

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

*На правах рукописи*

ЖУРАВЛЕВ ЕВГЕНИЙ СЕРГЕЕВИЧ

---

**НАУЧНЫЙ ДОКЛАД**  
**об основных результатах**  
**выполненной научно-квалификационной работы**

**Пути функционирования малых ядрышковых РНК**  
**и их аналогов в клетках человека**

Направление подготовки

06.06.01 Биологические науки

Направленность

03.01.03 Молекулярная биология

Аспирант

Журавлев Е.С.

Научный руководитель

к.х.н. Степанов Г.А.

Новосибирск – 2021

Работа выполнена в лаборатории геномного редактирования ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия.

Научный руководитель: **Степанов Григорий Александрович**, кандидат химических наук, заведующий лабораторией геномного редактирования Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность исследования.**

На сегодняшний день, малые ядрышковые РНК (мяоРНК) представляют одну из наиболее распространённых и многочисленных групп некодирующих РНК (нкРНК). В рамках своей канонической функции, мяоРНК в составе рибонуклеопротеидных комплексов регулируют созревание предшественников рибосомных РНК, осуществляя две наиболее распространенные модификации нуклеотидов: представители семейства C/D-бокс-мяоРНК направляют 2'-О-метилование, а представители семейства H/ACA-бокс-мяоРНК – псевдоуридилирование [1–4].

В последние годы, благодаря развитию высокопроизводительных методов исследования, были открыты как новые представители данного семейства, так и огромное разнообразие путей функционирования мяоРНК. В настоящее время известно, что мишенями мяоРНК для широкого диапазона модификаций выступают представители различных классов РНК, при этом мяоРНК взаимодействуют с различными белковыми партнерами, конкурируют с другими РНК-связывающими регуляторными агентами и привлекают к мишеням ряд специфических факторов. В список неканонических функций мяоРНК входят процессинг РНК, модуляция альтернативного сплайсинга, контроль эффективности трансляции, подавление экспрессии генов по микроРНК-подобному механизму, а также рекрутинг белков, участвующих в модификации хроматина [5,6]. Интересно, что для ряда мяоРНК характерно изменение клеточной локализации под воздействием экзогенных стрессовых стимулов, а также тканеспецифичное распределение [7,8]. Недавно было показано, что для патогенеза некоторых наследственных, онкологических и вирусных заболеваний свойственны изменения в экспрессии и локализации определенных мяоРНК [9,10].

Таким образом, изучение молекулярных механизмов функционирования малых ядрышковых РНК остается существенной фундаментальной задачей, поскольку может привести к открытию новых путей развития патологических процессов и разработке механизмов направленной регуляции экспрессии генов.

### **Цель и задачи исследования.**

**Целью** данной работы являлся поиск новых путей функционирования малых ядрышковых РНК и их аналогов в клетках человека.

Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. на основе структуры природных малых ядрышковых РНК человека сконструировать и синтезировать аналоги, содержащие неканонические нуклеотиды: псевдоуридин (Ψ), 5-метилцитидин ( $m_5C$ ), N6-метиладенозин ( $m_6A$ ), а также триметилгуанозин ( $m_3^{2,2,7}G$ ) в структуре кэпа;
2. оценить влияние модифицированных нуклеотидов на цитотоксическую активность аналогов мяоРНК;
3. изучить изменения в экспрессии генов в клетках человек после трансфекции модифицированными аналогами мяоРНК;
4. охарактеризовать изменения в уровне отдельных форм мяоРНК в клетках человека в условиях инфекции вирусом гриппа А.

### **Научная новизна и практическая значимость.**

В данном исследовании было впервые установлено, что модифицированные нуклеотиды в структуре аналогов C/D-бокс-мяоРНК снижают уровень активации системы врожденного иммунного ответа, а также цитотоксическое и антипролиферативное воздействие аналогов на клетки человека. Была выявлена ключевая значимость внутриклеточного рецептора PKR в механизмах узнавания и передачи сигналов мяоРНК. Полученные результаты закладывают базис для разработки искусственных регуляторов экспрессии генов в клетках человека на основе структурных особенностей малых ядрышковых C/D-бокс-РНК.

В рамках изучения биогенеза и функционирования класса мяоРНК в условиях заражения клеток человека вирусом гриппа А, впервые были выявлены изменения в уровне отдельных форм мяоРНК. Описанные эффекты вносят вклад в понимание роли малых ядрышковых РНК в контроле инфекции вируса гриппа А и в дальнейшем могут быть использованы для разработки специфичных средств регуляции репликации вируса гриппа.

### **Личный вклад автора.**

Основная часть работы была выполнена автором самостоятельно, в частности, все лабораторные эксперименты и биоинформатический анализ данных высокопроизводительного секвенирования poly-A и обогащенной фракции коротких РНК. Конструирование библиотек для высокопроизводительного секвенирования проводилось совместно с сотрудниками Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета к.б.н. Шах Махмуд Р. и к.б.н. Маланиным С.Ю. Подготовка препаратов клеток человека, инфицированных вирусом гриппа А, проводилась на базе ФГБУ НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева к.б.н. Сергеевой М.В.

### **Апробация работы.**

По результатам данного исследования опубликовано 9 работ, из них 3 статьи в рецензируемых изданиях рекомендованного перечня ВАК; 1 статья подготовлена к отправке в рецензируемое издание рекомендованного перечня ВАК.

### **Благодарности.**

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю, к.х.н. Степанову Григорию Александровичу, к.б.н. Сергеевой Марией Валерьевне и Комиссарову Андрею Борисовичу за помощь в экспериментах с вирусом гриппа, к.б.н. Шах Махмуд Раихану и к.б.н. Маланину Сергею Юрьевичу за помощь в конструировании библиотек для высокопроизводительного секвенирования, к.б.н. Нуштаевой Анне Андреевне и Матвеевой Анастасии Михайловне за помощь на этапах клеточных работ, к.б.н. Семенову Дмитрию Владимировичу за помощь в освоении биоинформатических подходов анализа данных, а также всем сотрудникам лаборатории геномного редактирования и лаборатории биотехнологии ИХБФМ СО РАН за постоянную поддержку.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Методы исследования.

Конструирование консервативных элементов структуры аналогов мяоРНК проводили методом ПЦР с применением специфических олигонуклеотидов. Полученные на этапе ПЦР ДНК-матрицы, включающие промотор РНК-полимеразы фага Т7, использовали для синтеза аналогов в реакции транскрипцию *in vitro*. Глубину модификации варьировали изменением исходных соотношений м6АТР/АТР, м5СТР/СТР, ΨТР/УТР. Последующая обработка транскриптов включала гель-фильтрацию, обработку ДНКазой и щелочной фосфатазой, фенол-хлороформную экстракцию, обработку Т4-полинуклеотидкиназой, а также финишную очистку с помощью ВЭЖХ. Полученные аналоги мяоРНК анализировали электрофорезом, секвенированием по Сэнгеру. Оценку содержания неканонических мономеров проводили методом исчерпывающего ферментативного гидролиза РНК до нуклеозидов с последующим анализом продуктов ВЭЖХ, сопряженной с МС/МС или многоволновой УФ-детекцией.

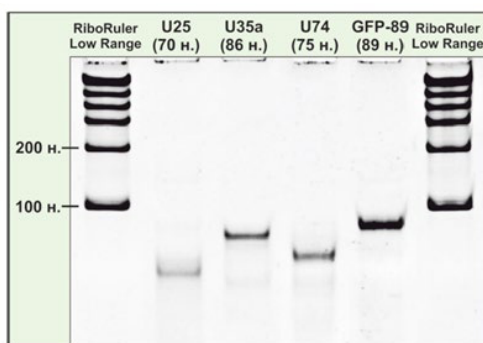
Для анализа влияния аналогов мяоРНК на клетки человека использовали клетки аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7, клетки аденокарциномы яичников человека SK-OV-3 и клетки карциномы легкого человека A549. Трансфекцию клеток MCF-7, SK-OV-3 и A549 аналогами мяоРНК проводили в присутствии липофектамина 3000 или липофектамина RNAiMax. Выделение ДНК и РНК из клеток проводили наборами производства ООО "Биолабмикс" в соответствии с инструкциями. Анализ изменения уровня экспрессии генов в клетках человека, трансфицированных аналогами мяоРНК, был проведен методом высокопроизводительного секвенирования полиА-фракции РНК на платформе Illumina NextSeq с последующей верификацией методом ОТ-ПЦР. Оценку жизнеспособности и пролиферации клеток проводили с помощью классического МТТ-теста и метода анализа роста клеток в режиме реального времени на платформе iCELLigence.

Для определения форм малых ядрышковых РНК дифференциально экспрессируемых в клетках человека в условиях заражения вирусом гриппа был использован подход массового параллельного секвенирования коротких форм РНК на платформе Illumina (с предварительной подготовкой библиотек по соответствующему протоколу). Последующий анализ данных высокопроизводительного секвенирования был проведен с применением широкого спектра биоинформатических подходов, включая различные программные пакеты на базе Linux: FastQC, fastp, STAR, DESeq2, IGV.

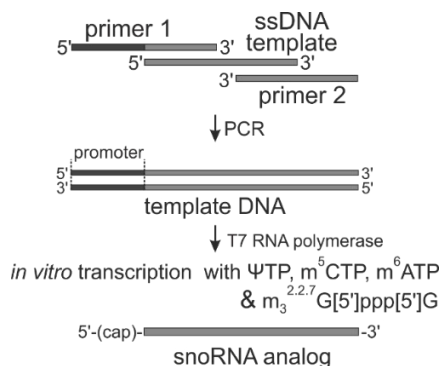
## Результаты и обсуждение.

### **Синтезирован набор аналогов малых ядрышковых РНК со статистическим включением в структуру неканонических мономеров.**

Для анализа влияния неканонических нуклеотидов на функционирование мяоРНК были сконструированы серии олигодезоксирибонуклеотидных матриц и праймеров, содержащих промотор РНК-полимеразы фага Т7, и получены аналоги ряда малых ядрышковых РНК человека (U25 (SNORD25), U35a (SNORD35A), U74 (SNORD74)) (**Рисунок 1**). Схема синтеза аналогов мяоРНК включала в себя стадии получения двуцепочечных ДНК-матриц методом ПЦР и транскрипцию РНК *in vitro* (**Рисунок 2**).



**Рисунок 1.** Электрофоретическое разделение продуктов второй стадии синтеза аналогов нкРНК - транскрипции РНК *in vitro*. U25, U35a, U74 – наименование мяоРНК аналога, полученного в реакции транскрипции. В скобках указаны длины аналогов. RiboRuler Low Range – маркер молекулярной массы РНК.



**Рисунок 2.** Схема синтеза аналогов малых ядрышковых РНК, содержащих м6А, м5С, Ψ, а также структуру кэпа на 5'-конце. \*- глубину модификации варьировали изменением исходных соотношений м6АТФ/АТФ, м5СТФ/СТФ, ΨТФ/УТФ.

