

# 人类白细胞抗原新等位基因B\*07:110的序列分析及确认

周月<sup>1</sup>, 李剑平<sup>2,3,4,5</sup>(<sup>1</sup>盘锦市中心血站, 辽宁省盘锦市 124010; <sup>2</sup>辽宁省血液中心输血医学研究所, 辽宁省沈阳市 110044; <sup>3</sup>辽宁省血液安全研究重点实验室, 辽宁省沈阳市 110044; <sup>4</sup>沈阳市血液安全研究重点实验室, 辽宁省沈阳市 110044; <sup>5</sup>沈阳市干细胞临床应用研究中心, 辽宁省沈阳市 110044)

## 文章亮点:

1 人类白细胞抗原基因是迄今已知的人类遗传多态性最高的基因复合体, 在组织器官移植和造血干细胞移植中, 只有供受者人类白细胞抗原等位基因全部配合, 才能最大限度保证移植的成功率。近几年来, 随着中华骨髓库的建立和人类白细胞抗原分型技术的不断发展和提高, 在中国人类白细胞抗原新等位基因不断被发现。  
2 在对造血干细胞捐献者进行常规人类白细胞抗原基因分型中, 发现 1 个人类白细胞抗原 B 基因异常反应格局样本, 实验拟采用基因测序方法, 以分析和确认其是否为 1 例新的人类白细胞抗原 B 等位基因。

## 关键词:

干细胞; 移植; 新等位基因; HLA-B\*07:110; 序列分析; 聚合酶链式反应; 序列特异性寡核苷酸探针; 碱基; 氨基酸; 人类白细胞抗原; 基因座; 外显子

## 主题词:

组织工程; HLA 抗原; 等位基因; 核酸探针

## 基金资助:

沈阳市科学技术计划项目(F10-206-1-00)

## 摘要

**背景:** 近几年来, 随着中华骨髓库的建立和人类白细胞抗原分型技术的不断发展和提高, 中国人人类白细胞抗原新等位基因不断被发现。

**目的:** 采用序列分析确认 1 例中国人的人类白细胞抗原新等位基因。

**方法:** 应用聚合酶链式反应-序列特异性寡核苷酸探针基因分型技术进行样本的人类白细胞抗原基因分型, 并应用基于测序的方法分析该基因序列及与最相近等位基因序列的差异。

**结果与结论:** 聚合酶链式反应-序列特异性寡核苷酸探针结果显示, 该样本人类白细胞抗原 B 基因座反应格局出现异常; 基因测序结果表明, 其 B 基因座第 2 外显子序列与所有已知人类白细胞抗原 B 等位基因序列均不一致, 在所检测的第 2、3 外显子中, 与序列同源性最高的等位基因 B\*07:01:02 的差异是在第 2 外显子发生了 nt 226 和 nt 228 两个 A->G 核苷酸取代, 导致第 76 位密码子由 ATA->GTG, 相应的导致氨基酸由异亮氨酸(I)改变为缬氨酸(V)。将其序列提交国际基因数据库(GenBank)及 IMGT/HLA 数据库, 证实该新人类白细胞抗原等位基因为国际上首次发现, 被世界卫生组织人类白细胞抗原因子命名委员会正式命名为人类白细胞抗原 B\*07:110 (HM989017)。

周月, 李剑平. 人类白细胞抗原新等位基因 B\*07:110 的序列分析及确认[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(1): 135-139.

## Identification of a novel human leucocyte antigen allele B\*07:110

Zhou Yue<sup>1</sup>, Li Jian-ping<sup>2,3,4,5</sup>(<sup>1</sup>Panjin Blood Bank, Panjin 124010, Liaoning Province, China; <sup>2</sup>Transfusion Medicine Institute, Liaoning Blood Center, Shenyang 110044, Liaoning Province, China; <sup>3</sup>Key Laboratory of Blood Safety Research of Liaoning Province, Shenyang 110044, Liaoning Province, China; <sup>4</sup>Key Laboratory of Blood Safety Research of Shenyang, Shenyang 110044, Liaoning Province, China; <sup>5</sup>Shenyang Research Center for Stem Cell Clinical Application, Shenyang 110044, Liaoning Province, China)

## Abstract

**BACKGROUND:** In recent years, with the development of China Marrow Donor Program and the improvement of human leukocyte antigen (HLA) typing technique, novel alleles of human leukocyte antigen have been discovered constantly in China.

