

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

Лаборатория структуры и функции рибосом

На правах рукописи

ЗОЛОТЕНКОВА ЕЛИЗАВЕТА АЛЕКСЕЕВНА

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

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

**Выявление роли специфического
гидроксилирования рибосомного белка
uL15 человека в регуляции экспрессии
генов**

Специальность

1.5.4 Биохимия

Аспирант _____ Е. А. Золотенкова

Научный руководитель _____ д.х.н. А.А. Малыгин

Рецензент _____ к.б.н. И.П. Оскорбин

Новосибирск – 2024

Работа выполнена в Лаборатории структуры и функции рибосом ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия.

Научный руководитель:

Малыгин Алексей Аркадьевич

Доктор химических наук, заведующий Лабораторией структуры и функции рибосом ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Рибосома – сложный рибонуклеопротеидный комплекс, осуществляющий биосинтез белка, реализуя генетическую информацию. Рибосомы присутствуют во всех организмах всех доменов [1], что указывает на их важность для жизни. Рибосома состоит из двух субъединиц, малой и большой, которые, в свою очередь, образуются при агрегировании рНК и белков. Малая 40S субчастица рибосомы млекопитающих состоит из 33 рибосомных белков 18S рРНК, большая 60S – из 47 белков и 25S рРНК, 5S рРНК и 5.8S рРНК [2]. Рибосомные белки играют важную роль в поддержании правильной структуры рибосомы и, как следствие, её корректного функционирования.

Протеомные исследования рибосом показали, что в их составе достаточно малое количество рибосомных белков содержат посттрансляционные модификации [3,4]. В частности, у эукариот гидроксированию подвергаются только три белка: uL2 (RPL8 по старой номенклатуре), uL15 (RPL27A) и uS12 (RPS23) [5–7]. Гидроксирование осуществляется при помощи специфических 2-оксоглутарат Fe²⁺ зависимых оксигеназ. Белок uL2 гидроксирован при помощи NO66 по остатку His216, uL15 модифицируется MINA53 по остатку His39, а uS12 гидроксирован ферментом OGFOD1 по остатку Pro62 (у дрожжей этот белок дигидроксирован) [51] (рис. 1).

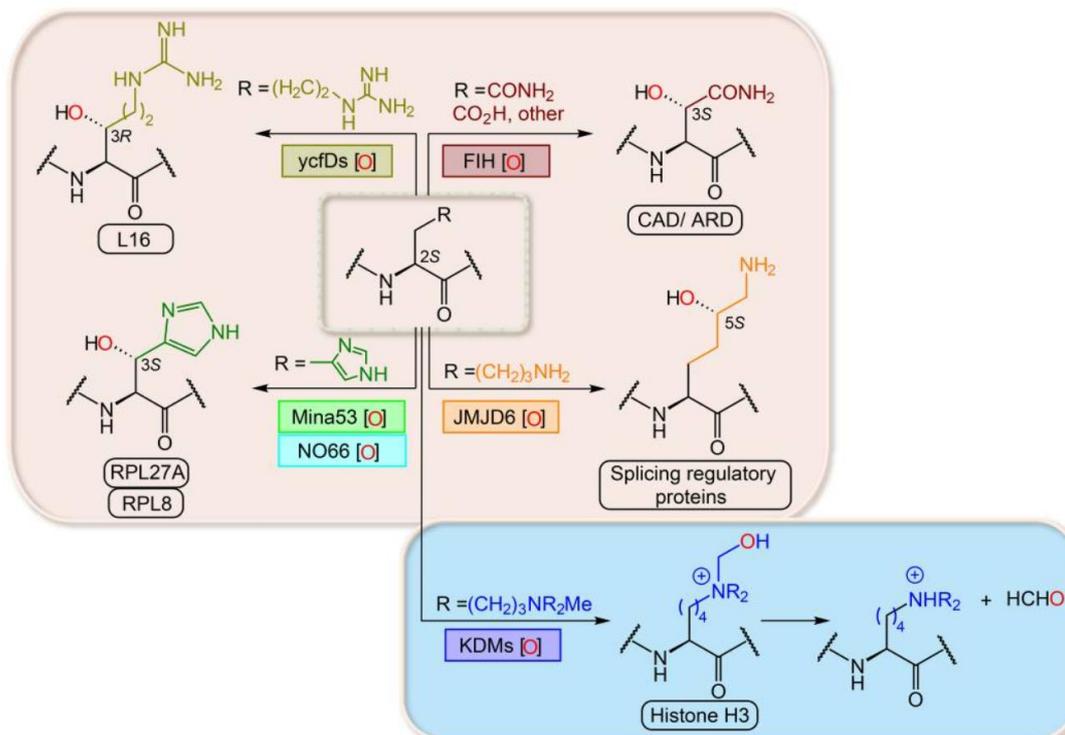


Рисунок 1. Реакция гидроксилирования, катализируемая рибосомными и другими оксигеназами. CAD: С-концевой трансактивирующий домен HIF- α ; ARD: анкириновый повторяющийся домен [8].

Стоит отметить, что эти модификации расположены вблизи функциональных центров рибосомы: остаток His216 белка uL2 располагается вблизи пептидилтрансферазного центра, Pro62 белка uS12 расположен в декодирующем центре, а гидроксилированный остаток His39 L27A (uL15) расположен вблизи ССА-конца тРНК, связанной с Е-сайтом, и примыкает к сайту связывания ингибитора трансляции циклогексимида [9] (рис. 2). Было показано, что при нокдауне или инактивации оксигеназы OGFOD1 происходит арест трансляции и образование стрессовых гранул [6]. Гидроксилирование uS12 влияет на точность терминации трансляции, причём отсутствие гидроксилирования приводило как к уменьшению, так и увеличению точности прочтения стоп-кодона в зависимости от нуклеотида, следующего за стоп-кодом [10]. Эти данные позволяют предположить важность гидроксилирования этих белков для эффективной трансляции.

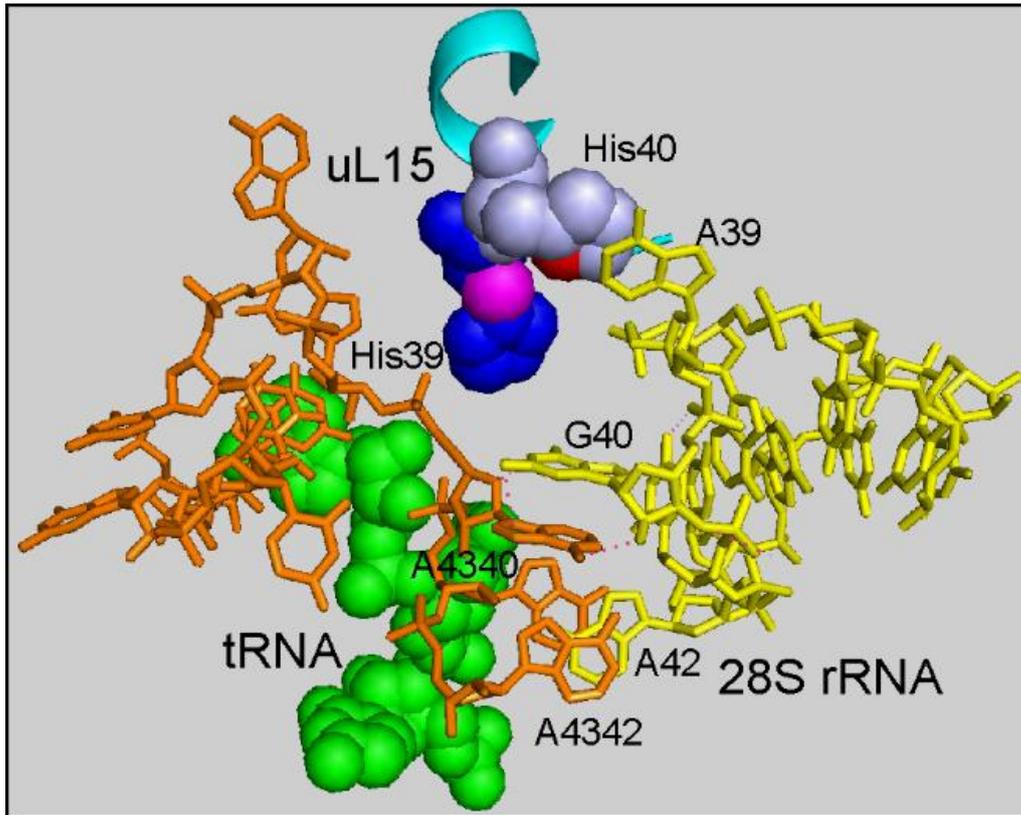


Рисунок 2. Расположение остатка His39 рибосомного белка uL15 вблизи E-сайт-связанной тРНК в рибосоме; фрагмент крио-ЭМ структуры рибосомы человека (PDB: 6QZP, [11]). Нуклеотиды спиралей H11 и H82 28S рРНК показаны жёлтым и оранжевым цветами соответственно. ССА-конец тРНК, связанной в E-сайте, отмечен зелёным. Остатки His39 и His40 белка uL15 (отмечен голубым) показаны синим и серым соответственно. С β атом His39 (выделен розовым), содержащий гидроксильную группу (неразрешённая в структуре), и атом N δ (показан красным) His40, который, возможно, образует водородную связь с гидроксильной группой при С β , как это предполагалось в [12], стабилизируют структуру белка. Рисунок нарисован с использованием программы PyMOL Molecular Graphics System [13].

