

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.44.025 [http://www.crter.org]

王大明, 何柳媚, 邹红岩, 高素青. 4例人类白细胞抗原罕见等位基因的结果分析[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(44):7809-7814.

4例人类白细胞抗原罕见等位基因的结果分析

王大明, 何柳媚, 邹红岩, 高素青(深圳市血液中心, 广东省深圳市 518020)

文章亮点:

1 实验采用测序分型方法对 650 例临床移植配型本进行移植前高分辨确认, 使用测序分析软件分析分型时发现 4 例供者或受者携带罕见等位基因。在以往人类白细胞抗原分型过程中通常借鉴美国骨髓库统计的等位基因频率表, 罕见等位基因往往被忽视, 这将导致某些结果被错误分析。这次实验结果将提醒业界同行重视频率较低的等位基因。

2 作者认为, 中华骨髓库 2013 年工作会议将库内志愿者的人类白细胞抗原分型高分辨结果采用统计学方法进行等位基因频率计算制作了《中国常见及确认的人类白细胞抗原等位基因表(CWD)(1.01 版)》, 具有很高的参考价值。

关键词:

器官移植; 器官移植临床实践; 人类白细胞抗原; 罕见等位基因; 测序分型; 基因组 DNA; SSP; 常见等位基因; B*27:15; B*51:39; C*07:66; C*08:22

主题词:

HLA 抗原; 等位基因; 骨髓; 器官移植; 细胞移植

摘要

背景: 虽然国内与国外关于新等位基因的报道较多, 但是, 因某些等位基因首次发现较晚, 而后却再次被检测到, 并且等位基因频率很低, 此类相关文章报道甚少, 这些等位基因往往被忽视。

目的: 检测与确认 4 例临床移植配型供受者携带的罕见等位基因。

方法: 采用快速 DNA 提取试剂盒从全血样本中提取基因组 DNA, 经人类白细胞抗原基因商品化测序分型试剂盒检测和 SSP 高分辨试剂盒验证, 得到人类白细胞抗原高分辨分型结果。

结果与结论: 被检测到的 4 个罕见等位基因分别为 B*27:15、B*51:39、C*07:66 和 C*08:22。对于以上 4 个等位基因虽被美国骨髓库列为罕见等位基因, 但在中国可能并不罕见。事实证明, 被美国骨髓库列为罕见等位基因的 C*08:22 为中国汉族人群常见等位基因。

Result analysis of four human leukocyte antigen rare alleles

Wang Da-ming, He Liu-mei, Zou Hong-yan, Gao Su-qing (Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Many articles concerned novel alleles reported in China and outside China, but some alleles were detected lately. After that, these alleles were tested again. Because frequencies of these alleles are very low, few relevant articles are reported, so these alleles are ignored easily.

OBJECTIVE: To test and identify four human leukocyte antigen rare alleles that patients and donors carries.

METHODS: Genomic DNA was extracted automatically from blood samples using quick DNA purified kit, typed by human leukocyte antigen locus commercial sequence-based typing kits and confirmed by sequence-specific primers high-resolution kits.

RESULTS AND CONCLUSION: Four detected rare alleles are B*27:15, B*51:39, C*07:66 and C*08:22. The four above-mentioned human leukocyte antigen rare alleles defined by National Marrow Donor Program are not rare in China. The facts prove that C*08:22 which was defined a rare allele by National Marrow Donor Program before is a common allele in Chinese Han nationality.

Subject headings: HLA antigens; alleles; bone marrow; organ transplantation; cell transplantation

Wang DM, He LM, Zou HY, Gao SQ. Result analysis of four human leukocyte antigen rare alleles. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(44):7809-7814.