**OBJECTIVE:** To identify and confirm a novel HLA allele in a Chinese individual.

**METHODS:** A new HLA allele was found during routine human leukocyte antigen genotyping by PCR-sequence specific oligonucleotide probes and sequencing-based typing.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The HLA-B locus hybridization probe reaction patterns of this sample did not match with any known HLA-B alleles or allelic combinations. Exons 2, 3 were sequenced in both directions using HLA-B sequence primer and group-specific sequencing primer. The obtained sequence had 2nts change from B\*07:02:01 at nt 226 and nt 228 where A->G (codon 76 ATA->GTG) and resulting in a coding change, 76

周月, 女, 1971 年生, 辽宁省盘锦市人, 汉族, 2006 年大连医科大学毕业, 副主任医师, 研究方向为血液质量和临床输血管理, 主要从事业务管理工作。

通讯作者: 李剑平, 博士, 主任医师, 辽宁省血液中心输血医学研究所, 辽宁省血液安全研究重点实验室, 沈阳市血液安全研究重点实验室, 沈阳市干细胞临床应用研究中心, 辽宁省沈阳市 110044

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.01.024  
[http://www.crter.org]

中图分类号:R394.2  
文献标识码:B  
文章编号:2095-4344  
(2015)01-00135-05  
稿件接受: 2014-11-20

Zhou Yue, Associate chief technician, Panjin Blood Bank, Panjin 124010, Liaoning Province, China

Corresponding author: Li Jian-ping, M.D., Chief physician, Transfusion Medicine Institute, Liaoning Blood Center, Shenyang 110044, Liaoning Province, China; Key Laboratory of Blood Safety Research of Liaoning Province, Shenyang 110044, Liaoning Province, China; Shenyang Research Center for Stem Cell Clinical Application, Shenyang 110044, Liaoning Province, China

Accepted: 2014-11-20

isoleucine (I) was changed to valine (V). This nucleotide sequence has been submitted to the GenBank nucleotide sequence database and it is available under the accession number HM989017. A novel HLA allele, HLA-B\*07:110, was identified, and was named officially by the WHO Nomenclature Committee.

**Subject headings:** Tissue Engineering; HLA Antigens; Alleles; Nucleic Acid Probes

**Funding:** Shenyang Science and Technology Project, No. F10-206-1-00

Zhou Y, Li JP. Identification of a novel human leucocyte antigen allele B\*07:110. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2015;19(1):135-139.

## 0 引言 Introduction

人类白细胞抗原(Human Leukocyte Antigen, HLA)基因是迄今已知的人类遗传多态性最高的基因复合体,在组织器官移植、造血干细胞移植等中发挥重要作用,是移植免疫、组织工程和生物化学等学科的一个重要研究领域。截止至目前已发现的HLA等位基因已有12 242个(IMGT/HLA 数据库)<sup>[1]</sup>,其中HLA-B基因座的多态性最为复杂,其等位基因已有3 693个。近几年来,随着中华骨髓库的建立和人类白细胞抗原分型技术的不断发展和提高,中国HLA新等位基因不断被发现<sup>[2-9]</sup>。

本次实验在对造血干细胞捐献者进行常规HLA基因分型中,发现一个HLA-B基因座异常格局样本,经基因测序方法分析并鉴定,确认是1例新的HLA-B等位基因,将其序列提交国际基因数据库(GenBank)及IMGT/HLA数据库,证实该新HLA等位基因为国际上首次发现,已被世界卫生组织人类白细胞抗原因子命名委员会正式命名为HLA-B\*07:110<sup>[10]</sup>。发现HLA新等位基因不仅给HLA家族增加了新成员,增加了HLA的多态性,也为研究本民族或本地区优势基因的起点、或消失基因的消失点找到了突破口,更重要的是增加了HLA配型的准确率,最大限度的保证了移植的成功率,为需要移植的患者带来了帮助。

