

한국인에서 8가지 ABO 대립유전자의 빈도 분석

송상훈¹ · 장호은² · 유광철² · 이현정² · 박경운^{1,2} · 송정환^{1,2} · 한규섭¹

서울대학교 의과대학 검사의학교실¹, 분당서울대학교병원 진단검사의학과²

Analysis for Eight ABO Alleles in Korean Population

Sang Hoon Song, M.D.¹, Ho Eun Chang, M.T.², Kwang Chul Ryu, M.T.², Hyun Jung Lee, M.T.², Kyoung Un Park, M.D.^{1,2}, Junghan Song, M.D.^{1,2}, and Kyou Sup Han, M.D.¹

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University College of Medicine¹, Seoul; and Seoul National University Bundang Hospital², Bundang, Korea

Background : ABO genotyping is a useful tool in case of ABO discrepancies and in legal medicine. Recent knowledge of various alleles in the ABO gene has led to the need of a different method that can cover numerous polymorphisms. We performed a polymerase chain reaction using sequence-specific priming (PCR-SSP) with 12 primer sets and evaluated its value in the detection of 8 ABO alleles.

Methods : Genomic DNA was isolated from peripheral blood of 222 unrelated Koreans. Sequence-specific primer sets for the nucleotides 261, 297, 467, 802, 803, and 1059 were selected, and 12 PCR reactions were performed for each sample. Direct sequencing was performed to evaluate the accuracy of discrimination between Aⁱ(Pro) and Aⁱ(Leu) and between Oⁱ and O^{iv}.

Results : All the ABO genotype patterns were in an exact match with the ABO phenotypes. The results from sequencing and PCR-SSP were equivalent. The allele frequencies of Aⁱ, B, Oⁱ, and O^{iv} were 27.25%, 19.82%, 27.25%, and 25.68% respectively. Out of total 121 Aⁱ alleles, 6 (4.96%) were Aⁱ(Pro) alleles and 115 (95.04%) were Aⁱ(Leu) alleles. No A², O², or CisAB alleles were found in this study.

Conclusions : The proportion of O^{iv} allele was similar to that of Oⁱ allele. This was an unexpected result. We developed a method for detecting 8 ABO alleles by PCR-SSP; the method was accurate and was able to discriminate between Aⁱ(Pro) and Aⁱ(Leu) and between Oⁱ and O^{iv}. (Korean J Lab Med 2006;26:374-9)

Key Words : ABO, Polymerase chain reaction, Allele, Aⁱ(Leu), O^{iv}

서론

ABO 혈액형은 수혈의학과 이식면역학에서 가장 중요한 혈액

형 체계이다. ABO 유전자의 염기서열은 1990년에 처음 알려졌다 으며[1], 이후 150개 이상의 대립유전자가 발견되었다. ABO 유전자에 의해 생성된 각각의 효소를 통해서 ABO 혈액형이 결정된다. A 대립유전자에 의해 생성된 효소는 N-acetylgalactosamine을 H 항원에 붙여서 A 항원을 만들며, B 대립유전자에 의해 생성된 효소는 갈락토오스를 H 항원에 붙여서 B 항원을 만든다. 한편, O 대립유전자는 활성형 효소를 생성하지 못한다. ABO 유전자는 9q34에 위치하며, cDNA는 7개의 엑손으로 구성되어 있고 엑손 6과 엑손 7이 전체 염기서열의 77%를 차지한다.

접 수 : 2006년 6월 1일 접수번호 : KJLM1955
수정본접수 : 2006년 8월 25일
게재승인일 : 2006년 8월 25일
교신저자 : 박 경 운
우 463-707 경기도 성남시 분당구 구미동 300
분당서울대학교병원 진단검사의학과
전화 : 031-787-7692, Fax : 031-787-4015
E-mail : m91w95@dreamwiz.com

A 대립유전자와 B 대립유전자는 7개의 염기(297, 526, 657, 703, 796, 803, 930)에서 차이를 보인다. 이 중 4개의 염기(526, 703, 796, 803)의 차이가 아미노산의 변화를 일으켜 효소의 특이성과 활성에 영향을 미친다[1]. O 대립유전자는 261번 염기의 결실로 인해 117개의 아미노산으로 이루어진 비활성형 효소를 생성하여 A 또는 B 항원을 만들지 못한다[1]. 동양인에서는 아직까지 발견되지 않았으나 서양인에서는 흔히 발견되는 O² 대립유전자의 경우에는 다른 O 대립유전자와는 달리 261번 염기의 결실이 없는 대신에 다른 몇몇 부위의 염기치환이 있다[2].

