

Contents lists available at [SciVerse ScienceDirect](http://SciVerse.Sciencedirect.com)

Acta Haematologica Polonica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/achaem

Praca poglądowa/Review

Genetyczne podstawy syntezy cukrowych antygenów grupowych krwi

Genetic basis of synthesis of carbohydrate blood group antigens

Marcin Czerwiński*, Radosław Kaczmarek

Laboratorium Immunochemii Glikokoniugatów, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, Kierownik: prof. dr hab. Hubert Krotkiewski, Wrocław, Polska



INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 31.05.2013

Zaakceptowano: 02.07.2013

Dostępne online: 24.07.2013

Słowa kluczowe:

- cukrowe antygeny grupowe krwi
- ABO
- P1PK
- NOR
- punktowe mutacje

Keywords:

- Carbohydrate blood-group antigens
- ABO
- P1PK
- NOR
- point mutations

ABSTRACT

Diversity of carbohydrate blood group antigens emerged as a result of point mutations in genes encoding glycosyltransferases. In the ABO and P1PK systems, which have the highest clinical relevance, polymorphism is caused by mutations in genes encoding ABO transferase and P1/P^k synthase. In the case of ABO blood group system, mutations in the gene encoding ABO transferase may influence the donor specificity of the enzyme, resulting in synthesis of A or B blood group antigens. In contrast, a point mutation in the gene encoding P1/P^k synthase may cause change of the acceptor specificity of the enzyme, resulting in synthesis of NOR antigen, which is responsible for inheritable NOR polyagglutination. On the other hand, point mutations in the noncoding fragment of that gene may be the cause of P₁/P₂ blood polymorphism, acting by upregulating the transcription of P1/P^k synthase. The increased transcription may result in expression of P1 antigen, which is absent from erythrocytes from P₂ individuals. Thus, influence of point mutations on erythrocyte phenotype may be of quantitative (antigens A, B, NOR) or qualitative nature (antigen P1). This article attempts to provide an insight into the diversity of genes encoding glycosyltransferases and its influence on synthesis of oligosaccharide blood group antigens.

© 2013 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Urban & Partner Sp. z o.o. All rights reserved.

Wstęp

Glikokoniugaty stanowią najbardziej strukturalnie zróżnicowaną grupę związków w żywych organizmach [1]. Glikany odgrywają rolę w wielu podstawowych procesach życiowych, takich jak przekazywanie sygnałów, fałdowanie łańcuchów

polipeptydowych, zapłodnienie, rozwój zarodka czy też odpowiedź odpornościowa, a także w procesach patologicznych, takich jak przerzutowanie nowotworów lub procesy zapalne. Ponadto glikany pełnią funkcję ochronną, ponieważ zabezpieczają błonę komórkową przed działaniem czynników zewnętrznych, takich jak patogeny [2]. W skład glikanów wchodzi często determinanty antygenowe układów

* Adres do korespondencji: Laboratorium Immunochemii Glikokoniugatów, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, Polska. Tel.: +48 71 337 1172; fax: +48 71 337 2171.

Adres email: czerwinski@iitd.pan.wroc.pl (M. Czerwiński).

grupowych krwi, takich jak ABO lub P1PK. Cukrowe części glikokoniugatów powstają w wyniku działania glikozylotransferaz, których większość jest zlokalizowana w aparacie Golgiego, gdzie odbywa się synteza *de novo* O-glikanów, proteoglikanów, glikolipidów i obróbka N-glikanów syntezowanych w siateczce śródplazmatycznej. Mimo tak dużej różnorodności i konkurencji o substraty pomiędzy enzymami o podobnych swoistościach, synteza glikokoniugatów przebiega w sposób uporządkowany.

Zmiany w sekwencji genów kodujących glikozylotransferazy mogą prowadzić do zmian ilościowych lub jakościowych w syntezie oligosacharydowych antygenów grupowych krwi. Mutacje w kodującej części genu mogą powodować zmiany swoistości enzymu wobec donora lub akceptora przenoszonej reszty cukrowej. Z kolei mutacje w części niekodującej mogą prowadzić do zwiększenia transkrypcji genu, a w ten sposób do obecności na erytrocytach dodatkowych antygenów.

Cukrowe antygeny grupowe krwi

Podział krwi na grupy jest sposobem klasyfikacji krwi na podstawie obecności określonych antygenów na powierzchni erytrocytów. Antygeny grupowe krwi mogą być rozpoznawane przez alloprzeciwciała, które powstają w wyniku immunizacji po przetoczeniu krwi niezgodnej grupowo lub w kontakcie z antygenami występującymi powszechnie w środowisku. Układ grupowy krwi tworzą antygeny kodowane przez jedno locus genowe lub kilka loci ściśle ze sobą sprzężonych, przez co rearanżacja genów zachodzi w znikomym stopniu bądź wcale. Obecnie wyróżnia się 339 antygenów erytrocytarnych, z czego 297 należy do 33 odrębnych układów grup krwi [3].

Antygeny grupowe krwi mogą być białkami, glikolipidami lub glikoproteinami. Antygeny glikoproteinowe i glikolipidowe, w których determinantami antygenowymi są łańcuchy oligosacharydowe, powstają w wyniku działania glikozylotransferaz, czyli enzymów przenoszących zaktywowane reszty cukrowe na cząsteczkę akceptorową z utworzeniem wiązania glikozydowego. Donorami reszt cukrowych są najczęściej nukleotydocukry (np. UDP-Gal, CMP-NeuNAc). Akceptorami mogą być oligosacharydy, lipidy, białka, kwasy nukleinowe i liczne związki małowczątkowe, np. antybiotyki.

Przedmiotem tego artykułu są zmiany w sekwencji genów kodujących glikozylotransferazy i ich wpływ na strukturę antygenów cukrowych. W przypadku białkowych antygenów grupowych zmiana jednego nukleotydu w genie kodującym dany białkowy antygen może powodować zmianę reszty aminokwasowej i powstanie nowej determinanty antygenowej. Z kolei w przypadku antygenów cukrowych mutacja może wpływać na strukturę antygeny w sposób bardziej złożony, poprzez zmianę swoistości glikozylotransferazy, która katalizuje tworzenie połączenia cukrowego danego rodzaju. Zmiana pojedynczego nukleotydu może w tym przypadku wpływać na zmianę fenotypu na kilka sposobów:

a) zmiana liczby cząsteczek danego antygeny na powierzchni erytrocytów (możliwa przyczyna: zmiana aktywności glikozylotransferazy lub zmiana poziomu ekspresji genu kodującego daną glikozylotransferazę),

b) zmiana monosacharydu, który zostaje przyłączony do tego samego akceptora (możliwa przyczyna: zmiana swoistości donorowej glikozylotransferazy),

c) zmiana akceptora, do którego zostaje przyłączony ten sam rodzaj monosacharydu (możliwa przyczyna: zmiana swoistości akceptorowej glikozylotransferazy).