Кроме того, регуляция уровня рибосомного белка uL15 тесно связана с канцерогенезом: было показано, что uL15 значительно активируется в клетках метастатического тройного негативного рака молочной железы (TNBC), и его сверхэкспрессия может вносить вклад в развитие и метастазирование TNBC через сигнальный путь EIF2 [14]. Напротив, подавление uL15 при помощи miR-595 индуцирует активацию p53, апоптоз и ингибирует пролиферацию, а у пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС) с мутацией потери гена miR-595 риск МДС увеличен [15]. Учитывая, что уровень гидроксирования uL15 специфическими ROX

снижается при гипоксии [5], которая сопутствует прогрессированию опухолей [16,17], можно ожидать наличие взаимосвязи между снижением уровня гидроксильированного uL15 и развитием опухолей. Ранее было показано, что экзогенный FLAG-меченный uL15, несущий замену His39Ala и, следовательно, неспособный к гидроксильированию, может успешно включаться в 60S рибосомные субчастицы в клетках НЕК293Т [12]. Тем не менее, уровень полисом в клетках, продуцирующих мутантную форму uL15, был значительно снижен по сравнению с клетками, содержащими форму экзогенного uL15 дикого типа [12]. Таким образом, можно предположить, что специфические нарушения трансляции мРНК происходили в клетках с негидроксильированной формой uL15 в рибосомах. Однако конкретных механизмов, как именно уровень экспрессии гена uL15 связан с канцерогенезом и какова роль гидроксильирования His39 в процессе трансляции, на сегодняшний день предложено не было.

Связь с канцерогенезом отмечена и для MINA53: например, было показано, что нокадаун *MINA53* приводил к снижению активности инициации репликации ДНК в клетках глиобластомы через понижение экспрессии CDC45-MCM-GINS (CMG) комплекса генов, продукты которых необходимы для инициации репликации ДНК. Также нокадаун *MINA53* приводил к уменьшению ответа на повреждение ДНК (DNA damage response) через снижение активности сигнального пути ATM/ATR-H2AX, и в конечном счёте это приводило к апоптозу клеток глиобластомы [18]. Также фермент MINA53 вовлечён в регуляцию пролиферации клеток рака желудка через регуляцию экспрессии генов клеточного цикла [19].

Таким образом, можно утверждать, что uL15 и его гидроксильирование при помощи MINA53 необходимы для нормального функционирования рибосомы, а патологические состояния тесно связаны с нарушениями трансляции. В частности, при гипоксии можно ожидать, что часть белка uL15 остаётся негидроксильированной, в результате чего в клетке появляется гетерогенность рибосом, что может приводить к значительным изменениям трансляционной активности некоторых генов, и, как результат, изменяется нормальный репертуар транслятома, а следовательно, искажается клеточный протеом. Такое состояние может приводить к нарушению работы клеток и развитию заболеваний в организме.

В заключение можно добавить, что задача науки – это производство нового знания. Поскольку на текущий момент опубликованного исследования, которое имело бы такую

же цель, не существует, то можно заключить, что итоговым результатом данной работы является новое знание о мире, пусть и на уровне роли специфического гидроксилирования рибосомного белка uL15 человека в регуляции экспрессии генов. Наука, как пишет известный философ В.С. Стёпин, оказывает огромное влияние на формирование мировоззрения человека, приводя в пример эксперименты А.Р. Лурия, которые показали, что люди, не сталкивавшиеся с наукой, демонстрировали логику ситуативного практического рассуждения при решении задач на силлогизмы [20]. Поэтому можно утверждать, что данное исследование обладает актуальностью, дополняя научную картину мира новыми фактами.

Цель работы

Выявление роли специфического гидроксилирования рибосомного белка uL15 человека в регуляции экспрессии генов.

Задачи

1. Исследовать изменения, возникающие в транскриптоме и транслятоме клеток НЕК293Т при замене остатка His39, который подвергается гидроксилированию в рибосомном белке uL15, на остаток аланина, неспособного нести такую посттрансляционную модификацию.

2. Создать стабильные клеточные линии на основе клеток НЕК293Т, нокаутных по одному или двум аллелям гена *MINA53* (*MINA53^{+/-}*, *MINA53^{-/-}*), кодирующего гидроксилазу, специфически модифицирующую uL15.

3. Сравнить изменения, возникающие в транскриптоме и транслятоме при отсутствии гидроксилирования рибосомного белка uL15 вследствие введения мутации His39Ala, с изменениями, возникающими в транскриптоме и транслятоме при нокауте гена *MINA53*.

Научная новизна

В данном исследовании было показано, как отсутствие гидроксилирования при внесении мутации в белок uL15 влияет на состав общей мРНК в клетке и мРНК, транслируемой на полисомах, в клетках НЕК293Т. Было показано, что эффективность трансляции в клетках, продуцирующих мутантную форму белка uL15 с заменой His39Ala, который вследствие такой замены неспособен гидроксилироваться, снижена

по сравнению с клетками, продуцирующими экзогенный белок uL15 дикого типа. При анализе данных высокопроизводительного секвенирования общей мРНК и мРНК, связанной с полисомами, были определены дифференциально экспрессируемые гены на уровне транскриптома (tDEG) и транслятома (pDEG). Сравнение физических характеристик мРНК дифференциально экспрессируемых генов показало, что в клетках, продуцирующих мутантную форму uL15, преимущество в трансляции получают более распространённые и более короткие мРНК.

Апробация работы

По результатам исследования было опубликовано 5 работ, из них 1 статья в рецензируемом издании и 4 тезисов конференций:

1. **Zolotenkova EA**, Gopanenkov AV, Tupikin AE, Kabilov MR, Malygin AA. Mutation at the Site of Hydroxylation in the Ribosomal Protein uL15 (RPL27a) Causes Specific Changes in the Repertoire of mRNAs Translated in Mammalian Cells. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 24;24(7):6173. doi: 10.3390/ijms24076173. PMID: 37047141; PMCID: PMC10094517.

2. **Zolotenkova E.A.**, Gopanenkov A.V., Tupikin A.E., Kabilov M.R., Malygin A.A., Karpova G.G. The role of hydroxylation of the human ribosomal protein ul15 in the regulation of gene expression at the level of translation. *Высокопроизводительное секвенирование в геномике*, с. 37.

3. Бабайлова Е.С., **Золотёнкова Е.А.**, Гопаненко А.В., Тянь Ю., Тупикин А.Е., Кабилов М.Р., Малыгин А.А. Влияние нарушений синтеза рибосомных белков человека на экспрессию генов. Тезисы конференции "Физико-химическая энзимология", 2023, с. 16.

4. **Золотёнкова Е.А.**, Гопаненко А.В., Тупикин А.Е., Кабилов М.Р., Малыгин А.А. Отсутствие гидроксирования His39 в рибосомном белке uL15 вызывает изменения в репертуаре транслируемых мРНК в клетках НЕК293Т. Тезисы конференции "Физико-химическая энзимология", 2023, с. 23.

5. **Золотёнкова Е.А.**, Гопаненко А.В., Тупикин А.Е., Кабилов М.Р., Малыгин А.А. Роль гидроксирования рибосомных белков в регуляции экспрессии генов. Научная молодёжная школа-конференция BioTop 2023, с. 17.

Вклад автора

Культивирование и трансфекция эукариотических клеток, получение полисомных профилей, подтверждение наработки экзогенного белка Вестерн-блот анализом, расчёт соотношения пиков полисомы/моносомы и валидация результатов РНК-секвенирования были сделаны автором работы. Получение ДНК-библиотек и последующее высокопроизводительное секвенирование образцов с первичной обработкой данных были сделаны в ЦКП «Геномика» ИХБФМ СО РАН А.Е. Тупиным и М.Р. Кабиловым. Биоинформатическая обработка результатов высокопроизводительного секвенирования была выполнена Гопаненко А.В.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Трансфекция и культивирование эукариотических клеток, анализ наработки целевого белка

Дизайн плазмид wt-uL15^{3×FLAG} и mut-uL15^{3×FLAG}, получение фрагмента ДНК, кодирующего рекомбинантный человеческий рибосомный белок uL15 с FLAG-тэгом на С-конце и внесение мутации в конструкцию по сайту гидроксирования His39 были описаны ранее [12]. Клетки HEK293T cells (CVCL_0063) культивировали в 10 см чашках Петри с DMEM, 10% FBS и 100 U/мл пенициллина-стрептомицина в CO₂ инкубаторе (5% CO₂) при 37°C. При достижении 50-60% конфлюэнтности клетки трансфицировали плазмидами с помощью трансфектанта Turbofect (Thermo Fisher Scientific Waltham, MA, USA) в соответствии с протоколом производителя. Спустя 48 часов клетки инкубировали 10 минут на льду с охлаждённым фосфатно-солевым буфером с добавлением 100 мкг/мл циклогексимида, после чего клетки были сняты с чашек этим раствором. Эксперимент проводился в 4 биологических репликах.