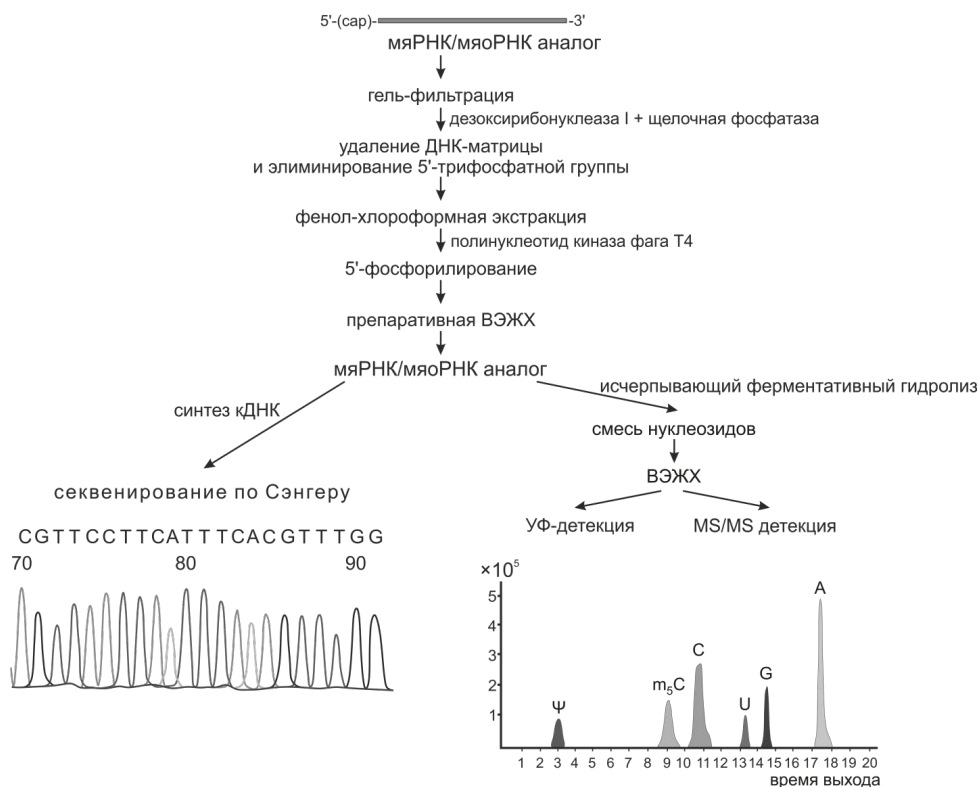


В составе природных форм мкРНК на 5'-конце присутствует остаток монофосфата или структура кэпа [11]. Для формирования остатка монофосфата на 5'-конце синтезированные аналоги малых мкРНК обрабатывали последовательно щелочной фосфатазой и полинуклеотид киназой фага Т4. Для очистки продуктов транскрипции от компонентов реакционной смеси была предложена схема, минимизирующая неспецифическую деградацию РНК (**Рисунок 3**).

Для оценки содержания неканонических мономеров в составе синтетических РНК был выбран подход исчерпывающего ферментативного гидролиза РНК до нуклеозидов с последующим анализом продуктов ВЭЖХ с двумя вариантами детекции (**Рисунок 3**):

- 1) качественное выявление неканонических мономеров в составе РНК с помощью ВЭЖХ, сопряженной с тандемным масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС/МС);
- 2) количественная оценка содержания неканонических мономеров в составе РНК с помощью ВЭЖХ с многоволновой УФ-детекцией.

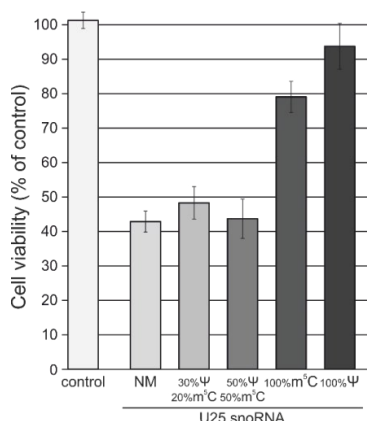
Первый подход позволяет выявить неканонические мономеры в составе синтетических РНК даже при их низком содержании. Второй метод дает возможность оценить степень включения неканонических мономеров при неполном замещении одного или нескольких канонических нуклеозидов.



**Рисунок 3.** Схема последующей ферментативной обработки, очистки и анализа синтезированных аналогов мяоРНК.

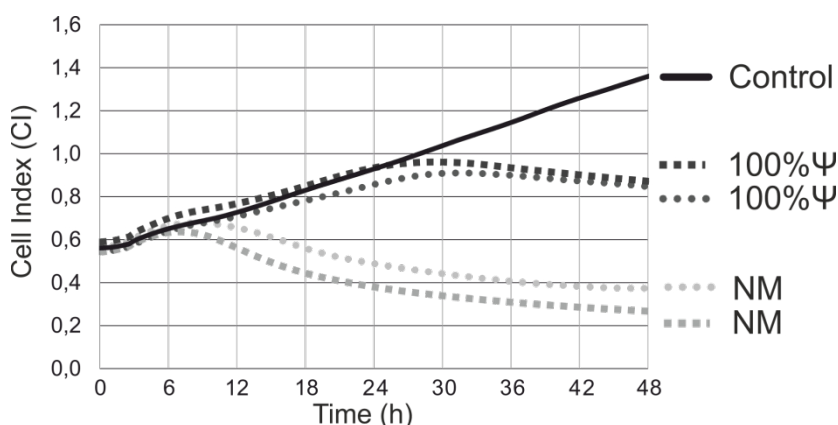
***Включение модифицированных нуклеотидов в структуру аналогов мяоРНК снижает цитотоксическое и антипролиферативное воздействие аналогов, а также снижает уровень активации системы врожденного иммунного ответа в трансфицированных клетках человека.***

При анализе действия модифицированных аналогов мяоРНК на клетки человека (на модель клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7) было выявлено, что введение модификаций Ψ и m5C существенно снижает уровень цитотоксического действия синтетических РНК. В частности, было установлено, что аналоги мяоРНК с частичной заменой канонических нуклеотидов на модифицированные 30% Ψ / 20% m5C, 50% Ψ / 50% m5C вызывают снижение жизнеспособности клеток на 50-60 %, аналоги с полной заменой C на m5C – на 20%, а полная замена U на Ψ практически полностью отменяет цитотоксический эффект РНК на клетки при трансфекции в течение 48 часов (**Рисунок 4**). Влияние m6A-модифицированных аналогов нкРНК на жизнеспособность клеток зависело от глубины модификации (данные не приведены); так, при достижении глубины модификации до 30 % (для РНК до 200 н. соответствует 50 % m6АТР при синтезе) наблюдалось усиление цитотоксического действия РНК, которое выражалось в снижении МТТ-индекса и количества живых клеток (по окраске трипановым синим) до 16-23 % через 24 ч и до 55-65 % через 48 ч после трансфекции, соответственно, в концентрациях 10-50 нМ.



**Рисунок 4.** Диаграмма изменения жизнеспособности клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 под действием аналогов U25 мяоРНК с различной степенью модификации Ψ и m5C через 48 ч после трансфекции. “Control” – клетки, обработанные только трансфицирующим агентом.

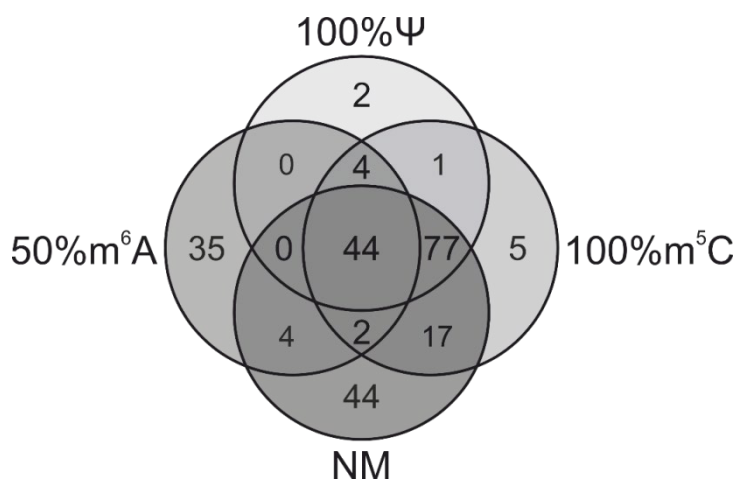
Дополнительно было проведено сравнение действия модифицированных аналогов мяоРНК на пролиферацию клеток человека с использованием многопараметрического анализатора клеточного роста RTCA iCELLigence. Было подтверждено, что полная замена U на Ψ обеспечивает наиболее существенное снижение цитотоксического действия аналогов мяоРНК на клетки человека, при этом уровень пролиферации трансфицированных клеток практически совпадал с контрольными в первые 24 часа (*Рисунок 5*).



**Рисунок 5.** Кривые роста клеток A549 после трансфекции немодифицированным (NM) и Ψ-модифицированным (100%Ψ) аналогами малой ядрышковой РНК. “Control” – клетки, обработанные только трансфицирующим агентом.

Для изучения механизмов действия модифицированных аналогов мяоРНК и выявления эффектов присутствия модифицированных мономеров в их структуре проводили анализ дифференциальной экспрессии с применением метода массового параллельного секвенирования на платформе Illumina. Для этого клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7 трансфицировали немодифицированным аналогом U25 мяоРНК (“NM”), а также аналогами U25 мяоРНК, имеющими в структуре полную замену C на m5C (“U25\_m5C”) либо U на Ψ (“U25\_Ψ”), а также замену A на m6A с глубиной 30 %. В качестве контроля использовали клетки, инкубированные с трансфектантом – липофектамином 3000. Через 24 часа после трансфекции выделяли суммарную РНК клеток, обогащали фракцию поли(А)-РНК, конструировали кДНК-библиотеки и проводили секвенирование по стандартному протоколу RNASeq на платформе Illumina.

Анализ данных показал, что при трансфекции клеток MCF-7 немодифицированным аналогом U25 мяоРНК происходит достоверное повышение уровня 188 транскриптов, аналогом с полной заменой U на Ψ – 128 транскриптов, аналогом с полной заменой C на m<sup>5</sup>C – 150 транскриптов и аналогом с частичной заменой A на m<sup>6</sup>A – 89 транскриптов (p-value < 0.05, Fold change ≥ 4) (**Рисунок 6**).