## 1 材料和方法 Materials and methods

**设计:** 单一样本观察。

**时间及地点:** 于2011年1月在辽宁血液中心输血医学研究所组织配型实验室完成所有实验。

**材料:**

HLA新等位基因序列分析实验相关主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
血液基因组DNA提取试剂盒	北京天根生化科技有限公司
基因分型试剂盒LABType™试剂盒、核酸蛋白测定仪	美国ONELAMDA公司
基因测序试剂盒SBTexcellerator®试剂盒	荷兰Genome Diagnostics公司
Bigdye3.1测序试剂盒、9700型扩增仪、3130 Genetic Analyzer 基因测序仪	美国ABI公司
IS-200流式磁珠杂交仪	美国Luminex公司

**标本来源:** 造血干细胞志愿捐献者1例,男,34岁,汉族,辽宁省盘锦市人。经体检合格后签署志愿捐献造血

干细胞知情同意书,采集其EDTA抗凝全血样本5 mL,分装后-20 °C以下保存。

**实验方法:**

**基因组DNA提取:** 取对象200 μL抗凝全血,按照北京天根血液基因组DNA提取试剂盒说明书提取基因组DNA,用GeneQuant核酸蛋白测定仪确定DNA标本质量,质量浓度为50 μg/L,纯度吸光度值(A<sub>260 nm/280 nm</sub>)为1.80,并用0.8%琼脂糖凝胶电泳检测无DNA降解现象。

**SSO方法基因分型:** 采用基于Luminex平台的聚合酶链式反应-序列特异性寡核苷酸探针(polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide probes, PCR-SSO)方法,进行样本的HLA-A, B, DRB1基因分型。应用LABType™试剂盒,严格按照其试剂盒操作说明书,将DNA进行PCR扩增,扩增仪器为ABI 9700型。扩增产物与标记有荧光的特异性探针磁珠杂交后,用Luminex IS-200流式磁珠杂交仪检测,结果判读应用与试剂盒对应的HLA Tools软件判读,根据DNA与每个磁珠探针的反应格局,自动给出HLA-A, B, DRB1各基因座的分型结果。

**基因测序:** 采用了PCR产物直接测序方法(Sequence-based typing, SBT)进行实验。应用SBTexcellerator®试剂盒的HLA-B基因座的特异性引物进行第1-7外显子的PCR扩增。扩增条件为95 °C预变性5 min, 95 °C 30 s, 67 °C 45 s, 72 °C 3 min 30 s, 共35个循环,72 °C延伸10 min后冷却至4 °C。扩增产物经ExoI/SAP酶纯化后,应用Bigdye 3.1测序试剂盒,进行第2, 3外显子正反两个方向的测序反应,测序产物再经过乙醇/醋酸钠沉淀,95 °C热变性速冷后即可直接用ABI 3130 Genetic Analyzer基因测序仪进行毛细管电泳,得到PCR产物的基因序列。根据以往的文献报道结果<sup>[11-14]</sup>,为了分开2个杂合的等位基因,又应用组特异性引物(Group-specific sequencing primer, GSSP)进行再次扩增和测序。结果应用与试剂盒对应的SBTEngine®软件进行数据分析,根据电泳结果分析后自动得出基因测序结果。

