-9.
- 10 Levine P, Kuhmichel AB, Wigod M, Koch E. A new blood factor, s, allelic to S. *Proc Soc Exp Biol NY* 1951;78:218-20.
- 11 Sanger R, Race RR. The MNSs blood group system. *Am J Hum Genet* 1951;3:332-43.
- 12 Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 2nd edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1954.
- 13 Greenwalt TJ, Sasaki T, Sanger R, Sneath J, Race RR. An allele of the S(s) blood group genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1954;40:1126-9.
- 14 Wiener AS, Unger LJ, Gordon EB. Fatal hemolytic transfusion reaction caused by sensitization to a new blood factor U. *J Am Med Assoc* 1953;153:1444-6.
- 15 Wiener AS, Unger LJ, Cohen L. Distribution and heredity of blood factor U. *Science* 1954;119:734-5.
- 16 Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 4th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1962:88-93.
- 17 Cleghorn TE. MNSs gene frequencies in English blood donors. *Nature* 1960;187:701.
- 18 Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 6th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975.
- 19 Mourant AE, Kopec AC, Domaniewska-Sobczak K. *The Distribution of the Human Blood Groups and Other Polymorphisms*, 2nd edn. London: Oxford University Press, 1976.
- 20 Tills D, Kopec AC, Tills RE. *The Distribution of the Human Blood Groups and Other Polymorphisms* (Suppl. 1). Oxford: Oxford University Press, 1983.

- 21 Fisher RA. The fitting of gene frequencies to data on Rhesus reactions. *Ann Eugen* 1946;13:150-5.
- 22 Fisher RA. Note on the calculation of the frequencies of Rhesus allelomorphs. *Ann Eugen* 1947;13:223-4.
- 23 Lin-Chu M, Broadberry RE, Chang FJ. The distribution of blood group antigens and alloantibodies among Chinese in Taiwan. *Transfusion* 1988;28:350-2.
- 24 Issitt PD, Haber JM, Allen FH. Sj, a new antigen in the MN system, and further studies on Tm. *Vox Sang* 1968;15:1-14.
- 25 Bouloux C, Gamila J, Langaney. Hemotypology of the Bedik. *Hum Biol* 1972;44:289-302.
- 26 Chown B, Lewis M, Kaita H. The inheritance of the MNSs blood groups in a Caucasian population sample. *Am J Hum Genet* 1967;19:86-93.
- 27 Heiken A. A genetic study of the MNSs blood group system. *Hereditas* 1965;53:187-211.
- 28 Morton NE, Mi MP, Yasuda N. A study of the S^u alleles in Northeastern Brazil. *Vox Sang* 1966;11:194-208.
- 29 Sanger R, Race RR, Greenwalt TJ, Sasaki T. The S, s and S^u blood group genes in American negroes. *Vox Sang* 1955;5:73-81.
- 30 Allen FH, Madden HJ, King RW. The MN gene MU, which produces M and U but no N, S, or s. *Vox Sang* 1963;8:549-56.
- 31 Chown B, Lewis M, Kaita H. An anomaly of inheritance in the MNSs blood groups. *Am J Hum Genet* 1965;17:9-13.
- 32 Gedde-Dahl T, Grimstad AL, Gundersen S, Vogt E. A probable crossing over or mutation in the MNSs blood group system. *Acta Genet* 1967;17:193-210.
- 33 Steck TL. The organization of proteins in the human red blood cell membrane: a review. *J Cell Biol* 1974;62:1-19.
- 34 Dahr W. Immunochemistry of sialoglycoproteins in human red blood cell membranes. In: V Vengelen-Tyler, WJ Judd, eds. *Recent Advances in Blood Group Biochemistry*. Arlington, VA: American Association of Blood Banks, 1986:23-65.
- 35 Blanchard D. Human red cell glycoproteins: biochemical and antigenic properties. *Transfus Med Rev* 1990;4:170-86.
- 36 Huang C-H, Blumenfeld OO. MNS blood groups and major glycoproteins: molecular basis for allelic variation. In: J-P Cartron, P Rouger, eds. *Blood Cell Biochemistry*, Vol. 6. New York: Plenum, 1995: 153-88.
- 37 Cartron J-P, Rahuel C. Human erythrocyte glycoproteins: protein and gene structure analyses. *Transfus Med Rev* 1992;6:63-92.
- 38 Chasis JA, Mohandas N. Red blood cell glycoproteins. *Blood* 1992;80:1869-79.
- 39 Welsh EJ, Thom D, Morris ER, Rees DA. Molecular organization of glycoprotein A: implications for membrane interactions. *Biopolymers* 1985;24:2301-32.
- 40 Thomas DB, Wenzler RJ. Structural studies on human erythrocyte glycoproteins. *J Biol Chem* 1969;244: 5943-6.
- 41 Remaley AT, Ugorski M, Wu N *et al*. Expression of human glycoprotein A in wild type and glycosylation-deficient Chinese hamster ovary cells: role of N- and O-linked glycosylation in cell surface expression. *J Biol Chem* 1991;266:24176-83.
- 42 Ugorski M, Blackall DP, Pahlsson P *et al*. Recombinant Miltenberger I and II human blood group antigens: the role of glycosylation in cell surface expression and antigenicity of glycoprotein A. *Blood* 1993;82:1913-20.
- 43 Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970;227:680-5.
- 44 Fairbanks G, Steck TL, Wallach DFH. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. *Biochemistry* 1971;10:2606-17.
- 45 Fujita S, Cleve H. Isolation and partial characterization of two minor glycoproteins from human erythrocyte membranes. *Biochim Biophys Acta* 1975;382:172-80.
- 46 Hamaguchi H, Cleve H. Solubilization of human erythrocyte membrane glycoproteins and separation of the MN glycoprotein from a glycoprotein with I, S, and A activity. *Biochim Biophys Acta* 1972;278:271-80.
- 47 Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;76:4350-4.
- 48 Rouger P, Anstee D, Salmon C, eds. First International Workshop on Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens. *Rev Franc Transfus Immuno-Hemat* 1988;31:261-364 (11 papers).
- 49 Lu Y-Q, Nichols ME, Bigbee WL, Nagel RL, Blumenfeld OO. Structural polymorphisms of glycoproteins demonstrated by immunoblotting techniques. *Blood* 1987;69:618-24.
- 50 Khalid G, Green CA. Immunoblotting of human red cell membranes: detection of glycoprotein B with anti-S and anti-s antibodies. *Vox Sang* 1990;59:48-54.
- 51 Nigg EA, Bron C, Giradet M, Cherry RJ. Band 3-glycoprotein A association in erythrocyte membranes demonstrated by combining protein diffusion measurements with antibody-induced cross-linking. *Biochemistry* 1980;19:1887-93.
- 52 Gardner B, Parsons SE, Merry AH, Anstee DJ. Epitopes on sialoglycoprotein α : evidence for heterogeneity in the molecule. *Immunology* 1989;68:283-9.
- 53 Marchesi VT. Functional proteins of the human red blood cell membrane. *Semin Hematol* 1979;16:3-20.
- 54 MacKenzie KR, Prestegard JH, Engelman DM. A transmembrane helix dimer: structure and implications. *Science* 1997;276:131-3.
- 55 Brosig B, Langosch D. The dimerization motif of the glycoprotein A transmembrane segment in membranes: importance of glycine residues. *Protein Sci* 1998;7:1052-6.

- 56 Tomita M, Marchesi VT. Amino-acid sequence and oligosaccharide attachment sites of human erythrocyte glycophorin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:2964-8.
- 57 Tomita M, Furthmayr H, Marchesi VT. Primary structure of human erythrocyte glycophorin A: isolation and characterization of peptides and complete amino acid sequence. *Biochemistry* 1978;17:4756-70.
- 58 Siebert PD, Fukuda M. Isolation and characterization of human glycophorin A cDNA clones by a synthetic oligonucleotide approach: nucleotide sequence and mRNA structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:1665-9.
- 59 Fukuda M, Lauffenburger M, Sasaki H, Rogers ME, Dell A. Structures of novel sialylated O-linked oligosaccharides isolated from human erythrocyte glycophorins. *J Biol Chem* 1987;262:11952-7.
- 60 Furthmayr H. Structural comparison of glycophorins and immunochemical analysis of genetic variants. *Nature* 1978;271:519-24.
- 61 Dahr W, Müller T, Moulds J *et al*. High frequency antigens of human erythrocyte membrane sialoglycoproteins. I. En^h receptors in the glycosylated domain of the MN sialoglycoprotein. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1985;366:41-51.
- 62 Yoshima H, Furthmayr H, Kobata A. Structures of the asparagine-linked sugar chains of glycophorin A. *J Biol Chem* 1980;255:9713-8.
- 63 Irimura T, Tsuji T, Tagami S, Yamamoto K, Osawa T. Structure of a complex-type sugar chain of human glycophorin A. *Biochemistry* 1981;20:560-6.
- 64 Blumenfeld OO, Adamany AM. Structural polymorphism within the amino-terminal region of MM, NN, and MN glycoproteins (glycophorins) of the human erythrocyte membrane. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:2727-31.
- 65 Wasniowska K, Drzeniek Z, Lisowska E. The amino acids of M and N blood group glycopeptides are different. *Biochem Biophys Res Commun* 1977;76:385-90.
- 66 DuPont BR, Grant SG, Oto SH *et al*. Molecular characterization of glycophorin A transcripts in human erythroid cells using RT-PCR, allele-specific restriction, and sequencing. *Vox Sang* 1995;68:121-9.
- 67 Tate CG, Tanner MJA. Isolation of cDNA clones for human erythrocyte membrane sialoglycoproteins α and δ . *Biochem J* 1988;254:743-50.
- 68 Akane A, Mizukame H, Shiono H. Classification of standard alleles of the MN blood group system. *Vox Sang* 2000;79:183-7.
- 69 Springer GF, Ansell NJ. Inactivation of human erythrocyte agglutinogens M and N by influenza viruses and receptor-destroying enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1958;44:182-9.
- 70 Mäkelä O, Cantell K. Destruction of M and N blood group receptors of human red cells by some influenza viruses. *Ann Med Exp Fenn* 1958;36:366-74.
- 71 Judd WJ, Issitt PD, Pavone BG, Anderson J, Aminoff D. Antibodies that define NANA-independent MN-system antigens. *Transfusion* 1979;19:12-18.
- 72 Issitt PD, Wilkinson SL. Further studies on the dependence of some examples of anti-M and anti-N on the presence of red-cell-borne sialic acid. *Transfusion* 1983;23:117-19.
- 73 Lisowska E, Duk M. Modification of amino groups of human-erythrocyte glycoproteins and the new concept on the structural basis of M and N blood-group specificity. *Eur J Biochem* 1975;54:469-74.
- 74 Lisowska E, Duk M. Effect of modification of amino groups of human erythrocytes on M, N and N_V blood group specificities. *Vox Sang* 1975;28:392-7.
- 75 Krotkiewski H, Duk M, Syper D *et al*. Blood group MN-dependent difference in degree of galactosylation of O-glycans of glycophorin A is restricted to the GalNAc residues located on amino acid residues 2-4 of the glycophorin polypeptide chain. *FEBS Lett* 1997;406:296-300.
- 76 Corfield VA, Moolman JC, Martell R, Brink PA. Polymerase chain reaction-based detection of MN blood group-specific sequences in the human genome. *Transfusion* 1993;33:119-24.
- 77 Eshleman JR, Shakin-Eshleman SH, Church A, Kant JA, Spitalnik SL. DNA typing of the human MN and Ss blood group antigens in amniotic fluid and following massive transfusion. *Am J Clin Pathol* 1995;103:353-7.
- 78 Nakayashiki N, Sasaki Y. An improved method for MN genotyping by the polymerase chain reaction. *Int J Legal Med* 1996;109:216-7.
- 79 Li Z-X, Yoshimura S, Kobayashi T, Akane A. Allele-specific, inverse-PCR amplification for genotyping MN blood group. *Biotechniques* 1998;25:358-62.
- 80 Siebert PD, Fukuda M. Molecular cloning of a human glycophorin B cDNA: nucleotide sequence and genomic relationship to glycophorin A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6735-9.
- 81 Blanchard D, Dahr W, Hummel M *et al*. Glycophorins B and C from human erythrocyte membranes: purification and sequence analysis. *J Biol Chem* 1987;262:5808-11.
- 82 Furthmayr H. Glycophorins A, B, and C: a family of sialoglycoproteins. Isolation and preliminary characterization of trypsin derived peptides. *J Supramol Struct* 1978;9:79-95.
- 83 Dahr W, Beyreuther K, Steinbach H, Gielen W, Krüger J. Structure of the Ss blood group antigens. II. A methionine/threonine polymorphism within the N-terminal sequence of the Ss glycoprotein. *Hoppe-Seyler Z Physiol Chem* 1980;361:895-906.
- 84 Dahr W, Beyreuther K, Bause E, Kordowicz M. Structures and antigenic properties of human erythrocyte membrane sialoglycoproteins. *Prot Biol Fluids* 1982;29:57-62.
- 85 Dahr W, Gielen W, Beyreuther K, Krüger J. Structure of the Ss blood group antigens. I. Isolation of Ss-active

- glycopeptides and differentiation of the antigens by modification of methionine. *Hoppe-Seyler Z Physiol Chem* 1980;361:145-52.
- 86 Storry JR, Reid ME. Synthetic peptide inhibition of anti-S [Abstract]. *Transfusion* 1996;36:55S.
 - 87 Reid ME, Lisowska E, Blanchard D, eds. Third International Workshop on Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens. *Transfus Clin Biol* 1997;4:57-96 (9 papers).
 - 88 Rahuel C, London J, d'Auriol L *et al*. Characterization of cDNA clones for human glycophorin A: use for gene localization and for analysis of normal of glycophorin-A-deficient (Finnish type) genomic DNA. *Eur J Biochem* 1988;172:147-53.
 - 89 Siebert PD, Fukuda M. Human glycophorin A and B are encoded by separate, single copy genes coordinately regulated by a tumor-promoting phorbol ester. *J Biol Chem* 1986;261:12433-6.
 - 90 Kudo S, Fukuda M. Structural organization of glycophorin A and B genes: glycophorin B gene evolved by homologous recombination at *Alu* repeat sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:4619-23.
 - 91 Vignal A, Rahuel C, El Mahiki B *et al*. Molecular analysis of glycophorin A and B gene structure and expression in homozygous Miltenberger class V (Mi.V) human erythrocytes. *Eur J Biochem* 1989;184:337-44.
 - 92 Hamid J, Burness ATH. The mechanism of production of multiple mRNAs for human glycophorin A. *Nucl Acid Res* 1990;18:5829-36.
 - 93 Reid ME. Some concepts relating to the molecular genetic basis of certain MNS blood group antigens. *Transfus Med* 1994;4:99-111.
 - 94 Tate CG, Tanner MJA, Judson PA, Anstee DJ. Studies on human red-cell membrane glycophorin A and glycophorin B genes in glycophorin-deficient individuals. *Biochem J* 1989;263:993-6.
 - 95 Kudo S, Fukuda M. Identification of a novel human glycophorin, glycophorin E, by isolation of genomic clones and complementary DNA clones utilizing polymerase chain reaction. *J Biol Chem* 1990;265:1102-10.
 - 96 Rahuel C, London J, Vignal A *et al*. Alteration of the genes for glycophorin A and B in glycophorin-A-deficient individuals. *Eur J Biochem* 1988;177:605-14.
 - 97 Kudo S, Chagnovich D, Rearden A, Mattei M-G, Fukuda M. Molecular analysis of a hybrid gene encoding human glycophorin variant Miltenberger V-like molecule. *J Biol Chem* 1990;265:13285-89.
 - 98 Vignal A, Rahuel C, London J *et al*. A novel gene member of the human glycophorin A and B gene family: molecular cloning and expression. *Eur J Biochem* 1990;191:619-25.
 - 99 Anstee DJ. The nature and abundance of human red cell surface glycoproteins. *J Immunogenet* 1990;17:219-25.
 - 100 Huang C-H, Guizzo ML, McCreary J, Leigh EM, Blumenfeld OO. Typing of MNSs blood group specific sequences in the human genome and characterization of a restriction fragment tightly linked to S-s- alleles. *Blood* 1991;77:381-6.
 - 101 Onda M, Kudo S, Fukuda M. Genomic organization of glycophorin A gene family revealed by yeast artificial chromosomes containing human genomic DNA. *J Biol Chem* 1994;269:13013-20.
 - 102 Onda M, Kudo S, Rearden A, Mattei M-G, Fukuda M. Identification of a precursor genomic segment that provided a sequence unique to glycophorin B and E genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:7220-4.
 - 103 Vignal A, London J, Rahuel C, Cartron J-P. Promoter sequence and chromosomal organization of the genes encoding glycophorins A, B and E. *Gene* 1990;95:289-93.
 - 104 Rahuel C, Elouet J-F, Cartron J-P. Post-transcriptional regulation of the cell surface expression of glycophorins A, B, and E. *J Biol Chem* 1994;269:32752-8.
 - 105 Rahuel C, Vinit M-A, Lemarchandel V, Cartron J-P, Romeo P-H. Erythroid-specific activity of the glycophorin B promoter requires GATA-1 mediated displacement of a repressor. *EMBO J* 1992;11:4095-102.
 - 106 Camara-Clayette V, Thomas D, Rahuel C *et al*. The repressor which binds the -75 GATA motif of the GPB promoter contains Ku70 as the DNA binding subunit. *Nucl Acid Res* 1999;27:1656-63.
 - 107 Camara-Clayette V, Rahuel C, Bertrand O, Cartron J-P. The E-box of the human glycophorin B promoter is involved in the erythroid-specific expression of the GPB gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;265:170-6.
 - 108 Fukuda M. Molecular genetics of the glycophorin A gene cluster. *Semin Hematol* 1993;30:138-51.
 - 109 Dahr W, Uhlenbruck G, Knott H. Immunochemical aspects of the MNSs-blood group system. *J Immunogenet* 1975;2:87-100.
 - 110 Judson PA, Anstee DJ. Comparative effect of trypsin and chymotrypsin on blood group antigens. *Med Lab Sci* 1977;34:1-6.
 - 111 Case J. The behaviour of anti-S antibodies with ficin treated human red cells [Abstract]. *Transfusion* 1978;18:392-3.
 - 112 Herron B, Smith GA. The effect of increasing concentration of neuraminidase on the removal of α 2,3- and α 2,6-linked sialic acids from intact red cells [Abstract]. *Transfus Med* 1992;2(Suppl.1):70.
 - 113 Lisowska E, Kordowicz M. Specific antibodies for desialized M and N blood group antigens. *Vox Sang* 1977;33:164-9.
 - 114 Sadler JE, Paulson JC, Hill RL. The role of sialic acid in the expression of human MN blood group antigens. *J Biol Chem* 1979;254:2112-9.
 - 115 Darnborough J, Dunsford I, Wallace JA. The En^a antigen and antibody: a genetical modification of human red cells affecting their blood grouping reactions. *Vox Sang* 1969;17:241-55.
 - 116 Furuhjelm U, Myllylä G, Nevanlinna HR *et al*. The red

- cell phenotype En(a-) and anti-En^b: serological and physicochemical aspects. *Vox Sang* 1969;17:256-78.
- 117 Furuhielm U, Nevanlinna HR, Pirkola A. A second Finnish En(a-) propositus with anti-En^a. *Vox Sang* 1973;24:545-9.
- 118 Walker PS, Bergren MO, Busch MP, Carmody AM, Perkins HA. Finnish En(a-) propositus with anti-En^aFS and anti-En^aFR: *in vitro* and *in vivo* characteristics. *Vox Sang* 1987;52:103-6.
- 119 Taliano V, Guévin R-M, Hébert D *et al*. The rare phenotype En(a-) in a French-Canadian family. *Vox Sang* 1980;38:87-93.
- 120 Rapini J, Batts R, Yacob M *et al*. En(a-) FIN phenotype in a Pakistani. *Immunohematology* 1995;11:51-3.
- 121 Shinozuka T, Miyata Y, Kuroda N *et al*. Serological and biochemical studies on En(a-) human erythrocytes in a Japanese family. *Jpn J Legal Med* 1992;46:301-9.
- 122 Okubo Y, Seno T, Yamaguchi H *et al*. En(a-) phenotype in a Japanese blood donor. *Immunohemat* 1993;9:105-8.
- 123 Dahr W, Uhlenbruck G, Wagstaff W, Leikola J. Studies on the membrane glycoprotein defect of En(a-) erythrocytes. II. MN antigenic properties of En(a-) erythrocytes. *J Immunogenet* 1976;3:383-93.
- 124 Anstee DJ, Barker DM, Judson PA, Tanner MJA. Inherited sialoglycoprotein deficiencies in human erythrocytes of type En(a-). *Br J Haematol* 1977;35:309-20.
- 125 Dahr W, Uhlenbruck G, Leikola J, Wagstaff W. Studies on the membrane glycoprotein defect of En(a-) erythrocytes. III. N-terminal amino acids of sialoglycoproteins from normal and En(a-) red cells. *J Immunogenet* 1978;5:117-27.
- 126 Metaxas MN, Metaxas-Bühler M. *Human Blood Groups, 5th Int Convoc Immunol*. Buffalo, NY: Basel: Karger, 1977:344-52.
- 127 Tanner MJA, Anstee DJ. The membrane change in En(a-) human erythrocytes: absence of the major erythrocyte sialoglycoprotein. *Biochem J* 1976;153:271-7.
- 128 Dahr W, Uhlenbruck G, Leikola J, Wagstaff W, Landeried K. Studies on the membrane glycoprotein defect of En(a-) erythrocytes. I. Biochemical aspects. *J Immunogenet* 1976;3:329-46.
- 129 Inglis G, Anstee DJ, Giles CM, Tanner MJA, Mitchell R. Probable *En^aEn* heterozygotes in two British families. *J Immunogenet* 1979;6:145-54.
- 130 Bird GWG, Wingham J. The action of seed and other reagents on En(a-) erythrocytes. *Vox Sang* 1973;24:48-57.
- 131 Metaxas MN, Metaxas-Bühler M. The detection of MNSs 'variants' in serial tests with incomplete Rh antisera in saline. *Vox Sang* 1972;22:474-7.
- 132 Gahmberg CG, Myllylä G, Leikola J, Pirkola A, Nordling S. Absence of the major sialoglycoprotein in the membrane of human En(a-) erythrocytes and increased glycosylation of Band 3. *J Biol Chem* 1976;251:6108-16.
- 133 Tanner MJA, Jenkins RE, Anstee DJ, Clamp JR. Abnormal carbohydrate composition of the major penetrating membrane protein of En(a-) human erythrocytes. *Biochem J* 1976;155:701-3.
- 134 Groves JD, Tanner MJA. Glycophorin A facilitates the expression of human band 3-mediated anion transport in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem* 1992;267:22163-70.
- 135 Metaxas MN, Metaxas-Bühler M. M^b: an apparently silent allele at the MN locus. *Nature* 1964;202:1123.
- 136 Henningsen K. Exceptional MNSs- and Gm-types within a Danish family: causal relationship or coincidence? *Acta Genet* 1966;16:239-41.
- 137 Nordling S, Sanger R, Gavin J *et al*. M^b and M^c: some serological and physicochemical observations. *Vox Sang* 1969;17:300-2.
- 138 Sturgeon P, Metaxas-Bühler M, Metaxas MN, Tippett P, Ikin EW. An erroneous exclusion of paternity in a Chinese family exhibiting the rare MNSs gene complexes M^b and M^s^{III}. *Vox Sang* 1970;18:393-406.
- 139 Metaxas MN, Metaxas-Bühler M, Romanski Y. The inheritance of the blood group gene M^b and some considerations on its possible nature. *Vox Sang* 1971;20:509-18.
- 140 Luner SJ, Sturgeon P, Szklarek D, McQuiston DT. Cell electrophoretic, membrane sialic acid and quantitative hemagglutination studies on some MN variants. *Vox Sang* 1975;29:440-9.
- 141 Metaxas MN, Metaxas-Bühler M, Edwards JH. MNSs frequencies in 3895 Swiss blood donors. *Vox Sang* 1970;18:385-94.
- 142 Heiken A, Ikin EW, Mårtensson L. On the M^b allele of the MNSs system. *Acta Genet* 1967;17:328-37.
- 143 Hodson C, Lee D, Cooper DG *et al*. M^b in three generations of an English family. *J Immunogenet* 1979;6:391-401.
- 144 Judd WJ, Geisland JR, Issitt PD *et al*. Studies on the blood of an M^b/M^c proposita and her family. *Transfusion* 1983;23:33-6.
- 145 Habash J, Lubenko A, Pizzaro I *et al*. Studies on a Chilean M^b/M^c proposita and her family [Abstract]. *Joint Congr Int Soc Blood Transfus and Am Assoc Blood Banks* 1990:155.
- 146 German JL, Walker ME, Stiefel FH, Allen FH. Autoradiographic studies of human chromosomes. II. Data concerning the position of the MN locus. *Vox Sang* 1969;16:130-45.
- 147 German J, Metaxas MN, Metaxas-Bühler M, Louie E, Chaganti RSK. Further evaluation of a child with the M^b phenotype and a translocation affecting the long arms of chromosomes 2 and 4 [Abstract]. *Cytogenet Cell Genet* 1979;25:160.
- 148 Tokunaga E, Sasakawa S, Tamaka K *et al*. Two apparently healthy Japanese individuals of type M^bM^c have erythrocytes which lack both the blood group MN and Ss-active sialoglycoproteins. *J Immunogenet* 1979;6:383-90.

- 149 Okubo Y, Daniels GL, Parsons SF *et al*. A Japanese family with two sisters apparently homozygous for M^k. *Vox Sang* 1988;54:107-11.
- 150 Gutendorf R, Lacey P, Moulds J, Dahr W. Recognition of an M^kM^k Black child during paternity testing [Abstract]. *Transfusion* 1985;25:481.
- 151 Leak M, Poole J, Kaye T *et al*. The rare M^kM^k phenotype in a Turkish antenatal patient and evidence for clinical significance of anti-En^a [Abstract]. *Joint Congr Int Soc Blood Transfus and Am Assoc Blood Banks* 1990:57.
- 152 Dahr W, Uhlenbruck G, Knott H. The defect of M^k erythrocytes as revealed by sodium dodecylsulphate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J Immunogenet* 1977;4:191-200.
- 153 Anstee DJ, Tanner MJA. Genetic variants involving the major membrane sialoglycoprotein of human erythrocytes. *Biochem J* 1978;175:149-57.
- 154 Dahr W, Longster G, Uhlenbruck G, Schumacher K. Studies on Miltenberger class III, V, M^a and M^k red cells. I. Sodium-dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoretic investigations. *Blut* 1978;37:129-138.
- 155 Bruce LJ, Groves JD, Okubo Y, Thilaganathan B, Tanner MJA. Altered band 3 structure and function in glycophorin A- and B-deficient (M^kM^k) red blood cells. *Blood* 1994;84:916-22.
- 156 Issitt PD, Pavone BG, Wagstaff W, Goldfinger D. The phenotypes En(a-), Wr(a-b-), and En(a+), Wr(a+b-), and further studies on the Wright and En blood group systems. *Transfusion* 1976;16:396-407.
- 157 Pavone BG, Pirkola A, Nevanlinna HR, Issitt PD. Demonstration of anti-Wr^b in a second serum containing anti-En^a. *Transfusion* 1978;18:155-9.
- 158 Daniels GL. *Blood group antigens of high frequency: a serological and genetical study*. PhD thesis, University of London, 1980.
- 159 Vengelen-Tyler V, Anstee DJ, Issitt PD *et al*. Studies on the blood of an Mi^V homozygote. *Transfusion* 1981;21:1-14.
- 160 Langley JW, Issitt PD, Anstee DJ *et al*. Another individual (J.R.) whose red blood cells appear to carry a hybrid MNSs sialoglycoprotein. *Transfusion* 1981;21:15-24.
- 161 Issitt PD, Wilkinson-Kroovand S, Langley JW, Smith N. Production of allo-anti-En^a by an individual whose red blood cells carry some En^a antigen. *Transfusion* 1981;21:211-14.
- 162 Issitt PD, Daniels G, Tippet P. Proposed new terminology for En^a. *Transfusion* 1981;21:473-4.
- 163 Pavone BG, Billman R, Bryant J, Sniecinski I, Issitt PD. An auto-anti-En^a, inhibitable by MN sialoglycoprotein. *Transfusion* 1981;21:25-31.
- 164 Dahr W, Wilkinson S, Issitt PD *et al*. High frequency antigens of human erythrocyte membrane sialoglycoproteins III. Studies on the En^aFR, Wr^b and Wr^a antigens. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1986;367:1033-45.
- 165 Adams J, Broviac M, Brooks W, Johnson NR, Issitt PD. An antibody, in the serum of a Wr(a+) individual, reacting with an antigen of very high frequency. *Transfusion* 1971;11:290-1.
- 166 Issitt PD, Pavone BG, Goldfinger D, Zwicker H. An En(a-) red cell sample that types as Wr(a-b-). *Transfusion* 1975;15:353-5.
- 167 Ridgwell K, Tanner MJA, Anstee DJ. The Wr^b antigen, a receptor for *Plasmodium falciparum* malaria, is located on a helical region of the major membrane sialoglycoprotein of human red blood cells. *Biochem J* 1983;209:273-6.
- 168 Bruce LJ, Ring SM, Anstee DJ *et al*. Changes in the blood group Wright antigens are associated with a mutation at amino acid 658 in human erythrocyte band 3: a site of interaction between band 3 and glycophorin A in the red cell membrane under certain conditions. *Blood* 1994;85:541-7.
- 169 Postoway N, Anstee DJ, Wortman M, Garratty G. A severe transfusion reaction associated with anti-En^aTS in a patient with an abnormal alpha-like red cell sialoglycoprotein. *Transfusion* 1988;28:77-80.
- 170 Banks J, Malde R, King M-J, Poole J. An individual of phenotype GPJL with anti-Wr^b/En^aFR: a case study [Abstract]. *Transfus Med* 1998;8(Suppl.1):28.
- 171 Bell CA, Zwicker H. Further studies on the relationship of anti-En^a and anti-Wr^b in warm autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion* 1978;18:572-5.
- 172 Garratty G, Arndt P, Domen R *et al*. Severe autoimmune hemolytic anemia associated with IgM warm autoantibodies directed against determinants on or associated with glycophorin A. *Vox Sang* 1997;72:124-30.
- 173 Garratty G. Specificity of autoantibodies reacting optimally at 37°C. *Immunohematology* 1999;15:24-40.
- 174 Moulds MK, Lacey P, Bradford MF *et al*. An *in vitro* phenomenon unique to auto-anti-En^aFS in eight patients [Abstract]. *19th Congr Int Soc Blood Transfus* 1986:653.
- 175 Anstee DJ, Edwards PAW. Monoclonal antibodies to human erythrocytes. *Eur J Immunol* 1982;12:228-32.
- 176 Chester MA, Johnson U, Lundblad A *et al*. eds. *Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens. Proceedings of the 2nd International Workshop and Symposium* 1990.
- 177 Wasniowska K, Duk M, Czerwinski M *et al*. Analysis of peptidic epitopes recognized by the three monoclonal antibodies specific for the same region of glycophorin A but showing different properties. *Mol Immunol* 1992;29:783-91.
- 178 Rasamoeliso M, Czerwinski M, Bruneau V, Lisowska E, Blanchard D. Fine characterization of a series of new monoclonal antibodies directed against glycophorin A. *Vox Sang* 1997;72:185-91.
- 179 Rasamoeliso M, Czerwinski M, Willem C, Blanchard D. Shared epitopes of glycoprotein A and protein 4.1 defined by antibody NaM10-3C10. *Hybridoma* 1998;17:283-8.

- 180 Roelcke D, Uhlenbruck G. Letter to the editor. *Vox Sang* 1970;18:478-9.
- 181 Roelcke D. Cold agglutination. *Transfus Med Rev* 1989;3:140-66.
- 182 Marsh WL, Jenkins WJ. Anti-Sp₁: the recognition of a new cold auto-antibody. *Vox Sang* 1968;15:177-86.
- 183 Roelcke D. A new serological specificity in cold antibodies of high titre: anti-HD. *Vox Sang* 1969;16:76-9.
- 184 Roelcke D, Kreft H. Characterization of various anti-Pr cold agglutinins. *Transfusion* 1984;24:210-13.
- 185 Roelcke D, Pruzanski W, Ebert W *et al*. A new human monoclonal cold agglutinin Sa recognizing terminal N-acetylneuraminyl groups on the cell surface. *Blood* 1980;55:677-81.
- 186 Ebert W, Fey J, Gärtner C *et al*. Isolation and partial characterization of the Pr autoantigen determinants. *Molec Immunol* 1979;16:413-19.
- 187 Dahr W, Lichhardt D, Roelcke D. Studies on the receptor sites of the monoclonal anti-Pr and -Sa cold agglutinins. *Prot Biol Fluids* 1982;29:365-8.
- 188 Uemura K, Roelcke D, Nagai Y, Feizi T. The reactivities of human erythrocyte autoantibodies anti-Pr₂, anti-Gd, Fl and Sa with gangliosides in a chromatogram binding assay. *Biochem J* 1984;219:865-74.
- 189 Kewitz S, Groß HJ, Kosa R, Roelcke D. Anti-Pr cold agglutinins recognize immunodominant α 2,3- or α 2,6-sialyl groups on glycoproteins. *Glycocon J* 1995;12:714-20.
- 190 Anstee DJ. Blood group MNSs-active sialoglycoproteins of the human erythrocyte membrane. In: SG Sandler, J Nusbacher, MS Schanfield, eds. *Immunobiology of the Erythrocyte*. New York: Liss, 1980: 67-98.
- 191 Wiener AS, Unger LJ, Gordon EB. Fatal hemolytic transfusion reaction caused by sensitization to a new blood factor U: report of a case. *J Am Med Assoc* 1953;153:1444-6.
- 192 Hackel E. Elution of anti-U from SS and ss cells. *Vox Sang* 1958;3:92-3.
- 193 Francis BJ, Hatcher DE. MN blood types. The S-s-U₄ and the M₁ phenotypes. *Vox Sang* 1966;11:213-16.
- 194 Storry JR, Reid ME. Characterization of antibodies produced by S-s- individuals. *Transfusion* 1996;36:512-16.
- 195 Issitt PD, Anstee DJ. *Applied Blood Group Serology*, 4th edn. Durham, NC: Montgomery Scientific Publications, 1998.
- 196 Reid ME, Storry JR, Maurer J, Nance ST. Practical method for determination of the U status of S-s- erythrocytes. *Immunohematology* 1997;13:111-14.
- 197 Reid ME, Storry JR, Ralph H, Blumenfeld OO, Huang C-H. Expression and quantitative variation of the low-incidence blood group antigen He on some S-s- red cells. *Transfusion* 1996;36:719-24.
- 198 Beattie KM, Sigmund KE, McGraw J, Shurafa M. U-variant blood in sickle cell patients. *Transfusion* 1982;22:257.
- 199 Mentor J, Richards HS. Anti-U recognizing a variant of the U-blood group. *Vox Sang* 1989;56:62.
- 200 Dahr W, Uhlenbruck G, Issitt PD, Allen FH. SDS-polyacrylamide gel electrophoretic analysis of the membrane glycoprotein from S-s-U- erythrocytes. *J Immunogenet* 1975;2:249-51.
- 201 Tanner MJA, Anstee DJ, Judson PA. A carbohydrate-deficient membrane glycoprotein in human erythrocytes of phenotype S-s-. *Biochem J* 1977;165:157-61.
- 202 Dahr W, Issitt P, Moulds J, Pavone B. Further studies on the membrane glycoprotein defects of S-s- and En(a-) erythrocytes. *Hoppe-Seyler Z Physiol Chem* 1978;359:1217-24.
- 203 Storry JR, Reid ME. Serological and molecular characteristics of S-s- glycoprotein B variants [Abstract]. *Transfusion* 1997;7(Suppl.1):18.
- 204 Issitt PD, Marsh WL, Wren MR, Theuriere M, Mueller K. Heterogeneity of anti-U demonstrable by the use of papain-treated red cells. *Transfusion* 1989;29:508-13.
- 205 McKeever BG, Pochedley M, Meyer JD. Reactivity of U negative cell samples with Glycine lectin [Abstract]. *Transfusion* 1980;20:634.
- 206 Fraser GR, Giblett ER, Motulsky AG. Population genetic studies in the Congo. III. Blood groups (ABO, MNSs, Rh, Js^a). *Am J Hum Genet* 1966;18:546-52.
- 207 Lowe RF, Moores PP. S-s-U- red cell factor in Africans of Rhodesia, Malawi, Mozambique and Natal. *Hum Hered* 1972;22:344-50.
- 208 Hoekstra A, Albert AE, Newell GAI, Moores P. S-s-U- phenotype in South African Negroes. *Vox Sang* 1975;29:214-16.
- 209 Sondag-Thull D, Girard M, Blanchard D, Bloy C, Carron J-P. S-s-U- phenotype in a Caucasian family. *Exp Clin Immunogenet* 1986;3:181-6.
- 210 Moores P. Four examples of the S-s-U- phenotype in an Indian family. *Vox Sang* 1972;23:452-4.
- 211 Giblett ER, Gartler SM, Waxman SH. Blood group studies on the family of an XX/XY hermaphrodite with generalized tissue mosaicism. *Am J Hum Genet* 1963;15:62-8.
- 212 Polesky HF, Moulds J. Anomalous inheritance of Ss in a Caucasian family. *Am J Hum Genet* 1975;27:543-6.
- 213 Austin RJ, Riches G. Inherited lack of Ss antigens with weak expression of U in a Caucasian family. *Vox Sang* 1978;34:343-6.
- 214 Mauff G, Pulverer G, Hummel K, Spielmann W, Bender K. Occurrence of S^a in a German family. *Blut* 1977;34:357-62.
- 215 Issitt PD, Pavone BG, Rolih SD. Failure to demonstrate dosage of U antigen. *Vox Sang* 1976;31:25-31.
- 216 Dahr W, Issitt PD, Uhlenbruck G. New concepts of the MNSs blood group system. In: *Human Blood Groups, 5th Int Convoc Immunol, Buffalo, NY*. Basel: Karger, 1977:197-205.
- 217 Huang C-H, Johe K, Moulds JJ *et al*. δ glycoprotein (glycophorin B) gene deletion in two individuals

- homozygous for the S-s-U- blood group phenotype. *Blood* 1987;70:1830-5.
- 218 Anstee DJ, Mawby WJ, Tanner MJA. Abnormal blood-group-Ss-active sialoglycoproteins in the membrane of Miltenberger class III, IV and V human erythrocytes. *Biochem J* 1979;183:193-203.
 - 219 Ballas SK, Reilly PA, Murphy DL. The blood group U antigen is not located on glycophorin B. *Biochim Biophys Acta* 1986;884:337-43.
 - 220 Dahr W, Moulds JJ. High-frequency antigens of human erythrocyte membrane sialoglycoproteins. IV. Molecular properties of the U antigen. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1987;368:659-67.
 - 221 Rahuel C, London J, Vignal A, Ballas SK, Cartron J-P. Erythrocyte glycophorin B deficiency may occur by two distinct gene alterations. *Am J Hematol* 1991;37:57-8.
 - 222 Storry JR, Reid ME. Analysis of silenced glycophorin B alleles by PCR-RFLP of exon 5 of the glycophorin B gene [Abstract]. *Transfusion* 2000;40:13S.
 - 223 Huang C-H, Reid ME, Blumenfeld OO. Remodelling of the transmembrane segment in human glycophorin by aberrant RNA splicing. *J Biol Chem* 1994;269:10804-12.
 - 224 Allen FH, Corcoran PA, Kenton HB, Breare N. M^s, a new blood group antigen in the MNS system. *Vox Sang* 1958;3:81-91.
 - 225 Metaxas MN, Metaxas-Bühler M, Romanski J. Studies on the blood group antigen M^s. I. Frequency of M^s in Switzerland and family studies. *Vox Sang* 1966;11:157-69.
 - 226 Metaxas MN, Matter M, Metaxas-Bühler M, Romanski Y, Hässig A. Frequency of the M^s blood group antigen in Swiss blood donors and its inheritance in several independent families. *Proc 9th Congr Int Soc Blood Transfus* 1964:206-9.
 - 227 Brocteur J. Confirmation of the M^sS gene complex found in 3 new Sicilian families [Abstract]. *Joint Mtg Int Soc Haematol and Am Assoc Blood Banks* 1972:12.
 - 228 Reid ME, Lomas-Francis C, Daniels GL *et al*. Expression of the erythrocyte antigen Henshaw (He; MNS6): serological and immunochemical studies. *Vox Sang* 1995;68:183-6.
 - 229 Pollitzer WS. The Henshaw blood factor in New York City Negroes. *Am J Phys Anthropol* 1956;14:445-7.
 - 230 Greenwalt TJ. Practical applications of recent advances in the red cell blood groups with emphasis on the rarer types. In: LM Tocantins, ed. *Progress in Hematology*. New York: Grune & Stratton, 1962:71-91.
 - 231 Chalmers JNM, Ikin EW, Mourant AE. A study of two unusual blood-group antigens in West Africans. *Br Med J* 1953;ii:175-7.
 - 232 Shapiro M. Inheritance of the Henshaw (He) blood factor. *J Forensic Med* 1956;3:152-60.
 - 233 Nijenhuis LE, Wortel L. Weak examples of the Henshaw antigen. *Vox Sang* 1968;14:462-4.
 - 234 Zoutendyk A. The blood groups of South African natives with particular reference to a recent investigation of the Hottentots. *Proceedings of the 5th Congr International Soc Blood Transfus* 1955:247-9.
 - 235 Nijenhuis LE. The Henshaw bloodgroup (He) in Papuans and Congo negroes. *Vox Sang* 1953;3:112-14.
 - 236 Chandanyingyong D, Pejrachandra S. Studies on the Miltenberger complex frequency in Thailand and family studies. *Vox Sang* 1975;28:152-5.
 - 237 Broadberry RE, Lin M. The distribution of the Mill (GP.Mur) phenotype among the population of Taiwan. *Transfus Med* 1996;6:145-8.
 - 238 Joshi SR, Bharucha ZS, Sharma RS, Bhatia HM. The M^s blood group antigen in two Indian families. *Vox Sang* 1972;22:478-80.
 - 239 Reid ME, Halverson GR. Characterization of monoclonal antibodies in section 2B using enzymes and variant red blood cells. *Transfus Clin Biol* 1997;4:65-8.
 - 240 van der Hart M, van der Veer M, van Loghem JJ, Sanger R, Race RR. Vr, an antigen belonging to the MNSs blood group system. *Vox Sang* 1958;3:261-5.
 - 241 Konugres AA, Fitzgerald H, Dresser R. Distribution and development of the blood factor M^s. *Vox Sang* 1965;10:206-7.
 - 242 Field TE, Wilson TE, Dawes BJ, Giles CM. Haemolytic disease of the newborn due to anti-M^s. *Vox Sang* 1972;22:432-7.
 - 243 Chandanyingyong D, Sasaki TT, Greenwalt TJ. Blood groups of the Thais. *Transfusion* 1967;7:269-76.
 - 244 Metaxas-Buehler M, Metaxas MN, Sturgeon P. MNSs and Miltenberger frequencies in 211 Chinese. *Vox Sang* 1975;29:394-9.
 - 245 Madden JH, Cleghorn TE, Allen FH, Rosenfield RE, Mackeprang M. A note on the relatively high frequency of Se^a on the red blood cells of Orientals, and report of a third example of anti-Se^a. *Vox Sang* 1964;9:502-4.
 - 246 Cleghorn TE. Two human blood group antigens, Se^a (Stones) and Ri^a (Ridley), closely related to the MNSs system. *Nature* 1962;195:297-8.
 - 247 Contreras M, Armitage SE, Stebbing B. The MNSs antigen Ridley (Ri^a). *Vox Sang* 1984;46:360-5.
 - 248 Wallace J, Izatt MM. The Cp^a (Caldwell) antigen: a new and rare human blood group antigen related to the MNSs system. *Nature* 1963;200:689-90.
 - 249 Örjasaeter H, Kornstad L, Heier AM *et al*. A human blood group antigen, Ny^a (Nyberg), segregating with the Ns gene complex of the MNSs system. *Nature* 1964;201:832.
 - 250 Örjasaeter H, Kornstad L, Heier A-M. Studies on the Ny^a blood group antigen and antibodies. *Vox Sang* 1964;9:673-83.
 - 251 Kornstad L, Heier Larsen AM, Weisert O. Further observations on the frequency of the Ny^a blood-group antigen and its genetics. *Am J Hum Genet* 1971;23:612-13.
 - 252 Schimmack L, Müller I, Kornstad L. A contribution to the Ny^a problem. *Hum Hered* 1971;21:346-50.

- 253 Pineda AA, Taswell HF. First example of Ny^a blood group antigen in American population. *Vox Sang* 1969;17:459-61.
- 254 Nakajima H, Ohkura K, Orjasaeter H, Kornstad L. The Ny^a blood group antigen among Japanese, Ryukyuan, and Chinese and the Mountainous Aborigines in Taiwan. *Jpn J Hum Genet* 1967;11:263-5.
- 255 Crossland JD, Pepper MD, Giles CM, Ikin EW. A British family possessing two variants of the MNSs blood group system, M^h and a new class within the Miltenberger complex. *Vox Sang* 1970;18:407-13.
- 256 Cregut R, Liberge G, Yvart J, Brocteur J, Salmon C. A new rare blood group antigen, 'FAR', probably linked to the MNSs system. *Vox Sang* 1974;26:194-8.
- 257 Speiser P, Kühböck Mickerts D et al. 'Kamhuber' a new human blood group antigen of familial occurrence, revealed by a severe transfusion reaction. *Vox Sang* 1966;11:113-15.
- 258 Shapiro M, Le Roux ME. Serology and genetics of a 'new' red cell antigen: s^D [Abstract]. *Transfusion* 1981;21:614.
- 259 Battista N, Stout TD, Lewis M, Kaita H. A new rare blood group antigen: 'Mit'. Probable genetic relationship with the MNSs blood group system. *Vox Sang* 1980;39:331-4.
- 260 Lubenko A, Savage JL, Gee SW, Callen EM, Barslem SJ. Serology and genetics of the Mit antigen in North London blood donors [Abstract]. *Proc 20th Congr Int Soc Blood Transfus* 1988:116.
- 261 Unger P, Procter JL, Moulds JJ et al. The Dantu erythrocyte phenotype of the NE variety. II. Serology, immunochemistry, genetics, and frequency. *Blut* 1987;55:33-43.
- 262 Contreras M, Green C, Humphreys J et al. Serology and genetics of an MNSs-associated antigen Dantu. *Vox Sang* 1984;46:377-86.
- 263 Webb AJ, Giles CM. Three antibodies of the MNSs system and their association with the Miltenberger complex of antigens. II. Raddon and Lane Sera. *Vox Sang* 1977;32:274-6.
- 264 Baldwin ML, Barrasso C, Gavin J. The first example of a Raddon-like antibody as a cause of a transfusion reaction. *Transfusion* 1981;21:86-9.
- 265 Cleghorn TE. Cited in [18].
- 266 Tsuneyama H, Uchikawa M, Matsubara M et al. Molecular basis of Or in the MNS blood group system. *Vox Sang* 1998;74(Suppl.1):abstract 1446.
- 267 Skov F, Green C, Daniels G, Khalid G, Tippet P. Miltenberger class IX of the MNS blood group system. *Vox Sang* 1991;61:130-6.
- 268 Daniels GL, Green CA, Okubo Y et al. SAT, a 'new' low frequency blood group antigen, which may be associated with two different MNS variants. *Transfus Med* 1991;1:39-45.
- 269 Seno T, Yamaguchi H, Okubo Y et al. Os^a, a 'new' low-frequency red cell antigen. *Vox Sang* 1983;45:60-1.
- 270 Winter NM, Antonelli G, Walsh EA, Konugres AA. A second example of blood group antigen M^h in the American population. *Vox Sang* 1966;11:209-12.
- 271 Brocteur J. The M^hS gene complex of the MNSs blood group system, evidenced in a Sicilian family. *Hum Hered* 1969;19:77-85.
- 272 Dahr W, Metaxas-Bühler M, Metaxas MN, Gallasch E. Immunochemical properties of M^h erythrocytes. *J Immunogenet* 1981;8:79-87.
- 273 Giles CM. Serological activity of low frequency antigens of the MNSs system and reappraisal of the Miltenberger complex. *Vox Sang* 1982;42:256-61.
- 274 Springer GF, Stalder K. Action of influenza viruses, receptor-destroying enzyme and proteases on blood group agglutinin M^h. *Nature* 1961;191:187-8.
- 275 Furthmayr H, Metaxas MN, Metaxas-Bühler M. M^h and Mⁱ: mutations within the amino-terminal region of glycophorin A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:631-5.
- 276 Dahr W, Beyreuther K, Gallasch E, Krüger J, Morel P. Amino acid sequence of the blood group M^h-specific major human erythrocyte membrane sialoglycoprotein. *Hoppe-Seyler Z Physiol Chem* 1981;362:81-5.
- 277 Blumenfeld OO, Adamany AM, Puglia KV. Amino acid and carbohydrate structural variants of glycoprotein products (M-N glycoproteins) of the M-N allelic locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:747-51.
- 278 Cartron JP, Ferrari B, Huet M, Pavia AA. Specificity of anti-M^h antibody: a study with synthetic peptides and glycopeptides. *Expl Clin Immunogenet* 1984;1:112-16.
- 279 Dahr W, Weinberg R, Roelcke D, Bunke D, Beyreuther K. Studies of the specificity of anti-M^h [Abstract]. *Transfusion* 1992;32:54S.
- 280 Jaskiewicz E, Blanchard D, Rasamodiso M et al. Fine specificities of murine anti-M^h monoclonal antibodies. *Transfus Med* 1999;9:161-6.
- 281 Dahr W, Collins P, Shin C, Schanfield MS. Studies on the structure of a variant of the M^h blood group [Abstract]. *Transfusion* 1983;23:422.
- 282 Fraser RH, Inglis G, Mackie A et al. Mouse monoclonal antibodies reacting with M blood group-related antigens. *Transfusion* 1985;25:261-6.
- 283 Nichols ME, Rosenfield RE, Rubinstein P. Two blood group M epitopes disclosed by monoclonal antibodies. *Vox Sang* 1985;49:138-48.
- 284 Green C, Daniels G, Skov F, Tippet P. The M^h+ MNS blood group phenotype: further observations. *Vox Sang* 1994;66:237-41.
- 285 Jaskiewicz E, Czerwinski M, Syper D, Lisowska E. Anti-M monoclonal antibodies cross reacting with variant M^h antigen: an example of modulation of antigenic properties of peptide by its glycosylation. *Blood* 1994;84:2340-5.
- 286 Edelman L, Blanchard D, Rouger P et al. A monoclonal antibody directed against the homologous N-terminal

- domain of glycophorin A and B. *Expl Clin Immunogenet* 1984;1:129-39.
- 287 Neppert J. Blood group antibody anti-M^s and isoagglutinin frequency in the Republic of Liberia, West Africa. *Transfusion* 1980;20:448-9.
 - 288 Ikin EW. The production of anti-M^s in rabbits. *Vox Sang* 1966;11:217-18.
 - 289 Dunsford I, Ikin EW, Mourant AE. A human blood group gene intermediate between M and N. *Nature* 1953;172:688-9.
 - 290 Metaxas MN, Metaxas-Bühler M, Ikin EW. Complexities of the MN locus. *Vox Sang* 1968;15:102-17.
 - 291 Dahr W, Kordowicz M, Beyreuther K, Krüger J. The amino acid sequence of the M^s-specific major red cell membrane sialoglycoprotein: an intermediate of the blood group M- and N-active molecules. *Hoppe Seyler Z Physiol Chem* 1981;362:363-6.
 - 292 Bigbee WL, Langlois RG, Vanderlaan M, Jensen RH. Binding specificities of eight monoclonal antibodies to human glycophorin A: studies with M^sM, and M^sEn(UK) variant human erythrocytes and M- and MN^s-type chimpanzee erythrocytes. *J Immunol* 1984;133:3149-54.
 - 293 Ikin EW, Mourant AE. A rare blood group antigen occurring in Negroes. *Br Med J* 1951;4:456-7.
 - 294 MacDonald KA, Nichols ME, Marsh WL, Jenkins WJ. The first example of anti-Henshaw in human-serum. *Vox Sang* 1967;13:346-8.
 - 295 McDougall DCJ, Jenkins WJ. The first human example of anti-M^s. *Vox Sang* 1981;40:412-15.
 - 296 Judd WJ, Rolih SD, Dahr W *et al*. Studies on the blood of an MsHe/MS^s proposita and her family: serological evidence that Henshaw-producing genes do not code for the 'N' antigen. *Transfusion* 1983;23:382-6.
 - 297 Dahr W, Kordowicz M, Judd WJ *et al*. Structural analysis of the Ss sialoglycoprotein specific for Henshaw blood group from human erythrocyte membranes. *Eur J Biochem* 1984;141:51-5.
 - 298 Huang CH, Lomas C, Daniels G, Blumenfeld OO. Glycophorin He(S^s) of the human red cell membrane is encoded by a complex hybrid gene resulting from two recombinational events. *Blood* 1994;83:3369-76.
 - 299 Wiener AS, Rosenfield RE. M^s, a blood factor common to the antigenic properties of M and He. *J Immunol* 1961;87:376-8.
 - 300 Levene C, Sela R, Lacser M *et al*. Further examples of human anti-M^s found in sera of Israeli donors. *Vox Sang* 1984;46:207-10.
 - 301 Zelinski T, Coghlan G, Belcher E *et al*. Preliminary serological studies on 31 samples of monoclonal antibodies directed against red cell glycoproteins. *Rev Franc Transfus Immunohémat* 1988;31:273-9.
 - 302 Tippet P, Reid ME, Poole J *et al*. The Miltenberger subsystem: is it obsolescent? *Transfus Med Rev* 1992; 6:170-82.
 - 303 Reid ME, Tippet P. Review of a terminology proposed to supersede Miltenberger. *Immunohematology* 1993;9:91-5.
 - 304 Giles CM, Chandanayingyong D, Webb AJ. Three antibodies of the MNSs system and their association with the Miltenberger complex of antigens. III. Anek, Raddon and Lane antisera in relation to each other and the Miltenberger complex. *Vox Sang* 1977;32:277-9.
 - 305 Graydon JJ. A rare iso-haemagglutinin. *Med J Aust* 1946;ii:9-10.
 - 306 Chandanayingyong D, Pejrachandra S. Separable anti-Hut which is specific for class II of the Miltenberger complex. *Vox Sang* 1975;28:149-51.
 - 307 Dahr W. Miltenberger subsystem of the MNSs blood group system: review and outlook. *Vox Sang* 1992;62: 129-35.
 - 308 Cleghorn TE. A memorandum on the Miltenberger blood groups. *Vox Sang* 1966;11:219-22.
 - 309 Simmons RT, Albrey JA, McCulloch WJ. The duplication of the Gr (Graydon) blood group by Vw (Verweyst). *Vox Sang* 1959;4:132-7.
 - 310 Levine P, Stock AH, Kuhmichel AB, Bronikovsky N. A new human blood factor of rare incidence in the general population. *Proc Soc Exp Biol* 1951;77:402-3.
 - 311 Cleghorn TE. *The occurrence of certain rare blood group factors in Britain*. MD thesis, University of Sheffield, 1961.
 - 312 Wallace J, Milne GR, Mohn J *et al*. Blood group antigens M^s and Vw and their relation to the MNSs system. *Nature* 1957;179:478.
 - 313 Mohn JF, Lambert RM, Rosamilia HG *et al*. On the relationship of the blood group antigens M^s and Vw to the MNSs system. *Am J Hum Genet* 1958;10:276-86.
 - 314 van der Hart M, Bosman H, van Loghem JJ. Two rare human blood group antigens. (Preliminarily designed as Vw and Rm). *Vox Sang* 1954;4:108-16.
 - 315 Chandanayingyong D, Pejrachandra S, Poole J. Three antibodies of the MNSs system and their association with the Miltenberger complex of antigens. I. Anek serum. *Vox Sang* 1977;32:272-3.
 - 316 Dybkjaer E, Poole J, Giles CM. A new Miltenberger class detected by a second example of Anek type serum. *Vox Sang* 1981;41:302-5.
 - 317 Huang C-H, Kikuchi M, McCreary J, Blumenfeld OO. Gene conversion confined to a direct repeat of the acceptor splice site generates allelic diversity at human glycophorin (GYP) locus. *J Biol Chem* 1992;267:3336-42.
 - 318 Reid ME, Moore BPL, Poole J *et al*. TSEN: a novel MNS-related blood group antigen. *Vox Sang* 1992; 63:122-8.
 - 319 Weatherall DJ, Clegg JB. Recent developments in the molecular genetics of human hemoglobin. *Cell* 1979; 16:467-79.
 - 320 Reid ME. Hybrid sialoglycoproteins, Gerbich, Webb and Cad blood group determinants. In: Vengelen-Tyler, V, Judd, WJ, eds. *Recent Advances in Blood Group Bio-*

- chemistry. Arlington: American Association of Blood Banks, 1986:67-104.
- 321 Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Molecular Biology of the Cell*, 3rd edn. New York: Garland, 1994.
- 322 Metaxas MN, Metaxas-Bühler M, Heiken A, Vamosi M, Ikin EW, Bull W. Further examples of Miltenberger cell class V, one of them inherited with a depressed M antigen. *Vox Sang* 1972;23:420-8.
- 323 Mawby WJ, Anstee DJ, Tanner MJA. Immunochemical evidence for hybrid sialoglycoproteins of human erythrocytes. *Nature* 1981;291:161-2.
- 324 King MJ, Poole J, Anstee DJ. An application of immunoblotting in the classification of the Miltenberger series of blood group antigens. *Transfusion* 1989;29:106-12.
- 325 Huang C-H, Blumenfeld OO. Identification of recombination events resulting in three hybrid genes encoding human MiV, MiV(J.L.), and Sr^a glycoporphins. *Blood* 1991;77:1813-20.
- 326 Merry AH, Hodson C, Thomson E, Mallinson G, Anstee DJ. The use of monoclonal antibodies to quantify the levels of sialoglycoproteins α and δ and variant sialoglycoproteins in human erythrocyte membranes. *Biochem J* 1986;233:93-8.
- 327 Johe KK, Smith AJ, Vengelen-Tyler V, Blumenfeld OO. Amino acid sequence of an α - δ -glycophorin hybrid: a structure reciprocal to Sr^a α -glycophorin hybrid. *J Biol Chem* 1989;264:17486-93.
- 328 Lin F, Lu Y-Q, Liu J-F. Three types of Miltenberger glycophorin found in families of Chinese minorities in a malaria hyperendemic area [Abstract]. *Blood* 1994;84(Suppl.1):544a.
- 329 Storry J, Lindsay G, Rolih S *et al*. Four examples of anti-TSEN and three of TSEN-positive erythrocytes. *Transfusion* 2000;79:175-9.
- 330 Morel PA, Vengelen-Tyler V, Williams EA *et al*. Another MNSs variant producing a hybrid MNSs sialoglycoprotein. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1982;25:597-610.
- 331 Huang C-H, Reid ME, Blumenfeld OO, Okubo Y, Daniels GL. Glycophorin SAT of the human erythrocyte membrane is specified by a hybrid gene reciprocal to glycophorin Dantu gene. *Blood* 1995;85:2222-7.
- 332 Uchikawa M, Tsuneyama H, Wang L *et al*. A novel amino acid sequence result in the expression of the MNS related private antigen, SAT [Abstract]. *Vox Sang* 1994;67(Suppl.2):116.
- 333 Hodson C, Lee D. A new MNSs S.G.P. (α - δ) hybrid of the En(UK) type [Abstract]. *2nd Mtg Br Blood Transfus Soc* 1984:G50.
- 334 Cornwall S, Wright J, Moore BPL. Studies on Mur (Murrell), a rare antigen associated with the MNSs system. *Vox Sang* 1968;14:295-8.
- 335 Poole J, King M-J, Mak KH *et al*. The Mi^{III} phenotype among Chinese donors in Hong Kong: immunochemical and serological studies. *Transfus Med* 1991;1:169-75.
- 336 Chandanayingyong D, Pejrachandra S. Studies on anti-Mi^a and the Mi^{III} complex. *Vox Sang* 1975;29:311-15.
- 337 Storry JR, Poole J, Condon J, Reid ME. Identification of a novel hybrid glycophorin gene encoding GP.Hop. *Transfusion* 2000;40:560-5.
- 338 Hemming NJ, Reid ME. Evaluation of monoclonal anti-glycophorin B as an unusual anti-S. *Transfusion* 1994;34:333-6.
- 339 Green C, Poole J, Ford D, Glameyer T. A postulated glycophorin B-A-B hybrid demonstrating heterogeneity of anti-Hop and anti-Nob sera [Abstract]. *Transfus Med* 1992;2(Suppl.1):67.
- 340 Huang C-H, Puglia KV, Bigbee WL *et al*. A family study of multiple mutations of alpha and delta glycoporphins (glycophorins A and B). *Hum Genet* 1988;81:26-30.
- 341 Wu AM, Duk M, Lin M, Broadberry RE, Lisowska E. Identification of variant glycoporphins of human red cells by lectinoblotting: application to the Mi.III variant that is relatively frequent in the Taiwanese population. *Transfusion* 1995;35:571-6.
- 342 Laird-Fryer B, Moulds JJ, Dahr W, Min YO, Chandanayingyong D. Anti-En^aFS detected in the serum of an Mi^{III} homozygote. *Transfusion* 1986;26:51-6.
- 343 Huang C-H, Blumenfeld OO. Characterization of a genomic hybrid specifying the human erythrocyte antigen Dantu: Dantu gene is duplicated and linked to a δ glycophorin gene deletion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:9640-4.
- 344 Huang C-H, Blumenfeld OO. Molecular genetics of human erythrocyte Mi^{III} and Mi^{VI} glycoporphins: use of a pseudocodon in construction of two δ - α - δ hybrid genes resulting in antigenic diversification. *J Biol Chem* 1991;266:7248-55.
- 345 Johe KK, Smith AJ, Blumenfeld OO. Amino acid sequence of Mi^{III} glycoporphin: demonstration of δ - α and α - δ junction regions and expression of δ pseudocodon by direct protein sequencing. *J Biol Chem* 1991;266:7256.
- 346 Mak KH, Banks JA, Lubenko A *et al*. A survey of the incidence of Miltenberger antibodies among Hong Kong Chinese blood donors. *Transfusion* 1994;34:238-41.
- 347 Broadberry RE, Lin M. The incidence and significance of anti-Mi^a in Taiwan. *Transfusion* 1994;34:349-52.
- 348 Lin M, Broadberry RE. An intravascular transfusion reaction due to anti-Mi^a in Taiwan. *Vox Sang* 1994;67:320.
- 349 Lin CK, Mak KH, Cheng G *et al*. Serologic characteristics and clinical significance of Miltenberger antibodies among Chinese patients in Hong Kong. *Vox Sang* 1998;74:59-60.
- 350 Lin CK, Mak KH, Yuen CMY *et al*. A case of hydrops fetalis, probably due to antibodies directed against antigenic determinants of GP.Mur (Miltenberger class III) cells. *Immunohematology* 1996;12:115-18.
- 351 Shih MC, Yang LH, Wang NM, Chang JG. Genomic

- typing of human red cell Miltenberger glycoporphins in a Taiwanese population. *Transfusion* 2000;40:54-61.
- 352 Uchikawa M, Suzuki Y, Onodera Y *et al*. Monoclonal anti-Mi^a and anti-Mur. *Vox Sang* 2000;78(Suppl.1):Abstract P021.
 - 353 Huang C-H, Blumenfeld OO, Reid ME *et al*. Alternative splicing of a novel glycoporphin allele GPHc(GL) generates two protein isoforms in the human erythrocyte membrane. *Blood* 1997;90:391-7.
 - 354 Huang C-H, Skov F, Daniels G, Tippet P, Blumenfeld OO. Molecular analysis of human glycoporphin MiIX gene shows a silent segment transfer and untemplated mutation resulting from gene conversion via sequence repeats. *J Biol Chem* 1992;80:2379-87.
 - 355 Daraborough J. Further observations on the Verweyst blood group antigen and antibodies. *Vox Sang* 1957;2:362-7.
 - 356 Kornstad L, Orjaseter H, Heier Larsen AM. The blood group antigen Vw and anti-Vw antibodies: some observations in the Norwegian population. *Acta Genet* 1966;16:355-61.
 - 357 Spruell P, Moulds JJ, Martin M *et al*. An anti-En^aTS detected in the serum of an Mi^a homozygote. *Transfusion* 1993;33:848-51.
 - 358 Lewis M, Kaita H, Uchida I. Segregation of Mi^a with Ms. *Vox Sang* 1963;8:245.
 - 359 Mohri JF, Lambert RM, Iseki S, Masaki S, Furukawa K. The blood group antigen Mi^a in Japanese. *Vox Sang* 1963;8:430-7.
 - 360 Blanchard D, Asseraf A, Prigent M-J, Cartron J-P. Miltenberger class I and II erythrocytes carry a variant of glycoporphin A. *Biochem J* 1983;213:399-404.
 - 361 Dahr W, Newman RA, Contreras M *et al*. Structure of Miltenberger class I and II specific major human erythrocyte membrane sialoglycoproteins. *Eur J Biochem* 1984;138:259-65.
 - 362 Rearden A, Frandson S, Carry JB. Severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Vw and detection of glycoporphin A antigens on the Miltenberger I sialoglycoprotein by western blotting. *Vox Sang* 1987;52:318-21.
 - 363 Huang C-H, Spruell P, Moulds JJ, Blumenfeld OO. Molecular basis for the human erythrocyte glycoporphin specifying the Miltenberger class I (Mil) phenotype. *Blood* 1992;80:257-63.
 - 364 Herron R, Smith GA. Identification by immunoblotting of the erythrocyte membrane sialoglycoproteins that carry the Vw and Mur antigens. *Vox Sang* 1991;60:118-22.
 - 365 Alcalay D, Tanzer J. Maladie hémolytique du nouveau-né par anticorps anti-Miltenberger. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1977;20:623-5.
 - 366 Taylor AM, Knighton GJ. A case of severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Verweyst (Vw). *Transfusion* 1982;22:165-6.
 - 367 Gorlin JB, Beaton M, Poortenga M, Davidson S, Mullane S. Anti-Vw causing a case of clinically significant hemolytic disease of the newborn. *Transfusion* 1996;36:938-9.
 - 368 Molthan L. Intravascular hemolytic transfusion reaction due to anti-Vw+Mi^a with fatal outcome. *Vox Sang* 1981;40:105-8.
 - 369 Avoy DR. Letter. *Vox Sang* 1982;42:54-5.
 - 370 Smith L, Hsi R, McQuiston D, Goldfinger D. IgG subclassing of antibodies reactive with the Mil (Miltenberger) class of red blood cells [Abstract]. *Transfusion* 1985;25:447.
 - 371 Vengelen-Tyler V, Goya K, Green CA, Poole J. The second example of Mi: VIII phenotype [Abstract]. *Transfusion* 1985;25:464.
 - 372 Dahr W, Beyreuther K, Moulds JJ. Structural analysis of the major human erythrocyte membrane sialoglycoprotein from Miltenberger class VII cells. *Eur J Biochem* 1987;166:27-30.
 - 373 Dahr W, Beyreuther K, Dybkjaer E, Moulds J, Vengelen-Tyler V. Biochemical characterization of class VII and VIII cells within the Miltenberger system. In: WR Mayr, ed. *Advances in Forensic Haemogenetics*, Vol. 2. Berlin: Springer-Verlag, 1988:22-5.
 - 374 Dahr W, Vengelen-Tyler V, Dybkjaer E, Beyreuther K. Structural analysis of glycoporphin A from Miltenberger class VIII erythrocytes. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1989;370:855-9.
 - 375 Johe KK, Vengelen-Tyler V, Leger R, Blumenfeld OO. Synthetic peptides homologous to human glycoporphins of the Miltenberger complex of variants of MNSs blood group system specify the epitopes for Hil, S^h, Hop, and Mur antisera. *Blood* 1991;78:2456-61.
 - 376 Pisacka M, Poole J, Rodrigues M, King M-J. Serological basis of a new variant glycoporphin [Abstract]. *24th Congr Int Soc Blood Transfus* 1996:147.
 - 377 Poole J, Bruce LJ, Tanner MJA, Pisacka M. Novel molecular basis for the Hil (MNS20) antigen [Abstract]. *Transfusion* 1998;38:103S.
 - 378 Reid ME, Poole J, Green C, Neill G, Banks J. MINY: a novel MNS-related blood group antigen. *Vox Sang* 1992;63:129-32.
 - 379 Ellisor SS, Zelski D, Sugawara E, Dean WD, Bradburn S. A second example of anti-Hil. *Transfusion* 1982;22:402.
 - 380 Moulds M, Moulds J, Halverson GR, Reid ME, Chen V. The first example of monoclonal anti-Mi^a [Abstract]. *Transfusion* 1999;39:42S.
 - 381 Tanner MJA, Anstee DJ, Mawby WJ. A new human erythrocyte variant (Ph) containing an abnormal membrane sialoglycoprotein. *Biochem J* 1980;187:493-500.
 - 382 Unger P, Orlina A, Dahr W *et al*. Two new gene complexes in the MNSs blood group system [Abstract]. *Forensic Sci Int* 1981;18:258.
 - 383 Dahr W, Moulds J, Unger P, Blanchard D, Cartron JP. Serological and biochemical investigations on the

- N.E. variety of the Dantu red cell phenotype. In: B Brinkmann, K Henningsen, eds. *Advances in Forensic Haemogenetics* 1. Berlin: Springer-Verlag, 1986:3-7.
- 384 Dahr W, Pilkington PM, Reinke H, Blanchard D, Beyreuther K. A novel variety of the Dantu gene complex (*Dantu^{MD}*) detected in a Caucasian. *Blut* 1989;58:247-53.
 - 385 Dahr W, Beyreuther K, Moulds J, Unger P. Hybrid glycoporphins from human erythrocyte membranes. I. Isolation and complete structural analysis of the hybrid sialoglycoprotein from Dantu-positive red cells of the N.E. variety. *Eur J Biochem* 1987;166:31-6.
 - 386 Blumenfeld OO, Smith AJ, Moulds JJ. Membrane glycoporphins of Dantu blood group erythrocytes. *J Biol Chem* 1987;262:11864-70.
 - 387 Dahr W, Moulds J, Unger P, Kordowicz M. The Dantu erythrocyte phenotype of the NE variety. I. Dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoretic studies. *Blut* 1987;55:19-31.
 - 388 Ridgwell K, Tanner MJA, Anstee DJ. The *Wr^b* antigen in *St^a*-positive and Dantu-positive human erythrocytes. *J Immunogenet* 1984;11:365-70.
 - 389 Vengelen-Tyler V, Mogck N. A new test useful in identifying red cells with a (δ - α) hybrid sialoglycoprotein. *Transfusion* 1986;26:231-3.
 - 390 Moores P, Smart E, Marais I. The Dantu phenotype in southern Africa [Abstract]. *Transfus Med* 1992; 2(Suppl.1):68.
 - 391 Broadberry RE, Chang FC, Jan YS, Lin M. The distribution of the red-cell *St^a* (Stones) antigen among the population of Taiwan. *Transfus Med* 1998;8:57-8.
 - 392 Blumenfeld OO, Adamany AM, Kikuchi M, Sabo B, McCreary J. Membrane glycoporphins in *St^a* blood group erythrocytes. *J Biol Chem* 1986;261:5544-52.
 - 393 Anstee DJ, Mawby WJ, Parsons SF, Tanner MJA, Giles CM. A novel hybrid sialoglycoprotein in *St^a* positive human erythrocytes. *J Immunogenet* 1982;9:51-5.
 - 394 Blanchard D, Cartron J-P, Rouger P, Salmon C. *P₁* variant, a new hybrid MNSs glycoprotein of the human red-cell membrane. *Biochem J* 1982;203:419-26.
 - 395 Blanchard D, Dahr W, Beyreuther K, Moulds J, Cartron J-P. Hybrid glycoporphins from human erythrocyte membranes: isolation and complete structural analysis of the novel sialoglycoprotein from *St(a+)* red cells. *Eur J Biochem* 1987;167:361-6.
 - 396 Daniels GL, Green CA, Poole J *et al*. ERJK, a low frequency red cell antigen of the MNS blood group system associated with *St^a*. *Transfus Med* 1993;3:129-35.
 - 397 Rearden A. Hybrid sialoglycoprotein content of *St(a+)* red cells. *Transfusion* 1988;28:119-22.
 - 398 Huang C-H, Guizzo ML, Kikuchi M, Blumenfeld OO. Molecular genetic analysis of a hybrid gene encoding *St^a* glycoporphin of the human erythrocyte membrane. *Blood* 1989;74:836-43.
 - 399 Rearden A, Phan H, Dubnicoff T, Kudo S, Fukuda M. Identification of the crossing-over point of a hybrid gene encoding human glycoporphin variant *St^a*. *J Biol Chem* 1990;265:9259-63.
 - 400 Huang C-H, Blumenfeld OO. Multiple origins of the human glycoporphin *St^a* gene: identification of hot spots for independent unequal homologous recombinations. *J Biol Chem* 1991;266:23306-14.
 - 401 Dahr W, Blanchard D, Chevalier C *et al*. The *M^a* variety of the *St(a+)* phenotype: a variant of glycoporphin A exhibiting a deletion. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1990;371:403-10.
 - 402 Huang C-H, Reid ME, Blumenfeld OO. Exon skipping caused by DNA recombination that introduces a defective donor splice site into the human glycoporphin A gene. *J Biol Chem* 1993;268:4945-52.
 - 403 Huang C-H, Reid M, Daniels G, Blumenfeld OO. Alteration of splice site selection by an exon mutation in the human glycoporphin A gene. *J Biol Chem* 1993;268:25902-8.
 - 404 Huang C-H, Chen Y, Blumenfeld OO. A novel *St^a* glycoporphin produced via gene conversion of pseudoexon III from glycoporphin E to glycoporphin A gene. *Hum Mutat* 2000;15:533-40.
 - 405 Poole J, Banks J, Bruce LJ *et al*. Glycoporphin A mutation Ala65→Pro gives rise to a novel pair of MNS alleles ENEP (MNS39) and HAG (MNS41) and altered *Wr^b* expression: direct evidence for GPA/band 3 interaction necessary for normal *Wr^b* expression. *Transfus Med* 1999;9:167-74.
 - 406 Moulds JJ, Moulds MK, Lacey B *et al*. Two antigens showing a relation to the MNS and Wright blood groups [Abstract]. *Transfusion* 1992;32:555.
 - 407 Jarolim P, Moulds JM, Moulds JJ, Rubin HL, Dahr W. MARS and AVIS blood group antigens: polymorphism of glycoporphin A affects band 3-glycoporphin A interaction [Abstract]. *Blood* 1996;88(Suppl.1):182A.
 - 408 Moulds JM, Reveille JD, Arnett FC *et al*. MARS: a glycoporphin A determinant unique to the Choctaw Indians [Abstract]. *Transfusion* 1997;37:325.
 - 409 Poole J, Banks J, Hemming N, Sheffield E. The rare MNS-related antigen *Vr*: a family study [Abstract]. *Transfus Med* 1993;3(Suppl.1):98.
 - 410 Storry JR, Coghlan G, Poole J, Figueroa D, Reid ME. The MNS blood group antigens, *Vr* (MNS12) and *Mr^a* (MNS14), each arise from an amino acid substitution on glycoporphin A. *Vox Sang* 2000;78:52-6.
 - 411 Swanson J, Matson GA. *Mr^a*, a 'new' antigen in the MNSs system. *Vox Sang* 1962;7:585-90.
 - 412 Storry JR, Reid ME. A point mutation in *GYP A* exon 3 encodes the low incidence antigen, MNS16. *Vox Sang* 2000;78(Suppl.1):Abstract P025.
 - 413 Daniels GL, Bruce LJ, Mawby WJ *et al*. The low frequency MNS blood group antigens *Ny^a* (MNS18) and *Os^a* (MNS38) are associated with GPA amino acid substitutions. *Transfusion* 2000;40:555-9.
 - 414 Gershowitz H, Fried K. Anti-*M^a*, a new antibody of the MNSs blood group system. I. *M^a*, a new inherited vari-

- ant of the M gene. *Am J Hum Genet* 1966;18:264-81.
- 415 Beck ML, Hardman JT. Anti-s reagents. *Transfusion* 1980;20:479.
 - 416 Walsh TJ, Giles CM, Poole J. Anti-M^s causing haemolytic disease of the newborn and serological considerations of the M^s red cell determinant. *Clin Lab Haematol* 1981;3:137-42.
 - 417 Dahr W, Longster G. Studies of M^s red cells. II. Immunochemical investigations. *Blut* 1984;49:299-306.
 - 418 Storry JR, Reid ME, MacLennan S, Lubenko A, Nortman P. The low incidence MNS antigens, M^s, s^p, and Mit arise from single amino acid substitutions on GPB. *Transfusion* 2001;41:269-75.
 - 419 Cregut R, Lewin D, Lacomme M, Michot O. Un cas d'anasarque fœto-placentaire par iso-immunisation contre un antigène 'privé'. *Rev Franc Transfus* 1968;11:139-43.
 - 420 Giles CM. The identity of Kamhuber and Far antigens. *Vox Sang* 1977;32:269-71.
 - 421 Skradski KJ, McCreary J, Zweber M, Sabo B. Further investigation of the effect of Mitchell (Mit) antigen on S antigen expression [Abstract]. *Transfusion* 1983;23:409.
 - 422 Bacon JM, Macdonald EB, Young SG, Connell T. Evidence that the low frequency antigen Orriss is part of the MN blood group system. *Vox Sang* 1987;52:330-4.
 - 423 Reid ME, Sausais L, Øyen R *et al*. First example of hemolytic disease of the newborn caused by anti-Or and confirmation of the molecular basis of Or. *Vox Sang* 2000;79:180-2.
 - 424 Wright J, Lim FC, Freeman J, Giles CM. An unusual antibody related to the MN blood group system. *Transfusion* 1983;23:120-3.
 - 425 Moltham L. The second example of anti-M₁ antibodies produced by a group MN person. *Vox Sang* 1980;38:210-12.
 - 426 Judd WJ, Issitt PD, Pavone BG. The Can serum: demonstrating further polymorphism of M and N blood group antigens. *Transfusion* 1979;19:7-11.
 - 427 Landsteiner K, Strutton WR, Chase MW. An agglutination reaction observed with some human bloods, chiefly among Negroes. *J Immunol* 1934;27:469-72.
 - 428 Rosenfield RE, Haber GV, Schroeder R, Ballard R, Driscoll J. A Negro family revealing Hunter-Henshaw information, and independence of the genes for Js and Lewis. *Am J Hum Genet* 1960;12:143-6.
 - 429 Jack JA, Tippet P, Noades J, Sanger R, Race RR. M₁, a subdivision of the human blood-group antigen M. *Nature* 1960;186:642.
 - 430 Giles CM, Howell P. An antibody in the serum of an MN patient which reacts with M₁ antigen. *Vox Sang* 1974;27:43-51.
 - 431 Issitt PD, Haber JM, Allen FH. Anti-Tm, an antibody defining a new antigenic determinant within the MN blood-group system. *Vox Sang* 1965;10:742-3.
 - 432 Dahr W, Knuppertz G, Beyreuther K *et al*. Studies on structures of the Tm, S₁, M₁, Can, Sext and Hu blood group antigens. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1991;372:573-84.
 - 433 Issitt PD, Wilkinson SL. Anti-Tm is anti-N polypeptide. *Transfusion* 1981;21:493-7.
 - 434 Adamany AM, Blumenfeld OO, Sabo B, McCreary J. A carbohydrate structural variant of MM glycoprotein (glycophorin A). *J Biol Chem* 1983;258:11537-45.
 - 435 Issitt PD, Wren MR, Moore RE, Roy RB. The M₁ and Tm antigens require M and N gene-specified amino acids for expression. *Transfusion* 1986;26:413-18.
 - 436 Richmond RS, Innella F. Anomalous expression of the M₁ antigen of the MN system in an American Negro family. *Vox Sang* 1968;15:463-6.
 - 437 Daniels G. *Human Blood Groups*. Oxford: Blackwell Science, 1995.
 - 438 Jakobowicz R, Bryce LM, Simmons RT. Occurrence of unusual positive Coombs reactions and M factors in the blood of a mother and her first baby. *Nature* 1950;165:158-9.
 - 439 Jensen KG, Freiesleben E. Inherited positive Coombs' reaction connected with a weak N-receptor (N₁). *Vox Sang* 1962;7:696-703.
 - 440 Jeannot M, Metaxas-Bühler M, Tobler R. Anomalie héréditaire de la membrane érythrocytaire avec test de Coombs direct positif et modification de l'antigène de groupe N. *Vox Sang* 1964;9:52-5.
 - 441 Wolff E, Jonsson B. Studien über die Untergruppen A₁ und A₂ mit besonderer Berücksichtigung der Paternitätsuntersuchungen. *Dtsch Ztschr Gerichtl Med* 1933;22:65-85.
 - 442 Perrault R. Naturally-occurring anti-M and anti-N with special case: IgG anti-N in a NN donor. *Vox Sang* 1973;24:134-49.
 - 443 Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 10th edn. Oxford: Blackwell Science, 1997.
 - 444 Freiesleben E, Knudsen EE. A human incomplete immune anti-M. In: P.H. Andresen, *Papers in Dedication of His Sixtieth Birthday*. Copenhagen: Munksgaard, 1957: 26-31.
 - 445 Branch DR, McBroom R, Jones GL. Discrepant *in vitro* versus *in vivo* interaction of M-positive donor red cells with IgG1 anti-M. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1983;26:565-72.
 - 446 Kao YS, Frank S, de Jongh DS. Anti-M in children with acute bacterial infections. *Transfusion* 1978;18:320-2.
 - 447 Strahl M, Pettenkofer HJ, Hasse W. A haemolytic transfusion reaction due to anti-M. *Vox Sang* (old series) 1955;5:34-37.
 - 448 Reid ME, Lomas-Francis C. *The Blood Group Antigen Facts Book*. San Diego: Academic Press, 1997.
 - 449 Smith ML, Beck ML. The immunoglobulin structure of human anti-M agglutinins. *Transfusion* 1979;19:472-4.

- 450 Freedman J, Massey A, Chaplin H, Monroe MC. Assessment of complement binding by anti-D and anti-M antibodies employing labelled antiglobulin antibodies. *Br J Haematol* 1980;45:309-18.
- 451 Beattie KM, Zuelzer WW. The frequency and properties of pH-dependent anti-M. *Transfusion* 1965;5:322-6.
- 452 Schmidt AP, Taswell HF. Coexistence of MN erythrocytes and apparent anti-M antibody. *Transfusion* 1969;9:203-4.
- 453 Howard PL, Picoff RC. Another example of anti-M in an M-positive patient. *Transfusion* 1972;12:59-61.
- 454 Lawe JE, LaRoche LL. Study of a family with a variant M antigen. *Vox Sang* 1983;44:92-7.
- 455 Hirsch W, Moores P, Sanger R, Race RR. Notes on some reactions of human anti-M and anti-N sera. *Br J Haematol* 1957;3:134-42.
- 456 Allen FH, Corcoran PA, Ellis FR. Some new observations on the MN system. *Vox Sang* 1960;5:224-31.
- 457 Telischi M, Behzad O, Issitt PD, Pavone BG. Hemolytic disease of the newborn due to anti-N. *Vox Sang* 1976;31:109-16.
- 458 Bailas SK, Dignam C, Harris M, Marcolina MJ. A clinically significant anti-N in a patient whose red cells were negative for N and U antigens. *Transfusion* 1985;25:377-80.
- 459 Yoshida Y, Yoshida H, Tatsumi K *et al*. Successful antibody elimination in severe M-incompatible pregnancy. *N Engl J Med* 1981;305:460-1.
- 460 Reid ME, Ellisor SS, Barker JM. A human alloanti-N enhanced by acid media. *Transfusion* 1984;24:222-3.
- 461 Metaxas-Bühler M, Ikin EW, Romanski J. Anti-N in the serum of a healthy blood donor of group MN. *Vox Sang* 1961;6:574-82.
- 462 Greenwalt TJ, Sasaki T, Steane EA. Second example of anti-N in a blood donor of group MN. *Vox Sang* 1966;11:184-8.
- 463 Moores P, Botha MC, Brink S. Anti-N in the serum of a healthy type MN person: a further example. *Am J Clin Pathol* 1970;54:90-3.
- 464 Lahmann N. Ein weiterer Fall von anti-N im Serum einer Person der Blutgruppe MN. *Haematologia* 1970;4:79-84.
- 465 Booth PB. Anti N^A. An antibody sub-dividing Melanesian N. *Vox Sang* 1971;21:522-30.
- 466 Wiener AS. Réaction transfusionnelle hémolytique due à une sensibilisation anti-M. *Rev Hémat* 1950;5:3-6.
- 467 Furlong MB, Monaghan WP. Delayed hemolytic episodes due to anti-M. *Transfusion* 1981;21:45-9.
- 468 Alperin JH, Riglin H, Branch DR, Gallagher MT, Petz LD. Anti-M causing delayed hemolytic transfusion reaction. *Transfusion* 1983;23:322-4.
- 469 Sancho JM, Pujol M, Fernández F *et al*. Delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-M antibody. *Br J Haematol* 1998;103:268-9.
- 470 Stone B, Marsh WL. Haemolytic disease of the newborn caused by anti-M. *Br J Haematol* 1959;5:344-7.
- 471 Macpherson CR, Zartman ER. Anti-M antibody as a cause of intrauterine death: a follow-up. *Am J Clin Pathol* 1965;43:544-7.
- 472 Daguid JKM, Bromilow IM, Entwistle GD, Wilkinson R. Haemolytic disease of the newborn due to anti-M. *Vox Sang* 1995;68:195-6.
- 473 Furukawa K, Nakajima T, Kogure T *et al*. Example of a woman with multiple intrauterine deaths due to anti-M who delivered a live child after plasmapheresis. *Exp Clin Immunogenet* 1993;10:161-7.
- 474 Kanra T, Yüce K, Özcebe OI. Hydrops fetalis and intrauterine deaths due to anti-M. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996;75:415-17.
- 475 Nolan B, Hinchliffe R, Vora A. Neonatal pure red cell aplasia due to maternal anti-M [Abstract]. *Blood* 2000;96:8A.
- 476 Sacher RA, Abbondanzo SL, Miller DK, Womack B. Auto anti-M: clinical and serological findings of seven patients from one hospital and review of the literature. *Am J Clin Pathol* 1989;91:305-9.
- 477 Sangster JM, Kenwright MG, Walker MP, Pembroke AC. Anti blood group-M autoantibodies with livedo reticularis, Raynaud's phenomenon, and anaemia. *J Clin Pathol* 1979;32:154-7.
- 478 Chapman J, Murphy MF, Waters AH. Chronic cold haemagglutinin disease due to an anti-M-like autoantibody. *Vox Sang* 1982;42:272-7.
- 479 Roelcke D, Dahr W, Kalden JR. A human monoclonal IgM cold agglutinin recognizing oligosaccharides with immunodominant sialyl groups preferentially at the blood group M-specific peptide backbone of glycoporphins: anti-Pr^M. *Vox Sang* 1986;51:207-11.
- 480 Garratty G, Arndt P, Tsuneta R, Kanter M. Fatal hemolytic anemia associated with autoanti-N. *Transfusion* 1994;34:205.
- 481 Howell ED, Perkins HA. Anti-N-like antibodies in the sera of patients undergoing chronic hemodialysis. *Vox Sang* 1972;23:291-9.
- 482 McLeish WA, Brathwaite AE, Peterson PM. Anti-N antibodies in hemodialysis patients. *Transfusion* 1975;15:43-5.
- 483 Boettcher B, Nanra RS, Roberts TK, Mallan M, Watterson CA. Specificity and possible origin of anti-N antibodies developed by patients undergoing chronic haemodialysis. *Vox Sang* 1976;31:408-15.
- 484 Crosson JT, Moulds J, Comty CM, Polesky HE. A clinical study of anti-N_{de} in the sera of patients in a large repetitive hemodialysis program. *Kidney Int* 1976;10:463-70.
- 485 Bird GWG, Wingham J. Anti-N antibodies in renal-dialysis patients. *Lancet* 1977;i:1218.
- 486 White WL, Miller GE, Kaehny WD. Formaldehyde in the pathogenesis of hemodialysis-related anti-N antibodies. *Transfusion* 1977;17:443-7.

- 487 Fassbinder W, Seidl S, Koch KM. The role of formaldehyde in the formation of haemodialysis-associated anti-N-like antibodies. *Vox Sang* 1978;35:41-8.
- 488 Sandler SG, Sharon R, Bush M, Stroup M, Sabo B. Formaldehyde-related antibodies in hemodialysis patients. *Transfusion* 1979;19:682-7.
- 489 Lynen R, Rothe M, Gallasch E. Characterization of formaldehyde-related antibodies encountered in hemodialysis patients at different stages of immunization. *Vox Sang* 1983;44:81-9.
- 490 Dzik WH, Darling CA. Positive direct antiglobulin test result in dialysis patients resulting from anti-formaldehyde antibodies. *Am J Clin Pathol* 1989;92:214-17.
- 491 Ng Y-Y, Chow M-P, Wu S-C *et al*. Anti-N₁^{ken} antibody in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 1995;15:374-8.
- 492 Dahr W, Moulds J. An immunochemical study on anti-N antibodies from dialysis patients. *Immunol Commun* 1981;10:173-83.
- 493 Czerwinski M, Siegel DL, Moore JS, Spitalnik PF, Spitalnik SL. Construction of bacteriophage expressing mouse monoclonal Fab fragments directed against the human MN glycoprotein blood group antigens. *Transfusion* 1995;35:137-44.
- 494 Morel PA, Bergren MO, Hill V, Garratty G, Perkins HA. M and N specific hemagglutinins of human erythrocytes stored in glucose solutions. *Transfusion* 1981;21:652-62.
- 495 Reid ME, Ellis SS, Barker JM, Lewis T, Avoy DR. Characteristics of an antibody causing agglutination of M-positive non-enzymatically glycosylated human red cells. *Vox Sang* 1981;41:85-90.
- 496 Drzeniek Z, Kusnier G, Lisowska E. A human anti-serum reacting with modified blood group M determinants. *Immunol Commun* 1981;10:185-97.
- 497 Fraser RH, Munro AC, Williamson AR *et al*. Mouse monoclonal anti-N. I. Production and serological characterization. *J Immunogenet* 1982;9:295-301.
- 498 Fraser RH, Munro AC, Williamson AR *et al*. Mouse monoclonal anti-N. II. Physicochemical characterization and assessment for routine blood grouping. *J Immunogenet* 1982;9:303-9.
- 499 Rubocki R, Milgrom F. Reactions of murine monoclonal antibodies to blood group MN antigens. *Vox Sang* 1986;51:217-25.
- 500 Fraser RH, Inglis G, Mitchell R. pH effect on anti-M and anti-N reactivity. *Transfusion* 1986;26:118.
- 501 Lisowska E, Messeter L, Duk M, Czerwinski M, Lundblad A. A monoclonal anti-glycophorin A antibody recognizing the blood group M determinant: studies on the subspecificity. *Mol Immunol* 1987;24:605-13.
- 502 Lisowska E. MN monoclonal antibodies as blood group reagents. In: P Rouger, C Salmon, eds. *Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens*. Paris: Arnette, 1987: 181-91.
- 503 Jaskiewicz E, Moulds JJ, Kraemer K, Goldstein AS, Lisowska E. Characterization of the epitope recognized by a monoclonal antibody highly specific for blood group M antigen. *Transfusion* 1990;30:230-5.
- 504 Wasniowska K, Duk M, Steuden I *et al*. Two monoclonal antibodies recognizing different epitopes of blood group N antigen. *Arch Immunol Ther Exp* 1988;36:623-32.
- 505 Blackall DP, Ugorski M, Smith ME, Pahlsson P, Spitalnik SL. The binding of human alloantibodies to recombinant glycophorin A. *Transfusion* 1992;32:629-32.
- 506 Blackall DP, Ugorski M, Pahlsson P, Shakin-Eshleman SH, Spitalnik SL. A molecular biologic approach to study the fine specificity of antibodies directed to the MN human blood group antigens. *J Immunol* 1994;152:2241-7.
- 507 Czerwinski M, Blackall DP, Abrams WR, Rubocki RJ, Spitalnik SL. Restricted V_H gene usage by murine hybridomas directed against human N, but not M, blood group antigen. *Mol Immunol* 1994;31:279-88.
- 508 Czerwinski M, Krop-Waterek A, Siegel DL, Spitalnik SL. A molecular approach for isolating high-affinity Fab fragments that are useful in blood group serology. *Transfusion* 1999;39:364-71.
- 509 Allen NK, Brilliantine L. A survey of hemagglutinins in various seeds. *J Immunol* 1969;102:1295-9.
- 510 Bird GWG. Lectins in immunohematology. *Transfus Med Rev* 1989;3:55-62.
- 511 Ottensmeyer F, Silberschmidt K. Haemagglutinin anti-N in plant seeds. *Nature* 1953;172:914.
- 512 Duk M, Lisowska E. *Vicia graminea* anti-N lectin: partial characterization of the purified lectin and its binding to erythrocytes. *Eur J Biochem* 1981;118:131-6.
- 513 Prigent MJ, Blanchard D, Cartron J-P. Membrane receptors for *Vicia graminea* anti-N lectin and its binding to native and neuraminidase-treated human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys* 1983;222:231-44.
- 514 Duk M, Lisowska E, Kordowicz M, Wasniowska K. Studies on the specificity of the binding site of *Vicia graminea* anti-N lectin. *Eur J Biochem* 1982;123:105-12.
- 515 Rolih SD, Issitt PD. Effects of trypsin on the *Vicia graminea* receptors of glycophorin A and B [Abstract]. *Transfusion* 1978;18:637.
- 516 Lisowska E. The degradation of M and N blood group glycoproteins and glycopeptides with alkaline borohydride. *Eur J Biochem* 1969;10:574-9.
- 517 Prigent MJ. Erythrocyte receptors for *Vicia graminea* anti-N lectin. In: J-P Cartron, P Rouger, C Salmon, eds. *Red Cell Membrane Glycoconjugates and Related Genetic Markers*. Paris: Arnette, 1983:43-50.
- 518 Dahr W, Uhlenbruck G. Structural properties of the human MN blood group antigen receptor sites. *Hoppe Seyler Z Physiol Chem* 1978;359:835-43.
- 519 Boyd WC, Everhart DL, McMaster MH. The anti-N lectin of *Bauhinia purpurea*. *J Immunol* 1958;81:414-18.

