

# 1例 *RHD-CE(3-7)-D* 基因重组与 *RHCE* 变异型患者的血清学与分子生物学分析

唐炳娣<sup>1,2</sup> 蔡仲仁<sup>3</sup> 邓咏诗<sup>1</sup> 伍昌林<sup>1,4\*</sup>

**[摘要]** 目的 研究分析1例Rh血型弱D、弱cE患者的血清学与分子生物学特征,为该类患者的临床安全输血提供实验依据。方法 采用微柱凝胶卡法对患者红细胞进行ABO、RhDCcEe抗原的鉴定,同时采用试管法进行血型复核,抗人球蛋白卡法筛查不规则抗体;采用PCR-SSP法对*RhDCcEe* (*RhD*、*RhC*、*Rhc*、*RhE*、*Rhe*)基因型进行检测;三代全长测序技术对*RHD/RHCE*基因序列进行测序分析。结果 微柱凝胶卡法鉴定ABO、RhD、RhCcEe血型抗原的结果为:A抗原(-)、B抗原(-)、RhD(1+)、RhC(4+)、Rhc(1+)、RhE(1+)、Rhe(4+)、对照孔(-);试管法ABO、RhD、RhCcEe抗原鉴定该患者表型为:A抗原(-)、B抗原(-)、RhD(w+)、RhC(4+)、Rhc(w+)、RhE(w+)、Rhe(4+)、对照管(-);抗人球蛋白卡法筛查患者不规则抗体阴性;PCR-SSP法血型基因分型RhDCcEe结果:*RhD*(+)、*RhC*(+)、*Rhc*(+)、*RhE*(+)、*Rhe*(+);*RHD/RHCE*基因结果:*RHD*单倍体1为外显子1-10全缺失,而单倍体2为外显子*RHD-CE*基因重组融合,且确认其重组类型为*RHD-CE(3-7)-D*,起点在外显子2(g.20238-20312之间),终点在外显子8(g.49184-50480之间),同时*RHCE*基因第6外显子存在新碱基点突变*RHCE\*cE(827C>A)*。结论 *RHD-CE(3-7)-D*基因重组融合与*RHCE\*cE(827C>A)*新等位基因突变可能引起D、cE血型抗原弱表达,为临床安全输血提供了重要的实验数据支持。

**[关键词]** RhD/cE弱抗原; *RHD-CE(3-7)-D*重组; *RHCE\*cE(827C>A)*; 三代全长测序

## Serological and molecular biological analysis of a patient with *RHD-CE(3-7)-D* gene recombination and *RHCE\*cE* variant

TANG Bingdi<sup>1,2</sup>, CAI Zhongren<sup>3</sup>, DENG Yongshi<sup>1</sup>, WU Changlin<sup>1,4\*</sup>

(1. Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong, China, 524023; 2. Department of Blood Transfusion, Huizhou Third People's Hospital, Huizhou, Guangdong, China, 516002; 3. Department of Blood Transfusion, Third People's Hospital of Shenzhen Longgang District, Shenzhen, Guangdong, China, 518116; 4. Department of Blood Transfusion, Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518035)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate a case of *RHD-CE(3-7)-D* gene recombination and *RHCE\*cE* variant for serological and molecular biological characteristics, to provide experimental basis for the clinical safe blood transfusion. **Methods** ABO, RhD, and RhCcEe antigens were identified using the micro-column gel card method. Blood group was determined using the blood test tube method, and irregular antibodies were screened using the anti-human globulin card method. The genotypes of RhD, RhC, Rhc, RhE, and Rhe were detected using PCR-SSP, and the entire sequence of the *RHD/RHCE* gene was analyzed using three-generation full-length sequencing. **Results** ABO, RhD, and RhCcEe blood group antigens were tested as follows: A(-), B(-), RhD(1+), RhC(4+), Rhc(1+), RhE(1+), Rhe(4+) using a micro-column gel card. Upon

基金项目:广东省基础与应用基础研究基金项目(2020A1515011520)

