

Her Yerde Karşımda; Nedir Bu HLA Tiplendirmisi?

Dr. Klara DALVA

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbni Sina Hastanesi, Hematoloji Bilim Dalı Laboratuvarı

Genel bilgiler, terimler

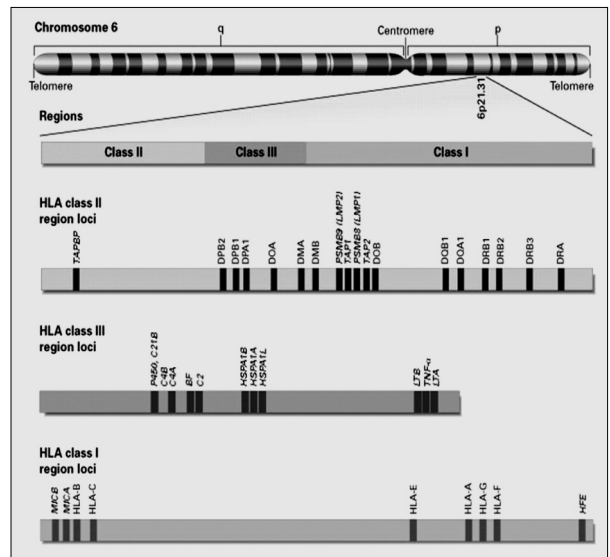
Doku uyumu çalışmaları, Büyük Doku Uyumu Antijenleri (MHC) ile ilgili uygulanan tüm testleri kapsamaktadır. Bu çalışmalar arasında HLA tiplendirmisi, HLA antijenlerine karşı gelişmiş (antiHLA) antikorların tesbiti, “cross-match” çalışmaları, hücresel testler sayılabilir. Burada hedeflenen ise HLA ve HLA tiplendirmisi ile ilgili özet bilgilerin sunulmasıdır.

Yaşamın sürmesi için, yabancı antijenlerin bağışıklık sistemi tarafından tanınması ve bunlara karşı bir savunma mekanizmasının geliştirilmesi gerekir. Bu mekanizma, pek çok mikro organizmadan korunmak için yararlı olsa da farklı bir bireyden yapılan organ/doku nakillerinde veya kişi kendi antijenlerine karşı tepki oluşturduğunda aynı yarardan söz etmek mümkün olmayabilir.

Bağışıklık sisteminin kendinden olanı ve olmayanı tanıması için gerekli olan “doku antijenleri” ni kodlayan gen bölgesi, Büyük Doku uyum Kompleksi, MHC olarak adlandırılır. İlk olarak kemirgenlerde tanımlanan bu bölgenin insandaki karşılığı, 6. kromozomun kısa kolunda yerleşmiş olup; ilk olarak beyaz kan hücrelerinde gösterilen bu genler, “Human Leukocyte Antigens”, HLA bölgesi olarak da adlandırılır. Çok sayıda genin yer aldığı yaklaşık 4000 kilobaz(kb) büyüklüğündeki bu bölgede immün yanıtla ilgisi tanımlanamamış bazı genler de yer alır.

MHC, kodlanan proteinlerin özelliklerine göre *Sınıf I*, *II*, *III* olarak alt bölgelere ayrılır. *Sınıf I* bölgesi, MHC nin telomerik ucunda yer alır. HLA -A,-B,-C olarak da tanınan klasik transplantasyon

antijenlerini ve HLA -E, F,G gibi klasik olmayan Sınıf I antijenleri kodlayan gen **lokuslarını**, HLA-H, J, K, L, X gibi **psödogenleri** ve gen segmentlerini içerir. *Sınıf II* bölgesi ise **sentromere** yakın yerleşmiş olup; HLA -DRA, -DRB, -DQA, -DQB, -DPA, -DPB, -DNA, -DMA, -DOB lokusları yanı sıra çeşitli psödogenler, **LMP1, LMP2, TAP1, TAP2** gibi antijen işlenmesinde rol alan genler bu bölgede yer alır. HLA DRB ile HLA B bölgeleri arasında *Sınıf III* genleri bulunur, C4B, C4A, Bleferidin, C2, HSP-70, TNF-a, TNF-b bu bölgede kodlanan bazı genlerin ürünüdür (Şekil 1, tablo1). *Adı geçen lokusların bir kısmı*, çok sayıda polimorfik *alelin* kodlanmasından sorumludur ki *HLA Tiplendirmisi* ile amaçlanan da bu alellerin ve kodladıkları antijenlerin belirlenmesidir.



Şekil 1. HLA gen bölgesinin 6. kromozom üzerindeki yerleşimi ve Sınıf I, II, III bölgeleri

Tablo1. HLA bölgesindeki genlerin adları

<i>Adı</i>	<i>Eski Adı</i>	<i>Moleküler Özellikler</i>
HLA-A	-	Class I α -zinciri
HLA-B	-	Class I α -zinciri
HLA-C	-	Class I α -zinciri
HLA-E	E, '6.2'	Class I gen
HLA-F	F, '5.4'	Class I gen
HLA-G	G, '6.0'	Class I gene
HLA-H	H, AR, '12.4'	Class I psödogen
HLA-J	cda12	Class I psödogen
HLA-K	HLA-70	Class I psödogen
HLA-L	HLA-92	Class I psödogen
HLA-N	HLA-30	Class I gen
HLA-S	HLA-17	Class I gen
HLA-X	HLA-X	Class I gen fragmanı
HLA-Z	HLA-Z1	HLA Class II bölgesi içinde Class I gen fragmanı
HLA-DRA	DR α	DR α - zinciri
HLA-DRB1	DR β I, DR1B	DR1, DR2, DR3, DR4, DR5 gibi özellikleri belirleyen DR β 1-zinciri
HLA-DRB2	DR β II	DR β -benzeri sekanslar taşıyan bir psödogen
HLA-DRB3	DR β III, DR3B	DR52 and Dw24, Dw25, Dw26 yı belirleyen DR β 3 zinciri
HLA-DRB4	DR β IV, DR4B	DR53 ü belirleyen DR β 4-zinciri
HLA-DRB5	DR β III	DR51 i belirleyen DR β 5-zinciri
HLA-DRB6	DRBX, DRB σ	DR1, DR2 ve DR10 haplotiplerinde bulunan DRB psodogeni.
HLA-DRB7	DRB ψ 1	DR4, DR7 ve DR9 haplotiplerinde bulunan DRB psodogeni
HLA-DRB8	DRB ψ 2	DR4, DR7 ve DR9 haplotiplerinde bulunan DRB psodogeni.
HLA-DRB9	M4.2 β exon	DRB psödogeni
HLA-DQA1	DQ α 1, DQ1A	DQ α - zinciri, eksprese edilir
HLA-DQB1	DQ β 1, DQ1B	DQ β - zinciri, eksprese edilir
HLA-DQA2	DX α , DQ2A	DQ α - zincirle ilişkili dizi, ekspresyon?
HLA-DQB2	DX β , DQ2B	DQ β - zincirle ilişkili dizi, ekspresyon?
HLA-DQB3	DV β , DQB3	DQ β - zincirle ilişkili dizi, ekspresyon?
HLA-DOA	DZ α , DO α , DNA	DO α - zinciri
HLA-DOB	DO β	DO β - zinciri
HLA-DMA	RING6	DM α - zinciri
HLA-DMB	RING7	DM β - zinciri
HLA-DPA1	DP α 1, DP1A	DP α - zinciri, eksprese edilir
HLA-DPB1	DP β 1, DP1B	DP β - zinciri, eksprese edilir
HLA-DPA2	DP α 2, DP2A	DP α - zincirle ilişkili psödogen
HLA-DPB2	DP β 2, DP2B	DP β - zincirle ilişkili psödogen
HLA-DPA3	DPA3	DP α - zincirle ilişkili psödogen
TAP1	ABCB2, RING4, Y3, PSF1	ABC (ATP Binding Cassette) transporter
TAP2	ABCB3, RING11, Y1, PSF2	ABC (ATP Binding Cassette) transporter
PSMB9	LMP2, RING12	Proteosomla ilişkili dizi
PSMB8	LMP7, RING10	Proteosomla ilişkili dizi
MICA	MICA, PERB11.1	Class I zincirle ilişkili gen
MICB	MICB, PERB11.2	Class I zincirle ilişkili gen
MICC	MICC, PERB11.3	Class I zincirle ilişkili psödogen
MICD	MICD, PERB11.4	Class I zincirle ilişkili psödogen
MICE	MICE, PERB11.5	Class I zincirle ilişkili psödogen