- 520 Fletcher G. The anti-N phytagglutinin of *Bauhinia variegata*. *Aust J Sci* 1959;22:167.
- 521 Moon GJ, Wiener AS. A new source of anti-N lectin: leaves of the Korean *Vicia unijuga*. *Vox Sang* 1974;26:167-70.
- 522 Bird GWG, Wingham J. Agglutinins for antigens of two different human blood group systems in the seeds of *Moluccella laevis*. *Vox Sang* 1970;18:235-9.
- 523 Judd WJ, Murphy LA, Goldstein IJ, Campbell L, Nichols ME. An anti-B reagent prepared from the α -D-galactopyranosyl-binding islectins from *Bandeiraea simplicifolia* seeds. *Transfusion* 1978;18:274-80.
- 524 Dahr W, Uhlenbruck G, Bird GWG. Further characterization of some heterophile agglutinins reacting with alkali-labile carbohydrate chains of human erythrocyte glycoproteins. *Vox Sang* 1975;28:133-48.
- 525 Coombs HL, Ikin EW, Mourant AE, Plaut G. Agglutinin anti-S in human serum. *Br Med J* 1951;i:109-11.
- 526 Levine P, Ferraro LR, Koch E. Hemolytic disease of the newborn due to anti-S: a case report with a review of 12 anti-S sera cited in the literature. *Blood* 1952;7:1030-7.
- 527 Constantoulis NC, Paidoussis M, Dunsford I. A naturally occurring anti-S agglutinin. *Vox Sang* (old series) 1955;5:143-4.
- 528 Adinolfi M, Polley MJ, Hunter DA, Mollison PL. Classification of blood-group antibodies as β_2 M or gamma globulin. *Immunology* 1962;5:566-79.
- 529 Lalezari P, Malamut DC, Dreisiger ME, Sanders C. Anti-s and anti-U cold-reacting antibodies. *Vox Sang* 1973;25:390-7.
- 530 Arndt P, Garratty G. Evaluation of the optimal incubation temperature for detecting certain IgG antibodies with potential clinical significance. *Transfusion* 1988;28:210-13.
- 531 Lubenko A. Anti-S sera and their co-existing 'private' antibodies [Abstract]. *5th Mtg Br Blood Transfus Soc* 1987;01/17.
- 532 Curbush M, Mollison PL. Haemolytic transfusion reaction due to anti-S. *Lancet* 1949;ii:102-3.
- 533 Moore SB, Taswell HF, Pineda AA, Sonnenberg CL. Delayed hemolytic transfusion reactions. *Am J Clin Pathol* 1980;74:94-7.
- 534 Mayne KM, Bowell PJ, Green SJ, Entwistle CC. The significance of anti-S sensitization in pregnancy. *Clin Lab Haematol* 1990;12:105-7.
- 535 Johnson MH, Plett MJ, Conant CN, Worthington M. Autoimmune hemolytic anemia with anti-S specificity [Abstract]. *Transfusion* 1978;18:389.
- 536 Fabijanska-Mitek J, Kopec J, Seyfried H. Autoimmune hemolytic anaemia with autoantibody of anti-S specificity [Abstract]. *Vox Sang* 1994;67(Suppl.2):123.
- 537 Alessandrino EP, Costamagna L, Pagani A, Coronelli M. Late appearance of autoantibody-anti S in autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion* 1984;24:369-70.
- 538 Issitt PD, Tregellas WM, Lee C, Wilkinson SL. An antibody that recognizes a determinant common to S and s-bearing sialoglycoproteins. *Transfusion* 1982;22:174-9.
- 539 Puig N, Carbonell F, Soler MA *et al*. Mimicking anti-S simulating a delayed transfusion reaction. *Vox Sang* 1987;53:173-4.
- 540 Hardman JT, Beck ML. Hemagglutination in capillaries: correlation with blood group specificity and IgG subclass. *Transfusion* 1981;21:343-6.
- 541 Giblett E, Chase J, Crealock FW. Hemolytic disease of the newborn resulting from anti-s antibody: report of a fatal case resulting from the fourth example of anti-s antibody. *Am J Clin Pathol* 1958;29:254-6.
- 542 Drachmann O, Hansen KB. Haemolytic disease of the newborn due to anti-s. *Scand J Haematol* 1969;6:93-8.
- 543 Kalyanaraman M, Heidemann SM, Sarnaik AP, Meert KL, Sarnaik SA. Anti-s antibody-associated delayed hemolytic transfusion reaction in patients with sickle cell anemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 1999;21:70-3.
- 544 Meltz DJ, Bertles JE, David DS, deCiuchis AC. Delayed haemolytic transfusion reaction with renal failure. *Lancet* 1971;ii:1348-9.
- 545 Rothman IK, Alter HJ, Stewler GJ. Delayed overt hemolytic transfusion reaction due to anti-U antibody. *Transfusion* 1976;16:357-60.
- 546 Taliano V, Fleury M, Pichette R, Lamothe M, Décary E. Réaction transfusionnelle hémolytique retardée due à un anti-U. *Rev Franc Transfus Hémodiol* 1989;32:17-26.
- 547 Pillay GS, Womack B, Sandler SG. Immune-mediated hemolysis in a postoperative patient. Case report: anti-U and differential diagnosis. *Immunohematology* 1993;9:41-6.
- 548 Smith G, Knott Rissik J, de la Fuente J, Win N. Anti-U and haemolytic disease of the fetus and newborn. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:1318-21.
- 549 Garner SF, Devenish A. Do monocyte ADCC assays accurately predict the severity of hemolytic disease of the newborn caused by antibodies to high-frequency antigens? *Immunohematology* 1996;12:20-6.
- 550 Nugent ME, Colledge KI, Marsh WL. Auto-immune hemolytic anemia caused by anti-U. *Vox Sang* 1971;20:519-25.
- 551 Bell CA, Zwicker H. pH-dependent anti-U in autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion* 1980;20:86-9.
- 552 Sacher RA, McGinniss MM, Shashat GG, Jacobson RJ, Rath CE. The occurrence of an auto-immune hemolytic anemia with anti-U specificity in a patient with myelodysplastic syndrome. *Am J Clin Pathol* 1982;77:356-9.
- 553 Marsh WL, Reid ME, Scott EP. Autoantibodies of U blood group specificity in autoimmune hemolytic anaemia. *Br J Haematol* 1972;22:625-9.
- 554 Vos GH, Petz LD, Garratty G, Fudenberg HH. Autoantibodies in acquired hemolytic anemia with special reference to the LW system. *Blood* 1973;42:445-53.
- 555 Roush GR, Rosenthal NS, Gerson SL *et al*. An unusual

- case of autoimmune hemolytic anemia with reticulocytopenia, erythroid dysplasia, and an IgG2 autoanti-U. *Transfusion* 1996;36:575-80.
- 556 Kessey EC, Pierce S, Beck ML, Bayer WL. Alpha-methylidopa induced hemolytic anemia involving autoantibody with U specificity [Abstract]. *Transfusion* 1973;13:360.
- 557 McGinniss MH, Macher AM, Rook AH, Alter HJ. Red cell autoantibodies in patients with acquired immune deficiency syndrome. *Transfusion* 1986;26:405-9.
- 558 Wojcicki RE, Hardman JT, Beck ML *et al.* pH, temperature and ionic strength: significant variables in detection of auto anti-U [Abstract]. *Transfusion* 1980;20:628.
- 559 Chiofalo JT, Reid ME, Charles-Pierre D. LISS-dependent autoantibody with apparent anti-U specificity. *Immunohematology* 1995;11:18-19.
- 560 Booth PB. A 'new' blood group antigen associated with S and s. *Vox Sang* 1972;22:524-8.
- 561 Booth PB. Two Melanesian antisera reacting with SsU components. *Vox Sang* 1978;34:212-20.
- 562 Read SM, Taylor MM, Reid ME, Popovsky MA. Anti-U⁺ found in mother's serum and child's eluate. *Immunohematology* 1993;9:47-9.
- 563 Langlois RG, Bigbee WL, Jensen RH. Measurements of the frequency of human erythrocytes with gene expression loss phenotypes at the glycophorin A locus. *Hum Genet* 1986;74:353-62.
- 564 Grant SG, Jensen RH. Use of hematopoietic cells and markers for the detection and quantitation of human *in vivo* somatic mutation. In: G Garratty, ed. *Immunobiology of Transfusion Medicine*. New York: Dekker, 1994: 299-323.
- 565 Langlois RG, Bigbee WL, Kyoizumi S *et al.* Evidence of increased somatic cell mutations at the glycophorin A locus in atomic bomb survivors. *Science* 1987;236:445-8.
- 566 Jensen RH, Langlois RG, Bigbee WL *et al.* Elevated frequency of glycophorin A mutations in erythrocytes from Chernobyl accident victims. *Radiat Res* 1995;141:129-35.
- 567 Schiweitz J, Lorenz R, Scheubeck M, Börner W, Hempel K. Improved determination of variant erythrocytes at the glycophorin A (GPA) locus and variant frequency in patients treated with radioiodine for thyroid cancer. *Int J Radiat Biol* 1996;70:131-43.
- 568 Jensen RH, Reynolds JC, Robbins J *et al.* Glycophorin A as a biological dosimeter for radiation dose to the bone marrow from iodine-131. *Radiat Res* 1997; 147:747-52.
- 569 Rothman N, Haas R, Hayes RB *et al.* Benzene induces gene-duplicating but not gene-inactivating mutations at the glycophorin A locus in exposed humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:4069-73.
- 570 Schmidt PJ, Lostumbo MM, English CT, Hunter OB. Aberrant U blood group accompanying Rh_{null}. *Transfusion* 1967;7:33-4.
- 571 Dahr W, Kordowicz M, Moulds J *et al.* Characterization of the Ss sialoglycoprotein and its antigens in Rh_{null} erythrocytes. *Blut* 1987;54:13-24.
- 572 Dahr W, Issitt PD, Wren MR. The Ss SGP in an X^O homozygote and heterozygotes [Abstract]. *Transfusion* 1986;26:560.
- 573 Habibi B, Fouillade MT, Duedari N *et al.* The antigen Duclos: a new high frequency red cell antigen related to Rh and U. *Vox Sang* 1978;34:302-9.
- 574 Mallinson G, Anstee DJ, Avent ND *et al.* Murine monoclonal antibody MB-2D10 recognizes Rh-related glycoproteins in the human red cell membrane. *Transfusion* 1990;30:222-5.
- 575 von dem Borne AEGK, Bos MJE, Lomas C *et al.* Murine monoclonal antibodies against a unique determinant of erythrocytes, related to Rh and U antigens: expression on normal and malignant erythrocyte precursors and Rh_{null} red cells. *Br J Haematol* 1990;75:254-61.
- 576 Le Pennec PV, Rouger P, Klein MT, Le Basnerais M, Salmon C. An antibody supporting the evidence of an association between the Rh polypeptides and glycophorin B on the red cell membrane [Abstract]. *Joint Congr Int Soc Blood Transfus Am Assoc Blood Banks* 1990:29.
- 577 Miller LH, Haynes JD, McAuliffe FM *et al.* Evidence for differences in erythrocyte surface receptors for the malarial parasites *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium knowlesi*. *J Exp Med* 1977;146:277-81.
- 578 Pasvol G, Wainscoat JS, Weatherall DJ. Erythrocytes deficient in glycophorin resist invasion by the malarial parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature* 1982;297: 64-6.
- 579 Pasvol G, Jungery M, Weatherall DJ *et al.* Glycophorin as a possible receptor for *Plasmodium falciparum*. *Lancet* 1982;ii:947-51.
- 580 Pasvol G, Anstee D, Tanner MJA. Glycophorin C and the invasion of red cells by *Plasmodium falciparum*. *Lancet* 1984;i:907-8.
- 581 Pasvol G. Receptors on red cells for *Plasmodium falciparum* and their interaction with merozoites. *Phil Trans R Soc Lond B* 1984;307:189-200.
- 582 Hadley TJ, McGinniss MH, Klotz FW, Miller LH. Blood group antigens and invasion of erythrocytes by malaria parasites. In: G Garratty, ed. *Red Cell Antigens and Antibodies*. Arlington VA: American Association of Blood Banks, 1986:17-33.
- 583 Facer CA. Erythrocyte sialoglycoproteins and *Plasmodium falciparum* invasion. *R Soc Trop Med Hyg* 1983;77:524-30.
- 584 Chisti AH, Palek J, Fisher D, Maalouf GJ, Liu S-C. Reduced invasion and growth of *Plasmodium falciparum* into elliptocytic red blood cells with a combined deficiency of protein 4.1, glycophorin C, and p55. *Blood* 1996;87:3462-9.
- 585 Perkins M. Inhibitory effects of erythrocyte membrane proteins on the *in vitro* invasion of the human malarial

- parasite (*Plasmodium falciparum*) into its host cell. *J Cell Biol* 1981;90:563-7.
- 586 Pasvol G, Chasis JA, Mohandas N *et al*. Inhibition of malarial parasite invasion by monoclonal antibodies against glycophorin A correlates with reduction in red cell membrane deformability. *Blood* 1989;74:1836-43.
- 587 Blackall DP, Armstrong JK, Meiselman HJ, Fisher TC. Polyethylene glycol-coated red blood cells fail to bind glycophorin A-specific antibodies and are impervious to invasion by the *Plasmodium falciparum* malaria parasite. *Blood* 2001;97:551-6.
- 588 Cartron JP, Prou O, Lulieri M, Soulier JP. Susceptibility to invasion by *Plasmodium falciparum* of some human erythrocytes carrying rare blood group antigens. *Br J Haematol* 1983;55:639-47.
- 589 Mitchell GH, Hadley TJ, McGinniss MH, Klotz FW, Miller LH. Invasion of erythrocytes by *Plasmodium falciparum* malaria parasites: evidence for receptor heterogeneity and two receptors. *Blood* 1986;67:1519-21.
- 590 Templeton TJ, Keister DB, Muratova O, Procter JL, Kaslow DC. Adherence of erythrocytes during exflagellation of *Plasmodium falciparum* microgametes is dependent on erythrocyte surface sialic acid and glycophorins. *J Exp Med* 1998;187:1599-609.
- 591 Sim BKL, Chitnis CE, Wasniowska K, Hadley TJ, Miller LH. Receptor and ligand domains for invasion of erythrocytes by *Plasmodium falciparum*. *Science* 1994;264:1941-4.
- 592 Jokinen M, Ehnholm C, Väisänen-Rhen V *et al*. Identification of the major human sialoglycoprotein from red cells, glycophorin A^M, as the receptor for *Escherichia coli* IH 11165 and characterization of the receptor site. *Eur J Biochem* 1985;147:47-52.
- 593 Brooks DE, Cavanagh J, Jayroe D *et al*. Involvement of the MN blood group antigen in shear-enhanced hemagglutination induced by the *Escherichia coli* F41 adhesin. *Infect Immun* 1989;57:377-83.
- 594 Cortajarena AL, Goñi FM, Ostolaza H. Glycophorin as a receptor for *Escherichia coli* α -haemolysin in erythrocytes. *J Biol Chem* 2001;276:12513-9.
- 595 Zhang D, Takahashi J, Seno T, Tani Y, Honda T. Analysis of receptor for *Vibrio cholerae* E1 Tor hemolysin with a monoclonal antibody that recognizes glycophorin B of human erythrocyte membrane. *Infect Immun* 1999;67:5332-7.
- 596 Kathan RH, Winzler RJ, Johnson CA. Preparation of an inhibitor of viral hemagglutination from human erythrocytes. *J Exp Med* 1961;113:37-45.
- 597 Allaway GP, Burness ATH. Site of attachment of encephalomyocarditis virus on human erythrocytes. *J Virol* 1986;59:768-70.
- 598 Paul RW, Lee PWK. Glycophorin is the reovirus receptor on human erythrocytes. *Virology* 1987;159:94-101.
- 599 Ohyama K, Endo T, Ohkuma S, Yamakawa T. Isolation and influenza virus receptor activity of glycophorins B, C and D from human erythrocyte membranes. *Biochim Biophys Acta* 1993;1148:133-8.
- 600 Gahmberg CG, Jokinen M, Karhi KK *et al*. Biosynthesis of the major human red cell sialoglycoprotein, glycophorin A: a review. *Rev Franc Transfus Immunohémat* 1981;24:53-73.
- 601 Yurchenco PD, Furthmayr H. Expression of red cell membrane proteins in erythroid precursor cells. *J Supramol Struct* 1980;13:255-69.
- 602 Robinson J, Sieff C, Delia D, Edwards PAW, Greaves M. Expression of cell-surface HLA-DR, HLA-ABC and glycophorin during erythroid differentiation. *Nature* 1981;289:68-71.
- 603 Gahmberg CG, Ekblom M, Andersson LC. Differentiation of human erythroid cells is associated with increased O-glycosylation of the major sialoglycoprotein, glycophorin A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:6752-6.
- 604 Southcott MJG, Tanner MJA, Anstee DJ. The expression of human blood group antigens during erythropoiesis in a cell culture system. *Blood* 1999;93:4425-35.
- 605 Bony V, Gane P, Bailly P, Cartron J-P. Time-course expression of polypeptides carrying blood group antigens during human erythroid differentiation. *Br J Haematol* 1999;107:263-74.
- 606 Daniels G, Green C. Expression of red cell surface antigens during erythropoiesis. *Vox Sang* 2000;78(Suppl.1):149-53.
- 607 Ekblom M, Gahmberg CG, Andersson LC. Late expression of M and N antigens on glycophorin A during erythroid differentiation. *Blood* 1985;66:233-6.
- 608 Gahmberg CG, Jokinen M, Andersson LC. Expression of the major sialoglycoprotein (glycophorin) on erythroid cells in human bone marrow. *Blood* 1978;52:379-87.
- 609 Gahmberg CG, Jokinen M, Andersson LC. Expression of the major red cell sialoglycoprotein, glycophorin A, in the human leukemic cell line K562. *J Biol Chem* 1979;254:7442-8.
- 610 Silver RE, Adamany AM, Blumenfeld OO. Glycophorins of human erythroleukemic K562 cells. *Arch Biochem Biophys* 1987;256:285-94.
- 611 McGinniss MH, Dean A. Expression of red cell antigens by K562 human leukemia cells before and after induction of hemoglobin synthesis by hemin. *Transfusion* 1985;25:105-9.
- 612 Hawkins P, Anderson SF, McKenzie JL *et al*. Localization of MN blood group in kidney. *Transplant Proc* 1985;2:1697-700.
- 613 Harvey J, Parsons SF, Anstee DJ, Bradley BA. Evidence for the occurrence of human erythrocyte membrane sialoglycoproteins in human kidney endothelial cells. *Vox Sang* 1988;55:104-8.
- 614 Jentoft N. Why are proteins O-glycosylated? *Trends Biochem Sci* 1990;15:291-4.

- 615 Chasis JA, Mohandas N. The role of red cell glycoporphins in regulating membrane function. In: PC Agre, J-P Cartron, eds. *Protein Blood Group Antigens of the Human Red Cell: Structure, Function and Clinical Significance*. Baltimore: Johns Hopkins, 1992:152-69.
- 616 Tanphaichitr VS, Sumboonnanonda A, Ideguchi H *et al*. Novel AE1 mutations in recessive distal renal tubular acidosis: loss-of-function is rescued by glycophorin A. *J Clin Invest* 1998;102:2173-9.
- 617 Young MT, Beckmann R, Toye AM, Tanner MJA. Red-cell glycophorin A-band 3 interactions associated with the movement of band 3 to the cell surface. *Biochem J* 2000;350:53-60.
- 618 Hassoun H, Hanada T, Lutchman M *et al*. Complete deficiency of glycophorin A in red blood cells from mice with targeted inactivation of the band 3 (AE1) gene. *Blood* 1998;91:2146-51.
- 619 Beckman R, Smythe JS, Anstee DJ, Tanner MJA. Functional cell surface expression of band 3, the human red blood cell anion exchange protein (AE1), in K562 erythroleukemia cells: band 3 enhances the cell surface reactivity of Rh antigens. *Blood* 1998;92:4428-38.
- 620 Paulitschke M, Nash GB, Anstee DJ, Tanner MJA, Gratzer WB. Perturbation of red blood cell membrane rigidity by extracellular ligands. *Blood* 1995;86:342-8.
- 621 Tomita A, Radike EL, Parker CJ. Isolation of erythrocyte membrane inhibitor of reactive lysis type II: identification as glycophorin A. *J Immunol* 1993;151:3308-23.
- 622 El Ouagari K, Teissié J, Benoist H. Glycophorin A protects K562 cells from natural killer cell attack: role of oligosaccharides. *J Biol Chem* 1995;270:26970-5.
- 623 Kudo S, Fukuda M. Contribution of gene conversion to the retention of the sequence for M blood group type determinant in glycophorin E gene. *J Biol Chem* 1994;269:22969-74.
- 624 Onda M, Fukuda M. Detailed physical mapping of the genes encoding glycophorins A, B and E, as revealed by P1 plasmids containing human genomic DNA. *Gene* 1995;159:225-230.
- 625 Rearden A, Magnet A, Kudo S, Fukuda M. Glycophorin B and glycophorin E genes arose from the glycophorin A ancestral gene via two duplications during primate evolution. *J Biol Chem* 1993;268:2260-7.
- 626 Xie S-S, Huang C-H, Reid ME, Blancher A, Blumenfeld OO. The glycophorin A gene family in gorillas: structure, expression, and comparison with the human and chimpanzee homologues. *Biochem Genet* 1997;35:59-76.
- 627 Blumenfeld OO, Adamany AM, Puglia KV, Socha WW. The chimpanzee M blood-group antigen is a variant of the human M-N glycoproteins. *Biochem Genet* 1983;21:333-48.
- 628 Blancher A, Reid ME, Socha WW. Cross-reactivity of antibodies to human and primate red cell antigens. *Transfus Med Rev* 2000;14:161-79.

فصل ۴

گروه‌های خونی P

- ۴-۱ مقدمه
- ۴-۲ علامت گذاری
- ۴-۳ بیوشیمی
- ۴-۴ آنتی ژن P1 و آنتی-P1
- ۴-۵ آنتی ژن P و آنتی-P
- ۴-۶ فنوتیپ P^K ، آنتی ژن P^K و آنتی- P^K
- ۴-۷ LKE و آنتی-LKE
- ۴-۸ فنوتیپ p و آنتی-PP1P^K
- ۵-۹ بعضی از فنوتیپ‌های غیرمعمول
- ۴-۱۰ دیگر آنتی‌بادی‌های P
- ۴-۱۱ آنتی ژن‌های P بعنوان گیرنده‌هایی برای میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا عمل می‌کنند
- ۴-۱۲ ارتباط آنتی‌بادی‌های P با سقط جنین زودرس

۴-۱ مقدمه

لنداشتاینر و لوین^۱ [۱] در حالی که در پی یافتن پلی مرفیسم‌های جدید از طریق تزریق گلبول‌های قرمز انسان به خرگوش‌ها بودند، سیستم گروه خونی P را در یکسری از آزمایشات که همچنین منجر به کشف گروه‌های MN گردیدند، شناسایی نمودند. به منظور حذف آگلوتینین‌های ضد گونه^۲، سرم‌های ایمون با گلبول‌های قرمز افرادی غیر از آن‌هایی که برای مصون سازی خرگوش‌ها استفاده شده بودند، جذب شدند. سپس این سرم‌ها مجاور گلبول‌های قرمز افراد مختلف قرار گرفتند تا آنتی‌بادی‌های دیگر شناسایی شوند. یکی از این آنتی‌بادی‌ها که قابل توضیح توسط گروه‌های ABO یا MN نبود، دونوع فنوتیپ خونی با نام P+ و P- را تعریف نمود. آلوانتی‌بادی‌های انسانی با ویژگی مشابه، اندکی بعد از آن شناسایی شدند.

1 - Landsteiner and Levine

2 - anti-species

سیستم P در سال ۱۹۵۵ توسط سانگر^۱ [۲] بسط داده شد. وی مشاهده نمود که تمامی گلبول‌های قرمز فنوتیپ خیلی نادر $Tj(a-)$ ، $P-$ بودند. این شیوه علامت گذاری به منظور پذیرش فنوتیپ جدید به زودی تغییر یافت. $P+$ را P_1 ، $P-$ را P_2 و $Tj(a-)$ را p نامگذاری نمودند، آنتی‌ژن اصلی P امروزه P_2 نامیده می شود. شناسایی فنوتیپی نادر دیگر در سال ۱۹۵۹، $P^k(CD77)$ ، پیچیدگی بیشتری ایجاد نمود [۳]. گلبول‌های قرمز P^k ، آنتی‌ژن P^k را بطور قوی بیان می‌سازند و فاقد یک آنتی‌ژن با شیوع بالا که در حال حاضر P نامیده می‌شود و قویاً در سطح سایر گلبول‌های قرمز بجز فنوتیپ p بیان می‌شود، هستند (جدول ۴-۱). گلبول‌های قرمز P^k ممکن است P_1 یا P_2 باشند. آنتی‌ژن P^k (LKE) Luke، آنتی‌ژن مربوطه دیگری با فراوانی نسبتاً بالا که در گلبول‌های p وجود ندارد، در سال ۱۹۶۵ شناسایی شد [۴]. واکنش‌های مربوط به آنتی‌بادی‌هایی که این فنوتیپ‌ها را مشخص می‌سازند در جدول ۴-۱، ارائه شده‌اند.

اولین گام‌های بیو شیمیایی از سوی مورگان و واتکینز^۲ [۵] برداشته شد، آنان یک گلیکوپروتئین با فعالیت P_1 را از مایع کیست هیداتید^۳ (HCF) جدا نمودند. شاخص P_1 بعنوان یک تری سا کارید تعیین هویت شد [۶]. شناسایی آنتی‌ژن‌های P_1 ، P و P^k گلبول قرمز بعنوان گلیکواسفنگولیپید، متعاقب کار نایکی و مارکوس^۴ [۷] در شناسایی آنتی‌ژن P بعنوان فراوان‌ترین گلیکواسفنگولیپید گلبول قرمز (گلوبوزید)، حاصل گردید. تعیین دقیق ساختارهای P_1 ، P و P^k نشان داد که دو مسیر بیوسنتزی در تولید این آنتی‌ژن‌ها مشارکت دارند. ژن‌های رمزدهی کننده گلیکوزیل ترانسفرازهایی که سنتز P و P^k را کاتالیز می‌کنند کلون شده‌اند (به بخش ۳-۳-۴ مراجعه شود)، اما ژنتیک بیوسنتز P_1 همچنان مبهم مانده است. از آنجایی که بیش از یک لوکوس ژنی وارد عمل می‌شود، گروه‌های خونی P را نمی‌توان بعنوان یک سیستم گروه خونی منفرد در نظر گرفت.

۲-۴ علامت گذاری

گروه فعال انجمن بین المللی انتقال خون (ISBT)، شماره 003 را به سیستم P اختصاص داده است. این سیستم دارای علامت P_1 است و فقط حاوی یک آنتی‌ژن، $P_1(003001)$ ، می‌باشد. P^k و LKE در سیستم P گنجانیده نمی‌شوند زیرا توسط ژن‌های موجود در لوکوسی مشابه لوکوس حاکم بر P_1 کنترل نمی‌شوند و موقعیت P^k نیز نامشخص است. چون ارتباط سرولوژیک و بیو شیمیایی واضحی بین P^k ، P

1 – Sanger

2 – Morgan and Watkins

3 – Hydatid Cyst Fluid

4 – Naiki and Markos

و LKE وجود دارد، آن‌ها را در کلکسیون 209 که کلکسیون گلوبوزید است، گردهم آورده‌اند. P با GLOB1، P^k با GLOB2 و LKE با GLOB3 شناخته می‌شوند.

اسامی فنو تیپها در جدول ۴-۱ ارائه شده‌اند. P_1 برای گلبول‌های P_1+P+ ، P_2 برای گلبول‌های P_1-P+P^k ، P_1-P+ استعمال می‌شوند، P_1^k و P_2^k به ترتیب در مورد گلبول‌های P_1+P-P^k و P_1-P-P^k بکار برده می‌شوند. علامت p برای فنوتیپ « null » استفاده می‌شود. علائم مربوط به ژن‌ها مناسب و واضح نمی‌باشند زیرا P^2 به دو طریق مورد استفاده قرار گرفته است.

۱- در اصل بعنوان آلی از P^1 و

۲- بعدها بعنوان ژن مسئول بتا- N - استیل گالاکتوز آمینیل ترانسفرازی که تبدیل سرامید-تری هگروز (G b3، آنتی ژن P^k) را به گلو بوزید (P) کاتالیز می‌نماید

این موارد شرایطی متناقض را بوجود می‌آورند به همین دلیل، به منظور جلوگیری از اغتشاش ذهنی، P^2 استفاده نخواهد شد. علائم P_1^+ و P_1^- ، P^{k+} و P^{k-} ، P^+ و P^- برای ژن‌هایی که به ترتیب تولید P_1 را از پاراگلوبوزید، P^k را از لاکتوزیل سرامید و P را از P^k کنترل می‌کنند مورد استفاده قرار خواهند گرفت (به بخش ۴-۳ مراجعه شود)، زمانی که ژنتیک این سیستم گروه خونی بطور کامل درک شود، باید شیوه علامت گذاری بهتری طراحی گردد.

جدول ۴-۱. گروه‌های خونی P، فنو تیپ‌ها و آنتی‌بادی‌ها

فنو تیپ	فراوانی در مردم سفید پوست (%)	آنتی-P ₁	آنتی-P	آنتی-P ^k	آنتی-LKE	آنتی-PP1P ^k
P ₁	۷۵	+	+	*-	+	+
P ₂	۲۵	-	+	*-	+	+
P	بسیار نادر	-	-/w	-	-	-
P ₁ ^k	بسیار نادر	+	-	+	-	+
P ₂ ^k	بسیار نادر	-	-	+	-	+
LKE+	۹۸	یا + -	+	-	+	+
LKE-	۲	یا + -	+	...+	-	+
منشا آنتی بادی		افراد P ₂ ، حیوانات، آنتی بادی‌های مونوکلونال	افراد P _k ، آنتی بادی‌های مونوکلونال	آنتی- PP1P ^k جذب شده با گلبول‌های P ₁ ، آنتی بادی مونوکلونال	افراد LKE- آنتی بادی‌های مونوکلونال	افراد p

*- آنتی ژن بسیار ضعیف P^k بر سطح این گلبول‌ها در آزمایشات آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی-P^k، که از آنتی-PP1P^k به کمک جذب با گلبول‌های P₁ جدا شده است، قابل شناسایی نمی باشد.
 ... بیان P^k بر سطح گلبول‌های LKE-، ضعیفتر از بیان آن بر سطح گلبول‌های P₁^k و P₂^k می باشد.
 -w واکنش مثبت ضعیف.

۴-۳ بیوشیمی

شاخص آنتی ژنیک P سطح گلبول‌های قرمز، درون ریشه‌های کریو هیدراتی گلیکواسفنگو لیپیدها که زنجیره‌های الیگونوکلئوئیدی متصل به سرآمید می‌باشند، استقرار یافته است. شناسایی ساختارهای بیوشیمیایی P₁، P و P^k نشان داد که هیچکدام از آنتی ژن‌های P یا P^k نمی‌تواند پیشساز P₁ باشد. دو نوع مسیر بیوسنتزی در تولید این آنتی ژن‌ها دخالت دارند (جدول ۴-۲ و شکل ۴-۱). بازنگری‌های مربوط به بیوشیمی شامل منابع [۸-۱۰] می‌باشند.

۴-۳-۱ آنتی‌ژن‌های سری پاراگلوبوزید

پاراگلوبوزید (لا کتو -N- نئوترا اوزیل سرامید، جدول ۴-۲) پیشسازی از آنتی‌ژن‌های نوع ۲ ABH، بعضی از گانگلیوزیدها و نیز P1 می‌باشد (شکل ۴-۱).

۴-۳-۱-۱ آنتی‌ژن P1

اولین اطلاعات مربوط به ماهیت بیوشیمیایی آنتی‌ژن‌های P از آزمون‌های مهارسازی حاصل شد. مطالعات صورت گرفته از سوی واتکینز و مورگان^۱ [۱۱] در مورد تاثیر بسیاری از مونوساکاریدها، دی‌ساکاریدها و تری‌ساکاریدها بر آگلوتیناسیون گلبول‌های P₁ توسط آنتی -P₁، حاکی از مشارکت آلفا -D - گالاتوز در ویژگی P₁ بود. این محققان با بکارگیری روش‌هایی که قبلاً جهت استخراج مواد A، B و H از مایعات بدن استفاده شده بودند، یک گلیکوپروتئین با فعالیت P₁ را از مایع کیست هیداتید گوسفند جداسازی کردند که آنتی -P₁ را مهار می‌نمود [۵]. فرآورده‌های حاصل از هیدرولیز اسیدی جزئی این گلیکوپروتئین منجر به شناسایی یک تری ساکارید: Galα1→4Galβ1→4GlcNAc بعنوان شاخص P₁ گردید [۶].

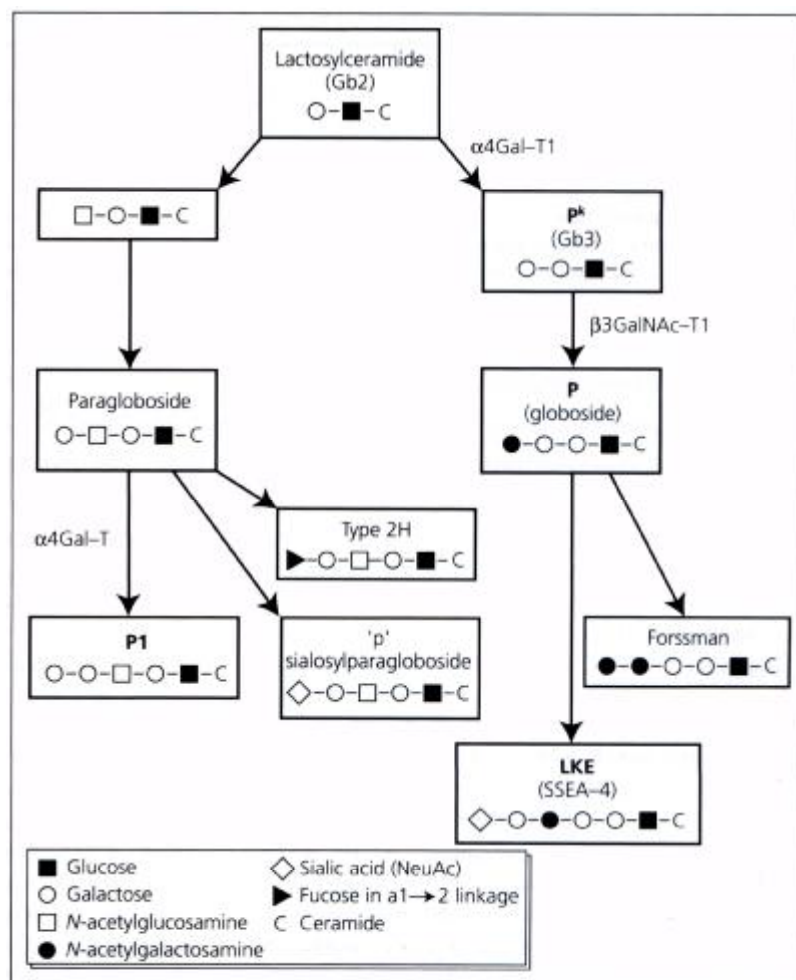
P₁ سطح گلبول‌های قرمز یک گلیکواسفنگولیپید است [۱۴-۱۲]. ساختمان گلیکولیپید فعال، پس از تخلیص سازی وسیع، بعنوان پنتاساکارید سرامیدی معرفی گردید که در جدول ۴-۲ نشان داده شده است [۱۵ و ۱۶]، تری‌ساکارید انتهایی آن، مشابه تری‌ساکارید انتهایی گلیکوپروتئین P₁ گوسفند (مایع کیست هیداتید) بود [۶]. این ساختار همان پاراگلوبوزید است که دارای یک آلفا گالاتوزیل غیر احیاء کننده می‌باشد. تری‌ساکارید P₁ در مهار نمودن آنتی -P₁ مونوکلونال بسیار کار آمد است [۱۷، ۱۸]. گلیکوپروتئین‌های صناعی حاوی این تری‌ساکارید، به منظور مصون سازی موش‌ها در تولید آنتی -P₁ مونوکلونال بکار رفته‌اند [۱۹] (بخش ۴-۴-۵-۳). تری‌ساکارید P₁ متصل به یک جاذب ایمنی نامحلول، آلوانتی -P₁ را از سرم‌های انسانی جدا نمود [۲۰].

۴-۳-۱-۲ سیالوسیل پاراگلوبوزید

یک آنتی‌بادی که ترجیحاً با گلبول‌های p واکنش می‌داد بطور اختصاصی توسط سیالوسیل پاراگلوبوزید مهار گردید [۲۱ و ۲۲] (بخش ۴-۱۰-۱)، این ترکیب، پاراگلوبوزیدی با یک ریشه اسید سیالیک انتهایی بود (جدول ۴-۲). میزان سیالوسیل پاراگلوبوزید ممکن است در گلبول‌های p افزایش داشته باشد زیرا یک وقفه در سنتز P^k (Gb3) منجر به افزایش مقادیر گلیکولیپیدهای پیشساز برای دیگر مسیرهای بیوسنتزی می‌گردد [۲۲] (شکل ۴-۱).

شکل ۱-۴. مسیرهای بیوستز احتمالی برای تشکیل آنتی‌ژن‌های P از یک پیشساز مشترک :
لاکتوزیل سرامید.

گلیکوزیل ترانسفرازهای مسئول تولید آنتی‌ژن‌های P^k، P¹ و P نشان داده شده اند.



۴-۳-۲ آنتی‌ژن‌های سری گلوبوزید

مطالعات بیوشیمیایی اولیه نشان داد که ارتباطی نزدیک بین آنتی‌ژن‌های P_1 و P^k وجود دارد اما اطلاعاتی در مورد ساختمان آنتی‌ژن P بدست نداد. نایکی و مارکوس^۱ [۷] با استفاده از گلیکو لیپیدهای تخلیص شده به منظور مهار آنتی- $PP1P^k$ مشاهده نمودند که گلوبوزید و سرامیدتری هگزوزید ($Gb3$)، دو گلیکولیپید کاملاً شناخته شده، به ترتیب آنتی‌ژن‌های P و P^k را می‌سازند (جدول ۴-۲). توصیف اختصاصی آنتی‌ژن‌های P و P^k مشخص نمود که P^k پیشساز مستقیم P است و نیز اینکه P_1 از یک مسیر بیوستیزی متفاوت ظهور می‌یابد (شکل ۴-۱).

توالی‌های قندی که P_1 ، P^k و P را تعریف می‌نمایند بصورت گلیکولیپیدهایی در سطح گلبول‌های قرمز وجود دارند، P_1 و P^k بصورت گلیکوپروتئین در مایع کیست هیداتید (HCF) حضور دارند.

۴-۳-۱ آنتی‌ژن P^k

نقش آلفا - D - گالاکتوز در ویژگی P^k که نخستین بار از سوی ووآک و همکاران^۲ [۲۳] بعنوان یک فرض مسلم بیان شد، متعاقباً مورد تایید قرار گرفت [۲۴ و ۲۵]. آنتی- P^k همچون آنتی- P_1 ، توسط HCF مهار می‌گردد [۳]. از هیدرولیز اسیدی جزئی گلیکوپروتئین P_1P^k ، که از HCF جدا شده بود، تری ساکارید P_1 حاصل شد که آنتی- P^k و آنتی- P_1 را مهار می‌نمود، و یک دی ساکارید $Gal\alpha1 \rightarrow 4Gal$ که آنتی- P^k (امانه آنتی- P_1) را مهار می‌کرد، نیز حاصل شد [۲۵]. دیگر الیگوساکاریدهای دارای آلفا گالاکتوزیل انتهایی نیز آنتی P^k را مهار نمودند [۲۵] که این خود تاییدی بر غلبه ایمنی^۳ آلفا-لاکتوز در بیان P^k بود.

نایکی و مارکوس [۷] با استفاده از گلیکواسفنگولیپیدهایی با ساختمان نامشخص آنتی‌ژن P^k را بعنوان $Gb3$ که دارای ریشه گالاکتوز انتهایی مورد انتظار می‌باشد، شناسایی نمودند (جدول ۴-۲). تجزیه و تحلیل گلیکواسفنگولیپید نشان داد که $Gb3$ در گلبول‌های قرمز p وجود ندارد اما در گلبول‌های قرمز P^k افزایش دارد [۲۶، ۲۷]. آنتی- P^k مونوکلونال (بخش ۴-۶-۳) با $Gb3$ واکنش می‌دهد [۲۸]. چندین آنتی- P^k مونوکلونال از موش‌هایی که با گلیکوپروتئین‌های صناعی حاوی تری ساکارید P^k ($Gal\alpha1 \rightarrow 4Gal\beta1 \rightarrow 4Glc$) مصون شده بودند، تهیه شدند [۱۹]. مطالعه گلیکواسفنگولیپیدهای مربوط به گلبول‌های P_1 و P_2 نشان داد که $Gb3$ یک جزء مشترک غشاءهای آن‌ها ست [۱۶ و ۱۷]. بدین ترتیب بر خلاف مشاهدات سرولوژیک اولیه، P^k یک آنتی‌ژن نادر نیست، بلکه آنتی‌ژنی با شیوع بسیار بالاست (بخش ۴-۶-۳).

1 - Naiki and Markos

2 - Voak *et al.*

3 - immunodominance

۴-۳-۲ آنتی ژن P (گلوبوزید)

گلیکوپروتئین‌هایی که آنتی-P¹ و آنتی-P^k را مهار نمودند، با آنتی-P واکنش متقاطع نداشتند و در مورد ساختمان P اطلاعاتی وجود نداشت تا اینکه در جریان همان مطالعات مهارسازی که نشان داده شد P^k، Gb3 است، نایکی و مارکوس [۷] هویت P را بعنوان گلوبوزید (Gb4) شناسایی نمودند. متعاقباً، ثابت گردید که گلوبوزید در گلبول‌های قرمز P^k وجود ندارد و فقط به مقادیری بسیار کم در گلبول‌های قرمز p یافت می‌شود [۲۶ و ۲۷]. گلوبوزید فراوان‌ترین گلیکولیپید غشاء گلبول قرمز است که حدود ۱۰×۱۴ مولکول از آن به ازای هر گلبول وجود دارد [۲۹ و ۳۰]. گلوبوزید همان Gb3 (P^k) است با این تفاوت که یک ریشه اضافی غیر احیاء کننده N-استیل-گالاکتوز آمین دارد (جدول ۴-۲).

آنتی-P مونوکلونال (بخش ۴-۵-۲-۳) توسط تری ساکارید انتهایی گلوبوزید (GalNAcβ1g3Galα1g4Gal) و توسط Galβ1g3GalNAcβ1g3Gal مهار گردید [۳۱]. آنتی‌بادی مونوکلونال دیگر که از لحاظ سرو لوژیک همانند آنتی-P عمل می‌کرد، توسط جاذب ایمنی ویژه (Galβ1→3GalNAc-R)T مهار شد [۳۲]. آنتی-P های انسانی توسط این دی ساکارید مهار نشدند. گلبول‌های قرمز p علی‌رغم اینکه فاقد دو گلیکواسفنگولیپید فراوان، Gb3 و گلوبوزید (Gb4)، می‌باشند، دارای مرفولوژی و عملکرد ظاهراً طبیعی هستند.

جدول ۴-۲. ساختار بعضی از گلیکواسفنگولیپیدهای مرتبط با آنتی‌ژن‌های P

Antigen	Structure
	Lactosylceramide (Gb2) Galβ1→4Glc-Cer
	<i>Paragloboside series</i>
	Paragloboside Galβ1→4GlcNAcβ1→3Galβ1→4Glc-Cer
P1	Galactosylparagloboside Galα1→4Galβ1→4GlcNAcβ1→3Galβ1→4Glc-Cer
	Sialosylparagloboside NeuAcα2→3Galβ1→4GlcNAcβ1→3Galβ1→4Glc-Cer
	<i>Globoside series</i>
P ^k	Globotriosylceramide (Gb3) Galα1→4Galβ1→4Glc-Cer
P	Globoside (globotetraosylceramide, Gb4) GalNAcβ1→3Galα1→4Galβ1→4Glc-Cer
LKE, SSEA-4	Sialosylgalactosylgloboside (SGG) NeuAcα2→3Galβ1→3GalNAcβ1→3Galα1→4Galβ1→4Glc-Cer
	Disialosylgalactosylgloboside (DSGG) NeuAcα2→3Galβ1→3(NeuAcα2→6)GalNAcβ1→3Galα1→4Galβ1→4Glc-Cer
H	Globo-H (Type 4 H) Fucα1→2Galβ1→3GalNAcβ1→3Galα1→4Galβ1→4Glc-Cer
Forssman	Forssman (Gb5) GalNAcα1→3GalNAcβ1→3Galα1→4Galβ1→4Glc-Cer

گلوبول‌های قرمزی که فنوتیپ p دارند دارای مقادیر افزایش یافته لاکتوزیل سرامید و دیگر گلیکولیپیدهای پیچیده می‌باشند [۳۳، ۳۴]. کلیه حاوی سطوح بالایی از ترکیبات سری گلوبوزید می‌باشد. بافت کلیه که پس از کالبد شکافی از یک شخص گروه A با فنوتیپ p تهیه شده بود، سطوح بالای لاکتوزیل سرامید، عدم وجود Gb3 یا گلوبوزید و نیز عدم حضور ساختار زنجیره A نوع ۴ (globo-A) را نشان می‌داد [۳۵] (بخش ۲-۲-۲).

۳-۲-۳-۴ آنتی‌ژن LKE

متعاقب این تشخیص که آنتی‌بادی مونوکلونالی که آنتی‌ژن رویانی ویژه مرحله تکاملی موش^۱ (SSEA-4) را شناسایی می‌کند آنتی‌ژن LKE گلوبول قرمز را توصیف می‌نماید، این استنباط بعمل آمد که LKE یک آنتی‌ژن سری گلوبوزیدی است [۳۶]. SSEA-4 مولکولی گلوبوزیدی است که دارای ریشه‌های گالاکتوز و اسید سیالیک اضافی می‌باشد (جدول ۲-۴). انتظار می‌رود که وابستگی LKE به اسیدسیالیک (همچون SSEA-4) مورد تأیید قرار گیرد.

۳-۳-۴ ترانسفرازها و ژن‌هایی که آن‌ها را رمز دهی می‌نمایند

بیوسنتز آنتی‌ژن‌های P، همانند آنتی‌ژن‌های ABH، بواسطه افروده شدن ترتیبی مونوساکاریدها به یک سوسترای پیشساز صورت می‌گیرد و گلیکوزیل ترانسفرازها بعنوان کاتالیزور عمل می‌کنند. گرچه در حال حاضر مسیر بیوشیمیایی کاملاً مشخص شده است، اما زمینه ژنتیکی هنوز واضح نمی‌باشد (شکل ۱-۴). شواهد غیر مستقیم در مورد ترانسفرازهای فعال نخستین بار از سوی فلووس و همکاران^۲ [۳۷] به دنبال آزمایشات تکمیلی ارائه شد مشخص شد که P روی سلول‌های چند هسته‌ای (polykaryon) که از طریق الحاق فیبروبلاست‌های P^k و p حاصل شده بودند مجدداً بیان می‌گردد، لذا این شواهد حاکی از این است که دو ژن مستقل از هم مسئول فنوتیپ‌های P^k و p می‌باشند.

۳-۳-۳-۴ آنزیم P^k (Gb3) سنتاز

از آنجایی که لوکوس ژن کنترل کننده پلی مرفیسم P1/P2 روی کروموزم 22q13.2 (فصل ۳۲) تعیین شده است، استفنسون و همکاران^۳ [۳۸] یک تحقیق و جستجوی مبتنی بر داده را درون این منطقه به منظور یافتن یک توالی مشابه با توالی کد کننده آلفا-N- استیل گلوکز آمینیل ترانسفراز بعمل آوردند با این امید که به ژن آلفا - ۴-گالاکتوزیل ترانسفراز P1 دست یابند. آن‌ها یک cDNA را شناسایی

1- Murine Stage-specific Embryonic Antigen-4

2 - Fellous *et al.*

3 - Steffenson *et al.*

نمودند که یک آلفا - ۴- گالاکتوزیل ترانسفراز (به نام $\alpha 4\text{Gal-T1}$) را رمزدهی می‌کرد، این آنزیم انتقال گالاکتوز را از UDP - گالاکتوز به لاکتوزیل سرامید (Gb2) به منظور تولید گلوبوتری اوزیل سرامید (Gb3) به آنتی ژن P^k ، کاتالیز می‌نماید (شکل ۴-۱). در هر حال آنزیم فوق پاراگلوبوزید را به آنتی ژن P1 تبدیل نکرد.

سلول‌های لنفوبلاستوئید انسانی به نام Namalawa که فاقد فعالیت آلفا - ۴- گالاکتوزیل (درونزاد) اندوژن هستند، وقتی که با قطعه $\alpha 4\text{Gal-T1cDNA}$ آلوده شدند، P^k را به شکلی قوی بیان نمودند. ژن 4Gal-T1 دارای دو اگزون است اما فقط یکی از آن‌ها حاوی توالی کد کننده می‌باشد [۳۹]. $\alpha\text{Gal-T1}$ به خانواده‌ای از گلیکوزیل ترانسفرازها تعلق دارد که در پستانداران، حشرات و گیاهان و احتمالاً در تمام طول دوره تکامل تدریجی حفظ شده‌اند [۴۰].

۴-۳-۳-۲ آنزیم P (گلوبوزید) سنتاز

اکاجیما و همکاران^۱ [۴۱] با استفاده از یک سیستم کلونینگ بیان سلول یوکاریوتیک، cDNA کد کننده گلوبوزید سنتاز، یک بتا - ۳- N- استیل گالاکتوز آمینیل ترانسفراز ($\beta 3\text{GalNAc-T1}$) را جداسازی نمودند. برای نیل به این هدف سلول‌های فیبروبلاست موش با cDNA مربوط به Gb3 سنتاز جهت تولید P^k (یک کتابخانه cDNA کلیه انسان) و نیز cDNA فورسمن سنتاز به منظور تولید آنتی ژن فورسمن از هر نوع گلوبوزید تولید شده احتمالی، آلوده شدند (شکل ۴-۱). بنابراین سلول‌های جدا شده از طریق Panning با آنتی - فورسمن، باید cDNA مربوط به گلوبوزید سنتاز را وارد خود می‌کرده‌اند. cDNA کلون شده، $\beta 3\text{GalNAc-T1}$ ، آنزیمی که سابقاً بعنوان یک گالاکتوزیل ترانسفراز ($\beta 3\text{Gal-T3}$) در نظر گرفته می‌شد، را رمز دهی می‌نمود [۴۲]. $\beta 3\text{GalNAc-T1}$ با کاتالیز انتقال N - استیل - گالاکتوز آمین از UDP - N- استیل گالاکتوز آمین به Gb3 (P^k) آنتی ژن P را از P^k تولید می‌کند. ژن مربوطه روی کروموزم 3q25 [۴۲] قرار گرفته و حاوی یک اگزون کد کننده منفرد است [۴۱]. این ژن به طور وسیع بیان می‌گردد بطوری که دارای بروز قوی در مغز و قلب، بروز متوسط در ریه، جفت و بیضه، و بروز ضعیف در کلیه، کبد، طحال و معده می‌باشد [۴۱ و ۴۲]. فیبروبلاست‌های کشت داده شده از افرادی که فنوتیپ P^k دارند فاقد گلوبوزید سنتاز می‌باشند. این یافته تایید می‌نماید که فنوتیپ P^k ناشی از کمبود یک سنتاز است، نه ناشی از تخریب توسط یک آلفا - گالاکتوزیداز [۴۳].

1 - Okajima et al.

۳-۳-۳-۴ آنزیم P1 سنتاز

آلفا- ۱ و ۴- گالاکتوزیل ترانسفراز فرضی که مسئول تولید P1 از پاراگلوبوزید باشد (شکل ۴-۱) هنوز شناسایی نشده است. گلبول‌های قرمز با فنوتیپ p، فاقد $P^k(Gb3)$ ، P (گلوبوزید) و P1 می‌باشند (جدول ۴-۱). فنوتیپ p در ارتباط با حالت هموزیگوت برای جهش‌های غیر فعال کننده در ژن Gb3 سنتاز (ژن $\alpha 4Gal-T1$) می‌باشد که این پدیده عدم حضور P^k را توضیح می‌دهد [۳۸ و ۳۹] (بخش ۴-۸-۱). گلوبوزید سنتاز در فیرو بلاست‌های کشت داده شده و لنفوسیت‌های B افراد p وجود داشت [۳۴ و ۴۳]، اما قادر به سنتز گلوبوزید در غیاب سوبسترای پذیرنده آن یعنی Gb3 نبود.

هر نوع طرح ژنتیکی در مورد بیوسنتز آنتی ژن‌های P باید توضیح دهد که چرا گلبول‌های قرمز افراد p فاقد آنتی ژن P1 (یک گلیکواسفنگولیپید سری پاراگلوبوزید) و همچنین Gb3 و گلوبوزید (گلیکو اسفنگو لیپیدهای سری گلوبوزید) هستند، در حالیکه گلبول‌های قرمز $P_2(P1-)$ دارای Gb3 و گلوبوزید می‌باشند. این احتمال که P2 ممکن است فقدان پیشساز P1 را منعکس سازد به واسطه این مشاهده که میزان پاراگلوبوزید در گلبول‌های P_2 طبیعی است، حذف گردید [۲۹ و ۳۳].

یک طرح کلی به پیشنهاد گراهام و ویلیامز^۱ [۴۴] سه آلل را در لوکوس ژنی P1 پیش بینی می‌نماید: ۱- آلل P_1^K - یک آلفا ۱- و ۴- گالاکتوزیل ترانسفراز را رمز دهی می‌کند که قادر است هم پاراگلوبوزید و هم لاکتوزیل سرامید را بعنوان سوبسترای پذیرنده مورد استفاده قرار دهد و P1 و P^k را سنتز نماید.

۲- آلل P^k - آلفا ۱- و ۴- گالاکتوزیل ترانسفراز را رمز دهی می‌کند که فقط قادر به استفاده از لاکتوزیل سرامید بوده P^k را تولید می‌نماید.

۳- آلل p - یک آلل آمورف می‌باشد که هیچ کدام از آنتی ژنهای P1 و P^k را تولید نمی‌کند (جدول ۴-۳).

در لوکوس دوم دو آلل وجود دارند: P^+ که گلوبوزید سنتاز را رمز دهی می‌کند و P^- که یک آمورف است. در این طرح هیچ بیجه P_1 از آمیزش یک جفت با مشخصات $P_2 \times p$ انتظار نمی‌رفت. ده مورد از چنین آمیزش‌هایی تولید ۳۷ بیجه نموده بود که هیچکدام P1 نبودند. در هر حال P^k سنتاز ($\alpha 4Gal-T1$) سنتز P1 از پاراگلوبوزید را کاتالیز نکرد [۳۸]. بعلاوه هیچ نوع پلی مرفیسمی مرتبط با فنوتیپ‌های P_1/P_2 در منطقه کد کننده ژن $\alpha 4Gal-T1$ شناسایی نشد [۳۸ و ۳۹].

یک طرح انتخابی دیگر سه لوکوس P_1 ، P^k و p دارد، بر اساس آن آلل P_1^+ الزامات مربوط به ویژگی پذیرنده P^k سنتاز را تغییر می‌دهد بطوری که این آنزیم قادر است علاوه بر لاکتوزیل سرامید، پاراگلوبوزید را نیز مصرف نماید [۱۶]. سابقه‌ای از این نوع برهم کنش در خانواده $\beta 4Gal-T1$ وجود دارد که در آن اتصال آلفا - لاکتالبومین به دو آنزیم، ویژگی سوبسترای پذیرنده را از N - استیل -

1 - Graham and Williams

گروه‌های خونی P P

گلوکزآمین به گلوکز تغییر می‌دهد [۴۵]. اگر سه آلل مستقل مشارکت می‌داشتند، بچه‌های P1 از آمیزش نوع $p \times P_2$ انتظار می‌رفت، اما این حالت مشاهده نشده است، و لذا در صورت وجود سه لوکوس ژنی، P1 و P^k باید ارتباط نزدیکی داشته باشند. این وضعیت ممکن است وجود داشته باشد زیرا لوکوس P1 و ژن P^k ستاز هر دو روی کروموزم 22q13.2 قرار دارند، اما در بررسی‌های بعمل آمده از توالی موجود کروموزم ۲۲ ژن‌های هومولوگ اضافی قابل شناسایی نبود [۳۸].

در عوض، ایزوکا و همکاران^۱ [۴۶] دریافتند که عصاره سلول‌های لنفوبلاستوئید p و P1 بطور یکسان در انتقال گالاکتوز از یک دهنده UDP - گالاکتوز به لاکتوزیل سرامید با هدف تولید Gb3 با فعالیت P^k ، موثر و کار آمد می‌باشند. با این وصف در داخل بدن هیچ میزانی از P^k تولید نمی‌شود و لاکتوزیل سرامید در سلول‌های p انباشته می‌شود، دلیل این نتایج غیر منتظره نا معلوم است.

جدول ۳-۴. دو طرح ژنتیکی لوکوس ژنی پیشنهاد شده به منظور توضیح تولید

آنتی‌ژن‌های P1، P و P^k و بیان آن‌ها در پنج فنوتیپ P [۴۴]

P1 locus	P locus	PG→P1	Gb2→ P^k	P^k →P	Phenotype
$P_1^k/P_1^k, P_1^k/P^k, \text{ or } P_1^k/p$	P^+/P^+ or P^+/P^-	+	+	+	P ₁
$P^k/P^k \text{ or } P^k/p$	P^+/P^+ or P^+/P^-	-	+	+	P ₂
p/p	P^+/P^+ or P^+/P^-	-	-	No P^k	p
$P_1^k/P_1^k, P_1^k/P^k, \text{ or } P_1^k/p$	P^-/P^-	+	+	-	P_1^k
$P^k/P^k \text{ or } P^k/p$	P^-/P^-	-	+	-	P_2^k
p/p	P^-/P^-	-	-	No P^k	p

Gb2, lactosylceramide; PG, paragloboside.

۴-۴ آنتی ژن P1 و آنتی - P1

۴-۴-۱ فراوانی و توارث

فراوانی P1 در جمعیت‌های مختلف متغیر است. حدود ۸۰٪ افراد سفید پوست P1 هستند. فراوانی P1 در بعضی از مردمان آفریقایی و آمریکای جنوبی خیلی بیشتر و در بعضی از جمعیت‌های آسیایی خیلی کمتر است بطوری که در ژاپن به حدود ۳۰٪ می‌رسد. به منظور دستیابی به جزئیات فراوانی‌ها در بسیاری از جمعیت‌ها به منبع [۴۷] مراجعه شود.

پاره‌ای از برآوردهای اولیه در افراد سفید پوست به علت نوع معرف‌های آنتی - P1 بکار رفته دقیق نیستند، بطوری که اگر از یک آنتی - P1 ضعیف استفاده می‌شد، فراوانی P1 پایین بود. ریس و سانگر^۲

1 - Iizuka et al.

2 - Race and Sanger

[۴۸] با در نظر گرفتن مطالعه تحقیقی هنینگسن^۱ [۵۰ و ۴۹] بعنوان مورد اعتمادترین روش، از آن به منظور محاسبه فراوانی‌های فنوتیپی، ژنی و ژنوتیپی استفاده نمودند.

در یک بررسی بعمل آمده از ۲۳۴۵ اسکاندیناویایی، P_1 ۷۸/۵۸٪ و P_2 ۲۱/۱۵٪ بودند. این ارقام فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی ذیل را فراهم نمودند:

$$\begin{array}{lll} P_1^+ : P_1^- & ۵۴۰۱ : ۰ & P_1^+ / P_1^+ : ۲۹۱۷ : ۰ \\ P_1^+ / P_1^- & ۴۵۹۹ : ۰ & P_1^+ / P_1^- : ۴۹۶۸ : ۰ \end{array}$$

لندشتاینر و لوین^۲ [۱] نشان دادند که P_1 بصورت یک صفت غالب مندلی به ارث رسیده و عمل می‌کند. این نظریه توسط کلیه مطالعات و تحقیقات بعدی حمایت گرید. در بسیاری از مطالعات خانوادگی، بچه‌های P_2 بسیار زیادی از آمیزش‌های $P_1 \times P_1$ و $P_1 \times P_2$ مشاهده شدند، در مقایسه با ارقام حاصل شده از فراوانی‌های ژنی. این اختلافات به سختی شناسایی P_1 ضعیف (بخش ۴-۴-۲) بویژه در بچه‌های جوان نسبت داده می‌شود (بخش ۴-۵-۳) [۴۸]. یافته‌های هنینگسن [۵۱] به دنبال مطالعات خانوادگی با استفاده از معیارهای دقیق وی برای P_1 و P_2 ، با مقادیر مورد انتظار مطابقت خیلی خوبی داشت.

۲-۴-۴ نوسان در قدرت آنتی ژنی

قدرت آنتی ژنی P_1 در سطح گلبول‌های قرمز افراد مختلف متفاوت می باشد و به نظر می‌رسد که تحت کنترل ژنتیکی باشد [۴۹-۵۱]. دزاژ (dosage) در این تغییر قدرت آنتی ژنتیک ایفای نقش می‌کند. فیشر^۳ [۵۲] داده‌های هنینگسن را تجزیه و تحلیل نموده و با محاسبات بدین نتیجه رسید که ۶۶٪ افرادی که P_1 قوی دارند هموزیگوت (P_1^+ / P_1^+) و تمامی افرادی که P_1 ضعیف دارند هتروزیگوت (P_1^+ / P_1^-) هستند.

یک مهار کننده غالب اما نادر لوتران و دیگر آنتی ژن‌های گلبول قرمز به نام $In(Lu)$ بروز P_1 را مهار می‌کند [۵۳ و ۵۴] و مسئول ظهور یک بچه P_1 از والدین P_2 بوده است [۵۵ و ۵۴]. $In(Lu)$ که ارتباط نزدیکی با لوکوس ژنی P_1 ندارد [۵۴]، در فصل ۶ مورد بحث قرار می‌گیرد.

1 – Henningsen

2 – Landsteiner and Levine

3 – Fisher

۴-۳-۴ تکامل و توزیع

P1 در بچه‌ها بطور قابل ملاحظه‌ای ضعیف‌تر از P1 بزرگسالان است و فراوانی P2 اساساً در نوزادان بیشتر از بالغین است [۴۹]. از سن هفت سالگی به بعد P1 به تکامل خود می‌رسد [۵۶]. علیرغم این بیان ضعیف در هنگام تولد، P1 در سطح گلبول‌های قرمز جنینی بصورت قوی بروز می‌یابد. بیان P1 جنینی ضعیف‌تر از P1 بالغین است، اما قدرت P1 با افزایش سن جنین کاهش می‌یابد، P1 در جنین‌های دوازده هفته قوی‌تر و، شایع‌تر، از جنین‌های ۲۸ هفته تجلی یافت [۵۷]. فلوسایتومتری با استفاده از آلوانتی - P1 نشان داد که P1 در سطح لنفوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها بیان می‌گردد [۵۸].

۴-۴-۴ دیگر منابع ماده P1

کرم‌های تخت (کرم‌های نواری و فلوک‌ها) منابع موادی با فعالیت P1 هستند. مایع حاصل از کیست‌های هیداتید کبد گوسفندان آنتی - P1 را مهار می‌سازد اما فقط در صورتی که مایع حاوی اسکولکس^۱ها باشد [۵۹]. فراوانی و ولع آنتی - P1 در بیماران P2 که آلوده به کرم‌های نواری خاص (بیماری هیداتید) و فلوک‌های جگری شده‌اند افزایش می‌یابد [۶۲-۵۹]. کرم‌های لوله‌ای (نماتود) و Annelid، نیز منابع ماده P1 هستند، عصاره‌های تهیه شده از لومبریکوس ترس تریس^۲ (کرم خاکی) و آسکاریس سوم^۳، آنتی - P1 را مهار می‌نمایند [۶۳].

پرندگان از منابع دیگر ماده P1 هستند. گلبول‌های قرمز، پلاسما و مواد دفعی کبوترها و قمری‌ها و نیز اووموکوئید^۴ سفیده تخم قمری، همگی حاوی ماده P1 می‌باشند [۶۴-۶۲]. آنتی - P1 در کبوتر بازان P2 با شیوع بالاتری (۳۴٪) از اهداکنندگان P2 (۶٪) مشاهده می‌شود [۶۴]. موادی همچون اووموکوئید تخم قمری و دیواره کیست هیداتید و پروتواسکولکس کرم‌های تخت که آنتی - P1 را مهار می‌سازند و می‌توانند به منظور تحریک تولید آنتی - P1 بکار روند، دارای ساختارهایی منشعب با تری ساکارید P1 (Galα1→3Galβ1→4GlcNAc) می‌باشند [۶۷و۶۸].

۴-۴-۵ آنتی - P1

۴-۴-۵-۱ آلو آنتی - P1

آلوانتی - P1 یک ویژگی شایع است، معمولاً بصورت یک آگلوتینین ضعیف که فقط در دمای پایین فعال است. تولید آنتی - P1 به ندرت ناشی از تزریق گلبول‌های قرمز بوده است [۶۹-۷۲].

1- Scolex

2 - Lumbricus Terrestris

3 - Ascaris summ

4 - Ovomuroid

اکثر نمونه‌های آنتی -P1 گلبول‌های قرمز را در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد یا بالاتر آگلوتینه نمی‌کنند و نباید این آنتی بادی‌های فعال در دمای سرد را بعنوان آنتی بادی‌هایی با اهمیت بالینی تلقی نمود [۷۳]. دو مورد از واکنش همولیتیک فوری انتقال خون^۱ (IHTR) گزارش شده که یکی از آن‌ها با فرجامی کشنده همراه بود. این واکنش ناشی از نوعی آنتی -P1 که گلبول‌های قرمز را در ۳۷ درجه آگلوتینه می‌کرد، بود [۷۶ و ۷۱]. بعضی از نمونه‌های آنتی -P1 ایجاد واکنش‌های همولیتیک تاخیری انتقال خون نموده‌اند، گرچه هیچ نوع آنتی -P1 در نمونه (سرم بیمار) قبل از تزریق خون شناسایی نشد و در یک مورد، آنتی بادی ظرف چهار ماه پس از واکنش ناپدید شده بود [۷۶ و ۷۱]. آنتی -P1 فعال در ۳۷ درجه سانتیگراد به سرعت ۵۰٪ از گلبول‌های P1 نشاندار شده با ماده رادیواکتیو را حذف نموده و مابقی آن‌ها نیز به آهستگی حذف شدند [۷۷]. آنتی -P1 مسئول یک واکنش همولیتیک حاد انتقال خون، در یک آزمایش غیر مستقیم با استفاده از روش تک لایه مونوسیتی^۲ به همراه گلبول‌های قرمز P1، نتایجی تا حد ۲۲٪ (در حالت طبیعی کمتر از ۳٪) را فراهم نمود [۷۵].

آنتی -P1 به صورت ویژگی قابل جداسازی در سرم بعضی از افراد p از طریق جذب با گلبول‌های P2، شناسایی شده است [۴۸]. آنتی -P1 در هیچ فرد P2^k گزارش نشده است. وجود آلوانتی -P1 در یک کبوتر باز P1 منجر به این نظریه شد که آنتی بادی ممکن است علیه شاخصی که در آنتی ژن P1 خود شخص وجود ندارد ایجاد شده باشد [۷۸].

۴-۵-۲ آنتی -P1 حیوانی

اولین مورد آنتی -P1، حاصل مصون سازی خرگوش‌ها با گلبول‌های قرمز انسان بود [۱]. از آن زمان، آنتی -P1 بعنوان یک آنتی بادی «با ظهور طبیعی» در خرگوش‌ها و دیگر حیوانات یافت شده است. معرف‌های آنتی -P1 با تزریق گلبول‌های P2 tanned که با مایع کیست هیداتید مجاور شده اند [۷۹]، با تزریق ماده P1 که از مایع کیست هیداتید گوسفند بطور جزئی تخلیص و با پروتئینی از شینگلا شیکی^۳ همراه شده است [۶۶]، با تزریق عصاره کرم های خاکی [۶۳]، یا با تزریق اووموکوئید تخم قمری [۶۶] به خرگوش‌ها یا بزها تهیه شده است.

۴-۵-۳ آنتی -P1 مونوکلونال

آنتی بادهای مونوکلونال با ویژگی P1 از طریق مصون سازی موش‌ها با اووموکوئید تخم قمری [۱۷]، با گلیکو پروتئین‌های صناعی حاوی تری ساکارید P1 (Galα1→4Galβ1→4GlcNAc) [۱۹]، یا با

1 - Immediate Hemolytic Transfusion Reaction

2 - Monocyte Monolayer Assay

3 - Shigella shigae

گلوبول‌های قرمز انسان که P1 را به شکل قوی بروز می‌دهند [۸۰] تولید شده‌اند. آگلوتیناسیون گلوبول‌های P1 توسط آنتی - P1 مونوکلونال با استفاده از تری ساکارید P1 و دی ساکارید Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal مهار شد، تری ساکارید ۲۰۰ برابر موثرتر از دی ساکارید بود [۱۷ و ۱۸]. آنتی بادی‌های مونو کلونال P1 که از طریق مصون سازی با تری ساکارید P1 تولید شده بودند، بطور کاملاً یکسان به تری ساکارید P1 و تری ساکارید (Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal β 1 $\rightarrow$ 4Glc) P^k پیوند یافتند [۱۹]. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال P1 در سه کارگاه بین المللی مورد تجربه و تحلیل قرار گرفته‌اند [۸۱، ۸۲ و ۸۳]. نوعی آنتی بادی مونوکلونال که بواسطه مصون سازی موش‌ها با گلیکوپروتئین صناعی حاوی تری ساکارید P^k تولید شده بود، بصورت آنتی $P1P^k$ عمل می‌کرد، بطوری که گلوبول‌های P_1 ، P_1^k و P_2^k ، اما نه P_2 یا p را آگلوتینه می‌نمود [۱۹].

۴-۵ آنتی ژن P و آنتی - P

۴-۵-۱ آنتی ژن P

آنتی ژن P، یک گلوبوزید گلیکولیپیدی (بخش ۴-۳-۲) روی تمامی گلوبول‌های قرمز به استثنای فنوتیپ نادر p و P^k (جدول ۴-۱ و بخش‌های ۴-۶ و ۴-۸) یافت می‌شود. آنتی ژن P در سطح گلوبول‌های بالغین P_1 و P_2 بطور یکسان بیان می‌گردد [۳]، هنگام تولد نیز کاملاً تکامل یافته است، اما گلوبول‌های P_2 بند ناف، ضعیف‌تر از گلوبول‌های P_1 بند ناف، آنتی ژن P را بروز می‌دهند [۸۳]. بیان P روی دیگر سلول‌های خونی مورد بحث و مناظره است. این آنتی ژن با استفاده از فلوسایتومتری و در حضور آلوانتی-P انسانی، در سطح لنفوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها شناسایی شده است [۵۸]. در هر حال، فون دم بورن و همکاران^۱ [۸۴] با استفاده از آنتی - P مونوکلونال قادر به شناسایی P روی گرانولوسیت‌ها و اکثر لنفوسیت‌های خون محیطی نبودند، هر چند که آن را در سطح سلول‌های اندوتلیال، زیر مجموعه ای از پلاکت‌ها، مگاکاریوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها شناسایی نمودند. شرینسکی و همکاران^۲ [۸۵] با استفاده از یک آنتی بادی مونوکلونال متفاوت، نتوانستند P را در سطح لنفوسیت‌ها یا فیبروبلاست‌ها شناسایی کنند. آنتی ژن P روی سلول‌های بدخیم و رده‌های سلولی مشتق از آن‌ها یافت می‌شود [۸۷-۸۴]، علاوه بر این آنتی ژن P در کبد جنین، قلب جنین و نیز جفت شناسایی شده است [۱۰].

1 - Von dem Borne et al.

2 - Sherinsky et al.

۴-۵-۲ آنتی-P

۴-۵-۱ آلوا آنتی-P

آنتی-P در سرم تمامی افراد P^k یافت می‌شود و به واسطه جذب با گلبول‌های P_1^k و P_2^k [۳ و ۸۸] و یا از طریق مهار سازی با مایع کیست هیداتید [۲۵] قابل جداسازی از سرم است. در صورت وجود کمپلمان، آنتی-P گلبول‌های P_1 و P_2 را همولیز خواهد نمود. این آنتی بادی در سرم افراد p ممکن است منحصراً IgM باشد [۸۹]، اما عمده سرم‌های آنتی-P، هم IgG و هم IgM هستند [۹۲-۹۰] و نیز ممکن است حاوی آنتی-P نوع IgA باشند [۹۳].

۴-۵-۲ اتو آنتی-P و هموگلوبینوری حمله‌ای سرد

هموگلوبینوری حمله‌ای سرد^۱ (PCH) شکلی نادر از کم خونی همولیتیک اتوایمیون است که غالباً در بچه‌های جوان به دنبال عفونت و بررسی ظاهر می‌گردد. یک آزمون دونات - لندشتاینر در سرم بعضی از این بیماران معمولاً واکنش مثبت ایجاد می‌کند، بدین صورت که آنتی بادی در حضور کمپلمان در صفر درجه به گلبول‌های قرمز پیوند یافته سپس وقتی که متعاقباً گرم می‌شوند گلبول‌ها را همولیز می‌نماید (بازنگری در [۹۴]). این همولیزین‌های دو مرحله‌ای، یا آنتی بادی‌های دونات - لندشتاینر^۲ (DL)، عموماً دارای ویژگی P هستند [۹۷-۹۵]. سرم بیماران PCH با گلبول‌های P_1 و P_2 واکنش می‌دهد اما با گلبول‌های P^k یا p واکنش ندارد. آنتی-P DL، همواره IgG است [۸۹]. اغلب آزمایش DL در PCH بسیار ضعیف است و برای حصول یک نتیجه مثبت ممکن است نیاز باشد تا گلبول‌های قرمز قبلاً آغشته به پاپاین شده [۹۴ و ۹۸] یا سرم اسیدی شود [۹۹]. در مواردی بسیار نادر، ویژگی آنتی‌بادی‌های DL ممکن است آنتی-I، آنتی-i، آنتی-Pr [۹۸] و یا «آنتی-p» باشد [۸۳ و ۱۰۰] (بخش ۴-۱۰-۱). موارد معدودی از کم خونی همولیتیک اتوایمیون (از جمله یکی با فرجام کشنده)، ناشی از آنتی-P تک فازی IgG که بین دماهای ۲۰ و ۳۲ درجه سانتیگراد باعث همولیز می‌گردد، بودند [۱۰۳-۱۰۱]. اتوآنتی بادی‌های P که فقط در محلول دارای قدرت یونی کم^۳ (LISS) در دمای اتاق شناسایی شدند، واکنش مثبت DL دو فازی ایجاد نمودند [۱۰۴ و ۱۰۵].

1- Paroxysmal Cold Hemoglobinuria

2 - Donath- Landsteiner

3 - Low Ionic Strength Solution

۴-۲-۵-۳ آنتی P - مونوکلونال

یک آنتی بادی مونوکلونال موشی (MC631)، که علیه رویان موش ایجاد شده بود، نوعی آنتی ژن رویانی ویژه مرحله تکاملی موش^۱ به نام SSEA-3 را که مرتبط با گلوبوزید بود شنا سایی نمود [۸۵]. MC631 توسط تری ساکارید انتهایی گلوبوزید ($\text{GalNAc}\beta 1 \text{ g } 3 \text{Gal}\alpha 1 \text{ g } 4 \text{Gal}$) مهار شد و با گلبول‌های قرمز P_1 و P_2 ، اما نه با گلبول‌های P^k یا p ، واکنش داد [۳۱ و ۳۶].

یک آنتی P - مونوکلونال موشی از نوع IgM، که با گلوبوزید تخلیص شده وارد واکنش می‌شد، یک آگلوتینین سرد نسبتاً ضعیف اما همولیزینی قوی بود [۸۴ و ۸۸]. آنتی بادی مونوکلونال موشی دیگر، که علیه یک ایمونوژن اشتریشیاکولی ساخته شده بود، از لحاظ سرولوژیک مثل آنتی-P عمل کرد اما بطور کامل توسط جاذب ایمنی ویژه T ($\text{Gal}\beta 1 \text{ g } 3 \text{GalNAc-R}$) مهار گردید [۳۲ و ۸۸].

۴-۲-۵-۴ لکترین‌ها

عصاره‌های حاصل از تخم ماهی‌های سالمون، قزل آلا و شاه ماهی با گلبول‌های قرمزی که دارای آنتی ژن P^k ، P_1 یا P باشند واکنش می‌دهند، اما گلبول‌های O یا A را آگلوتینه نمی‌کنند [۲۳، ۱۰۶ و ۱۰۷]. این ویژگی‌ها قابل تفکیک نیستند، لذا این عصاره‌ها معرف‌های مفیدی نمی‌باشند.

۴-۶ فنوتیپ P^k ، آنتی ژن P^k و آنتی - P^k ۴-۶-۱ فنوتیپ P^k

شناسایی فنوتیپ نادر دیگری به نام P^k ، بر گستردگی و پیچیدگی گروه‌های خونی P افزود. ماتسون و همکاران^۱ [۳] یک آگلوتینین شبیه آنتی - Tj^a را در سرم زنی که گلبول‌های قرمز با سرم افراد P واکنش می‌داد، مورد بررسی قرار دادند. آزمایشات جذب نشان دادند که این واکنش حاصل یک آنتی بادی سومی در سرم افراد P بود که آن را آنتی - P^k نامیدند. آنتی ژن P^k گلبول قرمز از جهتی جالب توجه بود، زیرا بر خلاف اکثر آنتی ژن‌های دیگر گلبول قرمز به نظر نمی‌رسید به شیوه‌ای غالب به ارث برسد.

گلبول‌های قرمز تمامی افراد P^k ، P^k را بیان نموده و فاقد P هستند. تجلی P^k در سطح گلبول‌های افراد P^k به صورت یکنواخت صرفنظر از P_1 یا P_2 بودن قوی است، نوسان در قدرت آنتی ژن P_1 مشابه افراد P^+ است. تمامی افراد P^k در سرم خود دارای آنتی - P «با ظهور طبیعی» هستند که به طور یکسان با گلبول‌های P_1 و P_2 واکنش قوی می‌دهد (بخش ۴-۵-۲). سرم‌های بیشتر افراد P^k بطور ضعیف با گلبول‌های P واکنش می‌دهند [۱۰۸ و ۸۸]، مشاهده‌ای غیره منتظره که تاکنون (علت آن) توضیح داده نشده است.

۴-۶-۲ فراوانی و توارث فنوتیپ P^k

تمامی افراد مورد مطالعه P^k به واسطه آنتی - P در سرمشان محقق شده‌اند. علیرغم آزمایش روی ۲۸۶۷۷ اهدا کننده فنلاندی و ۳۹۹۳۹ اهدا کننده انگلیسی، هیچ مورد P^k گزارش نشده است [۴۸]. این حاکی از این است که P^k حتی نادرتر از p است. P^k ظاهراً در فنلاند و ژاپن شایع‌تر است. گلبول‌های قرمز والدین افراد مورد مطالعه P^k توسط آنتی - P^k ، که از طریق جذب گلبول‌های P_1 از آنتی - PP_1P^k جدا شده است، آگلوتینه نمی‌شود که این حاکی از توارث مغلوب برای فنوتیپ P^k می‌باشد. در مطالعات خانوادگی، ۳۳ فرد مورد مطالعه P^k دارای ۲۱ فرزند P^k و ۵۶ فرزند غیر P^k بودند، این مشاهده با خصوصیات یک صفت مغلوب توافق خوبی دارد [۱۰۹، ۴۸ و ۱۱۰]، ارتباطات شخصی از سوی بسیاری از همکاران [۱]. والدین حداقل هفت نفر از افراد مورد مطالعه همخون بودند. فنوتیپ P^k از یک شیوه توارث مغلوب تبعیت می‌کند زیرا P^k پیش ساز آنتی ژن P است و با روش‌های سرولوژیک قراردادی فقط در سطح گلبول‌های قرمز افرادی که برای ژن مسئول گلوبوزید (P) ستاز غیر فعال هموزیگوت هستند شناسایی می‌گردد (بخش ۴-۳ و شکل ۴-۱).

توزیع طبیعی فنوتیپ‌های $P_1:P_2$ در مورد فرزندان افراد مورد مطالعه P^k نشان داده بود که یک ژن مغلوب در لوکوس P_1 غیر محتمل است که مسئول بیان P^k در سطح گلبول‌های قرمز باشد، هر گونه

احتمالی از وجود یک ژن مغلوب در لوکوس $P1$ توسط خانواده‌ای که در آن یک مادر P_1^k و پدر P_2 ، دارای یک فرزند P_1 و سه فرزند P_2 بودند حذف شد [۸۸].

۴-۶-۳ آنتی ژن P^k (CD77)

در ابتدا گمان می‌رفت که گلبول قرمز تمامی افراد غیر از آن‌هایی که فنوتیپ نادر P^k دارند، فاقد آنتی ژن P^k می‌باشند. گلبول‌های قرمز والدین و بچه‌های افراد مورد مطالعه P^k توسط آنتی - P^k (که از طریق جذب با گلبول‌های P_1 ، از آنتی - $P1P^k$ جدا شده بود) آگلوتینه نشدند و آزمایشات جذب ظاهراً این فقدان P^k را تایید نمودند. کورتکانگاس و همکاران^۱ [۱۱۱] سرم آنتی - $P1P^k$ را با گلبول‌های قرمز هر کدام از هیجده عضو خانواده دومین فرد مورد مطالعه P^k جذب نمودند. قدرت آنتی - P^k که پس از جذب با گلبول‌های والدین (که هر دو P_1 بودند) باقی ماند، مشابه قدرت آنتی - P^k باقی مانده به دنبال جذب با گلبول‌های دیگر اعضای P_1 بود.

در هر حال، P^k یک آنتی ژن عمومی است نه یک آنتی ژن اختصاصی (آنچنانکه در ابتدا گمان می‌رفت). فلوس و همکاران^۲ [۱۱۲] به این مشاهده تعجب آور دست یافتند که P^k در سطح فیروبلست‌های تمامی افراد P_1 و P_2 وجود دارد و فقط گلبول‌های قرمز افراد p فاقد آن هستند. نایکی و مارکوس^۳ [۷] نشان دادند که سرمی تری هگروزی (Gb3)، یک جزء گلیکولیپیدی شایع در غشاء گلبول‌های قرمز، آنتی - P^k را مهار می‌سازد (بخش ۳-۴). نایکی و کاتو^۴ [۱۱۳] اعتقاد داشتند که P^k روی گلبول‌های قرمز P_1 و P_2 بروز می‌یابد و یک آنتی ژن مخفی نیست زیرا آنتی - $P1P^k$ که با افزودن گلوبزید به آنتی - $P1P^k$ (جهت مهار کردن آنتی - P) ساخته شده بود، گلبول‌های P_2 را مهار نمود. آنان اظهار داشتند که این بروز P^k در سطح گلبول‌های P_2 قبلاً ثابت نشده بود زیرا معرف‌های آنتی - P^k سابقاً به واسطه جذب آنتی - $PP1P^k$ با گلبول‌های P_1 که حاوی Gb3 می‌باشند، تهیه شده بودند. آنتی - P^k مونوکلونال که نوعی آنتی بادی با عیار بالاست بصورت ضعیف با گلبول‌های P_1 و P_2 واکنش می‌دهد [Tursz, J. Wiels, J-P. Carton, M. Felloous]. که این خود تاییدی است بر اینکه P^k در سطح گلبول‌های $P+$ وجود دارد. توضیح احتمالی که می‌توان بر بیان ضعیف P^k روی گلبول‌های P_1 و P_2 ارائه داد، تبدیل ناقص Gb3 به گلوبزید (P) می‌باشد.

1 - Kortekangas

2 - Fellous *et al.*

3 - Naiki and Markos

4 - Naiki and Kato

در گلبول‌های قرمز افراد P_1 LKE- و P_2 LKE- تجلی آنتی ژن P^k قوی‌تر از گلبول‌های قرمز افراد دارای فنوتیپ‌های شایع P_1 LKE+ و P_2 LKE+، اما ضعیف‌تر از گلبول‌های قرمز با فنوتیپ‌های P_1^k و P_2^k که همیشه - LKE هستند، می باشد [۱۱۴] (بخش ۴-۷).

P^k (که به CD77 نیز معروف است) در سطح لنفوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، پلاکت‌ها، عضله صاف دستگاه گوارشی و سیستم ادراری - تناسلی و در دیگر بافت‌ها شناسایی شده است [۱۱۵]. P^k همچنین در سطح سلول‌های بدخیم و رده‌های سلولی مشتق از آن‌ها نیز بروز می‌یابد [۸۷، ۸۸، ۸۹ و ۱۱۶] و یک مارکر مفید در لنفوم بورکیت است [۱۱۶]. P^k در لنفوسیت‌های B تا حدود زیادی به سلول‌های مرکز زایگر محدود شده است و ممکن است نقشی را در تمایز سلول B به بعد داشته باشد. به نظر می‌رسد اتصال P^k (CD77) به CD19 (یک آنتی ژن محدود به سلول B) و سپس وارد شدن آن‌ها به درون سلول، در آپوپتوز سلول B مراکز زایگر مشارکت داشته باشد [۱۱۷]. شواهدی وجود دارد مبنی بر اینکه P^k در آپوپتوز سلول B با واسطه گیرنده، از طریق تنظیم نمودن فعالیت آنزیم Lyn- کیناز در سلول‌های B ایفای نقش می‌کند و به همین سبب در گزینش منفی سلول‌های B مراکز زایگر شرکت می‌جوید [۱۱۸].

۴-۶-۴ آنتی - P^k

۴-۴-۱ آلو آنتی - P^k

آلو آنتی - P^k به همراه آنتی - P و آنتی - P_1 در سرم افراد p مشاهده می‌شود. این آلو آنتی بادی را همچنین می‌توان از طریق جذب با گلبول‌های P_1 از بعضی از سرم‌های مذکور جدا نمود [۴۸ و ۱۰۸]. این آنتی بادی ها بطور یکسان با گلبول‌های P_1^k و P_2^k واکنش می‌دهند [۴۸ و ۸۸]. واکنش آنتی - P^k بطور کامل توسط مایع کیست هیداتید مهار می‌گردد [۳ و ۱۱۱].

واتکینس و مرگان^۲ [۲۵] ضمن مهار آنتی - P^k با استفاده از مقادیری از مایع کیست هیداتید که از طریق هیدرولیز اسیدی جزئی تهیه شده بود و نیز با استفاده از الیگوساکاریدهای دارای ساختار مشخص، بدین نتیجه رسیدند که آنتی - P^k در مقایسه با آنتی - P_1 اختصاصیت کمتری دارد. آنان مشاهده کردند که دی ساکارید $Gal\alpha 1 \rightarrow 4Gal$ (که از گلیکو پروتئین P_1^k موجود در مایع کیست هیداتید تخلیص شده بود) آنتی - P^k را مهار می‌کند، همانطوری که تری ساکارید P_1 ($Gal\alpha 1 \rightarrow 4Gal\beta 1 \rightarrow 4GlcNAc$) و دیگر الیگو ساکاریدهای حاوی $Gal\alpha 1 \rightarrow 4Gal$ انتهایی نیز قادر به مهار کردن آن بودند. آنتی - P_1P^k ، که به واسطه افزودن گلوبوزید به آنتی - P^k PP_1 جدا سازی شد، بطور کامل توسط گلیکواسفنگولیپید P^k (Gb3) مهار گردید [۱۱۳].

1- Ligation

2 - Watkins and Morgan

۴-۶-۲ اتوآنتی - P^k

چهار مورد از اتوآنتی - P^k ثبت شده است [۴۸]. یکی از آن‌ها در سرم یک زن P_1 مبتلا به کم خونی همولیتیک اتوایمیون^۱ (AIHA) پیدا شد. سه مورد دیگر به دنبال غربالگری سرم بیماران، یکی از ۵۵ بیمار مبتلا به AIHA و دو تا نیز از ۶۰ بیمار مبتلا به سیروز صفراوی، شناسایی شدند.

۴-۶-۳ آنتی - P^k مونوکلونال

یک آنتی بادی مونوکلونال [۱۳ و ۳۸] که در موش علیه یک رده سلول لنفوم بورکیت انسانی (Daudi) ایجاد شده بود [۱۱۶]، گلیکولیپید خنثی Gb3 را شناسایی می‌نمود [۲۸]. آزمایشات بعمل آمده در مقابل گلبول‌های قرمز، ویژگی آنتی - P^k مورد انتظار را محرز ساخت: آنتی بادی در عیارهای خیلی بالا گلبول‌های P_1^k و P_2^k را آگلوتینه نمود، با گلبول‌های P_1 و P_2 مجاور شده با پاپایین واکنش خیلی ضعیف داد و با گلبول‌های p واکنشی نشان نداد. دیگر انواع آنتی - P^k مونوکلونال حاصل مصون سازی موش‌ها با گلیکو پروتئین‌های صناعی حاوی تری ساکارید P^k (Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal β 1 $\rightarrow$ 4Glc) [۱۹]، با Gb3 جدا شده از گلبول‌های قرمز خوک [۱۱۹] و یا با یک رده سلولی کارسینومهای سلول پوششی سنگفرشی مری [۱۱۵] می‌باشند. نوعی آنتی - P^k مونوکلونال (OSK7) در یک کارگاه بین المللی مورد بررسی قرار گرفت [۸۱].

۴-۷ LKE و آنتی - LKE

داستان مربوط به P در سال ۱۹۶۵ توسط تیبت و همکاران^۲ [۴] پیچیده‌تر شد یعنی زمانی که آنان یک سیستم آگلوتینه کننده به نام Luke را گزارش نمودند. یک آگلوتینین بر علیه آنتی ژن با شیوع بالا در سرم آقای Luke همانند آنتی - P عمل می‌کرد زیرا با گلبول‌های p و P^k واکنش نمی‌داد و بر خلاف آنتی - P قادر به واکنش با گلبول‌های حدود ۲٪ افراد P_1 و P_2 نبود. در سال ۱۹۸۵، نشان داده شد که آنتی بادی مونوکلونال 70-813 که آنتی ژن رویانی ویژه مرحله تکاملی موش (SSEA-4) [۳۱] را مشخص می‌کرد، همان آنتی ژن گلبول قرمز را که توسط آنتی بادی موجود در سرم Luke تشخیص داده می‌شود مورد شناسایی قرار می‌دهد [۳۶]. این آنتی ژن گلبول قرمز علامت LKE گرفت [۳۶].

SSEA-4 بعنوان تری ساکارید انتهایی یک گانگلیوزید منحصر بفرد سری گلوبوزید NeuAca2 g 3Gal β 1 g 2GalNAc، شناسایی شده بود [۳۱]. این ساختار معادل افزایش دو قند، گالاکتوز

1 - autoimmune hemolytic anemia

2 - Tippett et al.

و اسید سیالیک، به گلوبوزید می‌باشد و بر همین اساس اختصاصیت سرولوژیکی آنتی - LKE را توضیح می‌دهد.

۴-۷-۱ فراوانی و توارث LKE

فراوانی فنوتیپ LKE- در آزمایشات انجام شده با سرم Luke اصلی حدود ۲٪ بود [۴]. مجموعاً ۹۵۰ اهدا کننده انگلیسی با استفاده از 70-813 مورد آزمایش قرار گرفتند و فراوانی‌های فنوتیپی ۹۸/۸۴٪ برای LKE+ و ۱/۱۶٪ برای LKE- حاصل شدند [۳۶]. با استفاده از این ارقام، فراوانی‌های ژنی و فنوتیپی زیر محاسبه شدند:

LKE+ :	۰/۸۹۲۳	LKE+/LKE+ :	۰/۷۹۶۲
LKE- :	۰/۱۰۷۷	LKE+/LKE- :	۰/۱۹۲۲
		LKE-/LKE- :	۰/۰۱۱۶

با اعمال این فراوانی‌ها به ۴۵۴ اهدا کننده که با سرم Luke آزمایش شدند [۴]، ارقام مشاهده شده ۴۴۵ مورد LKE+ و نه مورد LKE-، اختلاف معنی داری با ارقام مورد انتظار نداشت. فقط چهار نفر-LKE در میان ۲۴۰۰ اهدا کننده اسکاتلندی یافت شدند [۱۲۰] که شیوع LKE- با این وصف ۰/۰۰۱۷، یعنی خیلی پایین‌تر از فراوانی آن در انگلستان بود.

افراد LKE- در جمعیت‌های متعددی مشاهده شده‌اند: سیاهپوست، انگلیسی، ایتالیایی، فرانسوی، اسکاتلندی، الجزایری، یهودی و ترکیه‌ای. ظاهراً LKE بصورت یک صفت غالب مندلی به ارث می‌رسد. اطلاعات به دست آمده از مطالعات خانوادگی، با الگوی توارث غالب توافق دارد اما به حدی کم و محدود است که قطعیت آن مشکل می‌باشد. LKE توسط جایگاه‌های مربوط به P1, MNS, Rh, Lu, Kell, Fy, Xg یا سکر تور کنترل نمی‌گردد.

۴-۷-۲ نوسان در قدرت آنتی ژنی LKE

نوسان در قدرت واکنش گلوبول‌های LKE+، با سرم Luke مشاهده شد [۴]. واکنش‌ها به صورت LKEw, LKE+ و LKE- طبقه بندی شدند. در P2 شایع‌تر از P1 و نیز در A1B و A1 شایع‌تر از B و A2, O, A2B و B بود. نوسان در قدرت گلوبول‌های LKE+ همچنین با آنتی بادی مونوکلونال 70-813 مشاهده شد، اما در مورد P1 یا A1 تاثیری محرز نشد [۳۶]. با بکارگیری آنتی بادی مونوکلونال، LKEw در گروه‌های B و AB شایع‌تر از گروه‌های A1, A2 و O بود.

این یافته‌ها حکایت از این دارد که LKEw، که در سال ۱۹۶۵ توسط سرم Luke مشخص شده بود، با LKEw شناسایی شده توسط 70-813 در سال ۱۹۸۵ تفاوت دارد. جای تاسف بود که امکان آزمایش این دو آنتی بادی به صورت همزمان وجود نداشت. آنتی - LKE انسانی دوم هیچ نوع تاثیری از ناحیه گروه‌های P₁ یا ABO بر قدرت واکنش‌های LKE+ را نشان نداد.

۳-۷-۴ تکامل و توزیع

نمونه‌های گلبول قرمز بند ناف به خوبی با آنتی - LKE واکنش می‌دهند [۳۶ و ۱۲۰]. آنتی ژن LKE به صورت غیر فعال از مادر کسب نمی‌گردد، بچه یک مادر LKE-، P^kLKE+ بود [۳۶] و همینطور بچه یک مادر P₁LKE- [۱۲۰]. آنتی بادی مونوکلونال 70-813 نوعی آنتی ژن رویانی موش (SEA-4) را توصیف می‌کند که در سطح رده‌های سلولی تراتومای انسانی نیز یافت می‌شود [۳۱]. لذا این احتمال ظهور می‌یابد که LKE ممکن است در سطح رویان‌های انسانی متجلی گردد. ساختارهای با فعالیت LKE در گانگلیوزیدهای جدا شده از پلاکت‌ها شناسایی شدند [۱۲۱].

۴-۷-۴ دخالت دیگر آنتی ژن‌های P

افراد LKE- ممکن است P₁ یا P₂ باشند. قدرت P₁ در سطح گلبول‌های LKE- P₁ بسته به آلل P₁⁺ کنترل کننده آن، ممکن است خیلی قوی یا خیلی ضعیف باشد [۴]. آزمایش همزمان با آنتی - P مربوط به افراد P^k و با آنتی - P مونوکلونال نشان داد که قدرت P در سطح گلبول‌های LKE- مشابه قدرت آن در سطح گلبول‌های LKE+ می‌باشد [۴]. P^k در سطح گلبول‌های قرمز LKE- P⁺، قوی‌تر از گلبول‌های قرمز LKE+ P⁺ بروز می‌یابد [۱۱۴]. گلبول‌های قرمز LKE- P₁، بر خلاف گلبول‌های P₁^k و P₂^k که P^k را به طور یکسان قوی بیان می‌کنند، آنتی ژن P^k را قوی‌تر از گلبول‌های قرمز LKE- P₂ بروز می‌دهند [۱۲۰].

۵-۷-۴ آنتی - LKE

چهار مورد از آلوانتی LKE- انسانی شناخته شده‌اند، اولین مورد آن در سرم یک مریض سیاهپوست با تومور لنفومایی [۴] که هرگز خون دریافت نکرده بود مشاهده شد. آنتی بادی یک آگلوتینین بود، قدرت واکنش به واسطه انکوباسیون در درجه حرارت پایین و نیز به دنبال اثر دهی آنزیم (تریپسین، پاپائین، یا فیسین) بر گلبول‌های قرمز افزایش یافت. سرم Luke در صورت تازه بودن، گلبول‌های قرمز LKE+ مجاور شده با پاپائین را لیز می‌نمود. آگلوتینین توسط بزاق یا مایع کیست هیداتید مهار نشد. چهار مورد دیگر از آلوانتی LKE- شناسایی شده‌اند [۱۲۰ و ۱۲۲] که یکی از آن‌ها به

همراه آنتی - P1 بوده است [۱۲۲]. نوزادان LKE+ از مادران دارای آنتی -LKE هیچ علامتی حاکی از بیماری همولیتیک نوزاد نداشتند [۱۲۰ و ۱۲۲].

۸-۴ فنوتیپ p و آنتی -PP1P^k

در سال ۱۹۵۱، لوین و همکاران^۱ [۱۲۳] یک آنتی بادی را در سرم زنی مبتلا به کارسینوم معده توصیف نمودند که با تمامی گلبول‌های قرمز به استثنای گلبول‌های خود و خواهرش، واکنش می‌داد. این آنتی بادی آنتی - Tj^a ("T") علامت تومور و "z" مربوط به اسم بیمار) نامیده شد. ارتباط Tj^a با گروه خونی P از مشاهده سانگر^۲ [۲] مبنی بر اینکه شش فرد Tj(a-) غیرخویشاوند، P2 بودند، استنتاج گردید. سانگر [۲] پیشنهاد نمود که p, Tj(a-) نامیده شود، وی در مورد این فنوتیپ حالت هموزیگوت برای یک آلل مغلوب در لوکوس P1 مورد توجه قرار داد.

۱-۸-۴ فراوانی و توارث فنوتیپ p

فنوتیپ p بسیار نادر است. ریس و سانگر^۳ [۴۸] فراوانی ژن p را ۰/۰۰۲۴ محاسبه کردند، که با این وجود فراوانی فنوتیپ p به ازاء هر میلیون نفر جمعیت اروپایی الاصل ۵/۸ نفر تعیین گردید. فنوتیپ p در ژاپن شایع‌تر است [۷۳]، اما غربالگری بیش از یک میلیون چینی هنگ کنگی هیچ موردی از p را شناسایی ننمود [۱۲۴]. در منطقه Vasterbotten در شمال سوئد، بدنبال غربالگری ۴۰۱۴۹ اهدا کننده با آنتی - PP1P^k، هشت نفر p شناسایی شد [۱۲۵]. با احتساب مواردی که دارای ارتباط نزدیک خانوادگی بوده‌اند، فراوانی ژنی محاسبه شده p در این بخش از سوئد ۰/۰۱۱۹ و فراوانی فنوتیپ حدود ۱۴۱ در میلیون است. اطلاعات به دست آمده از بسیاری از خانواده‌های دارای افراد مورد مطالعه p، توارث مغلوب p را تأیید می‌کند. فنوتیپ نادر p در دو نسل بعضی از خانواده‌ها گزارش شده است که همگی به شکل جوامع بهم مرتبط (دارای ارتباط ذاتی) و ایزوله‌های کوچک بوده‌اند [۱۲۹-۱۳۲].

۲-۸-۴ ژنتیک مولکولی فنوتیپ p

فنوتیپ p در ارتباط با حالت هموزیگوت برای جهش‌هایی است که Gb3 ستاز را رمزدهی می‌نمایند، این آنزیم مسول تبدیل لاکتوزیل سرامید به P^k (Gb3) می‌باشد [۳۸ و ۳۹] (شکل ۴-۱). در هفت سوئدی با فنوتیپ p، جهش مذکور جایگزینی Met183lys را رمز دهی می‌نمود هر چند که یک مورد p سوئدی نیز دارای جهش کد کننده جایگزینی Gly187Asp بود [۳۸ و ۳۹]. در سه ژاپنی با فنوتیپ

1 - Levine et al.

2 - Sanger

3 - Race and Sanger

p جهش Pro251Leu شناسایی شد، یک ژاپنی دیگر با فنوتیپ p برای جهشی که کدون Trp261 را به یک کدون توقف ترجمه تبدیل کرده بود، هموزیگوت بود [۳۹]. آزمایشات آلوده سازی^۱ نشان داد که تمامی این جهش‌ها به عدم فعالیت آنزیمی یا صرفاً فعالیت محدود آن در شرایط آزمایشگاه منتهی می‌شوند [۳۹]. غیر فعال شدن Gb3 سنتاز علت فقدان P^k و P در افراد با فنوتیپ p را توضیح می‌دهد، اما نه فقدان P1. توضیحات احتمالی در بخش ۴-۳-۳ ارائه شده‌اند.

۴-۳-۸ آنتی بادی‌ها در سرم افراد p

تمامی افراد p در سرم خود آنتی بادی دارند، این آنتی بادی تمامی گلبول‌های قرمز بجز گلبول‌های p را آگلوتینه و یا همولیز می‌کند. سانگر [۲] نشان داد که آنتی - $P1$ یکی از اجزای سرم افراد p است، جذب با گلبول‌های $P2$ جهت برداشتن آنتی - P ، آنتی بادی فعال علیه گلبول‌های $P1$ را بر جای گذاشت. بعدها پی به وجود یک جزء سوم، آنتی - P^k برده شد، بنابراین امروزه آنتی بادی موجود در سرم افراد p، عموماً آنتی - $PP1 P^k$ نامیده می‌شود.

جذب آنتی - $PP1 P^k$ با گلبول‌های $P1^k$ ، آنتی - $P1$ و آنتی - P^k را حذف و آنتی - P را برجای می‌گذارد [۳]، جالب اینکه جذب با گلبول‌های $P2^k$ نیز همین اثر را خواهد داشت [۸۸]. آنتی - P^k اختصاصی صرفاً از بعضی از سرم‌های آنتی - $PP1P^k$ قابل جدا سازی است. تیپ [۱۰۸] سرم ۴۷ فرد با فنوتیپ p را با گلبول‌های $P1$ جذب نمود، اما فقط موفق به جداسازی آنتی - P^k از کمتر از نیمی از سرم‌ها شد و حتی ادامه جذب با گلبول‌های $P1$ روی همین سرم‌ها، آنتی - P^k را حذف یا ضعیف نمود. نایکی و کاتو [۱۱۳] با بهره‌گیری از آزمایشات تثبیت کمپلمان و هماگلوتیناسیون، مهار سازی چهار نوع سرم p با گلیکواسفنگولیپیدهای متعدد را مورد بررسی قرار دادند و بدین نتیجه رسیدند که، متعاقب مهار سازی آنتی - P توسط گلوبوزید، قسمت عمده آنتی بادی باقی مانده آنتی - $P1P^k$ است که دارای واکنش متقاطع می‌باشد. این وضعیت عدم امکان جدا سازی آنتی - $P1$ از آنتی - $PP1P^k$ به واسطه جذب با گلبول‌های $P2^k$ را توضیح می‌دهد. آنتی - $P1P^k$ عمدتاً IgG است [۱۱۳] بر خلاف آنتی - $P1$ در افراد $P2$ که معمولاً IgM است.

کاتو و همکاران^۲ [۱۳۳] با استفاده از روش‌های مشابه دریافتند که قسمت عمده جزء آنتی - P در سرم دو فرد p، IgM است که با آنتی ژن فورسمن واکنش متقاطع می‌دهد، مابقی آن IgG است و برای گلوبوزید اختصاصی است. بخش اعظم آنتی - P^k در این سرم‌ها IgG بود [۱۳۳].

1 - Transfection

2 - Kato et al.

در سرم‌های p با استفاده از رادیوایمونواسی^۱ (RIA)، آنتی بادی‌های IgG و IgA بر علیه ساختارهای کربوهیدراتی P و P¹ و P^k، اما آنتی بادی IgM فقط بر علیه ساختارهای P¹ و P^k شناسایی شدند [۱۳۴]. تمامی سیزده سرم p، بجز یک مورد، حاوی آنتی بادی‌های IgG3 بر علیه الیگو ساکاریدهای P¹, P^k, P بودند، بعضی همچنین حاوی آنتی بادی‌های IgG1 و یا IgG2 بودند اما هیچکدام حاوی IgG4 نبودند [۱۳۴]. علاوه بر این آنتی بادی‌های IgG1 با گلیکواسفنگولپیدهای سری گلوبوزید با فعالیت A و H (نوع ۴ A و نوع ۴ H) اتصال قوی برقرار کردند، که احتمالاً دلیل آن شناسایی توالی‌های داخلی در درون زنجیره کربوهیدراتی بوده است [۱۳۴].

