

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Таскаев Сергей Валерьевич
Должность: Ректор
Дата подписания: 17.09.2025 10:58:44
Уникальный программный ключ:
04c19ed8bfb98f3b6cb77a486b9a8788b8322323

 <p>МИНОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИИ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)</p>	Фонд оценочных средств по дисциплине «Экологическая генетика» по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» ФГБОУ ВО «ЧелГУ»	стр. 1
--	--	--------

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

Экологическая генетика

Направление подготовки (специальность)
06.03.01 Биология

Направленность (профиль)
Генетика

Присваиваемая квалификация
Бакалавр

Форма обучения
очная

Челябинск, 2025 г.

1. ПАСПОРТ ФОНДА ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

Направление подготовки: **06.03.01 Биология**

Направленность (профили): Генетика

Дисциплина: **Экологическая генетика**

Семестры изучения: 7

Форма промежуточной аттестации: экзамен

2. ПЕРЕЧЕНЬ ФОРМИРУЕМЫХ КОМПЕТЕНЦИЙ

2.1. Компетенции, закреплённые за дисциплиной

Изучение дисциплины «Экологическая генетика» 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-1.4 Использует теоретические знания об основных биологических закономерностях.	<p>Знать: Для достижения индикатора ПК-1.4: цели и принципы, основные разделы экологической генетики, основные мутагены и генотоксиканты, принципы тестирования на мутагенность и генотоксичность.</p> <p>Уметь: Для достижения индикатора ПК-1.4: корректно использовать термины и понятия экологической генетики, свободно ориентироваться в принятых в экологической генетике символах и обозначениях, анализировать и оценивать состояние генетического аппарата живых систем при различных типах воздействия.</p> <p>Владеть: Для достижения индикатора ПК-1.4: навыками тестирования</p>

			веществ на мутагенность и генотоксичность, навыками оценки состояния окружающей среды и контроля биобезопасности продуктов методами генетики.
ПК-2	Способен применять методы исследования генетического материала на молекулярном, клеточном, организменном и популяционном уровнях	ПК-2.2 Использует навыки планирования исследований, направленных на определение генотипа отдельного индивида и генофонда популяции в целом.	<p>Знать: Для достижения индикатора ПК-2.2: принципы биологических исследований в области экологической генетики</p> <p>Уметь: Для достижения индикатора ПК-2.2: анализировать экспериментальные данные, сравнивать их, обобщать, критически анализировать и обсуждать.</p> <p>Владеть: Для достижения индикатора ПК-2.2: навыками анализа экспериментальных генетических данных с помощью различных методов</p>

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	ПК-1 Знать: Для достижения индикатора ПК-1.4: цели и принципы, основные разделы экологической генетики, основные мутагены и	Раздел 1. Экологическая генетика как наука. Экологическая генетика как наука. Эколого-генетические модели.	устный опрос, доклад	вопросы к экзамену 1-14, 33 - 37

	<p>генотоксиканты, принципы тестирования на мутагенность и генотоксичность.</p> <p>Уметь: Для достижения индикатора ПК-1.4: корректно использовать термины и понятия экологической генетики, свободно ориентироваться в принятых в экологической генетике символах и обозначениях, анализировать и оценивать состояние генетического аппарата живых систем при различных типах воздействия.</p> <p>Владеть: Для достижения индикатора ПК-1.4: навыками тестирования веществ на мутагенность и генотоксичность, навыками оценки состояния окружающей среды и контроля биобезопасности продуктов методами генетики.</p>	<p>Понятие о симбиогенетике.</p> <p>Раздел 3. Генетическая токсикология. Основы генетической токсикологии. Изменчивость. Мутационная теория. Мутации.</p>		
2	<p>ПК-2</p> <p>Знать: Для достижения индикатора ПК-2.2: принципы биологических исследований в области экологической генетики</p> <p>Уметь: Для достижения индикатора ПК-2.2: анализировать экспериментальные данные, сравнивать их, обобщать, критически анализировать и обсуждать.</p> <p>Владеть: Для достижения индикатора ПК-2.2: навыками анализа экспериментальных генетических данных с помощью различных методов</p>	<p>Раздел 1. Экологическая генетика как наука. Экологическая генетика как наука. Эколога-генетические модели. Понятие о симбиогенетике.</p> <p>Раздел 2. Генетика устойчивости к факторам среды. Генетические основы биотрансформации ксенобиотиков.</p>	устный опрос, доклад	вопросы к экзамену 1 - 32

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. Экологическая генетика (ЭГ). Предмет и задачи.

Экологическая генетика (ЭГ) — отрасль знаний, исследующая взаимодействие экологических отношений и генетических процессов (Инге-Вечтомов С. Г., 1998). Она изучает влияние различных экологических факторов на наследственность животных, устойчивость к заболеваниям, сопряженную эволюцию микро- и макроорганизмов, генетическую

обусловленность накопление или выведение из организма вредных веществ, генетически детерминированные реакции животных на лекарственные препараты. Выделяют два основных направления экогенетических исследований: Генетическая предопределенность экологических отношений. Воздействие экологических факторов на генетические процессы (в первую очередь, мутагенез).

Задачи:

- 1) разработка элементарных эколого-генетических моделей;
- 2) исследование биологических факторов изменчивости;
- 3) изучение устойчивости организмов к абиотическим факторам окружающей среды;
- 4) генетическая токсикология, нацеленная на выявление генетически активных факторов среды и предотвращение их влияния, прежде всего на усугубление генетического груза.

2. Структура экологической генетики.

Генетические подходы	Экологические отношения	
	между организмами	организмов со средой
Генетический контроль признаков (наследственность)	Эколого-генетические модели Симбиогенетика	Генетика устойчивости к факторам среды
Влияние факторов на генетический процесс	Биологические факторы изменчивости (мутагенеза)	Генетическая токсикология

3. Генетический подход в ЭГ. Понятие наследственности и элементарных признаков. Экологическая генетика опирается на методологию генетики и связана с её основными понятиями — «наследственность» и «изменчивость». Наследственность — это свойство сходства родственных организмов, их способность передавать определенные признаки из поколения в поколение. При этом в качестве признаков могут фигурировать морфологические и биохимические признаки; свойства нервной системы, тип поведения и т. д. Генетический анализ вскрывает гены, контролирующие все это разнообразие признаков, изучает их наследование и локализацию в геноме. Изменчивость — свойство организмов приобретать новые признаки или их комбинации. Генетический анализ позволяет вскрыть причины изменчивости. В экологической генетике особое внимание уделяется причинам, механизмам, последствиям мутационной изменчивости, т. е.

наследуемых изменений генетического материала.

4. Изменчивость, типы изменчивости. Генетические процессы, их роль в формировании различных видов изменчивости.

На молекулярном уровне изменчивость заключается в изменении генов, их комбинаций и проявления действия генов в процессе онтогенеза. На фенотипическом уровне изменчивость проявляется как изменение признаков. Изменение окружающей среды при антропогенном воздействии имеет следствием увеличение изменчивости у всех организмов от вирусов до человека.

При модификационной изменчивости признаки в зависимости от условий среды могут быть сильно модифицированы на базе одного и того же генотипа. Так, например, кролики гималайской породы белые, но кончики ушей, нос, лапки и хвост — черные. Такой фенотип связан с тем, что ген, контролирующий образование черного пигмента, работает только при низких температурах. Поэтому черная окраска только на тех участках тела, где температура ниже. При высокой температуре кролики полностью белые, при низкой — полностью черные. Если выбрить участок кожи и прикладывать к нему лед, охлаждая до $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$, то участок кожи будет черным

Онтогенетическая изменчивость — это реализация нормы реакции организма во времени, в ходе его индивидуального развития. Онтогенетическая изменчивость связана не с изменением генов, а с изменением проявления генов в процессе индивидуального развития. Например, у чешуекрылых насекомых (бабочек) развитие идет с полным превращением: яйцо — личинка (гусеница) — имаго.

Мутационная изменчивость связана с изменением самих генов, т. е. с изменением последовательности нуклеотидов в ДНК. Эти изменения наследуются и играют большую роль в эволюции, являясь материалом для естественного отбора. На фенотипическом уровне мутации — явление прерывистого скачкообразного изменения наследственного признака. Мутации могут затрагивать любой признак: морфологический, физиологический, биохимический, поведенческий. Эти изменения могут быть резкими или едва заметными отклонениями от дикого типа (стандарта).

Комбинационная изменчивость связана не с изменением генов, а с появлением новых комбинаций уже существующих генов. Она обеспечивается тремя процессами: независимым расхождением хромосом в мейозе, кроссинговером, случайным сочетанием отцовской и материнской наследственности в зиготе. Благодаря комбинационной изменчивости обеспечивается колоссальное разнообразие организмов, размножающихся половым путем.

Когда говорят о спонтанном мутационном процессе, подразумевается возникновение мутации при обычных физиологических состояниях организма без дополнительного воздействия какими-либо внешними для организма факторами.

5. Экологический подход в ЭГ. Разделы экологии.

Экологическая генетика использует весь методический арсенал экологии. Аутэкология — раздел науки, изучающий взаимодействие индивидуального организма или вида с факторами окружающей среды. Демэкология — раздел науки, изучающий взаимодействие популяций особей одного вида внутри популяции и с окружающей средой. Синэкология — раздел науки, изучающий функционирование сообществ и их взаимодействия с биотическими и абиотическими факторами.

6. Типы экологических отношений.

