

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

На правах рукописи

КРАВЧУК БОГДАНА ИВАНОВНА

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

об основных результатах выполненной
научно-квалификационной работы

**Исследование механизмов взаимодействия бактериофагов с отдельными
компонентами иммунной системы млекопитающих**

Направление подготовки

1.5.3. Молекулярная биология

Направленность

Аспирант _____ Кравчук Б.И.

Научный руководитель _____ д.б.н. Тикунова Н.В.

Новосибирск 2023

Работа выполнена в лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины, г. Новосибирск, Россия.

Научный руководитель: **Нина Викторовна Тикунова**, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины.

Общая характеристика работы

Актуальность исследования.

Резистентность бактериальных патогенов к антибиотикам представляет существенную угрозу для борьбы с инфекционными заболеваниями. Это стало особенно актуально в связи с пандемией коронавируса SARS-CoV-2, когда заболевания различной и смешанной этиологии могут служить триггером для ускорения формирования антибиотикорезистентных клинических штаммов[1]. Глобальная проблема множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) среди бактерий является причиной миллионов смертей каждый год[7].

Pseudomonas aeruginosa является одной из наиболее распространенных причин инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), и входит в тройку приоритетных патогенов, перечисленных Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ)[11]. Этот грамотрицательный возбудитель особенно трудно поддается эрадикации, поскольку он проявляет высокую врожденную и приобретенную устойчивость ко многим антибиотикам[2]. Кроме того, растущие опасения по поводу нехватки антибиотиков для лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa* с МЛУ и широкой лекарственной устойчивостью, требуют альтернативных методов лечения. Бактериофаги, или фаги, представляют собой вирусы, нацеленные на бактериальные клетки и заражающие их, и они представляют из себя перспективные кандидаты для борьбы с инфекциями, вызываемыми МЛУ[5; 9].

В поисках альтернативных стратегий профилактики и контроля бактериальной инфекции всё чаще обращают внимание на фаговую терапию[6]. Сторонники этого подхода выделяют несколько основных преимуществ, которые есть у фагов по сравнению с антибактериальными препаратами: специфичность, саморепликация, способность к разрушению микробных биопленок и низкая токсичность для человека[3]. Но фаготерапия не лишена недостатков, таких как узкая специфичность вируса, малоизученность взаимодействия организма и препарата, высокая трудозатратность в производстве. Также одной из важных проблем со стороны макроорганизма является иммунный ответ на введение фагов. Клиренс фагов системой врожденного иммунитета может влиять на эффективность терапии[4]. Поскольку фаги встречаются повсеместно и ежедневно, низкие титры

фагоспецифических антител можно часто встретить у пациентов, однако титры могут увеличиваться во время фаготерапии. Индукция врожденного иммунитета, а также активация адаптивной системы с результатом в виде выработки фаgoneйтрализующих антител, связана с ранним истощением пула фагов и последующим снижением их эффективности.

В научном сообществе существуют разные точки зрения на то, как могут повлиять преysуществующие антифаговые антитела на введение терапевтических фагов. Ряд исследователей описывает позитивное влияние преysуществующих антифаговых антител; ряд авторов регистрирует отсутствие всякого влияния; при этом некоторые исследователи полагают, что преysуществующие антитела могут нейтрализовать вводимые терапевтические бактериофаги, что будет препятствовать их антибактериальному воздействию, или даже полагают, что иммунный ответ на фаговые препараты может негативно воздействовать на организм пациента.

Цель исследования - оценить влияние бактериофагов PA136 и PM16, проявляющих литические свойства в отношении *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus mirabilis*, на гуморальный иммунитет модельных животных.

Бактериофаг PA136 обладает миовирусной морфологией, а бактериофаг PM16 – подовирусной морфологией. Ранее были получены штаммы, продуцирующие основной капсидный белок и белок хвостового цилиндра фага PM16. В связи с этим, для достижения данной цели были поставлены **следующие задачи**:

1. Конструирование плазмидных ДНК, кодирующих основной капсидный белок и белок хвостового цилиндра бактериофага PA136, получение штаммов *E. coli*, продуцирующих эти вирионные белки фага PA136.
2. Получение мышинных моноклональных антител против бактериофагов PA136 и PM16.
3. Исследование продукции антифаговых антител при введении бактериофагов PA136 и PM16 у лабораторных животных.
4. Оценка изменения цитокинового профиля макрофагов при коинкубации с фагом PA136 и фагом PM16.