본 연구에서는 12쌍의 염기서열 특이 시발체를 이용한 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction using sequence-specific priming, PCR-SSP)을 이용하여 8가지의 ABO 대립유전자를 분석할 수 있는 방법을 고안하였고 보조적으로 염기서열분석을 시행하여 그 유용성을 평가하고 기존의 결과와 비교하고자 하였다.

대상 및 방법

분당서울대학교병원에서 헌혈을 시행한 비혈연관계에 있는 한국인 222명을 대상으로 하였다. 남자는 121명(54.5%), 여자는 101명(45.5%)이었으며 연령은 37.1±15.1세(18-79세)였다. 본 연구는 분당서울대학교병원 기관윤리위원회의 승인을 받았고 모든 검사대상으로부터 사전동의서를 받았다. 핵산추출에는 Puregene DNA isolation kit (Gentra Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하였다.

Table 1. Oligonucleotide primers used in typing of 8 ABO alleles

Polymorphic site	Name	Primer sequence (5' to 3')
Nucleotide 261	O1-F	GGA AGG ATG TCC TCG TGG TA
	nO1-F	GGA AGG ATG TCC TCG <u>AGG</u> TG
	O1-R	ATA TAT ATG GCA AAC ACA GTT AAC CCA ATG
Nucleotide 802	O2B-F	AGT GGA CGT GGA CAT GGA GTT CC
	O2-R	TCG ACC CCC CGA AGA AGC T
	nO2-R	CGA CCC CCC GAA GAA GCC
Nucleotide 803	O2B-F	AGT GGA CGT GGA CAT GGA GTT CC
	B-R	ATC GAC CCC CCG AAG AGC G
	nB-R	CCG ACC CCC CGA AGA GCC
Nucleotide 1059	A2-F	GAG GCG GTC CGG AAG CG
	nA2-F	GAG GCG GTC CGG AAC ACG
	A2-R	GGG TGT GAT TTG AGG TGG GGA C
Nucleotide 297	297G-F	CAT TGT CTG GGA GGG CAC G
	297A-F	CAT TGT CTG GGA GGG CAC A
	297-R	CTT GAT GGC AAA CAC AGT TAA C
Nucleotide 467	467-F	ACG TGG CTT TCC TGA AGC TG
	467T-R	GCG GAG CAC CGC GGC CG
	467C-R	GCG GGG CAC CGC GGC CA
Internal control	HGH-F	TGC CTT TTT AAC CAT TCC CTT A
	HGH-R	CCA CTC ACG GAT TTC TGT TGT GTT TC

Artificially changed base pairs are expressed as underlined.

1. 혈청학적 ABO 혈액형검사

혈구형검사는 마우스 단클론항체(Serologicals Co., Norcross, GA, USA)를 사용하여 슬라이드법으로 시행했고, 혈청형 검사는 자가제조한 혈구를 사용하여 시험관법으로 시행했다.

2. 염기서열 특이 시발체를 이용한 중합효소연쇄반응

총 6개의 염기(261, 802, 803, 1059, 297, 467)에 특이적인 12쌍의 시발체를 사용하여 중합효소연쇄반응을 시행하였다. 시발체는 기존의 연구에서 사용한 것들[2, 3] 사용하였으며 Table 1에 정리하였다. 중합효소연쇄반응은 PTC-200 (MJ Research Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 시행하였다. nO1-F 시발체의 경우 3' 말단으로부터 4, 5번째 위치에 인위적인 불일치염기를 삽입하였다. 각각의 중합효소연쇄반응에는 내부대조(internal control)로서 사람성장호르몬(HGH) 유전자를 증폭시키기 위한 반응을 포함하였다.