**主要观察指标:** 基因分型结果、PCR产物测序结果、组特异性引物测序结果、核苷酸和氨基酸序列比较。

## 2 结果 Results

**2.1 SSO方法基因分型结果** 经过软件分析显示,该样本基因分型结果为HLA-A\* 24, 29; B\* 07, 44; DRB1\* 07,

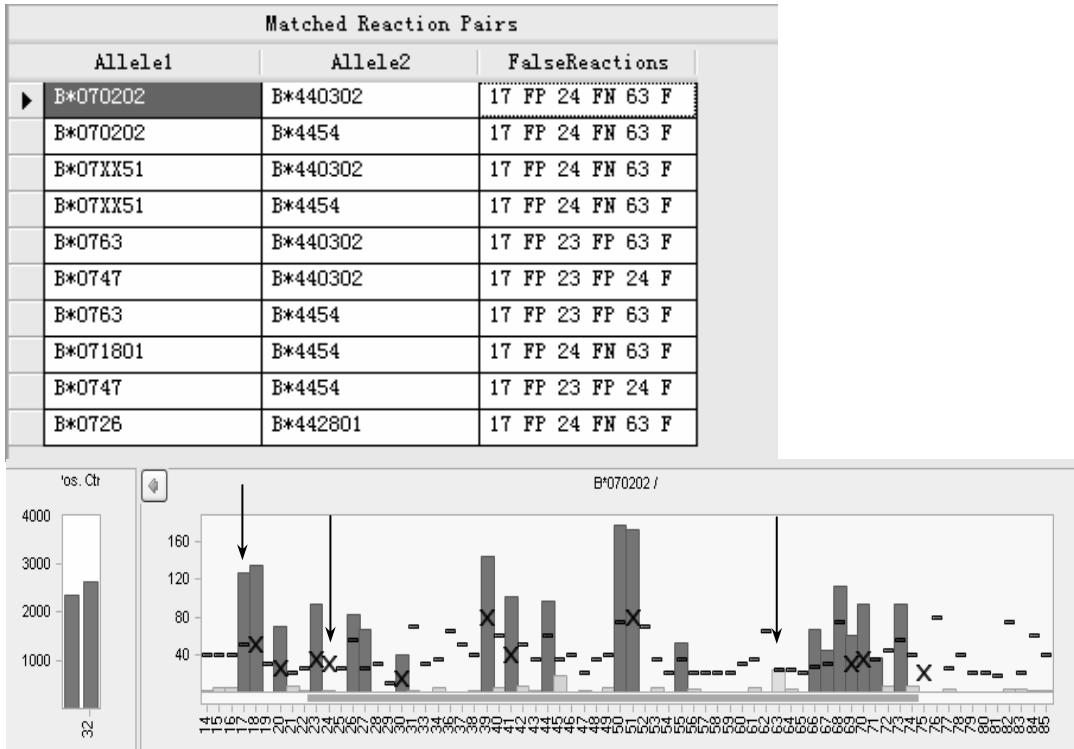


图 1 HLA-B\*07:110 等位基因的序列特异性寡核苷酸探针分型反应格局

Figure 1 Sequence specific oligonucleotide probe reaction pattern of HLA-B\*07:110 allele