Obecnie wyróżnia się następujące układy grupowe, których podstawę stanowią różnice w budowie łańcuchów cukrowych: ABO, Lewis, P1PK, GLOB, FORS.

W dalszej części artykułu skupimy się na dwóch najważniejszych w praktyce klinicznej układach: ABO i P1PK. Transferaza ABO jest przykładem enzymu, który zmienia swoistość w wyniku punktowej mutacji, czego skutkiem jest synteza oligosacharydów o różnych strukturach terminalnych (A lub B). Geneza antygenów układu P1PK jest odmienna: w zależności od genotypu, podwyższona aktywność transkrypcyjna genu *A4GALT* prowadzi do zwiększonej syntezy α -1,4-galaktozylotransferazy, co z kolei powoduje obecność antygeny P1 na powierzchni erytrocytów.

Układ grupowy ABO

Uważa się, że układ ABO (układ nr 1 według Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi Krwi, ISBT) ma największe znaczenie w transfuzjologii. W układzie tym wyróżnia się cztery podstawowe fenotypy: A, B, AB i O (Tab. I-IV).

Antygeny układu grupowego ABO są łańcuchami oligosacharydowymi glikolipidów lub glikoprotein obecnymi zarówno na erytrocytach, jak i innych komórkach somatycznych oraz w wydzielinach. Podstawą ich budowy jest łańcuch prekursorowy o dwóch możliwych strukturach, różniących się rodzajem wiązania glikozydowego pomiędzy końcową galaktozą a poprzedzającą ją N-acetyloglukozaminą. W łańcuchu typu II występuje wiązanie β 1,4, które jest charakterystyczne dla krwinek, natomiast w innych komórkach i w wydzielinach obecne jest wiązanie β 1,3. W wyniku przyłączenia fukozy do łańcucha prekursorowego typu I lub II powstaje antygen H (Fuc α -1,2-Gal β 1,3/4), który z kolei jest strukturą prekursorową dla antygenów A i B. Antygeny te różnią się terminalną resztą cukrową: w antygenie A jest to N-acetylogalaktozamina, a w antygenie B galaktoza (omówione w [4]).

Geny kodujące transferazy ABO

Transferazy ABO, podobnie jak inne glikozylotransferazy, są białkami transmembranowymi typu II. Cząsteczka enzymu składa się z krótkiego N-końcowego odcinka cytoplazmatycznego, fragmentu transmembranowego oraz długiej części C-końcowej skierowanej do wnętrza aparatu Golgiego. W C-końcowym fragmencie znajduje się domena katalityczna enzymu [5, 6].

Glikozylotransferazy odpowiedzialne za syntezę antygenów układu grupowego ABO kodowane są przez trzy geny zlokalizowane w trzech osobnych loci: *Hh*, *Sese* i ABO.

Geny *Hh* (*FUT1*) i *Sese* (*FUT2*) kodują α -1,2-L-fukozylotransferazy. Enzymy te katalizują przyłączenie fukozy do galaktozy, w wyniku czego powstaje antygen H. Jest on

Tabela I – Podgrupy A i ich najważniejsze właściwości fenotypowe, genotypowe i serologiczne [3, 4]
Table I – Subgroups of A and their most important phenotypic, genotypic and serologic characteristics [3, 4]

Podgrupy A	Charakterystyka
A ₁	<ul style="list-style-type: none"> • allel A101 należący do tej podgrupy jest konsensowym i prawdopodobnie najstarszym ewolucyjnie allelem genu ABO • pozostałe allele tej podgrupy zawierają mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe, które nie wpływają na fenotyp
A ₂	<ul style="list-style-type: none"> • allele tych podgrup zawierają mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe lub przesunięcia ramy odczytu, których wynikiem jest obniżenie aktywności enzymatycznej • zmniejszona liczba cząsteczek antygeny A na erytrocytach
A ₃	
A _x	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy zawierają mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe, których wynikiem jest obniżenie aktywności enzymatycznej • zmniejszona liczba cząsteczek antygeny A na erytrocytach • niektóre allele tej podgrupy dziedziczone są niezgodnie z prawami Mendla, prawdopodobnie w wyniku wzmocnienia allelicznego
A _{el}	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy zawierają mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe lub przesunięcia ramy odczytu, których wynikiem jest obniżenie aktywności enzymatycznej • najmniejsza liczba cząsteczek antygeny A na erytrocytach w porównaniu z pozostałymi podgrupami • erytrocyty osób z tą podgrupą nie są aglutynowane przez przeciwciała anti-A • przeciwciała anti-A wiążą się do erytrocytów o tym fenotypie, co można stwierdzić za pomocą adsorpcji i elucji • u osób z tą podgrupą często występują przeciwciała anti-A
A _m	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy zawierają mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe, których wynikiem jest obniżenie aktywności enzymatycznej • zmniejszona liczba cząsteczek antygeny A na erytrocytach, ale prawidłowy poziom antygenów A i H w ślinie; przyczyną tego zjawiska są prawdopodobnie mutacje w regionie promotorowym genu ABO (tak jak u większości osób o fenotypie B_m), które powodują obniżenie jego ekspresji • erytrocyty osób z tą podgrupą nie są aglutynowane lub są słabo aglutynowane przez przeciwciała anti-A • w surowicy osób z tą podgrupą zazwyczaj nie ma przeciwciał anti-A
A _y	<ul style="list-style-type: none"> • dawniej allele tej podgrupy zaliczano do podgrupy A_m • allele tej podgrupy powstają prawdopodobnie w wyniku mutacji w genie ABO, które zachodzą w komórkach rozrodczych (co odróżnia allele A_y od tych zaliczanych do podgrupy A_m) • erytrocyty osób tej podgrupy słabiej wiążą przeciwciała anti-A niż erytrocyty A_m • w ślinie u wydzielaczy A_y jest mniej cząsteczek antygeny A niż w ślinie u wydzielaczy A_m • w surowicy u osób o fenotypie A_m transferaza A jest łatwo wykrywalna, natomiast u osób o fenotypie A_y surowica zawiera ledwie śladowe ilości tego enzymu
A _{end}	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy są wynikiem rekombinacji lub mutacji w regionach niekodujących genu ABO, które powodują nieprawidłową obróbkę transkryptu i syntezę białka o obniżonej aktywności • erytrocyty tej podgrupy są słabo aglutynowane przez przeciwciała anti-A • w ślinie u wydzielaczy nie ma antygeny A, ale jest antygen H
A _w	<ul style="list-style-type: none"> • fenotyp ten stwierdza się u osób z najrzadszymi allelami ABO, których nie można przyporządkować do pozostałych podgrup

