

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медико-биологический факультет

Кафедра Молекулярной биологии и генетики

РЕФЕРАТ

по дисциплине «Методы и объекты генетического анализа»

Тема: «Изучение биохимических различий между нормальной и мутантными формами – один из путей анализа неаллельных взаимодействий.»

Студентка гр. 301 _____ Коскина Я.В.

Преподаватель _____ Замарин А.А.

Волгоград – 2021

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	2
1. Мутации гемоглобина.....	Ошибка! Закладка не определена.
2.Изучение биохимических различий между нормальной и мутантными формами.	Ошибка! Закладка не определена.
Список литературы	6

Введение.

Биохимические методы изучают наследственные заболевания, обусловленные генными мутациями, а также полиморфизм по нормальным первичным продуктам генов.

Впервые эти методы стали применять для диагностики генных болезней еще в начале XX в. В последние 30 лет их широко используют в поиске новых форм мутантных аллелей. С их помощью описано более 1000 врожденных болезней обмена веществ. Наиболее распространенными среди таких заболеваний являются болезни, связанные с дефектностью ферментов, структурных, транспортных или иных белков. Для исследования берут кровь, лимфу, мочу, слюну, пот, околоплодные воды. В них изучают структуру белков, промежуточные продукты обмена веществ, определяют активность ферментов.

1. Мутации гемоглобина.

Установление первичной структуры субъединиц молекулы гемоглобина стимулировало исследования по расшифровке структуры так называемых аномальных гемоглобинов. В крови человека в общей сложности открыто около 150 различных типов мутантных гемоглобинов. Появляются мутантные формы гемоглобинов в крови вследствие мутации генов. Обычно мутации делят на 3 класса в соответствии с топографией измененного участка молекулы. Если замена аминокислоты происходит на поверхности молекулы гемоглобина, то это мутация первого класса подобные мутации обычно не сопровождаются развитием тяжелой патологии, и болезнь протекает бессимптомно исключение составляет серповидно-клеточная анемия. При замене аминокислоты вблизи гема нарушается связывание кислорода—это мутация второго класса, сопровождающаяся развитием болезни. И наконец, если замена происходит во внутреннем участке молекулы гемоглобина, говорят о третьем классе мутации; подобные мутации приводят к нарушению пространственной структуры и соответственно функции гемоглобина.

Аномальные гемоглобины, различающиеся по форме, химическому составу и величине заряда, были выделены при помощи электрофореза и хроматографии. Передающиеся по наследству изменения чаще всего являются результатом мутации единственного триплета, приводящей к замене одной какой-либо аминокислоты в полипептидных цепях молекулы гемоглобина на другую. В большинстве случаев происходит замена кислой аминокислоты на основную или нейтральную. Поскольку это замещение осуществляется в обеих полипептидных цепях одной из пар, образовавшийся аномальный гемоглобин будет отличаться от нормального величиной заряда и соответственно электрофоретической подвижностью.

2. Изучение биохимических различий между нормальной и мутантными формами.

Генные мутации, изменяющие последовательность оснований в молекуле ДНК за счет замен, выпадений или вставок одной или многих пар оснований, приводят к изменению аминокислотной последовательности в ферменте, белке. Это обуславливает потерю или снижение активности фермента.

Поэтому одним из возможных подходов, позволяющих понять причину наследственных различий между формами, является биохимический анализ генных продуктов у мутанта и в норме.

Такой анализ впервые был проведен Ингремом на аномальном гемоглобине людей, страдающих серповидноклеточной анемией, контролируемой одним геном (по данным анализа родословных). Исследование проводили методами электрофореза и "отпечатков пальцев". Последний заключается в том, что полипептидные цепи расщепляют на мелкие пептиды трипсином или хемотрипсином. Смесь этих пептидов разделяют на бумаге сначала с помощью электрофореза, затем хроматографически.

Таким образом получают *пептидные карты*, на которых в определенном порядке располагаются пятна, соответствующие отдельным пептидам. Пятна на пептидных картах гемоглобина А (HbA) здоровых людей и гемоглобина S (HbS) больных серповидноклеточной анемией практически идентичны, за одним исключением: в HbA присутствует пептид, которого нет в гемоглобине больных HbS (рис. 1, 2). Оба пептида выделили и определили в них аминокислотные последовательности. Оказалось, что в HbS в шестом положении от N-конца присутствует валин, в то время как в HbA там же стоит глутаминовая кислота. Оба белка находятся в β -цепи. Гемоглобин-первый генетически контролируемый вариант белка, у которого была расшифрована структура.

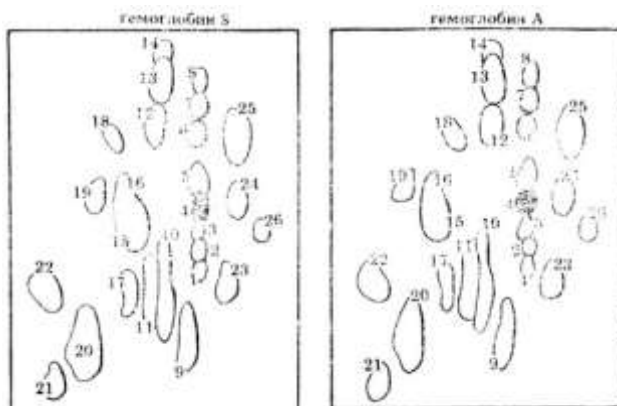


Рис.1. Пептидные карты гемоглобинов А и S. Цифрами обозначены номера пептидов

На основе анализа наследственных дефектов, контролируемых моногенно, с использованием молекулярно-генетических и биохимических методов определяют, какой белок дефектен. Это установлено для 2000 наследственных заболеваний человека, для множества мутаций у животных, растений и микроорганизмов.


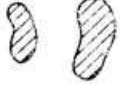

фенотип	генотип	электрофоретическая образца гемоглобина →	обнаружен гемоглобин
здоровый	Hb ^A /Hb ^A		A
гетерозиготный носитель	Hb ^A /Hb ^S		A и S
больной	Hb ^S /Hb ^S		S

Рис. 2. Электрофоретические гемоглобины здорового, больного и гетерозиготного носителя серповидноклеточной анемии

Практически любой метаболический путь в организме находится под контролем множества генов, каждый из которых определяет протекание одного из его этапов. Поэтому эффекты взаимодействия неаллельных генов, выявляющиеся в виде соответствующих расщеплений при гибридологическом анализе, изучают на уровне продуктов действия этих генов, на уровне биохимических нарушений метаболизма.

Инактивация фермента блокирует какой-либо этап метаболизма, что, как правило, сопровождается накоплением субстрата, с которым не может взаимодействовать инактивированный фермент (или этот субстрат направляется на другой метаболический путь).

Таким образом, сбалансированный, отрегулированный метаболизм нормальных клеток нарушается. У мутантов накапливаются в больших количествах определенные метаболиты или, наоборот, их количество резко уменьшается. Именно эта особенность изменения метаболизма используется для анализа биохимических механизмов неаллельных взаимодействий.

Список источников:

1. http://ximicat.com/ebook.php?file=berezov_bio.djvu&page=37
2. <http://genetiku.ru/books/item/f00/s00/z0000016/st044.shtml>
3. <https://scienceforum.ru/2018/article/2018008691>
4. <https://www.chem21.info/page/135055185233155086169103109182096200217021235135/>