

Документ подписан простой электронной подписью  
Информация о владельце:  
ФИО: Таскаев Сергей Валерьевич  
Должность: Ректор  
Дата подписания: 17.09.2025 11:02:17  
Уникальный программный ключ:  
04c19ed8bfb98f3b6cb77a486b9a8788b8322323



МИНОБРНАУКИ РОССИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)

Фонд оценочных средств по дисциплине «Действие ионизирующих излучений на  
элементарные биологические объекты» по направлению подготовки 06.03.01 «Биология»  
ФГБОУ ВО «ЧелГУ»

стр. 1

**Фонд оценочных средств  
для промежуточной аттестации  
по дисциплине (модулю)**

**Действие ионизирующих излучений на элементарные биологические  
объекты**

Направление подготовки (специальность)  
**06.03.01 Биология**

Направленность (профиль)  
**Биофизика**

Присваиваемая квалификация  
**Бакалавр**

Форма обучения  
**очная**

Год (ы) набора: 2023

Челябинск, 2025 г.

## 1. ПАСПОРТ ФОНДА ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

Направление подготовки: **06.03.01 Биология**

Направленность (профили): Биофизика

Дисциплина: **Действие ионизирующих излучений на элементарные биологические объекты**

Семестры изучения: 7

Форма промежуточной аттестации: экзамен

## 2. ПЕРЕЧЕНЬ ФОРМИРУЕМЫХ КОМПЕТЕНЦИЙ

### 2.1. Компетенции, закреплённые за дисциплиной

Изучение дисциплины «Действие ионизирующих излучений на элементарные биологические объекты» направлено на формирование следующих компетенций:

Коды компетенции (по ФГОС)	Содержание компетенций согласно ФГОС	Коды и содержание индикаторов	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине
1	2	3	4
ПК-1	Способен применять современные методы обработки, анализа и синтеза полевой, производственной и лабораторной биологической информации, правила составления научно-технических проектов и отчетов	ПК-1.1. Применяет принципы анализа информации, принципы работы современной аппаратуры и вычислительных средств. ПК-1.2. Использует теоретические знания в лабораторной работе.	<b>Знать:</b> Для достижения ПК-1.1. знать: основные методы молекулярной радиобиологии. Для достижения ПК-1.2. знать: структурные и функциональные особенности макромолекул, мембран, органелл клеток, механизмы и закономерности ответа данных структур на воздействие ионизирующего излучения, основные проблемы, тенденции и методы научных исследований в современной молекулярной радиобиологии. <b>Уметь:</b> Для достижения ПК-1.1. уметь: дифференцировать первичные механизмы реакции на облучение различных структур клетки. Для достижения ПК-1.2. уметь: качественно выполнять контрольные задания, предусмотренные дисциплиной, представлять результаты собственной деятельности в различных формах. <b>Владеть:</b> Для достижения ПК-1.1. владеть: навыками

			самообразования, работы с учебной и научной литературой.
ПК-2	Способен применять знания по биофизике для решения задач медицинской, генетической биофизики, радиобиологии и генетики	ПК-2.1. Применяет базовые представления о фундаментальных основах биофизики, современных математических методах моделирования биологических процессов. ПК-2.2. Использует современные методы обработки данных.	<b>Знать:</b> Для достижения ПК-2.1. знать: основные проблемы, тенденции и методы научных исследований в современной молекулярной радиобиологии. Для достижения ПК-2.2. знать: методологию написания научной работы. <b>Уметь:</b> Для достижения ПК-2.1. уметь: применять освоенные методы в научной и производственной деятельности. Для достижения ПК-2.2. уметь: четко ставить теоретические и практические задачи, лаконично излагать информацию и предоставлять адекватный отчет о проделанной работе. <b>Владеть:</b> Для достижения ПК-2.1. владеть: навыками работы с микроскопом, проточным цитометром. Для достижения ПК-2.2. владеть: навыками представления результатов научной деятельности.

### 3. СОДЕРЖАНИЕ ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

#### 3.1 Виды оценочных средств

№ п/п	Код компетенции/планируемые результаты обучения	Контролируемые темы/разделы	Наименование оценочного средства для текущего контроля	Наименование оценочного средства на промежуточной аттестации № задания
-------	---	-----------------------------	--	--

1	<p><b>ПК-1</b></p> <p><b>Знать:</b> Для достижения ПК-1.1. знать: основные методы молекулярной радиобиологии. Для достижения ПК-1.2. знать: структурные и функциональные особенности макромолекул, мембран, органелл клеток, механизмы и закономерности ответа данных структур на воздействие ионизирующего излучения, основные проблемы, тенденции и методы научных исследований в современной молекулярной радиобиологии.</p> <p><b>Уметь:</b> Для достижения ПК-1.1. уметь: дифференцировать первичные механизмы реакции на облучение различных структур клетки. Для достижения ПК-1.2. уметь: качественно выполнять контрольные задания, предусмотренные дисциплиной, представлять результаты собственной деятельности в различных формах.</p> <p><b>Владеть:</b> Для достижения ПК-1.1. владеть: навыками самообразования, работы с учебной и научной литературой.</p>	<p>1. Основные принципы молекулярной радиобиологии</p> <p>2. Молекулярно-клеточные механизмы малых доз. Молекулярно-клеточные механизмы малых доз.</p> <p>3. Репарация радиационных повреждений ДНК.</p> <p>4. Радиочувствительность как главный феномен биологической эффективности ионизирующих излучений.</p> <p>5. Радиационно-индуцированная нестабильность генома.</p> <p>6. Эпигенетические реакции клеток на облучение</p> <p>7. Радиационное повреждение генома митохондрий.</p>	<p>Контрольная работа (тест, ответ на вопросы), устный опрос, реферат</p>	<p>Вопросы к экзамену №1-30</p>
---	---	---	---	---------------------------------

2	<p><b>ПК-2</b>  <b>Знать:</b>  Для достижения ПК-2.1. знать: основные проблемы, тенденции и методы научных исследований в современной молекулярной радиобиологии.  Для достижения ПК-2.2. знать: методологию написания научной работы.  <b>Уметь:</b>  Для достижения ПК-2.1. уметь: применять освоенные методы в научной и производственной деятельности.  Для достижения ПК-2.2. уметь: четко ставить теоретические и практические задачи, лаконично излагать информацию и предоставлять адекватный отчет о проделанной работе.  <b>Владеть:</b>  Для достижения ПК-2.1. владеть: навыками работы с микроскопом, проточным цитометром.  Для достижения ПК-2.2. владеть: навыками представления результатов научной деятельности.</p>	<p>1. Основные принципы молекулярной радиобиологии  2. Молекулярно-клеточные механизмы малых доз.  Молекулярно-клеточные механизмы малых доз.  3. Репарация радиационных повреждений ДНК.  4. Радиочувствительность как главный феномен биологической эффективности ионизирующих излучений.  5. Радиационно-индуцированная нестабильность генома.  6. Эпигенетические реакции клеток на облучение  7. Радиационное повреждение генома митохондрий.</p>	Контрольная работа (тест, ответ на вопросы), устный опрос, реферат	Вопросы к экзамену №1-30
---	--	--	--	--------------------------

*Примечание: типовые задания, критерии и показатели оценивания в рамках текущего контроля представлены в рабочей программе дисциплины (модуля). Полные комплекты оценочных средств и контрольно-измерительных материалов хранятся на кафедре.*

### 3.2 Содержание оценочных средств

Оценочные средства промежуточной аттестации» представлены перечнем вопросов для экзамена.

#### 3.2.1 Теоретические вопросы к экзамену

##### 1. Основные принципы молекулярной радиобиологии. Принцип попадания.

Ответ: Принцип попадания. Принцип исходит из физических свойств ИИ (дискретности, квантованности и вероятностного распределения энергии в пространстве). Ионизирующие излучения обладая малой объемной плотностью переносят энергию в дискретном виде

"концентрированными порциями". При этом, фотоны рентгеновского или  $\gamma$ -излучения, ускоренные электроны или тяжелые заряженные частицы обладают энергией, величина которой значительно превосходит энергию любой химической связи. Во время физической стадии происходят процессы поглощения, перераспределения и деградации энергии. Энергия поглощенных живой системой фотонов или заряженных частиц полностью прямо или косвенно растрачивается на возбуждение и ионизацию атомов и молекул. При этом вероятность переноса энергии к молекуле зависит не от ее химической структуры, а от суммарной электронной плотности. При действии ИИ во время ионизации высвобождаются электроны, которые вызывают поляризацию молекул воды и стабилизируются до состояния гидратированных электронов, способных диффундировать на значительные молекулярные расстояния и эффективно взаимодействовать с молекулярным кислородом и другими молекулами. Важную роль в лучевом поражении клетки играет кислород, который определяет после облучения клетки образование избыточных концентраций активных форм кислорода, оксида азота, пероксинитрита, первичных продуктов перекисного окисления липидов, токсических окислительных аддуктов ДНК и других.

## **2. Принцип мишени. Теория мишени. Понятие о критических структурах клетки.**

Ответ: Теория мишени. Основывается не только на гетерогенности структуры, функции и ответов клеточных элементов на попадание ИИ в клетку, но и значимости этих событий для судьбы клетки. Важно отметить, что при облучении клетки ИИ может вызвать изменение любой молекулы различных клеточных структур. Возбужденными и ионизированными оказываются белки и нуклеиновые кислоты, липиды и углеводы, молекулы воды и другие вещества. Однако биологическая значимость этих изменений для клетки различна. Ядерная ДНК является основной клеточной мишенью для ионизирующих излучений. С использованием микролучей, способных облучать отдельные компоненты клетки, получены прямые доказательства, что именно хромосомная ДНК является основной клеточной мишенью для ИИ. Во-вторых, на линиях клеток и животных, генетически дефицитных по ответу на повреждение ДНК, подтверждена ключевая важность повреждений ядерной ДНК для развития радиобиологических эффектов. В-третьих, получены доказательства в отношении большей радиобиологической эффективности радионуклидов, инкорпорированных в ядерную ДНК.