prekursorem antygenów A i B na erytrocytach i komórkach śródbłonna. Fukozylotransferazy 1 i 2 mają taką samą swoistość donorową i akceptorową, ale kodujące je geny ulegają ekspresji w różnych tkankach. Ekspresja genu *Hh* występuje w tkankach pochodzenia mezodermalnego, dlatego aktywność fukozylotransferazy 1 decyduje o obecności antygenów A, B i H na powierzchni erytrocytów. Allel *h* zawiera mutacje powodujące syntezę nieaktywnego białka [7]. W związku z tym u homozygot *h/h* nie ma aktywnej fukozylotransferazy, a zatem mamy wtedy do czynienia z pozorną grupą O. Fenotyp taki nosi nazwę „Bombay” i oznaczany jest jako O_h lub ABH_{null}. Gen *Sese*, kodujący fukozylotransferazę 2, ulega ekspresji w tkankach pochodzenia endodermalnego. W związku z tym fukozylotransferaza 2 bierze udział w syntezie antygenów A, B i H występujących na powierzchni komórek nabłonkowych i w wydzielnicach (np. w ślinie i innych płynach ustrojowych). U niektórych osób występuje allel *se* kodujący nieaktywny enzym, dlatego w zależności od genotypu ludzi można podzielić na tzw. wydzielaczy (o genotypie *Se/Se* lub *Se/se*) oraz niewydzielaczy (o genotypie *se/se*), u których oba allele kodują nieaktywną fukozylotransferazę 2 [8].

Gen ABO koduje transferazę A (N-acetylogalaktozaminylotransferaza) lub transferazę B (galaktozylotransferaza). Istnieją trzy podstawowe allele genu ABO: A i B są dominujące, natomiast O jest recesywny.

Allele genu kodującego transferazy A i B różnią się siedmioma punktowymi mutacjami, z których cztery powodują zmianę reszty aminokwasowej w łańcuchu polipeptydowym, ale tylko dwie (C796A i G803C powodujące podstawienia aminokwasowe Leu266Met i Gly268Ala) prowadzą do zmiany swoistości enzymu wobec przenoszonej reszty cukrowej. Poza tym wykazano, że reszty aminokwasowe: Met214, Phe216, Glu223, Asp291 i Arg352 odgrywają ważną rolę w aktywności enzymu [6]. Zmiana którejkolwiek z wymienionych reszt aminokwasowych obniża aktywność enzymu. Ponadto aktywność enzymatyczna transferazy B jest mniejsza niż aktywność transferazy A, a w związku z tym liczba cząsteczek antygeny B na powierzchni erytrocytu jest mniejsza niż liczba cząsteczek antygeny A [9].

Obie transferazy ABO katalizują reakcje z utworzeniem wiązania α-glikozydowego. Ponieważ taki sam rodzaj wiązania występuje pomiędzy UDP i resztą cukrową w donorach dla tych enzymów, są one zaliczane do glikozylotransferaz

Tabela II – Podgrupy B i ich najważniejsze właściwości fenotypowe, genotypowe i serologiczne [3, 4]
Table II – Subgroups of B and their most important phenotypic, genotypic and serologic characteristics [3, 4]

Podgrupy B	Charakterystyka
B ₁	<ul style="list-style-type: none"> • allel B101 różni się od konsensusowego allelu A101 siedmioma pojedynczymi mutacjami, z których cztery powodują podstawienia aminokwasowe • pozostałe allele tej podgrupy zawierają mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe, które nie wpływają na fenotyp
B ₃	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy zawierają mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe lub nieprawidłową obróbkę transkryptu, których wynikiem jest obniżenie aktywności enzymatycznej • zmniejszona liczba cząsteczek antygeny B na erytrocytach
B _x	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy zawierają mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe, których wynikiem jest obniżenie aktywności enzymatycznej • zmniejszona liczba cząsteczek antygeny B na erytrocytach • erytrocyty osób o tym fenotypie są słabo aglutynowane
B _m	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy są najczęściej pozbawione dużego fragmentu intronu 1, który obejmuje miejsce wiązania czynnika transkrypcyjnego GATA-1; GATA-1 jest czynnikiem transkrypcyjnym charakterystycznym dla komórek hematopoetycznych, dlatego w wyniku delekcji w intronie 1 synteza transferazy B w tych komórkach jest zmniejszona, natomiast w innych komórkach synteza tego enzymu jest prawidłowa • zmniejszona liczba cząsteczek antygeny B na erytrocytach, ale prawidłowy poziom antygenów B i H w ślinie u wydzielaczy
B _{e1}	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy zawierają mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe lub przesunięcia ramy odczytu, których wynikiem jest obniżenie aktywności enzymatycznej • erytrocyty osób z tą podgrupą nie są aglutynowane przez przeciwciała anti-B • przeciwciała anti-B wiążą się do erytrocytów o tym fenotypie, co można stwierdzić za pomocą adsorpcji i elucji • u osób z tą podgrupą mogą występować przeciwciała anti-B
B _w	<ul style="list-style-type: none"> • fenotyp ten stwierdza się u osób z najrzadszymi allelami ABO, których nie można przyporządkować do pozostałych podgrup

Tabela III – Podgrupy powstające w wyniku działania transferazy ABO o podwójnej swoistości i ich najważniejsze właściwości fenotypowe, genotypowe i serologiczne [3, 4]
Table III – Subgroups emerging as a result of overlapping specificities of A- and B-transferases [3, 4]