王大明, 女, 1978 年生, 黑龙江省齐齐哈尔市人, 汉族, 2001 年于齐齐哈尔医学院毕业, 副主任技师, 主要从事输血专业及免疫遗传学的研究。
1825616903@qq.com

通讯作者: 邹红岩, 主任技师, 深圳市血液中心免疫遗传研究室, 广东省深圳市 518020
shallylizhen@aliyun.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:2095-4344
(2013)44-07809-06

收稿日期: 2013-03-05
修回日期: 2013-07-26
(201303230/D·Q)

Wang Da-ming, Associate chief technician, Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China
1825616903@qq.com

Corresponding author: Zou Hong-yan, Chief technician, Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China
shallylizhen@aliyun.com

Received: 2013-03-05
Accepted: 2013-07-26

0 引言 Introduction

人类白细胞抗原复合体遗传区位于人类第6号染色体, 全长4 000 kb, 其功能与免疫反应有关。截至2013年1月更新的国际免疫遗传IMGT/人类白细胞抗原数据3.11.0(<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>)显示已发现人类白细胞抗原A、B、C、DRB1和DQB1基因各2 132个、2 798个、1 672个、1 196个和179个。其中, 某些等位基因在美国国家骨髓库(National Marrow Donor Program, NMDP)网站(http://bioinformatics.nmdp.org/HLA/Rare_Allele_Lists/Biannual_Rare_Allele_Lists.aspx)公布的罕见等位基因资料[Rare Allele List File, Version 3.9.0(08/2012)]中被列为罕见等位基因。作者在为临床移植配型供/受者对做人类白细胞抗原-A、-B、-C、-DRB1和-DQB1位点高分辨水平结果分型时, 发现4例供者或受者携带罕见等位基因。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 随机样本检测, 单一样本观察。

时间及地点: 实验于2010年10月至2013年3月在深圳市血液中心免疫遗传室完成。

材料:

全血样本: 来源于参加临床移植配型无关供/受者共650例, 其中4例携带罕见等位基因。采用5%EDTA抗凝外周全血, 备用。

4例人类白细胞抗原罕见等位基因实验研究的主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
全血基因组 DNA 提取试剂盒	美国 QIAGEN 公司
人类白细胞抗原 A、B、C、DRB1 和 DQB1 位点测序试剂盒	Atria Genetics, South San Francisco, CA(美国加州)
PCR-SSP 高分辨试剂盒	美国 olerup 或 Onelamda 公司
Biophotometer 紫外分光光度仪、高速低温离心机	德国 Eppendorf 公司
9700 型 PCR 扩增仪、ABI 3730 型序列分析仪	美国 ABI 公司
紫外凝胶成像系统	日本 BIO-RAD 公司

实验方法:

基因组DNA制备: 取5 mL抗凝外周血, 采用全血基因组DNA提取试剂盒中的0.3 mL全血制备基因组DNA的实验程序, 剩余全血置-30 °C冰箱冻存储存。DNA浓度调节在50 µg/L左右, 纯度 A_{260}/A_{280} 值控制在1.80左右。琼脂糖电泳显示无降解。

人类白细胞抗原, A、B、C、DRB1和DQB1五个位点高分辨水平基因测序分型: 人类白细胞抗原A、B、C(检测第

2, 3和4外显子)、DRB1(检测第2外显子)以及DQB1(检测第2, 3外显子)位点PCR扩增: 严格按照AlleleSEQR人类白细胞抗原测序试剂盒说明书操作。PCR加样及扩增反应: ①将相关试剂从冰箱取出, 置于加样洁净台上。人类白细胞抗原A、B、C位点在1只容量为1.5 mL的离心管内每人份加入16 µL PCR反应缓冲液和0.3 µL Taq酶, 人类白细胞抗原-DRB1、人类白细胞抗原-DQB1位点在1只容量为1.5 mL的离心管内每人份加入8 µL PCR反应缓冲液和0.1 µL Taq酶, 混匀后, 离心。②人类白细胞抗原A、B、C位点每人份取16 µL混合液加入反应管中, 混合液中加入4 µL基因组DNA, 人类白细胞抗原DRB1、人类白细胞抗原-DQB1位点每人份取8 µL混合液加入反应管中, 混合液中加入2 µL基因组DNA, 混匀后, 离心。③将反应板封盖后放入9700 PCR扩增仪中, 扩增反应采用20 µL反应体系, 按照如下循环参数进行扩增: 95 °C 10 min→36个循环: 96 °C 20 s→60 °C 30 s→72 °C 3 min, 扩增反应产物板置于4 °C保存。