Экологические отношения представляют собой очень сложные системы. Изучение экологических отношений на генетическом уровне основано на выявлении элементарных признаков с помощью методологии генетического анализа. Результатом является разра-

ботка и конструирование специальных эколого-генетических моделей для эксперимента и решения практических задач. Большую помощь в этих случаях оказывает знание пищевых цепей, когда организмы одной экосистемы выступают как продуценты и потребители каких-либо метаболитов. Экологические отношения делят на синэкологические (отношения между организмами) и аутэкологические (отношения организмов с окружающей средой). При всей полезности такого деления следует признать его относительность, поскольку многие факторы окружающей среды имеют биотическое происхождение. Синэкология исследует как отношения между организмами одного вида, так и отношения между организмами разных видов, объединяемых в экосистемы. Чаще всего эти отношения основываются на взаимозависимости разных видов, составляющих различные этапы пищевых цепей. Знание пищевых цепей в природе необходимо для прогнозирования последствий любых воздействий на экосистемы. Аутэкология рассматривает отношения живых существ с факторами окружающей среды преимущественно абиотического происхождения (температура, излучение, многие химические вещества). При этом подобные абиотические факторы могут быть естественными, с которыми живые организмы сталкивались неоднократно в ходе эволюции. В этом случае живые существа вырабатывали адаптивные реакции на такого рода воздействия, в результате чего возникала устойчивость организмов к повреждающим воздействиям в определенных пределах. Многим химическим агентам живые существа противостоят путем включения их в собственный метаболизм или в пищевые цепи экосистем. Сложнее обстоит дело с новыми, как правило антропогенными, факторами внешней среды, которые никогда не встречались в природе в ходе биологической эволюции. Вновь синтезированные химические вещества получили название «ксенобиотики» (от греческого ξένος — чуждый и βίος — жизнь).

7. Экологические факторы окружающей среды.

Экологические факторы – это движущая сила совершающихся процессов, которые осуществляются в отдельном организме, популяции или фитоценозе. Климатические факторы. Эдафические (почвенные). Орографические/топографические. Биотические. Антропогенные. Исторические.

8. Эколого-генетические модели. Принципы их разработки.

Применение методов генетического анализа связано с выявлением элементарных признаков. Это же справедливо и для генетического анализа экологических отношений, которые обычно сложны. Поэтому необходима разработка специальных эколого-генетических моделей. Большую помощь в этих случаях оказывает знание пищевых цепей, особенно если в них организмы одной экосистемы выступают как продуценты и потребители каких-либо метаболитов.

1. Эколого-генетическая модель «растение — агробактерия».

Почвенная бактерия *Agrobacterium tumefaciens* размножается в почве вблизи корней крестоцветных растений. При этом агробактерии вступают в тесное взаимодействие с корнями растения и передают часть своего наследственного материала. Небольшая кольцевая хромосома *A. tumefaciens* (так называемая Ti-плазмида) встраивается в хромосомы высшего растения. Способность Ti-плазмиды трансформировать клетки растений легла в основу методов генной инженерии растений. Встраивание генов плазмиды (Т-ДНК) приводит к образованию растительных опухолей, которые начинают интенсивно синтезировать некоторые аналоги аминокислот — опины, производные лизина, гистидина, орнитина или аргинина. Эти соединения, в свою очередь, служат дополнительным источником азота для агробактерий и тем самым стимулируют их размножение. Такое взаимоот-

ношение бактерий и растения получило название генетической колонизации. Генетический контроль взаимосвязи «агробактерия — растение» довольно подробно исследован. Биосинтез опинов происходит частично под контролем генов растения, а завершается под контролем генов агробактерии, передаваемых в клетки растения.

2. Эколого-генетическая модель «членистоногие (клещи, насекомые) — высшие растения».

В этой системе насекомые — вредители сельского хозяйства — и сельскохозяйственные растения связаны как потребители и продуценты стерина. Экзидон — стероидный гормон линьки насекомых, необходимый для нормального метаморфоза и полового размножения насекомых. Насекомые не могут синтезировать непосредственные предшественники экзидона. Тем не менее стерин является для них незаменимыми метаболитами. Насекомые получают их с пищей из растений. Выявление генов, отвечающих за элементарные экологические отношения, позволяет использовать генетический контроль для регулирования межвидовых отношений.

3. Эколого-генетическая модель «дрожжи — дрозофила».

Эта модель была разработана на основе предыдущей модели. В этой системе продуцент (дрожжи-сахаромицеты) и потребитель (мушка дрозофила) связаны последовательными этапами метаболизма стерина. В этом случае развитие дрозофилы облигатно зависит от синтеза стерина дрожжами. В настоящее время получены мутанты дрожжей по биосинтезу стерина, при добавлении их в питательную среду для дрозофилы развитие насекомого из яйца не происходит. В то же время, если кормить этими мутантными дрожжами взрослых мух-самок, то они становятся стерильными.

9. Примеры эколого-генетических моделей.

1. Эколого-генетическая модель «растение — агробактерия».

Почвенная бактерия *Agrobacterium tumefaciens* размножается в почве вблизи корней крестоцветных растений. При этом агробактерии вступают в тесное взаимодействие с корнями растения и передают часть своего наследственного материала. Небольшая кольцевая хромосома *A. tumefaciens* (так называемая Ti-плазмида) встраивается в хромосомы высшего растения. Способность Ti-плазмиды трансформировать клетки растений легла в основу методов генной инженерии растений. Встраивание генов плазмиды (Т-ДНК) приводит к образованию растительных опухолей, которые начинают интенсивно синтезировать некоторые аналоги аминокислот — опины, производные лизина, гистидина, орнитина или аргинина. Эти соединения, в свою очередь, служат дополнительным источником азота для агробактерий и тем самым стимулируют их размножение. Такое взаимоотношение бактерий и растения получило название генетической колонизации. Генетический контроль взаимосвязи «агробактерия — растение» довольно подробно исследован. Биосинтез опинов происходит частично под контролем генов растения, а завершается под контролем генов агробактерии, передаваемых в клетки растения.

2. Эколого-генетическая модель «членистоногие (клещи, насекомые) — высшие растения».

В этой системе насекомые — вредители сельского хозяйства — и сельскохозяйственные растения связаны как потребители и продуценты стерина. Экзидон — стероидный гормон линьки насекомых, необходимый для нормального метаморфоза и полового размножения насекомых. Насекомые не могут синтезировать непосредственные предшественники экзидона. Тем не менее стерин является для них незаменимыми метаболитами. Насекомые получают их с пищей из растений. Выявление генов, отвечающих за элементарные экологические отношения, позволяет использовать генетический контроль для регулирования межвидовых отношений.

3. Эколого-генетическая модель «дрожжи — дрозофила».

Эта модель была разработана на основе предыдущей модели. В этой системе продуцент (дрожжи-сахаромицеты) и потребитель (мушка дрозофила) связаны последовательными этапами метаболизма стерина. В этом случае развитие дрозофилы облигатно зависит от синтеза стерина дрожжами. В настоящее время получены мутанты дрожжей по биосинтезу стерина, при добавлении их в питательную среду для дрозофилы развитие насекомого из яйца не происходит. В то же время, если кормить этими мутантными дрожжами взрослых мух-самок, то они становятся стерильными.

10. Симбиотические отношения: определение, многообразие симбиотических систем, их значение.

Симбиогенетика — современное направление экологической генетики, которое носит интегральный характер, объединяя генетику, теорию эволюции и экологию, и способствует распространению генетического мировоззрения в эти отрасли. Симбиогенетика изучает особенности реализации генетической информации в надорганизменных системах. Симбиогенетика показывает роль обмена и совместного пользования генетической информацией организмами разных видов в эволюции биосферы, механизмах межвидового генетического взаимодействия. Примеров сложных симбиотических отношений очень много. Известно, что некоторые паразиты не просто используют промежуточных хозяев для своего развития, но активно влияют на их поведение, делая их легкой добычей для окончательного хозяина. Так, например, овцы, зараженные личинками собачьего лентеца *Taenia multiceps*, заболевают «вертячкой». Личинки проникают в спинной и головной мозг овец, овцы с поврежденной нервной системой ходят по кругу, отбиваются от стада и становятся легкой добычей хищников (собаки и волки — окончательные хозяева паразита). Следует обратить внимание, что, находясь в своей обычной экологической нише, организмы взаимодействуют друг с другом. Нарушение такого рода взаимодействий ярко проявляется в биологических инвазиях. При расширении транспортных потоков некоторые виды перемещаются на новые территории и, лишенные своих естественных «врагов», нерегулируемо там размножаются. Это большая экономически значимая проблема, решение которой требует знания частной биологии и экологической генетики.

А. де Бари предложил термин «симбиоз» (с греч. незаконное сожительство, адюльтер), усматривая сходство между взаимодействиями неродственных организмов и половыми процессами, происходящими при контактах близкородственных организмов. Правомерность этого подхода стала очевидной благодаря активному изучению молекулярных основ взаимодействия, поскольку выяснилось, что симбиоз, как и половой процесс, основан на объединении генных систем, ранее принадлежащих разным индивидам. Однако стало ясным и то, что тонкие механизмы, а также эволюционные последствия этого объединения различны. Действительно, при симбиозе расширение экологических возможностей происходит непосредственно у взаимодействующих организмов путем функциональной интеграции генов, что обычно не требует их рекомбинации, тогда как при половом процессе рекомбинация открывает возможность для повышения адаптивного потенциала лишь у потомков взаимодействующих (родительских) особей.

11. Генетическая основа симбиотических отношений.

Рассматривая симбиозы как высоко интегрированные биологические комплексы, мы должны признать наличие у них не только фенотипов, но и генотипов — надорганизменных генетических систем. Для симбиоза соотношение между генотипом и фенотипом обычно реализуется в формах: 1) тесной метаболической интеграции, вклю-

чающей образование общих путей биосинтеза и катаболизма, которые начинаются в одном из партнеров и заканчиваются в другом; 2) развития новых структур, которые имеют химерную природу — содержат компоненты, кодируемые генами обоих партнеров. В отличие от фенотипа свободноживущего организма, который формируется как норма реакции его генотипа на условия окружающей среды, фенотип симбиотической системы является продуктом интегративного взаимодействия генотипов двух или более партнеров, а также каждого из них с внешней средой (при эндосимбиозе взаимодействие микроорганизмов со средой опосредовано хозяином).

Функциональная целостность надорганизменных генных систем определяет методологию симбиогенетики, основанную на том, что функции большинства *sum*-генов не могут быть адекватно изучены в отсутствие специфичного партнера. При факультативных и экологически облигатных симбиозах *sum*-гены могут быть изменены у каждого из партнеров по отдельности, после чего удастся значительно расширить возможности генетического анализа за счет различных сочетаний генотипов партнеров.