Podgrupy	Charakterystyka
A ₁ (B)	<ul style="list-style-type: none"> • fenotyp ten powstaje w wyniku działania transferazy ABO o podwójnej swoistości, która może przyłączać do łańcucha prekursorowego zarówno GalNAc, jak i Gal • erytrocyty o tym fenotypie mają typową dla fenotypu A₁ liczbę cząsteczek antygeny A i małą liczbę cząsteczek antygeny B, który można wykryć za pomocą niektórych przeciwciał anti-B • w opisanych przypadkach występowała typowa dla fenotypu A₁ aktywność transferazy A, ale zwiększona aktywność fukozylotransferazy w osoczu i zwiększona liczba cząsteczek antygeny H
B(A)	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy zawierają najczęściej mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe w pozycjach ważnych dla swoistości enzymu, czego wynikiem jest podwójna swoistość transferazy ABO • erytrocyty osób z tą podgrupą mają typową dla fenotypu B liczbę cząsteczek antygeny B na erytrocytach i małą liczbę cząsteczek antygeny A, który można wykryć za pomocą niektórych przeciwciał anti-A • u osób z tą podgrupą stwierdza się zwiększoną aktywność transferazy B w osoczu
cisAB	<ul style="list-style-type: none"> • allele tej podgrupy zawierają najczęściej mutacje powodujące podstawienia aminokwasowe w pozycjach 266 i 268, które decydują o swoistości enzymu, czego wynikiem jest podwójna swoistość transferazy ABO • erytrocyty o tym fenotypie są aglutynowane zarówno przez przeciwciała anti-A, jak i anti-B • erytrocyty o tym fenotypie mają na ogół mniejszy poziom antygeny B niż A

katalizujących reakcję z zachowaniem konfiguracji anome-rycznego atomu węgla. Podobnie jak w przypadku większości glikozylotransferaz, centrum katalityczne enzymu zawiera motyw DXD (Asp211, Val212 i Asp213). Dwie reszty kwasu asparaginowego wiążą jon Mn²⁺, którego funkcją jest wiązanie reszt fosforanowych w UDP-cukrze [10].

Domena wiążąca akceptor jest umiejscowiona w obrębie reszt aminokwasowych 228-337, a rozpoznawanym fragmentem łańcucha jest disacharyd Fuca-1,2-Gal. Kluczowymi resztami zaangażowanymi w rozpoznawanie tej struktury są: His233, Glu303 i Thr245, które wiążą cząsteczkę galaktozy, oraz Asp326, która wiąże fukozę. Dodatkowo, zarówno reszta galaktozy jak i fukozy tworzy silne wiązania z grupą β-fosforanową UDP, co sugeruje, że wiązanie tej cząsteczki

jest niezbędnym krokiem poprzedzającym rozpoznanie akceptora.

Zmiana reszty aminokwasowej w pozycjach Leu/Met266 i Gly/Ala268 może mieć wpływ na swoistość donorową enzymu. Badania kinetyczne wykazały, że zamiana leucyny na metioninę w pozycji 266 ma większy wpływ na zmianę swoistości niż obecność reszty Gly lub Ala w pozycji 268. Aminokwas w pozycji 266 (Leu/Met) znajduje się w miejscu umożliwiającym oddziaływanie z grupą hydroksylową (w przypadku GTB) lub acetamidową (w przypadku GTA), natomiast Gly/Ala 268 wiąże się z grupami hydroksylowymi przy trzecim i czwartym atomie węgla reszty cukrowej w donorze. Można więc powiedzieć, że obecność leucyny lub metioniny w pozycji 266 decyduje bezpośrednio o wiązaniu

Tabela IV – Podgrupy O i ich najważniejsze właściwości fenotypowe, genotypowe i serologiczne [3, 4]
Table IV – Subgroups of O and their most important phenotypic, genotypic and serologic characteristics [3, 4]

Podgrupy O	Charakterystyka
O ₁	<ul style="list-style-type: none"> wszystkie allele tej podgrupy zawierają mutację powodującą przesunięcie ramy odczytu i powstanie przedwczesnego kodonu zatrzymania translacji, czego wynikiem jest synteza skróconego białka, pozbawionego domeny katalitycznej oprócz wyżej opisanej delekcji allele tej podgrupy mogą zawierać dodatkowe mutacje, które nie wpływają na fenotyp
O ₂	<ul style="list-style-type: none"> allele tej podgrupy kodują białko pełnej długości, które jest nieaktywne w wyniku podstawień aminokwasowych w pozycjach kluczowych dla aktywności enzymatycznej niektóre allele tej podgrupy kodują białko o bardzo małej aktywności transferazy A. U osób z takimi allelami wiązanie przeciwciał anty-A do erytrocytów można wykazać tylko za pomocą metody adsorpcji i elucji. Ponadto u osób z takimi allelami przeciwciała anty-A są często nieobecne lub ich miano jest obniżone

różnych cukrów, czyli odpowiednio N-acetylogalaktozaminy w grupie A i galaktozy w grupie B, a znaczenie reszty 268 jest mniejsze. W przypadku transferazy B oba aminokwasy (Met266 i Ala268) mają większe łańcuchy boczne niż w przypadku transferazy A (Leu266, Gly268), dlatego domena wiążąca nukleotydocukier w GTB może wiązać resztę galaktozy, ale nie może przyłączyć N-acetylogalaktozaminy, ponieważ cząsteczka GalNAc jest większa. Z kolei transferaza A ma zbyt obszerną kieszeń wiążącą, aby reszta galaktozy mogła utworzyć wszystkie niezbędne wiązania z resztami aminokwasowymi. Ponadto, obniżone dno miejsca aktywnego GTA pozwala na odsłonięcie histydy w pozycji 233, która może utworzyć wiązanie wodorowe z grupą acetamidową N-acetylogalaktozaminy, dzięki czemu cukier ten może być właściwie umiejscowiony [11].

Rzadko występujące dziedziczenie grup ABO niezgodne z prawami Mendla jest najczęściej związane ze zjawiskiem wzmocnienia allelicznego. Zjawisko to polega na wzmocnieniu ekspresji jednego z alleli przez drugi homologiczny allel. W wyniku takiego mechanizmu jeden z alleli, którego ekspresja jest słaba lub nie ma jej wcale, w wyniku obecności drugiego allelu daje sygnał większy niż spodziewany. Mechanizm działania allelicznego wzmocnienia nie jest do końca poznany, aczkolwiek istnieją hipotezy tłumaczące jego powstawanie. Według jednej z nich, wzmocnienie alleliczne jest wynikiem homologicznej rekombinacji podczas podziałów mitotycznych komórek somatycznych. Wymiana fragmentu chromosomu pomiędzy dwoma allelami niekodującymi aktywnego białka mogłaby w ten sposób prowadzić do powstania allelu kodującego aktywną glikozylotransferazę [12]. Autorzy drugiej hipotezy sugerują, że wzmocnienie alleliczne jest skutkiem zdolności transferaz ABO do tworzenia dimerycznych kompleksów. Utworzenie heterodimeru z transferazą kodowaną przez drugi allel (A, B czy nawet nieaktywnym enzymem kodowanym przez allel O₂) mogłoby przywracać lub zwiększać aktywność nieprawidłowego enzymu [13].