PCR产物的直接测序: PCR产物的纯化采用ExoSAP-IT酶处理。去除多余的游离PCR引物和底物dNTPs; 即在反应管中加入3 µL ExoSAP-IT, 低速离心混合后, 置PCR仪37 °C 30 min→80 °C 15 min, 纯化后的扩增产物板置于4 °C保存。纯化处理后的产物作为测序反应模板。采用试剂盒配有的测序引物对人类白细胞抗原C位点第2, 3和4外显子的正向和反向进行序列测定。测序反应采用10 µL反应体系, 该体系由8 µL测序引物和2 µL经ExoSAP-IT处理过的PCR产物组成, 反应条件为: 25个循环: 96 °C 20 s→50 °C 30 s→60 °C 2 min, 4 °C保存。测序反应产物采用乙醇/醋酸钠/EDTA沉淀法。加入15 µL超纯甲酰胺溶液(Hi-Di Formamide), 在PCR扩增仪上95 °C变性2.5 min。经纯化后的测序反应产物于ABI Prism™ 3730型基因测序仪电泳检测并收集电泳后的序列数据信息。

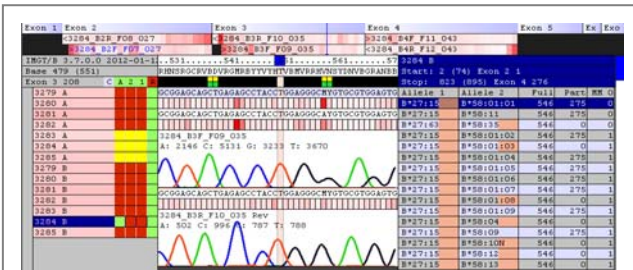
结果分析: 将ABI Prism™ 3730型基因测序仪电泳检测并收集电泳后的序列数据信息导入Assign-SBT 3.5.1.45(Conexio Genomics, Western Australia)分析软件, 分析受检者人类白细胞抗原-A、-B、-C、-DRB1、-DQB1位点的等位基因型。

高分辨PCR-SSP基因分型: 对于含有模棱两可和罕见等位基因的标本采用高分辨PCR-SSP方法进行精确分型, 按照试剂盒说明书进行操作。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳, 特异性阳性条带与说明书的阳性条带图谱比对, 基因分型结果即可确认。

2 结果 Results

2.1 B*27:15结果分析 将测序仪电泳后的序列数据

信息导入到Assign-SBT 3.5.1.45(Conexio Genomics, Western Australia)分析软件, 得到的人类白细胞抗原 B 位点的分型结果, 见图1。SSP琼脂糖电泳图, 见图2。



注: 得到的人类白细胞抗原 B 位点分型结果为: B*27: XX, 58: XX。

图 1 一例携带罕见等位基因样本的人类白细胞抗原 B*27:15 测序分型序列图

Figure 1 One sample carrying rare allele human leukocyte antigen B*27:15 sequence-based typing sequence



注: 第 5, 6, 8, 9 孔显示清晰的特异性阳性条带(21 孔为非特异性条带), 对照B*27 SSP高分辨试剂(Olerup SSP 09F说明书), 结合测序分型结果确定其中一个等位基因为B*27:15^[1]。

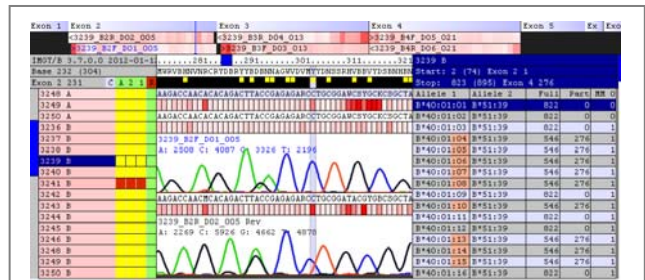
图 2 一例携带罕见等位基因样本的人类白细胞抗原 B*27:15 SSP 琼脂糖电泳图