При этом комбинирование генотипов микросимбионтов и хозяев может рассматриваться как особая форма гибридологического анализа, что соответствует представлению о симбиозе как о форме скрещиваний, в которую вовлекаются неродственные организмы. В результате этого двухуровневого гибридологического анализа выясняется, что для симбиоза единицей наследственности является не ген (как у индивидуального организма), а как минимум пара генов, принадлежащих разным организмам. Действительно, сходство простейшей из схем «ген-на—ген» (квадратная сетка), характерной для фитопаразитарных отношений, с менделевской схемой наследования моно генного признака (3 : 1) свидетельствует о том, что отношения симбиотических партнеров могут быть описаны в терминах не только межгенных, но межallelельных взаимодействий. Взаимоотношения между единицами наследственности и наследования в симбиотических системах определяются обязательностью симбиоза для партнеров. В этом случае, если растения и микробы сохраняют способность к автономному существованию, объединяясь лишь на определенных стадиях своих жизненных циклов, их *sum*-гены передаются в поколениях независимо. Таким образом, в системах факультативного и экологически облигатного симбиоза единицы наследования и наследственности не совпадают. Однако при генетически облигатных симбиозах, сопровождаемых вертикальной передачей микробов в поколениях хозяина (например, передача эндофитов *Epiclhoe* через семена у злаков или трансовариальная передача бактерии *Buchnera* у тлей), наследование *sum* - генов партнеров тесно сопряжено. Следовательно, по мере повышения интегрированности партнеров «симбиотические» единицы наследственности могут приобретать статус единиц наследования, что соответствует трансформации симбиоза в целостный организм.

12. Примеры симбиотических отношений с генетическими последствиями.

Одним из наиболее ярких свидетельств реальности надорганизменных генетических систем является развитие новых клеточных и тканевых структур, характерное для многих мутуалистических и антагонистических симбиозов. Например, фитопатологами детально изучены клеточные изменения при реакции сверхчувствительности, формирование у растений галлов или синцитиев при инфицировании нематодами, а также неопластические трансформации при инфицировании агробактериями.

Среди мутуалистических симбиозов наиболее изученным примером являются клубеньки бобовых, которые возникают из примордиев, формируемых у хозяина *de novo*. Для основных типов клубеньков (недетерминированные: *Pisum*, *Trifolium*, *Medicago*; детерминированные: *Phaseolus*, *Glycine*) морфогенетические программы удалось разделить на ряд подпрограмм, среди которых ключевыми являются подпрограммы образова-

ния симбиотических компартментов (инфекционные нити, симбиосомы) и развития азотфиксирующих тканей (рис. 3). Основное различие между ними состоит в том, что гистогенез клубеньков может частично происходить в отсутствие бактериального партнера (например, при добавлении липохито-олигосахаридных Nod- факторов), тогда как инфекционные нити и симбиосомы формируются только живыми бактериями. Кульминацией развития клубеньков у большинства бобовых является формирование в растительных клетках симбиосом - стабильных структур, содержащих азотфиксирующие формы ризобий (бактероиды). При этом клетки обоих партнеров претерпевают глубокую дифференцировку, а также обмениваются продуктами действия *sym*-генов. Например, белки, синтезируемые *de novo* в растительной клетке, включаются не только в состав симбиосомной мембраны (производной аппарата Гольджи и эндоплазматической сети), но и в перибактероидное пространство (заполненное в основном продуктами бактериального происхождения) и даже в состав мембраны бактериоида. В свою очередь, бактериальные белки включаются в перибактероидную мембрану, которая, таким образом, является химерной структурой, возникшей при объединении макромолекул прокариотического и эукариотического происхождения.

13. Роль симбиоза в эволюции.

Структурно-функциональная целостность симбиозов тесно связана с их эволюционной целостностью: надорганизменные генетические системы являются объектами действия особых факторов, обеспечивающих тесно скоординированные изменения (ко-эволюцию) партнеров.

В случае микробно-растительных симбиозов происходящие преобразования часто приводят к тому, что в их орбиту вовлекаются новые микробные партнеры, для взаимодействия с которыми растения используют генные системы, сложившиеся в процессе коэволюции с более древними симбионтами.

В начале 90-х годов было показано, что у бобовых многие гены клубенькообразования участвуют также и в формировании арбускулярной микоризы (АМ) древнейшей симбиотической системы, образуемой 75— 90% наземных растений с гломусовыми грибами. Более того, многие белки, специфически индуцируемые в микоризованных корнях, оказались идентичными ранним нодулинам, активируемым в клубеньках до начала азотфиксации. Изучение многочисленных общих факторов, участвующих в развитии клубеньков и АМ, позволило вскрыть комплексные схемы их контроля, которые можно рассматривать как программы о историческом и индивидуального развития единого трехкомпонентного симбиоза. Результаты генетического изучения ризобий показывают, что формирование системы их *sym*-генов определялось адаптацией к растительным факторам, регулирующим развитие АМ. Действительно, ризобии индуцируют закладку клубеньков с помощью Nod-факторов, представляющих собой олигомеры хитина — основного компонента клеточной стенки грибов. Системы синтеза Nod-факторов сформированы из генов, продукты которых (трансферазы, лигазы, гидролазы, транскрипционные регуляторы) имеют близких гомологов у несимбиотических бактерий. Однако лишь у ризобий эти гены организованы в особые опероны и регулоны, что обеспечивает уникальную для бактерий функцию синтеза хитиноподобных сигналов. Логично предположить, что в процессе ко-эволюции с хозяевами ризобии приобрели способность к молекулярной мимикрии более древних грибных симбионтов, для взаимодействия с которыми растение имело уже сложившиеся генные системы. При этом со стороны бактерий, как и со стороны растений, эволюция симбиотических свойств происходила по сценарию «рекрутирования» генов, ранее выполнявших независимые клеточные функции. Еще более тесная историческая связь АМ и клубенькообразования может

быть прослежена на основании данных о том, что в гифах и спорах некоторых гломусовых грибов стабильно поддерживаются бактерии, близкие к *Burkholderia*. Эти бактерии, известные как растительные патогены и как системные азотфиксирующие эндофиты, недавно были обнаружены среди клубенькообразующих симбионтов бобовых. Логично предположить, что анцестральные формы ризобий произошли от эндосимбионтов гломусовых грибов, тем более что развитие АМ включает регулярную деградацию арбускул, при которой содержимое грибной гифы освобождается в растительную цитоплазму.

Ключевой особенностью программ развития азотфиксирующих клубеньков и микоризы является наличие элементов, общих с системами защиты растений от патогенов. Действительно, в регуляции этих симбиозов важную роль играют флавоноиды, фенолы, пероксидазы, каллоза, литические ферменты (хитиназы, глюканазы), а также активные формы кислорода, то есть факторы, блокирующие проникновение фитопатогенов при реакции гиперчувствительности. Однако синтез этих факторов при мутуалистических симбиозах происходит гораздо менее активно, чем при патогенезе, и тонко регулируется сигналами, поступающими от микросимбионтов

Молекулярные механизмы этой регуляции подробно изучены на примере ризобий: их экзо- и липополисахариды играют ключевую роль в диалоге с защитными системами растений. При бактериальных мутациях, нарушающих биогенез поверхностных структур, активность защитных реакций растения-хозяина резко возрастает, что приводит к ранней блокировке развития клубеньков, а иногда и к глубокой реорганизации их структуры. Интересно отметить, что недавно у ризобий были выявлены системы секреции белков III типа, которые используются многими фитопатогенными бактериями для доставки белков-эффекторов в растительные клетки. Представленные данные показывают, что у растений имеются универсальные системы регуляции симбиотических взаимодействий, которые в зависимости от формы микросимбионта используются либо для его подавления (при патогенезе), либо для тесного объединения с ним (при мутуализме). Таким образом, большинство известных форм микробно-растительного взаимодействия являются элементами единого эволюционного континуума, который начал складываться еще на заре становления наземной флоры. Недавно проведенные исследования мха *Pluyscomitrella patens* показали, что его защита от бактериальных патогенов происходит с использованием тех же факторов, что и у цветковых растений.

14. Роль симбиотических отношений в происхождении эукариотической клетки.

Теорию эндосимбиотического происхождения хлоропластов впервые предложил в 1883 году Андреас Шимпер, показавший их саморепликацию внутри клетки. В результате изучения последовательности оснований в митохондриальной ДНК были получены весьма убедительные доводы в пользу того, что митохондрии — это потомки аэробных бактерий (прокариот), родственных риккетсиям, поселившихся некогда в предковой эукариотической клетке и «научившимися» жить в ней в качестве симбионтов (организмов, участвующих в симбиозе). Теперь митохондрии есть почти во всех эукариотических клетках, размножаться вне клетки они уже не способны. Существуют свидетельства того, что первоначально эндосимбиотические предки митохондрий не могли ни импортировать белки, ни экспортировать АТФ. Вероятно, первоначально они получали от клетки-хозяина пируват, а выгода для хозяина состояла в обезвреживании аэробными симбионтами токсичного для нуклеоцитоплазмы кислорода. Пластиды, подобно митохондриям, имеют свои собственные прокариотические ДНК и рибосомы. По-видимому, хлоропласты произошли от фотосинтезирующих бактерий, поселившихся в своё время в гетеротрофных клетках протистов, превратив их в автотрофные

водоросли.

15. Генетика устойчивости к факторам среды. Основные положения генетики устойчивости.

