

El Sistema Diego:
aspectos moleculares



Locus *DI*

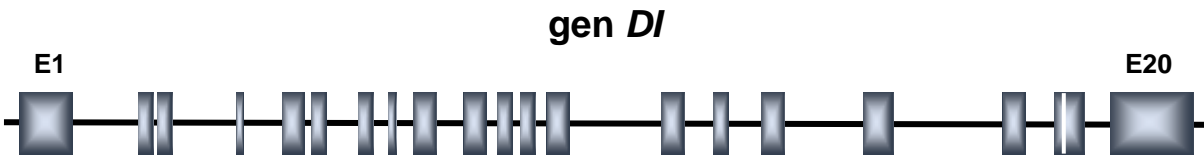
Gen: *DI* (*SLC4A1*, *AE1*, *EPB3*)

DI: Diego

SLC4A1: solute carrier family 4, anion exchanger, member 1

AE1: anion exchanger, member 1

EPB3: erythrocyte protein band 3

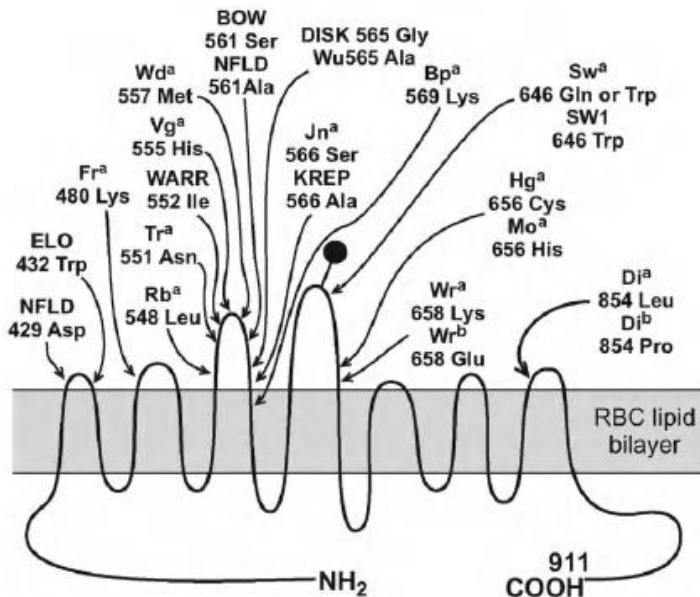


Cromosoma 17q21.31



Número de exones: 20, distribuidos en 20 Kpb de ADNg

Banda 3



Producto: Proteína Banda 3

Anion Exchanger 1 (AE1)

Anion Transport Protein

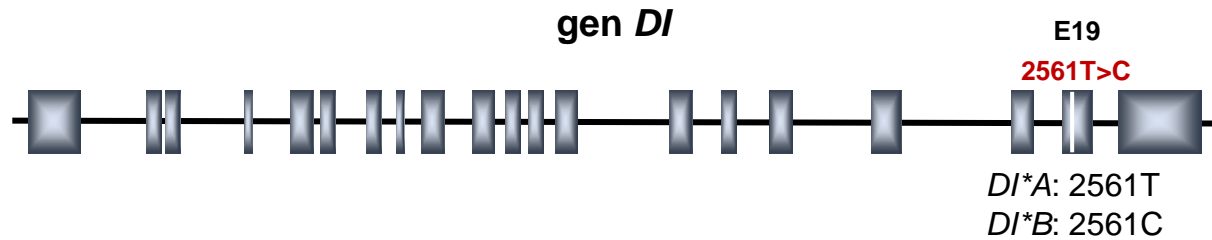
CD233

AAs: 911, -NH₂ y -COOH terminal intracitoplasmáticos

Antígenos: 23

- Los dominios transmembrana funcionan como transportador de aniones de los GRs.
- La región amino terminal es fundamental para mantener la integridad de la forma de los GRs a través de su interacción con el citoesqueleto.

- Los antígenos del Sistema Diego son causados exclusivamente por variaciones de un solo nucleótido (SNV) en el gen *DI*.