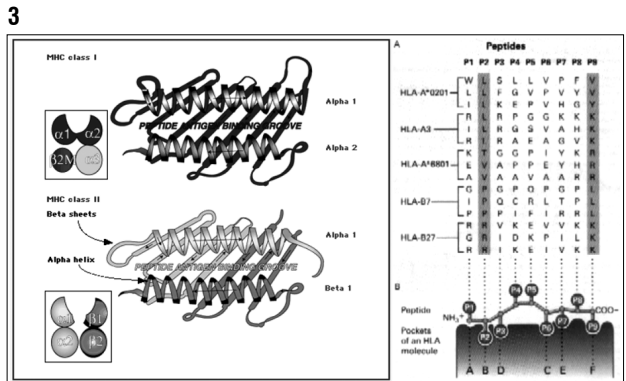
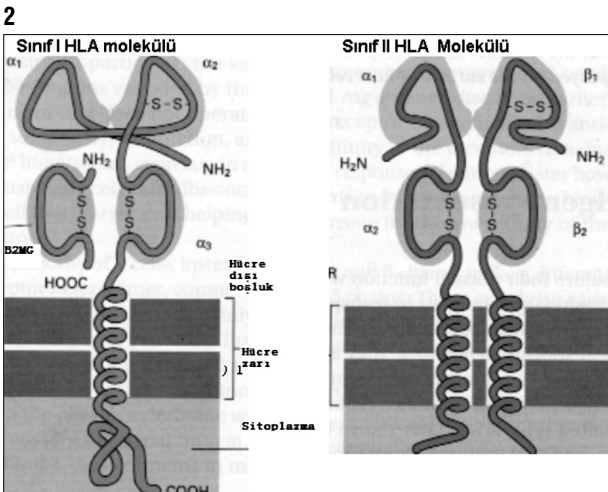
Sınıf I ve Sınıf II molekül ve genlerin yapısı

HLA Sınıf I moleküller, kovalan olmayan bağlarla bir arada tutulan, iki polipeptid zincirinden oluşmuş heterodimerlerdir. Bunlardan ağır olan alfa zinciri MHC bölgesinde kodlanır, hücre membranı boyunca ilerleyen bu molekülün amino ucu membranın dışında yer alır. Membran dışındaki alfa zinciri, *a1*, *a2* ve *a3* "domain"lerden oluşur. Zincirin membranı geçen kısmını takiben sitoplazmik kısa bir uzantısı vardır. Molekülde bulunan hafif zincir ise *Beta 2 mikroglobulin(b2m)* olup, MHC dışında, 15. kromozomda kodlanır. Molekülün üç boyutlu yapısına bakıldığında membran dışında birbirine benzerlik (homoloji) gösteren bölgelerin karşılıklı gelmesi ile iki çift domain olduğu görülür *a1* ve *a2* membran distalinde, *a3* ve *b2m* de membran proksimalinde karşılıklı yer alır(Şekil 2). Karşılıklı yerleşen *a1* ve *a2* zincirleri antijenlere ait 8-10 amino asit büyüklüğünde peptidlerin yerleşebileceği kovuğa benzer bir yapı oluştururlar (Şekil 3). *Beta 2 mikroglobulin* molekülün üç boyutlu yapısının korunmasında rol almaktadır. Sınıf I molekül genleri, kodlama yapan 8 exon ve kodlama yapmayan 7 introndan oluşur. Polimorfik bir yapı gösteren *a1* ve *a2* bölgeleri, ekson 2-3 tarafından kodlanır. Altıncı Kromozom üzerinde Sınıf I molekülleri kodlayan genlerden önce Sınıf I genleri düzenleyen genlerin kodlandığı bir bölge yer almaktadır. Bu kontrol bölgesi, farklı Sınıf I genleri, hatta farklı aleller için bile farklı olabilir.

HLA Sınıf II moleküller, kovalan olmayan bağlarla bir arada tutulan *alfa* ve *beta* olmak üzere iki adet transmembran glikoprotein zincirinden

oluşan heterodimerlerdir. Her iki zincirin de hücre zarı dışında sırasıyla *a1*, *a2* ve *b1*, *b2* olmak üzere 2 domainleri bulunur(Şekil 2). Membranın distalinde yerleşen ve *polimorfik* bir yapı gösteren *a1* ve *b1* zincirleri Sınıf I moleküllerde olduğu gibi antijenlere ait peptidlerin yerleşebileceği kovuğa benzer bir yapı oluştururlar. Buraya yerleşenler, hücre dışından kaynaklanan(eksojen), daha büyük peptidlerdir. Alfa2 ve Beta 2 bölgeleri, Sınıf I moleküllerdeki gibi Ig benzeri yapılar oluştururlar. Alfa zinciri A, beta zinciri ise B genleri tarafından kodlanır. Bu nedenle Sınıf II bölgesinde yer alan DR, DQ ve DP bölgeleri sırasıyla DRA ve DRB, DQA ve DQB, DPA ve DPB olarak ikiye ayrılırlar. DR bölgesinde alfa zinciri kodlayan tek gen varken, beta zinciri için 9 farklı bölge vardır. Bunların bir kısmı kodlama yapmayan genler olup; sadece DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 kodlayıcı genlerdir ve farklı beta zincirlerini kodlarlar. DRB1, 1-18 arasında değişen büyük HLA DR antijenleri için kodlama yaparken; DRB3, DRB4, DRB5, DRB1 antijenlerine bağlı olarak eksprese edilen sırasıyla DR53, DR54, DR51 antijenleri için kodlama yaparlar. HLA DQ ve DP bölgelerinde DR dekinden daha az sayıda alt bölge bulunur. DR bölgesinden farklı olarak DQ ve DP bölgelerinde a genleri de çeşitlilik gösterir. DRB genlerinin ancak %6 sı kodlama yapar. Kodlama yapan 6 eksondan ekson 2, polimorfik olan *b1* domainini, ekson 3 ise *b2* domainini kodlar.