Существование в популяциях наследственной изменчивости, прежде всего мутаций в гетерозиготном состоянии, позволяет им быстро приспосабливаться к новым условиям среды за счет изменения генетической структуры. Мутационный процесс ведет также к образованию в популяциях генетического полиморфизма — разнообразия частот аллелей, гомозигот по доминантным, гетерозигот или гомозигот по рецессивным генам. Полиморфизм является механизмом, поддерживающим существование популяций. Если, например, гетерозиготность обеспечивает лучшую приспособляемость к изменившимся условиям среды, то идет отбор в пользу гетерозигот, что приводит к сбалансированному полиморфизму — воспроизведению в популяции из поколения в поколение определенного соотношения различных генотипов и фенотипов. Процессы, обеспечивающие способность популяции сохранять свою генетическую структуру, называют генетическим гомеостазом. Многие генетически детерминированные реакции организмов на внешние факторы среды имеют адаптивный характер, что обеспечивает жизнь и размножение организмов в колеблющихся условиях среды. Среди адаптивных реакций различают физиологический гомеостаз и гомеостаз развития. Примером гомеостаза развития может быть также приобретение переболевшим организмом иммунитета против соответствующей инфекции. Экологическая регуляция связана с генетически обусловленной видовой нормой реакции на изменение условий среды и осуществляется разными способами в зависимости от соотношения двух форм биологической устойчивости — сопротивляемости (резистентности) и выносливости (толерантности). Сопротивляемостью достигается сохранение относительного внутреннего функционального постоянства системы — ее гомеостаза. Кроме вышеуказанных «общеорганизменных» функций наличие гомеостаза организма существует еще одна очень важная особенность: живое вещество как бы создает еще одну среду обитания, а именно возможность заселения организма другими живыми существами для постоянного или временного обитания. При всем многообразии механизмов популяционного гомеостаза их можно сгруппировать в три важнейшие функциональные категории: 1 — поддержание адаптивного характера пространственной структуры, 2 — поддержание генетической структуры, 3 — регуляция плотности населения. Вместо формальных ПДК — ответ: здоров или нет какой-то вид.

16. Генетические механизмы, определяющие устойчивость организмов к факторам среды.

Существование в популяциях наследственной изменчивости, прежде всего мутаций в гетерозиготном состоянии, позволяет им быстро приспосабливаться к новым условиям среды за счет изменения генетической структуры. Мутационный процесс ведет также к образованию в популяциях генетического полиморфизма — разнообразия частот аллелей, гомозигот по доминантным, гетерозигот или гомозигот по рецессивным генам. Полиморфизм является механизмом, поддерживающим существование популяций. Если, например, гетерозиготность обеспечивает лучшую приспособляемость к изменившимся условиям среды, то идет отбор в пользу гетерозигот, что приводит к сбалансированному полиморфизму — воспроизведению в популяции из поколения в поколение определенного соотношения различных генотипов и фенотипов. Процессы, обеспечивающие способность популяции сохранять свою генетическую структуру, называют генетическим гомеостазом. Многие генетически детерминированные реакции орга-

низмов на внешние факторы среды имеют адаптивный характер, что обеспечивает жизнь и размножение организмов в колеблющихся условиях среды. Полиморфизмы генов детоксикации ксенобиотиков. Репарация ДНК.

17. Основные типы повреждений ДНК.

Потеря основания, пиримидиновый димер, аддукт, межнитевая сшивка, аномальное основание, разрыв нити ДНК, 6,4 фотопродукты, внутринитевая сшивка.

18. Генетическая репарация. Многообразие систем репарации.

Возникающие под действием УФ-лучей. Подавляющее большинство повреждений ДНК репарируются. Нерепарируемые повреждения возникают редко. •У прокариотических организмов: фотореактивация, эксцизионная репарация, пострепликативная репарация, репарация, склонная к ошибкам, SOS-репарация. У эукариотических организмов: эксцизионная репарация, пострепликативная репарация, репарация, склонная к ошибкам, репарация ошибочно спаренных нуклеотидов, репарация одно- и двунитевых разрывов. Фотореактивация открыта в 1948 И. Ф. Ковалевым (СССР), А. Келнером и Р. Дульбекко (США) в опытах синфузориями, парамециями, коллатками, конидиями грибов, бактериями и бактериофагами. Было продемонстрировано повышение выживаемости облученных летальными дозами УФ-света организмов после воздействия видимым светом. Восстановительный эффект при фотореактивации связан с действием фермента — фотолиазы (дезоксирибопиримидинфотолиазы), представляющей собой полипептид, ассоциированный с небольшой молекулой РНК (10-15 нуклеотидов).

Механизм эксцизионной репарации УФ-повреждений ДНК у бактерий был предсказан А. П. Говард-Фландерсом и др. в 1964 г. Было показано, что после облучения УФ-светом происходит вырезание поврежденных участков ДНК с измененными нуклеотидами и ресинтез ДНК в образовавшихся пробелах. Эксцизионную репарацию нуклеотидов, т. е. связанную с полным удалением поврежденных нуклеотидов из поврежденной цепи ДНК, называют также репарацией по типу выщепления-замещения или более образно «механизма реж — латай». Эксцизионная репарация представляет собой многоэтапный процесс и включает: 1) «Узнавание» тиминового димера. 2) Инцизию — надрезание одной цепи ДНК вблизи димера. 3) Эксцизию — удаление сегмента ДНК с поврежденными нуклеотидами (тиминовым димером). 4) Ресинтез ДНК. 5) Восстановление непрерывности репарируемой цепи за счет образования фосфодиэфирных связей.

SOS – репарация — форма индуцированной репарации, проявляющейся в способности клетки реагировать на большие повреждения ДНК (SOS-ответ). Сигналом для SOS-репарации является повреждение ДНК, препятствующие репликации ДНК и клеточному делению. Основная задача этой системы – пройти дефектный участок ДНК так, чтобы не нарушалась работа фермента репликации — ДНК-полимеразы. Итогом деятельности этой системы является спасение клетки от гибели на данном этапе и может обеспечить митоз, хотя повышается риск мутагенеза и гибели клетки. Система SOS – репарации в клетке активируется в тот момент, когда в ДНК появляются летальные дефекты, останавливающие работу фермента ДНК – полимеразы в процессе репликации. Этими дефектами могут быть пиримидиновые димеры, AP – сайты, одноцепочечные разрывы и другие. Эта система состоит из набора специфических белков — RecA, LexA, UmuD, UmuC и другие. Когда эти белки переходят в активное состояние, они способствуют формированию фермента полимеразы V, для которого характерна низкая комплементарность к материнской цепи ДНК. Эта особенность данного фермента позволяет ему интегрироваться в дочернюю цепь нуклеотидов, не комплементарный нуклеотид материнской цепи, преодолевать место дефекта и продолжать процесс репликации. В неповрежден-

ной молекуле ДНК экспрессия генов, ответственных за синтез фермента полимеразы V, блокируется белком LexA.

19. Система белков теплового шока, значение и механизмы индукции в ответ на действие неблагоприятных факторов.

В эволюционном отношении Hsp относятся к высококонсервативным белкам и обнаруживаются во всех организмах от бактерий до человека. Это свидетельствует о том, что они выполняют фундаментальные клеточные функции. Как цитопротекторные свойства стресс-белков, так и их роль в процессах нормальной жизнедеятельности клетки во многом определяется тем, что эти белки являются шаперонами. Шапероны – это белки, которые облегчают формирование вторичной и третичной структуры других белков. Hsp также участвуют в процессах репарации или элиминации неправильно свернутых или денатурированных белков.

20. Этапы биотрансформации ксенобиотиков в организме.

В метаболизме ксенобиотиков участвуют около 30 ферментов.

В нем различают две фазы: 1) модификация, создающая или освобождающая функциональные группы, 2) конъюгация – присоединение к последним других групп или молекул. Наиболее часто метаболизм происходит именно в такой последовательности, но при наличии в молекуле ксенобиотика функциональных групп он может сразу же подвергнуться конъюгации. Обычно обе фазы, особенно при совместном действии, приводят к увеличению гидрофильности и снижению активности и токсичности молекулы. Третьей фазой – уже не метаболизма, а судьбы ксенобиотиков – можно считать связывание и выведение самих ксенобиотиков и их метаболитов из клетки, а затем из организма.

21. Система микросомальных пероксидаз P450.

Важную роль в первой фазе детоксикации играют цитохромы P450 1A1, P450 1A2, P450 1B1.

Цитохром P450 1A1 участвует в монооксигеназной активации полициклических ароматических углеводородов и ароматических гетероциклических аминов с образованием реактивных токсических метаболитов – эпоксидов, фенолов, гидроксирования микотоксинов, флованоидов, кофеина, теофиллина. В литературе имеются данные об ассоциациях данного фермента с раком легких, раком полости рта, раком молочной железы, почечно-клеточной карциномой, острым лейкозом, В-клеточным хроническим лимфолейкозом.

Цитохром P450 1A2 участвует в метаболической активации посредством N-гидроксилирования преимущественно ароматических аминов, а также гетероциклических аминов.

CYP1A2 также активизирует полициклические ароматические углеводороды, нитрозамины и афлотоксин B1, тем самым продуцируя различные классы метаболитов, обладающих цитотоксическими канцерогенными свойствами.

CYP1A1 кодирует фермент арилуглеводородкарбоксилазу, который участвует в метаболизме эстрогенов, осуществляя активацию эстрадиола. Метаболизирует никотин, фенацетин, кофеин, теофиллин, пропранолол, гидроксилирует микотоксины, флованоиды. Выявлены ассоциации этого фермента с онкологическими заболеваниями, эндометриозом, установлено, что он повышает риск возникновения инфаркта миокарда с каждой лишней выпитой чашкой кофе.

Цитохром P450 1B1 участвует в метаболизме холестерина, стероидов и липидов. Имеются данные об ассоциациях этого фермента с онкозаболеваниями, гормональными нарушениями, развитием глаукомы.

Активность разных изоформ может существенно различаться. Каждая изоформа P-450 окисляет определенное химическое соединение. Это называется субстратной специфичностью фермента. Однако часто наблюдается перекрест специфичности, когда один фермент, кроме типичного для него вещества, способен метаболизировать и другие. Выделяют базовый уровень активности фермента (постоянный, конституциональный) и, кроме этого, индуцированный уровень. Например, базовый уровень цитохрома CYP 1A1, метаболизирующего ПАУ, очень низок, в отсутствие ПАУ почти не определяется. Но при воздействии даже очень малых доз ПАУ активность этого фермента возрастает в 1000 раз и более. У человека CYP 1A1 экспрессируется в легких, почках, кишечнике, клетках крови, но не в печени. А у грызунов, крыс и мышей печень, наоборот, является главным органом метаболизма ПАУ и других КГ. При изучении процессов метаболизма КГ различной химической структуры и происхождения межвидовые различия необходимо учитывать.

Цитохромы P-450 метаболизируют не только ксенобиотики, но и низкомолекулярные жирорастворимые эндобииотики, например, стероидные гормоны. Некоторые их метаболиты являются генотоксичными, т.е. являются эндогенными КГ. Установлено, что КГ окружающей среды, например ПАУ, способны изменять активность цитохромов P-450 для эстрогенов таким образом, что происходит сдвиг метаболизма в сторону накопления более генотоксичных форм эстрогенов.

