

原 著

日本人における ABO 亜型の遺伝子解析

岩崎 誠¹⁾ 小林 賢¹⁾ 鈴木 洋司²⁾ 鈴木 由美²⁾ 阿南 和昭¹⁾

¹⁾防衛医大病院検査部, ²⁾輸血部

(平成 12 年 7 月 31 日受付)

(平成 12 年 10 月 31 日受領)

GENETIC ANALYSES FOR THE ABO BLOOD GROUP SUBTYPES IN JAPANESE

Makoto Iwasaki¹⁾, Ken Kobayashi¹⁾, Hiroshi Suzuki²⁾, Yumi Suzuki²⁾ and Kazuaki Anan¹⁾

¹⁾Department of Laboratory Medicine

²⁾Department of Blood Transfusion, National Defense Medical College

A genetic mutation of the ABO blood group gene in the subtype underwent analysis using polymerase chain reaction (PCR) based techniques. The present study involved fifty-seven Japanese and six non-Japanese patients with the ABO blood subtype. Three mutations were detected in Japanese A-subtypes. The ratio of A0202 (cytosine to thymine) and A0203 (to guanine) alleles with a mutation at nucleotide position 1054 in Japanese A-subtype were 36% ($p < 0.0001$) and 11% ($p < 0.001$), respectively, with these alleles being undetectable in the A₁-type. In one case involving the A_e-subtype, A0204 allele (with a nucleotide substitution at 703) was detected. Moreover, the ratio of A0103 allele (with four nucleotide differences at 297, 526, 657 and 703) in the A-subtype was 11% and statistically higher ($p < 0.05$) than in the Japanese A₁-group (2%). By contrast, no polymorphism was found in either the B-subtype or the normal B-type in Japanese. Concerning non-Japanese individuals, A0201 allele (with a single base deletion at nucleotides 1059 to 1061) in 5 cases of the A₂-subtype and a nucleotide substitution at 646 (thymine versus adenine) in one case of the A_x-subtype were detected in this investigation. These findings indicate the presence of characteristic mutations in Japanese A-subtypes and differences concerning mutation of the A-subtypes among races.

Key words : ABO blood group, ABO blood group subtype, ABO blood group gene

序 言

ABO 式血液型を規定する糖転移酵素については、酵素化学的な研究が古くから行われてきたが、そのアミノ酸配列やタンパク質をコードする遺伝子の構造などについては長い間不明であった。しかし、1990 年に Clausen らによってヒトの肺から A 型糖転移酵素が精製され、そのアミノ酸配列が初めて明らかにされた¹⁾。その後、Yamamoto らによる糖転移酵素遺伝子の解析²⁾により、現在血清学的反応によって決定されている ABO 式血液型について、遺伝子による判定が可能となり³⁾⁻⁶⁾、

我々も本雑誌に報告している⁷⁾。

一方、ABO 式血液型にみられる亜型については血清学的検査で判定できるとされているが⁸⁾、完全にその基準を満たす例ばかりでなく、その判定に苦慮する場合もある。そのため、亜型の診断においても分子レベルでの検討が期待されていた。一部の亜型⁹⁾⁻¹²⁾については実際に解析が行われ、塩基置換や欠失などの変異が認められている。しかしながら一方で、A₃ や B₃ 型においては、塩基置換が認められない例も報告されている¹⁰⁾。また、これらの検討は日本人以外を対象としている場合

Table 1 The oligonucleotide sequence and localization of the primers used for PCR amplifications