증폭반응의 조건은 467번 염기와 관련된 반응을 제외하고는 모두 동일하였다. 총 25 μ L의 반응액은 핵산추출물 100 ng, 10 \times buffer 2.5 μ L, 2.5 mM dNTP 1 μ L, Taq 중합효소 0.625 단위(Takara Bio Inc., Otsu, Japan), 대립유전자 검출을 위한 시발체 각각 5 pmol, HGH 시발체 각각 2 pmol로 구성되었다. 95°C에서 1분간 처리한 후에 95°C 1분, 66°C 1분, 72°C 1분씩 32회 반응시켰고, 최종연장반응은 72°C에서 5분간 시행하였다.

467번 염기와 관련된 반응은 총 25 μ L의 반응액에 HGH 시발체를 각각 1 pmol 혼합하였고 다른 조성은 동일하였다. 95°C에서 1분간 처리한 후에 95°C 30초, 68°C 30초, 72°C 30초씩 30회 반응시켰고, 최종연장반응은 72°C에서 5분간 시행하였다.

3. 염기서열분석

PCR-SSP를 이용한 297번 염기와 467번 염기에 대한 다형성분석의 정확성을 확인하기 위해서 염기서열분석을 시행하였다. 297번 염기의 분석을 위해서는 시발체로 Itr5-F (5'-AAG CTG AGT GGA GTT TCC AG-3') 및 297-R을 사용하여 인트론 5와 엑손 6의 일부를 포함하는 중합효소연쇄반응을 시행하였다. 467번 염기의 분석을 위해서는 시발체로 467-F와 nO2-R을 사용하여 중합효소연쇄반응을 시행하였다. 각각 235 bp와 442 bp 크기의 PCR 산물을 QIAquick PCR purification kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 정제한 후 ABI 3730xl DNA analyzer (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)를 사용하여 염기서열 분석을 시행하였다.

4. 통계분석

통계분석에는 SPSS 12.0 for Windows (SPSS Inc., Chica-

go, IL, USA)를 사용하였다. 본 연구와 다른 연구에서의 대립유전자 빈도의 차이를 분석하기 위해서 카이제곱검정을 시행하였고 $P<0.05$ 를 통계적으로 유의한 수준으로 설정하였다.

결 과

본 연구에서는 각각의 검체에 대해 12쌍의 PCR-SSP를 이용하여 *ABO* 대립유전자를 분석하였다. 본 연구의 결과에 따라 나타날 수 있는 8가지의 *ABO* 대립유전자에 대해 Table 2에 정리하였다.

총 222명의 헌혈자를 대상으로 한 분석에서 표현형과 유전형의 결과는 모두 일치하였으며, 297번과 467번 염기의 염기서열분석 결과는 모두 PCR-SSP와 동일한 결과를 보였다.

Table 2. Possible 8 alleles matched by polymorphisms on six nucleotide positions at the *ABO* locus

Nucleotide position						Allele
261	802	803	1059	297	467	
G	G	G	C	A	C	<i>A¹(Pro)</i>
G	G	G	C	A	T	<i>A¹(Leu)</i>
G	G	G	△	A	T	<i>A²</i>
G	G	C	C	G	C	<i>B</i>
△	G	G	C	A	C	<i>O¹</i>
G	A	G	C	G	C	<i>O²</i>
G	G	C	C	A	T	<i>CisAB</i>
△	G	G	C	G	C	<i>O^{iv}</i>

Abbreviation: △, deletion.

본 연구에서 나타난 주요 유전형과 그 빈도를 Table 3 및 Table 4에 정리하였다. 각각의 대립유전자의 빈도는 다음과 같았다: *A¹*, 27.25%; *B*, 19.82%; *O¹*, 27.25%; *O^{iv}*, 25.68%. *A¹* 대립유전자

Table 4. *ABO* genotype frequencies (%) in this study and comparison with other ethnic groups