22. Генетическая токсикология, предмет, задачи.

Общепринятого определения предмета токсикологии в настоящее время не существует.

Самым простым является, непосредственно вытекающее из названия науки: *toxicon* – яд, *logos* – наука.

Токсикология - наука о ядах и интоксикациях (отравлениях).

«Токсикология – это область медицины, изучающая законы взаимодействия живого организма и яда» (Лужников Е.А., 1994).

«Токсикология - наука, изучающая закономерности развития и течения патологического процесса (отравления), вызванного воздействием на организм человека или животного ядовитых веществ» (Голиков С.Н., 1972).

Предметом изучения науки токсикологии являются токсичность химических веществ и токсический процесс, развивающийся в биосистемах.

Если объектом исследования является токсичность химических веществ для человека, то говорят о медицинской токсикологии.

Токсичность – способность веществ, действуя на биологические системы, вызывать их повреждение, нарушая физиологические функции организма, а при тяжелых повреждениях его гибель.

Токсический процесс – формирование и развитие реакций биосистемы на действие токсиканта, приводящее к ее повреждению (нарушению функции, жизнеспособности) или гибели.

В токсикологии используют и другие термины, характеризующие химические вещества, как потенциальную или реализовавшуюся причину повреждения биологических систем: Яд (токсин) – под определением яд можно понимать вещество, приводящее к нарушению жизнедеятельности организма в небольших дозах (относительно массы тела), к возникновению отравления (интоксикации) или каких либо заболеваний и патологических состояний.

Токсин – как правило, высокотоксичное вещество бактериального, животного, растительного происхождения:

к токсинам (ядам) бактериального (микробного) происхождения относят практически

все патогенные микроорганизмы: ботулотоксин, столбнячный токсин, дифтерийные токсины, стафилококковые энтеротоксины, шигеллотоксин и патогенные клостридии, вызывающие анаэробную инфекцию мягких тканей человека и др.;

к токсинам животного происхождения (зоотоксины) относят: сакситоксин, тетрадотоксин, батрахотоксин, бунгаротоксин и др. яды насекомых, земноводных, пресмыкающихся, различных морских и др. животных. Нейротоксины специфически действуют на нервные клетки;

к ядам (токсинам) растительного происхождения (фитотоксины) относят: мускарин, никотин, рицин, абрин, курцин и др. токсины выделенные из растений. Растительные яды многочисленны по своей природе и очень разнообразны.

Токсикант – более широкое, чем яд, понятие, употребляющееся для обозначения веществ, вызывающих не только интоксикацию, но провоцирующих и другие формы токсического процесса, и не только организма, но и биологических систем (клетки, популяции).

Отравляющее вещество (ОВ) – химический агент, предназначенный для применения в качестве оружия в ходе ведения боевых действий.

Ксенобиотик – чужеродное (не участвующее в пластическом или энергетическом обмене организма со средой) вещество, попавшее во внутренние среды организма, способное вступать во взаимодействие с различными структурами организма и вызывать нарушение его жизнедеятельности, переходящее при определенных условиях в болезненное состояние (отравление).

Основной задачей генотоксикологии является создание методологии для классификации факторов окружающей человека среды по степени их генетической опасности с целью осуществления различных регулирующих действий, направленных на предотвращение и уменьшение возможных генетических последствий этих факторов. Для контроля за содержанием генотоксикантов в среде, окружающей человека, необходима разработка этих действий по следующим направлениям:

- 1) оценка индивидуальных факторов и их гигиеническое нормирование (установление ПДК);
- 2) мониторинг среды на содержание таких факторов в окружающей среде;
- 3) генетический мониторинг популяций человека.

23. Изменчивость, виды изменчивости.

На молекулярном уровне изменчивость заключается в изменении генов, их комбинаций и проявления действия генов в процессе онтогенеза. На фенотипическом уровне изменчивость проявляется как изменение признаков. Изменение окружающей среды при антропогенном воздействии имеет следствием увеличение изменчивости у всех организмов от вирусов до человека.

При модификационной изменчивости признаки в зависимости от условий среды могут быть сильно модифицированы на базе одного и того же генотипа. Так, например, кролики гималайской породы белые, но кончики ушей, нос, лапки и хвост — черные. Такой фенотип связан с тем, что ген, контролирующий образование черного пигмента, работает только при низких температурах. Поэтому черная окраска только на тех участках тела, где температура ниже. При высокой температуре кролики полностью белые, при низкой — полностью черные. Если выбрить участок кожи и прикладывать к нему лед, охлаждая до -2°C , то участок кожи будет черным

Онтогенетическая изменчивость — это реализация нормы реакции организма во времени, в ходе его индивидуального развития. Онтогенетическая изменчивость связана не с изменением генов, а с изменением проявления генов в процессе индивидуального разви-

тия. Например, у чешуекрылых насекомых (бабочек) развитие идет с полным превращением: яйцо — личинка (гусеница) — имаго.

Мутационная изменчивость связана с изменением самих генов, т. е. с изменением последовательности нуклеотидов в ДНК. Эти изменения наследуются и играют большую роль в эволюции, являясь материалом для естественного отбора. На фенотипическом уровне мутации — явление прерывистого скачкообразного изменения наследственного признака. Мутации могут затрагивать любой признак: морфологический, физиологический, биохимический, поведенческий. Эти изменения могут быть резкими или едва заметными отклонениями от дикого типа (стандарта).

Комбинационная изменчивость связана не с изменением генов, а с появлением новых комбинаций уже существующих генов. Она обеспечивается тремя процессами: независимым расхождением хромосом в мейозе, кроссинговером, случайным сочетанием отцовской и материнской наследственности в зиготе. Благодаря комбинационной изменчивости обеспечивается колоссальное разнообразие организмов, размножающихся половым путем.

Когда говорят о спонтанном мутационном процессе, подразумевается возникновение мутации при обычных физиологических состояниях организма без дополнительного воздействия какими-либо внешними для организма факторами.

24. Теория мутаций.

Теория мутаций составляет одну из основ генетики. Она зародилась в 1901–1903 гг. в трудах Гуго Де Фриза сразу после переоткрытия законов Г. И. Менделя.

Рассмотрите разные определения понятия «мутация» (из курса общей генетики). До сих пор не существует краткого определения мутации, лучшего, чем дал Г. Де Фриз, хотя оно не лишено недостатков. Итак, мутация представляет собой явление скачкообразного прерывистого изменения наследственного признака. Определение понятия «мутация» вызывает трудности.

1. Мутации возникают внезапно, без переходов, как дискретные изменения признаков.
2. Новые изменения константны, устойчивы, наследуются.
3. Мутации не образуют вариационных рядов, не группируются вокруг какого-либо среднего типа. Они представляют собой качественные изменения.
4. Мутации возникают в разных направлениях, могут быть как полезными, так и вредными, т. е. они не носят адаптивного характера.
5. Вероятность обнаружения мутаций зависит от количества проанализированных особей.
6. Одни и те же мутации могут возникать неоднократно (повторно).
7. Мутации дают начало новым видам.
8. В эволюции большее значение имеют множественные мелкие мутации, а не резкие крупные изменения.
9. Мутации автогенны, т. е. самопроизвольны.

В настоящее время мутационная теория дополнена новыми положениями:

1. Выявлены закономерности в, казалось бы, ненаправленных случайных изменениях наследственного материала. Эта закономерность выражена в законе Н. И. Вавилова. Согласно мутационной теории Де Фриза мутации могут идти в разных направлениях — это непредсказуемые события. Н. И. Вавилов сформулировал закон гомологических рядов наследственной изменчивости: Генетически близкие роды и виды имеют сходные ряды наследственной изменчивости. Закон Вавилова позволяет прогнозировать, в каком направлении могут идти мутации у данного вида, т. е. делает мутационный процесс более предсказуемым. Таким образом, мутации получили первую характеристику — мы

может охарактеризовать всевозможных мутаций.

2. Мутации получили вторую характеристику — частотную: частота мутирования для разных генов различна. Есть «горячие точки» — гены, для которых характерна особенно высокая частота мутаций.

Известны и так называемые множественные мутанты — это несколько генов, мутирующих одновременно. Их совместного мутирования на порядок и более превышает теоретически ожидаемую. Уровень мутабельности вида находится под генетическим контролем и может быть видовой характеристикой.

3. В связи с загрязнением окружающей среды Н. П. Дубининым введено еще одно положение в теорию мутаций: «Факторы, введенные прогрессом науки в среду, окружающую человека, способствуют накоплению отрицательных мутаций — генетического груза».

25. Типы мутагенов (физические, химические, биологические).

Мутации вызывают мутагены — факторы, способные нарушать наследственные структуры всех живых организмов, включая человека.

При изучении этого раздела обратите внимание на мутагенные факторы, с которыми сталкивается человек в обычной жизни, и предложите способы уменьшения этого воздействия.

Все мутагенные факторы подразделяются на естественные и искусственные. Естественными являются природные факторы, играющие основную роль в изменчивости организмов в процессе эволюции. Они существуют и теперь, но благодаря деятельности человека концентрации многих из них стали значительно выше, что приводит к увеличению влияния на изменчивость наследственного материала. Искусственные мутагенные факторы — это новые факторы, результат научной и хозяйственной деятельности человека. К физическим мутагенам относятся различные виды ионизирующих излучений, солнечная радиация, ультрафиолетовое излучение, вибрация и др. Атомная энергия является незаменимой для решения энергетических и других глобальных проблем, например опреснения воды. Широкие возможности совершенствования технологических процессов и повышения производительности труда появились с внедрением изотопных методов в промышленность и сельское хозяйство. Вместе с тем происходит значительное накопление жидких радиоактивных отходов.

В воздушных бассейнах крупных городов с развитой промышленностью и интенсивным движением автотранспорта пыль и дымы содержат радон, изотопы калия и углерода. Добыча многих полезных ископаемых (угля, нефти, руды) приводит к извлечению на поверхность значительных количеств радиоактивных изотопов.