Tek bir kromozomda yer alan ve birbirine yakın lokuslarda bulunan alel kompleksleri bir **Haplotip** olarak adlandırılır. HLA Haplotipleri Sınıf I, II, III alellerinden oluşur. Bir bireyde bulunan 2 haplotip,



Şekil 2. Sınıf I ve Sınıf II HLA moleküllerinin şematik görüntüsü

Şekil 3. Sınıf I ve Sınıf II HLA moleküllerinde peptidin taşıdığı yapının şematik görünümü

o bireyin **HLA genotipini** oluşturur. Haplotipler, Mendel kurallarına uygun olarak kalıtılır. Her hücrede anne ve baba kökenli kromozomlar (Homolog) üzerindeki genler tarafından kodlanan proteinler birlikte eksprese edilirler. Homolog kromozomlar arasında bir segment değişiminin olması ise *rekombinasyon* olarak tanımlanır; görülme sıklığı %1-3 olup; en sık HLA-A, HLA-DP bölgelerinde görülür. Her bölgede yer alan alellerin sayısı göz önüne alındığında: toplumlar beklenen teorik değerden daha az sayıda haplotip bulunduğu görülür. Bu durum, bazı alellerin birlikteliğinin rasgele olmadığını desteklemektedir. Bu durum "*Linkage Disequilibrium*" olarak bilinir, bazı haplotiplerin korunma çabası ile açıklanmaktadır. Bu eğilim, en çok B-Cw, DRB1-DRB3/4/5, DRB1-DQB1 arasında olmak üzere HLA-B ile HLA-DQB arasındaki bölge boyunca görülmektedir. Arada yerleşmiş olan kompleman genlerini de kapsayan bazı haplotipler "genişletilmiş haplotipler" olarak adlandırılır. Hastalık ilişkisi çalışmalarında genişletilmiş haplotipler ile kurulan ilişkiler, alelik farklarla kurulan ilişkilere göre daha anlamlı bulunmaktadır. Haplotiplerin frekansında etnik farklılıkların önemi büyüktür.

HLA genlerinin çeşitliliği

HLA genlerinde benzersiz bir genetik çeşitliliğin bulunduğu bilinmektedir. Bir kişinin sergilediği MHC genlerini etkileyen pek çok faktör vardır.

1. Çok sayıda farklı lokusun birlikte sergilendiği görülür; bunların sayısı haplotiplere göre farklılık gösterir. Sınıf I genlerde bu polimorfizmi çok sayıdaki psödogen ve fizyolojik rolleri henüz bilinmeyen klasik olmayan genler sağlar (Klasik olarak adlandırılanlar, HLA -A,B,C gibi antijen sunumunda rol alan genlerdir). Sınıf II genlerde ise DR alt bölgesindeki genlerin yapısı ve psödogenler etkili olur.
2. HLA genleri içinde farklı alellerin oluşmasına sebep olacak şekilde dizi farklılıkları vardır. Bu çeşitlilik, özellikle antijen sunulması sırasında T hücre reseptörü (TCR) ile ilişkiye giren zincirleri kodlayan genlerde dikkat çekicidir (Sınıf I genler için ekson 2-3, Sınıf II moleküller için ekson 2). Aleller arasındaki farklar, peptidin taşındığı kovuğun üç boyutlu yapısı üzerinde etkili olduğundan; taşınabilecek peptidlerin seçilmesinde de önem kazanmaktadır.

HLA moleküllerinin fonksiyonları

Lenfositler, antijenlere özgün bir immun yanıt oluşmasından sorumlu olan hücrelerdir. B lenfositler, Immunglobulinleri (Ig) üretirken T lenfositler, B hücrelere yardım, geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturma, virus ile enfekte hücrelerin seçilip öldürülmesi gibi farklı birçok fonksiyonu sürdürürler. B hücrelerinin özgünlüğü sentezledikleri antikordan kaynaklanırken; T lenfositlerde özgünlüğü sağlayan, T hücre reseptörleri (TCR) ve MHC molekülleridir.

Sınıf I ve Sınıf II MHC moleküller, peptidler ile dayanıklı kompleksler oluşturarak onların T lenfositler tarafından tanınabilecek şekilde hücre yüzeyinde sergilenmesini sağlarlar. MHC molekülleri ile ilgili bir makalede hücre yüzeyi bir pazar yerine benzetilmiştir. Buna göre peptidler sergilenen malları temsil ederken; MHC pazardaki tezgahların rolünü üstlenmekte, alıcı olan T lenfositlere tezgahı üstündeki peptidleri sunmaktadır. HLA molekülleri, taşıdıkları peptid ile birlikte fonksiyonel bir bütün oluştururlar. TCR ve MHC-peptid kompleksleri arasındaki ilişki sonucunda, hem antijeni sunan hücrenin hem de antijeni tanıyan T lenfositlerin özelliklerine bağlı değişebilen bir dizi sinyal, hücre içine iletilir. Bu ilişki, peptidi sunan ve tanıyan hücrelerin aynı MHC moleküllerini taşıması durumunda gerçekleşebilir. Bu durumda antijenin sunulması, MHC ye bağımlı bir olaydır. Bu durum ilk olarak 1974 de Zinkernagel ve Doherty tarafından ortaya konulmuş ve 1996 yılında Nobel ödülü ile onurlandırılmıştır. TCR-peptid-MHC ilişkisi yama(graft) ve tümör reddi gibi immun olaylarda, virusla enfekte hücrelerin parçalanmasında, diğer immun hücrelerin (B lenfosit) kontrolünde rol almaktadır. Peptid-MHC kompleksi TCR repertuvarını da belirler. Timustaki T lenfositlerin pozitif ve negatif seçiminde belirleyici olur. MHC molekülleri, bireyin oluşturacağı immun yanıtı:

1. Farklı antijenik peptidlerin sunulmasını sağlayarak,
2. T hücrelerdeki antijen tanıma mekanizmalarını etkileyerek kontrol etmektedir.

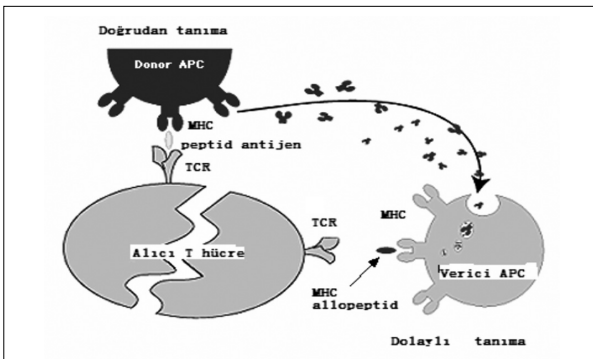
HLA alellerinin farklılıkları ve T hücrelerinde gerçekleşen yeniden gen düzenlenmeleri sayesinde her bireye özgü benzersiz bir immun yanıt oluşmaktadır. Canlı türleri arasında antijen sunma kapasitesi en fazla olanlar, antijen sunan molekülleri en çeşitli olanlardır.