Genotype	This study (N=222)	Korean [16] (N=253)	Japanese [20] (N=520)	Chinese [9] (N=125)	German [21] (N=169)	European [9] (N=98)
<i>A¹(Leu)/A¹(Leu)</i>	4.95	4.3	4.2	2.4	0.0 [†]	1.02
<i>A¹(Pro)/A¹(Pro)</i>	0.00	0.4	0.8	0.0	4.7 [†]	1.02
<i>A¹(Leu)/A¹(Pro)</i>	0.45	0.4	2.5	0.8	3.5*	0.00
<i>A¹(Leu)/O¹</i>	14.41	14.2	11.9	18.4	6.5 [†]	0.00 [†]
<i>A¹(Pro)/O¹</i>	0.45	2.4	4.6	0.0	17.2 [†]	14.29 [†]
<i>A¹(Leu)/O^{iv}</i>	15.32	8.3*	12.1	5.6 [†]	3.5 [†]	0.00 [†]
<i>A¹(Pro)/O^{iv}</i>	1.35	0.4	3.3	0.0	11.2 [†]	3.06
<i>B/B</i>	3.60	4.3	2.5	0.8	0.6*	2.04
<i>B/O¹</i>	9.01	15.0*	10.4	14.4	2.4 [†]	9.18
<i>B/O^{iv}</i>	11.26	7.5	9.6	9.6	2.4 [†]	4.08*
<i>O¹/O¹</i>	9.01	13.4	6.3	12.0	19.0 [†]	15.31
<i>O¹/O^{iv}</i>	12.61	13.4	15.0	20.0	19.0	17.35
<i>O^{iv}/O^{iv}</i>	5.41	5.2	6.2	6.4	3.5	2.04
<i>A¹(Leu)/B</i>	11.71	10.3	8.3	6.4	1.2 [†]	1.02 [†]
<i>A¹(Pro)/B</i>	0.45	0.4	2.3	1.6	1.2	4.08*
Others [‡]	-	-	-	1.6	4.1	25.51

* $P<0.05$ and [†] $P<0.01$ as compared to this study. [‡]Others include genotypes with *A²*, *O²*, or other *O* alleles other than *O¹* or *O^{iv}*.

Table 3. Possible patterns detected with PCR-SSP and results of *ABO* genotyping in 222 Korean blood donors

Nucleotide	261	261	802	803	803	803	1059	1059	297	297	467	467	Genotype	Phenotype	Number (%)
Reaction number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
Reaction name	01	NonO1	O2	NonO2	B	NonB	A2	NonA2							
Positive result	△	G	A	G	C	G	△	C	G	A	T	C			
	+			+		+		+		+		+	<i>O¹/O¹</i>	O	20 (9.01)
	+	+	+	+		+		+	+	+		+	<i>O¹/O²</i>	O	0 (0.00)
	+	+		+	+	+		+	+	+		+	<i>O¹/B</i>	B	20 (9.01)
	+	+		+		+		+		+	+/-	+	<i>O¹/A¹</i>	A ₁	33 (14.86)
	+	+		+		+	+	+		+	+	+	<i>O¹/A²</i>	A ₂	0 (0.00)
		+	+			+		+	+			+	<i>O²/O²</i>	O	0 (0.00)
		+	+	+	+	+		+	+			+	<i>O²/B</i>	B	0 (0.00)
		+	+	+		+		+	+	+	+/-	+	<i>O²/A¹</i>	A ₁	0 (0.00)
		+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	<i>O²/A²</i>	A ₂	0 (0.00)
				+	+			+	+	+		+	<i>B/B</i>	B	8 (3.60)
		+		+	+	+		+	+	+	+/-	+	<i>B/A¹</i>	A ₁ B	27 (12.16)
		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>B/A²</i>	A ₂ B	0 (0.00)
		+		+		+	+	+		+	+/-	+	<i>A²/A¹</i>	A ₁	0 (0.00)
		+		+		+	+			+	+		<i>A²/A²</i>	A ₂	0 (0.00)
		+		+		+		+		+	+/-	+/-	<i>A¹/A¹</i>	A ₁	12 (5.41)
	+			+		+		+	+	+		+	<i>O^{iv}/O¹</i>	O	28 (12.61)
	+	+		+		+		+	+	+	+/-	+	<i>O^{iv}/A¹</i>	A ₁	37 (16.67)
	+	+		+	+	+		+	+			+	<i>O^{iv}/B</i>	B	25 (11.26)
	+			+		+		+	+			+	<i>O^{iv}/O^{iv}</i>	O	12 (5.41)

Abbreviations: PCR-SSP, polymerase chain reaction using sequence-specific priming; △, deletion.