Podgrupy w układzie ABO

Oprócz trzech podstawowych grup (A, B i O) wyróżniamy wiele podgrup różniących się głównie liczbą cząsteczek antygeny obecnego na krwinkach. Wynika to z różnorodnych rzadkich mutacji w genie ABO, które mogą powodować zmiany aktywności enzymu. Zmieniona aktywność najczęściej wynika z obecności mutacji prowadzącej do podstawienia

aminokwasowego w łańcuchu polipeptydowym enzymu. Aktywność transferaz kodowanych przez opisane dotąd allele można ułożyć według malejącej liczby cząsteczek antygeny na erytrocytach w następującym szeregu [14]:

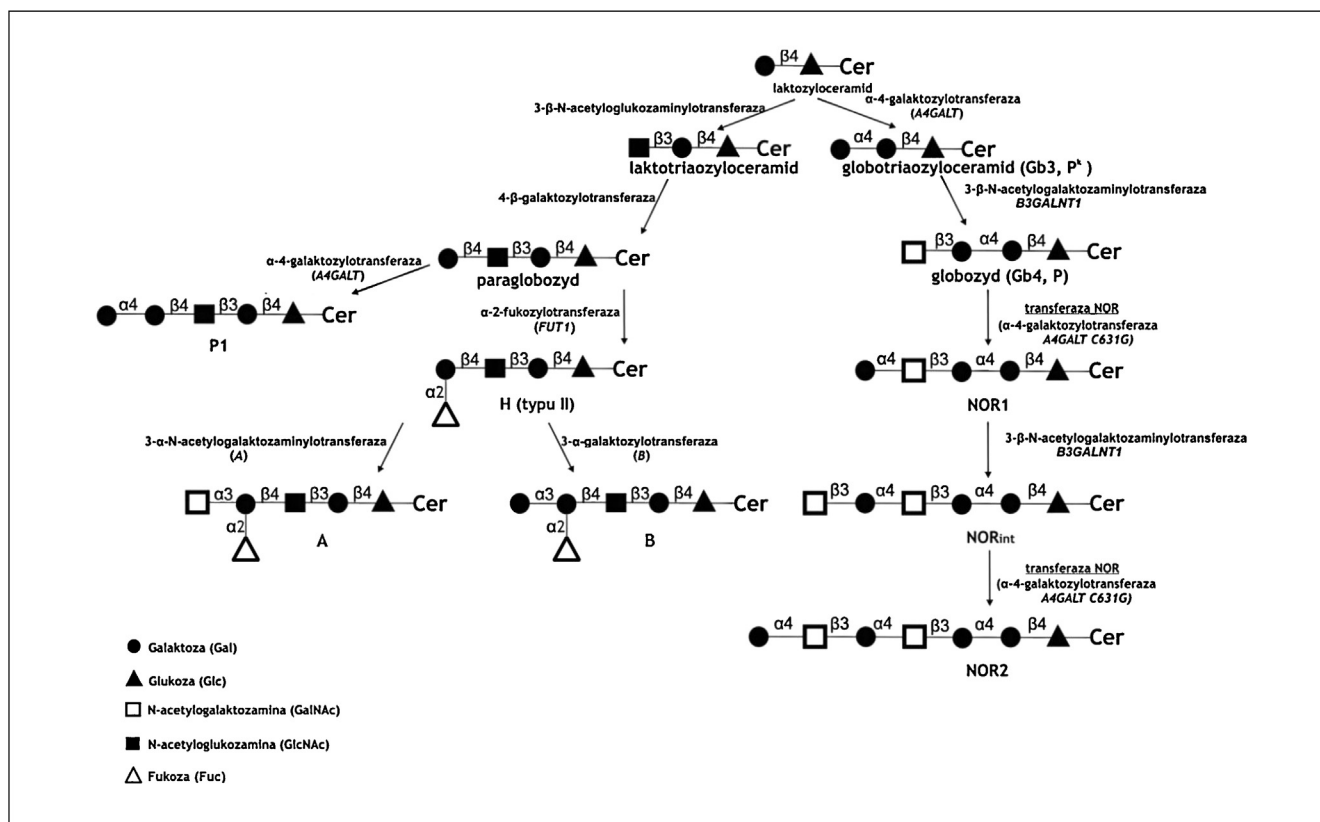
- dla alleli A: A₁>A₂>A₃>A_x>A_{el}
- dla alleli B: B₁>B₃>B_x>B_{el}

Antygeny układu grupowego ABO jako receptory dla patogenów

Uważa się, że zróżnicowanie w obrębie układu grupowego ABO powstało w wyniku presji ze strony patogenów, przede wszystkim zarodźca malarii (*Plasmodium falciparum*) [15]. Chociaż antygeny te nie uczestniczą w procesie wnikania zarodźców malarii do komórek, to są one wiązane przez receptor występujący na powierzchni erytrocytów zakażonych przez *P. falciparum*, nazywany PfEMP-1 (*P. falciparum* erythrocyte membrane protein-1) [16]. Receptor ten rozpoznaje antygeny A i B na powierzchni erytrocytów, płytek krwi i komórek śródbłonka, co powoduje wychwytywanie z krwioobiegu zakażonych erytrocytów, które unikają w ten sposób zniszczenia w śledzionie. Osoby o grupie O mają więc większe szanse wyzdrowienia niż osoby o grupie A i w mniejszym stopniu B, czego potwierdzeniem mogą być wyniki badań częstości grup A, B i O w różnych populacjach. W regionach, gdzie malaria występuje endemicznie, udział grupy O wynosi od 47% (Ghana) do 90% (region Amazonki) [17]. W przypadku innych patogenów grupa O może z kolei być związana z ostrzejszym przebiegiem zakażenia, czego przykładem są szczepy O1 El Tor i O139 przecinkowca cholery (*Vibrio cholerae*) [15]. Glass i wsp. [18] sugerują, że zmniejszona częstość występowania grupy O i zwiększona częstość występowania grupy B w Bangladeszu na obszarze delty Gangesu wynika bezpośrednio z presji ze strony przecinkowca cholery.

Układ grupowy P1PK

Układ grupowy P1PK do niedawna nazywano układem P. Do roku 2002 zaliczano do tego układu trzy antygeny: P^k, P1 i P, ale antygen P (Gb4) został ostatnio włączony do układu grupowego GLOB. Układ grupowy P1PK, obejmuje dwa antygeny zakończone sekwencją Gal α 1,4-Gal (P^k i P1) oraz jeden



Ryc. 1 – Schemat biosyntezy glikosfingolipidów zawierających determinanty antygenów układów grupowych ABO i P1PK
Fig. 1 – Biosynthesis of glycosphingolipids carrying antigenic determinants of ABO and P1PK blood group systems

antygen zakończony sekwencją Gal α -1,4-GalNAc (NOR, odpowiedzialny za dziedziczną poliaglutynację NOR) [3].