Научная новизна и практическая значимость.

В рамках данной работы впервые были получены штаммы *E. coli*, продуцирующие основной капсидный белок и белок хвостового цилиндра

бактериофага PA136. Исследовано влияние бактериофагов PA136 и PM16, проявляющих литические свойства в отношении *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus mirabilis*, на гуморальный ответ модельных животных и показано наличие предрасполагающих антител в интактных животных.

Показана способность переключения класса IgM на класс IgG после введения бактериофага PA136. Однако, поскольку известно, что фаги класса Caudoviricetes несут иммуноглобулиноподобные домены, возможны и прямые лиганд-рецепторные взаимодействия между иммунными клетками и фагами, хотя они пока не показаны.

Данные, полученные в рамках проделанной работы, могут быть использованы при разработке эффективной фаговой терапии и при создании новых иммуносорбентов, необходимых для получения очищенных фаговых препаратов, используемых в фаготерапии.

Личный вклад автора.

Автором самостоятельно выполнены все генно-инженерные эксперименты, связанные с конструированием плазмидных ДНК, получением штаммов-продуцентов *E. coli*. Иммунизацию мышей бактериофагами проводили при участии к.б.н. Матвеева А.Л. и к.м.н. Чечушкова А.В. Нарботка и очистка антител, определение нуклеотидной последовательности моноклональных антител, исследование макрофагальной активности и цитокинового ответа сделаны лично автором.

Апробации.

По результатам работы опубликована статья в журнале Viruses (Scopus, Web of Science):

1. Chechushkov A, Kozlova Y, Baykov I, Morozova V, **Kravchuk B**, Ushakova T, Bardasheva A, Zelentsova E, Allaf LA, Tikunov A, Vlassov V, Tikunova N. Influence of Caudovirales Phages on Humoral Immunity in Mice. Viruses. 2021 Jun 26;13(7):1241. doi: 10.3390/v13071241. PMID: 34206836; PMCID: PMC8310086.

Также работа была представлена на конференции Open bio в 2020 году в виде тезисов:

2. Proteus bacteriophage augments specific and non-specific immunity against host bacterial pathogen. Chechushkov A.V., Al Allaf L., Kozlova Y.N., **Kravchuk B.I.**, Morozova V.V., Tikunova N.V. Febs Open Bio. 2021. P. 297. DOI: 10.1002/2211-5463.13205

Благодарности.

Автор благодарит сотрудников лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН за бесконечное терпение при работе.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Методы исследования

В работе применялись стандартные методы генной инженерии, включая работу с прокариотическими клетками, ДНК, белками, а также подходы к наработке моноклональных антител в мышах. Для исследования использовались методы ИФА, проточной цитофлуорометрии, qPCR.

Результаты и обсуждение

1. Клонирование основного капсидного белка и белка хвостового цилиндра бактериофага PA136.

Для создания плазмиды, кодирующей рекомбинантный белок капсида фага PA136, в качестве матрицы использовали ДНК, полученную в результате термического лизиса препарата фага PA136. В качестве вектора использовали плазмиду pET-32a(+), которая содержит TRX и 6His участки. С помощью полимеразной цепной реакции были амплифицированы ПЦР-фрагменты, кодирующие капсидные белки фага PA136 (NC_041904.1). Для этого были разработаны пары праймеров 136TS_55_BamHI_Pet32aU/136TS_55_EcoRI_Pet32aL и 136TS_55_BamHI_Pet32aU/136MC_54_EcoRI_Pet32aL, содержащие сайты узнавания эндонуклеазами рестрикции *Bam*HI и *Eco*RI (табл.1).