## **3. Принцип усиления первичных радиационных повреждений в критических структурах - мишенях.**

Ответ: Реакция усиления первичных радиационных повреждений в мишенях. Если первичные радиационные повреждения не репарированы и локализованы в структурной части гена (мутации), то в результате его экспрессии синтезируются сотни и тысячи молекул мутантных белков, нарушающих функционирование клетки или вызывающих изменения, несовместимые с ее жизнью. Последующий этап усиления первичных повреждений ДНК может быть связан с их передачей (наследованием) потомкам материнских клеток, т.е. увеличения числа несущих повреждения клеток. Так же развитие оксидативного процесса в мембранах, цепных реакций окисления представляет собой механизм усиления первичных повреждений, завершающийся необратимой окислительной деградацией мембранных структур клетки. Мембраны наиболее подвержены окислительной деградации, так как содержат ненасыщенные жирные кислоты (такие, как линоленовая, арахидоновая др.) фосфолипидов, чрезвычайно чувствительных к окислению. Большое содержание полиненасыщенных жирных кислот в фосфолипидах определяет высокую способность БМ к цепным реакциям окисления и образованию новых инициаторов окисления, обладающих оксидантной активностью

**4. Реакция цепного окисления липидов, инициируемая ионизирующими излучениями. Значение для жизнедеятельности клетки.**

Ответ: Реакция цепного окисления липидов, инициируемая ионизирующими излучениями, играет важную роль в патологии и гибели клетки. Она способствует массовому накоплению избытка токсических продуктов окисления в связи с их многократным воспроизведением. Реакция окисления повторяется многократно, но протекает уже без участия поглощения кванта энергии. Цепная реакция — это каталитическая циклическая реакция самоускорения, в которой катализатором являются свободные радикалы. Инициирование цепной реакции начинается с того, что в липидный слой БМ проникают активные радикалы, например  $\text{OH}\cdot$ . В процессе облучения происходит активация взаимодействия активных радикалов с полиненасыщенными жирными кислотами (ЛН) и образование липидных радикалов  $\text{L}\cdot$ . Последние вступают в реакцию с растворенным в среде молекулярным кислородом (более эффективно реакция протекает с активными формами кислорода - АФК и пероксинитритом). При этом образуются прооксиданты свободные радикалы липидов: алкоксил -  $\text{LO}\cdot$  или пероксил -  $\text{LO}\cdot_2$ , радикалы, которые в свою очередь взаимодействуют с соседними молекулами полиненасыщенных фосфолипидов БМ и образуют гидроперекись липида  $\text{LOOH}$  и вновь (стадии "продолжения" и "развития" цепи) липидный радикал  $\text{L}\cdot$ . Гидроперекись -  $\text{LOOH}$  и образованные ею конечные продукты перекисного окисления липидов ППОЛ содержатся в клетке в норме на стационарном уровне, не превышающем 1 мкМ. При действии ионизирующих излучений этот уровень возрастает и вследствие многократного накопления образуется избыток ППОЛ, которые оказывают генотоксическое действие на хромосомы и ДНК, вызывает задержку клеточного деления и гибель клетки. Оксидативная дегградация БМ и ДНК не ограничивается действием липидных радиотоксинов. Так же и другие клеточные компоненты, радиационные мишени могут быть непосредственно атакованы различными водо- и жирорастворимыми прооксидантами.

**5. Принцип восстановления повреждений клетки. Системный ответ клетки на повреждения.**

Ответ: Принцип восстановления повреждения мишеней Первичные повреждения ДНК сами по себе не представляют опасности для клетки, так как в большинстве случаев репарируются. У человека обнаружено более 130 генов, участвующих в репарации повреждений ДНК. Восстановление ДНК начинается практически мгновенно после возникновения повреждения. Различные изменения оснований восстанавливаются в течение 10 мин. - 1 часа. Период полувосстановления ОНР составляет менее 10 мин., а ДНР более 0,5 часа. Несмотря на высокую эффективность систем репарации, некоторые первичные повреждения избегают восстановления и вызывают стойкие повреждения ДНК. Неполная репарация (репарация с ошибкой) двунитевых разрывов наилучшим образом объясняет реакции клетки на облучение. Активность реакции ДНК на повреждение и процесс ее репарации являются главными детерминантами эффектов дозы/мощности дозы и качества излучения на уровне клетки.

**6. Классификация повреждений ДНК, вызванных ионизирующим излучением. Окислительная модификация оснований.**

Ответ: Условно все повреждения ДНК, индуцируемые ионизирующей радиацией, можно разделить на две группы. К первой группе можно отнести одиночные (односайтовые) повреждения: модификация оснований, однонитевые разрывы, "щелочно-лабильные" сайты (включая места, лишённые оснований). Вторую группу составляют локальные множественные повреждения, которые включают скопление (кластеры) одиночных повреждений в локальном участке ДНК, двунитевые разрывы, межмолекулярные сшивки. Радиационный выход повреждений второй группы увеличивается с повышением линейной

передачи энергии (ЛПЭ) излучения, и эти повреждения играют доминирующую роль в радиационной гибели, возникновении хромосомных и генных мутаций, трансформации клеток. Эффекты взаимодействия ДНК с излучением можно классифицировать в соответствии с вероятностью индукции повреждений в одной нити ДНК (например, односторонний разрыв или замена основания), в двух нитях молекулы ДНК на близком расстоянии друг к другу (например, двусторонний разрыв) или индукции нарушений структуры еще более сложного типа (например, двустороннего разрыва с близко расположенным смежным повреждением).

Модификация оснований. Главный компонент радиационных повреждений ДНК в количественном отношении – химическая модификация оснований. Примерно до 70–85% этих модификаций, являются результатом действия активных форм кислорода, генерируемых радиацией в среде окружения ДНК. В водном окружении основания ДНК более подвержены действию радикалов, чем сахар, и поэтому в облученной ДНК количество поврежденных оснований гораздо больше, чем повреждений сахара. Радиационный выход поврежденных оснований ДНК обусловлен степенью оксигенации и температурой среды, наличием в клеточной среде радиозащитных компонентов и пролиферативной активностью облучаемых клеток. В ДНК клеток млекопитающих,  $\gamma$ -облученных в аэробных условиях, образуются около 12 различных остатков деструкции тимина, значительная часть которых высвобождается в результате разрыва N-гликозидной связи. Существенную долю составляют тиминовые гликоли. Из других модификаций тимина можно указать - гидроксиметилурацил, 5-гидрокси-5-метилгидантион, N<sub>1</sub>-формаид-мочевину и мочевину. Многие аддукты цитозина, так же как и тимина, высвобождаются из облученной ДНК. Однако с клеточной ДНК остаются стабильно связанными такие модификации, как урациловые гликоли (*cis*- и *trans*-), 5,6-дигидрокси-5,6-дигидроурацил, 5-гидроксицитозин) и 3-карбамил-4-гидроксигидантоин а, также остатки мочевины. Наиболее стабильными радиационными модификациями пуринов являются 8-оксо-7,8-дигидроаденин и 8-оксо-7,8-дигидрогуанин (8-гидроксигуанин). К стабильным радиационным модификациям пуринов, формируемым в результате внутримолекулярной циклизации 2'-дезоксирибозо-пуринов, можно отнести также 8,5'-цикло 2'-дезоксаденозин и 8,5'-цикло-2'-дезоксигуанозин.

Радиационно-модифицированные основания в ДНК клеток в пострadiационный период эффективно репарируются в основном с помощью системы эксцизионной репарации оснований.

## **7. Классификация повреждений ДНК, вызванных ионизирующим излучением. Односторонние и двусторонние разрывы.**

Ответ: Условно все повреждения ДНК, индуцируемые ионизирующей радиацией, можно разделить на две группы. К первой группе можно отнести одиночные (односайтовые) повреждения: модификация оснований, односторонние разрывы, "щелочно-лабильные" сайты (включая места, лишённые оснований). Вторую группу составляют локальные множественные повреждения, которые включают скопление (кластеры) одиночных повреждений в локальном участке ДНК, двусторонние разрывы, межмолекулярные сшивки. Радиационный выход повреждений второй группы увеличивается с повышением линейной передачи энергии (ЛПЭ) излучения, и эти повреждения играют доминирующую роль в радиационной гибели, возникновении хромосомных и генных мутаций, трансформации клеток. Эффекты взаимодействия ДНК с излучением можно классифицировать в соответствии с вероятностью индукции повреждений в одной нити ДНК (например, односторонний разрыв или замена основания), в двух нитях молекулы ДНК на близком расстоянии друг к другу (например, двусторонний разрыв) или индукции нарушений структуры еще более сложного типа (например, двустороннего разрыва с близко расположенным смежным повреждением). Односторонние разрывы в ДНК - один из

главных структурных повреждений ДНК, индуцируемых ИИ. Они довольно гетерогенны, как по концевым группам, так и по скорости пострадиационной репарации. Разная скорость репарации разрывов обусловлена не только различной химической природой их концевых групп, но и доступностью этих повреждений в составе хроматина для ферментов репарации. Большинство ОНР ДНК возникают в результате повреждения фосфодиэфирного остова оснований и в значительной мере после окисления углеродных атомов (С1' и С4') дезоксирибозы свободными радикалами. В формировании разрывов и их пострадиационной репарации важна природа концевых групп разрывов. Некоторая часть ОНР, хотя имеет те же самые концевые группы, формируется с нуклеотидными брешами. Регистрируется также незначительное количество разрывов, несущих на 5'-концах фосфатные группы, а на 3'-конце – дезоксирибозу без основания. В ряде случаев при ионизации или окислении свободными радикалами дезоксирибозы в составе ДНК происходит формирование малондиальдегида, который может высвободиться из ДНК с формированием разрыва полинуклеотидной цепи.