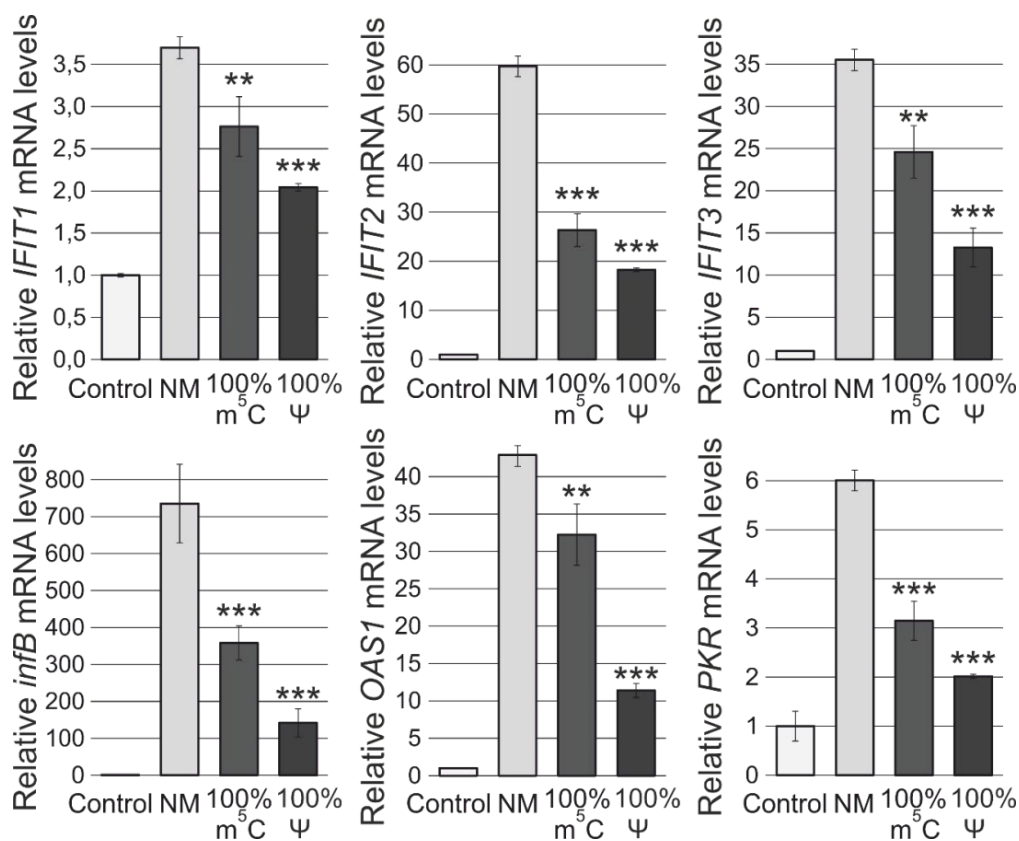


**Рисунок 6.** Сравнение наборов генов с повышенной экспрессией через 24 ч после трансфекции аналогов U25 мяоРНК в клетки MCF-7. Представлены диаграммы сравнения (диаграммы Венна) наборов генов, уровень мРНК которых достоверно отличается в контрольных и трансфицированных аналогами клетках (p-value < 0.05, Fold change ≥ 4) по результатам анализа данных дифференциальной экспрессии.

Для определения общих процессов, которые активируются в клетках человека под действием аналогов C/D-бокс-РНК, мы провели функциональный анализ группы из 121 гена с повышенной экспрессией, попадающих в пересечение, как минимум, трех анализируемых образцов. Анализ проводили с использованием базы данных Gene Ontology. Список GO-терминов, обогащенных генами с повышенной экспрессией включал: регуляцию продукции цитокинов, ответ на действие интерферонов I и II типов, негативную регуляцию репликации вирусов, пути паттерн-распознающих рецепторов, пути системы врожденного иммунного ответа, ответ клеток на стресс, активация путей поверхностных рецепторов клеток.

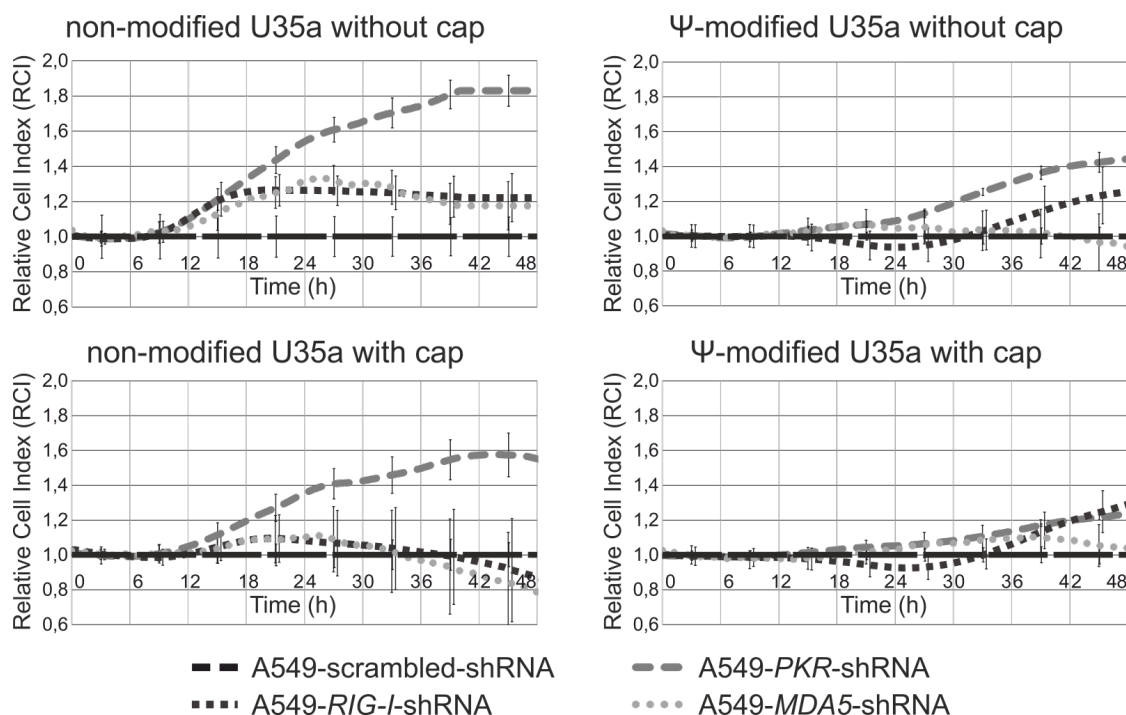
Методом ОТ-ПЦР была проведена верификация полученных данных RNASeq (**Рисунок 7**). Было показано, что в клетках, трансфицированных как модифицированными, так и немодифицированным аналогами U25 мяоРНК,

происходит увеличение уровня мРНК центральных генов РНК-зависимой активации системы врожденного иммунного ответа: *IFIT1*, *IFIT2*, *IFIT3*, *INFB*, *OAS1*, *RIG-I*. Введение модификаций m5C и Ψ снижает эффект активации интерферон-зависимых генов, что согласуется с количественными данными секвенирования. Наиболее значительные изменения в экспрессии после трансфекции клеток аналогами U25 РНК были выявлены для гена *INFB*. При этом введение модифицированных нуклеотидов снижало уровень активации в 2 и 5 раз в случае m5C и Ψ, соответственно. Аналогичные снижения в уровне активации наблюдали для других анализируемых генов (**Рисунок 7**).



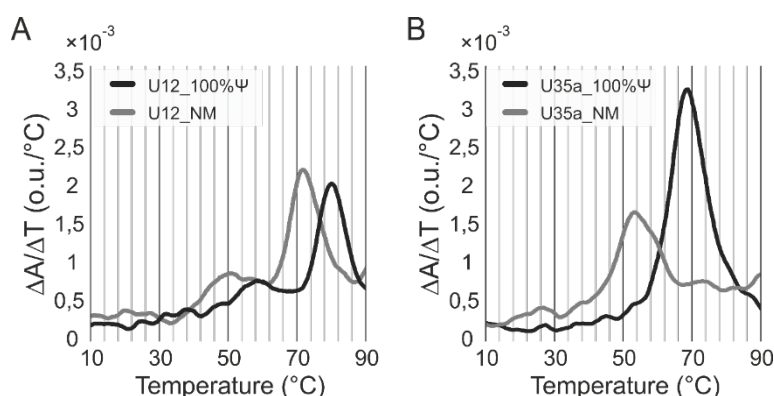
**Рисунок 7.** Уровень мРНК генов врожденного иммунного ответа в клетках MCF-7, трансфицированных немодифицированными («NM») и модифицированными (содержащими в структуре m5C и Ψ) аналогами U25 мяоРНК. Представлено среднее значение изменения относительного уровня мРНК каждого гена с указанием стандартного отклонения, рассчитанного по данным трех независимых экспериментов.

Известно, что ключевыми участниками процессов активации врожденного иммунного ответа клеток под действием РНК являются внутриклеточные рецепторы PKR, RIGI и MDA5. Для того, чтобы оценить вклад РНК-рецепторов в процесс активации интерферонового ответа в клетках под действием аналогов мяоРНК, использовали клеточные линии с селективным shRNA-нокаутом отдельных генов. Так как уровень иммуностимулирующей активности аналогов коррелировал с уровнем их цитотоксического действия на клетки человека, мы оценивали эффекты, связанные с подавлением каждого из рецепторов, по изменению пролиферации клеток с нокаутом после трансфекции исследуемых РНК. Было показано, что, во-первых, ключевым рецептором аналогов мяоРНК является PKR; во-вторых, модифицированные нуклеотиды ( $\Psi$ ) ингибируют взаимодействие синтетических РНК с внутриклеточными рецепторами, что прямо согласуется с литературными данными; в-третьих, дополнительное наличие кэпа в структуре аналогов мяоРНК обеспечивает усиление эффекта подавления иммуностимулирующей активности (**Рисунок 8**).



**Рисунок 8.** Кривые роста клеточных линий A549 с shRNA-опосредованным нокаутом генов *PKR*, *RIGI* и *MDA5* в условиях трансфекции аналогами U25 РНК с модификациями ( $\Psi$  и кэп). Относительный клеточный индекс представлен как среднее значение с указанием стандартного отклонения, рассчитанное по данным трех независимых экспериментов. Относительное значение рассчитано по отношению к данным, полученным для линии клеток, экспрессирующих контрольную shRNA.

Для объяснения наблюдаемого эффекта модифицированных нуклеотидов были проанализированы термодинамические характеристики структуры синтетических аналогов нкРНК. Были получены профили плавления вторичной структуры интактных и модифицированных РНК с использованием метода термической денатурации с оптической детекцией. Было установлено, что  $\Psi$  значительно стабилизирует пространственную структуру аналогов нкРНК (**Рисунок 9**). Полученный результат согласуется с литературными данными о вкладе псевдоуридина в термодинамическую стабильность элементов вторичной структуры РНК [12]. На основании описанных данных был сделан вывод о том, что внутримолекулярные модифицированные мономеры изменяют термодинамическую стабильность элементов вторичной структуры РНК, что нарушает взаимодействие с РНК-рецепторами и обеспечивает снижение иммуностимулирующей активности анализируемых РНК. Представленный вывод хорошо согласуется с литературными данными [13].



**Рисунок 9.** Профили денатурации («плавления») вторичной структуры аналогов U35a мяоРНК (А) и U12 мяРНК (Б), содержащих только канонические мономеры, и аналогов с полностью замещенным уридином на псевдоурidin в буфере PBS.

Таким образом, в качестве основного механизма действия аналогов мяоРНК на выбранных клеточных моделях была выявлена активация врожденного иммунного ответа. При этом ключевым фактором, обеспечивающим значительный уровень активации и сопутствующее цитотоксическое воздействие, является РНК-активируемый внутриклеточный рецептор PKR. Введение модифицированных нуклеотидов, таких как  $\Psi$  и m5C, позволяет значительно снизить уровень активации неспецифического иммунного ответа за счет изменения термодинамической стабильности структуры РНК и, как следствие, нарушения взаимодействия с внутриклеточными РНК-активируемыми рецепторами.