Name	Orientation	Oligonucleotide sequence	Nucleotide Position
ABO56	sense	5 'CACCTGCAGATGTGGGTGGCACCTGCCA-3 '	Intron 5
ABO52N	sense	5 'GTGGCTTTCTCGAAGCTGTTC-3 '	Exon 7 379-399
ABO57	sense	5 'TTCTCAGCGAGGTGGATTAC-3 '	Exon 7 598-618
ABO523	sense	5 'GAGATCCTGACTCCGCTGTTTCGGCAC-3 '	Exon 7 667-692
ABO5AOsN	sense	5 'ACGAGGGCGATTCTACTACC-3 '	Exon 7 776-796
ABO5BsN	sense	5 'ACGAGGGCGATTCTACTACA-3 '	Exon 7 776-796
ABO5ABs	sense	5 'AGGAAGGATGTCCTCGTGGTG-3 '	Exon 6 241-261
ABO5AOs	sense	5 'CCATTGTCTGGGAGGGCAC-3 '	Exon 6 278-297
ABO5Bs	sense	5 'CCATTGTCTGGGAGGGCACG-3 '	Exon 6 278-297
APLP8	sense	5 'GTGCTCTCCCGAGT-3 '	Exon 7 937-952
APLP3	sense	5 'CCAAGAACCACCAGGCGGTCG-3 '	Exon 7 1,033-1,054
APLP4	sense	5 'CCAAGAACCACCAGGCGGTC-3 '	Exon 7 1,034-1,054
ABO36	antisense	5 'GTGGAATTCCTCGCCACTGCCTGGGTCTC-3 '	Intron 6
ABO32N	antisense	5 'GCCACGTGGTCGCGGAATC-3 '	Exon 7 643-663
ABO38	antisense	5 'AGCCGCTGCACCTCTTGAC-3 '	Exon 7 820-839
ABO39	antisense	5 'GTGGCAGGCCCTGGTGAG-3 '	Exon 7 838-855
ABO312	antisense	5 'GATGCCGTTGGCTGGTCGAC-3 '	Exon 7 868-888
ABO313	antisense	5 'CGTTCTGCTAAAACCAAGGGCGG-3 '	3' UTR
ABO3MP-CIS	antisense	5 'TTGCACCGACCCCGAAGAGC-3 '	Exon 7 804-825
APLP9	antisense	5 'CAGCCGCTCACGGTTC-3 '	Exon 7/3' UTR

もあり、同様な変化が日本人にも当てはまるのか、不明な部分も多い。そこで今回我々は、 A_2 、 A_3 、cisAB型などを中心に日本人の亜型の遺伝子変化について解析し、亜型遺伝子診断の可能性について検討した。また、日本人以外の亜型例も加えて比較検討した。

対象および方法

1. 対象

血清学的に亜型と同定された日本人 57 名 [A 亜型 28 名 (A_{int} : 2 名, $A_{int}B$: 2 名, A_2 : 7 名, A_2B : 5 名, A_3 : 1 名, A_3B : 7 名, A_x : 2 名, A_xB : 1 名, A_{el} : 1 名), B 亜型 24 名 (B_m : 23 名, AB_3 : 1 名) および cisAB 5 名] および日本人以外の症例 6 名 [A 亜型 [A_2 : 3 名 (中央アジア系 2 名, ヨーロッパ系 1 名); A_2B : 2 名 (中央アジア系); A_x : 1 名 (ヨーロッパ系)]] を対象とし、日本人の A_1 型 184 名の結果¹³⁾と比較検討した。

2. DNA 抽出

EDTA 加末梢血よりフェノール-クロロホルム法を用いて高分子 DNA を抽出した⁷⁾。

Polymerase chain reaction (PCR)

採取した高分子 DNA 500 ng に、*Taq* DNA ポ

リメラーゼ(ロシュ社製)1 単位, 0.5 (μ M プライマー (Table 1), 200 μ M dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 1.5 mM $MgCl_2$ を加え、全量を 50 μ l として Table 2 に示す条件で PCR 反応を 35 サイクル実施した。なお、プライマー ABO3MP-CIS は塩基 805 のチミンをシトシンに置換した mismatch プライマーで塩基 803 の変異を調べるために使用した。また、ABO5AOsN は塩基 796 において A と O アリルに、ABO5BsN は B アリルにそれぞれ特異的なプライマーである。使用したプライマーの設定部位を Fig. 1 に示した。

3. PCR-Restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)

塩基 261, 297, 467, 526, 646, 657, 703, 796, 803, 829, 871, 1054 の合計 12 カ所について PCR-RFLP 法を用いて検討した。PCR 反応液 5 μ l に、制限酵素 *Bst* EI, *Kpn* I, *Mae* II, *Hpa* II, *Alu* I, *Bss* HI, *Ban* I, *Sau* 3A, *Nla* III, *Mva* I, *Hha* I, *Mnl* I, *Taq* I (ロシュまたは New England Bio Labs 社製) のいずれかを 5 単位加え、37 (*Taq* I は 65, *Mae* II は 50) で一晩反応させた。切断後、1 \times TBE 緩衝液 (89 mM Tris, 89 mM ホウ酸, 2 mM