Формирование значительной части ЛМП ДНК, включая ДНР, происходит за счет прямого действия радиации. ДНР могут возникать и в результате двух и более локальных одиночных повреждений на двойной спирали. Если даже нет сформировавшегося ДНР, он может быть спровоцирован в процессе репарации участков с множественными повреждениями в ДНК. Но ДНР не возникают в результате накопления случайных ОНР. Формирование ДНР за счет накопления ОНР может происходить только, если ОНР появляются на противоположных нитях на расстоянии друг от друга от 2 до 20 нуклеотидов. ДНР репарируются с наименьшей скоростью. Период 50%-ного восстановления ДНР ДНК в разных клетках составляет от 2 до 4 ч пострадиационного времени. Однако процесс полного восстановления этих повреждений может продолжаться и до 24 ч. Ошибочная репарация ДНР в кодируемых последовательностях является источником хромосомных и генных мутаций. Однако ошибочная репарация ДНР, как и других повреждений, в некодируемых последовательностях ДНК диплоидных соматических клеток многоклеточных организмов, в большинстве случаев является безвредной. Соотношение количества ОНР и ДНР ДНК при действии ИИ может соответствовать значениям 10-50 в зависимости от условий облучения клеток и типа излучения. При действии радиации с большой плотностью ионизации значение этого соотношения существенно уменьшается за счет увеличения доли ДНР

## **8. Классификация повреждений ДНК, вызванных ионизирующим излучением. Щелочно-лабильные сайты.**

Ответ: Условно все повреждения ДНК, индуцируемые ионизирующей радиацией, можно разделить на две группы. К первой группе можно отнести одиночные (односайтовые) повреждения: модификация оснований, одностранные разрывы, "щелочно-лабильные" сайты (включая места, лишённые оснований). Вторую группу составляют локальные множественные повреждения, которые включают скопление (кластеры) одиночных повреждений в локальном участке ДНК, двунитевые разрывы, межмолекулярные сшивки. Радиационный выход повреждений второй группы увеличивается с повышением линейной передачи энергии (ЛПЭ) излучения, и эти повреждения играют доминирующую роль в радиационной гибели, возникновении хромосомных и генных мутаций, трансформации клеток. Эффекты взаимодействия ДНК с излучением можно классифицировать в соответствии с вероятностью индукции повреждений в одной нити ДНК (например, одностранный разрыв или замена основания), в двух нитях молекулы ДНК на близком расстоянии друг к другу (например, двунитевой разрыв) или индукции нарушений структуры еще более сложного типа (например, двунитевого разрыва с близко расположенным смежным повреждением).

Щелочно-лабильными сайтами (поврежденными местами) принято называть такие

структурные изменения в молекуле ДНК, которые при увеличении рН среды до щелочных значений превращаются в разрывы полинуклеотидных цепей. Щелочно-лабильные сайты формируются в результате радиолиза или свободнорадикального окисления молекулы дезоксирибозы в С1', С2' и С4'-положениях атомов углерода или деструкции и отщепления основания. Так, атака свободными радикалами дезоксирибозы может приводить к отщеплению неповрежденного основания и к превращению сахара в дезоксирибоную кислоту. Вытеснение основания происходит и при окислении С4' с образованием 4-кетодезоксирибоната. При обоих этих повреждениях полинуклеотидные цепи не разрываются, однако в случае последующего увеличения рН среды до щелочных значений по местам этих повреждений возникают разрывы цепей. Большую часть щелочно-лабильных повреждений составляют места депуринизации и депиримидинизации (АП-сайты), которые возникают в результате разрыва М-гликозидной связи между основанием и дезоксирибозой. Щелочно-лабильные сайты или АП-сайты в ДНК также могут формироваться в результате спонтанного гидролитического отщепления оснований, так и удаления химически модифицированных оснований N-гликозилазами (ферменты начальной ступени репарации).

## **9. Классификация повреждений ДНК, вызванных ионизирующим излучением.**

### **Локальные множественные повреждения.**

Ответ: Условно все повреждения ДНК, индуцируемые ионизирующей радиацией, можно разделить на две группы. К первой группе можно отнести одиночные (односайтовые) повреждения: модификация оснований, однонитевые разрывы, "щелочно-лабильные" сайты (включая места, лишенные оснований). Вторую группу составляют локальные множественные повреждения, которые включают скопление (кластеры) одиночных повреждений в локальном участке ДНК, двунитевые разрывы, межмолекулярные сшивки. Радиационный выход повреждений второй группы увеличивается с повышением линейной передачи энергии (ЛПЭ) излучения, и эти повреждения играют доминирующую роль в радиационной гибели, возникновении хромосомных и генных мутаций, трансформации клеток. Эффекты взаимодействия ДНК с излучением можно классифицировать в соответствии с вероятностью индукции повреждений в одной нити ДНК (например, однонитевой разрыв или замена основания), в двух нитях молекулы ДНК на близком расстоянии друг к другу (например, двунитевой разрыв) или индукции нарушений структуры еще более сложного типа (например, двунитевого разрыва с близко расположенным смежным повреждением).

Образование локальных множественных повреждений (ЛМП) на участках ДНК играет доминирующую роль в радиационной гибели, возникновении хромосомных, генных мутаций и неопластической трансформации клеток. Формирование значительной части ЛМП ДНК, включая ДНР, происходит за счет прямого действия радиации. ЛМП ДНК в пострadiационный период подвергаются репарации в клетках более сложными путями, чем односайтовые повреждения. В их репарацию могут быть вовлечены различные системы в зависимости от типа и сложности повреждения: системы негомологичной рекомбинации, эксцизионной репарации нуклеотидов или оснований. В основе механизмов, ведущих к образованию большинства ЛМП, лежит возникновение кластеров повреждений в результате прохождения трека ионизации в пределах локального объема или атаки менее защищенных белками хроматина участков клеточной ДНК множеством свободных радикалов. Прохождение высокоэнергетической частицы или трека ионизации  $\gamma$ -кванта через нити хроматина может вызвать ЛМП в двойной спирали ДНК, которые включают ДНР, ОНР, модификации оснований, межмолекулярные сшивки (ДНК – ДНК, ДНК – белок) и другие повреждения. Таким образом, ЛМП ДНК можно рассматривать как комплексные повреждения, которые охватывают участки меньшей или большей длины двойной спирали. В составе ЛМП могут формироваться и одноцепочечные участки с

нарушением вторичной структуры ДНК. Появление таких участков обусловлено не только повреждениями нескольких оснований, но и потерями олигонуклеотидов из одной нити при сохранении целостности второй.

#### **10. Репарация ДНК. Этапы и значение репарации. Факторы, оказывающие влияние на эффективность репарации.**

Ответ: Механизмы репарации ДНК можно подразделить на несколько категорий. Упрощенная классификация может быть основана на способности ферментов использовать комплементарность оснований в структуре ДНК для облегчения репарации поврежденного участка. Так, повреждения только одной цепи (измененные основания, одностранные разрывы) могут быть устранены или модифицированы путем повторного синтеза с использованием неповрежденной цепи в качестве матрицы. Если повреждены обе нити молекулы ДНК, причем на близком расстоянии друг от друга (двустранные разрывы, сшивки), то подобные нарушения структуры репарируются значительно труднее, с использованием различных ферментативных процессов. Для успешной репарации сложных повреждений могут потребоваться ферменты, действующие по нескольким направлениям. Ферменты репарации ДНК можно охарактеризовать как клеточные белки, непосредственно воздействующие на поврежденную ДНК с целью восстановления ее правильной последовательности и структуры. На начальных этапах распознавания и репарации специфических форм повреждения ДНК функционируют относительно специализированные ферменты. Так, ДНК-гликозилазы катализируют расщепление связей между сахарными остатками ДНК и ее основаниями, причем только в случае изменения или повреждения последних. Кроме того, имеется несколько разных видов гликозилаз, которые распознают химически различные формы повреждений оснований. Ферменты, которые осуществляют нормальный метаболизм ДНК, тоже участвуют в процессах репарации многих типов повреждений. Это, например, ДНК-полимеразы, участвующие в синтезе новых цепей ДНК, и ферменты, сшивающие фрагменты ДНК в единую цепь (ДНК-лигазы). Идентифицировано несколько типов ДНК-полимераз и лигаз. Полагают, что они играют различную роль в нормальном метаболизме ДНК и что только некоторые из них активны при ее репарации.

Простейшие процессы репарации напрямую ликвидируют повреждение. Например, у многих организмов (но не у млекопитающих), имеется фермент, который непосредственно фотореактивирует димеризацию пиримидиновых оснований, вызванную УФ. Сходным образом, фермент O<sup>6</sup>-метилгуанин-метилтрансфераза прямо удаляет метильные группы, образованные в ДНК канцерогенными алкилирующими веществами. Однако большинство типов повреждений требует совместного действия ряда ферментов, формирующих совокупность репаративных путей.

#### **11. Репарация ДНК. Эксцизионная репарация оснований.**

Ответ: ЭРО восстанавливает большинство одностранных разрывов ДНК и удаляет повреждения оснований ДНК, не вызывающие сильного нарушения вторичной структуры, которые возникают в результате дезаминирования, метилирования или потери оснований, атаки свободных радикалов кислорода или ионизации. Повреждение индивидуальных оснований ДНК может быть исправлено просто путем их удаления, зачисткой сайта, и повторным синтезом. В этом процессе, называемом эксцизионной репарацией оснований, ДНК-гликозилаза удаляет поврежденное основание, ДНК-эндонуклеаза "надрезает" нить ДНК, сахаро-фосфатные остатки удаляются фосфодиэстеразой, а полимеразы заполняют брешь, используя основания противоположной нити в качестве матрицы. Поэтому для обеспечения корректной репарации даже единственного поврежденного основания требуется несколько различных ферментов. Последний этап рассмотренных процессов может также использоваться для восстановления одностранных разрывов ДНК.

ЭРО начинается с разрезания N-гликозидной связи между поврежденным основанием и дезоксирибозой ферментом ДНК- гликозилазой, что приводит к высвобождению поврежденного основания и оставляет апуриновый/апиримидиновый сайт (АП). АП-лиаза разрезает 3'-конец АП-сайта (иногда эту функцию выполняет так называемая бифункциональная ДНК гликозилаза), а АП-эндонуклеаза (АПЕ) разрезает 5'-конец АП-сайта, что приводит к удалению дезоксирибозо-фосфатного остатка.