HLA Sınıf I ve II moleküllerin immun yanıt üzerine farklı etkileri vardır. *Sınıf I* moleküller *CD8* taşı-

yan *T* lenfositlere antijen sunarken *Sınıf II* moleküller, *CD4* taşıyanlara sunmaktadır. *Sınıf I* moleküller, tüm çekirdekli hücrelerin yüzeyinde bulunabilirken *Sınıf II* moleküller sadece *B* lenfositlerde, profesyonel olarak antijen sunan (APC) monosit, makrofaj, dentritik hücrelerin yüzeyinde bulunmaktadır. Dağılımdaki bu farklılık, moleküllerin fonksiyonlarındaki farklılığı da yansıtmaktadır. *Sınıf I* moleküller hücre içinden kaynaklanan otolog proteinler, viral antijenlere ait peptid yapılar gibi hücre içinden kaynaklanan (*endojen*) peptidleri sunar ve *CD8* taşıyan sitotoksik hücrelerin uyarılmalarına sebep olur. Doğal öldürücü hücre(NKH) fonksiyonları da *Sınıf I* moleküller aracılığı ile kontrol edilmektedir. *Sınıf I* MHC molekülleri, sürekli olarak hücrelerin kendi peptidlerini sergilemelerine aracı olarak hücrelerin immun sistemin kontrolü altında kalmalarını sağlarlar. *Sınıf II* moleküller ise hücre dışında sentezlenen proteinlerden kaynaklanan (*eksojen*) peptidleri sunarak *CD4* taşıyan yardımcı *T* lenfositlerin uyarılmalarını sağlar, böylece immun yanıt oluşumunda rol alan *B* lenfosit, diğer *T* lenfositler gibi hücrelerin kontrol edilmesinde rol alırlar. *Sınıf I* ve *II* moleküller tarafından sergilenecek olan antijenlerin özgünlüğü hücre içinde yer alan ve peptidlerin *Sınıf I* ve *II* moleküllere yüklendikleri “Antijen İşleme” ünitelerince sağlanmaktadır. Organ ve doku nakilleri sırasında görülen immun tanıma sırasında iki mekanizmanın geçerli olduğu düşünülmektedir.

1. Doğrudan (direct) tanıma
2. Dolaylı (indirect) tanıma

Doğrudan tanıma işlemi sırasında alıcının *T* lenfositleri vericinin MHC-peptid kompleksi aracılığı ile doğrudan uyarılabilmektedir (yabancı MHC molekülleri bir bütün halinde tanınıyor). Dolaylı olarak tanımda ise alıcının *T* lenfositleri, vericinin MHC moleküllerini birer peptid fragmanı olarak tanımaktadır(Şekil 4). Dolaylı olan tanıma işlemi, alıcının



Şekil 4. MHC moleküllerinin doğrudan ve dolaylı tanınması

antijen sunan hücrelerinin (APC) nakli yapılan doku ya da hücrelerden kaynaklanan bir hücreyel proteini alıp işlemesi durumunda gerçekleşir. “*Indirect*” bir immun yanıt oluşumuna daha çok MHC moleküllerinin *polimorfik olan bölgelerinden kaynaklanan peptidlerin* sebep olduğu bilinmektedir.

Klinik uygulamalar

HLA'nın temel klinik uygulamaları:

Transplantasyon/transfüzyon ve Hastalık çalışmaları olarak özetlenebilir. Bu iki grup yanı sıra antropolojik çalışmalarda ve babalık testi amacıyla da kullanılmaktadır.

Transplantasyonda HLA -A,-B,-DR antijenlerindeki uyumun önemini kanıtlayan pek çok çalışma vardır. HLA C ve HLA-DQ için de benzer yayınlar bulunsa da bu iki grubun sırası ile -B ve -DR antijenleri ile gösterdikleri birliktelikler (linkeage disequilibrium) objektif bir değerlendirmeyi güçleştirmektedir. Böbrek nakillerinde graft yaşamında HLA-DR uyumunun HLA -B ve -A uyumundan daha belirleyici olduğu, Pankreas nakillerinde de HLA-DR uyumunun ön planda olduğu görülürken; karaciğer nakillerinde HLA uyumunun önemi hakkında farklı görüşler vardır. HLA uyumunun graft yaşamını kısaltabildiği, etkisinin olmadığı, HLA-A ve -B uyumunun olumlu etkileri varken HLA-DR uyumunun etkisi olmadığı yönünde yayınlar vardır. Kalp nakillerinde de uyumsuz antijen sayısı azaldıkça graft ömrünün uzadığına dair çalışmalar bulunup HLA-DR nin daha önemli olabileceği vurgulanmaktadır. Kornea nakillerinde HL-A, -B uyumu önemli bulunurken HLA-DR hakkında farklı görüşler vardır. Hematopoetik kök hücre nakillerinde ise tek haplotip uyumu ile (haploidentik) nakil uygulamaları başlamış olsa bile halen hedeflenen tam uyum gösteren bir vericinin kullanılmasıdır.

MHC nin bir hastalıkla ilişkisini ortaya koymanın iki yolu vardır.

1. Aile çalışmaları: HLA lokusu ile hastalığı kontrol eden genler arasında bir beraberlik olup olmadığını ortaya koymakta yararlı olur
2. Popülasyon çalışmaları: Bir hastalık ile HLA antijenleri arasındaki ilişki hasta ve kontrol gruplarında yapılan çalışmalar sonucunda belirlenir

HLA antijenleri ile hastalıklar arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda yayın vardır. Bu tür

Tablo 2. HLA Alellerini Tanımlarken Kullanılan Terminoloji

Terminoloji	Rakam sıra no.	İfade ettiği bilgi
HLA		HLA bölgesini ifade eder ve bir HLA genine ön ek olarak kullanılır
HLA-DRB1		Belli bir HLA lokusu Ör: DRB1
HLA-DRB1*13	1-2	Spesifik bir antijeni (Ör:DR13) kodlayan bir alle grubunu tanımlar
HLA-DRB1*1301	3-4	Spesifik bir HLA alelini tanımlar (DR13 ün 01 aleli)
HLA-DRB1*1301N	5/9	Eksprese edilmeyen (Null) bir aleli gösterir, L harfi ise zayıf ekspresyon işaretidir
HLA-DRB1*130102	5-6	Sessiz (Sinonim) mutasyonu olan bir aleli ifade eder
HLA-DRB1*13010102	7-8	Kodlama bölgesi (exon)dışında mutasyonu olan bir aleli gösterir
HLA-DRB1*13010102N	5/9	Kodlama bölgesi dışında mutasyonu olan Null bir aleli gösterir

çalışmalar, hastalık riskleri ve koruyucu faktörleri saptamak, tedavileri planlayabilmek amaçlarıyla yapılmaktadır. Otoimmün hastalıkların çoğunun HLA ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir, yani belli hastalıklar belli alelleri taşıyan bireylerde daha sık görülür. HLA-hastalık ilişkisinin en çarpıcı iki örneği: Romatoid Artrit(RA) ve İnsüline Bağımlı Diyabet Hastalığı (IDDM)dır. Hastalıklarla ilişkili bulunan alellerin daha çok Sınıf II genlerde bulunduğu, sınıf I ile kurulan ilişkilerin de “linkeage disequilibrium” nedeni ile Sınıf I ve II arasındaki birlikteliklerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. HLA molekülleri sadece hastalığa yatkınlığı gösteren bir özellik olup; genellikle hastalığın ortaya çıkmasına çok sayıda faktörün beraberce bulunması sebep olmaktadır. Bu faktörler, HLA molekülleri ile birlikte kalıtılan genler(ör TNF), farklı kromozomlarda yerleşen farklı genlerle ilişkili olabilir. Örneğin Ankilozan Spondilit ile HLA B27 ilişkisi çok iyi bilinmektedir ancak HLA B27 taşıyan kişilerin ancak %2 sinde bu hastalık ortaya çıkmaktadır. Antijenler yerine o grupta mevcut alellerin saptanması durumunda daha anlamlı sonuçlar alınabilir. Sunulacak peptidleri ve dolayısıyla oluşacak immun yanıtın özelliklerini HLA molekülleri kadar antijenlerin işlenmesi sırasında oluşan peptidlerin yapısı da belirlemektedir. Bu nedenle sınıf II MHC genleri arasında yer alan ancak yapısal olarak onlara benzerlik göstermeyen ve antijen işlenmesinde rol alan *LMP* ve *TAP* genlerindeki çeşitliliğin de hastalıklar ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