作者单位:1. 广东医科大学,广东,湛江 524023

2. 惠州市第三人民医院输血科,广东,惠州 516002

3. 深圳市龙岗区第三人民医院输血科,广东,深圳 518116

4. 深圳市第二人民医院输血科,广东,深圳 518035

\*通信作者:伍昌林, E-mail:wuchlin@126.com

repeating the test using the test tube method, the results were A(-), B(-), RhD(w+), RhC(4+), RhC(w+), RhE(w+), RhE(4+). Anti-human globulin card screening for irregular antibody was negative. Genotyping results of RhDCcEe by PCR-SSP: *RHD*(+), *RHC*(+), *RHc*(+), *RHE*(+), *RHe*(+). Analysis of the *RHD/RHCE* gene showed that *RHD* haploid 1 had a complete deletion in exons 1-10, while haploid 2 exons showed a *RHD-CE* gene recombination, it was confirmed that its recombination type was *RHD-CE(3-7)-D*. The starting point of this recombination was identified in exon 2 (g. 20238-20312), and the end point was determined in exon 8 (g. 49184-50480). Additionally, a new base point mutation was found in exon 6 of the *RHCE* gene (827C>A). **Conclusion** *RHD-CE(3-7)-D* gene recombination and *RHCE\*cE(827C>A)* novel allele mutation may cause weak expression of D and CE blood group antigens. This provides a foundation for safe blood transfusions in clinical settings.

**[KEY WORDS]** RHD/CE weak antigens; *RHD-CE(3-7)-D* recombination; *RHCE\*cE(827C>A)* variant; Three-generation full-length sequencing

目前 ISBT (The International Society of Blood Transfusion, 国际输血协会) 确认的 Rh (Rhesus Macacus, Rh 血型) 血型抗原共有 56 个, 其中 D、C、c、E 和 e 抗原在临床输血中具有重要意义<sup>[1]</sup>, Rh 血型抗原同种免疫产生的同种抗体是最常见类型。迄今为止, 超过 160 种 *RHCE* 等位基因可能导致 Rh 血型变异体的产生, 如 Rh 抗原弱表达、部分表达或不表达<sup>[2]</sup>。Rh 血型抗原弱表型可能引起抗原表位变化, 因输血、妊娠等原因可导致同种免疫产生<sup>[3]</sup>, 影响临床输血安全。本文报道 1 例 *RHD-CE(3-7)-D* 基因重组与 *RHCE\*cE(827C>A)* 点突变导致 RhDCcEe 抗原弱表达病例, 本文通过从血型血清学、DNA 检测与基因序列分析等方面分析该患者 RhDCcEe 抗原弱表达的分子生物学特征, 为临床安全输血提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 样本来源和前处理

在本院住院输血的 1 例弱 D 合并弱 cE 抗原患者, 38 岁, 女, 汉族, 临床诊断为妇科肿瘤。采用罗氏 MagNA Pure 24 全自动核酸纯化仪提取患者外周血 DNA, DNA 浓度 50 ng/ $\mu$ L,  $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ 。

### 1.2 ABO/RhD、RhCcEe 血型抗原检测

ABO/RhD 和 RhCcEe (C、c、E 和 e 表型) 血型均同时用盐水法和微柱凝胶卡法检测; 盐水法使用特异性单克隆 IgM 抗体试剂 (长春博讯公司) 鉴定 ABO/RhD 和 RhCcEe (C、c、E 和 e) 血型; 微柱凝胶卡法使用 8 孔 Rh 分型卡 (长春博讯公司, 批号 20230701) 鉴定 C、c、E 和 e 表型, 具体操作方法按试剂说明方法进行。

### 1.3 患者血清不规则筛查

将受检者样本置于离心机中离心 3 000 g, 5 min,

分离出血清, 抗人球蛋白试剂卡上做好受检者及编号 1~3 号抗筛细胞标记, 取出抗筛细胞, 恢复至室温并充分混匀, 先将 1、2、3 号抗筛细胞稀释成 0.8% 的浓度, 各吸取 50  $\mu$ L 分别对应的抗人球蛋白卡孔中, 再用移液枪分别加入 50  $\mu$ L 受检者血清于 1~3 号的微柱卡中。用 37 $^{\circ}$ C 微柱卡专用孵育器孵育 15 min。孵育结束后, 取出微柱卡后用专用离心机离心读结果。