В случае функционирования бифункциональной ДНК-гликозилазы или монофункциональной, после которой остается немодифицированный АП-сайт, имеет место так называемая "короткая" ЭРО. В этом случае ДНК полимераза  $\beta$  ( $Pol \beta$ ) и ДНК лигаза III ( $Lig III$ ) восстанавливают пробел одного нуклеотида. Если же после действия монофункциональной ДНК гликозилазы остается модифицированный АП-сайт, имеет место так называемая "длинная" ЭРО. Удаление одонитевого участка длиной 2-8 нуклеотидов с 5'-конца АП-сайта осуществляется эндонуклеазой FEN-1. Индуцированные излучением разрывы в ДНК, как правило, не воссоединяются путем простого сшивания ДНК-лигазой, поскольку в месте разрыва имеется повреждение сахарного остатка и, часто, потеря основания. Эксцизионная репарация оснований, вообще говоря, ограничена единичным основанием ДНК и протекает очень быстро; однако в клетках млекопитающих обнаружено относительно небольшое количество более длинных участков (patches) репарации, включающих до шести оснований, что указывает на наличие и второго пути - репарации "длинными участками". Многие ДНК-гликозилазы удаляют из ДНК измененные основания одного типа; например, урацил-специфичная ДНК-гликозилаза удаляет только урацил и продукты его окисления. Однако некоторые ферменты эксцизионной репарации оснований обнаруживают меньшую специфику к субстрату.

## **12. Репарация ДНК. Эксцизионная репарация нуклеотидов.**

Ответ: ЭРН начинается с узнавания повреждений ДНК. В узнавании повреждений ДНК принимает участие белок ХРА, который в несколько сотен раз более эффективно связывается с поврежденной дуплексной ДНК и с одонитевыми фрагментами, чем с неповрежденной ДНК. На этапе узнавания повреждений может участвовать и транскрипционный фактор AP-1, который способствует репарации. Эндонуклеазы разрезают поврежденную нить ДНК на расстоянии 25-30 нуклеотидов друг от друга. Далее белки и эндонуклеазы открепляются от ДНК, а вместо них прикрепляются ДНК-полимеразы, репликативный фактор и др., которые осуществляют репаративный синтез ДНК. Завершается ЭРН лигазным зашиванием синтезированной нити ДНК. Лица, наследующие мутантные гены эксцизионной репарации нуклеотидов, как правило, чувствительны к солнечному свету и химическим агентам, которые вызывают значительные повреждения в ДНК; при этом относительно небольшое количество индивидуумов обнаруживают перекрестную чувствительность и к ионизирующему излучению.

Неожиданным оказалось недавнее открытие, что некоторые ферменты эксцизионной репарации нуклеотидов участвуют и в процессе нормальной экспрессии генов (транскрипции). Таким образом, когда гены находятся в состоянии активной экспрессии, для них требуется выполнение некоторых функций, характерных и для репарации: например, расплетание двойной спирали ДНК. При этом, по-видимому, используются те же самые белки.

ЭРН происходит в различных частях генома с разной скоростью. Активно экспрессируемые гены репарируются намного быстрее, чем остальная часть генома. В настоящее время выяснены детали этого процесса. Полагают, что если повреждение возникает в активно экспрессируемом гене, то белки, участвующие в этом процессе (комплекс транскрипции, содержащий РНК-полимеразу II) прекращают функционировать, в результате чего "застопоренный" комплекс действует как сигнал для перехода белков репа-

рации к участку повреждения. Подобная двустадийная система репарации обнаружена в различных организмах - от бактерий до человека, причем для бактерий идентифицирован белок, отвечающий за передачу сигнала о направлении репаративной системы к сайту повреждения

### **13. Репарация ДНК. Гомологичная рекомбинационная репарация.**

Ответ: Гомологичная рекомбинационная репарация осуществляет точное восстановление двунитевых разрывов и сшивок ДНК, используя находящиеся в сестринских хроматидах или в гомологичных хромосомах участки гомологии длиной более 200 п.о.. Восстановление повреждения с помощью гомологичной рекомбинации основано на факте идентичности последовательностей в некоторых участках ДНК. Такие участки существуют, например, в материнских и отцовских копиях хромосом и в продублированной хромосоме (сестринские хроматиды) после репликации ДНК. Последовательность в ДНК, из которой извлекается информация для репарации поврежденной копии, должна быть идентична на сравнительно протяженном участке (более 200 пар оснований). При рекомбинации свободный ("обломанный") 3'-конец нити ДНК встраивается в неповрежденный двунитевой гомолог, и повторный синтез на этой матрице восстанавливает поврежденную нить. Разделение объединенного продукта этой реакции требует действия ферментов, разрезающих и воссоединяющих вновь синтезированные нити ДНК. В зависимости от того, какие нити разрезаны и воссоединены, эта реакция может также кончаться кроссинговером (обменом генетической информацией между двумя нитями ДНК). В ГРР участвует два комплекса: комплекс белков RAD51, RAD52, RAD54, RP-A, BRCA1, BRCA2 и комплекс белков RAD50, MRE11, XRS2. Первый функционирует в течение фазы S, а второй - преимущественно в поздней фазе S и фазе G<sub>2</sub>. Неизвестно, работают ли эти комплексы вместе или независимо друг от друга.

Поиск гомологии и обмен нитей ДНК во время ГРР происходит следующим образом. Сначала участок ДНК, содержащий ДР, подвергается деградации с помощью эндонуклеазы и геликазы, что приводит к образованию одностранных участков со свисающими 3'-концами. Затем RAD51 вместе с одностранным ДНК образует нуклеопротеиновый филамент, который ищет гомологичную ДНК, после чего происходит процесс слияния молекул гомологичной ДНК и обмен нитей. При этом белок RAD52 катализирует захват комплементарной одностранным ДНК и выступает в качестве медиатора между RAD51 и репликативным белком А (RP-A усиливает эффективность ГРР в несколько раз) во время обмена нитей ДНК. ГРР требует функционирования ДНК-полимеразы  $\epsilon$  (Pol  $\epsilon$ ) и так называемой резолвазы, разъединяющей слившиеся гомологичные молекулы и образующей интактные двунитевые молекулы ДНК.

### **14. Репарация ДНК. Негомологичное соединение концов нитей ДНК. Понятие радиочувствительности. Атаксия - телеангиэктазия как заболевание, сопровождающееся повышенной радиочувствительностью.**

Ответ: "Незаконная" рекомбинация - обычный механизм воссоединения разорванных последовательностей ДНК в клетках млекопитающих. Когда в геноме интегрируются посторонние молекулы ДНК, или же когда анализируются точки разрывов генома, ведущие к образованию делеций и перестроек, то оказывается, что для подобных геномных сайтов характерна невысокая степень гомологии последовательностей. В таком случае, по-видимому, включается более чем один путь репарации. Следует отметить, что "незаконная" рекомбинация является механизмом быстрого воссоединения концов разорванной ДНК, при котором нет необходимости в комплексных механизмах гомологичной рекомбинации. Возможно, что при большом количестве повторяющихся последовательностей в ДНК клеток млекопитающих процессы гомологичной

рекомбинации, проходящие с обычной частотой, приводили бы к губительному для клетки уровню перестройки генома. В то время как репарация ДНК путем гомологичной рекомбинации восстанавливает структуру этой молекулы с малым количеством ошибок, "незаконная" рекомбинация с весьма высокой вероятностью приводит к заменам и/или потерям последовательности оснований ДНК.

Известно несколько вариантов НСКН, один из которых является точным и не приводит к потере информации, свойственной последовательностям оснований, другие сопровождаются утратой части генетического материала в результате включения микрогомолгий в места соединений нитей ДНК. Механизм НСКН более зависим от состояния концов нитей, поскольку многие двунитевые разрывы ДНК имеют несовместимые или поврежденные основания, которые потенциально могут блокировать соединение. В НСКН участвуют комплекс DNA-РК и комплекс RAD50, которые работают во время фазы  $G_1$  и ранней фазы  $S$  клеточного цикла. В состав комплекса DNA-РК входит по крайней мере четыре белка: серин-треониновая протеинкиназа (DNA-РКс), белки Ku70 и Ku80, а также белок KARP-1. Количество белков Ku70, Ku80 и DNA-РКс в клетке остается практически неизменным в течение цикла, и активность комплекса зависит от его посттрансляционной модификации. Для индукции экспрессии субъединицы комплекса KARP-1 требуется p53. Поэтому, когда облучение клеток индуцирует  $G_1$ -задержку клеточного цикла, происходит индукция НСКН и ингибирование ГРР в неподходящей для нее фазе клеточного цикла. Белки Ku70 и Ku80 связываются с разорванными концами ДНК, защищают их от нуклеазной деградаци и удерживают рядом друг с другом, способствуя эффективному воссоединению. Комплекс белков Ku70/Ku80 прикрепляет к месту воссоединения DNA-РКс и активирует ее киназную активность. При этом молекула DNA-РКс, находящаяся на одном конце разрыва, фосфорилирует DNA-РКс, находящуюся на другом конце, что инактивирует киназную активность DNA-РКс. Поскольку DNA-РК является активатором p53, то по мере прохождения НСКН уровень p53 будет снижаться, что будет инактивировать НСКН и активировать гомологичную рекомбинацию.

### **15. Гены, определяющие радиочувствительность. Ген ATM.**

Ответ: Ген ATM кодирует протеинкиназу ATM (ataxia-telangiectasia mutated), играющую ключевую роль в ответе клетки на повреждение ДНК – возникновение двунитевых разрывов при действии генотоксических агентов или конформационных изменений при действии хроматин-ремодулирующих агентов. Ген кодирует белок ATM - серин/треониновая протеинкиназа. Эта киназа фосфорилирует несколько ключевых белков, которые инициируют остановку клеточного цикла, запускают репарацию ДНК или апоптоз. Некоторые из этих белков, в том числе p53, Chk2 и вариант гистон H2AX являются опухолевыми супрессорами.