图注: 图中箭头所示 17 号探针实际为阳性反应, 24 号探针实际为阴性反应, 63 号探针实际为阳性反应。

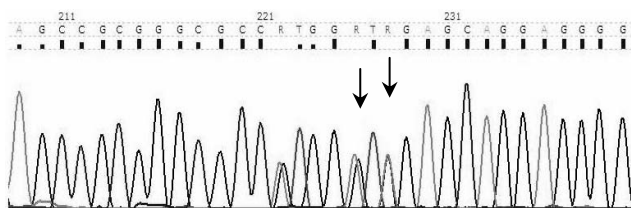


图 2 HLA-B 基因座第 2 外显子 PCR 产物双链测序的部分测序图谱

Figure 2 Partial sequencing of exon 2 of PCR product of HLA-B

图注: 图中箭头所指为第 226 和 228 位杂合点 R。

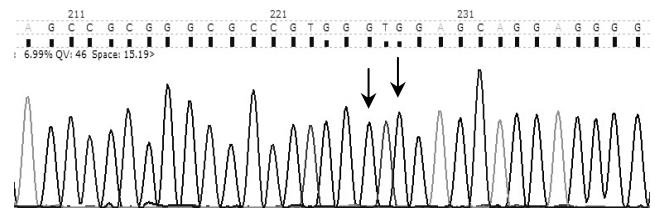


图 3 HLA-B\*07:110 第 2 外显子组特异性引物测序的部分测序图谱

Figure 3 Partial sequencing of exon 2 of HLA-B\*07:110 allele

图注: 箭头所指为突变点第 226 和 228 位核苷酸 G。

11. 但显示 B\*07, 44 两个等位基因时出现异常提示, 即 17 号探针假阳性(FP), 24 号探针假阴性(FN), 63 号探针假阴性(FN), 但反应格局显示, 17 号探针实际为阳性反应, 24 号探针实际为阴性反应, 63 号探针实际为阳性反应(图 1), 探针反应的整体格局清晰, 背景干净。重复实验后结果发现探针分布相同, 排除了实验误差, 由此怀疑存在 1 个未认定的 HLA-B 新等位基因。

**2.2 PCR 产物双链测序结果** PCR 扩增产物在第 2, 3 外显子正反两个方向的测序结果显示该样本 B 基因座的序列与现有 HLA 数据库中已知的所有序列均不完全一致。数据分析软件显示其与同源性最高的 B\*44:03:01, B\*07:01:02 的组合在 226 和 228 位有 2 个核苷酸不同, 2 个双链的杂合点均显示为 R, R 表示的是 A 和 G, 但数据库中此 2 个核苷酸均为 A, 见图 2, 提示可能存在新等位基因。

**2.3 组特异性引物测序结果** 为了分开双链中 2 个杂合的等位基因, 用 GSSP 对原扩增产物进行再次测序反应, 因

GSSP 仅特异性与新等位基因序列结合从而得到新等位基因的单链序列。GSSP 结果显示, 该样本 HLA-B 的 1 个等位基因是 B\*44:03:01, 另一个 HLA-B\*07 的等位基因, 在所检测的第 2、3 外显子中, 与序列同源性最高的等位基因 B\*07:01:02 的差异是在第 2 外显子发生了 nt 226 和 nt 228 两个 A->G 核苷酸取代, 导致第 76 位密码子由 ATA->GTG, 相应的导致氨基酸由异亮氨酸(I)改变为缬氨酸(V), 见图 3, 4。将得到的核苷酸序列的报告递交到基因数据库(GenBank)及 IMGT/HLA 数据库(序列号 HWS10010993), 证实该新 HLA 等位基因为国际上首次发现, 被世界卫生组织人类白细胞抗原因子命名委员会正式命名为 HLA-B\*07:110 (HM989017)。

