

Abstrakt

Úvod: V současné postgenomické době představuje studium epigenetických regulací jeden z nástrojů pro porozumění funkci genů. Epigenetické regulace mohou přímo řídit časovou a prostorovou aktivitu genů či jejich umlčení. Molekulární podstata těchto regulací spočívá v modifikaci bázi DNA, remodelaci chromatinu a RNA interferenci. Zároveň tyto mechanismy vykazují vlastní způsob přenosu dědičné informace do dalších generací nazývaný epigenetická dědičnost. V rámci mnoha chorob byla jako příčina prokázána deregulace epigenetické informace určitých genů. Z tohoto důvodu se jeví studium epigenomu HLA genů jako zvláště důležité, neboť tyto geny hrají zásadní roli v regulaci imunitního systému.

Cíle: Cílem této práce je vytvořit popis epigenetických modifikací v rámci rodin. Jedná se o analýzu histonových modifikací a metylace DNA v promotorovém úseku genu *HLA DQA1*. Cílem bylo rovněž srovnat rozdíly v epigenetických modifikacích mezi alelami a také srovnání rozdílů v daných modifikacích mezi generacemi. Získané výsledky budou porovnány s analýzou míry exprese genu *HLA DQA1*.

Metody: Z odebrané periferní krve dárců byly izolovány DNA, RNA a leukocyty. DNA byla použita ke genotypizaci. Další část vzorků DNA byla konvertována bisulfitovou metodou a posléze sekvenována. Ze získaných dat byla provedena analýza metylace DNA. Izolovaná RNA byla podrobena reverzní transkripci a poté kvantitativní PCR pro analýzu úrovně exprese. Leukocyty byly využity pro chromatinovou imunoprecipitaci a následně pro kvantitativní PCR k vyhodnocení míry trimethylace a acetylace histonu H3.

Výsledky: V rámci modifikací byl zjištěn statisticky významný rozdíl v acetylaci mezi alelami *01 a *05, kde acetylace *01 byla výrazně vyšší. Analýza trimethylace neposkytla statisticky průkazné výsledky. Statisticky neprůkazné jsou rovněž výsledky srovnání stavu histonových modifikací mezi generacemi. Analýza metylace DNA prokázala statisticky významné rozdíly mezi alelami *01 a *03 a *05, kde metylace DNA je u *01 vyšší než u alel *03 a *05. Srovnání rozdílů metylace DNA mezi generacemi prokázalo významné rozdíly mezi 1. generací, jako méně metylovanou oproti 3. generaci. Srovnáním exprese a modifikací nebyl zjištěn žádný statisticky významný vztah.

Klíčová slova: epigenetika, metylace DNA, histonové modifikace, HLA II. třídy, DQA1, exprese mRNA