

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Тутанов Олег Сергеевич

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД
об основных результатах выполненной
научно-квалификационной работы

Экзосомы крови: особенности циркуляции и состава в
норме и при раке молочной железы

Направление подготовки

06.06.01 Биологические науки

Направленность

03.01.03 Молекулярная биология

Новосибирск - 2018

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Изучение микровезикул, структур размером от десятка нанометров до нескольких микрон, продуцируемых живыми и активно функционирующими клетками, было начато несколько лет назад, но особое внимание исследователей уделяется исследованию экзосом — мембранных частиц эндосомального происхождения размером 30-100 нм. Известно, что они содержат белки цитоплазмы и мембранные белки, функционально активные рибо- (мРНК, микроРНК, рРНК, тРНК и др) и дезоксирибонуклеиновые кислоты (геномная и митохондриальная ДНК). В настоящее время достоверно показано, что они вовлечены в процессы транспорта белков и нуклеиновых кислот, регуляцию иммунного ответа и в том числе презентацию антигенов, транспорт инфекционных агентов и развитие патологических процессов. Недавно было показано, что экзосомы участвуют в развитии опухолевого процесса. В частности, экзосомы, продуцируемые клетками карциномы предстательной железы, влияют на микроокружение опухоли и способствуют ее росту, а экзосомы, продуцируемые тромбоцитами при раке лёгких, приводят к активному ангиогенезу внутри опухоли.

Известно, что клетки организма секретируют экзосомы во внеклеточное пространство, в том числе и в биологические жидкости, такие как кровь, лимфа, спинномозговая жидкость (ликвор), моча, слюна. Эти везикулярные структуры стабильны в течение длительного времени, переносятся с током крови и лимфы и могут быть обнаружены в организме далеко от места локализации секретирующих их клеток. Строение, свойства и биологическая активность экзосом, особенности их циркуляции в настоящее время интенсивно изучаются. Выявление маркеров, характерных для онкотрансформированных клеток в составе циркулирующих в крови экзосом, является актуальной задачей и позволит в дальнейшем разработать подходы к неинвазивной диагностике злокачественных новообразований

Цели и задачи исследования. Целью данной работы являлось исследование особенностей циркуляции экзосом в крови здоровых женщин и онкологических больных. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Выделение и идентификация экзосом крови.
2. Характеризация экзосом крови здоровых женщин и больных раком молочной железы
3. Сравнительный протеомный анализ образцов экзосом крови

Научная новизна работы. В ходе исследования разработан и запатентован эффективный метод выделения экзосом из крови, доказана большая диагностическая значимость экзосом крови, связанных в циркуляции с поверхностью форменных элементов, в сравнении с экзосомами крови, циркулирующими в плазме. Впервые обнаружено 27 белков, ранее не находимых в составе экзосом крови

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные в работе данные о циркуляции и составе экзосом крови в норме и при развитии рака молочной железы расширяют и дополняют существующие представления о межклеточной коммуникации, структуре и свойствах экзосом. Разработанные эффективных методы выделения экзосом из плазмы и с поверхности форменных элементов позволяют упростить и удешевить

процесс выделения в лабораторных и клинических практиках. Выявленные для каждой фракции характерные белки, содержание которых в крови здоровых доноров отличается от онкологических больных могут послужить фундаментом для создания диагностических систем.

(Методология и методы исследования). При помощи разработанного метода выделения экзосом из плазмы и с поверхности форменных элементов крови была собрана коллекция экзосом здоровых женщин и больных раком молочной железы. Полученные образцы были охарактеризованы с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, проточной цитофлуориметрии, и нанотрекового анализа. Концентрация белка в препаратах экзосом была измерена посредством NanoOrange Kit (Invitrogen). Сравнительный протеомный анализ образцов был проведён посредством 2D электрофореза с последующим анализом с помощью протеомных карт и MALDI-TOF масс-спектрометрии

