

## 7. Detekce polymorfizmu TaqI A genu pro DRD2

### Úvod

ADHD (porucha pozornosti/hyperkinetický syndrom) je multifaktoriální onemocnění podmíněné různými kandidátními geny. Hyperkinetický syndrom se vyskytuje asi u 6-10% dětské populace v poměru chlapců a dívek 3 až 10:1 (dle diagnostických kritérií). K základním symptomům patří nadměrná aktivita, nepozornost a impulzivita, výjimkou nejsou ani další přidružené psychické poruchy.

Pro pochopení multifaktoriální etiologie ADHD a komorbidních poruch je potřebné odhalit co největší počet genů, které se podílí na vzniku, vývoji a závažnosti onemocnění a identifikovat funkční polymorfismy asociované s fenotypem. V současné době je známo více než 30 genů různých polygenních systémů podílejících se na vzniku a vývoji onemocnění. Jednotlivé alely těchto genů mohou být v populaci relativně časté, protože nepředstavují klasické mutace, které vyřazují gen z funkce, ale polymorfismy, které jsou příčinou arteficiální aktivity produktu ať už jde o transkripci, translaci či o dysbalanci různých isoform výsledného proteinu.

Výzkum se zaměřuje především na geny kodující jednotlivé proteinové složky dopaminergního systému, protože některé struktury, zahrnuté do patogeneze ADHD, jsou bohaté na dopaminovou inervaci. Vyšetřuje se souvislost mezi poruchou pozornosti/hyperaktivním syndromem a polymorfismy v genech pro dopaminové receptory (DRD2, DRD3, DRD4 a DRD5), dopaminový transportér (DAT1), dopamin-b-hydroxylázu (DBH), enzym, zapojený do metabolismu dopaminu, a serotoninový transportér (5-HTT). Sleduje se přítomnost rizikových alel, hodnotí se vliv těchto rizikových alel a kombinaci vlivů alel vzájemně interagujících genů na vývoj a závažnost onemocnění a výskyt dalších komorbidit. Studium jednotlivých transmitterových systémů, které jsou do patogeneze ADHD zapojeny, může v budoucnosti pomoci při volbě vhodného psychofarmaka vzhledem k tomu, že v léčbě hyperkinetické poruchy se uplatňují látky s různým mechanismem účinku.

Byla prokázána souvislost mezi TaqI A1 polymorfismem (nosiči rizikové alely TaqI A1 v genu DRD2) a ADHD, kdy homozygoti pro tuto rizikovou alelu se vyskytují s výrazně vyšší frekvencí postižených dětí.

**Reagencie:**

**voda**

**puf**

**primer DO-1**

**primer DO2**

**dNTP**

**polymeráza**

**vzorek DNA**

**Amplifikace fragmentů:**

- Do mikrozkušavky napipetujte 24  $\mu$ l mixu a 1  $\mu$ l DNA.
- Mikrozkušavky vložte do termocykleru. Amplifikace bude probíhat dle následujícího programu:

94°C – 2,5 min.	94°C – 30 sek.	94°C – 30 sek.
1x 62°C – 30 sek.	32x 62°C – 30 sek.	1x 62°C – 30 sek.
72°C – 30 sek.	72°C – 30 sek.	72°C – 5 min.

**Restrikční analýza:**

- Do mikrozkušavky napipetujte 1  $\mu$ l TaqI pufu, 10  $\mu$ l amplifikátu a 0,8  $\mu$ l enzymu TaqI.
- Nechte inkubovat 5h při 65°C.

**Gelová elektroforéza:**

- Amplifikáty poté naneste na připravený 2% agarózový gel v elektroforetické vaně. Vanu připojte ke zdroji elektrického napětí a nechte proběhnout elektroforézu cca 60 minut při 80 V.
- Poté vyjměte gel z elektroforetické vany a vložte jej do transiluminátoru ke konečnému vyhodnocení.