Alelo de referencia: *DI**02 ó *DI**B
*DI**B codifica: Di^b, Wr^b, DISK

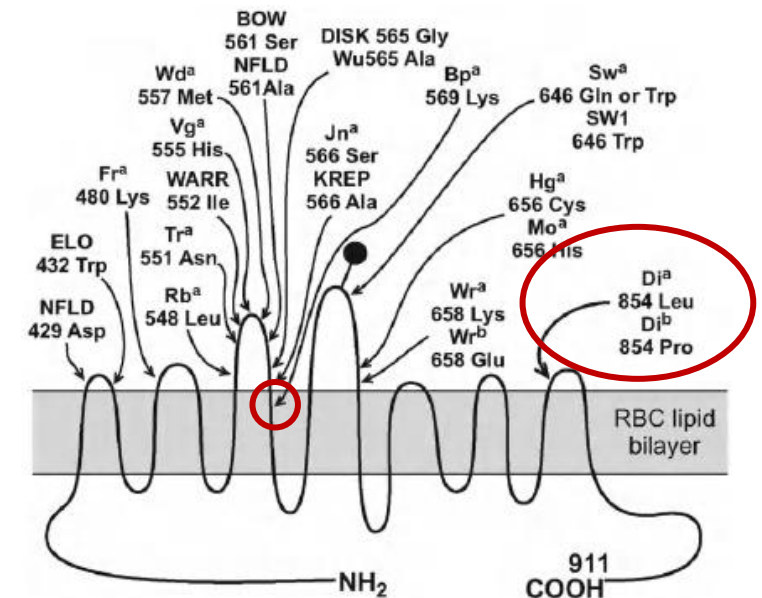
↳ Antígenos de alta frecuencia

- Todos los antígenos del sistema DI, con excepción de Bp^a, se producen a partir de sustituciones de aminoácidos extracelulares.

La sustitución aminoacídica asociada con la expresión del antígeno Bp^a está ubicada en el segmento transmembranal.

La sensibilidad a enzimas de Bp^a es sorprendente y puede indicar la interacción con otro componente sensible a enzimas en la formación del epítopo Bp^a.