### **16. Гены, определяющие радиочувствительность. Гены VLM и FANCA.**

Ответ: Ген FANCA кодирует белок, участвующий в работе системы репарации ДНК. Разрывы и повреждения мешают нормальной активности ДНК и ее удвоению при делении клетки. Белок FANCA является частью большого белкового комплекса, состоящего из 9 белков типа FANС. Мутации в гене FANCA приводят к анемии Фанкони — редкому наследственному заболеванию, которое характеризуется врожденными аномалиями строения тела и органов, а также высоким риском развития рака у пациентов. Ген FANCA находится на 16-й хромосоме. Белок FANCA является частью функционального комплекса из 9 белков типа FANС, который играет решающую роль в активации и регуляции системы репарации ДНК. FANCA катализирует разделение двух цепей молекулы ДНК. Ген относится к так называемым «генам домашнего хозяйства».

Ген VLM кодирует один из белков семейства геликаз, необходимый для предотвращения

мутаций геномной ДНК в активно делящихся клетках. Поломки гена приводят к развитию синдрома Блума. Ген VLM располагается в локусе 15q26, в длинном плече 15-й хромосомы, и экспрессируется во всех делящихся клетках. VLM – внутриядерный белок из семейства геликаз. Как и все геликазы, эти белки способны связываться с ДНК и расплетать ее молекулу на две отдельные нити. Наиболее изученная функция белка VLM – его участие в механизмах восстановления двуцепочечных разрывов ДНК и гомологичной рекомбинации. В этих процессах VLM является антирекомбиназой, так как распускает сцепки четырех нитей ДНК (т.н. структуры Холлидея и G-квадруплексы), предотвращая обмен фрагментами между ними. При нарушении продукции белка VLM в клетках наблюдается генетическая нестабильность, к проявлениям которой относятся повышенная частота обмена фрагментами ДНК между сестринскими хроматидами и их ломкость.

### **17. Гены, определяющие радиочувствительность. Семейство генов RAD.**

Ответ: Ген RAD50 экспрессируется в большинстве тканей и органов, преимущественно в лимфатических узлах. Белок RAD50 образует комплекс с белками MRE11 и NBS1 (комплекс MRN), который связывается с ДНК и, проявляя ферментативную активность, способствует негомологичному соединению концов ДНК в ходе репарации. Белок RAD50 при этом необходим для связывания концов ДНК и удержания их в непосредственной близости. Таким образом, RAD50 вместе с другими белками, входящими в состав комплекса MRN, имеет важное значение для восстановления разрывов двойной нити ДНК. Кроме того, RAD50 принимает участие в активации контрольной точки клеточного цикла, поддержании длины теломер и рекомбинации при мейозе. С нарушением работы гена RAD50 связано расстройство, подобное синдрому повреждения Неймегена, которое характеризуется хромосомной нестабильностью, чувствительностью к радиации. Также с мутациями гена RAD50 ассоциирован синдром предрасположенности к раку. У носителей мутаций может развиваться как одно злокачественное новообразование, так и целый спектр различных форм рака.

### **18. Эпигенотип. Типы функционирующего генетического материала.**

Ответ: В отличие от генетической изменчивости, эпигенетическая не связана непосредственно с изменением первичной структуры ДНК, т.е наследственная эпигенетическая изменчивость представляет собой воспроизводимое в ряду клеточных поколений изменение эпигенотипа, т.е. спектра функционирующих в конкретный момент времени генов. В физиологической генетике при рассмотрении характера функционирования генома среди общей совокупности генов различают три типа образующего их материала. Облигатно неактивный генетический материал обычно представлен генами, которые не бывают активными ни при каких функциональных или метаболических изменениях соматических клеток данного типа дифференцировки. Облигатно активный генетический материал представлен генами, функционирующими во всех соматических клетках независимо от типа их дифференцировки. И, наконец, факультативно активный генетический материал может находиться в клетках данного типа дифференцировки в активном и неактивном состояниях в зависимости от стадии митотического цикла или факторов внешней и внутренней среды. Если дифференцированные клетки сохраняют способность к делению, то различия по облигатно активному и неактивному генетическому материалу клеток данного типа специализации наследуются в ряду клеточных поколений. Факультативное (модификационное) изменение активности генов носит временный характер и не наследуется. При этом характер функционирования клетки, обусловленный факультативным изменением генной активности, в случае прекращения действия модифицирующего фактора постепенно утрачивается в ряду клеточных поколений,

поскольку дочерние клетки наследуют часть генных продуктов (белков), время жизни которых хоть и может превышать продолжительность клеточного цикла, но все же ограничено. Изменение пула облигатно неактивных генов происходит за счет пула факультативно активного генетического материала и наоборот. Вследствие подвижности границы между данными пулами генов происходит реализация эпигенетических механизмов дифференцировки, дедифференцировки и редедифференцировки. В эмбриогенезе происходит постоянное образование новых типов тканей, что обусловлено изменениями в эпигенотипе клеток предшественниц. Наследование происходит не только общей генетической программы, но и спектра функционально активных генов, детерминирующих тип специализации клеток и образующих эпигенотип клетки, то имеет место эпигенетическое наследование. Факультативное (модификационное) изменение активности генов носит временный характер и не наследуется. Наследуемые эпигенетические изменения не только носят характер массового явления, охватывающего большинство клеток, но и отличаются от мутационных изменений еще и тем, что при этом изменяется активность генов, а не их структура. Множество экспериментальных результатов указывает на существенную роль эпигенетических (негенотоксических) механизмов, которые могут быть индуцированы не только химическими агентами с негенотоксическим механизмом действия, но и ионизирующей радиацией как агентом, способным оказывать и генотоксический эффект

### **19. Механизмы формирования и передачи по наследству эпигеномных изменений.**

Ответ: В радиобиологии в настоящее время доминирует идея, что действие ионизирующей радиации в широком диапазоне доз проявляется преимущественно по генотоксическому механизму. Однако множество экспериментальных результатов указывает на существенную роль эпигенетических механизмов. Так, ионизирующая радиация способна индуцировать или стимулировать генную экспрессию, детерминировать апоптозный механизм гибели клеток, модифицировать межклеточные взаимодействия, вызывать опухолевую трансформацию *in vitro* и канцерогенез *in vivo* без заметного генотоксического эффекта.

1. Метилирование ДНК - Наиболее хорошо изученный эпигенетический механизм. Процесс метилирования ДНК заключается в присоединении метильной группы к цитозину в составе CpG-динуклеотида в позиции С5 цитозинового кольца. Метилирование ДНК, в основном, присуще эукариотам. У человека метилировано около 1 % геномной ДНК. За процесс метилирования ДНК отвечают три фермента, называемые ДНК-метилтрансферазами. Функция метилирования заключается в активации/инактивации гена. В большинстве случаев метилирование промоторных областей гена приводит к подавлению активности гена. Показано, что даже незначительные изменения в степени метилирования ДНК могут существенно изменять уровень экспрессии генов. Существуют по крайней мере два пути, по которым может происходить метилирование ДНК *de novo*. Первый – ферментативное метилирование ДНК, которая исходно была неметилированной. Второй – метилирование ДНК случайным включением 5-метил дЦТФ.

2. Модификация гистонов. Хотя модификации аминокислот в гистонах происходят на всей молекуле белка, модификации N-хвостов происходят значительно чаще. Эти модификации включают: фосфорилирование, убиквитинирование, ацетилирование, метилирование, сумоилирование. Ацетилирование является наиболее изученной модификацией гистонов. Так, ацетилирование ацетилтрансферазой 14-го и 9-го лизинов гистона H3 коррелирует с транскрипционной активностью в данном районе хромосомы. Гистоны способны поддерживать своё модифицированное состояние и выступать матрицей для модификации новых гистонов, которые связываются с ДНК после репликации

3. Ремоделирование хроматина. Гистоны формируют нуклеосому, вокруг которой наматывается ДНК, в результате чего обеспечивается её компактизация в ядре. От густоты расположения нуклеосом в активно экспрессирующихся участках генома зависит интенсивность экспрессии генов. Один из наиболее эффективных механизмов передачи дочерним клеткам профиля генной активности материнской клетки – передача посредством структур ядерного матрикса, которые обеспечивают компартиментализацию внутриядерного пространства и структурно-функциональную организацию генома. С матриксными структурами ассоциированы активные гены и там же локализованы все необходимые для протекания многоэтапного процесса их экспрессии ферменты.

4. Прионные белки обладают аномальной трёхмерной структурой и способны катализировать структурное превращение гомологичных им нормальных белков в себе подобный (прионный) белок, присоединяясь к белку-мишени и изменяя его конформацию. Таким образом, эпигенетические изменения, прямо или косвенно индуцированные ионизирующей радиацией, – важное звено в общей цепи радиобиологических реакций, приводящих в конечном итоге к формированию разнообразных видов лучевых эффектов на разных уровнях биологической интеграции. Имеются достаточные основания считать, что реакция клеток на действие радиационного стрессора по типу адаптивного ответа, повышение спонтанного уровня генетической нестабильности под влиянием ионизирующей радиации, радиогенный апоптоз и другие важные радиобиологические реакции обусловлены модификацией эпигенетического уровня регуляции генной активности.

## **20. Радиационное повреждение генома митохондрий.**

Ответ: Отдаленные последствия облучения преимущественно связываются с увеличением частоты злокачественных образований. Это объясняется повреждениями ядерного генома. Однако есть основания предполагать и определенную роль мутаций мтДНК в радиационном канцерогенезе. До сих пор не удалось увязать преобладающий гликолитический путь энергообеспечения опухолевых клеток, который наследуется ими в ряду поколений, с изменениями в ядерном геноме. Тогда как, мтДНК является частью клеточного генофонда, ответственного за адаптацию клетки посредством модификации энергозатрат.

Митохондрии – единственные клеточные органеллы, имеющие собственный автономный геном, реплицирующийся вне связи с ядерным геномом. Митохондриальный геном – это кольцевая ДНК, на которой кодируются 13 основных ферментов дыхательной цепи.

Многие данные указывают, что мтДНК уязвимее ядерной ДНК и потому при действии ИР также может являться мишенью. В то время как ядДНК плотно упакована в хромосомах и защищена гистонами, кольца мтДНК распространены по всему объему клетки и не защищены белками. Уязвимость ее усугубляется отсутствием некодирующих участков. мтДНК составляет около 1% от клеточного генофонда, но несет 10–15% информации, закодированной в геноме. Тогда как только 5% ядДНК генетически значимы. Более того спонтанные мутации мтДНК, приводящие к потере функции дыхания, происходят в 1000 раз чаще мутаций ядДНК.