Antygeny układu grupowego P1PK

Antygeny P₁, P^k (globotriaosyloceramid, Gb₃, CD77) i NOR są łańcuchami cukrowymi glikosfingolipidów. Antygeny P^k i NOR należą do szeregu globo, natomiast P₁ syntezowany jest w szeregu neolakto [Ryc. 1].

Biosynteza antygenów P1PK przebiega zatem w dwóch osobnych szlakach, a substratem wyjściowym jest laktocyloeramid. Antygeny P₁ i P^k syntezowane są przy udziale syntazy P₁/P^k (α -1,4-galaktozylotransferazy), która może mieć postać konsensową lub zawierać podstawienie aminokwasowe 211Gln>Glu (zamiana reszty glutaminy na resztę kwasu glutaminowego w pozycji 211 łańcucha polipeptydowego). Obie formy enzymu katalizują syntezę wiązania α -1,4-glikozydowego pomiędzy resztą galaktozy pochodzącą z donorowego nukleotydocukru (UDP-galaktoza) a terminalną resztą galaktozy laktocyloeramidu [19–21]. U osób o fenotypie GLOB:1, antygen P^k jest wydłużany przez syntazę P, w wyniku czego powstaje antygen P [22]. Ponadto u osób o fenotypie NOR, syntaza P₁/P^k z podstawieniem 211Gln > Glu wydłuża antygen P poprzez przyłączenie kolejnej reszty galaktozy, w wyniku czego powstaje antygen NOR1. Dalsze wydłużenie łańcucha oligosacharydowego ma miejsce w wyniku działania syntazy P (w ten sposób

powstaje NOR_{int}) i wariantowej syntazy P₁/P^k (NOR2). Z kolei szereg neolakto rozpoczyna laktotriaosyloceramid (Lc₃), który może zostać wydłużony poprzez przyłączenie reszty galaktozy do terminalnej reszty N-acetyloglukozaminy, w wyniku czego powstaje paraglobozyd. U osób o fenotypie P₁ paraglobozyd staje się następnie substratem do syntezy antygeny P₁, który powstaje w wyniku działania konsensowej lub wariantowej syntazy P₁/P^k [23].

Fenotypy układu grupowego P1PK

Antygen P^k występuje powszechnie w ludzkich erytrocytach (z wyjątkiem osób o fenotypie p), natomiast antygen P₁ znajduje się tylko u części osób (około 75%). W zależności od obecności antygeny P₁ na erytrocytach mamy do czynienia z grupą krwi P₁ lub P₂ (brak antygeny P₁). Antygen NOR występuje rzadko (obecnie znane są tylko dwie rodziny) – erytrocyty, które mają na powierzchni antygen NOR, ulegają poliaglutynacji, ponieważ w surowicy większości ludzi występują naturalne przeciwciała rozpoznające glikotop Gal α -1,4-GalNAc [24]. Ponadto antygen NOR, jak dotąd, wykrywany był tylko w przypadku erytrocytów, które mają dwa pozostałe antygeny P1PK [25]. W przypadku braku antygenów P1PK na erytrocytach mamy do czynienia z fenotypem p [26]. Przyczyną powstania fenotypu p są mutacje w genie A4GALT kodującym syntazę P₁/P^k, które powodują, że enzym ten jest nieaktywny.

Tabela V – Fenotypy, genotypy i charakterystyczne dla nich antygeny w układzie grupowym P1PK [3, 4]
Table V – Phenotypes, genotypes and antigens of P1PK blood group system [3, 4]

Fenotyp	Genotyp	Antygeny
P ₁	P ¹ P ¹ lub P ¹ P ²	P ¹ , P ^k
P ₂	P ² P ²	P ^k
P ₁ NOR	P ¹ NOR P ¹ lub P ¹ NOR P ²	P ¹ , P ^k , NOR

Ponieważ glikosfingolipid P^k jest bezpośrednim prekursorem w syntezie antygeny P, erythrocyty o fenotypie p mają zawsze fenotyp GLOB:-1. Wykazano, że aktywna syntaza P u osób o fenotypie p przenosi resztę N-acetylogalaktozaminy na terminalną resztę galaktozy paraglobozydu [27] (Tab. V).

Molekularne podstawy układu grupowego P1PK

Syntaza P1/P^k jest α-1,4-galaktozylotransferazą (UDP-galaktoza: β-D-galaktozylo-β1-R 4-α-D-galaktozylotransferazą) kodowaną przez gen A4GALT, znajdujący się w chromosomie 22. Podobnie jak większość glikozylotransferaz, syntaza P1/P^k jest białkiem transmembranowym typu II, z domeną katalityczną w obrębie C-końcowego fragmentu białka, skierowaną do światła aparatu Golgiego. Znane są liczne mutacje powodujące, że syntezowany enzym jest nieaktywny. Brak aktywności syntazy P1/P^k jest przyczyną rzadkiego fenotypu p (brak determinant P^k, P₁, NOR, a także P).

Genetyczne podstawy zróżnicowania grupowego P₁/P₂ nie zostały do końca wyjaśnione. Wiadomo, że antygeny P₁ i P^k syntezowane są przez tę samą α-1,4-galaktozylotransferazę, o takiej samej sekwencji aminokwasowej. Podczas analizy regionu promotorowego powyżej miejsca startu transkrypcji genu A4GALT znaleziono dwie mutacje: -551_-550insC oraz -160A>G, których obecność była skorelowana z fenotypem P₂, jednak nie udało się doświadczalnie potwierdzić związku znalezionych mutacji z tym fenotypem [28]. Ponadto Tilley i wsp. [29] wykazali, że mutacje -551_-550insC i -160A > G występują w układzie homozygotycznym również u osób o fenotypie P₁.

Z badań Iwamury i wsp. [28] oraz Thuresson i wsp. [23] wynika, że poziom transkrypcji genu A4GALT jest wyższy u osób o fenotypie P₁ niż u osób o fenotypie P₂. Uważa się, że podwyższona ilość transkryptu w komórce może powodować zwiększoną biosyntezę enzymu, czego wynikiem może być obecność obu determinant (P^k i P₁) na powierzchni erythrocytu.

Thuresson i wsp. [23] wykazali istnienie dodatkowego transkryptu genu A4GALT, zawierającego pierwszy ekson oraz fragment pierwszego intronu, nazywany eksonem 2a. W eksonie tym znajduje się jednonukleotydowy polimorfizm C/T skorelowany ze statusem P₁/P₂: zamiana C na T u osobników o fenotypie P₂ powoduje powstanie nowego kodonu start, a tym samym nowej ramy odczytu, czego wynikiem jest powstanie fragmentu kodującego 28-aminokwasowy peptyd. Nie wyjaśniono jednak, w jaki sposób ten krótki peptyd może wpływać na obniżenie transkrypcji genu A4GALT. Autorzy sugerują, że pełni on rolę czynnika transkrypcyjnego obniżającego transkrypcję genu A4GALT [23].