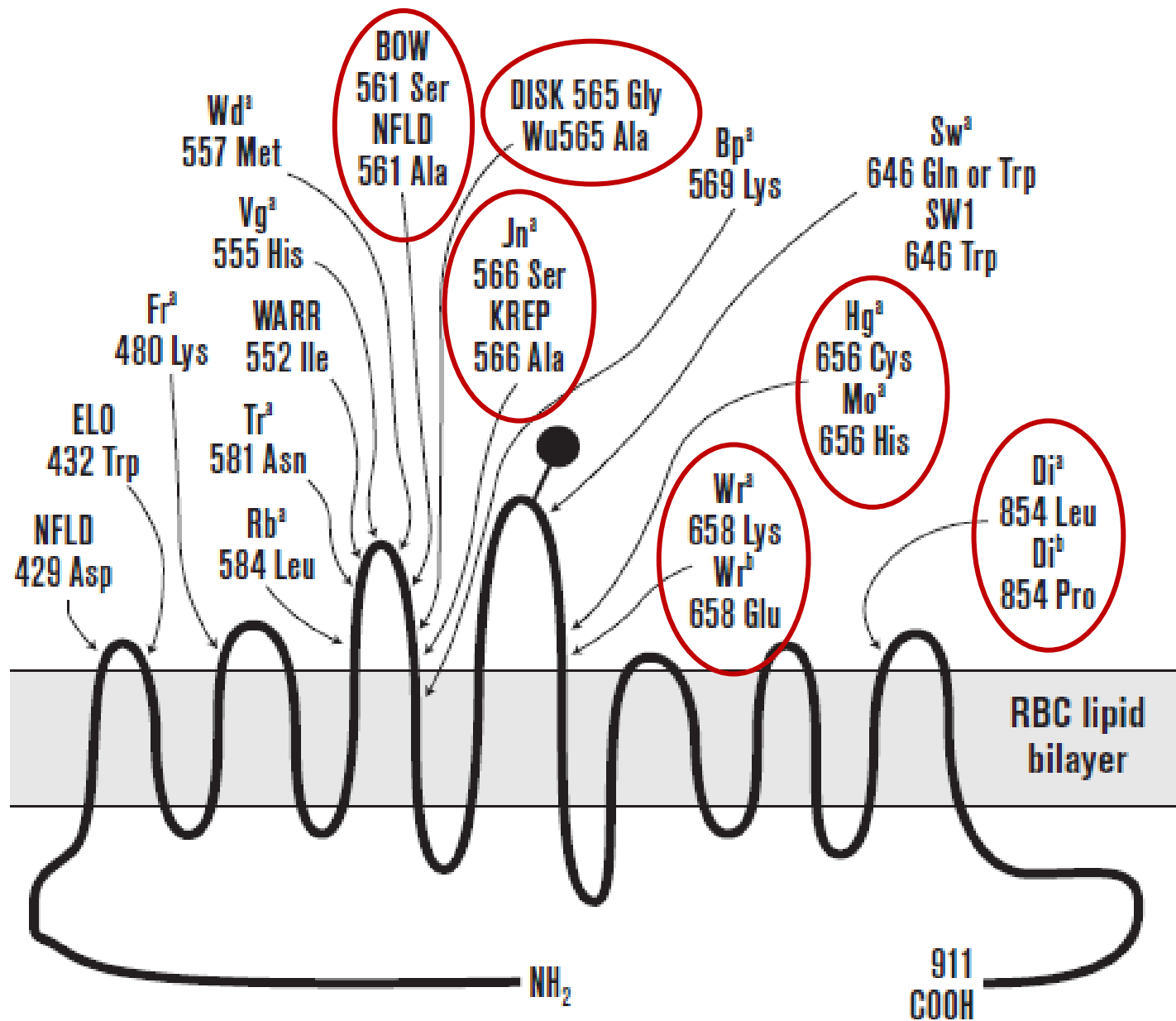
El antígeno Wr^b, aunque es un producto del gen de la banda 3, requiere un complejo de GPA y banda 3 para su expresión normal.



- Existen variantes alélicas que generan antitéticos

Fenotipo	Alelo	SNV	Exón	Cambio de AA
Di(a+b-)	<i>DI*01 or DI*A</i>	c.2561C>T	19	p.Pro854Leu
Di(a-b+)	<i>DI*02 or DI*B</i>	c.2561C	19	p.Pro854
Wr(a+b-)	<i>DI*02.03</i>	c.1972G>A	16	p.Glu658Lys
Wr(a-b+)	<i>DI*02.04</i>	c.1972G	16	p. Glu658
DI:5 or Wd(a+)	<i>DI*02.05</i>	c.1669G>A	14	p.Val557Met
DI:6 or Rb(a+)	<i>DI*02.06</i>	c.1643C>T	14	p.Pro548Leu
DI:7 or WARR+	<i>DI*02.07</i>	c.1655C>T	14	p.Thr552Ile
DI:8 or ELO+	<i>DI*02.08</i>	c.1294C>T	12	p.Arg432Trp
DI:9,-22 or Wu+, DISK-	<i>DI*02.09</i>	c.1694G>C	14	p.Gly565Ala
DI:10 or Bp(a+)	<i>DI*02.10</i>	c.1707C>A	14	p.Asn569Lys
DI:11 or Mo(a+)	<i>DI*02.11</i>	c.1967G>A	16	p.Arg656His
DI:12 or Hg(a+)	<i>DI*02.12</i>	c.1966C>T	16	p.Arg656Cys
DI:13 or Vg(a+)	<i>DI*02.13</i>	c.1663T>C	14	p.Tyr555His