### ***Функциональный анализ данных секвенирования поли-А фракции клеток человека SK-OV-3, трансфицированных аналогами U74 и U35a мяоРНК.***

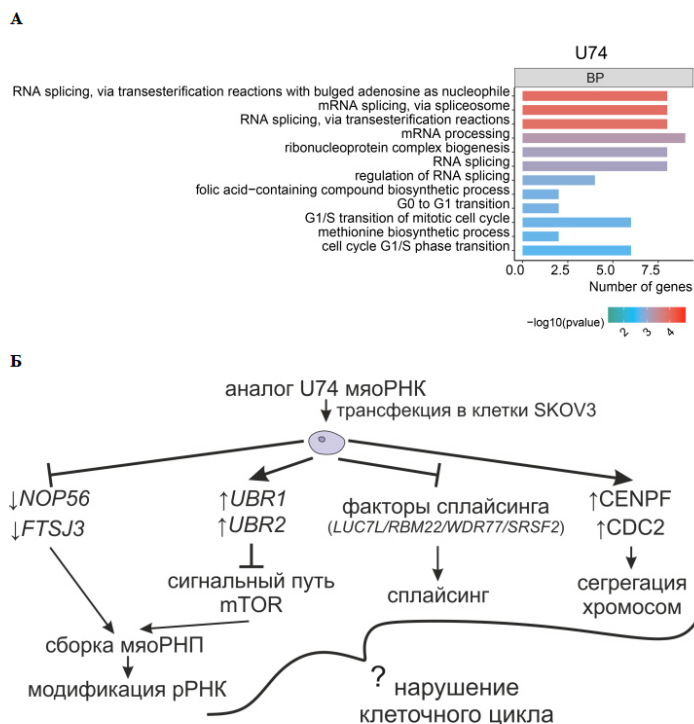
Нами было произведено высокопроизводительное секвенирование поли-А-фракции суммарной РНК из клеток аденокарциномы яичника SK-OV-3 через 48 ч. после трансфекции аналогами U74 и U35a мяоРНК в трех биологических повторах. В качестве контроля использовались клетки, трансфицированные фрагментом мРНК гена GFP (89 нк), а также клетки SK-OV-3, трансфицированные липофектаминам RNAiMax без добавления какой-либо РНК.

Для функциональной аннотации дифференциально экспрессирующихся генов были использованы базы данных Gene Ontology, KEGG, Reactome. Первым существенным результатом функционального анализа является отсутствие активации интерферон-чувствительных сигнальных путей. Активация неспецифической системы врожденного иммунного ответа клеток человека является нежелательным, но характерным признаком трансфекции синтетических РНК в клетки человека. Полученный нами результат по данным RNASeq указывает на корректность выбора модификаций в структуре РНК-конструкций на предыдущем этапе исследования. Отсутствие активации интерферон-чувствительных сигнальных путей даёт возможность выявлять специфичные пути функционирования каждого типа РНК.

В наборе генов со сниженной экспрессией после трансфекции аналогом U74 мяоРНК были выявлены обогащения по группам генов с аннотацией “сплайсинг РНК” и “РНК-процессинг” (***Рисунок 10, А***). По результатам анализа данных RNASeq можно предположить, что U74 имеет пути воздействия на аппарат сплайсинга пре-мРНК клеток человека. Общими путями регуляции 14 генов из групп, связанных с процессингом РНК, найдены контроль транскрипции эстроген-зависимыми факторами ER1 и ER2 (6 из 14 генов) и контроль стабильности и трансляции посредством микроРНК16-5p (6 из 14). В группу регуляции процессинга нкРНК и сборки рибонуклеопротеидных комплексов входит ген NOP56. Регуляция уровня этого гена выявляет специфичное узнавание представителя класса мяоРНК и глобальную регуляцию уровня C/D-бокс-РНК в клетках. Полученные результаты согласуются с литературными данными о том, что уровень отдельных мяоРНК может влиять на активность факторов сплайсинга и сборку мяоРНК-зависимых РНП [14].

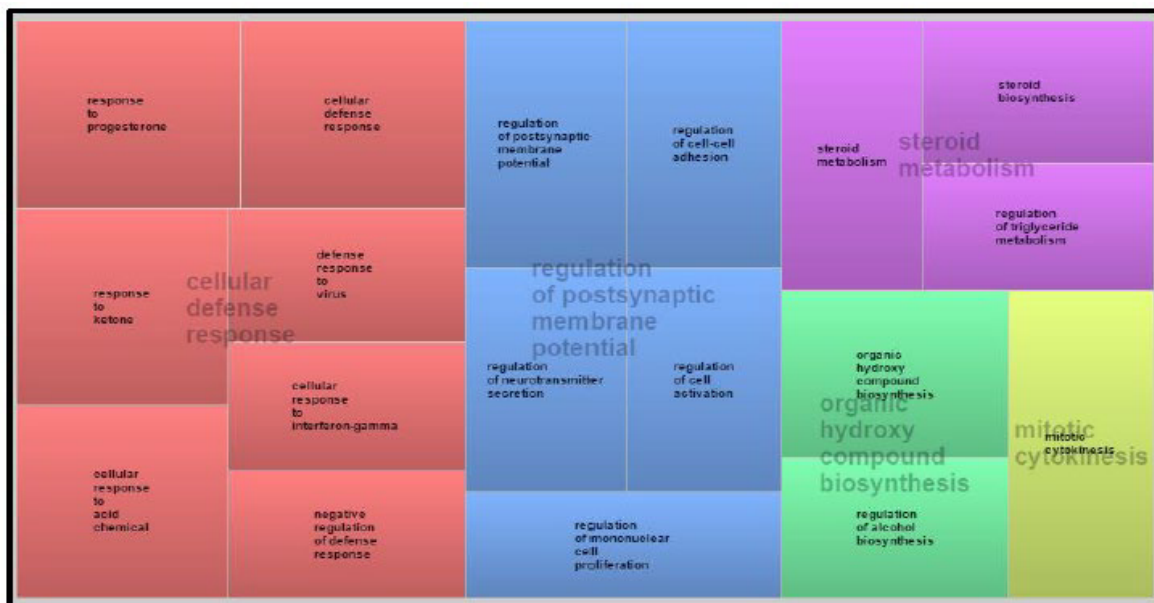


Нарушения в процессах созревания пре-мРНК и пре-рРНК могут привести к нарушению клеточного цикла. Совокупная предполагаемая схема воздействия аналога U74 мяоРНК на раковые клетки SK-OV-3 представлена на **Рисунок 10 (Б)**.



**Рисунок 10.** (А) Статистически значимые ( $p < 0,05$ ) кластеры генов, дифференциально пониженные в клетках SK-OV-3, трансфицированных аналогом U74 мяоРНК, относительно контрольных клеток. Данные обогащения получены с использованием базы данных Gene Ontology Biological Processes (BP). (Б) Гипотетическая схема действия аналога U74 мяоРНК на клетки SK-OV-3 по результатам функционального анализа дифференциальной экспрессии генов.

После трансфекции аналога U35a в клетки SK-OV-3 наблюдаются снижение уровня экспрессии в группах, связанных с реакцией клеточной защиты, биосинтезом органических гидрокси-соединений, митотическим цитокинезом и метаболизмом липидов (**Рисунок 11**). Ранее было показано участие U35a, как одной из мяоРНК, кодируемой в локусе *grL13a*, в процессах липотоксического и окислительного стресса клеток млекопитающих [15]. Интересно, что при стрессовом воздействии U35a РНК меняет локализацию и, по-видимому, участвует в регуляции клеточных процессов в цитоплазме.



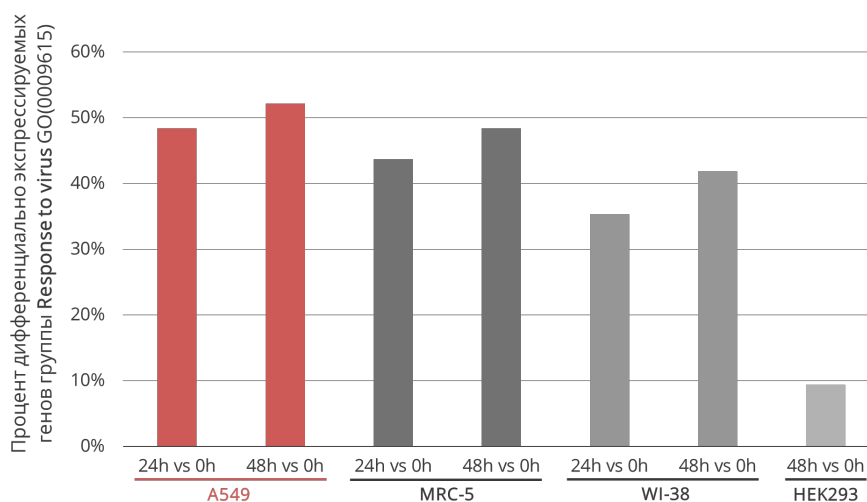
**Рисунок 11.** Иерархическое отображение функциональных кластеров, объединяющих GO-группы, обогащенные генами с пониженной экспрессией в клетках SK-OV-3 под действием аналога U35а мяоРНК (получены с помощью сервиса REVIGO) по данным транскриптомного анализа дифференциальной экспрессии генов.

Таким образом, применение модифицированных нуклеотидов, с одной стороны, позволяет корректировать свойства коротких регуляторных РНК и, с другой стороны, дает возможность получить новую информацию о их функционировании.

***В условиях развития в клетках человека инфекции вирусом гриппа А специфично регулируется уровень отдельных мяоРНК.***

На основании литературных данных и ранее полученных экспериментальных данных, для изучения роли малых ядрышковых РНК (мяоРНК) в регуляции инфекции клеток человека вирусом гриппа А в качестве модельного вируса был выбран вирус гриппа А/PuertoRico/8/1934 (H1N1) (коллекция вирусов ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»).

В качестве модельной клеточной линии была выбрана линия аденокарциномы легкого человека A549. Этот выбор был обоснован двумя факторами. Во-первых, данная клеточная линия довольно широко встречается в научной литературе, посвященной инфекциям вирусами гриппа. Во-вторых, ранее проведенный анализ дифференциальной экспрессии генов в 4-х кандидатных клеточных линиях (MRC-5, WI-38, A549, HEK293FT), зараженных вирусом гриппа А, показал, что группа базы данных Gene Ontology “Response to virus”, непосредственно связанная с клеточным ответом на вирусную инфекцию, наиболее обогащена дифференциально экспрессируемыми генами в случае клеточной линии A549 (**Рисунок 12**).



**Рисунок 12.** Сравнение уровня обогащения функциональной группы базы данных Gene Ontology “Response to virus” дифференциально экспрессируемыми генами внутри пар сравнения (24 часа и 48 часов после заражения против контрольных клеток (24h vs 0h, 48h vs 0h) для клеточных линий A549, MRC-5, WI-38, HEK293FT.

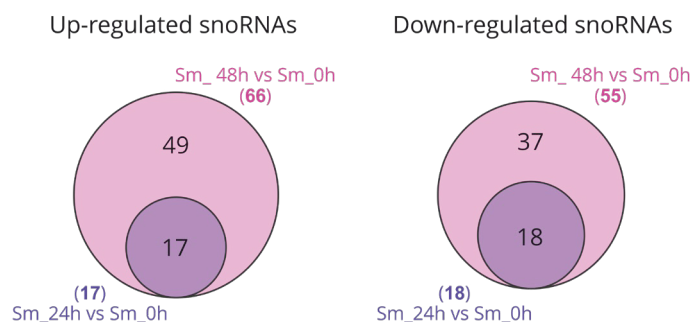
Для оценки уровня малых ядрышковых С/D-бокс-РНК в клетках человека в условиях инфекции вирусом гриппа А на базе ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» были подготовлены препараты клеток А549, зараженных вирусом гриппа А/ PuertoRico/8/1934 (H1N1) в дозе 1-2 ТИД50/клетку. Клетки выращивали во флаконах 25 см<sup>2</sup> до образования монослоя (по 2 биологических повтора на точку), затем заражали вирусом и инкубировали в течение 0-72 часов при 37С, 5% СО<sub>2</sub> (контрольная точка – 0 ч, три временные точки – 24, 48 и 72 ч). По окончании инкубации культуральную среду сливали, а клетки лизировали в 3 мл реагента ЛИРА (Биолабмикс #LR-100) и хранили при -70°С до этапа выделения РНК.

