

版纳微型猪近交系 AO 血型基因外显子 7 和外显子 8 遗传特征分析

潘伟荣^{1,2}, 查星琴^{1,2}, 霍金龙^{1,2}, 卿玉波^{1,2}, 肖晶², 魏红江¹, 曾养志², 成文敏^{1,2*}

(1. 云南农业大学动物科学技术学院, 昆明 650201; 2. 云南省版纳微型猪近交系重点实验室, 昆明 650201)

摘要: 猪的 UDP-N-乙酰半乳糖胺转移酶 (UDP-N-acetylgalactosamine transferase, UDP-GalNAc) 是负责转移一分子的 N-乙酰-D-半乳糖胺基 (NAcGal) 到 H 底物上形成 A 抗原, 从而决定 A 型血的转移酶, AO 血型系统的 A 基因编码 A 转移酶。采用 PCR 技术和直接测序的方法对版纳微型猪近交系 *UDP-GalNAc* 基因外显子 7 和外显子 8 进行多态性分析, 均仅检测到 1 种基因型。通过序列比较发现, 版纳微型猪近交系 *UDP-GalNAc* 基因外显子 7 和外显子 8 与 NCBI 数据库中 14 个其他物种的 ABO 血型基因存在较高的同源性。与人相比, 猪外显子 7 第 92~97 位缺失编码两个氨基酸的 6 个碱基。构建的基因进化树分析结果显示版纳微型猪近交系与牛、羊、鲸亲缘关系最近。

关键词: UDP-N-乙酰半乳糖胺转移酶基因; 版纳微型猪近交系; 外显子 7 和 8; PCR; 序列分析

中图分类号: S828.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)04-0584-07

Genetic analysis of exon 7 and exon 8 of the UDP-GalNAc gene in Banna Mini-pig inbred line

PAN Weirong^{1,2}, ZHA Xingqin^{1,2}, HUO Jinlong^{1,2}, QING Yubo^{1,2},
XIAO Jin², WEI Hongjiang¹, ZENG Yangzhi², CHENG Wenmin^{1,2}

(1. College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201;

2. Key Laboratory of Banna Mini-pig Inbred Line of Yunnan Province, Kunming 650201)

Abstract: The porcine UDP-N-acetylgalactosamine transferase (UDP-GalNAc) is the enzyme responsible for transferring a molecule of N-acetylgalactosamine (NAcGal) to the H substrate to synthesize A antigen, which determines A group, the blood group A gene encoding A transferase. In this study, we PCR amplified the exon 7 and exon 8 sequences of the UDP-GalNAc gene (134 bp and 341 bp in length, respectively) in Banna Mini-pig inbred line. Sequencing of both the exons yielded just one single genotype in the tested population. Homology search in NCBI database with 14 species revealed that the similarity varied from 100 % (pig) to 72.6 % (mice). We documented a deletion of six bases (from the 92th to the 97th) in exon7 in Banna Mini-pig when compared to human, which resulted in missing of two amino acids. Phylogenetic analysis with 14 selected species revealed that Banna Mini-pig shared the same genetic cluster with cattle, sheep, goat and minke whale.

Key words: UDP-N-acetylgalactosamine transferase gene; Banna Mini-pig Inbred Line; exon 7 and 8; PCR (polymerase chain reaction); sequence analysis

血型即红细胞抗原型, 它是一种早期表达、不受环境影响且终生不变的遗传性状, 具有稳定的遗传特性和高度的个体特异性, 目前已检测到人类有 30 个血型系统, 猪有 16 个血型系统, 其中 ABO 血型系统 (猪为 AO 血型系统) 是最为广泛、最为重要和最具有临床意义的一个抗原系统^[1]。人类 ABO 基

因定位于染色体 9q34.1-34.2, 猪的 AO 基因定位于染色体 1q2.10-2.1^[2-4]。ABO 基因并非直接编码决定血型的 A、B 抗原, A 基因编码 UDP-N-乙酰半乳糖胺转移酶 (UDP-N-acetylgalactosamine transferase, UDP-GalNAc), 它将一分子的 N-乙酰-D-半乳糖胺基 (NAcGal) 转移到 H 底物上形成 A 抗原 (A 血型),

收稿日期: 2017-01-03

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(2014Z077)资助。

共同第一作者: 潘伟荣, 实验师。E-mail: 584210385@qq.com; 查星琴, 实验师。E-mail: chaxingqin-jk@163.com