Figure 2 Agarose gel electrophoresis of one sample carrying rare allele human leukocyte antigen B*27:15 sequence-specific primers

2.2 B*51:39结果分析 将测序仪电泳后的序列数据信息导入到Assign-SBT 3.5.1.45(Conexio Genomics, Western Australia)分析软件, 得到的人类白细胞抗原-B 位点的分型结果, 见图3, SSP琼脂糖电泳图见图4。

2.3 C*07:66结果分析 将测序仪电泳后的序列数据信息导入到 Assign-SBT 3.5.1.45(Conexio Genomics, Western Australia)分析软件后, 得到的人类白细胞抗原C位点的分型结果, 见图5, SSP琼脂糖电泳图见图6。

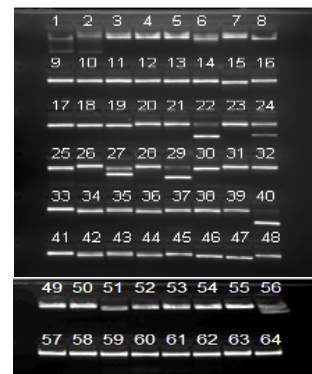
2.4 C*08:22结果分析 将测序仪电泳后的序列数据信息导入到Assign-SBT 3.5.1.45(Conexio Genomics, Western Australia)分析软件后, 得到的人类白细胞抗原 C 位点分型, 结果见图7, SSP琼脂糖电泳图见图8。



注: 得到人类白细胞抗原 B 位点的分型结果为: B*40: 01, 51: 39。

图 3 一例携带罕见等位基因样本的人类白细胞抗原 B*51:39 测序分型序列图

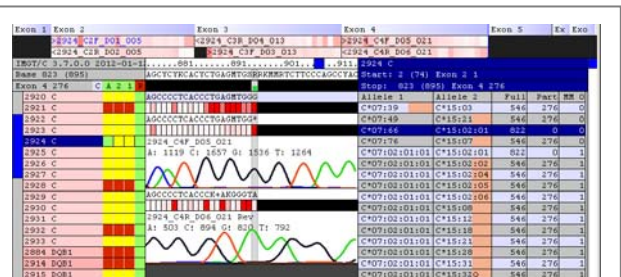
Figure 3 One sample carrying rare allele human leukocyte antigen B*51:39 sequence-based typing sequence



注: 第 1, 2, 22, 24, 27, 29, 40, 56 孔显示清晰的特异性阳性条带, 对照B*51 SSP高分辨试剂(Olerup SSP 15K说明书), 结合测序分型结果可以确定其中一个等位基因为B*51:39^[2]。

图 4 一例携带罕见等位基因样本的人类白细胞抗原 B*51:39 SSP 琼脂糖电泳图

Figure 4 Agarose gel electrophoresis of one sample carrying rare allele human leukocyte antigen B*51:39 sequence-specific primers



注: 得到人类白细胞抗原 C 位点分型结果为: C*07: XX, 15: XX。

图 5 一例携带罕见等位基因样本的人类白细胞抗原 C*07:66 测序分型序列图

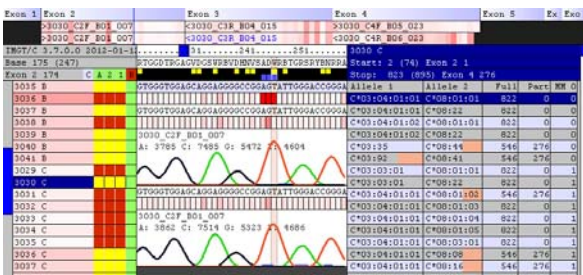
Figure 5 One sample carrying rare allele human leukocyte antigen C*07:66 sequence-based typing sequence