Wydaje się jednak mało prawdopodobne, żeby 28-aminokwasowy peptyd wykazywał tak złożone działanie, tak więc mamy tu raczej do czynienia z procesem degradacji mRNA niosącego przedwczesny kodon zatrzymania translacji (non-sense-mediated mRNA decay). Jest to proces kontroli jakości mRNA, który powoduje zniszczenie cząsteczek mRNA zawierających przedwczesne kodony zatrzymania. Takie cząsteczki mRNA mogłyby kodować skrócone białka, szkodliwe dla komórek. Podobny mechanizm miał prawdopodobnie miejsce w przypadku α-1,3-galaktozylotransferazy, która jest nieaktywna u ludzi [30]. Zatem rola polimorfizmu 42C > T obecnego w eksonie 2a w zróżnicowaniu grupowym P₁/P₂ oczekuje jeszcze na pełne wyjaśnienie.

Antygen NOR powstaje w wyniku mutacji 631C > G w genie A4GALT, która powoduje zastąpienie reszty glutaminy w pozycji 211 łańcucha polipeptydowego syntazy P1/P^k resztą kwasu glutaminowego (podstawienie 211Gln > Glu). Zmiana ta rozszerza swoistość akceptorową enzymu, w wyniku czego ma on zdolność przyłączania reszty galaktozy zarówno do terminalnej galaktozy laktozyloceramidu lub paraglobozydu (tak jak konsensowa syntaza P1/P^k), jak i do N-acetylogalaktozaminy globozydu. Jest to pierwszy opisany przypadek zmiany swoistości akceptorowej glikozylotransferazy wskutek mutacji punktowej [31].

Antygeny układu grupowego P1PK jako receptory dla patogenów

Antygen P^k jest receptorem dla toksyn Shiga, produkowanych przez bakterie *Shigella dysenteriae* o serotypie 1 i enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli* (EHEC; *enterohaemorrhagic Escherichia coli*). Szczepy *E. coli* produkujące toksyny Shiga określane są jako STEC (*Shiga toxin-producing Escherichia coli*) lub VTEC (*Verotoxin-producing Escherichia coli*). Podobnie jak *Shigella dysenteriae* o serotypie 1 mogą one wywoływać u ludzi krwotoczne zapalenie okrężnicy oraz zespół hemolityczno-mocznicowy [32-34]. Czynnikiem wirulencji patogennych szczepów jest toksyna Shiga, która wiąże się do antygeny P^k na powierzchni komórek nabłonka jelitowego i powoduje zahamowanie syntezy białka oraz śmierć komórki. Rola antygeny P₁ w wiązaniu toksyny Shiga nie jest jednoznacznie określona.

Antygen P^k jest również koreceptorem dla ludzkiego wirusa niedoboru odporności (HIV). HIV podczas wnikania do komórki oddziałuje z glikolipidami znajdującymi się na powierzchni komórki gospodarza. Białko kapsydu wirusa gp120 wiąże się z białkiem CD4 i koreceptorem, którym jest receptor dla chemokin CCR5 lub CXCR4. Po związaniu białka CD4 przez białko kapsydu gp120 następują zmiany konformacyjne w pętli V3 umożliwiające wiązanie koreceptora. W pętli tej znajduje się również motyw wiążący glikolipidy, w tym antygen P^k [35].

Wykazano, że zwiększona synteza glikosfingolipidu P^k działa jako naturalny czynnik uodparniający komórki na zakażenie HIV. Wiąże się to ze zdolnością glikolipidu do współzawodnictwa o miejsce wiązania koreceptora chemokin w białku kapsydowym gp120, dzięki czemu zapobiega on oddziaływaniu gp120 z koreceptorem i hamuje fuzję HIV z błoną komórki gospodarza [36].

Antygen P jest komórkowym receptorem dla parwovirusa B19, który u dzieci wywołuje rumień zakaźny (zwany „piątą chorobą”), a u dorosłych zapalenie stawów [37]. Osoby o fenotypie p (które nie mają antygeny P) nie są podatne na zakażenie parwovirusem B19 [38, 39]. Rola antygeny NOR nie jest znana. Wiadomo, że antygen ten nie jest receptorem dla toksyny Shiga [40].

Podsumowanie i kierunki dalszych badań

Cukrowe antygeny grupowe krwi (m.in. ABO i P1PK) powstały w wyniku presji ze strony patogenów, takich jak np. zarodziec malarii lub przecinkowiec cholery. Presja ta spowodowała, że mutacje w genach kodujących glikozylotransferazy stały się ewolucyjnie korzystne. Mutacje te mogły wpływać na fenotyp erytrocytów poprzez modyfikację swoistości enzymów lub zmiany liczby antygenów i ich cząsteczek na powierzchni komórek. Obecnie, chociaż wiele już wiadomo na temat genetyki i biochemii cukrowych antygenów grupowych krwi, ciągle opisywane są nowe antygeny i wariantowe formy genów kodujących glikozylotransferazy. Podejmowane są również próby wyjaśnienia nierozstrzygniętych do dziś problemów, takich jak molekularne przyczyny wzmocnienia allelicznego czy genetyczne podstawy zróżnicowania w obrębie układu grupowego P1PK.

Wkład autorów/Authors' contributions

Według kolejności.

Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

Finansowanie/Financial support

Praca została przygotowana w ramach projektu grantowego nr N N302 662940 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