HLA tiplendirimi

Son yıllarda HLA tipinin belirlenmesi çok duyarlı yöntemlerle yapılabilmektedir. HLA tiplerini tanımlarken kullanılan terminoloji de kullanılan yöntemlerle ilişkilidir. Terimler arasında bir

bağlantı kurmak güç olabilir. Örneğin DRB1*1501 olarak tanımlanmış bir genin DR2 nin bir aleli olduğunu tahmin etmek güç olabilir ya da DR4 olarak tanımlanmış bir antijenin hücresel yöntemlerle belirlenmiş Dw4, Dw10, Dw14 gibi alt tipleri bulunabilir. Ancak moleküler yöntemlerin giderek diğer yöntemlerin yerini alması nedeni ile güncel olarak kullanılan alelleri tanımlayan terminolojidir. Bu amaçla kurulmuş olan bir komisyon (W.H.O Nomenclature Committee), sürekli olarak bilgileri güncelleyerek yayınlamaktadır, tablo 2’de kullanılan adlandırma sisteminin mantığı bir örnek üzerinde özetlenmiştir.

Serolojik olarak Sınıf I ve II moleküllerin gösterilmesi

Lenfosit mikrositotoksite testi olarak tanımlanan bu yöntem, Gorer ve Amos tarafından tanımlanmış, Terasaki ve Mc Clelland tarafından modifiye edilmiş olup; 1960’lardan beri kullanılmaktadır. Yerini moleküler yöntemlere bıraksa da halen uygun verici adaylarının taranması amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır.

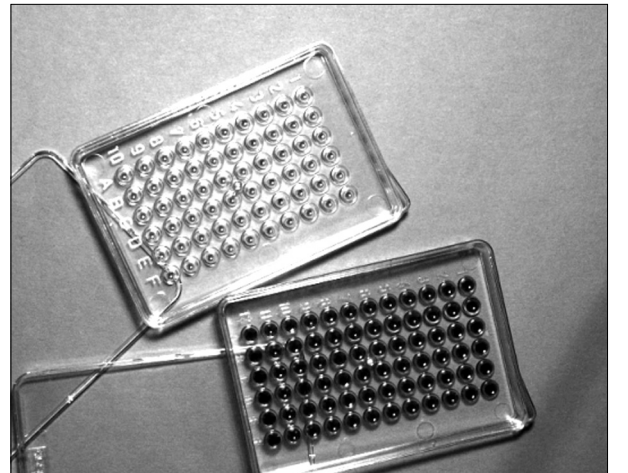
Deney iki basamaklıdır. İlk basamakta saflaştırılmış olan hücreler bir plaktaki küçük kuyucuklarda çeşitli antikorlarla karşılaştırılır(Şekil5). Bu antikorlar, monoklonal ya da poliklonal (çok sayıda doğum yapmış olan kadınların, fazla kan nakli yapılmış bireylerin serumundan elde edilen) olabilir. Antikoru özgün olduğu antijeni taşıyan hücreler, ortamdaki antikoru bağlar. Deneyin ikinci kısmında ortama kompleman eklenerek antikor bağlamış olan hücrelerin ölmeleri sağlanır. Daha sonra eklenen bir boya aracılığıyla hücrelerin canlı mı ölü mü oldukları değerlendirilir. Kullanılan antikorlar, benzer epitopları taşıyan antijenler ile de reaksiyona girdiklerinden seyrek olmayarak çapraz reaksiyonlar görülür. MHC molekülleri bu özelliklerine göre Cross Reaktif Gruplar (**CREG**)

Tablo 3. Serolojik ve hücresel yöntemlerle tanımlanabilmiş HLA antijenleri

A	B		C	D	DR	DQ	DP
A1	B5	B50(21)	Cw1	Dw1	DR1	DQ1	DPw1
A2	B7	B51(5)	Cw2	Dw2	DR103	DQ2	DPw2
A203	B703	B5102	Cw3	Dw3	DR2	DQ3	DPw3
A210	B8	B5103	Cw4	Dw4	DR3	DQ4	DPw4
A3	B12	B52(5)	Cw5	Dw5	DR4	DQ5(1)	DPw5
A9	B13	B53	Cw6	Dw6	DR5	DQ6(1)	DPw6
A10	B14	B54(22)	Cw7	Dw7	DR6	DQ7(3)	
A11	B15	B55(22)	Cw8	Dw8	DR7	DQ8(3)	
A19	B16	B56(22)	Cw9(w3)	Dw9	DR8	DQ9(3)	
A23(9)	B17	B57(17)	Cw10(w3)	Dw10	DR9		
A24(9)	B18	B58(17)		Dw11(w7)	DR10		
A2403	B21	B59		Dw12	DR11(5)		
A25(10)	B22	B60(40)		Dw13	DR12(5)		
A26(10)	B27	B61(40)		Dw14	DR13(6)		
A28	B2708	B62(15)		Dw15	DR14(6)		
A29(19)	B35	B63(15)		Dw16	DR1403		
A30(19)	B37	B64(14)		Dw17(w7)	DR1404		
A31(19)	B38(16)	B65(14)		Dw18(w6)	DR15(2)		
A32(19)	B39(16)	B67		Dw19(w6)	DR16(2)		
A33(19)	B3901	B70		Dw20	DR17(3)		
A34(10)	B3902	B71(70)		Dw21	DR18(3)		
A36	B40	B72(70)		Dw22			
A43	B4005	B73		Dw23	DR51		
A66(10)	B41	B75(15)		Dw24	DR52		
A68(28)	B42	B76(15)		Dw25	DR53		
A69(28)	B44(12)	B77(15)		Dw26			
A74(19)	B45(12)	B78					
A80	B46	B81					
	B47						
	B48	Bw4					
	B49(21)	Bw6					

olarak sınıflandırılabilir. Bir antijeni serolojik olarak tanımladığımız zaman genellikle iki basamaklı ve o molekülün bulunma sırası ile ilişkili olan rakamlar kullanılır. HLA antijenleri için üst grup (public) ve alt tip (split) şeklinde gruplamalar söz konusu olabilir. Örneğin B12 antijeni bir üst grup antijeni iken B44 ve B45 antijenleri B12 nin alt tipleridir, HLA ve lokusun adını takiben önce alt tipin adı bunu takiben de parantez içinde ait olduğu üst grup yazılır (bkz tablo3).