136TS_55_BamHI_Pet32aU	5' CCGTTGGATCCATGACTGTTCTTACTGATGTAATTGACATTCA 3'
136TS_55_EcoRI_Pet32aL	5' GGCTTGAATTCCCTACGGTCACAGTCCACGAATGTGTA 3'
136MC_53_BamHI_Pet32aU	5' CCGTTGGATCCATGGCTAACACTCGTTCCTACCTAAAC 3'
136MC_54_EcoRI_Pet32aL	5' GGCTTGAATTCCCCGCATTCACAGTGCCGCGA 3'

Таблица 1. Список олигонуклеотидов, используемых для амплификации фрагментов основного капсидного белка и белка хвостового цилиндра бактериофага PA136.

Затем плазмиду и ПЦР-фрагменты независимо обрабатывали эндонуклеазами рестрикции *Bam*HI и *Eco*RI и объединяли в реакции лигирования. Корректность встройки генов, кодирующих целевые белки, подтверждали секвенированием по методу Сэнгера. В результате были получены плазмиды pET-32a(+)_MCPA136 и pET-32a(+)_TSPA136, (рис.1) кодирующие основной капсидный белок (major capsid,

МС) и белок хвостового цилиндра (tail sheath, TS). На основе плазмид получены *E. coli*-продуценты основного капсидного белка и белка хвостового цилиндра.