### 3 讨论 Discussion

HLA 作为人类主要组织相容性抗原, 从 1958 年首次被发现就一直研究热点, 其分子基础目前已研究得比较清

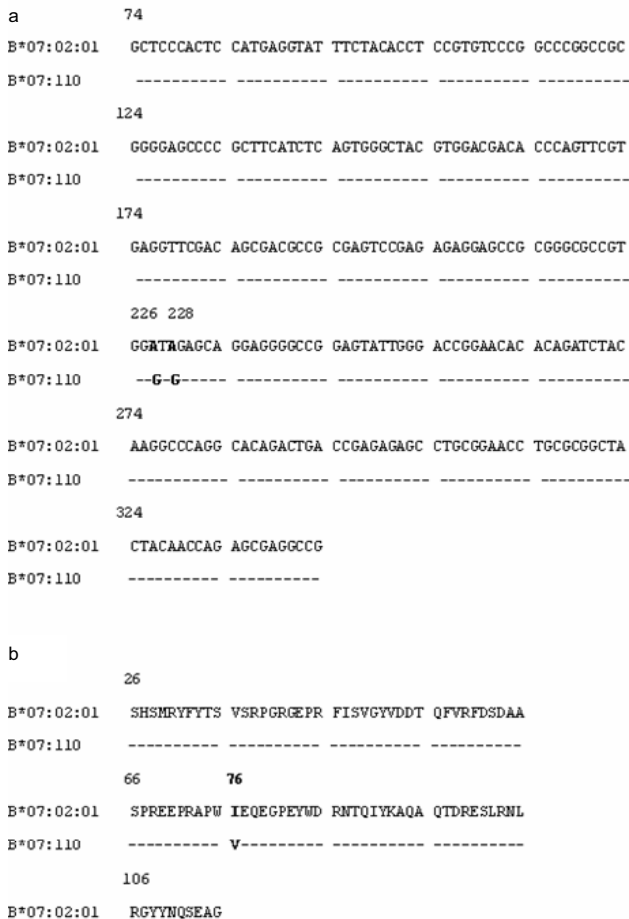


图4 HLA-B\*07:110第2外显子与HLA-B\*07:01:02核苷酸序列比较(a)和氨基酸序列比较(b)

Figure 4 The nucleotide sequence (a) and the amino acid sequence (b) of exon 2 of HLA-B\*07:110 compared with the sequences of B\*07:01:02

图注: a 图中数字代表核苷酸位置, 在第 226 和 228 位的核苷酸均由 A 改变为 G; b 图中数字代表氨基酸位置, 第 76 位氨基酸由 I 改变为 V; “-”表示两个序列一致。

楚。其编码基因位于人类第6号染色体短臂6P21.31区域, 全长4 000 kb, 以糖蛋白的形式在大多数有核细胞的膜表面表达。HLA按编码分子的特性不同可分为HLA- I, II, III类基因, HLA-B属于经典HLA- I类基因。已经证实HLA- I类基因的第2、3、4外显子分别编码 $\alpha$ 链的 $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ 结构域, 其中 $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ 两个结构域位于分子的顶部, 共同组成抗原肽结合区, 是分子的可变区和抗原肽识别的部位<sup>[15]</sup>。因此 $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ 结构域内氨基酸的替换可能会影响到抗原结合的特性, 产生不同的免疫应答反应。HLA多态性形成的机制主要是碱基突变、链间转换以及基因重组<sup>[16]</sup>。本例发现的新等位基因, 是在HLA-B第2外显子发生2个碱基突变, 并导致相应的氨基酸发生改变。但由于当时未得到捐献者的新鲜血液样本, 未进行该新基因的抗原特异性检测。

本例新等位基因是通过PCR-SSO基因分型发现和应用SBT基因测序得到确认的。SSO实验的原理是采用一套标记有2种不同比例的荧光色素的微珠, 并且在不同的微珠

上标记不同的探针, 然后与标记有生物素扩增后的DNA样本杂交, 随后做荧光染色, 在流式微珠检测仪上读取微珠, 由2种不同的激光分别检测微珠本身的荧光和杂交后DNA上标记的荧光, 通过判断不同微珠上的荧光强度来判断微珠的信号, 最后通过对所有微珠的信号的组合, 借助特殊软件来判断样本DNA的HLA基因型<sup>[17-19]</sup>。但如果在PCR-SSO方法中出现一些模棱两可的分型结果, 表现为按照试剂分型格局判断可能出现多条带或少条带、探针的多余或缺少、不同方法结果的不一致等, 这在常规的分型工作中应引起重视。本例先证者样本表现为HLA-B分型中出现探针反应格局异常, 真正的阴性和阳性反应被提示为假阴性和假阳性反应, 由此怀疑有新基因存在的可能, 并最终经基因测序后证实为新的等位基因。基因测序作为HLA分型的金标准<sup>[20-26]</sup>, 目前已广泛应用于HLA组织配型实验室, 因为基因测序能够直接从碱基水平得到HLA的等位基因序列, 得到高分辨结果, 从而大大提高的HLA分型的准确性。然而当遇到杂合子时, PCR产物的测序就有可能给不出确切的单链结果, 无法确定新的变异基因到底位于哪一条DNA链上。以往的国内文献采用的办法多是以基因克隆方法区分杂合子<sup>[27-29]</sup>, 本实验室之前也是采用此方法, 但其方法操作繁琐, 费时费力。实验采用了在PCR产物双链测序后加做组特异性引物测序的方法, 在B\*07、B\*44两个基因的内含子中寻找单核苷酸突变点设计引物分别扩增, 这样使PCR产物的双链中只含有单一的目的基因片段, 进而对其单链进行测序, 确定了新等位基因的序列。组特异性引物测序的方法是国际上进行单链测序最先进最便捷的方法, 结果可靠, 用该方法得到的序列能够被国际基因数据库和WHO所接纳和认可。

