

## ABSTRAKT

**Úvod:** *Diabetes mellitus* 1. typu je multifaktoriálne autoimunitné ochorenie spôsobené postupnou deštrukciou beta buniek Langerhansových ostrovčekov pankreasu. Z genetického hľadiska tvoria podstatnú časť predispozície (40 – 50%) gény HLA II. triedy, ktorých molekuly prezentujú exogénne peptidy CD4+ T lymfocytom. Faktory prostredia hrajú taktiež dôležitú úlohu v etiopatogenéze T1DM. Jedným zo spôsobov komunikácie prostredia s genotypom je epigenetická regulácia vo forme metylácie DNA. Stupeň metylácie v regulačných oblastiach týchto génov môže výrazne ovplyvňovať úroveň expresie.

**Cieľ:** Cieľom diplomovej práce bolo určiť metylačný stav jednotlivých alel *HLA-DQB1* u pacientov s *diabetes mellitus* 1. typu a stanoviť ich expresiu.

**Metódy:** Pacientom bol určený genotyp HLA II. triedy (*HLA-DRB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*) pomocou sekvenčne špecifických primerov. DNA bola ošetrená bisulfitom a amplifikovaná regulačná oblasť génu *HLA-DQB1* a zaklonovaná do baktérií *E.coli* DH5 $\alpha$ /XL1-Blue. Po overení boli pozitívne klony zaslané na sekvenáciu a výsledky podrobené analýze. RNA bola prepísaná do cDNA pomocou reverznej transkripcie a úroveň expresie bola určená pomocou kvantitatívnej PCR.

**Výsledky:** Štatisticky významné rozdiely boli nájdené v celkovej metylácii alel *DQB1*\*0201 a \*0302 v úseku B. V jednotlivých metylačných miestach bol preukázaný rozdiel medzi alelami *DQB1*\*0201 a \*0302 v pozícii 1894, 2179, 2200, 2302 a 2304 v úseku exónu 2 – intrónu 2 (úsek B). V pozícii 2179, 2200, 2302 a 2304 bola viac metylovaná alela *DQB1*\*0302, zatiaľ čo v pozícii 1894 bola kompletne metylovaná alela *DQB1*\*0201. Štatisticky významný rozdiel v úrovni expresie bol nájdený medzi alelami *DQB1* \*0202 a \*0501(\*0501 exprimovaná viac), \*0301 a \*0302 (\*0301 exprimovaná viac), *DQB1*\*0302 a \*0501(\*0501 exprimovaná viac).

**Kľúčové slová:** *diabetes mellitus* 1. typu, epigenetický, HLA II. triedy, *HLA DQB1*