

Geny HLA II. třídy jsou vysoce polymorfní, a to také v regulačních nekódujících genových oblastech. Polymorfismus v promotorové oblasti vytváří silný potenciál pro rozdílnou expresi jednotlivých alel. I když je známo, že množství molekul HLA II. třídy na povrchu buněk má významnou úlohu při utváření imunitní odpovědi, polymorfismus v expresi genů HLA třídy II dosud nebyl podrobně analyzován.

Cílem této práce bylo zkoumat expresi mRNA a metylaci promotorové DNA u alel genů HLA II. třídy. Byly provedeny dvě studie, které se zabývaly různými aspekty regulace.

V **části A** byla zkoumána metylace DNA u 10 alel promotoru *DQA1* a její vliv na expresi mRNA tohoto genu. DNA metylace v plné krvi byla stanovena pomocí bisulfitového sekvenování a exprese mRNA byla měřena za použití RT-qPCR. I když byly pozorovány mezialelické rozdíly v celkové metylaci (nejvíce metylované alely byly *DQA1*\*02:01 a \*04:01), nebyla pozorována očekávaná negativní korelace mezi methylační hustotou DNA promotoru *DQA1* a expresí alely. Mezialelické rozdíly v metylaci jednotlivých CpG pozic prokázány nebyly, ale domníváme se, že genetický polymorfismus v oblasti (zejména oblast upstream od pozice -400, která je téměř kompletně metylovaná ve všech alelách) může vést k různým interpretacím 5meCpG na stejné pozici v různých alelických kontextech.

V **části B** byla analyzována úroveň exprese mRNA alel genů *HLA-DQA1* a *-DQB1* v plné krvi a B lymfocytech a monocytech pomocí RT-qPCR. Transkripce genů II. třídy byla vyšší (s výjimkou alel *DQB1*\*06) a vykazovala nižší mezialelickou variaci v B lymfocytech ve srovnání s monocyty. Hierarchii exprese *DQB1* lze zobecnit vztahem  $DQB1^*06 > *03, *05 > *02$  v monocytech a  $DQB1^*06 > *02, *03, *05$  v B lymfocytech. Hierarchie exprese *DQA1* je  $DQA1^*03 > *01 \geq *02 > *05$  v monocytech a  $DQA1^*03, *05 > *01, *02$  v B lymfocytech. Vzhledem k nízkému počtu vzorků pro určité kombinace typu alel a buněk byly pouze některé z těchto výsledků statisticky významné. Isoformy CIITA jsou diskutovány jako faktory, které mohou být odpovědné za rozdílnou expresi alel HLA II. třídy v specifických buněčných typech. Nakonec jsme se pokusili objasnit vztah mezi expresí DQ dimerů a rizikem rozvoje autoimunitního diabetu.

Závěrem, tato práce potvrzuje a popisuje polymorfismus v expresi mRNA genů *HLA-DQA1* a *-DQB1* a stanovuje expresní hierarchii těchto alel v B lymfocytech, monocytech a plné krvi. Přináší profil metylace DNA promotoru genu *DQA1* a ukazuje, že metylace DNA není sama o sobě schopna vysvětlit mezialelické rozdíly v expresi. V našem zjednodušeném modelu není úroveň povrchové exprese DQ dimerů sama o sobě schopna vysvětlit jejich asociaci s T1D.