의 467C/T (Pro/Leu) 비율은 6:115이었으며, A^2 , O^2 및 $CisAB$ 대립유전자는 이번 연구에서 발견되지 않았다. 가장 흔하게 관찰된 유전형은 $A^1(Leu)/O^{IV}$ (15.32%)와 $A^1(Leu)/O^I$ (14.41%)이었다(Table 4).

고 찰

ABO 유전자의 cDNA 염기서열이 밝혀진 이후[1], ABO 유전형의 분석에는 다양한 분자유전학적 방법이 사용되어 왔다. 초기에는 소수의 다형성 부위를 대상으로 하여 중합효소연쇄반응-제한절편길이다형성(PCR-RFLP)이 많이 사용되었다[4, 5]. 국내에서도 261번과 803번 염기를 대상으로 PCR-RFLP를 시행하여 ABO 유전형을 분석한 연구[6] 및 261, 526, 803번 염기를 대상으로 한 연구가 있었다[7]. 또한 혈청학적 검사에서 ABO 불일치를 보인 증례를 대상으로 하여 261번 및 703번 염기의 다형성을 조사한 보고가 있었다[8]. 외국에서는 최근에 다양한 방법들이 시도되고 있고, 새로운 ABO 대립유전자가 계속해서 발견되고 있다[9-14]. 50개의 다형성 부위를 대상으로 하여 총 102쌍의 시발체를 이용한 PCR-SSP를 시행하여 유전형을 분석하고 새로운 대립유전자를 발견한 보고도 있다[3].

본 연구에서는 6개의 다형성 부위를 대상으로 한 PCR-SSP를 시행하였고, 이를 통해 8가지의 ABO 대립유전자를 구별할 수 있었다. A^1 , A^2 , B , O^I 대립유전자 이외에 $A^1(Leu)$, $A^1(Pro)$ 대립유전자를 구별할 수 있었고 O^{IV} 대립유전자를 추가로 확인할 수 있었다. 297번과 467번 염기의 경우 모든 검체를 대상으로 시행하지는 않았지만 염기서열분석 결과와 일치하여 정확하게 ABO 유전자형을 분석할 수 있는 방법임을 확인할 수 있었다. 기존에 국내에서 사용된 방법들에 비해 분석가능한 대립유전자의 종류가 많아졌고 제한효소를 사용함으로써 발생할 수 있는 오류를[15] 방지할 수 있다. 염기서열분석 방법은 다양한 부위의 다형성을 확인할 수 있는 장점이 있으나 고가의 장비가 필요하고 지나치게 많은 정보를 제공하기 때문에 정규검사로 사용하기는 힘들다고 생각된다.

A^1 , B , O 대립유전자의 빈도는 각각 0.273, 0.198, 0.529이었다. 과거에 보고된 0.231, 0.209, 0.560에 비해 A^1 대립유전자의 빈도가 약간 높고 B 대립유전자 및 O 대립유전자의 빈도는 약간 낮았으나 통계적으로 유의하지는 않았다. $A^1(Pro)$ 와 $A^1(Leu)$ 의 비