Подготовленные лизаты клеток были использованы для выделения фракции коротких форм РНК методом фенол-хлороформной экстракции, совмещенной с сорбцией нуклеиновых кислот на кремниевых колонках (Биолабмикс #LRU-100-50). Отсутствие фракции длинных РНК (более 200 н.) подтверждали с помощью электрофореза в 1,5% агарозном геле, представленность фракции коротких РНК анализировали с помощью Bioanalyzer 2100 и набора Bioanalyzer Small RNA Analysis (Agilent), концентрацию РНК определяли с помощью флуориметра Qubit 2 и набора Qubit RNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific). Оценку уровня коротких форм РНК в контрольных (0 ч) и зараженных клетках (24 и 48 ч) проводили методом массового параллельного секвенирования обогащенной фракции коротких РНК на платформе NextSeq Illumina 500 (Illumina). Точка 72 часа была исключена из высокопроизводительного анализа, поскольку методом ОТ-ПЦР была показана отрицательная динамика изменений в уровне ключевых факторов системы врожденного иммунного ответа клеток при переходе от 48 к 72 часам инкубации. Конструирование кДНК-библиотек проводили по стандартному протоколу NEBNext® Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina (New England Biolabs). В результате секвенирования было получено в среднем около 6 млн прочтений на образец (*Таблица 1*).

**Таблица 1.** Исходное количество прочтений и количество прочтений после удаления адаптеров и фильтрации на геномную последовательность вируса гриппа А для 6 кДНК-библиотек, сконструированных на основе фракции коротких РНК контрольных (0ч) и инфицированных вирусом (24ч и 48ч) клеток А549.

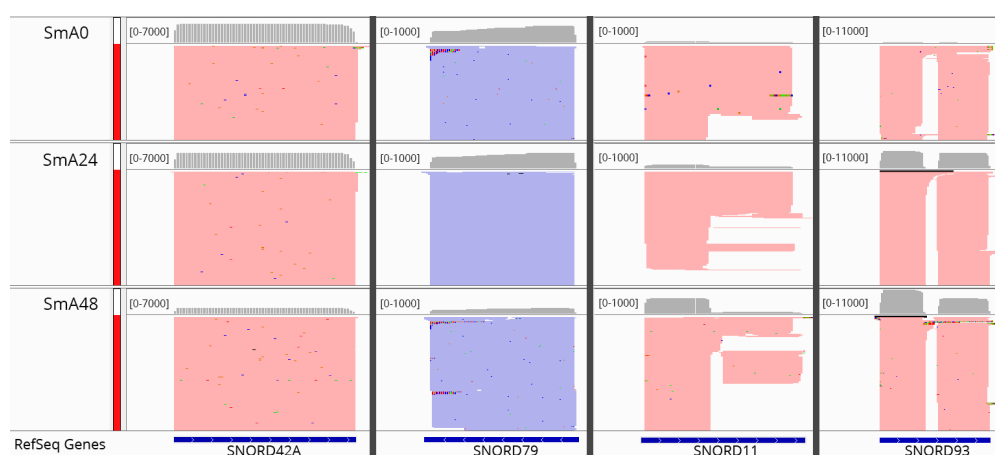
Образец	Биологический повтор	млн прочтений (исходно)	млн прочтений (после тримминга и фильтрации)
A549_0ч	Sm_A01	5.9	3.7
	Sm_A02	6.5	4.4
A549_24ч	SM_A241	6.9	4.5
	SM_A242	6.4	4.1
A549_48ч	SM_A481	6.6	3.5
	SM_A482	6.1	3.2

Биоинформационный анализ результатов секвенирования включал контроль качества «сырых» прочтений (FastQC (v0.11.9) и MultiQC (v1.9)) [16,17], удаление адаптеров и прочтений низкого качества (fastp (v0.21.0)) [18], удаление прочтений, картируемых на рибосомные РНК (SortMeRNA (v2.1b)) [19], выравнивание прочтений на комбинированный референсный геном человека (GRCh38) и геном вируса гриппа A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1) (STAR (v2.7.7a)) [20], сортировку и конвертирование SAM-файлов выравниваний в BAM-файлы (SAMtools (v1.11)) [21], а также оценку относительного вклада отдельных форм коротких РНК (функция featureCounts из R пакета Rsubread (v2.4.3)) [22]. Для сравнительного анализа результатов, полученных на клетках, инфицированных гриппом А и на контрольных клетках, использовали R пакет DESeq2 (v1.30.1) [23]. В результате анализа изменений в уровне малых ядрышковых РНК было установлено, что с увеличением продолжительности инкубации клеток до 48 ч после заражения вирусом гриппа А происходит рост числа как мяоРНК, уровень которых повышается относительно контрольных клеток, так и мяоРНК, уровень которых понижается (FDR-adjusted p -value < 0.05, абсолютная величина  $\log_2(\text{FC}) > 1$ ) (*Рисунок 13*).



**Рисунок 13.** Сравнение наборов мяоРНК с повышенным и пониженным уровнем (FDR-adjusted  $p$ -value < 0.05, абсолютная величина  $\log_2(\text{FC}) > 1$ ) в клетках A549 через 24 ч (Sm\_24h vs Sm\_0h) и 48 ч (Sm\_48h vs Sm\_0h) после заражения вирусом гриппа А.

При визуализации прочтений, выравненных на C/D-бокс-РНК, с помощью инструмента Integrative Genomics Viewer (IGV), было установлено, что для случаев снижения уровня C/D-бокс-РНК характерно снижение зрелой формы мяоРНК, в то время как для случаев повышения характерно увеличение уровня фрагментов процессинга зрелой формы мяоРНК (sdRNAs (snoRNA derived RNAs)) (*Рисунок 14*). Подобные фрагменты процессинга зрелых форм мяоРНК неоднократно выявлялись ранее при изучении патологических клеточных процессов [24]. В условиях заражения клеток вирусом гриппа, они могут участвовать в активации и регуляции каскадов противовирусного клеточного ответа.

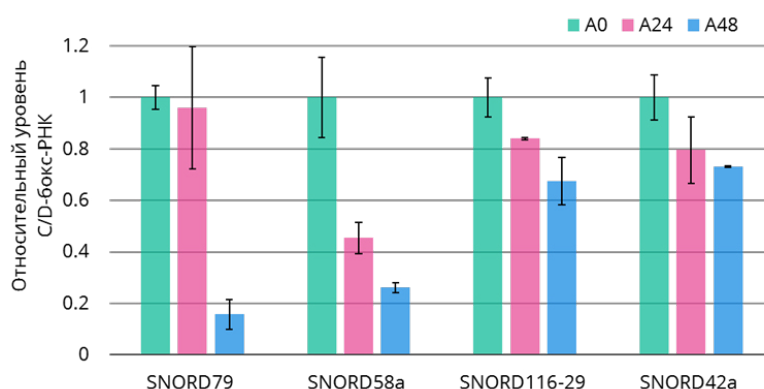


**Рисунок 14.** Визуализация с помощью инструмента IGV прочтений, выравненных на C/D-бокс-РНК с пониженным уровнем (SNORD42A, SNORD79) и с повышенным уровнем (SNORD11, SNORD93) в клетках после заражения вирусом гриппа А (SmA0, SmA24, SmA48 – точки 0, 24, 48 ч, соответственно).

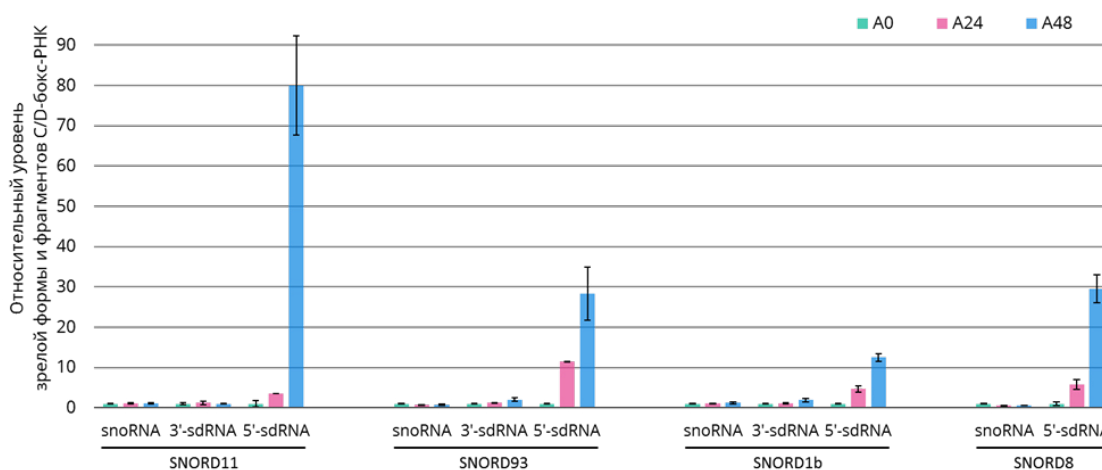
Для проведения верификации методом ОТ-ПЦР был выбран ряд C/D-боксов-РНК, уровень которых по данным секвенирования повышается или понижается в клетках после заражения вирусом гриппа А (**Таблица 2**). С учетом последовательностей выбранных РНК были сконструированы следующие системы праймеров: для определения уровня зрелых форм мяоРНК – прямые и обратные праймеры для одностадийной ОТ-ПЦР; для определения уровня фрагментов процессинга мяоРНК – stem-loop-обратные праймеры для стадии ОТ (позволяют детектировать короткие (20-40 н.) 3' и 5' фрагменты процессинга РНК); прямые праймеры, обратный универсальный праймер (комплементарен универсальной части stem-loop-праймеров) и FAM-зонды для стадии ПЦР. Основываясь на результатах дифференциального анализа данных секвенирования, а также на результатах алгоритма geNorm, встроенного в Qbase+ (Biogazelle), в качестве референсов были выбраны наиболее стабильные малые ядерные РНК U6 и U11. С помощью одностадийной ОТ-ПЦР было подтверждено снижение уровня для ряда зрелых форм C/D-боксов-РНК: SNORD58A SNORD42A SNORD116-29 SNORD79 (**Рисунок 15**). Используя системы праймеров, сконструированные по stem-loop-технологии, были верифицированы повышения уровня 5'-фрагментов процессинга зрелых C/D-боксов-РНК (SNORD11, SNORD93, SNORD1b, SNORD8), уровень которых повышался на 1-2 порядка после заражения вирусом гриппа А (**Рисунок 16**).

**Таблица 2.** C/D-боксы-РНК, выбранные для верификации методом ОТ-ПЦР данных об изменении их уровня в клетках в условиях инфекции вирусом гриппа А.