Публикации и апробация работы. По материалам научной работы опубликовано 2 статьи в рецензируемых научных журналах. Основные результаты были представлены на 52-ой Международной Научной Студенческой Конференции (Новосибирск, Россия, 2014 г.), VIII-ом съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (Казань, Россия, 2014 г.), I Международной конференции молодых учёных биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов OpenBio (Кольцово, Россия, 2014 г.), UK-Russia Workshop: Extracellular vesicles- mechanisms of biogenesis and roles in disease pathogenesis (Москва, Россия, 2015 г.), X конференции молодых ученых-онкологов им. академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы (Томск, Россия, 2015г.), EMBO Workshop «Cellular and molecular mechanism of tumour-microenvironment crosstalk» (Томск, Россия, 2015 г.), VII Российском симпозиуме «Белки и пептиды» (Новосибирск, Россия, 2015 г.), II Ежегодном конгрессе ROOM (Сочи, Россия, 2015 г.), Биотехнология: молекулярные аспекты ранней диагностики и терапии онкологических заболеваний. (Барнаул, Россия, 2015 г.), Международном Студенческом Научном Форуме «Наука будущего – наука молодых» (Севастополь, Россия, 2015 г.), Российской конференции «Молекулярная онкология: итоги и перспективы» (Москва, Россия, 2015 г.), IX съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (Минск, Белоруссия, 2016 г.), Международной конференции, посвященной 90-летию академика Д.Г. Кнорре «Химическая биология» (Новосибирск, Россия, 2016 г.), The X international conference on bioinformatics of genome regulation and structure\systems biology. (Новосибирск, Россия, 2016 г.), V Съезд физиологов СНГ и V Съезд биохимиков России (Дагомыс, Россия, 2016 г.), Российская конференция «Молекулярная онкология: итоги и перспективы» (Москва, Россия, 2016 г.), ESMO Asia Congress 2016 (Сингапур, 2016 г.), IX международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, Россия, 2017 г.), Всероссийская конференция с международным участием «Биотехнология – медицине будущего» (Новосибирск, Россия, 2017 г.), FEBS Congress 2017 (Иерусалим, Израиль, 2017), III Национальный Конгресс по Регенеративной Медицине. (Москва, Россия, 2017 г.)

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Выделение экзосом

Основываясь на том, что экзосомы являются продуктами клеточной секреции, а также по многочисленным данным при циркуляции экзосомы крови способны связываться с клетками крови через белок-белковые и небелковые взаимодействия нами был разработан и запатентован метод выделения экзосом из крови, позволяющий выделять не только свободноциркулирующие экзосомы плазмы, но и элюаты экзосом с поверхности форменных элементов (Рис. 1). В текущей работе образцы крови 36 здоровых женщин и 32 больных раком молочной железы были обработаны данным протоколом. Для оценки преимуществ данного подхода и анализа его целесообразности нами было произведено сравнение данных фракций при дальнейшей характеристике образцов.

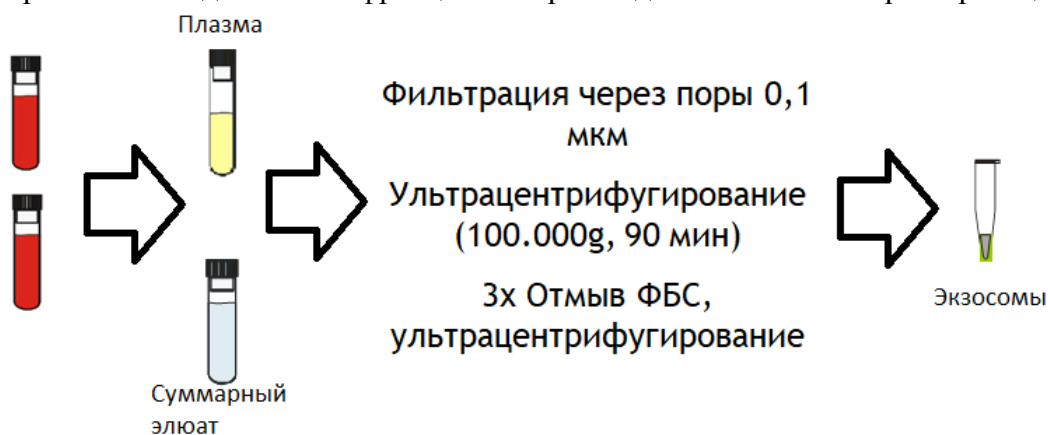


Рис. 1 Схема получения экзосом из плазмы и с поверхности форменных элементов крови

2. Анализ и характеристика экзосом

Для подтверждения экзосомальной природы получаемых нами образцов нами было проведена многоэтапная характеристика согласно рекомендация международного сообщества внеклеточных везикул (ISEV):

А) Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ)

На первом этапе характеристики с помощью ТЭМ фиксированных образцов нами было показано, что экзосомы сорбируются по сетке равномерно, их размер и форма сходны во всех образцах, большинство экзосом имеют электронно-прозрачное содержимое. (Рис. 2)

