

- [6] Fan X, Gao Q, Fu R. DNA vaccine encoding ESAT-6 enhances the protective efficacy of BCG against *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice [J]. *Scand J Immunol*, 2007, 66 (5) : 523-528.
- [7] McShane H, Brookes R, Gilbert SC, et al. Enhanced immunogenicity of CD4 (+) t-cell responses and protective efficacy of a DNA-modified vaccinia virus Ankara prime-boost vaccination regimen for murine tuberculosis [J]. *Infect Immun*, 2001, 69(2) : 681-686.
- [8] 马姬, 何巍, 吴文鹏, 等. 结核分枝杆菌早期分泌性蛋白 ESAT-6 的原核表达及纯化 [J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 23(3) : 267-269.
- [9] 郭建, 范小勇, 马辉, 等. 结核分枝杆菌 ESAT-6 重组二聚体的表达、纯化及其在血清学诊断中的初步应用 [J]. 中国生物制品学杂志, 2009, 22(2) : 128-131.
- [10] 姜燕, 吕昌龙. 稳定表达 Ag85A 蛋白细胞系的建立 [J]. 中国生物制品学杂志, 2009, 22(10) : 964-967.

(收稿日期 2010-03-10)

中国图书分类号 R457.1+1 文献标识码 A 文章编号 1004-5503(2010)11-1157-01

【临床观察】

15 例 RhD 阴性基因的多态性检测

孙喜东¹ 鲁淋²

Rh 血型系统是人类红细胞血型系统中最复杂和最富有多态性的一个系统,其临床意义仅次于 ABO 血型系统。在 Rh 血型系统中,抗原抗体不匹配能引起溶血性输血反应、新生儿溶血病和自身免疫性溶血性贫血。Rh 血型系统具有高度的多态性,由多种抗原(D、C、c、E、e 等)组成,其中最重要的是 D 抗原。在血清学检测中,基于红细胞上 D 抗原的有无,分为 Rh 阳性和 Rh 阴性。我国汉族及大多数民族中 Rh 阳性者约占 99.66%,个别少数民族约为 90%。近几年的研究表明,RHD 基因遗传背景存在种族差异。本文采用 PCR 法对 200 例 RhD(+),15 例 RhD(-)样本进行基因检测,以探讨中国人 RHD 基因的结构特征。

1. RhD 基因多态性检测

1.1 Rh 血型抗原表型检测:采用长春博讯公司的微柱凝胶 Rh 抗原检测卡及德国 Bio-test 公司的抗-D 单克隆抗体检测 15 例 RhD(-)样本的 RhD 血型抗原表型。

1.2 RHD 基因检测:采用长春博德生物技术有限公司提供的基因组 DNA 快速抽提试剂盒提取 200 例无血缘关系的 RhD(+),15 例无血缘关系的 RhD(-)汉族人血液样本 DNA,用该公司制备的 RhD 8 个外显子(3~10)诊断试剂盒检测上述 RHD 基因的多态性。循环参数 94℃ 5 min 预变性 94℃ 30 s,5℃ 30 s,72℃ 30 s,共 30 个循环,最后 72℃ 延伸 5 min,4℃ 保存。2%琼脂糖电泳鉴定。

2. 检测结果

2.1 Rh 表型:15 例 RhD(-)血液样本经微柱凝胶法和 PCR-

SSP 法检测,结果一致,其 Rh 表型分为 dcee 10 例, dCcee 3 例, dCCee 1 例, dccEe 1 例。

2.2 RHD 基因检测:200 例 RhD(+)样本经 PCR-SSP 法检测,均检出 RHD 基因的 8 个外显子,15 例 RhD(-)样本中检出 11 例样本的 8 个外显子全部缺失(占 73.33%),1 例样本 8 个外显子部分存在(占 0.67%),3 例样本 8 个外显子全部存在(占 2.00%)。

3. 结果分析

在欧美白种人中,Rh 阳性血型约占 85%,Rh 阴性血型约占 15%,其 Rh 阴性血型的比例远高于我国。绝大多数白种人中,RhD 阴性个体 RHD 基因全部缺失,这代表了绝大多数 RhD 阴性的机制。但在不同人群中,RH 阴性表现型的频率不同,因此阴性机制也存在较大差异。大量研究表明,中国人中 RhD 阴性个体 RHD 基因呈现出多态性,主要表现为 RHD 基因全部缺失、部分缺失或不缺失 3 种。其原因有以下几种可能:①RHD 基因完全缺失导致红细胞膜上的 D 抗原缺失;②RHD 基因发生改变而使 D 蛋白失活;③RHD-CE-D 融合基因导致无 D 抗原产生。

本研究结果说明,在中国人中,RhD(-)个体 RHD 基因存在多态性,表现为 RHD 基因全缺失、部分缺失、不缺失。同样表现为 Rh(-)个体,因人种不同而具有完全不同的遗传结构。针对 RhD(-)机制,只测定几个外显子的 RHD 基因定型试剂盒并不能完全肯定 RhD 抗原的诊断。在临床应用中,特别是在预测新生儿溶血病时,需特别注意基因定型的假阳性和假阴性问题。

作者单位:1 解放军 208 医院输血科(长春 130062) 2 解放军 65043 部队(长春 130022)。

通讯作者:孙喜东, E-mail: sunxd2006@sina.com

(收稿日期 2010-10-27)