



Samenvatting proefschrift Wendy Swelsen

'Genetic polymorphism of HLA class I'

**Promotie 30 september 2005
Universiteit Maastricht**

**Promotor : Prof. dr. P.M. van den Berg-Loonen
Copromotor: Dr. C.E.M. Voorter**

De humane leukocyten antigeen (HLA) genen zijn de meest polymorfe genen die bij de mens bekend zijn. De genen zijn gelokaliseerd op de korte arm van chromosoom 6 en liggen in een gebied dat major histocompatibility complex (MHC) genoemd wordt. De functie van HLA moleculen ligt in de controle van zelfherkenning en dus verdediging tegen vreemde antigenen. De HLA moleculen presenteren antigenen aan het immuunsysteem. De presentatie van eigen peptiden zal normaal gesproken genegeerd worden door het immuunsysteem als gevolg van zelftolerantie. Echter, de presentatie van vreemde peptiden zal leiden tot de activatie van de immuuncellen. HLA typering is van klinisch belang voor orgaantransplantaties, beenmerg/stamcel transplantaties en ziekte associaties.

Het HLA complex kan worden verdeeld in drie regio's; klasse I, klasse II en klasse III. De klasse I regio bevat genen die coderen voor de zware keten van de drie grote klassieke antigenen, HLA-A, -B en -C. De klasse II genen leveren de genprodukten, HLA-DR, -DQ en -DP en de klasse III regio bevat genen met verschillende functies, zoals componenten van het complement systeem en cytokines. Het onderzoek beschreven in dit proefschrift gaat over HLA klasse I.

De HLA klasse I moleculen zijn glycoproteïnen en aanwezig op het oppervlak van alle kernhoudende cellen en bloedplaatjes. Ze bestaan uit twee polypeptide ketens, een polymorfe MHC gecodeerde zware keten met een molekulgewicht van 45 kD en een lichte keten van 12 kD. Beide ketens zijn non-covalent gebonden. De zware keten bestaat uit drie extracellulaire domeinen, $\alpha 1$, $\alpha 2$ en $\alpha 3$, een hydrofoob transmembraan gebied en een hydrofiële cytoplasmatische staart. De zeer polymorfe $\alpha 1$ en $\alpha 2$ domeinen vormen samen de groeve waaraan peptides worden gebonden.



De lichte keten is het β 2-microglobuline dat gecodeerd wordt door een gen op chromosoom 15.

De genen die coderen voor de zware keten van de HLA klasse I moleculen hebben een karakteristieke structuur waarbij de genetische informatie voor de verschillende domeinen van het eiwit gelokaliseerd is in verschillende exonen. Het HLA-A en -C gen bevat 8 exonen en het HLA-B gen zeven. Exon 1 codeert voor het leiderpeptide en de exonen 2, 3 en 4 voor de extracellulaire α 1, α 2 en α 3 domeinen. De genetische informatie voor het transmembraan domein is gelokaliseerd in exon 5 en voor de cytoplasmatische staart in exonen 6, 7 en/of 8.

Het extreme polymorfisme van HLA genen wordt geïllustreerd door het grote aantal allelen dat bekend is voor de verschillende loci. Afgelopen jaren is het aantal allelen enorm gegroeid en in de toekomst zal dit blijven gebeuren. HLA-B is het meest polymorfe locus met 626 verschillende allelen. Voor HLA-A zijn er 349 en voor HLA-C 182 allelen bekend. Een belangrijk gevolg van het polymorfisme van HLA moleculen is dat het individuen een diversiteit in antigen presentatie verschaft wat noodzakelijk is voor populatieoverleving. Nieuwe allelen kunnen ontstaan door nieuwe polymorfismen of door het herschikken van bestaande polymorfismen. Genetische mechanismen kunnen zijn, puntmutaties, deleties, duplicaties, recombinaties en conversies. Sommige polymorfe varianten hebben invloed op de HLA expressie. HLA allelen die niet op het oppervlak tot expressie komen worden nul-allelen genoemd.

Er bestaan verschillende technieken om het HLA polymorfisme te detecteren. In het verleden werden vooral serologische methoden gebruikt. De introductie van DNA amplificatie technieken heeft geleid tot HLA typering op genetisch niveau. De drie moleculaire technieken die het meest gebruikt worden zijn, PCR-SSP (sequentie specifieke primers), PCR-SSOP (sequentie specifieke oligonucleotide probes) en PCR-SBT (sequentie gebaseerd typeren). Het typeren van HLA allelen door middel van sequentie analyse is de meest gedetailleerde methode. Verder kunnen nieuwe polymorfisme direct worden geïdentificeerd. Tijdens de promotieperiode werden SBT strategieën voor HLA-A en HLA-B ontwikkeld en geïmplementeerd in de HLA diagnostiek.

Het polymorfisme van HLA klasse I genen is voornamelijk gelokaliseerd in exonen 2 en 3 welke coderen voor de peptide bindingsgroeve van de HLA moleculen. Echter, steeds meer polymorfismen worden gedetecteerd in de coderende regio's buiten exonen 2 en 3 en in de niet-coderende regio's. In het proefschrift is de mate van polymorfisme bepaald van HLA klasse I genen voor de coderende regio's, exonen 1 tot en met 5 en de niet-coderende regio's, de intronen.

De studieresultaten laten zien dat polymorfisme aanwezig is in exonen 2 en 3, maar ook buiten deze regio's zowel in de coderende als niet-coderende regio's. Gevonden werden puntmutaties en allel- en genconversies. Daarnaast werden in de niet-coderende regio's ook nog inserties en deleties gezien. De werkelijke grootte en functionele rol van polymorfisme buiten de peptide bindingsgroeve zal nog verder onderzocht moeten worden. Echter, het is duidelijk dat de HLA klasse I genen een uitgebreid polymorfisme vertonen en dat het aantal polymorfe posities in de toekomst verder zal toenemen.