### 1.4 RHD、RHCE 基因定型分析

*RHD* 基因分型技术按照试剂说明书进行操作 (天津秀鹏生物技术有限公司试剂盒), 试剂板的“1”至“8”标示每排 H、G、F、E、D、C、B、A 孔位, 即 EXON1、EXON5、EXON6、EXON7、845A、845G、1227A 及 1227G; 其中出现 DVa(Hus) EXON1、EXON5、845A、1227A, DVI III 型 EXON1、EXON5、EXON6、845A、1227A, DEL RhD1227A 杂交型 845A, 这几处孔位条带为本试剂盒不能检测结果, 请将结果进行测序确定基因分型。*RHCE* 基因定型: 引物设计根据美国国家生物信息中心 (NCBI) GenBank 记录的 *RHCE* 基因序列, 设计四对引物, 分别扩增 RhC、Rhc、RhE 和 Rhe 四个基因特异性位点, 进行 *RHCE* 基因分型 (天津秀鹏生物技术有限公司试剂盒), 方法为序列特异性引物-PCR 法 (PCR-SSP, sequence specific primer PCR)。

### 1.5 RHD/CE 基因测序分析

将该患者样本送西安浩瑞基因技术有限公司采用三代全长测序技术分析 *RHD/CE* 基因序列, 通过 8 段 PCR 扩增、三代测序和 PCR 片段的交叠区拼接, 获取 *RHCE* 基因的 89 kb 的全长单倍体序列, 从而完成全套血型的单倍体全长序列的鉴定, 查找 Rh 血型抗原弱表达原因。

## 2 结果

### 2.1 血型鉴定与抗筛结果

凝集卡法鉴定 ABO、Rh(D)、RhCcEe 抗原结果显示:患者红细胞与抗-A、抗-B、抗-D 和对照的凝集强度分别为:0、0、1+和 0(见图 1A);患者红细胞与抗-C、-c、抗-E、抗-e 和对照的凝集强度分别为 4+、1+、1+、4+和 0(见图 1B);试管法复查 RhDCcEe 抗原结果为 RhD(w+)、RhC(4+)、Rhc(w+)、RhE(w+)、Rhe(4+)。

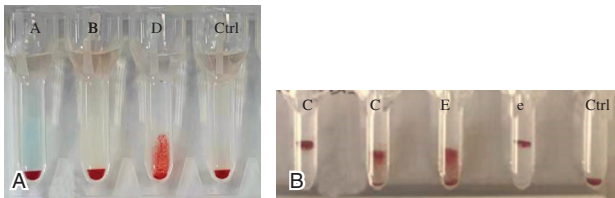
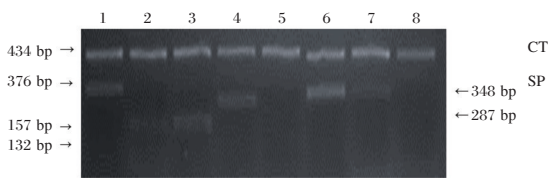


图 1 ABO/RhD、RhCcEe 微柱凝集法检测结果 (A、B)  
Figure 1 ABO/RhD, RhCcEe microcolumn agglutination test results (A, B)

### 2.2 RHD/RHCE 基因分型

PCR-SSP 检测结果显示,该患者外显子 Exon 1、5、6、7、845G、1227A 阳性,845A、D9 阴性,表明 RHD 基因鉴定结果阳性(如图 2);RHCE 预测基因型是 RHCE\*CcEe(如图 3)。基因分型与血清学结果(弱 D、C 阳性、弱 c、弱 E、和 e 阳性)有部分差异,PCR-SSP 结果无法分析出导致弱 D、弱 cE 的原因,需通过基因测序进行分析。



注: 1: Exon1; 2: Exon5; 3: Exon6; 4: Exon7; 5: 845A; 6: 845G; 7: 1227A; 8: DCT: 内参质控; SP: 样本。

图 2 RhD 基因分型 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳图  
Figure 2 Agarose gel electrophoresis of PCR products for RhD genotyping

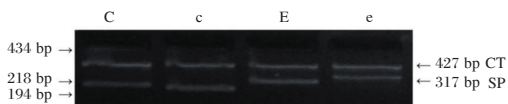


图 3 RhCcEe 基因分型 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳图  
Figure 3 Agarose gel electrophoresis of RhCcEe genotyping PCR product