* 通信作者: 成文敏, 博士, 副教授。E-mail: cheng_8097@163.com

B 基因编码 D-半乳糖转移酶, 将相应的 D-半乳糖转移到没有活性的 H 底物上合成 B 抗原 (B 血型)^[5-7]。人类 ABO 基因有 7 个外显子, 大小从 28~688 bp 不等, 多数编码序列位于第 6 和第 7 外显子^[8-9]。猪 AO 基因有 8 个外显子, 大小从 13~691 bp 不等, 其中大于 73 bp 的只有第 7 和第 8 外显子, 多数编码序列位于这两个外显子^[10]。

猪是人类异种器官移植的最理想供体。猪的部分细胞、组织和器官在解剖学、生理学特性、发病机理、营养代谢和形态及大小等方面与人极为相似, 把猪作为人类器官的重要来源, 引起了医学家的极大兴趣, 成为异种器官移植的主要研究目标^[11-12]。猪到人的异种器官移植, 目前还处于猪猴器官移植的探索、研究阶段, 实现器官移植首先要进行供、受体动物的血型配型, 这是解决移植过程中超急性排异反应的先决条件^[13]。对 ABO 血型的准确鉴定是实现安全、有效输血和组织器官移植的一个最基本条件^[14-15]。

版纳微型猪近交系是基因高度纯合、遗传背景清楚的高级纯系, 是异种器官移植、转基因动物研究、基因敲除和生物医学实验等研究中最理想的实验动物, 在整个生命科学领域具有极其重要的潜在

价值。本研究应用 PCR 及其测序的方法, 通过对版纳微型猪近交系血样的检测, 系统研究版纳微型猪近交系 AO 血型的分子基础、血型分布状态以及亚型发生频率, 为今后进行猪到猪、猪到猴的组织器官移植研究提供分子遗传依据和参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究采集的版纳微型近交系猪样本量为 89 头, 从每头猪的前腔静脉抽血 10 mL, 低温带回实验室, -20℃ 冻存。

1.2 实验试剂

实验过程中所使用的检测血型的血清学单克隆抗-A、单克隆抗-B 试剂产自上海生物厂; 分子试剂、试剂盒、ddH₂O、PremixTaq、质粒载体 pMD18-T Vector、大肠杆菌 DH5α 株、培养基等均购自宝生物工程 (大连) 有限公司。

1.3 合成引物

引物参照 Nguyen 等^[10]研究的 AO 血型基因第 7、8 外显子引物序列, 由上海生工合成。第 7、8 外显子扩增的特异性片段长度分别为 134 bp 和 341 bp, 第 8 外显子扩增的是其中一部分片段 (见表 1)。

表 1 引物资料
Table 1 Primer information

引物名称 Primer name	引物序列 (5'→3') Primers sequence	退火温度/℃ Tm	检测区域 Assayed region	产物长度/bp Size of products
AO exon 7F	GAGAGTGGACGTGCTGGTCATG	60.0	Exon 7	134
AO exon 7R	CGTATTTTTTGATGGCAAACACGG			
AO exon 8F	CGCCAGTCCTTCACCTACGAAC	62.5	Exon 8	341
AO exon 8R	CGGTTCCGAATCTCTGCGTG			

1.4 方法

1.4.1 猪血型的血清学检测 采血的同时, 将血清学单克隆抗-A、单克隆抗-B 试剂各滴一滴在载玻片的两端, 把采出的新鲜血液各滴一滴在抗-A、抗-B 试剂滴上, 分别用干净的枪头搅动混匀血液和试剂, 并根据血液凝集与否判断每头猪的血型并做详细记录。血型的判断标准为: 抗-A 点出现凝集块为 A 型血, 抗-B 点出现凝集块为 B 型血, 抗-A 和抗-B 点都出现凝集块为 AB 型血, 抗-A 和抗-B 点都不出现凝集块为 O 型血。

1.4.2 DNA 的提取 依照天根生化科技公司提供的基因组 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA, 保存于 4℃ 备用。提取的 DNA 直接用于 PCR 反应。

1.4.3 PCR 扩增及产物测序 PCR 反应体系 (50.0

μL): PremixTaq 26.0 μL, 上、下游引物各 2.0 μL, DNA 模板 3.0 μL, 加 17.0 μL dd H₂O 至 50.0 μL。

PCR 反应条件: 94℃ 预变性 5 min、94℃ 变性 30 s、60℃ 退火 30 s (第 7 外显子) 或 62.5℃ 退火 30 s (第 8 外显子)、72℃ 延伸 30 s, 34 个循环, 72℃ 后延伸 7 min 终止反应, 4℃ 中保存。

制备 2% 琼脂糖凝胶, 调节 200 V 电泳 30 min, 自动凝胶成像系统 (SYGENE, GeneGenius) 中分析并拍照。将含有目的基因片段且效果好的剩余 PCR 扩增产物送测序公司进行正、反向测序。

1.4.4 数据分析 利用 BioEdit、DNAMAN 等软件对获得的序列进行比对、拼接和整理, 输入到 NCBI (The National Center for Biotechnology Information) 的 BLAST 软件进行序列比对。用