율의 경우, 총 121개의 A^1 대립유전자 중 6개는 $A^1(Pro)$, 115개는 $A^1(Leu)$ 로 나타났는데 이전에 9:91로 보고된[16] 것에 비해 $A^1(Leu)$ 의 비율이 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다($P=0.183$). 이전의 연구[16]와 본 연구 모두에서 대상 검체수가 충분하지 않아 $A^1(Pro)$ 대립유전자의 숫자가 적절히 반영되지 않았을 가능성이 있으며, 향후에 충분한 검체를 대상으로 한 연구를 통해 한국인에서의 $A^1(Pro)$ 와 $A^1(Leu)$ 대립유전자의 비율을 확인할 필요가 있다고 생각된다. 일반적으로 동양인에서는 $A^1(Leu)$ 이, 서양인에서는 $A^1(Pro)$ 가 더 흔하게 관찰되는 것으로 보고되고 있다(Table 5). B 대립유전자의 빈도는 동양인에서 0.168-0.209로 나타나 서양인의 0.047-0.128보다 흔한 것으로 보고되었는데 이는 본 연구의 결과와 유사하다. 서양인에서 드물지 않게 관찰되는 O^2 또는 A^2 대립유전자는 본 연구에서는 관찰되지 않았으며 이는 과거 동양인을 대상으로 한 연구 결과들과 유사한 결과이다. O^I 와 O^{IV} 대립유전자의 비율은 52.2:47.8%로 나타나 예상보다 O^{IV} 의 비율이 높았다. 이는 이전에 한국인을 대상으로 한 연구[16]에서 전체 O 대립유전자 중 O^{IV} 대립유전자가 36%로 나타난 것에 비하면 높은 결과이며, 오히려 일본인을 대상으로 한 연구의 결과와 유사하다(Table 5). O^{IV} 대립유전자는 특히 미국인디언에서 전체 O 대립유전자의 90% 이상을 차지할 정도로 높은 비율로 존재하는 것으로 알려져 있고[17] 동양인에서 서양인보다 약간 높은 비율로 관찰되었다[18]. O^{IV} 대립유전자는 261번 염기의 결실이 있는 것은 O^I 대립유전자와 같지만 297A>G 변이가 추가로 있는 점이 다르다[19]. 그러나 646, 681, 771, 829번 염기의 치환이 추가로 존재하는 경우가 대부분이기 때문에[19] 본 연구에서 검출된 높은 비율의 O^{IV} 는 이러한 다양한 아형들의 합으로 받아들여야 하며, 전반적인 염기서열분석을 통해 여러 다형성 부위의 변이를 확인해야 할 것이다. 또한 본 연구에서는 O^{IV} 대립유전자를 확인하기 위해 297번 염기를 대상으로 했지만 이전의 국내 연구와[16] 일부 외국의 연구[20, 21]에서는 646번 염기를 대상으로 하기도 하였는데, 서로 다른 부위의 변이를 가진 형이 일부 존재하지만 매우 드문 것으로 알려져 있기 때문에 전체적인 결과에는 큰 차이가 없을 것으로 생각된다. 이번 연구에서 A^2 대립유전자와 O^2 대립유전자는 발견되지 않았다. A^2 대립유전자는 서양인에서는 드물지 않으나 동양인에서는 매우 드물게 발견되며[9], A_2 또는 A_2B 표현형을 나타내는 경우의 일부에서 발견되는 것으로 알려져 있다[22]. O^2 대립유전자는 아직까지 동양인에서는 발견된 적이 없으

Table 5. ABO allele frequencies in various populations

Population	$A^1(Leu)$	$A^1(Pro)$	B	O^I	O^{IV}	O^2	A^2	Others [†]
This study	0.259	0.013	0.198	0.273	0.257	0.000	0.000	-
Korean[16]	0.209	0.022	0.209	0.360 [†]	0.200*	0.000	Not tested	-
Japanese[20]	0.216	0.071 [†]	0.178	0.273	0.262	0.000	Not tested	-
Chinese[9]	0.180*	0.012	0.168	0.384 [†]	0.248	0.000	0.000	0.008
German[21]	0.077 [†]	0.213 [†]	0.047 [†]	0.426 [†]	0.216	0.021	Not tested	-
European[9]	0.015 [†]	0.138 [†]	0.128*	0.408 [†]	0.163 [†]	0.010*	0.056 [†]	0.082

* $P<0.05$ and $^†P<0.01$ as compared to this study. [†]Others are rare A or O alleles with unexpected base change or deletion not defined in our method.

나 다른 대부분의 O 대립유전자와는 달리 261번 염기의 결실이 없어서 잘못된 유전형으로 분류될 수 있으므로, ABO 유전형분석을 할 때는 이번 연구처럼 802번 염기의 분석을 포함시키는 것이 바람직하다고 생각된다.