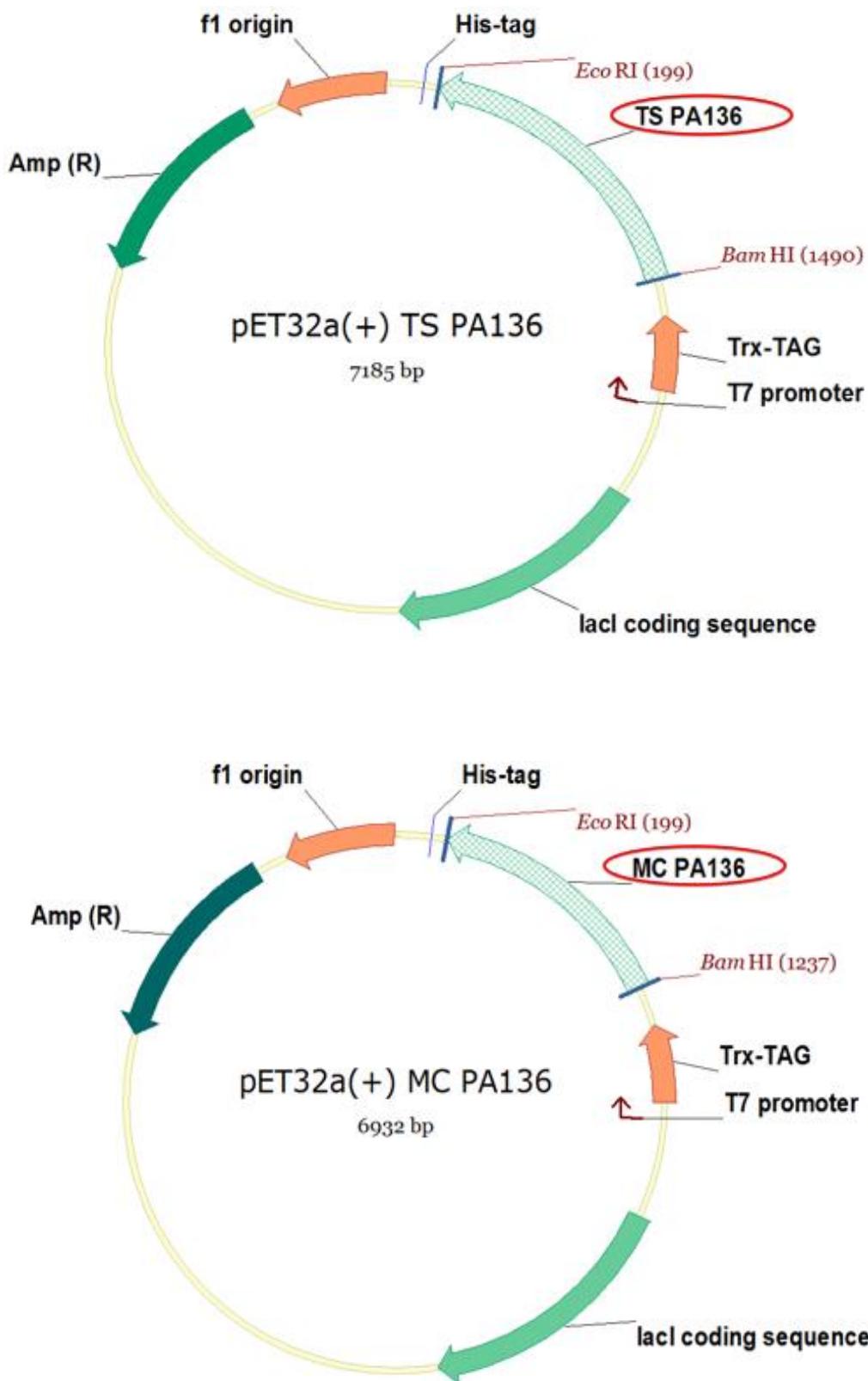


Рисунок 1. Генетическая организация сконструированных плазмид pET-32a(+)_TSPA136 и pET-32a(+)_MCPA136.

Для получения белков MC PA136 и TS PA136 клетки *E. coli* штамм BL21 (DE3), независимо трансформировали плазмидами pET-32a(+)_MCPA136 pET-32a(+)_TSPA136 и культивировали в присутствии индуктора лактозного оперона ИПТГ в концентрации 10 мкМ. После чего клеточные лизаты фракционировали. Оценку продукции рекомбинантных белков и их локализацию проводили с помощью электрофоретического анализа клеточного лизата в 12% ПААГ с SDS (рис.2). Электрофоретическая подвижность полученных рекомбинантных белков соответствовала теоретически предсказанной и составляла приблизительно 39 кДа и 46 кДа.

Оказалось, что белки содержатся в цитоплазматической фракции. Очистку и рефолдинг белков проводили с использованием ранее отработанной в лаборатории методики металл-хелатной хроматографии на Ni-NTA сефарозе. Результаты представлены на рисунке 2.