Lasergene 软件包对各物种核苷酸、氨基酸序列进行同源性统计和群体遗传分析。

2 结果与分析

2.1 血液单克隆抗-A、抗-B 试剂血清学检测结果

用人 ABO 血型单克隆抗-A、抗-B 血清学试剂对版纳微型猪近交系重点实验室所属的 3 个猪场近 1 500 头的存栏个体进行随机抽样检测,昆明猪场和玉溪元江猪场均没有检测到 O 型血的个体,可以推测这 2 个猪场的猪群已全部是 A 型血基因的纯合体(见图 1)。在西双版纳州景洪猪场基本检测了所有存栏猪群, O 型血个体仅有 32 头,其余全部为 A 型血个体(见表 2)。经查阅系谱发现, O 型血的个体全部来源于一个血缘系统。表明版纳微型猪近交系经过多年的高度近交,血型基因已分化并高度纯合,形成了 2 个血型纯合体的亚系。

2.2 PCR 扩增结果

以血液基因组试剂盒提取的 DNA 为模板,用合成的 2 对引物进行 PCR 扩增,引物 7F/7R 扩增到

约 134 bp 的特异性片段,与 *UDP-GalNac* 基因外显子 7 的预期扩增片段大小一致(见图 2)。引物 8F/8R 扩增特异性片段为 341 bp,与 *UDP-GalNac* 基因外显子 8 预期扩增片段大小一致(见图 3)。但在第 8 外显子的电泳胶图中,有的样本没有条带,表明未扩增出第 8 外显子。

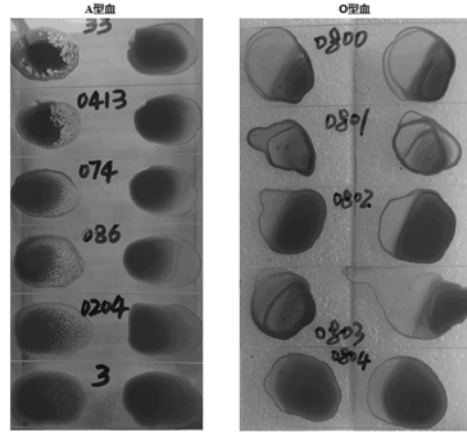


图 1 单克隆抗体验血结果

Figure 1 The blood type results of monoclonal antibody test

表 2 血型检测信息

Table 2 Blood type test information

编号 Sample number	血型 Blood type	编号 Sample number	血型 Blood type	编号 Sample number	血型 Blood type	编号 Sample number	血型 Blood type	编号 Sample number	血型 Blood type
1	O	19	A	37	A	55	O	73	O
2	O	20	A	38	A	56	O	74	A
3	A	21	A	39	A	57	O	75	O
4	O	22	O	40	A	58	A	76	O
5	A	23	O	41	A	59	O	77	O
6	A	24	O	42	A	60	O	78	O
7	O	25	O	43	A	61	O	79	O
8	O	26	A	44	A	62	A	80	A
9	A	27	A	45	A	63	A	81	O
10	O	28	A	46	A	64	O	a	O
11	A	29	A	47	O	65	O	b	A
12	O	30	O	48	A	66	O	c	O
13	O	31	O	49	A	67	O	d	A
14	A	32	O	50	O	68	O	e	A
15	O	33	O	51	O	69	O	f	O
16	O	34	O	52	O	70	O	g	O
17	A	35	O	53	O	71	O	h	O
18	A	36	A	54	O	72	A		

2.3 PCR 产物测序结果

将第 7 和第 8 外显子各 50 个样本的 PCR 扩增产物直接送检测序,外显子均得到一个统一的核苷酸序列,没有发现多态(黑色阴影部分为引物序列)。

完整的第 7 外显子序列(129 bp):

GAGAGTGGACGTGCTGGTCATGACTCCCTGGT
TTGCTCCCATCATCTGGGATGGGACCTTTGATT
CTGCTGTCCTGGATGCACAGTTCAGAAACACC
ACCATTGGCCTGACCGTGTGGCCATCAAAAA

部分第 8 外显子序列(341bp):

CGCCAGTCCTTCACCTACGAACGCCGGCCCT
 GTCTCAGGCTTACATTCCGAGAGATGAGGGCG
 ACTTTTACTACGCAGGAGGCTTTTTTGGGGGG
 TCAGTCCCTGAGGTGCAGCGGCTCACCACCGC
 GTGTCACCAGGCCATGGTGGCTGACAAGGCCA
 AGGGCATCGAGGCTGTGTGGCATGATGAGAGC
 CACCTGAACAGGTACCTGCTGTACCACAAGCC
 CAGCAAGGTGCTGTCCCGGAGTACCTATGGG
 ACGAGCACATGCTGCAGAGACCCCTTCTC
 AGGAAACTGCGCTACGTGGCGGTGCCCAAGA
 ATCACGCAGAGATTCGGAACCG