### 2.3 RHD/CE 基因三代全长测序结果

Rhd 和 RhCE 基因的相似度高达 97%, 存在重组和大片段缺失现象, 导致其难以分析。采用三代全长测序技术对 RHD/RHCE 基因进行全长测序, 结果显示第 6 外显子存在新的碱基点突变 827C>A; 单倍体 1 为外显子 1-10 全缺失, 而单倍体 2 外显子结果发现 RHD-CE 基因重组, 正反向 RHD/CE 引物测序, 确认其重组类型为 RHD-CE(3-7)-D, 基因重组起点在外显子 2(g.20238-20312 之间), 基因重组终点确定在外显子 8(g.49184-50480 之间)。见图 4。



图 4 三代测序技术检测 RHD/CE 基因结果  
Figure 4 Results of RHD/CE gene detection by third-generation sequencing technology

## 3 讨论

近年国内各大医院相继开展 RhDCcEe 血型多抗原检测, 对精准输血提供配型依据, 但不同的血型抗体试剂、人员操作方式和血型基因突变等主客观因素可能影响 RhDCcEe 抗原检测的准确性, 甚至导致部分患者的 Rh 血型结果无法鉴定, 特别是 RhDCcEe 变异型需分子生物学检测技术分析<sup>[4-5]</sup>。因此, 部分患者输血前采取血型基因分型有助于临床安全输血管理, 并可为血清学方法提供辅助支持。

传统 PCR-SSP 基因分型技术进行 *RH* 等位基因定型时因不同引物设计可能导致的假阳性或假阴性<sup>[6-7]</sup>。近年三代单分子测序的平均读长高达 100 kb,是二代测序的 50 倍以上,基因测序准确率更高,并可解决单倍体识别、多基因重组区分困难等问题,是精准医学基因检测行业领域里的热门话题,利用三代基因测序技术进行 *RHCE/RHD* 基因分型、发现 *RHCE/RHD* 新等位基因、分析 *RHCE/RHD* 变异体与临床安全输血成为可能<sup>[8-9]</sup>。

最近我们分析 1 例输血患者血型血清学结果为:O 型、Rh D<sub>弱</sub>C<sub>弱</sub>E<sub>弱</sub>e,不规则抗体阴性,该患者血样进行传统的 PCR-SSP 基因分型结果为 *Dd/CcEe*,基因分型与血清学结果(弱 D、C 阳性、弱 c、弱 E 和 e 阳性)有部分差异,PCR-SSP 结果无法分析出导致弱 D、弱 cE 的原因,需通过基因测序进行分析。PCR 基因扩增技术具有很高的检测灵敏度,但同时其对检测中的错误也有放大作用,也有一定的实验局限性。故本案例采用三代全长测序技术对 *RHD/RHCE* 基因进行测序分析,*RHCE* 基因测序结果发现第 6 外显子存在一个新的碱基点突变 827C>A;*RHD* 基因单倍体 1 为外显子 1~10 全缺失,而单倍体 2 外显子结果发现 *RHD-CE* 基因重组,设计正反向 *RHD/CE* 引物测序,确认其重组类型为 *RHD-CE(3-7)-D*,该突变与重组融合型在 ISBT 数据库尚未发现。对比研究发现该基因重组起点在外显子 2(g.20238-20312 之间),基因重组终点确定在外显子 8(g.49184-50480 之间)。

血型基因碱基替换、插入和基因重组交换融合等方式是导致 *RHD/RHCE* 等位基因多态性的常见机制<sup>[10]</sup>,该机制可能引起血清学实验过程中 *RHD/RHCE* 血型抗原弱表达重要原因之一,*RHCE* 基因外显子可以被 *RHD* 基因所替代,可能因血型抗原表位结构变化导致血型抗原与相应抗体结合力减弱<sup>[10]</sup>。本病例中 *RHD/RHCE* 新等位基因可能导致血型抗原物质氨基酸序列的替换,血型蛋白质三级结构形成异常,而血型蛋白质结构研究需通过电镜技术和同源建模技术等进行深入分析。目前我们推测 *RHD-CE(3-7)-D* 基因重组融合与 827C>A 新型点突变可能共同作用导致 Rh 血型血清学结果中 D、c、E 抗原弱表达。血清学方法与基因分型、基因测序技术相结合是新型等位基因与抗原变异体研究的一种可行方法<sup>[11-12]</sup>。

