

## Abstrakt

ÚVOD: Molekuly HLA hrajú centrálnu úlohu v imunitnej odpovedi. HLA II. triedy sa zúčastňujú selekcie T bunkového repertoáru v týmuse a prezentácie antigénnych peptidov CD4-pozitívnym T lymfocytom. HLA II. triedy fungujú ako reštrikčné prvky v prezentácii antigénov T lymfocytom a ich expresia na povrchu buniek je nutná pre spustenie imunitných odpovedí. Regulácia transkripcie génov HLA II. triedy predstavuje komplexný systém zahŕňajúci "cis-acting" DNA sekvenciu a "trans-acting" proteínové faktory. Bol publikovaný alelový polymorfizmus regulačných oblastí génov HLA II. triedy, DQA1, DQB1 a DRB1. Väčšina polymorfizmov je uchovávaná súhlasne s haplotypom. Hierarchia sekvenčnej homológie, ktorá existuje medzi štrukturálnymi génmi, však nemá obdobu medzi ich promótorovými sekvenciami. Zaujalo nás, že najviac prekvapujúci rozpor bol nájdený pre alely viazané k DR4, DQB1\*0301 a DQB1\*0302, ktoré boli popísané ako časté rizikové faktory pre niektoré autoimunitné choroby. Štrukturálne gény týchto dvoch aliel sú najviac príbuzné, ale ich regulačné sekvencie sú najviac odlišné v porovnaní s ostatnými DQB1 alelami. Tieto sekvenčné rozdiely zodpovedajú funkčnej variabilite: promótorová sila DQB1\*0301 alely je trikrát až štyrikrát väčšia než promótorová sila DQB1\*0302 alely. Funkčná rozdielnosť medzi alelami HLA II. triedy môže byť spôsobená aj rozdielnym stupňom metylácie tejto oblasti.

CIELE: Naším cieľom bolo zistiť koreláciu medzi metyláciou CpG dinukleotidov v promótoch génu HLA-DQA1 a genotypom jednotlivých aliel.

METÓDY: Do pilotnej štúdie bolo zaradených 89 zdravých darcov vo veku 25-45 rokov. U nich bola vykonaná genotypizácia aliel HLA II. triedy, DRB1, HLA-DQB1 a HLA-DQA1, pomocou metódy PCR so sekvenčne špecifickými primermi. Genomická DNA darcov bola konvertovaná bisulfitom a cieľový úsek v promótoch génu HLA-DQA1 bol následne amplifikovaný pomocou metódy nested PCR. Produkt bol rozklonovaný do baktérií *Escherichia coli*, kmeň XL-1 Blue. Selekcija úspešných transformantov prebiehala na médiu s ampicilínom, IPTG a X-Gal. Výsledky selekcie boli overené metódou colony PCR. Jednotlivé klony baktérií boli následne osekvenované.

VÝSLEDKY: Bola zistená rozdielna metylácia niektorých CpG miest v skúmanej oblasti: v mieste -639 bola alela QAP 4.1 metylovaná viac než alely QAP 1.1 a 1.3; v mieste -540 bola alela QAP 3.1 metylovaná menej než alely QAP 1.1 a 1.3; v mieste -374 bola alela QAP 1.3 metylovaná menej než ostatné alely; v mieste -139 bola alela QAP 1.2 metylovaná menej než alela QAP 1.4. Rozdiel v celkovom množstve metylovaných CpG miest bol pozorovaný medzi alelou QAP 1.1, v porovnaní s alelami QAP 1.4 a 4.1.

ZHRNUTIE: Bola nájdená korelácia medzi genotypom a epigenotypom promótorových aliel génu HLA-DQA1. Zistené boli rozdiely v celkovej metylácii aliel, i v metylácii jednotlivých CpG dinukleotidov. Ďalej boli popísané nové polymorfné miesta v tejto oblasti.

**Kľúčové slová:** DNA metylácia, polymorfizmus, promótor, HLA-DQA1