

# КОМПОНЕНТЫ «БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКТОРА»

1. Инфекционный и инвазивный процессы. Общие представления
2. Человеческий организм как микробиота. Микробиом
3. Понятие иммунитета как фактор биобезопасности
3. Живые и инактивированные клетки микроорганизмов как источник биологической эмиссии
4. Генноинженерные штаммы как источник риска
5. Продукты микробиологического синтеза, как «биологический

# 1. Инфекционный и инвазионный процессы

Совокупность физиологических и патологических процессов, возникающих в макро-организме в результате внедрения и размножения патогенных микроорганизмов, вызывающих нарушение его внутренней среды и физиологических функций, обеспечивающих гомеостаз и равновесие с окружающей средой

# Фазы инвазионного и инфекционного процесса

- **Контаминация (контагия)** – проникновение в макроорганизм носителей чужеродной генетической информации
- **Инвазия** – проникновение и размножение в макроорганизме носителей чужеродной генетической информации
- **Инфекция** – инвазионный процесс приводящий к развитию патологии, т.е. нарушению нормального функционирования и структурной организации клеток, тканей и органов.

Источником могут служить как особи иных биологических видов (экзоинфекция), так *носителей чужеродной генетической информации, образовавшиеся внутри организма (эндоинфекция)*

# ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ НИШИ МИКРООРГАНИЗМОВ

I. Автотрофы

II. Гетеротрофы

- Сапрофиты – используют в качестве энергетического источника органические вещества, встречающиеся во внешней среде
- Паразиты – используют в качестве источника энергии и питательных веществ другие живые организмы

-- облигатные

-- факультативные

- Патогенные микроорганизмы - утратили способность к образованию ряда ферментов, необходимых им при сапрофитном существовании, но приобрели способность синтезировать токсины и другие биополимеры, определяющие их патогенные свойства; способны при попадании в макроорганизм вызывать патологические изменения (заболевания).

# Организм человека как микробиота

ассоциации многоклеточных и микроорганизмов (биоценозы), приспособленные к совместному существованию в определенных условиях окружающей среды с человеческим организмом. Экологические связи с последним носят симбиотический или

# ***МИКРОБИОМ***

- Совокупный пул генетической информации макро-организма микробиоты совместно с геномами всех членов микробиоты, так или иначе вовлеченных в ее нормальное функционирование и поддержание гомеостатических отношений с внешней средой

- **Микробиота образуется нормальной (естественной) микрофлорой организма** (кожи, ротовой полости, желудочно-кишечного тракта), поддерживает его нормальные физиологические функции. Микроорганизмы нормальной микрофлоры являются комменсалами или симбионтами по отношению к макроорганизму и антагонистами по отношению к патогенной микрофлоре.
- **Дисбиотический сдвиг** - нарушение стабильности биоценозов нормальной микрофлоры человека. Проявляется как увеличение численности популяций отдельных видов нормального ценоза и угнетения размножения других; появления среди нормальных представителей микро-флоры вариантов с признаками патогенности.

Появление и размножение патогенных микроорганизмов определяется как **дисбактериоз (дисбиоз)**

# ФАКТОРЫ РИСКА - ПАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ ОПРЕДЕЛЯЮТСЯ ДВУМЯ КОМПЛЕКСАМИ ПАРАМЕТРОВ

***факторы агрессии***, определяющие способность к инвазии (проникать в ткани макроорганизма, размножаться там и распространяться) и

***факторы патогенности***, представляющие собой либо продукты метаболизма патогенов, либо их структурные компоненты.

# 2. ПОНЯТИЕ ИММУНИТЕТА

- Целостная система биологических механизмов самозащиты организма, контролирующая гомеостаз, специфически распознающая и уничтожающая носителей чужеродной генетической информации. Специфические особенности иммунитета:

1. ***иммунологическая память;***

2. ***иммунологическая толерантность***

- Механизмы, ответственные за формирование иммунитета, подразделяются на ***неспецифические и специфические***. Кроме того, различают две неразрывно связанные между собой формы иммунитета:
- ***клеточный иммунитет и гуморальный иммунитет.***
- Гуморальный (от лат. humor - жидкость) иммунитет осуществляется через жидкие среды (лимфу, кровь).

- **КОМПЛЕМЕНТ** термолabileльная система белковых и гликопротеиновых факторов нормальной сыворотки крови, способных активировать друг друга по каскадному типу.

