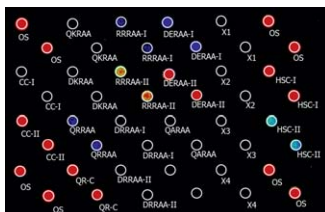




## EUROArray HLA-DRB1 Shared Epitope



- Nachweis aller bekannten „Shared Epitope“-Allele in nur einer PCR-Reaktion\*
- Unterscheidung zwischen homozygoten und heterozygoten Merkmalsträgern
- Hohe Ergebnissicherheit durch integrierte Kontrollen

### Technische Daten

<b>Substrat</b>	Einzelsträngige DNA-Sonden, Länge: 20 bis 44 Nukleotide
<b>Testablauf</b>	PCR (ca. 80 min) / Hybridisierung (60 min, 50°C) / vollautomatische Auswertung Gesamt-Arbeitszeit ca. 2 min je Probe (bei 40 Proben pro Lauf)
<b>Reagenzien</b>	Gebrauchsfertig
<b>Kontrollen</b>	DNA-Negativkontrolle und weitere integrierte Kontrollen
<b>Packungsformat</b>	5, 10 oder 20 Objektträger mit jeweils 5 Testfeldern oder 8 Objektträger mit jeweils 3 Testfeldern
<b>Bestell-Nr.</b>	<b>MN 5150-0505, -1005, -2005, -0803</b>

### Testprinzip

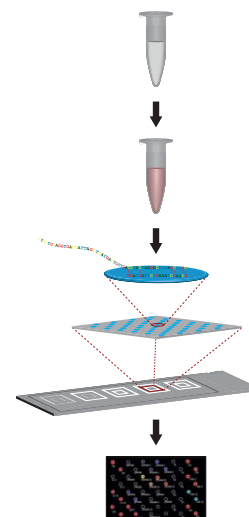
Das vorliegende Testsystem dient zur molekulargenetischen Bestimmung krankheitsassoziierter „Shared Epitope“-Allele, in humaner DNA. Im ersten Analyseschritt erfolgt die Vervielfältigung eines Abschnitts des HLA-DRB1-Gens mittels Polymerasekettenreaktion (PCR). Die PCR-Produkte werden bei ihrer Entstehung mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert. Im zweiten Schritt werden die entstandenen Produkte mit einem Microarray analysiert, auf dem zur vervielfältigten DNA komplementäre Sonden immobilisiert sind. Die spezifische Bindung (Hybridisierung) des fluoreszierenden PCR-Produkts am korrespondierenden Microarray-Spot wird mit dem EUROArray-Scanner detektiert. Fluoreszenzsignale an den unterschiedlichen HLA-DRB1-spezifischen Spots zeigen an, ob die DNA-Probe Allele enthält, die ein sogenanntes „Shared Epitope“ kodieren. Die EUROArrayScan-Software wertet alle Spot-Signale automatisch aus und leitet daraus das Testergebnis ab.

DNA-Probe

PCR (Polymerasekettenreaktion)

DNA-Microarray-Hybridisierung

Vollautomatische Auswertung



### Testdurchführung

Die PCR-Ansätze werden im Thermocycler und anschließend auf EUROArray-Objektträgern mit Microarray-BIOCHIPs unter Anwendung der TITERPLANE-Technik inkubiert. Die Hybridisierungstemperatur liegt bei dem EUROArray HLA-DRB1 Shared Epitope bei 50°C. Das Scannen und Auswerten erfolgt mit dem EUROArray-Scanner (Scanner inkl. EUROArrayScan-Software). Dies ermöglicht eine vollautomatische Auswertung der EUROArray-Analysen und eine detaillierte Dokumentation der Ergebnisse.