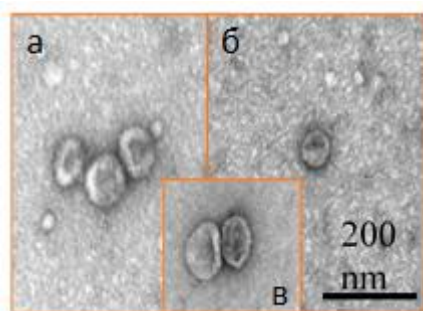
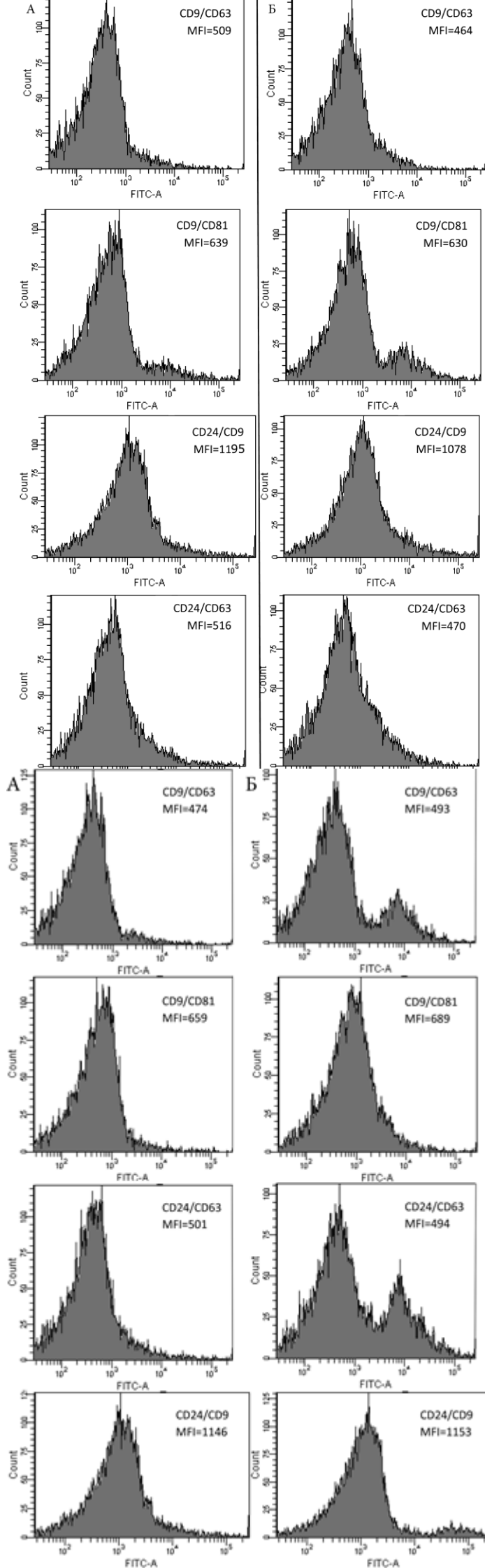


Рис. 2 ТЭМ экзосом, выделенных из плазмы здоровых женщин (а) и больных раком молочной железы (б) и экзосом, выделенных с поверхности форменных элементов крови (в)

Показано, что разработанный нами метод позволяет количественно удалять микровезикулы большего диаметра и апоптотические тельца.

Б) Проточная цитофлуориметрия.

Рис. 3 Экспрессия CD63- и CD81-рецепторов на CD9-позитивных экзосомах и экспрессия CD9- и CD63-рецепторов на CD24-позитивных экзосомах плазмы крови здоровых доноров (а) и больных раком молочной железы (б).



На следующем этапе согласно существующим стандартам характеризации нами была проведена проточная цитофлуориметрия. Для этого экзосомы, сорбированные на покрытых антителами к тетраспанинам латексных гранулах, были окрашены конъюгированными с флуорохромом (ФИТЦ) антителами к специфическим экзосомальным белкам. Мы использовали антитела к рецепторам семейства тетраспанинов CD63, CD9 и CD81, которые являются обязательным структурным компонентом мембраны экзосом, а также антитела к рецептору CD24, тетраспанина, также характерного для экзосомальных мембран и по некоторым данным гиперэкспрессированного при развитии РМЖ. Предложенная модификация метода оценки экспрессии экзосомальных мембранных белков позволяет не только вывить присутствующие маркерные белки, но и охарактеризовать различные субпопуляции экзосом.