注: 第 2、4、5、19、32 孔显示清晰的特异性阳性条带(因为此标本人类白细胞抗原-C位点其中一个等位基因为 C*15:02:01, 导致 19 孔出现清晰的阳性特异性条带), 对照 C*07 SSP 高分辨试剂(Onelambda SSP Lot#005)说明书, 结合测序分型结果确定结果为 C*07: 66^[3], 15: 02。

图 6 一例携带罕见等位基因样本的人类白细胞抗原 C*07:66 SSP 琼脂糖电泳图

Figure 6 Agarose gel electrophoresis of one sample carrying rare allele human leukocyte antigen C*07:66 sequence-specific primers



注: 得到人类白细胞抗原 C 位点分型结果为: C*03: XX, 08: XX。

图 7 一例携带罕见等位基因样本人类白细胞抗原 C*08:22 测序分型序列图

Figure 7 One sample carrying rare allele human leukocyte antigen C*08:22 sequence-based typing sequence



注: 第 2、3、14、22 孔显示清晰的特异性阳性条带, 21、24 孔清亮的条带为此孔的内对照条带。对照 C*08 SSP 高分辨试剂(Lot#003)说明书, 结合测序分型结果确认此标本的分型结果为 C*03:04, 08:22^[4-5]。

图 8 一例携带罕见等位基因样本人类白细胞抗原 C*08:22 SSP 琼脂糖电泳图

Figure 8 Agarose gel electrophoresis of one sample carrying rare allele human leukocyte antigen C*08:22 sequence-specific primers

2.5 人类白细胞抗原 A、B、C、DRB1 和 DQB1 各位点基因分型结果 依次列举出 4 例携带罕见等位基因的样本其他 4 个位点的人类白细胞抗原基因分型结果, 为相关研究提供重要的参考数据, 见表 1。

表 1 四例罕见等位基因样本人类白细胞抗原 A、-B、-C、-DRB1 和 -DQB1 五个位点基因分型结果

Table 1 Results of five loci genotype of four rare alleles human leukocyte antigen-A, -B, -C, -DRB1 and -DQB1

序号	人类白细胞抗原 A	人类白细胞抗原 B	人类白细胞抗原 C	人类白细胞抗原 DQB1	人类白细胞抗原 DRB1
1	11:02, 33:03	27:15, 58:01	03:02, 12:02	02:01, 05:03	03:01, 14:05
2	02:01, 02:06	40:01, 51:39	03:04, 15:02	03:01, 06:02	12:02, 15:01
3	02:07, 11:01	40:01, 40:02	07:66, 15:02	03:01, 06:02	12:02, 15:01
4	02:01, 26:01	40:01, 40:02	03:04, 08:22	03:03, 06:01	08:03, 09:01

注: 4 例携带罕见等位基因的样本其他 4 个位点的人类白细胞抗原基因分型结果, 为相关研究提供重要的参考数据。

3 讨论 Discussion

人类白细胞抗原基因位于人类第 6 号染色体短臂。人类白细胞抗原基因测序分型技术是人类白细胞抗原基因分型的“金标准”^[6-7]。目前, 人类白细胞抗原 SBT 基因测序分型技术被业内公认为器官移植前和造血干细胞移植前人类白细胞抗原高分辨配型的最佳方法^[8]。自 1998 年以来, 等位基因的数量急速增长, 有些等位基因经美国骨髓库(简称 NMDP)频率统计已经被确定为常见和确定的(CWD)等位基因^[9], 而有些等位基因则被暂时划为罕见等位基因。截至 2013 年 1 月更新的国际免疫遗传 IMGT/ 人类白细胞抗原数据 3.11.0 版 (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>) 显示已发现人类白细胞抗原 A、B、C、DRB1 和 DQB1 基因各 2 132 个、2 798 个、1 672 个、1 196 个和 179 个。美国国家骨髓库(National Marrow Donor Program, NMDP)网站 (<http://bioinformatics.nmdp.org/>) 公布的罕见等位基因资料[Rare Allele List File. Version 3.9.0(08/2012)] 显示, 自 1987 年至 2012 年 8 月检测出的 2 523 247 个人类白细胞抗原-B 等位基因中 B*27:15 被检测出 29 次, 其中 26 次是从亚洲或太平洋地区的标本中检出的, B*51:39 被检测出 2 次, 亚洲或太平洋地区及高加索人中各检出一次^[10]。自 1987 年至 2012 年 8 月检测出的 919 984 个人类白细胞抗原-C 等位基因中 C*07:66 被检出 0 次, C*08:22 被检测出 8 次, 亚洲或太平洋地区检出 7 次。ASHI(American Society for Histocompatibility and