Обозначение	Длина, н	Ген-хозяин	Тип гена хозяина	Мишень
<i>C/D-боксы-РНК с повышенным уровнем после заражения вирусом гриппа А</i>				
SNORD93	74	SNHG26	некодирующая РНК	rRNA (18S:Am576)
SNORD11	84	NOP58	белок-кодирующий ген	rRNA (18S:Gm509)
SNORD1b	86	SNHG16	некодирующая РНК	rRNA (28S:Gm4362)
SNORD8	110	CHD8	белок-кодирующий ген	snRNA (Am53)
<i>C/D-боксы-РНК с пониженным уровнем после заражения вирусом гриппа А</i>				
SNORD58a	65	RPL17	белок-кодирующий ген	rRNA (28S:Gm4198)
SNORD42a	64	RPL23A	белок-кодирующий ген	rRNA (18S:Um116)
SNORD114-11	75	MEG8	некодирующая РНК	-
SNORD116-29	85	SNHG14	некодирующая РНК	-
SNORD79	81	GAS5	некодирующая РНК	rRNA (28S:Am3809)



**Рисунок 15.** Верификация данных изменения уровня отдельных форм C/D-бок-РНК в клетках после заражения вирусом гриппа А методом ОТ-ПЦР. Сравнение изменений в уровне отдельных C/D-бок-РНК в клетках A549 через 24 ч (A24) и 48 ч (A48) относительно контрольных клеток (A0).



**Рисунок 16.** Сравнение изменений в уровне отдельных форм C/D-бок-РНК (зрелая форма РНК; 3' и 5' фрагменты процессинга зрелой РНК (3'-sdRNA и 5'-sdRNA, соответственно)) в клетках A549 через 24 ч (A24) и 48 ч (A48) относительно контрольных клеток (A0).

Полученные результаты указывают на то, что в условиях развития в клетках человека инфекции вирусом гриппа А специфично регулируется уровень отдельных малых ядрышковых РНК, при этом изменение в структуре C/D-бок-РНК и их процессинг до более коротких форм в инфицированных клетках указывает на неканонический путь их функционирования.



## ВЫВОДЫ

1. Получен набор аналогов малых ядрышковых РНК U25 (SNORD25), U35a (SNORD35A), U74 (SNORD74) со статистическим включением в структуру неканонических мономеров: N6-метиладенозина (m6A), псевдоуридина (Ψ) и 5-метилцитидина (m5C), а также моно- и триметилгуанозина (m7G и m32,2,7G) в структуре кэпа, и с помощью трансфекции клеток человека этими аналогами выявлены характеристические особенности влияния модифицированных мономеров на свойства аналогов C/D-боксов-РНК. Установлено, что
  - включение модифицированных нуклеотидов в структуру аналогов мяоРНК снижает уровень активации системы врожденного иммунного ответа в трансфицированных клетках человека, а также позволяет снизить цитотоксическое и антипролиферативное воздействие аналогов мяоРНК на клетки человека;
  - PKR является ключевым внутриклеточным рецептором мяоРНК, обеспечивающим значительный уровень активации и сопутствующее цитотоксическое воздействие.
2. Совокупная функциональная аннотация генов с дифференциальной экспрессией в клетках аденокарциномы яичников человека SK-OV-3, трансфицированных аналогом U74 мяоРНК, позволила установить участие данной мяоРНК в формировании стрессового состояния клеток за счет нарушений в процессах созревания пре-мРНК и рРНК.
3. Показано, что в условиях развития в клетках человека инфекции вируса гриппа А уровень отдельных малых ядрышковых РНК подвергается специфичной регуляции, при этом в инфицированных клетках происходит изменение в структуре C/D-боксов-РНК и их процессинге до более коротких форм.

## ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Публикации.

1. «Nucleotide modifications decrease innate immune response induced by synthetic analogs of snRNAs and snoRNAs» // *Genes*, 2018, 9(11), 531
2. «Characterization of primary normal and malignant breast cancer cell and their response to chemotherapy and immunostimulatory agents» // *BMC Cancer*, 2018, 18, 728 – 739
3. «RNA-Seq transcriptome data of human cells infected with influenza A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1) virus» // *Data in Brief*, 2020, 33, 106604, DOI 10.1016/j.dib.2020.106604 E.

### Тезисы.

1. «Полнотранскриптомное исследование функционирования аналогов малых ядерных и малых ядрышковых РНК в клетках человека», OpenBIO-2017
2. «Whole-transcriptome and proteomic study of functioning of modified small nucleolar RNA analogues in human cells», V международная конференция молодых ученых: биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов OpenBio
3. «Природные модифицированные нуклеотиды в составе направляющих РНК для модулирования свойств искусственных регуляторов экспрессии генов», Мультиконференция "Биотехнология — медицине будущего"
4. «Включение природных модифицированных нуклеотидов в структуру РНК как способ функционального анализа коротких регуляторных РНК в клетках человека», VI СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ
5. «Effects of nucleotide modifications on the properties of snoRNA analogues», EMBO | EMBL Symposium: The Complex Life of RNA
6. "Определение роли малых ядрышковых РНК в регуляции инфекции клеток человека вирусом гриппа А", Научная конференция с элементами школы молодых ученых «Biotop 2020: актуальные вопросы современной биологии»

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tollervey D., Kiss T. Function and synthesis of small nucleolar RNAs // *Curr. Opin. Cell Biol.* 1997. Vol. 9, № 3. P. 337–342.
2. Szewczak L.B.W. et al. Exclusive interaction of the 15.5 kD protein with the terminal box C/D motif of a methylation guide snoRNP // *Chem. Biol.* 2002. Vol. 9, № 10. P. 1095–1107.
3. Kiss A.M. et al. Human Box H/ACA Pseudouridylation Guide RNA Machinery † // *Mol. Cell. Biol.* 2004. Vol. 24, № 13. P. 5797–5807.
4. Sloan K.E. et al. RNA Biology Tuning the ribosome: The influence of rRNA modification on eukaryotic ribosome biogenesis and function. // *RNA Biol.* 2017; Vol. 14. № 9. P. 1138–1152.
5. Bratkovič T., Božič J., Rogelj B. Functional diversity of small nucleolar RNAs // *Nucleic Acids Res.* 2020. Vol. 48, № 4. P. 1627–1651.
6. Danny Bergeron, Fafard-Couture É., Scott M.S. Small nucleolar RNAs: Continuing identification of novel members and increasing diversity of their molecular mechanisms of action // *Biochem. Soc. Trans.* 2020. Vol. 48, № 2. P. 645–656.
7. Designed Research; M S.S.F. Dual function of C/D box small nucleolar RNAs in rRNA modification and alternative pre-mRNA splicing // *PNAS.* 2016 Vol. Vol. 113. № 12. P1625-E1634.
8. Soeno Y. et al. Identification of novel ribonucleo-protein complexes from the brain-specific snoRNA MBII-52 // *RNA.* 2010 Vol. 16. № 7. P. 1293-300.
9. Penzo M. et al. Separated Siamese Twins: Intronic Small Nucleolar RNAs and Matched Host Genes May be Altered in Conjunction or Separately in Multiple Cancer Types // *Cells.* 2020. Vol. 9 № 2. P. 387.
10. Stamm S., Lodmell J.S. C/D box snoRNAs in viral infections: RNA viruses use old dogs for new tricks // *Non-coding RNA Res. Elsevier,* 2019. Vol. 4, № 2. P. 46–53.
11. Matera A.G., Terns R.M., Terns M.P. Non-coding RNAs: lessons from the small nuclear and small nucleolar RNAs. // *Nature reviews. Molecular cell biology.* England, 2007. Vol. 8, № 3. P. 209–220.
12. Kierzek E. et al. The contribution of pseudouridine to stabilities and structure of RNAs // *Nucleic Acids Res.* 2014. Vol. 42. № 5. P. 3492-501.

13. Durbin A.F. et al. RNAs Containing Modified Nucleotides Fail To Trigger RIG-I Conformational Changes for Innate Immune Signaling // *mBio*. 2016. Vol. 7. № 5 P. e00833-16.
14. Lykke-Andersen S. et al. Human nonsense-mediated RNA decay initiates widely by endonucleolysis and targets snoRNA host genes // *Genes Dev*. 2014. Vol. 28. № 22 P. 2498-517.
15. Michel C.I. et al. Small nucleolar RNAs U32a, U33, and U35a are critical mediators of metabolic stress. // *Cell Metab*. 2011. Vol. 14, № 1. P. 33–44.
16. Babraham Bioinformatics - FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data [Electronic resource]. URL: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (accessed: 06.08.2020).
17. Ewels P. et al. MultiQC: Summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report // *Bioinformatics*. 2016. Vol. 32, № 19. P. 3047–3048.
18. Chen S. et al. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor // *Bioinformatics*. 2018. Vol. 34. № 17. P. i884-i890.
19. Kopylova E., Noé L., Lè Ne Touzet H. SortMeRNA: fast and accurate filtering of ribosomal RNAs in metatranscriptomic data. 2012. Vol. 28, № 24. P. 3211–3217.
20. Dobin A. et al. Sequence analysis STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. 2013. Vol. 29, № 1. P. 15–21.
21. Li H. et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools // *Bioinforma. Appl. NOTE*. 2009. Vol. 25, № 16. P. 2078–2079.
22. Liao Y., Smyth G.K., Shi W. Sequence analysis featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. 2014. Vol. 30, № 7. P. 923–930.
23. Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 // *Genome Biol. BioMed Central Ltd.*, 2014. Vol. 15, № 12. P. 550.
24. Taft R.J. et al. Small RNAs derived from snoRNAs // *RNA*. 2009. Vol. 15. № 7. P. 1233-40.