آنتی - PP1P^k قادر به خارج کردن سریع گلبول‌های تزریق شده از جریان خون است، تزریق ۲۵ میلی لیتر از گلبول‌های قرمز ناسازگار به شخص p اولیه منجر به یک واکنش همولیتیک شدید گردید [۱۲۳]. آنتی - PP1P^k بعنوان یکی از دلایل بالقوه سقط زودرس و HDN در بخش ۴-۱۲ بحث خواهد شد.

۴-۸-۴ فنوتیپ p و سرطان

فنوتیپ p اولیه در زنی با کارسینوم معده شناسایی گردید [۱۲۳]. وی با برداشتن بخشی از معده^۲ درمان شد که یک موفقیت کامل بود و در طی ۲۲ سال تا زمان مرگ او به دلایل غیر مرتبط (با کانسر)، هیچ گونه شاهدی دال بر عود یا متاستاز تومور وجود نداشت [۱۳۵]. بر خلاف گلبول‌های قرمز، سلولهای توموری آنتی ژن‌های سیستم P را بروز داده بودند [۱۳۶]، این مشاهده لوین^۳ [۱۳۵] را بر آن داشت تا نظریه خود مبنی بر آنتی ژن‌های «غیر مجاز» یعنی آنتی ژن‌هایی که بر خلاف تشکیلات ژنتیکی بیمار، در سطح تومورها حضور دارند، را پیشنهاد نماید. بعلاوه لوین اظهار داشت که آنتی - PP1P^k موجود در بیمار فوق از رشد بیشتر تومور جلوگیری نموده است.

۴-۹-۴ پاره‌ای از فنوتیپ‌های غیر معمول

حضور غیر منتظره یک آنتی - PP1P^k در سرم یک بیمار P₂ (به نام H.O.)، آغازگر بررسی دقیقتر گلبول‌های بیمار با آنتی سرم‌های P شد [۴۸]. گلبول‌های O.H. - P^k-LKE - P¹ بودند، با این حال با تمامی نه نمونه آنتی - P از اهداکنندگان P^k واکنش می‌دادند، اما فقط با هشت مورد از دوازده نمونه آنتی - PP1P^k مربوط به اهداکنندگان p واکنش دادند و آنتی - P مربوط به یک بیمار PCH واکنشی نشان نداد. آنتی بادی مربوط به O.H.، که یک اتو آنتی بادی نبود و با گلبول‌های P₁، P₂ و P^k واکنش

1 - radioimmuno assay

2 - subtotal gastrectomy

3 - Levine

قوی نشان داد، با هیچکدام از شانزده نمونه p واکنشی نشان نداد. فنوتیپی مشابه در یک بیمار که آنتی - $IP1$ و آنتی - IP (بخش ۴-۱۰-۲) ساخته بود مشاهده شد [۱۳۷]. گلبول‌های بیمار، $P1-P^k$ بودند و آنتی ژن P را ضعیف‌تر از گلبول‌های کنترل P_2 عرضه می‌کردند. فنوتیپ I وی نیز غیر عادی بود، I^F طبیعی بود، I^D ضعیف شده بود و i تقویت شده بود (به فصل ۲۵ مراجعه شود). گلبول‌های P_2 یک فرد مورد مطالعه چینی، آنتی ژن P را در حد بسیار پایینی بیان کرده بودند و واکنش ضعیفی با آنتی - $PP1P^k$ داشتند [۱۳۸]. سرم وی فاقد یک آنتی بادی وابسته به P بود. محتوی گلوبوزید و $Gb3$ گلبول‌های قرمز به ترتیب کمتر از ۲۵٪ و ۳۰-۴۰٪ میزان طبیعی بود. کوندو و همکاران^۱ [۱۳۸] معتقد بودند که این فنوتیپ P «جدید» می‌تواند حالت هموزیگوت برای یک آلل معیوب P^k را منعکس سازد و یا ناشی از ژنی در جایگاهی دیگر باشد که بروز طبیعی ژن P^k را مهار می‌نماید.

یک آگلوتینین، که به صورت قوی با گلبول‌های P_1 و P_2 و بصورت ضعیف با گلبول‌های p واکنش می‌داد، یک فنوتیپ P^k غیر عادی را محرز نمود [۱۳۹]. گلبول‌های قرمز $P1+P^k+P-$ بودند، اما تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی بر روی غشاء گلبول‌های قرمز نشان داد که میزان گلوبوزید فقط ۵۰٪ طبیعی و میزان $Gb3$ حدود ۴-۶ برابر میزان طبیعی است. فنوتیپ سرولوژیک مشابه افراد $P1-LKE-$ بود، اما گلبول‌ها با آنتی - LKE مورد آزمایش قرار نگرفتند. آنتی بادی شبیه P بود (اما نه شبیه آنتی - LKE) زیرا توسط گلوبوزید مهار می‌شد و با گلبول‌های p واکنش ضعیف داشت.

۴-۱۰ دیگر آنتی بادی‌های P

۴-۱۰-۱ آنتی - p

سه آلو آنتی بادی توصیف شده‌اند که با گلبول‌های p واکنش قوی نشان می‌دهند اما با گلبول‌های P_1 ، P_2 و P^k یا بطور ضعیف واکنش می‌دهند و یا اصلاً واکنش نمی‌دهند [۸۳، ۲۱ و ۱۰۰]. هر سه این آنتی بادی‌ها از لحاظ خصوصیات سرولوژیک اندکی با هم تفاوت دارند. یکی از آنتی بادی‌ها (Fol) [۲۱] یک آگلوتینین و همولیزین دو مرحله‌ای بود، که با گلبول‌های p واکنش قوی، با گلبول‌های P_2 و P_2^k واکنشی با شدت کمتر و با گلبول‌های $P1$ و $P1^k$ واکنشی با قدرت بسیار کمتر نشان می‌داد. آنتی ژنی از گلبول‌های قرمز که توسط آنتی بادی Fol شناسایی می‌شد، به واسطه اثر دادن سیالیداز تخریب شد و بعنوان یک سیالوزیل پاراگلوبوزید شناسایی گردید [۲۲] (جدول ۴-۲). شوارتینگ و همکاران^۲ [۲۲] اظهار داشتند که گلبول‌های قرمز p پاراگلوبوزید و لاکتوزیل سرامید را که به منظور سیالیه شدن در دسترس می‌باشند، درخود انباشته می‌کنند. آگلوتینین‌های آنتی - Gd که با آنتی ژن‌های وابسته به اسید

1 - Kundu et al.

2 - Schwarting et al.

سیالیک واکنش می‌دهند دارای یک ویژگی نیستند، اگر چه یک نمونه آنتی - Gd گرایش اندکی برای گلبول‌های p نشان داد [۱۴۰]. آنتی - Gd به همراه دیگر آگلوتینین‌های سرد در فصل ۲۵ بحث خواهد شد. مارکوس و همکاران^۱ [۸] دو گلیکولیپید با سیالوزیل پاراگوبوزید انتهایی را ذکر می‌نمایند که هم Fol و هم آنتی - Gd را مهار می‌سازند. یک آنتی بادی مونوکلونال موشی (BIRMA -2G4) واکنش‌های خیلی مشابهی با آنتی بادی Fol به نمایش گذاشت، اما واکنش قوی‌تر را با گلبول‌های p مجاور شده با سیالیداز نشان می‌داد [۱۴۱].

۴-۱۰-۲ آنتی - $dP1$ آنتی - $d^T P1$ آنتی - $I^T P$ و آنتی - IP

ایسیت و همکاران^۲ [۱۴۲] چهار آنتی بادی به نام آنتی - $IP1$ را توصیف نمودند که همانند آنتی - $P1$ عمل می‌کردند، بجز اینکه با گلبول‌های $P1$ بند ناف و یا گلبول‌های i بالغین $P1$ واکنشی نداشتند. بوت^۳ [۱۴۳] یک آنتی بادی را در یک ملانزیایی بعنوان آنتی - $I^T P1$ شناسایی نمود. آنتی - $I^T P$ دو فاز^۴ (دوحرارتی)، که در یک غیر ملانزیایی شناسایی شد، مشابه آنتی - I^T عمل می‌کرد، بجز اینکه قادر به آگلوتینه نمودن گلبول‌های p نبود [۱۴۴]. آنتی - IP به همراه آنتی - $IP1$ در بیماری با آنتی ژن‌های غیر معمول P و I شناسایی گردید [۱۳۷] (به بخش ۴-۹ مراجعه شود).

۴-۱۱-۱ آنتی ژن‌های P بعنوان گیرندهایی برای میکروارگانیزم‌های بیماریزا

۴-۱۱-۱-۱ باکتری‌های بیماریزا و سموم آن‌ها

اشریشیاکولی مسئول اکثر عفونت‌های راجعه مجرای ادراری است. این باکتری قبل از اینکه به سلول‌های پوششی مجرای ادراری حمله کند به آن‌ها می‌چسبد. این چسبندگی به واسطه ساختارهای شبیه لکتین به نام پروتئین چسبنده^۵ (آدهسین)، که توسط ژن‌های pap رمزدهی شده و روی رشته‌های P سطح باکتری مستقر شده‌اند، حاصل می‌گردد. ایزوله‌های اشریشیاکولی که آدهسین‌های کد شده توسط pap را بروز می‌دهند به گلیکوکانژوگه‌های سری گلوبوزید حاوی دی ساکارید $Gal\alpha1\rightarrow4Gal$ از جمله P^k ، $P1$ ، P ، LKE (سیالوزیل گالاتوزیل گلوبوزید^۶ SGG)، دی سالوزیل گالاتوزیل گلوبوزید^۸

1 - Marcus *et al.*

2 - Issit *et al.*

3 - Booth

4 - Bithermal

5 - adhesin

6 - P fimbriae

7 - Sialosyl Galactosyl Globoside

8 - Disialosyl Galactosyl Globoside

(DSGG) و globo-A (نوع ۴ A)، پیوند می‌یابند (جدول ۴-۲) (بازنگری در منابع [۱۴۵] و [۱۴۶]). گلبول‌های قرمز فنوتیپ p توسط رشته‌های اشیریشیاکولی پیلونفریتوزنیک آگلوتینه نمی‌شد و این باکتری‌ها در اتصال به سلول‌های پوششی مجاری ادراری افراد p دچار مشکل می‌شوند [۱۴۷]. بنابراین امکان دارد که زنان دارای فنوتیپ p مقاومت بالایی در برابر عفونت مجرای ادراری و پیلونفریت داشته باشند. مطالعات جمعیتی متعددی ضمن بررسی تاثیر فنوتیپ P_1 بر عفونت‌های مجرای ادراری نتایج متناقضی حاصل نموده‌اند [۱۴۶]. فنوتیپ غیرسکرتور ABH نیز ممکن است در ارتباط با افزایش ظهور عفونت‌های راجعه مجرای ادراری باشد. اگر چه این مطلب از سوی تمامی مطالعات جمعیتی حمایت نشده است [۱۴۶]. استاپلتون و همکاران^۱ [۱۴۸] دریافتند که سلول‌های پوششی مجرای ادراری زنان غیرسکرتور در مقایسه با زنان سکرتور، افزایش چسبندگی به اشیریشیاکولی اوروپاتوزنیک نشان می‌دهند. اشیریشیاکولی R45 به SGG (آنتی ژن LKE) و شکل دی سیالید این آنتی ژن (DSGG) پیوند یافت. این ساختارها بصورت انتخابی توسط سلول‌های پوششی غیر سکرتورها بیان می‌شوند، که علت آن احتمالاً سیالیه شدن پیشساز گالاکتوزیل گلوبوزید، که در سکرتورها به globo-H (نوع ۴ H) فوکوزیله می‌گردد، می‌باشد [۱۴۸]. بعضی از سوش‌های اشیریشیاکولی انتروهمورائیک، انتروتوکسین‌هایی به نام وروتوکسین تولید می‌کنند که بسیار شبیه سم Shiga که توسط شیگلا دیزانتری تولید می‌گردد، می‌باشند. این وروتوکسین‌ها در ارتباط با بیماری اسهالی و دیگر بیماری‌ها از جمله سندرم همولیتیک اورمیک^۲ (HUS) می‌باشند [۱۴۹]. دی ساکاریدهای Gal α 1 g4Gal انتهایی در سطح آنتی ژن‌های P_1 و P^k لیگاندهایی برای وروتوکسین محسوب می‌شوند [۱۴۹]. سلول‌های تخمدان هامسترچینی که Gb3 (P^k) را بروز نمی‌دهند و در مقابل وروتوکسین شیگا مقاوم هستند، متعاقب آلوده سازی با cDNA مربوط به Gb3 سنتاز، نسبت به این سم حساس می‌شوند [۴۰]. یک متا-آنالیز از پنج مطالعه جداگانه قادر به اثبات هر گونه تاثیر محافظت کننده فنوتیپ P_1 روی سندرم همولیتیک اورمیک نبود [۱۵۰]. وروتوکسین ممکن است آپوپتوز را در سلول‌های لنفوم بورکیت از طریق پیوند با P^k (CD77) القاء نماید [۱۵۱] (به بخش ۴-۶-۳ مراجعه شود).

استرپتوکوکوس سوئیس، یک بیماری زای مهم در خوک‌ها و عامل مننژیت در انسان‌ها، به تری ساکارید P^k ، Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal β 1 $\rightarrow$ 4Glc، اتصال می‌یابد، گر چه Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal β 1 $\rightarrow$ 4GlcNac (P_1) نیز توسط پروتئین چسبنده (آدهسین) شناسایی می‌گردد [۱۵۲]. باکتری استرپتوکوک سوئیس گلبول‌های P_1^k و P_2^k را موثرتر و کارآمدتر از گلبول‌های P_1 و P_2 آگلوتینه می‌نماید اما این اثر آن روی گلبول‌های p مشاهده نمی‌شود [۱۵۲].

1 – Stapleton *et al.*

2 – Hemolytic Uremic Syndrome

۴-۱۱-۲ ویروس‌ها

آنتی ژن P (گلوبوزید) یک گیرنده سلولی برای پاروو ویروس^۱ B19 است [۱۵۳]. پاروو ویروس B19 یک عامل بیماری زای انسانی است که تمایل شدیدی به مغز استخوان دارد و درون سلول‌های پیشساز اریتروئیدی، تنها سلول‌های هسته داری که آنتی ژن P را بروز می‌دهند، تکثیر می‌یابد. پاروو ویروس B19 عامل بیماری پنجم^۲، یک بیماری شایع دوران بچگی، و گاهی اوقات اختلالات شدیدتر اریتروپوئز بویژه در بیمارانی که سیستم ایمنی تضعیف شده دارند، می‌باشد [۱۵۴]. کپسیدهای خالی ویروس B19 گلبول‌های قرمز P_1 و P_2 ، اما نه P^k یا p ، را آگلوتینه می‌کنند. اثر سیتوتوکسیک پاروو ویروس B19 بر تشکیل کلونی اریتروئیدی در کشت از طریق حساس نمودن سلول‌ها با آنتی - P مونوکلونال (اما نه با آنتی - P_1 یا آنتی - P^k) مهار می‌گردد، زمانی که سلول‌ها مشتق از یک مغزاستخوان p هستند هیچ نوع سیتوتوکسیسته مشاهده نمی‌شود [۱۵۳ و ۱۵۵]. رنگ آمیزی ایمونولوژیک دوگانه سلول‌های مشتق از مغز استخوان آلوده به B19 نشان داد که فقط سلول‌هایی که بیان کننده آنتی ژن P هستند، آنتی ژن B19 را نیز بروز می‌دهند [۱۵۶]. افرادی که فنوتیپ p دارند به نظر می‌رسد بطور طبیعی در برابر عفونت پاروو ویروس B19 مقاوم باشند [۱۵۵]. شواهدی دال بر این وجود دارد که $Gb3 (P^k)$ ممکن است بعنوان یک کوفاکتور الحاقی در ورود ویروس نقص ایمنی اکتسابی انسانی نوع ۱ (HIV-1) بدرون سلول ایفای نقش نماید [۱۵۷ و ۱۵۸].

۴-۱۲ ارتباط آنتی بادی‌های P با سقط جنین زودرس

میزان بروز سقط خودبخودی عاداتی در زنانی که فنوتیپ p دارند، بصورت معنی داری بالاتر از زنان در جمعیت طبیعی است. بسیاری از زنانی که دارای فنوتیپ p هستند بواسطه سقط عاداتی شناسایی شده‌اند، گرچه زنان p دیگر دارای چندین بچه زنده می‌باشند. سقط‌ها بطور مشخص در سه ماهه اول اتفاق می‌افتند، رویان‌هایی که در این دوره بحرانی زنده بمانند معمولاً به نوزادانی سالم رشد و تکامل می‌یابند. اکثر کودکان P_1 و P_2 از مادران p هیچ نوع علامتی از بیماری همولیتیک نوزاد ندارند [۱۳۱ و ۱۵۹]، گرچه گزارشات معدودی از بیماری همولیتیک خفیف نوزاد وجود دارد [۱۲۶ و ۱۶۰]. اینک آنتی - $PP1P^k$ در سرم زنان p عامل ایجاد سقط‌هاست تقریباً قطعی شده است [۱۶۱]، اما اینکه کدامیک از این ویژگی‌ها عامل مسبب آن است مشخص نمی‌باشد. بخاطر اینکه P_1 در سطح گلبول‌های قرمز جنین در مراحل اولیه تکامل، قویاً بارز می‌گردد [۵۷]، لوین^۳ [۱۶۲] آنتی - P_1 را آنتی بادی مسبب در نظر گرفت و اظهار داشت که اگر جنین آنتی ژن P_1 پدر را دریافت نماید زنان p بطور منظم سقط

1 - Parvovirus B19

2 - Fifth

3 - Levine

خواهند داشت. سانگر و تپت^۱ [۱۶۳] نیز خاطر نشان نمودند که فرضیه مذکور متقاعد کننده نیست زیرا بعضی از مادران p، دارای بچه‌های P₁ می باشند. بعلاوه نسبت مشاهده شده کودکان P₁:P₂ به نسبت مورد انتظار نزدیک بود.

از آنجایی که P^k بر سطح بافت‌ها و اندام‌های در حال رشد جنین حضور دارد، کاتو و همکاران^۲ [۱۳۳] معتقد بودند که آنتی‌بادی مسبب، آنتی - P^k است. آنان دریافتند که ۷۵٪ آنتی - P^k ها در سرم زنان p، از نوع IgG هستند و نتایج حاصل از روش‌های سنجش سیتوتوکسیسته سلول با واسطه آنتی بادی (ADCC)^۳ شواهد بیشتر مبنی بر مسئول بودن آنتی - P^k را فراهم نمود [۹۰].

روش‌های ایمونولوژیک مبتنی بر رادیو اکتیو و آنزیم نشان دادند که سرم‌های تقریباً تمامی افراد p حاوی آنتی بادی‌های IgG3 بر علیه الگوساکاریدها و گلیکواسفنگولیپیدهای P، P₁، P^k می‌باشند [۹۲ و ۱۳۴] و می‌دانیم که IgG3 قادر به عبور از جفت نیز می‌باشد.

اجزاء گلیکواسفنگولیپیدی تهیه شده از جنین‌های دوازده و هفده هفته‌ای که حاصل سقط‌های خودبخودی از سوی دو زن p بودند، صرفاً حاوی مقادیر بسیار کم آنتی ژن‌های P و P^k بودند، حال آنکه اجزاء تهیه شده از جفت فعالیت P و P^k بالایی داشتند [۱۶۴]. آنتی بادی‌های IgG3 موجود در سرم یکی از مادران p اتصال قوی با گلیکولیپیدهای جفت، اما نه جنین، برقرار نمود. بنابراین هدف اولیه آنتی بادی‌ها در مادران p که متحمل سقط شده‌اند، جفت است نه جنین [۱۶۴].

در ابتدا به نظر نمی‌رسید که آنتی - P باعث سقط زودرس در زنان P^k شود. بچه‌هایی که از مادران P^k متولد شده بودند بر اساس گزارشات هیچ علامتی از بیماری همولیتیک نوزاد نداشتند و یا فقط مبتلا به بیماری همولیتیک نوزاد خفیف می‌شدند [۱۰۹ و ۱۳۱]. در یک زن ژاپنی P₂^k و یک زن کویتی P₁^k، که به ترتیب متحمل چهار و سیزده مورد سقط زودرس شده بودند، آنتی - P بعنوان آنتی بادی مسئول سقط شناسایی گردید [۹۱ و ۱۶۵]. هیچکدام از آن‌ها بچه زنده نداشتند، اما یک روش پلاسما فرز درمانی که در هفته پنجم یا ششم حاملگی شروع شد، در هر دو با تولد یک نوزاد زنده همراه بود. هیچکدام از دو کودک نیاز به درمانی غیر از نور درمانی نداشت. آنتی بادی‌های IgM، IgG (عمدتاً IgG3 و IgA، که به شدت با گلوبوزید (آنتی ژن P) جدا شده از جفت واکنش می‌دادند [۹۳]، در سرم زن کویتی وجود داشتند [۹۳]. درمورد زن ژاپنی، بعد از خارج کردن آنتی - P از طریق جذب با گلیوهای قرمز اهدا کننده در شرایط خارج از بدن^۴، پلاسمای خودی به مادر برگردانده شد [۹۱]. این

1 – Sanger and Tippet

2 – Kato *et al.*

3 - Antibody Dependent Cell Cytotoxicity

4 – ex vivo

روش‌های پلاسما فرز متعاقباً در مورد زنان p با تاریخچه سقط‌های متعدد و فقدان بچه‌های زنده بطور موفقیت آمیزی مورد استفاده قرار گرفته است [۱۳۴، ۱۶۸ و ۱۶۶].

در Perth، غرب استرلیا، یک آنتی بادی غیر معمول در سرم زنان با «سقط‌های عادی»، به عبارتی زنان حامله‌ای که حداقل برای بار دوم تهدید به سقط شده‌اند [۱۶۹]، گزارش شد. این آنتی بادی تمامی گلبول‌های قرمز P_1 و P_2 را همولیز کرد ولی آگلوتینه ننمود، اما گلبول‌های p را آگلوتینه یا همولیز نکرد. (هیچ گزارشی از آزمایشات انجام شده با گلبول‌های P^k در دست نمی‌باشد). بیماران از گروه‌های P_1 طبیعی بودند. این همولیزین فقط در زمان سقط‌های تهدیدی حضور داشت و در دیگر زنان حامله یا غیر حامله وجود نداشت [۱۶۹]. فعالیت همولیتیک ظاهراً وابسته به کمپلمان نبود [۱۷۰]. همولیزین در سرم بیماران مشابه در کانادا، ایالات متحده یا هانگاری مشاهده نشد [۱۶۹ و ۱۷۱]. وس^۱ [۱۶۹، ۱۷۰، ۱۷۲ و ۱۷۳] با هدف یافتن علتی محیطی یا ایمونولوژیک برای این پدیده، بطور جامع وضعیت گیج کننده بیماران فوق را مورد مطالعه قرار داد، اما در نهایت توضیحی در این زمینه ارائه نشد.

References

- 1 Landsteiner K, Levine P. Further observations on individual differences of human blood. *Proc Soc Exp Biol NY* 1927;24:941-2.
- 2 Sanger R. An association between the P and Jay systems of blood groups. *Nature* 1955;176:1163-4.
- 3 Matson GA, Swanson J, Noades J, Sanger R, Race RR. A 'new' antigen and antibody belonging to the P blood group system. *Am J Hum Genet* 1959;11:26-34.
- 4 Tippet P, Sanger R, Race RR, Swanson J, Busch S. An agglutinin associated with the P and the ABO blood groups system. *Vox Sang* 1965;10:269-80.
- 5 Morgan WTJ, Watkins WM. Blood group P₁ substance. I. Chemical properties. *Proc 9th Congr Int Soc Blood Transfus* 1962: 225-9.
- 6 Cory HT, Yates AD, Donald ASR, Watkins WM, Morgan WTJ. The nature of the human blood group P₁ determinant. *Biochem Biophys Res Commun* 1974;61:1289-96.
- 7 Naiki M, Marcus DM. Human erythrocyte P and P^h blood group antigens: identification as glycosphingolipids. *Biochem Biophys Res Commun* 1974; 60:1105-11.
- 8 Marcus DM, Kundu SK, Suzuki A. The P blood group system: recent progress in immunochemistry and genetics. *Semin Hematol* 1981;18:63-71.
- 9 Bailly P, Bouhours J-F. P blood group and related antigens. In: Cartron J-P, Rouger P, eds. *Blood Cell Biochemistry*, Vol. 6. New York: Plenum Press, 1995;299-329.
- 10 Spitalnik PF, Spitalnik SL. The P blood group system: biochemical, serological, and clinical aspects. *Transfus Med Rev* 1995;9:110-22.
- 11 Watkins WM, Morgan WTJ. Blood-group P₁ substance. II. Immunological properties. *Proc 9th Congr Int Soc Blood Transfus* 1962:230-4.
- 12 Marcus DM. Isolation of a substance with blood-group P₁ activity from human erythrocyte stroma. *Transfusion* 1971;11:16-18.
- 13 Anstee DJ, Tanner MJA. The distribution of blood-

- group antigens on butanol extraction of human erythrocyte 'ghosts'. *Biochem J* 1974;138:381-6.
- 14 Yang Z, Bergström J, Karlsson K-A. Glycoproteins with Gal α 4Gal are absent from human erythrocyte membranes, indicating that glycolipids are the sole carriers of blood group P activities. *J Biol Chem* 1994;269:14620-4.
 - 15 Naiki M, Fong J, Ledeen R, Marcus DM. Structure of the human erythrocyte blood group P₁ glycosphingolipid. *Biochemistry* 1975;14:4831-7.
 - 16 Naiki M, Marcus DM. An immunochemical study of the human blood group P₁, P, and P^k glycosphingolipid antigens. *Biochemistry* 1975;14:4837-41.
 - 17 Bailly P, Chevalere J, Sondag D *et al.* Characterization of a murine monoclonal antibody specific for the human P1 blood group antigen. *Mol Immunol* 1987;24:171-6.
 - 18 Rouger P, Anstee D, Salmon C, eds. First International Workshop on Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1987;30:627-708.
 - 19 Brodin NT, Dahmén J, Nilsson B *et al.* Monoclonal antibodies produced by immunization with neoglycoproteins containing Gal α 1-4Gal β 1-4Glc β -O and Gal α 1-4Gal β 1-4GlcNAc β -O residues: useful immunochemical and cytochemical reagents for blood group P antigens and a differentiation marker in Burkitt lymphoma and other B-cell malignancies. *Int J Cancer* 1988;42:185-94.
 - 20 Cowles JW, Blumberg N. Neutralization of P blood group antibodies by synthetic solid-phase antigens. *Transfusion* 1987;27:272-5.
 - 21 Metaxas MN, Metaxas-Buehler M, Tippet P. A 'new' antibody in the P blood group system [Abstract]. *14th Congr International Soc Blood Transfus* 1975:95.
 - 22 Schwarting GA, Marcus DM, Metaxas M. Identification of sialosylparagloboside as the erythrocyte receptor for an 'anti-p' antibody. *Vox Sang* 1977;32:257-61.
 - 23 Voak D, Anstee D, Pardoe G. The α -galactose specificity of anti-P^k. *Vox Sang* 1973;25:263-70.
 - 24 Furukawa K. Properties of P blood group antigen and antibodies. *Jpn J Hum Genet* 1975;20:32-3.
 - 25 Watkins WM, Morgan WTJ. Immunochemical observations on the human blood group P system. *J Immunogenet* 1976;3:15-27.
 - 26 Marcus DM, Naiki M, Kundu SK. Abnormalities in the glycosphingolipid content of human P^k and p erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:3263-7.
 - 27 Koscielak J, Miller-Prodraza H, Krauze R, Cedergren B. Glycolipid composition of blood group P erythrocytes. *FEBS Lett* 1976;66:250-3.
 - 28 Nudelman E, Kannagi R, Hakomori S *et al.* A glycolipid antigen associated with Burkitt lymphoma defined by a monoclonal antibody. *Science* 1983;220:509-11.
 - 29 Fletcher KS, Bremer EG, Schwarting GA. P blood group regulation of glycosphingolipid levels in human erythrocytes. *J Biol Chem* 1979;254:11196-8.
 - 30 Anstee DJ. Blood group-active surface molecules of the human red blood cell. *Vox Sang* 1990;58:1-20.
 - 31 Kannagi R, Cochran NA, Ishigami F *et al.* Stage-specific embryonic antigens (SSEA-3 and -4) are epitopes of a unique globo-series ganglioside isolated from human teratocarcinoma cells. *EMBO J* 1983;2:2355-61.
 - 32 Inglis G, Fraser RH, Mitchell AAB *et al.* Serological characterisation of a mouse monoclonal anti-P-like antibody. *Vox Sang* 1987;52:79-82.
 - 33 Kundu SK, Suzuki A, Saho B *et al.* Erythrocyte glycosphingolipids of four siblings with the rare blood group, p phenotype and their parents. *J Immunogenet* 1981;8:357-65.
 - 34 Wiels J, Taga S, Tétaud C *et al.* Histo-blood group p: biosynthesis of globoseries glycolipids in EBV-transformed B cell lines. *Glycocon J* 1996;13:529-35.
 - 35 Lindström K, Jovall P-Å, Ghardashkani S, Samuelsson BE, Breimer ME. Blood group glycosphingolipid expression in kidney of an individual with the rare blood group A, Le(a-b+)p phenotype: absence of blood group structures based on the globoseries. *Glycocon J* 1996;13:307-13.
 - 36 Tippet P, Andrews PW, Knowles BB, Solter D, Goodfellow PN. Red cell antigens P (globoside) and Luke: identification by monoclonal antibodies defining the murine stage-specific embryonic antigens -3 and -4 (SSEA-3 and SSEA-4). *Vox Sang* 1986;51:53-6.
 - 37 Fellous M, Gerbal A, Nobillot G, Wiels J. Studies on the biosynthetic pathway of human P erythrocyte antigen using genetic complementation tests between fibroblasts from rare, p and P^k phenotype donors. *Vox Sang* 1977;32:262-8.
 - 38 Steffenson R, Carlier K, Wiels J *et al.* Cloning and expression of the histo-blood group P^k UDP-galactose: Gal β 1-4Glc β 1-Cer α 1,4-Galactosyltransferase—molecular basis of the p phenotype. *J Biol Chem* 2000;275:16723-9.
 - 39 Furukawa K, Iwamura K, Uchikawa M *et al.* Molecular basis for the p phenotype: identification of distinct and multiple mutations in the α 1,4-Galactosyltransferase gene in Swedish and Japanese individuals. *J Biol Chem* 2000;275:37752-6.
 - 40 Keusch JJ, Manzella SM, Nyame KA, Cummings RD, Baenziger JU. Cloning of Gb₃ synthase, the key enzyme in globo-series glycosphingolipid synthesis, predicts a family of α 1,4-glycosyltransferases conserved in plants, insects and mammals. *J Biol Chem* 2000;275:25315-21.
 - 41 Okajima T, Nakamura Y, Uchikawa M *et al.* Expression cloning of human globoside synthase cDNAs: identification of β 3Gal-T3 as UDP-N-acetylgalactosamine: globotriosylceramide β 1,3-N-acetylgalactosaminyltransferase. *J Biol Chem* 2000;275:40498-503.
 - 42 Amado M, Almeida R, Carneiro F *et al.* A family of human β 3-galactosyltransferases. Characterization of four members of a UDP-galactose: β -N-acetyl-

- glucosamine/ β -N-acetyl-galactosamine β -1,3-galactosyltransferase family. *J Biol Chem* 1998;273:12770-8.
- 43 Kijimoto-Ochiai S, Naiki M, Makita A. Defects of glycosyltransferase activities in human fibroblasts of P^k and p blood group phenotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74:5407-10.
- 44 Graham HA, Williams AN. A genetic model for the inheritance of the P , P_1 and P^k antigens. *Immunol Commun* 1980;9:191-201.
- 45 Almeida R, Amado M, David L *et al*. A family of human β 4-galactosyltransferases: cloning and expression of two novel UDP-galactose- β -N-acetylglucosamine β 1, 4-galactosyltransferases, β 4Gal-T2 and β 4Gal-T3. *J Biol Chem* 1997;272:31979-91.
- 46 Iizuka S, Chen S-H, Yoshida A. Studies on the human blood group P system: an existence of UDP-Gal:Lactosylceramide α 1 $\rightarrow$ 4 galactosyltransferase in the small p type cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;137:1187-95.
- 47 Mourant AE, Kopec AC, Domaniewska-Sobczak K. *The Distribution of Human Blood Groups and Other Polymorphisms*, 2nd edn. London: Oxford University Press, 1976.
- 48 Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 6th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975.
- 49 Henningsen K. Investigations on the blood factor P. *Acta Path Microbiol Scand* 1949;26:639-54.
- 50 Henningsen K. On the heredity of blood factor P. *Acta Path Microbiol Scand* 1949;26:769-85.
- 51 Henningsen K. Etude d'ensemble du facteur sanguin P. *Rev Hémat* 1950;5:276-84.
- 52 Fisher R. The variation in strength of the human blood group P. *Heredity* 1953;7:81-9.
- 53 Crawford MN, Tippett P, Sanger R. Antigens Au^a , i and P_1 of cells of the dominant type of Lu(a-b-). *Vox Sang* 1974;26:283-7.
- 54 Shaw MA, Leak MR, Daniels GL, Tippett P. The rare Lutheran blood group phenotype Lu(a-b-): a genetic study. *Ann Hum Genet* 1984;48:229-37.
- 55 Contreras M, Tippett P. The Lu (a-b-) syndrome and an apparent upset of P_1 inheritance. *Vox Sang* 1974;27:369-71.
- 56 Heiken A. Observations on the blood group receptor P_1 and its development in children. *Hereditas* 1966; 56:83-98.
- 57 Ikin EW, Kay HEM, Playfair JHL, Mourant AE. P_1 antigen in the human foetus. *Nature* 1961;192:883.
- 58 Dunstan RA. Status of major red cell blood group antigens on neutrophils, lymphocytes and monocytes. *Br J Haematol* 1986;62:301-9.
- 59 Cameron GL, Staveley JM. Blood group P substance in hydatid cyst fluids. *Nature* 1957;179:147-8.
- 60 Ben-Ismaïl R, Rouger P, Carme B, Gentilini M, Salmon C. Comparative automated assay of anti- P_1 antibodies in acute hepatic distomatiasis (fascioliasis) and in hydatidosis. *Vox Sang* 1980;38:165-8.
- 61 Bevan B, Hammond W, Clarke RL. Anti- P_1 associated with liver-fluke infection. *Vox Sang* 1970;18:188-9.
- 62 Petit A, Duong TH, Bremond JL *et al*. Allo-anticorps irréguliers anti- P_1 et Clonorchiose à clonorchis sinensis. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1981;24:197-208.
- 63 Prokop O, Schlesinger D. P_1 blood group substance in *Lumbricus terrestris* (earthworm) and *Ascaris suum*. *Nature* 1966;209:1255.
- 64 Radermecker M, Bruwier M, François C *et al*. Anti- P_1 activity in pigeon breeders' serum. *Clin Exp Immunol* 1975;22:546-9.
- 65 François-Gérard C, Gerday C, Beeley JG. Turtle-dove ovomucoid, a glycoprotein proteinase inhibitor with P_1 -blood-group antigen activity. *Biochem J* 1979;177:679-85.
- 66 François-Gérard C, Brocteur J, André A. Turtle-dove: a new source of P_1 -like material cross-reacting with the human erythrocyte antigen. *Vox Sang* 1980;39: 141-8.
- 67 François-Gérard C, Brocteur J, André A *et al*. Demonstration of the existence of a specific blood-group P_1 antigenic determinant in turtle-dove ovomucoid. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1980;23:579-88.
- 68 Khoo K-H, Nieto A, Morris HR, Dell A. Structural characterization of the N-glycans from *Echinococcus granulosus* hydatid cyst membrane and protoscolexes. *Mol Biochem Parasitol* 1997;86:237-48.
- 69 Wiener AS, Unger LJ. Isoimmunization to factor P by blood transfusion. *Am J Clin Pathol* 1944;14:616-8.
- 70 Cheng MS. Potent anti- P_1 following blood transfusion. *Transfusion* 1984;24:183.
- 71 Chandeysson PL, Flye MW, Simpkins SM, Holland PV. Delayed hemolytic transfusion reaction caused by anti- P_1 antibody. *Transfusion* 1981;21:77-82.
- 72 Cox MT, Roberts M, LaJoie J *et al*. An apparent primary immune response involving anti-Jk^a and anti- P_1 detected 10 days after transfusion. *Transfusion* 1992;32:874.
- 73 Issitt PD, Anstee DJ. *Applied Blood Group Serology*, 4th edn. Durham, NC: Montgomery Scientific Publications, 1998.
- 74 Moureau P. Les réactions post-transfusionnelles. *Rev Belge Sci Med* 1945;16:258-300.
- 75 Arndt PA, Garratty G, Marfoe RA, Zeger GD. An acute hemolytic transfusion reaction caused by an anti- P_1 that reacted at 37°C. *Transfusion* 1998;38:373-7.
- 76 DiNapoli JB, Nichols ME, Marsh WL, Warren D, Mayer K. Hemolytic transfusion reaction caused by IgG anti- P_1 [Abstract]. *Transfusion* 1978;18:383.
- 77 Mollison PL, Cutbush M. The use of isotope-labelled red cells to demonstrate incompatibility *in vivo*. *Lancet* 1955;i:1290-5.
- 78 Norman P, MacIntyre D, Poole J, Mallan M. Allo-anti- P_1 in a P_1 -positive person. *Vox Sang* 1985;49:211-14.
- 79 Levine P, Celano M, Staveley JM. The antigenicity of P

- substance in *Echinococcus* cyst fluid coated on to tanned red cells. *Vox Sang* 1958;3:434-8.
- 80 Bouhours D, Bouhours JF, Willem C, Planus E, Blanchard D. Over expression of the P1 blood group antigen on red cells from a CD41 patient [Abstract]. *Vox Sang* 1994;67(Suppl. 2):118.
 - 81 Chester MA, Johnson U, Lundblad A *et al.*, eds. *Proc 2nd Int Workshop and Symposium on Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cells and Related Antigens* 1990, 86-92.
 - 82 Beck ML, ed. Third International Workshop on Monoclonal Antibodies Against Human Red Blood Cell and Related Antigens. *Transfus Clin Biol* 1997;4:13-54 (8 papers).
 - 83 Issitt CH, Duckett JB, Osborne BM, Gut JB, Beasley J. Another example of an antibody reacting optimally with p red cells. *Br J Haematol* 1976;34:19-23.
 - 84 von dem Borne AEGK, Bos MJE, Joustra-Maas N *et al.* A murine monoclonal IgM antibody specific for blood group P antigen (globoside). *Br J Haematol* 1986;63:35-46.
 - 85 Shevinsky LH, Knowles BB, Damjanov I, Solter D. Monoclonal antibody to murine embryos defines a stage-specific embryonic antigen expressed on mouse embryos and human teratocarcinoma cells. *Cell* 1982;30:697-705.
 - 86 Kelus A, Gurner BW, Coombs RRA. Blood group antigens on HeLa cells shown by mixed agglutination. *Immunology* 1959;2:262-7.
 - 87 Bono R, Cartron JP, Mulet C, Avner P, Fellous M. Selective expression of blood group antigens on human teratocarcinoma cell lines. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1981;24:97-107.
 - 88 Kortekangas AE, Kaarsalo E, Melartin I *et al.* The red cell antigen P^k and its relationship to the P system: the evidence of three more P^k families. *Vox Sang* 1965;10:385-404.
 - 89 Adinolfi M, Polley MJ, Hunter DA, Mollison PL. Classification of blood-group antibodies as β 2M or gamma globulin. *Immunology* 1962;5:566-79.
 - 90 Lopez M, Cartron J, Cartron JP *et al.* Cytotoxicity of anti-PP₁P^k antibodies and possible relationship with early abortions of p mothers. *Clin Immunol Immunopath* 1983;28:296-303.
 - 91 Yoshida H, Ito K, Emi N, Kanzaki H, Matsuura S. A new therapeutic antibody removal method using antigen-positive red cells. II. Application to a P-incompatible pregnant woman. *Vox Sang* 1984;47:216-23.
 - 92 Söderström T, Enskog A, Samuelsson BE, Cedergren B. Immunoglobulin subclass (IgG3) restriction of anti-P and anti-P^k antibodies in patients of the rare p blood group. *J Immunol* 1985;134:1-3.
 - 93 Hansson GC, Wazniowska K, Rock JA *et al.* The glycosphingolipid composition of the placenta of a blood group P fetus delivered by a blood group P₁^k woman and analysis of the anti-globoside antibodies found in maternal serum. *Arch Biochem Biophys* 1988;260:168-76.
 - 94 Heddle NM. Acute paroxysmal cold hemoglobinuria. *Transfus Med Rev* 1989;3:219-29.
 - 95 Levine P, Celano MJ, Falkowski E. The specificity of the antibody in paroxysmal cold hemoglobinuria (PCH). *Transfusion* 1963;3:278-80.
 - 96 van der Hart M, van der Giessen M, van der Veer M, Peetoom F, van Loghem JJ. Immunohistochemical and serological properties of biphasic haemolysins. *Vox Sang* 1964;9:36-9.
 - 97 Worledge SM, Rouso C. Studies on the serology of paroxysmal cold haemoglobinuria (PCH), with special reference to its relationship with the P blood group system. *Vox Sang* 1965;10:293-8.
 - 98 Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. Paroxysmal cold hemoglobinuria and the elusive Donath-Landsteiner antibody. *Immunohematology* 1998;14:109-12.
 - 99 Judd WJ. A pH-dependent auto-agglutinin with anti-P specificity. *Transfusion* 1975;15:373-6.
 - 100 Engelfriet CP, von Beckers D, dem Borne AEGK, Reynierse E, van Loghem JJ. Haemolysins probably recognizing the antigen p. *Vox Sang* 1971;23:176-81.
 - 101 Ries CA, Garratty G, Petz LD, Fudenberg HH. Paroxysmal cold hemoglobinuria: report of a case with an exceptionally high thermal range Donath-Landsteiner antibody. *Blood* 1971;38:491-9.
 - 102 Lindgren S, Zimmerman S, Gibbs F, Garratty G. An unusual Donath-Landsteiner antibody detectable at 37°C by the antiglobulin test. *Transfusion* 1985;25:142-4.
 - 103 Mensinger E, Lerner W, Leger R *et al.* Serological profile associated with a fatal case of paroxysmal cold hemoglobinuria [Abstract]. *Transfusion* 1995;35:21S.
 - 104 Judd WJ, Steiner EA, Capps RD. Autoagglutinins with apparent anti-P specificity reactive only by low-ionic-strength salt techniques. *Transfusion* 1982;22:185-8.
 - 105 Cohen DW, Nelson L. Auto-anti-P reacting only by low-ionic-strength solutions in a patient with hemolysis. *Transfusion* 1983;23:79-80.
 - 106 Anstee DJ, Holt PDJ, Pardoe GJ. Agglutinins from fish ova defining blood groups B and P. *Vox Sang* 1973;25:347-60.
 - 107 Voak D, Todd GM, Pardoe GL. A study of the serological behaviour and nature of the anti-B/P/P^k activity of *Salmonidae* roe protectins. *Vox Sang* 1974;26:176-88.
 - 108 Tippet P. Antibodies in the sera of p and P^k people. *Abstracts from 14th Congr Int Soc Blood Transfus* 1975:94.
 - 109 Nakagima H, Yokota T. Two Japanese families with P^k members. *Vox Sang* 1977;32:56-8.
 - 110 Moullec J, Muller A, Garretta M, Kerouanton F, Bare J. L'antigène P^k chez trois membres d'une même fratrie. *Ann Génét* 1974;2:95-8.
 - 111 Kortekangas AE, Noades J, Tippet P, Sanger R, Race RR. A second family with the red cell antigen P^k. *Vox Sang* 1959;4:337-49.

- 112 Fellous M, Gerbal A, Tessier C *et al.* Studies on the biosynthetic pathway of human P erythrocyte antigens using somatic cells in culture. *Vox Sang* 1974;26:518-36.
- 113 Naiki M, Kato M. Immunological identification of blood group Pk antigen on normal human erythrocytes and isolation of anti-Pk with different affinity. *Vox Sang* 1979;37:30-8.
- 114 Tippett P. Contributions of monoclonal antibodies to understanding one new and some old blood group systems. In: Garratty G, ed. *Red Cell Antigens and Antibodies*. Arlington: American Association of Blood Banks, 1986, 83-98.
- 115 Kasai K, Galton J, Terasaki PI *et al.* Tissue distribution of the P^k antigen as determined by a monoclonal antibody. *J Immunogenet* 1985;12:213-20.
- 116 Wiels J, Fellous M, Tursz T. Monoclonal antibody against a Burkitt lymphoma-associated antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:6485-8.
- 117 Khine A-A, Firtel M, Lingwood CA. CD77-dependent retrograde transport of CD19 to the nuclear membrane: functional relationship between CD77 and CD19 during germinal center B-cell apoptosis. *J Cell Physiol* 1998;176:281-92.
- 118 Mori T, Kiyokawa N, Katagiri YU *et al.* Globotriaosyl ceramide (CD77/Gb₃) in the glycolipid-enriched membrane domain participates in B-cell receptor-mediated apoptosis by regulating Lyn kinase activity in human B cells. *Exp Hematol* 2000;28:1260-8.
- 119 Miyamoto D, Ueno T, Takashima S *et al.* Establishment of a monoclonal antibody directed against Gb₃Cer/CD77: a useful immunochemical reagent for a differentiation marker in Burkitt's lymphoma and germinal centre B cells. *Glycocon J* 1997;14:379-88.
- 120 Bruce M, Watt A, Gabra GS *et al.* LKE red cell antigen and its relationship to P₁ and P^k: serological study of a large family. *Vox Sang* 1988;55:237-40.
- 121 Cooling LLW, Zhang D, Koerner TAW. Human platelets express gangliosides with LKE activity and ABH blood group activity. *Transfusion* 2001;41:504-16.
- 122 Møller B, Jørgensen J. Anti-LKE in a pregnant woman. *Transfusion* 1988;28:88.
- 123 Levine P, Bobbitt OB, Waller RK, Kuhmichel A. Isoimmunization by a new blood factor in tumor cells. *Proc Soc Exp Biol NY* 1951;77:403-5.
- 124 Lin CK, Mak KH, Cheng CK, Yang CP. The first case of the p phenotype in a Ghurka Nepalese. *Immunohematology* 1998;14:30-2.
- 125 Cedergren B. Population studies in northern Sweden. IV. Frequency of the blood type P. *Hereditas* 1973;73:27-30.
- 126 Levene C, Sela R, Rudolphson Y *et al.* Hemolytic disease of the newborn due to anti-PP₁P^k (anti-Tj^o). *Transfusion* 1977;17:569-72.
- 127 Cantin G, Lyonais J. Anti-PP₁P^k and early abortion. *Transfusion* 1983;23:350-1.
- 128 Weiss DB, Levene C, Aboulafia Y, Isaacsohn M. Anti-PP₁P^k (anti-Tj^o) and habitual abortion. *Fertil Steril* 1975;26:901-4.
- 129 Salmon D, Bouchmel S, Hafsia A *et al.* p phenotypes observed in two generations of tunisian family with a high rate of inbreeding. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1979;22:563-70.
- 130 Catino ML, Busch S, Huestis DW, Stern K. Transmission of the blood group genotype pp (Tj^o-negative) in a kinship with multiple consanguineous marriages. *Am J Hum Genet* 1965;17:36-41.
- 131 Yamaguchi H, Okubo Y, Tanaka M, Murakami W, Honkawa T. Rare blood type p and P^k in Japanese families. *Proc Jpn Acad* 1974;50:764-7.
- 132 Miwa S, Matuhasi T, Yasuda J. The p phenotype in two successive generations of a Japanese family. *Vox Sang* 1974;26:565-7.
- 133 Kato M, Kubo S, Naiki M. Complement fixation antibodies to glycosphingolipids in sera of rare blood group p and P^k phenotypes. *J Immunogenet* 1978;5:31-40.
- 134 Rydberg L, Cedergren B, Breimer ME *et al.* Serological and immunochemical characterization of anti-PP₁P^k (anti-Tj^o) antibodies in blood group p individuals: blood group A Type 4 recognition due to internal binding. *Mol Immunol* 1992;29:1273-86.
- 135 Levine P. Illegitimate blood group antigens P₁, A, and MN (T) in malignancy: a possible therapeutic approach with anti-Tj^o, anti-A, and anti-T. *Ann NY Acad Sci* 1976;277:428-35.
- 136 Kannagi R, Levine P, Watanabe K, Hakomori S. Recent studies of glycolipid and glycoprotein profiles and characterization of the major glycolipid antigen in gastric cancer of a patient of blood group phenotype [Tj^o-] first studied in 1951. *Cancer Res* 1982;42:5249-54.
- 137 Allen FH, Marsh WL, Jensen L, Fink J. Anti IP: an antibody defining another product of interaction between the genes of the I and P blood group systems. *Vox Sang* 1974;27:442-6.
- 138 Kundu SK, Steane SM, Bloom JEC, Marcus DM. Abnormal glycolipid composition of erythrocytes with a weak P antigen. *Vox Sang* 1978;35:160-7.
- 139 Kundu SK, Evans A, Rizvi J, Glidden H, Marcus DM. A new P^k phenotype in the P blood group system. *J Immunogenet* 1980;7:431-9.
- 140 Roelcke D, Riesen W, Geisen HP, Ebert W. Serological identification of the new cold agglutinin specificity anti-Gd. *Vox Sang* 1977;33:304-6;372.
- 141 McDonald DE, Thompson JM, Lowe JA. A murine monoclonal antibody agglutinates P₁-ve cord blood red cells and detects an antigen expressed preferentially by adult red cells of pp phenotype [Abstract]. *Transfus Med* 1996;6(Suppl. 2):25.
- 142 Issitt PD, Tegoli J, Jackson V, Sanders CW, Allen FH. Anti IP₁: antibodies that show an association between the I and P blood group systems. *Vox Sang* 1968;14:1-8.
- 143 Booth PB. Anti I¹P₁: an antibody showing a further as-

- sociation between the I and P blood group systems. *Vox Sang* 1970;19:85-90.
- 144 Ramos RR, Curtis BR, Eby CS, Ratkin GA, Chaplin H. Fatal outcome in a patient with autoimmune hemolytic anemia associated with an IgM bithermic anti-I^P. *Transfusion* 1994;34:427-31.
 - 145 Moulds JM, Nowicki S, Moulds JJ, Nowicki BJ. Human blood groups: incidental receptors for viruses and bacteria. *Transfusion* 1996;36:362-4.
 - 146 Eder AF, Spitalnik SL. Blood group antigens as receptors for pathogens. In: A Blancher, J Klein, WW Socha, eds. *Molecular Biology and Evolution of Blood Group and MHC Antigens in Primates*. Berlin: Springer-Verlag 1997;268-304.
 - 147 Källénius G, Svenson SB, Möllby R *et al*. Structure of carbohydrate part of receptor on human uroepithelial cells for pyelonephritogenic *Escherichia coli*. *Lancet* 1981;iii:604-6.
 - 148 Stapleton A, Nudelman E, Clausen H, Hakomori S, Stamm WE. Binding of uropathogenic *Escherichia coli* R45 to glycolipids extracted from vaginal epithelial cells is dependent on histo-blood group secretor status. *J Clin Invest* 1992;90:965-72.
 - 149 Lingwood CA, Law H, Richardson S *et al*. Glycolipid binding of purified and recombinant *Escherichia coli* produced verotoxin *in vitro*. *J Biol Chem* 1987;262:8834-9.
 - 150 Green DA. P1 blood group and haemolytic uraemic syndrome. *Clin Lab Haematol* 2000;22:55.
 - 151 Mangeney M, Lingwood CA, Taga S *et al*. Apoptosis induced in Burkitt's lymphoma cells via Gb3/CD77, a glycolipid antigen. *Cancer Res* 1993;53:5314-9.
 - 152 Haataja S, Tikkanen K, Liukkonen J, François-Gerard C, Finne J. Characterization of a novel bacterial adhesin specificity of *Streptococcus suis* recognizing blood group P receptor oligosaccharides. *J Biol Chem* 1993;268:4311-7.
 - 153 Brown KE, Anderson SM, Young NS. Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus. *Science* 1993;262:114-17.
 - 154 Brown KE. Haematological consequences of parvovirus B19 infection. *Baillière's Best Pract Res Clin Haematol* 2000;13:245-59.
 - 155 Brown KE, Hibbs JR, Gallinella G *et al*. Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen). *N Engl J Med* 1994;330:1192-6.
 - 156 Kerr JR, McQuaid S, Coyle PV. Expression of P antigen in parvovirus B19-infected bone marrow. *N Engl J Med* 1995;332:128.
 - 157 Puri A, Hug P, Jernigan K *et al*. The neutral glycosphingolipid globotriaosylceramide promotes fusion mediated by a CD4-dependent CXCR4-utilizing HIV type 1 envelope glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14435-40.
 - 158 Hammache D, Yahi N, Maresca M, Piéroni G, Fantini J. Human erythrocytes glycosphingolipids as alternative cofactors for human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) gp120 and reconstituted membrane microdomains of glycosphingolipids (Gb3 and GM3). *J Virol* 1999;73:5244-8.
 - 159 Sheehan J, Pochedley M, Toy E. A retrospective study of cord blood samples from infants born to p phenotype mothers [Abstracts]. *Joint Congr Int Soc Blood Transfus and Am Assoc Blood Banks*, 1990: 84.
 - 160 Hayashida Y, Watanabe A. A case of p Taiwanese woman delivered of an infant with hemolytic disease of the newborn. *Jpn J Legal Med* 1968;22:10-15.
 - 161 Levine P, Koch EA. The rare human isoagglutinin anti-Tj^a and habitual abortion. *Science* 1954;120:239-41.
 - 162 Levine P. Comments on hemolytic disease of newborn due to anti-PP,^{P^k} (anti-Tj^a). *Transfusion* 1977;17:573-8.
 - 163 Sanger R, Tippet P. Live children and abortions of p mothers. *Transfusion* 1979;19:222-3.
 - 164 Lindström K, dem Borne AEGK, Breimer ME *et al*. Glycosphingolipid expression in spontaneously aborted fetuses and placenta from blood group p women: evidence for placenta being the primary target for anti-Tj^a-antibodies. *Glycocon J* 1992;9:325-9.
 - 165 Shirey RS, Ness PM, Kickler TS *et al*. The association of anti-P and early abortion. *Transfusion* 1987;27:189-91.
 - 166 Shechter Y, Timor-Tritsch IE, Lewit N, Sela R, Levene C. Early treatment by plasmapheresis in a woman with multiple abortions and the rare blood group p. *Vox Sang* 1987;53:135-8.
 - 167 Yoshida H, Ito K, Kusakari T *et al*. Removal of maternal antibodies from a woman with fetal loss due to P blood group incompatibility. *Transfusion* 1994;34:702-5.
 - 168 Fernández-Jiménez MC, Jiménez-Marco MT, Hernández D *et al*. Treatment with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin in pregnancies complicated with anti-PP,^{P^k} or anti-K immunization: a report of two patients. *Vox Sang* 2001;80:117-20.
 - 169 Vos GH, Celano MJ, Falkowski F, Levine P. Relationship of a hemolysin resembling anti-Tj^a to threatened abortion in Western Australia. *Transfusion* 1964;4:87-91.
 - 170 Vos GH. The serology of anti-Tj^a-like hemolysins observed in the serum of threatened aborters in Western Australia. *Acta Haematol* 1966;35:272-83.
 - 171 Horváth E, Paisz I. Absence of anti-Tj^a-like hemolysin in pregnant aborters in Budapest. *Transfusion* 1966;6:499-500.
 - 172 Vos GH. A comparative observation of the presence of anti-Tj^a-like hemolysins in relation to obstetric history, distribution of the various blood groups and the occurrence of immune anti-A or anti-B hemolysins among aborters and nonaborters. *Transfusion* 1965;5:327-35.
 - 173 Vos GH. A study related to the significance of hemolysins observed among aborters, nonaborters and infertility patients. *Transfusion* 1967;7:40-7.

فصل ۵

سیستم گروه خونی Rh

- ۱-۵ مقدمه
- ۲-۵ تاریخچه
- ۳-۵ مدل‌های نامگذاری و ژنتیکی
- ۴-۵ هاپلوتیپ‌ها، ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌ها
- ۵-۵ بیوشیمی و ژنتیک مولکولی پلی پپتیدهای Rh
- ۶-۵ آنتی ژن D و واریان‌های D
- ۷-۵ پیش بینی فنوتیپ D از طریق DNA
- ۸-۵ آنتی ژنهای c و C
- ۹-۵ آنتی ژنهای e و E
- ۱۰-۵ آنتی‌ژن‌های مرکب CE
- ۱۱-۵ آنتی ژن G (RH12)
- ۱۲-۵ آنتی ژنهای C^x ، C^w و MAR
- ۱۳-۵ آنتی ژنهای (RH20)Vs و (RH10)V
- ۱۴-۵ هاپلوتیپ‌هایی که تولید آنتی‌ژن‌های CcEe با بیانی ضعیف می‌نمایند
- ۱۵-۵ هاپلوتیپ‌هایی که نه تولید E و نه تولید e می‌کنند، D-- و فنوتیپ‌های وابسته
- ۱۶-۵ فنوتیپ‌های نقصان Rh : Rh_{null} و Rh_{mod}
- ۱۷-۵ آنتی‌ژن‌های با فراوانی کم Rh و آنتی‌بادی‌هایی که آنها را تعریف می‌کنند
- ۱۸-۵ آنتی‌بادی‌های Rh
- ۱۹-۵ موزائیک‌های Rh و تغییرات فنوتیپی اکتسابی
- ۲۰-۵ تکامل و توزیع آنتی‌ژن‌های Rh
- ۲۱-۵ جنبه‌های عملکردی کمپلکس غشائی Rh
- ۲۲-۵ جنبه‌های تکامل تدریجی

۵-۱ مقدمه

سیستم Rh پیچیده‌ترین سیستم در بین سیستم‌های گروه خونی است و از ۴۶ آنتی‌ژن تشکیل شده که از RH1 تا RH53 شماره گذاری شده و هفت شماره آن متروک شده‌اند (جدول ۵-۱). آنتی‌ژن‌های Rh توسط دو ژن همسان (هومولوگ)^۱ مرتبط به هم بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱ رمز دهی می‌شوند (فصل ۳۲): *RHD* که آنتی‌ژن D را تولید می‌کند و *RHCE* که تولید آنتی‌ژن‌های Cc و Ee می‌نماید. *RHD* و *RHCE*، آنتی ژنهای RhD(CD240D) و RhCcEe(CD240CE) را رمز دهی می‌نمایند، این دو پروتئین شدیداً آبگریز و غیرگلیکوزیله بوده و غشای گلبول قرمز را دوازده بار طی می‌کنند. آنتی‌ژن‌های Rh به آرایش فضایی پروتئین‌های Rh در غشا بسیار متکی هستند و ممکن است در بر هم کشش‌های بین دو یا چند حلقه خارج سلولی دخالت نمایند.

اولین آنتی‌ژن کشف شده و دارای بیشترین اهمیت بالینی، D (RH1) است. D غالباً آنتی‌ژن Rh یا رزوس^۲ نامیده می‌شود، زیرا در ابتدا گمان می‌رفت همان آنتی‌ژنی باشد که توسط آنتی‌بادی‌های تولید شده در خرگوش‌های مصون شده با گلبول‌های قرمز میمون رزوس تعریف می‌شود (که امروزه LW نامیده می‌شود) (بخش ۵-۲). D بر روی گلبول‌های قرمز حدود ۸۵٪ افراد سفید پوست وجود دارد و در میان آفریقایی‌ها و آسیایی‌ها شایع‌تر است. قبل از ظهور برنامه پیشگیری با ایمونوگلوبولین آنتی-D، این آنتی‌بادی یک علت شایع واکنش همولیتیک شدید نوزاد بود (بخش ۵-۱۸-۳). گرچه اکثر افراد یا D+ هستند یا D-، واریان‌هایی از D وجود دارند که بعضی از آنها منجر به بیان ضعیف آنتی‌ژن D می‌شوند و سایر آنها نشانگر اختلافات کیفی وسیعی هستند که در آنها افراد D+ ممکن است یک آنتی‌بادی شبیه D بسازند (بخش ۵-۶). فنوتیپ D- حاصل عدم وجود پروتئین RhD در غشای گلبول قرمز است. در مردمان سفید پوست، D- معمولاً ناشی از حالت هموزیگوت برای یک حذف *RHD* می‌باشد، اما در آفریقایی‌های D-، *RHD* غیرفعال شایع است.

C و c، E و e نشانگر دو جفت آنتی‌ژن متباین هستند، پلی مرفیسم‌های مربوط به آنها توسط *RHCE* کنترل می‌گردد. چون هیچ گونه نوترکیبی بین D، Cc و Ee محرز نشده است، آلل‌ها به صورت هاپلوتیپ‌هایی با عناوین DCE، Dce و dce و غیره به ارث می‌رسند (که در اینجا d نمایانگر یک حذف *RHD* یا هر نوع ژن غیرفعال *RHD* می‌باشد). غالباً تعیین ژنوتیپ واقعی یک فرد به کمک نتایج سرولوژیک امکان پذیر نیست و فنوتیپ‌ها اغلب بصورت محتمل‌ترین ژنوتیپ که از فراوانی‌های هاپلوتیپی شناخته شده استنباط شده است، با علائم مخصوص نشان داده می‌شوند. این نکته مهم را به خاطر بسپاریم که بعنوان مثال DCE/dce یک فنوتیپ است، اگرچه DCE/dce شایع‌ترین ژنوتیپ مسئول

1 - homologous

2 - Rhesus

فنوتیپ DCE/dce در یک جمعیت سفید پوست است، DCe/Dce و dCe/Dce نیز تولید فنوتیپ سرولوژیک DCE/dce می‌نمایند (بخش ۵-۴).

جدول ۵-۱. آنتی‌ژن‌های سیستم Rh

No.	Names			Comments
	CDE	Rh-Hr	Other	
RH1	D	Rh ₀		Polymorphic; no antithetical antigen
RH2	C	rh'		Polymorphic; antithetical to c
RH3	E	rh ⁺		Polymorphic; antithetical to e
RH4	c	hr'		Polymorphic; antithetical to C
RH5	e	hr ⁺		Polymorphic; antithetical to E
RH6	ce	hr	f	Polymorphic; c and e encoded by the same gene
RH7	Ce	rh ₁		Polymorphic; C and e encoded by the same gene
RH8	C ^w	rh ₁ ^w		Polymorphic; antithetical to C ^a and MAR
RH9	C ^x	rh ₁ ^x		LFA; antithetical to C ^w and MAR
RH10		hr ^v	V	Associated with ce ^s VS ⁺ , but not (C)ce ^s VS ⁺
RH11	E ^w	rh ₂ ^w		LFA associated with weak E
RH12	G	rh ^G		Polymorphic; when either C or D present
RH17		Hr ₀		HFA; absent from Rh _{null} , D—
RH18		Hr		HFA; absent from E—e+hr ^S —, D—, Rh _{null}
RH19		hr ^S		e variant in black people
RH20			VS	Associated with ce ^s V ⁺ and (C)ce ^s V—
RH21	C ^G			C-like antigen of r ^G
RH22	CE			LFA; C and E encoded by the same gene
RH23	D ^w			LFA; associated with DV
RH26	c-like			Variant of c
RH27	cE			Polymorphic; c and E encoded by the same gene
RH28		hr ^H		Variant of VS
RH29			Total Rh	HFA; only absent from Rh _{null}
RH30			Go ^a	LFA; associated with DIVa
RH31		hr ^B		e variant in black people
RH32		R ^N		LFA; associated with D(C)(e) R ^N and DBT
RH33			Har	LFA; associated with DHAR
RH34		Hr ^B		HFA; anti-RH34 may be anti-hr ^B + -Hr ^B
RH35				LFA; associated with D(C)(e)
RH36			Be ^a	LFA; associated with d(c)(e)
RH37			Evans	LFA; associated with D— and DIVb
RH39				Anti-C-like autoantibody
RH40			Tar	LFA; associated with DIVI
RH41				Ce-like
RH42	Cce ^s			Associated with (C)ce ^s VS ⁺ V—
RH43			Crawford	
RH44			Nou	HFA; on DIV(C)— and common phenotypes
RH45			Riv	LFA; associated with DIV(C)—
RH46			Sec	HFA; absent from R ^N , D—, Rh _{null} cells
RH47			Dav	HFA; on D— and common phenotypes
RH48			JAL	LFA; associated with D(C)(e) and D(c)(e)
RH49			STEM	LFA; associated with some hr ^S — and hr ^B —
RH50			FPTT	LFA; associated with DFR and DHAR
RH51			MAR	HFA; antithetical to C ^w and C ^x
RH52			BARC	LFA; associated with DVI type II
RH53			JAHK	LFA; associated with r ^G

LFA and HFA, low and high frequency antigens.

Obsolete: RH13 (Rh^a), RH14 (Rh^b), RH15 (Rh^c), RH16 (Rh^d), RH24 (E^T), RH25 (LW; now system 16), RH38 (Duclos; now 901013).

در سراسر این فصل اصطلاح «هاپلوتیپ» به منظور معرفی مکمل هاپلوئیدی ژن‌های Rh استفاده می‌شود، ولو اینکه اکثر «هاپلوتیپ‌های» D- شامل یک ژن منفرد Rh خواهند بود. واریان‌های بی شماری وجود دارند که حاکی از بیان غیر طبیعی یک یا چند آنتی‌ژن Rh می‌باشند. این هاپوتیپ‌های نادر غالباً تولید یک یا چند آنتی‌ژن خاص با شیوع کم می‌نمایند (بخش ۵-۱۷) و در حالت هموزیگوت ممکن است منجر به عدم بروز آنتی‌ژن‌های با شیوع زیاد گردند. بیان غیر طبیعی آنتی‌ژن‌های D یا CcEe ممکن است ناشی از جهش‌های بد معنی^۱ در *RHD* یا *RHCE* باشد، اما غالباً حاصل تبادل ماده ژنتیکی بین دو ژن Rh می‌باشد. گلبول‌های قرمز فنوتیپ فاقد Rh، Rh_{null} ، هیچکدام از آنتی‌ژن‌های سیستم Rh را بیان نمی‌کنند (بخش ۵-۱۶).

Rh_{null} ، دارای دو اساس ژنتیکی است :

- ۱- حالت هموزیگوت برای یک حذف *RHD* به همراه یک ژن *RHCE* غیرفعال، و
 - ۲- حالت هموزیگوت برای جهش‌های غیرفعال کننده در ژنی که گلیکو پروتئین وابسته به Rh را که برای بیان آنتی‌ژن‌های Rh ضروری است، رمز دهی می‌نماید.
- گلبولهای قرمز Rh_{null} نیز تعداد زیادی از آنتی ژنها را که به سیستم Rh تعلق ندارند بصورت غیر طبیعی بیان می نمایند. اعمال پروتئین‌های Rh بصورت یک راز باقی مانده است، هر چند که نظریه‌ای وجود دارد مبنی بر اینکه ممکن است در انتقال آمونیوم ایفای نقش نمایند.

1 - missense: منظور جهشی است که دارای مفهوم بد یا غلط است.م

۵-۲ تاریخچه

در سال ۱۹۳۹، لوین و استتسون^۱ [۱] یک واکنش همولیتیک در زنی را مورد بررسی قرار دادند که ناشی از تزریق خون همسرش به او بود. این خانم به تازگی بچه‌ای مرده به دنیا آورده بود. نوعی آنتی‌بادی در سرم مادر گلبول‌های قرمز همسر و ۸۰٪ اهدا کنندگان خون سازگار از نظر ABO را آگلوتینه نمود. لوین و استتسون [۱] نشان دادند که این آنتی‌ژن جدید که ایشان نامی بر آن نگذاشتند، مستقل از گروه‌های خونی شناخته شده ABO، MN و P است. آنان ابراز داشتند که مادر توسط یک آنتی‌ژن جنینی با منشا پدری مصون شده است و رویداد همولیتیک ناشی از آنتی‌بادی مادر می‌باشد که با آنتی‌ژن سطح گلبول‌های قرمز تزریق شده همسر واکنش داده است.

در سال ۱۹۴۰ لنداشتاینر و وینر^۲ [۲] با تزریق گلبول‌های قرمز میمون رزوسی به خرگوش‌ها، و بعدها به خوکچه‌های هندی، نوعی آنتی‌بادی تولید نمودند. این آنتی‌بادی که آنتی - Rh نامیده شد، گلبول‌های قرمز میمون رزوس و همچنین گلبول‌های قرمز ۸۵٪ اهالی نیویورک را آگلوتینه نمود. مطالعات صورت گرفته روی ۶۰ خانواده حاکی از این بود که Rh مثبت بصورت یک صفت غالب به ارث می‌رسد [۳]. در همان سال وینر و پیترز^۳ [۴] آنتی‌بادی‌هایی با ویژگی به ظاهر یکسان را در سرم بیمارانی که متعاقب دریافت خون سازگار از نظر ABO واکنش‌های انتقال خون نشان داده بودند، شناسایی نمودند. آنتی‌بادی توصیف شده توسط لوین و استتسون نیز به نظر می‌رسید که همان آنتی - Rh باشد [۵].

حتی در اوایل سال ۱۹۴۲ فیسک و فورد^۴ [۶] یک اختلاف بین آنتی - Rh انسانی و حیوانی رابه اثبات رساندند. گلبول‌های قرمز تمامی نوزادان چه Rh+ و چه Rh- که با آنتی - Rh انسانی تعریف شده بودند، با آنتی - Rh حیوانی واکنش مثبت دادند. بیست سال دیگر طول کشید تا ثابت شود آنتی‌بادی انسانی و حیوانی Rh با یک آنتی‌ژن مشترک واکنش نمی‌دهند. عنوان Rh برای آنتی‌ژن‌هایی که توسط آنتی‌بادی‌های انسانی شناسایی می‌شدند، قابل تغییر نبود زیرا در هزاران نشریه ظاهر شده بود و لذا لوین و همکاران^۵ [۷] پیشنهاد نمودند آنتی‌ژنی که توسط آنتی - Rh (آنتی - رزوس) حیوانی تعریف شده بود به افتخار لنداشتاینر و لوین، LW نامیده شود. اطلاعات جمع آوری شده در خصوص اختلافات بین RhD و LW و استقلال ژنتیکی Rh و LW در فصل ۱۶ ارائه می‌گردد. در عین حال پیچیدگی گروه‌های Rh در حال افزایش بود. تا سال ۱۹۴۳، ریس و همکاران^۶ [۸] چهار آنتی‌سرم با ویژگی‌های مختلف Rh داشتند

1 - Levine and Stetson

2- Lansteiner and Wiener

3 - Wiener and Peters

4 - Fisk and Foord

5 - Levine *et al.*6 - Race *et al.*

که هفت آل را تعریف می نمودند، در نیویورک وینر [۹] با سه آنتی سرم توانست شش آل را تعریف نماید.

زمانی که لوین و همکاران [۵، ۱۰ و ۱۱] تصدیق نمودند عدم سازگاری بین مادر و جنین، علت اریتروبلاستوزیس فتاليس یا بیماری همولیتیک نوزاد است، یکی از داستان‌های موفقیت در طب پیشگیری آغاز گردید. این داستان طی سال ۱۹۶۰ به کشف اینکه ایمونیزاسیون اولیه D به دنبال یک حاملگی ناسازگار می تواند با تزریق ایمونوگلوبولین D مدت کوتاهی بعد از زایمان مهار گردد، خاتمه یافت. از زمان شناسایی علت تا معرفی یک راهکار پیشگیرانه کار آمد برای بیماری، فقط یک ربع قرن سپری شده بود.

۳-۵ نامگذاری و مدل های ژنتیکی

دو سیستم نامگذاری نمادین به منظور توضیح پیچیدگی روز افزون گروه های Rh توسعه یافت. این نامگذاری ها بر اساس تئوری های مختلف ژنتیکی وضع شدند: تئوری فیشر-ریس^۱ سه لوکوس E, D, C را که ارتباط نزدیکی با هم دارند فرض می کرد، در حالی که تئوری Rh-Hr وینر^۲ آل های متعددی را برای یک ژن منفرد پیش بینی می نمود.

۳-۵-۱ تئوری فیشر

در سال ۱۹۴۳، زمانی که فیشر [در منبع شماره ۱۲ نیز ذکر شده است] متوجه شد واکنش دو آنتی بادی از چهار آنتی بای که ریس از آنها استفاده می کرد متباین هستند، اظهار داشت آنتی ژن هایی که این دو آنتی بادی شناسایی می کنند توسط آل های c و C رمزدهی می گردند. واکنش دو آنتی بادی دیگر حاکی از چنین ارتباط آلی نبود و وی اینها را آنتی -D و آنتی -E نامید. سه لوکس با ارتباط نزدیک فرض شده که تولید D یا d، C یا c و E یا e می نمایند و اینها با هم ترکیب شده تولید هشت کمپلکس ژنی یا هاپلوتیپ مختلف می نمایند [۱۲] (جدول ۵-۲). متعاقب این، شناسایی آنتی -e [۱۶] و هاپلوتیپ نادر dCE [۱۷] نظریه فیش را حمایت بخشید، اما آنتی -d هرگز مشاهده نشده است. اگر چه بعضی از هاپلوتیپ های نادر که بعدها شناسایی شدند به راحتی قابل گنجاندن در این سیستم نبوند، زبان CDE فیشر-ریس واضحترین و روشن ترین زبان به منظور تفسیر نتایج واکنش ها و ارتباط دادن نتایج می باشد. در این کتاب هر جایی که مرتبط باشد از این سیستم نامگذاری استفاده می شود.

1 - Fisher-Race theory

2 - Wiener theory

۵-۳-۲ تئوری وینر

در یک تئوری متفاوت، وینر [۱۸] یکسری از آل‌های چند گانه (R^2, R^1, R^0 و غیره، در جدول ۵-۲)) را در یک لوکوس منفرد پیشنهاد نمود. هر ژن یک آگلوتینوژن^۱ (آنتی‌ژن) را رمز دهی می‌کند که از چندین فاکتور خونی (شاخص‌های سرولوژیک) تشکیل شده است. بعنوان مثال آگلوتینوژنی که توسط R^1 تولید می‌شود حداقل سه فاکتور خونی را بیان می‌سازد: Rh_0 , rh' , $(D) hr''$ و C و e در نام گذاری فیشر-ریس).

۵-۳-۳ نامگذاری عددی

روزنفیلد و همکاران^۲ [۱۹] معتقد بودند که نامگذاری‌های توصیفی بر اساس تئوری‌های مختلف ژنتیکی، تفسیرهای ایمونولوژیکی بسیار مهم را با موانعی مواجهه نموده‌اند. آنان یک نامگذاری عددی را معرفی کردند که داده‌های سرولوژیک را «عاری از bias و بدور از استنباط ذهنی» ثبت می‌نمود و به منظور نگهداری و اصلاح در کامپیوتر ایده‌آل بود. این سیستم فرض‌ها و پیشنهاداتی که غالباً در نامگذاری‌های قدیمی‌تر اعمال شده بود نداشت: بعنوان مثال در زبان CDE ژنوتیپ فرض شده DCE/DCE غالباً به منظور توصیف گلبول‌های قرمز $D+C+e-E-$ بکار می‌رود، ولو اینکه ممکن است این گلبول‌ها اصلاً با آنتی-e آزمایش نشده باشند.

آنتی-D در زبان CDE که آنتی- Rh_0 در نامگذاری Rh-Hr می‌باشد، در سیستم نامگذاری روزنفیلد آنتی-Rh1 شد. گلبول‌های $D+$ ، $Rh:1$ و گلبول‌های $D-$ ، $Rh:-1$ نامیده شدند. آل‌هایی که تولید این فنوتیپ‌ها را می‌کنند به ترتیب بصورت R^1 و R^{-1} معرفی شدند. این نامگذاری عددی با اندکی اصلاح امروزه پایه بکارگیری اصطلاحات^۳ ISBT برای تمامی گروه‌های خونی است (فصل ۱). تعداد ۴۶ آنتی‌ژن کنونی Rh در جدول ۵-۱ فهرست شده‌اند که نامگذاری‌های عددی، CDE و Rh-Hr را در موارد خاص برای هر کدام نشان می‌دهد.

۵-۳-۴ تئوری دو لوکوسی تیپت

در سال ۱۹۸۶ تیپت^۴ [۲۰] بر پایه حجم قابل توجهی از داده‌های سرولوژیک مدلی را پیشنهاد نمود که بر اساس آن ایشان معتقد بودند فقط دو ژن ساختمانی Rh وجود دارند: یکی که D را رمزدهی می‌کند و دیگری هم که آنتی‌ژن‌های CcEe را رمزدهی می‌نماید. جهش و کراسینگ اور نابرابر بین دو لوکوس بعنوان دلایل احتمالی ظهور بعضی از کمپلکس‌های نادر Rh که منجر به بیان غیر طبیعی

1 - agglutinin

2 - Rosenfield et al.

3 - International Society of Blood Transfusion

4 - Tippett

آنتی‌ژن‌های Rh می‌شوند، مورد توجه قرار گرفت. بر اساس این مدل، فردی که فنوتیپ شایع D+ دارد دارای دو پروتئین Rh خواهد بود، یکی D و دیگری C یا c و E یا e را بیان می‌نماید، حال آنکه فردی با هاپلوتیپ‌های نادر مثل D(C)(e) و D(C)c(e) یا D^{IV}(C)- ممکن است پروتئینی هیبرید داشته باشد که توسط یک ژن الحاقی که متشکل از ژن D و بخشی از ژن CcEe است تولید گردد.

ظرف چند سال با بررسی مولکولی ژن‌های Rh صحت تئوری‌های دو لوکوسی و ژن الحاقی تیپت محرز گردید، ثابت شد که حداقل دو ژن Rh همسان وجود دارند که یکی D و دیگری C یا c و E یا e را رمز دهی می‌کند (بخش ۵-۵-۲). همانطوری که در سیستم MNS نیز دیده شد (فصل ۳)، واریان‌های متنوع Rh ظاهراً حاصل فرایندهایی همچون جهش، کراسینگ اور نابرابر، تبدیل ژنی، اصلاح پس از ترجمه پروتئین‌ها و برهم کنش با دیگر ژن‌های مرتبط می‌باشند.

جدول ۲-۵. هشت هاپلوتیپ R h و فراوانی آنها در جمعیت‌های انگلیسی، نیجریه‌ای، و چینی هنگ کنگی

Haplotype			Frequencies		
CDE	Rh-Hr	Numerical	English	Nigerian	Chinese
DCE	R ¹	RH 1,2,-3,-4,5	0.4205	0.0602	0.7298
dce	r	RH -1,-2,-3,4,5	0.3886	0.2028	0.0232
DcE	R ²	RH 1,-2,3,4,-5	0.1411	0.1151	0.1870
Dce	R ⁰	RH 1,-2,-3,4,5	0.0257	0.5908	0.0334
dCE	r ⁰	RH -1,-2,3,4,-5	0.0119	0	0
dCe	r ¹	RH -1,2,-3,-4,5	0.0098	0.0311	0.0189
DCE	R ²	RH 1,2,3,-4,-5	0.0024	0	0.0041
dCE	r ²	RH -1,2,3,-4,-5	0	0	0.0036

Results of testing with anti-D, -C, -c, -E, and -e, red cells from 2000 English donors [13], 274 Yoruba of Nigeria [14], and 4648 Cantonese from Hong Kong [15].

۴-۵ هاپلوتیپ‌ها، ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌ها

۱-۴-۵ فراوانی‌ها

با توجه به بررسی‌های فیشر^۱ [۱۲] هشت هاپلوتیپ مختلف Rh پیش بینی شده و همگی آنها شناسایی شده‌اند. فراوانی این هاپلوتیپ‌ها در جمعیت‌های مختلف متغیر است (به منظور دسترسی به خلاصه داده‌های مربوط به جمعیت‌های مختلف به منابع [۱۴ و ۲۱] مراجعه شود). فراوانی‌های هاپلوتیپی معمولاً در بین اروپایی‌ها اندکی اختلاف دارد. بطوری که در اروپای جنوبی فراوانی dce اندکی کمتر و فراوانی DcE اندکی بالاتر از فراوانی آنها در اروپای شمالی می‌باشد. در آفریقای تحت صحرا^۲ Dce بالاترین شیوع را دارد، در آسیای شرقی، منطقه اقیانوس آرام و در میان مردمان بومی آمریکا، هاپلوتیپ‌های فاقد D یا نادرند و یا اصلاً وجود ندارند [۱۴]. برآوردهای به عمل آمده در مورد سه

1- Fisher

2 - sub-Saharan Africa

جمعیت انتخابی در جدول ۵-۲ ارائه شده‌اند. محاسبه فراوانی هاپلوتیپ‌های Rh پیچیده است. فیشر [۲۲ و ۲۳] یک روش «احتمال ماکزیمم» را طراحی نمود اما روش‌های دیگر نیز استفاده شده‌اند [۱۴ و ۲۴]. هاپلوتیپ dCE (R^V) در تمامی جمعیت‌های آزمایش شده فوق العاده نادر است.

۵-۴-۲ ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌ها

هشت هاپلوتیپ نشان داده شده در جدول ۵-۲ می‌توانند با هم جفت شده $(A+1)$ $(A+2)$ یا ۳۶ ژنوتیپ تشکیل بدهند. در هر حال، با استفاده از آنتی‌سرهای D, C, E, c, e فقط هیجده فنوتیپ را می‌توان افتراق داد (جدول ۵-۳). از این فنوتیپ‌ها فقط هشت مورد دارای یک ژنوتیپ منفرد است، ده تای دیگر دو، سه یا شش ژنوتیپ احتمالی دارند. در هر حال در سیستم نامگذاری CDE، فنوتیپ‌ها اغلب به شکل ژنوتیپ نوشته می‌شوند (مثلاً DcE/dce). این یک ژنوتیپ واقعی نیست (و به شکل ایتالیک نوشته نمی‌شود) مگر با مطالعات و بررسی خانوادگی اثبات گردد، ولی محتمل‌ترین ژنوتیپ بر اساس فراوانی‌های ژنی برای جمعیت خاص حاصل می‌گردد. بعنوان مثال، یک اهدا کننده انگلیسی سفید پوست که گلبول‌های قرمزش واکنش‌های $D+C-c+E+e+$ دارند، احتمال اینکه DcE/dce باشد شانزده برابر DcE/DcE و ۱۸۰ برابر Dce/dce است. بنابر این ژنوتیپ احتمالی DcE/dce خواهد بود. اما در بین آفریقایی‌ها Dce شایع‌تر از dce است و برای $D+C-c+E+e+$ ، ژنوتیپ احتمالی DcE/DcE خواهد بود. غالباً ژنوتیپ‌های واقعی را می‌توان به کمک آزمایشاتی بر روی گلبول‌های قرمز خویشتاوندان تعیین نمود.

در آزمایشات ابوت همواره بخاطر سپردن این نکته اهمیت دارد که ژنوتیپ‌های احتمالی ممکن است با ژنوتیپ‌های واقعی تفاوت داشته باشند. بعنوان مثال خانواده‌ای که ژنوتیپ‌های احتمالی: مادر DcE/DcE ، فرزند DcE/DcE و پدر فرضی dce/dce دارد به ظاهر ممکن است ابوت را رد کند، در حالی که ژنوتیپ‌های واقعی ممکن است: مادر DCE/dce ، فرزند DCE/dce و پدر فرضی dce/dce باشند که این وضعیت منجر به رد ابوت نمی‌شود.

فنوتیپ $D+C+c+E+e+$ شش ژنوتیپ دارد، اما با استفاده از آنتی- ce ، آنتی- Ce ، آنتی- CE ، یا آنتی- ce می‌توان تقسیم بندی جزئی‌تری روی آن انجام داد هر چند که این آنتی‌بادی‌ها نادر بوده و به میزان بسیار کم در دسترس می‌باشند.

تکنیک‌های مولکولی اخیراً افتراق D/D از D/d را امکان پذیر نموده‌اند (به بخش ۵-۷-۱ مراجعه شود). در افراد D/d که برای $RHCE$ هتروزیگوت هستند، فعلاً امکان پذیر نیست که معین کنیم کدام آلل $RHCE$ نسبت به RHD فعال در وضعیت cis قرار گرفته است.

۳-۴-۵ توارث

در سطح پایه، ژنتیک Rh ساده است. خانواده‌ها را می‌توان به منظر توارث آنتی‌ژن‌های جداگانه، برای D و فقدان D، برای c و C، و برای e و E مورد تجزیه و تحلیل قرار داد. ریس و سانگر^۱ [۲۵] خانواده‌های بسیاری را که بدین منوال مورد بررسی قرار گرفته بودند بصورت خلاصه فهرست نمودند، که توارث آنتی‌ژن‌های Rh به یک شیوه مندلی را تأیید می‌نمود.

خانواده‌ها همچنین ممکن است بر اساس هاپلوتیپ‌های ارائه شده در جدول ۲-۵ مورد بررسی قرار گیرند اما این کار پر زحمتی است زیرا بیش از ۱۰۰ آمیزش فنوتیپی از فنوتیپ‌های ارائه شده در جدول ۳-۵ امکان پذیر است و اکثر فنوتیپ‌ها نمایانگر بیش از یک ژنوتیپ می‌باشند، بعنوان مثال آمیزش فنوتیپی $DCE/dce \times DCE/dce$ شش آمیزش با ژنوتیپ مختلف را نشان می‌دهد که در صورت ترکیب احتمال ایجاد ده فرزند مختلف از لحاظ ژنتیکی را داراست. بعضی از منابع مربوط به بررسی‌های بعمل آمده از خانواده‌های غیر انتخابی عبارتند از [۲۴ و ۳۰-۲۶] و بعضی دیگر در بخش ۳۲-۳-۱-۲ ارائه شده‌اند.

جدول ۵-۳. فنوتیپ‌های Rh به همراه ژنوتیپ‌های احتمالی و فراوانی‌ها آنها در یک جمعیت انگلیسی (محاسبه شده از داده‌های موجود در منبع [۱۳]). واکنش بعضی از آنتی‌بادی‌ها با آنتی‌ژن‌های مرکب و نیز واکنش آنتی - G ارائه شده است.

Antigens					Phenotype	Genotypes	Frequency (%)	Other antigens				
D	C	c	E	e				ce	Ce	CE	cE	G
+	+	-	-	+	DcE/DcE	R_1R_1 DcE/DcE DcE/dcE	R^1/R^1 17.68 R^1r' 0.82	-	+	-	-	+
+	-	+	+	-	DcE/DcE	R_2R_2 DcE/DcE DcE/dcE	R^2R^2 1.99 R^2r'' 0.34	-	-	-	+	+
+	-	+	-	+	Dce/dce	R_0r Dce/dce Dce/Dce	R^0r 2.00 R^0R^0 0.07	+	-	-	-	+
+	+	-	+	-	DCE/DCE	R_2R_2 DCE/DCE DCE/dCE	R^2R^2 <0.01 R^2r'' <0.01*	-	-	+	-	+
+	+	+	-	+	DcE/dce	R_1r DcE/dce DcE/Dce Dce/dCe	R^1r 32.68 R^1R^0 2.16 R^0r' 0.05	+	+	-	-	+
+	-	+	+	+	DcE/dce	R_2r DcE/dce DcE/Dce Dce/dCE	R^2r 10.97 R^2R^0 0.73 R^0r'' 0.06	+	-	-	+	+
+	+	-	+	+	DcE/DCE	R_1R_2 DcE/DCE DCE/dCe DcE/dCE	R^1R^2 0.20 R^2r' <0.01 R^1r' <0.01*	-	+	+	-	+
+	+	+	+	-	DcE/DCE	R_3R_2 DcE/DCE DCE/dCE DcE/dCE	R^2R^2 0.07 R^2r'' <0.01 R^2r'' <0.01*	-	-	+	+	+
+	+	+	+	+	DcE/DcE	R_1R_2 DcE/DcE DcE/dCE DcE/dCe DCE/dce Dce/DCE Dce/dCE	R^1R^2 11.87 R^1r'' 1.00 R^2r' 0.28 R^2r 0.19 R^0R^2 0.01 R^0r'' <0.01*	-	+	-	+	+
-	+	-	-	+	dCe/dCe	$r'r'$ dCe/dCe	$r'r'$ 0.01	-	+	-	-	+
-	-	+	+	-	dcE/dcE	$r''r''$ dcE/dcE	$r''r''$ 0.01	-	-	-	+	-
-	-	+	-	+	dce/dce	rr dce/dce	rr 15.10	+	-	-	-	-
-	+	-	+	-	dCE/dCE	$r'r_y$ dCE/dCE	$r'r''$ <0.01*	-	-	+	-	+
-	+	+	-	+	dCe/dce	$r'r$ dCe/dce	$r'r$ 0.76	+	+	-	-	+
-	-	+	+	+	dcE/dce	$r''r$ dcE/dce	$r''r$ 0.92	+	-	-	+	-
-	+	-	+	+	dCe/dCE	$r'r_y$ dCe/dCE	$r'r''$ <0.01*	-	+	+	-	+
-	+	+	+	-	dcE/dCE	$r''r_y$ dcE/dCE	$r''r''$ <0.01*	-	-	+	+	+
-	+	+	+	+	dcE/dCe	$r''r'$ dcE/dCe dCE/dce	$r''r'$ 0.02 <0.01*	-	+	-	+	+

*Extremely rare.

۵-۵ بیوشیمی و ژنتیک مولکولی پلی پپتیدهای Rh

۵-۵-۱ شناسایی و جداسازی پلی پپتیدهای Rh

گرین و همکاران^۱ [۳۶-۳۱] در تحقیقات و مطالعات اولیه پی بردند که D مرتبط با پروتئین و وابسته به گروه‌های سولفیدرل دست نخورده و فسفولیپید می‌باشد. حذف فسفولیپید توسط دترژان منجر به از دست رفتن آنتی‌ژن D، و جایگزینی مجدد فسفولیپید، چه مشتق از گلبول‌های D+ و چه D-، منجر به بروز مجدد D شد. گر چه جدا سازی پروتئین‌های غشائی توسط دی اکسی کولات منجر به از دست رفتن فعالیت آنتی‌ژن Rh شد، لوروسو و همکاران^۲ [۳۶] متوجه شدند که کمپلکس‌های ایمنی D با آنتی-D در حضور دترژان، سالم و دست نخورده باقی ماندند. در سال ۱۹۸۲ مور و همکاران^۳ [۳۷] در ادینبورگ و گامبرگ^۴ [۳۸] در هلسنکی با بهره گیری از این خاصیت حفاظتی آنتی-D روی D در حضور دترژان، آنتی‌ژن D را جداسازی نمودند. آنها گلبول‌های قرمز D+ را که توسط ¹²⁵I نشان دار شده بودند با استفاده از آنتی-D پلی کلونال IgG حساس نمودند، غشاءها را در دترژان غیر یونی تریتون ۱۰۰-X حل کرده و کمپلکس‌های ایمنی را با استفاده از سفاروز-A پروتئینی رسوب دادند. SDS-PAGE^۵ و اتورادیوگرافی یک جزء اصلی با وزن مولکولی ظاهری ۳۰۰۰۰ را آشکار نمود [۴۱-۳۷]. سطح بالای پیوند با SDS حاکی از یک پروتئین آبگریز بود [۳۷، ۳۸ و ۴۲].

گامبرگ [۴۲] ثابت نمود که ساختار دارای فعالیت D و با وزن مولکولی ۳۰۰۰۰ را نمی‌توان با استفاده از تکنیک‌های نشاندارسازی وابسته به کربوهیدرات، نشاندار نمود و نیز اینکه به واسطه مجاورسازی با اندوگلیکوزیداز یا قلیای ضعیف تخریب نمی‌شود و به لکترین‌های ویژه کربوهیدرات نیز پیوند نمی‌یابد. لذا چنین پروتئینی این اصل را که پروتئین‌های سطح سلولی پستانداران گلیکوزیله هستند نقض نمود. بعلاوه بر خلاف اکثر پروتئین‌های غشاء گلبول قرمز فسفریله نمی‌باشد [۴۲]. پلی پپتید D با اسید چرب آسیله شده است، زنجیره‌های اسید پالمیتیک از طریق اتصالات تیواستری به ریشه‌های سیستمین که در نزدیکی لایه سیتوپلاسمی دو لایه چربی غشاء قرار گرفته‌اند متصل می‌گردند [۴۳ و ۴۴].

راسب سازی ایمنی پروتئین‌های غشائی نشاندار شده با ید رادیواکتیو، با استفاده از آنتی-C یا آنتی-E پلی کلونال یا مونوکلونال و یا توسط یک آنتی‌بادی مونوکلونال (R6A) علیه یک اپیتپ غیر پلی مرفیک در CcEe، نشان داد که آنتی‌ژن‌های CcEe با یک پروتئین غشائی با وزن مولکولی حدود ۳۰۰۰۰ مرتبط می‌باشند [۳۷، ۳۹، ۴۱ و ۴۵]. این جزء مشابه پلی پپتید D می باشد: آب گریز [۳۷]، حاوی اسید

1 - Green *et al.*

2 - Lorusso *et al.*

3 - Moore *et al.*

4 - Gahmberg

5 - Sodium Dodecyl Sulphate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis

پالمیتیک [۴۳ و ۴۴] و غیر گلیکوزیله [۴۱]. حرکت الکتروفورزی آن اندکی متفاوت از حرکت الکتروفورزی پلی پتید D است و وزن مولکولی آن حدود ۲۰۰۰ بیشتر است [۳۷، ۳۹ و ۴۱].

تائید اینکه آنتی ژن های D و CcEe بر روی پلی پتیدهای مشابه اما دارای اختلاف واضح بیان می گردند، حاصل نقشه برداری های یک بعدی و دو بعدی پتیدی بود. در این روش یا از پتیدهای نشاندار شده با ید رادیو اکتیو که از طریق تجزیه پروتئازی پلی پتیدهای ۳۰۰۰۰ دالتونی مشتق از گلوبول های قرمز D+ و D- تولید شده بودند [۴۶ و ۴۷]، یا از پلی پتیدهای Rh تخلیص شده با آنتی بادی های مونوکلونال D، c یا E [۴۸ و ۴۹]، استفاده گردید.

اختلافات اندک (۱۳/۱۴) یو پتیدها یکسان بودند) در نقشه های پتیدی دو بعدی از پتیدهای ترپتیک و کیموترپتیک (محصولات هضم پروتئین با تریپسین و کیموترپسین م) که با استفاده از آنتی-c یا آنتی-E از گلوبول های قرمز DcE/DcE جدا سازی شده بودند حاکی از این بود که آنتی ژن های Cc و Ee روی پلی پتیدهای بسیار مشابه اما متمایز وجود دارند [۴۹]. این نتیجه گیری که در حال حاضر غلط تلقی می گردد، ممکن است حاصل هضم ناقص پتیدهای جدا شده بوده باشد.

با استفاده از مقادیر کم پلی پتید D رسوب داده شده و نشاندار شده با ¹²⁵I بعنوان یک ردیاب، پلی پتیدهای Rh با وزن مولکولی ۳۰۰۰۰ به طریقی غیر ایمونولوژیک از اسکلت های غشائی یا وزیکول های غشائی محلول و با استفاده از کروماتوگرافی هیدروکسیل آپاتیت، فیلتراسیون ژل و PAGE تخلیص گردیدند [۴۷ و ۵۰]. از بیست ریشه اسید آمینه ای انتهای آمینی، نوزده مورد شناسایی شد، و از پلی پتیدهای جدا شده از گلوبول های قرمز D+ یا D-، توالی هایی یکسان بدست آمد [۴۷].

پلی پتید D همچنین از طریق راسب سازی ایمنی در مقیاس وسیع با استفاده از آنتی-D مونوکلونال خالص سازی گردید [۴۸ و ۵۱]. پلی پتید CcEe نیز با همان تکنیک و با استفاده از آنتی بادی های مونوکلونال از نوع R6A تخلیص شد [۵۱]. توالی های اسید آمینه ای حاصل شده برای ۴۱ ریشه انتهای آمینی پلی پتیدهای D و CcEe یکسان بودند [۵۲].

اگرچه جداسازی پروتئین های Rh از غشاء معمولاً منجر به از دست رفتن فعالیت آنتی ژنیک می گردد، ترکیبات محلول پروتئین Rh در بافرهای Zwitterionic فعالیت D پایداری داشتند [۵۳]. پروتئین RhD که بدین شیوه تهیه شده بود به سطوح پلاستیکی می چسبید و آنتی-D مونوکلونال را جذب می نمود.

۵-۵-۲ کلون سازی ژن های Rh

در سال ۱۹۹۰، تیم های تحقیقاتی در بریستول و پاریس با بکارگیری توالی اسید آمینه ای انتهای آمینی پلی پتید D، ژن Rh را جداسازی و کلون نمودند. اونت و همکاران^۱ [۵۲] پرایمرهای

1 - Avent et al.

الیگونوکلئوتیدی degenerate، مربوط به ریشه‌های اسید آمینه‌ای ۲۸-۳۵ (sense) و ۴۷-۵۴ (anti-) (sense) از پلی پپتید D را در یک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حضور cDNA رتیکولوسیت انسانی بعنوان الگو استفاده نمودند. چریف-زهر و همکاران^۱ [۵۴] مخلوطی از پرایمرهای مربوط به ریشه‌های اسید آمینه‌ای ۳-۷ و ۲۷-۳۲ از پلی پپتید D در حضور cDNA اریتروبلاست طحالی را مورد استفاده قرار دادند. کتابخانه‌های cDNA مغزاستخوان انسانی با محصولات نشاندار PCR غربالگری شدند و هر دو تیم تحقیقاتی یک ژن مشابه دارای یک چهارچوب قرائت باز را که نمایانگر ۴۱۷ اسید آمینه بود اما با توالی پلی پپتید D تفاوت داشت، جدا سازی نمودند. متعاقباً نشان داده شد که این cDNA نشانگر *RHCE* است [۵۵ و ۵۶]. توالی اسید آمینه‌ای استنباط شده در شکل ۵-۱ نشان داده شده است. وان کیم و همکاران^۲ [۵۷] در سال ۱۹۹۲ cDNA مربوط به *RHD* را پس از غربالگری بیشتر یک کتابخانه cDNA مغزاستخوان انسانی با *RHCE* cDNA، کلون کردند. همچنین توالی نوکلئوتیدی، یک پلی پپتید ۴۱۷ اسید آمینه‌ای را که دارای ۹۲٪ شباهت توالی با پلی پپتید CcEe بود، پیش‌بینی می‌نمود (شکل ۵-۱). *RHD* cDNA مستقلاً توسط کاجی و همکاران^۳ [۵۸] و نیز توسط آرس و همکاران^۴ [۵۹] کلون شد.

۳-۵-۵ پلی پپتیدهای Rh

گرچه چهار چوب‌های قرائت باز cDNA مربوط به *RHD* و *RHCE*، پلی پپتیدهای ۴۱۷ اسید آمینه‌ای را کد می‌نمایند، متیونین انتهای آمینی، که نمایانگر سیگنال شروع ترجمه mRNA است، از پروتئین‌های کامل‌کننده می‌شود [۵۴ و ۵۲]. پلی پپتیدهای RhD و RhCcEe، بر طبق آل *RHCE*، بین ۳۱ و ۳۵ اسید آمینه با هم تفاوت دارند. مناطق انتهای آمینی و انتهای کربوکسیلی کاملاً حفظ شده‌اند (شکل ۵-۱).