准确的HLA基因分型为器官移植和造血干细胞移植的成功提供了良好的基础, 本例新基因的确认, 也为研究HLA-B\*07基因频率的分析, 提供了可靠数据。目前国际上已检出HLA-B\*07等位基因近300个, 由于HLA具有种族特异性<sup>[30-32]</sup>, 所以在不同种族或同一种族的不同群体中基因频率各不相同。HLA-B\*07在中国人群中的基因频率南方汉族为1.65%, 北方汉族为4.16%<sup>[33]</sup>, 在辽宁人群中为3.46%<sup>[34]</sup>。新等位基因HLA-B\*07:110在实验室所做的65 000份标本中未再发现其他个体。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, 该新等位基因可以定义为罕见等位基因。但该先证者的新等位基因是自身发生基因突变而产生还是由亲代遗传而来, 还需下一步进行家系调查等遗传学方面的研究。

实验应用目前国际上最先进的基因测序方法, 序列分析并确认了1例中国人的HLA新等位基因, 为国际上首次发现, 得到WHO命名。HLA新等位基因的发现, 增加了HLA系统的多态性, 对提高组织器官移植成功率、人类群体遗

传学研究、亲子鉴定和个体识别、个体对某些疾病的易感性分析等等都具有重要的意义。

**致谢:** 感谢辽宁省血液中心输血医学研究所组织配型实验室的所有工作人员帮助完成此实验,感谢中华骨髓库及辽宁分库。

**作者贡献:** 第一作者和通讯作者共同完成实验设计、实验实施及论文撰写等全部内容。通讯作者对本文负责。

**利益冲突:** 文章及内容不涉及相关利益冲突。

**伦理要求:** 根据中华人民共和国国务院颁发的《医疗机构管理条例》,在实验前将实验方案和风险告知对方,并签署知情同意书。

**学术术语:** 等位基因-是指位于一对同源染色体的相同位置上控制某一性状的不同形态的基因。在组织器官和造血干细胞移植时供受者 HLA 的等位基因的相合程度越高,移植的成功率则越高。

**作者声明:** 文章为原创作品,无抄袭剽窃,无泄密及署名和专利争议,内容及数据真实,文责自负。

#### 4 参考文献 References

- [1] Robinson J, Malik A, Parham P, et al. IMGT/HLA- a sequence database for the human major histocompatibility complex. *Tissue Antigens*. 2000;55:280-287.
- [2] 张毅,房云海,聂向民,等.HLA新等位基因B\*4086的确认及家系调查[J].*复旦学报(医学版)*,2009,36(6):707-709, 714.
- [3] 陈阳,刘显智,李晓丰,等.新等位基因HLA-B\*9526的确认和序列分析[J].*中华医学遗传学杂志*,2009,26(6):705-708.
- [4] 程四国,张伯伟.HLA新等位基因A\*9217家系调查分析[J].*中国组织工程研究与临床康复*,2009,13(53):10537-10540.
- [5] 章旭,蒋术一,李晓丰,等.人类白细胞抗原新等位基因B\*54:09的序列分析[J].*中华医学遗传学杂志*,2012,29(1):91-94.
- [6] 李晓丰,章旭,张坤莲,等.中国人新等位基因HLA-B\*40:74的序列分析及认定[J].*中华微生物学和免疫学杂志*,2011,31(12):1068-1071.
- [7] 王琳,宋长兴,张志欣.新等位基因人类白细胞抗原B\*15:133的鉴定及其原核表达[J].*中国组织工程研究与临床康复*,2011,15(05):878-881.
- [8] 李晓丰,章旭,陈阳,等.人类白细胞抗原新等位基因HLA-A\*3020的鉴定及确认[J].*中华医学遗传学杂志*,2010,27(1):96-99.
- [9] 刘娜,单小燕,李伟,等.DNA测序鉴定新等位基因人白细胞抗原-Cw\*1521[J].*中华检验医学杂志*,2009,32(1):71-72.
- [10] Marsh SGE, WHO nomenclature committee for factors of the HLA system. Nomenclature for factors of the HLA system, update August 2010. *Tissue Antigens* 2011;77:167-175.
- [11] 韩浙东,王炜,章伟,等.用等位基因组特异性引物扩增技术确认HLA-B新等位基因B\*15:129[J].*中华医学遗传学杂志*,2011,28(3):293-295.
- [12] 李晓丰,章旭,张坤莲,等.HLA- I 类基因新等位基因HLA-B\*52:11的序列分析及确认[J].*中华医学遗传学杂志*,2011,28(6):712-715.
