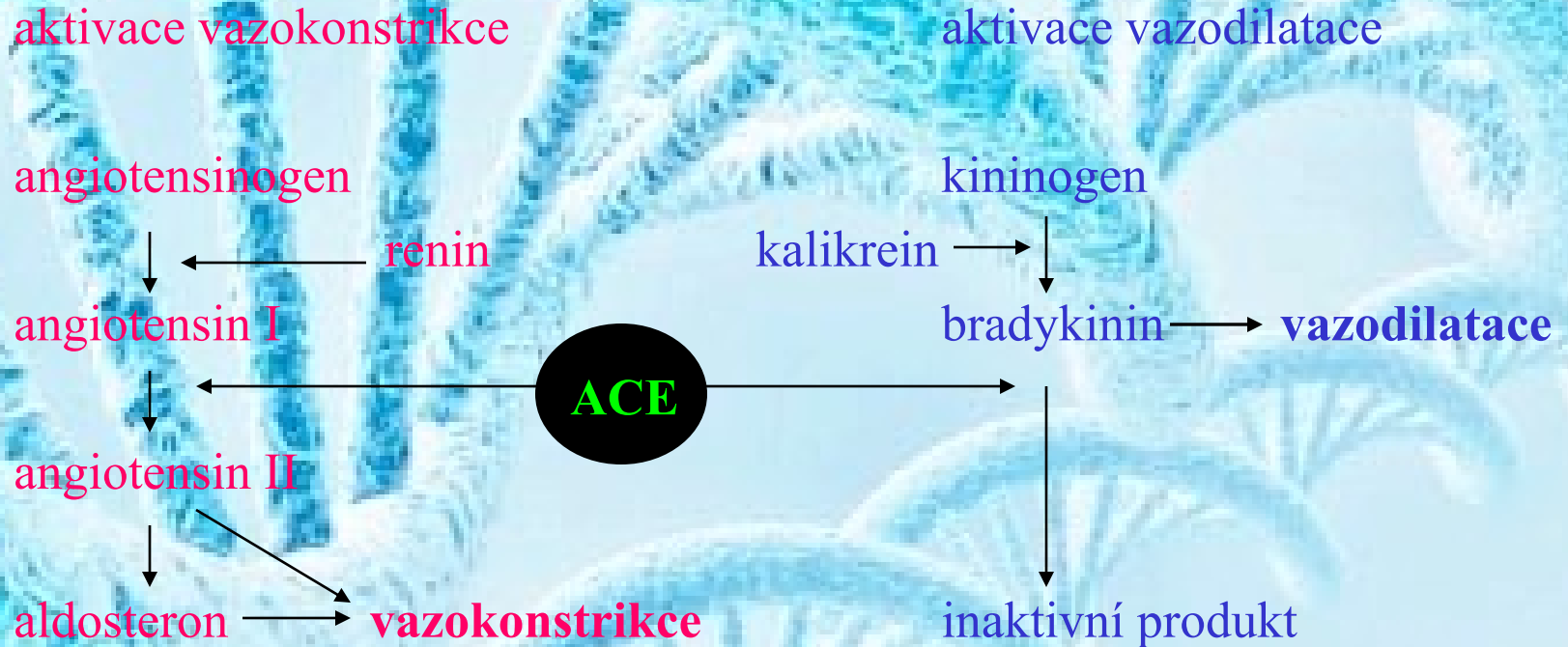




Úloha č. 2

DETEKCE I/D
POLYMORFIZMU GENU PRO
ACE

ANGIOTENSINKONVERTASA (ACE)



RENIN-ANGIOTENSINOVÝ SYSTÉM (RAS)

- úloha: udržování homeostázy

regulace krevního tlaku

řízení vylučování vody a iontů

behaviorální efekty v mozku (stimulace žízně a chuti na slané, ovlivňování paměti a učení, atd.)

- byla zjištěna interakce mezi mozkovým RAS a klasickými neurotransmiterovými systémy (systém cholinergní, noradrenergní, dopaminový, GABAergní a opioidní)

POLYMORFIZMUS I/D GENU PRO ACE

- přítomnost (I) nebo absence (D) úseku DNA v intronu 16 o délce 287 bp
- VÝSLEDNÝ GENOTYP
 - I/I – běžná varianta = wild type
 - I/D – heterozygot
 - D/D – rizikový homozygot
- **ovlivňuje plazmatickou hladinu ACE**
hladina se snižuje od genotypu DD po genotyp II
- **rizikový faktor**
aterosklerózy, hypertenze a jejích komplikací, neurodegenerativních, afektivních či kognitivních poruch a chorob (Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba)

STUDIE I/D ACE

- vztah k funkcím mozku

- Arinami et al. (1996): polymorfismus I/D ACE je jedním z genetických faktorů ovlivňujících hladinu substance P (vnímání bolesti, neurotransmitter v mozku) a může mít vztah k dispozicím k **afektivním poruchám**.
- Amouyel et al. (1996): sledoval vliv polymorfizmu I/D ACE na kognitivní funkce (čtení, schopnost soustředění) a zjistil, že frekvence alely D (genotyp DD) byla vyšší u skupiny osob s **kognitivní poruchou**.
- Richard et al (2000): potvrdil homozygotní kombinaci alel DD jako rizikový faktor **kognitivních poruch**.