وزن مولکولی محاسبه شده پلی پپتیدهای Rh، ۴۵۵۰۰ است [۵۲ و ۵۷]. وزن مولکولی بسیار کمتر از این مقدار که با استفاده از SDS-PAGE برآورد شده، احتمالاً ناشی از پیوند بسیار قوی SDS (سدیم ددسیل سولفات) به این پروتئین‌های به شدت آبگریز است. نتایج بررسی‌های هیدروپاتی روی توالی‌های اسید آمینه‌ای حاکی از این بود که پلی پپتیدهای Rh، دو لایه چربی غشا را دوازده بار طی می‌کنند [۵۲ و ۵۸]. توالی حوزه انتهای آمینی، به همراه عدم وجود یک توالی سیگنال انتهای آمینی‌کننده شده، دال بر استقرار انتهای آمینی در درون سیتوپلاسم بود [۵۲ و ۵۴].

1 - Cherif-Zahar et al.

2 - Van Kim et al.

3 - Kajji et al.

4 - Arce et al.

CcEe ^C _C	mSSKYPRSVR RCLPL ^C _W ALT ^L EAALILLFYF FTHYDASLED QKGLVASYQV 50
D	-----W-----
CcEe ^C _C	GQDLTVMAA ^I _L GLGFLTS ^S _N FR RHSWSSVAFN LFMLALGVQW AILLDGFLSQ 100
D	-----I-----S-----
CcEe ^C _C	FP ^S _P GKVVITL FSIRLATMSA MSVLISAGAV LGKVNLAQLV VMVLVEVTAL 150
D	--S-----L----VD--
CcEe	GTLRMVISNI FNTDYHMNLR HFYVFAAYFG LTVAWCLPKP LPKGTEEDNDQ 200
D	N-----MM--I-----S-----E---K--
CcEe ^E _e	RATIPSLSAM LGALFLWMFW PSVNS ^P _A LLRS PIQRKNAMFN TYALAVSVV 250
D	T-----F--A---E---V---V---
CcEe	TAISGSSLAH PQRKISMTYV HSAVLAGGVA VGTSCHLIPS PNLAMVLGLV 300
D	-----G--K-----
CcEe	AGLISIGGAK CLPVCCNRVL GIHHISVMHS IFSLLGLLGE ITYIVLLVLH 350
D	-----V---Y--G-----P-S-I-GY N-----I-----D
CcEe	TVWNGNGMIG PQVLLSIGEL SLAIVIALTS GLLTGLLLNL KIWKAPHVAK 400
D	--GA-----E--
CcEe	YFDDQVFVKF PHLAVGF 417
D	-----

شکل ۵-۱. توالی‌های اسید آمینه‌ای پلی پپتیدهای CcEe که از توالی‌های نوکلئوتیدی cDNA استخراج گردیده‌اند [۵۲، ۵۴ و ۶۰-۵۷]. در جاهایی که اسید آمینه هر دو پلی پپتید یکی است، اسید آمینه مربوط به پلی پپتید D با یک خط تیره (-) مشخص شده است. متیونین انتهای آمینی (m در موقعیت ۱) از پروتئین‌های کامل کننده می‌شود. پلی مرفیسم‌های Cc و Ee نیز نشان داده شده‌اند [۶۰ و ۵۶]، حوزه‌های پیشنهاد شده خارج سلولی پررنگ نشان داده شده‌اند، گرچه اطلاع دقیقی از نقشه پروتئین‌ها در دست نمی‌باشد [۶۳-۶۱]. توالی‌های خاص (موتیف) Cys-Leu-Pro (CLP)، که جایگاه احتمالی اتصال اسید پالمتیک می‌باشند، بصورت خوابیده نشان داده شده‌اند.

اونت و همکاران^۱ [۶۴] از طریق تولید یک آنتی‌بادی در خرگوش‌ها بر علیه یک پپتید صنعتی که نمایانگر حوزه انتهایی کربوکسیلی پلی پپتیدهای Rh بود، نشان دادند که انتهای کربوکسیلی نیز سیتوپلاسمی است. این آنتی‌بادی پلی پپتیدهای D و CcEe مشتق از گلبول‌های قرمز کامل را رسوب نداد، اما منجر به رسوب این پلی پپتیدها از غشاءهای نشسته کننده (رخنه دار) گلبول‌های قرمز گردید، زیرا در این حالت آنتی‌بادی به سطح سیتوپلاسمی غشاء دسترسی پیدا می‌کند. بعلاوه، مجاور نمودن غشاءهای نشسته کننده با کربوکسی پپتیداز Y، آنزیمی که منطقه انتهایی کربوکسیلی را می‌شکافد، منجر به مهار شدن اتصال آنتی‌بادی خرگوش گردید، در صورتی که اثر دادن آنزیم فوق بر گلبول‌های قرمز

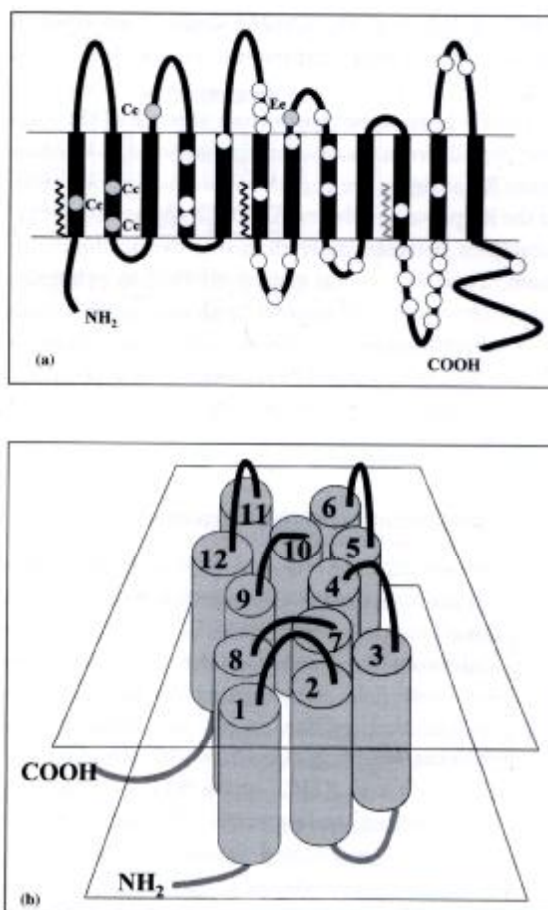
1 - Avent et al.

کامل، هیچ نوع تاثیری نداشت [۶۴]. آزمایشات مشابه با آنتی‌بادی‌های ضد پپتیدهای صنعتی، موقعیت داخل سلولی انتهای کربوکسیلی را تایید نموده [۵۵ و ۶۵] و منجر به این توافق عمومی شده است که پلی پپتیدهای D و CcEe غشاء را دوازده بار طی می‌کنند و لذا دارای حداکثر شش حوزه خارج سلولی می‌باشند (شکل ۵-۲).

پلی پپتیدهای D و CcEe به ترتیب پنج و شش ریشه سیستمی دارند. سه تا از این ریشه‌ها در پلی پپتید CcEe و دو تا در پلی پپتید D، تشکیل موتیف‌های Cys-Leu-Pro در نقطه ورود پلی پپتید به درون لایه سیتوپلاسمی دو لایه چربی غشا می‌دهند و احتمالاً حاکی از جایگاه‌های اصلی اتصال اسید پالمیتیک می‌باشند [۴۳ و ۴۴] (شکل ۵-۲). بیان پلی پپتید RhD در سلول‌های اریترولوکمیک (K562) و تبدیل ریشه‌های سیستمی در موقعیت‌های ۱۲، ۱۸۶، ۳۱۵ و ۳۱۶ به آلانین با استفاده از جهش‌زایی هدف دار، ثابت نمود که ریشه‌های سیستمی داخل سلولی به منظور جابجایی RhD به غشاء و مجتمع شدن آن درون غشاء ضروری نمی‌باشند [۶۷]. در هر حال، اسید پالمیتیک ممکن است نقشی را در حفظ ساختمان نوع سوم پروتئین بازی کند، آنچنانکه یازده نمونه از بیست نمونه آنتی-D مونوکلونال واکنش ضعیفی را با پروتئین جهش یافته نشان دادند.

هر دو پلی پپتید RhD و RhCcEe دارای یک ریشه سیستمی در موقعیت ۲۸۵ در حلقه پنجم خارج سلولی می‌باشند. Cys285 به منظور بیان D, C, c, E, e ضروری تلقی شده است زیرا وقتی که غشاءها با معرف‌های نافذ و غیر نافذ سولفیدریل مجاور شدند فعالیت آنتی‌ژنی را از دست دادند [۳۱، ۳۲، ۶۸ و ۶۹]، گرچه این معرف‌های متصل شونده به سیستمی ممکن است تغییراتی را در آرایش فضایی پروتئین‌های Rh بوجود آورده باشند که بیان آنتی‌ژن را تحت تاثیر قرار داده یا بصورت Sterical پیوند آنتی‌بادی‌ها را مهار نموده باشند. مطالعات بعدی با گلبول‌های قرمز کامل و معرف‌های سولفیدریل حاکی از این بوده است که Cys285 به منظور بیان آنتی‌ژن‌های Rh حیاتی نمی‌باشد [۷۰ و ۷۱]. بعلاوه سلول‌های K562 آلوده شده به RHDcDNA که در آن کدون Cys285 به آلانین تبدیل شده بود؛ دارای بیان طبیعی تمامی اپیتپ‌های D بودند [۷۲].

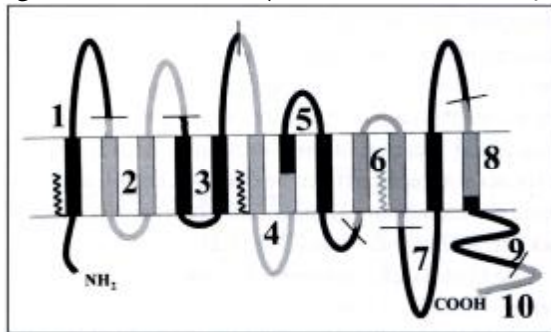
فنوטיפ D- ناشی از عدم وجود پلی پپتید RhD در غشاست (بخش ۵-۶-۱). اکثر آنتی‌ژن‌های دیگر Rh متکی به آرایش فضایی پروتئین Rh در غشا هستند و ممکن است شامل برهم کنش‌های بین بیش از یک حوزه خارج سلولی باشند. بیان آنها می‌تواند تحت تاثیر تغییرات جزئی در پروتئین نظیر جایگزینی اسید آمینه در یک حوزه طی کننده غشایی پروتئین، که ممکن است بدور از توالی مسئول بیان آنتی‌ژن باشد، قرار گیرد.



شکل ۵-۲. نمایش‌های دیاگرامی نقشه احتمالی پلی پپتیدهای D و CcEe درون غشاء گلبول قرمز که دوازده حوزه طی کننده غشاء و پایانه‌های آمینی و کربوکسیلی را نشان می‌دهند. (a) خطوط زیگزاگ حاکی از جایگاه‌های احتمالی اضافه شدن اسید پالمیتیک (موتیف‌های Cys-Leu-Pro) می‌باشند، جایگاه سوم در حوزه دهم طی کننده غشاء فقط در پلی پپتید CcEe وجود دارد. حلقه‌ها نمایانگر جایگاه‌هایی هستند که در آنها ریشه‌های اسید آمینه‌ای پلی پپتیدهای D و CcEe ممکن است با هم تفاوت داشته باشند، حلقه‌هایی که خاکستری رنگ بوده و با Cc و Ee مشخص شده‌اند حاکی از پلی مرفیسم Cc و Ee می‌باشند. (b) دیاگرام یک نمایش سه بعدی پروتئین‌ها در غشاء را نشان می‌دهد که در آن استوانه‌های شماره گذاری شده نشانگر دوازده حوزه طی کننده غشاء می‌باشند (اصلاح شده از منبع [۶۶]).

۴-۵-۵ تشکیلات ژنهای Rh

دو ژن Rh، *RHD* و *RHCE*، از یک سازماندهی ژنی تقریباً یکسان برخوردارند، هر کدام از ده اگزون تشکیل شده‌اند، اگزون‌های ۱-۷، هر کدام ۵۰-۶۰ اسید آمینه و اگزون‌های ۸-۱۰، ریشه باقیمانده را کد می‌نمایند [۷۳ و ۷۴] (جدول ۴-۵). مناطقی از پلی پپتید Rh که توسط اگزون‌ها رمز دهی می‌گردند بر طبق مدل دوازده حوزہ طی کننده غشاء در شکل ۳-۵ به نمایش درآمده‌اند. *RHCE* دارای ۹۳/۸٪ شباهت در تمامی اگزون‌های کد کننده و ایترون‌ها می‌باشند [۷۵]. برجسته‌ترین اختلاف در ایترون ۴ است، یعنی جایی که *RHD* دارای حذفی به طول تقریبی ۶۰۰ جفت باز نسبت به *RHCE* می‌باشد [۷۵، ۷۷-۷۹]. چهار حذف یا قطعه دخول یافته ایترونی دیگر با طول بیش از ۱۰۰ جفت باز شناسایی شده‌اند [۷۵]. واحدهای تکرار شونده کوتاه متعددی وجود دارند [۷۵]، آنهایی که درون ایترون‌های ۲ و ۸ هستند در حد بسیار کاملی از جهت پلی مرفیسم مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته‌اند [۷۸ و ۷۹]. منطقه مجاور ۵' *RHCE* حاوی حداقل دو موتیف (توالی خاص) پیوند کننده GATA-1 اختصاصی ایتروئید، به اضافه جایگاه‌های پیوند کننده SP1 و Ets می‌باشند [۷۳].

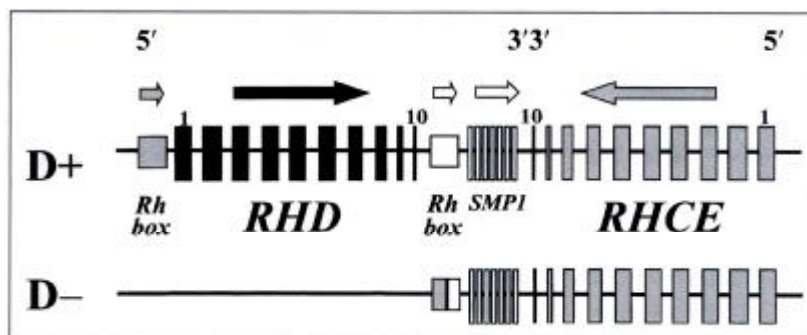


شکل ۳-۵. مدل پلی پپتیدهای RhD و RhCcEe در غشا که مناطق کد شده توسط ده اگزون را نمایش می‌دهد.

ژن‌های *RHD* و *RHCE* به ترتیب متشکل از ۵۷۲۹۵ و ۵۷۸۳۱ جفت باز می‌باشند [۷۵]، و حدود ۳۰ کیلوباز که حاوی ژن SMP1 (پروتئین کوچک غشائی ۱) می‌باشد، از هم فاصله دارند [۸۰] (شکل ۴-۵). این دو ژن بصورت دم به دم (5'*RHD*3'-3'*RHCE*5') آرایش یافته‌اند و *RHD* نسبت به *RHCE*، سانترومریک می‌باشد [۸۰ و ۸۱]. در مجاورت *RHD* دو منطقه نه کیلو بازی با ۹۸/۶٪ شباهت به نام جعبه‌های رزوس (اما در اینجا جعبه‌های Rh نامیده می‌شوند) قرار گرفته‌اند. حذف *RHD*، علت معمول فنوتیپ D- در افراد سفید پوست، به نظر می‌رسد که بین یک منطقه ۱۴۶۳ جفت بازی یکسان در هر کدام از جعبه‌های Rh اتفاق افتاده باشد [۸۰] (شکل ۴-۵).

جدول ۴-۵. تشکیلات *RHAG*, *RHCE*, *RHD*

Exons	Codons		3' intron size (bp)		
	<i>RHD</i> & <i>RHCE</i>	<i>RHAG</i>	<i>RHD</i>	<i>RHCE</i>	<i>RHAG</i>
1	1-49	1-52	11 857	11 758	17 700
2	50-112	53-114	5 269	5 575 C 5 318 c	1 000
3	113-162	115-164	10 131	10 437	2 300
4	163-211	165-213	426	1 075	800
5	212-267	214-269	1 627	1 627	2 100
6	268-313	270-315	3 134	3 133	1 200
7	314-358	316-356	10 276	10 268	3 800
8	359-384	357-379	4 843	4 826	200
9	385-409	380-404	6 942	7 918	900
10	410-417	405-409			



شکل ۴-۵. تشکیلات ژنومی ژنهای Rh در هاپلوتیپهای بارز D+ (بالا) و D- (پایین)، که *RHD*، دو جعبه Rh همسان و *SMP1* در جهت 3' → 5'، و *RHCE* در جهت 5' → 3' را نشان می‌دهد. در هاپلوتیپ D-، حذف بخشی از هر کدام از جعبه‌های Rh و نیز بخشی از *RHD* مشهود است.

علاوه بر اشکال طبیعی mRNA مربوط به *RHD* و *RHCE* که حاوی توالی از تمامی ده اگزون می‌باشند، اشکال متعدد دیگر نیز شناسایی شده‌اند که دارای شیوه‌های متفاوت پیرایش^۱ می‌باشند [۸۲] و [۸۳]. اما، هیچگونه شاهدهی دال بر اینکه اینها به شکل پروتئین در غشاء بروز می‌یابند وجود ندارد.

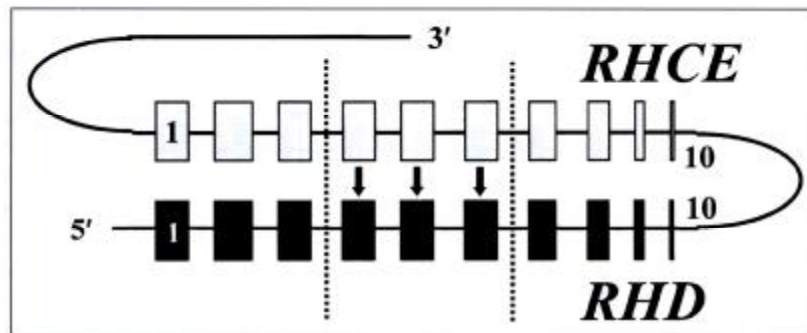
۵-۵-۵ نوآرایی ژنومی *RHCE*, *RHD*

کراسینگ اور نابرابر و تبدیل ژنی، بعنوان مکانیسم‌های ایجاد کننده نوترکیبی ژنومیک بین ژن‌های همسان مرتبط بهم، در بخش ۳-۱۰ در مورد *GYPB* و *GYPB*، ژن‌های مربوط به آنتی‌ژن‌های گروه خونی *MNS*، توصیف شده‌اند. نوآرایی‌های ژنومی در ارتباط با نمونه‌های فراوانی از فنوتیپ‌های Rh واریان می‌باشند که در آنها ظاهراً تبدیل ژنی مکانیسم غالب است و منجر به ایجاد هیبریدهای *RHCE-D-CE* و *RHD-CE-D* می‌گردد. وقایع تبدیل ژنی بزرگ نوعی ژن Rh را بوجود می‌آورند که در آن یک قطعه اساسی توسط قطعه ای معادل از همسان خود جایگزین می‌گردد، در صورتی که وقایع تبدیل ژنی کوچک می‌توانند منجر به تبادل یک یا چند منطقه کوچک، که غالباً تغییرات اسید آمینه‌ای منفرد را بوجود می‌آورند، گردند (به شکل ۵-۶ مراجعه شود). بعلاوه اثرات تبدیل ژنی غالباً در ارتباط با جهش‌های بدون الگو می‌باشد، که نوکلئوتیدها را به نوکلئوتیدهایی که مشتق از هیچکدام از دو ژن نمی‌باشند، تبدیل می‌نمایند. نقاط شکست *D-CE* یا *CE-D* در مورد *DFR*، *DVI* و *R^N*، *Dc-*، همگی درون یک نقطه داغ نوترکیبی^۲ در یک توالی *Alu-S* و ۱۰۰ جفت باز بلافاصله در فرودست آن، و نیز درون اینترون ۳ ظهر می‌یابند (به شکل‌های ۵-۶ و ۵-۹ مراجعه شود) [۸۵].

RHCE و *RHD* در جهت‌های متضاد قرار گرفته‌اند، بطوری که این احتمال وجود دارد وقایع تبدیل ژنی مسئول تولید ژن‌های هیبرید Rh متعاقب جفت شدن *RHCE* و *RHD* در وضعیت *cis*، اتفاق افتاده باشند (شکل ۵-۵). مطابق با این فرض، جهش‌های موجود در اگزون‌های ۵ و ۷ مربوط به هاپلو تیپ *s^e* هم در ژن *RHCE* و هم در ژن *D*-(اگزون‌های ۸-۳) *RHD-CE* وجود دارند (بخش ۵-۱۳-۲). همینطور در هاپلو تیپ *DVI* نوع I، اگزون ۵ هر دو ژن *RHCE* و *D*-(اگزون‌های ۵-۴) *RHD-CE*، Pro226 را رمزدهی می‌کنند که مشخصه یک آلل *E* است (بخش ۵-۶-۴-۵).

1 - splicing

2 - recombination "hot spot"



شکل ۵-۵. مکانیسم احتمالی تبدیل ژنی Rh که در آن *RHCE* و *RHD* در وضعیت *cis* با هم جفت شده‌اند. در این مثال، اگزون‌های ۴-۶ در *RHD* توسط اگزون‌های همسان از *RHCE* جایگزین شده و تولید ژن *RHD-CE-D* که مشخصه DVI نوع II است، می‌کنند (به شکل ۵-۶ رجوع شود).

۵-۵-۶ تجلی ژن‌های Rh در آزمایشگاه

متعاقب کلون سازی ژن‌های Rh، تلاش‌های بعمل آمده در جهت بارز نمودن RhcDNA از طریق آلوده سازی سلول‌های یوکاریوتیک با حاملین (وکتورهای) بیان پلاسمید، با موفقیت بسیار محدودی مواجه شد [۵۵ و ۸۶]. در سال ۱۹۹۶، اسمایت و همکاران^۱ [۸۷] به منظور تجلی محصولات ژن Rh در سلول‌های K562، سلول‌های اریترولوکمیاپی که گلیکوپروتئین وابسته به Rh را که برای بیان آنتی‌ژن‌های Rh ضروری است بیان می‌سازند، از یک روش انتقال ژن با واسطه رتروویروس بهره جستند (بخش ۵-۷-۵). *cDNA* مشتق از *RHD* و آلل *cE* مربوط به *RHCE*، بصورت جداگانه به درون وکتور رتروویروسی pBabe puro کلون شدند و به منظور آلوده سازی سلول‌های K562 مورد استفاده قرار گرفتند. سلول‌های آلوده شده به *RHD cDNA* و D و G را بروز دادند. آنهایی که با *RHCE.cE cDNA* آلوده شدند، c و E را بیان نمودند. *E.Rh cDNA* متعاقباً به کمک تکنیک‌های مشابه در رده سلولی لوکمی میلوئیدی دیگر، KU-812E، بیان شده‌اند [۸۸].

1 - Smyrte et al.

۵-۵-۷ گلیکوپروتئین وابسته به Rh (RhAG, CD241)

در طول جدا سازی اولیه پلی پپتیدهای Rh با وزن مولکولی ۳۰۰۰۰، مور و همکاران^۱ [۳۷] متوجه رسوب همزمان اجزائی فرعی با حرکت الکتروفورزی کندتر شدند. مشخص شد این اجزاء که وزن مولکولی اشان بین ۳۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ متغیر بود، گلیکو پروتئین‌هایی بصورت نا همگن N- گلیکوزیده هستند، و دارای گروه‌های کربوهیدراتی قابل تخریب توسط اندو- بتا- گالاکتوزیداز می باشند که شاخص‌های ABH را حمل می‌نمایند [۴۱، ۵۱، ۸۹]. مجاور سازی با اندوگلیکوزیداز F-، که N- گلیکان‌ها را می‌شکند، وزن مولکولی ظاهری این اجزا را تا حدود ۳۰۰۰۰ کاهش داد [۸۹ و ۹۰]. این گلیکوپروتئین، Rh50 (اشاره به وزن مولکولی) نامیده شده است، اما در حال حاضر گلیکو پروتئین وابسته به Rh (RhAG)^۲ نامیده می‌شود.

یک تکنیک که شامل حل نمودن غشاء در دترژان غیر یونی (تریتون X100) و تعیین سرعت رسوب اجزاء غشائی از طریق شیب‌های غلظت ساکاروز بود حکایت از یک وزن مولکولی ۱۷۰۰۰۰ برای پلی پپتیدهای Rh داشت [۴۴]. یک برآورد مشابه از اندازه مولکولی نیز به کمک غیرفعال سازی با اشعه حاصل گردید [۹۱]. تفسیر این داده‌ها دال بر این بود که پلی پپتیدهای Rh در غشاء به صورت یک کمپلکس ماکرو مولکولی، احتمالاً به صورت یک تترامر متشکل از دو مولکول پلی پپتید Rh و دو مولکول RhAG، وجود دارند [۴۴]. این چهار مولکول ممکن است از طریق حوزہ‌های انتهایی آمینی خود، بر هم کنش دهند [۹۲ و ۹۵]. روش‌های پیوند کمی بین آنتی‌بادی‌های مونوکلونال و پلی پپتیدهای Rh و نیز آنتی‌بادی شبیه Duclos (بخش ۵-۵-۷) حاکی از این بود که $10^5 \times 1-2$ نسخه از این کمپلکس به ازاء هر گلبول قرمز وجود دارد [۹۳].

توالی‌های نوکلئوتیدی محصولات کلون شده PCR، که از DNA ژنومی با استفاده از پرایمرهای مشتق از توالی‌های اسید آمینه‌ای انتهایی آمینی RhAG تقویت شده بودند، یک پروتئین اصلی غشائی ۴۰۹ اسید آمینه‌ای بشدت آبگریز با دو جایگاه N- گلیکوزیلاسیون بالقوه خارج سلولی و بدون جایگاه اضافه شدن اسید پالمیتیک را پیش بینی نمودند. بررسی هیدروپاتی حاکی از این بود که RhAG دارای شباهت نزدیکی با پلی پپتیدهای Rh که دوازده حوزہ طی کننده غشاء دارند، می‌باشد [۹۴]. تنها Asn37، روی اولین حلقه خارج سلولی، N- گلیکوزیده است [۶۵]. بین RhAG و پلی پپتیدهای Rh درجه بالایی از شباهت در توالی وجود دارد، اما هیچ نشانی از پلی مرفیسم در RhAG به چشم نمی‌خورد [۹۴].

تشکیلات RHAG، ژنی که RhAG را رمزدهی می‌نماید، بسیار شبیه تشکیلات RHD و RHCE است (جدول ۵-۴) [۹۵-۹۷]. شباهت توالی، عمدتاً محدود به آگرون‌های ۹-۲ می‌باشد. منطقه آغازگر

1 - Moore et al.

2 - Rh associated glycoprotein

۵' حاوی چندین جزء فرضی عمل کننده در حالت *cis* می باشد که شامل یک توالی وارونه GATA در موقعیت ۵۸- تا ۵۳- که بعنوان یک آغازگر اختصاصی اریترئید عمل می کند است [۹۵ و ۹۸]. بعلاوه یک جایگاه بسیار حساس ده کیلو بازی ویژه اریترئیدی نیز در فرادست کدون شروع کننده ترجمه وجود دارد که تشدید کننده^۱ قدرتمند رونویسی از *RHAG* در سلول های K562 می باشد [۹۹]. این جایگاه می تواند مسئول بیان غالب *RHAG* در رده اریترئیدی باشد. مطالعات هیبریدیزاسیون سلول سوماتیک نشان داد که *RHAG* در ناحیه 6p21-qter واقع شده است [۹۴]، ژن هایی که Rh را کنترل می کنند بر روی کروموزوم ۱ واقع شده اند.

وجود *RhAG* در غشاء گلبول قرمز، لازمه بیان آنتی ژن های Rh می باشد. حالت هموزیگوت برای جهش های غیرفعال کننده در *RHAG*، شایع ترین علت فنوتیپ نادر *Rh_{null}* می باشد که در آن هیچ کدام از آنتی ژن های سیستم Rh بروز نمی یابد (به بخش ۵-۱۶-۲ رجوع شود).

سلول های اریترولوکمیک K562 در غشاء خود *RhAG* را بیان می نمایند. هرچند که این ممکن است بطور ناقص گلیکوزیله و وزن مولکولی ۳۲۰۰۰ داشته باشد [۱۰۰]. آلوده سازی این سلول ها با *cDNA* مربوط به *RHD* یا *RHCE* منجر به بیان آنتی ژن های Rh می گردد [۸۷ و ۸۸] (بخش ۵-۵-۶). زمانی که سلول های K562 آلوده شده به *RHD cDNA* با یک فوربول استر (TPA) مجاور شدند، بیان *RHAG* درون زاد (آندوژن) کاهش یافت، اما انتقال ژن *RHD* تقویت گردید [۱۰۱]. علی رغم این، بیان D کاهش یافت و فقط بروز *RhAG* نو ترکیب قادر بود بیان D را احیاء نماید. انتقال موفقیت آمیز *cDNA* مربوط به *RHAG* و *RHD* بدرون سلول های غیر اریترئیدی، منجر به بیان D نگردید [۸۸ و ۱۰۲]. آلوده سازی سلول های غیر اریترئیدی با قطعاتی که حاوی یک پلی پپتید *RhD* نشاندار شده با فلئوئورسانس بودند منجر به رنگ آمیزی فلئوئورسانس غشاء علی رغم حضور یا عدم حضور *RhAG* گردید [۱۰۳]. بنابر این به نظر می رسد که *RhAG* به منظور دخول پروتئین های Rh بدرون غشاء ضروری نباشد، اما برای حفظ شکل فضایی ضروری جهت پیوند یافتن آنتی بادی های Rh ضرورت دارد.

در طول اریتروپوئز خارج بدن، *RhAG* بطور کامل بر روی پیشسازان اریترئیدی قبل از بروز آنتی ژن های D یا CcEe بروز می یابد [۱۰۶-۱۰۴]. *RhAG* روی سلول های پیشساز اریترئیدی کاملاً گلیکوزیله نبوده و یک وزن مولکولی واضح ۳۲۰۰۰ دارد [۱۰۷]. N- گلیکان *RhAG* در سلول های *Rh_{null}* کوچک تر است، بدین معنی که *RhAG* در غیاب پلی پپتیدهای Rh سریعتر به سمت سطح سلول حرکت می کند [۹۰].

همولوگ های انسانی *RhAG*، که *RhBG* و *RhCG* (یا *RhGK*) نامیده می شوند، در سلول های غیر اریترئیدی شناسایی شده اند، و سایر آنها در دیگر گونه ها وجود دارند [۹۷، ۱۰۸ و ۱۰۹]. بدین ترتیب یک

خانواده Rh در انسان‌ها به طور معمول از پنج پروتئین تشکیل شده است که توسط ژن‌های *RHD*, *RHCE*, *RHAG*, *RHBG*, *RHCG* (*RHGK*) رمزدهی می‌شوند.

۵-۷-۱ آنتی‌ژن *Duclos* (901013)

Duclos (901013)، از آنتی‌ژن‌های با فراوانی زیاد می‌باشد. غیر از سلول‌های خانم *Duclos*، تنها سازنده آنتی - *Duclos*، آنتی‌ژن *Duclos* تنها در گلبول‌هایی وجود ندارد که Rh_{null} یا Rh_{mod} و نیز $U-$ هستند. خانم *Duclos*، ظاهراً یک فنوتیپ طبیعی DCE/dce اما یک آنتی‌ژن U اندکی ضعیف‌تر از U طبیعی داشت [۱۱۰]. یک آنتی‌بادی مونوکلونال MB-2D10 که علیه گلبول‌های قرمز انسانی ایجاد شده بود، بواسطه واکنش با تمامی گلبول‌ها بجز گلبول‌های فنوتیپ $U-$ Rh_{null} و $U-$ Rh_{mod} ، یک ویژگی شبیه *Duclos* را نشان می‌داد [۱۱۱]، تفاوت آن با آنتی‌بادی *Duclos*، واکنش با گلبول‌های قرمز خانم *Duclos* بود [۱۱۲]. ایمونوبلاتینگ نشان داد که اپیتپ MB-2D10 روی $RhAG$ واقع شده است [۱۱۳]، بنابر این احتمال دارد که *Duclos* بر روی $RhAG$ وجود داشته باشد.

۵-۵-۸ گلیکو پروتئین‌های فرعی *Rh*

چندین گلیکو پروتئین غشائی دیگر گلبول قرمز به واسطه یک فقدان جزئی یا کامل آنتی‌ژن‌های گروه خونی در گلبول‌های قرمز Rh_{null} ، با سیستم Rh مرتبط می‌گردند (بخش ۵-۱۶-۵). گلیکوپروتئین LW در گلبول‌های Rh_{null} اصلاً وجود ندارد و آنتی‌ژن‌های LW بر سطح گلبول‌های $D+$ به میزان بیشتری از گلبول‌های $D-$ بیان می‌گردند (فصل ۱۶). بعلاوه آنتی- LW مونوکلونال، گلیکوپروتئین LW و پلی پپتید Rh را تماماً رسوب می‌دهد [۱۱۴]. آنتی‌ژن $Fy5$ سیستم دافی (*Duffy*) (بخش ۸-۴-۳) نیز در گلبول‌های Rh_{null} اصلاً وجود ندارد، گرچه هیچ گواهی مبنی بر کاهش بیان گلیکو پروتئین دافی یا دیگر آنتی‌ژن‌های دافی وجود ندارد.

گلبول‌های Rh_{null} یک کاهش ۷۰-۶۰٪ را در گلیکو فورین B (GPB) نشان می‌دهند [۱۱۵] که به صورت کاهش سطوح آنتی‌ژن‌های S ، s و U منعکس می‌گردد (بخش ۳-۲۲). ارتباط بین Rh و GPB توسط یک آنتی‌بادی که صرفاً با گلبول‌های قرمز حامل آنتی‌ژن‌های S و D واکنش می‌داد و در یک مرد DCE/DcE و $S-s+$ با سابقه تزریق خون‌های متعدد ساخته شده بود، حمایت گردید [۱۱۶]. $RhAG$ در گلبول‌های فاقد GPB ($S-s-U-$) با شدتی بیشتر از گلبول‌های طبیعی گلیکوزیله شده است [۹۰]. GPB ممکن است انتقال $RhAG$ به سطح غشاء گلبول را، که در غیاب GPB مدت طولانی‌تری درون سیستم غشائی داخل سلول باقی می‌ماند و گلیکوزیلاسیون بیشتری را میسر می‌سازد، تسهیل نماید [۹۰].

CD47 یا پروتئین وابسته به اینتگرین^۱ (IAP)، یک گلیکوپروتئین شدیداً N-گلیکوزیله با وزن مولکولی ظاهری ۴۷۰۰۰-۵۲۰۰۰ (شرایط احیا کننده) در غشا گلبول‌های قرمز می‌باشد [۸۹]. این گلیکوپروتئین به میزان کاهش یافته‌ای (۷۵٪ میزان طبیعی) روی گلبول‌های Rh_{null} وجود دارد [۸۹، ۱۱۷ و ۱۱۸]. CD47 عضوی از ابر خانواده ایمونوگلوبولین است، که یک حوزه ایمونوگلوبولینی انتهای آمینی خارج سلولی و پنج حوزه انتهای کربوکسیلی آگریز طی کننده غشاء دارد [۱۱۹]. CD47 ممکن است بعنوان یک مارکر خودی از طریق پیوند یافتن با پروتئین تنظیم کننده سیگنال آلفا^۲ (SIRP α) بر سطح ماکروفاژها عمل نماید، که با این عمل ایجاد یک سیگنال منفی نموده از بیگانه خواری گلبول‌های قرمز جلوگیری بعمل می‌آورد [۱۲۰]. ماکروفاژهای طحالی در موش‌هایی که به آنها گلبول‌های قرمز موشی (CD47-null (CD47^{-/-} تزریق شده بود، به سرعت گلبول‌های تزریق شده را از خون محیطی حذف نمودند [۱۲۰]. ژن CD47 روی کرموزم ۳ در ناحیه 13.2-q 13.1-3q قرار گرفته است [۱۱۷ و ۱۱۸].

هیچ نوع شاهدهی دال بر اینکه آنتی‌ژن‌های سیستم Diego، بروز تغییر یافته‌ای را بر سطح گلبول‌های Rh_{null} نشان می‌دهند وجود ندارد، اما یک ارتباط بین باند ۳ (آنتی‌ژن Diego) و Rh از طریق آزمایشات آلوده سازی توام به اثبات رسیده است. سلول‌های K562 آلوده شده با cDNA مربوطه به RHD یا RHCE.cE به ترتیب آنتی‌ژن‌های D یا c و E را بروز می‌دهند [۸۷]. زمانی که این گلبول‌ها متعاقباً با cDNA کد کننده باند ۳ آلوده می‌شوند، سطوح D یا c و E و سطح RhAG که به صورت درونزاد تولید شده است، تا حد زیادی افزایش می‌یابد [۱۲۱ و ۱۲۲]. این اثر تقویت کنندگی بیان باند ۳ بنظر می‌رسد روی کمپلکس‌های RhCcEe-RhAG بیشتر از کمپلکس‌های RhD-RhAG باشد [۱۲۲]. این تاثیر زمانی که سلول‌های K562 با cDNA مربوط به باند ۳ که حاوی جهش اووالوسیتوز آسیای جنوب شرقی^۳ (SAO) است آلوده شوند، کاهش می‌یابد، که در این صورت کاهش بیان آنتی‌ژن‌های Rh بر سطح گلبول‌های قرمز SAO را نیز توضیح می‌دهد (بخش ۱۰-۸). بکمان و همکاران^۴ [۱۲۲] معتقدند که یک برهم کنش بین باند ۳ و کمپلکس‌های Rh-RhAG، جابجایی آنها به سطح گلبول را تقویت نموده و یا آرایش فضایی آنها در غشاء پلاسمایی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. ارتباطات توصیف شده در این بخش منجر به ارائه این نظریه شده است که پلی پپتیدهای Rh، گلیکو پروتئین‌های وابسته به آنها که بصورت همزمان رسوب می‌کنند و گلیکو پروتئین‌های فرعی، بصورت یک خوشه پروتئینی در غشاء گلبول قرمز وجود دارند [۱۱۵ و ۱۲۳]. ماهیت هر گونه ارتباط بین این ساختارها در درون غشاء، فعلاً موضوعی در حد حدس و گمان است. به نظر می‌رسد که فقط RhAG به منظور بیان آنتی‌ژن‌های Rh ضروری

1 - Integrin Associated Protein

2 - Signal Regulatory Protein α

3 - Southeast Asian Ovalocytosis

4 - Beckmann *et al.*

است. آنتی‌ژن‌های Rh به طور طبیعی بر سطح گلبول‌های قرمز دارای فنوتیپ‌های null مربوط به LW، GPB (همچنین GPA به اضافه GPB) و دافی، بیان می‌گردند. هیچ نوع فنوتیپ نقصان CD47 انسانی شناخته نشده است، اما غشاء گلبول‌های قرمز موشی‌هایی که ژن CD47 آنها سرکوب شده بود^۱، حاوی مقادیر طبیعی پروتئین‌های Rh و RhAG موشی بودند [۱۲۴]. هیچ گزارشی از آزمایشات مربوط به آنتی‌ژن‌های Rh در یک فرد فاقد باند ۳ یا در موش‌هایی که ژن باند ۳ آنها سرکوب شده است، وجود ندارد.

۵-۵-۹ ارتباط کمپلکس Rh با اسکلت غشائی

ارتباط پلی پپتیدهای Rh، RhAG و CD47 با ماتریکس نا محلول اسکلت غشاء گلبول قرمز در طول جداسازی در دترژان غیر یونی تریتون X-100 منجر به این نتیجه گیری شده است که کمپلکس Rh متصل به اسکلت غشاء می‌باشد [۱۲۵-۱۲۸]. شواهد بیشتر مبنی بر اینکه کمپلکس Rh اتصال محکمی با اسکلت غشاء دارد حاصل تصویر برداری فلئوئورسانس از دگرگونی‌های ریز^۲ می‌باشد. تکنیک‌های مذکور میزان توزیع مجدد پروتئین‌های نشاندار شده با فلئوئورسانس را در طول تغییر شکل غشاء که از طریق آسپیره شدن گلبول به درون یک میکروپیپت القاء می‌گردد، می‌سنجند [۱۲۹]. گلبول‌های قرمز نشاندار شده با قطعات Fab مربوط به آنتی-D یا آنتی-c، نتایجی را که حد واسط بین نتایج حاصله در مورد اکتین، جزئی از اسکلت غشاء، و باند ۳، یک گلیکو پروتئین غشائی با اتصال محکم به اسکلت غشائی، بود به دست داد. مکانیسم اتصال و اجزائی از کمپلکس Rh که در این اتصال شرکت می‌کنند، ناشناخته است.

۵-۶ آنتی ژن D و واریان‌های D

آنتی‌ژن D در بین آنتی‌ژن‌های Rh، ایمونوژن‌ترین و مهم‌ترین از لحاظ بالینی است. حدود ۸۰٪ گیرندگان D- که حجم‌های زیادی از خون D+ دریافت می‌دارند آنتی-D می‌سازند و تا زمان ظهور پروفیلاکسی ایمونوگلوبولینی، آنتی-D یک علت شایع واکنش همولیتیک شدید نوزاد بود. فنوتیپ‌های D+ و D- غالباً، Rh+ و Rh- نامیده می‌شوند. بین ۸۲ و ۸۸ درصد اروپایی‌ها و اهالی آمریکای شمالی D+ هستند، حدود ۹۵٪ آفریقایی‌های سیاهپوست D+ می‌باشند [۱۴ و ۲۱]. D در خاور دور آنتی‌ژنی با شیوع زیاد است بطوری که در بعضی از جمعیت‌ها به ۱۰۰٪ می‌رسد. با استفاده از تکنیک‌های طبیعی تعیین گروه خون، ۹۹/۷٪ چینی‌های هنگ کنگ [۱۳۰] و نسبت مشابهی از ژاپنی‌ها

1 - knockout mice

2 - microtransformations

[۱۴] بنظر D+ می‌آیند، اما نسبت قابل توجهی از آنهایی که بعنوان D- طبقه بندی می‌شوند دارای ژن D بسیار ضعیف به نام DEL می‌باشند [بخش ۵-۶-۴-۱۳].

بیان آنتی ژن D بصورت کمی تغییر می‌یابد، بطوری که طیفی از قدرت آنتی ژنی را از بیان بسیار قوی آن در D- تا D ضعیف که برجسته‌ترین آن DEL می‌باشد، بوجود می‌آورد. حتی در بیان فنوتیپ‌های شایع، تغییرات کمی D که به راحتی قابل شناسایی می‌باشند نیز مشهود است. در حضور C، آنتی ژن D به میزان کمتری بروز می‌یابد [۱۳۵-۱۳۱]، در عیارسنجی‌ها با آنتی-D، گلبول‌های Dce/DcE نمرات بالاتری از گلبول‌های DCE/DcE می‌دهند. فلوسایتومتری فلوئورسانس با استفاده از آنتی-D مونوکلونال و پلی کلونال سیر نزولی زیر را در قدرت آنتی ژنی D آشکار نمود:

[۱۳۶-۱۳۸] DCE/DcE > DCE/DcE > DCE/DcE > DCE/dce > DCE/dce

بحث بیشتر پیرامون جنبه‌های کمی D در بخش ۵-۶-۸ صورت گرفته است.

۵-۶-۱ ژنتیک مولکولی پلی مرفیسم D

خارج از سیستم ABO، مهم‌ترین پلی مرفیسم گروه خونی از نقطه نظر بالینی، D است. فنوتیپ D- حاکی از فقدان کامل پلی پتید D در غشاء گلبول قرمز و به تبع از آن فقدان تمامی اپیتپ‌های آنتی ژن D می‌باشد. این توضیح می‌دهد که چرا d، آنتی ژنی که آلل D باشد، تا کنون شناخته نشده است.

۵-۶-۱-۱ اروپایی‌ها

کولین و همکاران^۱ [۱۳۹] با استفاده از پروب کامل *CcEe cDNA* و چندین پروب اختصاصی آگزون در بررسی بروش ساترن DNA ژنومی دریافتند که دو ژن بسیار مشابه (همسان) با سازماندهی ژنتیکی یکسان در ژنوم افراد D+ وجود دارند، اما فقط یکی از آنها در افراد D- مشاهده می‌شود. عدم وجود ژن D در ژنوم افراد D- متعاقب کلون سازی *RHD* مورد تایید قرار گرفت [۵۷ و ۵۹]. آزمایشات متعدد با تکنیک‌های متنوع (به بخش ۵-۷ رجوع شود) نشان داده‌اند که حالت هموزیگوت برای یک حذف *RHD* شایع‌ترین علت فنوتیپ D- در افراد سفیدپوست می‌باشد و زمینه‌های مولکولی دیگر نادر هستند. حذف، بین دو منطقه ۱۴۶۳ جفت بازی یکسان درون جعبه‌های Rh که در مجاورت *RHD* قرار دارند، اتفاق می‌افتد [۸۰] (شکل ۵-۴).

آزمایشات بعمل آمده با تکنیکی که بطور اختصاصی اینترون ۴ و آگزون ۱۰ مربوط به *RHD* را شناسایی می‌نماید، نشان داد که تمامی ۵۵ اهدا کننده بریتانیایی dce/dce فاقد هر دو منطقه مذکور (اینترون ۴ و آگزون ۱۰) هستند، اما نتایج مغایر معمولاً در ارتباط با هاپلوتیپ‌های dCe و dCE بودند [۷۶، ۱۴۰، ۱۴۱]. از میان ۳۳ اهدا کننده dCe/dce، دو نفر دارای اینترون ۴ و آگزون ۱۰ مربوط به *RHD*

1 - Colin et al.

بودند، یک نفر اینترون ۴ را داشت اما فاقد اگزون ۱۰ بود، و شش نفر اگزون ۱۰ RHD را داشتند اما فاقد اینترون ۴ بودند. از سه اهدا کننده dCE/dce، دو نفر دارای اینترون ۴ و اگزون ۱۰ RHD بودند اما یک نفر اینترون ۴ را داشت ولی فاقد اگزون ۱۰ بود. تعیین توالی نشان داد که یک اهدا کننده dCe/dCe دارای RHD کامل است، اما در اگزون ۱، یک جهش بی معنی (GLN41stop) دارد [۷۶]. یک استرالیایی سفید پوست با گلبول‌های قرمز dCe/dce دارای یک حذف چهار جفت بازی در انتهای ۵' اگزون چهارم RHD بود که یک انتقال چهارچوب و یک کدون توقف زودرس را در اگزون ۴ ایجاد نموده بود [۱۴۲]. فراوانی حذف RHD در یک جمعیت غالباً سفید پوست انگلیسی را می‌توان حدود ۰/۳۹ برآورد نمود (ماخوذ از داده‌های موجود در جدول ۵-۲).

۵-۶-۲-۱ آفریقایی‌ها

در آفریقایی‌های سیاهپوست شایع‌ترین زمینه مولکولی برای D-، حالت هموزیگوت یا همی زیگوت (همرا با یک حذف RHD) برای یک RHD کامل اما غیرفعال می‌باشد [۱۴۱ و ۱۴۳]. این ژن غیرفعال، که ژن کاذب RHD یا $RHD\Psi$ نامیده می‌شود، حاوی یک توالی مضاعف ۳۷ جفت بازی است که متشکل از آخرین نوزده نوکلئوتید اینترون ۳ و اولین هیجده نوکلئوتید اگزون ۴ می‌باشد [۱۴۳]. این توالی مضاعف قادر است تولید یک انتقال چهارچوب قرائت نماید و یک کدون توقف ترجمه زودرس را بوجود آورد. از طرفی دیگر، اگر جایگاه برش بالقوه در انتهای ۳' توالی اینترونی وارد شده در اگزون ۴ به کار گرفته می‌شد، توالی اگزون ۴ بدون تغییر می‌ماند. $RHD\Psi$ همچنین دارای یک جهش بی معنی (Tyr269stop) در اگزون ۶ می‌باشد که بطور قطع حاکی از عدم وجود پروتئین RHD در غشاء گلبول قرمز می‌باشد [۱۴۳]. هیچ نوع رونوشت مشتق از $RHD\Psi$ شناسایی نشد. $RHD\Psi$ معمولاً نسبت به آلل ce از $RHCE$ در وضعیت cis قرار دارد.

ژن غیر طبیعی دیگر که در آفریقایی‌های D- نسبتاً شایع است، $RHD-CE-D^S$ می‌باشد، ژنی هیبرید که متشکل از اگزون‌های ۱ و ۲ و انتهای ۳' اگزون سوم RHD، انتهای ۵' اگزون ۳ و اگزون‌های ۷-۴ از $RHCE$ ، و اگزون‌های ۹ و ۱۰ از RHD (اگزون ۸ تعیین نشده است) می‌باشد [۱۴۶-۱۴۴]. این ژن تولید هیچ نوع D نمی‌کند، اما احتمال می‌رود که تولید C غیر طبیعی نماید. $RHD-CE-D^S$ در ارتباط با فنوتیپ $VS+V-$ و هاپلوتیپ $d(C)ce^s(r^s)$ می‌باشد (بخش ۵-۱۳).

بدنبال آزمایشات بعمل آمده روی صد اهدا کننده سیاهپوست از آفریقای جنوبی، فراوانی‌های ذیل در مورد آلل‌های D- بطور تقریبی برآورد شدند: حذف RHD : ۰/۱۰، $RHD\Psi$: ۰/۰۷، $RHD-CE-D^S$: ۰/۰۴ [۱۴۳ و ۱۴۶]. از میان ۸۲ آفریقایی سیاهپوست D-، ۶۷٪ $RHD\Psi$ و ۱۵٪ $RHD-CE-D^S$ داشتند، و ۱۸٪ فاقد RHD بودند. در مورد ۵۴ آمریکایی آفریقایی تبار D- ارقام مربوطه ۲۴٪، ۲۲٪ و ۵۴٪ بودند [۱۴۳].

۵-۶-۳ آسیایی‌ها

وجود *RHD* در بعضی از آسیایی‌های *D*- در ابتدا به واسطه شناسایی *cDNA RHD* مشتق از سلول‌های پیشساز اریتروئیدی در ژاپنی‌های *D*- نشان داده شد [۵۸، ۱۴۷ و ۱۴۸]. اساس مولکولی فنوتیپ *D*- در آسیای شرقی مشخص نمی‌باشد. این تا حدودی بواسطه حضور یک آنتی‌ژن فوق العاده ضعیف به نام *DEL* می‌باشد که فقط با تکنیک‌های بسیار حساس بخصوص جذب و جداسازی قابل شناسایی است (بخش ۵-۶-۴-۱۳).

در یک مطالعه روی ۱۳۰ اهدا کننده ژاپنی *D*- (*DEL* یافت نشد)، ۶۳٪ فاقد *RHD* بودند، ۲۸٪ (همگی *C+*) یک *RHD* دست نخورده داشتند و دو مورد دارای ژن‌های هیبرید احتمالی *RHD-CE-D* بودند [۷۷]. تمامی آگزون‌ها و منطقه آغازگر ژن‌های دست نخورده *RHD* تعیین توالی شدند، اما علتی برای غیرفعال شدن این ژن‌ها پیدا نشد. در مطالعاتی دیگر که روی ۳۰۶ اهداکننده ژاپنی با یک فنوتیپ ظاهری *D*- صورت پذیرفت، در ۶۷٪ هیچ گونه *RHD* شناسایی نشد و مابقی آنها *DEL* بودند [۱۴۹]. از میان ۸۷ اهدا کننده ظاهراً *D*- از جمهوری خلق چین، ۶۰٪ فاقد *RHD* بودند، ۲۵٪ (همگی *C+*) یک *RHD* سالم داشتند و ۱۵٪ (همگی *C+*) دست کم دارای یک آگزون *RHD* بودند [۱۵۰]. در دو مطالعه روی ۲۳۰ و ۲۰۴ تایوانی، نتایج ذیل حاصل گردید: ۶۳٪ و ۷۴٪ بدون *RHD*، ۳۳٪ و ۲۰٪ *DEL*، ۴٪ و ۶٪ ژن‌های هیبرید *RHD-CE-D* [۱۵۱ و ۱۵۲]. این ژن هیبرید در صورتی که مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد، متشکل از آگزون‌های ۱، ۲ و ۱۰ از *RHD* و آگزون‌های ۳-۹ از *RHCE* می‌باشد [۱۵۲].

۵-۶-۲ *D* ضعیف (*D^u*) و *D* جزئی

استراتون^۱ [۱۵۳] برای اولین بار اصطلاح *D^u* را برای نوعی آنتی‌ژن *D* که فقط با بعضی از معرف‌های آنتی-*D* قابل شناسایی بود، عنوان کرد. *D^u* به انواع «درجه بالا» که در آن گلبول‌ها مستقیماً توسط آنتی-*D* آگلوتینه می‌شدند و «درجه پایین» که در آن آنتی‌ژن *D* فقط در یک آزمایش آنتی‌گلوبولین قابل شناسایی بود، تقسیم بندی گردید [۱۵۴ و ۱۵۵]. ثابت شد که *D^u* به ارث می‌رسد و آلل *D^u* بر *d* غالب و نسبت به *D* طبیعی مغلوب می‌باشد [۱۵۳، ۱۵۵ و ۱۵۶] (اما به بخش ۵-۶-۶ نیز رجوع شود). بتدریج *D^u* بعنوان *D* مربوط به گلبول‌های قرمز که توسط آنتی-*D* نوع *IgM* آگلوتینه نشده اما توسط آنتی-*D* نوع *IgG* در آزمایش آنتی-گلوبین آگلوتینه می‌گردند، تعریف شد. با ظهور معرف‌های امروزی و قوی‌تر آنتی-*D*، اکثر گلبول‌های قرمز که سابقاً بعنوان *D^u* طبقه بندی می‌شده‌اند، امروزه در آزمایشات معمول بعنوان گلبول‌هایی که یک *D* غیر طبیعی دارند تلقی نمی‌گردند.

D^u بعنوان یک واریان کاملاً کمی *D* در نظر گرفته شده است تفاوت آن با *D* طبیعی مطلقاً در تعداد جایگاه‌های آنتی‌ژنی در هر گلبول قرمز می‌باشد [۱۶۱-۱۵۷]. بنابراین، هیچ نوع آنتی‌ژن *D^u* و یا

1 - Straton

آنتی - D^u نمی تواند وجود داشته باشد، بدین ترتیب در سال ۱۹۹۰، « D^u » جای خود را به «D ضعیف» داد [۱۶۲].

غالباً تعریف D ضعیف متکی به معرف های آنتی -D و تکنیک های مورد استفاده بوده است، لذا تعیین فراوانی ها برای فنوتیپ D ضعیف مشکل می باشد. بر اساس یک برآورد، فراوانی D ضعیف در اهدا کنندگان سفیدپوست و اهدا کنندگان سیاهپوست شمال لندن، به ترتیب ۳/۰٪ و ۱۷/۱٪ اعلام گردید [۱۶۳]. تعاریف مولکولی D ضعیف تعیین دقیق تر فراوانی D ضعیف را امکان پذیر می سازد (بخش ۵-۴-۶-۱۲).

در صورتی که D ضعیف (D^u) یک واریان مطلقاً کمی D تلقی شود، پس نوع دیگری از واریان D، که معمولاً امروزه D جزئی^۱ نامیده می شود [۱۶۴ و ۱۶۵]، یک واریان کیفی است. از زمان انتشار مقاله آرگال و همکاران^۲ [۱۶۶] در سال ۱۹۵۳، کاملاً مشخص شده است که افراد $D+$ نادر می توانند شکلی از آلو آنتی -D را بسازند. انواع گوناگونی از D جزئی شناسایی شده اند (بخش ۵-۶-۴). آنتی ژن D را می توان بصورت موزاییکی از اپیتپها در نظر گرفت. افرادی که گلبول های قرمز شان فاقد بخشی از موزائیک D باشند قادرند در صورتی که با یک آنتی ژن D کامل مواجه شوند، تولید آنتی بادی علیه بخشی که وجود ندارد نمایند. این آنتی بادی زمانی که در مقابل D طبیعی (کامل) آزمایش شود بعنوان آنتی -D عمل می کند.

اعتقاد بر این است که گلبول های قرمز D ضعیف دارای تمامی اپیتپ های D هستند اما بطور ضعیف بیان می شوند. گلبول های قرمز D جزئی فاقد یکسری از اپیتپها هستند و مابقی آنها بصورت طبیعی بیان می گردند. گلبول های قرمز D ضعیف جزئی فاقد پاره ای از اپیتپها هستند و مابقی آنها بصورت ضعیف بیان می شوند. در هر حال این تقسیم بندی ها غالباً متمایز نبوده و افتراق آنها از همدیگر مشکل است. گرچه توانایی تولید آلو آنتی -D در فنوتیپ های D جزئی، اما نه در فنوتیپ های D ضعیف، احتمالاً مناسب ترین تعریف در صورت لزوم می باشد. در هر صورت، بعضی از افراد با فنوتیپ هایی از گلبول قرمز که در ابتدا بعنوان D ضعیف تلقی شده اند، تولید آلو آنتی -D نموده اند [۱۶۷]. D ضعیف، غالباً در ارتباط با جهش هایی از RHD است که جایگزینی های اسید آمینه ای درون حوزه های سیتوپلاسمی یا طی کننده غشایی پروتئین D را رمز دهی می کنند، حال آنکه D جزئی معمولاً ناشی از تغییرات در حلقه های خارج سلولی است [۶۳]. در هر حال این مطلق نیست و تا حدودی بستگی به مدل آرایش فضایی پروتئین های Rh در غشای مورد استفاده دارد. اصطلاحات «D ضعیف» و «D جزئی» در اینجا

1 - partial D

2 - Argall et al.

حفظ می‌شوند تا کمک به ساماندهی تعداد بسیار زیاد آنتی‌ژن‌های غیر طبیعی D نمایند، اما استدلال‌ات اجباری موجود به نفع کنار گذاشتن این اصطلاحات و جایگزینی آنها با « واریان D¹ » می‌باشند.

۵-۶-۳ D جزئی و اپیتپ‌های D

کار پیشگامانه در خصوص تقسیم بندی جزئی D، که درک کنونی ما از مجموعه خصائص ایمونولوژیک آنتی‌ژن D نشأت گرفته از آن است، از سوی تیپیت و سانگر^۲ در سالهای ۱۹۶۰ و ۱۹۷۰ بعمل آمد [۱۶۸ و ۱۶۹]. آنان بر اساس الگوی واکنش بین گلبول‌های قرمز و آنتی‌بادی‌های افراد D⁺ که آنتی-D ساخته بودند، آنتی‌ژن‌های D جزئی را در شش دسته قرار دادند (I-VI). مطالعات خانوادگی نشان داد که تمامی این دسته‌ها به ارث می‌رسند. یک دسته هفتم نیز بعداً اضافه گردید و دسته I امروزه منسوخ شده است [۱۶۵ و ۱۷۰]. موارد بسیاری از افراد D⁺ که آنتی-D ساخته بودند نیز از سوی وینر و اونگر^۳ مورد مطالعه قرار گرفتند [۱۷۳-۱۷۱]. آنها اجزاء Rh₀ (D در زبان وینر) را Rh^A, Rh^B, Rh^C و Rh^D نامیدند. این تقسیمات جزئی Rh₀ قابل ارتباط دادن با دسته‌های تیپیت و سانگر نبود زیرا هیچ نوع ماده‌ای بین دو گروه مبادله نشده بود و اینها امروزه کنار گذاشته شده‌اند.

تیپیت و سانگر آنتی‌ژن‌های D ضعیف را از دسته‌های خود مستثنی نمودند و فقط آنتی-D قوی ساخته شده توسط اعضای دسته را به منظور مطالعه دسته‌ها بکار بردند. آنتی‌ژن D جزئی یک شخص را نمی‌توان بر اساس صرفاً آنتی-D وی دسته بندی نمود زیرا پاسخ ایمنی درون یک دسته ثابت نمی‌باشد. آنتی‌ژن‌های وابسته با فراوانی کم در دسته‌های IV، V و VI قرار می‌گیرند و کمک به تعریف دسته‌های III و VII و آنتی‌ژن‌های D جزئی DFR، DBT و DHAR می‌نمایند (جدول ۵-۵).

در طی دهه ۱۹۸۰، تجزیه و تحلیل ایمونولوژیک آنتی‌ژن‌ها به واسطه ظهور فناوری آنتی‌بادی مونوکلونال دگرگون گردید. حجم قابل توجهی از آنتی-D مونوکلونال تولید شد. آزمایش نمودن این آنتی‌بادی‌ها در مقابل گلبول‌های قرمز داری آنتی‌ژن‌های D جزئی منجر به الگوهای مختلف واکنش گردید و اعتقاد بر این بود که این حاکی از اپیتپ‌های مختلف آنتی‌ژن D (epD) می‌باشد. لوماس و همکاران^۴ [۲۰۹] هفت الگوی واکنشی D (epD1 - epD7) را از طریق آزمایش نمودن ۲۹ آنتی-D مونوکلونال در مقابل گلبول‌های قرمز دارای اکثر آنتی‌ژن‌های دسته D، تعریف نمودند و دو اپیتپ دیگر بعداً اضافه گردید [۲۱۰-۲۱۲]. گرچه از طریق مطالعات و بررسی‌های مهار سازی با آنتی‌بادی‌های نشاندار شده با رادیواکتیو، ثابت شده بود که epD6 و epD7 با هم تفاوت دارند [۱۷۸]، آنها با استفاده از

¹ - D "variant"

² - Tippette and Sanger

³ - Wiener and Unger

⁴ - Lomas *et al.*

تکنیک‌های آگلوتیناسیون قابل افتراق نبوده و تحت عنوان epD6/7 نامیده شدند. از ۲۹ آنتی‌بادی، هیجده مورد آنتی-epD6/7 بودند [۲۰۹].

در سال ۱۹۹۴، لوماس و همکاران [۲۱۳] عنوان DFR را به یک آنتی‌ژن D جزئی جدید که با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال شناسایی شده بود، اطلاق نمودند. آنان از قرار دادن DFR در دسته VIII خود داری کردند زیرا انجام کلیه آزمایشات متقاطع ضروری امکان پذیر نبود چون بعضی از آنتی‌بادی‌های D تعریف کننده که توسط اعضای دسته D ساخته می‌شدند دیگر در دسترس نبودند. از آن زمان به بعد آنتی‌ژن‌های D جزئی متعدد دیگری شناسایی شده‌اند (جدول ۵-۵) که زیرگروه‌های فراوانی از الگوهای واکنشی اولیه را بوجود آورده اند. یک مدل ۳۰ اپیتپی [۲۱۴] در یک کارگاه بین المللی آنتی‌بادی‌های مونوکلونال به مدل ۳۷ اپیتپی ارتقاء یافت [۲۱۵]. در هر حال تعریف بعضی از این الگوهای واکنش، بستگی به استفاده از گلبول‌های قرمز اصلاح شده با آنزیم دارد. از آنجایی که اصلاح پروتئین D توسط پروتئاز ممکن است آرایش فضایی اپیتپ را تحت تأثیر قرار دهد، اسکات^۱ [۲۱۵] الگوی مستثنی کننده‌ای را پیشنهاد نمود که وابسته به مجاور سازی گلبول‌های قرمز دسته‌های متعدد با آنزیم بود. با استفاده از صرفاً الگوهای که در کارگاه سال ۱۹۹۶ تأیید شدند، ۲۴ اپیتپ D قابل شناسایی بود [۲۱۵].

جدیدترین الگوی واکنش بین آنتی‌ژن‌های D جزئی و آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، که در جدول ۵-۶ نشان داده شده است، در سال ۲۰۰۱ در چهارمین کارگاه بین المللی در مورد آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه آنتی‌ژن‌های سطح گلبول قرمز، ایجاد گردید [۲۱۶]. این الگوی واکنش ۳۰ اپیتپ را در بر می‌گیرد که با اصطلاحاتی متشکل از epD1-epD9 (به استثنای epD7) اصلی [۲۱۲-۲۰۹] و به دنبال آنها شماره‌هایی که نمایانگر تقسیم بندی‌های جزئی تر اپیتپ‌ها می‌باشند (مثلاً epD6.4) مشخص می‌گردند. این نکته مهم را باید بخاطر سپرد که اپیتپ‌های D فقط نشانگر الگوهای واکنش هستند و مطلق نمی‌باشند. الگوی واکنش‌ها ممکن است بستگی به غلظت آنتی بادی‌ها داشته باشد، بویژه در مورد اپیتپ‌های دارای قدرت اتصال (affinity) پایین، بطوری که بسته‌های مختلف یک آنتی‌بادی ممکن است نتایج متفاوتی را حاصل کنند. عوامل دیگری همچون درجه حرارت یا pH واکنش نیز ممکن است به نوعی ویژگی آنتی‌بادی را تغییر دهند.

جدول ۵-۵ آنتی‌ژن‌های D واریان

Name	Molecular basis*	Exons	EC1 loops	LFA†	RHCE	Anti-D	No. D sites/cell¶	Ethnic group	References
DII	RHD A354D	7	6		Ce	Yes	3 200	White	[170, 174]
DIIa	*RHD N152T\$, T201R\$, F223V\$	3, 4, 5	0	DAK	ce	Yes	12 300	Black	[170, 175, 176]
DIIb	*RHD-CE-D	2	2		ce	Yes		Black	[170, 177]
DIIc	*RHD-CE-D	3	0		Ce	Yes	22 300	White	[170, 179]
DIII type IV	*RHD L62E, A137V, N152T\$	2, 3	0		Ce	Yes	33 255	White	[167]
DIVa	*RHD L62E, N152T\$, D350H\$	2, 3, 7	6	Go ^a	ce	Yes	9 300	Black	[170, 180]
DIVb	*RHD-CE-D	7-9	6	Evans	Ce, cE	Yes	4000	White, Japanese	[170, 180, 181]
DIV type III	*RHD-CE-D	6-9	6		Ce		607	White	[63, 167]
DIV type IV	*RHD D350H\$, G353W\$, A354N\$	7	6		Ce				[182]
DVa	*RHD-CE-D	5	4	D ^{wo}	ce, Ce, CE	Yes	9 400	White, Black, Japanese	[170, 180, 183, 200]
DVI type I	*RHD-CE-D	4, 5	3, 4		cE	Yes	300	White	[170, 185]
DVI type II	*RHD-CE-D	4-6	3, 4	BAR C	Ce	Yes	1 600	White, Japanese	[170, 186]
DVI type III	*RHD-CE-D	3-6	3, 4		Ce		14 502	White	[187]
DVII	RHDL110P	2	2	TAR	Ce	Yes	3 600	White	[170, 188]
DAR	*RHD T201R\$, F223V\$, I342T	4, 5, 7	0		ce	Yes		Black	[189]
DBT type I	*RHD-CE-D	5-7	3, 4	Rh32	Ce, ce	Yes	4 300	White, Black, Japanese	[190, 191]
DBT type II	*RHD-CE-D	5-9	3, 4, 6	Rh32	Ce			Japanese	[190, 192]
DCS	*RHD-CE-D	5	4					White	[193, 194]
DFR	*RHD M169L\$, M170R\$, I172F\$	4	3	FPTT	Ce, cE	Yes	5 300	White	[180, 195, 213]
DFW	RHD H166P	4	3		Ce				[182]
DHAR	*RHCE-D-CE	5	4	Rh33, FPTT	ce	Yes		White	[196-199]
DHK (DYO)	RHDE233K	5	4					Japanese	[183, 184, 200]
DHMI	RHDT283I	6	5		cE	Yes	2 400	White	[201, 202]
DHO	RHDK235T	5	4		Ce		1 300	White	[203]
DHR	RHDR229K	5	4		cE		3 800	White	[204]
DIM	RHDC285Y	6	5		cE		192	White	[167]
DMH	RHDL54P	1	1		ce	Yes		White	[205]
DNB	RHD G355S	7	6					White	[182]

Continued p. 212

جدول ۵-۵. آنتی‌ژنهای D واریان (ادامه)

Name	Molecular basis*	Exons	EC† loops	LFA‡	RHCE	Anti-D	No. D sites/cell¶	Ethnic group	References
DNU	RHD G353R	7	6		Ce		10 000	White	[174]
DOL	RHD M170T, F223V§	4, 5	3		ce	Yes	4 700	Black	[194, 205]
Weak D type 1	RHD V270G	6	0		Ce		1 285	White	[63, 167]
Weak D type 2	RHD G385A	8	0		cE		489	White	[63, 167]
Weak D type 3	RHD S3C	1	0		Ce		1 932	White	[63, 167]
Weak D type 4	RHD T201R§, F223V§	4, 5	0		ce		2 288	White	[63, 167]
Weak D type 4.1	RHD W16C§, T201R§, F223V§	1, 4, 5	0				3 811	White	[167]
Weak D type 5	RHD A149D	3	0		cE		296	White	[63, 167]
Weak D type 6	RHD R10Q	1	0		Ce		1 053	White	[63, 167]
Weak D type 7	RHD G339E	7	0		Ce		2 407	White	[63, 167]
Weak D type 8	RHD G307R	6	0		Ce		972	White	[63, 167]
Weak D type 9	RHD A294P	6	0		cE		248	White	[63, 167]
Weak D type 10	RHD W393R	9	0		cE		1 186	White	[63, 167]
Weak D type 11	RHD M295I	6	0		ce		183	White	[63, 167]
Weak D type 12	RHD G277E	6	0		Ce		96	White	[63, 167]
Weak D type 13	RHD A276P	6	0		Ce		956	White	[63, 167]
Weak D type 14	RHD S182T§, K198N§, T201R§	4	0		cE			White	[63]
Weak D type 15	RHD G282D	6	0		cE	Yes	297	White	[63, 167]
Weak D type 16	RHD W220R	5	0		cE		235	White	[63, 167]
Weak D type 17	RHD R114W	3	2**				66	White	[167]
Weak D type 18	RHD R7W	1	0					White	[206]
Weak D type 21	RHD P313L	6	0		Ce		5 200	White	[203]
Weak D type 22	RHD W408C	9	0					White	[206]
DEL	*RHD exon 9 del	9	0		Ce			Taiwanese	[151]
DEL	RHD splice site mutation	1?	0		Ce			Japanese	[207]
DEL	RHD splice site mutation	9?	0		Ce			Japanese	[207]

* See Fig. 3.5.

† Predicted extracellular loops involved.

‡ Associated low frequency antigens.

§ Information obtained from [167, 194, 208].

¶ Encoded by RHCE sequence.

** Extracellular according to one model [61], in a membrane-spanning domain according to others [62, 63].

۵-۶-۴ خصوصیات واریان‌های D

در قسمت زیر و در جدول ۵-۵ خصوصیات سرولوژیکی و مولکولی واریان‌های D فهرست شده‌اند. بخش عمده اطلاعات سرولوژیکی از تعداد متنوعی از مقالات منتشر شده [۱۶۵، ۱۶۰، ۱۶۸، ۲۰۹، ۲۱۰، ۲۱۲، ۲۱۳ و ۲۱۷] و مشاهدات منتشر نشده کسب شده است. پایه‌های مولکولی واریان‌های D که در برگرنده نوآرایهای ژنی می‌باشند در شکل ۵-۶ به نمایش در آمده‌اند.

۵-۶-۴-۱ DNB و DNU، DII

در دسته II ابتدا سه فرد مورد مطالعه غیر خویشاوند وجود داشتند که دارای DII به همراه Ce در دو خانواده بودند. کشف مجدد فرد مورد مطالعه دسته II اصلی منجر به تقسیم جزئی تر epD3 گردید [۲۱۲]. DII در ارتباط با یک جایگزینی Ala354Asp در حلقه ششم خارج سلولی RhD می‌باشد [۱۷۴]. DNU و DNB واریان‌هایی از D هستند با طرح‌های اپیپتی مشابه با DNU : DII در ارتباط با Gly353Arg [۱۷۴] و DNB در ارتباط با Gly355Ser می‌باشند [۱۸۲].

۵-۶-۴-۲ DIII و آنتی‌ژن DAK

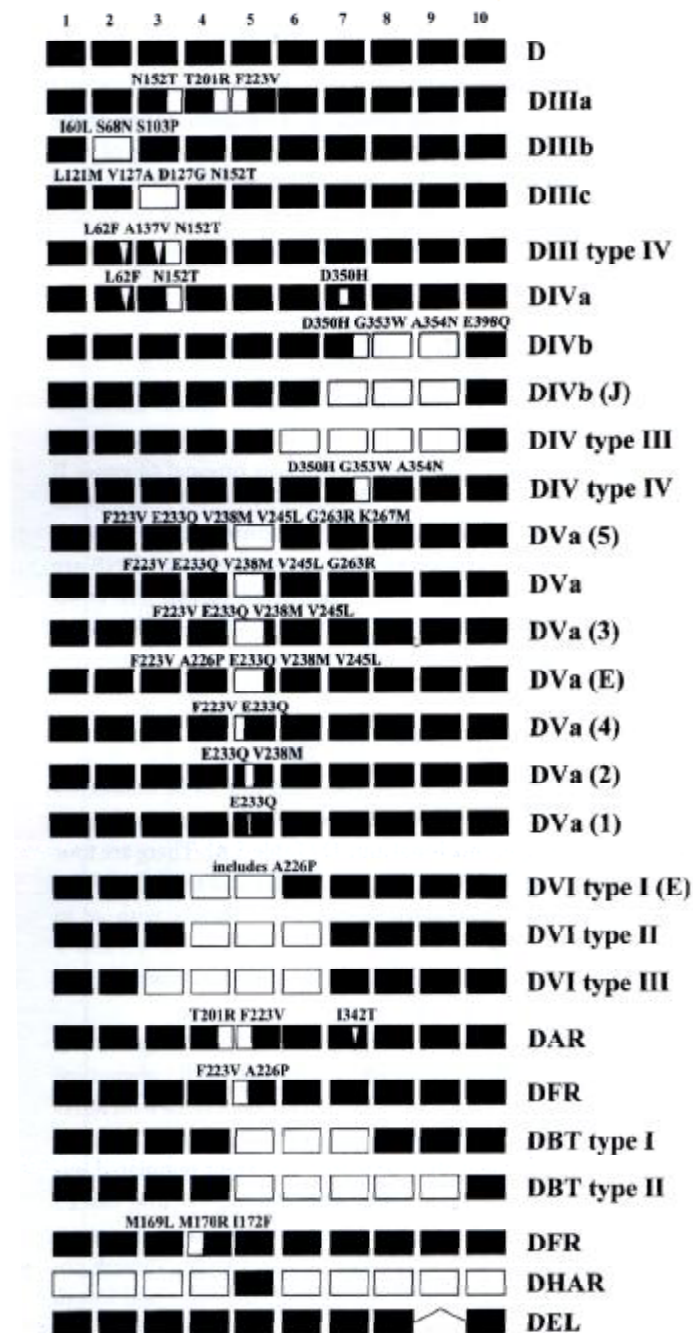
این تنها دسته D است که با آنتی-D مونوکلونال قابل تعریف نیست زیرا گلبول‌های قرمز دسته III با تمام آنتی‌بادی‌های D مونوکلونال واکنش می‌دهند [جدول ۵-۶]. چهار زیر دسته DIII جود دارند. بیشتر افراد DIIIa و DIIIb سیاه پوست بوده و در خانواده‌ها D جزئی با ce همراهی می‌کند. بعضی از اعضای این خانواده‌ها دارای یک فنوتیپ غیر طبیعی VS و V می‌باشند: گلبول‌های قرمزشان با تمامی آنتی‌بادی‌های VS، اما نه با تمامی آنتی‌بادی‌های V، واکنش می‌دهند. گلبول‌های DIIIa آنتی‌ژن با شیوع کم DAK را که توسط گلبول‌های فنوتیپ R^N نیز بیان می‌گردد، بروز می‌دهند [۱۷۵] (بخش ۵-۱۴-۱). DIIIa در ارتباط با نوعی از *RHD* است که سه جایگزینی اسید آمینه‌ای را رمزدهی می‌نماید [۱۷۶] (شکل ۵-۶)، تغییراتی که احتمالاً حاکی از واقعه تبدیل ژنی کوچک دارای الگو می‌باشند، مثل Thr152، Arg201 و Val223 که توسط *RHCE* رمزدهی می‌گردند. این احتمال وجود دارد که هیچکدام از این اسیدهای آمینه درون یک حوزه خارج سلولی نباشد، هر چند که موقعیت‌های ۱۵۲ و ۲۲۳ به ترتیب در مجاورت حلقه‌های سوم و چهارم خارج سلولی قرار دارند.

آزمایشات به عمل آمده روی ۹۳ آمریکایی آفریقایی تبار و ۶۳ برزیلی آفریقایی تبار، با استفاده از یک روش PCR RFLP، به ترتیب فراوانی‌های ۰/۱۱ و ۰/۱۹ را برای آلل *RHDIIIa* مشخص نمود [۲۱۸]. بر خلاف اکثر گلبول‌های +D، گلبول‌های DIIIb، از نظر آنتی ژن G منفی هستند (به بخش ۵-۱۱ رجوع شود). دو فرد DIIIb نوعی *RHD* دارند که در آن آگزون ۲ توسط آگزون ۲ از یک آلل c مربوط به *RHCE* جایگزین شده است [۱۷۷] (شکل ۵-۶). این منجر به سه تغییر اسید آمینه‌ای در RhD

می‌شود که شامل جایگزینی Ser103Pro در دومین حلقه خارج سلولی می‌باشد. Ser103 که توسط *RHD* یا آلل *C* مربوط به *RHCE* رمزدهی می‌گردد مسئول آنتی‌ژن *G* است. *DIIIb* دارای Pro103 است و اصلاً *G* را بیان نمی‌کند.

افراد مورد مطالعه *DIIIc* سفید پوست هستند و *DIIIc* در دو خانواده همراه *Ce* به ارث می‌رسد [۱۷۹ و ۲۱۹]. در یک خانواده *DIIIc* در ارتباط با *RHD* است که در آن آگزون ۳ توسط آگزون سوم *RHCE* جایگزین می‌گردد [۱۷۹] (شکل ۵-۶). احتمال می‌رود که هیچکدام از چهار اسید آمینه تغییر یافته در یک حلقه خارج سلولی وجود نداشته باشد، گرچه موقعیت‌های ۱۲۱ و ۱۵۲ به ترتیب در مجاورت حلقه‌های دوم و سوم خارج سلولی هستند.

DIII نوع IV در سال ۲۰۰۰ اضافه شد [۱۶۷]. گلبول‌های قرمز با تمام آنتی-*D*‌های مونوکلونال واکنش دادند و با آنتی-*D* از یک فرد *DIIIc* واکنشی نداشتند، آنتی-*D* بیمار *DIII* نوع IV با گلبول‌های *DIIIc* واکنش نداد. سه جایگزینی اسید آمینه‌ای که توسط *RHD* رمزدهی می‌شوند در ارتباط با *DIII* نوع IV می‌باشند [۱۶۷] (شکل ۵-۶). دو تا از آنها ناشی از جایگزینی‌های بدون الگو هستند، در صورتی که Asn152Thr مشابه یکی از تغییرات موجود در *DIIIa* می‌باشد. پیش‌بینی شده که هیچکدام از این سه جایگزینی در حلقه خارج سلولی وجود ندارد.



شکل ۵-۶. معرفی یک سری از ژنهای مسئول آنتی ژنهای D واریان. n آگزونهای مشتق از RHD، E آگزونهای مشتق از RHCE، s جایگزینیهای اسید آمینه‌ای بدون الگو. تمامی این ژنها بجز DHAR معمولاً با RHCE جفت می‌شوند.

جدول ۵-۶. نتیجه واکنش‌ها با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال که ۳۰ اپتیب D با آنتی‌ژن D جزئی را تعریف می‌نمایند (چهارمین کارگاه بین‌المللی آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه آنتی‌ژن‌های سطح گلبول‌های قرمز انسانی) [۲۱۶].

		Partial D antigen																				
Anti-																						
EpD		DII	DIII	DIVa	DIVb	DVa1	DVa2	DVa3	DVa4	DVa5	DVI	DVII	DFR	DBT	DHAR	DHMI	DNB	DAR	DNU	DOL	DHK	
1.1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	V	+	-	
1.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	V	
2.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	V	
2.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
3.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
4.1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
5.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
5.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
5.3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
5.4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
5.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
6.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6.3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6.4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6.6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6.7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6.8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8.2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8.3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
9.1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
10.1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
12.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
13.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
14.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
15.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
16.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

V, variable reactions with different antibodies.
For five types of DVa, see Fig. 5.6.

۵-۶-۳-۴ DIV و آنتی ژن Go^a (RH30)

آنتی ژن D جزئی اولین فرد مورد مطالعه DIV در ابتدا D^{Cor} نامیده شد [۲۲۱]. به نظر می‌رسد که DIV در سطح بالایی وجود داشته باشد آنچنانکه با تعدادی آنتی-D ناقص^۱ انتخابی، که گلبولهای قرمز DIV را در سوسپانسیون های سالینی آگلوتینه می کنند، تأیید شده است. DIV در ابتدا به واسطه واکنش های ایجاد شده با آنتی- Go^a ، نوعی آنتی بادی علیه یک آنتی ژن با شیوع کم، به زیر مجموعه هایی تقسیم بندی شد [۲۲۲-۲۲۴]. گلبول های DIVa و DIVb که به ترتیب $Go(a+)$ و $Go(a-)$ هستند، با استفاده از آنتی-D مونوکلونال قابل افتراق هستند: گلبول های DIVb فاقد epD4 هستند در صورتی که گلبولهای DIVa دارای epD4 می باشند (جدول ۵-۶).

افراد DIVa عمدتاً سیاه پوست هستند. DIVa در اکثر خانواده های آزمایش شده با *ce* همراهی می کند، اما در کمپلکس بسیار نادر -DIV(C) نیز وجود دارد (بخش ۵-۱۵-۵). سه تغییر اسید آمینه ای، DIVa را از D متمایز می سازند [۱۸۰] (شکل ۵-۶): دو تا از آنها که توسط اگزون های ۳ و ۷ رمزدهی می شوند، احتمالاً حاکی از وقایع تبدیل ژنی کوچک می باشند، (اگزون ۲) نشانگر یک جهش بدون الگو است. His350 (اگزون ۷) در حلقه ششم خارج سلولی قرار دارد. تقریباً دو درصد آمریکای های آفریقایی تبار، $Go(a+)$ هستند [۲۲۵ و ۲۲۶].

زیر دسته IVb ناهمگن است، نوسان قابل توجهی در قدرت آنتی ژن D جزئی وجود دارد. دست کم بعضی از گلبول های DIVb دارای آنتی ژن با فراوانی کم Evans (RH37) می باشند [۲۲۷]. DIVb در دو خانواده با *Ce* و در سه خانواده با *ce* همراهی می نمود [۱۷۰]. DIVb در ارتباط با یک ژن *RHD-CE-D* است که در آن، انتهای ۳' اگزونهای ۷، ۹ و احتمالاً ۸ مشتق از یک ژن *RHCE* می باشد [۱۸۰] (شکل ۵-۶). تمامی افراد مورد مطالعه شناخته شده DIVb سفید پوست بودند تا اینکه چهار فرد DIVb در میان پنج میلیون اهدا کننده خون ژاپنی شناسایی شدند [۲۲۸]. در ژاپنی ها DIVb (J) ناشی از یک ژن *RHD-CE-D* است که در آن اگزون های کامل ۷ و ۹ مشتق از *RHCE* می باشند [۱۸۱] (شکل ۵-۶).

DIV نوع III و نوع IV در ابتدا بر یک اساس مولکولی تعریف شدند. هر دوی آنها دارای یک ژن *RHD-CE-D* می باشند: در نوع III، اگزون های ۹-۶ دارای توالی *RHCE* هستند [۶۳]، در نوع IV فقط بخشی از اگزون ۷ مبادله شده است [۱۸۲] (شکل ۵-۶).

هر دو نوع III و IV مربوط به DIV و DIVb، در حلقه ششم خارج سلولی دارای تغییرات Ala354Asn, Gly353Trp, Asp350His می باشند.

1 - منظور آنتی بادی از نوع IgG است. م

۵-۴-۶-۴ DV و آنتی ژن $D^w(RH23)$

دسته V به واسطه واکنش با یک آنتی بادی علیه یک آنتی ژن Rh با شیوع کم، آنتی- D^w ، به زیر دسته‌هایی تقسیم شد [۲۲۹]. گلبول‌های قرمز DVa، از نظر D^w مثبت هستند. DVa معمولاً توسط یک هاپلوتیپ $D^{Va}ce$ در خانواده‌های سیاه پوست و توسط $D^{Va}Ce$ در خانواده‌های سفید پوست و ژاپنی تولید می‌گردد، $D^{Va}ce$ نادر است [۱۷۰ و ۲۳۰]. قدرت آنتی ژن DVa بسیار متغیر است. اساس مولکولی DVa ناهمگن است اما همیشه شامل جایگزینی تمام یا بخشی از اگزون پنجم RHD توسط منطقه همسان آن در RHCE می‌باشد (شکل ۵-۶) [۱۸۰، ۱۸۳، ۱۸۴، ۲۰۰، ۲۰۳ و ۲۳۰]. تمامی اشکال شامل Glu233Gln می‌باشند که پیش بینی می‌شود در حلقه خارج سلولی چهارم باشد، و یک مورد فقط Glu233Gln دارد. همگی یک فنوتیپ معمول DVa را بوجود می‌آورند، بنابراین جایگزینی Glu233Gln باید کلید بیان D^w و از دست رفتن epD1، epD5.1 و epD5.3 باشد (جدول ۵-۶). گلبول‌های قرمز با فنوتیپ DHK، که در آن یک جایگزینی Glu233Lys وجود دارد، فاقد epD1 و بعضی از اپیتپ‌های epD5 می‌باشند، اما D^w هستند [۱۸۴]. یکی از واریان‌های DVa، DVa(E) (شکل ۵-۶)، دارای Pro226 بود، حاکی از اینکه قطعه‌ای از اگزون ۵ که مشتق از RHCE می‌باشد، از یک آلل E منشا گرفته بود [۲۳۱]. گلبول‌های قرمز یک آنتی ژن E غیر طبیعی را بیان می‌کردند، علی‌رغم اینکه هیچ نوع آلل E مربوط به RHCE وجود نداشت و این دال بر این بود که هیبرید RHD-CE-D تولید مقداری آنتی ژن E نموده است.

یک فرد مورد مطالعه از زیر دسته Vb، گلبول‌های قرمز با هیچ نوع آنتی- D مربوط به افراد دسته VI واکنش نمی‌دادند و D^w بودند [۲۳۲]. آنتی- D این فرد مورد مطالعه با بعضی از گلبول‌های قرمز DVa واکنش می‌داد.

۵-۴-۶-۵ DVI و آنتی ژن $BARC(RH52)$

DVI دارای اپیتپ‌های D بسیار کمی می‌باشد و اکثر آنتی- D های مونوکلونال با گلبول‌های دسته VI واکنش نمی‌دهند (جدول ۵-۶). تعداد کمی از آنتی- D های مربوط به افراد D^- با گلبول‌های DVI واکنش می‌دهند، که این ممکن است بیشتر یک جنبه کمی را منعکس سازد تا یک جنبه کیفی [۱۷۰]. اکثر افراد مورد مطالعه DVI سفید پوست یا ژاپنی هستند. DVI در اکثر خانواده‌ها با Ce و در موارد محدودی با ce همراهی می‌نماید. آنتی بادی BARC، یک آنتی بادی بر علیه آنتی ژنی با شیوع کم، مارکری برای هاپلوتیپ $D^{VI}Ce$ می‌باشد. از ۷۸ نمونه $D^{VI}Ce$ ، ۷۶ نمونه $BARC^+$ بودند. تمامی ۲۱ نمونه $D^{VI}Ce$ ، $BARC^-$ بودند [۱۷۰ و ۲۳۳].

بررسی ژنتیک مولکولی، سه نوع $RHD-CE-D$ را آشکار نموده است که DVI را رمزدهی می نمایند (شکل ۵-۶). ژن DVI نوع I، که همواره بخشی از یک هاپلوتیپ $D^{VI}CE$ است، دارای اگزون‌های ۴ و ۵ مشتق از یک آلل E مربوط به $RHCE$ که Pro226 را رمزدهی می کند، می باشد [۱۸۵، ۲۲۰ و ۲۳۴]. (ژن سابقاً گزارش شده DVI با حذف اگزون‌های ۶-۴ [۱۸۶] وجود ندارد). انواع II و III ژن DVI، که بخشی از هاپلوتیپ های $D^{VI}CE$ هستند، به ترتیب اگزون‌های ۶-۴ و ۶-۳ خود را از یک آلل e مربوط به $RHCE$ (Ala226) گرفته اند [۱۸۷-۱۸۵]. انواع II و III ژن DVI، اما نه نوع I، تولید BARC می نمایند، عبارتی وجود Ala226 در پروتئین هیبرید Rh بمنظور بیان BARC اهمیت دارد. هر سه نوع ژن مذکور، علاوه بر پلی مرفیسم در اسید آمینه ۲۲۶، تغییرات اسید آمینه ای یکسانی را در حلقه های خارج سلولی پیش بینی شده در آنتی ژن D نشان می دهند: Met169Leu، Met170Arg، Ile172Phe در حلقه ۳ و Glu233Gln در حلقه ۴. تفاوت های کمی، بر حسب تعداد جایگاه های D در هر گلوبول قرمز، بین انواع DVI وجود دارند: در نوع I تعداد کم می باشد با حدود ۵۰۰ جایگاه، در نوع II حدود ۴۲۰۰ جایگاه وجود دارد، و در نوع III برای یک کمپلکس DCE تعداد حدوداً طبیعی ۱۴۰۰۰-۱۲۰۰۰ جایگاه وجود دارد [۱۸۷ و ۱۶۷].

یک آنتی-D مونوکلونال منحصر بفرد (LOR-15C9) روی بلات های پروتئینی به RhD واسرشته شده پیوند می یابد و محصول اگزون ۷ را شناسایی می کند، و با اختصاصیت بالایی به منطقه اسیدهای آمینه ۳۲۳-۳۳۱ متصل می گردد [۲۳۵ و ۲۳۶]. این آنتی بادی گلوبول های قرمز دارای محصول یک آلل D^{VI} را متمایز می سازد (انواع I تا III).

گلوبول های DVI علاوه بر باند ۳۳۰۰۰ دالتونی RhD، باندی با وزن مولکولی ۲۱۰۰۰ را ظاهر می سازند که احتمال می رود محصول یک رونوشت با پیرایش متفاوت باشد [۲۳۵]. از طریق غربالگری با آنتی بادی های مونوکلونال، میزان بروز DVI در اروپا، ایالات متحده و استرالیا، بین ۰/۰۱۵٪ و ۰/۰۴٪ برآورد شده است و این شامل ۵٪ و ۱۶٪ نمونه های D ضعیف می باشد [۲۴۱-۲۳۷]. در بین بیش از پنج میلیون اهدا کننده ژاپنی، فقط یک DVI وجود داشت [۲۲۸].

۵-۶-۴-۶-۵ $DVII$ و آنتی ژن Tar ($RH40$)

مشخصه $DVII$ ، یک واکنش مثبت با آنتی بادی Tar است [۲۴۵-۲۴۲]. Tar در چندین خانواده در ارتباط با هاپلوتیپ DCE بود [۲۴۲]. از میان هشت نفر $DVII$ که دارای آنتی-D بودند، دو نفر مرد بدون سابقه تزریق خون بودند و در چهار نفر یک آنتی-D ضعیف به همراه آنتی-E قوی وجود داشت [۱۷۰ و ۲۴۶]. گلوبول های قرمز یکی از ۱۵۸۵ اهدا کننده بریتانیایی $D+$ قادر به واکنش با آنتی-D در یک فرد $DVII$ نبودند، اهدا کننده مذکور دارای آنتی ژن $DVII$ نیز بود [۲۴۲]. $DVII$ ناشی از یک جهش در اگزون دوم RHD که Leu110Pro را در حلقه خارج سلولی دوم رمزدهی می کند، می باشد

[۱۸۸]. از میان بیش از ۶۰۰۰۰ اهدا کننده خون آلمانی، ۶۸ نفر دارای هاپلوتیپ *DVII* بودند، از ۳۳ اهدا کننده *DVII* بررسی شده، همگی جهش *Leu110Pro* داشتند [۲۴۷]. یک *RHD* غیر معمول در دو فرد غیرخویشاوند، جایگزینی‌های *Leu110Pro* و *Pro103Ser* (مشخصه *c* در *RHCE*) را رمز دهی می‌کردند، و احتمالاً تولید *Tar* و *c* جزئی نیز نموده بودند (بخش ۵-۸-۴) [۲۴۸].

۵-۴-۶-۷ *DFR* و آنتی‌ژن *(RH50)FPTT*

گلبول‌های قرمز دارای فنوتیپ *D* جزئی *DFR* با یک آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن *Rh* با شیوع کم به نام *FPTT* واکنش می‌دهند [۱۹۵ و ۲۱۳] و الگوی واکنش‌هایی را که ایجاد می‌کنند با الگویی که در مورد هر کدام از گلبول‌های قرمز دسته *D* با آنتی-*D* تهیه شده از افراد *D+* و *D-* مشاهده می‌شود تفاوت دارد [۲۱۳]. در ۲۳ فرد مورد مطالعه، *DFR* در ارتباط با یک هاپلوتیپ *DcE* و در دو فرد مورد مطالعه در ارتباط با *DcE* بود، در دو خانواده *DFR* با *Ce* و در یک خانواده با *cE* همراهی می‌نمود. دو نفر از افراد مورد مطالعه *DFR* تولید آنتی-*D* نموده بودند. دو نفر از ۳۹۶۷ استرالیایی، اما فقط یک نفر از ۶۰۰۰۰ آلمانی دارای *DFR* بودند [۲۱۳ و ۲۴۱].

DFR در ارتباط با یک ژن *RHD-CE-D* که در آن انتهای ۵' اگزون ۴ مشتق از *RHCE* است، می‌باشد [۱۸۰] (شکل ۵-۶). سه جایگزینی اسید آمینه‌ای در سومین حلقه خارج سلولی قرار دارند. اساس مولکولی بیان آنتی ژن *FPTT* در بخش ۵-۱۷-۲ توصیف شده است.

۵-۴-۶-۸ *DBT* و آنتی‌ژن *Rh32*

Rh32 یک آنتی‌ژن با فراوانی کم است که در ارتباط با آنتی‌ژن *D* جزئی *DBT* [۱۹۰] و کمپلکس *R^N* که دارای *D* طبیعی اما *C* و *e* ضعیف است، می‌باشد (بخش ۵-۱۴-۱). از هشت فرد مورد مطالعه *DBT* آزمایش شده، پنج نفر دارای *C* و *c* طبیعی و دو نفر دارای *C* ضعیف (که یکی از آنها یک *e* ضعیف نیز داشت)، و یک نفر *C+* بودند. سه نفر آنتی-*D* ساخته بودند. افراد مورد مطالعه عمدتاً اصالت سفید پوست اروپایی داشتند اما یک نفر مراکشی، یک نفر تایلندی و یک نفر ژاپنی نیز وجود داشتند. در خانواده مراکشی، *DBT* در ارتباط با *RHD-CE-D*، که در آن کل اگزون‌های ۷-۵ (واحداً) (۸) مشتق از *RHCE* هستند، می‌باشد [۱۹۱] (نوع I، شکل ۵-۶). این منجر به جایگزینی *Glu233Gln* در حلقه ۴ و *Gly353Trp*، *Asp350His* و *Ala354Asn* در حلقه ۶ می‌گردد. در خانواده *DBT* ژاپنی، قطعه *RHCE* از ژن *RHD-CE-D* نمایانگر اگزون‌های ۹-۵ می‌باشد [۱۹۲] (نوع II، شکل ۵-۶). محصول این ژن با محصول ژن *DBT* خانواده مراکشی فقط در یک تغییر اسید آمینه‌ای *Glu398Val*، که در دم سیتوپلاسمی ایجاد شده است، تفاوت دارد. اساس مولکولی بیان آنتی ژن *Rh32* در بخش ۵-۱۷-۲ توصیف شده است.

۵-۴-۹-۶-۴-۵ DHAR, R_0^{Har} و آنتی ژن Rh33

R_0^{Har} یک کمپلس نادر است که متشکل از یک D جزئی ضعیف (DHAR)، c، یک e خیلی ضعیف و دو آنتی ژن با شیوع کم Rh33 و FPTT بوده اما فاقد G می باشد [۱۹۶-۱۹۸] (بخش ۵-۱۴-۲-۱). عموماً آنتی ژن های D ضعیف توسط یک تکنیک آنتی گلوبولین به نحو بسیار موثری شناسایی می گردند، اما DHAR فرق می کند: فقط ۷٪ معرف های آنتی - D در تکنیک آنتی گلوبولین با گلبول های DHAR واکنش دادند، گر چه ۲۷٪ آنها با گلبول های DHAR مجاور شده با آنزیم وارد واکنش شدند [۱۹۶]. از چهار آنتی - D مونوکلونال انسانی نوع IgM همگی با گلبول های DHAR واکنش دادند، اما فقط پنج نمونه از ۲۴ آنتی - D مونوکلونال انسانی نوع IgG با گلبول های مذکور واکنش دادند [۲۱۰]. سه گزارش از زنان DHAR که تولید آنتی - D نموده اند در دست می باشد [۲۴۹، ۱۹۸ و ۲۵۰]، یکی از این آنتی - D ها ایجاد واکنش همولیتیک خفیف نوزاد نمود [۲۴۹].

هاپلوتیپ R_0^{Har} از آن جهت با تمامی ژن های توصیف شده دیگر در این بخش تفاوت دارد که صرفاً متشکل از یک ژن می باشد: هیچ نوع RHD یا RHCE وجود ندارد، اما یک هیبرید RHCE-D-CE دارد که صرفاً اگزون ۵ آن نشانگر RHD است [۱۹۹] (شکل ۵-۶). فقط شش اسید آمینه در پروتئین کد شده مشخصه RhD می باشند، پیش بینی شده که فقط یکی از اینها، Glu233، خارج سلولی است (حلقه ۴). اگزون ۵ مربوط به ژن RHD، Ala226 را که اسید آمینه خاص e است، رمزدهی می نماید که این خود بیان ضعیف e را توضیح می دهد.

۵-۴-۶-۱۰-۴-۵ DAR

DAR یک آنتی ژن D جزئی در ارتباط با سه جایگزینی اسید آمینه در RhD می باشد: دو تا از آنها Thr201Arg، Phe223Val، مشتق از RHCE می باشند، Ile342Thr بدون الگو است [۱۸۹] (شکل ۵-۶). بر اساس پیش بینی های بعمل آمده هیچ کدام خارج سلولی نیستند، گرچه اسید آمینه ۲۲۳ به حلقه ۴ بسیار نزدیک است. DAR در بین آفریقایی ها نسبتاً شایع است: از میان ۳۲۶ اهدا کننده سیاه پوست از آفریقای جنوبی شانزده نفر (۴/۹٪) دارای ژن DAR و پنج نفر (۱/۵٪) از آنها دارای فنوتیپ DAR بودند. یک فرد DAR آلوانتی - D ساخته بود [۱۸۹]. از شانزده فرد دارای ژن DAR، همگی، به غیر از دو نفر، یک واریان RHCE به نام ceAR، که در آن بخش عمده اگزون ۵ و انتهای ۵' اگزون ۶ مشتق از RHD می باشند، داشتند (به بخش ۵-۱۳-۲ رجوع شود).

۵-۶-۴-۱۱ دیگر آنتی‌ژن‌های D جزئی

چندین آنتی‌ژن D جزئی دیگر شناخته شده و در جدول ۵-۵ فهرست گردیده‌اند. DIM, DHK, DOL, DMH, DFW, DHR, DHO, DHMI, DCS همگی در ارتباط با یک یا دو جایگزینی اسید آمینه‌ای در پروتئین RhD می‌باشند.

