

Abstrakt

Úvod: Molekuly hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) hrají důležitou úlohu v regulaci imunitní odpovědi a udržování imunitní homeostázy. Regulace jejich exprese je proto klíčovým faktorem ovlivňujícím adaptivní imunitní odpověď. Jedním z mechanismů této regulace je methylace DNA v promotorových oblastech, která ovlivňuje dostupnost DNA pro transkripční faktory. Stárnutí organismu je spojeno se změnami v methylaci DNA a zvýšená predispozice k rozvoji autoimunitních onemocnění ve stáří by proto mohla být spojena právě se změnami v methylačním stavu regulačních oblastí genů MHC II. třídy.

Cíle: Cílem této práce je analýza methylačního stavu regulačních oblastí genů *DQA1* a *DQB1* a porovnání rozdílů mezi generacemi a jednotlivými alelami. Dále je porovnána úroveň exprese mRNA genu *DQA1* mezi generacemi a mezi jednotlivými alelami.

Metody: Z krve odebrané dárčům ze tří různých věkových skupin byly izolovány DNA a RNA. DNA byla modifikována bisulfitovou konverzí, dále byly amplifikovány regulační oblasti genů *DQA1* a *DQB1* a tyto úseky byly klonovány do bakterií. Pozitivní klony byly sekvenovány a podrobeny methylační analýze. RNA byla pomocí reverzní transkripce přepsána do cDNA a relativní úroveň její exprese byla poté určena pomocí kvantitativní PCR.

Výsledky: Statisticky významný rozdíl v mezigeneračním porovnání promotorové oblasti genu *DQA1* byl nalezen v pozicích -562 a -540 nukleotidů od počátku transkripce. V těchto místech byla QAP alela 1.1 vzorků pocházejících od studentů methylována více než u vzorků seniorů. Při porovnání methylačního stavu jednotlivých QAP alel ve skupině studentů bylo nalezeno několik statisticky významných rozdílů. Alely QAP 1.3 a QAP 4.1A byly methylovány v menší míře než ostatní alely. Podobné závěry se podařilo prokázat také pro alelu QAP 1.3 porovnáním jednotlivých QAP alel ve věkové skupině seniorů. U dětí se podobné závěry podařit neprokázalo, což může být způsobeno nedostatečným počtem analyzovaných sekvencí. Analýzou rozdílů methylačního stavu jednotlivých CpG míst v regulační oblasti mezi jednotlivými alelami *DQB1* dětí byl prokázán statisticky významný rozdíl v místě 2235 nukleotidů od počátku transkripce, ve které byla alela *DQB1*0602* methylována v menší míře než alela *DQB1*0501*.

Klíčová slova: HLA II. třídy, HLA *DQA1*, HLA *DQB1*, epigenetika, methylace DNA, stárnutí