Table 2 The pairs of upstream and downstream primers, and the conditions used for PCR amplifications

Pair	Sense primer	Antisense primer	PCR condition			Product length (bp)
			Denaturation	Annealing	Elongation	
1	ABO56	ABO36	95 , 60 sec	60 , 60 sec	72 , 60 sec	255
2	ABO52N	ABO32N	95 , 60 sec	60 , 60 sec	72 , 60 sec	285
3	ABO57	ABO38	95 , 60 sec	60 , 60 sec	72 , 60 sec	242
4	ABO52N	ABO39	95 , 60 sec	60 , 60 sec	72 , 90 sec	477
5	ABO52N	ABO312	95 , 60 sec	60 , 60 sec	72 , 90 sec	510
6	ABO52NN	ABO313	95 , 60 sec	60 , 60 sec	72 , 120 sec	758
7	ABO523	ABO3MP-CIS	95 , 30 sec	60 , 30 sec	72 , 30 sec	159
8	ABO5AOsN	ABO313	95 , 60 sec	60 , 60 sec	72 , 60 sec	361
9	ABO5BsN	ABO313	95 , 60 sec	60 , 60 sec	72 , 60 sec	361
10	ABO5ABs	ABO313	95 , 30 sec	60 , 30 sec	72 , 120 sec	1,851
11	ABO5AOs	ABO313	95 , 30 sec	60 , 30 sec	72 , 120 sec	1,814
12	ABO5Bs	ABO313	95 , 30 sec	60 , 30 sec	72 , 120 sec	1,814
13	APLP8	APLP9	95 , 30 sec	54 , 30 sec	72 , 30 sec	120
14	APLP3	ABO313	95 , 30 sec	62 , 30 sec	72 , 30 sec	103
15	APLP4	ABO312	95 , 30 sec	62 , 30 sec	72 , 30 sec	104

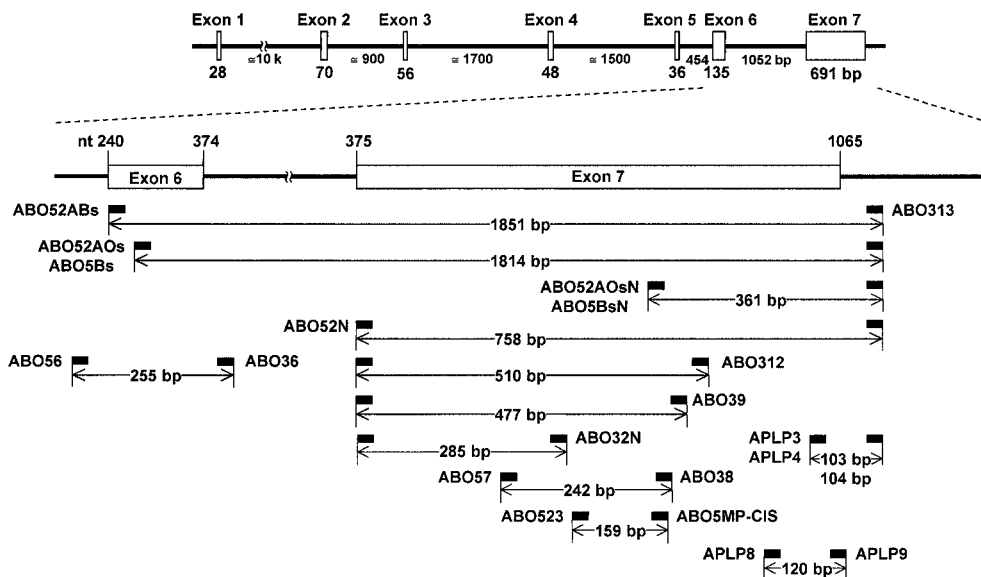


Fig. 1 The *ABO* blood group gene, and the positions of primers and the amplified fragment sizes. The *ABO* blood group gene is located on chromosome 9. The human *ABO* genes consist of at least 7 exons, and the coding sequence in the 7 coding exons ranges over 18 kb of genomic DNA. The exons range in size from 28 to 691 bp, with the main coding sequence to be found in exon 7. Numbers above the top line indicate the nucleotide positions of the final two exons.