Треть клеток с каждой чашки была лизирована в Trizol (Ambion, Waltham, MA, USA) для выделения суммарной РНК по протоколу производителя. Оставшиеся клетки были ресуспендированы в охлаждённом лизирующем буфере следующего состава: 20 mM Tris-HCl (pH 7,5), 15 mM MgCl₂, 200 mM KCl, и 1% Triton X-100. Затем лизат центрифугировали 10 минут при 14000 g и 4°C, а отобранный супернатант наносили на градиент сахарозы 5-50% в 50 mM Tris-HCl (pH 7,5) буфере, содержащем 100 mM KCl и 12 mM MgCl₂. Сахарозный градиент центрифугировали 18 часов при 17000 g и 4°C в роторе SW-40 и затем фракционировали, как описано в [21]. Полученные фракции были преципитированы в 1 объёме охлаждённого этанола, РНК из осадка была выделена, как в [21]. Количество полисом и моносом вычисляли, исходя из интегрированной площади их пиков на градиенте, измеренной при 260 нм каждые 0,36 сек во время фракционирования образцов через проточную кювету хроматографа Милихром А-02 (Econova, Novosibirsk, Russia).

Наработка экзогенных белков дикого типа и с мутацией по сайту гидроксирования His39 была подтверждена Вестрен блот анализом аликвот лизатов и фракций полисомного градиента. Пробы лизатов содержали по 300000 клеток, пробы

полисомного градиента содержали половину преципитированных этанолом фракций. Для детекции FLAG-тэга использовали первичные мышинные моноклональные антитела (M2, #F1804, Sigma, St. Louis, MO, USA), для uL15 – первичные кроличьи поликлональные антитела (RPL27A, #PA-5-45706, Invitrogen, Waltham, MA, USA).

Подготовка ДНК-библиотек и высокопроизводительное секвенирование

Качество РНК, выделенной из образцов суммарного клеточного лизата и фракций полисомного градиента, было проверено при помощи Bioanalyzer 2100 и RNA6000Pico kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Для приготовления ДНК-библиотек использовали MGIEasy RNA Directional Library Prep Set (MGI Tech, Shenzhen, China). Затем провели секвенирование нового поколения полученных библиотек на платформе MGISEQ-2000, используя 2x100 PE sequencing mode (FCL PE100, MGI Tech). Выделение РНК, приготовление ДНК-библиотек и секвенирование были произведены в ЦКП «Геномика» ИХБФМ СО РАН.

Обработка первичных данных высокопроизводительного секвенирования

Качество прочтений в fastq формате оценивалось при помощи FastQC (v.0.11.9) и MultiQC (v. 1.9), после чего прочтения были отфильтрованы по качеству с использованием Trimmomatic 0.39 и cutadapt 2.9. Последовательности адаптеров были предоставлены производителем. Отфильтрованные прочтения были выравнены на hg38 референсный геном человека при использовании STAR RNA-seq aligner (2.7.3) и аннотации Ensembl (102 релиз). Качество BAM файлов оценивалось с помощью QualimapTool (v.2.2) при параметрах по умолчанию. Анализ покрытия генов прочтениями проводился в IGV геномном браузере с использованием полученных BAM файлов. Данные качества были положены в таблицу с метаданными, а данные РНК-секвенирования были опубликованы в GenBank под номером PRJNA932595.

Анализ обработанных данных высокопроизводительного секвенирования

Батч-эффекты корректировали, используя sva (v. 3.44.0), как описано в таблице S7. Анализ дифференциальной экспрессии генов проводился при помощи DESeq2 (v. 1.36.0) со следующими параметрами: $p.adjust < 0.05$, $|\log_2(\text{shrunken LFC})| > 0.322$, $\text{base mean} > 100$. Характеристики мРНК (кодирующая последовательность, последовательности 5'- и 3'-

UTR, их длина, содержание GC-пар) были собраны, используя biomaRt (v. 2.52.0), Biostrings (v. 2.64.1) и Ensembl (v. 108). Все графики, расчёты и статистический анализ были выполнены при помощи GraphPad Prism (v. 7.01).

Валидация результатов высокопроизводительного секвенирования при помощи ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR)

2 мкг РНК из образцов инкубировалась со 100 пмоль рандомного праймера и 25 е.а. MMLV ревертазы согласно протоколу производителя (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) в 20 мкл реакционной смеси. ПЦР в режиме реального времени с полученной кДНК проводили на LightCycler 96 (Roche, Basel, Switzerland) с использованием флуоресцентного красителя SYTO-9 (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA), HS-Taq (hot-start) полимеразы (Biolabmix, Novosibirsk, Russia) и специально подобранных праймеров (табл. 1). Эксперимент проводился в 3 биологических репликах и 2-3 технических повторах при следующих параметрах ПЦР: 95 °С 30 с, 45 циклов 95 °С 10 с, 55 °С 20 с и 72 °С 20 с. Уровень экспрессии генов был посчитан при помощи встроенного программного обеспечения прибора LightCycler 96 (Roche, Basel, Switzerland). Полученные результаты нормировали на уровень экспрессии генов, кодирующих GAPDH и 18S рРНК.

Таблица 1. Последовательности праймеров для RT-qPCR

Ген	Прямой праймер	Обратный праймер	Длина ПЦР продукта
<i>DYNC1H1</i>	5'-ataagctcctaactttgcc-3'	5'-ttgtgaagatcatgtcgg-3'	166
<i>ESD</i>	5'-cgtggctgcaatattaaagg-3'	5'-attggcatttatgagttggg-3'	150
<i>HOXD10</i>	5'-ctcctcaccaccaacatta-3'	5'-ctaaaatatccaggacggg-3'	156
<i>RACK1</i>	5'-aaacacctttacacgctaga-3'	5'-ttgctgctggtactgataac-3'	167
<i>RPL30</i>	5'-ctctaggctccaactcgta-3'	5'-gtgatggacaccagtttag-3'	175
<i>TK1</i>	5'-gtgcctggtgatcaagtatg-3'	5'-cgatgacaggaaaaactgc-3'	170
<i>APEX2</i>	5'-gtcatagacaccttcaggc-3'	5'-ctaggaagcgaaggatcttg-3'	175
<i>BUB1</i>	5'-gcttactgatagctgtacc-3'	5'-gagaattcccactactctgc-3'	251
<i>RIC8</i>	5'-tgtgtgatgatcgctactg-3'	5'-cgcttcttaggaagatgag-3'	188
<i>RPL37</i>	5'-ctaaggcctaccacctca-3'	5'-ttgggttaggtgtgttcc-3'	190
<i>SNX2</i>	5'-agagcagtaatacacaggc-3'	5'-ctatgacagaccaaggcttc-3'	197
<i>GAPDH</i>	5'-gtgaaccatgagaagtatgacaac-3'	5'-catgagtcctccacgatacc-3'	325
<i>18S rRNA</i>	5'-gcgctgaccccttcgc-3'	5'-ctccccgggtcgggagtg-3'	123

РЕЗУЛЬТАТЫ

Включение мутантной формы белка uL15, неспособной к гидроксилированию, в рибосомы снижает трансляционную активность в клетках HEK293T

Клетки HEK293T трансфицировали плазмидной конструкцией, кодирующей рибосомный белок uL15 с 3×FLAG-тэгом на С-конце с заменой His39Ala (mut-uL15 3×FLAG). В качестве контроля использовали клетки HEK293T, трансфицированные плазмидной конструкцией, кодирующей рибосомный белок uL15 дикого типа с 3×FLAG-тэгом на С-конце (wt-uL15 3×FLAG). Эксперимент проводился в трёх биологических повторах. Через 48 часов после инкубирования клетки были сняты с чашек Петри. Анализ лизатов клеток показал наличие как эндогенного белка uL15, как и экзогенного (рис. 3).