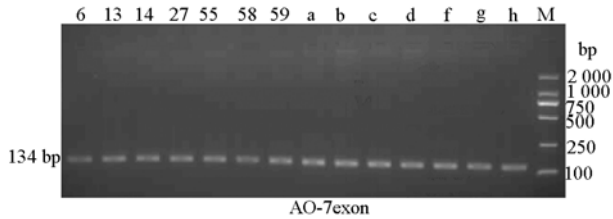


图 2 AO 血型基因第 7 外显子 PCR 扩增结果

Figure 2 PCR amplified results of the exon 7 of AO blood gene

2.4 核苷酸序列同源性比对

第 7 外显子核苷酸序列与 GenBank 中 14 个物种进行同源性比对, 结果显示与猪 (GU256573.1)

100%、猪 (GU256574.1) 100%、猪 (NM_213799.1) 100%、牦牛 (XM_005897425.2) 88.4%、藏羚羊 (XM_005984867.1)91.5%、水牛(XM_006062492.1) 89.1%、小须鲸 (XM_007194398.1) 93.0%、绵羊 (XM_012160540) 90.7%、羊驼 (XM_006217506.2) 86.8%、野骆驼 (XM_014563731.1) 85.3%、山羊 (XM_018056137.1) 90.7% 、 黑 猩 猩 (NM_001194925.2) 62.8%、人 (BC111575) 62.0% 和 小 鼠 (NM_030718) 65.1% (见图 4)。

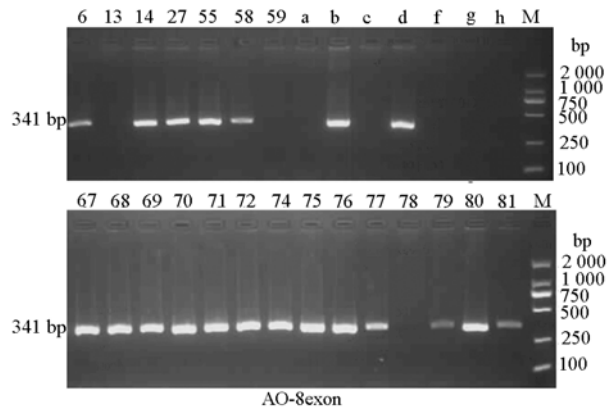


图 3 AO 血型基因第 8 外显子 PCR 扩增结果

Figure 3 PCR amplified results of the exon 8 of AO blood gene

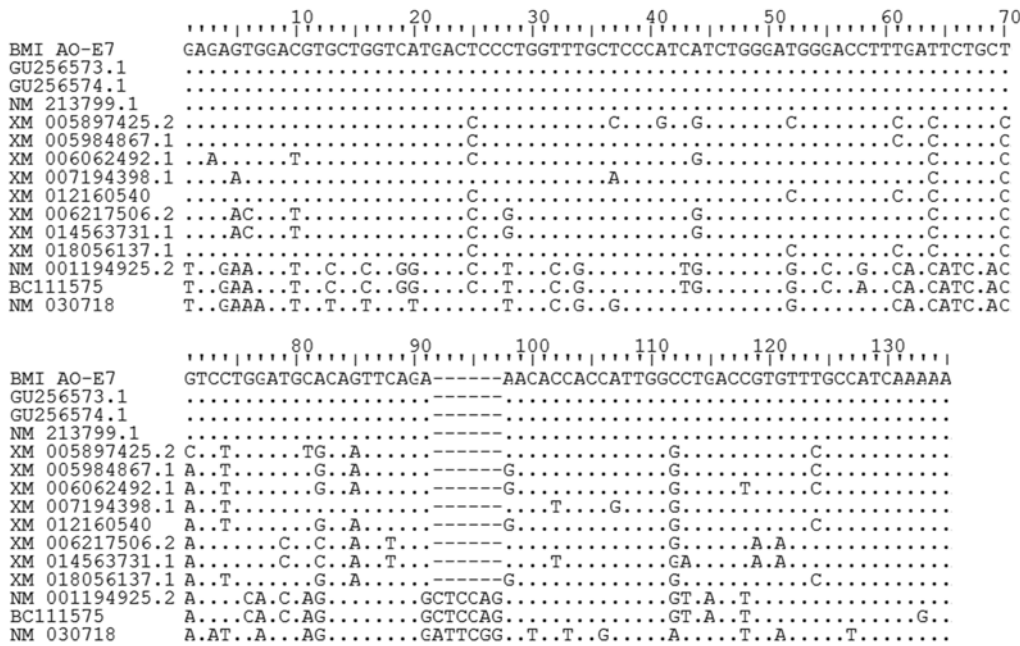


图 4 版纳微型猪近交系与其他物种间 AO 血型基因第 7 外显子核苷酸序列比对

Figure 4 Alignment of nucleotide sequences of AO blood gene exon 7 between BMI and other species