三代基因测序技术针对基因多态性、特殊基

因区域及基因组片段重复区域等复杂结构的基因分析方面,拥有一二代测序技术无法比拟的技术优势,但也存在基因分析成本高、可能出现基因分型结果与血清学结果不一致等<sup>[13-14]</sup>,只有借助血清学方法与基因检测技术相互结合,通过大量不同血型基因型的分析研究,形成适合中国人群特点的血型基因数据库,将可为精准输血、安全输血提供数据支持具有重要意义<sup>[15]</sup>。

## 参考文献

- [1] Westhoff CM. Blood group genotyping[J]. *Blood*, 2019, 133(17):1814-1820.
- [2] Moussa H, Tsochandaridis M, Kacem N. RHD positive among C/E+and D - negative blood donors in Tunisia [J]. *Transfus Clin Biol*, 2014, 21(6):320-323.
- [3] Barriteau CM, Lindholm PF, Hartman K, et al. RHD genotyping to resolve weak and discrepant RhD patient phenotypes [J]. *Transfusion*, 2022, 62(11):2194-2199.
- [4] Sandler SG, Chen LN, Flegel WA. Serological weak D phenotypes: a review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype [J]. *Br J Haematol*, 2017, 179(1):10-19.
- [5] Khosroshahi BN, Oodi A, Namjou S, et al. RHD Genotyping by Molecular Analysis of Hybrid Rhesus box in RhD - Negative Blood Donors from Iran [J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2019, 35(1):119-124.
- [6] Dezan MR, Oliveira VB, Conrado MCAV, et al. Variant genotypes associated with reduced expression of RhCE antigens among Brazilian blood donors [J]. *Transfusion*, 2021, 61(6):1923-1931.
- [7] Pedini P, Filosa L, Bichel N, et al. Five - Years Review of RHCE Alleles Detected after Weak and/or Discrepant C Results in Southern France [J]. *Genes(Basel)*, 2022, 13(6):1058.
- [8] Zhang Z, An HH, Vege S, et al. Accurate long - read sequencing allows assembly of the duplicated RHD and RHCE genes harboring variants relevant to blood transfusion [J]. *Am J Human Genet*, 2022, 109(1):180-191.
- [9] Fichou Y, Berlivet I, Richard G, et al. Defining Blood Group Gene Reference Alleles by Long - Read Sequencing: Proof of Concept in the ACKR1 Gene Encoding the Duffy Antigens [J]. *Transfus Med Hemother*, 2020, 47(1):23-32.
- [10] Stef M, Fennell K, Apraiz I, et al. RH genotyping by non-specific quantitative next-generation sequencing [J]. *Transfusion*, 2020, 60(11):2691-2701.
- [11] Dezan MR, Ribeiro IH, Oliveira VB, et al. RHD and RHCE genotyping by next-generation sequencing is an effective strategy to identify molecular variants within sickle cell disease patients [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2017, 65:8-15.

(下转第 1190 页)