EDTA・2Na) を用いて, 4% NuSieve 3 : 1 アガロース (FMC 社製) 上で電気泳動を行い, DNA 断片を分離した .05 μg/ml 臭化エチジウムで染色

した後, 切断パターンを検討した .

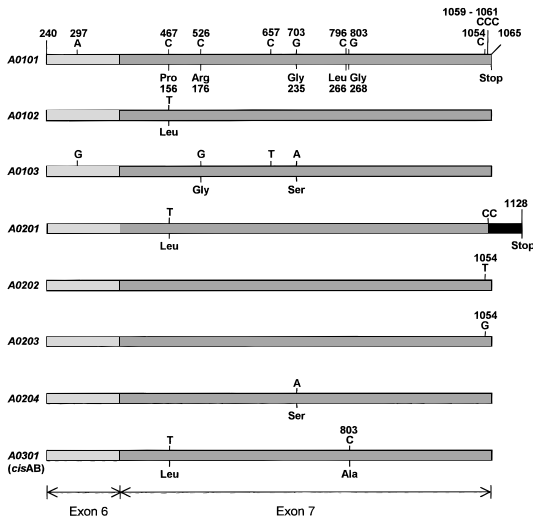


Fig. 2 Schematic comparison of nucleotide and deduced amino acid sequences of the *ABO* alleles as detected in this study. The adenine residue and the methionine residue of the initiation codon of *A0101* transferase are numbered 1 for nucleotide and amino acid sequences, respectively. Only the differences from the nucleotide and amino acid sequence of *A0101* allele are indicated. An entirely different deduced amino acid sequence in *A0201* allele is the result of frame-shifting generated by single-base deletion, as indicated by black bar. *A0201* allele, however, was undetected in this study.

4 . PCR-Single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP)

Table 2 および Fig. 1 に示した 3 組のプライマー (ABO56-ABO36 , ABO52N-ABO32N および ABO57-ABO38) 用いて増幅された PCR 反応液 1 μl に変性剤 0.4 M NaOH , 25 mM EDTA · 2Na , pH 8.0) μl を加え , 室温にて 10 分間反応させた . 0.5 × TBE 緩衝液を用い , 5% グリセロールを含む 10% ポリアクリルアミドゲル (アクリルアミド : ビスアクリルアミド = 49 : 1) 上で 1.6 mA/cm , 10

の条件で 1 μl の変性した DNA を電気泳動で分離した . 泳動後 , 銀染色 (第一化学社製) を行い , 一本鎖 DNA の高次構造について解析した .

5 . Direct-sequencing

通常 , 亜型の ABO 遺伝子はヘテロ接合であるため , AB 型の場合 , A アリルはプライマー ABO

5AOs と ABO313 を , B アリル は ABO5Bs と ABO313 を用いてエクソン 6 と 7 を含む DNA 領域を増幅した . また , AO 型の場合には , プライマー ABO5ABs と ABO313 を用いて A アリルのエクソン 6 と 7 を含む DNA 領域を増幅した (Table 1 , 2 および Fig. 1) . 増幅された DNA 断片を限外濾過膜 (Ultrafree C3LTK , ミリポア社製) により精製した後 , プライマー ABO52N , ABO5AOsN , ANO32N , ABO312 および ABO313 を用いて Dye Terminator Cycle Sequencing FS Core kit (アプライドバイオシステムズ社製) でシーケンス反応を行い , ABI373A DNA シーケンサー (アプライドバイオシステムズ社製) で塩基配列を決定した .

6 . PCR with sequence specific primers (PCR-SSP)

RFLP では同定できない塩基 802 , 1059 ~ 1061 ならびに同定が不十分な塩基 1054 の 3 カ所について PCR-SSP 法を用いて検索した . 高分子 DNA 50 ng に *Taq* DNA ポリメラーゼ 0.5 単位 , 1.5 mM MgCl₂ , 200 μM dNTP , 0.5 μM プライマー (Table 1) を加え , Table 2 に示す反応条件で PCR 反応を 35 サイクル実施した .