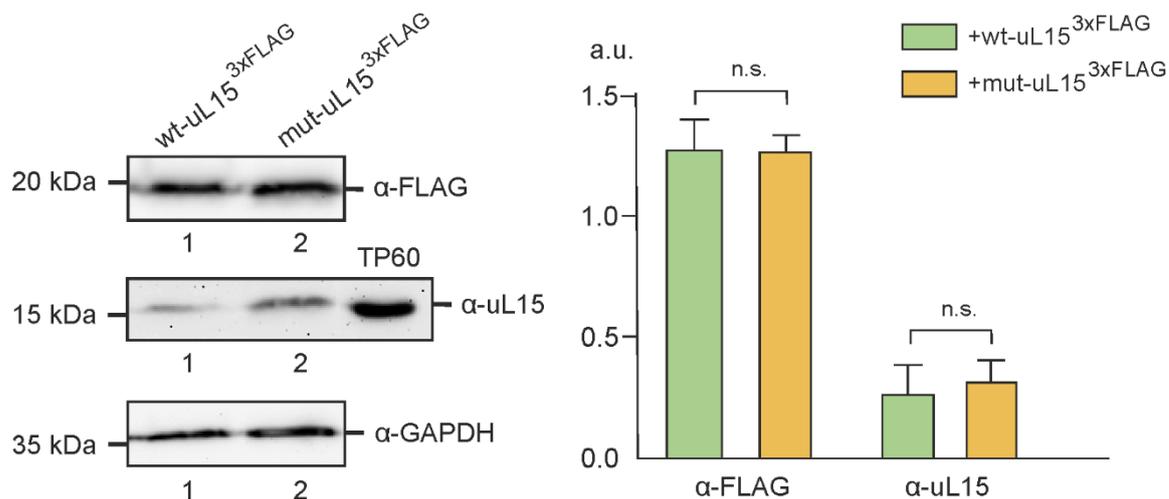


Рисунок 3. Нарботка экзогенного 3×FLAG-меченного рибосомного белка uL15 дикого типа (wt-uL15^{3×FLAG}) и с заменой His39Ala (mut-uL15^{3×FLAG}) в клетках HEK293T. Слева представлен Вестерн-блот анализ содержания экзогенного 3×FLAG-меченного uL15, эндогенного uL15 и GAPDH в качестве контроля в лизатах клеток HEK293T, продуцирующих экзогенный 3×FLAG-меченный рибосомный белок uL15 дикого типа (wt-uL15^{3×FLAG}) (1) и с заменой His39Ala (mut-uL15^{3×FLAG}) (2). Антитела к эндогенному uL15 не взаимодействовали с экзогенным белком из-за стерических затруднений, вызванных наличием 3×FLAG тэга у экзогенного белка. TP60 – суммарный белок 60S большой рибосомной субъединицы – использовался в качестве контроля для эндогенного uL15. Справа представлены графики обсчёта данных Вестерн-блот анализа в трёх биологических повторах в виде среднего ± SEM. Стоит отметить, что уровень

экзогенного белка uL15 и эндогенного uL15 не различался между клетками, трансфицированными плазмидой, кодирующей белок uL15 дикого типа, и трансфицированными плазмидой, кодирующей мутантный uL15.

Клеточные лизаты трансфицированных клеток центрифугировали в градиенте концентрации сахарозы 5–50%, затем фракционировали через проточную кювету микроспектрофотометра и собирали фракции, содержащие рибосомные субчастицы, 80S моносомы и полисомы. Белки, содержащиеся в собранных фракциях, выделяли, разделяли в SDS-PAGE и анализировали. При помощи Вестерн-блота показали включение как мутантного экзогенного белка uL15, так и белка дикого типа в рибосомы: оба белка присутствовали во фракциях полисом, 80S рибосом и 60S субчастиц (рис. 4). Наличие экзогенного uL15 с мутацией и дикого типа во фракциях полисом говорит о том, что рибосомы с таким белком сохраняют свои функции и участвуют в трансляции. Однако следует отметить, что соотношение пиков градиента полисомы/моносомы (P/M) в полисомных профилях рибосом с мутантной формой белка было значительно ниже, чем в профилях рибосом с белком дикого типа. Это может указывать на то, что отсутствие гидроксирования uL15 снижает эффективность трансляции. Это согласуется с ранними данными [12] и указывает на важность гидроксирования uL15 для правильного функционирования рибосомы.

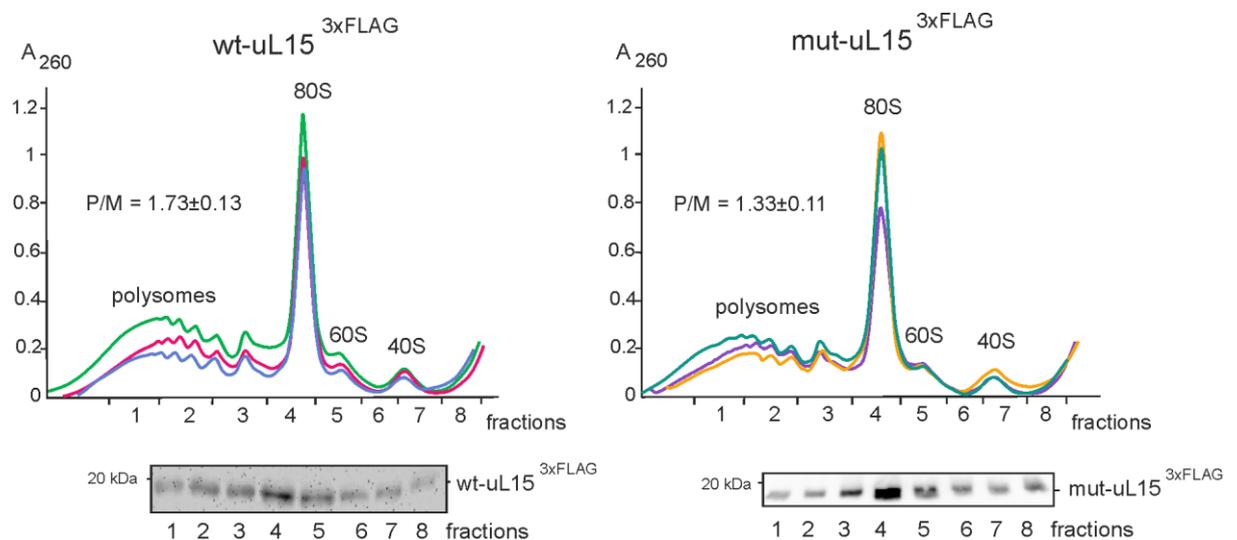


Рисунок 4. Полисомные профили, полученные из лизатов клеток НЕК293Т, продуцирующих uL15 дикого типа (вверху слева) и мутантный uL15 (вверху справа), в трёх биологических повторах (каждый повтор обозначен своим цветом). На профиле обозначены пики, соответствующие полисомам, 80S рибосомам, 60S и 40S рибосомным

субъединицам, и соотношение пиков полисом и моносом (P/M). Под профилями расположен Вестерн-блот анализ содержания экзогенного белка uL15 в каждой фракции полисомных градиентов.

Высокопроизводительное секвенирование клеточной мРНК и мРНК, связанной с полисомами, из клеток, продуцирующих мутантный uL15 или uL15 дикого типа.

Для выявления изменений на уровне транскриптома и транслятома в клетке при отсутствии гидроксирования белка uL15 провели высокопроизводительное секвенирование общей мРНК и мРНК, связанной с полисомами. Оценка первичных данных секвенирования РНК с помощью анализа главных компонент (PCA) продемонстрировала удовлетворительную степень кластеризации между биологическими повторами (рис. 5), что означает, что полученные данные можно использовать для последующего анализа.

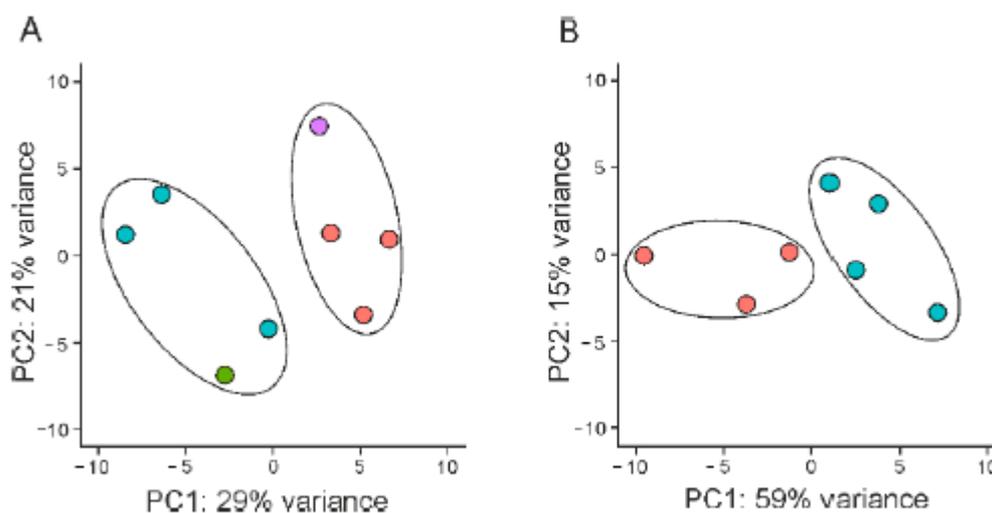


Рисунок 5. Анализ главных компонент (PCA) результатов секвенирования РНК: общей клеточной РНК (А) и РНК, связанной с полисомами (В).