Мутагенное действие радиоактивного излучения показано в многочисленных экспериментах с использованием различных объектов от простейших до млекопитающих. Исследование действия радиации на мутационный процесс показало, что пороговая доза в этом случае отсутствует и даже самые небольшие дозы повышают вероятность возникновения мутаций в популяции. Бурный прогресс химической промышленности вызвал появление огромных количеств химических соединений. Синтетическая химия дала человечеству немало новых веществ, с которыми организм человека в процессе эволюции ранее не сталкивался, — это ксенобиотики. В настоящее время зарегистрировано более 2 млн вновь синтезированных химических веществ. По оценке Всемирной организации здравоохранения из более 6 млн известных химических соединений практически используется около 500 000 соединений; из них около 40 000 обладают вредными для человека свойствами, а более 12 тыс. являются токсичными.

Химические факторы очень широко распространены в окружающей среде. Несмотря на

то, что на мутагенную активность проверяется менее 0,1 % всех химических веществ, уже известны сотни примеров соединений, проявляющих мутагенную активность среди четырех групп химических факторов окружающей среды: пестицидов, промышленных ядов, пищевых добавок, лекарств.

Химические вещества, повреждающие наследственность, принадлежат к различным классам соединений: кислоты, спирты, соли, различные циклические соединения, тяжелые металлы и другие. Генетической активностью наряду с другими факторами окружающей среды обладают некоторые факторы биологической природы. Механизмы мутагенного эффекта этих факторов в настоящее время изучены недостаточно подробно. Обратите внимание на обычные вирусы, которые могут вызывать у человека серьезные генетические последствия.

Одними из известных биологических мутагенов являются вирусы. Аберрации хромосом в соматических клетках человека вызывают вирус оспы, кори, ветряной оспы, эпидемического паротита, гриппа, гепатита и др.

Вирусы могут усиливать темп мутаций клеток хозяина за счет подавления репарационных систем. Непатогенные вирусы, всегда присутствующие в клетках, создают поток чужеродной ДНК, который постоянно воздействует на клетку хозяина.

Повышение частоты хромосомных мутаций вызывает также воздействие одноклеточных организмов микоплазмы (*Mycoplasma pulmonis*) и гемолитического стрептококка.

26. Мутагены и промутагены.

Косвенные мутагены (промутагены) сами не обладают мутагенной активностью, но их метаболиты генотоксичны. Таким образом, даже проверка фактора несколькими методами на нескольких тест-объектах ещё не гарантирует, что его генетическая безопасность окончательно установлена.

По этим причинам для уменьшения количества возможных ложноотрицательных и ложноположительных ответов необходимо использовать широкий набор методов с применением широкого круга объектов (системы тестов). Это сильно усложняет и удорожает исследование. Для уменьшения возникших затрат предложены различные варианты ступенчатых (этапных) систем тестирования мутагенов и промутагенов, основу которых составляет скрининг (просеивание) большого числа веществ.

27. Канцерогены: характеристики, закономерности и механизмы действия. Классификация канцерогенов.

28. Механизмы химического и радиационного канцерогенеза.

Канцерогенез, индуцированный химическими агентами, представляет собой многоступенчатый процесс. Этот феномен показан на моделях развития опухолей кожи, печени, мочевого пузыря и кишечника в экспериментах, и подтвержден убедительными эпидемиологическими данными новообразований у людей. Канцерогенез включает в себя последовательные фазы инициации, промоции и прогрессии, т.е. реализуется только при определенном порядке воздействия сменяющихся друг друга экзо и/или эндогенных канцерогенных факторов, каждый из которых в отдельности не способен привести к индукции опухолей.

При РИ Опухолевый рост происходит по общебиологическим закономерностям, характер которых имеет скорее количественное, чем качественное различие по сравнению с нормальными физиологическими процессами, протекающими в организме.

29. Онкогены и гены опухолевые супрессоры. Бластомогенное действие радиации явля-

ется одной из наиболее серьезных форм отдаленной патологии, развивающейся после лучевого воздействия. Опухоли возникают из клеток облученных органов и тканей с различной физиологической специализацией при общем или частичном облучении целостного организма, а также при облучении клеток *in vitro* и *in vivo*.

Очевидно, единые общебиологические закономерности лежат в основе указанной патологии, связанной с прямым или опосредованным воздействием радиации на одни и те же мишени соматических клеток, повреждение которых ответственно за приобретение клеткой способности к неограниченному, неконтролируемому размножению.

Радиация отличается от множества других канцерогенов тем, что может индуцировать все типы спонтанно возникающих опухолей, которые могут возникнуть практически во всех тканях.

Вероятность возникновения опухоли носит стохастический характер и зависит от многих факторов: дозы облучения и ее мощности, фракционирования, ЛПЭ излучения, возраста и пола облучаемого, генетических особенностей, условий жизни и других факторов, многие из которых могут играть роль промоторов.

Радиация в условиях длительного облучения может быть не только инициатором, но и промотором, что необходимо учитывать в условиях длительного облучения. При одновременном действии других вредных факторов, обладающих канцерогенным действием, вероятность развития опухоли повышается.

Опухоли наиболее часто возникают в тканях, непосредственно подвергающихся облучению (в местах депонирования радионуклидов).

Латентный период зависит от дозы облучения и возраста облученного. По материалам клинических наблюдений, для большинства опухолей у человека он превышает 20 лет, в среднем - 25 лет. Развитие опухоли в организме - многоступенчатый процесс, в котором принято выделять три качественно различных этапа в порядке их реализации: иницирование, активация и прогрессия опухоли. Первый этап формируется иницирующим действием канцерогенных факторов на клетки мишени органа или ткани (клетки, из которых, в принципе, может развиваться диагностируемая опухоль). Продуктом этого этапа являются первично измененные клетки, пока еще фенотипически полностью неотличимые от своих нормальных гомологов. Злокачественная трансформация (активация) одной из первично измененных клеток, ее превращение в собственно неопластическую клетку - источник опухолевого роста осуществляется на втором этапе под действием экзогенных или эндогенных промоторов опухоли. Окончательно развитие злокачественно измененной клетки в диагностируемую опухоль реализуется на последнем, третьем, этапе формирования злокачественного новообразования - опухолевой прогрессии.

30. Онкогенные вирусы, их типы и механизмы действия на клетку.

К ним относятся крупные ДНК-содержащие вирусы, родственные вирусу герпеса, ДНК-содержащий вирус сывороточного гепатита, мелкие ДНК-содержащие вирусы, родственные вирусам, вызывающим бородавки (вирусы папилломы), и обширная группа ретровирусов, то есть РНК-содержащих опухолеродных вирусов, вызывающих лейкозы (опухоли кроветворной системы) и реже саркомы, то есть опухоли соединительной ткани.

Что объединяет эти разнообразные вирусы? Помимо их сходного биологического эффекта индукции опухолей – их уникальная способность интеграции с геномом клетки. Эта удивительная особенность опухолевых вирусов была предсказана замечательным исследователем-вирусологом Львом Александровичем Зильбером (1894–1966) [5].

Генетический аппарат вируса закодирован в структуре его нуклеиновых кислот – ДНК или РНК, а генетический аппарат клетки – в структуре ее ДНК, составляющей основу

хромосом. ДНК опухолеродного вируса встраивается в хромосомную ДНК клетки и становится неотличимой от собственных клеточных генов, дублируясь и функционируя вместе с ними. Более сложна судьба ретровирусов. Их РНК сначала переписывается в ДНК с помощью особого фермента, кодируемого геномом вируса, РНК-зависимой ДНК-полимеразы, или ревертазы. Ревертаза синтезирует ДНК по матрице вирусной РНК, переписывая закодированную в ней информацию в обратном направлении – от РНК к ДНК (отсюда ревертаза, или обратная транскриптаза). Полученная таким образом копия ДНК генома ретровируса встраивается в хромосомную ДНК клетки, где и функционирует вместе с клеточным геномом.

Встраивание в клеточную ДНК есть необходимое, но недостаточное свойство опухолевых вирусов. Ясно, что они вносят в клетку некую дополнительную информацию, превращающую клетку в опухолевую. Именно вирусы впервые позволили идентифицировать, что же трансформирует клетку из нормальной в опухолевую.

Но сейчас нужно сказать о вирусных опухолях человека. К ним относятся очень редкие, эндемичные, то есть распространенные в ограниченных географических районах, лимфома Бэркитта и рак носоглотки, вызываемый вирусом, входящим в группу герпесоподобных вирусов. Районы распространения этих заболеваний – Центральная Африка и Юго-Восточная Азия. В Африке встречается редкое сочетание массивного заражения соответствующим вирусом и тропической малярии, совместное действие которых ведет к лимфоме Бэркитта – особой форме детской опухоли кроветворной системы (кстати, она полностью излечивается химическими препаратами). Рак носоглотки встречается у китайцев в Юго-Восточной Азии. Для развития этой опухоли необходимо сочетание вируса с национальными особенностями (вероятно, генетическими), имеющимися лишь у данной группы населения. Отсюда – ограниченный район распространения. Другой вирус, из группы ретровирусов, вызывает редкую опухоль кроветворной системы, так называемую Т-лимфому, в южных районах Японии и странах Карибского бассейна. Особенности распространения этого вируса пока не изучены.

Эндемичное, но гораздо более широкое распространение имеет вирус сывороточного гепатита. Он распространен во всей Юго-Восточной Азии, захватывая значительную часть Китая и Индонезию. Заражение этим вирусом, как, впрочем, и упомянутыми выше, не ведет непосредственно к раку, а создает, как говорят, группу высокого риска для него, то есть группу с гораздо более высокой вероятностью возникновения рака печени, чем у остального населения. Эта форма рака – одна из самых частых в этом районе мира. В настоящее время уже начата вакцинация новорожденных детей против вируса сывороточного гепатита в Юго-Восточной Азии под эгидой Всемирной организации здравоохранения. Можно ожидать, что такая вакцинация прервет массовое заражение вирусом, подобно тому, как противотуберкулезная или противооспенная вакцины прервали циркуляцию возбудителей этих болезней.