- [7] Zhang GQ, Gao Z, Zhang J, et al. A wearable AIEgen-based lateral flow test strip for rapid detection of SARS-CoV-2 RBD protein and N protein [J]. *Cell Rep Phys Sci*, 2022, 3(2): 100740.
- [8] Shen J, Situ B, Du X, et al. Aggregation-Induced Emission Luminogen-Based Dual-Mode Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Ultrasensitive Detection of Cancer Biomarkers in a Broad Concentration Range [J]. *ACS Sens*, 2022, 7(3): 766-774.
- [9] 黄国妮, 颜申姬, 程静, 等. 一步法在泌尿生殖系统感染病原体核酸检测中的临床应用评价 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2024, 16(2): 203-206+215.
- [10] Molaabasi F, Kefayat A, Ghasemzadeh A, et al. Role of the Probe Sequence/Structure in Developing an Ultra-Efficient Label-Free COVID-19 Detection Method Based on Competitive Dual-Emission Ratiometric DNA-Templated Silver Nanoclusters as Single Fluorescent Probes [J]. *Anal Chem*, 2022, 94(51): 17757-17769.
- [11] Gupta A, Adarsh T, Manchanda V, et al. COVID-19 detection using AIE-active iridium complexes [J]. *Dalton Trans*, 2023, 52(5): 1188-1192.
- [12] Lamers MM, Haagmans B L. SARS-CoV-2 pathogenesis [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20(5): 270-284.
- [13] Momont C, Dang H V, Zatta F, et al. A pan-influenza antibody inhibiting neuraminidase via receptor mimicry [J]. *Nature*, 2023, 618(7965).
- [14] Chen R, Ren C, Liu M, et al. Early Detection of SARS-CoV-2 Seroconversion in Humans with Aggregation-Induced Near-Infrared Emission Nanoparticle-Labeled Lateral Flow Immunoassay [J]. *ACS Nano*, 2021, 15(5): 8996-9004.
- [15] Bian L, Li Z, He A, et al. Ultrabright nanoparticle-labeled lateral flow immunoassay for detection of anti-SARS-CoV-2 neutralizing antibodies in human serum [J]. *Biomaterials*, 2022, 288: 121694.
- [16] 何平, 徐婧怡, 张雪雪, 等. AFP、GP73 及 GPC3 检测在原发性肝癌诊断及预后评估中的价值 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2024, 16(1): 36-40.
- [17] Kaiser J. Glowing tumor marker hampers mouse cancer studies [J]. *Science*, 2022, 375(6583): 804-804.
- [18] Jeng WJ, Papatheodoridis GV, Lok ASF. Hepatitis B [J]. *Lancet*, 2023, 401(10381): 1039-1052.
- [19] Chen R, Zhou X, Wu Y, et al. NIR-II emissive lateral flow immunoassay for accurate determination of tumor marker in hemolysis [J]. *Sens Actuators B*, 2021, 328: 129050.
- [20] Chen C H, Chen L, Yang Y, et al. Aggregation-induced emission luminogen based ELISA for highly sensitive protein detection [J]. *Sens Actuators B*, 2024, 401.
- [21] Zhang J, Li Y, Chai F, et al. Ultrasensitive point-of-care biochemical sensor based on metal-AIEgen frameworks [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(30): eabo1874.
- [22] Nadamuni M, D'Amico AV, Donovan JL, et al. Decision Making in Prostate Cancer [J]. *N Engl J Med*, 2023, 389(14): 1335-1338.
- [23] 马永, 高辉, 王明岗, 等. miRNA-223、miRNA-21 及 miRNA-27a 与冠心病冠脉病变的关系 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2024, 16(2): 361-364.
- [24] Min X, Zhuang Y, Zhang Z, et al. Lab in a Tube: Sensitive Detection of MicroRNAs in Urine Samples from Bladder Cancer Patients Using a Single-Label DNA Probe with AIEgens [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(30): 16813-16818.
- [25] Chen Y, Min X, Zhang X, et al. AIE-based superwetttable microchips for evaporation and aggregation induced fluorescence enhancement biosensing [J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 111: 124-130.
- [26] Kenry, Tang B, Liu B. Catalyst: Aggregation-Induced Emission-How Far Have We Come, and Where Are We Going Next? [J]. *Chem*, 2020, 6(6): 1195-1198.
- [27] Liang J, Teng P, Hu L, et al. Platinum nanoparticles (Pt-NPs)-based CRISPR/Cas12a platform for detection of nucleic acid and protein in clinical samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2022, 1225: 340203.
- [28] Klebes A, Ates HC, Verboket RD, et al. Emerging multianalyte biosensors for the simultaneous detection of protein and nucleic acid biomarkers [J]. *Biosens Bioelectron*, 2024, 244: 115800.
- [29] Gong S, Li J, Pan W, et al. Duplex-Specific Nuclease-Assisted CRISPR-Cas12a Strategy for MicroRNA Detection Using a Personal Glucose Meter [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(30): 10719-10726.

(上接第 1186 页)

- [12] Prisco Arnoni C, Guilhem Muniz J, de Paula Vendrame TA, et al. RHCE variants inherited with altered RHD alleles in Brazilian blood donors [J]. *Transfus Med*, 2016, 26(4): 285-90.
- [13] Vege S, Floch A, Burgos A, et al. Two novel variants that disrupt the RHCE start codon with varying effect on RhCE antigen expression [J]. *Transfusion*, 2023, 63(4): E12-E14.
- [14] Gueuning M, Thun GA, Wittig M, et al. Haplotype sequence collection of ABO blood group alleles by long-read sequencing reveals putative A1-diagnostic variants [J]. *Blood Adv*, 2023, 7(6): 878-892.
- [15] Matzhold EM, Drexler-Helmberg C, Helmberg W, et al. Allele-specific long-range sequencing as a method for ABO haplotyping in clinical blood group diagnosis and immunohematology research [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2023, 12(1): e2286.