Анализ полученных данных RNA-seq проводили при помощи пакета DESeq2. Для определения статистически значимых дифференциально экспрессируемых генов (DEG) на уровне транскриптома (tDEG, общеклеточные мРНК) и транслятома (pDEG, мРНК, ассоциированные с полисомами) в клетках, продуцирующих белок uL15 дикого типа или его мутантную форму, были использованы следующие пороговые значения: $p \text{ adj} < 0,05$, $|LFC| > 0,322$, $\text{base mean} > 100$. Набор tDEG включал 133 гена с повышенной

экспрессией и 122 гена с пониженной экспрессией. Набор pDEG содержал 229 генов с повышенной экспрессией и 89 генов с пониженной экспрессией. Для валидации результатов высокопроизводительного секвенирования была проведена ПЦР в режиме реального времени для репрезентативной выборки генов. Значения, полученные при помощи ПЦР в режиме реального времени, хорошо коррелировали с данными RNA-seq (рис. 6), что указывает на достоверность результатов секвенирования.

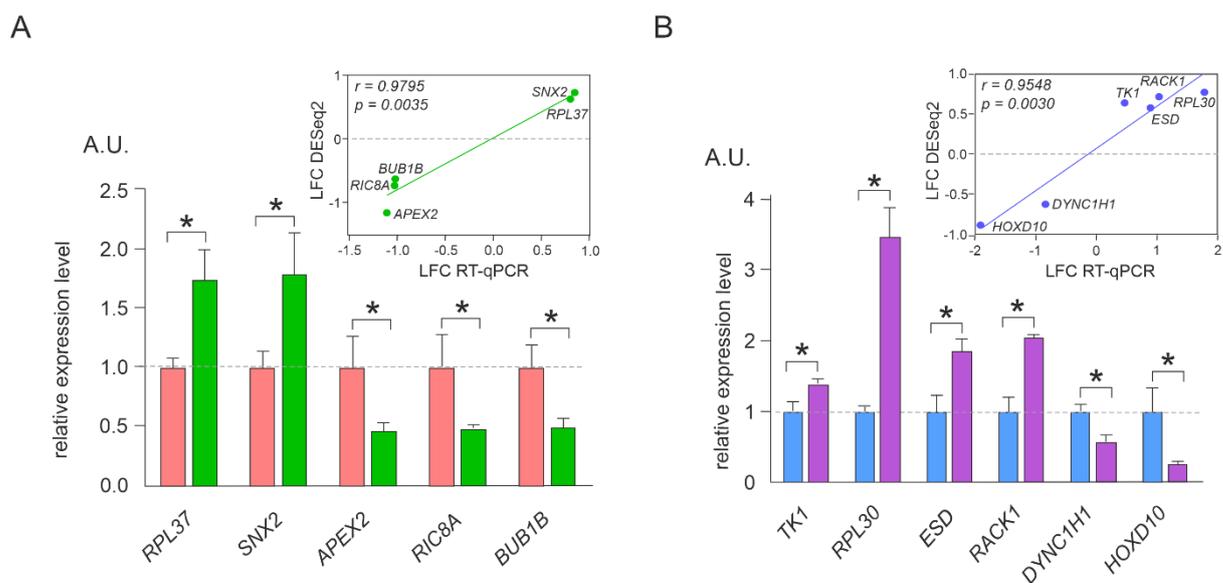


Рисунок 6. Валидация данных высокопроизводительного секвенирования клеток НЕК293Т, продуцирующих uL15 дикого типа или с заменой His39Ala, при помощи ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR). Данные относительного уровня экспрессии репрезентативных генов, изменяющих свою экспрессию на уровне транскриптома (А) или транслятома (В), представлены как среднее \pm SEM произвольных единиц (A.U.) для трёх биологических повторов (* $p < 0,05$, критерий Манна–Уитни). Зелеными (А) и фиолетовыми (В) столбцами обозначен относительный уровень экспрессии генов в клетках, продуцирующих мутантный uL15; розовыми (А) и синими (В) столбцами обозначен относительный уровень экспрессии генов в клетках, продуцирующих uL15 дикого типа, значение которого принимается за 1. Корреляция между данными RT-qPCR и данными секвенирования РНК показана в правом верхнем углу каждого графика.

Интересно отметить, что в наборах генов с повышенным уровнем экспрессии на уровне как транслятома, так и транскриптома значительная часть содержала гены рибосомных белков: 28 генов и 53 гена соответственно (например, *RPS29*, *RPL10*, *RPL30*,

RPS21, RPL9, RPL39, RPL18, RPS13, RPL23A, RPS25, RPS19). Кроме того, в этих наборах часть генов составляла гены белков дыхательной цепи: 8 и 7 генов соответственно (например, гены *NDUFA1, NDUFA3, NDUFA4, ATP5F1E, NDUFS5, NDUFS7, NDUFB7, NDUFB9, ATP5ME, COX7C*). Также стоит отметить, что наборы генов с повышенной экспрессии на уровне транскриптома и транслятома перекрывались по 31 гену, а в случае генов с пониженной экспрессией общий ген в наборах был всего лишь один (рис 7). То есть часть генов изменяет свою экспрессию на уровне транскрипции, но на уровень трансляции эти изменения не передаются, а у части генов уровень транскрипции не изменяется, но трансляция их мРНК меняет свою интенсивность. Большинство генов с повышенной экспрессией и на уровне транскрипции, и на уровне трансляции – это гены рибосомных белков (23 гена из 31 общих для наборов tDEG и pDEG генов). Таким образом, введение в состав рибосомы белка uL15 без гидроксильной группы на остатке His39 приводит к значительным изменениям в транскриптоме и транслятоме, при этом эти изменения друг с другом плохо коррелируют, из чего можно сделать предположение, что изменение состава транслируемых мРНК происходит во многом независимо от изменения структуры транскриптома.

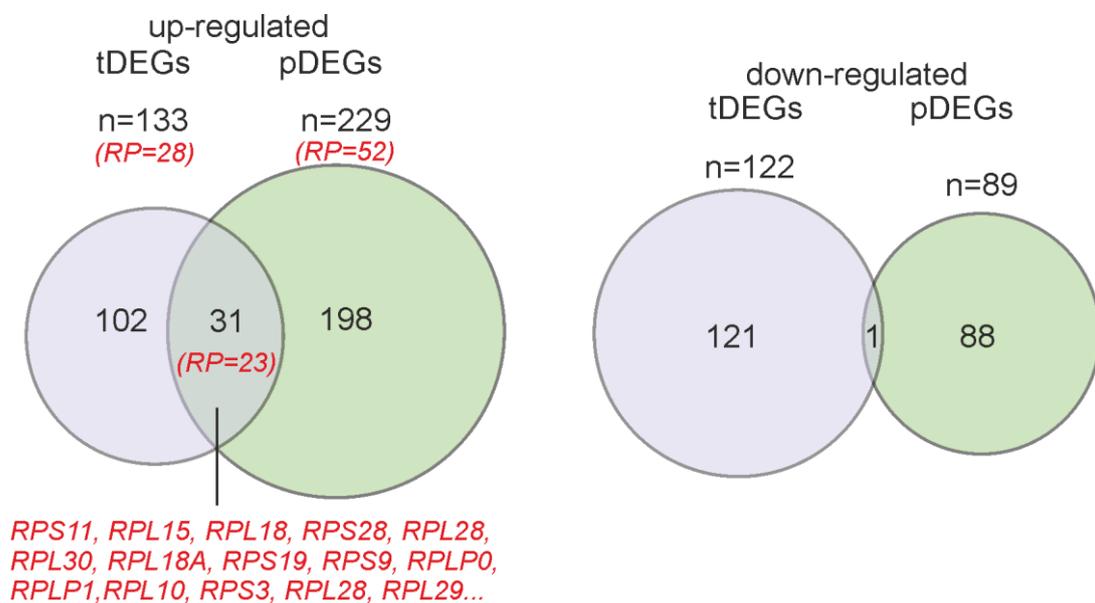


Рисунок 7. Диаграммы Венна, иллюстрирующие данные по дифференциально экспрессируемым генам. Слева данные для генов, увеличивших свою экспрессию на уровне транскриптома и транслятома, справа – для генов с пониженной экспрессией. Перекрытие диаграмм показывает наличие общих генов как для транскриптома, так и для транслятома. Гены рибосомных белков отмечены красным цветом.

Для выявления закономерностей в структуре мРНК дифференциально экспрессируемых генов были проанализированы их распространённость, длина, процентное содержание GC-пар, длина кодирующей части и её GC-состав. Распространённость оценивалась по параметру baseMean, полученного при секвенировании РНК. Была отмечена следующая закономерность: распространённость мРНК генов с повышенной экспрессией была в среднем выше, чем распространённость мРНК генов с пониженной экспрессией и мРНК всех генов, а средняя распространённость мРНК генов с пониженной экспрессией была меньше, чем таковая для мРНК всех генов.