7 . 統計学的解析

イエーツの修正式を用いて χ² 検定 (χ²_c) を行い , p 値が 0.05 未満を統計学的に有意とした .

結 果

1 . A 亜型

今回の研究で日本人の A 亜型に認められた塩基およびアミノ酸配列を Fig. 2 に , ならびにそのアリル頻度を Table 3 に示した . なお , 命名に関しては , A₁ 型でみられるアリルを A01 とし , 亜型のみで認められるアリルを A02 または A03 とし , その下の数字は見いだされた順番とした .

A 亜型 28 例中 11 例 (39%) は , A₁ 型アリル⁽¹³⁾ (塩基 467 がシトシンのアリル A0101 と A0103 およびチミンのアリル A0102) と塩基配列に差異を認めなかった . しかしながら , A 亜型群で塩基 467 がシトシンであるアリル (A0102 以外のアリル) の頻度は , 86% (28 例中 24 例) と A₁ 型の 27% (184 例中 50 例) に比して統計学的に有意 (χ²_c = 34.1 p < 0.0001) に高かった . A₃ 型の 8 例 , A_x

Table 3 The comparisons of the allele frequencies between the type A₁ and A subtypes in a Japanese sample

Allele	A ₁ type		A subtype		Breakdown of A subtype						p value
	n	%	n	%	A _{int}	A ₂	A ₃	A _x	A _{el}	²⁾	
A0101	47	26	7	25	1	3	1	2	0	0.03	
A0102	134	72	4	14	2	2	0	0	0	34.12 <0.0001	
A0103	3	2	3	11	1	2	0	0	0	4.36 <0.05	
A0202	0	0	10	35	0	4	6	0	0	61.25 <0.0001	
A0203	0	0	3	11	0	1	1	1	0	13.05 <0.001	
A0204	0	0	1	4	0	0	0	0	1	1.19	
Total	184		28		4	12	8	3	1		

: A₁ type versus A subtype

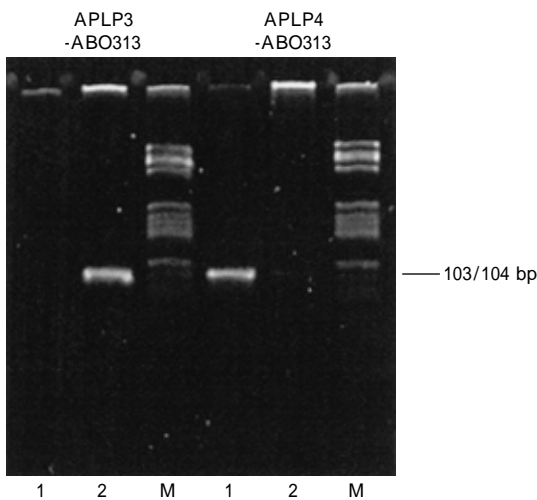


Fig. 3 Electrophoresis of PCR with sequence specific primers (PCR-SSP). A0202 allele with thymine at nucleotide position 1054 (lane 1) was amplified through application of primers APLP4 and ABO313, and A0203 allele with guanine at the same position (lane 2) was amplified with primers APLP4 and ABO313 (Table 1 and Table 2). Other alleles with cytosine were not subject to amplification with these primers.

Lane 1, A0202 allele : lane 2, A0203 allele : lane M, molecular weight marker (pBR322 DNA digested with restriction enzyme *Hae*III)

型の3例およびA_{el}型の1例すべてが、また、A₂型では12例中10例が塩基467はシトシンであった。一方、A_{int}型では、4例中2例のみがシトシンタイプのアリルであった。

塩基526 [C G (コドン 176Arg Gly)]と703

[G A (コドン 235Gly Ser)]の非同義置換ならびに塩基297 (A G)と657 (C T)の同義置換を示すアリル A0103がA₂型(12例中2例)とA_{int}型(4例中1例)に認められた。A亜型群の11%を占め、A₁型の2%よりも有意に($\chi^2_c=4.4$, $p<0.05$)高かった。