- **Функции:**

- 1) лизис бактериальных клеток под действием фермента лизоцима, разрушающего клеточную стенку бактерий;

- 2) подготовка бактерий к поглощению макрофагами, т. е. факторы сыворотки крови взаимодействуют с поверхностью чужеродных частиц (опсонизация - усиление фагоцитоза).

**АНТИГЕННОСТЬ** - способность **антигена** распознаваться иммунной системой и взаимодействовать с эффекторной ее частью (анти-телами, клетками-эффекторами).

- ***АЛЛЕРГЕН*** - антиген активирующий наследственную склонность к избыточному иммунному ответу (гиперчувствительность и обуславливающий патологический процесс *аллергию*).
- ***Как правило аллергия развивается в ответ на попадание аллергенов, с которыми данный биологический вид не встречался (редко встречался) в сложившейся в ходе экологической нише***

# Классификация аллергических реакций

- **ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА –**
- **1 тип.** Антитело-зависимые реакции развиваются сразу же после введения антигена: при иммунизации индуцируется продукция антител, способных фиксироваться на тучных клетках, содержащих гистамин, серотонин и другие физиологически активные вещества. При взаимодействии фиксированных на поверхности тучных клеток антител происходит выброс гистамина, который вызывает спазм гладкой мускулатуры, увеличивает проницаемость сосудов, снижает артериальное давление. Клинически такая картина оценивается как анафилаксия.

- **2 тип.** Антиген, вызвавший сенсибилизацию, фиксируется на клетках макроорганизма, образуя комплекс антиген-антитело. Этот комплекс активирует систему комплемента, и клетка, на которой образовался комплекс антиген-антитело, лизируется, (**ИММУННЫЙ ЛИЗИС** – одна из форм **апоптоза**)
- **3 тип.** Образующийся комплекс антиген-антитело. Он сорбируется на цитоплазматических мембранах и активирует комплемент
- **4 тип (клеточнозависимая ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА)** развивается в течение 48 часов после введения антигена при условии предварительной сенсибилизации организма. Если антиген представлен чужеродными клетками, Т-лимфоциты при прямом контакте лизируют их, при этом в результате хемотаксиса происходит миграция макрофагов в зону воспаления.

# Генноинженерные вакцины

- **ВАКЦИНАЦИЯ** способ предупреждения инфекционных заболеваний в результате создания искусственного специфического иммунитета путем введения модифицированных препаратов со специфической антигенной активностью.
- На основе компонентов, составляющих вакцины, различают:
  - • живые вакцины -;
  - • убитые вакцины;
  - • химические вакцины ;
  - • анатоксины;

- Генно-инженерные вакцины получают при использовании продуцентов, полученных генно-инженерными методами, способных продуцировать чужеродные антигены с выраженными иммунопротекторными свойствами. Клетками макроорганизмов синтезируются ДНК-вакцины - плазмидные векторы, кодирующие иммуногенные антигены, т. е. антигены микроорганизмов или вирусов, индуцирующие иммунный ответ.
- ***Ныне наблюдается общее снижение резистентности макроорганизмов, т. е. снижение иммунитета и невосприимчивости к инфекционным болезням. При этом возрастает значение условно-патогенной микрофлоры в развитии заболеваемости***

### 3. ЖИВЫЕ И ИНАКТИВИРОВАННЫЕ КЛЕТКИ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭМИССИИ

- **ФАКТОРЫ РИСКА ПРОСТЕЙШИХ** определяются
  - *фагоцитарным типом питания* и
  - *экологическими взаимоотношениями* с макроорганизмом в ходе жизненного цикла
  - **ФАКТОРЫ РИСКА БАКТЕРИЙ** определяются
    - *способностью синтезировать эндо- и экзотоксины,*
    - *гидролитические ферменты*
    - *Модулины* (индуцируют образование цитокинов - белков и гликопротеидов, оказывающих токсическое действие на эукариотические клетки)

# ФАКТОРЫ РИСКА ГРИБОВ определяются

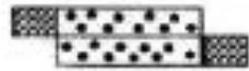
- способностью продуцировать в окружающую среду комплекс экзоферментов, способных осуществлять гидролиз природных биополимеров;
- способностью синтезировать токсины, афлатоксины и другие биологически активные вещества;
- особенностями их роста - прорастанием конечных клеток гиф,
- образованием мицелия;
- способностью образовывать споры, устойчивые к неблагоприятным воздействиям окружающей среды.