При сравнении общей длины мРНК и длины кодирующей части для генов, изменяющих свою экспрессию на уровне транскриптома или транслятома, было выявлено следующее: средняя длина мРНК генов с повышенной экспрессией как на уровне транскриптома, так и на уровне транслятома была статистически значимо меньше, чем средняя длина мРНК генов с пониженной экспрессией на уровне транскриптома или транслятома и средняя длина мРНК, посчитанная для всех генов (т.е. в том числе и для генов, экспрессия которых не изменилась); такая же закономерность была обнаружена при сравнении длин кодирующих частей мРНК генов с изменённой экспрессией на уровне транскриптома или на уровне транслятома (рис. 8). Кроме того, средняя длина мРНК и кодирующей части генов с пониженной экспрессией была статистически больше, чем средняя длина мРНК и кодирующей части генов с повышенной экспрессией. Также сравнивали процентное содержание GC-пар, однако никаких значимых различий между группами выявлено не было (данные не предоставлены).

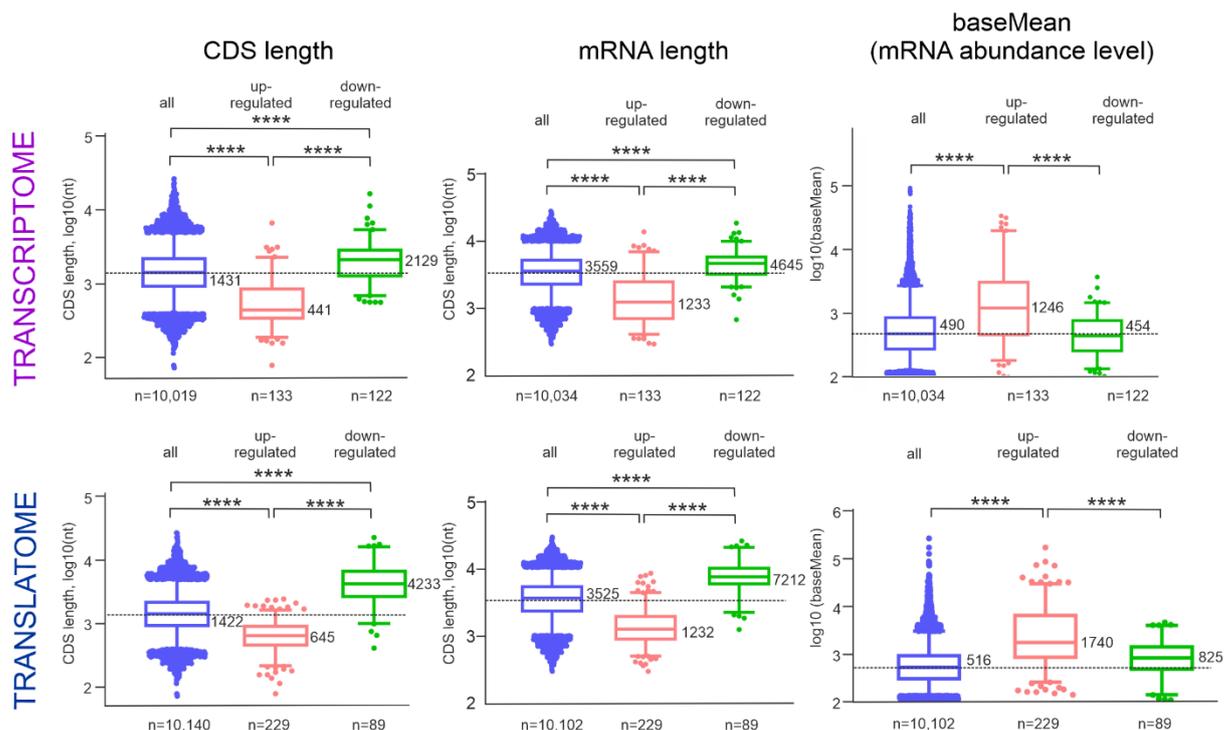


Рисунок 8. Длина и распространённость мРНК генов, дифференциально изменяющих свою экспрессию в транскриптоме и транслятоме клеток с мутантным белком uL15. По вертикали представлены данные для длины CDS, мРНК и распространённости мРНК, по горизонтали – данные для транскриптома и транслятома. Каждый график представляет три диаграммы типа «ящик с усами», показывающие распределение данных по длине CDS, мРНК и распространённости мРНК для генов с повышенной экспрессией (обозначены розовым), пониженной экспрессией (зелёным) и для всех секвенированных генов (синим). Внизу каждого графика указано количество генов каждой категории. На каждой диаграмме отмечены первый квартиль, медиана и третий квартиль, «усы» показывают диапазон 5-95%, точками обозначены значения, выходящие за эти пределы, **** $p < 0,0001$.

Можно предположить, что причина таких значительных изменений в составе транскрибируемых генов и транслируемых мРНК происходят из-за различной активности рибосом с мутантным uL15 по сравнению рибосомами, в состав которых входит белок дикого типа. Как упоминалось ранее, остаток His39 белка uL15 расположен недалеко от E-сайта рибосомы и участвует в поддержании структурного окружения 3'-конца тРНК, связанной с E-сайтом (рис. 2). Кроме того, рассматриваемый участок рибосомы также содержит сайт посадки ингибитора трансляции циклогексимида [22,23], который связывается вблизи участка 3'-конца тРНК, находящегося в E-участке рибосомы, в

кармане, образованном при участии 28S рРНК и белков uL15 и eL42, что приводит к блокированию трансляции [9,24]. Таким образом, правильная структурная организация участка рибосомы, соседнего с остатком His39 в uL15, чрезвычайно важна для эффективной элонгации трансляции. Следовательно, можно предположить, что мутация His39Ala нарушает структуру области E-сайта и тем самым влияет на стадию элонгации трансляции, так что рибосомы с мутацией uL15 транслируют мРНК медленнее, чем рибосомы с белком дикого типа. Можно предположить, что в случае, когда в клетке имеются два типа рибосом – с гидроксильным белком uL15 и с его негидроксильной мутантной формой, которые отличаются друг от друга по скорости трансляции мРНК, – могут возникнуть нарушения элонгации трансляции в виде столкновений рибосом на мРНК при трансляции. На длинных мРНК, которые транслируются большим количеством рибосом одновременно, частота таких нарушений должна быть выше, чем на коротких мРНК, что может объяснить изменения в трансляции в пользу более коротких и более распространённых мРНК в клетках, трансфицированных конструкцией, кодирующей мутантный uL15. Кроме того, следует учитывать, что изменения в транскрипте и трансляте могут запускать ответную реакцию в клетке. По-видимому, неспособность мутантного uL15 к гидроксильному модифицированию может восприниматься как сигнал недостатка кислорода, что вызывает усиление экспрессии части генов, чьи продукты участвуют в процессах аэробного дыхания и дыхательной цепи переноса электронов. Хотя мРНК этих генов не так широко представлены в клетке, как мРНК рибосомальных белков, они тем не менее достаточно коротки (длина их CDS в среднем составляет около 300 нуклеотидов), чтобы также получить преимущество при трансляции в присутствии рибосом с негидроксильными uL15.

ВЫВОДЫ

Выявлены закономерности в изменениях транскриптома и транслятома клеток НЕК293Т при замене остатка His39, который подвергается гидроксилированию, в рибосомном белке uL15 на остаток аланина, неспособного нести такую посттрансляционную модификацию.

Показано, что:

1. В клетках, продуцирующих мутантную форму белка uL15, в целом снижается эффективность трансляции.
2. В клетках с мутантной формой белка uL15 выявлены наборы генов с изменяющейся экспрессией на уровне транскриптома и/или транслятома, при этом наборы этих генов практически не перекрываются.
3. Преимущество в трансляции в клетках, содержащих рибосомы с мутантной формой белка uL15, получают более короткие и более распространённые мРНК, тогда как более длинные и редкие мРНК транслируются менее эффективно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Graifer D., Karpova G. Roles of ribosomal proteins in the functioning of translational machinery of eukaryotes // *Biochimie*. Elsevier, 2015. Vol. 109. P. 1–17.
2. Baßler J., Hurt E. Eukaryotic ribosome assembly // *Annual review of biochemistry*. Annual Reviews, 2019. Vol. 88, № 1. P. 281–306.
3. Odintsova T.I. et al. Characterization and Analysis of Posttranslational Modifications of the Human Large Cytoplasmic Ribosomal Subunit Proteins by Mass Spectrometry and Edman Sequencing // *J Protein Chem*. 2003. Vol. 22, № 3. P. 249–258.
4. Vladimirov S.N. et al. Characterization of the Human Small-Ribosomal-Subunit Proteins by N-Terminal and Internal Sequencing, and Mass Spectrometry // *European Journal of Biochemistry*. 1996. Vol. 239, № 1. P. 144–149.
5. Ge W. et al. Oxygenase-catalyzed ribosome hydroxylation occurs in prokaryotes and humans // *Nature chemical biology*. Nature Publishing Group US New York, 2012. Vol. 8, № 12. P. 960–962.
6. Singleton R.S. et al. OGFOD1 catalyzes prolyl hydroxylation of RPS23 and is involved in translation control and stress granule formation // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. National Acad Sciences, 2014. Vol. 111, № 11. P. 4031–4036.
7. Yanshina D.D. et al. Hydroxylated histidine of human ribosomal protein uL2 is involved in maintaining the local structure of 28S rRNA in the ribosomal peptidyl transferase center // *The FEBS Journal*. 2015. Vol. 282, № 8. P. 1554–1566.
8. Chowdhury R. et al. Ribosomal oxygenases are structurally conserved from prokaryotes to humans // *Nature*. Nature Publishing Group UK London, 2014. Vol. 510, № 7505. P. 422–426.
9. Shen L. et al. Structure of the translating *Neurospora* ribosome arrested by cycloheximide // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. National Acad Sciences, 2021. Vol. 118, № 48. P. e2111862118.
10. Loenarz C. et al. Hydroxylation of the eukaryotic ribosomal decoding center affects translational accuracy // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2014. Vol. 111, № 11. P. 4019–4024.