第 8 外显子核苷酸序列与 GenBank 中 14 个物种进行同源性比对, 结果显示与猪 (AF050177) 100.0%、猪(GU256575.1)99.7%、猪(NM_213799.1) 100.0%、牦牛 (XM_005897425.2) 86.5%、藏羚羊

(XM_005984867.1) 87.1% 、 水 牛 (XM_006062492.1) 86.5、小须鲸 (XM_007194398.1) 90.0%、绵羊 (XM_012160540) 88.2%、羊驼 (XM_006217506.2) 86.2%、野骆驼 (XM_014563731.1)

84.7%、山羊 (XM_018056137.1) 87.6%、黑猩猩 和小鼠 (NM_030718) 69.7% (见图 5)。(NM_001194925.2) 76.2%、人 (BC111575) 76.2%

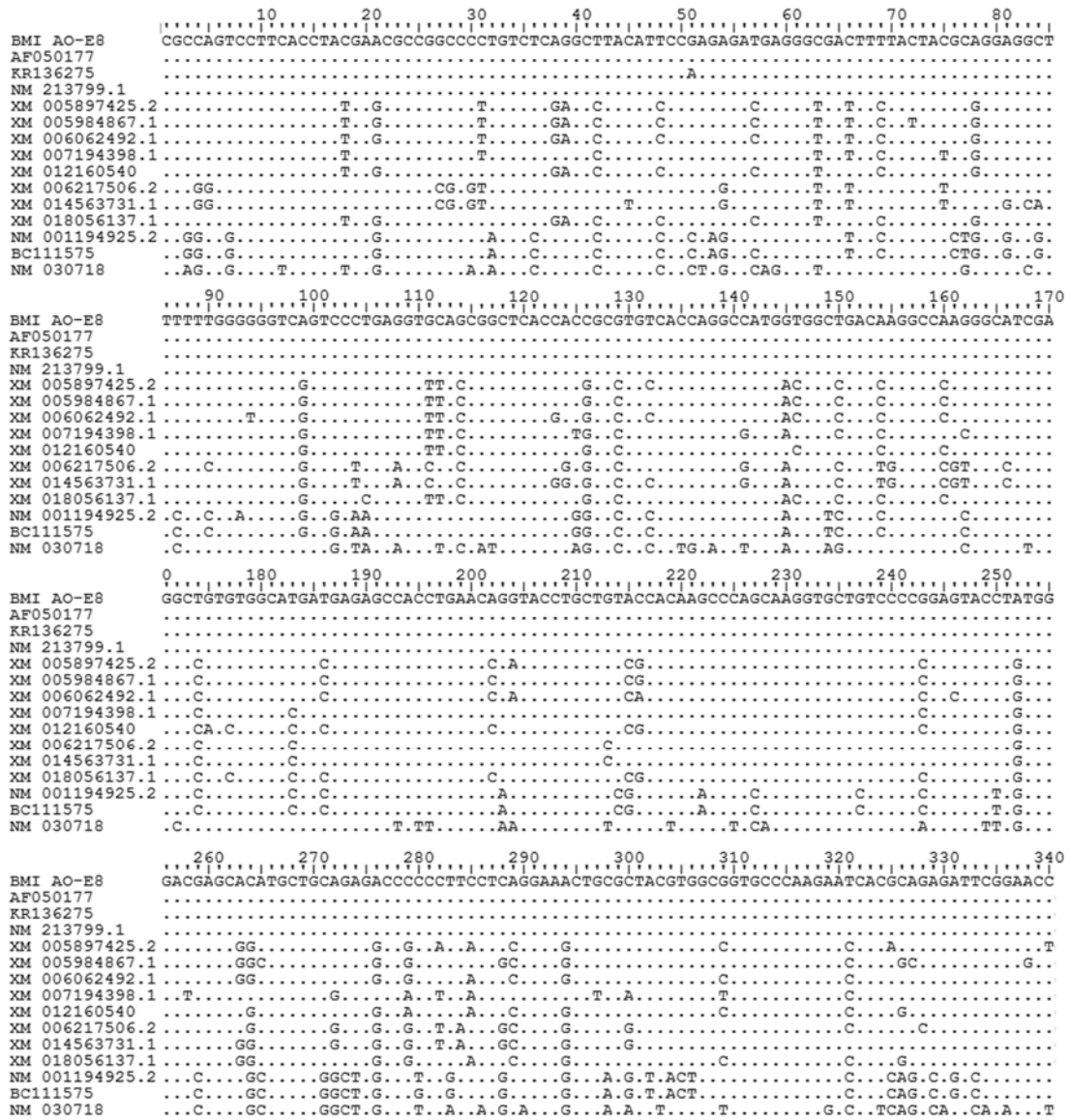


图 5 版纳微型猪近交系与其他物种间 AO 血型基因第 8 外显子核苷酸序列比对

Figure 5 Alignment of nucleotide sequences of AO blood gene exon 8 between BMI and other species