## **21. Понятие и основные признаки радиационно-индуцированной нестабильности генома.**

Ответ: Для понимания природы стохастических радиационных эффектов крайне важной является проблема радиационно-индуцируемой нестабильности генома (РИНСГ). Эта проблема непосредственно касается механизмов таких важных радиобиологических явлений как радиационный мутагенез, канцерогенез и старение, - главных отдаленных

последствий действия ионизирующих излучений.

До недавнего времени главным проявлением геномной нестабильности считали хромосомные перестройки, в частности абберации хромосом, а в качестве его ведущего механизма - фиксирование в потомстве клеток повреждений в первичной структуре ДНК, не устраненных системами репарации из-за их временной несостоятельности или свойственной им склонности к ошибкам. Структурные изменения в нескольких генах служат основой патологических процессов при таких наследственных заболеваниях, как атаксия-телеангиэктазия, анемия Фанкони, синдром Блюма и др., для которых характерны аномальный ответ на повреждение ДНК, нарушение контроля программируемой клеточной гибели (апоптоз) и повышенная вероятность опухолевой трансформации. В последние годы наряду с перманентной, генетически наследуемой выделяют специальную форму нестабильности генома — РИНСГ, возникающую в результате воздействия ионизирующей радиации. К ее проявлениям относят отсроченную репродуктивную гибель клеток (отдаленные ле-тальные мутации), дестабилизацию хромосом, соматические мутации, амплификацию генов и изменение радиочувствительности. Основные представления о РИНСГ основаны на результатах работ, выполненных на клетках в культуре ткани. Выделены два признака РИНСГ как общие свойства пролиферирующих клеток. Один из них характеризует явление РИНСГ в целом как долговременное понижение вероятности роста и деления облученных клеток без возникновения мутаций в генетическом материале. Другой подчеркивает, что клетки, обладающие после воздействия радиации геномной нестабильностью, генерируются с высокой частотой, но не образуют однородного клона, а повреждения генома, которые в них обнаруживаются, случайны, непредсказуемы по частоте, времени проявления и выраженности.

РИНСГ передается многим поколениям клеток, образующимся путем репликации, причем генетические изменения, наблюдаемые в клетках дочерних поколений, отличаются от возникших в "родительской", т.е. в самой облученной клетке. Радиация в сущности увеличивает частоту, с которой в выживших облученных клетках точнее, в образуемых ими клеточных популяциях при нормальном функционировании возникают спонтанные генетические изменения.

## **22. Механизмы формирования радиационно-индуцированной нестабильности генома.**

Ответ: механизмы формирования РИНСГ до конца не изучены. Предложено цитологическое объяснение механизма возникновения РИНСГ. В организме животных и человека предполагается существование небольшой субпопуляции клеток с нестабильным геномом, названной клетками *эволюционного или/и онтогенетического резерва*. Геномная нестабильность индуцируется в этих клетках эпигенетической программой. Эта программа вызывает в ДНК повреждения главным образом в "горячих точках" хромосом. В результате возникают новые генетические варианты.

Однако существует множество молекулярных и генетических путей, способных приводить к различным проявлениям РИНСГ в большинстве любых клеток. Так, в опытах на гибридной линии клеток GM10115, содержащей человеческую хромосому 4 в окружении 20-24 хромосом хомячка, не обнаружено значимой корреляции между нестабильностью хромосом и сестринскими хроматидными обменов, отсроченными мутациями и репарацией нарушения спаривания оснований. В то же время проявления отсроченной амплификации генов и задержка репродуктивной гибели клеток коррелировали с нестабильностью хромосом.

На клеточном уровне известны три взаимосвязанные системы, обеспечивающие поддержание стабильности генома: 1) система окислительно-восстановительного гомеостаза, продуцирующая различные цитотоксические факторы, в том числе активные

формы кислорода (перекись водорода, супероксидный анион-радикал  $O_2^-$ ,  $OH^\bullet$  -радикал), участвующие в элиминации генетически чужеродного материала; 2) система контроля клеточного цикла в сверхочных точках (checkpoints), которая обеспечивает экстренное удаление клетки с патологически измененной ДНК, способной нарушить постоянство генома; центральным компонентом этой системы является опухоль супрессорный белок p53; 3) механизмы репарации ДНК.

### **23. Контроль клеточного цикла как механизм поддержания постоянства генома и формирования радиационно- индуцированной нестабильности генома.**

Ответ: Ключевую роль в интеграции сигналов повреждения, воздействующих на клетку, прежде всего на ее ДНК, играет белок опухоль супрессорного гена p53. Нарушение функции опухолевых супрессоров (p53, pRb), а также активация протоонкогенов (Myc, Ras и, возможно, других) приводит к дисфункции сверхочных точек клеточного цикла и к нестабильности генома. Под действием ионизирующей радиации в клетках линии мыши, имеющих ген p53 дикого типа, наблюдалась активация мутантного белка p53, которая приводит к утрате им способности блокировать клетки в фазе G1 при действии  $\gamma$ -излучения. Мутантный фенотип характеризовался в 5-20 раз более высокой спонтанной гомологичной рекомбинацией между внутрихромосомными прямыми последовательностями. Эти данные указывают на дефект в гене и белке p53 как на причину появления генетической нестабильности. Возникновение множественных мутаций в гене p53 отмечается в потомстве нормальных эпителиальных клеток человека, подвергавшихся воздействию  $\gamma$ -излучения в относительно малых (0.5 Гр) и в высоких (5 Гр) дозах. В результате мутантный белок p53 утрачивает способность к полноценному взаимодействию с хромосомой: поддерживая собственную повышенную экспрессию, он теряет способность эффективного контроля над другими генами, в частности p21, bcl-2, bax, участвующими в реализации надзора за прохождением клеток по циклу и за элиминацией дефектной части клеточного контингента посредством апоптоза.

Реальность такого механизма подтверждается сведениями о том, что утрата контроля над сверхочными точками репликации и поврежденности ДНК в клеточном цикле, например при инактивации белка Hus 1 у мышей, приводит к накоплению повреждений генома. Если при этом инактивируется ген p21/WAF 1, ингибитор циклинзависимых киназ, отвечающий за остановку клеток в фазе G1 в ответ на гиперэкспрессию p53 и повреждение ДНК, то пролиферация клеток продолжается, но они существенно более чувствительны к оксимочевине (ингибитору репликации ДНК) и УФ-излучению, однако лишь незначительно более чувствительны к действию ионизирующей радиации.

Утрата полноценной функции опухолевого супрессора, контролируемого геном, локализованным в хромосоме 11 приводила к повышению частоты проявлений геномной нестабильности (отсроченной гибели) в потомстве гибридных клеток CON104 (-11)/CGL1 человека. РИНСГ обычно рассматривается как стадия на пути к опухолевой трансформации. Однако, если утрата гена опухолевого супрессора хромосомы 11 достаточна для формирования РИНСГ, то для радиационно-индуцированной опухолевой трансформации необходима потеря активности супрессорных генов как на хромосоме 11, так и на хромосоме 14. При этом ген опухолевого супрессора хромосомы 14 никакого отношения к возникновению РИНСГ не имеет

### **24. Отсроченные мутации как проявление радиационно-индуцированной нестабильности генома.**

Ответ: В 1990 г. было показано, что в десятках поколений клеток после радиационного воздействия обнаруживается повышенное число мутаций. Механизмы образования

мутаций при РИНСГ в отличие от возникающих в непосредственно облученных клетках иные. Если при непосредственном радиационном воздействии более 70% мутаций относятся к делециям, то мутации, служащие проявлением РИНСГ, имеют характер точковых, затрагивая многие гены (в частности, опухолевого супрессора p53). В начале 1990-х годов было показано, что в мутационный процесс, характерный для нестабильности генома, вовлекаются не только собственно кодирующие, но и минисателлитные области генома. Нестабильность в GC(гуанин-цитозин)-богатых минисателлитах включается в мутационные процессы в соматических и половых клетках. В половых клетках человека комплекс изменений происходит во время мейоза, когда повторы контролируют интенсивность рекомбинационной активности ДНК, выстраиваясь во фланкирующих областях и локализуя мейотическую рекомбинацию. В противоположность этому AT-богатые минисателлиты включаются в развитие интрааллельных процессов в ходе репликации. Еще один феномен, служащий проявлением общей нестабильности генома, - это амплификация генов. Установлено, что ионизирующая радиация вызывает зависимость от дозы облучения гибель клеток ЕМТ-6 мышей. Одновременно в значительной части выживших клеток радиация индуцирует резистентность к метотрексату (МТХ) за счет амплификации гена дигидрофолатредуктазы (dhfr). Так, максимальный (в 8 раз выше спонтанного уровня) выход мутантов наблюдается при облучении в дозе D37 на фоне высокого уровня амплификации гена dhfr в МТХ-резистентных клетках

#### **25. "Эффект свидетеля" при радиационно-индуцированной нестабильности генома.**

Ответ: Возможное объяснение механизма возникновения РИНСГ в последние годы пытаются найти путем выяснения причин так называемого эффекта "свидетеля". Впервые феномен обнаружен в опытах, когда в культуральную среду облученных клеток, высевали интактные клетки, которые не подвергались воздействию ионизирующей радиации. Вскоре они и их потомство начинают проявлять все или многие из признаков, характерных для РИНСГ, как если бы сами возникли из облученной клетки.

"Эффект свидетеля", определяемый как индукция генетических изменений в необлученных ядрах клеток, может отражать проявление по крайней мере двух различных механизмов. Первый механизм предполагает, что эффект свидетеля осуществляется при помощи межклеточных контактов, которые включают p53-опосредуемый путь проведения сигнала повреждения. Согласно второму механизму, облученные клетки секретируют цитокины или другие факторы, которые в необлученных клетках повышают внутриклеточный уровень активных форм кислорода.