11. Natchiar S.K. et al. Visualization of chemical modifications in the human 80S ribosome structure // *Nature*. Nature Publishing Group UK London, 2017. Vol. 551, № 7681. P. 472–477.
12. Yanshina D.D. et al. Replacement of hydroxylated His39 in ribosomal protein uL15 with Ala or Thr impairs the translational activity of human ribosomes // *Molecular Biology*. Springer, 2020. Vol. 54. P. 449–457.
13. DeLano W.L. *The PyMOL Molecular Graphics System* (DeLano Scientific, Palo Alto, CA). 2002.
14. Zhao W. et al. Ribosome proteins represented by RPL27A mark the development and metastasis of triple-negative breast cancer in mouse and human // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. Frontiers Media SA, 2021. Vol. 9. P. 716730.
15. Alkhatabi H.A. et al. RPL27A is a target of miR-595 and may contribute to the myelodysplastic phenotype through ribosomal dysgenesis // *Oncotarget*. Impact Journals, LLC, 2016. Vol. 7, № 30. P. 47875.
16. Joseph J.P. et al. Hypoxia induced EMT: A review on the mechanism of tumor progression and metastasis in OSCC // *Oral oncology*. Elsevier, 2018. Vol. 80. P. 23–32.
17. Mennerich D., Kubaichuk K., Kietzmann T. DUBs, hypoxia, and cancer // *Trends in cancer*. Elsevier, 2019. Vol. 5, № 10. P. 632–653.
18. Xuan F. et al. MINA53 deficiency leads to glioblastoma cell apoptosis via inducing DNA replication stress and diminishing DNA damage response // *Cell death & disease*. Nature Publishing Group UK London, 2018. Vol. 9, № 11. P. 1062.
19. Aziz N. et al. Molecular signatures of JMJD10/MINA53 in gastric cancer // *Cancers*. MDPI, 2020. Vol. 12, № 5. P. 1141.
20. Степин В.С. *Философия науки. Общие проблемы*. 2006.
21. Babaylova E.S. et al. Deficiency of the ribosomal protein uL5 leads to significant rearrangements of the transcriptional and translational landscapes in mammalian cells // *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI, 2021. Vol. 22, № 24. P. 13485.

22. Baliga B.S., Pronczuk A.W., Munro H.N. Mechanism of cycloheximide inhibition of protein synthesis in a cell-free system prepared from rat liver // *Journal of Biological Chemistry*. ASBMB, 1969. Vol. 244, № 16. P. 4480–4489.
23. Schneider-Poetsch T. et al. Inhibition of eukaryotic translation elongation by cycloheximide and lactimidomycin // *Nature chemical biology*. Nature Publishing Group, 2010. Vol. 6, № 3. P. 209–217.
24. Myasnikov A.G. et al. Structure–function insights reveal the human ribosome as a cancer target for antibiotics // *Nature Communications*. Nature Publishing Group UK London, 2016. Vol. 7, № 1. P. 12856.



Отчет о проверке

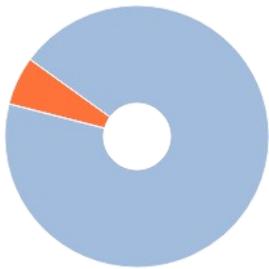
Автор: Золотенкова Елизавета Алексеевна

Проверяющий: Мирошниченко Светлана Константиновна

Название документа: Научный доклад Золотенковой Е.А_wr

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ

Тариф: FULL



Совпадения:
5,74%



Оригинальность:
94,26%



Цитирования:
0%



Самоцитирования:
0%



«Совпадения», «Цитирования», «Самоцитирования», «Оригинальность» являются отдельными показателями, отображаются в процентах и в сумме дают 100%, что соответствует проверенному тексту документа.

- Совпадения** — фрагменты проверяемого текста, полностью или частично сходные с найденными источниками, за исключением фрагментов, которые система отнесла к цитированию или самоцитированию. Показатель «Совпадения» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к совпадениям, в общем объеме текста.
- Самоцитирования** — фрагменты проверяемого текста, совпадающие или почти совпадающие с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа. Показатель «Самоцитирования» — это доля фрагментов текста, отнесенных к самоцитированию, в общем объеме текста.
- Цитирования** — фрагменты проверяемого текста, которые не являются авторскими, но которые система отнесла к корректно оформленным. К цитированиям относятся также шаблонные фразы; библиография; фрагменты текста, найденные модулем поиска «СПС Гарант: нормативно-правовая документация». Показатель «Цитирования» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к цитированию, в общем объеме текста.
- 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.
- Оригинальный текст** — фрагменты проверяемого текста, не обнаруженные ни в одном источнике и не отмеченные ни одним из модулей поиска. Показатель «Оригинальность» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к оригинальному тексту, в общем объеме текста.

Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые совпадения проверяемого документа с проиндексированными в системе источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности совпадений или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

Номер документа: 20

Тип документа: Не указано

Дата проверки: 10.09.2024 07:27:01

Дата корректировки: 10.09.2024 07:35:26

Количество страниц: 22

Символов в тексте: 33321

Слов в тексте: 4456

Число предложений: 375

Комментарий: не указано

ПАРАМЕТРЫ ПРОВЕРКИ

Выполнена проверка с учетом редактирования: Да

Выполнено распознавание текста (OCR): Да

Выполнена проверка с учетом структуры: Нет

Модули поиска: СПС ГАРАНТ: аналитика, Диссертации НББ, Библиография, Цитирование, Шаблонные фразы, IEEE, Публикации РГБ, Кольцо вузов, Переводные заимствования (RuEn), Перефразирования по Интернету, ИПС Адилет, Патенты СССР, РФ, СНГ, Переводные заимствования по Интернету (EnRu), Коллекция НБУ, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Перефразирования по Интернету (EN), Кольцо вузов (переводы и перефразирования), Переводные заимствования по Интернету (KyRu), Переводные заимствования*, СМИ России и СНГ, Переводные заимствования (KuEn), Переводные заимствования (KkEn), Переводные заимствования по Интернету (KkRu), СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация, Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика, Сводная коллекция ЭБС, Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Публикации eLIBRARY, Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика, Переводные заимствования IEEE, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, Публикации РГБ (переводы и перефразирования), Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования), Медицина, Перефразирования по коллекции IEEE, Интернет Плюс*, Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте

🚫 Модули, недоступные в рамках тарифа: Интернет Free

ИСТОЧНИКИ

№	Доля в тексте	Доля в отчете	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Комментарий
[01]	5,45%	0%	Замена гидроксированного ос... http://elibrary.ru	09 Апр 2020	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[02]	3%	0%	Диплом Колобова 2020 без лит-ры	02 Июн 2020	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[03]	2,52%	0%	Функционирование рибосомног... http://elibrary.ru	31 Авг 2006	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[04]	1,91%	0%	Лябин, Дмитрий Николаевич Рег... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2022	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[05]	1,73%	0%	Диплом_Денисов_на_антиплагиат	24 Мая 2024	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[06]	1,66%	1,66%	Диплом_Клещев	20 Мая 2024	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	
[07]	1,63%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	06 Июн 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[08]	1,59%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[09]	1,42%	0%	не указано	13 Янв 2022	Шаблонные фразы	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[10]	1,38%	0%	Смирнова, Виктория Владимиро... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2022	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[11]	1,31%	0%	Фролов, Алексей Витальевич Мо... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2023	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[12]	1,31%	1,31%	Диплом Семичёва ДИ	20 Мая 2024	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	
[13]	1,26%	0%	https://scardio.ru/content/activitie... https://scardio.ru	15 Мар 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[14]	1,24%	0%	https://omsk-osma.ru/files/699/Fr... https://omsk-osma.ru	22 Июл 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[15]	1,24%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[16]	1,18%	0%	malygin_dissert.pdf http://niboch.nsc.ru	23 Мая 2021	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[17]	1,15%	0%	https://mdpi-res.com/d_attachme... https://mdpi-res.com	26 Янв 2023	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[18]	1,13%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	16 Фев 2024	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.