2.5 氨基酸序列同源性比对

第 7 外显子氨基酸序列与 GenBank 中 14 个物种进行同源性比对, 结果显示与猪 (GU256573.1) 100.0%、猪 (GU256574.1) 100.0%、(NM_213799.1 猪) 100.0%、牦牛 (XM_005897425.2) 90.5%、藏羚羊 (XM_005984867.1) 95.2%、水牛 (XM_006062492.1) 90.5%、小须鲸 (XM_007194398.1) 90.5%、绵羊 (XM_012160540) 95.0%、羊驼 (XM_006217506.2) 90.5%、野骆驼 (XM_014563731.1) 85.7%、山羊 (XM_018056137.1) 95.2%、黑猩猩 (NM_001194925.2) 66.7%、人 (BC111575) 66.7%、小鼠 (NM_030718) 69.0% (见图 6)。

第 8 外显子核苷酸序列与 GenBank 中 14 个物种进行同源性比对, 结果显示与猪 (AF050177) 100.0%、猪 (GU256575.1) 100.0%、猪 (NM_213799.1) 100.0%、牦牛 (XM_005897425.2) 92.0%、藏羚羊 (XM_005984867.1) 91.2%、水牛 (XM_006062492.1) 91.2%、小须鲸 (XM_007194398.1) 93.8%、绵羊 (XM_012160540) 91.2%、羊驼 (XM_006217506.2) 88.5%、野骆驼 (XM_014563731.1) 88.5%、山羊 (XM_018056137.1) 92.0%、黑猩猩 (NM_001194925.2) 77.0%、人 (BC111575) 77.0%、小鼠 (NM_030718) 72.6% (见图 7)。

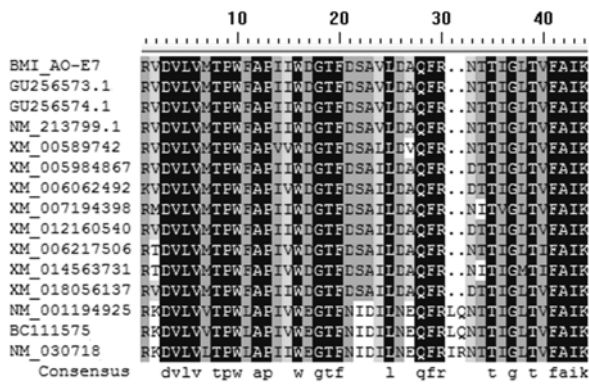


图 6 版纳微型猪近交系与其他物种间 AO 血型基因第 7 外显子氨基酸序列比对

Figure 6 Alignment of amino-acid sequences of AO blood gene exon 7 between BMI and other species

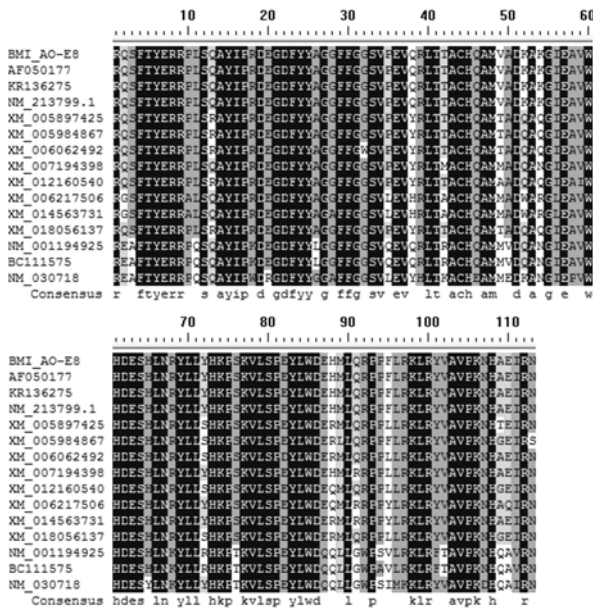


图 7 版纳微型猪近交系与其他物种间 AO 血型基因第 8 外显子氨基酸序列比对

Figure 7 Alignment of amino-acid sequences of AO blood gene exon 8 between BMI and other species