Aynı teknik kullanılarak anti HLA antikorların taranması, “cross-match” çalışmalarının yapılması mümkündür. Hasta serumunun farklı kuyucuklarla yerleşmiş farklı HLA antijeni taşıyan hücrelerle

**Şekil 5.** Mikrositotoksite testinde kullanılan plaklar

karşılaştırılmasını takiben canlı/ölü hücre ayırımı ile serumda hangi antijen ya da antijen gruplarına karşı antikor gelişmiş olduğu belirlenebilir. Bu antikorlar, gebelik, kan ürünlerinin transfüzyonu, önceki organ/doku nakline bağlı gelişmiş olabilir ve genellikle IgG yapısındadırlar (Otoantikorlar ise genellikle IgM yapısındadır). Bu çalışmanın bir benzeri hasta serumu ile verici kökenli hedef hücrelerin karşılaştırılması ile uygulanırsa “cross-match” olarak değerlendirilir. Çeşitli modifikasyonları bulunan bu yöntem ile alınan sonuçların hiperakut rejeksiyonun öngörülmesinde yol gösterici olduğu bilinmektedir.

Sınıf I- II moleküllerin hücresel yöntemlerle tayini

DNA temeline dayanan yüksek çözünürlükte HLA tiplendirmenin gelişmesi ile hücresel yöntemlere duyulan ihtiyaç giderek azalmıştır.

Çoğalan Sitotoksik T lenfositlerin(CTLp) belirlenmesi, HLA tiplendirilmesinde olmasa da verici hücrelerince alıcı hücrelerindeki sınıf I antijenlere karşı oluşabilecek immun yanıtın belirlenmesinde kullanılabilen bir testtir. CTLp, Sınıf I uyumsuzlukları yanı sıra minor doku antijenlerine karşı oluşabilecek bir immun yanıtın habercisi de olabilir. Bu testin, mevcut bir antijen farklılığının kabul edilir olup olmadığının belirlenmesinde yol gösterici olduğu düşünülmektedir. Uygulama zorlukları nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır; Graft versus Host Hastalığı(GVHH) şiddeti gibi klinik verilerle ilişkisi hakkında da farklı görüşler vardır.

Hücre kültüründeki lenfositlerin aynı ortamda bulunan ikinci bir seri hücrenin yüzey antijenlerine karşı çoğalarak oluşturduğu yanıt, “Miksed Lymphocyte Reaction”, MLR olarak tanımlanır. MLR, invitro koşullarda Sınıf II antijenlerin uyum ya da uyumsuzluğunun bir ölçütü olarak kullanılır. Kültür ortamında bulunan iki hücre serisinden bir tanesinin ışınlanarak ya da Mitomisin C gibi bir ajanla immün yanıt veremeyecek duruma getirilmesi sayesinde oluşan immun yanıtın tek yönlü ilerlemesi sağlanır. Sonuçta uyarılan hücrelerin ne ölçüde çoğaldıkları radyoaktif ya da alternatif yöntemlerle belirlenir. Oluşan yanıtta en etkili faktörün DR antijenleri olduğu bilinmektedir. Bu yöntemle tanımlanmış antijenler DR değil sadece D olarak adlandırılır (bkz tablo 3). Bir antijen için homozigot olan hücrelerin teminindeki güçlükler,

uygulama zorlukları nedeniyle MLR'nin, doku tiplendirmesi amacıyla kullanımı yaygınlaşmamıştır. HLA DP antijenlerinin ise hücre yüzeyinde az sayıda bulunmaları nedeniyle serolojik ve hücresel olarak tiplendirilmesi zordur. Uyarılmış lenfosit kültürü olarak bilinen bir yöntem geliştirilmiştir. Hücreler bir DP antijeni ile karşılaştırıldıktan sonra aynı antijen ile 2. kez karşılaştıklarında daha güçlü bir sekonder yanıt oluştururlar. Daha önce çeşitli DP antijenleri ile uyarılmış hücreler kullanarak hedef hücrelerdeki DP antijenleri belirlenebilir.

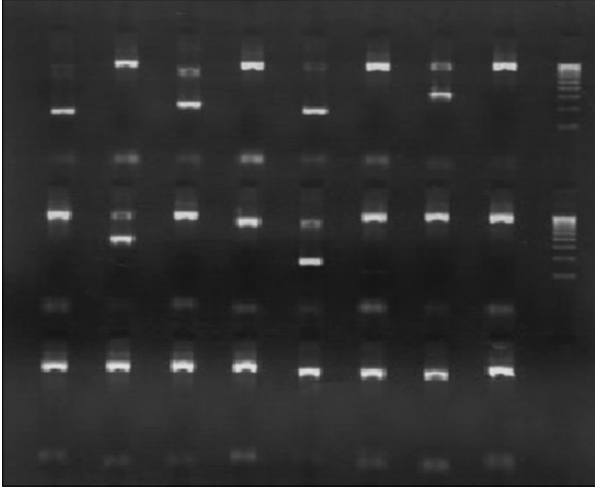
HLA çeşitliliğinin DNA temeline dayanan yöntemlerle gösterilmesi

Teknolojide ve kullanılan moleküler tanı yöntemlerindeki gelişmeler, organ ve doku nakillerinde önemi olan Sınıf I ve Sınıf II alellerin belirlenmesini kolaylaştırmıştır. Moleküler yöntemlerin avantajları: Özgün, esnek olmaları, yeni aleller tanımlandıkça yeni reaktiflerin geliştirilebilmesi, istenen duyarlıkta çalışma yapabilecek seçeneklerin mevcut olması, çalışmalarda canlı hücre gerektirmemesi, bireyin hastalık ya da tedavi durumundan etkilenmemesi, serolojik ve hücresel yöntemlere göre otomasyona daha uygun olması, eş zamanlı olarak çok sayıda örneğin çalışılabilmesi, HLA genlerindeki tüm çeşitliliklerin gösterilebilmesi, serolojik olarak tanımlanamayan alellerin tanınabilmesi olarak özetlenebilir.

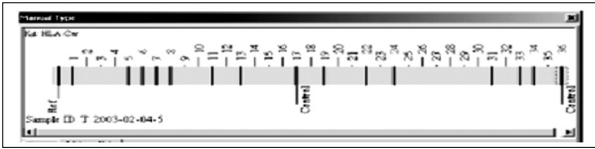
Çalışmalar için herhangi bir çekirdekli hücreden elde edilecek DNA örneği kullanılabilir. Genellikle tercih edilen kandaki lökositlerin kullanılmasıdır. HLA alellerini daha duyarlı olarak tespit edebilmek için DNA'nın, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılarak; gösterilebilir, analiz edilebilir hale getirilmesi gerekir. Analiz edilmesi hedeflenen bölgeyi içine alacak bir DNA segmentinin çoğaltılması için bir çift sentetik oligonukleotid (primer) kullanılmalıdır. Bazı yöntemlerde(Ör: SSO) tüm lokusu içine alacak şekilde primerler seçilirken; bazı yöntemlerde(Ör:SSP) sadece bir alel ya da alel grubuna özgün DNA segmentlerinin çoğaltılabileceği primerler kullanılır. Bu çoğaltma işleminde ortam koşullarının reaksiyonun özgünlüğünü sağlayacak şekilde planlanmış olması gerekir.