Immunogenetics)规定, 人类白细胞抗原A、B和C位点等位基因频率小于1/50 000, 即为罕见等位基因。由此看来, 以上提到的4个等位基因已经定义为罕见等位基因。

由于近3年骨髓库入库数据刚刚从低分辨水平转为高分辨水平, 中国在判定等位基因是否常见时, 通常借鉴美国骨髓库频率统计的相关资料, 一些在中国首次被发现后再次被检测到而在美国国家骨髓库公布的数据中却显示发现次数极少或被划为罕见的等位基因也陆续浮出水面, 例如B*51:39, C*07:63, C*07:66, C*08:22等^[11-13]。由于国内骨髓库高分入库数据总数量仍在持续增长阶段, 并未进行系统统计计算, 对于以上4个等位基因虽被美国骨髓库列为罕见等位基因, 但在中国可能并不罕见^[14]。随着高分数据入库的逐渐增加, 并进行有效地统计计算, 相信一些被美国骨髓库划为罕见的等位基因在中国汉族人群中极有可能成为CWD(常见和确定的)等位基因^[15]。2013年3月中国造血干细胞库召开工作会议, 其中, 将库中检出的人类白细胞抗原分型结果涉及的等位基因进行统计学计算, 在业界曾经被广泛认为罕见的等位基因, 在表中均可见较高的频率。例如, C*08:22是本实验室此文作者在2008年采用自行研制的人类白细胞抗原C位点地1-7外显子试剂盒对中国汉族人群全血样本进行筛查发现的, 虽然被发现较晚, 但此等位基因为中国汉族常见等位基因^[15], 在那份频率表中等位基因频率为0.945 3。B*51:39^[2]和C*07:63的等位基因频率分别为0.001 8和0.100。B*35:30本实验室在进行临床移植配型标本高分辨确认时^[16], 经2种方法核实, 检测到供者携带此基因, 在频率表中此等位基因的频率为0.001 5。人类白细胞抗原C*03:100是2011年首次被发现^[17], 此等位基因的携带者为中国人, 2012年在做临床移植配型高分确认时被再次检测出。短短不到1年时间被检测到2次, 向这些虽然被发现较晚的等位基因排名比较靠后, 但频率不一定低, 2013年中华骨髓库工作会议下发的“中国常见及确认的人类白细胞抗原等位基因表(CWD)(1.01版)中C*03:100频率为0.004 7。C*03:17^[18]、DRB1*12:10^[19]、C*07:66和C*04:82的等位基因频率均显示为中国常见等位基因^[3, 20-21]。

随着每个位点等位基因的数量逐年增多, 模棱两可结果的比例也随之增高, 2013年1月18日IMGT/人类白细胞抗原(<http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/ambig.html>)关于模棱两可结果组合的统计数据充分证实了这点^[22]。形成原理主要为2种: 一是常规检测区序列完全相同导致的, 即差异碱基在检测区外; 二是由于PCR产物的杂合性, 有时不同等位基因的组合可得到相同的杂合子序列, 即检测区内杂合序列一致。因此, 当对临床移植配型样本进行人类白细胞抗原基因测序分型时, 人类白细胞抗原B、C位点均为第1-4和第5-7外显子的扩