В результате было показано, что профили экспрессии в различных субпопуляциях экзосом плазмы крови и суммарных элюатов достоверно не изменяются при развитии рака молочной железы. По убыванию интенсивности медианы флуоресценции в плазме крови (рис. 3) и в цельной крови (рис. 4) здоровых доноров и больных раком молочной железы были идентифицированы следующие субпопуляции экзосом:

$CD24/CD9 > CD9/CD81 > CD9/CD63 \approx CD24/CD63$.

Рис. 4 Экспрессия CD63- и CD81-рецепторов на CD9-позитивных экзосомах и экспрессия CD9- и CD63-рецепторов на CD24-позитивных

суммарных экзосомах крови здоровых доноров (а) и больных раком молочной железы (б).

Таким образом, наиболее часто в крови встречаются экзосомы, экспрессирующие рецепторы CD9 и CD24. Рецептор CD63 удается обнаружить на поверхности наименьшего количества экзосом, причем эти экзосомы экспонируют одновременно и другие рецепторы (CD9, CD24). Полученные результаты демонстрируют, что для рутинного типирования экзосом крови могут быть эффективно использованы наиболее универсальные маркеры CD9, CD24 и CD81.

В) Трекинг-анализ

Для того, чтобы показать, что полученные нами структуры действительно являются экзосомами, а также для оценки их концентрации использовали анализатор частиц NanoSight NS300. Было показано, что размер экзосом в образцах плазмы крови здоровых женщин и больных раком молочной железы составляет 75-116 нм и 93-158 нм, соответственно, концентрация микровезикул также не отличается и составляет $(3,71 \pm 1,15) \times 10^7$ и $(3,99 \pm 1,03) \times 10^7$ частиц/мл крови, соответственно. Размер и концентрация суммарных экзосом крови в норме и при онкологическом заболевании составили 80-114 нм и 84-112 нм и $(7,66 \pm 0,7) \times 10^7$ и $(9,4 \pm 1,24) \times 10^7$ частиц/мл крови, соответственно (Табл.1).

	Здоровые доноры		Пациентки с РМЖ	
	Экзосомы плазмы	Σ экзосомы крови	Экзосомы плазмы	Σ экзосомы крови
Размер, нм	96 ± 16	130 ± 5	128 ± 7	129 ± 12
Концентрация экзосом, *10 ⁷ /мл крови или млн клеток	8,3	26	23	19

Таблица 1. Размер и концентрация экзосом крови здоровых женщин и больных раком молочной железы, измеренные с помощью NanoSight NS300.

При этом необходимо отметить, что использованный подход позволяет оценить размер везикул путем определения гидродинамического диаметра частицы, таким образом, реальный размер частицы предполагается ниже приведенного. Также, согласно трековому анализу концентрация экзосом в образцах элюатов с поверхности форменных элементов в 2

раза выше, чем в препаратах плазмы крови, что подчёркивает важность этой фракции при работе с циркулирующими экзосомами крови.

Проведённые эксперименты по характеристике образцов доказывают, что разработанные методы позволяют выделить препараты микровезикул, которые по общепринятым критериям могут быть отнесены к классу экзосом.

3. Протеомный анализ образцов

А) Определение концентрации белка

Для определения концентрации белка и оценки доли экзосом связанных с поверхностью ФЭК в составе полученных препаратов экзосом крови здоровых женщин и больных раком молочной железы был использован коммерческий набор NanoOrange Protein Quantitation Kit согласно протоколу производителя. Результаты исследования показали, что как в норме, так и при развитии патологии, концентрация белка в составе суммарных препаратов экзосом крови выше, чем в препаратах плазмы (Рис. 5), что подтверждает результаты, полученные с помощью трекового анализа и говорит о том, что большая часть циркулирующих в крови экзосом связана с поверхностью клеток крови и о необходимости исследования этой фракции при работе с экзосомами крови.