Очень широкое и неэндемичное распространение имеет мелкий ДНК-содержащий вирус папилломы, имеющий, по-видимому, отношение к возникновению рака матки человека. Этот вирус изучают в настоящее время очень широко. Ясно, что он непосредственно не вызывает соответствующие опухоли, но его носительство увеличивает вероятность их возникновения. У животных, особенно у мышей, имеются десятки опухолеродных вирусов – от стопроцентно активных и вызывающих опухоль за две недели до чрезвычайно слабых. Эти опухоли включают едва ли не все известные типы злокачественных новообразований. Опухолеродные вирусы найдены у земноводных, птиц и многих млекопитающих, включая обезьян.

31. Уровни защиты организмов от мутагенов.

Эта защита осуществляется на всех уровнях организации и обеспечивается следующим:

1. Двухцепочечностью ДНК.

Благодаря двухцепочечности, даже после потенциально летального повреждения ДНК клетка способна выжить благодаря процессам исправления ДНК. Процесс исправления повреждений ДНК называется генетической репарацией.

Генетическая репарация бывает нескольких типов. Эксцизионная репарация заключается в вырезании (эксцизия) поврежденных участков молекулы и синтезе нового участка при использовании второй неповрежденной цепи ДНК в качестве матрицы.

Исправление повреждений, которые не восстанавливаются после этого типа репарации, может быть обеспечено пострепликационной репарацией.

Третий тип репарации – внеплановый синтез ДНК. Он составляет основу одного из методов генетической токсикологии.

2. Вырожденность генетического кода.

Благодаря тому, что одна аминокислота кодируется несколькими триплетами, мутантный кодон может кодировать ту же аминокислоту. Белок, а следовательно, и признак останутся неизменными.

3. Если аминокислоты сходны по активности, то мутация заметно не скажется на функции белка.

Например, изменение глутамина на валин обусловит выраженную форму серповидно-клеточной анемии. А при замене глутамина на лизин симптомы болезни будут выражены незначительно.

4. Замененная аминокислота окажется не в активном центре белка, а в функционально незначимой части белка. Изменения в фенотипе будут выражены слабо или вообще не выражены.

5. Диплоидность организма. Мутантный ген в гетерозиготном состоянии не проявится в фенотипе.

6. Пенетрантность (то есть доля организмов, у которых ген проявляется в фенотипе) зависит от условий среды. Например, пенетрантность шизофрении 65%. Таким образом, у 35% особей гомозиготных по мутантному гену болезнь не проявится.

7. Антимутагенез. Природой создано много факторов, защищающих геном от возникновения мутаций. Это некоторые витамины, соединения тиолового ряда, хлорофилл, фермент пероксидаза и многие другие.

32. Предотвращение генетической опасности и антимутагенез.

Антимутагены: 1) блокирующие действие Автомутагенов, естественно возникающих в клетках в процессе метаболизма (антиавтомутагены), например фермент Каталаза, который разрушает обладающую мутагенным действием перекись водорода. Эти А. обеспечивают сохранение определённого уровня спонтанных мутаций; 2) снижающие действие внешних, искусственных физических (ионизирующей радиации и др.) или химических мутагенов. Такими А. являются сульфгидрильные соединения, сильные восстановители типа $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}$, некоторые спирты и углекислые соли. А. этих двух групп могут разрушать мутагены или конкурировать с важными в генетическом отношении структурами за взаимодействие с мутагеном, действовать как восстановители и т. д.; 3) ферментные системы, действующие непосредственно на уровне наследственных структур, т. е. «исправляющие» поврежденные мутагеном участки хромосомы. Мутационный эффект может быть также снят физическими воздействиями определённой интенсивности (светом, высокой и низкой температурой и др.). Комутагены – вещества, усиливающие мутагенный эффект. Десмутагены – взаимодействуют с мутагеном вне клетки, уменьшая его биологический эффект. Супермутагены - ряд химических соединений,

обладающих очень высокой мутагенной активностью. например, нитрозоалкилмочевинны.

33. Принципы тестирования факторов среды.

Можно назвать основные требования, применяемые к современным токсикогенетическим методам.

- Высокая чувствительность (чтобы не пропустить потенциальный мутаген, не дать ложно-ноотрицательного ответа).
- Специфичность (чтобы регистрировать только истинные мутагены, не давать ложноположительного ответа).
- Способность выявлять все типы мутаций.
- Возможность выявлять как прямые мутагены, так и косвенные мутагены (промутагены), приобретающие мутагенную активность в процессе метаболизма в организме.
- Возможность выявлять как универсальные мутагены, индуцирующие мутации у всех организмов, так и мутагены, активные в ограниченном наборе биологических систем.
- Экономичность, краткосрочность, простота в выполнении.
- Воспроизводимость результатов (возможность получения аналогичных результатов на той же тест-системе).
- Возможность экстраполяции данных, полученные при исследованиях *in vitro* на условия *in vivo* (Дмитриева С. А., Парфенов В. И., 1991).
- Возможность экстраполяции полученных данных на человека.
- Регистрация как нарушений структуры ДНК, так и генетических процессов (генетическая репарация, кроссинговер, протекание митоза, нарушение центромеры, митотического аппарата и др.).

-

34. Требования к идеальной тест-системе.

Проблема генетического мониторинга состояния окружающей среды, несмотря на свою актуальность, разрабатывается недостаточно интенсивно. Одной из трудностей является поиск видов-биоиндикаторов и адекватных универсальных критериев оценки. Нами разработан и апробируется комплекс тест-систем, использующий в качестве биоиндикаторных видов наземных и водных ракообразных. В качестве универсального показателя, отражающего степень напряженности используется частота цитогенетических нарушений целостности генома в митотически делящихся клетках. Повышение уровня нарушений в процессе клеточных делений позволяет выявлять очаги экологической напряженности, возникающих вследствие деятельности человека или действия других факторов (в том числе загрязнения окружающей среды мутагенами), вести скрининг мутагенных факторов. На доменной мыши используются такие тесты, как: тест на доминантные летали; тест на аномалии головок спермиев; микроядерный тест; тесты на хромосомные aberrации и другие. А на классическом объекте генетики – линиях дрозофилы в экспериментах по скринингу и мониторингу проводятся эколого-генетические исследования по оценке частоты возникновения доминантных леталей, рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций, аномалий развития – морфозов, соматического мозаицизма, частоты атрофии гонад. Для комплексной оценки состояния окружающей среды применяются также растительные объекты (традесканция, тополь черный, береза повислая и др.). В качестве критериев генетической активности действующих факторов используют частоту микроядер, частоту генных мутаций, коэффициент флуктуирующей ассиметрии и т.п.

Клеточный уровень — цитогенетический скрининг. Преимущество цитогенетического анализа заключается в том, что он дает характеристику состояния всего генома. Это один из наиболее чувствительных генетических тестов, который может быть использован в качестве «биологического дозиметра» техногенного загрязнения территории.

Основные растительные тест-системы для скрининга мутагенов и мониторинга *in situ* условно делят на две группы: в первой используют спорофиты, во второй — гаметофиты. Цитологические методы на спорофитах включают изучение митоза в меристемах побегов и корешков растений и мейоза в цветковых почках. К цитогенетическим тестам на гаметофитах относят тесты на микроядра в тетрадах микроспор, а также прохождение митоза в пыльцевых зернах и пыльцевых трубках. Для моногенных признаков спорофитов разработаны спот-тесты на сое, табаке, кукурузе и других объектах, для гаметофитов — тесты специфического локуса (методы с анализом активности отдельных ферментов, система локуса *waxy*). В цитоэмбриологических исследованиях широко используются полигенные признаки: проращиваемость пыльцы, мужская стерильность и др. При использовании пыльцы растений в качестве тест-системы при мониторинге, скрининге и для выявления токсического действия мутагенов необходимо учитывать такие ее генетические характеристики, как орнаментация, вид, форма, стерильность и жизнеспособность, содержание белков и крахмала. На организменном уровне ведется наблюдение за частотой «сторожевых» фенотипов. В качестве «сторожевых» могут быть выбраны мутантные фенотипы по форме колоса или метелки, а также различные отклонения в развитии растения — тератоморфы. На популяционном уровне проводят учет элементов, характеризующих продуктивность популяции растений, а именно количество развитых и неразвитых цветков в колосе или метелке, массу 1 000 зерен. Оценку гетерогенности семенного потомства исследуемых форм проводят по критериям: энергия прорастания семян; всхожесть; выживаемость проростков; количество проростков; индекс устойчивости (толерантности), определяемый как отношение длины корней у проростков на растворе с исследуемым загрязнителем к приросту корней на растворе того же состава без загрязнителя; выявление генотипов, характерных для той или иной среды в зависимости от уровня техногенной нагрузки.

35. Тест-системы и системы тестов.

Хотя в литературе описаны около 25 различных тест-систем с использованием 10 видов растений, практически пригодными для широкого использования в целях выявления мутагенной активности химических соединений являются следующие:

- а) тесты на индукцию повреждений митотических хромосом;
- б) тесты на индукцию aberrаций мейотических хромосом;
- в) тесты на индукцию генных мутаций в специфических или множественных локусах.

Противоречие двух аспектов тестирования: информативности результатов и цены исследования. Баланс между этими показателями определяется задачами, которые поставил перед собой исследователь. Можно назвать основные требования, применяемые к современным токсикогенетическим методам.

- Высокая чувствительность (чтобы не пропустить потенциальный мутаген, не дать ложноотрицательного ответа).
- Специфичность (чтобы регистрировать только истинные мутагены, не давать ложноположительного ответа).
- Способность выявлять все типы мутаций.
- Возможность выявлять как прямые мутагены, так и косвенные мутагены (промутагены), приобретающие мутагенную активность в процессе метаболизма в организме.
- Возможность выявлять как универсальные мутагены, индуцирующие мутации у всех организмов, так и мутагены, активные в ограниченном наборе биологических систем.
- Экономичность, краткосрочность, простота в выполнении.

- Воспроизводимость результатов (возможность получения аналогичных результатов на той же тест-системе).
- Возможность экстраполяции данных, полученные при исследованиях *in vitro* на условия *in vivo* (Дмитриева С. А., Парфенов В. И., 1991).
- Возможность экстраполяции полученных данных на человека.
- Регистрация как нарушений структуры ДНК, так и генетических процессов (генетическая репарация, кроссинговер, протекание митоза, нарушение центромеры, митотического аппарата и др.).