[19]	1,11%	1,11%	malygin_autoref.pdf http://niboch.nsc.ru	30 Сен 2023	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	
[20]	1,08%	0%	Одаренко-диплом	09 Июн 2020	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[21]	1,08%	0%	Смирнова, Виктория Владимиро... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2022	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[22]	1,02%	0%	Диплом_Ещенко_ап	26 Мая 2021	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[23]	1,02%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[24]	0,97%	0%	Голышев, Виктор Михайлович Ра... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2021	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[25]	0,93%	0%	https://openbio.ru/openbio_tezis_... https://openbio.ru	13 Янв 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[26]	0,9%	0,9%	Изучение РНК-связывающих сво...	26 Сен 2023	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	
[27]	0,86%	0%	https://oncogenetic.org/wp-conte... https://oncogenetic.org	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[28]	0,85%	0%	Биохимия. 2017. Т. 82, вып. 4 http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[29]	0,85%	0%	Т. 2 part#1 http://emil.ru	08 Июл 2017	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[30]	0,85%	0%	https://rsmu.ru/fileadmin/templat... https://rsmu.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[31]	0,82%	0%	Терехов, Станислав Сергеевич У... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2016	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[32]	0,82%	0%	Ген энхансина - одна из генетич... https://vital.lib.tsu.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[33]	0,81%	0%	Давыдова, Анна Сергеевна Новы... http://dlib.rsl.ru	21 Сен 2021	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[34]	0,81%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	16 Фев 2024	Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[35]	0,76%	0,76%	Конформационные изменения р... http://elibrary.ru	27 Авг 2014	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	
[36]	0,74%	0%	Тикунов с соавт текст	13 Мая 2020	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[37]	0,72%	0%	https://frcftm.ru/wp-content/uplo... https://frcftm.ru	28 Янв 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[38]	0,72%	0%	https://frcftm.ru/wp-content/uplo... https://frcftm.ru	29 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[39]	0,7%	0%	СТРазы прокариотического аппа... http://elibrary.ru	27 Авг 2014	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Документ не является парафразом источника.
[40]	0,68%	0%	Дипломная работа Демьяненко ...	11 Янв 2024	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	
[41]	0,68%	0%	Молекулярная биология. Т. 54, Н... https://sciencejournals.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[42]	0,66%	0%	Почти восемь тысяч исследован... http://nsktv.ru	22 Мая 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[43]	0,61%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	11 Фев 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[44]	0,59%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	16 Фев 2024	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[45]	0,57%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	16 Июл 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[46]	0,57%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	15 Мая 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[47]	0,49%	0%	Соколова, Елизавета Евгеньевна ... http://dlib.rsl.ru	12 Янв 2021	Публикации РГБ (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[48]	0,47%	0%	не указано http://ivo.garant.ru	03 Авг 2022	СПС ГАРАНТ: аналитика	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[49]	0,47%	0%	не указано http://ivo.garant.ru	04 Авг 2022	СПС ГАРАНТ: аналитика	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[50]	0,47%	0%	Модели, методика и средства ра... http://dep.nlb.by	06 Дек 2018	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[51]	0,47%	0%	Экраны электромагнитного излу... http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[52]	0,47%	0%	Interpretation of radioimpedance ... https://ieeexplore.ieee.org	04 Ноя 2013	IEEE	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[53]	0,47%	0%	NYmnik_68112. Милахина Елена ... http://umnik.fasie.ru	31 Окт 2020	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[54]	0,47%	0%	NYmnik_74803. Милахина Елена ... http://umnik.fasie.ru	28 Ноя 2020	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[55]	0,47%	0%	NYmnik_35098. Шедько Елизавет... http://umnik.fasie.ru	06 Мая 2017	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[56]	0,47%	0%	Джаксыбаев Арыстан.16-111	08 Июн 2023	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[57]	0,47%	0%	Способ очистки вируса осповакц... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[58]	0,47%	0%	Алкилирующие фторированные ... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[59]	0,47%	0%	Средство для нейтрализации ви... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[60]	0,47%	0%	Способ получения наноразмерн... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[61]	0,47%	0%	Технология микроволнового обе... http://diss.natlib.uz	23 Июл 2021	Коллекция НБУ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[62]	0,47%	0%	Исследование интеллектуализац... http://diss.natlib.uz	07 Сен 2021	Коллекция НБУ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[63]	0,47%	0%	Три бердских предприятия назв... http://berdsk.bezformata.ru	07 Апр 2014	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[64]	0,47%	0%	БЭМЗ, Нотис и Продсиб из Бердс... http://berdsk.bezformata.ru	07 Апр 2014	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[65]	0,47%	0%	Учёные степени — без Высшей ... http://cheboksari.yodda.ru	29 Дек 2018	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[66]	0,47%	0%	Искитимцемент стал надежным ... http://vesiskitim.ru	05 Апр 2014	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[67]	0,47%	0%	Постановление Правительства Н... http://ivo.garant.ru	08 Ноя 2014	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[68]	0,47%	0%	Постановление Правительства Н... http://ivo.garant.ru	28 Дек 2015	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[69]	0,47%	0%	Постановление Правительства Н... http://ivo.garant.ru	27 Июл 2015	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[70]	0,47%	0%	Постановление Правительства Н... http://ivo.garant.ru	15 Окт 2014	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[71]	0,47%	0%	Формирование подходов к оценк... https://book.ru	01 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[72]	0,47%	0%	ТЕХНОЛОГИИ РАСПРЕДЕЛЕННОГ... http://elibrary.ru	01 Янв 2012	Публикации eLIBRARY	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[73]	0,47%	0%	ВЕРТИКАЛЬНЫЕ ПЕРЕЛОМЫ ТВЕ... http://elibrary.ru	01 Янв 2013	Публикации eLIBRARY	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[74]	0,47%	0%	Теоретические основы новых на... http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[75]	0,47%	0%	https://www.eimb.ru/ru1/zashita/... https://eimb.ru	28 Июн 2024	Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[76]	0,45%	0%	ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ...	12 Июл 2022	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[77]	0,4%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/... http://niboch.nsc.ru	19 Авг 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[78]	0,38%	0%	Журнал высшей нервной деятел... http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[79]	0,35%	0%	Международные стандарты леч... http://ria-ami.ru	28 Дек 2018	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[80]	0,35%	0%	233720 http://e.lanbook.com	10 Мар 2016	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[81]	0,35%	0%	Вестник гематологии. Том IX. № ... http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[82]	0,35%	0%	Всероссийская научно-практиче... http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[83]	0,32%	0%	ЧАСТОТА НОСИТЕЛЬСТВА КЛИН... https://e.lanbook.com	22 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[84]	0,32%	0%	Бокавирусная инфекция у детей ... http://elibrary.ru	01 Янв 2017	Публикации eLIBRARY	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[85]	0,32%	0%	Материалы VII Съезда Российско... http://elibrary.ru	28 Ноя 2015	Публикации eLIBRARY	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[86]	0,32%	0%	Норавшан ва стохастик ахборот ... http://diss.natlib.uz	03 Авг 2018	Коллекция НБУ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[87]	0,3%	0%	https://istina.msu.ru/download/41... https://istina.msu.ru	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[88]	0,29%	0%	https://mdpi-res.com/d_attachme... https://mdpi-res.com	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[89]	0,28%	0%	(исправленный) Диплом Настя С...	05 Июн 2022	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[90]	0,26%	0%	Определение уровня экспресси... http://dep.nlb.by	20 Дек 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[91]	0,26%	0%	Диагностическое значение вари... http://emil.ru	21 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[92]	0,23%	0%	Черенков, Александр Александр... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2018	Публикации РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[93]	0,23%	0%	http://www.postgenome.org/files/... http://postgenome.org	25 Апр 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[94]	0,23%	0%	https://openbio.ru/openbio_tezis_... https://openbio.ru	07 Апр 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[95]	0,23%	0%	http://rusbiochem.org/files/uploa... http://rusbiochem.org	30 Сен 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[96]	0,23%	0%	http://piboc.dvo.ru/conf/gbm2023... http://piboc.dvo.ru	10 Апр 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[97]	0,23%	0%	http://www.spsl.nsc.ru/FullText/ko... http://spsl.nsc.ru	29 Мая 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[98]	0,23%	0%	http://rusbiochem.org/files/uploa... http://rusbiochem.org	23 Окт 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[99]	0,21%	0%	https://www.mgpu.ru/wp-content/... https://mgpu.ru	27 Июн 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[100]	0,2%	0%	https://forum-onco.ru/upload/Doc... https://forum-onco.ru	28 Фев 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[101]	0,19%	0%	Small-molecule inhibition of the i... https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov	10 Сен 2024	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

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

Отчёт о проверке текста научно-квалификационной работы на
объём заимствования

Золотенкова Елизавета Алексеевна

«Выявление роли специфического гидроксирования рибосомного белка
uL15 человека в регуляции экспрессии генов»

Оригинальность работы составляет 94.26%, что соответствует требованиям
порядка и условиям допуска научно-квалификационных работ к защите на
заседании Итоговой аттестации в аспирантуре ИХБФМ СО РАН.

Проверку выполнила секретарь АК – к.б.н. С.К. Мирошниченко