A亜型群28例において塩基1054がシトシンからチミン(コドン 352 Arg Trp)に置換しているアリル A0202(図3)は、A₂型12例中4例(33%)とA₃型8例中6例(75%)の計10例(36%)にみられたのに対して、正常なA₁型には1例も認められず統計学的に有意($\chi^2_c=61.3$, $p<0.0001$)に増加していた。また、グアニン(コドン 352 Arg Gly)に置換しているアリル A0203(図3)は、A₂型12例中1例(8%)、A₃型8例中1例(13%)とA_x型3例中1例(33%)の計3例(11%)にそれぞれ認められ、統計学的に有意($\chi^2_c=13.1$, $p<0.001$)であった。A亜型群で塩基1054に置換がみられる率は46%であり、正常A₁型に比して非常に高い有意差($\chi^2_c=83.1$, $p<0.0001$)が示された。

また、A_{el}型(1例)において、塩基703のみがグアニンからアデニンに置換(コドン 235 Gly Ser)していることが確認され、アリル A0204とした。

白人などで従来報告されているA₂型における塩基1059から1061間の3連続シトシンのうちの1塩基欠失⁹⁾(以下このアリルをA0201と定義する)、A₃型の塩基871¹⁰⁾、およびA_x型の塩基646¹²⁾

における非同義置換,そしてA₆₁型の塩基798から804間でのグアニンの1塩基挿入¹⁴などの塩基変化は,今回の検討した日本人ではいずれも確認されなかった。

2. B 亜型

B 亜型群 24 例 (B_m 型 23 例および A₁B₃ 型 1 例) について, RFLP, SSP, Direct-sequencing 法を用いて塩基変化をエクソン 6 および 7 で検索したが, B 亜型に特異的な塩基配列は認められなかった。

3. cisAB

検索した cisAB 型 5 例すべてで従来¹¹⁾と同じく, アリル A0101 の塩基 803 がシトシンに置換していることを確認し, アリル A0301 とした。

4. 他の民族における亜型例

A₂ 型 (3 例) および A₂B 型 (2 例) すべてに, 従来⁹⁾の報告と同様に塩基 1059 から 1061 間の 3 つ続くシトシンのうちの 1 塩基欠失を示すアリル A0201 が認められた。また, A_x 型 1 例についても塩基 646 のチミンからシトシンへの置換¹²⁾が確認された。しかしながら, 日本人の A 亜型で高率に認められる塩基 1054 の置換は認められなかった。

考 察

今回, 日本人における検討で, A 亜型に特徴的と思われる遺伝子変化が明らかとなった。それらの中でも, 塩基 1054 におけるシトシンからチミンへの置換 (コドン 352 Arg Trp) を示すアリル A0202 およびグアニンへの置換 (コドン 352 Arg Gly) を示すアリル A0203 が, 28 例中 13 例 (46%) に認められ, 一方 A₁ 型には 1 例も認められず非常に高い有意差 ($\chi^2 = 83.1$, $p < 0.0001$) が示された。A 亜型群での塩基 1054 の置換に関する報告は, 日本人において Ogasawara らが A₂ 型で 19 例中 10 例 (52.6%) に A0202 を, 7 例 (36.8%) に A0203 を認めたと報告している¹⁵⁾が, A₂ 以外については検討されていない。今回の検討では, A₂ 型の 12 例中 4 例 (33%) に A0202 を, 1 例 (8%) に A0203 をそれぞれ認めた。さらに我々は, A₃ 型 8 例中 6 例 (75%) にアリル A0202 を, A_x 型 1 例 (13%) と A_x 型 3 例中 1 例 (33%) にアリル A0203 をそれぞれ認めた (Table 3)。したがっ

て, この塩基 1054 の非同義置換は, A₂ だけでなく A 亜型群に広く分布するものと思われた。しかしながら, 日本人以外の症例ではこのようなアリルの報告は見あたらず, 日本人における A 亜型の形成には, 塩基 1054 の置換が重要な要因である可能性が示唆された。