۵-۶-۴-۱۲ D ضعیف

همان طوری که در بخش ۵-۶-۲ ذکر شد، D ضعیف عموماً به عنوان یک آنتی‌ژن D که تمامی اپیتپ‌های آن وجود دارند اما بصورت ضعیف بیان می‌شوند، تلقی می‌گردد. در هر حال غالب اوقات تعیین این وضعیت نیز مشکل است زیرا آنتی-D مونوکلونال به واسطه فعالیت پایین آنتی‌بادی، نه به علت از دست رفتن کامل اپیتپ، قادر به واکنش با گلبول‌های D ضعیف نمی‌باشد.

در ابتدا مطالعات صورت گرفته روی اساس مولکولی D ضعیف هیچ گونه تغییری را در توالی رونوشت‌های RHD یا در منطقه آغازگر RHD (۶۰۰- تا ۴۱+) ظاهر نمود [۲۵۱ و ۲۵۲]. در سال ۱۹۹۹ واگنر و همکاران^۱ [۶۳ و ۱۶۷] ده اگزون RHD را از ۱۶۱ نمونه D ضعیف در آلمان، که همگی بین ۷۰ و ۴۰۰ جایگاه آنتی‌ژنیک در هر گلبول داشتند، تعیین توالی نمودند و در تمامی آنها به تغییرات نوکلئوتیدی کد کننده جایگزینی‌های اسید آمینه‌ای دست یافتند. بر اساس تغییرات توالی، دست کم ۲۱ نوع D ضعیف طبقه بندی شده‌اند (جدول ۵-۵). تمامی جایگزینی‌های اسید آمینه‌ای مرتبط با D ضعیف در حوزه‌های پیش بینی شده طی کننده غشاء یا سیتوپلاسمیک پروتئین RhD بودند و هیچ کدام از آنها خارج سلولی نبودند [۶۳] (هر چند که Trp114 از نوع ۱۷ مطابق با یک مدل متفاوت، خارج سلولی بود [۶۱]). انواع ۱، ۲ و ۳ آنتی ژن D ضعیف، فراوان‌ترین انواع بودند که به ترتیب ۷۰، ۱۸ و ۵ درصد نمونه‌های آزمایش شده D ضعیف را به خود اختصاص دادند.

شناسایی یک فرد دارای آلوانتی-D و گلبول‌های قرمز D ضعیف نوع ۱۵ [۱۶۷] ثابت می‌نماید که تمایز بین D ضعیف و D جزئی واضح و روشن نیست، حداقل در صورتی که تولید آلوانتی-D تنها تعریف D جزئی باشد. در حقیقت D ضعیف نوع ۴/۲ از لحاظ عملکردی مشابه DAR است (بخش ۵-۶-۴-۱۰) که این نیز در ارتباط با تولید آنتی-D می‌باشد [۱۸۹]، زیرا توالی‌های RHD فقط در یک تغییر تک نوکلئوتیدی خاموش با هم تفاوت دارند. از میان ۵۰ استرالیایی DCE/dce اهدا کننده خون که D ضعیف داشتند، ۷۶٪ دارای جهش نوع ۱ و ۶٪ دارای جهش نوع ۳ بودند، در حالی که از ۴۸ اهدا کننده DCE/dce که D ضعیف داشتند، ۹۶٪ دارای جهش نوع ۲ بودند [۲۵۳].

1 - Wagner et al.

اساس مولکولی D ضعیف همچنان نامشخص است. PCR ترانس کریپتاز معکوس کمی^۱ نشان داده است که ژنهای RHD مسئول انواع ۱ و ۲ و ۳ D ضعیف دارای سطوح رونویسی طبیعی می باشند [۲۵۴]. بعلاوه، آزمایشات انتقال ژن با استفاده از سلولهای K562 حاکی از این بود که نه ترجمه و نه شکل فضایی RhD هیچکدام تحت تأثیر جهش نوع ۱ D ضعیف قرار نمی گیرد [۲۵۴].

۵-۶-۴-۱۳ DEL (D_{el})

شکل بسیار ضعیفی از D که در خاور دور یافت شده است DEL نامیده می شود (در ابتدا D_{el}) و صرفاً با آزمایشات جذب- جدا سازی به صورت قابل اعتمادی شناسایی می گردد. بین ۱۰٪ و ۳۳٪ نمونه های گلبول قرمز ژاپنی ها و چینی ها که با تکنیک های سرولوژیک قراردادی بعنوان D- مشخص شده بودند، پی برده شد که DEL هستند [۱۳۰، ۱۴۹، ۱۵۱، ۱۵۲ و ۲۵۵]، با این حال در بعضی از مطالعات انجام گرفته روی اهدا کنندگان ژاپنی، DEL مشاهده نشد [۷۷ و ۷۹]. ژن DEL تقریباً همواره نسبت به یک آلل *Ce* از *RHCE* در وضعیت *cis* قرار دارد. در تایوان DEL در ارتباط با یک حذف ۱۰۱۳ جفت بازی از *RHD* بود که از ایترون ۸ تا ایترون ۹ امتداد داشته و کل اگزون ۹ را در بر می گرفت [۲۵۶] (شکل ۵-۶). جهشهای *RHD*، با پتانسیل به هم ریختن پیرایش RNA، در سه ژاپنی با فنوتیپ DEL شناسایی شدند. در یکی از آنها حالت هموزیگوت یا همیزیگوت برای G به A در اولین نوکلئوتید ایترون ۱، منجر به از دست رفتن اگزون ۱ در اکثر مولکولهای mRNA گردید. در دو اهدا کننده دیگری، تغییر G1227A در آخرین نوکلئوتید اگزون ۹، یک جهش خاموش بود، اما احتمالاً منجر به پیرایش غیر طبیعی اگزون ۹ گردید.

۵-۶-۵ یک راهکار مولکولی برای شناسایی ساختار اپیتپهای D

ارتباط دادن الگوهای بیان اپیتپ D به مناطقی از پروتئین که در فنوتیپهای D جزئی متعدد تغییر می یابند، تصویری را از ساختار اپیتپهای D موجب گردیده است [۲۵۷ و ۲۵۸]. اگر مدل ۳۰ اپیتپی (جدول ۵-۶) استفاده شود، اقدامی فوق العاده پیچیده خواهد بود، بخصوص بدین علت که ظاهراً بعضی از اپیتپها متکی به یک حلقه منفرد خارج سلولی هستند، حال آنکه بقیه آنها نیاز به برهم کنش های بین دو یا حتی سه حلقه دارند [۲۵۷]. همچنین به خاطر سپردن این نکته اهمیت دارد که اپیتپهای Rh به شدت وابسته به شکل و آرایش فضایی هستند و بیانشان می تواند تحت تاثیر تغییرات اعمال شده در مناطقی از پروتئین، غیر از مناطقی که در تماس مستقیم با آنتی بادی هستند، قرار گیرد.

لیو و همکاران^۱ [۲۶۰، ۲۵۹] این مسئله را با ترکیب نمودن تکنولوژیهای جهش زائی هدفدار و بیان قطعات صناعی cDNA در سلولهای K562، حل نمودند. آنان cDNA مربوط به آلل *cE* از *RHCE* را پس از تبدیل نوکلئوتیدهای کد کننده اسیدهای آمینه ویژه حلقه‌های خارج سلولی سوم، چهارم یا ششم به اسیدهای آمینه ویژه *RhD*، متجلی ساختند. سپس بیان ایتپ‌های *D* از طریق فلوئوسایتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه گیری‌های کلی بدین صورت بود که شش خوشه از ایتپ‌ها وجود دارند که بعضی از آنها با هم همپوشانی دارند اما غالباً روی حلقه‌های سوم، چهارم و ششم ویژه *RHD* قرار گرفته‌اند (شکل ۵-۷ جدول ۵-۷). هیچکدام از این خوشه‌های ایتپی قطری بیشتر از ۲۵ آنگسترم ندارد. مطابق این مدل، بعضی از آنتی-*D* ها یک «ردپا» را که متشکل از یک حلقه منفرد خارج سلولی است شناسایی می‌کنند، و در مورد سایر نمونه‌ها ی آنتی-*D* «ردپا» می‌تواند شامل دو، سه یا چهار حلقه باشد.

چانگ و سیگل^۲ [۲۶۱] طریقی را که آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ایتپ‌های *D* را تعریف می‌کنند، بانمایی متفاوت ارائه نمودند. آنان با استفاده از گلوبول‌های قرمز *D+*، کتابخانه‌های Fab/phage آنتی-*D* را از سلول‌های *B* یک شخص تولید کننده آنتی-*D* جداسازی نمودند [۲۶۲]. اطلاعات حاصل از یک بررسی ژنتیکی و سرولوژیکی ۵۳ نمونه آنتی-*D* انتخاب شده از ۸۳ کلون تصادفی، شباهت ژنتیکی قابل توجهی را در بین آنتی‌بادی‌های ضد ایتپ‌های مختلف ثابت نمود. چانگ و سیگل [۲۶۱] معتقدند که این آنتی‌بادی‌ها در صورتی که مناطقی از پروتئین *D* را که از لحاظ فضایی پراکنده و از لحاظ ساختمانی غیر مرتبط بودند شناسایی می‌کردند، چنین تشابهاتی را در توالی نشان نمی‌دادند. آنان اظهار می‌دارند که آنتی‌بادی‌های ضد ایتپ‌های متعدد *D* به یک «ردپای یکسان» که نشانگر قسمت عمده یا تمامی بخش خارج سلولی پروتئین است، نه با ایتپ‌هایی که از لحاظ فضایی متمایز هستند، پیوند می‌یابند. بنابراین اختلافات مشاهده شده در ویژگی آنتی‌ژن‌های *D* جزئی، ناشی از تغییرات شکل فضایی درون «ردپا» خواهد بود. در هر حال لیو و همکاران [۲۶۰] مدعی هستند که «ردپای» خارج سلولی *RhD* به حدی بزرگ است که نمی‌تواند جایگاه پیوند کننده یک مولکول کامل آنتی‌بادی باشد. کریستالوگرافی اشعه *X* از کمپلکس‌های آنتی‌بادی - آنتی‌ژن، احتمالاً به منظور روشن کردن اینکه آنتی‌بادی‌های *D*، یک «ردپای» منفرد یکسان را شناسایی می‌کنند یا ایتپ‌هایی با وضعیت فضایی مجزا، مورد نیاز خواهد بود.

۵-۶-۶ *D* ضعف ناشی از *C* در وضعیت *trans*

یک فنوتیپ ضعیف که به شیوه‌ای اصولی به ارث نمی‌رسد، غالباً زمانی ظاهر می‌شود که هاپلوتیپی که کد کننده ژن *D* است نسبت به *dCe* یا ندرتاً *dCE* یا $d(C)ce^s(r^s)$ در وضعیت *trans* (روی

1 - Liu et al.

2 - Chang and Siegel

کروموزم مقابل یا متضاد) قرار گرفته باشد. این بدین معنی است که اثر *trans* از جانب هاپلوتیپی است که C، نه D، رارمزدی می‌نماید. وقتی که هاپلوتیپ تولید کننده D ضعیف با هاپلوتیپی که هیچکدام از آنتی‌ژن‌های C یا D را در عضو دیگری از خانواده رمزدی نمی‌کند (*dce* یا *dcE*) هم‌تا گردد، D به صورت طبیعی بیان می‌گردد. بعضی از کمپلکس‌های DEL ممکن است حاصل تأثیر *dCe* روی هاپلوتیپی که حاوی یک ژن D ضعیف است، باشند [۲۶۵].

۷-۶-۵ آنتی‌ژن‌های D افزایش یافته

آنتی‌ژن‌های بسیار قوی D از طریق آگلوتیناسیون مستقیم گلبول‌های قرمز توسط آنتی‌بادی‌های D ناقص از نوع IgG که گلبول‌های قرمز با بیان طبیعی D را آگلوتینه نمی‌کنند شناسایی می‌گردند. افزایش D مرتبط با D- و هاپلوتیپ‌های وابسته (*D..*, *DC^W-*, *DC-*، ناشی از یک افزایش در تعداد جایگاه‌های D می‌باشد (بخش ۵-۱۵). افزایش D همچنین در ارتباط با بعضی از هاپلوتیپ‌های *D(C)(e)* (بخش ۵-۱۴) و D جزئی *DIVa* (بخش ۵-۶-۴-۳) می‌باشد. افزایش واضح آنتی‌ژن D و دیگر آنتی‌ژن‌های Rh، در گلبول‌های قرمزی که سطوح کاهش یافته اسید سیالیک بعلت نقصان گلیکوفورین A دارند مشاهده می‌گردد (فصل ۳).

جدول ۷-۵. موقعیت اپیتپ‌های D، مطابق مدل لیو و همکاران [۲۶۰].

D epitope	Extracellular loop required
epD2 (some)	3+4+6
epD3 (most)	6 + other RhD-specific residues*
epD3 (some)	6
epD4	6 + other RhD-specific residues*
epD5 (some)	3+4
epD5 (some)	3+4+6
epD5 (one)	4+6
epD6/7 (some)	3+4
epD6/7 (some)	3+4+6
epD8	1+2+3+5
epD9 (some)	6
epD9 (some)	6 + other RhD-specific residues*

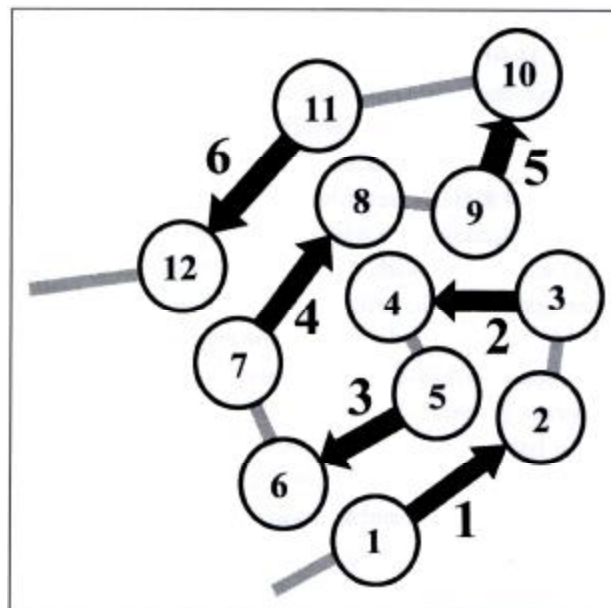
*Some epitopes also appear to require the presence of RhD-specific cytoplasmic and/or transmembrane residues to stabilize the configuration.

۵-۶-۸ تعداد جایگاه‌های آنتی‌ژنی D

تعداد جایگاه‌های D روی گلبول‌های قرمز که با استفاده از آنتی-D نشاندار شده با رادیو اکتیو و به کمک فلوسایتومتری فلئورسانس برآورد شده است، حاکی از این بوده که چگالی جایگاه در بین فنوتیپ‌های مختلف متفاوت است [۱۵۷، ۱۶۷، ۲۰۸ و ۲۶۸-۲۶۶] (جدول ۵-۸). همانطوری که انتظار می‌رفت جایگاه‌های آنتی‌ژنی کمتری روی گلبول‌های قرمز دارای فنوتیپ ضعیف وجود داشت و تعداد محاسبه شده بسیار متغیر بود: کمترین تعداد حدود ۱۰۰ و بیشترین آن حدود ۴۰۰۰ بود [۱۵۷، ۱۵۹، ۱۶۷ و ۲۰۸]. برآوردهای به عمل آمده از چگالی جایگاه D روی گلبول‌های قرمزی که فنوتیپ‌های D واریان دارند در جدول ۵-۵ ارائه شده‌اند. برخی از فنوتیپ‌های D جزئی نظیر DIII و DIVa، دارای تعداد طبیعی یا بیشتر از حد طبیعی از جایگاه‌های D به ازای هر گلبول می‌باشند، حال آنکه سایر آنها همچون انواع I و II مربوط به DVI، چگالی بسیار کمی از جایگاه D دارند [۱۶۱، ۱۶۷ و ۲۰۸]. در هر فردی تعداد جایگاه‌های D در هر گلبول قرمز محدوده وسیعی دارد [۱۳۶ و ۱۳۷].

واگنر و همکاران^۱ [۱۶۷] یک «اندکس شباهت D رزوس» طراحی نموده‌اند که به صورت نسبت ده درصدی و نود درصدی از چگالی‌های جایگاه برای اپیتپ‌های متعدد D تعریف می‌گردد. آنتی‌ژن‌های D طبیعی دارای اندکس نزدیک یک می‌باشند چون تمامی اپیتپ‌ها به طور قوی بیان می‌شوند، حال آنکه آنتی‌ژن‌های D جزئی که فاقد اکثر اپیتپ‌ها هستند، مثل DVI، یک اندکس صفر می‌دهند. گلبول‌های قرمز D ضعیف یک رقم حد واسط می‌دهند. با استفاده از این اندکس، می‌توان پیش بینی نمود که، آیا احتمال دارد فنوتیپ D واریان همراه با آلوایمونیزاسیون آنتی-D باشد یا خیر؟

1 - Wagner et al.



شکل ۵-۷. مدل ترسیمی پروتئین RhD در صورتی که از بیرون غشاء، یعنی از بالا، به آن نگاه کنیم. بعد از [۲۶۰].

حلقه‌ها، که از ۱ تا ۱۲ شماره گذاری شده‌اند، نمایانگر حوزه‌های طی کننده غشاء می‌باشند، پیکان‌ها، با شماره‌های ۱-۶، نمایانگر حلقه‌های خارجی می‌باشند و خطوط خاکستری حلقه‌های سیتوپلاسمی را نشان می‌دهند. در مورد موقعیت پیشنهاد شده اپیتپ‌های D به جدول ۷-۵ مراجعه گردد.

جدول ۵-۸. تعداد برآورد شده آنتی‌ژن‌های D در هر گلبول قرمز برای فنوتیپ‌های متعدد Rh [۱۶۷، ۲۰۸، ۲۶۶ و ۲۶۸].

Phenotype	D sites per cell (range)
DCe/dce	9 900–14 600
DcE/cde	12 000–19 700
Dce/dce	12 000–23 200
DCe/DCe	14 500–22 800
DcE/DcE	23 000–31 000
DcE/DcE	15 800–33 300
D--/D--	110 000–202 000

For numbers of C, c, and e sites, see Table 5.9.

۵-۶-۹ واریان‌های D و انتقال خون

بطور سنتی، گلبول‌های قرمز اهدا کنندگان و بیماران با استفاده از آنتی-D از نوع IgM تحت یک آزمایش آگلوتیناسیون مورد آزمایش قرار می‌گرفتند و آنهایی که آگلوتینه نمی‌شدند با استفاده از یک آزمایش آنتی‌گلوبولین مجدداً بررسی می‌شدند تا D ضعیف شناسایی گردد. امروزه به صورت یک رویه شایع، مرحله آنتی‌گلوبولین آزمایش D کنار گذاشته شده است. اگر دو معرف قوی آنتی-D استفاده شوند، تقریباً تمامی نمونه‌های D ضعیف بعنوان D+ طبقه بندی خواهند شد و فقط نمونه‌های فوق العاده ضعیف D به طور غلط نشان D- خواهند گرفت. این موضوع عموماً به دلایل ذیل قابل قبول تلقی می‌گردد:

- ۱- گرچه خون‌های اهدا شده D ضعیف ممکن است به جای D- اشتباه گرفته شده و به بیماران D- تزریق شوند، گلبول‌های قرمزی که فنوتیپ D ضعیف دارند ظاهراً خیلی ایمنونژنیک نیستند (اما به مبحث زیر مراجعه شود).
 - ۲- بیماران D ضعیفی که گلبول‌های قرمزشان به عنوان D- تعیین نوع می‌شوند، خون D- خواهند گرفت بدون اینکه تأثیر مضر متوجه آنها شود.
 - ۳- بیماران D ضعیف که در هنگام زایمان به صورت D- تعیین نوع شده‌اند ممکن است به نحو غیر ضروری ایمنوگلوبولین Rh دریافت نمایند که در این صورت نیز اگر یک آنتی‌ژن D جزئی داشته باشد، بی‌ضرر و به نفع بیمار خواهد بود.
 - ۴- یک نتیجه مثبت «کاذب» در آزمایش آنتی‌گلوبولین به علت یک واکنش آنتی‌گلوبولین مستقیم مثبت یا وجود یک آنتی‌بادی آلوده کننده، می‌تواند باعث شود که یک بیمار D- به صورت D ضعیف مشخص گردد و لذا یا خون D+ بگیرد و یا از دریافت ایمنوگلوبولین Rh محروم شود.
- یک واحد گلبول قرمز D ضعیف نوع ۲ (DII) مسئول ایمنیزاسیون اولیه آنتی-D در یک مرد-D بدون هیچ سابقه تزریق خون بود [۲۶۹]. گلبول‌های D ضعیف نوع ۲ دارای پایین‌ترین چگالی جایگاه D در میان انواع شایع‌تر D ضعیف می‌باشند (جدول ۵-۵)، به طوری که فلگل و همکاران^۱ [۲۶۹] پیشنهاد می‌کنند که گلبول‌های D ضعیف نوع ۲ بایستی آستانه آشکار سازی توسط معرف‌های آنتی-D- را نشان دهند و در تضمین کیفیت این معرف‌ها مورد استفاده قرار گیرند. به خاطر اینکه D ضعیف نیز ممکن است مسئول ایمنیزاسیون ثانویه باشد، پیشنهاد شده است که واحدهای خونی اهدا شده D- بایستی به منظور D ضعیف توسط یک آزمایش آنتی‌گلوبولین، قبل از تزریق به یک بیمار با تاریخچه تولید آنتی-D-، کنترل گردند [۱۶۱]. چند مورد از D ضعیف که در واکنش همولیتیک شدید نوزاد و

1 - Flegel et al.

یک واکنش همولیتیک کشنده انتقال خون مشارکت داشتند، همگی در طی چهل سال پیش گزارش شدند، و احتمال دارد که این نمونه‌های D ضعیف با معرف‌های امروزی D طبیعی تلقی شوند [۲۷۰].

شایع‌ترین D جزئی مرتبط با آنتی-D، DVI است. اکثر سلول‌های DVI چگالی پایینی از D دارند و همچون D ضعیف عمل می‌کنند. گرچه بعضی از معرف‌های آنتی-D مونوکلونال و پلی کلونال، گلوبول‌های DVI و اکثر گلوبول‌های D ضعیف را آگلوتینه می‌نمایند، بسیاری از معرف‌های آنتی-D مونوکلونال گلوبول‌های D ضعیف، اما نه گلوبول‌های DVI، را آگلوتینه می‌کنند. به منظور تعیین نوع D بیماران، معرف‌های آنتی-D که با گلوبول‌های DVI واکنش می‌دهند باید انتخاب شوند، زیرا ترجیح داده می‌شود که گلوبول‌های DVI به عنوان D- تعیین نوع شوند به طوری که بیماران DVI خون D- دریافت دارند.

آنتی-D در زنانی که D جزئی دارند مسئول واکنش همولیتیک شدید نوزاد بوده است [۲۷۱-۲۷۵ و ۲۲۸، ۱۹۰، ۱۷۹]. ایمونوگلوبولین آنتی-D را باید به زنان D جزئی در طول و بعد از حاملگی تزریق نمود زیرا جزء آنتی-D که به گلوبول‌های D جزئی خود مادر پیوند نمی‌یابد بایستی ایمونیزاسیون را از طریق اتصال به D طبیعی جنین یا کودک مهار نماید [۲۷۶]. این امر به ویژه در مادران DVI که گلوبول‌های قرمزشان فاقد اکثر اپیتپهای D هستند اهمیت دارد.

در خصوص ایمنی زایی D جزئی اطلاعات اندکی در دست است. هیچ موردی از ایمونیزاسیون آنتی-D توسط گلوبول‌های قرمز DVI گزارش نشده است. DVa در یک زن D منفی در طول اولین حاملگی وی منجر به تولید آنتی-D و همچنین بروز واکنش همولیتیک خفیف نوزاد در دومین فرزند که او نیز ظاهراً D جزئی داشت، گردید [۲۷۷]. مادر متعاقب اولین حاملگی ایمونوگلوبولین آنتی-D دریافت نموده بود.

۷-۵ پیش بینی فنوتیپ D با مطالعه DNA

جنین D+ از مادری D- که دارای آنتی-D است، در معرض خطر واکنش همولیتیک نوزاد می‌باشد (بخش ۵-۱۸-۳)، لذا تعیین فنوتیپ D در یک مرحله کاملاً ابتدایی از حاملگی سودمند می‌باشد. اگر جنین D+ باشد، بارداری را می‌توان به طور منحصر به فرد کنترل نمود و اگر D- باشد اقدام دیگری مورد نیاز نمی‌باشد. امروزه که اساس مولکولی فنوتیپ D- شناخته شده است می‌توان با دقت بسیار بالایی فنوتیپ D جنین را از روی DNA جنینی مشتق از آمنیوسیتها^۱ که از طریق آمنیوسنتز^۲، پرزهای کوریونیک^۳ و حتی از خون محیطی به دست می‌آیند پیش بینی نمود.

1 - amniocytes

2 - amniocentesis

3 - chorionic villi

۵-۷-۱ روش‌های آزمایش

چندین آزمایش مبتنی بر PCR به منظور پیش بینی فنوتیپ D طراحی شده‌اند. مشکل اصلی در فرموله کردن این آزمایشات طراحی پرایمرهایی است که *RHD* و *RHCE* را از هم تمییز دهند. در ابتدا سه آزمایش گزارش شدند که اساس همه شناسایی وجود یا عدم وجود *RHD* بود. در یکی از این آزمایشات از توالی استفاده می‌شد که فقط در منطقه ترجمه شده ۳' اگزون ۱۰ در *RHD* وجود داشت، تا بدین وسیله محصولی از *RHD*، اما نه *RHCE*، را تقویت نماید. یک جفت پرایمر دوم که توالی‌های مشترک بین اگزون ۷ هر دو ژن را شناسایی می‌نمودند به عنوان یک کنترل به منظور تقویت و تکثیر موفقیت آمیز مورد استفاده قرار گرفتند [۲۷۸]. آزمایش دیگری با استفاده از پرایمرهای اختصاصی توالی، محصولاتی با اندازه‌های مختلف را از اگزون‌های ۷ در ژن‌های *RHD* و *RHCE* تقویت نمود [۲۷۹]. در روش سوم یک جفت پرایمر خاص، کل ایترون ۴ هر دو ژن را تقویت نمودند و محصولاتی را به طول ۶۰۰ و ۱۲۰۰ جفت باز به ترتیب از ژن‌های *RHD* و *RHCE* تقویت نمودند [۵۹ و ۲۸۰] (به جدول ۴-۵ مراجعه شود). در هر آزمایش یک فنوتیپ D- به واسطه عدم وجود یک باند متعاقب الکتروفورز محصولات PCR پیش بینی گردید.

هر کدام از این روش‌ها منطقه خاصی از *RHD* را شناسایی می‌نماید. بنابراین در فنوتیپ‌های D واریان به واسطه نوآرایی ژن‌های Rh نتایج کاذبی حاصل خواهد شد. به عنوان مثال گلوبول‌های قرمز DVI و DVA، D+ هستند با توجه به اینکه ژن‌های مربوطه *RHD-CE-D* فاقد ایترون ۴ در *RHD* هستند، در آزمایش مربوط به ایترون ۴ یک نتیجه منفی خواهند داد (به شکل ۵-۶ رجوع شود). ژن *RHD-CE-D* مسئول D جزئی DBT فاقد اگزون ۷ در *RHD* می‌باشد و به همین دلیل در آزمایش اگزون ۷ یک نتیجه منفی خواهد داد. ژن *RHD-CE-D* مرتبط با $d(C)ce^e$ هیچ گونه آنتی ژن D تولید نمی‌کند اما دارای اگزون ۱۰ مشتق از *RHD* است و لذا در آزمایش اگزون ۱۰ یک نتیجه مثبت می‌دهد (به شکل ۵-۸ رجوع شود). یک راه به منظور جلوگیری از بروز این خطاها، آزمایش بیش از یک منطقه از *RHD* است و آزمایشات Multiplex PCR، شناسایی اگزون ۱۰ و ایترون ۴ مربوط به *RHD* در یک واکنش را امکان پذیر می‌سازند [۷۶ و ۲۸۱]. واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز (Modular) Multiple و Multiplex که تمامی اگزون‌های *RHD* متفاوت از *RHCE* را متمایز می‌سازند به منظور شناسایی آنتی‌ژن‌های D جزئی مفید می‌باشند [۲۸۲ و ۲۸۳]. انتشارات متعددی در مورد پیش بینی فنوتیپ D بر اساس PCR از سوی فلگل و همکاران^۱ [۲۸۴] فهرست شده‌اند.

این مشاهده که یک ژن *RHD* غیرفعال ($RHD\psi$)، که داری تمامی اگزون‌های مربوطه است، یک علت شایع D- در مردمان آفریقایی‌الاصل می‌باشد به این معنی است که این ژن باید در هر آزمایش Multiplex برای پیش بینی فنوتیپ D شناسایی گردد [۱۴۳]. یک تکنیک Multiplex PCR که از سوی

1 - Flegel et al.

سینگلتون و همکاران^۱ [۱۴۳] توصیف شده است اگزون ۷ و اینترون ۴ در $RHD\psi$ و آلل‌های C و C مربوط به RHCE را شناسایی می‌کند.

زمانی که مادر یک جنین، D- باشد اطلاع از وضعیت هموزیگوت یا هتروزیگوت بودن پدر برای RHD کمک به پیش بینی فنوتیپ جنین خواهد نمود. در صورتی که پدر برای RHD هموزیگوت باشد جنین D+ خواهد بود و هیچ آزمایشی مورد نیاز نخواهد بود، اگر پدر برای RHD همیزگوت باشد یک شانس یکسان برای D+ یا D- بودن جنین وجود دارد، در نتیجه یک آزمایش به منظور تعیین حالات هموزیگوت یا هتروزیگوت بودن برای RHD ارزشمند خواهد بود. تمامی روش‌های توصیه شده در بالا، به استثنای روشی که در شناسایی $RHD\psi$ طراحی شد، صرفاً یک فنوتیپ D- را به واسطه تشخیص عدم وجود RHD پیش بینی می‌نمایند، به طوری که این آزمایشات قادر به افتراق حالت هموزیگوت از حالت همیزگوت برای RHD نمی‌باشند. شناسایی توالی DNA در طول نقطه شکست که به همراه حذف RHD در هاپلوتیپ D- اتفاق می‌افتد، منجر به طراحی آزمایشات مبتنی بر PCR، که یا با استفاده از پرایمرهای اختصاصی توالی یا اندونوکلاز محدود کننده *PstI* مستقیماً هاپلوتیپ حذف RHD را شناسایی می‌نمایند، شده است [۸۰ و ۲۸۵]. روش‌های پیچیده‌تر دیگر به منظور تعیین حالت هموزیگوت یا هتروزیگوت برای RHD، شامل روش‌های ساترن بلاتینگ با استفاده از DNA هضم شده با *SphI* و پروبهای اختصاصی اگزون [۲۸۶]، PCR کمی real-time [۲۸۵] و تقویت اگزون ۱۰ مربوط به RHD از یک اسپرم منفرد [۲۸۷] بوده‌اند.

۵-۷-۲ روش‌های غیر تهاجمی به منظور پیش بینی فنوتیپ D در جنین

آمניوسنتز و نمونه برداری از پرز کوریونی^۲ (CVS) تکنیک‌های بسیار تهاجمی هستند که می‌توانند منجر به افزایش حساس شدن مادر، افزایش شدت واکنش همولیتیک نوزاد یا از بین رفتن جنین گردند. در یک جمعیت اروپایی الاصل تقریباً ۴۰٪ زنان حامله D- یک جنین D- دارند، با این حال در مواردی که عمل تزریق قبل از تولد ایمونوگلوبولین آنتی-D- به کار گرفته می‌شود، تمامی مادران این روش درمانی را دریافت می‌نمایند. یک تکنیک مورد اعتماد به منظور پیش بینی فنوتیپ D جنین، نیاز به آمنیوسنتز در بیماران دارای آنتی-D- را حذف می‌نماید و قادر است از هدر رفتن ایمونوگلوبولین و درمان غیر ضروری بیماران جلوگیری به عمل آورد.

لو و همکاران^۳ [۲۸۸] نشان دادند که DNA جنین حدود سه درصد کل DNA بدون سلول در پلاسمای مادری در طول سه ماه دوم را به خود اختصاص می‌دهد و در تمام طول حاملگی افزایش می‌یابد. این DNA جنین پس از زایمان به سرعت از گردش خون مادر پاک سازی می‌گردد به طوری که

1 - Singleton et al.

2 - Chorionic Villus Sampling

3 - Lo et al.

خطر انتقال آن به حاملگی‌های بعدی وجود ندارد [۲۸۹]. امروزه مطالعات متعدد نشان داده‌اند که نوع D جنین را می‌توان به نحو قابل اعتمادی از روی DNA جنینی در پلاسمای زنان حامله D- از آغاز سه ماه دوم پیش بینی نمود [۲۸۹-۲۹۲]. یک نقص این فناوری ناشی از مقدار زیاد DNA مادر موجود در نمونه DNA تهیه شده است، به طوری که هیچ نوع کنترل داخلی را نمی‌توان به منظور بررسی تکثیر موفقیت آمیز DNA جنینی به کار برد. پرایمرهای PCR که به منظور تقویت یک توالی از یک ژن وابسته به Y (SRY) طراحی شده‌اند، در این آزمایش قابل استفاده می‌باشند، اما صرفاً زمانی که جنین مذکر است به عنوان یک کنترل داخلی عمل می‌کنند [۲۹۲].

راهکار دیگر در آزمایش غیر تهاجمی Rh جنینی، تهیه DNA یا mRNA (که در نسخه‌های بیشتری از DNA ژنومیک در هر گلبول قرمز وجود دارد) از اریتروبلستهای جنینی است که حدود ۵۰٪ اریتروبلست‌ها در خون محیطی مادر را تشکیل می‌دهند [۲۹۳-۲۹۹]. این سلول‌ها در حضور آنتی-D مادری زنده می‌مانند [۲۹۴]، احتمالاً بدین دلیل که در مرحله‌ای بسیار ابتدایی از تکامل اریتروئیدی هستند و لذا قادر به بیان D نمی‌باشند. ذکر این نکته اهمیت دارد که فقط سلول‌های اریتروئیدی استفاده شوند زیرا سلول‌های لنفوئیدی (CD34+, CD38+) جنینی ممکن است در خون مادر بدنبال یک حاملگی قبلی وجود داشته باشند [۳۰۰].

در دو مطالعه، اریتروبلست‌های جنینی منفرد با استفاده از micromanipulation جداسازی شده و به کمک hemi-nested PCR اختصاصی برای اگزون هفتم RHD مورد آزمایش قرار گرفتند [۲۹۶ و ۲۹۹]. هیچ کدام از این راهکارها از نظر کاربردهای بالینی روتین کافی نداشته‌اند. یک روش به منظور آزمایش نمودن بلاستومرهای ویژه تهیه شده از رویان‌های مرحله شکافت^۱ به منظور تشخیص و پیشگیری از واکنش همولیتیک نوزاد قبل از جایگیری زیگوت در دیواره رحم^۲ توسعه یافته است [۳۰۱].

۵-۸ C و c

۵-۸-۱ آنتی‌ژن‌های C و c

C و c محصولات آلل‌ها هستند. C دارای یک فراوانی ۶۸٪ و c دارای یک فراوانی ۸۱٪ در اهداکنندگان انگلیسی می‌باشند که بر این اساس فراوانی‌های ژنی ۴۳۲۷٪ و ۵۶۷۳٪ را به ترتیب برای C و c فراهم می‌نمایند [۱۳]. در آفریقایی‌های سیاه پوست فراوانی c خیلی بیشتر و فراوانی C خیلی کمتر است، حال آنکه در آسیای شرقی عکس آن صادق است، به طوری که فراوانی C به ۱۰۰٪ می‌رسد اما c فراوانی کمی دارد [۲۱ و ۱۴].

1 - cleavage stage

2 - implantation

جدول ۵-۹ تعداد جایگاه‌های آنتی‌ژنی برآورد شده برای C, c و e روی گلبول‌های قرمز فنوتیپ‌های متعدد Rh را نشان می‌دهد [۳۰۲ و ۲۶۸]. تعداد جایگاه‌های C معمولاً بستگی به ماهیت آنتی-C استفاده شده دارد. ارقام موجود در جدول ۵-۹ حاصل آزمایش با نوعی سرم آنتی-C، که با گلبول‌های Dce/DcE جذب شده بود تا تمامی آثار و بقایای آنتی-G حذف گردد، بودند [۳۰۲].

نوع آنتی‌ژن به نام C^u بعضی از، نه همه، واکنش‌هایی را که از C ضعیف انتظار می‌رفت نشان می‌داد و در کمپلکس Dce وجود داشت [۳۰۳].

هاپلوتیپ DCE تولید C ضعیف می‌کند. گلبول‌های DCE/dce به صورت ضعیف با اکثر سرم‌های آنتی-C واکنش می‌دهند و گلبول‌های DcE/ DCE جایگاه‌های آنتی‌ژنی C کمی دارند [۳۰۲] (جدول ۵-۹). سلول‌های K562 آلوده شده به cDNA مربوط به آلل ce از RHCE با سه آنتی-C مونوکلونال واکنش قوی دادند اما زمانی که cDNA مربوط به آلل CE استفاده شد دو تا از آنتی-C ها واکنش ندادند و دیگری واکنش ضعیفی ایجاد نمود [۳۰۴]. بنابر این به نظر می‌آید که پلی مرفیسم (E/e)Pro226Ala تغییری را در شکل فضایی پروتئین ایجاد نماید که این نیز بیان آنتی‌ژن C را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

۵-۸-۲ پلی مرفیسم C/c

پلی مرفیسم C/c معمولاً در ارتباط با شش جایگزینی نوکلئوتیدی در RHCE است که منجر به چهار تغییر اسید آمینه‌ای می‌گردد: (C/c)Cys16Trp که توسط اگزون ۱ رمزدهی می‌گردد، Ile60Leu، Ser66Asn و Ser103Pro که توسط اگزون ۲ کد می‌شوند [۵۶ و ۶۰] (جدول ۵-۱۰). پیش شده که فقط ریشه ۱۰۳، خارج غشاء و در حلقه خارج سلولی دوم واقع است (شکل ۵-۲).

Ser103 برای ویژگی C ضروری است اما کافی نمی‌باشد. اگزون دوم RHD و آلل C مربوط به RHCE، مشابه بوده و هر دو Ser103 را رمز دهی می‌نمایند. هر نوع آنتی‌بادی اختصاصی Ser103 با محصولات RHD و آلل C از RHCE واکنش می‌دهد، بطوری که آنرا آنتی-G می‌نامند نه آنتی-C (بخش ۵-۱۱). بنابراین C یک آنتی‌ژن شدیداً وابسته به شکل فضایی است و معرف‌های آنتی-C ناهمگن می‌باشند. پروتئین به منظور بیان کامل C باید دارای Ser103 و Cys16 و بعضی دیگر از اسیدهای آمینه منطقه فرودست که مشخصه پروتئین RhCcEe هستند باشد. Cys16 برای تمامی اپیتپ‌های C ضروری نیست.

$RHD-CE-D^S$ بخشی از هاپلوتیپ $ce^S d(C)$ که در آفریقایی‌ها نسبتاً شایع است، دارای اگزون‌های ۱، ۲ و انتهای ۵' اگزون ۳ مشتق از RHD می‌باشد و به همین دلیل Ser103, Trp16 مربوط به RHD، اما Thr152 و اسیدهای آمینه حلقه خارج سلولی سوم مربوط به RHCE، را رمزدهی می‌نماید [۱۴۵].

$RHD-CE-D^S$ تولید C ضعیف می‌کند [۱۴۶-۱۴۴]. همین طور ژن غیر طبیعی RHCE مرتبط با r^G که تولید C ضعیف جزئی نیز می‌نماید Ser103، اما نه Trp16، را رمزدهی می‌کند [۳۰۵].

تبدیل کدون Cys16 به کدون Trp از طریق جهش زائی هدفدار در cDNA مربوط به آلل *Ce* از *RHCE* و بیان قطعه صنعتی در سلول‌های K562، منجر به کاهش حدود ۵۰٪ در توانایی پیوند دو نوع آنتی-*C*، در مقایسه با *CecDNA* نوع وحشی، گردید [۳۰۴]. آنتی ژن *C* غیر طبیعی مرتبط با Trp16 و Ser103 ممکن است نمایانگر آنتی ژنی به نام $C^G(RH21)$ باشد [۳۰۶ و ۳۰۷].

آنتی ژن *c* تقریباً بطور کامل به واسطه وجود Pro103 که توسط *RHCE* (نه *RHD*) رمزدهی می‌شود، تعیین می‌گردد (جدول ۵-۱۰). پلی مرفیسم Cys16Trp بیان *c* را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد - ۷۴٪ آفریقای‌های سیاه پوست *C-c+* که آنتی ژن *c* طبیعی دارند، دارای Cys16 می‌باشند [۳۰۸] - هر چند که Cys16 کد شده توسط یک آلل *ce* بیان بعضی از ایتپ‌های *e* را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۳۰۹]. Cys16 همچنین در ۶۸٪ مردان سفید پوست دارای فنوتیپ *Dce* وجود دارد اما در هیچکدام از افرادی که فنوتیپ‌های *dce/dce* یا *DcE/DcE* دارند مشاهده نمی‌شود [۲۸۲]. پرماتهای غیر انسانی که *RHCE* آنها Pro103 را رمزدهی می‌کند، اما هیچ اسید آمینه دیگری را که مشخصه آنتی ژن *c* باشد رمزدهی نمی‌نماید، دارای گلوبول‌های قرمز *c+* می‌باشند [۳۱۰ و ۳۱۱]. آزمایشات جهش زائی هدفدار نشان داده‌اند که آنتی-*c* های مختلف نیاز به اسیدهای آمینه متفاوتی دارند [۲۶۰].

۵-۳-۸-۳ پیش بینی فنوتیپ *C/c* با مطالعه *DNA*

اختلاف تعیین کننده بین آللهای *C* و *c* مربوط به *RHCE*، یک تغییر T307C در اگزون ۲ می‌باشد. اگزون ۲ در *RHD* و در آلل *C* مربوط به *RHCE* توالی یکسانی دارند به طوری که طراحی پرایمرهای اختصاصی آلل به منظور شناسایی *C* امکان پذیر نمی‌باشد (بجز در نمونه‌های *D-*)، گرچه طراحی آنها برای *c* نسبتاً راحت‌تر است [۳۱۲، ۲۸۲، ۳۱۳]. C48 در ایترون ۱، که Cys16 را رمزدهی می‌نماید، ارتباط خیلی نزدیکی با بیان آنتی ژن *C* به منظور پیش بینی فنوتیپ *C* ندارد (بخش ۵-۸-۲). پولتر و همکاران^۱ [۳۱۴] در ایترون دوم *RHCE* نوعی پلی مرفیسم در اندازه را شناسایی نمودند که ارتباط نزدیکی با بیان *C/c* دارد. به واسطه انجام دو روش PCR تعیین ژنوتیپ *C/c* امکان پذیر شده است: یکی از آنها پرایمری را که مکمل یک توالی درون قطعه داخل شده^۲ ۱۰۹ جفت بازی ویژه *C* است، در ایترون دوم *RHCE* وارد می‌کند. روش دیگر پرایمری را که اختصاصی برای یک C307(c) در اگزون ۲ است بکار می‌گیرد [۳۱۵ و ۱۴۳]. هاپلوتیپ *d(C)ce^s* در آزمایش ایترون ۲، علی رغم اینکه تولید *C* می‌کند جواب منفی می‌دهد زیرا ایترون ۲ مربوط به ژن *RHD-CE-D^s* که تولید *C* غیر طبیعی می‌نماید مشتق از *D* است (بخش ۵-۱۷-۲).

1 - Poulter et al.

2 - Insert

جدول ۵-۹. تعداد برآورد شده جایگاه آنتی‌ژنی C، c و e در هر گلبول قرمز [۲۶۸ و ۳۰۲].

Phenotype	Antigen sites per cell (range)		
	C	c	e
DCe/DCe	45 700-56 400		
dCe/dCe	42 200		
DCe/DcE	25 500-39 700	40 000-53 000	14 500
DCe/DcE			13 400
DcE/dce		37 000-42 000	24 400
DCe/dce C ^{w+}	21 500-40 000		
dCe/dce	31 100		
DcE/DcE	8 500-9 800		
DcE/DcE		78 000-80 000	
dce/dce		70 000-85 000	18 200
d(C)ce ⁺ /dce	7 200		

For numbers of D antigen sites, see Table 5.8.

۵-۸-۴ واریان‌های c جزئی و Rh26

یک آنتی ژن c واریان به واسطه ناتوانی آن در واکنش با یک معرف آنتی - c قوی شناسایی گردید. این آنتی‌بادی که احتمالاً اپیتپی از c را تعریف می‌کند، شماره آنتی-Rh26 گرفت [۳۱۶]. سه^۱ فرد مورد مطالعه 26-: c+Rh دیگر که ظاهراً فنوتیپ DCe/dce داشتند در آزمایشات انجام شده روی ۱۹۰۰ نمونه گلبول قرمز C+ شناسایی شدند. با توجه به پرسشهای به عمل آمده مشخص شد که دو نفر از این سه فرد مورد مطالعه ارتباط خویشاوندی داشتند و هر سه آنها اصل و نسب ایتالیایی داشتند. مطالعات خانوادگی نشان داد که c غیر معمول در هاپلوتیپی به ارث می‌رسد که e، نه D، را رمزدهی می‌نماید. اکثر سرمهای آنتی - c ظاهراً حاوی مخلوطی از آنتی - c و آنتی-Rh26 می‌باشند. یک زن هلندی DCe/dce در طی اولین بارداری خود آنتی-Rh26 ساخت. غربالگری با این آنتی‌بادی یک فرد مورد مطالعه هلندی دوم با گلبول‌های قرمز 26-: DCe/dceRh را شناسایی نمود [۳۱۷].

¹ - در کتاب لاتین "دو" آمده که با توجه به جمله بعدی باید "سه" باشد.م

جدول ۵-۱۰. پلی مرفیسم‌های C/c و E/e - جایگزینی های اسید آمینه‌ای در پلی پپتید RhCcEe که از توالی‌های DNA استنتاج شدند- توالی پلی پپتید D به منظور مقایسه نشان داده شده است.

پلی پپتیدها	ریشه اسید آمینه				
	۲۲۶-	۱۰۳	۶۸	۶۰	۱۶
ce	Ala	Pro	Asn	Leu	Trp
Ce	Ala	Ser	Ser	Ile	Cys
cE	Pro	Pro	Asn	Leu	Trp
CE	Pro	Ser	Ser	Ile	Cys
D	Ala	Ser	Ser	Ile	Trp

- خارج سلولی.

ریشه اسید آمینه شماره ۱۶ توسط اگزون ۱ از RHCE رمزدهی می‌گردد، ریشه‌های ۶۰، ۶۸، ۱۰۳ توسط اگزون ۲ و ریشه ۲۲۶ توسط اگزون ۵ رمزدهی می‌شوند.

تمامی اعضای c+Rh:-26 خانواده بیان ضعیف c اما بیان طبیعی ce داشتند. همه آنها یک آلل ce از RHCE داشتند که حاوی یک تغییر G286A در اگزون ۲ بود و یک جایگزینی Gly96Ser را در حوزه سوم طی کننده غشاء در نزدیکی حلقه دوم خارج سلولی رمزدهی می‌نمود [۳۱۷]. دو نمونه از ده نمونه آنتی-c مونوکلونال به صورت آنتی- Rh26 عمل می‌کردند به طوری که با گلبول‌های قرمز c+Rh:-26 واکنش نمی‌دادند [۳۱۷]. تجزیه و تحلیل خانواده یک بیمار c+Rh:-26 نشان داد که هاپلوتیپی که آنتی ژن c واریان را رمزدهی می‌کند تولید E، e یا ce نمی‌نماید و به احتمال زیاد Dc- است [۳۱۸]. گلبول‌های قرمز D+C+c+E-e+ دو فرد سفید پوست غیر خویشاوند یک c ضعیف غیر طبیعی داشتند که با آنتی-c مونوکلونال و پلی کلونال تعیین گردید [۲۴۸]. فنوتیپ آنها متفاوت از c+Rh:-26 بود. این گلبول‌ها همچنین Tar+ بودند. بررسی‌های مولکولی حاکی از این بود که این دو نفر DCE/DCE و دارای آللهای Ce طبیعی مربوط به RHCE و یک RHD طبیعی بودند اما یک RHD واریان داشتند که حاوی جهش‌های کد کننده Pro103Ser، مشخصه c در RHCE و Leu110Pro، مشخصه DVII و Tar بود (بخش ۵-۶-۴-۶) [۲۴۸].

۵-۸-۵ آنتی‌بادی‌های Cc

ناهمگونی کاملاً شناخته شده سرمهای آنتی-C- (که فاقد آنتی-G و آنتی-D هستند) با استفاده از آزمایشات بعمل آمده روی بسیاری از فنوتیپ‌های C+ به اثبات رسیده است [۳۰]. این ناهمگونی را

می‌توان بر اساس مقادیر متغیر آنتی-C، آنتی-Ce⁻ و آنتی-CE تا حدودی تفسیر نمود [۳۱۹ و ۳۰]. اکثر موارد «آنتی-C» ایمنون که توسط افراد D⁺ ساخته می‌شوند آنتی-Ce⁻ هستند (بخش ۵-۱۰-۲). معرف‌های تعیین گروه که از آنتی-C نوع IgM موجود در افراد D⁻ ساخته می‌شوند، به همراه آنتی-D ناقص (IgG) بوده و غالباً حاوی آنتی-G هستند [۳۱۹].

۹-۵ E و e

۹-۵-۱ آنتی‌ژن‌های E و e

E و e، یک جفت آنتی‌ژن متباین دیگر در درون سیستم Rh، توسط *RHCE* یعنی همان ژنی که C و c را رمزدهی می‌کند کد می‌گردند. در تمامی جمعیت‌ها آنتی‌ژن e یک فراوانی بسیار بالاتر از E دارد [۲۱ و ۱۴]. فراوانی‌های ژنی و آنتی‌ژنی ذیل در یک جمعیت انگلیسی حاصل شده‌اند: E ۲۹٪ و e ۷۱٪؛ E ۱۵۵۴/۰ و e ۸۴۶/۰ [۱۳]. ارقامی که برای دیگر جمعیت‌ها به دست آمده‌اند تفاوت آنچنانی با این اعداد ندارند.

هیوز - جونز و همکاران^۱ [۲۶۸] دریافتند که چگالی جایگاه‌های آنتی‌ژنی E، بسته به فنوتیپ گلبول‌های قرمز و منبع آنتی-E به نحو قابل ملاحظه‌ای متغیر می‌باشد. برآوردهای بعمل آمده از تعداد جایگاه‌های آنتی‌ژنی E روی هر گلبول بین ۴۵۰ و ۲۵۶۰۰ در نوسان بود. ماسوردیس و همکاران^۲ [۳۲۰] ۲۷۵۰۰ جایگاه روی گلبول‌های DcE/DcE و ۱۷۹۰۰ جایگاه بر روی گلبول‌های DcE/dce را برای E به ثبت رساندند. برآورهای مربوط به چگالی جایگاه آنتی‌ژن e در جدول ۹-۵ ارائه شده‌اند. نوعی E ضعیف که بصورت اصولی توارث می‌یابد، E^u نامیده شده‌است [۳۲۳-۳۲۱].

۹-۵-۲ پلی مرفیسم E/e

پلی مرفیسم E/e در ارتباط با یک تغییر C676G در اگزون پنجم *RHCE* می‌باشد که یک جایگزینی Pro226Ala را در حلقه خارج سلولی چهارم پروتئین RhCcEe پیش بینی می‌نماید [۶۰ و ۵۶]. (جدول ۵-۱۰). آنتی‌ژن e، همچون C، باید وابسته به شکل فضایی باشد، زیرا Ala226 نیز توسط *RHD* رمزدهی می‌گردد، گرچه محصول *RHD*، e را بیان نمی‌سازد. تغییرات مختلف زیادی که بر *RHCE* اعمال می‌شوند، بیان آنتی‌ژن e را تحت تأثیر قرار خواهند داد، مطلبی که در بخشهای دیگر این بخش ظاهر خواهد شد. بعنوان مثال وجود آنتی‌ژن VS، که ناشی از یک جایگزینی Leu245Val کد شده توسط یک آلل e از *RHCE* است، در ارتباط با تضعیف e می‌باشد (بخش ۵-۱۳) [۱۴۵، ۱۴۶ و ۳۲۴]. زمانی که C نسبت به E در وضعیت *cis* باشد آنچنان که در هاپلوتیپ نسبتاً نادر *DCE* مشاهده می‌شود،

1 - Hughes-Jones et al.

2 - Masouredis et al.

بیان C غالباً بسیار ضعیف است (بخش ۵-۸-۱). بنابراین به نظر می‌رسد که Pro226 بیان C را سرکوب می‌سازد [۳۰۴]. در هر حال، پلی مرفیسم C/c هیچ نوع تاثیر واضحی روی بیان E ندارد [۳۰۴].

۳-۹-۵ پیش بینی فنوتیپ E/e از طریق مطالعه DNA

گاهی اوقات آنتی-E و، ندرتاً، آنتی-e ایجاد واکنش همولیتیک نوزاد می‌نمایند (بخش ۵-۱۸-۲)، لذا یک مکانیسم به منظور پیش بینی فنوتیپ E/e جنینی می‌تواند مفید باشد. وجود یک آلل E را می‌توان به کمک PCR به همراه یک پرایمر ویژه آلل، تشخیص داد [۳۱۲]. شناسایی e اندکی پیچیده‌تر است زیرا G676، نوکلئوتیدی که مشخصه آلل e از RHCE است، در RHD نیز وجود دارد. این مشکل به راحتی با استفاده از یک پرایمر اختصاصی برای G676 که از طریق یک پرایمر به نوکلئوتید ویژه RHCE در اگزون ۵ (مثلاً A787) جفت شده مرتفع می‌گردد [۲۸۲ و ۳۲۵]. به شیوه‌ای دیگر تعیین فنوتیپ E/e را می‌توان از طریق هضم یک محصول PCR ویژه RHCE توسط MnlI، بعمل آورد. استیرز و همکاران [۳۲۴] کل اگزون پنجم RHCE و RHD را تقویت نمودند سپس با استفاده از الکتروفورز ژل با شیب غلظت واسرسته کننده^۲ (DGGE)، RHD را از آلل‌های E، e^s و e^s مربوط به RHCE افتراق دادند. PCR ویژه آلل به منظور پیش بینی ژنوتیپ E/e جنینی از روی اریتروبلاست‌های جنینی جدا شده از خون مادر استفاده شده است [۳۲۶].

۴-۹-۵ واریان‌های E

گلبول‌های قرمز دارای آنتی‌ژن بسیار نادر E^W(RH11) با بعضی، اما نه همه، سرم‌های آنتی-E واکنش می‌دهند. تمام نمونه‌های شناخته شده آنتی-E^W در نتیجه پاسخ ایمنی علیه گلبول‌های قرمز ایجاد شده‌اند و آنتی-E^W مسئول واکنش همولیتیک نوزاد بوده است [۳۲۷ و ۳۲۸]. مطالعات خانوادگی مربوط به فقط پنج فرد مورد مطالعه E^W+ گزارش شده‌اند [۳۳۱-۳۲۷]. سه نفر از این افراد مورد مطالعه آلمانی بودند. E^W همواره در ارتباط با DcE می‌باشد. چندین واریان کیفی دیگر E نیز گزارش شده‌اند. گلبول‌های قرمز ۶۵٪ بومی‌های E⁺ ساکن صحرای غربی استرالیا با نوعی آنتی-E به نام آنتی-E^T که در سرم یک مرد بومی استرالیایی DcE/DcE یافت شد، واکنش ندادند [۳۳۲]. آنتی‌ژن E جزئی به شیوه‌ای صحیح و قابل توجه به ارث رسیده بود. آنتی-E^T به منظور انجام مطالعات بیشتر، دیگر موجود نمی‌باشد. گلبول‌های قرمز E⁺ یک مرد سفید پوست با اصالت هلندی، با دو نمونه از دوازده نمونه آنتی-E- پلی کلونال و یا با یکی از سه آنتی-E- مونوکلونال واکنش ندادند [۳۳۳]. خواهر و مادرش نیز E غیر

1- Steers *et al.*

2 - Denaturing-Gradient Gel Electrophoresis

طبیعی داشتند که بصورت بخشی از کمپلکس DcE به ارث رسیده بود. یک فنوتیپ مشابه، اما کاملاً مستقل، E غیر معمول در هشت نفر از ۵۸۲۵۰ اهدا کننده ژاپنی E+ بدنبال غربالگری با استفاده از یک آنتی-E مونوکلونال IgM انسانی، شناسایی گردید [۳۳۴]. این گلبول‌های قرمز E+ قادر به واکنش با هشت آنتی-E مونوکلونال و با چهار نمونه از ۲۲ آنتی-E پلی کلونال نبودند. یک مطالعه خانوادگی نشان داد که آنتی ژن E غیر معمول در یک کمپلکس DcE که D و c طبیعی را بیان می‌نماید به ارث رسیده است.

چهار دسته از واریان‌های E (EI تا EIV) متعاقب آزمایش نمودن گلبول‌های قرمز دارای آنتی ژن E غیر معمول با آنتی-E مونوکلونال، شناسایی شدند. تمامی پروتئین‌های E واریان دارای Pro226 بودند. EI یک جایگزینی Met167Lys در حلقه سوم خارج سلولی داشت، در EII اگزون‌های ۱-۳ از RHD مشتق شده بودند، در EIII در چهارمین حلقه خارج سلولی خود دارای جایگزینی‌های Gln233Glu و Met238Val بود که توسط قطعه‌ای از اگزون ۵ مشتق از RHD رمزدهی می‌شدند و EIV دارای یک تغییر Arg201Thr در حوزه طی کننده غشاء بود [۳۳۵ و ۳۳۶].

با آزمایش نمودن واریان‌های E در مقابل آنتی-E مونوکلونال در یک کارگاه در سال ۲۰۰۱ هفت الگوی واکنش شناسایی گردید [۲۱۶].

۵-۹-۵ واریان‌های e: hr^B , hr^S و آنتی ژن‌های وابسته

بعضی از افراد e+، که اکثراً اصالت آفریقایی دارند، آنتی‌بادی ساختیافته‌اند که در آزمایشات مربوط به گلبول‌های قرمز با فنوتیپ‌های شایع Rh، همچون آنتی-e عمل می‌کند. طبقه بندی واریان‌های e به واسطه ندرت معرف‌های قوی e، پیچیدگی پاسخ آنتی‌بادی از سوی افراد e+ که «آنتی-e» می‌سازند، و تنوع چشم گیر این آنتی ژن‌های غیر طبیعی e، امکان پذیر نبوده است. دودسته محتمل، hr^B و hr^S ، بطور کامل بررسی شده‌اند. همان طوری که در متن زیر نیز روشن خواهد شد، تلقی این آنتی ژن‌ها مطلقاً به عنوان واریان‌های e، یک ساده سازی قابل توجه موضوع است.

۵-۹-۵-۱ hr^S (RH19) و hr^B (RH18)

آنتی‌بادی که فاکتور خونی hr^S را تعریف نمود، اولین آنتی‌بادی شبیه آل‌آنتی-e بود که در سرم یک شخص e+ (Shabalala) یافت شد [۳۳۷]. سرم با تمامی گلبول‌های فنوتیپ شایع Rh واکنش داد، اما واکنش آن با گلبول‌های E-e+ قوی‌تر از واکنش آن گلبول‌های E+e- بود. سرم پس از اینکه با گلبول‌های E+e- جذب شد دیگر با گلبول‌های e- واکنش نشان نداد، اما همچنان با گلبول‌های e+ واکنش می‌داد به استثنای گلبول‌های قرمز حدود یک درصد سیاهپوستان آفریقایی جنوبی که hr^S منفی تلقی شدند.

شاپیرو^۱ [۳۳۷] برآورد نمود که حدود شش درصد هاپلوتیپ‌های Rh نوع Bantu, Dce یا dce بودند که هیچ گونه hr^S را رمزدهی نمی‌کردند. نوعی آنتی‌بادی که به واسطه جذب سرم Shabalala با گلبول‌های $E+e-$ حذف گردید، یک آنتی‌ژن با شیوع زیاد به نام Hr (که Hr^S و RH18 نیز نامیده می‌شود) را شناسایی می‌کند. Hr بر سطح تمامی گلبول‌های قرمز بجز گلبول‌های نادر $e+$ که فاقد hr^S هستند، گلبول‌های دارای فنوتیپ $D--$ و فنوتیپ‌های وابسته، و گلبول‌های Rh_{null} ، وجود دارد. آنتی-Hr همچنین ممکن است جزئی از آنتی- Hr_0 ، که پاسخ ایمنی افراد $D--$ مصون شده است، باشد(بخش ۵-۱۵-۶).

مورز^۲ [۳۳۸] معتقد است که آنتی‌بادی که آنتی- hr^S نامیده می‌شود، مطلقاً حاصل جذب جزئی آنتی-Hr (آنتی‌بادی علیه یک آنتی‌ژن با شیوع زیاد) است، تا نقطه‌ای که دیگر با گلبول‌های $E+e-$ که دارای Hr ضعیف می‌باشند واکنش ندهد. سایر محققین وجود دو آنتی‌بادی را در سرم Shabalala با استفاده از آزمایشات جذب تأیید نموده‌اند [۳۳۹-۳۴۱].

نمونه‌های دیگری از آنتی- hr^S توصیف شده‌اند [۳۴۰ و ۳۴۲]، گرچه بسیاری از آنتی‌بادی‌های دیگری که بعنوان آنتی- hr^S مشخص شده‌اند، به احتمال زیاد شناسایی آنها غلط بوده است. پاسخ ایمنی افراد hr^S منفی به شدت متغیر است و آنتی‌بادی‌هایی که همچون آنتی- $e-$ در سرم افراد- hr^S $e+$ عمل می‌کنند غالباً به عنوان آنتی- hr^S فرض می‌شوند ولواینکه گلبول‌های ضروری به منظور شناسایی دقیق در دسترس نباشند. آنتی- hr^S ظاهراً جزئی از اکثر سرم‌های آنتی- $e-$ می‌باشد [۳۳۷]. توانایی آنتی- $e-$ ساخته شده توسط افراد $e-$ و واکنش با گلبول‌های $e+hr^S$ متغیر است: بعضی از آنتی‌بادی‌ها با گلبول‌های $e+hr^S$ واکنش منفی می‌دهند، اما آنتی- hr^S نیستند زیرا به واسطه واکنش‌هایی که با دیگر گلبول‌های $e+$ غیر معمول دارند مسجل می‌گردد [۲۱۷]. آنتی-Hr ایجاد واکنش همولیتیک نوزاد نموده است [۳۳۸]. همان طوری که از توصیف سرولوژیک ممکن است انتظار رود، اساس مولکولی فنوتیپ- $e+hr^S$ ناهمگون است. Met238 که توسط اگزون پنجم آلل ce از $RHCE$ کد می‌گردد، ظاهراً عاملی ضروری در بیان hr^S است، به طوری که یک جایگزینی Met238Val که توسط آللی به نام $ceMO$ کد می‌شود در ارتباط با فنوتیپ $e+hr^S$ بود [۳۴۳].

۵-۹-۲ hr^B (RH31), Hr^B و Rh34

توصیف فاکتور خونی hr^B خیلی شبیه داستان hr^S است. آنتی- hr^B در سرم یک سیاه پوست از آفریقای جنوبی (Bastiaan) به همراه یک آنتی‌بادی (آنتی- Hr^B) علیه آنتی ژنی با شیوع زیاد شناسایی گردید [۳۴۴]. آنتی- hr^B از طریق جذب سرم با گلبول‌های قرمز $E+e-$ تهیه شد. سرم‌هایی که ظاهراً

1 - Shapiro

2 - Moores

حاوی آنتی- hr^B در غیاب هر نوع آنتی- Hr^B هستند وجود دارند [۳۴۱]. در هر حال سرم Bastiaan احتمالاً حاوی یک آنتی‌بادی منفرد است، نوعی ویژگی که آنتی- hr^B نامیده می‌شود و ناشی از جذب جزئی آنتی- Hr^B است تا حدی که دیگر با گلبول‌های e^- که Hr^B را به صورت ضعیف بیان می‌نمایند واکنش ندهد [۳۴۵ و ۳۴۶]. شماره آنتی- $Rh34$ دال بر پاسخ تام ایمنی Bastiaan است و لذا حاکی از آنتی- Hr^B به اضافه آنتی- hr^B (در صورت وجود) می‌باشد.

یک مطالعه خانوادگی نشان داد Bastiaan دارای ژنوتیپ غیر معمول $Rh, d(C)ce^s/D^{III}ce$ ، بوده است [۳۴۴]. هاپلوتیپ‌های Dce که هیچکدام از محصولات Hr^B و hr^B را تولید نمی‌کنند (بعبارتی دیگر تولید $Rh34$ نمی‌کنند) نیز شناسایی شده‌اند [۳۴۴ و ۳۴۶]. از میان ۶۵ نمونه خون $e+hr^B$ ، ۵۹ نمونه $VS+$ بودند، بسیار بیشتر از تعدادی که اگر هیچ ارتباطی وجود نداشت انتظار می‌رفت. این احتمال وجود دارد که هاپلوتیپ $d(C)ce^s$ ، که تولید VS ، امانه V ، می‌نماید (بخش ۵-۱۳) تولید hr^B نکند [۳۴۷]. دوازده نمونه از ۶۵ نمونه خون- hr^B ، hr^S بودند که این نیز رقمی بیشتر از رقم مورد انتظار بود [۳۴۸].

نوعی آنتی‌بادی مونوکلونال که از لنفوسیت‌های یک زن سفید پوست چند زا دارای آنتی- Ce تولید شد در یک آزمایش آنتی‌گلوبولین با گلبول‌های قرمز کامل همچون آنتی- Ce عمل نمود، اما وقتی که گلبول‌های مجاور شده با پاپائین استفاده شدند آنتی‌بادی با تمامی گلبول‌های قرمز بجز گلبول‌های $e+hr^B$ (و برخی از دیگر فنوتیپ‌های نادر همچون $D-$ و Rh_{nu11}) واکنش داد [۳۴۹]. زمانی که گلبول‌های قرمز ۹۸۲ آفریقایی با یک روش پاپائین مورد آزمایش قرار گرفتند ۲۶ نمونه بدون واکنش بودند که هفده تا از آنها $E+e$ و نه نمونه دیگر $e+hr^B$ بودند.

آنتی- hr^B در سرم دو بیمار که به صورت موقت hr^B را از دست داده بودند شناسایی گردید [۳۵۰]. با ظهور مجدد hr^B مشخص شد که آلوآنتی‌بادی‌های ظاهر شده اتو آنتی‌بادی هستند.

۵-۹-۳ دیگر آنتی ژن‌های e واریان

نمونه‌های فراوان دیگری از آنتی‌بادی‌های علیه آنتی ژنهای شبیه e در افرادی که گلبول‌های قرمز $e+$ دارند شناسایی شده‌اند [۲۱۷، ۳۴۰، ۳۴۱ و ۳۵۱]. ایسیت^۱ [۳۴۱] به منظور اثبات تنوع این فنوتیپ‌ها درصدد طبقه بندی آنتی‌ژن‌های e مربوط به شانزده فرد $e+$ و دارای آنتی- e برآمد اما در نهایت دوازده دسته را ایجاد نمود. دو دسته وسیع را می‌توان تعریف نمود:

۱- آنهایی که e جزئی داشته و میتوانند تولید آنتی‌بادی شبیه e نمایند، و

۲- آنهایی که e جزئی و Hr_0 جزئی ($RH17$) داشته و آنتی‌بادی‌هایی می‌سازند که با تمامی گلبول‌های قرمز بجز گلبول‌های قرمز فنوتیپ‌های مشابه غیر معمول، گلبول‌های Rh_{null} و گلبول‌های دارای $D--$ و فنوتیپ‌های وابسته واکنس می‌دهند.

یک آنتی‌بادی قابل تفکیک شبیه e نیز ممکن است در سرمهای نوع دوم وجود داشته باشند. احتمال دارد که گلبول‌های دسته اول مربوط به افرادی باشند که برای هاپلوتیپ نادر *Dce* که یک آنتی‌ژن e جزئی را رمزدهی می‌کند و برای *DcE* (یا *dcE*) طبیعی که هیچ e تولید نمی‌کند اما آنتی‌ژن با شیوع زیاد وابسته به آن را تولید می‌نماید، هتروزیگوت باشند. با این وصف گلبول‌های دسته دوم مربوط به افرادی هستند که برای یک هاپلوتیپ نادر که تولید e جزئی نموده اما هیچ نوع آنتی‌ژن با شیوع زیاد وابسته به آن را تولید نمی‌نماید هموزیگوت می‌باشند (یا برای دو هاپلوتیپ مشابه از این نوع هتروزیگوت باشند). یک شرح عالی در مورد پیچیدگی‌های موزائیک e از سوی ایسیت ارائه شده است [۳۴۱].

۵-۹-۴-۵ STEM (RH49)، یک آنتی‌ژن با شیوع کم در ارتباط با بعضی از فنوتیپ‌های hr^B و hr^S
 ناهمگونی بیشتر فنوتیپ‌های hr^S و hr^B به واسطه آنتی-STEM، یک آنتی‌بادی علیه شاخصی که روی گلبول‌های قرمز ۶-۳٪ افراد نژاد سیاه و نژاد مخلوط Natal وجود دارد اما در میان مردمان سفید پوست فوق العاده نادر است، محرز گردید [۳۵۲]. مطالعات خانوادگی حاکی از این بود که STEM در ارتباط با بعضی از هاپلوتیپ‌های *Dce* است که تولید hr^B یا hr^S نمی‌کنند. گلبول‌های قرمز تقریباً ۶۵٪ افراد hr^S -Hr و ۳۰٪ افراد hr^B -Hr، از نظر STEM مثبت می‌باشند. افرادی که گلبول‌های قرمز $STEM^+$ hr^S^+ یا $STEM^+$ hr^B^+ دارند ممکن است برای یک هاپلوتیپ *Dce* فاقد hr^B یا فاقد hr^S ، هتروزیگوت باشند. بنابراین STEM ممکن است مارکری برای بعضی از آنتی‌ژن‌های e جزئی یا « Hr_0 جزئی» باشد.

۵-۹-۶ آنتی‌بادی‌های Ee

آنتی-E با شیوعی بیشتر از آنتی-C در سرم افراد D^+ وجود دارد. برخلاف دیگر آنتی‌بادی‌های Rh آنتی-E غالباً به نظر می‌آید «ظهور طبیعی» داشته باشد [۲۷۰]. بسیاری از معرف‌های آنتی-E فقط با گلبول‌های قرمز E^+ مجاور شده با پروتئاز واکنش می‌دهند [۳۵۳-۳۵۶] (بخش ۵-۱۸-۳). آنتی-e یک آنتی‌بادی شایع نیست زیرا فقط ۳٪ افراد e- هستند و سرم‌هایی که حاوی آنتی-e می‌باشند غالباً آنتی-Ce یا آنتی-ce را نیز درون خود حمل می‌کنند (بخش ۵-۱۰).

۵-۱۰ آنتی‌ژن‌های مرکب CE

بعضی از آنتی‌ژن‌های Rh، که تحت عنوان آنتی‌ژن‌های مرکب شناخته شده‌اند، فقط زمانی بروز می‌یابند که c به همراه e، C به همراه E و یا c همراه E توسط یک ژن *RHCE* تولید شوند. واکنش آنتی‌بادی‌ها علیه این آنتی‌ژن‌ها در جدول ۳-۵ ارائه شده است. آنتی‌بادی‌های ضد این آنتی‌ژن‌ها احتمالاً تفاوت‌های شکل فضایی در پروتئین RhCcEe را که ناشی از جایگزینی‌های اسید آمینه‌ای

مرتبط با هر دو پلی مرفیسم E/e و C/c می باشند شناسایی می نمایند. این با مدلی از پروتئین های Rh در غشاء که در آن حلقه های ۲ و ۴ خارج سلولی در نزدیکی هم (در فاصله ۲۰ انگسترومی) قرار گرفته اند، مطابقت می نماید [۲۶۰] (شکل ۵-۷).

۵-۱۰-۱ یا f (RH6) ce

آنتی-ce (آنتی-f) با محصولات ce که آلی از RHCE می باشد واکنش می دهد. این آنتی-بادی همچنین با گلبول های $d(C)ce^e$ واکنش می دهد (بخش ۵-۱۳). واکنش محصولات بعضی از هاپلوتیپ های غیر طبیعی با آنتی-ce، بر خلاف پیش بینی های بعمل آمده از واکنش آنها با آنتی-c و آنتی-e می باشد. بعنوان مثال، بعضی از هاپلوتیپ های Dc- آنتی ژن ce، اما نه e، را بروز می دهند [۳۰] (بخش ۵-۱۵-۳).

اولین دو مورد آنتی-ce در بیماران DCe/DcE که سابقه تزریق خون های متعدد داشتند، شناسایی شدند [۳۵۷ و ۳۵۸]. آنتی-ce یکی از اجزای شایع سرم های آنتی-c و آنتی-e می باشد [۳۵۷ و ۳۵۹]، اما صرفاً در موارد بسیار نادر بصورت یک ویژگی منفرد مشاهده می شود. سه مورد از واکنش همولیتیک نوزاد ناشی از آنتی-ce گزارش شده است [۳۶۲-۳۶۰] (گرچه یکی از سرم ها حاوی آنتی-c نیز بود [۳۶۰]). آنتی-ce در یک واکنش همولیتیک تاخیری نیز مطرح شده است [۳۶۳]. یک اتو آنتی-ce در یک بیمار DCe/dce فقط با استفاده از آزمایش آنتی گلوبولین اسیدی شده قابل شناسایی بود، نقش این اتو آنتی-بادی در واکنش انتقال خون بیمار مشخص نبود [۳۶۴].

۵-۱۰-۲ یا Ce (RH7), RH41

شناسایی آنتی ژن مرکب Ce، که در ابتدا rh_i نامیده می شد [۳۶۵]، توضیحی بر این مشاهده بود که سرم های آنتی-C خاصی، آنتی ژن C تولید شده توسط Dce و DCe را از آنتی ژن C تولید شده توسط DCE و dCE افتراق می دهند [۳۶۶].

آنتی-Ce اولیه، به همراه یک آنتی-e ضعیف در سرم یک زن ایمونیزه Dce/DcE پیدا شد، آنتی-e از طریق جذب با گلبول های Dce یا dce/dce حذف گردید [۳۶۵]. اکثر آنتی-بادی های C ایمیون که توسط افراد D+ ساخته می شوند، آنتی-Ce هستند [۳۴۵] و اکثر سرم های آنتی-C و آنتی-CD حاوی حداقل مقداری آنتی-Ce می باشد [۳۱۹].

آنتی-Ce ایجاد یک واکنش همولیتیک نوزاد نموده که نیاز به درمان با تعویض خون داشته است [۳۶۷ و ۳۶۸] و احتمالاً در یک واکنش همولیتیک تاخیری نیز نقش داشته است [۳۶۹]. دیگر نمونه های آنتی-Ce احتمالاً اهمیت بالینی داشتند، اما بعنوان آنتی-C شناسایی شدند. آنتی-Ce از نوع IgA در یک زن DCe/Dce، مسئول کم خونی همولیتیک اتوایمیون بود [۳۷۰].

آنتی - Rh41، نوعی آنتی‌بادی که در یک زن $DCC^W e/DcE$ ظاهر شد، از لحاظ واکنش با گلبول‌های افرادی که حامل C و e تولید شده توسط یک ژن بودند، مشابه آنتی - Ce بود، اما بواسطه واکنش با گلبول‌های $d(C)ce^s/dce$ و عدم واکنش با گلبول‌های $DCC^W e/dce$ ، آنتی - Ce تفاوت داشت [۳۷۱].

۵-۱۰-۳ (RH22) CE

آنتی - CE یک آنتی‌بادی بسیار نادر است که با محصولات هاپلوتیپ‌های نادر DCE و dCE واکنش می‌دهد. اولین مورد آن به همراه آنتی - C در سرم یک زن dce/dce که اصلاً سابقه تزریق خون نداشت، شناسایی گردید [۳۷۲]. همسر وی dce/dce بود و یک فرزند داشت. مورد دوم آنتی - CE به همراه یک آنتی - C ضعیف نیز به نظر می‌رسید «ظهور طبیعی» داشته باشد (P.Booth تماس شخصی).

۵-۱۰-۴ (RH27) cE

آنتی - cE (به همراه آنتی - E و آنتی - S) نخستین بار در سرم یک زن DCE/DCE، به طور قاطع شناسایی گردید [۳۷۳]. نمونه‌ای دیگر از آنتی - cE، که در سرم یک مرد $DCC^W e/DCE$ شناسایی شد، ظاهراً یک آنتی‌بادی «با ظهور طبیعی» بود و بعنوان یک آنتی‌بادی Rh وضعیتی غیر معمول داشت زیرا به کمپلمان متصل می‌شد [۳۷۴].

۵-۱۱ (RH12) G

آنتی - G، بجز در موارد نادر، فقط با گلبول‌های قرمزی که D یا C و یا هر دو را بروز می‌دهند واکنش می‌دهد. Ser103، که توسط RHD و آلل C مربوط به RHCE رمز دهی می‌گردد، کلید واکنش دهندگی G می‌باشد (به جدول ۵-۱۰ مراجعه شود).

فرض مسلم این بود که وجود G واکنش‌های غیر منتظره گلبول‌های قرمز یک اهداکننده آمریکایی سفید پوست، که ظاهراً C-D- بودند اما با اکثر سرم‌های آنتی -CD واکنش می‌دادند، را توضیح می‌دهد [۳۷۵]. این فنوتیپ بسیار نادر بعنوان $r^G r^G/dce$ معرفی گردید. سرم‌های «آنتی -CD» دارای واکنش مثبت، ظاهراً حاوی یک جزء آنتی -G بودند و گمان می‌رفت آنتی -D+G، آنتی -C+D+G و آنتی -C+G باشند. آنتی -G از طریق جذب با گلبول‌های قرمز r^G/dce و جداسازی از سطح آنها قابل تفکیک بود. حالت هموزیگوت برای r^G در مردی که والدینش پسر عمو و دختر عموهای اول بودند، مشاهده شد [۳۰۶]. ژن r^G تولید G، C بسیار ضعیف که توسط یک آنتی -C از هر سه آنتی -C تولید شده در افراد D+ (که در ابتدا آنتی -C^G نامیده می‌شد [۳۰۷]) شناسایی می‌گردد، و e ضعیف می‌نماید [۳۰۷، ۳۰۶ و ۳۷۵]. این ژن همچنین آنتی‌ژن با شیوع کم JAHK (RH53) را تولید می‌کند [۳۷۶]. JAHK بر سطح

گلوبول‌های قرمز سه شخص r^G/dce غیر خویشاوند، یک شخص r^G/r^G و سه فرد مورد مطالعه دیگر که فنوتیپ احتمالی r^G/DcE داشتند، شناسایی گردید. آنتی-JAHK در چندین سرم که حاوی آنتی‌بادی‌های متعدد علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع کم بودند یافت شد.

ژن r^G نمایانگر $RHCE$ است که Trp16 (مشخصه c و RHD) در اگزون ۱ و Ser103, Ser68, Ile60 (مشخصه C و RHD) در اگزون ۲ را رمزدهی می‌کند [۳۰۵] (به جدول ۵-۱۰ رجوع شود). این ژن ممکن است نمایانگر یک آلل ce از $RHCE$ باشد که در آن اگزون ۲ توسط اگزون دوم RHD یا اگزون دوم آلل C مربوط به $RHCE$ جایگزین شده است. این وضعیت شاید در نتیجه تبدیل ژنی (به بخش ۵-۵-۵ رجوع شود) یا کراسینگ اور درون اینترون ۱، بین آللهای c و Ce مربوط به $RHCE$ ، ایجاد شده باشد (زیرا اگزون‌های ۱۰-۳ در آللهای c و C یکسان هستند).

با اعمال استثنائاتی بر این قانون که تمامی گلوبول‌های دارای D و یا C ، $G+$ هستند، این موضوع که G یک آنتی‌ژن متمایز و مجزاست و اساساً نشانگر Ser103 در RhD یا $RhCcEe$ می‌باشد، مورد تایید قرار گرفت. Dce که تولید D طبیعی، اما نه G ، می‌کند در سه نسل از یک خانواده سفید پوست که بعثت بروز واکنش همولیتیک نوزاد ناشی از آنتی- $C+G$ مورد مطالعه قرار گرفته بودند، شناسایی گردید [۳۷۷]. در دو فرد غیر خویشاوند با گلوبول‌های قرمز $G-Dce/dce$ ، که ظاهراً دارای D طبیعی بودند، ژن RHD یک تغییر T307C داشت که یک جایگزینی Ser103Pro را رمزدهی می‌نمود [۳۷۸]. گلوبول‌های قرمز دارای آنتی‌ژن D جزئی $DIIIb$ ، اکثر اپیتپ‌های D را بیان می‌کنند، اما $G-$ هستند (بخش ۵-۶-۴-۲) و گاهی اوقات پاسخ ایمنی آنها شامل یک آنتی- G قابل جداسازی می‌باشد [۱۶۵ و ۱۶۹]. $DIIIb$ توسط RHD ، که اگزون ۲ آن توسط اگزون دوم یک آلل c از $RHCE$ جایگزین شده و لذا Asn68, Leu60 و Pro103 را رمزدهی می‌نماید، تولید می‌گردد (به شکل ۵-۶ رجوع شود) [۱۷۷].

هاپلوتیپی که بصورت $r^{''G}$ مشخص شده است، تولید G ، E و احتمالاً C بسیار ضعیف، اما نه D ، c یا JAHK، می‌نماید [۳۷۶، ۳۷۹]. میزان G تولید شده توسط $r^{''G}$ در خانواده‌های مختلف متغیر است [۳۰، ۲۱۷]. ژن $r^{''G}$ حکایت از نوعی $RHD-CE-D$ دارد که در آن اگزون‌های ۸-۴ مشتق از آلل E مربوط به $RHCE$ می‌باشند [۳۷۸]. این ژن Trp16 و Ser103 را رمزدهی می‌نماید. فقط یک مورد از گلوبول‌های $C+$ فاقد G گزارش شده است: یک زن $D+C+c+E+e+G-$ که آنتی- G ساخته بود [۳۸۰].

اسکو^۱ [۳۸۱] تعداد جایگاه‌های آنتی‌ژنی G در هر گلوبول قرمز را برآورد نمود: DcE/DcE : ۹۹۰۰-۱۲۲۰۰، dCe/dCe : ۸۲۰۰-۹۷۰۰، DCE/DCE : ۵۴۰۰، DcE/DcE : ۳۶۰۰-۵۸۰۰، Dce/Dce : ۴۵۰۰-۵۳۰۰، DcE/dce : ۴۲۰۰، و ۶۰۰-۳۶۰۰ در مورد چهار فرد غیرخویشاوند $dceG+(r^{''G}/r)$.

آنتی- G جایگاه‌های C و D [۳۷۵] و گاهی اوقات جایگاه e [۳۸۲] را بلوک می‌نماید.

1 - Skov et al.

آنتی-G در ابتدا در سرم افراد dce/dce، به همراه آنتی-D و یا آنتی-C، یافت شد [۳۸۴ و ۳۸۳، ۳۷۵]. ایسیت و تسل^۱ [۳۱۹] آنتی-G را در ۳۰٪ سرم‌های «آنتی-CD» اهدا کننده خاص و در تمامی معرف‌های آنتی-CD و آنتی-CDE تجارتي شناسایی نمودند. آنتی-G را می‌توان با تکنیک‌های جذب و جداسازی با استفاده از گلبول‌های قرمز r^G/dce و یا r^G/dce ، ایزوله نمود [۳۷۵ و ۳۸۱]. با توجه به اینکه این فنوتیپ‌ها نادر هستند، یک تکنیک جداسازی دوگانه مفید واقع شده است: «آنتی-CD» توسط گلبول‌های (D-C+G+) dce/dce جذب و از سطح آنها جدا (elute) می‌گردد تا آنتی-C و آنتی-G جداسازی شود، سپس این eluate، که فاقد آنتی-D است، بر سطح گلبول‌های (D+C+G+) dce/dce جذب و از سطح آنها جدا می‌گردد تا آنتی-G جداسازی شود [۳۸۵]. آنتی-G در سرم افراد D+G- یافت شده است [۳۷۷، ۱۶۹، ۳۸۶ و ۳۸۷]. یک بررسی کامل سرولوژیک روی ۲۷ نمونه سرم از زنان ایمونیزه که ظاهراً آنتی-D+C- داشتند، سه مورد آنتی-D+C-، سیزده مورد آنتی-D+C+G-، هفت مورد آنتی-D+G- و چهار مورد آنتی-C+G- را آشکار ساخت [۳۸۸]. اهمیت بالینی آنتی-G در بخش ۵-۱۸-۲ مورد بحث قرار می‌گیرد.

نظریه G به حل بعضی از پیچیدگی‌های سرولوژیک قبلی کمک نموده است. این نظریه روشن نمود که چرا بعضی از زنان dce/dce فقط بواسطه حاملگی ایمونیزه شده‌اند، ظاهراً آنتی-C+D- ساخته‌اند، ولو اینکه همسرانشان C- بودند، آنتی‌بادی آنها آنتی-D+G- بود. همچنین وجود احتمالی آنتی-C+D- در سرم دو مادر dce/dce که فرزندان dce/dce بدنیا آورده بودند [۳۸۳ و ۳۸۴]، بواسطه این نظریه مشخص شد که آنتی‌بادی‌های آنها آنتی-C+G- بودند. همچنین بواسطه شناسایی آنتی-G توانایی ظاهری گلبول‌های dce/dce در جذب آنتی-C از سرم‌های آنتی-C+D- بدینصورت توجیه شد که این سرم‌ها آنتی-D+G- هستند. یک آنتی-C+D- واضح که در یک زن D- متعاقب دریافت هشت واحد خون D- ساخته شده بود، مشخص شد که آنتی-C+G- بوده و یکی از اهداکنندگان بعنوان dce/dce شناسایی گردید [۳۸۹].

۵-۱۲ MAR, C^x, C^w

C^x و C^w در ابتدا گمان می‌رفت که نشانگر آللهایی از c و C باشند، اما بعدها پی برده شد که یک ارتباط آللیک با آنتی‌ژن دارای شیوع زیاد به نام MAR دارند [۳۹۰]. C^x و C^w حاصل تغییرات تک نوکلئوتیدی در اگزون اول RHCE (معمولاً یک آلل Ce) که جایگزینی‌های اسید آمینه‌ای در اولین حلقه خارج سلولی را رمزدهی می‌کنند، می‌باشند: Gln41Arg در C^w و Ala36Thr در C^x [۳۹۱]. این تغییرات اسید آمینه‌ای احتمالاً دگرگونی‌های شکل فضایی در پروتئین را که مسئول ناهنجاریهای کمی و کیفی C هستند باعث می‌شوند.

۵-۱۲-۱ (RH8) C^w

کالندر و ریس^۱ [۳۹۲] به اولین نمونه آنتی-C^w در سرم یک بیمار Dce/Dce که به وی گلبول‌های قرمز Dce/DceC^w تزریق شده بود، دست یافتند. در یک جمعیت انگلیسی، C^w شیوع ۲/۶٪ دارد [۱۳]، فراوانی‌های مشابه در اکثر جمعیت‌های اروپای شمالی و آمریکایی سفید پوست دیگر یافت می‌شوند [۱۴]. بیشترین فراوانی C^w (۷-۹٪) در Latvian ها، Lapp ها و فنلاندی‌ها مشاهده شده است [۳۰]، در اکثر جمعیت‌های دیگر، این فراوانی بسیار کمتر است [۱۴ و ۲۱].

گلبول‌های قرمز C^w تقریباً همیشه C⁺ هستند، اما آنتی‌ژن C مرتبط با C^w ضعیفتر از C طبیعی است، گرچه تشخیص این ضعیف بودن بستگی به آنتی-C استفاده شده دارد. هر چند که C^w معمولاً توسط یک هاپلوتیپ Dce تولید می‌گردد، C^w مرتبط با dCe [۳۹۲]، dCE [۳۹۳]، و DCE [۳۹۴] نیز یافت شده است. شخصی با گلبول‌های قرمز ظاهراً طبیعی DCC^we/dce، نوعی آنتی-C ساخت که با گلبول‌های DCC^we/dce یا dCC^we/dce واکنش نمی‌داد [۳۹۵]. آنتی‌بادی‌های مشابهی در سرم افراد DCC^we/DcE و DCC^we/DCC^we شناسایی شده‌اند [۳۹۶ و ۳۹۷].

مطالعات انجام شده با آنتی-C^w مونوکلونال انسانی نشاندار شده با ¹²⁵I، برآوردی از جایگاه‌های آنتی‌ژنی C^w به ازای هر گلبول قرمز را به صورت ذیل ارائه نمود: DCC^we/DCC^we: ۳۲۰۰۰، DCC^we/DcE: ۱۵۲۰۰، DCC^we/dce: ۱۹۸۰۰، dCC^we/dce: ۱۵۳۰۰، و dCC^we/dce: ۲۶۲۰۰ [۳۹۸]. مطالعات مشابه با آنتی-C مونوکلونال هیچ گونه کاهش واضح در چگالی آنتی‌ژن C در گلبول‌های C^w در مقایسه با گلبول‌های C⁻ را آشکار ننمود [۳۹۸].

در موارد بسیار نادر، C^w توسط RHCE که c و e را تولید می‌نماید، ساخته می‌شود [۳۹۹، ۳۹۱ و ۴۰۰]. در فردی با گلبول‌های قرمز C^w+C-c⁺، گلبول‌ها، D- و G- نیز بودند (dcC^we/dce) (G. Wittman, R. Zimmermann, M. Wallance, P. Tippett, تماس شخصی). C^w معمولاً توسط یک آلل Ce مربوط به RHCE که Arg41 را کد می‌کند، تولید می‌گردد، C^w مرتبط با c توسط یک آلل ce که Arg41 و Cys16 را کد می‌کند، تولید می‌شود [۳۹۱]. بنابراین آگزون‌های ۱ در آللهای CC^we و cC^we، دارای توالی یکسان می‌باشند (به جدول ۵-۱۰ رجوع شود)، و احتمالاً بواسطه نوترکیبی بین آللهای CC^we (آگزون ۱) و ce (آگزون‌های ۱۰-۲) مربوط به RHCE، ظهور یافته است. هاپلوتیپ DC^w، که تولید C^w، اما نه C، E.c یا e، می‌نماید در بخش ۵-۱۵-۴ توصیف می‌گردد.

آنتی-C^w، یک آنتی‌بادی غیر شایع نیست و غالباً ناشی از هیچ نوع محرک ایمونیزه کننده شناخته شده مرتبط با گلبول قرمز نمی‌باشد. از میان ۱۱۰۰ زن حامله Manitoban، فقط یک نفر دارای آنتی-C^w بود [۴۶۱]. آنتی-C^w مسئول چندین مورد واکنش همولیتیک نوزاد بوده است، اما این موارد به ندرت شدید بوده‌اند (بازنگری شده در منبع [۴۰۱]).

1 - Callender and Race

بومن و پولوک^۱ [۴۰۱] بدین نتیجه می‌رسند که مرگ‌های نوزادی ناشی از آنتی- C^w که در سال ۱۹۴۷ گزارش شدند [۴۰۲] احتمالاً نتیجه کرنیکتروس^۲ بدلیل عدم تعویض خون بودند. روش‌های مبتنی بر PCR به منظور پیش بینی فنوتیپ C^w جنینی در کنترل واکنش همولیتیک نوزاد بالقوه ناشی از آنتی- C^w مفید می‌باشند [۳۹۱ و ۴۰۳].

۵-۱۲-۲ C^x (RH9)

C^x ، همچون C^w ، معمولاً توسط یک هاپلوتیپ DCE که تولید کننده C غیر طبیعی است تولید می‌گردد. گلبول‌های قرمز C^x+ با بعضی از، اما نه همه، معرف‌های آنتی- C واکنش می‌دهند. دو هاپلوتیپ بسیار نادر نیز C^x را رمزدهی می‌نمایند: dCC^xe [۳۰]، و در چهار نفر از ۵۱۳ سومالیایی غیر خویشاوند، dcC^xe که تولید C ، V و VS ، اما نه C یا ce ، می‌کند [۴۰۴]. هفت مورد C^x مثبت در میان ۵۹۱۹ (۱۲/۰٪) اهدا کننده بریتانیایی [۴۰۵ و ۴۰۶] و ۲۰۲ مورد در میان ۷۰۵۰۳ (۲۹/۰٪) آمریکایی [۴۰۷] شناسایی شدند. C^x در فنلاند شیوع بسیار بالاتری دارد: ۳۷ نفر از ۲۰۶۰ (۱/۸٪) فنلاندی C^x+ بودند [۳۹۵].

اولین نمونه از آنتی- C^x ایجاد واکنش همولیتیک خفیف نوزاد نمود، همچنانکه نمونه‌های بعدی آن، ایجاد نمودند [۴۰۵ و ۴۰۶]. بعضی از نمونه‌های آنتی- C^x ظاهراً دارای «ظهور طبیعی» هستند [۴۰۸]. آنتی- C در سرم یک بیمار DCC^xe/dce با سابقه تزریق خون، با اکثر گلبول‌های $C+$ ، از جمله گلبول‌های DCC^w/dce ، اما نه با گلبول‌های DCC^xe/dce ، DCC^xe/DcE ، DCC^xe/DCC^xe ، واکنش داد [۴۰۹].

۵-۱۲-۳ MAR (RH51)

آنتی‌بادی MAR در یک زن فنلاندی که گلبول‌های قرمز $C^w+C^x+D+C+c-E-e$ بودند و احتمالاً DCC^we/DCC^xe هتروزیگوت بود، مشاهده گردید [۳۹۰]. آزمایش ۱۰۰۴۵ اهدا کننده فنلاندی ۲۱ مورد MAR منفی را آشکار نمود نه نفر C^w+C^x (احتمالاً C^w/C^w)، سه نفر C^w-C^x (C^w/C^x) و نه نفر هم C^w+C^x (C^w/C^w) بودند.

در هشت خانواده با والدین MAR-، هر بیست فرزند یا C^w+ یا C^x+ بودند. آنتی‌بادی MAR بصورت ضعیف با نمونه‌های بسیاری از گلبول‌های C^w+C^x- و C^w-C^x+ واکنش داد. این آنتی‌بادی با گلبول‌های Rh_{null} ، $D-$ ، و یا DC^w واکنشی نشان نداد. از آنجایی که C^w و C^x معمولاً به ترتیب از جاگزینی‌های Gln41Arg و Ala36Thr در پروتئین RhCe حاصل می‌گردند [۳۹۱]، این احتمال وجود دارد که هم Gln41 و هم Ala36 به منظور بیان MAR ضروری باشند.

1 - Bowman and Pollock

2 - kernicterus

دو آنتی‌بادی دیگر علیه آنتی ژن‌های با فروانی زیاد، که در زنان هموزیگوت احتمالی برای C^x [۴۰۷] و یا C^w [۴۱۰] تولید می‌شوند، از لحاظ واکنش‌های سرولوژیکی مشابه آنتی‌بادی MAR می‌باشند. در هر حال، آنتی‌بادی مربوط به C^w هموزیگوت بصورت ضعیف با گلبول‌های $DCC^x e/DC^x e$ و آنتی‌بادی مربوط به C^x هموزیگوت بصورت قوی با گلبول‌های $DCC^w e/DCC^w e$ واکنش دادند [۴۱۰]. آنتی‌بادی شخص C^x هموزیگوت احتمالی، ایجاد واکنش همولیتیک نوزاد نمود [۴۰۷].

۱۳-۵ (RH10) V , (RH20) VS

۱-۱۳-۵ سرولوژی

آنتی-V، که نخستین بار در سال ۱۹۵۵ گزارش گردید [۴۱۱]، و آنتی-VS - که پنج سال بعد توصیف شد [۴۱۲]، آنتی‌ژن‌هایی را تعریف می‌کنند که بر سطح گلبول‌های قرمز جمعیت‌های آفریقایی شایع هستند اما در جمعیت‌های دیگر بسیار نادر می‌باشند. V و VS در ارتباط با یک e ضعیف بنام e^s می‌باشند، گرچه e و e^s غالباً به سختی از هم افتراق داده می‌شوند. بعنوان یک قاعده کلی، VS توسط هاپلوتیپ‌های Dce^s ، dce^s و $d(C)ce^s$ تولید می‌گردد، حال آنکه هاپلوتیپ‌های Dce^s و dce^s ، اما نه $d(C)ce^s$ ، V را تولید می‌نمایند.

هاپلوتیپ $d(C)ce^s$ تولید c طبیعی، e^s ، $(f)ce$ ، یک C جزئی ضعیف (که گاهی اوقات C^G نامیده می‌شود)، G و VS می‌نماید، اما D، Ce یا V را تولید نمی‌کند. علامت r^{fs} برای $d(C)ce^s$ استفاده شد، اما علامتی نامتناسب است زیرا هاپلوتیپ تولید c طبیعی می‌نماید. بعلاوه، آنتی-Rh42، نوعی آنتی‌بادی که در سرم یک مادر Dce/Dce دارای دو فرزند $Dce/d(C)ce^s$ و $Dce/d(C)ce^s$ یافت شد، فقط با محصول $d(C)ce^s$ واکنش می‌دهد [۴۱۳]. بعضی از افراد دارای فنوتیپ $d(C)ce^s$ تولید آلوانتی-C - نموده‌اند، که این خود تاییدی بر این مطلب است که C ضعیف یک آنتی‌ژن C جزئی است [۴۱۴]. VS همچنین در ارتباط با فنوتیپ hr^B می‌باشد (بخش ۵-۹-۵-۲): از میان ۶۵ نمونه hr^B -، ۵۹ نمونه VS+ بودند [۳۴۸].

نمونه‌های بسیاری از آنتی-VS [۲۱۷، ۳۰، ۳۴۰ و ۴۱۵] و آنتی-V [۴۱۱، ۴۱۷-۴۱۵]، غالباً در سرم‌هایی که حاوی دیگر آنتی‌بادی‌ها بوده‌اند، شناسایی شده‌اند. گزارشات فراوانی از ناهمگونی آنتی-VS در دست می‌باشد و بطور کامل از سوی ترگلاس و ایسیت^۱ مورد بررسی قرار گرفته است [۴۱۵]: بعضی از آنتی‌بادی‌ها ترجیحاً با گلبول‌های VS+V- واکنش می‌دهند، بعضی گلبول‌های VS+V+ را ترجیح می‌دهند و سایر آنها بخوبی با هر دوی این گلبول‌ها واکنش یکسان ایجاد می‌کنند [۳۰، ۲۱۷ و ۳۴۰].

1 - Tregellas and Issit

ناهمگونی آنتی-VS احتمالاً توضیحی بر نوعی ویژگی تحت عنوان آنتی- $(RH28)hr^H$ می باشد [۳۸۶]. ناهمگونی آنتی بادی های V نیز زمانی که در مقابل گلبول های قرمز با فنوتیپ های غیر معمول آزمایش شوند مشاهده می گردد [۲۱۷، ۳۸۶ و ۴۱۵]. آنتی-VS یا آنتی-V که دارای اهمیت بالینی باشند گزارش نشده اند. آنتی-VS و آنتی-V معمولاً بواسطه یک تکنیک آنتی گلوبولین واکنش می دهند، اما آنتی-V فعال در سالین نیز گزارش شده است [۴۱۷].