# . ГЕНОИНЖЕНЕРНЫЕ ШТАММЫ КАК ИСТОЧНИК РИСКА

- ***(БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ТЕХНОЛОГИЙ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК)***
- Технология рекомбинантной ДНК заключается в соединении генетического матери-ала, полученного из различных источников, и создании таким образом генетически модифицированных организмов (ГМО)

# ОСНОВНАЯ ГЕНОИНЖЕНЕРНАЯ СХЕМА КОНСТРУИРОВАНИЯ РЕК-ДНК

1. Чужеродная ДНК



2. Плазмида



3. Рекombинантная ДНК  
(рекДНК)



Трансформация



# Соображения биологической безопасности для биологических систем экспрессии

Биологические системы экспрессии состоят из векторов и клеток-хозяев. В целях

эффективности и безопасности в процессе их использования они должны соответствовать ряду критериев. Примером такой биологической системы экспрессии

является плаزمида pUC18. Часто используемая в качестве клонирующего вектора

в комбинации с клетками *Escherichia coli* K12, плазмида pUC18 была полностью секвенирована. Все гены, необходимые для экспрессии в другой бактерии, были выделены из ее предшественника – плазмиды pBR322. *E. coli* K12 представляет со-

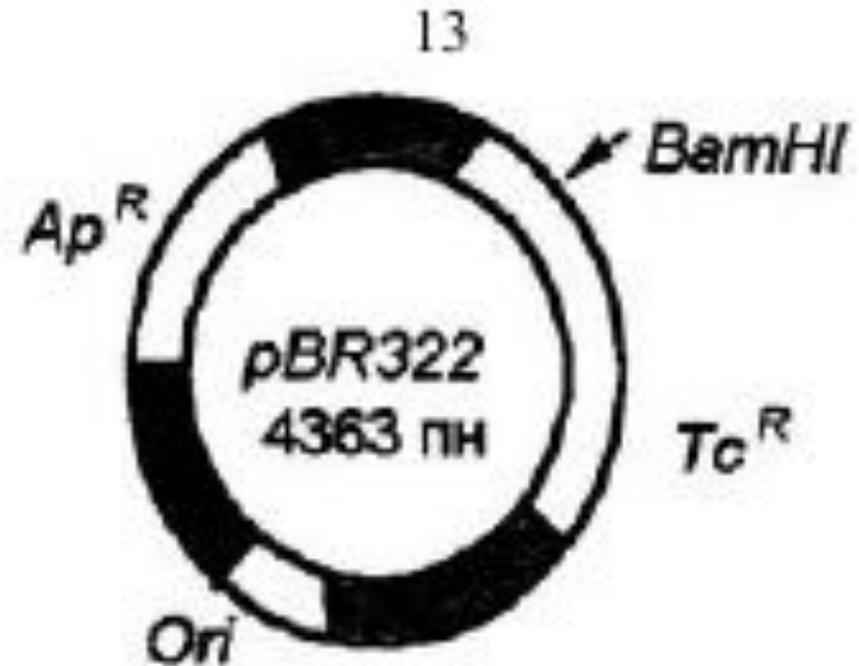
бой непатогенный штамм, который не может постоянно колонизировать кишечник

здоровых людей и животных. Типовые эксперименты в области генной инженерии

в *E. coli* K12/pUC18 могут безопасно проводиться на первом уровне биологической

# Схема строения плазмиды pBR322

Селективные маркерные гены ,  
определяющие устойчивость к  
антибиотикам : ампициллину (Ap<sup>R</sup>) и  
тетрациклину (Tc<sup>R</sup>); В гене TcR имеется  
уникальный сайт, разрезаемый  
рестриктазой BamHI; Ori – участок  
ДНК, ответственный за репликацию  
плазмиды в клетках E. coli.