これまでに述べた A 亜型について対立する遺伝子の違い (O または B アリル) による亜型の特異性に差異は認められなかった。また, A₃ 型¹⁰⁾ および A₆₁ 型¹⁴⁾ について従来報告されているような変異は今回の検討では確認されなかった。A_x 型における塩基 646 の非同義置換 (コドン 216 Phe Ile)²⁾ は他の民族例には認められたが, 日本人には見い出されなかった。また, A₂ 型⁹⁾ において報告されている塩基 1059 から 1061 間の 3 連続シトシンのうちの 1 塩基欠失については, 他の民族の A₂ 型 5 例すべてで確認されたが, 日本人には認められなかった。この欠失については, Ogasawara ら¹⁶⁾ は, 日本人 A₂ 型 80 例中 1 例にしかこの欠失を認められなかったと報告している。このように, A 亜型群の遺伝子変化については, 民族間で差異が存在するものと考えられた。

また, A 亜型群においては, 塩基 467 がシトシンの場合 (コドン 156 Pro) が 86% と正常な A₁ 型における 27% よりも有意に ($\chi^2 = 34.1$, $p < 0.0001$) その頻度が高かった。また, 塩基 526 および 703 に非同義置換を生じるアリル A0103 も, A 亜型群におけるその頻度は 11% で, A₁ 型の 2% よりも高率で有意差 ($\chi^2 = 4.4$, $p < 0.05$) が認められた。これらの置換も, 亜型形成の要因となっている可能性も否定できない。

cisAB 型 (アリル A0301) については, 血清学的検査だけでは確定できず, 家系調査により判定されている。遺伝子解析により, A アリルと B アリルで非同義置換部位のうち, 上流側の 3 カ所 (コドン 176, 235 および 266) は A アリルと, 最後のひとつ (コドン 268) は B アリルと同じ塩基配列を示すことが報告されており¹¹⁾, 今回の検討でも, 同様の変異が 5 例すべてで確認された。cisAB 型は, Yamamoto ら¹¹⁾ (2 家系 4 例) および 細井ら¹⁷⁾ (12 例) の報告でもすべて同じ変異が示さ

れており、例外なく塩基 803 がグアニンからシトシン(コドン 268Gly Ala)に変異していると考えられた。このことから、*cis*AB型はDNAを用いることで家系調査なしに確定診断が可能であった。

A型の各アリルの形成を系統樹解析(近接結合法)でみた場合、A0202、A0203およびA0204は何れもA0101から、A0201およびA0301はA0102からそれぞれ点突然変異によってできたアリルであると推定される。一方、A0103は少なくとも塩基703までがBアリルと同一で、それ以降がAまたはOアリルと同じであることから、BとAないしOアリルとの交差によって形成されたものと推測される(データは示さず)。

B亜型群については、B₃型¹⁰⁾で報告されている変異のみならず新たなアリルも認められなかった。B亜型群における変異の報告は、B₃型¹⁰⁾の1例などまれであり、我々の正常B型例の検討⁷⁾³⁾でも多型性が認められなかったこととも併せて考えると、ABO血液型遺伝子の中でもBアリルは極めて多型性に乏しいアリルと思われた。

亜型形成の機序としては、これらの遺伝子変化が糖転移酵素タンパク質の高次構造に変化を生じ、酵素活性を低下させる結果、亜型を形成する可能性が考えられる。今後、遺伝子導入などによるタンパク質発現実験を行って証明していく必要がある。一方、特異的な遺伝子変化が見出されなかった一部のA亜型群と、B_m型などのB亜型群における亜型形成の機序として、検討したエクソン6および7以外のコード領域の遺伝子変化、エンハンサーやプロモーター領域の変化に伴うmRNAの量的異常、およびイントロンの変化やスプライシング異常などが考えられ、今後検討していく必要がある。

今回検討した結果は、血清学的検査と必ずしも一致しているわけではなかった。現時点では、遺伝子診断が確立していないものの現在の知見を適用することで亜型診断に補助的役割を果たすと思われる。今後、遺伝子検査が確立すれば血清検査を補完して亜型をより正確に分類できるようになり、臨床に反映されることが期待される。