3 讨论

20 世纪 90 年代, 华盛顿大学生物研究所的 Yamamoto 等^[16]报道了人 ABO 基因的核苷酸序列, 查清了 ABO 血型系统中产生 A、B、AB 和 O 4 种血型的分子遗传学机制, 证实了 ABO 血型系统不同的表型是由于基因水平上几个核苷酸的变化引起的。从 cDNA 文库中筛选克隆出 ABO 基因的 CDS 为 1 065 bp, 分子量为 41 kDa, 由 7 个外显子组成, A、B 基因编码的蛋白质均为 353 个氨基酸。研究者还证明 O 基因与 A 基因相比, 只是 CDS 的第 261 位核苷酸胞嘧啶 (C) 缺失, 造成了 O 基因在第 261 位以后发生了阅读框架移动, 形成了新的终止密码

子, 提前终止了转移酶的翻译, 使其编码的蛋白质只有 115 个氨基酸, 没有转移酶的催化功能区^[17-19]。

构成猪 AO 血型系统的只有 A 基因和 O 基因, 猪自身没有 B 基因, 也就缺少人类所具有的 B 型血和 AB 型血, 猪 A 基因位于 1 号染色体长臂, 开放阅读框为 1 095 bp, 包含 8 个外显子, 编码一个 (1, 3) N-乙酰氨基半乳糖转移酶^[10]。Meijerink 等^[20]的研究显示, 比对猪的 A 基因与人类 A 基因, 在核苷酸和氨基酸水平上的同源性分别为 76.9% 和 66.7%。与 A 基因相比, 猪的 O 基因缺少第 8 外显子^[21]。20 世纪后半叶, 很多国家的学者对家畜血型的研究做了大量工作, 一般都用血清试验鉴定家畜血型的结果来区分畜种血型类型、划分血型分布频率、研究血型与肉品质相关或将血型作为一种遗传标记来追踪群体遗传的变化及品种的起源等。

为了调查版纳微型猪近交系的血型分型情况, 利用人体 ABO 血型系统的血清学单克隆检测抗体, 对昆明、景洪和元江 3 个近交系猪场总存栏数近 1 500 头的猪群进行随机抽样检测, 总计抽查了近 1/3 的个体, 除了在景洪原种场检测到极少数 O 型血个体外, 其他全部为 A 型血个体。分析原因推测, 一方面是版纳微型猪近交系由于经过了 30 多年的高度近交, 其基因纯合度很高, 基因随着猪群不断地连续近交分化纯合后, 有些等位基因已不存在, 如近交系的 O 型血基因。另一个原因是昆明和元江猪场的种源都是来源于景洪猪场, 当时引入的猪群全部是 A 型血基因的纯合体。在验血过程中, 均用到了产自上海和北京的人体血型血清学单克隆抗体试剂, 上海产的能检测并鉴别出猪的 A 血型 and O 血型, 而北京产的没有特异性, 检测不到 A 抗原。

设计合成扩增第 7 和第 8 外显子的 2 对引物, 均扩增到了第 7 外显子全部序列和第 8 外显子的后半部分编码序列, 所有样本都扩增到第 7 外显子, 但有一部分未能扩增到第 8 外显子, 将其与血清学验血记录进行对照, 结果显示: 只扩增到出第 7 外显子的是血清学检测为 O 型血的样品, 两者都能扩增出的是 A 型血个体, 基因分型方法与血清学检测结果相一致。

有关猪 AO 血型 A 基因的 PCR-限制性片段长度多态 (PCR-RFLP), 即 A 型血亚型的区分, 目前未查阅到相关报道。本研究将部分扩增到的第 7 和第 8 外显子的 PCR 产物直接测序, 希望能找到 SNP 位点, 以便选择限制性内切酶开展酶切片多态性分析, 但测完扩增到的全部第 8 外显子 PCR 产物, 都没有发现 SNP 位点。究其原因, 可能是由于版纳

微型猪近交系的系祖来源于一头母猪和母猪所产的公猪,经过20多代的连续高度近交,其基因已高度纯合,分别形成了A型血和O型血的2个独立群体。

通过多物种的核苷酸和氨基酸比对分析,发现与人、黑猩猩和小鼠相比,猪、牦牛、藏羚羊、水牛、小须鲸、绵羊、羊驼、野骆驼、山羊第7外显子第92~97位正好缺失编码2个氨基酸的6个碱基。有研究证明,对AO血型其决定性作用的糖基转移酶基因的多数编码序列位于第7和第8外显子,有针对性地研究这2个外显子有其重要的价值和意义。将2个外显子与NCBI中的其他猪对比,第7外显子完全一致,第8外显子存在一个碱基的突变(A/G),但为同义突变;在核苷酸和氨基酸水平上与其他物种进行比对分析显示,2个外显子与鲸(90%~93.8%)、牛羊(84.7%~95.2%)有很高的同源性,与人、猩猩、鼠最低(62%~77%),与人的对比情况跟Meijerink等^[20]研究报道的相一致。