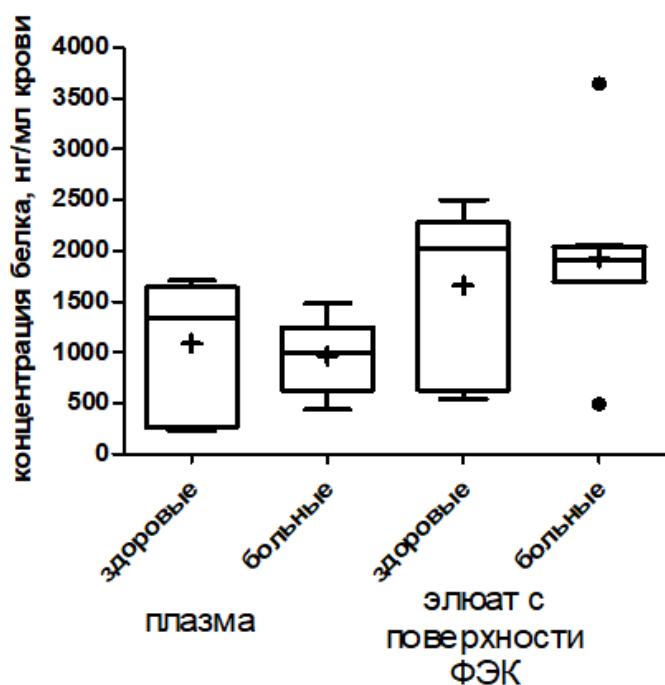


Рис. 5 Анализ концентрации белка в составе препаратов экзосом с помощью NanoOrange Kit

- 1 – плазма здоровых доноров;
- 2 – плазма РМЖ доноров;
- 3 – суммарный элюат с ФЭК здоровых доноров;
- 4 – суммарный элюат с ФЭК больных РМЖ

Б) Сравнительный анализ протеома экзосом плазмы крови здоровых женщин и больных раком молочной железы с использованием метода 2D-электрофореза

На следующем этапе белковый состав препаратов экзосом был исследован посредством 2D-электрофореза.

Совпадение индивидуальных белков на карте свидетельствует об адекватности экспериментально подобранных условий для выделения и разделения белков, а также о достоверности полученных данных. Было установлено, что в полученных препаратах

экзосом присутствуют белки с молекулярной массой от 10 до 250 кДа что соотносится с литературными данными по исследованию протеома экзосом (Рис. 6).

Для выявления белков экзосом, специфичных для рака молочной железы, был проведен сравнительный анализ полученных протеомных карт для каждой группы пациентов с использованием программного обеспечения PDQuest. В результате исследования обнаружено, что в группе больных первичным раком молочной железы по сравнению с группой здоровых женщин наблюдались отличия как в спектре белков экзосом плазмы крови, так и в спектре белков суммарных экзосом крови. Более того, нами было выяснено, что анализ суммарных экзосом крови позволяет более чётко выявлять различия в белковом составе между нормой и злокачественным новообразованием. Наиболее значимые различия, заключающиеся в появлении/исчезновении белков и изменении экспрессии присутствующих в норме белков были найдены в одиннадцати областях электрофоретической карты.

Поскольку в литературе отсутствуют протеомные атласы экзосомальных белков, белки на протеомных картах экзосом плазмы крови и суммарных экзосом крови идентифицировали, используя для сравнения маркеры стандартной карты плазмы крови SWISS-2D PAGE. Было обнаружено, что в некоторой степени полученный набор белков экзосом сравним с набором белков плазмы крови. Однако, в полученных нами протеомных картах экзосом плазмы и суммарных экзосом крови интенсивность пятен мажорных белков крови – альбумина и глобулина значительно снижена по сравнению с референсной картой плазмы