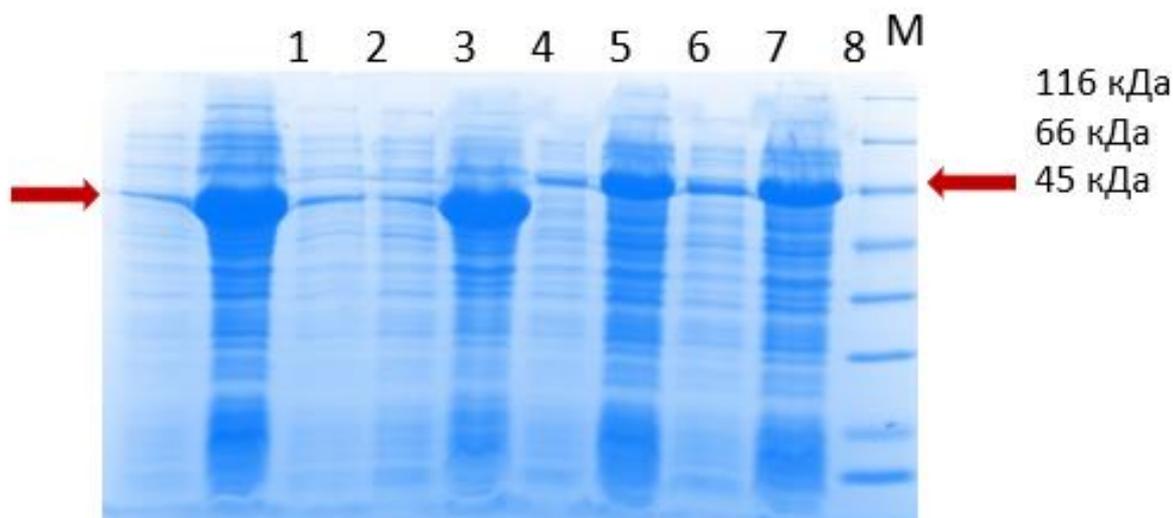


Рисунок 2. Электрофореграмма в 12.5% ПААГ цитоплазматической фракции и фракции телец включения клонов *E.coli*, продуцирующих основной капсидный белок (1, 2, 3, 4) и белок хвостового цилиндра (5, 6, 7, 8). На дорожках 1, 4, 6, 8 нанесены фракции телец включения, на дорожках 2, 3, 5, 7 - цитоплазматические фракции. М – маркер молекулярных масс.

2. Получение моноклональных антител против бактериофага PM16 и PA136

Для получения моноклональных антител были использованы цельные препараты фагов, полученные и очищенные в градиенте хлористого цезия. Для наработки биомассы фагов использовались бактериофаги из коллекции лаборатории

PM16 и PA136. Бактериофаг PM16 был выделен из клинических образцов и описан в Институте химической биологии и фундаментальной медицины[8]. Фаг PA136 был предоставлен профессором Мирошниковым К.А. из Института биоорганической химии РАН, Москва.

Мышей линии BALB/c иммунизировали 4 раза. В организм мышей интраперитонеально вводили соответствующий фаг в концентрации 5×10^9 БОЕ/мышь совместно с полным адъювантом Фрейнда. На 14 день мышей повторно иммунизировали препаратом фага (5×10^9 БОЕ/мышь) с использованием полного адъюванта Фрейнда (рис.3). На 28 день процедура 14-го дня была повторена. На 42 день эксперимента в мышей так же внутривентриально вводили бактериофаги либо PM16, либо PA136 в концентрации 5×10^9 БОЕ/мышь в 0.9% NaCl.



Рисунок 3. Схема иммунизации мышей для получения моноклональных антител против фага PA136 и PM16.

Через 4 и 8 недель после первой иммунизации проводили скрининг сывороток мышей методом ИФА для определения уровня IgG против цельных частиц фага или белковых компонентов, входящих в состав капсида. Через 3 дня после последней иммунизации клетки селезенки и лимфоузлов иммунизированных мышей были гибридизованы с миеломной линией клеток SP-2/O-Ag14. Для отбора целевых гибридом клетки после гибридизации культивировали на селективной среде (среда IMDM, содержащая 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ глутамин, 5.7 мкМ азасерин, 100 мкМ гипоксантин). Полученные гибридомы высевали в 96-луночные планшеты, селективную среду меняли каждые 3-4 дня, и через 14 дней проводили скрининг для отбора гибридом, продуцирующих специфические антитела против фага PM16, либо против фага PA136. Связывание отдельных клонов с сорбированными в планшетах фагами анализировали методом ИФА, в результате чего были отобраны три гибридомы, продуцирующие антитела против фага PM16, и шесть гибридом, продуцирующих антитела против фага PA136.

Для наработки моноклональных антител, полученные гибридомные клетки (по 10^6 клеток на животное) вводили внутривенно 4-5 месячным мышам линии BALB/c. Затем очищали антитела из асцитной жидкости в два этапа. Сначала антитела переосаждали в насыщенном растворе сульфата аммония. После переосаждения моноклональные антитела очищали с помощью аффинной хроматографии на колонке с белком А - Sepharose™ 4В. Полученные антитела переводили в буфер для хранения 50 мМ Трис-НСl, 150 мМ NaCl, pH 7.5 и фильтровали через фильтр с диаметром пор 0.22 мкм. Концентрацию антител определяли спектрофотометрически при длине волны 280 нМ, коэффициент экстинкции для антител класса IgG мыши – 1.43 ОЕ/мл/см. Антитела хранили при 4°C в концентрации не менее 1 мг\мл.