Fenotipo	Alelo	SNV	Exón	Cambio de AA
DI:14 or Sw(a+)	<i>DI*02.14.01</i>	c.1937G>A	16	p.Arg646Gln
DI:14 or Sw(a+)	<i>DI*02.14.02</i>	c.1936C>T	16	p.Arg646Trp
DI:15 or BOW+	<i>DI*02.15</i>	c.1681C>T	14	p.Pro561Ser
DI:16 or NFLD+	<i>DI*02.16</i>	c.1287A>T c.1681C>G	12 14	p.Glu429Asp p.Pro561Ala
DI:17 or Jn(a+)	<i>DI*02.17</i>	c.1696C>T	14	p.Pro566Ser
DI:18 or KREP+	<i>DI*02.18</i>	c.1696C>G	14	p.Pro566Ala
DI:19 or Tr(a+)	<i>DI*02.19</i>	c.1653G>C	14	p.Lys551Asn
DI:20 or Fr(a+)	<i>DI*02.20</i>	c.1438G>A	13	p.Glu480Lys
SW1 or DI:21	<i>DI*02.21</i>	c.1936C>T	16	p.Arg646Trp
DISK or DI:22	<i>DI*02.22</i>	c.1694G	14	p.Gly565
DIST or DI:23	<i>DI*02.23</i>	c.1447G>A	13	p.Gly483Ser
Fenotipo nulo				
Di(a-b-)	<i>DI*02N.01</i>	c.1462G>A	13	p.Val488Met



Genotipificación *DI* → *DI***A* *DI***B*

PCR alelo específica

Detección de los alelos *DI***A* - *DI***B*

c.2561C>T { *DI***A* tiene T
*DI***B* tiene C

<i>DI</i> * <i>A</i>	GTACAGGACCCTTTTCTGGCTGCCAGCCTGGGGTGGTAGAGGGTGTGGGGTGTGATAG
<i>DI</i> * <i>B</i>	GTACAGGACCCTTTTCTGGCTGCCAGCCTGGGGTGGTAGAGGGTGTGGGGTGTGATAG
<i>DI</i> * <i>A</i>	GCACTGACCCAGCCTCCGCCTGCAGGTGAAGACCTGGCGCATGCACTTATTACGGGCA
<i>DI</i> * <i>B</i>	GCACTGACCCAGCCTCCGCCTGCAGGTGAAGACCTGGCGCATGCACTTATTACGGGCA
<i>DI</i> * <i>A</i>	TCCAGATCATCTGCCTGGCAGTGCTGTGGGTGGTGAAGTCCACGCTGGCCTCCCTGGCCC
<i>DI</i> * <i>B</i>	TCCAGATCATCTGCCTGGCAGTGCTGTGGGTGGTGAAGTCCACGCTGGCCTCCCTGGCCC
<i>DI</i> * <i>A</i>	TGCCCTTCGTCCTCATCCTCACTGTGCCGCTGCGGCGCGTCCTGCTGCCGCTCATCTTCA
<i>DI</i> * <i>B</i>	TGCCCTTCGTCCTCATCCTCACTGTGCCGCTGCGGCGCGTCCTGCTGCCGCTCATCTTCA
<i>DI</i> * <i>A</i>	GGAACGTGGAGCTTCAGTGTGTGAGTGGCTGCCTGGGCCTGGGGCACAAAGAGCTGGGAGC
<i>DI</i> * <i>B</i>	GGAACGTGGAGCTTCAGTGTGTGAGTGGCTGCCTGGGCCTGGGGCACAAAGAGCTGGGAGC

*DI***A*: 139 pb

*DI***B*: 128 pb

Genotipificación <i>DI</i>						
M1		M2		M3		
<i>DI</i> <i>A</i>	<i>DI</i> * <i>B</i>	<i>DI</i> * <i>A</i>	<i>DI</i> * <i>B</i>	<i>DI</i> * <i>A</i>	<i>DI</i> * <i>B</i>	
—	—	—	—	—	—	control
—	—	—	—	—	—	128 – 139 pb
Di(a-b+)		Di(a+b+)		Di(a+b-)		