과거에는 엑손 6과 엑손 7의 다형성 부위가 주된 연구 대상이었지만, 최근에는 엑손 1-5 부위와 인트론 등의 부위로 분석범위가 확대되면서[23-25] 이들 부위의 다형성까지 반영한 새로운 대립유전자들이 발견되고 있다. 이러한 여러 유전자다형성의 발생기전으로는 점돌연변이를 비롯하여 상호전위(reciprocal translocation)나 유전자변환(gene conversion) 등의 기전도 동시에 작용할 것으로 생각하고 있다[26].

본 연구에서 시행한 6개의 염기에 대한 12쌍의 PCR-SSP를 통한 ABO 유전형분석의 결과는 ABO 표현형과 모두 일치하였으며, $A^1(Pro)$ 과 $A^1(Leu)$ 대립유전자 및 O^1 과 O^{1v} 대립유전자를 명확히 구별할 수 있었다.

요 약

배경 : ABO 유전형분석은 ABO 불일치가 있는 경우와 법의학에서 유용한 수단이다. 최근에 다양한 ABO 대립유전자가 존재한다는 사실이 알려지면서 다수의 다형성을 분석할 수 있는 방법이 필요하게 되었다. 저자들은 12쌍의 염기서열 특이 시발체를 이용한 중합효소연쇄반응(PCR-SSP)을 도입하여 8개의 ABO 대립유전자를 검출하고자 하였다.

방법 : 비혈연관계에 있는 222명의 한국인의 말초혈액에서 핵산을 추출하였다. 261, 297, 467, 802, 803, 1059번 염기에 대한 PCR-SSP를 이용하여 각 검체마다 12가지의 중합효소연쇄반응을 실시했다. $A^1(Pro)$ 와 $A^1(Leu)$ 및 O^1 과 O^{1v} 대립유전자가 정확하게 구별되는지 평가하기 위해 직접염기서열분석을 시행했다.

결과 : 모든 ABO 유전형이 ABO 표현형과 일치했으며, 염기서열분석 결과는 PCR-SSP 결과와 일치했다. A^1 , B, O, O^{1v} 대립유전자의 빈도는 각각 27.25%, 19.82%, 27.25%, 25.68%이었다. 총 121개의 A^1 대립유전자 중 $A^1(Pro)$ 는 6개(4.96%), $A^1(Leu)$ 는 115개(95.04%)였다. A^2 , O^2 , $CisAB$ 대립유전자는 본 연구에서 발견되지 않았다.

결론 : O^{1v} 대립유전자의 비율은 O^1 대립유전자의 비율과 비슷했으며 이는 예상하지 못한 결과였다. 저자들은 PCR-SSP를 이용하여 8 ABO 대립유전자의 분석을 시행하였는데, 이 방법은 정확하였으며 $A^1(Pro)$ 와 $A^1(Leu)$ 및 O^1 과 O^{1v} 대립유전자를 명확히 구별할 수 있었다.