Sekansa Özgün Primerler Kullanılması (“Sequence Specific Priming”, SSP)

Deneyde kullanılan primerler, hangi alel için hazırlanmışlar ise DNA'nın o aleli taşıyan kısmına bağlanarak (annealing) PCR reaksiyonun başla-



Şekil 6. SSP tekniği ile yapılmış bir çalışmanın görüntüsü



Şekil 7. SSO tekniği ile yapılmış bir çalışmanın görüntüsü

masını sağlarlar. O deney tübünde primerin özgün olduğu DNA segmenti varsa çoğalma (amplifikasyon) gerçekleşir. Her reaksiyon tübüne kontrol amacıyla çeşitlilik göstermeyen bir hücresel proteini kodlayan gene özgün primer seti eklenir. Böylece pozitif reaksiyon olan tüplerde iki adet ürün görünür hale gelirken, negatif olarak değerlendirilen reaksiyonlarda sadece kontrol için kullanılan genin çoğaldığı görülür (Şekil 6). Bir kişi için çok sayıda tüp/primer kullanılması gerektiğinden aynı anda ancak kısıtlı sayıda örnek çalışılabilir. Kesin sonuçlara ulaşmak için çok iyi organize edilmiş primerler kullanılmalıdır; ancak bunun yeterli olmayıp "Nested PCR", "multiplex PCR" gibi duyarlılığı artırıcı yöntemlerin eklenmesi, dizi analizi gibi yöntemlere geçilme gerekebilir.

Sekansa Özgü Oligonukleotidler Kullanarak Hibridizasyon Yapılması ("Sequence Specific Oligonucleotide Hybridisation", SSP)

Genellikle Bir HLA lokusunun PCR ile çoğaltılmasını takiben alellere özgün olan oligonukleotidler kullanılarak bu çoğalmış DNA segmenti ile özgün oligonukleotidlerin katı bir ortam üzerinde (ör: naylon bir membran, kuyucuklar ya da boncuklar) bağlanması (hibridleşmesi) sağlanır. Kullanılan oligonukleotidler işaretli olup; ortama eklenen reaktifler ile renkli bir ürün oluşması sağlanır. Katı ortama

bağlı olanın DNA değil de oligonukleotidler olması durumunda olay "Reverse" olarak tanımlanır. Bu işlemde DNA'nın çoğaltılması sırasında işaretlenmiş primerler kullanıldığından çoğalmış olan DNA da işaretlenmiş olur. Oligonukleotid prob lar DNA'daki alele özgü ise membran üzerinde bu prob lar ve çoğalmış DNA arasında hibridleşme olur. Hangi oligonukleotid prob ile bağlanma olduğu, bireyin hangi HLA alelini taşıdığı, çeşitli reaktifler aracılığı ile görünür hale getirilebilir. Son yıllarda geliştirilmiş olan bir teknikte aynı reaksiyon tübünde bulunan 100 farklı renkte floresan veren boncuğun herbirine farklı prob lar bağlanarak floresan ölçümüne dayalı tiplendirme yapılabilmektedir. Bu tekniklerin üçü de aynı anda çok sayıda örnek çalışılmasına uygundur. Elde edilen sonuçların karmaşıklığını çözmek ve daha duyarlı sonuçlar verebilmek için lokusa özgün olanlar yanı sıra gruba özgün reaksiyonların da kurulması gerekebilir.

"Sequence Specific Conformational Polymorphism" veya "Heteroduplex Analysis"

Bu yöntem, çoğaltılmış olan DNA'nın denatüre edilerek (SSCP) ya da renatüre olmuş "DNA duplex" i olarak (heteroduplex analysis) elektroforezi sırasında hareket farklarının tespit edilmesi prensibine dayanmaktadır. Çoğaltılmış olan DNA'nın hareketi, bilinen alellerin hareketi ile karşılaştırılarak test edilenin hangi alel olduğu bulunur. Bu yöntem, az sayıda örnek için; özellikle de aile içi bireylerin karşılaştırmalı olarak çalışılması sırasında kullanışlı olmaktadır. Bir alelin adı koyulmasa bile olası verici ile alıcının aynı aleli mi taşıdıkları görülebilmektedir.

Nükleik Asitlerin Dizi Analizi ("Sequence Based Typing", SBT)

Bireyin taşıdığı aleller, nükleotid dizileri analiz edilerek bulunur. PCR-SSP ve SSOP yöntemlerinden farklı olarak burada sadece bilinen bir aleli aramak söz konusu değildir. Bu amaçla dizi analizi öncesinde lokusa ya da alel sekansına özgü primerlerin kullanıldığı bir/birkaç PCR işlemi yapılabilir. Hedef, hemen her zaman olduğu gibi çeşitliliğin kaynağı olan bölgelerdir. Yöntemin duyarlılığı PCR reaksiyonundan çok, daha sonra yapılan dizi analizinden kaynaklanmaktadır. Bu amaçla işaretlenmiş nükleotidler kullanılarak yapılan sentez işlemi takiben elektroforez teknikleri uygulanabildiği gibi sentez sırasında dizi analizi yapılan sistemler de (pyrosequencing) kullanılmaktadır. Başlangıç materyali

(mRNA, DNA), çoğaltma yöntemleri, çoğaltılan bölgeler, dizi analizi için kullanılan kimyasal tekniklerde değişiklikler yapılarak pek çok dizi analiz yöntemi geliştirilmiştir. Dizi analizi, zahmetli ve karmaşık bir işlem olmasına rağmen özellikle hematopoetik kök hücre nakli planlanan hastalara alel bazında denk olan vericilerin tespit edilebilmesi, diğer yöntemlerle elde edilen karmaşık sonuçların çözülmesi için giderek daha yaygın olarak kullanılmaktadır. En azından HLA DRB1 bölgesi için alel düzeyinde tiplendirme yapmanın önemi vurgulanmaktadır.

DNA kullanılarak yapılan HLA tiplendirme işlemlerinin duyarlılığı farklı düzeylerde olabilir. Düşük çözünürlükte bir çalışmada aleller serolojik tiplendirmeye denk ancak daha doğru ve güvenilir olarak tespit edilmektedir. Bu durumda lokusun adını takiben koyulan asteriksden sonraki iki basamakta o alelin serolojik karşılığı olan numara yer alırken bunu takip eden 2 basamakta bilinmiyor anlamına gelecek şekilde "xx" yazılır, Ör: HLADRB1*11xx. Orta duyarlılıktaki bir çalışmada ise alelin adı, en çok 4-5 olasılıkla bilinmektedir. Yüksek çözünürlükte bir çalışmada ise alelin en azından 4 basamağının doğru olarak tanımlanmış olması gerekir, ör:DrB1*1101 (bkz tablo2).