Genotipificación *DI* → *DI**A *DI**B

c.2561C>T { *DI**A tiene T
*DI**B tiene C

PCR - RFLP

Enzima de restricción para diferenciar los alelos *DI**A - *DI**B

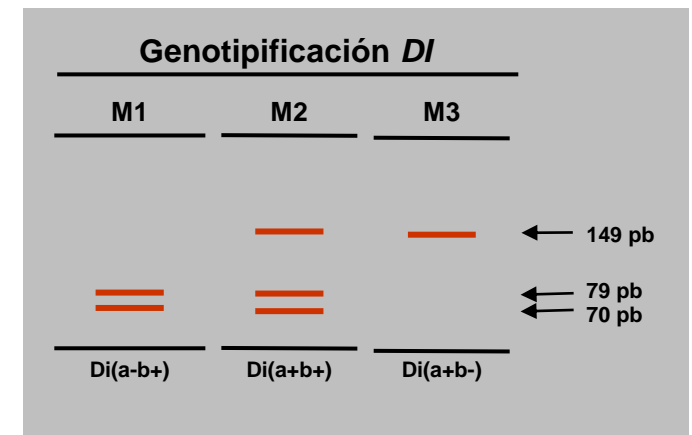
Pto PCR: 149 pb

Msp I: C'CGG presente en el alelo *DI**B

<i>DI</i> *A	GTACAGGACCCTTTTCTGGCTGCCAGCCTGGGGTGGTAGAGGGTGTGGGGTGTGATAG
<i>DI</i> *B	GTACAGGACCCTTTTCTGGCTGCCAGCCTGGGGTGGTAGAGGGTGTGGGGTGTGATAG
<i>DI</i> *A	GCACTGACCCAGCCTCCGCCTGCAGGTGAAGACCTGGCGCATGCACTTATTCACTGGCA
<i>DI</i> *B	GCACTGACCCAGCCTCCGCCTGCAGGTGAAGACCTGGCGCATGCACTTATTCACTGGCA
<i>DI</i> *A	TCCAGATCATCTGCCTGGCAGTGCTGTGGGTGGTGAAGTCCACGCTGGCCTCCCTGGCCC
<i>DI</i> *B	TCCAGATCATCTGCCTGGCAGTGCTGTGGGTGGTGAAGTCCACGCTGGCCTCCCTGGCCC
<i>DI</i> *A	TGCCCTTCGTCCTCATCCTCACTGTGCCGCTGCGGCGCGTCCTCTGCCGCTCATCTTCA
<i>DI</i> *B	TGCCCTTCGTCCTCATCCTCACTGTGCCGCTGCGGCGCGTCCTCTGCCGCTCATCTTCA
<i>DI</i> *A	GGAACGTGGAGCTTCAGTGTGTGAGTGGCTGCCTGGGCCTGGGGCACAAGAGCTGGGAGC
<i>DI</i> *B	GGAACGTGGAGCTTCAGTGTGTGAGTGGCTGCCTGGGCCTGGGGCACAAGAGCTGGGAGC

*DI**A: 149 pb

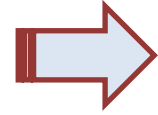
*DI**B: 79 pb + 70 pb



Genotipificación *DI*  *DI***A* *DI***B*

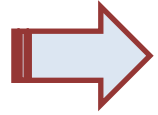
c.2561C>T (*DI***B* tiene C y *DI***A* tiene T)

PCR alelo específica



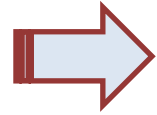
Detección de los alelos *DI***A* - *DI***B*

PCR - RFLP



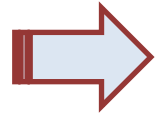
Enzima de restricción para diferenciar los alelos *DI***A* - *DI***B*