# Отчет о проверке на заимствования №1



Автор: Журавлев Евгений Сергеевич

Проверяющий: Гапонова Светлана Константиновна (sveta-mira@yandex.ru / ID: 4540715)

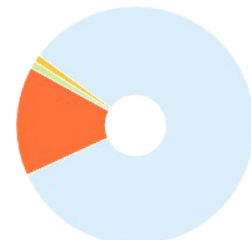
Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» - <http://users.antiplagiat.ru>

## ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 5  
Начало загрузки: 01.09.2021 07:08:53  
Длительность загрузки: 00:00:56  
Имя исходного файла:  
Научный доклад ЖуравлевЕС\_версия\_антиплагиат\_St.docx  
Название документа:  
Научный доклад ЖуравлевЕС\_версия\_антиплагиат\_St  
Языки текста документа: русский, английский  
Размер текста: 1 кБ  
Символов в тексте: 40561  
Слов в тексте: 5186  
Число предложений: 188  
Method of text extraction: OCR

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)  
Начало проверки: 01.09.2021 07:09:49  
Длительность проверки: 00:01:13  
Комментарии: не указано  
Поиск с учетом редактирования: да  
Модули поиска: ИПС Адилет, Библиография, Сводная коллекция ЭБС, Интернет Плюс, Сводная коллекция РГБ, Цитирование, Переводные заимствования (RuEn), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (KkRu), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (KyRu), Переводные заимствования по Интернету (EnRu), Переводные заимствования по Интернету (KkRu), Переводные заимствования по Интернету (KyRu), Переводные заимствования (KkEn), Переводные заимствования (KyEn), Переводные заимствования издательства Wiley (RuEn), eLIBRARY.RU, СПС ГАРАНТ, Интернет, Медицина, Диссертации НББ, Перефразирования по eLIBRARY.RU, Перефразирования по Интернету, Патенты СССР, РФ, СНГ, СМИ России и СНГ, Шаблонные фразы, Кольцо вузов, Издательство Wiley, Переводные заимствования



### ЗАИМСТВОВАНИЯ

14,53%

### САМОЦИТИРОВАНИЯ

0,63%

### ЦИТИРОВАНИЯ

1,05%

### ОРИГИНАЛЬНОСТЬ

83,79%

Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.  
Самоцитирования — доля фрагментов текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа, по отношению к общему объему документа.  
Цитирования — доля текстовых пересечений, которые не являются авторскими, но система посчитала их использование корректным, по отношению к общему объему документа. Сюда относятся оформленные по ГОСТу цитаты; общеупотребительные выражения; фрагменты текста, найденные в источниках из коллекций нормативно-правовой документации.  
Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.  
Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.  
Оригинальность — доля фрагментов текста проверяемого документа, не обнаруженных ни в одном источнике, по которым шла проверка, по отношению к общему объему документа.  
Заимствования, самоцитирования, цитирования и оригинальность являются отдельными показателями и в сумме дают 100%, что соответствует всему тексту проверяемого документа.  
Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые пересечения проверяемого документа с проиндексированными в системе текстовыми источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности заимствований или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в отчете	Доля в тексте	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Блоков в отчете	Блоков в тексте	Комментарии
[01]	3,38%	6,42%	Шендер, Виктория Олеговна Использование омиксных технологий для изучения особенностей коммуникации между клетками злокачественных опухолей : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.10 Москва 2018 <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	01 Янв 2018	Сводная коллекция РГБ	4	12	
[02]	0%	6,42%	Текст диссертации <a href="http://ibch.ru">http://ibch.ru</a>	11 Дек 2018	Интернет	0	12	
[03]	0,78%	4,77%	Степанов, Григорий Александрович Влияние аналогов малых ядрышковых РНК на экспрессию генов человека : автореферат дис. ... кандидата химических наук : 03.01.04 Новосибирск 2013 <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	17 Ноя 2014	Сводная коллекция РГБ	2	13	
[04]	3,13%	4,75%	Степанов, Григорий Александрович диссертация ... кандидата химических наук : 03.01.04 Новосибирск 2013 <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	25 Дек 2015	Сводная коллекция РГБ	6	10	
[05]	0,54%	3,41%	Текст диссертации <a href="http://ibch.ru">http://ibch.ru</a>	11 Дек 2018	Интернет Плюс	2	11	
[06]	0%	3,41%	ShenderVO_DISSERTATsIYa.pdf <a href="http://ibch.ru">http://ibch.ru</a>	23 Apr 2021	Интернет Плюс	0	11	
[07]	1,01%	3,31%	Текст автореферата <a href="http://ibch.ru">http://ibch.ru</a>	11 Дек 2018	Интернет	1	6	
[08]	0%	3,24%	Влияние аналогов малых ядрышковых РНК на экспрессию генов человека + " - скачать бесплатно автореферат диссертации по " + биологии + ",	01 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	0	6	

специальность " + Биохимия  
<http://earthpapers.net>

[09]	0%	2,46%	IV МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ: БИОТЕХНОЛОГОВ, МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ И ВИРУСОЛОГОВ. Сборник тезисов - PDF <a href="https://docplayer.ru">https://docplayer.ru</a>	11 Июн 2019	Интернет Плюс	0	10
[10]	0,32%	2,11%	Текст автореферата <a href="http://ibch.ru">http://ibch.ru</a>	11 Дек 2018	Интернет Плюс	1	9
[11]	1,37%	1,74%	Doc2All.ru - Влияние аналогов малых ядершковых РНК на экспрессию генов человека <a href="http://doc2all.ru">http://doc2all.ru</a>	01 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	2	3
[12]	0,22%	1,64%	Влияние аналогов малых ядершковых РНК на экспрессию генов человека + " - скачать бесплатно автореферат диссертации по " + биологии + ", специальность " + Биохимия <a href="http://earthpapers.net">http://earthpapers.net</a>	02 Ноя 2017	Интернет Плюс	1	8
[13]	0,25%	1,36%	PDF <a href="https://mcb.nsc.ru">https://mcb.nsc.ru</a>	31 Авг 2021	Интернет Плюс	1	5
[14]	0,21%	1,25%	Аналоги Alu- и 7SL РНК подавляют жизнеспособность клеток МСF-7, модулируя транскрипцию генов ответа на стресс эндоплазматического ретикулама. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	03 Янв 2014	eLIBRARY.RU	2	11
[15]	0,36%	1,08%	Нуштаева, Анна Андреевна Культуры онкотрансформированных клеток молочной железы и эндометрия для изучения опухолевой прогрессии и разработки терапевтических подходов : автореферат дис. ... кандидата биологических наук : 03.01.03 Новосибирск 2019 <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	01 Янв 2019	Сводная коллекция РГБ	1	3
[16]	0%	1,07%	Лаборатория биотехнологии [Институт химической биологии и фундаментальной медицины] <a href="http://niboch.nsc.ru">http://niboch.nsc.ru</a>	05 Фев 2019	Интернет Плюс	0	4
[17]	0%	1,07%	Лаборатория биотехнологии [Институт химической биологии и фундаментальной медицины] <a href="http://niboch.nsc.ru">http://niboch.nsc.ru</a>	12 Мар 2021	Интернет Плюс	0	4
[18]	0,33%	1,07%	Фомин, Александр Сергеевич Апоптоз раковых клеток человека, индуцируемый рекомбинантным аналогом лактапина : диссертация ... кандидата химических наук : 03.01.04 Новосибирск 2012 <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	15 Сен 2015	Сводная коллекция РГБ	1	3
[19]	1,05%	1,05%	не указано	раньше 2011	Шаблонные фразы	11	11
[20]	0%	0,98%	Лаборатория биомедицинской химии [Институт химической биологии и фундаментальной медицины] <a href="http://niboch.nsc.ru">http://niboch.nsc.ru</a>	20 Июн 2019	Интернет Плюс	0	4
[21]	0%	0,98%	Лаборатория биомедицинской химии [Институт химической биологии и фундаментальной медицины] <a href="http://niboch.nsc.ru">http://niboch.nsc.ru</a>	19 Апр 2021	Интернет Плюс	0	4
[22]	0%	0,97%	file_595465345d1c5мжпфи290617	29 Июн 2017	Кольцо вузов	0	3
[23]	0,05%	0,93%	ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ НА ИМПЛАНТАЦИЮ БИОПЛАСТИЧЕСКИХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ФИЗИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ - Диссертация <a href="http://konf.x-pdf.ru">http://konf.x-pdf.ru</a>	31 Авг 2021	Интернет Плюс	1	3
[24]	0%	0,89%	Uncategorised - Ассоциация Биофарм <a href="https://npbio.ru">https://npbio.ru</a>	27 Июл 2021	Интернет Плюс	0	3
[25]	0%	0,89%	19 вузов России получили право присуждать ученые степени <a href="http://ug.ru">http://ug.ru</a>	16 Янв 2019	СМИ России и СНГ	0	3
[26]	0%	0,89%	РАДИОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	08 Окт 2018	eLIBRARY.RU	0	5
[27]	0%	0,83%	Флавоноиды и фталаты Equisetum silvaticum L., Equisetum arvense L. и Pseudosiphora alopecuroides L. <a href="http://dslib.net">http://dslib.net</a>	31 Авг 2021	Интернет Плюс	0	3
[28]	0%	0,83%	Международные стандарты лечения онкогематологических заболеваний обсудили в Новосибирске <a href="http://gorod54.ru">http://gorod54.ru</a>	28 Дек 2018	СМИ России и СНГ	0	3

[29]	0%	0,77%	Новые правила защиты диссертаций. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	11 Мар 2020	eLIBRARY.RU	0	3
[30]	0%	0,77%	Определен перечень вузов и научных организаций, получивших право самостоятельно присуждать ученые степени <a href="http://magadan.yodda.ru">http://magadan.yodda.ru</a>	10 Янв 2019	СМИ России и СНГ	0	3
[31]	0,63%	0,63%	Природные модифицированные нуклеотиды в составе направляющих РНК для модулирования свойств искусственных регуляторов экспрессии генов. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	27 Окт 2019	eLIBRARY.RU	4	4
[32]	0,12%	0,62%	Молекулярная биология. 2017. Т. 51, № 1 <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	2	2
[33]	0%	0,62%	science-education.ru_file_58c63f9cd97ec.docx	13 Мар 2017	Кольцо вузов	0	2
[34]	0%	0,62%	Тикунов с соавт текст	13 Мая 2020	Кольцо вузов	0	2
[35]	0%	0,6%	Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2017. № 3 <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	0	2
[36]	0%	0,59%	Nucleic Acids Delivery Into the Cells Using Pro-Apoptotic Protein Lactaptin <a href="https://frontiersin.org">https://frontiersin.org</a>	17 Ноя 2020	СМИ России и СНГ	0	2
[37]	0,14%	0,58%	Генетика. 2017. Т. 53, № 8 <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	2	2
[38]	0%	0,58%	Молекулярная биология. 2017. Т. 51, № 5 <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	0	2
[39]	0%	0,58%	Артериальная гипертония у лиц призывного возраста: особенности клинического течения, диагностической и лечебно-профилактической помощи в амбулаторной практике <a href="http://emil.ru">http://emil.ru</a>	21 Дек 2016	Медицина	0	2
[40]	0%	0,58%	Всероссийская научно-практическая конференция "Молекулярно-генетические и иммуногенетические методы диагностики в практике врача гематолога", Санкт-Петербург, 25-26 апреля 2013 г. <a href="http://emil.ru">http://emil.ru</a>	21 Дек 2016	Медицина	0	2
[41]	0%	0,58%	Т. XCIV, № 4, июль-август <a href="http://emil.ru">http://emil.ru</a>	21 Дек 2016	Медицина	0	2
[42]	0%	0,58%	science-education.ru_file_5879043788084.doc	16 Янв 2017	Кольцо вузов	0	2
[43]	0%	0,57%	Павлюков, Марат Самвелович Роль апоптоза в трансформации опухолей : новые подходы к терапии глиом : автореферат дис. ... доктора биологических наук : 03.01.03 Москва 2019 <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	01 Янв 2019	Сводная коллекция РГБ	0	2
[44]	0%	0,55%	СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ К SACCHAROMYCES CEREVISIAE И CANDIDA ALBICANS ПРИ БОЛЕЗНИ КРОНА У ДЕТЕЙ. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	27 Мая 2019	eLIBRARY.RU	0	4
[45]	0,03%	0,53%	МАТЕРИАЛЫ V ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ 16-18 декабря 2019 г., Москва. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	23 Сен 2019	eLIBRARY.RU	1	4
[46]	0,48%	0,48%	БИОЛОГИЯ -НАУКА XXI ВЕКА. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	14 Сен 2015	Перефразирования по eLIBRARY.RU	1	1
[47]	0,17%	0,47%	Природные модифицированные нуклеотиды в составе направляющих РНК для модулирования свойств искусственных регуляторов экспрессии генов. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	27 Окт 2019	Перефразирования по eLIBRARY.RU	2	1
[48]	0,46%	0,46%	PDF <a href="https://mcb.nsc.ru">https://mcb.nsc.ru</a>	11 Дек 2016	Интернет Плюс	2	2
[49]	0%	0,43%	Лысенков, Антон Сергеевич Конструкционная керамика на основе нитрида кремния с добавкой алюминатов кальция : диссертация ... кандидата технических наук : 05.17.11 Москва 2014 <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	01 Янв 2014	Сводная коллекция РГБ	0	1
[50]	0%	0,41%	Разум, Кристина Владимировна Взаимодействие наночастиц золота и палладия с эукариотическими клетками in vitro и in vivo : диссертация ... кандидата биологических наук :	22 Авг 2019	Сводная коллекция РГБ	0	1