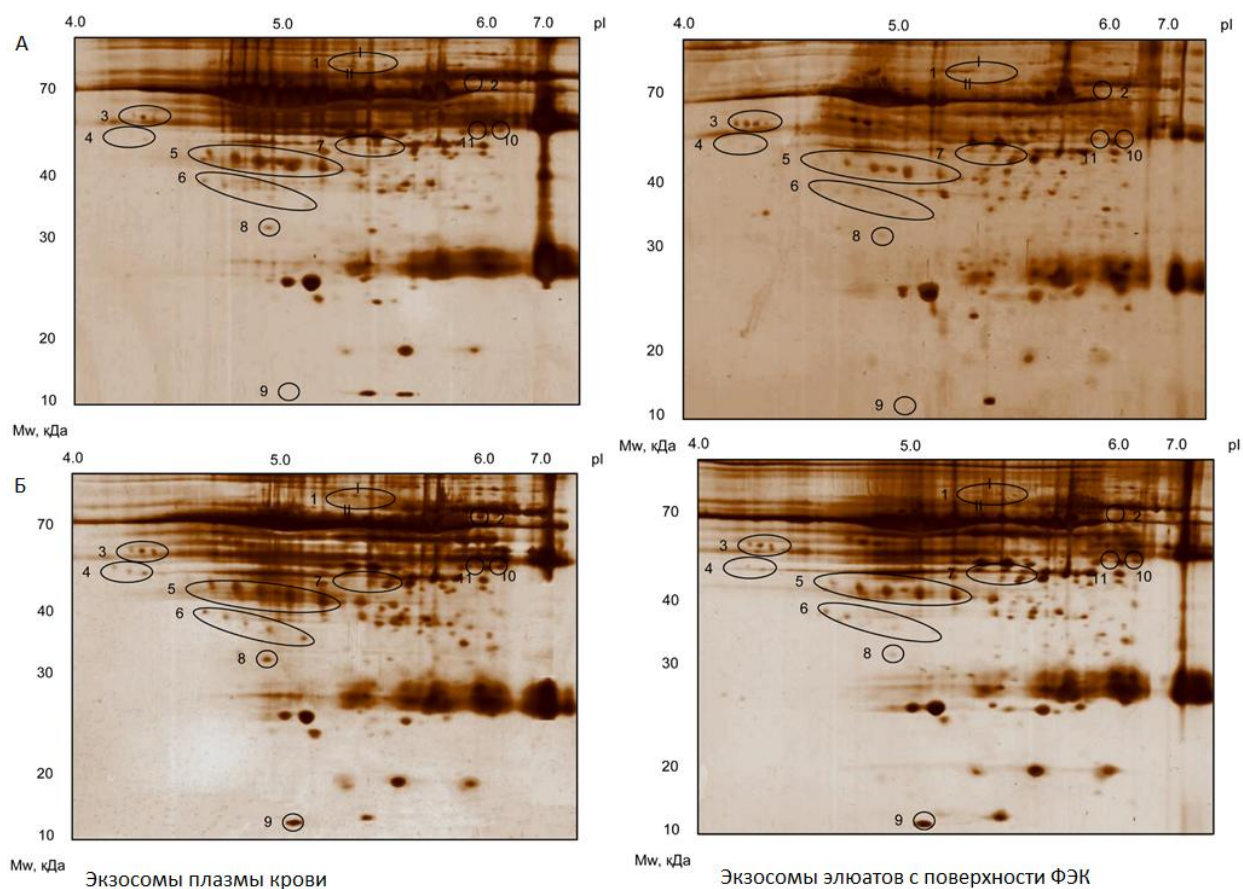


Рис. 6 Типичные протеомные карты экзосом крови здоровых женщин (а) и больных раком молочной железы (б). Двумерная электрофореграмма окрашена серебром. По оси абсцисс – изоэлектрическое

фокусирование, по оси ординат – SDS-ПААГ-электрофорез. Молекулярные массы белков в килодальтонах приведены слева. В окружности заключены белки, по относительному объему и наличию которых наблюдались различия между исследуемыми группами.

После идентификации экзосомальных белков наиболее отличающихся одиннадцати областей протеомных карт при помощи пептидного фингерпринта оказалось, что эти пятна соответствуют следующим белкам::

3 – альфа 2 HS-гликопротеин (AHSG). Ранее выявлен в составе Экзосом, секретируемых В-клетками, клеточными линиями LIM1863 (рак толстой кишки), HCC (рак печени), SKMEL28, Daju, A375M, 1250Lu (меланома) и др.

5 – аполипопротеин А-IV (APOA4). Ранее выявлен в составе экзосом тромбоцитов и экзосом мочи здоровых доноров.

9 – транстиретин (TTR). Ранее выявлен в составе экзосом тромбоцитов здоровых доноров и клеточной линии HCC (рак печени).

Экзосомальные белки, уровень экспрессии которых значительно изменяется при развитии рака молочной железы остальных выявленных областей установить по стандартной карте плазмы SWISS-2D PAGE не представлялось возможным, в связи с отсутствием пятен с аналогичной подвижностью. Для идентификации протеомных маркеров в составе экзосом крови следующим этапом было решено использовать масс-спектрометрию.