- [1] Varki A. Evolutionary forces shaping the Golgi glycosylation machinery: why cell surface glycans are universal to living cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3:a005462.
- [2] Kościelak J. The hypothesis on function of glycosphingolipids and ABO blood groups revisited. *Neurochem Res* 2012;37:1170-1184.
- [3] Daniels G. Human Blood Groups: Introduction. *Human Blood Groups*. Red Daniels G Wiley-Blackwell 2013;1-10.
- [4] Smolarek D, Krop-Wątołek A, Waśniowska K, Czerwiński M. Molecular background of the ABO blood group system. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2008;62:4-17.
- [5] Chester MA, Olsson ML. The ABO blood group gene: a locus of considerable genetic diversity. *Transfus Med Rev* 2001;15:177-200.
- [6] Seltam A, Blasczyk R. Missense mutations outside the catalytic domain of the ABO glycosyltransferase can cause weak blood group A and B phenotypes. *Transfusion* 2005;45:1663-1669.
- [7] Koda Y, Soejima M, Liu Y, Kimura H. Molecular basis for secretor type alpha(1,2)-fucosyltransferase gene deficiency in a Japanese population: a fusion gene generated by unequal crossover responsible for the enzyme deficiency. *Am J Hum Genet* 1996;59:343-350.
- [8] Koda Y, Soejima M, Kimura H. The polymorphisms of fucosyltransferases. *Leg Med (Tokyo)* 2001;3:2-14.
- [9] Olsson ML, Irshaid NM, Hosseini-Maaf B, et al. Genomic analysis of clinical samples with serologic ABO blood grouping discrepancies: identification of 15 novel A and B subgroup alleles. *Blood* 2001;98:1585-1593.
- [10] Patenaude SI, Seto NO, Borisova SN, et al. The structural basis for specificity in human ABO(H) blood group biosynthesis. *Nat Struct Biol* 2002;9:685-690.
- [11] Marcus SL, Polakowski R, Seto NO, et al. A single point mutation reverses the donor specificity of human blood group B-synthesizing galactosyltransferase. *J Biol Chem* 2003;278:12403-12405.
- [12] Hosseini-Maaf B, Irshaid NM, Hellberg A, et al. New and unusual O alleles at the ABO locus are implicated in unexpected blood group phenotypes. *Transfusion* 2005;45:70-78.
- [13] Olsson ML, Michalewska B, Hellberg A, et al. A clue to the basis of allelic enhancement: occurrence of the Ax subgroup in the offspring of blood group O parents. *Transfus Med* 2005;15:435-442.
- [14] Yip SP. Sequence variation at the human ABO locus. *Ann Hum Genet* 2002;66:1-27.
- [15] Anstee DJ. The relationship between blood groups and disease. *Blood* 2010;115:4635-4643.
- [16] Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK. The pathogenic basis of malaria. *Nature* 2002;415:673-679.
- [17] Cserti CM, Dzik WH. The ABO blood group system and *Plasmodium falciparum* malaria. *Blood* 2007;110:2250-2258.
- [18] Glass RI, Svennerholm AM, Khan MR, Huda S, Huq MI, Holmgren J. Seroepidemiological studies of El Tor cholera in Bangladesh: association of serum antibody levels with protection. *J Infect Dis* 1985;151:236-242.
- [19] Keusch JJ, Manzella SM, Nyame KA, et al. Cloning of Gb3 synthase, the key enzyme in globo-series glycosphingolipid synthesis, predicts a family of alpha 1, 4-glycosyltransferases conserved in plants, insects, and mammals. *J Biol Chem* 2000;275:25315-25321.
- [20] Kojima Y, Fukumoto S, Furukawa K, et al. Molecular cloning of globotriaosylceramide/CD77 synthase, a glycosyltransferase that initiates the synthesis of globo series glycosphingolipids. *J Biol Chem* 2000;275:15152-15156.
- [21] Steffensen R, Carlier K, Wiels J, et al. Cloning and expression of the histo-blood group Pk UDP-galactose: Galβ1-4Glcβ1-Cer α1,4-galactosyltransferase. Molecular genetic basis of the p phenotype. *J Biol Chem* 2000;275:16723-16729.
- [22] Okajima T, Nakamura Y, Uchikawa M, et al. Expression cloning of human globoside synthase cDNAs. Identification of beta 3Gal-T3 as UDP-N-acetylgalactosamine: globotriaosylceramide beta 1,3-N-

- acetylgalactosaminyltransferase. *J Biol Chem* 2000;275:40498-40503.
- [23] Thuresson B, Westman JS, Olsson ML. Identification of a novel A4GALT exon reveals the genetic basis of the P1/P2 histo-blood groups. *Blood* 2011;117:678-687.
- [24] Duk M, Westerlind U, Norberg T, et al. Specificity of human anti-NOR antibodies, a distinct species of "natural" anti-galactosyl antibodies. *Glycobiology* 2003;13:279-284.
- [25] Duk M, Lisowska E, Moulds JJ. Polyagglutinable NOR red blood cells found in an American family and a Polish family have the same unique glycosphingolipids. *Transfusion* 2006;46:1264-1265.
- [26] Hellberg A, Chester MA, Olsson ML. Two previously proposed P1/P2-differentiating and nine novel polymorphisms at the A4GALT (Pk) locus do not correlate with the presence of the P1 blood group antigen. *BMC Genet* 2005;6:49.
- [27] Spitalnik PF, Spitalnik SL. The P blood group system. Biochemical, serological, and clinical aspects. *Transfus Med Rev* 1995;9:110-122.
- [28] Iwamura K, Furukawa K, Uchikawa M, et al. The blood group P1 synthase gene is identical to the Gb3/CD77 synthase gene. A clue to the solution of the P1/P2/p puzzle. *J Biol Chem* 2003;278:44429-44438.
- [29] Tilley L, Green C, Daniels G. Sequence variation in the 5' untranslated region of the human A4GALT gene is associated with, but does not define, the P1 blood-group polymorphism. *Vox Sang* 2006;90:198-203.
- [30] Suchanowska A, Czerwiński M. Dlaczego u człowieka i małą wąskonosych nie ma epitopu Gala1-3 Gal, którego obecność u zwierząt jest związana z odrzucaniem ksenoprzeszczepów u ludzi? *Postepy Hig Med Dosw* 2009;63:250-257.
- [31] Suchanowska A, Kaczmarek R, Duk M, et al. A single point mutation in the gene encoding Gb3/CD77 synthase causes a rare inherited polyagglutination syndrome. *J Biol Chem* 2012;287:38220-38230.
- [32] Johannes L, Römer W. Shiga toxins - from cell biology to biomedical applications. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:105-116.
- [33] Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol* 2005;295:405-418.
- [34] Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 2005;365:1073-1086.
- [35] Lingwood CA, Binnington B, Manis A, Branch DR. Globotriaosyl ceramide receptor function - where membrane structure and pathology intersect. *FEBS Lett* 2010;584:1879-1886.
- [36] Lingwood CA, Branch DR. The role of glycosphingolipids in HIV/AIDS. *Discov Med* 2011;11:303-313.
- [37] Norja P, Lassila R, Makris M. Parvovirus transmission by blood products - a cause for concern? *Br J Haematol* 2012;159:385-393.
- [38] Brown KE, Anderson SM, Young NS. Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus. *Science* 1993;262:114-117.
- [39] Brown KE, Hibbs JR, Gallinella G, et al. Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen). *N Engl J Med* 1994;330:1192-1196.
- [40] Kaczmarek R, Duk M, Binnington B, et al. Binding of Shiga toxins to glycolipids expressed by NOR-positive cells. 38th FEBS Congress; 2013.