增产物, 依据模棱两可结果形成原理, 对于差异碱基在检测区外的, 例如, C*08:01:01/08:22除了可以采用PCR-SSP高分试剂中的C*08来解决外, 由于C*08:01:01/08:22的差异碱基为第6外显子的1034碱基位分别为C*08:01:01为G, C*08:22为A^[4-5], 所以可以加做C6F, 即第6外显子的正向引物测序, 即可将两个等位基因区分开; 对于检测区杂合序列一致的, 例如, C*03:04/03:28, 14:02/14:06这个组合出现时, 可以采用PCR-SSP高分试剂中的C*03或者C*14来确认, 或者加做C位点的检测区外外显子测序进一步解决。当前, 大多数模棱两可结果可用高分辨水平PCR-SSP试剂盒进行进一步确认, 但随着等位基因的继续增多, 模棱两可结果的比例也不断提高, PCR-SSP方法已经不能完全解决高分确认精确分型的问题, 这将给高分确认带来挑战, 商品化的检测区外测序试剂非常昂贵, 直接影响到检测成本, 建立高效、低耗、快速的精确分型解决策略具有重要意义^[23-24]。本实验室根据GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>)中公布的人类基因组人类白细胞抗原全序列的参考序列, 由于人类白细胞抗原-C位点商品化试剂盒扩增产物包括了第5-7外显子特异性产物, 因此成功地设计了人类白细胞抗原-C位点检测区外的测序引物, 并且对200份已知基因型的样本进行测试结果一致^[25]。美国国家骨髓库(National Marrow Donor Program, NMDP)网站(<http://bioinformatics.nmdp.org/>)公布的罕见等位基因资料[Rare Allele List File. Version 3.9.0(08/2012)]显示, 自1987年919984份标本检测人类白细胞抗原C基因C*03:100被发现的次数为零。查阅大量国内和国外文献后, 自首次报道后尚未见再次被报道。虽然C*03:100发现比较晚^[21], 但在1年左右的时间在中国同一地区被检测到2次, 此基因有可能在中国人人群中为较常见基因, SSP高分辨试剂盒还无法进行鉴定, 为节省时间只能采用加做第5-7外显子测序进行进一步鉴定, 为发放报告争取宝贵时间。