Очевидно, что в иницировании РИНСГ могут играть роль оба механизма "эффекта свидетеля": как сигналы о повреждении, передаваемые через культуральную среду, так и сигналы через клеточные контакты от потомков облученных клеток к интактным. Первые из них могут осуществляться при посредстве цитокиноподобных факторов, а процесс передачи их для формирования РИНСГ как у потомства облученных клеток, так и у необлученных клеток независим от p53.

В целом, генетическая нестабильность - это производная состояния регуляции сверхочных точек клеточного цикла и механизмов апоптоза, находящихся под контролем гена p53. Однако реальное взаимодействие и соотношение этих процессов при РИНСГ, когда состояние этого гена изменено, нуждаются в специальном изучении. Таким образом, сохраняющаяся геномная нестабильность может быть индуцирована через механизмы "эффекта свидетеля". Первоначальный профиль повреждения усиливается "эффектом свидетеля", и клетки, которые затронуты механизмом "свидетеля", могут оставаться в области повышенного риска генетического изменения в течение многих поколений.

## **26. Отсроченная репродуктивная гибель клеток как проявление радиационно-индуцированной нестабильности генома.**

Ответ: В 1986 г. впервые было отмечено понижение способности потомства облученных клеток к образованию колоний *in vitro* из-за возникновения отсроченных летальных мутаций. В последующем этот феномен и стали называть отсроченной репродуктивной гибелью. После облучения этот феномен проявляется во многих поколениях клеток млекопитающих, сопровождаясь у потомства проявлениями фенотипа, отличного от родительского. Так, потомство из 12-14-го циклов удвоения выживших клеток китайского хомячка имело различные аномалии, включая пониженную способность адгезии к субстрату и замедленное продвижение по клеточному циклу. При рассеивании единичных клеток наблюдали повышенное число abortивных колоний и колоний с гигантскими клетками. Все это позволило заключить, что "след" повреждения передается выжившему потомству облученных клеток через многие митотические циклы, а также повреждения могут возникать *de novo*.

Фенотип отсроченной репродуктивной гибели клеток можно индуцировать в клетках при действии других ДНК-повреждающих факторов, таких как этилметансульфонат и эндонуклеаза *HinfI*, вызывающая образование одонитевых разрывов в ДНК. УФ-излучение к появлению клеток с фенотипом отсроченной гибели не приводило. В то же время клетки мутантные по репарации двунитевых разрывов ДНК, после воздействия ионизирующей радиации не давали потомства с проявлениями отсроченной репродуктивной гибели, вероятно, вследствие более быстрой элиминации. Это указывает на причастность разрывов ДНК и механизмов репарации двунитевых разрывов к формированию РИНСГ. Дестабилизация хромосом рассматривается как первый и прямой признак общей нестабильности генома. Все хромосомы в выживших после облучения клетках включаются в образование дицентрических аберраций приблизительно с равной вероятностью. В силу разных причин общее число клеток с аберрациями хромосом с каждым митозом убывает. При этом клоны с хромосомной нестабильностью могут восстанавливать стабильность в следующей клеточной популяции, сохраняя тот же уровень нестабильности либо становиться еще более нестабильными. В клетках, претерпевших опухолевую трансформацию, нестабильность хромосом оказывается устойчивым признаком. После облучения в малых дозах не отмечено прямой корреляции и простых соотношений между двумя такими проявлениями РИНСГ, как отсроченная репродуктивная гибель и аберрации хромосом. Однако отмечается корреляция между отсроченной репродуктивной гибелью и возрастанием числа клеток с микроядрами при РИНСГ. В 1990 г. было показано, что в десятках поколений клеток после радиационного воздействия обнаруживается повышенное число мутаций. Важно отметить, что механизмы образования мутаций при РИНСГ в отличие от возникающих в непосредственно облученных клетках иные. Если при непосредственном радиационном воздействии более 70% мутаций относятся к делециям, то мутации, служащие проявлением РИНСГ, имеют характер точковых, затрагивая многие гены. При этом в мутационный процесс вовлекаются не только собственно кодирующие, но и минисателлитные области генома. Нестабильность в GC(гуанин-цитозин)-богатых минисателлитах включается в мутационные процессы в соматических и половых клетках. В половых клетках человека комплекс изменений происходит во время мейоза, а AT(аденин-тимин)-богатые минисателлиты включаются в развитие интрааллельных процессов в ходе репликации.

**27. Адаптивный ответ. Критерии и методы изучения. Объекты исследования. Дозо-временные параметры, необходимые для его экспрессии.**

Ответ: АО представляет собой активную реакцию клеток на низкоинтенсивное, не вызывающее заметных повреждений воздействие, в результате которого приобретает устойчивость к поражающему эффекту этого же или другого агента в значительной дозе. Первую, иницирующую АО дозу (или концентрацию) принято обозначать как адаптирующую Д1, а вторую (обычно на 1 – 2 порядка выше) – как повреждающую – Д2. По мнению некоторых авторов, АО феноменологически близок к индуцированной радиорезистентности. АО был обнаружен на бактериях, дрожжах, простейших, водорослях, у высших растений, на клетках насекомых, рыб, млекопитающих и человека, а также в экспериментах *in vivo*. Не было отмечено АО в тканях преимплантированных эмбрионов мышей на ранних стадиях развития. Наиболее распространенным способом оценки радиационного поражения клеток является подсчет хромосомных aberrаций (ХА). Большинство ХА обусловлено повреждением первичной структуры ДНК или ошибочной репарацией таких повреждений. При изучении АО учитываются ХА хромосомного и хроматидного/изохроматидного типов. Первые преобладают, когда клетки облучаются в Д2 на стадиях G0 и G1 клеточного цикла, а вторые, – если Д2 приходится на фазу G2. При АО главным образом увеличивается восстановление клеток, содержащих одиночные ХА, и в меньшей степени – мультиабберантных клеток. Поэтому, несмотря на уменьшение общего количества ХА в облученной популяции, остается повышенной доля клеток с большим числом ХА. В последнее время все более широко применяется микроядерный тест. Его использование обуславливается простотой и стабильностью результатов, полученных этим методом, по сравнению с методами хромосомного анализа. Микроядра (МЯ) возникают из ацентрических хромосом, хроматидных фрагментов или из целых хромосом, которые отстают в анафазе и не включаются в дочерние ядра во время деления. Кроме того, признается и апоптотическое происхождение МЯ. Весьма перспективный метод оценки АО с помощью определения апоптоза. Он основывается на подсчете апоптотических, то есть фактически погибших клеток, а поскольку подобная форма гибели является преобладающей в интервале дозы Д2, используемой для изучения АО, подобный тест может стать универсальным для оценки конечного радиобиологического эффекта. АО проявляется только тогда, когда все летальные повреждения в клетках репарированы. Это происходит при дозе излучения, генерирующей главным образом одиночные ХА, то есть Д2 не должна быть чрезмерно большой. Абсолютные значения Д1 для разных типов клеток находятся в пределах 1-5 сГр. Увеличение Д1 от 1 до 10 сГр не приводит к изменению выраженности АО. Увеличение Д1 более 10 сГр приводит, как правило, к устранению АО. Оптимальный интервал времени, необходимый для наибольшей эффективности АО, колеблется для разных клеток от 40 мин. до нескольких часов. Значения Д2 существенного влияния на выраженность АО. При изменении мощности Д2 от 1 сГр/мин до 1 Гр/мин изменений эффекта не обнаружено.

**28. Адаптивный ответ. Зависимость от фазы клеточного цикла. Индивидуальная вариабельность индукции.**

Ответ: АО представляет собой активную реакцию клеток на низкоинтенсивное, не вызывающее заметных повреждений воздействие, в результате которого приобретает устойчивость к поражающему эффекту этого же или другого агента в значительной дозе. Одним из осложнений, возникающих при работе с лимфоцитами человека, является то, что среди доноров встречаются индивидуумы, лимфоциты которых не проявляют реакции АО. Анализ литературного материала позволяет считать, что количество таких лиц составляет приблизительно 1/3 общего числа обследованных. Выраженность АО в

лимфоцитах разных доноров имела значительные вариации в зависимости от сроков облучения, стимуляции ФГА и времени фиксации. Однако по другим данным отсутствие АО в клетках здоровых доноров не зависело от условий эксперимента и сохранялось длительное время. Считается, что причинами вариабельности индукции АО в лимфоцитах человека могут быть индивидуальные различия в уровнях цитокинов в клетках, в скорости эксцизионной репарации ДНК после облучения, в способности лимфоцитов стимулироваться митогенами. Многие авторы поддерживают предположение о генетической обусловленности существования АО, хотя и не исключают влияния на его экспрессию временного физиологического состояния доноров. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы ответить на вопрос, является ли неспособность лимфоцитов некоторых практически здоровых лиц к АО следствием генетической дефицитности, как это наблюдается в клетках больных синдромом Дауна и при атаксии – телангиэктазии. Значительный интерес представляет изучение АО в лимфоцитах людей, подвергавшихся хроническому радиационному воздействию в результате аварии на ЧАЭС. Отмечена значительно меньшая степень выраженности АО и частота его выявления в клетках доноров, проживающих на загрязненных территориях. Одно из предположений, объясняющих подобные результаты, заключается в том, что хроническое облучение само по себе является адаптирующим, и дополнительная доза излучения Д1 не приводит к усилению эффекта вследствие "насыщения" в системах, формирующих АО. Однако в данном случае не выявлено изменений радиорезистентности лимфоцитов после их экспозиции в Д2, как это было показано в ранее упоминавшихся работах. Поэтому более справедливым кажется другое объяснение – хроническое лучевое воздействие приводит к изменениям в геноме, препятствующим реализации АО, экологическая ситуация привела к возникновению популяции, отличающейся по реакциям на многие генотоксические факторы внешней среды

## **29. Апоптоз. Пути запуска апоптоза.**

Ответ: Программа апоптотической гибели состоит из следующих основных этапов: 1) индукция, или запуск программы апоптоза; 2) активация проапоптотических белков; 3) каскад каспаз, расщепляющих белки-мишени; 4) разрушение внутриклеточных органелл или их перестройка; 5) фрагментация клетки на апоптотические тельца; 6) подготовка клетки и ее фрагментов к фагоцитозу макрофагами или соседними клетками. Существует два механизма запуска гибели клетки – внутренний (митохондриальный) и рецепторный. Митохондриальный апоптоз развивается при дефиците факторов, обеспечивающих выживаемость клеток (цитокинов и контактных сигналов от соседних клеток), а также под действием цитотоксических агентов. В результате изменяется баланс митохондриальных факторов семейства Bcl-2 (проапоптотический и противоапоптотический). Через сформированные в мембране митохондрии в цитозоль выходит цитохром С, где он активизирует каспазу 9 путем связывания Araf-1 с АТФ/дАТФ и прокаспазой 9. После этого дальнейший процесс апоптоза сопровождается образованием новых каспаз и разрушением клетки. В процесс вовлекаются инициаторные каспазы, мишенью которых служат исполнительные каспазы. Рецепторный путь гибели клеток включается при связывании лигандов с мембранным рецептором клетки. При связывании Fas-рецептора с Fas-лигандом включается механизм апоптоза. При этом мембраносвязываемый FasL включает сигнал апоптоза при прямом контакте клетки с клеткой, тогда как растворимая форма FasL ответственна за уничтожение клеток по типу аутокринной гибели или паракринной смерти близлежащей клетки. Митохондриальный и рецепторный пути апоптоза активируют инициаторные каспазы.