참고문헌

1. 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.
2. Gassner C, Schmarda A, Nussbaumer W, Schonitzer D. ABO glycosyltransferase genotyping by polymerase chain reaction using sequence-specific primers. *Blood* 1996;88:1852-6.
3. Seltam A, Hallensleben M, Kollmann A, Burkhart J, Blasczyk R. Systematic analysis of the ABO gene diversity within exons 6 and 7 by PCR screening reveals new ABO alleles. *Transfusion* 2003;43: 428-39.
4. Lee JC and Chang JG. ABO genotyping by polymerase chain reaction. *J Forensic Sci* 1992;37:1269-75.
5. Fukumori Y, Ohnoki S, Shibata H, Yamaguchi H, Nishimukai H. Genotyping of ABO blood groups by PCR and RFLP analysis of 5 nucleotide positions. *Int J Legal Med* 1995;107:179-82.
6. Oh HB, Cho YJ, Cho YH, Hwang YS, Kim DS, Kim SI. Genotyping of ABO and D antigens. *Korean J Blood Transfus* 1997;8:31-7. (오홍범, 조연정, 조영희, 황유성, 김두성, 김상인. ABO 및 D 항원의 유전자형 분석. *대한수혈학회지* 1997;8:31-7.)
7. Kang SH, Shin DH, Cho HC, Lee KM, Han KS. Simple ABO genotyping method using three polymorphic sites at the ABO locus. *Korean J Blood Transfus* 1998;9:155-65. (강성하, 신동훈, 조현찬, 이규만, 한규섭. 3개의 다형성 부위를 이용한 간편한 ABO 유전자형 검사법. *대한수혈학회지* 1998;9:155-65.)
8. Kim MJ, Shin JW, Kim YH, Kim HO, Cho SR, Kim WJ. Application of ABO genotyping in determination of ABO subgroups. *Korean J Blood Transfus* 1998;9:209-17. (김문정, 신정원, 김영환, 김현옥, 조성란, 김휘준. ABO 아형에서 ABO 유전자형 검사의 적용. *대한수혈학회지* 1998;9:209-17.)
9. Yip SP. Single-tube multiplex PCR-SSCP analysis distinguishes 7 common ABO alleles and readily identifies new alleles. *Blood* 2000; 95:1487-92.
10. Olsson ML, Irshaid NM, Hosseini-Maaf B, Hellberg A, Moulds MK, Sareneva H, et al. Genomic analysis of clinical samples with serologic ABO blood grouping discrepancies: identification of 15 novel A and B subgroup alleles. *Blood* 2001;98:1585-93.
11. Ferri G, Bini C, Ceccardi S, Pelotti S. ABO genotyping by minisequencing analysis. *Transfusion* 2004;44:943-4.
12. Doi Y, Yamamoto Y, Inagaki S, Shigeta Y, Miyaishi S, Ishizu H. A new method for ABO genotyping using a multiplex single-base primer extension reaction and its application to forensic casework samples. *Leg Med (Tokyo)* 2004;6:213-23.
13. Ferri G, Bini C, Ceccardi S, Ingravalle F, Lugaresi F, Pelotti S. Minisequencing-based genotyping of duffy and ABO blood groups for forensic purposes. *J Forensic Sci* 2006;51:357-60.
14. Seo DH, Kim SY, Kim JY, Park SS, Lee JB, Han KS. Molecular characteristics of B subgroups in Koreans. *Korean J Lab Med* 2005;25:

- 280-4. (서동희, 김성연, 김지연, 박성섭, 이정빈, 한규섭. 한국인 B 아형 혈액형의 분자유전학적 분석. 대한진단검사의학회지 2005;25:280-4.)
15. Ringel PF, Weiler G, Bein G. Errors in ABO typing of blood stains using PCR. *Int J Legal Med* 2000;113:352-5.
16. Kang SH, Fukumori Y, Ohnoki S, Shibata H, Han KS, Nishimukai H, et al. Distribution of ABO genotypes and allele frequencies in a Korean population. *Jpn J Hum Genet* 1997;42:331-5.
17. Olsson ML, Santos SE, 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.
18. Chester MA and Olsson ML. The ABO blood group gene: a locus of considerable genetic diversity. *Transfus Med Rev* 2001;15:177-200.
19. Yip SP. Sequence variation at the human ABO locus. *Ann Hum Genet* 2002;66:1-27.
20. Fukumori Y, Ohnoki S, Shibata H, Nishimukai H. Suballeles of the ABO blood group system in a Japanese population. *Hum Hered* 1996;46:85-91.
21. Nishimukai H, Fukumori Y, Okiura T, Yuasa I, Shinomiya T, Ohno-ki S, et al. Genotyping of the ABO blood group system: analysis of nucleotide position 802 by PCR-RFLP and the distribution of ABO genotypes in a German population. *Int J Legal Med* 1996;109:90-3.
22. Cho D, Shin MG, Yazer MH, Kee SJ, Shin JH, Suh SP, et al. The genetic and phenotypic basis of blood group A subtypes in Koreans. *Transfus Med* 2005;15:329-34.
23. 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.
24. Suzuki K, Iwata M, Tsuji H, Takagi T, Tamura A, Ishimoto G, 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.
25. Olsson ML and 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.
26. Suzuki K. ABO blood group alleles and genetic recombination. *Leg Med (Tokyo)* 2005;7:205-12.