

A KCNQ2 GÉN GENETIKAI VIZSGÁLATA

Horváth Karolina Dóra

Debreceni Egyetem Kossuth Lajos Gyakorló Gimnáziuma és Általános Iskolája Csengő utcai feladat ellátási hely

Bevezetés:

Az öröklött betegségek genetikai vizsgálatai fontos szerepet játszanak a diagnosztika területén. A kimutatott variáns esetében nem mindig van bizonyíték arra, hogy valóban oki tényező lehet-e, ekkor kísérletes úton kell megvizsgálni a mutáció fehérjére gyakorolt hatását. Ennek eszköze a molekuláris klónozás.

A KCNQ2 gén egy feszültségfüggő kálium csatornát kódol, amely az agyban fejeződik ki. A génben kimutatott mutációk szerepet játszhatnak egy epilepszia típus kialakulásában.

Célkitűzés:

Munkám során célom volt a KCNQ2 gén egy korábban a diagnosztikai laboratórium által egy betegben kimutatott korábban nem tesztelt mutációja (Ser113Phe) létrehozásának előkészítése a későbbi funkcionális kísérletekhez.

Anyagok és módszerek:

A vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Klinikai Genetikai Tanszékén végeztem *E. coli* sejteken, molekuláris klónozás segítségével. A rekombináns DNS egy inzert DNS-ből és egy vektorból áll. A vektor a gazda sejtben replikálódni képes, de elkülönül a gazdasejt genomjától. Erre azért van szükség, hogy szaporítható és fenntartható legyen a klónozendő DNS molekula (inzert).

A KCNQ2 gén a rendelkezésemre állt. A plazmid DNS-t hősokk segítségével juttattam be K12 TB1 sejtbe, a baktérium-DNS elegyet antibiotikum tartalmú agarokra szélesztettem, mivel a vektor ampicillin rezisztencia gént hordoz, egy éjszakán át 37 °C-on inkubáltam, majd egy különálló telepet oltottam LB tápoldatba, amit 37°C-on inkubáltam 16 órán át. A baktériumtenyészetből plazmid DNS-t izoláltam. A DNS koncentrációját lemértem, az izolálás sikerességét agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük. Ebben az izolált DNS-ben hozták később létre a Ser113Phe mutációt.

Eredmények:

A KCNQ2 gént tartalmazó vektort *E.coli*-ban sokszoroztam. A DNS koncentrációja és tisztasága megfelelő volt.

Következtetés:

Sikerrel juttattam be rekombináns DNS-t tartalmazó plazmid vektort baktérium törzsbe, ahol azt megfelelő mennyiségben sikerült létrehozni és izolálni, ezzel megalapozva a későbbi munkát.

Témavezető/felkészítő tanár:

Prof. Dr. Balogh István; egyetemi tanár-Debreceni Egyetem Klinikai Genetikai Tanszékén

Dr. Krakompergerné Aros Adrienn/ Dr. Krakomperger Zsolt, felkészítő tanár-Debreceni Egyetem Kossuth Lajos Gyakorló Gimnáziuma és Általános Iskolája Csengő utcai feladat ellátási hely