В) Сравнительный протеомный анализ с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Заключительным этапом являлся сравнительный анализ протеома полученных препаратов экзосом с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии: препараты экзосом лизировались, белки экзосом разделялись с помощью SDS-disc электрофореза, далее белки вырезались из геля, подвергались трипсинолизу и концентрировались с помощью колонок ZipTip (с18). Полученные пептиды анализировались MALDI-TIF, с последующим поиском кандидатов по базам данных NCBI и Swiss Prot. В результате исследования белкового состава экзосом двух человек на данный момент нами обнаружено 68 белков, 34 из которых обнаружили только у здоровых, 26 – только у больных РМЖ и 8 белков были найдены как в составе экзосом здоровых женщин, так и больных РМЖ.

Наиболее универсальные белки, а также белки, связанные с РМЖ представлены в Таблицах 2, 3.

Общие экзосомальные белки	Exocarta
Apolipoprotein A-I	+
Complement C3	+
Fas-binding factor 1	+

Fibronogen alpha chain	+
Hemoglobin subunit beta	+
Serotransferrin	-
Serum albumin	+
Transthyretin	+

Таблица 2. Наиболее универсальные белки в составе экзосом крови

Опухолеассоциированные белки в экзосомах РМЖ	BC	Exocarta
Alpha-1-antitrypsin	+	+
Cytokeratin-6A	+	+
Cytokeratin-6B	+	+
Dystrobrevin alpha	+	-
Epoxide hydrolase 4	+	-
Guanine nucleotide exchange factor VAV3	+	-
Hemopexin	+	+
Kinesin family member 20B	+	-

Таблица 3. Опухолеассоциированные белки в составе экзосом крови больных РМЖ

ВЫВОДЫ

1. Разработан и запатентован эффективный метод выделения экзосом крови
2. Показано, что при раке молочной железы концентрация микровезикул в плазме крови растёт, при этом более половины экзосом связано с поверхностью форменных элементов крови
3. По убыванию интенсивности медианы флуоресценции в плазме крови и элюатах поверхности ФЭК здоровых женщин и больных РМЖ были идентифицированы следующие субпопуляции экзосом: $CD24/CD9 > CD9/CD81 > CD9/CD63 \approx CD24/CD63$.
4. Сравнительный анализ протеомного профиля экзосом плазмы и суммарных экзосом крови в группе пациенток с раком молочной железы и группе клинически здоровых женщин позволил установить 3 белка (альфа-2HS-гликопротеин, аполипопротеин А-IV, транстиретин), экспрессия которых повышена при развитии рака молочной железы.
5. Данные MALDI-TOF масс-спектрометрии обнаружили 42 и 34 белка в препаратах экзосом крови здоровых женщин (n=4) и больных раком молочной железы (n=4), соответственно 27 из них (40%) были идентифицированы впервые в экзосомах (Exocarta). Обнаружено 8 опухолеассоциированных белков, ранее находимых при РМЖ
6. Использование экзосом, связанных с ФЭК, позволит увеличить выявляемость протеомных маркеров за счет увеличения количества анализируемого материала.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. Тамкович С.Н., Тутанов О.С., Лактионов П.П. Экзосомы: механизмы возникновения, состав, транспорт, биологическая активность, использование в диагностике. Обзор. Биологические мембраны, 2016, Т. 33, №3, С. 163-175. S. N. Tamkovich, O. S. Tutanov, P. P. Laktionov. Exosomes: Generation, Structure, Transport, Biological Activity, and Diagnostic Application Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology, 2016, Vol. 10, No. 3, pp. 163–173. DOI: 10.1134/S1990747816020112.
2. Тамкович С.Н., Бакакина Ю.С., Тутанов О.С., Сомов А.К., Кирюшина Н.А., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д., Лактионов П.П. Протеомный анализ циркулирующих экзосом крови в норме и при злокачественных новообразованиях молочной железы. Биоорганическая химия, 2017, том 43, No 2, с. 146–156
3. Тамкович С.Н., Лактионов П.П., Тутанов О.С., Рябчикова Е.И., Григорьева А.Е., Власов В.В. Способ получения экзосом из крови. Заявка на изобретение РФ 2014137279, патент РФ 2556825 от 18.06.2015.
4. Тамкович С.Н., Лактионов П.П., Тутанов О.С., Власов В.В. Способ диагностики и мониторинга онкологических заболеваний с использованием экзосом крови. Заявка на изобретение РФ 2014140894, патент РФ 2571507 от 24.11.2015.