Organ/doku nakli planlanan alıcı-vericiler için HLA-A,B ve DR lokus alellerinin tiplendirilmesi gerekir. Hastanın hayatta olan tüm 1. derece yakınlarında tiplendirme yapılarak haplotip ve genotip analizleri tamamlanmalıdır. HLA-C,DQ ve/veya DP için yapılan tiplendirme bazı durumlarda yardımcı olsa da zorunlu değildir. Adı geçen antijen/alellerin tiplendirilmesi mutlaka EFI (European Federation for Immunogenetics), ASHI (American Society for Histocompatibility & Immunogenetics) gibi kurumlarca tanımlanmış olan standartlara uygun çalışan laboratuvarlarda yapılmalıdır. HLA tiplendirimi için hangi yöntem kullanılıyor olursa olsun yapılan çalışmaların sonucunu yazarken ortak bir terminoloji kullanılmalıdır. Bu amaçla düzenli olarak yapılan "International HLA Workshop"da alınan kararlar esas alınmakta, tanımlaması yapılmış yeni aleller de düzenli olarak yayınlanmaktadır. HLA sisteminde kullanılan terminoloji ve alellerin serolojik denkleri hakkında

www.bmdw.org

www.anthonynolan.com/HIG/nomen/reports/

adreslerinden detaylı bilgilere ve referans olarak kullanılan son yayınlara ulaşılması mümkündür.

Kaynaklar

1. Marsh Steven G.E, Parham Peter, Barber Linda D: The HLA Facts Book
2. R Blasczyk:New HLA Typing methods in New Diagnostic Methods in Oncology and Hematology ed by Huhn D, p143-184, Springer -Verlag Berlin Heidelberg 1998
3. Klein J, Sato A:The HLA System— First of Two Parts.N Engl J Med 2000; 343(10):702-709, 2000
4. Beksaç M, HLA ve Doku Tiplendirmesi, THD Kan ve Kemik iliği Transplantasyonu Kurs Kitabı, sayfa: 42-49, 2004
5. <http://dorakmt.tripod.com>
6. <http://www.efiweb.org/standards.html>, Standarts for Histocompatibility Testing 5th version
5. <http://www.bmdw.org/HLA/>

Terimler

Alel: Bir Kromozomun belli bir lokusundaki genin mevcut birkaç alternatif formundan biri olup, kalıtım şekilleri ile ilgili bilgi edinilmesinde yardımcı olur.

Alel frekansı: Bir alelin belirli bir toplumda görülme sıklığı

Amplifikasyon: Bir şeyin kopya sayısındaki artmayı ifade eder. Genellikle bir DNA sekansının (dizisinin) PCR reaksiyonu ile çoğaltılması anlamında kullanılmaktadır.

Baz (Base): DNA ya da RNA yı oluşturan yapı taşlarından biri olup; bu başlıkta yer alan 5 molekül vardır [Timin(T), Adenin(A), Sitozin(C), Guanin(G), Urasil(-U)(RNA da Timin yerine)].

Baz Çifti (Base pair,bp): Çift sarmal yapıda bazlar arasında bulunan zayıf hidrojen bağları ile bir arada duran baz çiftlerini ifade eder. C ile G arasında 3 hidrojen bağı, A ile T arasında 2 hidrojen bağı bulunmaktadır.

DNA(Deoksi ribo Nukleik Asit): Genellikle çift sarmal yapıda çok uzun bir molekül olup; deoksi şeker (riboz), fosfat grupları ve dört nitrojen bazından (A, T, C, G) oluşan ve organizmadaki genetik bilgiyi taşıyan yapısal elemandır

DNA sekanslaması: Belli bir DNA molekülündeki nukleotid dizilimini ortaya koymak için yapılan çalışmadır.

"Domain": Bir protein ya da diğer bir makromolekülün kendine özgü fonksiyonu olan bir alt ünitesidir. Bir moleküldeki damainlerin bileşkesi o molekülün tüm fonksiyonlarını belirler.

Ekson: Kesintilere uğramış bir genin olgun mRNA da da yer alan segmentleridir. Bu ifade genellikle translayona uğrayan kodlanan gen sekansları için kullanılır.

Elektroforez: Taşıyıcı bir ortama uygulanan moleküllerin elektrik akımı verildiğinde yüklerine ve kitlelerine göre farklı hareket etmeleri esasına dayanan bir ayırma yöntemidir.

Epitop: Bir moleküldeki antijenik belirleyicilerin herbiri. Fonksiyonel olarak Antijenin antikor ile birleşen kısmı

Gen: Spesifik bir fonksiyon ile ilgili kodu taşıdığı tanım-

lanmış olan DNA segmentidir.

Gen Ürünü: Bir genin ekspresyonu sonucunda ortaya çıkan biyokimyasal materyal olup; bu materyal, RNA ya da proteindir.

Heterozigot: Bir veya daha çok sayıdaki lokusta birden fazla alel bulunması durumu

Hibridizasyon: Birbirine komplementer (tamamlayıcı) olan tek sarmal nükleik asitler arasında hidrojen bağları oluşması ile çift sarmal nükleik asitlerin oluşmasıdır. İşaretlenmiş DNA problemleri kullanılarak bir örnekte belli DNA sekanslarının olup olmadığı test edilebilir.

Homozigot: Bir lokustaki iki alelin aynı olması (tek alel tanımlanabilir) durumu

Intron: Bir genin kodlayan bölgeleri (eksonlar) arasına yerleşmiş olan DNA dizileridir. Transkripsiyondan sonra matür bir mRNA molekülü oluşturmak için transkripsiyon sonrası değişikliklerin bir parçası olarak intronlar nükleik asitlerden çıkarılır. Fonksiyonları bilinmemektedir, gen ekspresyonunda rolleri olabileceği düşünülmektedir.

Kilobaz (kb): DNA fragmanlarının uzunluğunu gösteren birim olup; 1000 baz (nükleotid) uzunluğa eşittir.

Lokus: Bir kromozomda belli bir genin işgal etmiş olduğu bölge

Komplementer(tamamlayıcı) Sekans: Bir başka nükleotid dizisi ile bazlarının arasında bağlar oluşturup, çift sarmal yapı oluşturabilen nükleotid dizileridir. (Ör: AGCT nin komplementer zinciri TCGA dır)

Kromozom: Ökaryotik hücre çekirdeğinde, prokaryotik hücre sitoplazmasında bulunan yoğun yapılar olup; içlerinde, organizmanın genlerini (DNA moleküllerindeki nükleotid dizileri halinde) taşırlar.

“Linkeage” (Genetik “Linkeage”): Bir kromozom üzerinde bulunan iki ya da daha çok sayıdaki “genetik belirleyici” nin birbirlerine göre yerleşimini ifade eder.

Oligonükleotid: Kısa bir tek sarmal DNA molekülü olup; Nükleik asit sentezlenmesi için bir hibridizasyon probu ya da primer olarak kullanılabilir. Genellikle suni olarak sentezletilirler.

Polimorfizm: Bir popülasyonda aynı gen için çok sayıda alelin bulunması durumudur.

Popülasyon: Belli bir zaman diliminde belli bir coğrafi bölgede yaşamış olan bireylerden oluşan topluluk.

Primer: Kısa bir nükleik asit molekülü olup; tek sarmal bir nükleotid zincirine komplementer olan bir sekans ile bağlanır ve serbest olan 3^u ucu ile primer uzamasına olanak tanır.

Prob (Hibridizasyon Probu): Spesifik sekanslardan oluşan tek sarmal DNA ya da RNA molekülleri olup; Radyoaktif ya da floresan/enzim/biotin işaretli olduklarından komplementer oldukları hedef sekansa bağlanarak o sekansın aranan örnekte bulunup bulunmadığını görüntülemek amacıyla kullanılırlar.

Psödogen: Belli bir proteini kodladığı tanımlanmamış genler için kullanılan bir terimdir.