致谢:衷心感谢深圳市血液中心免疫遗传研究室的本文作者们协助整理数据及撰写成文。

作者贡献:第二作者进行实验设计, 第一作者进行实验操作, 资料收集, 数据整理、成文, 第三作者进行实验评估, 第四作者进行审校, 第一作者对文章负责。

利益冲突:课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接地经济或利益的赞助。

伦理要求:实验获医院伦理委员会批准, 符合医学伦理要求。

学术术语:等位基因模棱两可结果形成原理-主要为2种: 一是常规检测区序列完全相同导致的, 即差异碱基在检测区外; 二是由于PCR产物的杂合性, 有时不同等位基因的组合可得到相同的杂合子序列, 即检测区内杂合序列一致。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Voorter CE, Swelsen WT, van den Berg-Loonen EM. B*27 in molecular diagnostics: impact of new alleles and polymorphism outside exons 2 and 3. *Tissue Antigens*. 2002; 60(1):25-35.
- [2] Tang TF, Hou L, Tu B, et al. Identification of nine new HLA class I alleles in volunteers from the Singapore stem cell donor registries. *Tissue Antigens*. 2006;68(6):518-520.
- [3] Deng Z, Xu Y, Wang D, et al. Description of two novel alleles HLA-Cw*0766 and Cw*0767 identified in a Chinese Han individual by sequence-based typing. *Hum Immunol*. 2010; 71(1):93-95.
- [4] Xu YP, Deng ZH, Wang DM, et al. A novel HLA-Cw*08 allele, Cw*0822, identified by genomic full-length cloning and sequencing. *Tissue Antigens*. 2009;74(6): 555-556.
- [5] 鲍自谦, 王大明, 邓志辉, 等. 中国南方汉族人群中一个常见型新等位基因HLA-C*08 : 22的基因频率调查和分析[J]. *中国实验血液学杂志* ;2011;19(6):1493-1495.
- [6] Zhu F, He Y, Zhang W, He J, et al. Analysis for complete genomic sequence of HLA-B and HLA-C alleles in the Chinese Han population. *Int J Immunogenet*. 2011;38(4): 281-284.
- [7] Xu YP, Deng ZH, Zou HY, et al. Cloning and sequencing HLA-A and -B genomic DNA and analyzing polymorphism in regulatory regions in Chinese Han individuals. *Yi Chuan*. 2010;32(7):685-693.
- [8] 刘艳, 周媛, 张毅, 等. 济南汉族人群人类白细胞抗原B座位等位基因多态性分析[J]. *山东医药*, 2013, 53(10):46-47.
- [9] Cano P, Klitz W, Mack SJ, et al. Common and well-documented HLA alleles: report of the Ad-Hoc committee of the american society for histocompatibility and immunogenetics. *Hum Immunol*. 2007;68(5):392-417.
- [10] Zeng JQ, Xu YP, Wang DM, et al. Single nucleotide polymorphisms in 22 HLA-Cw alleles in Chinese Han population. *Yi Chuan*. 2010;32(5):473-479.
- [11] 何柳媚, 王大明, 徐筠婷, 等. 汉族人群中新等位基因人类白细胞抗原-DPA1~*01: 11的鉴定[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(53): 9994-9998.
- [12] 胡彬, 迟晓云, 冯智慧, 等. 新等位基因HLA-A~*11: 97与HLA-B~*44: 127的确认[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(53): 9999-10004.
- [13] 戚新, 李归冀, 章旭, 等. 人类白细胞抗原新等位基因HLA-A *31: 22的序列分析及确认[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2012, 32(12):1011-1014.
- [14] 唐剑频, 蒋丰慧, 石美森, 等. 22个常染色体单核苷酸多态性的群体遗传学研究[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2012, 29(6):720-722.
- [15] Cano P, Klitz W, Mack SJ, et al. Common and well-documented HLA alleles: report of the Ad-Hoc committee of the american society for histocompatibility and immunogenetics. *Hum Immunol*. 2007;68(5):392-417.
- [16] Steiner NK, Kosman C, Jones PF, et al. Twenty-nine new HLA-B alleles associated with antigens in the 5C CREG. *Tissue Antigens*. 2001;57(5):481-485.
- [17] Li J, Qu J, Zhang X, Zhang C, et al. Characterization of 236 novel alleles at the HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 and -DPB1 loci from China Marrow Donor Program. *Tissue Antigens*. 2011; 78(4):267-270.
- [18] Lebedeva TV, Ohashi M, Huang A, et al. Emerging new alleles suggest high diversity of HLA-C locus. *Tissue Antigens*. 2005;65(1):101-106.
- [19] Kim E, Lee EJ, Lim YH, et al. Identification of a novel HLA-DRB1*12 allele (DRB1*1210) in the Korean population. *Tissue Antigens*. 2004;64(4):518-519.
- [20] Xu Y, Deng Z, O'hUigin C, et al. Characterization and polymorphic analysis of 4.5 kb genomic full-length HLA-C in the Chinese Han population. *Tissue Antigens*. 2011;78(2): 102-114.
- [21] 王大明, 邹红岩, 何柳媚, 等. 一例供者携带的C*03: 100等位基因的测序分析[J]. *国际输血及血液学杂志*, 2012, 35(5):390-392.
- [22] 梁国威, 邵冬华, 何美琳, 等. 等位基因特异性引物和 TaqMan-MGB探针双抑制野生等位基因扩增的实时荧光定量PCR检测JAK2V617F突变率[J]. *中国实验血液学杂志*, 2012, 20(6): 1486-1491.
- [23] Deng ZH, Wang DM, Gao SQ, et al. Characterization of the novel HLA-Cw*0624 allele identified by sequence-based typing. *Tissue Antigens*. 2010;75(1):83-84.
- [24] Gans CP, Mitton W, Ng J, et al. Seven new HLA-B alleles associated with antigens in the B7 CREG. *Tissue Antigens*. 2002;59(3):229-231.
- [25] 曾健强, 徐筠婷, 王大明, 等. 汉族人群中22个HLA-Cw等位基因全长序列单核苷酸多态性分析[J]. *遗传*, 2010, 32:473-479.