Отчет о проверке текста
научно-квалификационной работы
на объем заимствования

Тутанов Олег Сергеевич

«Экзосомы крови: особенности циркуляции и состава в норме и при раке
молочной железы»

Оценка оригинальности: 82.35%

Заимствования: 17.65%

№ документа: 995667

Имя исходного файла: Научный_доклад_Тутанов.docx

Размер файла: 1 МБ

Размер текста: 17683

Слов в тексте: 2582

Число предложений: 128

Источники (доля в тексте – ссылка):

8.8625%

<https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%BA%D0%B7%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D1%8B>

10.6% <https://www.rusprofile.ru/id/1451999>

10.6% <http://www.niboch.nsc.ru/doku.php/ru/about>

10.6% <http://www.niboch.nsc.ru/doku.php/ru/news>

10.6% <http://www.list-org.com/company/814678>

10.6% http://www.tomo.nsc.ru/ckp/ckp_zakaz/

8.3%

<https://rucont.ru/searchresults?q=%22%D0%BF%D1%80%D0%BE%D1%82%D0%B5%D0%BE%D0%BC%D0%BD...>

13.1% <http://www.dissercat.com/content/epigeneticheskii-status-genov-opukholevoi-supressii-...>

12.8% <http://www.dslib.net/onkologia/raspredelenie-aberrantno-metilirovannyh-form-genov-opu...>

10.1% <http://earthpapers.net/mehanizmy-generatsii-i-sostav-posledovatelnostey-vnekletochnyh...>

8.65% <https://funeralportal.ru/library/1439/30641.html>

7.6% <https://patents.google.com/patent/RU2571507C1/ru>

14.6%

<http://www.fesmu.ru/elib/search.aspx?author=%22CB%E0%EA%F2%E8%EE%ED%EE%E2%20%CF.%CF.%22>

5.7% <https://edrid.ru/rid/218.016.4a0c.html>

5.7% <http://medical-diss.com/medicina/ispolzovanie-proteomnyh-podhodov-dlya-izucheniya-gem...>
11.3% <http://www.findpatent.ru/patent/255/2556825.html>
7.5% <http://mol-oncol.com/about/material2015>
5.5% https://bio.spbu.ru/science/index.php?ELEMENT_ID=4728&print=Y
5.25% <http://medical-diss.com/medicina/fenotip-immunokompetentnyh-kletok-bolnyh-pervichno-o...>
6.6% <http://worldgonesour.ru/veterinarnaya-immunologiya/2483-sistema-markernyh-antigenov-s...>
5.9% <https://biomolecula.ru/articles/ekzosoma-mekhanizm-koordinatsii-i-vzaimopomoshchi-ke...>
26.9% [https://rucont.ru/searchresults?q="cd63"](https://rucont.ru/searchresults?q=)
12.1% <https://www.libnauka.ru/item.php?doi=10.7868/S013234231702018X>
13.5% <http://www.rjbc.ru/2017/2/abstracts/4.shtml>
15.3% <http://shgpi.edu.ru/biblioteka/cgi-bin/search/search.exe?C21COM=S&I21DBN=MARS&P21DBN=...>
12.15% <https://kdsi.ru/novosti/blog-kompanii/primenenie-oborudovaniya-malvern-dlya-diagnosti...>
9.8% <http://earthpapers.net/vliyanie-lipidov-na-indutsirovannyi-apoptoz-monotsitov-v-norme...>
5.9% <http://www.freepatent.ru/patents/2520741>
7.2% <https://www.nkj.ru/archive/articles/10218/>
7.2% <http://www.dissercat.com/content/kliniko-morfologicheskie-varianty-papillyarnogo-raka...>
5.4% <http://naukarus.com/vliyanie-mikrovezikul-krovi-na-kinetiku-polimerizatsii-i-fermenta...>
5.4% <http://rupubmed.com/rak/rak-grudi/55255>
6.4%
http://elementy.ru/novosti_nauki/432553/Belok_glipikan_1_v_ekzosomakh_perspektivnyy_m...
5.5% <https://slideheaven.com/exosomes-generation-structure-transport-biological-activity-a...>
16.4% <http://www.niboch.nsc.ru/doku.php/ru/structure/labs/lak>
7.3% <http://www.niboch.nsc.ru/doku.php/ru/structure/labs/microscop>
12.8% <https://rucont.ru/efd/589819>

Оригинальность работы составляет 82.35 % , что соответствует требованиям порядка и условиям допуска научно-квалификационных работ к защите на итоговом заседании Государственной итоговой аттестации в аспирантуре ИХБФМ СО РАН.

Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» на сайте www.antiplagius.ru
06.09.2018 г.

Проверку выполнила секретарь ГЭК - к.б.н. К.В. Разум