文 献

- 1) Clausen, H., White, T., Takio, K., Titani, K., Stroud, M., Holmes, E., Karkov, J., Thim, I. and Hakomori, S.: Isolation of homogeneity and partial characterization of a histo-blood group A defined Fuc (α 1-2Gal (α 1-3-N-acetylgalactosaminyltransferase from human lung tissue. *J Biol Chem*, 265: 1139-1145, 1990.
- 2) Yamamoto, F., Clausen, H., White, T., Marken, J. and Hakomori, S.: Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature*, 345: 229-233, 1990.
- 3) 島 正幸, 西村拓也, 吉岡 章, 福井 弘, 西田幸世, 辻内智美, 藤村吉博: Polymerase Chain Reaction(PCR)を用いたABO式血液型判定の試み. *日本輸血学会雑誌*, 38: 542-547, 1992.
- 4) Denise, S.O. and Alexander, D.: A rapid and reliable PCR method for genotyping the ABO blood group. *Hum. muta*, 2: 67-70, 1993.
- 5) Ugozzoli, L. and Wallace, R.B.: Application of an allele-specific polymerase chain reaction to the direct determination of ABO blood group genotypes. *Genomics*, 12: 670-674, 1992.
- 6) Johnson, P.H. and Hopkinson, D.A.: Detection of ABO blood group polymorphism by denaturing gradient gel electrophoresis. *Hum Mol Genet*, 1: 341-344, 1992.
- 7) 岩崎 誠, 小林 賢, 鈴木洋司, 関口 進, 太田正穂: PCR-RFLP法を用いたABO式血液型の遺伝子解析. *日本輸血学会雑誌*, 39: 575-580, 1993.
- 8) American Association of Blood Banks: Technical Manual 10th ed: p173-195, 1990.
- 9) Yamamoto, F., McNeill, P.D. and Hakomori, S.: Human histo-blood group A₂ transferase coded by A₂ allele, one of the A subtypes, is characterized by a single base deletion in the coding sequence, which results in an additional domain at the carboxyl terminal. *Biochem Biophys Res Commun*, 187: 366-374, 1992.
- 10) Yamamoto, F., McNeill, P.D., Yamamoto, M., Hakomori, S., Harris, T., Judd, W.J. and Davenport, R. D.: Molecular genetic analysis of the ABO blood group system: 1. weak subgroups: A₃ and B₃ alleles. *Vox Sang*, 64: 116-119, 1993.
- 11) Yamamoto, F., McNeill, P.D., Kominato, Y., Yamamoto, M., Hakomori, S., Ishimoto, S., Nishida, S., Shima, M. and Fujimura, Y.: Molecular genetic analysis of the ABO blood group system: 2. *cis*-AB allele. *Vox Sang*, 64: 120-123, 1993.
- 12) Yamamoto, F., McNeill, P.D., Yamamoto, M., Hakomori, S. and Harris, T.: Molecular genetic analy-

- sis of the ABO blood group system : 3. A_x and B_{A_1} alleles. *Vox Sang*, 64 : 171-174, 1993.
- 13) Kobayashi K., Iwasaki M., Anan K., Suzuki Y., Suzuki H., Tamai S. and Saitou N. : An analysis of polymorphism for the ABO blood group genes in a Japanese population based on polymerase chain reaction. *Anth. Sci*, 107 : 109-121, 1999.
- 14) Olsson, M.L., Thuresson, B. and Chester, M.A. : An A_{el} allele-specific nucleotide insertion at the blood group ABO locus and its detection using a sequence-specific polymerase chain reaction. *Biochem Biophys Res Commun*, 216 : 642-647, 1995.
- 15) Ogasawara, K., Yabe, R., Uchikawa, M., Saitou, N., Bannai, M., Nakata K, Takenaka, M., Fujisawa, K., Ishikawa, Y., Juji, T. and Tokunaga, K. : Molecular genetic analysis of variant phenotypes of the ABO blood group system. *Blood*, 88 : 2732-2737, 1996.
- 16) Ogasawara, K., Yabe, R., Uchikawa, M., Bannai, M., Nakata, K., Takenaka, M., Takahashi, Y., Juji, T. and Tokunaga, K. : Different allele cause an imbalance in A_2 and A_2B phenotypes of the ABO blood group. *Vox Sang*, 74 : 242-247, 1998.
- 17) 細井英司, 吉川貴美枝 : ABO血液型およびcisAB型のgenotypeの遺伝子解析. *臨床病理*, 41 : 1133-1140, 1993.
-