تعدادی فنوتیپ گزارش شده اند که با قواعد سرولوژیک توصیف شده در بالا سازگاری ندارند. یک اهدا کننده $D-C-V-VS+$ [۱۴۶] و یک فنوتیپ $VS-V+(ceAR)$ [۱۴۶ و ۱۸۹] در بخش مربوط به ژنتیک مولکولی (بخش ۵-۱۳-۲) توصیف شده اند. بعضی از گلبول های قرمز $DIIIa$ ، $C-$ هستند و با تمامی معرف های آنتی-VS وارد واکنش می شوند، اما فقط با بعضی از سرم های آنتی-V واکنش نشان می دهند [۱۶۸، ۱۶۹ و ۲۱۷]. دو فرد مورد مطالعه دارای فنوتیپ غیر طبیعی $DCE/DCeVS+V+$ بودند [۳۰] و $P.Tippett$ ، $M.Reid$ ، تماس شخصی].

از بین ۱۰۰ اهدا کننده خون سیاهپوست از آفریقای جنوبی، ۳۴ نفر $VS+V+$ ، نه نفر $VS+V-$ و چهار نفر $VS-V+$ دارای V ضعیف (ceAR) بودند [۱۴۶]. شیوع V در دو مطالعه بعمل آمده روی آمریکایی های آفریقایی تبار به ترتیب ۲۷٪ [۴۱۱] و ۳۹٪ [۴۱۸] و در جمعیت های آفریقایی غربی ۴۰٪ [۴۱۱] بود.

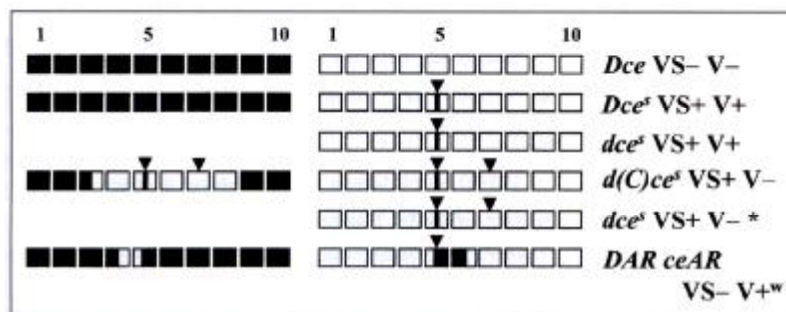
V یک ویژگی منحصرأ آفریقایی نیست : در دو خانواده انگلیسی دارای آنتی ژن V هیچ گونه ردی از اصالت آفریقایی وجود نداشت [۴۱۱].

تضعیف D در گلبول های قرمز افراد $Dce/d(C)ce^s$ تایید نمود که $d(C)ce^s$ یک اثر ضعیف کنندگی روی D در وضعیت *trans* دارد، مشابه اثر dCe (به بخش ۵-۶-۶ رجوع شود) [۳۰]. یک هاپلوتیپ به نام r^{Gs} شباهت قابل ملاحظه ای با $d(C)ce^s$ دارد [۳۴۵]. هیچ فردی که دارای r^{Gs} در وضعیت *trans* با یک هاپلوتیپ شایع کد کننده C باشد گزارش نشده است، و همینطور مشخص نیست که آیا r^{Gs} تولید C می کند یا خیر؟

۵-۱۳-۲ ژنتیک مولکولی

VS در ارتباط با یک تغییر تک نوکلئوتیدی در اگزون پنجم آلل *ce* مربوط به *RHCE* می باشد که یک جایگزینی *Leu245Val* را رمزدهی می کند. این موضوع روی DNA ژنومیک بیش از ۱۰۰ نمونه خون $VS+$ [۱۴۵، ۱۴۶ و ۳۲۴] و با تعیین توالی رونوشت های mRNA [۱۴۵] به اثبات رسیده است. در هاپلوتیپ های dce^s و Dce^s جهش دیگری شناسایی نشده است (شکل ۵-۸). *Val245* در پروتئین RhD وجود دارد، بدین ترتیب ممکن است یک رویداد تبدیل ژنی کوچک در تشکیل ژن VS اتفاق افتاده باشد. پیش بینی می شود که اسید آمینه ۲۴۵ در حوزه هشتم طی کننده غشایی، بعد از

حوزه چهارم خارج سلولی که حاوی Ala226 می باشد قرار گرفته است، ریشه اسید آمینه ای مذکور اصولاً مسئول بیان e می باشد (به اشکال ۱-۵ و ۲-۵ رجوع گردد). احتمال می رود که بیان VS و مرتبط با آن تضعیف e^s ، ناشی از تغییرات شکل فضایی پروتئین بعلت جایگزینی Leu245Val باشد. هاپلوتیپ $d(C)ce^s$ حاوی یک ژن هیبرید، $RHD-CE-D^s$ ، است که متشکل از اگزون های ۱ و ۲، بخشی از اگزون ۳ (شامل کدون های ۱۲۷، ۱۲۸ و ۱۲۹)، اگزون های ۹ و ۱۰ مربوط به RHD و باقیمانده اگزون ۳ (شامل کدون ۱۵۲) و اگزون های ۷-۴ مربوط به $RHCE$ (e) می باشد [۱۴۴ و ۱۴۵] (شکل ۵-۸). منشاء اگزون ۸ ناشناخته است. $RHD-CE-D^s$ جایگزینی های اسید آمینه ای ذیل را رمز دهی می نماید: Leu62Phe (اگزون ۲)، Ala137Val (اگزون ۳)، Leu245Val (اگزون ۵)، و Gly336Lys (اگزون ۷) [۱۴۵ و ۱۴۶].



شکل ۵-۸. نمایش ده اگزون RHD و $RHCE$ در فنوتیپ های $VS+$ و $V+$.
 ، کدونهای مربوط به Val245 در اگزون ۵ و Cys336 در اگزون ۷.
 ژنوتیپ از طریق تجزیه و تحلیل رونوشت مورد تایید قرار نگرفته است.

$RHD-CE-D^s$ با یک آلل ce از $RHCE$ که جایگزینی های Leu245Val (VS) و Gly336Cys را رمزدهی می کند، جفت می گردد (شکل ۵-۸) [۱۴۵ و ۱۴۶]. وجود Ser103 که توسط اگزون دوم $RHD-CE-D^s$ کد می شود به همراه توالی های فرودست مشخصه $RHCE$ ، احتمالاً مسئول بیان C توسط $d(C)ce^s$ است و ضعیف بودن آن ناشی از تریپتوفان، نه سیستئین، در موقعیت ۱۶ می باشد (بخش ۵-۸-۲). $RHD-CE-D^s$ و ژن جفت شده با آن $RHCE$ ، هر دو Val245 و Ala226 (e) را رمز دهی می نمایند و احتمال می رود که VS و e^s را تولید کنند. هر دو ژن همچنین سیستئین را به جای گلایسین در موقعیت ۳۳۶ رمز دهی می کنند، جهشی که در فنوتیپ های $VS+V+$ وجود ندارد [۱۴۶]. این امکان وجود دارد که آنتی- VS و آنتی- V هر دو Val245 را در یک پروتئین Rhce شناسایی نمایند، اما آنتی- V بیشتر از آنتی- VS وابسته به شکل فضایی است و با پروتئین زمانی که Cys336 وجود داشته باشد واکنش نمی دهد.

وجود جهش‌های یکسان در کدونهای ۲۴۵ و ۳۳۶ در قطعه *RHCE* مربوط به *RHD-CE-D^s* و *RHCE* روی یک کروموزم، حاکی از این است که ژن هیبرید در ابتدا از تبدیل ژنی بین *RHCE* و *RHD* در وضعیت *cis* حاصل گردید (به بخش ۵-۵-۵ و شکل ۵-۵ رجوع شود).

یک انگلیسی سیاهپوست اهدا کننده خون دارای فنوتیپ غیر معمول *D-C-c+E-e+G-V-VS+* بود. اگر چه امکان بررسی و تجزیه و تحلیل رونوشت وجود نداشت، مطالعات ژنومیک حاکی از این بود که این اهدا کننده، *RHD-CE-D^s* نداشته است اما دارای ژن *RHCE* مشخصه *d(C)ce^s* بوده که Val245 و Cys336 را رمزدهی می‌کند [۱۴۶] (شکل ۵-۸). این یافته، تاییدی قوی بر این نظریه است که *RHD-CE-D^s*، *C* ضعیف را تولید می‌کند و وجود Cys336، نه پروتئین Rh هیبرید، مسئول عدم وجود *V* در فنوتیپ *d(C)ce^s* می‌باشد.

چهار نفر با یک فنوتیپ غیر معمول، *VS-* و دارای بیان ضعیف *V*، در جریان یک بررسی روی ۱۰۰ سیاهپوست اهدا کننده خون از آفریقایی جنوبی، شناسایی شدند [۱۴۶]. یکی از آنها دارای یک آنتی‌ژن *D* جزئی جدید نیز بود. فنوتیپ *VS-V^w+* از یک ژن *RHCE-D-CE* (که *ceAR* نامیده شد) حاصل گردید که در آن کدونهای مربوط به Val238 (VS), Gly263, Lys267 مشتق از اگزون پنجم *RHD* و کدون Val306 مشتق از اگزون ششم *RHD* بودند [۱۴۶، ۱۸۹] (شکل ۵-۸). در یک مطالعه روی ۳۲۶ سیاهپوست از آفریقایی جنوبی، بیست نفر (۱/۶) *ceAR* داشتند که چهارده نفرشان آلل *DAR* مربوط به *RHD* را نیز داشتند [۱۸۹] (به بخش ۵-۶-۴-۱۰ مراجعه شود).

۱۴-۵ هاپلوتیپ‌هایی که منجر به تولید آنتی‌ژن‌های CcEe با بیانی ضعیف می‌گردند

در این بخش یکسری فنوتیپ، که منجر به بیان ضعیف آنتی‌ژن‌های Rh می‌گردند، با هم مورد بحث قرار گرفته‌اند. باید بخاطر داشت که آنتی‌ژن‌های ضعیف (که درون پُرانتزهایی نشان داده می‌شوند) فقط بر سطح گلبول‌های قرمز افرادی که برای هاپلوتیپ نادر، هموزیگوت هستند و یا افرادی که دارای یک هاپلوتیپ Rh مناسب و متباین می‌باشند، قابل مشاهده خواهند بود: بعنوان مثال، *C* ضعیف در صورتی که یک *C* طبیعی توسط ژن متضاد تولید گردد شناسایی نخواهد شد، اما اگر ژن متضاد *c* را تولید نماید قابل شناسایی خواهد بود. بعضی از هاپلوتیپ‌های ضعیف شده تولید آنتی‌ژن‌های با شیوع کم نیز می‌نمایند. پاره‌ای از جزئیات مربوط به آنتی‌بادی‌های علیه آنتی‌ژن‌های Rh با شیوع کم در بخش ۵-۱۷ و جدول ۵-۱۴ ارائه می‌شوند. آن دسته از کمپلکس‌های تضعیف شده که شامل آنتی‌ژن‌های *e* جزئی می‌شوند در بخش ۵-۹-۵ توصیف شده‌اند و از این بخش حذف می‌گردند.

حالت هموزیگوت برای بعضی از هاپلوتیپ‌های توصیف شده در این بخش نشان داده است که این هاپلوتیپ‌ها آنتی‌ژن‌های خاص Rh با شیوع بالا، همچون *Hr_o* و Rh46 را که توسط تمامی هاپلوتیپ‌های طبیعی Rh تولید می‌شوند، رمز دهی نمی‌کنند.

۵-۱۴-۱ هاپلوتیپ‌های DCE

۵-۱۴-۱ (R^N)R^N یا D(C)(e) : Rh32 و Rh46

R^N اسمی بود که از سوی روزنفیلد و همکاران^۱ [۶۹۸] به هاپلوتیپی که C ضعیف و e ضعیف را در یک خانواده آمریکایی آفریقایی تبار رمزدهی می‌نمود اطلاق گردید. بخاطر پیچیدگی‌هایی در بکارگیری این لفظ، در حال حاضر غالباً R^N استفاده می‌شود و در اینجا نیز مورد استفاده قرار خواهد گرفت. R^N علاوه بر C ضعیف و e ضعیف، D و G را رمزدهی می‌کند که در بعضی مطالعات نشان داده شده افزایش دارند [۴۲۵، ۴۲۹ و ۶۹۹]، و آنتی‌ژن با شیوع کم Rh32 را نیز رمزدهی می‌کند، R^N تولید c، E، ce و معمولاً Ce نمی‌کند.

1	5	10	1	5	10	
						RHD RHCE
						R^N
						R^N
						NR
						R^oHar
						D--
						D-- (LM)
						D-- (JD)
						D-- *
						D-- *
						D⁺ (AT)
						D⁺ (HD)
						D⁺ (JD)
						Dc-
						DC^w-
						DC^w-

شکل ۵-۹. نمایش ده آگزون RHD و RHCE در برخی از هاپلوتیپ‌ها که حاوی ژن‌های نوآرایی شده کد کننده Hr_۰ جزئی می‌باشند و یا ژنهایی که اصلاً Hr_۰ را کد نمی‌کنند.
 ، : آگزون ۱ کد کننده Arg41 و C^w.
 * : هاپلوتیپ‌های پیشنهاد شده در یک فرد مورد مطالعه [۸۴].

در هر حال در یک خانواده، Ce در دو فرزند D(C)(e)/dce یا [D(C)(e)/Dce] شناسایی شد، اما در پدرشان که او نیز R^N داشت، قابل شناسایی نبود [۴۲۱].

Rh46، آنتی ژنی با شیوع زیاد (شبه Hr_0) که توسط اکثر هاپلوتیپهای Rh تولید می‌گردد، توسط R^N تولید نمی‌شود [۶۹۹، ۴۳۰]. DAK، آنتی ژن با شیوع کم که در ارتباط با D جزئی DIIIa می‌باشد، نیز به نظر می‌رسد که توسط R^N تولید گردد [۱۷۵].

R^N با شیوع زیادی در مردمان آفریقایی الاصل مشاهده می‌شود. برآورد شده که Rh32 روی گلبول‌های قرمز حدود یک درصد آمریکایی‌های آفریقایی تبار وجود دارد، اما بندرت در میان افراد سفید پوست یافت می‌شود [۴۲۲ و ۴۳۰]. شمار زیادی از افراد هموزیگوت برای R^N به ثبت رسیده‌اند، بعضی از آنها بواسطه وجود آنتی‌بادی ایمنون در سرمشان (آنتی-Rh46) شناسایی شدند، سایر آنها بواسطه آشکار شدن آنتی‌ژن‌های C و e ضعیف آنها در طول آزمایشات روتین تعیین نوع Rh، مورد شناسایی قرار گرفتند [۴۳۰، ۴۰ و ۶۹۹].

در دو مورد R^N هموزیگوت، R^N در ارتباط با RHD جفت شده با یک ژن RHCE-D-CE بود که اگزون ۴ آن مشتق از RHD و مابقی آن دارای توالی RHCE (آلل Ce) بود (شکل ۵-۹) [۲۵۱]. یک شخص دیگر که ظاهراً برای R^N هتروزیگوت بود، یک ژن هیبرید مشابه داشت، اما انتهای ۳' اگزون ۳، که Asn152 را کد می‌نمود، نیز مشتق از RHD بود (شکل ۵-۹) [۲۵۱]. این ژن‌های هیبرید تغییرات Phe172Ile و Arg170Met، Leu169Met را در حلقه سوم پیش بینی شده خارج سلولی RhCceE ایجاد می‌نمایند. اساس مولکولی بیان Rh32 در بخش ۵-۱۷-۲ توصیف شده است.

Rh32 در یک خانواده سفیدپوست Mennonite کانادایی، از یک شیوه اصولی توارث تبعیت نمی‌کرد : فرد مورد مطالعه Rh:32 DCE/D(C)(e) فرزند والدین 32 DCE/DcERh و -32 DCE/DCE Rh بود [۴۲۲]. چاون و همکاران^۱ [۴۲۲] معتقد بودند که فنوتیپ غیر معمول این فرد مورد مطالعه، حاصل جهش بوده است.

افراد R^N هموزیگوت، در صورتی که بواسطه حاملگی یا انتقال خون ایمنو نیزه شوند، قادرند آنتی-Rh46 بسازند که با گلبول‌های قرمز تقریباً تمامی فنوتیپ‌های Rh بجز R^N ، Rh_{null}، D-- و فنوتیپ‌های وابسته واکنش می‌دهد [۱۶۵، ۳۳۹ و ۶۹۹]. آنتی-Rh46 مسئول واکنش همولیتیک شدید نوزاد بوده است [۶۹۹]. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال انسانی و موشی با ویژگی Rh46 تولید شده‌اند [۴۳۱ و ۴۳۲].

1- Chown et al.

۵-۱۴-۲ دو هاپلوتیپ دیگر $D(C)(e)$ و Rh35

یک هاپلوتیپ ضعیف شده شبیه R^N اما فاقد توانایی تولید Rh32، در شش سوئدی غیر خویشاوند شناسایی گردید [۴۳۳]. بررسی خانواده‌های چهار فرد مورد مطالعه نشان داد که C ضعیف به ارث رسیده است. سرم‌های انتخاب شده آنتی-C و آنتی-e، گلبول‌های $D(C)(e)$ نوع سوئدی را از گلبول‌های R^N افتراق دادند، حتی قبل از اینکه آنتی-Rh32 شناسایی شده بود [۴۳۴]. چهار فرد مورد مطالعه دیگر با هاپلوتیپ $D(C)(e)$ سوئدی گزارش شدند [۴۳۵]، اما در یک فرد مورد مطالعه و مادرش، برخلاف دیگران، هاپلوتیپ ضعیف شده در ارتباط با بیان شدت یافته D بود. وجود دو هاپلوتیپ $D(C)(e)$ سوئدی بواسطه شناسایی یک آنتی‌بادی، آنتی-Rh35، که اختصاصی برای کمپلکس $D(C)(e)$ سوئدی با D طبیعی بود، مورد تایید قرار گرفت [۴۲۵]. C ضعیف و D تقویت شده که بر سطح گلبول‌های قرمز یک اهدا کننده انگلیسی یافت شدند ممکن است نشانگر یک نمونه دوم از هاپلوتیپ $D(C)(e)$ باشند که تولید D تقویت شده می‌نماید [۴۳۶]. خانواده‌هایی با هاپلوتیپ‌های مشابه نیز در میان خانواده‌های کانادایی سفید پوست یافت شدند [۲۹].

آنتی-Rh35 اولیه [۴۲۵] هنوز تنها نمونه این آنتی‌بادی است و مقدار بسیار ناچیزی از آن باقیمانده است.

۵-۱۴-۳ $D(C)(e)$ و JAL (RH48)

بررسی چند آزمایشگاهی سرم یک مادر که کودکش دارای گلبول‌های قرمز با آزمایش آنتی گلوبولین مستقیم مثبت بود، منجر به شناسایی یک آنتی‌ژن جدید با شیوع کم به نام JAL (RH48) گردید [۷۰۲]. دو نفر از نه فرد مورد مطالعه، آنتی ژن C را که به همراه JAL در خانواده‌هایشان به ارث رسیده بود، بصورت بسیار ضعیفی نشان می‌دادند. تجزیه و تحلیل خانواده اهدا کنندگان سوئسی JAL+ نشان داد که هاپلوتیپ غیر معمول تولید C ضعیف، e ضعیف و D طبیعی یا اندکی تقویت شده و G می‌نماید، اما این هاپلوتیپ آنتی ژن c، E یا ce را تولید نمی‌کند [۴۳۷]. این مطالعات خانوادگی همچنین ثابت نمود که JAL توسط RH کد می‌گردد (نمره Lod برابر ۶/۶۹ در کسر نو ترکیبی صفر).

هاپلوتیپ JAL $D(C)(e)$ در جمعیت‌های سوئسی فرانسوی زبان شیوعی برابر با ۰/۰۰۰۳ دارد، در میان بیش از ۵۰۰۰۰ سوئسی آلمانی زبان، هیچ فرد JAL+ مشاهده نشد [۴۳۷]. JAL در ارتباط با هاپلوتیپی بود که تولید c ضعیف و e ضعیف در افراد سیاه‌پوست JAL+ می‌نمود [۷۰۲] [بخش ۵-۱۴-۲].

۵-۱۴-۱-۴ هاپلوتیپ‌های مرتبط با FPTT

چندین فنوتیپ Rh غیر معمول جدید در طول بررسی یک سرم (Mol)، که حاوی آنتی‌بادی‌هایی علیه چندین آنتی‌ژن با شیوع کم بود شناسایی شدند. [۱۹۵]. نتایج آزمایشات جذب و جداسازی حاکی از این بود که یک آنتی‌بادی منفرد، آنتی‌بادی FPTT، با گلبول‌های سه فرد مورد مطالعه که هر کدام یک فنوتیپ «جدید» داشتند، واکنش می‌داد. هیچکدام از خانواده‌ها به اندازه‌ای بزرگ نبود که کمپلکس‌های جدید را بطور کامل تعریف کند. FPTT همچنین در ارتباط با R_0^{Har} (بخش‌های ۵-۶-۴-۹ و ۵-۱۴-۲-۱) و DFR می‌باشد (بخش ۵-۶-۴-۷).

یک هاپلوتیپ، C ضعیف که با یکی از شش معرف آنتی-C شناسایی شد، e خیلی ضعیف و FPTT، اما نه ce، را رمز دهی نمود. هاپلوتیپ با dce یا Dce جفت نشده نبود، لذا اینکه این هاپلوتیپ تولید D و یا G می‌کند مشخص نیست و فقدان c و E ثابت نشده است [۱۹۵]. واکنش‌ها مشابه واکنش گلبول‌های r^G بودند، اما گلبول‌های r^G از نظر FPTT مثبت نیستند.

بررسی خانواده فرد مورد مطالعه دوم نشان داد که هاپلوتیپ مرتبط با FPTT آنها تولید D، G، C، ضعیف، e ضعیف و VS غیر معمول می‌کند اما E، ce یا V را تولید نمی‌نماید [۱۹۵]. در مورد تولید c، از گروه‌های خانواده اطلاعاتی قابل استخراج نبود. گلبولهای قرمز فرد مورد مطالعه سوم آنتی ژن e ضعیف اما C طبیعی را بیان می‌کردند. از خانواده مذکور اطلاعاتی بیشتر از این حاصل نشد [۱۹۵]. آنتی‌ژن FPTT از لحاظ بیان بسیار متغیر است و به طریقی طبیعی به ارث می‌رسد. FPTT دارای یک شیوع حدود ۰/۰۱٪ در جنوب فرانسه می‌باشد [۱۹۵].

۵-۱۴-۱-۵ دیگر هاپلوتیپ‌های DCE ضعیف شده

یک تغییر تک بازی در یک آلل Ce مربوط به RHCE، که یک جایگزینی Arg114Trp را در دومین حلقه خارج سلولی رمز دهی می‌نمود، در شخصی سفیدپوست که گلبول‌های قرمز D+ وی C ضعیف و e ضعیف داشته و Rh:-32 بودند، شناسایی گردید [۴۳۸].

مورز و همکاران^۱ [۴۳۹] اظهار داشتند که یک فرد مورد مطالعه آلمانی Rh:33 برای دو هاپلوتیپ تولید کننده Rh33 هتروزیگوت بود: یکی R^{oHar} (بخش ۵-۱۴-۲-۱) و دیگری به نام R^{Lisa} ، که تولید Rh33، D، C ضعیف، e بسیار ضعیف (یا اصلاً عدم تولید آن) را می‌نمودند، اما هیچ گونه Hr_0 تولید نمی‌شد. گواه مبنی بر اینکه هاپلوتیپ شبیه DCE تولید Rh33 می‌نماید صرفاً بر اساس قدرت آنتی‌ژن بود.

گلبول‌های قرمز یک زن سفیدپوست (NR) دارای آنتی- Hr_0 و $D+C+c-E-e+C^{w+}$ ، دارای بیان ضعیف C، e و Rh:-32 بودند، اما با سرمی که حاوی آنتی-D^w/Rh32 غیر قابل جداسازی بود واکنش

1 - Moores et al.

می‌دادند [۳۳۹، ۴۴۰ و ۴۴۱]. اعتقاد بر این بود که وی دارای ژنوتیپ $D(C)C^w(e)/D--$ است، دخترش $D--/dce$ و همسرش dce/dce بودند [۳۳۹ و ۴۴۰]. بررسی مولکولی وجود سه رونوشت را مورد تأیید قرار داد:

RHD-۱

$RHCE-D-2$ ، که فقط آگزون ۱ آن مشتق از $RHCE$ بود (سابقاً در مورد $D..$ ، DC^w گزارش شده بود [۴۴۲ و ۴۴۳])

$RHCE-D-3$ ، که آگزون‌های ۵-۱ و انتهای ۵' آگزون ۶ مشتق از یک آلل CC^we مربوط به $RHCE$ و مابقی آگزون ۶ و آگزون‌های ۱۰-۷ مشتق از RHD بودند [۴۴۱] (شکل ۵-۹).

خانواده یک اهداء کننده نروژی هاپلوتیپی را آشکار نمود که مسئول D طبیعی، C ضعیف، C^w ضعیف و e ضعیف بود [۴۴۴].

۵-۱۴-۲ هاپلوتیپ‌های Dce

۵-۱۴-۱ R^{oHar} یا $DHARc(e)$ و $Rh33$

یک آنتی‌ژن جدید و با شیوع کم Rh که در ارتباط با یک هاپلوتیپ شبیه Dce به نام R^{oHar} بود، در دو فرد سفید پوست غیر خویشاوند شناسایی شد و شماره $Rh33$ گرفت [۱۹۶]. R^{oHar} علاوه بر $Rh33$ ؛ تولید یک D جزئی ضعیف به نام $DHAR$ (بخش ۵-۶-۴-۹)، c طبیعی، e بسیار ضعیف، ce ضعیف و آنتی‌ژن با شیوع کم $FPTT$ می‌نماید، این هاپلوتیپ تولید هیچکدام از آنتی‌ژن‌های C ، E ، G یا hr^s را نمی‌کند [۱۹۵ و ۱۹۶]. R^{oHar} منحصراً متشکل از یک ژن $RHCE-D-CE$ می‌باشد که در آن فقط آگزون ۵ از RHD مشتق شده است [۱۹۹] (شکل ۵-۹).

دو فرد $Rh:33$ ، هر دو آلمانی، ظاهراً برای R^{oHar} هموزیگوت بودند [۱۹۶ و ۴۴۵]. گلبول‌های قرمز آنها با حدود ۵۰٪ سرم‌های ایمون افراد $D--$ (آنتی- Hr_0) واکنش نمی‌دادند، حاکی از اینکه آنها یک آنتی‌ژن Hr_0 جزئی داشتند [۳۳۹ و ۴۴۰]. گلبول‌های قرمز فرد مورد مطالعه آلمانی دیگر، که گمان می‌رفت برای R^{oHar} و برای یک ژن $D(C)(e)$ منحصراً بفرده R^{Lis} (بخش ۵-۱۴-۵) هتروزیگوت باشد، دارای Hr_0 غیر طبیعی بودند [۴۳۹]. یک زن سیاه‌پوست که آنتی- Hr_0 ساخته بود ظاهراً برای R^{oHar} و هاپلوتیپ Dce غیر طبیعی دیگر، R^{oJoh} که تولید D طبیعی می‌نمود، هتروزیگوت بود [۴۴۶].

R^{oHar} احتمالاً در آلمان شایع‌تر از هر جای دیگر است. از میان ۱۴۰۰۰ اهدا کننده آلمانی ظاهراً $D-$ ، هفت نفر نتایج مغایری را با آنتی- D نشان دادند، مشخص شد که هر هفت نفر $Rh:33$ هستند [۳۰]. از ۱۰۶۰ اهدا کننده انگلیسی که با آنتی- $Rh33$ مورد غربالگری قرار گرفتند، هیچکدام $Rh:33$ نبود [۱۹۶]. یکی از ۴۲۶۰۰ اهدا کننده‌ای که در جنوب فرانسه مورد آزمایش قرار گرفتند، $Rh:33$ بود و به نظر می‌رسید که دارای هاپلوتیپ R^{oHar} باشد [۱۹۵].

۵-۱۴-۲ D(c)(e)JAL

گلوبول‌های قرمز چهار نفر از نه فرد مورد مطالعه JAL+، که همگی اصل و نسب آفریقایی داشتند، بیان بسیار ضعیفی از c داشتند، برخلاف C ضعیف در ارتباط با افراد سفیدپوست JAL+ (بخش ۵-۱۴-۳-۱) [۷۰۲]. به نظر می‌رسید که هاپلوتیپ غیر معمول، D تقویت شده، c ضعیف، e ضعیف و JAL را تولید کند، این هاپلوتیپ تولید C، E یا ce نمی‌نمود. در خانواده‌های سه نفر از افراد مورد مطالعه JAL+ و JAL به همراه c ضعیف به ارث رسیده بود [۷۲۰].

۵-۱۴-۳ دیگر هاپلوتیپ‌های Dce ضعیف شده

چندین هاپلوتیپ Dce ضعیف شده دیگر، که غالباً بصورت Dc(e) یا Dc((e)) نشان داده می‌شوند، بواسطه آنتی‌ژن‌های e ضعیفی که تولید می‌کنند متمایز می‌گردند. در صورتی که معرف‌های قوی آنتی-e در روش‌های بسیار کارآمد استفاده نمی‌شد، گلوبول‌های دارای بیان ضعیف e که توسط Dc((e)) تولید می‌شوند به غلط بصورت Dc- تعیین نوع می‌شدند [۳۴۰]. بعضی از هاپلوتیپ‌های Dc(e) ظاهراً تولید Hr₀ می‌کنند، سایر آنها قادر به تولید آن نمی‌باشند [۳۴۰ و ۴۴۷]. یک فرد Dc((e)) به ظاهر هموزیگوت، برای RHD به اضافه یک آلل ce از RHCE که کدون مربوط به Arg229 در اگزون ۵ آن حذف شده بود، هموزیگوت بود [۴۴۸]. Arg229 به Ala226، مشخصه e، خیلی نزدیک می‌باشد و بنابراین احتمال می‌رود که در بیان e اهمیت داشته باشد.

۵-۱۴-۳ dce هاپلوتیپ‌های

بعضی از هاپلوتیپ‌های غیر طبیعی dce که تولید VS و e ضعیف می‌کنند و غالباً حاوی یک ژن RHCE-D-CE تولید کننده C ضعیف می‌باشند، در بخش ۵-۱۳ توصیف شده‌اند.

۵-۱۴-۳-۱ r^L و r^L: d(c)(e)

مطالعات و بررسی‌های بعمل آمده روی خانواده یک اهدا کننده سوئسی، یک هاپلوتیپ جدید، r^L، را آشکار نمود که منجر به بیان ضعیف e و c اما بیان طبیعی ce می‌گردد [۴۴۹]. موارد دیگر این فنوتیپ در دو خانواده سوئدی تصدیق نمود که r^L D را رمزدهی نمی‌کند [۴۳۵ و ۴۵۰]. هاپلوتیپ r^L که در سه نسل یک خانواده بریتانیایی وجود دارد، c ضعیف، e ضعیف و ce ضعیف را تولید می‌نماید [۲۱۷]. گلوبول‌های قرمز یک اهدا کننده استرالیایی، واکنش‌های یکسانی را با آنتی‌سرم‌های حساس Rh ایجاد نموده و یک مورد دومی از r^L را ظاهر ساختند [۳۰]. الگوی واکنش گلوبول‌هایی که نمایانگر r^L/Dce بودند، با آنتی-c، متفاوت از الگوی واکنش گلوبول‌هایی بود که نمایانگر r^L/Dce بودند [۲۱۷].

۵-۱۴-۳-۲ $d(c)(e)$ و $(RH36)Be^a$

آنتی ژن با شیوع کم Be^a (Berrens) نخستین با در سال ۱۹۵۳ توصیف گردید [۴۲۶]. بیست سال بعد، بدنبال مشاهده یک مورد واکنش همولیتیک نوزاد در جریان بررسی یک خانواده، اثبات شد که Be^a به سیستم Rh تعلق دارد [۳۰]. در سه نسل خانواده، چهار عضو $Be(a+)$ یک هاپلوتیپ غیرمعمول dce داشتند که تولید c ، e و ce اندکی ضعیف شده، می نمود.

آنتی- Be^a در ایجاد واکنش همولیتیک شدید نوزاد مطرح شده است [۴۲۷-۴۲۹].

۵-۱۴-۳-۳ $d(c)(e)$ و $Rh:-46$ و $Rh:-32$

عدم وجود آنتی ژن با شیوع زیاد Rh46 معمولاً در ارتباط با بیان Rh32، در فنوتیپ R^N می باشد (بخش ۵-۱۴-۱)، و یا در ارتباط با عدم وجود هر دو آنتی ژن E و e، در فنوتیپ $D--$ و Rh_{null} و فنوتیپ های وابسته می باشد. گلبول های قرمز یک مرد ایتالیایی الاصل، که علی رغم عدم سابقه دریافت خون، آنتی- Hr_0 ساخته بود، $Rh:-46$ ، $Rh:-32$ ، $D-C-c+E-e+Hr_0-$ بودند. تضعیف بیان c و e مشهود بود گرچه این ضعیف شدن فقط با استفاده از فلوسایتومتری به راحتی قابل تشخیص بود [۴۵۱].

۵-۱۴-۳-۴ $d(C)(c)(E)$ یا r^n

r^n ، همچون $d(C)ce^s$ (r^s) در ابتدا r^n نامیده می شد، بخش ۵-۱۳)، تولید c و C می نماید [۴۵۲]. این هاپلوتیپ، C ضعیف، c ضعیف و E ضعیف را رمزدهی می کند، هر چند که تضعیف c و E صرفاً خفیف بود، در انتشارات هیچگونه اشاره ای به G نشده است، r^n هیچکدام از آنتی ژن های D ، Ce ، ce یا VS را نمی سازد.

۵-۱۴-۴-۴ هاپلوتیپ های DcE یا dcE

تضعیف c و E در دو نسل از یک خانواده نروژی مشاهده شد [۴۵۳]، $D(c)(E)$ یا $d(c)(E)$ در پنج عضو دیگر خانواده ردیابی گردید. دو خانواده دیگر که حامل هاپلوتیپ های مشابه بودند گزارش شده اند، در یکی از آنها نشان داده شد که هاپلوتیپ، D را کد می کند. یک فرد مورد مطالعه ژاپنی با C ضعیف، E ضعیف و Hr_0 ، گمان می رفت که دارای ژنوتیپ $D(c)(E)/D--$ یا $d(c)(E)/D--$ باشد، زیرا D بر سطح گلبول های قرمز او و همینطور بر سطح گلبول های قرمز پدرش (با ژنوتیپ پیشنهاد شده $DCe/D--$) اندکی افزایش یافته بود [۴۵۴]. مادر این فرد همچنین دارای آنتی ژن های c و E ضعیف بود.

۵-۱۴-۵ هاپلوتیپ dCE

یک هاپلوتیپ غیر معمول به نام r^M در سه نسل یک خانواده بریتانیایی یافت شد [۴۵۵] C، E و G تولید شده توسط r^M ، ضعیف هستند و از لحاظ کیفی نیز ممکن است با حالت طبیعی تفاوت داشته باشند، r^M تولید C یا ce نمی‌کند.

۵-۱۵-۵ هاپلوتیپ‌هایی که هیچکدام از آنتی‌ژن‌های E یا e را تولید نمی‌کنند، D- و فنوتیپ‌های وابسته

در این بخش هاپلوتیپ‌هایی مورد بحث قرار می‌گیرند که غالباً «حذف شده» یا «بطور جزئی حذف شده» نامیده می‌شوند، و E یا e را تولید نمی‌کنند، بعضی‌ها C و یا c را نیز اصلاً تولید نمی‌کنند. تمامی این هاپلوتیپ‌ها D را رمزدهی می‌کنند که معمولاً در سطح بالایی بیان می‌گردد. اکثر این هاپلوتیپ‌ها در ابتدا در افرادی شناسایی شدند که برای هاپلوتیپ هموزیگوت بودند و آنتی‌بادی‌هایی را بر علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع زیاد ساخته بودند، این آنتی‌بادی‌ها مجموعاً آنتی-Hr₀ نامیده می‌شوند. زمانی که اصطلاحات D-، DC-، و DC^w - غیره به منظور تفهیم فنوتیپ‌ها استفاده می‌شوند، آنها معمولاً حاکی از حالت هموزیگوت برای هاپلوتیپ مربوطه می‌باشند.

بیشتر این هاپلوتیپ‌ها متشکل از یک RHD کامل، یا تقریباً کامل، بصورت جفت شده با یک ژن هیبرید که حاوی بخش اساسی از RHD است، می‌باشند (شکل ۵-۹). این ممکن است بیان تقویت شده D را توضیح دهد.

ریس و سانگر^۱ [۴۵۶] اظهار داشتند که شیوع همخونی والدین افراد مورد مطالعه D-، DC^w -، DC- در مقایسه با دیگر فنوتیپ‌های ناشی از حالت هموزیگوت برای ژن‌های نادر، زیاد می‌باشد. آنان همچنین خاطر نشان نمودند که تعداد فرزندان D- (D-/D-) از افراد مورد مطالعه D-، بیشتر از حالتی است که اگر D- به شیوه‌ای درست و ساده به ارث می‌رسید، انتظار می‌رود. اطلاعات حاصل از بررسی خانواده‌های بعدی، یافته‌های غیر منتظره ریس و سانگر را حمایت می‌بخشد [۴۵۷]. در مورد این مشاهدات هیچگونه توضیح رضایت بخشی ارائه نشده است.

۵-۱۵-۱ D-

اولین فرد مورد مطالعه دارای فنوتیپ D-، که در آن گلبول‌های قرمز D، اما نه C، E، یا e را بروز می‌دادند، دارای والدین همخون بود و از سوی ریس و همکاران^۲ [۴۵۸ و ۴۵۹] بعنوان هموزیگوت برای یک هاپلوتیپ بسیار نادر، D-، فرض گردید. علی‌رغم ندرت این هاپلوتیپ، نمونه‌های فراوان

1 - Race and Sanger

2 - Race et al.

دیگری از فنوتیپ D-- شناسایی شده‌اند [۳۰، ۴۶۷-۴۶۰]. فنوتیپ در جمعیت‌های مختلف بسیاری شناسایی شده است: آمریکایی‌ها و اروپایی‌های سفید پوست، آمریکایی‌های بومی، آمریکایی آفریقایی تبار، ژاپنی‌ها، چینی‌ها، کره‌ای‌ها، و هندی‌های آسیایی. تقریباً تمامی افراد مورد مطالعه D-- بطور قطع بواسطه وجود آنتی-Hr₀ در سرمشان شناسایی شده‌اند (بخش ۵-۱۵-۶). افراد مورد مطالعه بسیاری که برای D-- و یک هاپلوتیپ شایع Rh هتروزیگوت می‌باشند شناسایی شده‌اند، این افراد غالباً از طریق مستثنی‌سازیهای ظاهری ابوت نمایان شده‌اند [۴۶۸-۴۷۱]، که از آن جمله چهار خانواده از آفریقایی جنوبی با نژاد مختلط می‌باشند [۴۷۱]. بررسی یک خانواده بزرگ کانادایی نشان داد که دو خواهر با فنوتیپ D-- که والدینشان همخون نبودند، ژنوتیپ D-- داشتند (هتروزیگوت برای D-- و ژن آمورف Rh، بخش ۵-۱۶-۱) [۴۶۵].

فراوانی هاپلوتیپ D-- تقریباً ۰/۰۰۰۵ در سوئد [۴۷۲] اما حدود ده برابر آن (۰/۰۰۴۷) در ایسلند [۴۶۶] برآورد گردید. هفت نفر از ۶۹۲۰۰۰ اهدا کننده ژاپنی (۰/۰۰۱٪) فنوتیپ D-- داشتند، که یک فراوانی ۰/۰۰۳۲ برای ژن D-- حاصل نمود [۴۷۳].

D-- فقط سه آنتی‌ژن Rh را تولید می‌کند: D، G و Rh29. گلبول‌های قرمز افرادی که برای D-- هموزیگوت یا هتروزیگوت می‌باشند آنتی‌ژن‌های D بیشتری از گلبول‌های D+ طبیعی بروز می‌دهند و مستقیماً توسط بعضی از معرف‌های آنتی-D ناقص (معمولاً غیر آگلوتینه کننده) آگلوتینه می‌شوند. اکثر معرف‌های آنتی-D ناقص پلی کلونال، گلبول‌های قرمز افراد هموزیگوت برای D-- را بطور مستقیم آگلوتینه خواهند نمود، اما فقط آنتی‌بادی‌های بدقت انتخاب شده، گلبول‌های افراد D-- هتروزیگوت را از گلبول‌های DCE/Dce افتراق خواهند داد. این بیان افزایش یافته D، به یک افزایش در تعداد جایگاه‌های آنتی ژنیک D بر سطح هر گلبول قرمز نسبت داده می‌شود (جدول ۵-۸).

اساس ژنتیک مولکولی فنوتیپ D-- ناهمگون است. یک اهدا کننده فرانسوی D-- [۴۷۴] و دو عضو D- یک خانواده آمریکایی بومی [۴۷۵]، ظاهراً دارای ژن‌های کامل RHD و RHCE بودند، اگر چه احتمالاً جهش‌های غیرفعال کننده یا جهش‌های جایگاه برش درون RHCE، قابل شناسایی نبوده‌اند. به نظر می‌رسد حالت هموزیگوت برای ژن‌های هیبرید RHCE-D-CE، علت دیگر موارد D-- باشد (شکل ۵-۹). در افراد D-- از ایسلند، بریتانیا و ایتالیا فقط آگزون‌های ۱ و ۱۰ مشتق از RHCE بودند [۴۷۵ و ۴۷۶]. مطالعات بعمل آمده روی دو عضو D-- یک خانواده ایتالیایی (LM) حکایت از وجود دو ژن هیبرید داشت:

۱- RHCE-D-CE-D، که در آن فقط آگزون‌های ۱ و ۹ از RHCE مشتق شده‌اند.

۲- RHD-CE، که در آن فقط آگزون ۱۰ مشتق از RHCE می‌باشد [۴۷۵، ۴۷۷ و ۴۷۸].

بررسی‌های رونوشت (mRNA) روی یک خانواده (JD) که فرد مورد مطالعه آن برای D- و D+ هتروزیگوت بود (بخش ۵-۱۵-۲)، RHD را بصورت جفت شده با RHCE-D-CE، که آگزون‌های ۶-۲ (یا ۶-۳) آن مشتق از RHD بودند، آشکار نمود [۴۴۲].

یک بررسی مولکولی کامل روی خانواده‌ای ژاپنی (در شکل ۵-۹) دارای یک فرد مورد مطالعه D-، که والدینش همخون نبودند، حاکی از این بود که وی برای دو هاپلوتیپ Rh غیر طبیعی هتروزیگوت بوده است [۸۴]. در یکی از این هاپلوتیپ‌ها که از پدر به ارث رسیده بود، یک ژن RHCE-D-CE وجود دارد که آگزون‌های ۲ (یا ۳) تا ۷ آن مشتق از RHD می‌باشند، اما فاقد RHD طبیعی می‌باشد (شکل ۵-۹). دیگری متشکل از RHD اما فاقد RHCE می‌باشد.

D1S80 یک شاخص ژنی روی کروموزوم شماره ۱ است که نسبت به لوکوس RH وضعیت تلومریک دارد. از آنجایی که فرد مورد مطالعه آلل D1S80 را از مادر خود دریافت نکرده است، اوکودا و همکاران [۸۴] معتقدند منطقه‌ای از کروموزوم ۱ که حاوی RHCE و D1S80 بوده در طول گامتوژن مادری حذف گردیده است.

یک آلل cE از RHCE (به نام cEMI) در فردی سیاهپوست D+C-c+E-e+ حاوی یک حذف نه نوکلئوتیدی در آگزون ۳ بود و به نظر می‌رسید که تولید هیچ نوع پلی پپتید Rh بر سطح گلبول ننماید [۳۴۳]. شواهدی دال بر اینکه آن یک آلل مرتبط با RHD بود در دست نمی‌باشد.

گلبول‌های D- همچون گلبول‌های Rh_{null}، یک کاهش قابل توجه در محتوی CD47 (بخش ۵-۵-۸) و به جدول ۵-۱۳ نیز رجوع گردد)، اما فقط کاهش اندک در RHAG را نشان می‌دهند [۴۷۹]. یک شکل غیر معمول از D- تولید (RH40) Tar [۲۴۳]، یک آنتی‌ژن با شیوع کم که معمولاً در ارتباط با DVII (بخش ۵-۶-۶) است، می‌نماید. آنتی‌ژن D تولید شده توسط این هاپلوتیپ D- قویتر از آنتی‌ژن D مرتبط با Tar، اما ضعیف‌تر از D طبیعی بود.

۵-۱۵-۲ D. و (RH37) Evans

شباهت بین D- و هاپلوتیپ Rh تولید کننده آنتی‌ژن با شیوع کم Evans، که در جریان مطالعات و بررسی‌های بعمل آمده روی اولین دو فرد مورد مطالعه Evans+، تشخیص داده شد، باعث شد که هاپلوتیپ Evans بصورت D- نمایش داده شود [۷۰۱]. توارث این هاپلوتیپ ساده بود. آزمایش نمونه‌های گلبولی به ظاهر D- با استفاده از آنتی‌بادی Evans، منجر به شناسایی اولین شخص هموزیگوت برای D. (HD) گردید [۴۸۰]. واکنش مثبت گلبول‌های قرمز ظاهراً D- با سرم‌های ایمون افراد D-، یک D. هموزیگوت دوم را آشکار نمود [۴۸۱]. خانواده‌های دارای D.، همگی سفید پوست، عمدتاً بریتانیایی بوده‌اند.

آنتی‌ژن‌هایی که توسط $D_{..}$ تولید می‌شوند عبارتند از: D ، G ، $Evans$ و آنتی‌ژن‌های با شیوع زیاد $Rh29$ و $(RH47) [440]$. آنتی‌ژن D افزایش دارد، اما کمتر از اندازه‌ای که توسط $D_{..}$ تولید می‌گردد $[480]$. تعداد جایگاه‌های آنتی‌ژنی D بر سطح هر گلبول قرمز، ۵۶۰۰۰ در مورد $D_{..}/D_{..}$ برآورده شد، در مقایسه با ۲۰۲۰۰۰-۱۱۰۰۰۰ برای $D_{..}/D_{..}$ و ۲۱۰۰۰ برای $DcE/DcE [480]$. بررسی‌های مولکولی روی یک خانواده اسکاتلندی (AT) با پنج عضو $Evans+$ در سه نسل، نشان داد که $D_{..}$ متشکل از $RHCE-D-CE$ که اگزون‌های ۲ (یا ۳) تا ۶ آن مشتق از $RHCE$ بود، بصورت جفت شده با RHD می‌باشد $[482]$ (شکل ۵-۹).

یک هاپلوتیپ بسیار مشابه، اما با این تفاوت که اگزون ۱ و منطقه ترجمه نشده ۵ ژن هیبرید نیز مشتق از RHD بودند، در یک $D_{..}$ هموزیگوت (HD) وجود داشت $[478]$ (گرچه در یک مطالعه دیگر نتیجه متفاوتی در مورد همان فرد حاصل گردید $[475]$). در یک مطالعه خانوادگی دیگر که در آن فرد مورد مطالعه (JD) برای $D_{..}$ و $D_{..}$ هتروزیگوت بود، هاپلوتیپ تولید کننده $Evans$ از $RHCE-D$ که فقط اگزون ۱ آن مشتق از $RHCE$ بود، به اضافه $RHD-CE$ که انتهای ۳ اگزون ۶ (کد کننده Cys311) و اگزون‌های ۷-۱۰ آن مشتق از $RHCE$ بودند، تشکیل شده بود $[442]$. توالی اسید آمینه‌ای که توسط اتصال انتهای ۵ اگزون ششم RHD و انتهای ۳ اگزون هفتم $RHCE$ رمزدهی می‌گردد، یک توالی اسید آمینه‌ای منحصر بفرد را در پنجمین حوزه سیتوپلاسمی پروتئین ایجاد می‌نماید (جدول ۵-۱۱). تغییرات شکل فضایی ناشی از این توالی احتمالاً مسئول بیان آنتی‌ژن $Evans$ می‌باشد. ژنی که آنتی‌ژن D جزئی، $DIVb$ ، را رمزدهی می‌کند دارای این اتصال اگزونی بین اگزون‌های ۶ و ۷ می‌باشد و $Evans$ را نیز رمزدهی می‌نماید (بخش ۵-۶-۴-۳ و شکل ۵-۶) $[227]$.

۵-۱۵-۳ Dc-

اولین فرد مورد مطالعه $Dc-$ هموزیگوت در یک خانواده آمریکایی ذاتاً سفیدپوست با اصالت فرانسوی یافت شد $[483]$. والدین این شخص پسر عمو و دختر عموهای اول خانواده و دو تا از چهار فرزندش نیز $Dc-/Dc-$ بودند. سه فرد مورد مطالعه دیگر دارای فنوتیپ $Dc-$ گزارش شده‌اند: ژاپنی $[484]$ ، فرانسوی $[485]$ و آرژانتینی $[486]$. چهار فرد مورد مطالعه $Dc-$ بواسطه وجود آنتی- Hr_0 در سرمشان با قطعیت شناسایی شدند.

$Dc-$ تولید D ، G ، c ، $Rh29$ و گاهی اوقات ce می‌نماید. قدرت آنتی‌ژن D افزایش و قدرت آنتی‌ژن c کاهش دارد، آنتی‌ژن c ممکن است از لحاظ کیفی نیز با c طبیعی تفاوت داشته باشد $[483]$ و $[340]$. $Dc-$ خصوصیات سرولوژیکی ناهمگونی را نشان می‌دهد: گلبول‌های قرمز فرد مورد مطالعه ژاپنی آنتی‌ژن ce را بیان نمی‌کردند، گلبول‌های قرمز افراد مورد مطالعه آمریکایی و فرانسوی با آنتی- ce ساخته شده در افراد DcE/DcE واکنش می‌دادند $[30]$.

جدول ۵-۱۱. توالی‌های اسید آمینه‌ای Leu303 تا Cys316 که توسط انتهای ۳ اگزون ۶ و انتهای ۵ اگزون ۷ مربوط به *RHD*، *RHCE* و دو ژن هیبرید کد کننده Evans، رمزدهی می‌گردند. ریشه‌های مهم اسید آمینه‌ای مداخل در بیان Evans ظاهراً شامل Val/ Ile306, Gly/Val314, اما نه Tyr/ Cys310، می‌باشند.

Gene	Exon 6												Exon 7				
					306					310				314			
<i>RHD</i>	...	L	I	S	V	G	G	A	K	Y	L	P		G	C	C	...
<i>RHCE</i>	...	-	-	-	I	-	-	-	-	C	-	-		V	-	-	...
<i>RHD-CE Evans (AT & HD)</i>	...	-	-	-	I	-	-	-	-	-	-	-		V	-	-	...
<i>RHD-CE Evans (JD)</i>	...	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-		V	-	-	...

-, Identical residue to that encoded by *RHD*.

بررسی رونوشت (mRNA) روی فرد فرانسوی هموزیگوت برای *DC*، *RHD* به اضافه *RHCE-D* که اگزون‌های ۴-۹ آن مشتق از *RHD* بودند را آشکار نمودند [۴۷۴] (شکل ۵-۹). اگزون ۲، Pro103 را رمزدهی می‌نمود که خود توضیحی بر بیان C می‌باشد. این امکان وجود دارد که بیان ضعیف ce ناشی از Ala226، که توسط اگزون مشتق از *RHD* رمزدهی می‌گردد، باشد که این خود عدم وجود e را توضیح می‌دهد.

برخی از هاپلوتیپ‌هایی که عنوان *DC*- گرفته‌اند، دقیق‌تر این است که *DC(e)* یا *DC((e))* نامیده شوند زیرا e با استفاده از آزمایشات جذب - جداسازی یا حتی با آزمایش مستقیم قابل شناسایی است [۴۸۸ و ۴۸۷، ۳۴۰، ۳۰] (بخش ۵-۱۴-۳). این هاپلوتیپ‌ها، که عمدتاً در مردمان سیاهپوست یافت می‌شوند، دارای C طبیعی و D طبیعی یا صرفاً اندکی افزایش یافته، می‌باشند.

DC^w- ۴-۱۵-۵

فرد مورد مطالعه‌ای که بعنوان *DC^w* هموزیگوت شناسایی شد عضوی از یک خانواده بزرگ کانادایی بود [۴۸۹]. والدین وی پسر عمو و دختر عموی دوم بودند و چهار تا از هشت فرزندش نیز *DC^w-/DC^w* بودند. *DC^w*- تولید آنتی ژن D، G، C^w و Rh29 می‌نماید، آنتی ژن D افزایش [۴۸۹] و C^w کاهش [۴۹۰] می‌یابند. برخلاف دیگر هاپلوتیپ‌هایی که تولید C^w می‌کنند، *DC^w*- هیچکدام از آنتی ژن‌های C و c را نمی‌سازد. یک فرد *DC^w*- ظاهراً هموزیگوت دیگر نیز گزارش شده است [۴۴۳]. فرد مورد مطالعه *DC^w-/DC^w*- اولیه دارای رونوشت‌هایی بود نمایانگر *RHD* و *RHCE-D-CE*، که اگزون‌های ۲ (یا ۳) تا ۹ آن مشتق از *RHD* بودند [۴۷۴] (شکل ۵-۹). فرد مورد مطالعه دوم دارای *RHCE-D*، که فقط اگزون ۱ آن مشتق از *RHCE* بود، بصورت جفت شده (یا احتمالاً در وضعیت *trans*) با *RHD-CE* بود که فقط اگزون ۱۰ آن مشتق از *RHCE* بود [۴۴۳] (شکل ۵-۹). در هر دو فرد اگزون ۱ مشتق از *RHCE*، Arg41 را که مشخصه C^w بود، رمزدهی می‌نمود (بخش ۵-۱۲).

۵-۱۵-۵ $DIV(C)$ و Riv ($RH45$)

حالت هموزیگوت برای یک هاپلوتیپ با عنوان $DIV(C)$ به منظور توجیه واکنش گلبول‌های قرمز یک زن اهل Ivory coast (به نام مادام Nou)، که بچه سومش دچار واکنش همولیتیک نوزاد کشنده شد، پیشنهاد گردید [۴۹۱]. دو تا از فرزندان همچون مادرشان، بیان ضعیف C را نشان می‌دادند. آنتی‌ژن‌های ذیل توسط $DIV(C)$ تولید می‌شوند: D جزئی که واکنش‌های یک آنتی‌ژن DIV قوی را می‌دهد، G ظاهراً طبیعی، C بسیار ضعیف، Goa (یک آنتی‌ژن با شیوع کم که همواره در ارتباط با $DIVa$ می‌باشد، بخش ۵-۶-۳)، سه نوع آنتی‌ژن با شیوع کم دیگر: Riv , $Rh33$ و $FPTT$ [۱۹۵ و ۷۰۰] و سه آنتی‌ژن با شیوع زیاد $Rh29$ ، $Nou(RH43)$ ، $Dav(RH47)$ [۴۹۲، ۴۴۰ و ۴۹۳]. از ده سرم آنتی-e، سه نمونه با گلبول‌های $DIV(C)$ واکنش دادند اما ثابت نشد که این سرم‌ها فاقد آنتی-Ce هستند [۴۴۷].

هیچ مورد دیگری از $DIV(C)$ هموزیگوت یافت نشد، اما ارتباط با آنتی‌ژن‌های با شیوع کم منجر به شناسایی سه فرد مورد مطالعه هتروزیگوت برای $DIV(C)$ که همگی اصل و نسب آفریقایی داشته‌اند، شده است [۷۰۰]. هاپلوتیپ غیر معمول و آنتی‌ژن‌های با شیوع کم با هم به ارث رسیده بودند.

۵-۱۵-۶ آنتی- Hr_0 (آنتی- $RH17$) و آنتی‌بادی‌های وابسته

افراد دارای D-- و فنوتیپ‌های وابسته که با گلبول‌های قرمز یک فنوتیپ شایع از طریق انتقال خون و حاملگی مواجه شده‌اند، معمولاً آنتی‌بادی‌هایی علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع زیاد Rh دارند. گلبول‌های قرمز و سرم‌های ایمون افراد D--، Dc ، DC^w بصورت دو جانبه سازگارند، حاکی از اینکه هیچ نوع جزء آنتی- C^w یا آنتی-c وجود ندارد. تمامی این سرم‌ها با گلبول‌های Rh_{null} واکنش ندارند. در آزمایشات بعمل آمده با گلبول‌های قرمز فنوتیپ‌های شایع Rh ، این سرم‌ها ظاهراً حاوی یک آنتی‌بادی علیه شاخص آنتی‌ژنیک ویژه‌ای با شیوع زیاد، با عنوان Hr_0 و شماره $RH17$ بودند. در بعضی از سرم‌ها، آنتی-e قابل جداسازی نیز شناسایی شده است [۳۳۹، ۴۴۰، ۴۵۹ و ۴۹۴].

ناهمگونی در مورد ویژگی آنتی- Hr_0 به واسطه واکنش متغیر نمونه‌های مختلف آن با گلبول‌های قرمز فنوتیپ‌هایی که نمایانگر هاپلوتیپ‌های خاص نادری از Rh نظیر $DIV(C)$ ، $D..$ ، r^G ، R^{oHar} هستند و نیز با گلبول‌های Rh_{mod} ، به اثبات رسیده است [۳۳۹، ۳۴۰، ۴۳۴ و ۴۴۰]. آزمایشات جذب و جداسازی نشان داد که آن دسته از سرم‌های D-- که با گلبول‌های $DIV(C)$ واکنش می‌دهند حاوی حداقل دو آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع زیاد هستند، یکی که با گلبول‌های $DIV(C)$ واکنش می‌داد و آنتی-Nou (آنتی- $RH44$) نام گرفت، و دیگری که با گلبول‌های مذکور واکنشی نداشت [۴۹۲ و ۴۹۳]. آزمایشات مشابه با گلبول‌های $D..$ ، یک آنتی‌بادی به نام آنتی-Dav (آنتی- $RH47$) را در برخی از سرم‌های D-- آشکار نمود [۴۴۰].

آنتی-Dav با گلبول‌های فنوتیپ شایع Rh و با گلبول‌های D⁺ واکنش داد. آنتی‌بادی‌های دیگری علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع زیاد، که با گلبول‌های Rh_{null} و D⁻ واکنشی نمی‌دهند، نیز در افرادی که فنوتیپ‌های غیر معمول Rh دارند، نظیر آنهایی که برای R^N (آنتی-Rh46) یا برای ژن‌های مولد آنتی‌ژن‌های e جزئی (آنتی-Hr، آنتی-Hr^B) هموزیگوت هستند، شناسایی شده‌اند [۳۴۱، ۳۴۰، ۴۳۰ و ۶۹۹]. چون آنتی-D پلی کلونال مخلوطی از آنتی‌بادی‌های ساخته شده علیه اپیتپ‌های متعدد در سطح مناطق مختلف پروتئین D می‌باشد (بخش ۵-۶-۳)، آنتی-Hr₀ نیز حاکی از آنتی‌بادی‌هایی است که علیه اپیتپ‌های روی مناطق مختلف پروتئین CcEe ساخته شده‌اند. گلبول‌های D⁻ فاقد موزائیک کامل Hr₀ می‌باشند و افراد D⁻ هرگاه مصون شوند قادرند آنتی‌بادی‌های متعددی علیه بخش‌های مختلف موزائیک بسازند، این آنتی‌بادی‌ها مجموعاً آنتی-Hr₀ نامیده می‌شوند و شامل آنتی-Nou، آنتی-Dav، آنتی-Hr و آنتی-Hr^B می‌باشند.

آنتی-Hr₀ در سرم مادران D⁻، Dc⁻، DCw و -DIV(C) مسئول واکنش همولیتیک نوزاد شدید و غالباً کشنده بوده است [۴۵۹، ۴۶۴-۴۶۷، ۴۸۳، ۴۸۹، ۴۹۱ و ۴۹۵]. در یک مورد از واکنش همولیتیک نوزاد کشنده، مادر فاقد هر گونه سابقه حاملگی یا تزریق خون بود [۴۶۳]. آنتی‌بادی‌های مونوکلونالی که بصورت آنتی-Hr₀ عمل می‌کنند، در موشی که با گلبول‌های قرمز انسانی مصون شده بود [۴۳۱] و در macaque خرچنگ خوار که با گلبول‌های قرمز انسان و گوریل مصون شده بود، تولید شدند [۴۹۶]. این آنتی‌بادی‌ها اپیتپ‌های غیر پلی مرفیک سطح پروتئین RhCcEe، اما نه پروتئین RhD، را شناسایی می‌نمایند.

۵-۱۶ فنوتیپ‌های نقصان Rh : Rh_{null} و Rh_{mod}

فنوتیپ Rh_{null}، که در آن هیچ نوع آنتی‌ژنی از Rh بر سطح گلبول‌های قرمز قابل شناسایی نیست، نخستین بار توسط وس و همکاران^۱ [۴۹۷] در سال ۱۹۶۱ توصیف گردید. Rh_{null} بسیار نادر است، آنچنانکه بواسطه میزان بالای همخونی در میان والدین افراد مورد مطالعه Rh_{null} منعکس می‌گردد. دو نوع Rh_{null}، که هر دو یک فنوتیپ Rh یکسان دارند، بر اساس الگوی توارث و ژنتیک مولکولی، متمایز می‌گردند:

- ۱- نوع آمورف که دال بر حالت هموزیگوت برای ژن‌های خاموش در لوکوس‌های RHD و RHCE می‌باشد و حاصل جهش‌های غیرفعال کننده در RHCE و یک حذف مربوط به RHD است.
- ۲- در نوع تنظیم کننده، ژن‌های Rh طبیعی هستند، اما حالت هموزیگوت (یا هتروزیگوت دوگانه) برای جهش‌های غیرفعال کننده در RHAG وجود دارد، RHAG ژنی است که گلیکوپروتئین وابسته به Rh (RhAG) را که بدون آن آنتی‌ژن‌های Rh بروز نمی‌یابند، رمزدهی می‌نماید (بخش ۵-۵-۷). بعضی از

1 - Vos et al.

جهش‌ها در $RHAG$ منجر به بیان ژن‌های Rh در سطح پایین می‌گردند، و فنوتیپی حاصل می‌گردد که Rh_{mod} نامیده می‌شود.

۵-۱۶-۱ Rh_{null} از نوع آمورف

نوع آمورف Rh_{null} فوق‌العاده نادر است، بطوری که فقط چهار فرد مورد مطالعه مربوط به آن گزارش شده‌اند: فرد ژاپنی [۴۹۸-۵۰۰]، فرد آلمانی [۵۰۲، ۵۰۳ و ۷۰۳]، فرد Lapp نروژی [۳۰] و فرد اسپانیایی [۵۰۳ و ۷۰۳].

تجزیه و تحلیل خانوادگی حاکی از این بود که فنوتیپ غیرمعمول آنها ناشی از حالت هموزیگوت برای یک ژن خاموش یا آمورف در لوکوس RH است و علامت ---/--- در مورد ژنوتیپ بکار رفت. والدین و فرزندان افراد Rh_{null} آمورف، هتروزیگوت‌های اجباری برای ژن آمورف هستند و لذا همواره با توجه به نتایج سرولوژیک، ظاهراً در لوکوس RH هموزیگوت می‌باشند. اگر بعنوان مثال یک والد ظاهراً DCE/DCe (---/DCe) دارای یک فرزند ظاهراً DCE/DCe (---/DCe) باشد، وجود یک هاپلوتیپ خاموش ممکن است اثبات گردد.

عیار سنجی آنتی-c و آنتی-e با استفاده از گلبول‌های قرمز ۱۸۰۳ اهدا کننده آلمانی، چهار فرد بظاهر هتروزیگوت --- را آشکار نمود که با مطالعات خانوادگی نیز مورد تایید قرار گرفت [۵۰۱]. یک فراوانی ۰/۰۰۰۲-۰/۰۰۰۱ برای --- در سوئد برآورد گردید [۴۷۲].

جدول ۵-۱۲. جهش‌های مرتبط با فنوتیپ‌های نقصان Rh

Name	Population	Mutation	References
Rh_{null} amorph			
DR	German	$RHCE.Ce$	TCA→C, frameshift after Ile322 [501,502,703]
	Japanese	$RHCE.ce$	Deletion TCTTC, frameshift after Leu26 [498,500]
DAA	Spanish	$RHCE.ce$	Intron 4 5' splice site [503,703]
Rh_{null} regulator			
SF, JL	White South African	$RHAG$	CCTC→GA, frameshift after Tyr51 [479,504]
TB	Swiss	$RHAG$	Heterozygous A deletion, frameshift after Ala362 + no detectable transcript [479]
HT	Japanese	$RHAG$	Val270 Ile, Gly280Arg [505]
WO	Japanese	$RHAG$	Gly380Val (partial exon 9 skipping) [505]
YT	Australian	$RHAG$	Heterozygous Gly279Glu + intron 1 5' splice site [506-508]
TT	Japanese	$RHAG$	Intron 7 5' splice site, frameshift after Thr315 [96]
AL	White American	$RHAG$	Intron 1 5' splice site [479,704]
AC	Spanish, Japanese	$RHAG$	Intron 6 3' splice site, frameshift after Thr315 [509,704]
Rh_{mod}			
SM	Russian Jewish	$RHAG$	Met1Ile [510]
VL	White American	$RHAG$	Ser79Asn [479,511]
CB	French	$RHAG$	Heterozygous Asp399Tyr +? [512]

جزئیات جهش‌های مربوطه در مورد سه نفر از افراد Rh_{null} آمواف روشن شده است (جدول ۵-۱۲). در هر کدام از آنها، RHD وجود ندارد، اما حالت هموزیگوت برای یک ژن کاملاً طبیعی $RHCE$ که حاوی یک جهش غیرفعال کننده است، وجود دارد. در افراد مورد مطالعه آلمانی [۵۰۲ و ۷۰۳] و ژاپنی [۵۰۵]، به ترتیب، حذف‌های دو نوکلئوتیدی (اگزون ۷) و پنج نوکلئوتیدی (اگزون ۱)، انتقالات چهارچوب قرائت و اختتام زودرس ترجمه را پیش بینی می‌کنند. ژنی که جهش در اگزون ۱ دارد در صورتی که ترجمه شود، پروتئینی را که فقط ۳۱ اسید آمینه دارد تولید خواهد کرد. ژنی که جهش در اگزون ۷ دارد، منجر به تولید یک پروتئین ۳۹۸ اسید آمینه‌ای (در مقایسه با ۴۱۷ اسید آمینه در پروتئین طبیعی) خواهد شد که توالی ۷۶ اسید آمینه‌ای انتهای کربوکسیلی آن بطور کامل تغییر یافته است. در صورتی که پروتئین ۳۹۸ اسید آمینه‌ای تولید می‌شد، بصورت غیر طبیعی تا خورده و احتمالاً بدون غشاء وارد نمی‌شد. گاهی اوقات پروتئین ممکن است درون غشاء وارد شود اما در دسترس آنتی‌بادی‌ها قرار نگیرد.

فرد مورد مطالعه اسپانیایی دارای جهش در جایگاه برش دهنده^۱ ایترون چهارم $RHCE$ بود که منجر به تولید رونوشت‌های غیر طبیعی شده بود [۷۰۳]. هر دو والد، سه برادر و سه فرزند فرد مورد مطالعه، برای جهش هتروزیگوت بودند.

۵-۱۶-۲ Rh_{null} از نوع تنظیم کننده

اولین فرد مورد مطالعه Rh_{null} ، یک زن بومی استرالیایی، در جریان یک تحقیق انسان شناسی، پیدا شد [۴۹۷ و ۵۱۳]. هیچکدام از خویشاوندان نزدیک وی به منظور آزمایش در دسترس نبودند. دومین فرد مورد مطالعه Rh_{null} ، عضو یک خانواده بزرگ بود [۵۱۴]. گروه‌های Rh نشان داد که فنوتیپ نادر وی ناشی از مهار ژن‌های RH بوده است: همسرش dce/dce اما دخترش DCE/dce بود و به احتمال قوی آنتی ژن D و C را از مادر Rh_{null} خود دریافت کرده بود. ریس و سانگر^۲ [۳۰] اصطلاح «تنظیم کننده» را برای این نوع از Rh_{null} انتخاب نمودند. نوع تنظیم کننده Rh_{null} را می‌توان زمانی که یک والد یا فرزند یک فرد مورد مطالعه Rh_{null} در لوکوس RH هتروزیگوت است، یعنی زمانی که دو آنتی ژن C و C یا دو آنتی ژن e و e را با هم دارد، شناسایی نمود.

اگر چه Rh_{null} همچنان فنوتیپی بسیار نادر است، موارد فراوانی از خانواده‌هایی که نوع تنظیم کننده را نشان می‌دهند، گزارش شده است. این موارد در بین مردمان سفید پوست اروپایی الاصل [۵۰۴، ۵۰۶، ۵۰۷، ۵۲۱-۵۱۴ و ۷۰۴] یا ژاپنی [۹۶، ۵۰۵، ۵۲۲ و ۵۲۳] بوده‌اند. هیچ موردی از Rh_{null} در افراد سیاهپوست آفریقایی الاصل مشاهده نشده است.

1 - donor splice site

2 - Race and Sanger

ژن تنظیم کننده از سوی لوین و همکاران^۱ [۵۱۴] X^{or} نامیده شد که اصطلاحی غیر مرتبط بود زیرا کروموزم X اصلاً در این میان نقشی ندارد. مطالعات خانوادگی نشان داد که لوکوس تنظیم کننده بخشی از لوکوس کمپلکس RH نمی باشد [۳۰]. در سال ۱۹۹۶، چریف-زهر و همکاران^۲ [۴۷۹] نشان دادند که Rh_{null} از نوع تنظیم کننده در ارتباط با جهش های غیرفعال کننده در RHAG است بطوری که RHAG را به یک کاندیدای آماده برای لوکوس تنظیم کننده تبدیل می سازند. چندین جهش غیرفعال کننده RHAG دیگر، در سایر افراد Rh_{null} این ارتباط را تایید نموده است [جدول ۵-۱۲]. بعضی از افراد Rh_{null} برای جهش های غیرفعال کننده RHAG هموزیگوت و برخی دیگر برای آنها هتروزگوت دوگانه می باشند. در تمامی موارد، بجز یک مورد، ژنهای طبیعی RHD و RHCE وجود داشتند، در مورد استثنائی، RHD وجود نداشت [۵۱۲]. جهش های RHAG شامل جهش های انتقال چهارچوب، که پروتئین های ناقص را پیش بینی می کنند [۴۷۹]، و جهش های جایگاه برش که منجر به تولید رونوشت هایی با پیرایش غیر طبیعی می گردند [۹۶، ۴۷۹، ۵۰۹-۵۰۶ و ۷۰۴] (جدول ۵-۱۲)، می باشند. همانطوری که در مورد پروتئین های Rh نیز گفته شد، این پروتئین های پیش بینی شده در صورتی که ترجمه شوند، به غشاء منتقل نمی شوند و یا قادر نیستند به درون غشاء وارد گردند.

بعضی از موارد Rh_{null} ناشی از جهش های بدمعنی^۳ منفرد یا دوگانه در RHAG می باشند [۵۰۵-۵۰۸] (جدول ۵-۱۲). جایگزینی های اسید آمینه ای کد شده، بر اساس پیش بینی های بعمل آمده در حوزه چهارم سیتوپلاسمی (Val270Ile) و حوزه های نهم (Gly279Glu, Gly380Val) و دوازدهم (Gly380Val) طی کننده غشاء می باشند. اینکه چرا این تغییرات بظاهر فرعی در پروتئین، از بیان آنتی ژن های Rh جلوگیری می کنند، مشخص نیست. جهش بد معنی که Gly380Val را رمزدهی می کند در اولین نوکلئوتید اگزون ۹ قرار دارد و باعث برش جزئی اگزون ۹ نیز می گردد [۵۰۵].

شواهدی وجود دارد مبنی بر اینکه RhAG به منظور دخول پروتئین های Rh به درون غشاء ضروری نمی باشد، اما در غیاب RhAG، پروتئین های Rh از لحاظ شکل فضایی دگرگون شده و قابل شناسایی توسط آنتی بادی ها نمی باشند (بخش ۵-۷). در بعضی خانواده ها، حالت هتروزیگوت برای آلل تنظیم کننده منجر به کاهش بیان برخی از آنتی ژن های Rh گردید [۵۰۴، ۵۱۷-۵۱۳ و ۵۲۱]

1 - Levine *et al.*

2 - Cherif-Zahar *et al.*

3 - missense

۵-۱۶-۳ Rh_{mod}

فنوتیپی که در ارتباط با بیان تغییر یافته آنتی‌ژن‌های تولید شده توسط هاپلوتیپ‌های RH بود، از سوی چاون و همکاران^۱ [۵۱۱] Rh_{mod} نامیده شد. اگر بنا بود صرفاً آزمایش محدوده شده بعمل آید گلبول‌های قرمزی که این فنوتیپ را دارند به راحتی با Rh_{null} اشتباه می‌شدند. در ابتدا، به نظر می‌رسید که فرد مورد مطالعه اولیه r^G باشد، اما آزمایشات وسیع، e, E, c, C, D, ضعیف را بر سطح گلبول‌های وی آشکار نمود. والدینش همخون بودند و فنوتیپ نادر وی به حالت هموزیگوت برای یک ژن اصلاح کننده (به نام X^Q) در لوکوسی جدای از لوکوس کمپلکس Rh نسبت داده شد [۵۱۱]. گزارشات مربوط به چندین فرد مورد مطالعه Rh_{mod} دیگر منتشر شده‌اند [۵۱۰، ۵۲۸-۵۲۴]. حدود نیمی از افراد مورد مطالعه شناخته شده ژاپنی هستند و والدین اکثر افراد مورد مطالعه Rh_{mod}، همخون می‌باشند.

Rh_{mod} یک فنوتیپ ناهمگون است. جدای از G، آنتی‌ژن‌های Rh اولین فرد مورد مطالعه فقط به کمک آزمایشات جذب - جداسازی با سرم‌های انتخاب شده شناسایی شدند [۵۱۱]. آنتی‌ژن‌های Rh فرد مورد مطالعه دوم خیلی قویتر بودند و آنتی‌ژن‌های C, c, G با آزمایش مستقیم قابل شناسایی بودند [۴۳۴ و ۵۲۴]. در عوض، فرد مورد مطالعه سوم در ابتدا Rh_{null} نامیده شد، گرچه D، تنها آنتی‌ژن Rh که شناسایی شد، با آزمایشات جذب - جداسازی آشکار سازی گردید [۵۲۵]. گلبول‌های Rh_{mod} از گلبول‌های Rh_{null} با استفاده از سرم‌های ایمون بعضی از افراد D- و فنوتیپ‌های وابسته (آنتی - Hr₀) و توسط بعضی از سرم‌های آنتی - Rh29 [۴۳۴] خیلی راحت افتراق داده می‌شوند. بستگان افراد Rh_{mod}، که برای ژن اصلاح کننده هتروزیگوت هستند، ممکن است کاهش بیان آنتی‌ژن‌های Rh داشته باشند [۵۲۴ و ۵۲۷].

بررسی‌های مولکولی روی سه فرد مورد مطالعه Rh_{mod} حاکی از این بوده است که ژن اصلاح کننده، RHAG است، یعنی همان ژنی که مسئول نوع تنظیم کننده Rh_{null} است (جدول ۵-۱۲) [۴۷۹، ۵۱۰ و ۵۱۲]. هر سه فرد مورد مطالعه دارای جهش‌های بدمعنی در RHAG می‌باشند، دو نفر از آنها هموزیگوت هستند، نفر دیگر هتروزیگوت است که نوع جهش در ژن *trans* هنوز مشخص نشده است. در خانواده یهودی با اصالت روسی جهش، کد میتوین آغازگر ترجمه را به یک کدون ایزولوسین تبدیل می‌کند. احتمال می‌رود که مقدار کم RhAG تولید شده، حاصل ترجمه رمز سه حرفی ATG، که در حالت طبیعی Met8 را رمزدهی می‌نماید، باشد [۵۱۰]. جایگزینی‌های اسید آمینه‌ای در دو فرد Rh_{mod} دیگر، در اولین حلقه سیتوپلاسمی RHAG (موقعیت ۷۹) [۴۷۹] و در دم سیتوپلاسمی انتهای کربوکسیلی (موقعیت ۳۹۹) [۵۱۲] می‌باشند. هر سه فرد مورد مطالعه دارای مقادیر کم RhAG در غشاء گلبول‌های قرمز خود بودند [۴۷۹، ۵۱۰ و ۵۱۲].

1 - Chown et al.

۵-۱۶-۴ آنتی‌بادی‌های موجود در سرم افراد Rh_{null}

آنتی-Rh29 (آنتی‌بادی ضد Rh تام)، نوعی آنتی‌بادی که در سرم بعضی از افراد Rh_{null} مصون شده یافت می‌شود، با گلبول‌های قرمز تمامی فنوتیپ‌های Rh بجز Rh_{null} واکنش می‌دهد [۵۰۱، ۵۰۴، ۵۲۱-۵۲۳]. آنتی-Rh29 توسط افراد دارای فنوتیپ Rh_{null} از هر دو نوع ساخته شده است. تمامی افراد Rh_{null} در صورت مصمون شدن تولید آنتی-Rh29 نمی‌کنند، دو خواهر Rh_{null} هیچ نوع آنتی‌بادی Rh نداشتند هر چند که دارای مجموعاً نه فرزند بودند [۳۰]. بر اساس گزارشات دیگر افراد Rh_{null} مصون شده، آنتی-e [۵۱۴] یا آنتی- Hr_o [۵۰۳] ساخته‌اند. آنتی‌بادی‌های موجود در سرم دو اهدا کننده Rh_{null} که هیچ گونه محرک مصون کننده شناخته شده‌ای دریافت نکرده بودند، همانند آنتی- Hr_o عمل می‌کردند، بطوری که با تمامی نمونه‌های گلبول قرمز بجز گلبول‌های قرمز فنوتیپ‌های Rh_{null} و D- واکنش می‌دادند [۵۲۲ و ۵۲۹].

آنتی-Rh29 مسئول واکنش همولیتیک خفیف نوزاد [۵۰۴ و ۵۱۹] و واکنش همولیتیک شدید نوزاد، که بطور موفقیت آمیزی با تعویض خون‌های مکرر با استفاده از خون D- فنوتیپ‌های شایع Rh کنترل گردید، بوده است [۵۲۰]. آنتی- Hr_o نیز در یک زن Rh_{null} مسئول واکنش همولیتیک نوزاد بود [۵۰۳]. در یک بیمار مسن Rh_{null} که خون D- از فنوتیپ شایع دریافت نموده بود، یک واکنش همولیتیک انتقال خون ناشی از آنتی-Rh29 احتمالاً باعث مرگ وی شده بود [۵۳۰].

تعداد قابل توجهی از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موشی بصورت آنتی-Rh29 عمل می‌کنند و احتمالاً اپیتپ‌هایی را که بین هر دو پلی پپتید Rh مشترک هستند شناسایی می‌نمایند (بخش ۵-۱۸-۶).

۵-۱۶-۵ آنتی‌ژن‌های دیگری که در فنوتیپ‌های نقصان Rh تحت تاثیر قرار می‌گیرند

اثرات فنوتیپ‌های نقصان Rh به فراتر از سیستم گروه خونی Rh، گسترش می‌یابد. این فنوتیپ‌ها فاقد چندین آنتی‌ژن گلبول قرمز هستند و یا حداقل بیان کاهش یافته بر سطح گلبول‌های قرمز Rh_{null} و Rh_{mod} دارند (بخش‌های ۵-۷ و ۵-۸).

$RhAG$ روی گلبول‌های Rh_{null} از نوع تنظیم کننده قابل شناسایی نیست و به میزان کمی بر سطح گلبول‌های Rh_{mod} بیان می‌گردد (جدول ۵-۱۳). در حقیقت همانطوری که در بالا نیز توصیف گردید، عدم وجود $RhAG$ یا شکل فضایی تغییر یافته $RhAG$ است که اصولاً مسئول ظهور این فنوتیپ‌ها می‌باشد. $RhAG$ بر روی گلبول‌های Rh_{null} نوع آمورف وجود دارند، اما به مقدار کم [۴۷۹]. آنتی‌ژن Duclos، که احتمالاً بر روی $RhAG$ واقع شده است (بخش ۵-۷-۱)، در اکثر گلبول‌های Rh_{null} نیز وجود ندارد. آنتی‌ژن‌های با شیوع زیاد سیستم LW^a ، LW^{ab} و LW در تمامی گلبول‌های Rh_{null} وجود ندارند و بصورت ضعیف روی گلبول‌های Rh_{mod} بیان می‌گردند (فصل ۱۶).

آنتی - Fy5 مربوط به سیستم Duffy همچون آنتی -Fy3 عمل می کند. با این تفاوت که با گلبول های دارای نقصان Rh، که هیچکدام از آنها Fy:-3 نیستند، واکنش نمی دهد (فصل ۸). گلبول های دارای نقصان Rh، کاهش بیان گلیکوفورین B دارند و غالباً U- می باشند (بخش های ۵-۹ و ۳-۲۲). CD47، که گلیکو پروتئینی فاقد فعالیت گروه خونی بر سطح گلبول های قرمز است، نیز به مقدار کمی بر سطح گلبول های دارای نقصان Rh وجود دارد (جدول ۵-۱۳).

بر اساس گزارشات آنتی ژن های گلیکوفورین A : M, N و En^a ، در Rh_{null} از نوع تنظیم کننده (نوع آمورف ذکر نشده است) به میزان اندک افزایش یافته اند [۳۰ و ۵۳۱]، علاوه بر این تا حدودی افزایش در قدرت آنتی ژن های Jk^a , Jk^b , Do^a نیز مشاهده شده است [۳۰]. افزایش آنتی ژن «i» بر سطح گلبول های قرمز فنوتیپ نقصان Rh احتمالاً ناشی از فشار وارده بر مغز استخوان به علت کم خونی مربوطه است [۵۳۲]. آنتی بادی هایی که با گلبول های Rh_{null} و با گلبول های دیگر فنوتیپ های «null» واکنش می دادند، اما با گلبول های فنوتیپ «طبیعی» واکنشی نداشتند مگر اینکه گلبولها با پایین مجاور می شدند، در سه بیمار مبتلا به کم خونی مشاهده شدند [۵۳۳ و ۵۳۴].

بسیاری از اتوآنتی بادی های انسانی، وابسته به Rh تلقی می گردند زیرا با گلبول های Rh_{null} واکنش نمی دهند. وینر و وس^۱ [۶۳۱] این آنتی بادی ها را آنتی -pdl (آنتی بادی ضد آنتی ژنی که حذف جزئی دارد)^۲ نامیدند، تا آنها را از آنتی -dL (آنتی بادی ضد آنتی ژن دارای حذف کامل)^۳ که با هر نوع گلبول قرمز واکنش می دهد و آنتی -nl (آنتی بادی ضد آنتی ژن طبیعی)^۴ که با تمامی گلبول های قرمز بجز گلبول های Rh_{null} و D- واکنش می دهد، متمایز سازند.

جدول ۵-۱۳. تعداد برآورده شده مولکول های RhAG و CD47 بر سطح گلبول های دارای نقصان Rh و گلبول های D- [۴۷۹ و ۷۰۳ و ۷۰۴].

Phenotype	Number of molecules per cell (range)	
	RhAG	CD47
Rh_{null} regulator	0	2 900-3 900
Rh_{null} amorph	44 000-58 000	2 000-3 000
Rh_{mod}	43 000	6 600
D- -	180 000-206 000	8 000-12 000
D+	220 000-280 000	35 000-50 000

1 - Weiner and Vos

2 - anti-partially deleted

3 - anti-deleted antibody

4 - anti-normal antibody

۵-۱۶-۶ سندرم نقصان Rh

اشمیت و همکاران^۱ [۵۳۲ و ۵۳۵] اولین افرادی بودند که پی بردند گلبول‌های قرمز Rh_{null} از لحاظ مرفولوژی و عملکرد غیر طبیعی هستند. اکثر افراد Rh_{null} و Rh_{mod} درجه‌ای از کم خونی همولیتیک دارند که شدت آن از بسیار شدید که ضرورت طحال برداری را می‌طلبد تا یک حالت کاملاً جبران شده که نیاز به آزمایشات بسیار دقیق به منظور اثبات کوتاه شدن عمر گلبول قرمز دارد، متغیر می‌باشد. یافته‌های بارز سندرم نقصان Rh عبارتند از: وجود استوماتوسیت‌ها (گلبول‌های قرمز شبیه فنجان) و تعدادی اسفروسیت، کاهش عمر گلبول‌های قرمز خودی، افزایش شکنندگی اسمزی گلبول قرمز، افزایش شمارش رتیکولوسیت، افزایش هموگلوبین جنینی، افزایش قدرت آنتی‌ژن «i» و کاهش سطوح هموگلوبین و هاپتوگلوبین (بازنگری‌ها در منابع [۵۱۲ و ۵۳۶]).

بررسی غشاء گلبول‌های قرمز Rh_{null} هیچگونه تغییری را در اجزا ساختمانی آن در مقایسه با گلبول‌های طبیعی نشان نداد [۵۱۸ و ۵۳۷]. گلبول‌های قرمز Rh_{null} یک سازماندهی غیر طبیعی از فسفولیپیدهای غشاء [۵۳۸]، افزایش نفوذپذیری کاتیونی که به طور جزئی به واسطه یک افزایش در تعداد پمپ‌های سدیم پتاسیم جبران می‌گردد [۵۳۹]، کاهش محتوی آب و کاتیون [۵۱۸] و کاهش محتوی کلسترول غشاء [۵۱۸] را نشان می‌دهند. اینکه کدامیک از این نقایص عامل اصلی اتوهمولیز در سندرم نقصان Rh است مشخص نمی‌باشد. ایسیت^۲ [۵۴۰] خاطر نشان می‌کند که کم خونی همولیتیک به دنبال طحال برداری تخفیف می‌یابد، بنابراین علت نهایی استوماتوسیتوز در سندرم نقصان Rh هر چه باشد، جداسازی زودرس این سلول‌های دارای شکل غیر طبیعی توسط طحال است که مسئول کم خونی می‌باشد. اتصال CD47 سطح گلبول قرمز به SIRP α سطح ماکروفاژها یک سیگنال منفی ایجاد می‌کند که گلبول‌های قرمز را در مقابل بیگانه خواری محافظت می‌کند (بخش ۵-۵-۸)، لذا کاهش سطوح CD47 روی گلبول‌های Rh_{null} می‌تواند در حذف آنها از گردش خون نقش داشته باشد [۱۲۰].

۵-۱۷-۱۷ آنتی‌ژن‌های دارای شیوع کم Rh و آنتی‌بادی‌هایی که آنها را تعریف می‌کنند

۵-۱۷-۱-۱۷ آنتی‌ژن‌های دارای شیوع کم

بیشت آنتی‌ژن با شیوع کم به سیستم Rh تعلق دارند (جدول ۵-۱۴). بدون استثناء وجود این آنتی‌ژن‌ها در ارتباط با بیان غیر طبیعی (معمولاً جزئی یا ضعیف شده) یک یا چند آنتی‌ژن DCcEe می‌باشد. در نتیجه، آنتی‌ژن‌های با شیوع کم بعنوان مارکرهای مفیدی برای هاپلوتیپ‌های نادر محسوب می‌شوند. آنتی‌ژن‌های با شیوع کم را می‌توان بطور نسنجیده‌ای بصورت ذیل طبقه بندی نمود، گرچه این

1 - Schmidt et al.

2 - Issit

یک ساده سازی بیش از حد موضوع است، همانطوری که با مراجعه به بخش های خاص این فصل نیز مشخص می گردد :

D^w , Go^a , Rh32 , Rh33 , Evans , Tar , FPTT , BARC , DAK : مرتبط با D جزئی (بخش ۵-۴-۶).

C^w , C^x : مرتبط با C غیر طبیعی (بخش ۵-۱۲)

E^w : مرتبط با E غیر طبیعی (بخش ۵-۹-۴)

VS , Rh42 , STEM : مرتبط با e غیر طبیعی (بخش های ۵-۹-۵ و ۵-۱۳).

Rh32 , JAL , FPTT , DAK : مرتبط با Dce غیر طبیعی (بخش ۵-۱۴-۱)

Rh33 , JAL : مرتبط با Dce غیر طبیعی (بخش ۵-۱۴-۲)

Be^a : مرتبط با dce غیر طبیعی (بخش ۵-۱۴-۳-۲)

JAHK : مرتبط با dce غیر طبیعی (بخش ۵-۱۱)

Evans : مرتبط با D- غیر طبیعی (بخش ۵-۱۵-۲)

Go^a , Rh33 , Riv , FPTT : مرتبط با $DIV(C)$ (بخش ۵-۱۵-۵)

مطالعات خانوادگی نشان داده است که بیان این آنتی ژن های با شیوع کم تحت کنترل لوکوس کمپلکس RH می باشد. نمی توان به راحتی فرض کرد که یک آنتی ژن بدین دلیل به سیستم Rh تعلق دارد که در ارتباط با بیان غیر طبیعی آنتی ژن های Rh می باشد. اعضای $Ol(a+)$ یک خانواده بزرگ بیان ضعیف بعضی از آنتی ژن های Rh را نشان می دادند. در صورتی که آنتی ژن های Rh اعضای $Ol(a-)$ طبیعی بودند، با این حال بررسی خانواده حاکی از این بود که Ol^a در لوکوس کمپلکس RH به ارث نمی رسد [۵۴۱]. اینکه Ol^a برخاسته از یک جهش در RHAG است، وضعیتی امکان پذیر اما مطلقاً ذهنی است. دو آنتی ژن با شیوع کم دیگر، HOFM (700050) و LOCR (700053)، در ارتباط با بیان غیر طبیعی آنتی ژن های Rh در خانواده ها هستند، اما شواهد ناکافی باعث شده است که نتوانیم آنها را به درون سیستم Rh ارتقاء دهیم. HOFM در ارتباط با آنتی ژن C ضعیف شده صرفاً در خانواده ای است که در آن شناسایی شده است [۵۴۲]. هر شش عضو خانواده HFOM+ بودند و C ضعیف شده داشتند : در اعضای $C+c+$ این ضعیف شدن به راحتی قابل تشخیص بود، در اعضای $C+c-$ نمرات حاصل شده با آنتی-C قابل مقایسه با هتروزیگوت های C/c بود. LOCR در هر سه خانواده آزمایش شده، به همراه dce منتقل می گردد. در دو خانواده این آنتی ژن در ارتباط با c ضعیف شده و در خانواده دیگر با e ضعیف شده می باشد [۵۴۳].

نمره Lod در $q = 0.0$ برای RH و ژن کنترل کننده LOCR فقط ۲/۱۰۷ می باشد، که با این وجود نیز ارزش آماری کمی دارد. به نظر می رسد که DAK در ارتباط با DIIIa باشد اما این موضوع فعلاً تأیید نشده است [۱۷۵]. جای تاسف اینکه آنتی ژن Crawford [۵۴۴] شماره RH43 گرفت، در حالی که هیچ گواهی دال بر اینکه آن یک آنتی ژن Rh است وجود ندارد.

بیشتر آنتی‌ژن‌های فهرست شده در جدول ۵-۱۴ در تمامی جمعیت‌های آزمایش شده دارای شیوع کمی هستند، اما فراوانی بعضی از آنها در جمعیت‌های مختلف متغیر است. C^w و VS به ترتیب در جمعیت‌های سفید پوست و سیاه‌پوست به عنوان آنتی‌ژن‌های اختصاصی (private) تلقی نمی‌شوند.

۵-۱۷-۲ نگرش‌های مربوط به اساس مولکولی $Rh32$ و $FPTT$

زمینه‌های مولکولی بعضی از آنتی‌ژن‌های دارای فراوانی کم Rh را می‌توان با توجه به تغییرات اعمال شده بر ژن‌های RHD , $RHCE$ مرتبط با بیان آنها مورد تامل قرار داد. این آنتی‌ژن‌ها در دیگر بخش‌های این فصل توصیف شده‌اند. دو آنتی‌ژن $Rh32$ و $FPTT$ هر کدام با دو فنوتیپ بسیار متفاوت از لحاظ سرولوژیک در ارتباط می‌باشند و اینها با جزئیات بیشتر در اینجا توصیف خواهند شد.

$Rh32$ در ارتباط با آنتی‌ژن D جزئی DBT ، معمولاً به همراه e و C ، می‌باشد (بخش ۵-۶-۴-۸). R^N تولید $Rh32$ به همراه D که اندکی افزایش یافته، C ضعیف و e ضعیف می‌نماید (بخش ۵-۱۴-۱-۱). DBT محصول یک ژن $RHD-CE-D$ که در آن اگزون‌های ۷-۵ (یا ۹-۵) مشتق از $RHCE$ هستند، می‌باشد (شکل ۵-۱۰). R^N متشکل از RHD و $RHCE-D-CE$ که در آن اگزون ۴ مشتق از RHD است، می‌باشد. با مقایسه ژن‌های هیبرید غیر طبیعی در DBT و در هاپلوتیپ‌های R^N ، به نظر می‌رسد که $Rh32$ می‌تواند حاصل شکل فضایی خاصی از یک پلی‌پپتید Rh باشد که در آن محصول اگزون چهارم RHD به محصول اگزون پنجم $RHCE$ الحاق یافته است. در هر حال، $Rh32$ به سادگی حاصل یک توالی اسید آمینه خطی منحصر بفرد که خود ناشی از نوآرایی‌های ژنی است، نمی‌باشد. یک توالی ۲۱ اسید آمینه‌ای که محل اتصال محصولات اگزون چهارم RHD و اگزون پنجم $RHCE$ را در بر می‌گیرد، در پلی‌پپتیدهایی که توسط دو ژن رمزدهی می‌گردند یکسان می‌باشد. $Rh32$ به احتمال زیاد یک آنتی‌ژن ناپیوسته است که شامل دو حلقه خارج سلولی پروتئین Rh می‌باشد. ژن‌های غیر طبیعی در DBT و R^N پلی‌پپتیدی را تولید می‌کنند که در آن سه ریشه اسید آمینه‌ای مشخصه یک پلی‌پپتید D درون حلقه سوم خارج سلولی (Met169, Met170, Ile172) ممکن است با یک اسید آمینه که مشخصه یک پلی‌پپتید $CcEe$ در حلقه چهارم خارج سلولی است (Gln233) بر هم کنش دهند تا در نهایت $Rh32$ ایجاد گردد (شکل ۵-۱۰).

$FPTT$ در ارتباط با ژن نادر R^{oHar} است که این نیز تولید یک آنتی‌ژن D جزئی (DHAR)، c ، e بسیار ضعیف و آنتی‌ژن با شیوع کم دیگر، $Rh33$ ، می‌نماید (بخش‌های ۵-۶-۴-۹ و ۵-۱۴-۱-۲). $FPTT$ همچنین در ارتباط با DFR ، یک آنتی‌ژن D جزئی دیگر، می‌باشد (بخش ۵-۶-۴-۷). R^{oHar} یک ژن $RHCE-D-CE$ است که در آن فقط اگزون ۵ مشتق از RHD می‌باشد. DFR توسط $RHD-CE-D$ که در آن بخشی از اگزون ۴ مشتق از $RHCE$ می‌باشد، تولید می‌گردد. به نظر می‌رسد که $FPTT$ متضاد $Rh32$ باشد که حاصل بر هم کنش یک حلقه خارج سلولی سوم که توسط اگزون ۴ مشتق از $RHCE$ رمزدهی

می‌گردد و یک حلقه خارج سلولی چهارم که توسط آگزون ۵ مشتق از *RHD* رمز دهی می‌گردد، می‌باشد (شکل ۵-۱۰).

جدول ۵-۱۴. آنتی‌بادی‌های علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع کم Rh

Antigen		Red cell immune	'Naturally occurring'	Other antibodies present	HDN	No. of examples	References
C ^w	RH8	Yes	Yes	Yes	Yes	Many	[392,395,401]
C ^a	RH9	Yes	Yes	Yes	Mild	Many	[405,406,408]
V	RH10	Yes	No	Yes	No	Many	[411,415-417]
E ^w	RH11	Yes	No	No	Yes	Several	[327,328]
VS	RH20		Yes	Yes	No	Many	[412,415]
D ^w	RH23		Yes	Yes*	No	Several	[229,419]
Go ^a	RH30	Yes	Yes	Yes*	Yes	Several	[225,420]
Rh32	RH32	Yes	Yes	Yes*	Yes	Several	[421-423]
Rh33	RH33		Yes	Yes	No	3	[196,424]
Rh35	RH35		Yes	Yes	No	1	[425]
Be ^a	RH36	Yes	No	No	Yes	Several	[426-429]
Evans	RH37	Yes	Yes	Yes*	Yes	Several	[701]
Tar	RH40	Yes	Yes	Yes	Yes	3	[243-245]
Rh42	RH42	Yes	No	No	Mild	2	[413]
Riv	RH45	Yes	No	Yes	Mild	1	[700]
JAL	RH48	Yes	Yes	Yes	Mild	3	[702]
STEM	RH49	Yes	No	Yes	Mild	Several	[352]
FPTT	RH50		Yes	Yes	No	1	[195]
BARC	RH52			Yes	No	1	[233]
JAHK	RH53		Yes	Yes	No	Several	[376]
DAK				Yes	No	Several	[175]

*Not always separable from other Rh specificities, see text.

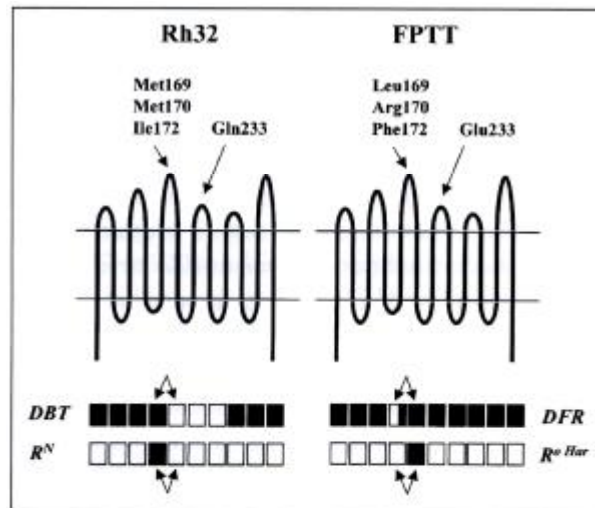
۵-۱۷-۳ آنتی‌بادی‌های علیه آنتی‌ژن‌های با شیوع کم

جدول ۵-۱۴ اطلاعات منتشر شده و منتشر نشده را که در دسترس مولف قرار گرفته است بطور خلاصه ارائه می‌دهد. نمونه‌های دیگر این آنتی‌بادی‌ها ممکن است وجود داشته باشند. بعضی از آنتی‌بادی‌ها ایجاد واکنش همولیتیک نوزاد شدید نموده‌اند، اما جاهایی که مشخص شده آنتی‌بادی‌ها ایجاد واکنش همولیتیک خفیف نوزاد کرده‌اند، در چند مورد این حالت ممکن است صرفاً حاکی از یک آزمایش آنتی گلوبولین مستقیم مثبت بر سطح گلوبول‌های قرمز نوزاد باشد. آنتی-Go^a در ایجاد یک واکنش همولیتیک تاخیری انتقال خون مطرح شده است [۵۴۵].

