

## **Genotypning av HLA-B27**

HLA-B27 är ett transplantationsantigen tillhörande MHC class I som återfinns på cellytan på de flesta humana celler. Individer som är positiva för HLA-B27 på sina celler har en ökad risk för att utveckla en rad sjukdomar, däribland Mb Bechterew (ankylosis spondylitis), Reiters syndrom, psoriasisartrit, reaktiv artrit och inflammatorisk tarmsjukdom. Analysen av HLA-B27 är ett viktigt hjälpmedel vid diagnosen av dessa sjukdomar.

HLA-B27 analyseras idag inom Klinisk kemi med en flödescytometrisk metod på EDTA-blod baserad på monoklonala antikroppar som identifierar celler som uttrycker HLA-B27 på sin yta. Screeningmetoden har mycket hög känslighet men inte så hög specificitet. Man konfirmerar de positiva cellerna med ytterligare en analys baserad på samma teknik. Ny teknik inom molekylärbiologi baserad på genotypning av den humana arvsmassan som finns i cellerna, har visats kunna vara ett komplement eller helt ersätta denna antikroppsbaseade metod för identifiering av HLA-B27 positivitet.

Genotypning av HLA-B27 ger snabba och säkrare, mer specifika, svar eftersom de baseras på förekomsten av en viss allel i arvsmassan istället för fenotypisk bedömning av cellernas yta. Vid flödescytometrisk metod är transporten av proverna viktig för att cellernas antigen ska vara intakta. Vid analys av arvsmassan är transporten inte lika viktig då DNA finns kvar i tillräcklig mängd i de vita blodkropparna flera veckor efter provtagning. Provtypen, EDTA-helblod, för den nya analysen är samma som för nuvarande HLA-B27 metod.

En molekylärbiologisk metod baserad på Realtids-PCR med fluorescerande prober ska startas upp på Klinisk molekylärbiologi under våren. Metoden innebär en PCR-reaktion för en allelspecifik gen för HLA-B27 samt en PCR-reaktion för internkontroll tex B-globin genen. Metoden kommer att besvaras som HLA-B27 positiv/påvisad eller HLA- B27 negativ/ej påvisad. Få prover kommer teoretiskt att vara icke-bedömbare med denna metod.

Arbetet kommer att utföras av en examensarbetare under våren 2008. I arbetet ingår litteratursökning, optimering av DNA-extraktion och Realtids-PCR, validering av den nya metoden samt jämförelser av den nya metoden mot den befintliga metoden för HLA-B27 som analyseras med flödescytometri. I arbetet ingår även att sammanfatta metoden i både skriftlig och muntlig form på Högskolan. En redovisning för personalen på Capio ingår också i arbetet. Därefter sker en uppstart av metoden på Klinisk molekylärbiologi. Analys av patientprover med den nya analysen för HLA-B27 planeras till 1 september 2008. Studenten kommer att handledas av en molekylärbiolog och en läkare inom klinisk kemi. En BMA på klinisk molekylärbiologi ser till att den nya metoden är anpassad för kliniska prover innan den tas i bruk.

### **Referenser**

Sylvain et al. Rapid screening for HLA-B27 by a TaqMan-PCR assay using sequence-specific primers and a minor groove binder probe, a novel type of TaqMan probe.

Journal of Immunological methods 2004;287:179-186.

Behrens M and Lange R. A highly economically competitive SNP analysis of several well characterized human mutations.

Clinical Laboratory 2004;50:305-316.

Ebringer A and Rashid T. "B27 disease" is a new autoimmune disease that affects millions of people. Annals of the New York Academy of Sciences

2007;1110:112-120.