4 结论

本研究应用分子生物学实验技术,建立起用PCR方法对版纳微型猪近交系AO血型进行了基因分型研究,虽然未检测到多态,但通过研究分析,掌握了AO血型基因的分型规律和特点,研究结果可为进一步研究用于猪到人异种器官移植实验的供体猪提供血型研究的分子基础和参考依据。

参考文献:

- [1] YEOM S C, OH B C, CHO S Y, et al. Investigation of blood typing method for Seoul National University miniature pig[J]. *Transplant Proc*, 2009, 41(5): 1921-1926.
- [2] TEKGÜNDÜZ S A, ÖZBEK N. ABO blood group mismatched hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Transfus Apher Sci*, 2016, 54(1): 24-29.
- [3] 梁伟, 周建霖, 杨亮, 等. PCR-SSP技术在红细胞ABO血型快速基因分型中的应用研究[J]. *中华全科医学*, 2015, 13(8): 1323-1327.
- [4] YAMAMOTO F, YAMAMOTO M. Molecular genetic basis of porcine histo-blood group AO system[J]. *Blood*, 2001, 97(10): 3308-3310.
- [5] 李归冀, 章旭. ABO变异型B305血型基因亚型的鉴定及序列分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(5): 1563-1566.
- [6] 张朝, 朱娟莉, 杨江存, 等. 扩增阻滞突变系统用于ABO血型基因分型研究[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, 30(6): 643-646.
- [7] MITRA R, MISHRA N, RATH G P. Blood groups systems[J]. *Indian J Anaesth*, 2014, 58(5): 524-528.
- [8] LANG K, WAGNER I, SCHÖNE B, et al. ABO allele-level frequency estimation based on population-scale genotyping by next generation sequencing[J]. *BMC Genomics*, 2016, 17: 374-384.
- [9] MOHAMED A B O, HINDAWI S I, AL-HARTHI S, et al. Allelic variance among ABO blood group genotypes in a population from the western region of Saudi Arabia[J]. *Blood Res*, 2016, 51(4): 274-278.
- [10] NGUYEN D T, CHOI H, JO H, et al. Molecular characterization of the human ABO blood group orthologous system in pigs[J]. *Anim Genet*, 2011, 42(3): 325-328.
- [11] 窦科峰, 纪洪辰. 异种肝移植的研究和进展[J]. *外科理论与实践*, 2016, 21(3): 192-195.
- [12] 曾国敏, 蒋应弟, 冯冲, 等. 表达人CD47基因的巴马小型猪创建及其表达分析[J]. *农业生物技术学报*, 2016, 24(8): 1251-1258.
- [13] APECU R O, MULOGO E M, BAGENDA F, et al. ABO and Rhesus (D) blood group distribution among blood donors in rural south western Uganda: a retrospective study[J]. *BMC Research Notes*, 2016, 9(1): 513-516.
- [14] TANGKAWSAKUL W, SRIKHIRIN T, SHINBO K, et al. Application of long-range surface plasmon resonance for ABO blood typing[J]. *Int J Anal Chem*, 2016: 1-8.
- [15] 方乐, 肖建宇, 吴敏慧, 等. ABO亚型B(A)04的鉴定及分子机制研究[J]. *临床输血与检验*, 2016, 18(5): 424-427.
- [16] YAMAMOTO F. Molecular genetics of the ABO histo-blood group system[J]. *Vox Sang*, 1995, 69(1): 1-7.
- [17] ZU B L, YOU G L, FU Q H, et al. Association between ABO blood group and risk of congenital heart disease: a 6-year large cohort study[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42804.
- [18] COOLING L. Blood Groups in Infection and Host Susceptibility[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2015, 28(3): 801-870.
- [19] CARL H, SOUMYA R, SRINIVAS P, et al. Oxidative stress in erythrocytes of banked ABO blood[J]. *Hematology*, 2016, 21(10): 630-634.
- [20] MEIJERINK E, NEUENSCHWANDER S, DINTER A, et al. Isolation of a porcine UDP-GalNAc transferase cDNA mapping to the region of the blood group EAA locus on pig chromosome 1[J]. *Anim Genet*, 2001, 32(3): 132-138.
- [21] MARTÍNEZ-ALARCÓN L, RAMIS G, MAJADO M J, et al. ABO and RH1 blood group phenotyping in pigs (*Sus scrofa*) using microtyping cards[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(6): 2146-2148.