PCR en tiempo real



Detección de los alelos *DI***A* - *DI***B*

PCR – hibridización



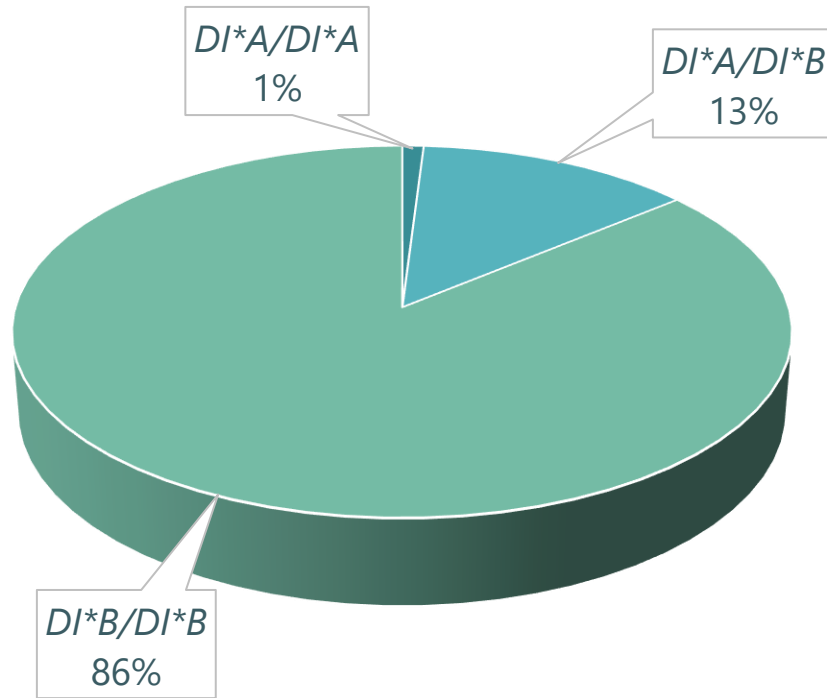
Sondas para detectar los alelos *DI***A* - *DI***B*

Microarray

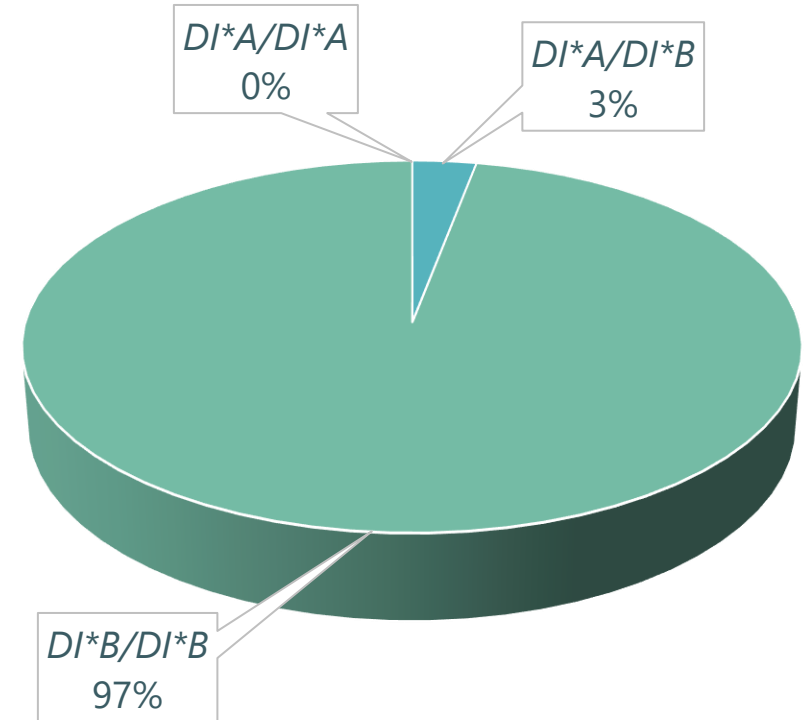
Perfil genético del sistema Diego en Rosario

Frecuencia Genotípica

➤ Población con ascendencia amerindia



➤ población de donantes de sangre



Según el test de chi cuadrado, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p = 0,007$)