[51]	0,12%	0,38%	Физиология растений. 2017. Т. 64, № 2 <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	1	1
[52]	0%	0,38%	Брусенцов, Илья Иванович Генетическое разнообразие и филогеография печеночных сосальщиков <i>Opisthorchis felinus</i> и <i>Clonorchis sinensis</i> (Trematoda, <i>Opisthorchiidae</i> ) на территории России и стран Восточной Азии : автореферат дис. ... кандидата биологических... <a href="http://dlib.rsl.ru">http://dlib.rsl.ru</a>	31 Янв 2014	Сводная коллекция РГБ	0	1
[53]	0%	0,38%	Теоретические основы новых направлений в медицине <a href="http://emll.ru">http://emll.ru</a>	21 Дек 2016	Медицина	0	1
[54]	0%	0,38%	Т. 2 <a href="http://emll.ru">http://emll.ru</a>	08 Июл 2017	Медицина	0	1
[55]	0%	0,38%	Фосфорсодержащие фторированные производные 1,4-нафтохинона, обладающие цитотоксической активностью по отношению к раковым клеткам человека в культуре. Патент РФ 2535676 <a href="http://findpatent.ru">http://findpatent.ru</a>	24 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	1
[56]	0%	0,38%	Алкилирующие фторированные производные 1,4-нафтохинона, обладающие цитотоксической активностью по отношению к раковым клеткам человека в культуре. Патент РФ 2499789 <a href="http://findpatent.ru">http://findpatent.ru</a>	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	1
[57]	0%	0,38%	Умник_35098. Шедько Елизавета Дмитриевна. Оптимизация технологии наработки и очистки препаратов бактериофагов для персонализированного лечения инфекционных заболеваний у пациентов с гнойно-некротическими изменениями при синдроме диабетической <a href="http://umnik.fasie.ru">http://umnik.fasie.ru</a>	06 Мая 2017	Кольцо вузов	0	1
[58]	0%	0,38%	applied- research.ru_file_5a1691d9b6b19.docx	23 Ноя 2017	Кольцо вузов	0	1
[59]	0%	0,38%	antyuhova_e_a_evolyuciya- otechestvennoy-sistemy-prisujdeniya- uchenyh-stepeny-problemy-i- resheniya.pdf	20 Фев 2020	Кольцо вузов	0	1
[60]	0%	0,38%	Умник_68112. Милахина Елена Васильевна. Разработка устройства генерации низкотемпературной плазменной струи и развитие новых методов воздействия на злокачественные <a href="http://umnik.fasie.ru">http://umnik.fasie.ru</a>	31 Окт 2020	Кольцо вузов	0	1
[61]	0%	0,32%	View PDF ... <a href="https://bmccancer.biomedcentral.com">https://bmccancer.biomedcentral.com</a>	02 Мая 2020	Интернет Плюс	0	1
[62]	0%	0,32%	View PDF ... <a href="https://bmccancer.biomedcentral.com">https://bmccancer.biomedcentral.com</a>	02 Мая 2020	Интернет	0	1
[63]	0,31%	0,31%	Диплом Батлук У. 08.06.20 АП	08 Июн 2020	Кольцо вузов	1	1
[64]	0,28%	0,28%	Научная конференция_24-26 октября <a href="http://mispnsk.ru">http://mispnsk.ru</a>	01 Сен 2021	Интернет Плюс	1	1
[65]	0%	0,27%	ЧАСТОТА НОСИТЕЛЬСТВА КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА <i>СУР2С19</i> У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ ИЗ ЦЕНТРАЛЬНОЙ, ВОСТОЧНОЙ, СЕВЕРНОЙ СИБИРИ И МОСКОВСКОГО РЕГИОНА <a href="https://e.lanbook.com">https://e.lanbook.com</a>	22 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	0	1
[66]	0%	0,27%	Одаренко-диплом	09 Июн 2020	Кольцо вузов	0	1
[67]	0,26%	0,26%	Новости СО РАН   Сибирское отделение Российской академии наук (СО РАН) <a href="http://sbras.ru">http://sbras.ru</a>	01 Сен 2021	Интернет Плюс	1	1
[68]	0%	0,25%	235010 <a href="http://biblioclub.ru">http://biblioclub.ru</a>	19 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1
[69]	0%	0,25%	ASSA <a href="http://assa.bionet.nsc.ru">http://assa.bionet.nsc.ru</a>	19 Сен 2019	Интернет Плюс	0	1
[70]	0%	0,25%	2018 год <a href="http://vector.nsc.ru">http://vector.nsc.ru</a>	04 Окт 2020	Интернет Плюс	0	1
[71]	0%	0,25%	ASSA <a href="http://assa.bionet.nsc.ru">http://assa.bionet.nsc.ru</a>	19 Мая 2021	Интернет Плюс	0	1
[72]	0%	0,24%	2019.Vol.XIV.Appendix_Genes_and_cells_002.pdf	19 Мар 2020	Интернет Плюс	0	1



<https://student.sechenov.ru>

[73]	0%	0,24%	<a href="http://co2b.ru/uploads/sb.2017.09.pdf">http://co2b.ru/uploads/sb.2017.09.pdf</a> <a href="http://co2b.ru">http://co2b.ru</a>	18 Ноя 2020	Интернет Плюс	0	1	
[74]	0,23%	0,23%	Текст автореферата <a href="http://ibch.ru">http://ibch.ru</a>	01 Сен 2021	Интернет Плюс	1	1	
[75]	0%	0,23%	Beyond regulations at DNA levels: A review of epigenetic therapeutics targeting cancer stem cells <a href="https://doi.org">https://doi.org</a>	28 Фев 2021	Издательство Wiley	0	1	
[76]	0%	0,2%	Отзыв научного руководителя по научно-квалификационной работе (диссертации) аспиранта _ (Ф. И. О. полностью) кафедры _ (полностью) на тему _ и подготовленном научном докладе об основных результатах выполненной научно-квалификационной работы (диссертация) <a href="https://pandia.ru">https://pandia.ru</a>	22 Июн 2021	Интернет Плюс	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[77]	0%	0,2%	АСПИРАНТЫ ВОРОНЕЖСКОГО ГАУ ПОЛУЧИЛИ ЗАВЕТНЫЕ ДИПЛОМЫ <a href="http://voronej.bezformata.com">http://voronej.bezformata.com</a>	17 Авг 2019	СМИ России и СНГ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[78]	0%	0,19%	Upregulated microRNA-126 induces apoptosis of dental pulp stem cell via mediating PTEN- regulated Akt activation <a href="https://doi.org">https://doi.org</a>	28 Фев 2021	Издательство Wiley	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[79]	0%	0,19%	Landscape of microRNA in the aqueous humour of proliferative diabetic retinopathy as assessed by next-generation sequencing <a href="https://doi.org">https://doi.org</a>	30 Сен 2019	Издательство Wiley	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[80]	0%	0,19%	Научные подразделения <a href="https://igm.nsc.ru">https://igm.nsc.ru</a>	05 Окт 2020	Интернет Плюс	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[81]	0%	0,18%	<a href="https://www.s-vfu.ru/upload/iblock/ff2/ff2c90b93fe3191cfd28472d8cf0c79f.pdf">https://www.s-vfu.ru/upload/iblock/ff2/ff2c90b93fe3191cfd28472d8cf0c79f.pdf</a> <a href="https://s-vfu.ru">https://s-vfu.ru</a>	01 Сен 2021	Интернет Плюс	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[82]	0%	0,17%	База готовых уникальных дипломных и курсовых <a href="http://dagdiplom.ru">http://dagdiplom.ru</a>	21 Июн 2019	Интернет Плюс	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[83]	0%	0,16%	<a href="http://mgavm.ru/laboratoriya/nauchnaya-deyatelnost/nauchnyemeropriyatya/doc/%D0%A1%D0%B1%D0%BE%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA_%D0%BD%D0%B0%D1%83%D1%87%D0%BD%D1%8B%D1%85_%D1%82%D0%B5%D0%B7%D0%B8%D1%81%D0%BE%D0%B2_18-23.07.2017.pdf">http://mgavm.ru/laboratoriya/nauchnaya-deyatelnost/nauchnyemeropriyatya/doc/%D0%A1%D0%B1%D0%BE%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA_%D0%BD%D0%B0%D1%83%D1%87%D0%BD%D1%8B%D1%85_%D1%82%D0%B5%D0%B7%D0%B8%D1%81%D0%BE%D0%B2_18-23.07.2017.pdf</a> <a href="http://mgavm.ru">http://mgavm.ru</a>	15 Сен 2018	Интернет Плюс	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[84]	0%	0,16%	ТРАВЯНЫЕ МЕЛКОЛИСТВЕННЫЕ ЛЕСА КУЗНЕЦКОЙ КОТЛОВИНЫ: СИНТАКСОНОМИЯ, ЭКОЛОГИЯ, ГЕОГРАФИЯ - Диссертация <a href="http://konf.x-pdf.ru">http://konf.x-pdf.ru</a>	31 Авг 2021	Интернет Плюс	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[85]	0%	0,16%	II Всероссийская конференция с международным участием "Высокопроизводительное секвенирование в геномике" <a href="http://conf.nsc.ru">http://conf.nsc.ru</a>	01 Сен 2021	Интернет Плюс	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[86]	0%	0,16%	II Всероссийская конференция с международным участием "Высокопроизводительное секвенирование в геномике" <a href="http://conf.nsc.ru">http://conf.nsc.ru</a>	01 Сен 2021	Интернет Плюс	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[87]	0%	0,15%	Срf1 – эндонуклеаза системы CRISPR/Cas 2 класса, управляемая одноцепочечной РНК. <a href="https://medach.pro">https://medach.pro</a>	01 Сен 2021	Интернет Плюс	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[88]	0%	0,15%	Argonaute3 is a key player in miRNA-mediated target cleavage and translational repression in Chlamydomonas <a href="https://doi.org">https://doi.org</a>	31 Янв 2016	Издательство Wiley	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[89]	0%	0,11%	Исследование биологической активности липосомного сангвинарина на культурах опухолевых клеток и простейших. <a href="http://elibrary.ru">http://elibrary.ru</a>	15 Янв 2018	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

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

Отчет о проверке текста научно-квалификационной работы на  
объем заимствования

Журавлев Евгений Сергеевич

«Пути функционирования малых ядрышковых РНК и их аналогов в клетках  
человека»

Оригинальность работы составляет \_\_\_83.79\_\_\_ %, что соответствует требованиям порядка и условиям допуска научно-квалификационных работ к защите на итоговом заседании Государственной итоговой аттестации в аспирантуре ИХБФМ СО РАН.

Проверку выполнила секретарь ГЭК - к.б.н. С.К. Гапонова