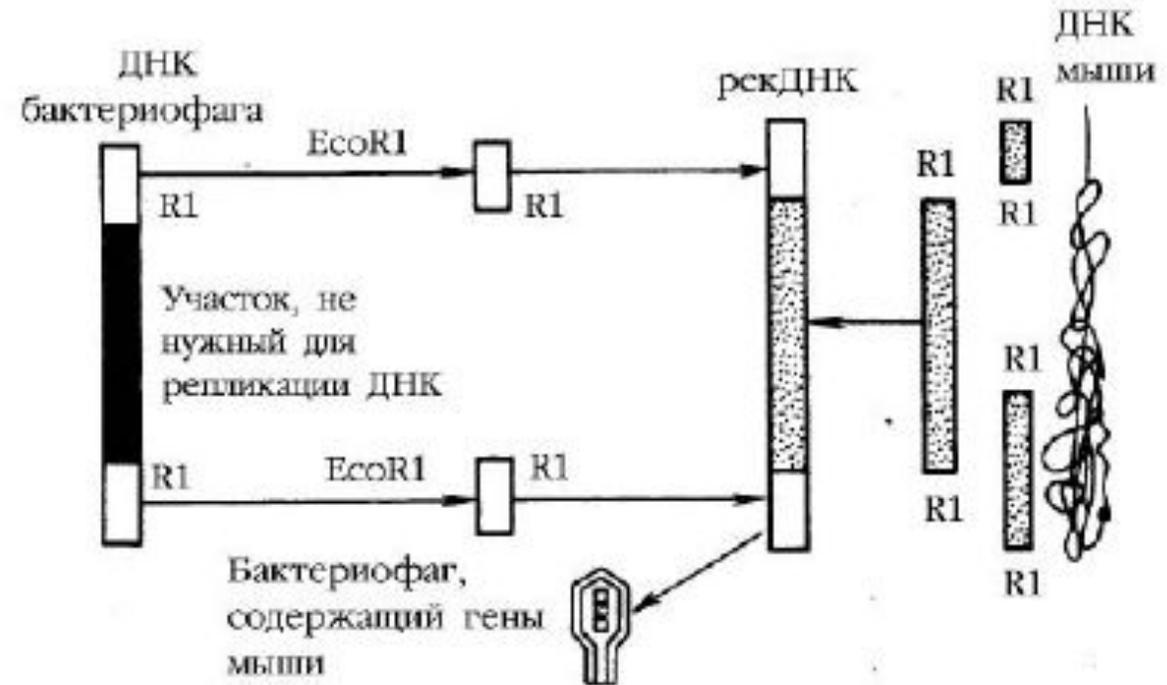
# Структура космиды - = вектора, созданного на основе ДНК бактериофага $\lambda$

Космида – это векторная плазмида, предназначенная для клонирования больших фрагментов ДНК эукариот (до 45тпн) в клетках *E. coli*. Тер-

мин обозначает, что вектор является плазмидой, внутри которой вставлен

*cos*-участок фага  $\lambda$  (*cos*-sites), представляющий собой нуклеотидную по-