Особого внимания заслуживают механизмы апоптоза при цитотоксическом воздействии клеток-киллеров. Специфические Т-лимфоциты-киллеры (CD8+Т-лимфоциты) осуществляют свои киллерные функции по-разному в зависимости от наличия: на клетке-мишени рецепторов апоптоза, не требующих секреции литических ферментов клетками-киллерами (несекреторный лизис); секреторного лизиса, приводящего к запуску апоптоза под влиянием литических ферментов, вырабатываемых клетками-киллерами. Кроме того, гибель клеток-мишеней, покрытых антителами, происходит при активации антителозависимой клеточной цитотоксичности за счет связывания антител с Fc-рецептором на клетках-киллерах (CD16) и выделения протеолитических ферментов. Апоптотические клетки и их фрагменты быстро элиминируются путем фагоцитоза, чему способствуют нарушение асимметричности мембраны и фосфатидилсерин при апоптозе оказывается на ее поверхности. Он распознается молекулой CD14МФ и способствует фагоцитозу клетки, на которой экспрессируется.

### **30. Апоптоз. Роль каспаз и эндонуклеаз в запуске апоптоза.**

Ответ: Программа апоптотической гибели состоит из следующих основных этапов: 1) индукция, или запуск программы апоптоза; 2) активация проапоптотических белков; 3) каскад каспаз, расщепляющих белки-мишени; 4) разрушение внутриклеточных органелл или их перестройка; 5) фрагментация клетки на апоптотические тельца; 6) подготовка клетки и ее фрагментов к фагоцитозу макрофагами или соседними клетками.

Индукция апоптоза и активация проапоптотических белков ведет к активации каспаз (цистеиновых протеаз). Различают инициаторные (8, 2, 10, 9) и эффекторные каспазы (3, 7, 6), т.е. каспазы функционируют как протеолитические каскады. Итогом работы эффекторных каспаз является разрушение множества белков, которые могут участвовать в поддержании гомеостаза и в репарации компонентов клетки, белков-регуляторов клеточного цикла, структурных белков и т.д. В результате действия эффекторных каспаз и активированных ими других ферментов (эндонуклеаз, гельзолина и т.д.) разрушаются такие компоненты клетки как внутриядерная ламина, нарушается целостность ДНК, происходит специфическая компактизация хроматина, наблюдается распад элементов цитоскелета, митохондрий, аппарата Гольджи, эндоплазматического ретикулаума и т.д. Помимо каспазного в последние годы различают некаспазный механизм апоптотической гибели, при котором происходит выход из митохондрий и миграция в ядро флавопротеина А1F и эндонуклеазы G, вызывающих распад ядерной ДНК на крупные фрагменты. Наблюдаемые при данном механизме конденсация хроматина и экспозиция фосфатидилсерина во внешнем монослое плазматической мембраны соответствуют признакам апоптоза.

Апоптотические клетки и их фрагменты быстро элиминируются путем фагоцитоза, чему способствуют нарушение асимметричности мембраны и фосфатидилсерин при апоптозе оказывается на ее поверхности. Он распознается молекулой CD14МФ и способствует фагоцитозу клетки, на которой экспрессируется.

## **4. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ И КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ**

### **4.1. Порядок проведения промежуточной аттестации**

В рамках **текущего контроля** в течение семестра для оценки знаний, умений, навыков, получаемых в ходе изучения дисциплины, учитываются ответы на контрольные вопросы.

Критерием успешности освоения учебного материала **по окончании учебного семестра** (промежуточная аттестация) является экспертная оценка преподавателя, учитывающая: текущую успеваемость в течение семестра (контрольные работы, реферат, опрос). Кроме того, экспертная оценка преподавателя может основываться на регулярности посещения обязательных учебных занятий, успешности выполнения установленных на данный семестр объемов рабочей программы.

Промежуточная аттестация проводится в форме экзамена по билетам. Билет содержит два теоретических вопроса.

## **4.2. Критерии оценивания промежуточной аттестации по видам оценочных средств**

### **4.2.1 Критерии оценивания теоретического вопроса**

#### **Неудовлетворительно:**

Полнота ответа – Студент не знает значительной части программного материала, допускает существенные ошибки, отсутствуют межпредметные связи.

Структурированность – Нет.

Логика изложения – Отсутствует логика в изложении материала.

Ответы на дополнительные вопросы – Нет.

#### **Удовлетворительно:**

Полнота ответа – Студент усвоил только основной материал, но не знает отдельных деталей, допускает неточности, не достаточно правильные формулировки, ответ отличается низким уровнем самостоятельности.

Структурированность – Не всегда прослеживается четкость и структурированность.

Логика изложения – Не всегда прослеживается логика изложения материала.

Ответы на дополнительные вопросы – Затрудняется с ответами, ответ отличается низкой самостоятельностью.

#### **Хорошо:**

Полнота ответа – Студент твердо знает учебно-программный материал, грамотно и по существу излагает его; ответ отличается меньшей обстоятельностью.

Структурированность – Ответ структурирован, грамотен, обстоятелен.

Логика изложения – Корректно и логически стройно его излагает ответ.

Ответы на дополнительные вопросы – Не затрудняется с ответом при видоизменении задания, не всегда ответы на дополнительные вопросы отличаются полнотой, структурированностью.

#### **Отлично:**

Полнота ответа – Студент полно излагает учебный материал на основе лекций и дополнительной литературы, осуществляет межпредметные связи; владеет понятийным аппаратом и уяснил взаимосвязь основных понятий дисциплины и их значение для приобретения профессии.

Структурированность – Ответ структурирован, грамотен, обстоятелен.

Логика изложения – Корректно и логически стройно его излагает ответ.

Ответы на дополнительные вопросы – Не затрудняется с ответом при видоизменении задания, свободно справляется с поставленными задачами, ответы на дополнительные вопросы характеризуются полнотой, структурированностью.

## **4.3. Результаты промежуточной аттестации и уровни сформированности компетенций**

При подведении итогов учитываются результаты текущей аттестации.

Особенности проведения процедуры оценивания результатов обучения инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья обозначены в рабочей программе дисциплины (модуля).

«1 уровень» - ознакомление (иметь общее представление, узнавать);

«2 уровень» - понимание учебного материала, излагаемого в учебнике, методической разработке или преподавателем;

«3 уровень» - умение логично, последовательно, достаточно полно и точно излагать изученный материал;

«4 уровень» - творчески использовать полученные знания.

Для удовлетворительной (положительной) оценки знаний требуется минимум 3-й уровень усвоения учебного материала.

#### Требования (критериальные показатели) к уровню освоения дисциплины

Оценка	Критерии оценки знаний студентов
Отлично	Студент глубоко и полно владеет содержанием учебно-программного материала; исчерпывающе, последовательно, корректно и логически стройно его излагает не затрудняясь с ответом при видоизменении задания, свободно справляется с поставленными задачами, показывает знания монографического материала. правильно обосновывает принятие решения; владеет навыками и приемами выполнения практических работ; обнаруживает умение самостоятельно ставить задачи, обобщать и излагать материал, формулировать выводы; при изложении материала осуществляет межпредметные связи; владеет понятийным аппаратом и уяснил взаимосвязь основных понятий дисциплины и их значение для приобретения профессии.
Хорошо	Студент твердо знает учебно-программный материал, грамотно и по существу излагает его; ответ отличается меньшей обстоятельностью, глубиной и полнотой; в ответе на вопрос не допускает существенных неточностей; может правильно применить теоретические положения и владеет необходимыми навыками при выполнении практических задач.
Удовлетворительно	Студент усвоил только основной материал, но не знает отдельных деталей, допускает неточности, не достаточно правильно формулировки, нарушает последовательность в изложении материала и испытывает затруднения в выполнении практических заданий. Ответ отличается низким уровнем самостоятельности.
Неудовлетворительно	Студент не знает значительной части программного материала, допускает существенные ошибки, отсутствует логика в изложении материала, с большими затруднениями выполняет практические задания, отсутствуют межпредметные связи.

**06.03.01 Биология, направленность Биофизика, ФОС РПД Действие  
ионизирующих излучений на элементарные биологические объекты,  
форма обучения очная**

Проректор по учебной работе      утверждено 24.02.2025      А.А. Саламатов

Ученым советом биологического факультета

Протокол заседания № 6 от 21.02.2025

Председатель Ученого совета

биологического факультета      согласовано      Д.С. Сташкевич

**Заседанием кафедры радиационной биологии**

Протокол заседания № 7 от 21.02.2025

Заведующий кафедрой      согласовано      А.В. Аклеев

Автор (составитель)      Е.В. Стяжкина

**Структура рабочей программы соответствует приказу ректора ФГБОУ ВО  
«ЧелГУ» от «13» апреля 2021 г. № 247-1**