- [13] 李晓丰,章旭,张坤莲,等.HLA新等位基因HLA-B\*08 : 57的核苷酸序列分析[J].*中华微生物学和免疫学杂志*,2013,(11):827-827.
- [14] 李晓丰,章旭,张坤莲,等.新等位基因HLA-B\*37:04:02的序列分析[J].*中华医学遗传学杂志*,2014,31(4):515-517.
- [15] Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, et al. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature*. 1987;329(6136):254-256.
- [16] 张志欣.HLA新等位基因的确认与研究及其在我国的开展[J].*中国输血杂志*,2008,21(2):81-83.
- [17] Cesbron GA, Simon P, Achard L, et al. Luminex technology for HLA typing by PCR-SSO and identification of HLA antibody specificities. *Ann Biol Clin*. 2004;62(1):93-98.
- [18] 李晓丰,李剑平,迟立平,等.流式磁珠反向杂交法HLA基因分型中磁珠读数减少对结果的影响[J].*中国输血杂志*,2007,20(1):37-39.
- [19] 鞠瑞青,陈琳,林乾飞,等.HLA 新等位基因HLA-B\*5145的确认[J].*中国组织工程研究与临床康复*,2010,14(44):8249-8252.
- [20] Zhu F, He Y, Zhang W, 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.
- [21] 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.
- [22] 王大明,何柳媚,邹红岩,等.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.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] Zhang KL, Liu XZ, Chen Y, et al. A novel HLA-B\*46 allele, B\*4609, identified by sequence-based typing in a Chinese donor. *Tissue Antigens*. 2007;70(4):344-345.
- [26] Xiao Y, Zhou XY, Liu N, et al. Identification of a novel allele HLA-A\*2489 by sequence-based typing in a Chinese individual. *Tissue Antigens*. 2009;74(3):249-250.
- [27] Li JP, Li XF, Chen Y, et al. A new human leukocyte antigen A allele, HLA-A\*3020. *Tissue Antigens*. 2009;73(6):606-607.
- [28] Liu XZ, Li XF, Zhang KL, et al. A new human leukocyte antigen B allele, HLA-B\*52:11. *Tissue Antigens*. 2011;77(3):261-262.
- [29] 周丹.中国汉族人群人类白细胞抗原新等位基因A\*1155的确认[J].*中国组织工程研究与临床康复*,2010,14(44):8241-8244.
- [30] 胡彬,迟晓云,冯智慧.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.
- [31] 焦立新,杨帆,韩瑜,等.吉林汉族人群HLA-A 高分辨基因的多态性分析[J].*中国组织工程研究*,2012,16(18):3345-3348.
- [32] Li XF, Chen Y, Zhang X, et al. An Analysis of HLA-A, -B, and -DRB1 allele and haplotype frequencies of 21,918 residents living in liaoning, China. *PLoS One*. 2014;9(4):e93082.
- [33] 吴国光,邓志辉,高素青,等.6965名汉族骨髓供者HLA多态性分析[J].*中华血液学杂志*,2004,25(8):473-477.
- [34] 陈阳,李剑平.辽宁汉族人群HLA-B等位基因多态性的分布[J].*中华医学遗传学杂志*,2006,23(4):461-462.