следовательность, отвечающую за упаковку фаговой ДНК в ее протеиновую капсулу



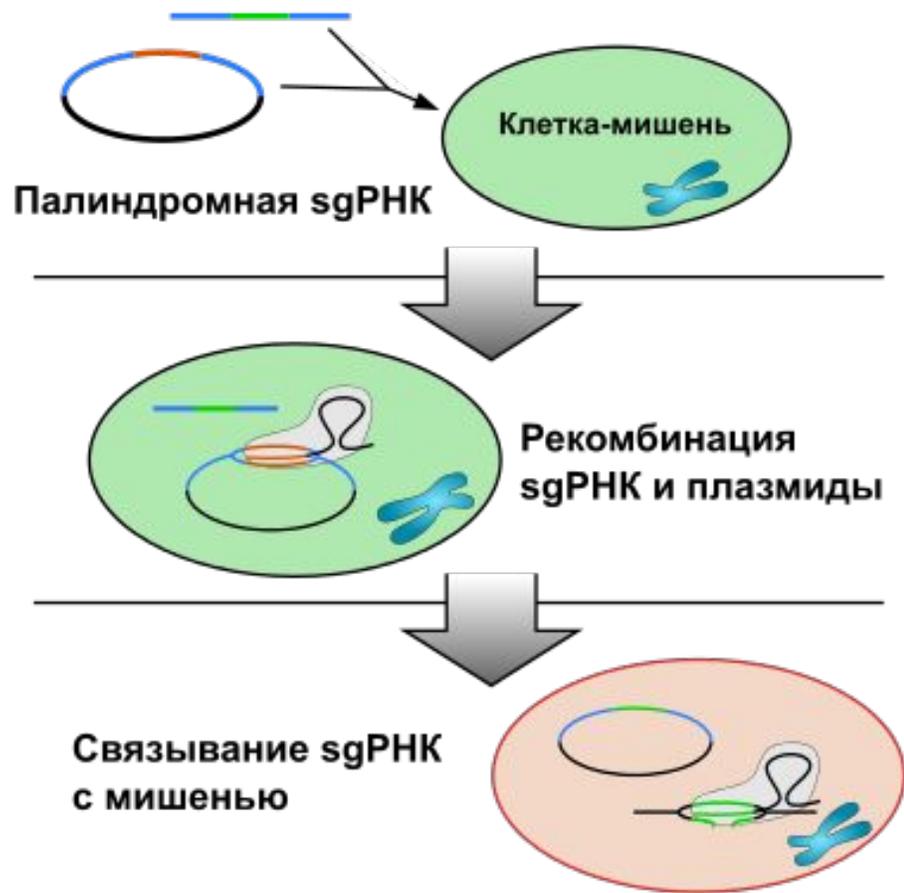
# Челночные векторы

Векторы (сконструированные на основе плазмидной ДНК), способные реплицироваться в клетках двух и более организмов.

# CRISPR (от англ. *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*)

- — короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами — особые локусы бактерий, состоящие из прямых повторяющихся последовательностей, которые разделены уникальными последовательностями (спейсерами). Спейсеры заимствуются из чужеродных генетических элементов, с которыми сталкивалась клетка (бактериофагов, плазмид). РНК, транскрибирующиеся с локусов CRISPR, совместно с ассоциированными белками Cas обеспечивают адаптивный иммунитет за счёт комплементарного связывания РНК с нуклеиновыми кислотами чужеродных элементов и последующего разрушения их белками Cas

-



# Факторы риска для векторов экспрессии

1. Экспрессия последовательностей ДНК, извлеченных из патогенных организмов, может повысить вирулентность ГМО
2. Встраиваемые последовательности ДНК не описаны должным образом, например, во время создания геномных библиотек ДНК из патогенных микроорганизмов
3. Генные продукты имеют потенциальную фармакологическую активность
4. Генные продукты несут информацию о токсинах

# КЛАССИФИКАЦИЯ ОСНОВНЫХ ИСТОЧНИКОВ РИСКА ГМО

- 1. Общебиологические факторы .
- 2. медико-гигиенические факторы.
- 3. биотические факторы .

# Общебиологические факторы

- новые гены могут встроиться в любую часть ядерного генома, в результате чего функционирование других близлежащих генов может быть нарушено, вплоть до их “замолкания” (сайленсинга), или, наоборот, супер-экспрессии.
- не хватает данных о функционировании измененной ДНК и возможности неблагоприятных мутаций .
- Использование генетически однородных ГМО может привести к их одновременной гибели в результате патогенного воздействия грибов, ви-русов и пестицидов.
- ГМО могут быть перенесены насекомыми, птицами в другие районы. Это в свою очередь может вызвать изменение флоры и фауны этих районов.

# Воздействие на здоровье человека

- Возникновение мутаций у ГМО и, в связи с этим, образование новых веществ в пище.
- Развитие неизвестных аллергических реакций в результате синтеза новых для ГМО белков-продуктов.
- Снижение питательной ценности продуктов питания, получаемых из ГМО.
- Возможность переноса трансгенов в другие организмы: вертикальный перенос генов от ГМО диким сородичам культурного вида или
- горизонтальный перенос генов, например селективных генов устойчивости к антибиотикам от генетически модифицированного растения микроорганизмам пищеварительного тракта (в том числе болезнетворным). Безобидные у ГМО, могут оказаться весьма опасными в другой генетической и экологической среде.

# **-- ПРИНЦИП СУЩЕСТВЕННОЙ ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ**

- **оценивается не уровень безопасности новых продуктов питания как таковой, а его изменение в сравнении с традиционными пищевыми аналогами, имеющими длительную историю безопасного использования.**

# Загрязнение окружающей среды

- появление у ГМО повышенной конкурентноспособности (например, за счет приобретенной устойчивости к холоду, жаре, засухе, засолению, болезням и вредителям), результатом которой может стать сокращение биоразнообразия растений и быстрое истощение почвы, а устойчивость к насекомым-вредителям способна нарушить природное равновесие.
- появление суперсорняков и супервредителей также фигурирует среди основных проблем, когда рассматривают экологические риски, связанные с ГМО.
- Токсичное действие пыльцы ГМО-растений на насекомых-опылителей