گرچه برخی آنتی‌بادی‌ها، بعنوان مثال آنتی-Rh32 و آنتی-Go^a، هر کدام بعنوان تنها آنتی‌بادی بوده که در بعضی از سرم‌ها یافت شده است و ممکن است ایجاد واکنش همولیتیک نوزاد نموده باشد، در بعضی سرم‌های دیگر ممکن است همراه هم وجود داشته و آنتی‌بادی‌هایی «با ظهور طبیعی» باشند. زمانی که این ویژگی‌ها با هم مشاهده شوند معمولاً با آزمایشات جذب قابل تفکیک نمی‌باشند. بعنوان یک مثال اختصاصی، سرم Tillet حاوی آنتی‌بادی‌هایی علیه بسیاری از آنتی‌ژن‌های با شیوع کم بود،

گرچه خانم Tillet با این آنتی‌ژن‌ها مواجه نشده بود. آنتی- Go^a ، آنتی-Evans و گاهی اوقات آنتی-Rh32 در سرم Tillet وجود داشتند، اما این ویژگی‌ها از طریق جذب و جداسازی قابل تفکیک از هم نبودند: عمل جذب با گلبول‌های Evans-Rh:32 Go(a-)، آنتی‌بادی ضد گلبول‌های Go(a+)، Evans + و همچنین آنتی‌بادی ضد گلبول‌های Rh:32 را حذف نمود. جذب سری بعدی از سرم Tillet، که دیگر حاوی آنتی-Rh32 نبود، با گلبول‌های Rh:32، روی قدرت آنتی- Go^a و آنتی-Evans تاثیری نداشت، اما جذب با گلبول‌های Evans+ یا Go(a+)، واکنش گلبول‌های Rh:32 را بطور کامل مهار نمود [۱۶۵]. احتمال می‌رود که شباهت‌هایی در شکل فضایی بین شاخص‌های Rh32، Evans، و Go^a وجود داشته باشد و بعضی از آنتی‌بادی‌ها یک خصیصه مشترک بین این شاخص‌ها را شناسایی می‌کنند حال آنکه سایر آنتی‌بادی‌ها قادرند آنها را از هم افتراق دهند.

بعضی از سرم‌های آنتی- D^w برای محصولی از یک ژن DVa ، که در آن بنظر می‌رسد حضور Gln233 در یک پروتئین RhD عاملی کلیدی باشد، اختصاصی می‌باشند (بخش ۴-۶-۴).



شکل ۵-۱۰. اساس مولکولی آنتی‌ژن‌های با شیوع کم Rh : Rh32 و FPTT. Rh32 احتمالاً حاصل برهم کنش بین حلقه سوم خارج سلولی (EC) که توسط یک اگزون ۴ مشتق از RHD رمزدهی می‌شود و یک حلقه چهارم خارج سلولی که توسط یک اگزون ۵ مشتق از $RHCE$ در ژن‌های هیبرید مرتبط با DBT و R^N رمزدهی می‌شود، می‌باشد. FPTT احتمالاً حاصل برهم کنش بین یک حلقه سوم خارج سلولی که توسط اگزون ۴ مشتق از $RHCE$ رمزدهی می‌شود و یک حلقه چهارم خارج سلولی که توسط اگزون ۵ مشتق از RHD در ژن‌های هیبرید مرتبط با DFR و R_o^{Har} رمزدهی می‌گردد، می‌باشد.

در هر حال اکثر معرف‌های آنتی-D^w با گلبول‌های Rh:32 نیز واکنش می‌دهند، بعضی از آنها صرفاً واکنش ضعیف با گلبول‌های Rh:32 ایجاد می‌کنند و بعضی دیگر بطور یکسان با گلوبهای Rh:32 و D^w+ واکنش قوی می‌دهند [۵۴۶]. مقایسه ژن‌های DVa، که تولید D^w می‌کنند، با ژن‌های DBT و R^N، که تولید Rh32 می‌نمایند (شکل‌های ۵-۶ و ۵-۹)، نشان می‌دهد که همه آنها آگزون ۵ را، که کد کننده RHCE) Gln233 است، در مجاورت آگزون ۴ مشتق از RHD شرکت می‌دهند.

۵-۱۸ آنتی‌بادی‌های Rh

بیشتر جزئیات مربوط به اختصاصیت آنتی‌بادی‌های Rh در بخش‌های پیشین که آنتی‌ژن‌های تعریف شده توسط آنها توصیف شده‌اند، یافت می‌گردد. در اینجا نظریه‌های عمومی‌تر در مورد آنتی‌بادی‌های Rh، پلی کلونال و مونوکلونال، و نیز در مورد اهمیت بالینی آنها ارائه می‌گردند. آنتی‌بادی‌های Rh معمولاً در پاسخ به مصون شدن توسط گلبول قرمز، که بدن‌بال انتقال خون با حاملگی عارض می‌گردد، تولید می‌شوند، گرچه آنتی‌بادی‌های Rh «با ظهور طبیعی» ناشناخته نیستند. آنتی‌بادی‌های Rh عموماً واکنش اپتیمم خود را در ۳۷ درجه نشان می‌دهند، و واکنش دهندگی آنها بواسطه مجاورسازی گلبول‌ها با پروتئاز، تقویت می‌گردد. اکثر آنتی‌بادی‌های Rh در غیاب یک محیط تقویت کننده، مستقیماً گلبول‌های قرمز آنتی‌ژن مثبت مجاور نشده با آنزیم را آگلوتینه نمی‌کنند. بیشتر آنتی‌بادی‌های Rh را بایستی بعنوان عوامل بالقوه واکنش همولیتیک نوزاد و واکنش‌های همولیتیک انتقال خون تلقی نمود. واکنش‌های انتقال خون ممکن است فوری یا تاخیری باشند.

۵-۱۸-۱ آنتی-D

۵-۱۸-۱-۱ آلوآنتی-D

آنتی‌بادی‌های D عمدتاً IgG هستند، اما بعضی از سرم‌ها ممکن است حاوی یک جزء IgM باشند. سرم‌هایی که حاوی آنتی-D از نوع IgM هستند معمولاً گلبول‌های D+ معلق در سالی‌ن را آگلوتینه می‌کنند، همچنانکه بعضی از سرم‌های حاوی غلظت‌های نسبتاً بالای آنتی-D به تنهایی چنین تاثیری را نشان می‌دهند [۲۷۰]. اکثر سرم‌های آنتی-D از افراد چندین بار مصون شده^۱ نیز حاوی یک جزء IgA می‌باشند [۲۷۰]. IgG1 و IgG3 زیر کلاس‌های بر جسته آنتی-D هستند. IgG1 تقریباً همیشه وجود دارد و در افرادی که چندین بار مصون شده‌اند، هر دو زیر کلاس معمولاً قابل شناسایی هستند [۲۷۰، ۵۴۷ و ۵۴۸]. معرف‌های آنتی-D از انواع IgG2 و IgG4 نیز گاهی اوقات یافت می‌شوند [۵۴۸-۵۵۰].

1 - hyperimmunized

عدم توانایی تقریباً تمامی آنتی‌بادی‌های D در فعال نمودن کمپلمان به فاصله زیاد بین جایگاه‌های آنتی‌ژن، که از گردهمایی مولکولهای IgG به منظور پیوند یافتن به C1q جلوگیری بعمل می‌آورد، نسبت داده می‌شود [۲۷۰]. گلبول‌های قرمز D+ که بشدت با آنتی-D پوشیده شده بودند به حدود ۱۶۰۰ مولکول C1q اتصال یافتند، با این حال مسیر کلاسیک کمپلمان فعال نشد [۵۵۱]، در هر حال استثنائاتی نیز وجود دارند. بعنوان مثال، یک معرف آنتی-C+D (Ripley) که مورد بررسی کامل قرار گرفته بود، گلبول‌های قرمز D+ را از طریق فعال سازی کمپلمان لیز می‌کرد [۵۵۲ و ۵۵۳]، و یک آنتی-D متصل شونده به کمپلمان در سرم زنی دارای یک D جزئی ضعیف شناسایی گردید [۵۵۴].

نمونه‌هایی از آنتی-D نوع IgG در سرم مردان بدون سابقه تزریق خون توصیف شده‌اند [۵۵۵ و ۵۵۶]، اما اینها نادر هستند. نمونه‌های «با ظهور طبیعی» آنتی-D از نوع IgG که فقط در یک اتوآنالایزر قابل شناسایی بودند، بعنوان آنتی‌بادی‌هایی نسبتاً شایع گزارش شدند [۵۵۷].

آنتی-D انسانی در موش‌های مبتلا به نقص ایمنی شدید ترکیبی^۱ (SCID) تولید شد. برای این منظور به آنها سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی افراد D- که به تازگی با گلبول‌های قرمز D+ حساس شده بودند، تزریق گردیده بود [۵۵۸]. زمانی که سلول‌های تک هسته‌ای از اهدا کنندگانی که چندین سال از حساس شدن آنها گذشته بود مورد استفاده قرار گرفتند، هیچ گونه آنتی-D در موش‌ها تولید نشد با وجودیکه هنوز آنتی-D در پلاسمای اهدا کننده وجود داشت. به نظر می‌رسد که سلول‌های طویل العمر یا خاطره‌ای در خون محیطی افرادی که اخیراً با آنتی‌ژن برخورد ثانویه نداشته‌اند، وجود نداشته باشند.

۵-۱۸-۲ آنتی-D مونوکلونال

ظهور تکنیک هیبریدومای موش در اواخر سال‌های ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰، منجر به تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موشی علیه تعداد زیادی از آنتی‌ژن‌های گروه خونی گردید، با این حال آنتی-D مونوکلونال موشی هرگز تولید نشده است. عدم توانایی در تولید آنتی-D در موش‌ها، تلاش‌هایی را در جهت تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال انسانی برانگیخت، اصولاً با این هدف که جایگزین آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال بعنوان معرف‌های گروه‌بندی شوند و کاربرد پروفیلاکتیک یابند. تکنیک هیبریدومای کوهلرو میلشتین^۲ [۵۵۹] زمانی که در مورد انسان‌ها استعمال شد خیلی موفقیت آمیز نبود، اما یک راهکار متفاوت، که در آن لنفوسیت‌های B انسانی به واسطه دگرگون سازی توسط ویروس اپشتین بار^۳ (EBV) در آزمایشگاه کشته می‌شدند [۵۶۰]، موفقیت را با خود به ارمغان آورد.

1 - Severe Combined Immunodeficiency

2 - Kohler and Milstein

3 - Ebstein-Barr Virus

کراوفورد و همکاران^۱ [۵۶۱] اولین کسانی بودند که سلول‌های لنفوبلاستوئید تغییر یافته توسط EBV را کلون نمودند تا تولید یک رده سلولی پایدار نمایند که آنتی-D ترشح کند. هر چند بعضی از رده‌های سلولی تولید کننده آنتی-D که بدین طریق بعمل آمده‌اند چندین سال زنده مانده‌اند [۲۳۷، ۵۶۵-۵۶۱]، این رده‌های سلولی غالباً ناپایدار [۵۶۶] و کشت آنها در مقیاس وسیع مشکل می‌باشد. برای رفع این مشکلات، سلول‌های لنفوبلاستوئید تغییر یافته توسط EBV معمولاً با سلول‌های میلومائی ترکیب^۲ می‌شوند تا ایجاد یک هیبریدوما گردد [۵۶۷]. سلول‌هایی که به منظور تولید آنتی-D مونوکلونال در ترکیب فوق شرکت داده شده‌اند شامل: میلوماهای موشی [۵۶۴، ۵۷۱-۵۶۸]، هتروهیبریدوماهای انسان - موش [۵۷۲ و ۵۷۳]، و رده‌های سلولی لنفوبلاستوئید انسانی بوده‌اند [۵۶۴ و ۵۷۰]. به جای دگرگون سازی ناشی از EBV، می‌توان از فعال سازی CD40 در لنفوسیت‌ها استفاده کرد [۵۷۴]. یک آنتی-D مونوکلونال که توسط یک هیبریدوماوی انسان × انسان بدون استفاده از تغییر شکل ناشی از EBV یا فعالسازی CD40، تولید گردید، گزارش شده است [۵۷۵]. بیشترین موفقیت در تولید آنتی-D مونوکلونال زمانی حاصل شده است که لنفوسیت‌های افرادی مورد استفاده قرار گرفت که به تازگی با آنتی‌ژن برخورد ثانویه داشته و تولید آنتی‌بادی نموده بودند (به منظور بازنگری به منابع [۵۷۶-۵۷۹] مراجعه گردد).

از میان ۵۲ رده سلولی ترشح کننده آنتی-D که توسط مک کان و همکاران^۳ [۵۷۸] بطور خلاصه ارائه شدند، هفده مورد IgM و ۳۵ مورد IgG بودند، از ۳۳ زیر کلاس IgG، ۲۴ مورد IgG1، هشت مورد IgG3 و یک مورد IgG2 بودند. غلبه مولکول‌های IgG1 و IgG3 پروفایل آنتی‌بادی اهداءکنندگان لنفوسیت را منعکس می‌سازد. دگرگون سازی بوسیله EBV و بدنبال آن ترکیب نمودن (Fusion)، ظاهراً احتمال تولید آنتی-D از نوع IgM را افزایش می‌داد [۵۷۸]. آنتی-D مونوکلونال نوع IgA گزارش شده است [۵۶۸].

واکنش معرف‌های آنتی-D مونوکلونال با گلبول‌های قرمزی که آنتی‌ژن‌های D جزئی را بروز می‌دهند، اپیتپ‌های متعددی بر سطح پروتئین RhD را شناسایی نموده است (جدول ۵-۶ و بخش ۵-۶-۳). اکثر آنتی‌بادی‌های D مونوکلونال با گلبول‌های دسته VI واکنش نمی‌دهند. لیدر و همکاران^۴ [۲۳۷] با استفاده از گلبول‌های قرمز DVI به منظور تشکیل روزت^۵ در تولید و نگهداری رده‌های سلولی تغییر یافته مربوطه، موفق به ساخت سه آنتی-D مونوکلونال گردیدند.

1 - Crawford *et al.*

2 - fused

3 - McCann *et al.*

4 - Leader *et al.*

5 - rosette

آنتی‌بادی‌های ویژه ایدیوتیپ تولید شده در خرگوش‌هایی که با یک آنتی-D مونوکلونال تخلیص شده مصون شده بودند، بطور کامل این آنتی-D را مهار نمودند اما این حالت با آنتی-D مونوکلونال یا پلی کلونال دیگری مشاهده نشد [۵۸۰]. آنتی‌بادی‌های ویژه ایدیوتیپ، آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز D+ پوشیده شده با صرفاً چهار مورد از ۱۱۸ آنتی-D پلی کلونال ناقص را باعث شدند. سه آنتی‌بادی مونوکلونال که از طریق مصون سازی موش‌ها با آنتی-D مونوکلونال BRAD-5 تولید شده بودند، سه اپیتپ مختلف را بر سطح آنتی-D شناسایی نمودند [۵۸۱]. آنتی‌بادی‌ها به BRAD-5 و دیگر آنتی‌بادی‌های حاصل از کلونهای مشتق از همان اهداء کننده پیوند یافتند، اما این پیوند با آنتی-D دیگر، از جمله سه آنتی-D با یک ویژگی اپیتپ D، حاصل نشد.

قطعه ژنی V4-34 که مربوط به منطقه متغیر زنجیره سنگین IgM می‌باشد، در آگلوتینین‌های سرد با ویژگی I و i وجود دارد (بخش ۲۵-۷-۱). حدود ۸۵٪ سرم‌های آنتی-D مونوکلونال از نوع IgM توسط V4-34 رمزدهی می‌شوند و این آنتی‌بادی‌ها گلبول‌های قرمز D- مجاور شده با پاپاین را آگلوتینه می‌کنند، بعضی از آنها گلبول‌های D- مجاور نشده را در ۴ درجه سانتیگراد آگلوتینه می‌نمایند [۵۸۲ و ۵۸۳]. این آگلوتیناسیون سرد معمولاً برای i اختصاصی است، اما می‌تواند ویژه I نیز باشد. علاوه بر این آنتی-D مونوکلونال V4-34 از نوع IgM دارای پتانسیل واکنش دهندگی متعدد بافتی است، که عمدتاً علیه اجزاء داخل سلولی بویژه پروتئین‌های رشته‌ای حد واسط سیتوپلاسمی هدایت می‌گردد [۵۸۳ و ۵۸۴]، صراحتاً ویژگی‌های آگلوتینین سرد مربوط به آنتی-D IgM را باید در طراحی و توسعه معرف‌ها مدنظر قرار داد. اگرچه واکنش دهندگی متعدد از خصائص در خورتوجهی است که در تولید آنتی-Dهای مونوکلونال بعنوان معرف‌های پروفیلاکتیک واکنش همولیتیک نوزاد مد نظر قرار می‌گیرد، آنتی‌بادی‌هایی که برای این منظور مورد نیاز هستند، IgG می‌باشند، تا واکنش دهندگی متعدد بسیار کم‌رنگ‌تر باشد.

عموماً آنتی‌بادی‌های مونوکلونال D و مخلوطی از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، امروزه بعنوان معرف‌های تعیین Rh مورد استفاده قرار می‌گیرند. معرف‌های آنتی-D مونوکلونال IgM تمامی گلبول‌های D بجز نمونه‌های بسیار ضعیف آن را آگلوتینه می‌نمایند، گرچه اکثر آنها قادر به آگلوتینه کردن گلبول‌های DVI نمی‌باشند (بخش ۵-۶-۹ و بازنگری شده در منابع [۲۱۴ و ۵۸۵])، استفاده بالقوه از آنتی-D مونوکلونال در پروفیلاکسی واکنش همولیتیک نوزاد در بخش بعدی مورد بحث قرار می‌گیرد.

cdNA مربوط به ژن V ایمونوگلوبین انسانی مشتق از لنفوسیت‌های خون محیطی را می‌توان تکثیر و کلون نمود، و ذخائر ژنی V_H و V_L را بصورت تصادفی بهم مرتبط نمود تا قطعات زنجیره منفرد^۱ (scFv) در آنتی‌بادی را رمزدهی نمایند. این cdNA های صناعی scFv بدرون حامل^۲ های فاژری وارد

1 - single chain Fv

2 - vector

می‌شوند بطوری که بتوان آنها را درون فازهای رشته‌ای وارد نمود. با متصل نمودن scFvCDNA به ژن مربوط به یکی از پروتئین‌های پوششی فاز، مولکولهای کد شده scFv بر سطح فاز عرضه می‌گردند، این فاز از این پس بعنوان یک آنتی‌بادی عمل می‌کند. سپس می‌توان فازهایی که حاوی اطلاعات ژنتیکی برای مناطق متغیری که به یک آنتی‌ژن خاص اتصال می‌یابند، هستند، را از طریق انتخاب کردن آنها با یک آنتی‌ژن اختصاصی فاز جامد ایزوله نمود. گلوبول‌های قرمز را می‌توان برای این منظور مورد استفاده قرار داد. در مرحله بعد این ژن‌ها به درون باکتری اشریشیاکولی منتقل می‌گردند، کلون می‌شوند و قطعات منطقه متغیر زنجیره منفرد ترشح می‌گردند [۵۸۶]. با این تکنیک، قطعاتی از آنتی‌بادی که برای D و E اختصاصی بودند از اهداکنندگان مصون نشده تولید شدند، اما این آنتی‌بادی‌ها قدرت اتصال پائینی داشتند [۵۸۷ و ۵۸۸]. متعاقباً، تکنیک‌های مشابهی جهت کلون سازی ذخیره فاز، منتهی به تولید قطعات Fab با خصوصیات پیوند کنندگی آنتی‌ژن D، مشابه خصوصیات پیوندی آنتی‌بادی‌های اصلی، شده‌اند [۵۸۹ و ۵۹۰].

مولکولهای آنتی-D نوع IgG که با مهندسی ژنتیک طراحی شده و توسط رده‌های سلولی حشرات یا پستانداران ترشح شده‌اند، دارای یک حوزه Fc عملکردی و رفتار طبیعی در آزمایشات عملکردی ایمونولوژیک می‌باشند [۵۹۰ و ۵۹۱]. چنین آنتی‌بادی‌هایی که با فنون مهندسی تولید شده‌اند می‌توانند کاندیدهایی برای استفاده در پروفیلاکسی واکشن همولیتیک نوزاد باشند.

تعیین توالی ژن‌های کد کننده مناطق متغیر زنجیره‌های سبک و سنگین (V_H, V_L) آنتی-D مونوکلونال از نوع IgG یک کاربرد فوق العاده محدود ژن‌های لایه زیبا (ژرم لاین) را محرز نمود [۵۹۵، ۲۶۱ - ۵۹۲]. قطعات V_H بازآرایی نشده^۱ بکار رفته در آنتی-D نوع IgG، در زمره کاتیونیک‌ترین قطعات موجود در ذخیره V_H انسانی می‌باشند [۵۹۳]. این موضوع، نقطه ایزوالکتریک نسبتاً بالای آنتی-D را در مقایسه با IgG سرم توضیح می‌دهد که ممکن است عاملی مهم در اتصال به آنتی‌ژن D، که در مجاورت چربی‌های غشاء قرار گرفته است، باشد.

۵-۱۸-۳ اهمیت بالینی آنتی-D

از لحاظ بالینی، D مهم‌ترین آنتی‌ژن گلوبول قرمز بعد از A و B است. آنتی-D دارای پتانسیل ایجاد واکنش‌های همولیتیک شدید انتقال خون می‌باشد. گلوبول‌های قرمز D+ هرگز نباید به بیمارانی که آنتی-D دارند تزریق شوند، و گلوبولهای قرمز اهداکنندگان و گیرندگان بایستی همیشه از نظر نوع D بررسی شوند، بجز در جمعیت‌هایی که فنوتیپ D- بسیار نادر است. حدود ۸۵٪ افراد D- متعاقب دریافت ۲۰۰ میلی لیتر یا بیشتر از گلوبول‌های قرمز D+، آنتی-D می‌سازند [۲۷۰]، به همین دلیل

1 - germline

گلوبول‌های D+ را نباید به بیماران D- (مگر در موارد اورژانس) و زنان D- در سنین بارداری تزریق نمود. همین معیارها را باید در مورد فراورده‌های خونی که ممکن است آلوده به گلوبول‌های قرمز باشند نیز استعمال نمود.

قبل از دهه ۱۹۷۰، واکنش همولیتیک نوزاد ناشی از آنتی-D یک علت شایان توجه مرگ و میر و ابتلای نوزادی و جنینی بود. در سال ۱۹۷۰، میزان بروز موارد مرگ نوزادان و سقط جنین ناشی از واکنش همولیتیک نوزاد ایجاد شده توسط آنتی-D در انگلستان و Wales، ۱/۲ به ازای هر ۱۰۰۰ تولد بود، تا سال ۱۹۸۹ این رقم به ۰/۰۲ در هر ۱۰۰۰ تولد تنزل یافت [۵۹۶]. این افت قابل توجه در شیوع، غالباً نتیجه پروفیلاکسی ایمونولوژیک با استفاده از ایمونوگلوبین D بود که از تولید آنتی-D مادر متعاقب حاملگی‌های دارای ناسازگاری D جلوگیری بعمل می‌آورد. مکانیسم این سرکوب ایمنی با واسطه آنتی‌بادی ناشناخته است، اما احتمالاً متکی به برهم کنش بین گیرنده‌های IgGFc γ است [بازنگری شده در منبع ۵۹۷]. تمامی زنان D- باید ظرف ۷۲ ساعت پس از زایمان یک نوزاد D+، ایمونوگلوبین آنتی-D را دریافت دارند، دز آنتی-D بستگی به میزان خونریزی از راه جفت دارد. بعلاوه، توصیه شده است که ایمونوگلوبین D به تمامی زنان D- حامله در هفته‌های ۲۸ و ۳۴ بارداری تزریق شود تا آنان را در مقابل ایمونیزاسیون قبل از تولد حفاظت نماید [۶۰۰ - ۵۹۸].

شدت واکنش همولیتیک نوزاد ناشی از آنتی-D بسیار متغیر است. جنین‌هایی که با شدت بسیار بالایی مبتلا شده‌اند درون رحم از هفته هفدهم به بعد می‌میرند. در مواردی که شدت ابتلا کمتر است، هیدروپسی جنینی ممکن است عارض گردد. در کودکان شدیداً مبتلایی که زنده متولد شده‌اند یرقان ممکن است سریع ظاهر شده و منجر به کرنیکتروس^۱ گردد. حدود ۷۰٪ کودکانی که کرنیکتروس را بروز می‌دهند ظرف چند روز می‌میرند، بسیاری از آنهایی که زنده می‌مانند دچار آسیب دائمی مغزی می‌شوند [۲۷۰]. به منظور دستیابی به مقالات بازنگری شده در خصوص بیماری همولیتیک نوزاد ناشی از Rh، درمان و پیشگیری از آن، به منابع [۲۷۰، ۵۷۹، ۵۹۶، ۵۹۸، ۶۰۱ و ۶۰۲] مراجعه گردد.

آنتی-D از هر دو نوع IgG1 و IgG3 به نظر می‌رسد که قادر به ایجاد واکنش همولیتیک نوزاد باشد، گرچه این که کدام یک از این زیر کلاس‌ها مسئول شکل شدیدتر بیماری است مورد بحث و مناظره است [۶۰۲ و ۵۹۸]. روش‌های آزمایشگاهی متنوعی توسعه یافته‌اند با این هدف که شدت واکنش همولیتیک نوزاد را در طول دوره بارداری پیش بینی کنند که خود کمک به کنترل بیماری می‌نماید. علاوه بر تعیین زیر کلاس IgG و میزان آنتی-D در یک اتوالایزر، روش‌های عملکردی سلولی، تخریب گلوبول‌های قرمز پوشیده شده از آنتی‌بادی در داخل بدن بدنال بر هم کنش با گیرنده‌های Fc γ سیستم فاگوسیت تک هسته‌ای، را شبیه سازی می‌نمایند.

1- Kernicterus

روش‌های عملکردی سلولی شامل موارد ذیل می‌باشد :

- ۱- روش‌های تک لایه مونوسیتی^۱ که چسبندگی و بیگانه خواری را می‌سنجند.
- ۲- روش‌های کمیومینسانس^۲، که پاسخ متابولیکی مونوسیت‌ها را در طول بیگانه خواری می‌سنجند

- ۳- روش‌های سیتوتوکسیسیته سلولی با واسطه آنتی‌بادی^۳ (ADCC) در مورد لنفوسیت (سلول K) و مونوسیت، که همولیز را می‌سنجند (بازنگری‌ها در منابع [۲۷۰ و ۶۰۲]).

علی‌رغم دقت و حساسیت این آزمایشات، هیچکدام از آنها رضایت بخش نبوده‌است [۶۰۴-۶۰۲]. موفقیت برنامه پیشگیری با ایمونوگلوبولین Rh، مشکلی را به وجود آورده است: تعداد بسیار کمی از زنان D- با آنتی‌ژن مواجه می‌شوند تا تولید آنتی-D نمایند، و لذا منجر به کمبود ایمونوگلوبولین ضروری جهت جلوگیری از مصون شدنشان می‌گردد. این نقصان با ورود برنامه‌های پیشگیری قبل از تولد بدتر شده است. راه حل این مشکل، حداقل در یک دوره کوتاه باید از ناحیه آنتی-D مونوکلونال باشد که در آن حجم تقریباً نامحدودی از ایمونوگلوبولین را می‌توان با یک بار مصون سازی در آزمایشگاه تولید نمود (بازنگری شده در منبع [۵۷۹]). این معرف‌های درمانی بالقوه فعلاً تحت کارآزمایی‌های بالینی می‌باشند. گلبول‌های قرمز D+ نشاندار شده با رادیواکتیو، در آزمایشگاه با مقادیر متغیری از دو آنتی-D مونوکلونال انسانی، یکی IgG1 (FOG-1) و دیگری IgG3 (BRAD-3)، پوشیده شده و به اهدا کنندگان آنها برگشت داده شدند. هر دوی این آنتی‌بادی‌ها پاکسازی ایمنی گلبول‌های پوشیده شده را وساطت نمودند، اما تعداد مولکولهای IgG3 بسیار کمتری از IgG1 مورد نیاز بود، و در هنگام استفاده از دو آنتی‌بادی با هم هیچگونه اثری تشدید کنندگی (سینرژیک) مشاهده نشد [۶۰۵]. زمانی که داوطلبین D- تزریقات داخل عضلانی آنتی-D مونوکلونال و به دنبال آن انفوزیون گلبول‌های D+ نشاندار شده را دریافت داشتند، آنتی-D نوع IgG3 (BRAD-3) پاکسازی را با سرعتی پایین‌تر از آنتی-D پلی کلونال تحریک نمود. اما آنتی-D نوع IgG1 (BRAD-5)، سرعت پاکسازی مشابه با آنتی‌بادی پلی کلونال داشت [۶۰۶]. در کارآزمایی دیگر به ۹۵ اهدا کننده مرد D- پنج میلی لیتر گلبول قرمز D+ تزریق شد و سپس ۲۴ ساعت بعد مخلوطی ناهمگن از BRAD-3 و BRAD-5 دریافت نمودند. آنتی‌بادی مونوکلونال عموماً در جلوگیری از ایمونیزاسیون D موفق ظاهر شد، گرچه یک نقص یا نارسایی احتمالی جود داشت [۶۰۷].

1 - Monocyte Monolayer assays

2 - Chemiluminescence assays

3 - Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity assays

ایمونوترابی پتیدی با استفاده از پتیدهای مشتق از پروتئین RhD به منظور ایجاد حالت تحمل اختصاصی نسبت به D در سلول‌های T یاریگر، راهکار بالقوه دیگر در جلوگیری از واکنش همولیتیک نوزاد ناشی از آنتی-D می‌باشد. این فناوری فعلاً در مراحل اولیه تحقیق و بررسی است [۶۰۸].

موارد اتفاقی واکنش همولیتیک نوزاد که به طور غیر منتظره‌ای خفیف هستند، در جنین‌های D+ زنانی که دارای آنتی-D و تاریخچه‌ای از واکنش همولیتیک نوزاد شدید در حاملگی‌های قبلی می‌باشند، ظهور می‌یابند. این حالت می‌تواند ناشی از آنتی‌بادی‌های HLA مادری باشد که گیرنده‌های Fc سطح ماکروفاژهای جنینی را مهار نموده و گلبول‌های قرمز حساس شده جنین را در مقابل تخریب محافظت می‌نمایند [۶۰۹ و ۶۱۰]. آنتی‌بادی‌های مهارکننده گیرنده FcγRI، احتمالاً پتانسیلی در درمان واکنش همولیتیک نوزاد داشته باشند.

۵-۱۸-۲ آنتی-C، آنتی-e، آنتی-E، آنتی-e و آنتی-G

پیچیدگی‌های متعدد ویژگی آنتی‌بادی‌هایی که تحت عناوین آنتی-C، آنتی-c، آنتی-E و آنتی-e توصیف شده‌اند در بخش‌های ۵-۸ و ۵-۹ مورد بحث قرار گرفته است. این آنتی‌بادی‌ها بسیاری از خصوصیات آنتی-D را به اشتراک برده‌اند و عموماً آنتی‌بادی‌هایی ایمنون هستند. اکثراً از نوع IgG، و غالباً IgG1، می‌باشند هر چند که انواع IgG2، IgG3 و IgG4 همگی شناسایی شده‌اند [۵۴۸]. آنتی‌بادی‌های دارای تمامی این ویژگی‌ها در واکنش‌های همولیتیک انتقال خون، بویژه نوع تأخیری شرکت داشته‌اند [۲۷۰]. آنتی-c از لحاظ بالینی مهم‌ترین آنتی‌بادی Rh بعد از آنتی-D است و ممکن است ایجاد بیماری همولیتیک شدید نوزاد نماید. در سه سری تحقیق، بین ۱۴٪ و ۲۱٪ از کودکان c+ که از زنان دارای آنتی-c به دنیا آمده بودند نیاز به تعویض خون داشتند [۶۱۳-۶۱۱]. آنتی-c، آنتی-E، آنتی-e و آنتی-G، همگی ایجاد بیماری همولیتیک نوزاد نموده‌اند، اما میزان بروز بسیار کم و فرجام آنها بندرت شدید است [۲۷۰]. اهمیت بالینی آنتی‌بادی‌هایی که ویژگی‌های مرکب CcEe دارند در بخش ۵-۱۰ توصیف شده است. آنتی-G ممکن است به جای آنتی-C+D اشتباه گرفته شود (بخش ۵-۱۱). ذکر این نکته اهمیت دارد که زنان حامله دارای آنتی-G یا آنتی-C+G ایمنونگلوبولین آنتی-D دریافت نمایند، تا از ساخته شدن آنتی-D توسط آنها جلوگیری بعمل آید. بر خلاف دیگر ویژگی‌های Rh، آنتی‌بادی‌های E ظاهراً دارای «ظهور طبیعی»، نادر نیستند [۳۵۵ و ۳۵۶].

واکنش‌های همولیتیک داخل عروقی انتقال خون، با آنتی‌ژن‌های اختصاصی Rh در غیاب هر نوع آنتی‌بادی Rh، مرتبط بوده‌اند [۶۱۴]. این ارتباط با Rh بدین دلیل استنباط گردید که تزریق گلبول‌های قرمزی که برای یک آنتی‌ژن خاص مثبت بودند منجر به همولیز گردید، حال آنکه تزریق گلبول‌های آنتی‌ژن منفی منتهی به بقاء طبیعی گلبول قرمز شد. آنتی‌ژن‌های C، c و e در این نوع واکنش مطرح شده‌اند [۶۱۴].

آنتی‌بادی‌های مونوکلونال انسانی علیه C، c، E و G از طریق کلون سازی رده‌های سلولی لنفوبلاستوئید تغییر یافته توسط EBV یا کلون سازی هتروهیبریدوماهای تولید شده از الحاق سلول‌های تغییر یافته توسط EBV با سلول‌های میلومایی موش، تولید شده‌اند (به بخش ۵-۱۸-۱-۲ رجوع شود) [۵۶۴، ۶۱۵ و ۶۱۶]. یک آنتی-C مونوکلونال، از یک هتروهیبریدوما متشکل از لنفوسیت‌های تغییر شکل نیافته حاصل گردید [۶۱۷]. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موشی با ویژگی شبیه آنتی-e در زیر توصیف می‌شوند (بخش ۵-۱۸-۶).

۵-۱۸-۳ آنتی‌بادی‌های «متکی به آنزیم»

بعضی از آنتی‌بادی‌های Rh که غالباً «متکی به آنزیم» نامیده می‌شوند، گلبول‌های قرمزی را که با آنزیم‌های پروتئاز مجاور شده‌اند آگلوتینه می‌نمایند، اما با استفاده از آزمایشات آنتی‌گلوبولین مرسوم در حضور گلبول‌های مجاور نشده با آنزیم قابل شناسایی نمی‌باشند. گرچه غالب اوقات این آنتی‌بادی‌ها، آنتی‌بادی‌های E با «ظهور طبیعی» هستند [۳۵۶-۳۵۳]. آنتی-D، آنتی-C، آنتی-c، آنتی-e و آنتی-ce «متکی به آنزیم» نیز شناسایی شده‌اند [۶۲۲-۶۱۸]. آنتی‌بادی‌های «متکی به آنزیم» عموماً فاقد اهمیت بالینی هستند [۶۲۰، ۶۱۸ و ۶۲۱] و زمانی که آزمایشات غربالگری آنتی‌بادی بدون استفاده از گلبول‌های قرمز مجاور شده با پروتئاز به کار روند، شناسایی نمی‌گردند، در هر حال استثنائات نادری وجود دارند. نمونه‌های منفردی از آنتی-c، آنتی-e+ce و آنتی-C (که به C3 پیوند یافت) «متکی به آنزیم» ایجاد واکنش‌های همولیتیک انتقال خون نمودند [۶۱۸، ۶۱۹ و ۶۲۲]. با استفاده از یک آزمایش آنتی‌گلوبولین غیر مستقیم، فعال شدن یک آنتی-E «متکی به آنزیم» در طول حاملگی، که ایجاد بیماری همولیتیک نوزاد نیازمند تعویض خون نموده بود، محرز گردید [۶۲۳].

۵-۱۸-۴ اتوآنتی‌بادی‌های Rh

آنتی‌ژن‌های Rh شایع‌ترین اهداف اتوآنتی‌بادی‌های گرم هستند [۶۲۴ و ۶۲۵]. دخالت آنتی‌بادی‌های Rh در کم خونی همولیتیک اتوایمیون^۱ (AIHA) ابتدا زمانی مشاهده شد که اتوآنتی‌بادی‌هایی با ویژگی آنتی-e شناسایی گردیدند [۶۲۶]. از اتوآنتی‌بادی‌های «ساده» مختص Rh، آنتی-e شایع‌تر است، اما آنتی-c، آنتی-E، آنتی-D و آنتی-C، تقریباً با همین ترتیب شیوع نیز وجود دارند [۶۲۴، ۶۲۷ و ۶۲۸]. این ویژگی‌ها گاهی اوقات به تنهایی وجود دارند، اما در اکثر موارد آزمایشات جذب با گلبول‌های قرمز دارای فنوتیپ مشخص Rh به منظور تعیین ویژگی‌هایی که بر سطح گلبول‌های قرمز و در سرم بیماران مبتلا به کم خونی همولیتیک اتوایمیون وجود دارند، ضروری می‌باشند. بعضی از آنتی‌بادی‌های Rh با ویژگی‌های ظاهراً ساده که از سوی ایسیت و همکاران [۶۲۹] عنوان «آنتی‌بادی‌های تقلید کننده» گرفتند،

به طور کامل توسط گلبول‌های قرمز «آنتی ژن منفی» جذب می‌گردند که این حاکی از یک ویژگی وسیع‌تر است. کم خونی همولیتیک اتوایمیون سرد ناشی از اتوآنتی-D از نوع IgM و با خاصیت فعال کنندگی کمپلمان توصیف شده است [۶۳۰].

استفاده از گلبول‌های قرمز با فنوتیپ‌های نادر Rh_{null} و D- نشان داد که آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های با شیوع زیاد غالباً به شکل اتو آنتی‌بادی وجود دارند [۶۳۱]. آنتی‌بادی‌های وابسته به Rh همچنین ممکن است در بعضی از موارد کم خونی همولیتیک اتوایمیون ناشی از دارو نیز مداخله داشته باشند [۶۲۴، ۲۷۰، ۶۲۵]. از بین رفتن یا تضعیف بعضی از آنتی‌ژن‌های Rh در تعدادی از بیماران مبتلا به کم خونی همولیتیک اتوایمیون گزارش شده است [۳۵۰، ۶۳۲ و ۶۳۳].

بعضی از بیماران D+ متعاقب تزریق خون D+، آنتی-D و یک آزمایش آنتی گلوبولین مستقیم مثبت بروز دادند [۶۳۴-۶۳۶]. آنتی-D گذرا بود، گرچه تزریق خون D+ در یک بیمار ظهور مجدد آنتی‌بادی را تحریک نمود [۶۳۵]. اتوآنتی-D ممکن است بصورت همزمان با آلوانتی-D در افراد مصون شده‌ای که آنتی‌ژن D جزئی ضعیف دارند [۶۳۷ و ۶۳۸] و بندرت قبل از ظهور آلوانتی-D، مشاهده گردد [۶۳۹].

۵-۱۸-۵ آنتی‌بادی‌های Rh با منشأ اهدا کننده پیوند

در دریافت کنندگان پیوندهای عضو توپر (کلیه، کبد، قلب و ریه) با گروه خونی D+، آنتی-D مشتق از لنفوسیت‌های فرد اهدا کننده مسئول همولیز، گاهی اوقات شدید بوده است [۶۴۰-۶۴۶]. منشأ این آنتی-D در اهدا کننده از طریق تعیین گروه Gm آشکار شده است [۶۴۱ و ۶۴۶]. کیمریسم به واسطه وجود لوکوسیت‌های منشأ گرفته از اهدا کننده در خون محیطی یک گیرنده قلب - ریه دو ماه بعد از عمل پیوند که به کمک تعیین ژنوتیپ HLA کلاس II شناسایی شده بودند، اثبات گردید [۶۴۶]. آنتی-c، آنتی-E و آنتی-e نیز در شرایط مشابه شناسایی گردیده‌اند [۶۴۲، ۶۴۷-۶۴۴]. همولیز حاد ناشی از آنتی-D به همراه آنتی-E در یک گیرنده D+ که پیوند کبد از یک اهدا کننده D- دریافت نموده بود، ظاهر گردید. آنتی-D به همراه آنتی-E و آنتی-K در سرم گیرنده یکی از کلیه‌ها و پانکراس یک اهدا کننده شناسایی گردیدند، اما یک بیمار D+ سوم، که کلیه دیگر همان اهدا کننده را دریافت کرده بود آنتی-D نساخت [۶۴۳].

آنتی-D در گیرندگان D+ که پیوند مغز استخوان D- گرفته‌اند مشاهده شده است [۶۴۸-۶۵۱]. در یک مورد این آنتی‌بادی تا زمانی که سرکوب ایمنی جهت جلوگیری از بیماری پیوند علیه میزبان قطع نشده بود یعنی تا دو سال پس از پیوند ظاهر نگردید [۶۵۰]. آنتی-D، آنتی-E و آنتی-G در سرم یک بیمار DcE/dce چهار ماه پس از اینکه وی پیوند مغز استخوان از خواهرش دریافت نمود شناسایی شدند، که احتمال می‌رود ظهور این آنتی‌بادی‌ها نتیجه ایمونیزاسیون لنفوسیت‌های مشتق از اهدا کننده توسط گلبول‌های قرمز D+E+ بیمار بود [۶۵۱].

۵-۱۸-۶ آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موش وابسته به Rh

هیچ نوع آنتی-D، آنتی-C، آنتی-c، آنتی-E و آنتی-e مونوکلونال موش تولید نشده است. بسیاری از آنتی‌بادی‌های موشی ضد آنتی‌ژن‌های با فراوانی زیاد، وابسته به Rh هستند، زیرا با گلبول‌های Rh_{null} واکنش نمی‌دهند، برخی از این آنتی‌بادی‌ها با گلبولهای D- و D-- واکنش می‌دهند، حاکی از اینکه آنها اپیتپ‌هایی را که بین پلی‌پپتیدهای RhD و RhCcEe مشترک می‌باشند تعریف می‌نمایند (مشابه آنتی-Rh29)، سایر آنها با گلبول‌های D-- واکنش نمی‌دهند، حاکی از اینکه آنها اپیتپ‌های ویژه RhCcEe را تعریف می‌کنند (مشابه آنتی-Rh17) [۸۹، ۲۱۰، ۴۳۱ و ۶۵۲]. بعضی از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موشی که با تمام گلبول‌های قرمز بجز گلبول‌های قرمز فنوتیپ‌های Rh_{null} و D-- واکنش می‌دهند، گلبول‌های $e+$ را بر گلبول‌های $e-$ ترجیح می‌دهند و تحت شرایط خاصی همچون آنتی-e عمل می‌کنند [۶۵۳-۲۱۰، ۶۵۵]. یکی از این آنتی‌بادی‌ها (BS58) علی‌رغم اینکه با گلبول‌های DcE/DcE واکنش ضعیفی داشت، با گلبول‌های DCE/DCE و dce/dce واکنش یکسان و قوی ایجاد نمود [۶۵۵].

۵-۱۹ موزائیک‌های Rh و تغییرات فنوتیپی اکتسابی

۵-۱۹-۱ بدخیمی

بیان غیر طبیعی بعضی از آنتی‌ژن‌های Rh، گاهی اوقات در بیماران مبتلا به لوسمی‌های میلوئیدی، پلی‌سیتمی و دیگر اختلالات میلوپرولیفراتیو، مشاهده شده است. در اکثر موارد، این بیماران ظاهراً موزائیک‌هایی با دو جمعیت از گلبول‌های قرمز هستند که فنوتیپ Rh متفاوتی دارند [۶۵۶-۱۳۷، ۶۶۱]. اگر چه تعدادی بطور کامل بعضی از آنتی‌ژن‌های Rh را از دست داده‌اند [۶۶۲-۶۶۵]. یک بیمار مبتلا به متاپلازی میلوئید که سابقاً به عنوان D+ شناخته شده بود، معلوم شد که D- بوده و آنتی-D به اضافه آنتی-C ساخته است [۶۶۳]. بیشتر این بیماران مبتلا به شرایطی هستند که منشأ کلونال دارند و انواع غیر طبیعی Rh آنها به کلونهای مربوط به سلول‌های مونوزومیک نسبت داده می‌شود. قدرت بیان آنتی‌ژن و نسبت دوجمعیت سلولی در طی یک دوره زمانی تغییر می‌یابند [۶۵۶، ۶۶۱ و ۶۶۴]. یک بیمار مبتلا به میلو فیروز که دارای مخلوطی از گلبول‌های DCE/dce و dce/dce (پدر dce/dce، مادر DCE/DCE) بود، یک کاریوتیپ غیر طبیعی داشت که شامل ترکیبی سیتوزنتیک متشکل از یک جمعیت غیر طبیعی بود، این جمعیت حاوی یک جابجایی متعادل با درگیری کروموزمهای ۷ و ۴ بود [۶۶۲]. در هر حال در اکثر موارد هیچگونه ناهنجاری در کروموزم ۱، که حامل ژن‌های Rh می‌باشد، مشاهده نشد.

یک زن D+ در طی یک دوره سه ساله D- شد. وی در طول این دوره با استفاده از اشعه به منظور معالجه سرطان سینه تحت درمان قرار گرفت و لوسمی میلوئیدی مزمن در او تشخیص داده شد [۶۶۵]. تجزیه و تحلیل رونوشت (mRNA) در رتیکولوسیت، RHD را با یک حذف G600 در اگزون ۴، که

ایجاد یک انتقال چارچوب قرائت و کدون توقف زودرس نموده بود، به همراه آلل‌های Ce و ce از $RHCE$ آشکار نمود. جهش RHD که در نوتروفیل‌ها و اریتروپلاست‌های کشت داده شده، اما نه در سلول‌های لنفوسیت، وجود داشت، احتمالاً ناشی از یک جهش سوماتیک در یک سلول بنیادی میلوئیدی بود.

۵-۱۹-۲ افراد سالم

موارد بسیاری هر چند نادر از افراد به ظاهر سالم وجود دارد که به نظرمی‌رسد خونشان حاوی دو جمعیت سلولی باشد، آنچنانکه با آزمایشات انجام شده با آنتی‌سرم‌های Rh نیز تأیید شده است، اما هیچ نشانی از حالت موزائیسیم در آزمایشات مربوط به دیگر مارکرهای ژنتیکی ندارد [۳۰، ۶۶۰، ۶۶۶-۶۶۸]. موزائیسیم Rh یک وضعیت گذرا نیست. بعنوان یک توضیح احتمالی، در خانواده‌های چهار فرد مورد مطالعه، کمیریسیم حذف شده بود [۳۰]. غربالگری خون ۵۵۲ نفر بالای ۶۰ سال با استفاده از آنتی $C+D$ یک موزائیک Rh را آشکار ساخت [۶۶۸]. این فنوتیپ‌های غیرمعمول احتمالاً ناشی از جهش سوماتیک یا تکثیر کلونهای مونوزومیک برای Rh بودند. کاریوتیپ‌های دو فرد مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند که به نظر طبیعی می‌آمدند [۳۰ و ۶۶۰].

همچنین دو فرد دارای موزائیسیم Rh، برای دیگر مارکر کروموزوم ۱، گروه خونی Duffy، نیز موزائیک بودند [۶۶۹ و ۶۷۰]. جنکینز و مارش^۱ [۶۶۹] به جمعیت‌های گلبول قرمز متشکل از ۳۰٪ $DCE/dce\ Fy(a+)$ و ۷۰٪ $dce/dce\ Fy(a-)$ در یک مرد اهدا کننده خون دست یافتند. نتایج آزمایشات به عمل آمده روی خانواده وی حاکی از این بود که وی نمی‌توانست dce/dce باشد: پدر او $DCE/Dce\ Fy(a+b-)$ ، مادر $DCE/dce\ Fy(a-b+)$ و خواهرش نیز $DCE/dce\ Fy(a+b+)$ بودند. بررسی جامع سرولوژیک بدین نتیجه منتهی شد که پدر دارای یک دز هموزیگوت از آنتی‌ژن‌های e و C بوده است. هشت سال بعد فنوتیپ همان موزائیسیم را نشان داد و کاریوتیپ اهدا کننده نیز طبیعی بود [۶۷۱]. در یک مورد دیگر، ۳۰٪ گلبول‌های قرمز $D+C+Fy(b+)$ و ۷۰٪ $D-C-Fy(b-)$ بودند، اما هیچ نشان دیگری از موزائیسیم در بسیاری از مارکرهای مطالعه شده، از جمله گروه‌های گلوبولهای قرمز، HLA، پروتئین‌های پلاسما و ایزوزیم‌ها، به چشم نمی‌خورد [۶۷۰]. کاریوتیپ که روی کشت‌های لنفوسیتی و فیبروبلاستی تعیین گردید طبیعی بود. حذف ساده بخشی از کروموزوم ۱ نمی‌توانست توضیحی برای این دو مورد باشد زیرا RH و FY در یک فاصله قابل سنجش از همدیگر قرار نگرفته‌اند و از دست رفتن هر دو لوکوس، دگرگونی محسوسی را در کروموزوم ایجاد خواهد کرد (به فصل ۳۲ مراجعه گردد).

۵-۲۰ تکامل و توزیع آنتی‌ژن‌های Rh

۵-۲۰-۱ گلبول‌های قرمز جنینی

آنتی‌ژن‌های Rh به راحتی بر سطح گلبول‌های قرمز بند ناف شناسایی می‌شوند، جای تعجب نیست اگر نقشی را که در بروز بیماری همولیتیک نوزاد ایفا می‌کنند مد نظر داشته باشیم. آنتی‌ژن‌های e, E, c, C, D بر سطح گلبول‌های قرمز جنینی در هفته هشتم بارداری شناسایی شده‌اند [۶۷۲] و هیچ گونه نوسانی در چگالی آنتی‌ژن D بین هفته‌های دهم و چهارم مشاهده نشده‌است [۶۷۳]. هیچ نوع آنتی‌ژن D یا رونوشتی از RHD mRNA در تروفوبلاست‌ها بین هفته‌های هشتم و چهارم بارداری شناسایی نشده‌است [۶۷۴].

۵-۲۰-۲ پیشسازهای اریتروئیدی

RhAG روی واحدهای سازنده بلاست اریتروئیدی^۱ (BFU-E) در یک مرحله ابتدایی از اریتروپوئز ظاهر می‌گردد. در طول دوره کشت اریتروئیدی از سلول‌های جدا شده CD34+ در آزمایشگاه، RhAG بعد از گلیکوفورین C و گلیکوپروتئین Kell، اما قبل از گلیکوفورین A و باند ۳ ظاهر می‌گردد. آنتی‌ژن‌های Rh خیلی دیرتر، بعد از گلیکوفورین A و باند ۳ ظهور می‌یابند [۱۰۴-۱۰۶]. محصولات RHD و RHCE به طور همزمان بروز می‌یابند، اگر چه تعدادی از اپیتپ‌های D دیرتر از بقیه ظاهر می‌شوند [۱۰۶ و ۶۷۵]، که این موضوع می‌تواند تغییرات شکل فضایی اعمال شده به کمپلکس پروتئین Rh را که ممکن است در طول فرایند اریتروپوئیتیک اتفاق افتد، منعکس می‌سازد. پرونرموبلاست‌های مربوط به مغز استخوان افراد D+، حدود ۲۵٪ مقدار آنتی‌ژن D سطح گلبول‌های قرمز D+ بالغ را دارا می‌باشند، این مقدار در طول بلوغ گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد [۶۷۶].

۲-۲۰-۳ سلول‌ها و بافت‌های دیگر

بنظر می‌رسد که آنتی‌ژن‌های Rh، اختصاصی اریتروئید باشند. هیچکدام از آنتی‌ژن‌های E, c, C, D یا e قابل شناسایی بر سطح گرانولوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها یا پلاکت‌ها با رادیوایمونواسی یا فلوسیتومتری فلونورسان نمی‌باشند [۶۷۷ و ۶۷۸]. هیچ گواهی دال بر وجود آنتی‌ژن‌های Rh بر سطح سلول‌های دیگر بافت‌ها موجود نمی‌باشد.

RhAG نیز ممکن است ویژه اریتروپوئید باشد، اما همولوگ‌هایی از RhAG (RhGK)، RhBG و RhCG در کلیه، کبد، پوست و بیضه وجود دارند [۱۰۸، ۹۷ و ۱۰۹].

1 - Erythroid Blast-Forming Unit

۵-۲۱ جنبه‌های عملکردی کمپلکس غشایی Rh

اعمال پروتئین‌های Rh یا کمپلکس غشایی Rh، ناشناخته است. توپولوژی پیش بینی شده پروتئین‌های Rh در غشاء گلبول - پلی توپیک، با پایانه‌های کربوکسیل و آمینی سیتوپلاسمیک - مشخصه انتقال دهنده‌های غشاء است. RhAG شباهت بیشتری با انتقال دهنده‌های غشاء گلبول قرمز نشان می‌دهد زیرا دارای یک N-گلیکان منفرد بر سطح یکی از حلقه‌های خارج سلولی خود می‌باشد. در حال حاضر شواهدی وجود دارند مبنی بر اینکه RhAG، و دیگر اعضای خانواده پروتئین Rh، قادرند به عنوان انتقال دهنده‌های آمونیوم عمل کنند.

آمونیم ممکن است دوست یا دشمن باشد. این ماده توسط پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌های پست‌تر بعنوان منبعی از نیتروژن مصرف می‌شود، حال آنکه در پستانداران سمی بوده و بایستی متابولیزه و دفع گردد. خانواده‌ای از انتقال دهنده‌های آمونیوم، پروتئین‌های Mep/Amt در ارگانیسم‌های پست شامل باکتری‌ها، مخمرها و گیاهان به وفور وجود دارد [۶۷۹ و ۶۸۰]. این پروتئین‌ها پلی توپیک بوده و عموماً یازده حوضه طی کننده غشاء و یک انتهای آمینی خارج سلول دارند [۶۸۱]. RhAG بین ۲۰٪ تا ۲۷٪ شباهت در توالی را با پروتئین‌های خانواده Mep/Amt نشان می‌دهد [۶۸۲].

سلول‌های مخمر (ساکارومایسس سرویسیه^۱) دارای سه انتقال دهنده آمونیوم غشایی هستند: Mep1، Mep2 و Mep3. سلول‌های مخمری که فاقد هر سه پروتئین Mep می‌باشند^۲ (mep Δ سه گانه) قادر به رشد در حضور سطوح پایین (پنج میلی مول) آمونیوم نیستند، گرچه هر کدام از پروتئین‌های Mep قادر به باز گرداندن رشد می‌باشند. مارینی و همکاران^۳ [۱۰۹] ثابت نمودند که نقص رشد در سلول‌های مخمر mep Δ سه گانه را می‌توان با انتقال cDNA RHAG یا cDNA کد کننده یک همولوگ کلیوی RhGK (که RhCG نیز نامیده می‌شود) بدرون سلول‌ها اصلاح نمود. این سلول‌های تغییر یافته در حضور یک میلی مول آمونیوم رشد کردند. بعلاوه آلوده سازی سلول‌های مخمر به cDNA مربوط به RHAG یا RHGK، در برابر یک غلظت سمی از متیل آمونیوم ایجاد مقاومت نمود، حاکی از اینکه پروتئین‌های انسانی در انتقال آنالوگ آمونیوم دخالت دارند.

هیچ گونه شواهدی دال بر اینکه نقش کمپلکس Rh تسهیل انتقال آمونیوم بداخل یا خارج گلبول‌های قرمز است وجود ندارد. غلظت آمونیوم در داخل گلبول‌های قرمز سه برابر غلظت آن در پلاسماست. تصور اینکه RhAG احتباس آمونیوم در گلبول‌های قرمز را به منظور انتقال به کبد یا کلیه و متعاقباً حذف آن از بدن بر می‌انگیزد، به طوری که با این عمل مغز را در برابر مسمومیت آمونیوم محافظت می‌نماید، اغواه کننده است [۱۰۹، ۶۸۳]. همولوگ‌های Rh در بافت کلیه احتمال می‌رود که نقشی را در

1 - *saccharomyces cerevisiae*

2 - *triple-mep Δ*

3 - *Marini et al.*

ترشح آمونیوم توسط توپول پروکسیمال کلیوی بازی نمایند [۹۷، ۱۰۸ و ۱۰۹]. Mep2 بالاترین سطح شباهت را با RhAG در بین سه Mep مخمر دارد [۵۱۲]. Mep2 علاوه بر اینکه یک انتقال دهنده آمونیوم است، بعنوان یک حس کننده نیز برای آن عمل می کند [۶۸۳]، چنین خصیصه ایی این ذهنیت را بوجود می آورد که پروتئین های خانواده Rh ممکن است بعنوان حسگرهای آمونیوم انسانی عمل می کنند. گلبول های قرمز دارای فنوتیپ های نقصان Rh معمولاً از لحاظ مرفولوژی و عملکرد غیر طبیعی هستند (بخش ۵-۱۶-۶)، و تعدادی ناهنجاری در ارتباط با نقصان Rh بوده اند. از جمله سازماندهی غیر طبیعی فسفولیپیدهای غشاء [۵۳۸]. دو لایه چربی سلول های طبیعی نامتقارن است: فسفاتیدیل کولین و اسفنگومیلین غالباً در لایه بیرونی یافت می شوند، در حالی که تقریباً تمامی مولکولهای فسفاتیدیل اتانولامین و فسفا تیدیل سرین در لایه درونی غشاء وجود دارد. این عدم تقارن تا حدودی توسط یک جابجا کننده آمینو فسفولیپید، که یک پلی پپتید درونی (اینترال) غشائی غیر گلیکوزیله، حاوی سیستمین و با وزن مولکولی ظاهری ۳۲۰۰۰ می باشد، حفظ می گردد (بازنگری شده در منابع [۶۸۴ و ۶۸۵]). اگر چه نظریاتی وجود داشته اند مبنی بر اینکه پلی پپتیدهای Rh در حرکت فسفاتیل سرین بین دولایه نقش دارند [۶۸۴]، گلبول های قرمز Rh_{null} دارای فعالیت طبیعی جابجا کنندگی آمینو فسفولیپید می باشند و در حال حاضر مشخص شده که جابجا کننده آمینو فسفولیپید و پلی پپتیدهای Rh مولکولهای متفاوتی هستند [۶۸۶ و ۶۸۷].

۵-۲۲ جنبه های تکامل تدریجی

به نظر می رسد که نیاکان ژن های خانواده Rh، همولوگ های ابتدایی و غیر اریتروئیدی RHAG باشند که در کپک لجنی^۱ و در سرتاسر سلسله خانواده این جانور موجود می باشند [۹۷ و ۶۲]. درجه شباهت بین RHAG و ژن های همسان انسانی و بعضی از ژن های غیر انسانی در جدول ۵-۱۵ ارائه شده است. RHAG سطح شباهت بالاتری از ژن های Rh، RHCE و RHD، با همسان (هومولوگ) کپک لجنی خود دارد. مضاعف شدن های ژنی و بدنال آن جابجایی های کروموزومی تولید دست کم پنج ژن انسانی، چهار ژن موشی و دو ژن نماتدی (سینورهابدیتیس الگانس)^۲ از مجموع ژن های خانواده Rh نموده اند. ژن های خاصی از خانواده Rh در اسفنج آبی، ژنودیا سیدونیوم^۳، و کپک لجنی دیکتیوستلیوم دیسکویڈئوم^۴، شناسایی شده اند [۶۲]. ژن های خانواده Rh همچنین همسان ژن هایی هستند که انتقال دهنده های آمونیوم خانواده Mep/Amt را در گیاهان و حیوانات پست رمزدهی می کنند (به بخش ۵-۲۱ مراجعه شود)، اما بین آنها میزان و درجه شباهت بسیار پایین تر است [۶۸۲].

1 - slime mould

2 - Caenorhabditis elegans

3 - Geodia cydonium

4 - Dictyostelium discoideum

ژن‌های اجدادی RH (RHD و $RHCE$ یا $RH30$) تقریباً به طور قطعی به واسطه مضاعف شدن یک ژن اجدادی شبیه $RHAG$ (یا $RH50$) بوجود آمده اند. بررسی تعداد جایگزینی‌های مترادف و غیر مترادف در ژن‌های RH و $RHAG$ در انسان، macaque، موش خانگی و rat حاکی از آن بود که انتخاب داروینی^۱ بر هر دو ژن اعمال شده است، اما $RHAG$ بیشتر از ژن‌های RH ، حفاظت شده است و ۲-۳ برابر آهسته‌تر سیر تکامل تدریجی خود را طی نموده است [۶۸۸و۶۸۹]. این امر نشان می‌دهد که $RHAG$ اهمیت عملکردی بیشتری از RH دارد. برآورد شده است که مضاعف شدن یک ژن شبیه $RHAG$ به منظور تشکیل یک ژن اجدادی RH ، بین ۲۴۰ و ۳۴۶ میلیون سال پیش اتفاق افتاده است، یعنی دوره زمانی تقریباً برابر با واگرایی پستانداران و پرندگان [۶۸۸و۶۸۹]. در هر حال یک مطالعه جدیدتر حاکی از این است که مضاعف شدن زودتر از این موعد یعنی ۵۱۰ میلیون سال پیش، قبل از جدا شدن شاخه ماهی‌های بدون آرواره از مهره داران آرواره دار، اتفاق افتاده است [۶۹۰]. همولوگ‌های ژن RH در تمامی پستانداران مطالعه شده شناسایی شده‌اند و با وضوح کمتر آنالیزساترن با استفاده از یک محصول PCR اختصاصی ژن RH ، یک قطعه مربوط به RH را در DNA جوجه‌ها آشکار نمود [۶۹۱]. پلی پپتیدهایی غیر گلیکوزیله با وزن مولکولی ۳۲۰۰۰ که با استفاده از نقشه برداری پپتیدی دوبعدی مشخص شده ۶۰-۳۰٪ شباهت با پلی پپتیدهای Rh انسانی دارند، به کمک تکنیک‌های غیر ایمونولوژیک از وزیکول‌های غشایی تهیه شده از گلبول‌های قرمز میمون رزوس، گاو، گربه و rat تخلیص گردیده‌اند [۶۹۲].

جدول ۵-۱۵. در صد شباهت بین RHAG انسانی و دیگر ژن‌های خانواده Rh انسان و هومولوگ‌های RHAG در دیگر گونه‌ها [۹۷].

Species	Gene	Percentage identity to RHAG
<i>Homo sapiens</i> (human)	<i>RHAG</i>	100.0
	<i>RHCG (RHGK)</i>	50.9
	<i>RHBG</i>	49.9
	<i>RHCE</i>	33.0
	<i>RHD</i>	32.8
<i>Mus musculus</i> (mouse)	<i>Rhag</i>	76.5
<i>Danio rerio</i> (zebrafish)	<i>Rhg</i>	43.0
<i>Drosophila melanogaster</i> (fruit fly)	<i>Rhp</i>	41.4
<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematode)	<i>Rhp-1</i>	35.9
	<i>Rhp-2</i>	43.0
<i>Geodia cydonium</i> (marine sponge)	<i>Rhg</i>	41.8
<i>Dictyostelium discoideum</i> (slime mould)	<i>RhgA</i>	34.5

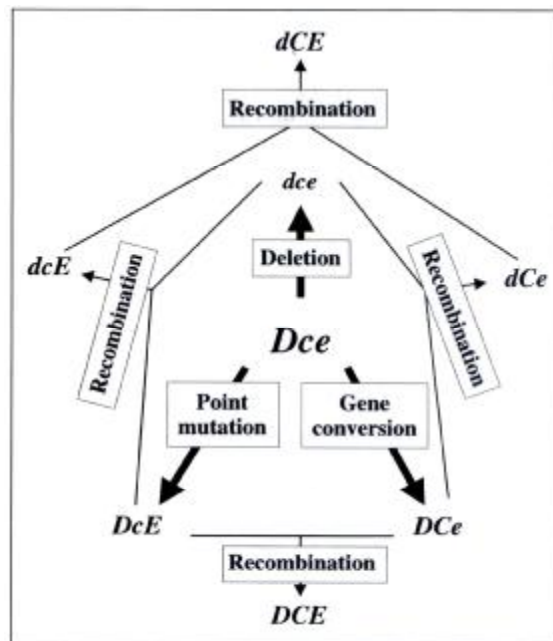
رونوشت‌های mRNA وابسته به Rh از مغز استخوان شیمپانزه، گوریل، گیبون، macaque خرچنگ خوار (*Macaca fascicularis*) و میمون رزوس (*M. mulatta*)، به کمک PCR ترانسکریپتاز معکوس از پرایمرهای ساخته شده از توالی ژن‌های Rh انسانی جدا سازی گردیدند [۳۱۰ و ۶۹۳]. توالی‌های cDNA درجه بالایی از شباهت را با توالی انسانی نشان دادند و پروتئین‌هایی متشکل از ۴۱۷ اسید آمینه را پیش بینی نمودند. شیمپانزه‌ها و گوریل‌ها، همچون غالب انسانها، حداقل دارای دو ژن *RH* هستند. دیگر پرمات‌ها از جمله اورانگوتان‌ها و گیبون‌ها، میمون‌های دنیای کهن و دنیای جدید، و Prosimian‌ها، دارای فقط یک ژن *RH* به ازای ژنوم هاپلوئید می‌باشند [۶۹۴]. درنتیجه، مضاعف شدن ژن اجدادی *RH* که منجر به تکامل تدریجی *RHCE* و *RHD* در انسان گردید، به احتمال زیاد در دنیای مشترک بین انسان‌ها، شیمپانزه‌ها و گوریل‌ها، بین هشت و یازده میلیون سال پیش، اتفاق افتاده است [۶۹۵ و ۶۹۶].

درک مکانیسم مداخل در واقعه مضاعف شدن، به واسطه این مشاهده که $RHCE$ و RHD بر روی یک کروموزوم جهت گیری متضاد دارند، پیچیده می‌گردد (شکل ۵-۴) [۸۰].

آنتی‌ژن‌های شبیه به آنتی‌ژن‌های Rh بر سطح گلبول‌های قرمز برخی از پرمیات‌های غیر انسانی یافت شده‌اند. آنتی-C با گلبول‌های قرمز شمپانزه‌ها، گوریل‌ها و گیبونها واکنش می‌دهد. در صورتی که آنتی-D، پلی مرفیسم‌های روی گلبول‌های قرمز شمپانزه‌ها (R^c از سیستم R-C-E-F)، گوریل‌ها (D^{gr}) و اورانگوتانها (Rh_o^{or}) را شناسایی می‌نماید. هیچ نوع گزارشی از وجود C، E یا e بر سطح گلبول‌های قرمز پرمیات‌های غیر انسانی وجود ندارد (بازنگری شده در منابع [۶۹۴ و ۶۹۶]).

پیش بینی می‌شود که یکسری وقایع، هاپلوتیپ‌های Rh حاضر را بوجود آورده‌اند، [۷۵ و ۶۹۵]. مضاعف شدن یک ژن اجدادی RH ، به دنبال آن واگرایی ناشی از جهش‌ها و وقایع نوترکیبی پیچیده، ژن‌هایی را تولید نمود که شبیه به RHD و آلل ce مربوط به $RHCE$ بودند. بنابراین Dce ریشه سیستم Rh انسان است (شکل ۵-۱۱). سپس حذف یا غیرفعال شدن RHD ، dce را بوجود آورد، نوترکیبی غیر دوجانبه توالی‌های RHD در منطقه اگزون ۲ با آلل ce مربوط به $RHCE$ ، احتمالاً تولید DCE نموده است، و یک جهش نقطه‌ای در آلل ce نیز DCE را بوجود آورده است. در راستای نظریه فیشر و ریس [۶۹۷] از سال ۱۹۴۶، کاریت و همکاران^۱ [۶۹۵] اظهار نمودند که dCe برخاسته از نوترکیبی بین DCE و dce ، dce از نوترکیبی بین DCE و dce ، و DCE از نوترکیبی بین DCE و DCE می‌باشند. هاپلوتیپ بسیاری نادر dCE به احتمال زیاد حاصل نوترکیبی بین هاپلوتیپ‌های غیر شایع dce و dCE بوده است.

1 - Carritt et al.



شکل ۵-۱۱. طرح فوق اشتقاق پیشنهاد شده هشت هاپلوتیپ Rh را از هاپلوتیپ اجدادی، *Dce*، نمایش می‌دهد (بعد از [۶۹۵]). هاپلوتیپ *dce* ناشی از حذف *DcE RHD* ناشی از یک جهش نقطه‌ای درون *RHCE* و *DCE* ناشی از یک رویداد تبدیل ژنی بین *RHD* و *RHCE* می‌باشند. سپس هاپلوتیپ‌های با شیوع کمتر *dCe*، *DcE*، *dCE* در وقایع نو ترکیبی در برگرنده *dce*، *DcE* و *DCE* ظهور یافتند. هاپلوتیپ بسیار نادر *dCE* ناشی از نو ترکیبی بین *dce* و *dCe* بود.

گروه‌های خونی Rh بشدت پلی مرفیک هستند، بویژه بین آفریقایی‌ها که سه زمینه ژنتیکی نسبتاً شایع برای D- در آنجا وجود دارد (بخش ۵-۶-۱-۲). اگر بنا بود کمپلکس Rh بعنوان یک انتقال دهنده آمونیوم عمل کند، تغییرات جزئی اعمال شده به کمپلکس Rh بواسطه جهش‌هایی در ژن‌های Rh، می‌توانست غلظت آمونیوم درون سلول‌ها را تغییر دهد که به نوبه خود ممکن بود شرایط مساعد آنها بعنوان میزبان‌هایی برای انگل‌های مالاریایی را تحت تأثیر قرار دهد. بدین طریق یک تعادل ظریف تکاملی بین انگل و میزبان آن می‌توانست مسئول سطح بالای پلی مرفیسم Rh باشد.

References

- Levine P, Stetson RE. An unusual case of intra-group agglutination. *J Am Med Assoc* 1939;113:126-7.
- Landsteiner K, Wiener AS. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. *Proc Soc Exp Biol NY* 1940;43:223.
- Landsteiner K, Wiener AS. Studies on an agglutinin (Rh) in human blood reacting with anti-rhesus sera and with human isoantibodies. *J Exp Med* 1941;74:309-20.
- Wiener AS, Peters HR. Hemolytic reactions following transfusions of blood of the homologous group, with three cases in which the same agglutinin was responsible. *Ann Int Med* 1940;13:2306-22.
- Levine P, Burnham L, Katzin EM, Vogel P. The role of iso-immunization in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis. *Am J Obst Gynecol* 1941;42:925-37.
- Fisk RT, Foord AG. Observations on the Rh agglutinin of human blood. *Am J Clin Pathol* 1942;12:545.
- Levine P, Celano MJ, Wallace J, Sanger R. A human 'D-like' antibody. *Nature* 1963;198:596-7.
- Race RR, Taylor GL, Cappell DE, McFarlane MN. Recognition of a further common Rh genotype in man. *Nature* 1944;153:52-3.
- Wiener AS. Genetic theory of the Rh blood types. *Proc Soc Exp Biol Med* 1943;54:316-19.
- Levine P, Katzin EM, Burnham L. Isoimmunization in pregnancy: its possible bearing on the etiology of erythroblastosis foetalis. *J Am Med Assoc* 1941;116:825-7.
- Levine P, Vogel P, Katzin EM, Burnham L. Pathogenesis of erythroblastosis fetalis: statistical evidence. *Science* 1941;94:371-2.
- Race RR. An 'incomplete' antibody in human serum. *Nature* 1944;153:771-2.
- Race RR, Mourant AE, Lawler SD, Sanger R. The Rh chromosome frequencies in England. *Blood* 1948;3:689-95.
- Mourant AE, Kopec AC, Domaniewska-Sobczak K. *The Distribution of the Human Blood Groups and Other Polymorphisms*, 2nd edn. London: Oxford University Press, 1976.
- Mackay JF, Wang JC, Wong KS. The incidence of blood groups in 4648 southern Chinese from Toishan district and its vicinity. *J Hong Kong Med Tech Assoc* 1969;1:11-14.
- Mourant AE. A new Rhesus antibody. *Nature* 1945;155:542.
- Van den Bosch C. The very rare Rh genotype Ryr (Cde/cde) in a case of erythroblastosis foetalis. *Nature* 1948;162:781.
- Wiener AS, Wexler IB. *An Rh-Hr Syllabus*, 2nd edn. New York: Grune & Stratton, 1963.
- Rosenfield RE, Allen FH, Swisher SN, Kochwa S. A review of Rh serology and presentation of a new terminology. *Transfusion* 1962;2:287-312.
- Tippett P. A speculative model for the Rh blood groups. *Ann Hum Genet* 1986;50:241-7.
- Tills D, Kopec AC, Tills RE. *The Distribution of the Human Blood Groups and Other Polymorphisms* (Suppl. 1). Oxford: Oxford University Press, 1983.
- Fisher RA. The fitting of gene frequencies to data on Rhesus reactions. *Ann Eugen* 1946;13:150-5.
- Fisher RA. Note on the calculation of the frequencies of Rhesus allelomorphs. *Ann Eugen* 1947;13:223-4.
- Lewis M, Kaita H, Chown B. The inheritance of the Rh blood groups. I. Frequencies in 1000 unrelated Caucasian families consisting of 2000 parents and 2806 children. *Vox Sang* 1971;20:500-8.
- Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 4th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1962.
- Sanger R, Race RR, Walsh RJ, Montgomery C. An antibody which subdivides the human MN blood groups. *Heredity* 1948;2:131-9.
- Lawler SD, Bertinshaw D, Sanger R, Race RR. Inheritance of the Rh blood groups: 150 families tested with anti-C-c-C'-D-E and anti-e. *Ann Eugen* 1950;15:258-70.
- Mohr J. Genetics of fourteen marker systems: associations and linkage relations. *Acta Genet* 1966;16:1-58.
- Chown B, Lewis M, Kaita H. The inheritance of the Rh blood groups. II. Expression of the Rh antigens in random unrelated Caucasian families. *Vox Sang* 1971;21:126-34.
- Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 6th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975.
- Green FA. Studies of the Rh(D) antigen. *Vox Sang* 1965;10:32-53.
- Green FA. Erythrocyte membrane sulphhydryl groups and Rh antigen activity. *Immunochimistry* 1967;4:247-57.
- Green FA. Phospholipid requirement for Rh antigenic activity. *J Biol Chem* 1968;243:5519-24.
- Green FA. Erythrocyte membrane lipids and Rh antigen activity. *J Biol Chem* 1972;247:881-7.
- Lorusso DJ, Green FA. Reconstitution of Rh(D) antigen activity from human erythrocyte membranes solubilized by deoxycholate. *Science* 1975;188:66-7.
- Lorusso DJ, Binette JP, Green FA. The Rh antigen system and disaggregated human erythrocyte membranes. *Immunochimistry* 1977;14:503-8.
- Moore S, Woodrow CF, McClelland DBL. Isolation of membrane components associated with human red cell antigens Rh(D), (c), (E) and Fy^a. *Nature* 1982;295:529-31.
- Gahmberg CG. Molecular identification of the human Rh_D (D) antigen. *FEBS Lett* 1982;140:93-7.
- Ridgwell K, Roberts J, Tanner MJA, Anstee DJ. Absence of two membrane proteins containing extracellular thiol groups in Rh_{null} human erythrocytes. *Biochem J* 1983;213:267-9.
- Bloy C, Blanchard D, Lambin P et al. Human mono-

- clonal antibody against Rh(D) antigen: partial characterization of the Rh(D) polypeptide from human erythrocytes. *Blood* 1987;69:1491-7.
- 41 Moore S, Green C. The identification of specific Rhesus-polypeptide-blood-group-ABH-active-glycoprotein complexes in the human red-cell membrane. *Biochem J* 1987;244:735-41.
- 42 Gahmberg CG. Molecular characterization of the human red cell Rh₀(D) antigen. *EMBO J* 1983;2:223-7.
- 43 de Vetten MP, Agre P. The Rh polypeptide is a major fatty acid-acylated erythrocyte membrane protein. *J Biol Chem* 1988;263:18193-6.
- 44 Hartel-Schenk S, Agre P. Mammalian red cell membrane Rh polypeptides are selectively palmitoylated subunits of a macromolecular complex. *J Biol Chem* 1992;267:5569-74.
- 45 Bloy C, Blanchard D, Lambin P *et al.* Characterization of the D, c, E and G antigens of the Rh blood group system with human monoclonal antibodies. *Mol Immunol* 1988;25:925-30.
- 46 Krahmer M, Prohaska R. Characterization of human red cell Rh (Rhesus)-specific polypeptides by limited proteolysis. *FEBS Lett* 1987;226:105-8.
- 47 Saboori AM, Smith BL, Agre P. Polymorphism in the M₁ 32 000 Rh protein purified from Rh(D)-positive and -negative erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:4042-5.
- 48 Bloy C, Blanchard D, Dahr W *et al.* Determination of the N-terminal sequence of human red cell Rh(D) polypeptide and demonstration the Rh(D), (c), and (E) antigens are carried by distinct polypeptide chains. *Blood* 1988;72:661-6.
- 49 Blanchard D, Bloy C, Hermand P *et al.* Two-dimensional iodopeptide mapping demonstrates that erythrocyte Rh D, c, and E polypeptides are structurally homologous but nonidentical. *Blood* 1988;72:1424-7.
- 50 Agre P, Saboori AM, Asimos A, Smith BL. Purification and partial characterization of the M₁ 30 000 integral membrane protein associated with the erythrocyte Rh(D) antigen. *J Biol Chem* 1987;262:17497-503.
- 51 Avent ND, Ridgwell K, Mawby WJ *et al.* Protein-sequence studies on Rh-related polypeptides suggest the presence of at least two groups of proteins which associate in the human red-cell membrane. *Biochem J* 1988;256:1043-6.
- 52 Avent ND, Ridgwell K, Tanner MJA, Anstee DJ. cDNA cloning of a 30 kDa erythrocyte membrane protein associated with Rh (Rhesus)-blood-group-antigen expression. *Biochem J* 1990;271:821-5.
- 53 Yared MA, Moise KJ, Rodkey LS. Stable solid-phase Rh antigen. *Transfus Med* 1997;7:311-17.
- 54 Chérif-Zahar B, Bloy C, Le Van Kim C *et al.* Molecular cloning and protein structure of a human blood group Rh polypeptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:6243-7.
- 55 Hermand P, Mouro I, Huet M *et al.* Immunochemical characterization of Rhesus proteins with antibodies raised against synthetic peptides. *Blood* 1993;82:669-76.
- 56 Mouro I, Colin Y, Chérif-Zahar B, Cartron J-P, Le Van Kim C. Molecular genetic basis of the human Rhesus blood group system. *Nature Genet* 1993;5:62-5.
- 57 Le Van Kim C, Mouro I, Chérif-Zahar B *et al.* Molecular cloning and primary structure of the human blood group RhD polypeptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:10925-9.
- 58 Kajii E, Umenishi F, Iwamoto S, Ikemoto S. Isolation of a new cDNA clone encoding an Rh polypeptide associated with the Rh blood group system. *Hum Genet* 1993;91:157-62.
- 59 Arce MA, Thompson ES, Wagner S *et al.* Molecular cloning of RhD cDNA derived from a gene present in RhD-positive, but not RhD-negative individuals. *Blood* 1993;82:651-5.
- 60 Simsek S, de Jong CAM, Cuijpers HTM *et al.* Sequence analysis of cDNA derived from reticulocyte mRNAs coding for Rh polypeptides and demonstration of E/c and C/c polymorphisms. *Vox Sang* 1994;67:203-9.
- 61 Anstee DJ, Tanner MJA. Biochemical aspects of the blood group Rh (Rhesus) antigens. *Baillière's Clin Haemat* 1993;6:401-22.
- 62 Huang C-H, Liu PZ, Cheng JG. Molecular biology and genetics of the Rh blood group system. *Semin Hemat* 2000;37:150-65.
- 63 Wagner FF, Gassner C, Müller TH *et al.* Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood* 1999;93:385-93.
- 64 Avent ND, Butcher SK, Liu W *et al.* Localization of the C termini of the Rh (Rhesus) polypeptides to the cytoplasmic face of the human erythrocyte membrane. *J Biol Chem* 1992;267:15134-9.
- 65 Evers SAC, Ridgwell K, Mawby WJ, Tanner MJA. Topology and organization of human Rh (Rhesus) blood group-related polypeptides. *J Biol Chem* 1994;269:6417-23.
- 66 Avent ND. Molecular biology of the Rh blood group polymorphisms. In: M-J King, ed. *Human Blood Cells: Consequences of Genetic Polymorphisms and Variations*. London: Imperial College Press, 2000, 105-47.
- 67 Smythe JS, Anstee DJ. The role of palmitoylation in RhD expression [Abstract]. *Transfus Med* 2000;10(Suppl. 1):30.
- 68 Abbott RE, Schachter D. Impermeant malcimidates: oriented probes of erythrocyte membrane proteins. *J Biol Chem* 1976;251:7176-83.
- 69 Schmitz G, Sonneborn HH, Ernst M *et al.* The effect of cysteine modification and proteinases on the major antigens (D, C, c, E and e) of the Rh blood group system. *Vox Sang* 1996;70:34-9.
- 70 Suyama K, Lunn R, Goldstein J. Red cell surface cysteine residue (285) of D polypeptide is not essential for D antigenicity. *Transfusion* 1995;35:653-9.
- 71 Dahr W, Schmitz G, Ernst M, Gielen W, Sonneborn

- H-H. Rh antigens and cysteine modification. *Biotest Bull* 1997;5:451-7.
- 72 Smythe JS, Anstee DJ. K562 cells expressing Rh D polypeptide with a Cys 285 to Ala mutation have normal D antigen [Abstract]. *Transfus Med* 1997;7(Suppl. 1):29.
 - 73 Chérif-Zahar B, Le Van Kim C, Rouillac C *et al*. Organization of the gene (*RHCE*) encoding the human blood group RhCcEe antigens and characterization of the promoter region. *Genomics* 1994;19:68-74.
 - 74 Chérif-Zahar B, Raynal V, Cartron J-P. RH gene structure: reassignment of two exon-exon junctions. *Blood* 1997;89:4661-2.
 - 75 Okuda H, Suganuma H, Kamesaki T *et al*. The analysis of nucleotide substitutions, gaps, and recombination events between *RHD* and *RHCE* through complete sequencing. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;274: 670-83.
 - 76 Avent ND, Martin PG, Armstrong-Fisher S *et al*. Evidence of genetic diversity underlying Rh D⁺, weak D (D^u), and partial D phenotypes as determined by multiplex polymerase chain reaction analysis of the *RHD* gene. *Blood* 1997;89:2568-77.
 - 77 Okuda H, Kawano M, Iwamoto S *et al*. The *RHD* gene is highly detectable in RhD-negative Japanese donors. *J Clin Invest* 1997;100:373-9.
 - 78 Kemp TJ, Poulter M, Carritt B. Microsatellite variation within the human *RHCE* gene. *Vox Sang* 1999; 77:159-63.
 - 79 Fujiwara H, Okuda H, Omi T *et al*. The STR polymorphisms in intron 8 may provide information about the molecular evolution on RH haplotypes. *Hum Genet* 1999;104:301-6.
 - 80 Wagner FF, Flegel WA. *RHD* gene deletion occurred in the Rhesus box. *Blood* 2000;95:3662-8.
 - 81 Suto Y, Ishikawa Y, Hyodo H, Uchikawa M, Juji T. Gene organization and rearrangements at the human Rhesus blood group locus revealed by fiber-FISH analysis. *Hum Genet* 2000;106:164-71.
 - 82 Le Van Kim C, Chérif-Zahar B, Raynal V *et al*. Multiple Rh messenger RNA isoforms are produced by alternative splicing. *Blood* 1992;80:1074-8.
 - 83 Kajii E, Umenishi F, Omi T, Ikemoto S. Intricate combinatorial patterns of exon splicing generate multiple Rh-related isoforms in human erythroid cells. *Hum Genet* 1995;95:657-65.
 - 84 Okuda H, Fujiwara H, Omi T *et al*. A Japanese propositus with D^u-phenotype characterized by the deletion of both the *RHCE* gene and D1S80 locus situated in chromosome 1p and the existence of a new CE-D-CE hybrid gene. *J Hum Genet* 2000;45:142-53.
 - 85 Matassi G, Chérif-Zahar B, Mouro I, Cartron J-P. Characterization of the recombination hot spot involved in the genomic rearrangement leading to the hybrid D-CE-D gene in the D^{VI} phenotype. *Am J Hum Genet* 1997;60:808-17.
 - 86 Suyama K, Roy S, Lunn R, Goldstein J. Expression of the 32-Kd polypeptide of the Rh antigen. *Blood* 1993;82:1006-9.
 - 87 Smythe JS, Avent ND, Judson PA *et al*. Expression of *RHD* and *RHCE* gene products using retroviral transduction of K562 cells establishes the molecular basis of Rh blood group antigens. *Blood* 1996;87: 2968-73.
 - 88 Iwamoto S, Yamasaki M, Kawano M *et al*. Expression analysis of human rhesus blood group antigens by gene transduction into erythroid and non-erythroid cells. *Int J Hematol* 1998;68:257-68.
 - 89 Avent N, Judson PA, Parsons SF *et al*. Monoclonal antibodies that recognize different membrane proteins that are deficient in Rh_{null} human erythrocytes. *Biochem J* 1988;251:499-505.
 - 90 Ridgwell K, Evers SAC, Mawby WJ, Anstee DJ, Tanner MJA. Studies on the glycoprotein associated with Rh (Rhesus) blood group antigen expression in the human red blood cell membrane. *J Biol Chem* 1994; 269:6410-16.
 - 91 Folkard EJ, Ellory JC, Hughes-Jones NC. A molecular size determination of Rh(D) antigen by radiation inactivation. *Immunochimistry* 1977;14:529-31.
 - 92 Avent ND, Liu W, Warner K *et al*. Immunochemical analysis of the human erythrocyte Rh polypeptides. *J Biol Chem* 1996;271:14233-9.
 - 93 Gardner B, Anstee DJ, Mawby WJ, von Tanner MJA, dem Borne AEGK. The abundance and organization of polypeptides associated with antigens of the Rh blood group system. *Transfus Med* 1991;1:77-85.
 - 94 Ridgwell K, Spurr NK, Laguda B *et al*. Isolation of cDNA clones for a 50 kDa glycoprotein of the human erythrocyte membrane associated with Rh (Rhesus) blood-group antigen expression. *Biochem J* 1992; 287:223-8.
 - 95 Matassi G, Chérif-Zahar B, Raynal V, Rouger P, Cartron JP. Organization of the human *RH50A* gene (*RHAG*) and evolution of base composition of the RH gene family. *Genomics* 1998;47:286-93.
 - 96 Huang C-H. The human Rh50 glycoprotein gene. *J Biol Chem* 1998;273:2207-13.
 - 97 Liu Z, Chen Y, Mo R *et al*. Characterization of human RhCG and mouse Rhcg as novel nonerythroid Rh glycoprotein homologues predominantly expressed in kidney and testis. *J Biol Chem* 2000;275:25641-51.
 - 98 Iwamoto S, Omi T, Yamasaki M *et al*. Identification of 5' flanking sequence of *RH50* gene and the core region for erythroid-specific expression. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;243:233-40.
 - 99 Iwamoto S, Suganuma H, Kamesaki T, Omi T, Okuda H, Kajii E. Cloning and characterization of erythroid-specific DNase I-hypersensitive site in human Rhesus-associated glycoprotein gene. *J Biol Chem* 2000;275:27324-31.
 - 100 Suyama K, Lunn R, Smith BL, Haller S. Expression of

- the Rh-related glycoprotein (Rh50). *Acta Haematol* 1998;100:181-6.
- 101 Mouro-Chanteloup J, D'Ambrosio AM, Gane P, Raynal V. Post transcriptional regulation of recombinant RhD membrane expression by the RhAG glycoprotein in K562 cells [Abstract]. *Vox Sang* 2000;78(Suppl. 1):O016.
- 102 Suyama K, Zhu A. Surface expression of Rh-associated glycoprotein (RhAG) in nonerythroid COS-1 cells. *Blood* 2000;95:336-41.
- 103 Liu Z, Chen Y, Huang C-H. Insertion of Rh30 polypeptides in the plasma membrane does not require coexpression of Rh50 glycoprotein [Abstract]. *Blood* 1999;94(Suppl. 1):188a.
- 104 Southcott MJG, Tanner MJA, Anstee DJ. The expression of human blood group antigens during erythropoiesis in a cell culture system. *Blood* 1999;93:4425-35.
- 105 Bony V, Gane P, Bailly P, Cartron J-P. Time-course expression of polypeptides carrying blood group antigens during human erythroid differentiation. *Br J Haematol* 1999;107:263-74.
- 106 Daniels G, Green C. Expression of red cell surface antigens during erythropoiesis. *Vox Sang* 2000;78(Suppl. 2):149-53.
- 107 Suyama K, Li H, Zhu A. Expression of Rh30 and Rh-related glycoproteins during erythroid differentiation in a two-phase liquid culture system. *Transfusion* 2000;40:214-21.
- 108 Liu Z, Peng J, Mo R, Hui C, Huang C-H. Rh type B glycoprotein is a new member of the Rh superfamily and a putative ammonia transporter in mammals. *J Biol Chem* 2001;276:1424-33.
- 109 Marini A-M, Matassi G, Raynal V *et al*. The human Rhesus-associated RhAG protein and a kidney homologue promote ammonium transport in yeast. *Nature Genet* 2000;26:341-4.
- 110 Habibi B, Fouillade MT, Duedari N *et al*. The antigen Duclos: a new high frequency red cell antigen related to Rh and U. *Vox Sang* 1978;34:302-9.
- 111 von dem Borne AEGK, Bos MJE, Lomas C *et al*. Murine monoclonal antibodies against a unique determinant of erythrocytes, related to Rh and U antigens: expression on normal and malignant erythrocyte precursors and Rh_{null} red cells. *Br J Haematol* 1990;75:254-61.
- 112 Le Pennec PY, Klein MT, Le Besnerais M *et al*. Immunological characterization of 18 monoclonal antibodies directed against Rh, G and LW molecules. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1988;31:123-31.
- 113 Mallinson G, Anstee DJ, Avent ND *et al*. Murine monoclonal antibody MB-2D10 recognizes Rh-related glycoproteins in the human red cell membrane. *Transfusion* 1990;30:222-5.
- 114 Bloy C, Blanchard D, Hermand P *et al*. Properties of the blood group LW glycoprotein and preliminary comparison with Rh proteins. *Mol Immunol* 1989;26:1013-19.
- 115 Dahr W, Kordowicz M, Moulds J *et al*. Characterization of the Ss sialoglycoprotein and its antigens in Rh_{null} erythrocytes. *Blut* 1987;54:13-24.
- 116 Le Pennec PY, Rouger Ph, Klein MT, Le Besnerais M, Salmon C. An antibody supporting the evidence of an association between the Rh polypeptides and glycophorin B on the red cell membrane [Abstract]. *Joint Congr Int Soc Blood Transfus and Am Ass Blood Banks* 1990, 29.
- 117 Lindberg FP, Lublin DM, Telen MJ *et al*. Rh-related antigen CD47 is the signal-transducer integrin-associated protein. *J Biol Chem* 1994;269:1567-70.
- 118 Miller YE, Daniels GL, Jones C, Palmer DK. Identification of a cell-surface antigen produced by a gene on human chromosome 3 (cen-q22) and not expressed by Rh_{null} cells. *Am J Hum Genet* 1987;41:1061-70.
- 119 Lindberg FP, Gresham HD, Schwarz E, Brown EJ. Molecular cloning of integrin-associated protein: an immunoglobulin family member with multiple membrane-spanning domains implicated in $\alpha\beta$ -dependent ligand binding. *J Cell Biol* 1993;123:485-96.
- 120 Oldenberg P-A, Zheleznyak A, Fang Y-F *et al*. Role of CD47 as a marker of self on red blood cells. *Science* 2000;288:2051-4.
- 121 Beckman R, Smythe JS, Anstee DJ, Tanner MJA. Functional cell surface expression of band 3, the human red blood cell anion exchange protein (AE1), in K562 erythroleukemia cells: band 3 enhances the cell surface reactivity of Rh antigens. *Blood* 1998;92:4428-38.
- 122 Beckmann R, Smythe JS, Anstee DJ, Tanner MJA. Coexpression of band 3 mutants and Rh polypeptides: differential effects of band 3 on the expression of the Rh complex containing D polypeptide and the Rh complex containing CcEe polypeptide. *Blood* 2001;97:2496-505.
- 123 Cartron JP, Bailly P, Le Van Kim C *et al*. Insights into the structure and function of membrane polypeptides carrying blood group antigens. *Vox Sang* 1998;74(Suppl. 2):29-64.
- 124 Mouro-Chanteloup J, Johansen M, Brown EJ, Cartron JP, Colin Y. Normal red cell membrane expression of Rh and RhAG polypeptides in CD47-deficient mice [Abstract]. *Vox Sang* 2000;78(Suppl. 1):P030.
- 125 Gamhberg CG, Karhi KK. Association of Rh_D (D) polypeptides with the membrane skeleton in Rh_D (D)-positive human red cells. *J Immunol* 1984;133:334-7.
- 126 Ridgwell K, Tanner MJA, Anstee DJ. The Rhesus (D) polypeptide is linked to the human erythrocyte cytoskeleton. *FEBS Lett* 1984;174:7-10.
- 127 Paradis G, Bazin R, Lemieux R. Protective effect of the membrane skeleton on the immunologic reactivity of the human red cell Rh_D (D) antigen. *J Immunol* 1986;137:240-4.
- 128 Gane P, Le Van Kim C, Bony V *et al*. Flow cytometric analysis of the association between blood group-related proteins and the detergent-insoluble material of K562

- cells and erythroid precursors. *Br J Haematol* 2001; 113:680-8.
- 129 Gimm A, Mouro I, Lambin P, Mohandas N, Cartron JP. Direct evidence for *in situ* interaction between Rh complex and membrane skeleton in intact cells [Abstract]. *Vox Sang* 2000;78(Suppl. 1):O014.
 - 130 Mak KH, Yan KF, Cheng SS, Yuen MY. Rh phenotypes of Chinese blood donors in Hong Kong, with special reference to weak D antigens. *Transfusion* 1993; 33:348-51.
 - 131 Levine P, Celano M, Lange S, Stroup M. The influence of gene interaction on dosage effects with complete anti-D sera. *Vox Sang* 1959;4:33-9.
 - 132 Masoureddis SP, Chi CA, Ferguson E. Relationship between Rh_D (D) genotype and quantity of I¹¹³ anti-Rh_D (D) bound to red cells. *J Clin Invest* 1960;39:1450-62.
 - 133 Silber R, Gibbs MB, Jahn EF, Akeroyd JH. Quantitative hemagglutination studies in the Rh blood group system. II. A study of the D (Rh_D) agglutinin. *Blood* 1961; 17:291-301.
 - 134 Gibbs MB, Rosenfield RE. Immunohistochemical studies of the Rh system. IV. Hemagglutination assay of antigenic expression regulated by interaction between paired Rh genes. *Transfusion* 1966;6:462-74.
 - 135 Araszkiewicz P, Szymanski IO. Quantitative studies on the Rh-antigen D: effect of the C gene. *Transfusion* 1987;27:257-61.
 - 136 Hughes-Jones NC, Bloy C, Gorick B *et al*. Evidence that the c, D and E epitopes of the human Rh blood group system are on separate polypeptide molecules. *Mol Immunol* 1988;25:931-6.
 - 137 van Bockstaele DR, Berneman ZN, Muylle L, Cole-Dergent J, Peetermans ME. Flow cytometric analysis of erythrocytic D antigen density profile. *Vox Sang* 1986;51:40-6.
 - 138 Nicholson G, Lawrence A, Ala FA, Bird GWG. Semi-quantitative assay of D antigen site density by flow cytometric analysis. *Transfus Med* 1991;1:87-90.
 - 139 Colin Y, Chérif-Zahar B, Le Van Kim C *et al*. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. *Blood* 1991;78:2747-52.
 - 140 Hyland CA, Wolter LC, Saul A. Three unrelated Rh D gene polymorphisms identified among blood donors with Rhesus CCee (r'r') phenotypes. *Blood* 1994; 84:321-4.
 - 141 Aubin J-T, Le Van Kim C, Mouro I *et al*. Specificity and sensitivity of RHD genotyping methods by PCR-based DNA amplification. *Br J Haematol* 1997;98:356-64.
 - 142 Andrews KT, Wolter LC, Saul A, Hyland CA. The RhD trait in a white patient with the RhCCee phenotype attributed to a four-nucleotide deletion in the RHD gene. *Blood* 1998;92:1839-40.
 - 143 Singleton BK, Green CA, Avent ND *et al*. The presence of an RHD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a nonsense mutation in most Africans with the Rh D-negative blood group phenotype. *Blood* 2000;95:12-18.
 - 144 Blunt T, Daniels G, Carritt B. Serotype switching in a partially deleted RHD gene. *Vox Sang* 1994;67: 397-401.
 - 145 Faas BHW, Beckers EAM, Wildoer P *et al*. Molecular background of VS and weak C expression in blacks. *Transfusion* 1997;37:38-44.
 - 146 Daniels GL, Faas BHW, Green CA *et al*. The Rh VS and V blood group polymorphisms in Africans: a serological and molecular analysis. *Transfusion* 1998;38:951-8.
 - 147 Kajii E, Umenishi F, Ikemoto S. A cDNA clone encoding an Rh polypeptide detected in RhD-negative erythroid cells. *Vox Sang* 1993;64:196.
 - 148 Umenishi F, Kajii E, Ikemoto S. Molecular analysis of Rh polypeptides in a family with RhD-positive and RhD-negative phenotypes. *Biochem J* 1994;299: 207-11.
 - 149 Fukumori Y, Hori Y, Ohnoki S *et al*. Further analysis of D_{el} (D-clone) using polymerase chain reaction (PCR) with RHD gene-specific primers. *Transfus Med* 1997;7: 227-31.
 - 150 Lan JC, Chen Q, Wu DL *et al*. Genetic polymorphism of RhD-negative associated haplotype in the Chinese. *J Hum Genet* 2000;45:224-7.
 - 151 Sun C-F, Chou C-S, Lai N-C, Wang W-T. RHD gene polymorphisms among RhD-negative Chinese in Taiwan. *Vox Sang* 1998;75:52-7.
 - 152 Chang J-G, Shih MC, Wang J-C *et al*. Molecular basis for the RHD negative phenotype in Taiwanese [Abstracts]. *10th Regional Congr Int Soc Blood Transfus Western Pacific Region*: 1999: 254.
 - 153 Stratton F. A new Rh allelomorph. *Nature* 1946; 158:25-6.
 - 154 Stratton F, Renton PH. Rh genes allelomorphous to D. *Nature* 1948;162:293-4.
 - 155 Race RR, Sanger R, Lawler SD. The Rh antigen D^o. *Ann Eugen* 1948;14:171-84.
 - 156 Renton PH, Stratton F. Rhesus type D^o. *Ann Eugen* 1950;15:189-209.
 - 157 Bush M, Sabo B, Stroup M, Masoureddis SP. Red cell D antigen sites and titration scores in a family with weak and normal D^o phenotypes inherited from a homozygous D^o mother. *Transfusion* 1974;14:433-9.
 - 158 Cunningham NA, Zola AP, Hui HL, Taylor LM, Green FA. Binding characteristics of anti Rh_D (D) antibodies to Rh_D (D) -positive and D^o red cells. *Blood* 1985;66:765-8.
 - 159 Szymanski IO, Araszkiewicz P. Quantitative studies on the D antigen of red cells with the D^o phenotype. *Transfusion* 1989;29:103-5.
 - 160 Merry AH, Hodson C, Moore S. Variation in the level of Rh(D) antigen expression. *Transfusion* 1988;28:397-8.
 - 161 Gorick B, McDougall DCJ, Ouweland WH *et al*. Quan-