Frecuencia Antigénica: Ag Di^a: 14%

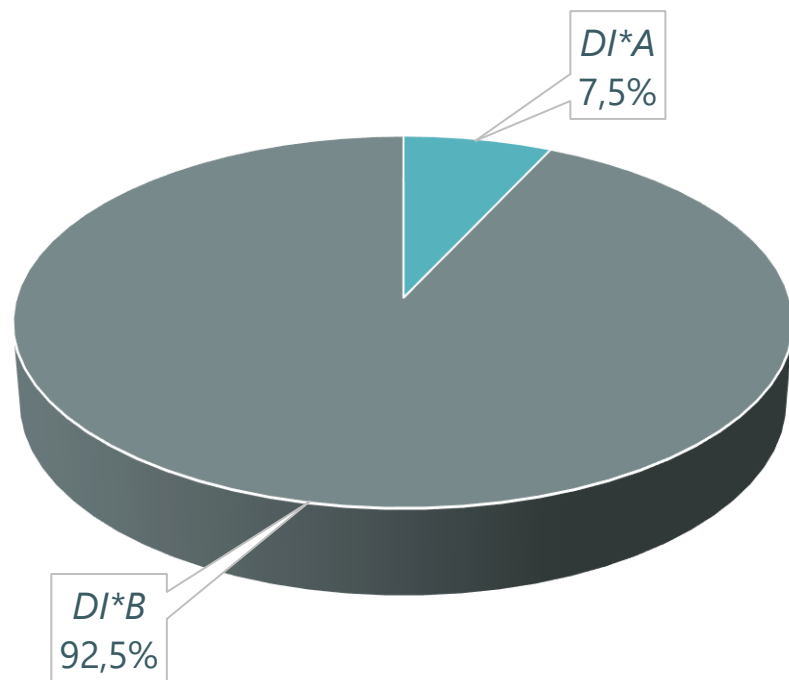


Frecuencia Antigénica: Ag Di^a: 3%

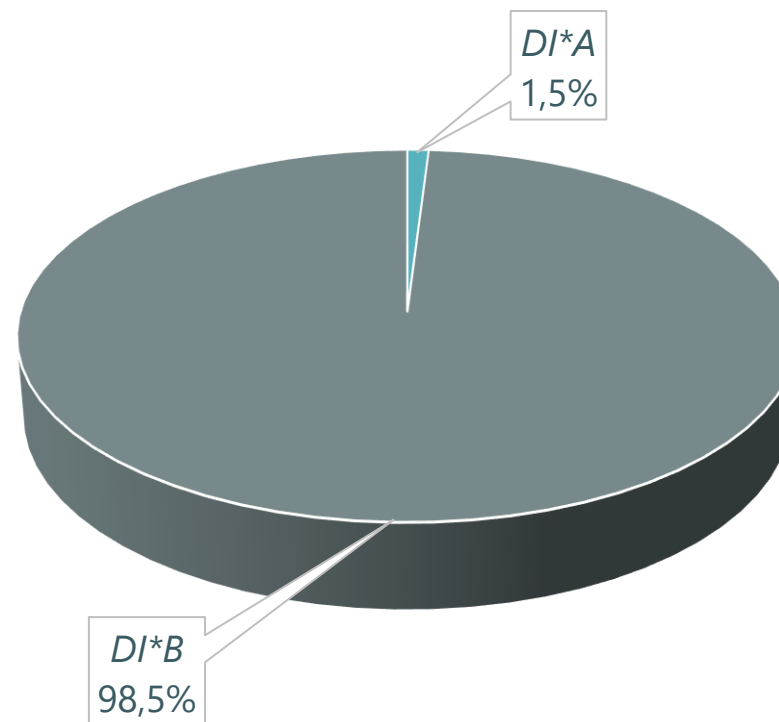
Perfil genético del sistema Diego en Rosario

Frecuencia Alélica

➤ **Población con ascendencia amerindia**



➤ **población de donantes de sangre**



Según el test de chi cuadrado, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p = 0,030$)

Los resultados obtenidos son consistentes con otros estudios realizados en nuestro laboratorio en los cuales hemos observado una gran variabilidad en las frecuencias de alelos grupos sanguíneos entre diferentes grupos poblacionales de una misma ciudad

Debido a que los anticuerpos anti-Di^a pueden causar EHFN grave, todas las gestaciones incompatibles deben ser reconocidas y monitoreadas.

Sería aconsejable la utilización de paneles selectores que presenten el antígeno Di^a para la búsqueda de anticuerpos irregulares en pacientes y gestantes.

muchas gracias