\* Nur für Forschungszwecke, nicht zur In-vitro-Diagnostik im Sinne der EU-Richtlinie 98/79/EG



## „Shared Epitope“ in der Forschung

Der wichtigste genetische Risikofaktor für die Entstehung der rheumatoiden Arthritis (RA) ist das sogenannte „Shared Epitope“ (SE). Dies ist eine charakteristische Peptidsequenz an Position 70–74 in der  $\beta$ 1-Kette des humanen Leukozytenantigens DR (HLA-DR), bei dem es sich um ein Klasse II-Antigen des Haupthistokompatibilitätskomplexes (Major Histocompatibility Complex, MHC) handelt. Das zugehörige Gen HLA-DRB1 liegt auf Chromosom 6. Neben der genetischen Risikoabschätzung für das Vorliegen bzw. Auftreten einer RA stellt das SE auch einen prognostischen Marker für den zu erwartenden Krankheitsverlauf der RA dar. Das Vorhandensein eines SE wird durch die Aminosäuresequenz RAA an den Positionen 72-74 in der  $\beta$ 1-Kette von HLA-DR definiert. Die SE-Sequenzen QKRAA, QRRAA, RRRRAA und DKRAA sind mit einem hohen Risiko für das Auftreten der RA sowie einem schweren Verlauf der Erkrankung assoziiert (high-risk-Allele). Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer RA steigt dabei mit der Gendosis. So ist bei Patienten, die auf beiden Chromosomen ein High-Risk-Allel tragen, das Risiko für eine RA etwa 8-fach erhöht, während es bei heterozygoten Trägern nur etwa 2,5-fach ansteigt. Der Gendosis-Effekt gilt auch für die Prognose – Patienten, die zwei High-Risk-Allele tragen, haben eine schlechtere Prognose als Patienten mit nur einem High-Risk-Allel. Bei DRRRAA, QARAA und DERAA handelt es sich hingegen um Peptidsequenzen, die mit einem geringen RA-Risiko in Verbindung gebracht oder sogar als protektiv beschrieben werden. Die protektive Wirkung ist jedoch nicht endgültig geklärt.

Die RA ist eine der häufigsten Autoimmunerkrankungen und gleichzeitig die häufigste chronisch entzündliche Gelenkerkrankung. Sie betrifft ca. 1% der Weltbevölkerung, ca. 75% davon das weibliche Geschlecht. Charakteristisch ist eine Entzündung der Gelenkinnenhaut, die sich symmetrisch von den kleinen zu den größeren Gelenken hin ausbreitet und im Spätstadium zu irreversiblen Gelenkschäden führt. Zu den ersten Symptomen gehört eine schmerzhafte Schwellung der Fingergrundgelenke mit morgendlicher Gelenksteife. Je nach Schweregrad können extraartikuläre Manifestationen mit Befall der Haut, der Gefäße und der inneren Organe hinzukommen. Die RA führt somit – unzureichend behandelt – im Langzeitverlauf in der Regel zu einer signifikanten Verminderung der Lebensqualität. Die Morbidität und die Mortalität steigen an.

Mit dem EUROArray HLA-DRB1 Shared Epitope können alle relevanten SE-Peptidsequenzen (QKRAA, DKRAA, QRRRAA, RRRRAA, DRRRAA, QARAA, DERAA) unterschieden und gemeinsam mit den relevanten „nicht-SE“-Allelen nachgewiesen werden. So ist bezüglich des SE die Unterscheidung zwischen homozygoten und heterozygoten Merkmalsträgern möglich.

## Literatur

1. Carrier N, et al. **The DERAA HLA-DR alleles in patients with early polyarthritis: protection against severe disease and lack of association with rheumatoid arthritis Autoantibodies.** Arthritis Rheum 60 (2009) 698-707.
2. du Montcel ST, et al. **New classification of HLA-DRB1 alleles supports the shared epitope hypothesis of rheumatoid arthritis susceptibility.** Arthritis Rheum 52 (2005) 1063-1068.
3. Gourraud PA, et al. **A new classification of HLA-DRB1 alleles differentiates predisposing and protective alleles for autoantibody production in rheumatoid arthritis.** Arthritis Res Ther 9 (2007) R27 1-8.
4. Khani-Hanjani A, et al. **Expression of QK/QR/RRRAA or DERAA motifs at the third hypervariable region of HLA-DRB1 and disease severity in rheumatoid arthritis.** J Rheumatol 29 (2002) 1358-1365.