- titration of D sites on selected 'weak D' and 'partial D' red cells. *Vox Sang* 1993;65:136-40.
- 162 Agre PC, Davies DM, Issitt PD *et al*. A proposal to standardize terminology for weak D antigen. *Transfusion* 1992;32:86-7.
- 163 Contreras M, Knight RC. Controversies in transfusion medicine: testing for D^b. *Con. Transfusion* 1991;31:270-2.
- 164 Salmon C, Cartron J-P, Rouger P. *The Human Blood Groups*. New York: Masson, 1984.
- 165 Tippett P. Rh blood group system: the D antigen and high- and low-frequency Rh antigens. In: Vengelen-Tyler, S Pierce, eds. *Blood Group Systems: Rh*. Arlington: American Association of Blood Banks, 1987, 25-53.
- 166 Argall CL, Ball JM, Trentelman E. Presence of anti-D antibody in the serum of a D^u patient. *J Lab Clin Med* 1953;41:895-8.
- 167 Wagner FF, Frohman A, Ladewig B *et al*. Weak D alleles express distinct phenotypes. *Blood* 2000;95:2699-708.
- 168 Tippett P, Sanger R. Observations on subdivisions of the Rh antigen D. *Vox Sang* 1962;7:9-13.
- 169 Tippett P, Sanger R. Further observations on subdivisions of the Rh antigen D. *Ärztl Lab* 1977;23:476-80.
- 170 Tippett P, Lomas-Francis C, Wallace M. The Rh antigen D: partial D antigens and associated low incidence antigens. *Vox Sang* 1996;70:123-31.
- 171 Wiener AS, Unger LJ. Rh factors related to the Rh₀ factor as a source of clinical problems. *J Am Med Assoc* 1959;169:696-9.
- 172 Unger LJ, Wiener AS. Some observations on blood factors Rh^A, Rh^B, and Rh^C of the Rh-Hr blood group system. *Blood* 1959;14:522-34.
- 173 Wiener AS, Unger LJ. Further observations on the blood factors Rh^A, Rh^B, Rh^C and Rh^D. *Transfusion* 1962;2:230-3.
- 174 Avent ND, Jones JW, Liu W *et al*. Molecular basis of the D variant phenotypes D^{NU} and D^B allows localization of critical amino acids required for expression of Rh D epitopes ePD3, 4 and 9 to the sixth external domain of the Rh D protein. *Br J Haematol* 1997;97:366-71.
- 175 Sausais L, Oyen R, Rios M *et al*. DAK, a low incidence antigen shared by D^{IIIa} and R^{2N} RBCs [Abstract]. *Transfusion* 1999;39(Suppl.):79S.
- 176 Huang C-H, Chen Y, Reid M. Human D^{IIIa} erythrocytes: RhD protein is associated with multiple dispersed amino acid variations. *Am J Hematol* 1997;55:139-45.
- 177 Rouillac C, Le Van Kim C, Blancher A *et al*. Lack of G blood group antigen in D^{IIIb} erythrocytes is associated with segmental DNA exchange between RH genes. *Br J Haematol* 1995;89:424-6.
- 178 Gorick BD, Thompson KM, Melamed MD, Hughes-Jones NC. Three epitopes on the human Rh antigen D recognized by ¹²⁵I-labelled human monoclonal IgG antibodies. *Vox Sang* 1988;55:165-70.
- 179 Beckers EAM, Faas BHW, Ligthart P *et al*. Characterization of the hybrid RHD gene leading to the partial D category IIIc phenotype. *Transfusion* 1996;36:567-74.
- 180 Rouillac C, Colin Y, Hughes-Jones NC *et al*. Transcript analysis of D category phenotypes predicts hybrid Rh D-CE-D proteins associated with alteration of D epitopes. *Blood* 1995;85:2937-44.
- 181 Hyodo H, Ishikawa Y, Tsuneyama H *et al*. New RhD^{IVb} identified in Japanese. *Vox Sang* 2000;79:116-17.
- 182 Wagner FF, Gassner C, Eicher N, Lonicar C, Flegel WA. Characterization of D category IV type IV, DFW, and DNB [Abstract]. *Transfusion* 1998;38(Suppl.):63S.
- 183 Omi T, Takahashi J, Tsudo N *et al*. The genomic organization of the partial D category D^{VI}: the presence of a new partial D associated with the D^{VI} phenotype. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;254:786-94.
- 184 Omi T, Okuda H, Iwamoto S *et al*. Detection of Rh23 in the partial D phenotype associated with the D^{VI} category. *Transfusion* 2000;40:256-8.
- 185 Avent ND, Liu W, Jones JW *et al*. Molecular analysis of Rh transcripts and polypeptides from individuals expressing the D^{VI} variant phenotype: and RHD gene deletion event does not generate all D^{VI}ccE phenotypes. *Blood* 1997;89:1779-86.
- 186 Mouro I, Le Van Kim C, Rouillac C *et al*. Rearrangements of the blood group RhD gene associated with the D^{VI} category phenotype. *Blood* 1994;83:1129-35.
- 187 Wagner FF, Gassner C, Müller TH *et al*. Three molecular structures cause Rhesus D category VI phenotypes with distinct immunohematologic features. *Blood* 1998;91:2157-68.
- 188 Rouillac C, Le Van Kim C, Beolet M, Cartron J-P, Colin Y. Leu110Pro substitution in the RhD polypeptide is responsible for the D^{VI} category blood group phenotype. *Am J Hematol* 1995;49:87-8.
- 189 Hemker MB, Ligthart PC, Berger L *et al*. DAR, a new RhD variant involving exons 4, 5, and 7, often in linkage with ceAR, a new Rhce variant frequently found in African blacks. *Blood* 1990;74:4337-42.
- 190 Wallace M, Lomas-Francis C, Beckers E *et al*. DBT: a partial D phenotype associated with the low-incidence antigen Rh32. *Transfus Med* 1997;7:233-8.
- 191 Beckers EAM, Faas BHW, Simsek S *et al*. The genetic basis of a new partial D antigen: D^{DBT}. *Br J Haematol* 1996;93:720-7.
- 192 Huang CH, Chen Y, Reid ME, Okubo Y. Evidence for a separate genetic origin of the partial D phenotype DBT in a Japanese family. *Transfusion* 1999;39:1259-65.
- 193 Pisacka M, Vytisková J, Hejné J, Gassner Ch. A new variant of Rh(D) antigen: revealed by reactions of anti-e12 monoclonal antibodies and lacking exon 5 D-specific reaction of exon-scanning RHD/CE PCR-SSP. *Vox Sang* 1998;74(Suppl. 1):Abstract 1332.
- 194 Avent ND. The Rhesus blood group system: insights

- from recent advances in molecular biology. *Transfus Med Rev* 1999;13:245-66.
- 195 Bizot M, Lomas C, Rubio F, Tippet P. An antiserum identifying a red cell determinant expressed by Rh:33 and by some 'new' depressed Rh phenotypes. *Transfusion* 1988;28:342-5.
 - 196 Giles CM, Crossland JD, Haggas WK, Longster G. An Rh gene complex which results in a 'new' antigen detectable by a specific antibody, anti-Rh33. *Vox Sang* 1971;21:289-301.
 - 197 Wallace M, Lomas-Francis C, Tippet P. The D antigen characteristic of R_0^{Hw} is a partial D antigen. *Vox Sang* 1996;70:169-72.
 - 198 Beckers EAM, Porcelijn L, Ligthart P *et al*. The R_0^{Hw} antigen complex is associated with a limited number of D epitopes and alloanti-D production: a study of three unrelated persons and their families. *Transfusion* 1996;36:104-8.
 - 199 Beckers EAM, Faas BHW, von dem Borne AEGK *et al*. The R_0^{Hw} Rh:33 phenotype results from substitution of exon 5 of the RHCE gene by the corresponding exon of the RHD gene. *Br J Haematol* 1996;92:751-7.
 - 200 Hyodo H, Ishikawa Y, Kashiwase K *et al*. Polymorphisms of RhD^{Vo} and a new RhD^{Vo}-like variant found in Japanese individuals. *Vox Sang* 2000;78:122-5.
 - 201 Jones J. Identification of two new D variants, D^{HMi} and D^{HMi} using monoclonal anti-D. *Vox Sang* 1995;69:236-41.
 - 202 Liu W, Jones JW, Scott ML, Voak D, Avent ND. Molecular analysis of two D-variants, D^{HMi} and D^{HMi} [Abstract]. *Transfus Med* 1996;6(Suppl. 2):21.
 - 203 Müller TH, Wagner FE, Trockenbacher A *et al*. PCR screening for common weak D types shows different distributions in three Central European populations. *Transfusion* 2001;41:45-52.
 - 204 Jones JW, Finning K, Mattock R *et al*. The serological profile and molecular basis of a new partial D phenotype, DHR. *Vox Sang* 1997;73:252-6.
 - 205 Avent ND, Poole J, Singleton B *et al*. Studies of two partial Ds: DMH and DOL [Abstract]. *Transfus Med* 1999;9(Suppl. 1):33.
 - 206 The Rhesus site. <http://www.uni-ulm.de/~wfllegel/RH/>.
 - 207 Singleton BK, Green CA, Kimura K *et al*. Two new RHD mutations associated with DEL phenotype [Abstract]. *Transfus Clin Biol* 2001;8(Suppl. 1):95.
 - 208 Jones JW, Lloyd-Evans P, Kumpel BM. Quantitation of Rh D antigen sites on weak D and D variant red cells by flow cytometry. *Vox Sang* 1996;71:176-83.
 - 209 Lomas C, Tippet P, Thompson KM, Melamed MD, Hughes-Jones NC. Demonstration of seven epitopes on the Rh antigen D using human monoclonal anti-D antibodies and red cells from D categories. *Vox Sang* 1989;57:261-4.
 - 210 Tippet P, Moore S. Monoclonal antibodies against Rh and Rh related antigens. *J Immunogenet* 1990;17:309-19.
 - 211 Tippet P. Serologically defined Rh determinants. *J Immunogenet* 1990;17:247-57.
 - 212 Lomas C, McColl K, Tippet P. Further complexities of the Rh antigen D disclosed by testing category D^{III} cells with monoclonal anti-D. *Transfus Med* 1993;3:67-9.
 - 213 Lomas C, Grässmann W, Ford D *et al*. FPTT is a low-incidence Rh antigen associated with a 'new' partial Rh D phenotype, DFR. *Transfusion* 1994;34:612-16.
 - 214 Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. *Transfus Med* 1995;5:171-84.
 - 215 Scott M. Rh serology: coordinator's report. *Transfus Clin Biol* 1996;6:333-7.
 - 216 Scott ML. Rh serology: co-ordinator's report. 4th International Workshop Monoclonal Antibodies against Human Red Cell Surface Antigens, Paris. *Transfus Clin Biol* 2002;9:23-9.
 - 217 Tippet P. *Serological study of the inheritance of unusual Rh and other blood group phenotypes*. PhD thesis, University of London, 1963.
 - 218 Rios M, Storey JR, Hue-Roye K *et al*. Incidence of partial D, DIIIa, in black donors as determined by PCR-RFLP analysis [Abstract]. *Transfusion* 1998;38(suppl): 635.
 - 219 Rossi U, Lomas C, Tippet P *et al*. Inheritance of a D^{IIIc} antigen: study of an Italian family. *Trasfusione Sanguine* 1991;36:566-70.
 - 220 Huang C-H. Human D^{Vo} category: erythrocytes: correlation of the phenotype with a novel hybrid RhD-CE-D gene but not an internally deleted RhD gene. *Blood*, 1997; 89: 1834-5.
 - 221 Rosenfield RE, Haber G, Gibbel N. A new Rh variant. *Proc 6th Congr Int Soc Blood Transfus* 1956: 90-5.
 - 222 Lewis M, Chown B, Kaita H *et al*. Blood group antigen Go^a and the Rh system. *Transfusion* 1967;7:440-1.
 - 223 Chown B, Lewis M, Kaita H *et al*. On the antigen Go^a and the Rh system. *Vox Sang* 1968;15:264-71.
 - 224 Lassiter GR, Issitt PD, Garriss ML, Welborn R. Further studies on the D^{Coe} (Go^a) antigen of the Rh system [Abstract]. *Transfusion* 1969;9:282.
 - 225 Alter AA, Gelb AG, Chown B, Rosenfield RE, Cleghorn TE. Gonzales (Go^a), a new blood group character. *Transfusion* 1967;7:88-91.
 - 226 Lovett DA, Crawford MN. Js^b and Go^a screening of Negro donors. *Transfusion* 1967;7:442.
 - 227 Lomas-Francis C, Reid ME. The Rh blood group system: the first 60 years of discovery. *Immunohematology* 2000;16:7-17.
 - 228 Okubo Y, Seno T, Yamano H, Yamaguchi H, Lomas C, Tippet P. Partial D antigens disclosed by a monoclonal anti-D in Japanese blood donors. *Transfusion* 1991; 31:782.
 - 229 Chown B, Lewis M, Kaita H. A new Rh antigen and antibody. *Transfusion* 1962;2:150-4.
 - 230 Legler TJ, Wiemann V, Ohno H *et al*. D^{Vo} category phe-

- nototype and genotype in Japanese families. *Vox Sang* 2000;78:194-7.
- 231 Avent ND, Finning KM, Liu W, Scott ML. Molecular biology of partial D phenotypes. *Transfus Clin Biol* 1996;6:511-16.
- 232 Sacchi R, Tippet P, Reali G, Sermasi G. Su un nuovo caso di D anti-D (D^{vi}). *Trasfusione Sanguine* 1974; 19:699-702.
- 233 Green CA, Lomas-Francis C, Wallace M, Gooch A, Simonsen AC. Family evidence confirms that the low frequency antigen BARC is an Rh antigen [Abstract]. *Transfus Med* 1996;6(Suppl. 2):26.
- 234 Maaskant-van Wijk PA, Beckers EAM, van Rhenen DJ *et al*. Evidence that the RHD^{VI} deletion genotype does not exist. *Blood* 1997;90:1709-20.
- 235 Apoll PA, Reid ME, Halverson G *et al*. A human monoclonal anti-D antibody which detects a nonconformation-dependent epitope on the RhD protein by immunoblot. *Br J Haematol* 1997;98:365-74.
- 236 Zhu A, Haller S, Li H *et al*. Use of RhD fusion protein expressed on K562 cell surface in the study of molecular basis for D antigenic epitopes. *J Biol Chem* 1999; 274:5731-7.
- 237 Leader KA, Kumpel BM, Poole GD *et al*. Human monoclonal anti-D with reactivity against category D^{VI} cells used in blood grouping and determination of the incidence of the category D^{VI} phenotype in the D^{VI} population. *Vox Sang* 1990;58:106-11.
- 238 van Rhenen DJ, Thijssen PMHJ, Overbeek MAM. Serological characteristics of partial D antigen category VI in 8 unrelated blood donors. *Vox Sang* 1994; 66:133-6.
- 239 Beck ML, Hardman JT. Incidence of D category VI among D^{VI} donors in the USA [Abstract]. *Transfusion* 1991;31(Suppl.):255.
- 240 Watt J. The incidence of category VI amongst weak Rh (D) positive Sydney blood donors [Abstract]. *Transfus Med* 1993;3:72.
- 241 Flegel WA, Wagner FF. The frequency of RHD protein variants in Caucasians [Abstract]. *Transfus Clin Biol* 1996;3(special):105.
- 242 Lewis M, Kaita H, Allerdice PW *et al*. Assignment of the red cell antigen, Targett (Rh40), to the Rh blood group system. *Am J Hum Genet* 1979;31:630-3.
- 243 Humphreys J, Stout TD, Kaita H, Lewis M. A family in which the Targett (Rh: 40) antigen is carried with R⁰ (-D-). *Vox Sang* 1980;39:277-81.
- 244 Levene C, Sela R, Grunberg L *et al*. The Rh antigen Tar (Rh40) causing haemolytic disease of the newborn. *Clin Lab Haematol* 1983;5:303-5.
- 245 Lylloff K, Lundsgaard A, Lomas C, Green C. Third example of anti-Tar and segregation of the Tar (Targett, Rh40) antigen in a Danish family. *Hum Hered* 1984;34:194-6.
- 246 Lomas C, Bruce M, Watt A *et al*. Tar+ individuals with anti-D, a new category D^{VII} [Abstract]. *Transfusion* 1986;26:560.
- 247 Flegel WA, Hillesheim B, Kerowgan M, Kasulke D, Wagner FF. Lack of heterogeneity in the molecular structure of RHD category VII [Abstract]. *Transfusion* 1996;36(Suppl.):505.
- 248 Faas BHW, Beuling EA, von Lighart PC *et al*. Expression of RHc from the RHD polypeptide. *Transfusion* 2001;41:1136-42.
- 249 Hazenberg CAM, Beckers EAM, Overbeek MAM. Hemolytic disease of the newborn caused by alloanti-D from an R₀^{110r} Rh: 33 mother. *Transfusion* 1996;36: 478-9.
- 250 Petershofen EK, Teixidor D, Rabold U *et al*. Alloanti-D antibody production in a RH33 R₀^{110r} patient, a case report [Abstract]. *Vox Sang* 2000;78(Suppl. 1):P033.
- 251 Rouillac C, Gane P, Cartron J *et al*. Molecular basis of the altered antigenic expression of RhD in weak D (D^{VI}) and RhC/c in R^N phenotypes. *Blood* 1996;87:4853-61.
- 252 Beckers EAM, Faas BHW, Lightart P *et al*. Lower antigen site density and weak D immunogenicity cannot be explained by structural genomic abnormalities or regulatory defects of the RHD gene. *Transfusion* 1997; 37:616-23.
- 253 Cowley NM, Saul A, Hyland CA. RHD gene mutations and the weak D phenotype: an Australian blood donor study. *Vox Sang* 2000;79:251-2.
- 254 Hemker MB, Berger L, van der Schoot CE, van Rhenen DJ, Maaskant-van Wijk PA. A transfection model for weak rhesus D expression [Abstract]. *Transfus Med* 2000;10:332.
- 255 Okubo Y, Yamaguchi H, Tomita T, Nagao N. A D variant, D₆? *Transfusion* 1984;24:542.
- 256 Chang J-G, Wang J-C, Yang T-Y *et al*. Human RhD⁶ is caused by a deletion of 1013 bp between introns 8 and 9 including exon 9 of RHD gene. *Blood* 1998;92:2602-4.
- 257 Scott ML, Voak D, Jones JW *et al*. A structural model for 30 Rh D epitopes based on serological and DNA sequence data from partial D phenotypes. *Transfus Clin Biol* 1996;6:391-6.
- 258 Cartron J-P, Rouillac C, Le Van Kim C, Mouro I, Colin Y. Tentative model for the mapping of D epitopes on the RhD polypeptide. *Transfus Clin Biol* 1996;6:497-503.
- 259 Liu W, Smythe JS, Scott ML *et al*. Site-directed mutagenesis of the human D antigen. definition of D epitopes on the sixth external domain of the D protein expressed on K562 cells. *Transfusion* 1999;39:17-25.
- 260 Liu W, Avent ND, Jones JW, Scott ML, Voak D. Molecular configuration of Rh D epitopes as defined by site-directed mutagenesis and expression of mutant Rh constructs in K562 erythroleukemia cells. *Blood* 1999;94:3986-96. Also see *Blood* 2000;96:1197-9.
- 261 Chang TY, Siegel DL. Genetic and immunological properties of phage-displayed human anti-Rh(D) antibodies: implications for Rh(D) epitope topology. *Blood* 1998; 91:3066-78. Also see *Blood* 2000;96:1196-7.
- 262 Siegel DL, Chang TY, Russell SL, Bunya VY. Isolation of cell surface-specific human monoclonal antibodies

- using phage display and magnetically-activated cell sorting: applications in immunohematology. *J Immunol Methods* 1997;206:73-85.
- 263 Ceppellini R, Dunn LC, Turri M. An interaction between alleles at the Rh locus in man which weakens the reactivity of the Rh₀ factor (D^u). *Proc Natl Acad Sci USA* 1955;41:283-8.
 - 264 McGee R, Levine P, Celano M. First example of genotype *e'e'*: a family study. *Science* 1957;125:1043.
 - 265 Hasekura H, Ota M, Ito S *et al*. Flow cytometric studies of the D antigen of various Rh phenotypes with particular reference to D^u and D^u_u. *Transfusion* 1990;30:236-8.
 - 266 Rochna E, Hughes-Jones NC. The use of purified ¹²⁵I-labelled anti-γglobulin in the determination of the number of D antigen sites on red cells of different phenotypes. *Vox Sang* 1965;10:675-86.
 - 267 Masoureddis SP, Dupuy ME, Elliot M. Relationship between Rh₀ (D) zygosity and red cell Rh₀ (D) antigen content in family members. *J Clin Invest* 1967;46:681-94.
 - 268 Hughes-Jones NC, Gardner B, Lincoln PJ. Observations of the number of available c, D, and E antigen sites on red cells. *Vox Sang* 1971;21:210-16.
 - 269 Flegel WA, Khull SR, Wagner FF. Primary anti-D immunization by weak D type 2 RBCs. *Transfusion* 2000;40:428-34.
 - 270 Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 10th edn. Oxford: Blackwell Science, 1997.
 - 271 Lowes BCR. Hemolytic disease of the newborn due to anti-Rh14 (Rh^B). *Vox Sang* 1969;16:231-2.
 - 272 Hill Z, Vací J, Kalasová E, Calabková M, Pintera J. Haemolytic disease of new-born due to anti-D antibodies in a D^u-positive mother. *Vox Sang* 1974;27:92-4.
 - 273 Lacey PA, Caskey CR, Werner DJ, Moulds JJ. Fatal hemolytic disease of a newborn due to anti-D in an Rh-positive D^u variant mother. *Transfusion* 1983;23:91-4.
 - 274 White CA, Stedman CM, Frank S. Anti-D antibodies in D- and D^u-positive women: a cause of hemolytic disease of the newborn. *Am J Obstet Gynecol* 1983;145:1069-75.
 - 275 Østgård P, Fevang F, Kornstad L. Anti-D in a 'D positive' mother giving rise to severe haemolytic disease of the newborn. *Acta Paediatr Scand* 1986;75:175-8.
 - 276 Lubenko A, Contreras M, Habash J. Should anti-Rh immunoglobulin be given to D variant women? *Br J Haematol* 1989;72:429-33.
 - 277 Mayne K, Bowell P, Woodward T *et al*. Rh immunization by the partial D antigen of category D^u_u. *Br J Haematol* 1990;76:537-9.
 - 278 Bennett PR, Le Van Kim C, Colin Y *et al*. Prenatal determination of fetal RhD type by DNA amplification. *N Engl J Med* 1993;329:607-10.
 - 279 Wolter LC, Hyland CA, Saul A. Rhesus D genotyping using polymerase chain reaction. *Blood* 1993;82:1682-3.
 - 280 Simsek S, Faas BHW, Bleeker MAM *et al*. Rapid Rh D genotyping by polymerase chain reaction-based amplification of DNA. *Blood* 1995;85:2975-80.
 - 281 Pope J, Navarrete C, Warwick R, Contreras M. Multiplex PCR, analysis of RhD gene. *Lancet* 1995;346:375-6.
 - 282 Gassner C, Schmarda A, Kilga-Nogler S *et al*. RHD/CE typing by polymerase chain reaction using sequence-specific primers. *Transfusion* 1997;37:1020-6.
 - 283 Maaskant-van Wijk PA, Faas BHW, de Ruijter JAM *et al*. Genotyping of RHD by multiplex polymerase chain reaction analysis of six RHD-specific exons. *Transfusion* 1998;38:1015-21.
 - 284 Flegel WA, Wagner FF, Müller TH, Gassner C. Rh phenotype prediction by DNA typing and its application to practice. *Transfus Med* 1998;8:281-302.
 - 285 Chiu RW, Murphy ME, Fidler C *et al*. Determination of RhD zygosity: comparison of a double amplification refractory mutation system approach and a multiplex real-time quantitative PCR approach. *Clin Chem* 2001;47:667-72.
 - 286 Huang C-H, Reid ME, Chen Y, Coghlan G, Okubo Y. Molecular definition of red cell Rh haplotypes by tightly linked *SphI* RFLPs. *Am J Hum Genet* 1996;58:133-42.
 - 287 Reubinoff BE, Avner R, Rojansky N *et al*. RhD genotype determination by single sperm cell analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1300-5.
 - 288 Lo YMD, Corbetta N, Chamberlain PF *et al*. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350:485-7.
 - 289 Lo YMD. Fetal RhD genotyping from maternal plasma. *Ann Med* 1999;31:308-12.
 - 290 Faas BHW, Beuling EA, von Christiaans GCML, dem Borne AEGK, van der Schoot CE. Detection of fetal RHD-specific sequences in maternal plasma. *Lancet* 1998;352:1196.
 - 291 Lo YMD, Hjelm NM, Fidler C *et al*. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med* 1998;339:1734-8.
 - 292 Zhong XY, Holzgreve W, Hahn S. Detection of fetal Rhesus D and sex using fetal DNA from maternal plasma by multiplex polymerase chain reaction. *Br J Obstet Gynaecol* 2000;107:766-9.
 - 293 Lo Y-MD, Bowell PJ, Selinger M *et al*. Prenatal determination of fetal RhD status by analysis of peripheral blood of rhesus negative mothers. *Lancet* 1993;341:1147-8.
 - 294 Lo Y-MD, Noakes P, Bowell PJ, Fleming KA, Wainscoat JS. Detection of fetal RhD sequence from peripheral blood of sensitized RhD-negative pregnant women. *Br J Haematol* 1994;87:658-60.
 - 295 Geifman-Holtzman O, Bernstein IM, Berry SM *et al*. Fetal RhD genotyping in fetal cells flow sorted from maternal blood. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:818-22.
 - 296 Sekizawa A, Watanabe A, Kimura T *et al*. Prenatal diagnosis of the fetal RhD blood type using a single fetal nucleated erythrocyte from maternal blood. *Obstet Gynecol* 1996;87:501-5.

- 297 Al-Mufti R, Howard C, Overton T *et al.* Detection of fetal messenger ribonucleic acid in maternal blood to determine fetal RhD status as a strategy for noninvasive prenatal diagnosis. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:210-14.
- 298 Cunningham J, Yates Z, Hamlington J *et al.* Non-invasive RNA-based determination of fetal Rhesus D type: a prospective study based on 96 pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:1023-8.
- 299 Troeger C, Zhong XY, Burgemeister R *et al.* Approximately half of the erythroblasts in maternal blood are of fetal origin. *Mol Hum Reprod* 1999;5:1162-5.
- 300 Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, Sylvester S, De-Maria MA. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:705-8.
- 301 Van den Veyver IB, Chong SS, Cota J *et al.* Single-cell analysis of the RhD blood type for use in preimplantation diagnosis in the prevention of severe hemolytic disease of the newborn. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:533-40.
- 302 Skov E, Hughes-Jones NC. Observations of the number of available C antigen sites on red cells. *Vox Sang* 1977;33:170-4.
- 303 Race RR, Sanger R, Lawler SD. Rh genes allelomorphic to C. *Nature* 1948;161:316.
- 304 Smythe JS, Anstee DJ. Expression of C antigen in transduced K562 cells. *Transfusion* 2001;41:24-30.
- 305 Mouro I, Colin Y, Gane P *et al.* Molecular analysis of blood group Rh transcripts from a c^{ce} variant. *Br J Haematol* 1996;93:472-4.
- 306 Levine P, Rosenfield RE, White J. The first example of the Rh phenotype c^{ce} . *Am J Hum Genet* 1961;13:299-305.
- 307 Rosenfield RE, Levine P, Heller C. Quantitative Rh typing of c^{ce} with observations on the nature of G (Rh12) and anti-G. *Vox Sang* 1975;28:293-304.
- 308 Avent ND, Daniels GL, Martin PG *et al.* Molecular investigation of the Rh C/c polymorphism [Abstract]. *Transfus Med* 1997;7(Suppl. 1):18.
- 309 Westhoff CM, Silberstein LE, Wylie DE, Skavdahl M, Reif ME. 16Cys encoded by the *RHce* gene is associated with altered expression of the c antigen and is frequent in the R_{0} haplotype. *Br J Haematol* 2001;113:666-71.
- 310 Salvignol I, Calvas P, Socha WW *et al.* Structural analysis of the RH-like blood group gene products in nonhuman primates. *Immunogenet* 1995;41:271-81.
- 311 Westhoff CM, Silberstein LE, Wylie DE. Evidence supporting the requirement for two proline residues for expression of c. *Transfusion* 2000;40:321-4.
- 312 Le Van Kim C, Mouro I, Brossard Y *et al.* PCR-based determination of Rhc and RhE status of fetuses at risk of Rhc and RhE haemolytic disease. *Br J Haematol* 1994;88:193-5.
- 313 Geifman-Holtzman O, Kaufman L, Gonchoroff N, Bernstein I, Holtzman EJ. Prenatal diagnosis of the fetal Rhc genotype from peripheral maternal blood. *Obstet Gynecol* 1998;91:506-10.
- 314 Poulter M, Kemp TJ, Carritt B. DNA-based Rhesus typing: simultaneous determination of RHc and RHD status using the polymerase chain reaction. *Vox Sang* 1996;70:164-8.
- 315 Rozman P, Dovc T, Gassner C. Differentiation of autologous ABO, RHD, RHCE, KEL, JK, and FY blood group genotypes by analysis of peripheral blood samples of patients who have recently received multiple transfusions. *Transfusion* 2000;40:936-42.
- 316 Huestis DW, Catino ML, Busch S. A 'new' Rh antibody (anti-Rh 26) which detects a factor usually accompanying 'hr'. *Transfusion* 1964;4:414-18.
- 317 Faas BHW, Ligthart PC, Lomas-Francis C *et al.* Involvement of Gly96 in the formation of the Rh26 epitope. *Transfusion* 1997;37:1123-30.
- 318 Moulds JJ, Case J, Anderson TD, Cooper ES. The first example of allo-anti-c produced by a c-positive individual [Abstracts]. 17th Congr International Soc Blood Transfus 1982:289.
- 319 Issitt PD, Tessel JA. On the incidence of antibodies to the Rh antigens G, rh₁(Ce), C, and C^c in sera containing anti-CD or anti-C. *Transfusion* 1981;21:412-18.
- 320 Masouredis SP, Sudora EJ, Mahan L, Victoria EJ. Antigen site densities and ultrastructural distribution patterns of red cell Rh antigens. *Transfusion* 1976;16:94-106.
- 321 Ceppellini R. L'antigène Rh E^o. *Rev Hemat* 1950;5:285-93.
- 322 O'Riordan JP, Wilkinson JL, Huth MC, Wilson TE, Mourant AE, Giles CM. The Rh gene complex cDE^o. *Vox Sang* 1962;7:14-21.
- 323 Sussman LN. The rare blood factor rh₁^(u) or E^o. *Blood* 1955;10:1241-5.
- 324 Steers F, Wallace M, Johnson P, Carritt B, Daniels G. Denaturing gradient gel electrophoresis: a novel method for determining Rh phenotype from genomic DNA. *Br J Haematol* 1996;94:417-21.
- 325 Faas BHW, Simsek S, Bleeker PMM *et al.* Rh E/e genotyping by allele-specific primer amplification. *Blood* 1995;85:829-32.
- 326 Geifman-Holtzman O, Makhlof F, Kaufman L, Gonchoroff NJ, Holtzman EJ. The clinical utility of fetal cell sorting to determine prenatally fetal E/e or e/e Rh genotype from peripheral maternal blood. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:462-8.
- 327 Greenwalt TJ, Sanger R. The Rh antigen E^o. *Br J Haematol* 1955;1:52-4.
- 328 Grobel RK, Cardy JD. Hemolytic disease of the newborn due to anti-E^o: a fourth example of the Rh antigen, E^o. *Transfusion* 1971;11:77-8.
- 329 Kaita H, Lewis M, Chown B. The Rh antigen E^o. *Transfusion* 1964;4:118-19.
- 330 Winter N, Milkovich L, Konugres AA. A third example of the Rh antigen, E^o. *Transfusion* 1966;6:271-2.

- 331 Henke J, Kasulke D. The first example of the Rh antigen E^w in Western Europe. *Vox Sang* 1976;30:305-7.
- 332 Vos GH, Kirk RL. A 'naturally-occurring' anti-E which distinguishes a variant of the E antigen in Australian Aborigines. *Vox Sang* 1962;7:22-32.
- 333 Lubenko A, Burslem SJ, Fairclough LM *et al*. A new qualitative variant of the RhE antigen revealed by heterogeneity among anti-E sera. *Vox Sang* 1991;60:235-40.
- 334 Okubo Y, Yamano H, Nagao N *et al*. A partial E in the Rh system? *Transfusion* 1994;34:183.
- 335 Noizat-Pirenne F, Mouro I, Gane P *et al*. Heterogeneity of blood group RhE variants revealed by serological analysis and molecular alteration of the RHCE gene and transcript. *Br J Haematol* 1998;103:429-36.
- 336 Noizat-Pirenne F, Mouro I, Le Pennec P *et al*. Molecular basis of category EIV variant phenotype [Abstract]. *Transfusion* 1999;39(Suppl.):103S.
- 337 Shapiro M. Serology and genetics of a new blood factor: hr^s. *J Forens Med* 1960;7:96-105.
- 338 Moores P. Rh18 and hr^s blood group and antibodies. *Vox Sang* 1994;66:225-30.
- 339 Daniels GL. *Blood group antigens of high frequency: a serological and genetical study*. PhD thesis, University of London, 1980.
- 340 Issitt PD, Anstee DJ. *Applied Blood Group Serology*, 4th edn. Durham: Montgomery Scientific Publications, 1998.
- 341 Issitt PD. An invited review: the Rh antigen e, its variants, and some closely related serological observations. *Immunohematology* 1991;7:29-36.
- 342 Grobelaar BG, Moores PP. The third example of anti-hr^s. *Transfusion* 1963;3:103-4.
- 343 Noizat-Pirenne F, Mouro I, Le Pennec P-Y *et al*. Two new alleles of the RHCE gene in black individuals: the RHce allele cEMO and the RHce allele cEMI. *Br J Haematol* 2001;113:672-9.
- 344 Shapiro M, le Roux M, Brink S. Serology and genetics of a new blood factor: hr^b. *Haematologia* 1972;6:121-8.
- 345 Case J. Compound and complex Rh antigens. In: Vengelen-Tyler, SR Pierce, eds. *Blood Group Systems: Rh*. Arlington: American Association of Blood Banks, 1987:55-75.
- 346 Moores P, Smart E. Serology and genetics of the red blood cell factor Rh34. *Vox Sang* 1991;61:122-9.
- 347 Beal CL, Oliver CK, Mallory DM, Issitt PD. The r' gene is overrepresented in hr^b-negative individuals. *Immunohematology* 1995;11:74-7.
- 348 Reid ME, Storry JR, Issitt PD *et al*. Rh haplotypes that make e but not hr^b usually make VS. *Vox Sang* 1997;72:41-4.
- 349 Blancher AP, Reid ME, Alié-Daram SJ, Dugoujon J-MH, Roubinet EL. Characterization of human anti-hr^b-like monoclonal antibody. *Immunohematology* 1996;12:119-22.
- 350 Vengelen-Tyler V, Mogck N. Two cases of 'hrB-like' autoantibodies appearing as alloantibodies. *Transfusion* 1991;31:254-6.
- 351 Lewis M, Kaita H, Chown B *et al*. Inheritance of the Rh complex 'Santi', R^{0s}(GV)¹. *Vox Sang* 1976;30:282-90.
- 352 Marais I, Moores P, Smart E, Martell R. STEM, a new low-frequency Rh antigen associated with the e-variant phenotypes hr^s- (Rh: -18,-19) and hrB- (Rh: -31,-34). *Transfus Med* 1993;3:35-41.
- 353 Heistö H. An anti-E antibody reacting strongly with enzyme-treated cells, but showing no signs of agglutination or absorption with untreated cells. *Acta Path Microbiol Scand* 1955;26:381-4.
- 354 Vogt E, Krystad E, Heistö H, Myhre K. A second example of a strong anti-E reacting *in vitro* almost exclusively with enzyme treated E positive cells. *Vox Sang* 1958;3:118-23.
- 355 Dybkjaer E. Anti-E antibodies disclosed in the period 1960-66. *Vox Sang* 1967;13:446-8.
- 356 Harrison J. The 'naturally occurring' anti-E. *Vox Sang* 1970;19:123-31.
- 357 Sanger R, Race RR, Rosenfield RE, Vogel P, Gibbel N. Anti-f and the 'new' Rh antigen it defines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1953;39:824-34.
- 358 Grundorfer J, Kopchik W, Tippet P, Sanger R. Anti-f in the serum of a CDe/cDE person: the second example. *Vox Sang* 1961;6:618-19.
- 359 Jones AR, Steinberg AG, Allen FH, Diamond LK, Kriete B. Observations on the new Rh agglutinin anti-f. *Blood* 1954;9:117-22.
- 360 Levine P, White J, Stroup M, Zmijewski CM, Mohn JE. Haemolytic disease of the newborn probably due to anti-f. *Nature* 1960;185:188-9.
- 361 Freda VJ, D'Esopo DA, Rosenfield RE, Haber GV. Erythroblastosis due to anti-Rh6. *Transfusion* 1963;3:281-2.
- 362 Spielmann W, Seidl S, von Pawel J. Anti-ce (anti-f) in a CDe/cD- mother, as a cause of haemolytic disease of the newborn. *Vox Sang* 1974;27:473-7.
- 363 O'Reilly RA, Lombard CM, Azzi RL. Delayed hemolytic transfusion reaction associated with Rh antibody anti-f: first reported case. *Vox Sang* 1985;49:336-9.
- 364 Lucia SP, Wild GM, Hunt ML. Anti-f sensitization detected by an acidified indirect Coombs test. *Vox Sang* 1960;5:377-82.
- 365 Rosenfield RE, Haber GV. An Rh blood factor, rh (Ce), and its relationship to hr (ce). *Am J Hum Genet* 1958;10:474-80.
- 366 Race RR, Sanger R, Levine P *et al*. A position effect of the Rh blood group genes. *Nature* 1954;174:460-1.
- 367 Wagner T, Resch B, Legler TJ *et al*. Severe HDN due to anti-Ce that required exchange transfusion. *Transfusion* 2000;40:571-4.

- 368 Malde R, Stanworth S, Patel S, Knight R. Haemolytic disease of the newborn due to anti-Ce. *Transfus Med* 2000;10:305-6.
- 369 Molthan L, Matulewicz TJ, Bansal-Carver B, Benz EJ. An immediate hemolytic transfusion reaction due to anti-C and a delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-Ce+c: hemoglobinemia, hemoglobinuria and transient impaired renal function. *Vox Sang* 1984;47:348-53.
- 370 Lee E, Knight RC. A case of autoimmune haemolytic anaemia with an IgA anti-Ce autoantibody [Abstract]. *Vox Sang* 2000;78(Suppl. 1):P130.
- 371 Svoboda RK, Van West B, Grumet FC. Anti-Rh41, a new Rh antibody found in association with an abnormal expression of chromosome 1 genetic markers. *Transfusion* 1981;21:150-6.
- 372 Dunsford I. A new Rh antibody: anti CE. *Proc 8th Congr Europ Soc Haemat* 1961:491.
- 373 Keith P, Corcoran PA, Caspersen K, Allen FH. A new antibody: anti-Rh[27] (cE) in the Rh blood group system. *Vox Sang* 1965;10:528-35.
- 374 Kline WE, Sullivan CM, Pope M, Bowman RJ. An example of a naturally occurring anti-cE (Rh27) that binds complement. *Vox Sang* 1982;43:335-9.
- 375 Allen FH, Tippet PA. A new Rh blood type which reveals the Rh antigen G. *Vox Sang* 1958;3:321-30.
- 376 Green C, Coghlan G, Bizot M, et al. JAHK: a low frequency antigen associated with the r¹ complex of the Rh blood group system. *Transfus Med* 2002; 12:55-61.
- 377 Stout TD, Moore BPL, Allen FH, Corcoran P. A new phenotype: D+G- (Rh:1,-12). *Vox Sang* 1963;8:262-8.
- 378 Faas BHW, Beckers EAM, Simsek S et al. Involvement of Ser103 of the Rh polypeptides in G epitope formation. *Transfusion* 1996;36:506-11.
- 379 Case J. Quantitative variation in the G antigen of the Rh blood group system. *Vox Sang* 1973;25:529-39.
- 380 Kusnierz-Alejska G. Anti-G alloantibody produced by C-positive D-positive G-negative patient [Abstract]. *Vox Sang* 1994;67(Suppl.2):53.
- 381 Skov F. Observations of the number of available G (rh^c, Rh12) antigen sites on red cells. *Vox Sang* 1976;31:124-30.
- 382 Allen FH, Tippet PA. Blocking tests with the Rh antibody anti-G. *Vox Sang* 1961;6:429-34.
- 383 Jakobowicz R, Simmons RT. Iso-immunization in a mother which demonstrates the 'new' Rh blood antigen G (rh^c) and anti-G (rh^c). *Med J Aust* 1959;ii:357-8.
- 384 Jakobowicz R, Whittingham S, Barrie JU, Simmons RT. A further investigation of polyvalent anti-C (rh^c) and anti-G (rh^c) antibodies produced by iso-immunization in pregnancy. *Med J Aust* 1962;i:895-6.
- 385 Vos GH. The evaluation of specific anti-G (CD) eluate obtained by a double absorption and elution procedure. *Vox Sang* 1960;5:472-8.
- 386 Shapiro M. Serology and genetics of a 'new' blood factor: hr¹¹. *J Forensic Med* 1964;11:52-66.
- 387 Zaino EC. A new Rh phenotype Rh₀rh, G-negative. *Transfusion* 1965;5:320-1.
- 388 Palfi M, Gunnarsson C. The frequency of anti-C+ anti-G in the absence of anti-D in alloimmunized pregnancies. *Transfus Med* 2001;11:207-10.
- 389 Smith TR, Sherman SP, Nelson CA, Taswell HE. Formation of anti-G by the transfusion of D-negative blood [Abstract]. *Transfusion* 1978;18:388.
- 390 Sistonen P, Sareneva H, Pirkola A, Eklund J. MAR, a novel high-incidence Rh antigen revealing the existence of an allelic sub-system including C^w (Rh8) and C^s (Rh9) with exceptional distribution in the Finnish population. *Vox Sang* 1994;66:287-92.
- 391 Mouro I, Colin Y, Sistonen P et al. Molecular basis of the RhC^w (Rh8) and RhC^s (Rh9) blood group specificities. *Blood* 1995;86:1196-201.
- 392 Callender ST, Race RR. A serological and genetical study of multiple antibodies formed in response to blood transfusion by a patient with lupus erythematosus diffusos. *Ann Eugen* 1946;13:102-17.
- 393 Dunsford I, Aspinall P. Th Rh chromosome C^wdE (Ry^w) occurring in three generations. *Nature* 1951;168:954-5.
- 394 Prokop O, Rackwitz A. Eine weitere Beobachtung von R₂^w in der seltenen Kombination R₂^wR₁^w mit einer Bemerkung über den Dosisseffekt von C^w. *Blut* 1959;5:279-81.
- 395 Leonard GL, Ellis SS, Reid ME, Sanchez PD, Tippet P. An unusual Rh immunization. *Vox Sang* 1976;31:275-6.
- 396 Watt J, Pepper R. Anti-C in an R1^wR1^w patient [Abstract]. *Joint Congr Int Soc Blood Transfus and Am Ass Blood Banks* 1990: 80.
- 397 Govoni M, Battistini I, Menini C. A rare case of Rh immunization. *Vox Sang* 1990;58:137.
- 398 Thorpe SJ, Boulton CE, Thompson KM. Immunochemical characterization of the Rh C^w antigen using human monoclonal antibodies. *Vox Sang* 1997;73: 174-81.
- 399 Sachs HW, Reuter W, Tippet P, Gavin J. An Rh gene complex producing both C^w and c antigen. *Vox Sang* 1978;35:272-4.
- 400 Giannetti M, Stadler E, Rittner C, Lomas C, Tippet P. A rare Rh haplotype producing C^w and c, and D and e in a German family. *Vox Sang* 1983;44:319-21.
- 401 Bowman JM, Pollock J. Maternal C^w alloimmunization. *Vox Sang* 1993;64:226-30.
- 402 Lawler SD, van Loghem JJ. The Rhesus antigen C^w causing haemolytic disease of the newborn. *Lancet* 1947;ii:545-6.
- 403 Reiner AP, Teramura G, Aramaki KM. Use of PCR-based assay for fetal C^w antigen genotyping in a patient with a history of moderately severe hemolytic disease of the newborn due to anti-C^w. *Am J Perinatol* 1999;16:277-81.
- 404 Sistonen P, Aden Abdulle O, Sahid M. Evidence for a

- 'new' Rh gene complex producing the rare C⁺ (Rh9) antigen in the Somali population of East Africa. *Transfusion* 1987;27:66-8.
- 405 Stratton F, Renton PH. Haemolytic disease of the newborn caused by a new Rh antibody, anti-C⁺. *Br Med J* 1954;i:962-5.
- 406 Finney RD, Blue AM, Willoughby MLN. Haemolytic disease of the newborn caused by the rare Rhesus antibody anti-C⁺. *Vox Sang* 1973;25:39-42.
- 407 Mougey R, Martin J, Hackbart C. A new high frequency Rh red cell antigen associated with the Rh antigen C⁺ [Abstract]. *Transfusion* 1983;23:410.
- 408 Plaut G, Booth PB, Giles CM, Mourant AE. A new example of the Rh antibody, anti-C⁺. *Br Med J* 1958;i:1215-7.
- 409 Bradford MF, Porter M, Lacey PA, Moulds JJ. Further complexities of anti-C: an antibody produced by an R₁r individual [Abstract]. *Transfusion* 1985;25:471.
- 410 O'Shea KP, Øyen R, Sausais L *et al*. A MAR-like antibody in a DC⁺e/DC⁺e person. *Transfusion* 2001;41:53-5.
- 411 DeNatale A, Cahan A, Jack JA, Race RR, Sanger R. V, a 'new' Rh antigen, common in Negroes, rare in white people. *J Am Med Assoc* 1955;159:247-50.
- 412 Sanger R, Noades J, Tippet P, Race RR, Jack JA, Cunningham CA. An Rh antibody specific for V and R⁺. *Nature* 1960;186:171.
- 413 Moulds JJ, Case J, Thornton S, Pulver VB, Moulds MK. Anti-Ce: a previously undescribed Rh antibody [Abstract]. *Transfusion* 1980;20:631-2.
- 414 Lomas C, Storry JR, Spruell P, Moulds M. Apparent alloanti-C produced by r⁺ people: five examples [Abstract]. *Transfusion* 1994;34(Suppl.):255.
- 415 Tregellas WM, Issitt PD. An investigation of the relationship between the V (hr^V), VS, and hr^V antigens. *Transfusion* 1978;18:15-20.
- 416 Gihlett ER, Chase J, Morulsky AG. Studies on anti-V. A recently discovered Rh antibody. *J Lab Clin Med* 1957;49:433-9.
- 417 Cheng MS. Saline-reactive anti-V. *Transfusion* 1982;22:401.
- 418 Byrne PC, Howard JH. The incidence of V (Rh10) and Js⁺ (K6) in the contemporary African American blood donor. *Immunohematology* 1994;10:136-8.
- 419 Spruell P, Lacey P, Bradford MF *et al*. Incidence of hemolytic disease of the newborn due to anti-D⁺ [Abstract]. *Transfusion* 1997;37(Suppl.):435.
- 420 Leschek E, Pearlman SA, Boudreaux I, Meek R. Severe hemolytic disease of the newborn caused by anti-Gonzales antibody. *Am J Perinat* 1993;10:362-4.
- 421 Issitt PD, Gutsell NS, Martin PA, Forgason JR. Hemolytic disease of the newborn caused by anti-Rh32 and demonstration that R⁺ encodes rh₁ (Ce,Rh7). *Transfusion* 1991;31:63-6.
- 422 Chown B, Lewis M, Kaita H. The Rh system: an anomaly of inheritance, probably due to mutation. *Vox Sang* 1971;21:385-96.
- 423 Orlina AR, Unger PJ, Lacey PA. Anti-Rh32 causing severe hemolytic disease of the newborn. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1984;27:613-18.
- 424 Issitt PD, Wren MR, McDowell MA, Strohm PL, Roberts TM. Anti-Rh33, the second separable example, also made by a person who made anti-D and has C⁺ red cells. *Transfusion* 1986;26:506-10.
- 425 Giles CM, Skov E. The CDe Rhesus gene complex; some considerations revealed by a study of a Danish family with an antigen of the Rhesus gene complex (C)D(e) defined by a 'new' antibody. *Vox Sang* 1971;20:328-34.
- 426 Davidsohn I, Stern K, Strauser ER, Spurrier W. Be, a new 'private' blood factor. *Blood* 1953;8:747-54.
- 427 Stern K, Davidsohn I, Jensen FG, Muratore R. Immunologic studies on the Be⁺ factor. *Vox Sang* 1958;3:425-34.
- 428 Clark J, Yorek H, Schuler S, Milam JD. Hemolytic disease of the newborn due to anti-Berrens antibody: the third reported case [Abstract]. *Joint Congr Int Soc Blood Transfus and Am Ass Blood Banks* 1990:81.
- 429 Amil M, Casais C, Vicente I *et al*. Severe hemolytic disease of the newborn caused by anti-Rh36 [Abstract]. *Vox Sang* 2000;78(Suppl.):P122.
- 430 Issitt PD, Gutsell NS, McDowell MA, Tregellas WM. Studies on anti-Rh46 [Abstract]. *Blood* 1987;70(Suppl.1):110a.
- 431 Rouger P, Edelman L. Murine monoclonal antibodies associated with Rh17, Rh29, and Rh46 antigens. *Transfusion* 1988;28:52-5.
- 432 Le Pennec PY, Buffière F, Gane P *et al*. Study of a human monoclonal anti-RH46 [Abstract]. *Transfusion* 1996;36(Suppl.):545.
- 433 Broman B, Heiken A, Tippet PA, Giles CM. The D(C)(e) gene complex revealed in the Swedish population. *Vox Sang* 1963;8:588-93.
- 434 Tippet P. Depressed Rh phenotypes. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1978;21:135-50.
- 435 Heiken A, Giles CM. On the Rh gene complexes D—, D(C)(e) and d(c)(e). *Hereditas* 1965;53:171-86.
- 436 Renton PH, Hancock JA. An individual of unusual Rh type. *Vox Sang* 1955;5:135-42.
- 437 Poole J, Hustinx H, Gerber H *et al*. The red cell antigen JAL in the Swiss population: family studies showing that JAL is an Rh antigen (RH48). *Vox Sang* 1990;59:44-7.
- 438 Noizat-Pirenne F, Le Pennec P-Y, Mouro I *et al*. The molecular basis of a D(C)(e) complex probably associated with the RH35 low frequency antigen [Abstract]. *Transfusion* 1999;39(Suppl.):1035.
- 439 Moores P, Smart E, Sternberger J, Schneider W. Rh33 in two of three German siblings with D+C+c+E-e red cells. *Transfusion* 1991;31:759-61.
- 440 Daniels GL. An investigation of the immune response of homozygotes for the Rh haplotype: -D- and related

- haplotypes. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1982;25:185-97.
- 441 Westhoff CM, Skavdahl M, Walker PS, Storry JR, Reid ME. A new hybrid RHCE gene that is responsible for expression of a novel antigen [Abstract]. *Transfusion* 2000;40(Suppl.):7S.
- 442 Cheng G-J, Chen Y, Reid ME, Huang C-H. Evans antigen: a new hybrid structure occurring on background of D- and D-- Rh complexes. *Vox Sang* 2000;78:44-51.
- 443 Huang C-H. Alteration of RH gene structure and expression in human dCCee and DC^o- red blood cells: phenotypic homozygosity versus genotypic heterozygosity. *Blood* 1996;88:2326-33.
- 444 Kornstad L, Heier Larsen AM. A possible D(C^o)(e) gene complex of the Rh system. *Vox Sang* 1973;25:385-9.
- 445 Schneider W, Tippett P. Rh33, another possible homozygote [Abstract]. *Transfusion* 1978;18:392.
- 446 Issitt PD, Gutsell NS. A new gene, R^o J^hk, that makes Rh33 and normal D [Abstract]. *Blood* 1987;70(Suppl.1):110a.
- 447 Issitt PD, Smith DL, McCollister LS, Wren MR, Ballas SK. Studies on the blood of a Dc(e) homozygote and her family. *Transfusion* 1988;28:439-43.
- 448 Huang C-H, Reid ME, Chen Y, Novaretti M. Deletion of Arg229 in RhCE polypeptide alters expression of RhE and CE-associated Rh6 antigens [Abstract]. *Blood* 1997;90(Suppl.1):272a.
- 449 Metaxas MN, Metaxas-Bühler M. An Rh gene complex which produces weak c and e antigens in a mother and her son. *Vox Sang* 1961;6:136-41.
- 450 Broman B, Heiken A, Giles CM. An unusual Rh gene complex producing a weak c antigen. *Vox Sang* 1964;9:741-5.
- 451 Storry JR, Gorman M, Maddox NI *et al*. First example of Rh: -32,-46 red cell phenotype. *Immunohematology* 1994;10:130-3.
- 452 Morton NE, Rosenfield RE. A new Rh allele, r^m (R^{-1,2,3,4,5,6}), *Transfusion* 1967;7:117-19.
- 453 Kornstad L, Øyen R. An Rh gene complex producing weak c and E antigens. *Vox Sang* 1967;13:417-22.
- 454 Enomoto T, Ohmura K, Hando K. *et al*. Studies on the blood of a (c)D(E)/d-D- propositus and her family [Abstract]. *24th Congr International Soc Blood Transfus* 1996: 144.
- 455 Tippett PA, Sanger R, Dunsford I, Barber M. An Rh gene complex, r^M, in some ways like r^L. *Vox Sang* 1961;6:21-33.
- 456 Race RR, Sanger R. Consanguinity and certain rare blood groups. *Vox Sang* 1960;5:383-4.
- 457 Daniels G. *Human Blood Groups*. Oxford: Blackwell Science, 1995.
- 458 Race RR, Sanger R, Selwyn JG. A probable deletion in a human Rh chromosome. *Nature* 1950;166:520.
- 459 Race RR, Sanger R, Selwyn JG. A possible deletion in a human Rh chromosome: a serological and genetical study. *Br J Exp Pathol* 1951;32:124-35.
- 460 Waller RK, Sanger R, Bobbitt OB. Two examples of the -D-/-D- genotype in an American family. *Br Med J* 1953;i:198-9.
- 461 Buchanan DI, McIntyre J. Consanguinity and two rare matings. -D-/-D- x CDe/-D- and CDe/-D- x cDe/-D-. *Br J Haematol* 1955;1:304-7.
- 462 Yokoyama M, Solomon JM, Kuniyuki M, Stroup M. R^o {D-} in two Japanese families with a note on its genetic interpretation. *Transfusion* 1961;1:273-9.
- 463 De Torregrasa MV, Rullán MM, Cecile C, Sabater A, Alberto C. Severe erythroblastosis in a primigravida associated with absence of Rh chromosomes. *Am J Obstet Gynecol* 1961;82:1375-8.
- 464 Badakere SS, Bhatia HM. Haemolytic disease of the newborn in a -D-/-D- Indian woman. *Vox Sang* 1973;24:280-2.
- 465 Kendrick L, Dunstan-Adams C, Humphreys J *et al*. The rare Rh haplotypes -D- and -D- in a family with a -D-/-D- propositus. *J Immunogenet* 1981;8:243-7.
- 466 Ólafsdóttir S, Jensson O, Thordarson G, Sigurdardóttir S. An unusual Rhesus haplotype, -D-, in Iceland. *Forensic Sci Int* 1983;22:183-7.
- 467 Whang DH, Kim HC, Hur M *et al*. A successful delivery of a baby from a D-/-D- mother with strong anti-H₀. *Immunohematology* 2000;16:112-14.
- 468 Henningsen K. Significance of -D- chromosome in a legal paternity case. *Vox Sang* 1957;2:399-405.
- 469 Lawler SD, Marshall R. A serological study of -D- heterozygotes in the same family. *Vox Sang* 1962;7:305-14.
- 470 Heiken A, Giles CM. A study of a family possessing the Rh gene complex D-- in the heterozygous state. *Acta Genet* 1966;16:155-61.
- 471 Mulvihill M, Moores P. The Rh haplotype D-- identified in five Cape Colored families. *Transfusion* 1991;31:188-9.
- 472 Rasmuson M, Heiken A. Frequency of occurrence of the human Rh complexes D(C)(e), d(c)(e), D- and -D-. *Nature* 1966;212:1377-9.
- 473 Okubo Y, Tomita T, Nagao N, Yamaguchi H, Tanaka M. Mass screening donors for -D- and Jk(a-b-) using the Groupomatic-360. *Transfusion* 1983;23:362-3.
- 474 Chérif-Zahar B, Raynal V, D'Ambrosio A-M, Cartron JP, Colin Y. Molecular analysis of the structure and expression of the RH locus in individuals with D-, Dc-, and DC^o- gene complexes. *Blood* 1994;84:4354-60.
- 475 Kemp TJ, Poulter M, Carritt B. A recombination hot spot in the Rh genes revealed by analysis of unrelated donors with the rare D-- phenotype. *Am J Hum Genet* 1996;59:1066-73.
- 476 Blunt T, Steers F, Daniels G, Carritt B. Lack of RH C/E expression in the Rhesus D-- phenotype is the result of a gene deletion. *Ann Hum Genet* 1994;58:19-24.

- 477 Huang C-H, Reid ME, Chen Y. Identification of a partial internal deletion in the *RH* locus causing the human erythrocyte D- phenotype. *Blood* 1995;86:784-90.
- 478 Cherif-Zahar B, Raynal V, Cartron J-P. Lack of RHCE-encoded proteins in the D- phenotype may result from homologous recombination between the two *RH* genes. *Blood* 1996;88:1518-20.
- 479 Cherif-Zahar B, Raynal V, Gane P *et al.* Candidate gene acting as a suppressor of the *RH* locus in most cases of Rh deficiency. *Nature Genet* 1996;12:168-73.
- 480 Contreras M, Armitage S, Daniels GL, Tippet P. Homozygous D-. *Vox Sang* 1979;36:81-4.
- 481 Skradski K, Sabo B, Daniels G. A second homozygous D-. *Transfusion* 1981;21:472.
- 482 Huang C-H, Chen Y, Reid ME, Ghosh S. Genetic recombination at the human *RH* locus: a family study of the red-cell Evans phenotype reveals a transfer of exons 2-6 from the *RHD* to the *RHCE* gene. *Am J Hum Genet* 1996;59:825-33.
- 483 Tate H, Cunningham C, McDade MG, Tippet PA, Sanger R. An Rh gene complex Dc-. *Vox Sang* 1960;5:398-402.
- 484 Yamaguchi H, Okubo Y, Tomita T, Yamano H, Tanaka M. A case of Rh gene complex: cD-/cD- found in a Japanese. *Proc Jpn Acad* 1969;45:618-20.
- 485 Delmas-Marsalet Y, Goudemand M, Tippet P. Un nouvel exemple de génotype rhésus cD-/cD-. *Rev Franc Transfus* 1969;12:233-8.
- 486 Cotruello C, Biondi C, Garcia Rosasco M, Foresto P, Racca A, Valverde J. Deletion of E and e antigens in a pregnant woman. *Transfusion* 1996;36:191.
- 487 Leshon WC. The Rh gene complex cD- segregating in a Negro family. *Vox Sang* 1967;13:354-6.
- 488 Moores P, Vaaja U, Smart E. D- and Dc- gene complexes in the Coloureds and Blacks of Natal and the Eastern Cape and blood group phenotype and gene frequency studies in the Natal Coloured population. *Hum Hered* 1991;41:295-304.
- 489 Gunson HH, Donohue WL. Multiple examples of the blood genotype C^wD-/C^wD- in a Canadian family. *Vox Sang* 1957;2:320-31.
- 490 Tippet P, Gavin J, Sanger R. The antigen C^w produced by the gene complex C^wD-. *Vox Sang* 1962;7:249-50.
- 491 Salmon C, Gerbal A, Liberge G *et al.* Le complexe génique D^{IV} (C)-. *Rev Franc Transfus* 1969;12:239-47.
- 492 Perrier P, Habibi B, Salmon C. Allo antibodies in partially silent Rh phenotypes: evidence for a possibly new high frequency Rh antigen. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1980;23:327-39.
- 493 Habibi B, Perrier P, Salmon C. Antigen Nou: a new high frequency Rh antigen. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1981;24:117-20.
- 494 Hackel E. Rh antibodies in the serum of two -D/-D- people. *Vox Sang* 1957;2:331-41.
- 495 Buchanan DI. Blood genotypes -D/-D- and CDe/-D-: transfusion therapy and some effects of multiple pregnancy. *Am J Clin Pathol* 1956;26:21-8.
- 496 Blancher A, Roubinet F, Reid ME *et al.* Characterization of a macaque anti-Rh17-like monoclonal antibody. *Vox Sang* 1998;75:58-62.
- 497 Vos GH, Vos D, Kirk RL, Sanger R. A sample of blood with no detectable Rh antigens. *Lancet* 1961;i:14-15.
- 498 Ishimori T, Hasekura H. A Japanese with no detectable Rh blood group antigens due to silent Rh alleles or deleted chromosomes. *Transfusion* 1967;7:84-7.
- 499 Hasekura H, Ishimori T, Furusawa S *et al.* Haematological observations on the Rh[--- / ---] propositus, the homozygote of amorphic Rh blood group genes. *Proc Jpn Acad* 1971;47:579-83.
- 500 Kato-Yamazaki M, Okuda H, Kawano M *et al.* Molecular genetic analysis of the Japanese amorphic Rh_{null} phenotype. *Transfusion* 2000;40:617-18.
- 501 Seidl S, Spielmann W, Martin H. Two siblings with Rh_{null} disease. *Vox Sang* 1972;23:182-9.
- 502 Huang C-H, Chen Y, Reid ME, Seidl C. Rh_{null} disease: the amorph type results from a novel double mutation in RhCe gene on D-negative background. *Blood* 1998;92:664-71.
- 503 Pérez-Pérez C, Taliano V, Mouro I *et al.* Spanish Rh_{null} family caused by a silent Rh gene: hematological, serological, and biochemical studies. *Am J Hematol* 1992;40:306-12.
- 504 Gibbs BJ, Moores P. Rh_{null} red cells and pregnancy. *Vox Sang* 1983;45:83-6.
- 505 Huang C-H, Cheng G, Liu Z *et al.* Molecular basis for Rh_{null} syndrome: identification of three new missense mutations in the Rh50 glycoprotein gene. *Am J Hematol* 1999;62:25-32.
- 506 Huang C-H, Liu Z, Cheng G, Chen Y. Rh50 glycoprotein gene and Rh_{null} disease: a silent splice donor is trans to a Gly₂₇₉→Glu missense mutation in the conserved transmembrane segment. *Blood* 1998;92:1776-84.
- 507 Hyland CA, Cherif-Zahar B, Cowley N *et al.* A novel single missense mutation identified along the RH50 gene in a composite heterozygous Rh_{null} blood donor of the regulator type. *Blood* 1998;91:1458-63.
- 508 Cowley NM, Saul A, Cartron J-P, Hyland CA. A single point mutation at a splice site generates a silent RH50 gene in a composite heterozygous Rh_{null} blood donor. *Vox Sang* 1999;76:247-8.
- 509 Kawano M, Iwamoto S, Okuda H, Fukuda S, Hasegawa N, Kajii E. A splicing mutation of the RHAG gene associated with the Rh_{null} phenotype. *Ann Hum Genet* 1998;62:107-13.
- 510 Huang C-H, Cheng G-J, Reid ME, Chen Y. Rh_{null} syndrome: a family study of the translation-initiator mutation in the Rh50 glycoprotein gene. *Am J Hum Genet* 1999;64:108-17.
- 511 Chown B, Lewis M, Kaita H, Lowen B. An unlinked modifier of Rh blood groups: effects when heterozygous

- and when homozygous. *Am J Hum Genet* 1972; 24:623-37.
- 512 Carrton J-P. RH blood group system and molecular basis of Rh-deficiency. *Baillière's Clin Haematol* 1999;12:655-89.
- 513 Boettcher B, Hasekura H. Rh blood groups of Australian Aborigines in the tribe containing the original Rh_{null} propositus. *Vox Sang* 1971;21: 200-9.
- 514 Levine P, Celano MJ, Falkowski F, White Chambers J, Hunter OB, English CT. A second example of ---/--- or Rh_{null} blood. *Transfusion* 1965;5:492-500.
- 515 Senhauser DA, Mitchell MW, Gault DB, Owens JH. Another example of phenotype Rh_{null}. *Transfusion* 1970;10:89-92.
- 516 Gomez Casal G, Poderos Baeta C, Romero Colas MS et al. Déficit de antígenos eritrocitarios como causa de patología. II. Enfermedad del Rh-null. *Rev Clin Española* 1983;171:19-21.
- 517 Sistonen P, Palosuo T, Snellman A. Identical twins with the Rh_{null} phenotype of the regulator type in a Finnish Lapp family. *Vox Sang* 1985;48:174-7.
- 518 Ballas SK, Clark MR, Mohandas N et al. Red cell membrane and cation deficiency in Rh null syndrome. *Blood* 1984;63:1046-55.
- 519 Gabra GS, Bruce M, Watt A, Mitchell R. Anti-Rh29 in a primigravida with Rhesus null syndrome resulting in haemolytic disease of the newborn. *Vox Sang* 1987;53:143-6.
- 520 Lubenko A, Contreras M, Portugal CL et al. Severe haemolytic disease in an infant born to an Rh_{null} proposita. *Vox Sang* 1992;63:43-7.
- 521 Snowden JA, Poole J, Bates AJ et al. The Rh_{null} phenotype in an English individual: haematological, serological and immunochemical studies. *Clin Lab Haematol* 1997;19:143-8.
- 522 Naoki K, Uda M, Uchiyama B et al. Rh_{null} with naturally occurring antibody. *Transfusion* 1984;24:182-3.
- 523 Kishi K, Yasuda T, Uchida M. A Japanese patient with the rare Rh_{null} phenotype of the 'regulator type'. *J Immunogenet* 1987;14:261-4.
- 524 McGuire Mallory D, Rosenfield RE, Wong KY et al. Rh_{mod}: a second kindred (Craig). *Vox Sang* 1976;30: 430-40.
- 525 Stevenson MM, Anido V, Tanner AM, Swoyer J. Rh 'null' is not always null. *Br Med J* 1973;i:417.
- 526 Yamaguchi H, Okubo Y, Tanaka M, Tokunaga E, Amari S. Rare blood type Rh_{mod} occurring in two Japanese families. *Proc Jpn Acad* 1975;51:763-6.
- 527 Saji H, Hosoi T. A Japanese Rh_{mod} family: serological and haematological observations. *Vox Sang* 1979;37:296-304.
- 528 Steers FJ, Wallace M, Mora L et al. Rh_{mod} phenotype: a parentage problem solved by denaturing gradient gel electrophoresis of Genomic DNA. *Immunohematology* 1996;12:154-8.
- 529 Nagel V, Kneiphoff H, Pekker S et al. Unexplained appearance of antibody in an Rh_{null} donor. *Vox Sang* 1972;22:519-23.
- 530 Badon SJ, DeLong EN, Cable RG, Jagathambal K. Rh_{null} disease: a case report [Abstract]. *Transfusion* 1998;38(Suppl.):355.
- 531 Sturgeon P. Haematological observations on the anemia associated with blood type Rh_{null}. *Blood* 1970;36:310-20.
- 532 Schmidt PJ, Lostumbo MM, English CT, Hunter OB. Aberrant U blood group accompanying Rh_{null}. *Transfusion* 1967;7:33-4.
- 533 McGinniss MH, Kaplan HS, Bowen AB, Schmidt PJ. Agglutinins for 'null' red blood cells. *Transfusion* 1969;9:40-2.
- 534 McGinniss MH, Schmidt PJ, Perry MC. An autoagglutinin for 'null' red blood cells [Abstract]. 26th Ann Mtg Am Ass Blood Banks 1973: 114-15.
- 535 Schmidt PJ, Vos GH. Multiple phenotypic abnormalities associated with Rh_{null} (---/---). *Vox Sang* 1967;13:18-20.
- 536 Nash R, Shojania AM. Hematological aspect of Rh deficiency syndrome: a case report and a review of the literature. *Am J Hematol* 1987;24:267-75.
- 537 Smith JA, Lucas FV, Martin AP, Senhauser DA, Vorbeck ML. Lipid-protein interactions of erythrocyte membranes: comparison of normal, O,Rh(D) positive with the rare O,Rh_{null}. *Biochem Biophys Res Commun* 1973;54:1015-23.
- 538 Kuypers F, van Linde-Sibenius-Trip M, Roelofsen B et al. Rh_{null} human erythrocytes have an abnormal membrane phospholipid organization. *Biochem J* 1984;221:931-4.
- 539 Lauf PK, Joiner CH. Increased potassium transport and ouabain binding in human Rh_{null} red blood cells. *Blood* 1976;48:457-68.
- 540 Issitt PD. Null red blood cell phenotypes: associated biological changes. *Transfus Med Rev* 1993;7:139-55.
- 541 Kornstad L. A rare blood group antigen, Ol^a (Oldeide), associated with weak Rh antigens. *Vox Sang* 1986;50:235-9.
- 542 Hoffman JJML, Overbeeke MAM, Kaita H, Loomans AAI. A new, low incidence red cell antigen (HOFM), associated with depressed C antigen. *Vox Sang* 1990;59:240-3.
- 543 Coghlan G, McCreary J, Underwood V, Zelinski T. A 'new' low-incidence red cell antigen, LOCR, associated with altered expression of Rh antigens. *Transfusion* 1994;34:492-5.
- 544 Cobb ML. Crawford: investigation of a new low frequency red cell antigen [Abstract]. *Transfusion* 1980;20:631.
- 545 Larson PJ, Lukas MB, Friedman DE, Manno CS. Delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-Go^a, an antibody against the low-prevalence Gonzalez antigen. *Am J Hematol* 1996;53:248-50.

- 546 Reid ME, Sausais L, Zaroulis CG *et al.* Two examples of an inseparable antibody that reacts equally well with D^u+ and Rh32+ red blood cells. *Vox Sang* 1998;75:230-3.
- 547 Devey ME, Voak D. A critical study of the IgG subclasses of Rh anti-D antibodies formed in pregnancy and in immunized volunteers. *Immunology* 1974;27:1073-9.
- 548 Hardman JT, Beck ML. Hemagglutination in capillaries: correlation with blood group specificity and IgG subclass. *Transfusion* 1981;21:343-6.
- 549 Frame M, Mollison PL, Terry WD. Anti-Rh activity of human γ G4 proteins. *Nature* 1970;225:641-3.
- 550 Abramson N, Schur PH. The IgG subclasses of red cell antibodies and relationship to monocyte binding. *Blood* 1972;40:500-8.
- 551 Hughes-Jones N, Ghosh S. Anti-D-coated Rh-positive red cells will bind the first component of the complement pathway, C1q. *FEBS Lett* 1981;128:318-20.
- 552 Waller M, Lawler SD. A study of the properties of the Rhesus antibody (Ri) diagnostic for the rheumatoid factor and its application to Gm grouping. *Vox Sang*, 1962; 7:591-606.
- 553 Harboe M, Müller-Eberhard HJ, Fudenberg H, Polley MJ, Mollison PL. Identification of the components of complement participating in the antiglobulin reaction. *Immunology* 1963;6:412-20.
- 554 Ayland J, Horton MA, Tippet P, Waters AH. Complement binding anti-D made in a D^u variant woman. *Vox Sang* 1978;34:40-2.
- 555 Contreras M, de Silva M, Teesdale P, Mollison PL. The effect of naturally occurring Rh antibodies on the survival of serologically incompatible red cells. *Br J Haematol* 1987;65:475-8.
- 556 Algorta M, Barbolla L, Contreras M. Naturally occurring anti-D, anti-K, anti-Fy^a, and anti-Le^b. *Vox Sang* 1991;61:141.
- 557 Perrault RA, Högman CE. Low concentration red cell antibodies. III. 'Cold' IgG anti-D in pregnancy: incidence and significance. *Acta Universitatis Upsaliensis*, 1972:120.
- 558 Leader KA, Macht LM, Steers F, Kumpel BM, Elson CJ. Antibody responses to the blood group antigen D in SCID mice reconstituted with human blood mononuclear cells. *Immunology* 1992;76:229-34.
- 559 Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495-7.
- 560 Steinitz M, Klein G, Koskimies S, Makel O. EB virus-induced B lymphocyte cell lines producing specific antibody. *Nature* 1977;269:420-2.
- 561 Crawford DH, Barlow MJ, Harrison JE, Winger L, Huehns ER. Production of human monoclonal antibody to Rhesus D antigen. *Lancet* 1983;ii:386-8.
- 562 Doyle A, Jones TJ, Bidwell JL, Bradley BA. *In vitro* development of human monoclonal antibody-secreting plasmacytomas. *Hum Immunol* 1985;13:199-209.
- 563 Paire J, Monestier M, Rigal D, Martel F, Desgranges C. Establishment of human cell lines producing anti-D monoclonal antibodies: identification of rhesus D antigen. *Immunol Lett* 1986;13:137-41.
- 564 Goossens D, Champomier F, Rouger P, Salmon C. Human monoclonal antibodies against blood group antigens. Preparation of a series of stable EBV immortalized B clones producing high levels of antibody of different isotypes and specificities. *J Immunol Methods* 1987;101:193-200.
- 565 Kumpel BM, Poole GD, Bradley BA. Human monoclonal anti-D antibodies. I. Their production, serology, quantitation and potential use as blood grouping reagents. *Br J Haematol* 1989;71:125-9.
- 566 Melamed MD, Gordon J, Ley SJ, Edgar D, Hughes-Jones NC. Senescence of a human lymphoblastoid clone producing anti-Rhesus (D). *Eur J Immunol* 1985;15:742-6.
- 567 Kozbor D, Roder JC, Chang TH, Steplewski Z, Koprowski H. Human anti-tetanus toxoid monoclonal antibody secreted by EBV-transformed human B cells fused with murine myeloma. *Hybridoma* 1982;1:523-8.
- 568 Thompson KM, Hough DW, Maddison PJ, Melamed MD, Hughes-Jones N. The efficient production of stable, human monoclonal antibody-secreting hybridomas from EBV-transformed lymphocytes using the mouse myeloma X63-Ag8.653 as a fusion partner. *J Immunol Methods* 1986;94:7-12.
- 569 Thompson KM, Melamed MD, Eagle K *et al.* Production of human monoclonal IgG and IgM antibodies with anti-D (rhesus) specificity using heterohybridomas. *Immunology* 1986;58:157-60.
- 570 MacDonald G, Primrose S, Biggins K *et al.* Production and characterization of human-human and human-mouse hybridomas secreting Rh(D)-specific monoclonal antibodies. *Scand J Immunol* 1987;25:477-83.
- 571 Melamed MD, Thompson KM, Gibson T, Hughes-Jones NC. Requirements for the establishment of heterohybridomas secreting monoclonal human antibody to rhesus (D) blood group antigen. *J Immunol Methods* 1987;104:245-51.
- 572 Bron D, Feinberg MB, Teng NNH, Kaplan HS. Production of human monoclonal IgG antibodies against Rhesus (D) antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81: 3214-17.
- 573 Foung SKH, Blunt JA, Wu PS *et al.* Human monoclonal antibodies to Rho (D). *Vox Sang* 1987;53:44-7.
- 574 Thompson JM, Lowe J, McDonald DE. Human monoclonal anti-D secreting heterohybridomas from peripheral B lymphocytes expanded in the CD40 system. *J Immunol Methods* 1994;175:137-40.
- 575 Lowe AD, Green SM, Voak D, Gibson T, Lennox ES. A human-human monoclonal anti-D by direct fusion with a lymphoblastoid line. *Vox Sang* 1986;51:212-6.
- 576 James K, Bell GT. Human monoclonal antibody pro-

- duction: current status and future prospects. *J Immunol Methods* 1987;100:5-40.
- 577 Crawford DH, Azim T, Daniels GL, Huehns ER. Monoclonal antibodies to the Rh D antigen. In: Cash, JD, ed. *Progress in Transfusion Medicine*, Vol. 3. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1988: 175-97.
 - 578 McCann MC, James K, Kumpel BM. Production and use of human monoclonal anti-D antibodies. *J Immunol Methods* 1988;115:3-15.
 - 579 Scott ML. Monoclonal anti-D for immunoprophylaxis. *Vox Sang* 2001;81:213-8.
 - 580 Lambin P, Rouger P, Goossens D *et al*. Idiotypic specificity of a human monoclonal anti-Rhesus(D) antibody. *Ann Inst Pasteur/Immunol* 1986;137D:383-90.
 - 581 Walker RY, Andrew S, Kumpel BM, Austin EB. Murine monoclonal antibodies reactive with a human monoclonal anti-RhD antibody (BRAD-5). *Transfus Med* 2000;10:225-31.
 - 582 Thorpe SJ, Boulton CE, Stevenson FK *et al*. Cold agglutinin activity is common among human monoclonal IgM Rh system antibodies using the V₄₋₃₄ heavy chain variable segment. *Transfusion* 1997;37:1111-16.
 - 583 Thorpe SJ, Turner CE, Stevenson FK *et al*. Human monoclonal antibodies encoded by the V4-34 gene segment show cold agglutinin activity and variable multireactivity which correlates with the predicted charge of the heavy-chain variable region. *Immunology* 1998;93:129-36.
 - 584 Thorpe SJ, Boulton CE, Bailey SW, Thompson KM. The basis of unexpected cross-reactions shown by human monoclonal antibodies against blood group antigens as revealed by immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem* 1996;4:190-200.
 - 585 Williams M. Monoclonal reagents for Rhesus-D typing of Irish patients and donors: a review. *Br J Biomed Sci* 2000;57:142-9.
 - 586 Hoogenboom HR, Marks JD, Griffiths AD, Winter G. Building antibodies from genes. *Immunol Rev* 1992;130:41-68.
 - 587 Marks JD, Ouwehand WH, Bye JM *et al*. Human antibody fragments specific for human blood group antigens from a phage display library. *BioTechnology* 1993;11:1145-9.
 - 588 Hughes-Jones NC, Gorick BD, Bye JM *et al*. Characterization of human blood group scFv antibodies derived from a V gene phage-display library. *Br J Haematol* 1994;88:180-6.
 - 589 Dziegiel M, Nielsen LK, Andersen PS *et al*. Phage display used for gene cloning of human recombinant antibody against the erythrocyte surface antigen, rhesus D. *J Immunol Methods* 1995;182:7-19.
 - 590 Edelman L, Margaritte C, Chaabihi H *et al*. Obtaining a functional recombinant anti-rhesus (D) antibody using the baculovirus-insect cells expression system. *Immunology* 1997;91:13-19.
 - 591 Miescher S, Zahu-Zabal M, De Jesus M *et al*. CHO expression of a novel human recombinant IgG1 anti-RhD antibody isolated by phage display. *Br J Haematol* 2000;111:157-66.
 - 592 Bye JM, Carter C, Cui Y *et al*. Germline variable region gene segment derivation of human monoclonal anti-Rh (D) antibodies. Evidence for affinity maturation by somatic hypermutation and repertoire shift. *J Clin Invest* 1992;90:2481-90.
 - 593 Boucher G, Broly H, Lemieux R. Restricted use of cationic germline V_{H1} gene segments in human Rh(D) red cell antibodies. *Blood* 1997;89:3277-86.
 - 594 Hughes-Jones NC, Bye JM, Gorick BD, Marks JD. Synthesis of Rh Fv phage-antibodies using VH and VL germline genes. *Br J Haematol* 1999;105:811-16.
 - 595 Perera WS, Moss MT, Urbaniak SJ. V(D)J germline gene repertoire analysis of monoclonal D antibodies and the implication for D epitope specificity. *Transfusion* 2000;40:846-55.
 - 596 Tovey LAD. Towards the conquest of Rh haemolytic disease: Britain's contribution and the role of serendipity. *Transfus Med* 1992;2:99-109.
 - 597 Kumpel BM, Elson CJ. Mechanism of anti-D-mediated immune suppression: a paradox awaiting resolution? *Trend Immunol* 2001;22:26-31.
 - 598 Urbaniak SJ, Greiss MA. RhD haemolytic disease of the fetus and the newborn. *Blood Rev* 2000;14:44-61.
 - 599 Royal College of Physicians of Edinburgh and Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Statement from the Consensus Conference on Anti-D Prophylaxis. *Vox Sang* 1998;74:127-8 and *Transfusion* 1998;38:97-9.
 - 600 Lee D, Contreras M, Robson SC, Rodeck CH, Whittle MJ. Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. *Transfus Med* 1999;9:93-7.
 - 601 Bowman JM. The prevention of Rh immunization. *Transfus Med Rev* 1988;2:129-50.
 - 602 Hadley AG. In vitro assays to predict the severity of hemolytic disease of the newborn. *Transfus Med Rev* 1995;9:302-13.
 - 603 Report from nine collaborating laboratories. Results of tests with different cellular bioassays in relation to severity of RhD haemolytic disease. *Vox Sang* 1991;60:225-9.
 - 604 Garner SF, Gorick BD, Lai WYY *et al*. Prediction of the severity of haemolytic disease of the newborn: quantitative IgG anti-D subclass determinations explain the correlation with functional assay results. *Vox Sang* 1995;68:169-76.
 - 605 Thomson A, Contreras M, Gorick B *et al*. Clearance of Rh D-positive red cells with monoclonal anti-D. *Lancet* 1990;336:1147-9.
 - 606 Kumpel B, Goodrick J, Pamphilon DH *et al*. Human Rh D monoclonal antibodies (BRAD-3 and BRAD) cause accelerated clearance of Rh D⁺ red blood cells and sup-

- pression of Rh D immunization in Rh D⁻ volunteers. *Blood* 1995;86:1701-9.
- 607 Smith NA, Ala FA, Lee D *et al*. A multi-centre trial of monoclonal anti-D in the prevention of Rh-immunisation of RhD⁻ male volunteers by RhD⁺ red cells [Abstract]. *Transfus Med* 2000;10(Suppl.1):8.
 - 608 Stott L-M, Barker RN, Urbaniak SJ. Identification of alloreactive T-cell epitopes on the Rhesus D protein. *Blood* 2000;96:4011-19.
 - 609 Dooren MC, Kuipers RWAM, Joekes EC *et al*. Protection against immune haemolytic disease of newborn infants by maternal monocyte-reactive IgG alloantibodies (anti-HLA-DR). *Lancet* 1992;339:1067-70.
 - 610 Shepard SL, Noble AL, Filbey D, Hadley AG. Inhibition of the monocyte chemiluminescent response to anti-D sensitized red cells by FcγRI-blocking antibodies which ameliorate the severity of haemolytic disease of the newborn. *Vox Sang* 1996;70:157-63.
 - 611 Astrup J, Kornstad L. Presence of anti-c in the serum of 42 women giving birth to c positive babies: serological and clinical findings. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1977;56:185-8.
 - 612 Hardy J, Napier JAF. Red cell antibodies detected in antenatal tests on Rhesus positive women in south and mid Wales, 1948-78. *Br J Obstet Gynaecol* 1981;88:91-100.
 - 613 Kozlowski CL, Lee D, Shwe KH, Love EM. Quantitation of anti-c in haemolytic disease of the newborn. *Transfus Med* 1995;5:37-42.
 - 614 Harrison CR, Hayes TC, Trow LL, Benedetto AR. Intravascular hemolytic transfusion reaction without detectable antibodies: a case report and review of the literature. *Vox Sang* 1986;51:96-101.
 - 615 Foung SKH, Blunt J, Perkins S, Winn L, Grumet FC. A human monoclonal antibody to rh^C. *Vox Sang* 1986;50:160-3.
 - 616 Thompson K, Barden G, Sutherland J, Beldon I, Melamed M. Human monoclonal antibodies to C, c, E, e and G antigens of the Rh system. *Immunology* 1990;71:323-7.
 - 617 Mannesier L, Horbez C, Broly H. Caractérisation et validation d'un anticorps monoclonal humain anti-C. *Rev Franc Transfus Hémodiol* 1991;34:403-8.
 - 618 Issitt PD, Combs MR, Bredehoeft SJ *et al*. Lack of clinical significance of 'enzyme-only' red cell alloantibodies. *Transfusion* 1993;33:284-93.
 - 619 Devenish A, Kay LA. Hemolytic transfusion reactions due to anti-c+f detectable only by nonstandard serologic techniques. *Immunohematology* 1994;10:120-3.
 - 620 Jemmolo G, Malferrari E, Tazzari PL, Conte R. Critical review of protease-treated red cell tests for the detection of irregular blood group antibodies during pregnancy. *Vox Sang* 1995;69:144.
 - 621 Hundric-Haspl Z, Jurakovic-Loncar N, Grgicevic D. Enzyme-only blood group alloantibodies in pregnancy. *Transfusion* 1998;38:318.
 - 622 Judd WJ, Davenport RD, Suchi M. An 'enzyme-only' IgG C3-binding alloanti-C causing an acute hemolytic transfusion reaction [Abstract]. *Transfusion* 2000;40(Suppl.):119S.
 - 623 Garner SF, Devenish A, Barber H, Contreras M. The importance of monitoring 'enzyme-only' red cell antibodies during pregnancy. *Vox Sang* 1991;61:219-20.
 - 624 Garratty G. Target antigens for red-cell-bound autoantibodies. In: SJ Nance, ed. *Clinical and Basic Science Aspects of Immunohematology*. Arlington: American Association of Blood Banks, 1991: 33-72.
 - 625 Garratty G. Specificity of autoantibodies reacting optimally at 37°C. *Immunohematology* 1999;15:24-40.
 - 626 Weiner W, Battey DA, Cleghorn TE, Marson FGW, Meynell MJ. Serological findings in a case of haemolytic anaemia with some general observations on the pathogenesis of this syndrome. *Br Med J* 1953;ii:125-8.
 - 627 Bell CA, Zwicker H, Sacks HJ. Autoimmune hemolytic anemia: routine serologic evaluation in a general hospital population. *Am J Clin Pathol* 1973;60:903-11.
 - 628 Issitt PD, Pavone BG, Goldfinger D *et al*. Anti-Wr^b, and other autoantibodies responsible for positive direct antiglobulin tests in 150 individuals. *Br J Haematol* 1976;34:5-18.
 - 629 Issitt PD, Zellmer DC, Rolih SD, Duckett JB. Autoantibodies mimicking alloantibodies. *Transfusion* 1977;17:531-8.
 - 630 Longster GH, Johnson E. IgM anti-D as auto-antibody in a case of 'cold' auto-immune haemolytic anaemia. *Vox Sang* 1988;54:174-6.
 - 631 Weiner W, Vos GH. Serology of acquired hemolytic anemias. *Blood* 1963;22:606-13.
 - 632 van't Veer MB, van Wieringen PMV, van Leeuwen I *et al*. A negative direct antiglobulin test with strong IgG red cell autoantibodies present in the serum of a patient with autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol* 1981;49:383-6.
 - 633 Issitt PD, Gruppo RA, Wilkinson SL, Issitt CH. A typical presentation of acute paluse, antibody-induced haemolytic anaemia in an infant. *Br J Haematol* 1982;52:537-43.
 - 634 Anderson LD, Race GJ, Owen M. Presence of anti-D antibody in an Rh(D)-positive person. *Am J Clin Pathol* 1958;30:228-9.
 - 635 Chown B, Kaita H, Lewis M, Roy RB, Wyatt L. A 'D-positive' man who produced anti-D. *Vox Sang* 1963;8:420-9.
 - 636 Krikler SH, Ferguson DJ, Akabutu JJ, Lomas CG. Transient anti-D in an Rh-positive patient with congenital dyserythropoietic anemia type II. *Transfusion* 1984;24:169-70.
 - 637 Lalezari P, Talleyrand NP, Wenz B, Schoenfeld ME, Tippet P. Development of direct antiglobulin reaction accompanying alloimmunization in a patient with Rh^d (D, Category III) phenotype. *Vox Sang* 1975;28:19-24.

- 638 Macpherson CR, Stevenson TD, Gayton J. Anti-D in a D-positive man, with positive direct Coombs test and normal red cell survival. *Am J Clin Pathol* 1966;45:748-50.
- 639 Church A, Storry J, Jefferies LC. Uncommon presentation of auto anti-D in a D mosaic individual [Abstract]. *Transfusion* 1991;31(Suppl.):285.
- 640 Ramsey G, Israel L, Lindsay GD, Mayer TK, Nusbacher J. Anti-Rho (D) in two Rh-positive patients receiving kidney grafts from an Rh-immunized donor. *Transplantation* 1986;41:67-9.
- 641 Swanson J, Sebring E, Sastamoinen R, Chopek M. Gm allotyping to determine the origin of the anti-D causing hemolytic anemia in a kidney transplant recipient. *Vox Sang* 1987;52:228-30.
- 642 Ramsey G. Red cell antibodies arising from solid organ transplants. *Transfusion* 1991;31:76-86.
- 643 Ramsey G, Kiss JE, Sacher RA, Fernandez C, Starzl TE. Rh antibodies in two patients receiving liver and kidney-pancreas grafts from the same Rh-sensitized donor [Abstract]. *Joint Congr Int Soc Blood Transfus and Am Assoc Blood Banks* 1990: 198.
- 644 Kim BK, Whittett CF, Hillyer CD. Donor origin Rh antibodies as a cause of significant hemolysis following ABO-identical orthotopic liver transplantation. *Immunohematology* 1992;8:100-1.
- 645 Lee J-H, Mintz PD. Graft versus host anti-Rho (D) following minor Rh-incompatible orthotopic liver transplantation. *Am J Hematol* 1993;44:168-71.
- 646 Knoop C, Andrien M, Antoine M *et al*. Severe hemolysis due to a donor anti-D antibody after heart-lung transplantation: association with lung and blood chimerism. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:504-6.
- 647 Larrea L, de la Rubia J, Arriaga E, Sanchez J, Marty ML. Severe hemolytic anemia due to anti-E after renal transplantation. *Transplantation* 1997;64:550-1.
- 648 Lasky LC, Warkentin PI, Kersey JH *et al*. Hemotherapy in patients undergoing blood group incompatible bone marrow transplantation. *Transfusion* 1983;23:277-85.
- 649 Hows J, Beddow K, Gordon-Smith E *et al*. Donor-derived red blood cell antibodies and immune hemolysis after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1986;67:177-81.
- 650 Gandini G, Franchini M, de Gironcoli M *et al*. Detection of an anti-RhD antibody 2 years after sensitization in a patient who had undergone an allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:457-9.
- 651 Heim MU, Schleuning M, Eckstein R *et al*. Rh antibodies against the pretransplant red cells following Rh-incompatible bone marrow transplantation. *Transfusion* 1988;28:272-5.
- 652 Anstee DJ, Edwards PAW. Monoclonal antibodies to human erythrocytes. *Eur J Immunol* 1982;12:228-32.
- 653 Bourel D, Lecointre M, Genetet N, Gueguen-Duchesne M, Genetet B. Murine monoclonal antibody suitable for use as an Rh reagent, anti-e. *Vox Sang* 1987;52:85-8.
- 654 Fraser RH, Inglis G, Allan JC *et al*. Murine monoclonal antibody with e-like specificity: suitability for screening for e-negative cells. *Transfusion* 1990;30:226-9.
- 655 Sonneborn H-H, Ernst M, Tills D *et al*. Comparison of the reactions of the Rh-related murine monoclonal antibodies B558 and R6A. *Vox Sang* 1990;58:219-23.
- 656 Tovey GH, Lockyer JW, Tierney RBH. Changes in Rh grouping reactions in a case of leukaemia. *Vox Sang* 1961;6:628-31.
- 657 Levan A, Nichols WW, Hall B *et al*. Mixture of Rh positive and Rh negative erythrocytes and chromosomal abnormalities in a case of polycythemia. *Hereditas* 1964;52:89-105.
- 658 Mannoni P, Bracq C, Yvart J, Salmon C. Anomalie de fonctionnement du locus Rh au cours d'une myélofibrose. *Nouv Rev Franc Hématol* 1970;10:381-8.
- 659 Callender ST, Kay HEM, Lawler SD *et al*. Two populations of Rh groups together with chromosomally abnormal cell lines in the bone marrow. *Br Med J* 1971;i:131-3.
- 660 Habibi B, Lopez M, Salmon C. Two new cases of Rh mosaicism: selective study of red cell populations. *Vox Sang* 1974;27:232-42.
- 661 Bracey AW, McGinniss MH, Levine RM, Whang-Peng J. Rh mosaicism and aberrant MNSs antigen expression in a patient with chronic myelogenous leukemia. *Am J Clin Pathol* 1983;79:397-401.
- 662 Marsh WL, Chaganti RSK, Gardner FH *et al*. Mapping human autosomes: evidence supporting assignment of Rhesus to the short arm of chromosome 1. *Science* 1974;183:966-8.
- 663 Cooper B, Tishler PV, Atkins L, Breg WR. Loss of Rh antigen associated with acquired Rh antibodies and a chromosome translocation in a patient with myeloid metaplasia. *Blood* 1979;54:642-7.
- 664 Mohandas K, Najfeld V, Gilbert H, Azar P, Skerrett D. Loss and reappearance of Rh₀ (D) antigen in an individual with acute myelogenous leukemia. *Immunohematology* 1994;10:134-5.
- 665 Chérif-Zahar B, Bony V, Steffensen R *et al*. Shift from Rh-positive to Rh-negative phenotype caused by a somatic mutation within the RHD gene in a patient with chronic myelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1998;102:1263-70.
- 666 Vogt E. Norsk forening for medisinsk blodtypeserologi. *Nordisk Med* 1964;71:510.
- 667 Muller A, Seger J, Garretta M *et al*. Mosaicisme Rh par mutation dans une gémellité monozygote. *Rev Franc Transfus Immuno-Hémat* 1978;21:151-63.
- 668 Salaru NNR, Lay WH. Rh blood group mosaicism in a healthy elderly woman. *Vox Sang* 1985;48:362-5.
- 669 Jenkins WJ, Marsh WL. Somatic mutation affecting the Rhesus and Duffy blood group systems. *Transfusion* 1965;5:6-10.
- 670 Northoff H, Goldmann SF, Lattke H, Steinbach P. A patient, mosaic for Rh and Fy antigens lacking other signs

- of chimerism or chromosomal disorder. *Vox Sang* 1984;47:164-9.
- 671 Marsh WL, Chaganti RSK. Blood group mosaicism involving the Rhesus and Duffy blood groups. *Transfusion* 1973;13:314-5.
 - 672 Gemke RJB, Kanhai HH, Overbeeke MAM *et al*. ABO and Rhesus phenotyping of fetal erythrocytes in the first trimester of pregnancy. *Br J Haematol* 1986;64:689-97.
 - 673 Garritsen HSP, Benachi A, Surbek D *et al*. Rhesus D antigen expression during fetal development [Abstract]. *Infusionsther Transfusionmed* 1997;24:190-3.
 - 674 Benachi A, Garritsen HSP, Howard CM, Bennett P, Fisk NM. Absence of expression of RhD by human trophoblast cells. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:294-9.
 - 675 Green CA, Daniels GL. The development of Rh antigens on erythroid precursor cells [Abstract]. *Transfusion* 1998;38(Suppl.):625.
 - 676 Rearden A, Masouedis SP. Blood group D antigen content of nucleated red cell precursors. *Blood* 1977;50:981-6.
 - 677 Dunstan RA, Simpson MB, Rosse WF. Erythrocyte antigens on human platelets. Absence of Rh, Duffy, Kell, Kidd, and Lutheran antigens. *Transfusion* 1984;24:243-6.
 - 678 Dunstan RA. Status of major red cell blood group antigens on neutrophils, lymphocytes and monocytes. *Br J Haematol* 1986;62:301-9.
 - 679 Marini A-M, Vissers S, Urrestarazu A, André B. Cloning and expression of the *MEP1* gene encoding an ammonium transporter in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J* 1994;13:3456-63.
 - 680 Ninnemann O, Jauniaux J-C, Frommer WB. Identification of a high affinity NH_4^+ transporter from plants. *EMBO J* 1994;13:3864-471.
 - 681 Thomas GH, Mullins JG, Merrick M. Membrane topology of the Mep/Amt family of ammonium transporters. *Mol Microbiol* 2000;37:331-44.
 - 682 Marini A-M, Urrestarazu A, Beauwens R, André B. The Rh (Rhesus) blood group polypeptides are related to NH_4^+ transporters. *Trends Biochem Sci* 1997;22:460-1.
 - 683 Heitman J, Agre P. A new face of the Rhesus antigen. *Nature Genet* 2000;26:258-9.
 - 684 Schroit AJ, Bloy C, Connor J, Cartron J-P. Involvement of Rh blood group polypeptides in the maintenance of aminophospholipid asymmetry. *Biochemistry* 1990;29:10303-6.
 - 685 Zachowski A. Phospholipids in animal eukaryotic membranes. transverse asymmetry and movement. *Biochem J* 1993;294:1-14.
 - 686 Smith RE, Daleke DL. Phosphatidylserine transport in Rh_{null} erythrocytes. *Blood* 1990;76:1021-7.
 - 687 Geldwerth D, Chérif-Zahar B, Helley D *et al*. Phosphatidylserine exposure and aminophospholipid translocase activity in Rh-deficient erythrocytes. *Mol Membrane Biol* 1997;14:125-32.
 - 688 Kitano T, Sumiyama K, Shiroishi T, Saitou N. Conserved evolution of the Rh50 gene compared to its homologous Rh blood group gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;249:78-85.
 - 689 Matassi G, Chérif-Zahar B, Pesole G, Raynal V, Cartron JP. The members of the RH gene family (*RH50* and *RH30*) followed different evolutionary pathways. *J Mol Evol* 1999;48:151-9.
 - 690 Kitano Y, Saitou N. Evolutionary history of the Rh blood group-related genes in vertebrates. *Immunogenetics* 2000;51:856-62.
 - 691 Westhoff CM, Wylie DE. Investigation of the human Rh blood group system in nonhuman primates and other species with serologic and Southern blot analysis. *J Mol Evol* 1994;39:87-92.
 - 692 Saboori AM, Denker BM, Agre P. Isolation of proteins related to the Rh polypeptides from nonhuman erythrocytes. *J Clin Invest* 1989;83:187-91.
 - 693 Mouro I, Le Van Kim C, Chérif-Zahar B *et al*. Molecular characterization of the Rh-like locus and gene transcripts from the Rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J Mol Evol* 1994;38:169-76.
 - 694 Blancher A, Reid ME, Socha WW. Cross-reactivity of antibodies to human and primate red cell antigens. *Transfus Med Rev* 2000;14:161-79.
 - 695 Carritt B, Kemp TJ, Poulter M. Evolution of the human RH (rhesus) blood group genes: a 50 year old prediction (partially) fulfilled. *Hum Molec Genet* 1997;6:843-50.
 - 696 Blancher A, Socher WW. The Rhesus system. In: A Blancher, J Klein, WW Socha, eds. *Molecular Biology and Evolution of Blood Group and MHC Antigens in Primates*. Berlin: Springer, 1997: 147-218.
 - 697 Fisher RA, Race RR. Rh gene frequencies in Britain. *Nature* 1946;157:48-9.
 - 698 Rosenfield RE, Haber GV, Schroeder R, Ballard R. Problems in Rh typing as revealed by a single Negro family. *Am J Hum Genet* 1960;12:147-59.
 - 699 Le Pennec PY, Rouger P, Klein MT *et al*. A serologic study of red cells and sera from 18 Rh: 32, -46 ($\text{R}^{\text{N}}/\text{R}^{\text{N}}$) persons. *Transfusion* 1989;29:798-802.
 - 700 Delehanthy CL, Wilkinson SL, Issitt PD *et al*. Riv: a new low incidence Rh antigen [Abstract]. *Transfusion* 1983;23:410.
 - 701 Contreras M, Stebbing B, Blessing M, Gavin J. The Rh antigen Evans. *Vox Sang* 1978;34:208-11.
 - 702 Lomas C, Poole J, Salaru N *et al*. A low-incidence red cell antigen JAL associated with two unusual Rh gene complexes. *Vox Sang* 1990;59:39-43.
 - 703 Chérif-Zahar B, Matassi G, Raynal V *et al*. Molecular defects of the *RHCE* gene in the Rh-deficient individuals of the amorph type. *Blood* 1998;92:639-46.
 - 704 Chérif-Zahar B, Matassi G, Raynal V, *et al*. Rh-deficiency of the regulator type caused by splicing mutations in the human *RH50* gene. *Blood* 1998;92:2535-40.