POSTUP (I)

PCR - amplifikace vybraných úseků

| | | |
|-----|------|---------------------|
| | 94°C | 2,5 min |
| 30x | 94°C | 30 sek (denaturace) |
| | 59°C | 30 sek (annealing) |
| | 72°C | 30 sek (extenze) |
| | 72°C | 5 min (extenze) |
| | 10 C | hold |

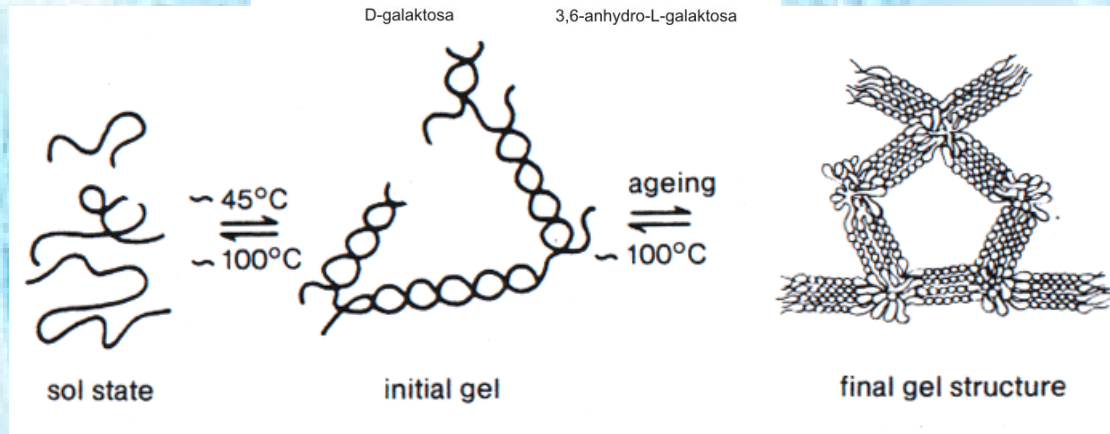
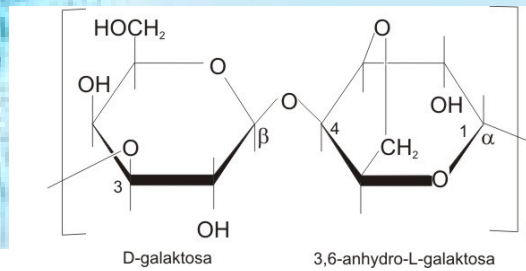


POSTUP (II)

agarózová elektroforéza

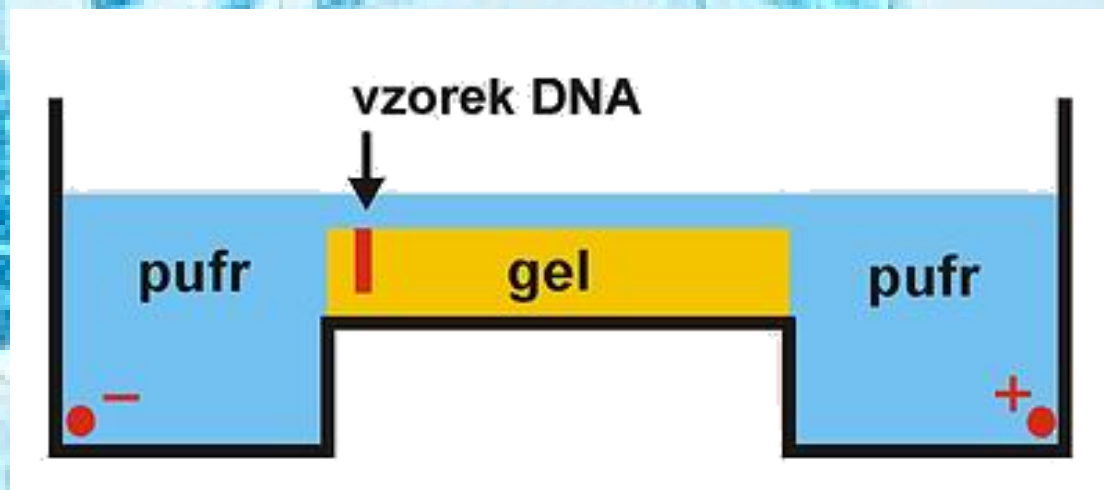
1. příprava:

agaróza + TBE + ethidium bromid → GEL



POSTUP (II)

2. elektroforéza:



VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Výsledný gel

alela I cca 490 bp

alela D cca 190 bp