К настоящему времени разработано более 200 методов (тест-систем) оценки генотоксикантов, в которых используются различные тест-объекты, от вирусов до высших животных и клеток человека, и регистрируются самые различные генетические повреждения. Однако существующее многообразие методов свидетельствует о том, что ни один из них не является универсальным, удовлетворяющим всех исследователей. Причины этого следующие.

1. Тесты на мутагенность являются видоспецифичными, т. к. есть мутагены, повреждающие геном только у определенных видов. Таким образом, мутаген, опасный, например, для человека, может быть не выявлен на используемом исследователем тест-объекте. Поэтому необходимо использовать несколько тест-объектов.
2. Методы являются тест-специфичными, т. е. выявляют немного видов наследственных нарушений, чаще один тип мутаций. Поэтому, если тест, регистрирующий хромосомные мутации, дал отрицательный ответ, это не означает, что фактор не вызывает генных мутаций. Следовательно, чтобы не получить ложноотрицательных ответов, необходимо использовать несколько тестов.
3. Исследование одним методом и на одном тест-объекте может дать различные ответы из-за тканеспецифичного действия фактора. Так, у дрозофилы в тесте рецессивных летальных мутаций ответ зависит от того, в какие органы вводилось химическое соединение. Тканеспецифичность отмечается и при использовании микроядерного теста (Сычева Л. Н., 2004).
4. Косвенные мутагены (промутагены) сами не обладают мутагенной активностью, но их метаболиты генотоксичны. Таким образом, даже проверка фактора несколькими методами на нескольких тест-объектах ещё не гарантирует, что его генетическая безопасность окончательно установлена.

По этим причинам для уменьшения количества возможных ложноотрицательных и ложноположительных ответов необходимо использовать широкий набор методов с применением широкого круга объектов (системы тестов). Это сильно усложняет и удорожает исследование. Для уменьшения возникших затрат предложены различные варианты ступенчатых (этапных) систем тестирования мутагенов и промутагенов, основу которых составляет скрининг (просеивание) большого числа веществ.

Традиционно процедура тестирования делится на три этапа. Первый этап. Первичный скрининг. Задача его выявить, может ли в принципе данный фактор взаимодействовать с ДНК. Требования к методам этого этапа: высокая чувствительность, краткосрочность и экономичность. На данном этапе в качестве тест-объектов используются микроорганизмы, особенно часто бактерия *Salmonella typhimurium*. Второй этап. Определяется, может ли данный фактор повреждать ДНК в эукариотических клетках. В качестве тест-объектов используются культуры клеток млекопитающих и человека (*in vitro*). Третий этап. Выясняется, может ли фактор вызывать генетические нарушения в целостном организме. Используются тесты, учитывающие эффект в соматических и половых клетках *in vivo* (Тарасов В. А., 1994).

36. Скрининг мутагенов. Ступенчатый метод тестирования мутагенов.

Традиционно процедура тестирования делится на три этапа.

Первый этап. Первичный скрининг. Задача его выявить, может ли в принципе данный фактор взаимодействовать с ДНК. Требования к методам этого этапа: высокая чувствительность, краткосрочность и экономичность. На данном этапе в качестве тест-объектов используются микроорганизмы, особенно часто бактерия *Salmonella typhimurium*.

Второй этап. Определяется, может ли данный фактор повреждать ДНК в эукариотических клетках. В качестве тест-объектов используются культуры клеток млекопитающих и человека (*in vitro*).

Третий этап. Выясняется, может ли фактор вызывать генетические нарушения в целостном организме. Используются тесты, учитывающие эффект в соматических и половых клетках *in vivo* (Тарасов В. А., 1994).

37. Оценка генетической активности различных агентов, тест-система Б. Эймса с использованием мутантных штаммов *Salmonella typhimurium* (спот-тест).

Тест Эймса — генетический тест с использованием бактерий *Salmonella typhimurium* в качестве тест объекта. Предназначен для оценки мутагенного потенциала химических соединений. Положительный результат в тесте показывает, что химическое вещество может обладать канцерогенными свойствами. Так как малигнизация часто связана с повреждением ДНК, тест также используется как экспрессный метод оценки канцерогенного потенциала различных химических соединений, и как дополнение другого аналогичного метода — стандартного теста на грызунах. Методика была описана в ряде работ в начале 1970-х Брюсом Эймсом и его группой в Калифорнийском Университете, Беркли.

Методика постановки теста

В тесте используются некоторые штаммы бактерии *Salmonella typhimurium*, которые несут мутации в генах, участвующих в синтезе гистидина (то есть это ауксотрофные мутанты, требующие искусственного внесения гистидина для роста). В тесте изучается возможность предполагаемого мутагена вызывать реверсивную мутацию данного гена, при которой штамм приобретает способность расти на среде, не содержащей гистидин. Предназначенные для тестирования штаммы подобраны таким образом, чтобы содержали обе рамки считывания и точечные мутации в генах ответственных за синтез гистидина, что позволяет обнаруживать мутагены путём воздействия на различные механизмы. Некоторые химические соединения крайне специфичны и поэтому вызывают реверсии только в одном или двух штаммах. Используемые в тесте штаммы также несут мутации в генах, ответственных за синтез липополисахарида, делая клеточные стенки бактерий более проницаемыми. Кроме того, отсутствие некоторых генов, ответственных за репарационные процессы, делает тест более чувствительным. Ввиду коренных отличий между метаболизмом бактерий и млекопитающих в тесте может быть использована вытяжка из печени крыс для имитации эффекта обмена веществ, так как некоторые соединения, например бензапирены, не обладают мутагенной активностью, но их производные, которые образуются в процессе метаболизма, приобретают генотоксичность.

Бактерии высеваются на агарозную питательную среду в чашки Петри. Среда содержит небольшое количество гистидина. Этого количества гистидина в среде достаточно, чтобы обеспечить жизнедеятельность и рост бактерий в течение некоторого времени и дать возможность успеть за это время мутировать. После исчерпания гистидина,

содержавшегося в среде, выживают только ревертантные колонии, которые приобрели способность синтезировать собственный гистидин. Контролем служат бактерии, посеянные на среде, не содержащей исследуемого мутагенного фактора. Инкубация проводится в течение 48 часов. Мутагенный потенциал исследуемого вещества оценивается пропорционально числу обследованных колоний.

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, учитывается успешность ответов на вопросы устного опроса и подготовку реферативных сообщений.

Критерием успешности освоения учебного материала **по окончании учебного семестра** (промежуточная аттестация) является экспертная оценка преподавателя, учитывающая: текущую успеваемость в течение семестра (опросы, доклады,). 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

Отлично. Студент глубоко и полно владеет содержанием учебного материала и понятийным аппаратом; умеет связывать теорию с практикой, иллюстрировать примерами, фактами, данными научных исследований; осуществляет межпредметные связи, предложения. Делает выводы; логично, четко. Ясно и кратко излагает ответы на поставленные вопросы; умеет обосновывать свои суждения и профессионально-личностную позицию по излагаемому вопросу. Ответ носит самостоятельный характер.

Хорошо. Ответ студента соответствует указанным выше критериям, но содержание ответа имеет отдельные неточности (несущественные ошибки) в изложении теоретического и практического материала, отличается меньшей обстоятельностью, глубиной, обоснованностью и полнотой; допущенные ошибки исправляются студентом после дополнительных вопросов преподавателя.

Удовлетворительно. Студент обнаруживает знание и понимание основных положений учебного материала, но излагает его неполно, непоследовательно, допускает неточности и существенные ошибки в определении понятий, формулировке положений, не привлекает для аргументации ответа основные положения исследовательских, концептуальных и нормативных документов, не умеет обосновать свои суждения; наблюдается нарушение логики изложения. Ответ отличается низким уровнем самостоятельности, не содержит собственной профессионально-личностной позиции.

Неудовлетворительно. Студент имеет разрозненные, бессистемные знания: не умеет выделять главное и второстепенное; допускает ошибки в определении понятий,

формулировке теоретических положений, искажающие их смысл; не ориентируется в нормативно-концептуальных, программно-методических, исследовательских материалах, беспорядочно и неуверенно излагает материал; не умеет соединять теоретические положения с педагогической практикой; не умеет применять знания для обоснования и объяснения фактов, не устанавливает межпредметные связи. Не владеет фактическим материалом.

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

Результат экзамена	Требования к знаниям
Отлично	студент глубоко и полно владеет содержанием учебного материала и понятийным аппаратом; умеет связывать теорию с практикой, иллюстрировать примерами, фактами, данными научных исследований; осуществляет межпредметные связи, предложения. Делает выводы; логично, четко. Ясно и кратко излагает ответы на поставленные вопросы; умеет обосновывать свои суждения и профессионально-личностную позицию по излагаемому вопросу. Ответ носит самостоятельный характер.
Хорошо	ответ студента соответствует указанным выше критериям, но содержание ответа имеет отдельные неточности (несущественные ошибки) в изложении теоретического и практического материала, отличается меньшей обстоятельностью, глубиной, обоснованностью и полнотой; допущенные ошибки исправляются студентом после дополнительных вопросов преподавателя.

Удовлетворительно	студент обнаруживает знание и понимание основных положений учебного материала, но излагает его неполно, непоследовательно, допускает неточности и существенные ошибки в определении понятий, формулировке положений, не привлекает для аргументации ответа основные положения исследовательских, концептуальных и нормативных документов, не умеет обосновать свои суждения; наблюдается нарушение логики изложения. Ответ отличается низким уровнем самостоятельности, не содержит собственной профессионально-личностной позиции.
Неудовлетворительно	студент имеет разрозненные, бессистемные знания: не умеет выделять главное и второстепенное; допускает ошибки в определении понятий, формулировке теоретических положений, искажающие их смысл; не ориентируется в нормативно-концептуальных, программно-методических, исследовательских материалах, беспорядочно и неуверенно излагает материал; не умеет соединять теоретические положения с педагогической практикой; не умеет применять знания для обоснования и объяснения фактов, не устанавливает межпредметные связи. Не владеет фактическим материалом.

**06.03.01 Биология, направленность (п рофиль) Генетика, ФОС РПД
Экологическая генетика, 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.А. Кодинцева

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