Нами был определен подкласс IgG, а также нуклеотидные последовательности, кодирующие константные и переменные домены тяжелых и легких цепей у полученных моноклональных антител. Для этого фрагменты генов, кодирующих переменный участок константного домена тяжелой цепи антитела, амплифицировали с использованием вырожденных праймеров: [10]

Mouse IgHV_MH1_EcoRI_dir: 5' CTTCCGGAATTC SARGTNMAGCTGSAGSAGTC 3'

Mouse IgG2a_HindIII_rev: 5' GGAAAGCTTCTTGACCAGGCATCCTAGAGTCA 3'

Mouse IgG2b_HindIII_rev: 5' GGAAAGCTTAGGGGCCAGTGGATAGACTGATGG 3'

Mouse IgG1_HindIII_rev: 5' GGAAAGCTTATAGACAGATGGGGGTGTCGTTTTGGC 3'

Mouse IgG3_HindIII_rev: 5' GGAAAGCTTAGGGACCAAGGGATAGACAGATGG 3'

Праймеры для генов, кодирующих переменный участок константного домена:

Mouse IgKV_EcoRI_dir: 5' CCGAATTCGAYATTGTGMTSACMCARWCTMCA 3'

Mouse IgK_HindIII_rev: 5' GGGAAGCTTGATACAGTTGGTGCAGCATCAGC 3'

В результате секвенирования было определено, что все моноклональные антитела, отобранные против бактериофагов PM16 и PA136, относились к подклассу IgG1. Легкие цепи всех моноклональных антител относились к семейству каппа.

Для картирования сайтов связывания полученных моноклональных антител был проведен фаговый пептидный дисплей. Для начала нужно было провести амплификацию пептидной библиотеки Ph.D-12. Клетки культуры *E. coli* ER2738 растили до плотности 0.6 OD и инфицировали библиотекой Ph.D-12 и культивировали 4.5-5 часов при 37°C при качании. После чего клетки осаждали

центрифугированием, а из полученного супернатанта выделяли бактериофаги с использованием ПЭГ. Выделенные бактериофаги хранили при -20°C . Для оценки выхода фаговых частиц использовали цветовую идентификацию лизисных бляшек на чашках Петри с нижним агаром, содержащим 50 мкг/мл X-Gal, 40 мкг/мл IPTG.

Аффинное обогащение пептидных фаговых библиотек Ph.D-12 проводили как описано в инструкции производителя «Ph.D.TM Phage Display Libraries». Для получения результата понадобилось 3 последовательных раунда биопеннинга. Выделение фаговых частиц, экспонирующих пептиды, проводили в присутствии переосаждающего агента PEG/NaCl. Для определения нуклеотидной последовательности пептидов, экспонированных на поверхности фагов, проводили ПЦР-реакцию со специфичными праймерами, фланкирующими пептидную вставку рIII. Из обогащенной популяции Ph.D.-12-III на наличие пептидной встройки проанализировали 50 клонов, из которых 32 были положительными. Способность отобранных бактериофагов связывать моноклональные антитела подтверждали методом ИФА. В результате было отобрано 15 бактериофагов, несущих на своей поверхности пептиды из популяции Ph.D.-12, специфически связывающих паратоп исследуемого антитела. После секвенирования в обоих направлениях, на основе полученных нуклеотидных последовательностей были выведены аминокислотные последовательности связавшихся с антителом пептидов. В результате осталось секвенирования осталось 8 уникальных пептидов.

3. Влияние бактериофагов на гуморальный ответ у мышей

3.1 Анализ антифаговых сывороточных иммуноглобулинов

Изменения антифаговых сывороточных поликлональных антител IgG, возникающие после иммунизации CD1-мышей фагами без какого-либо адьюванта, оценивали с помощью ИФА. Для исследованных фагов были обнаружены различные закономерности. Значимого повышения уровня анти-PM16 IgG не выявлено. Наиболее значительный рост относительных титров наблюдался для PA136-специфичных IgG. 25-кратное увеличение количества таких антител было обнаружено через 4–6 недель после первой иммунизации и быстрое снижение уровня анти-PA136 IgG в течение следующих шести недель. Эти результаты указывают на высокую иммуногенность фага PA136 для иммунной системы мышей.

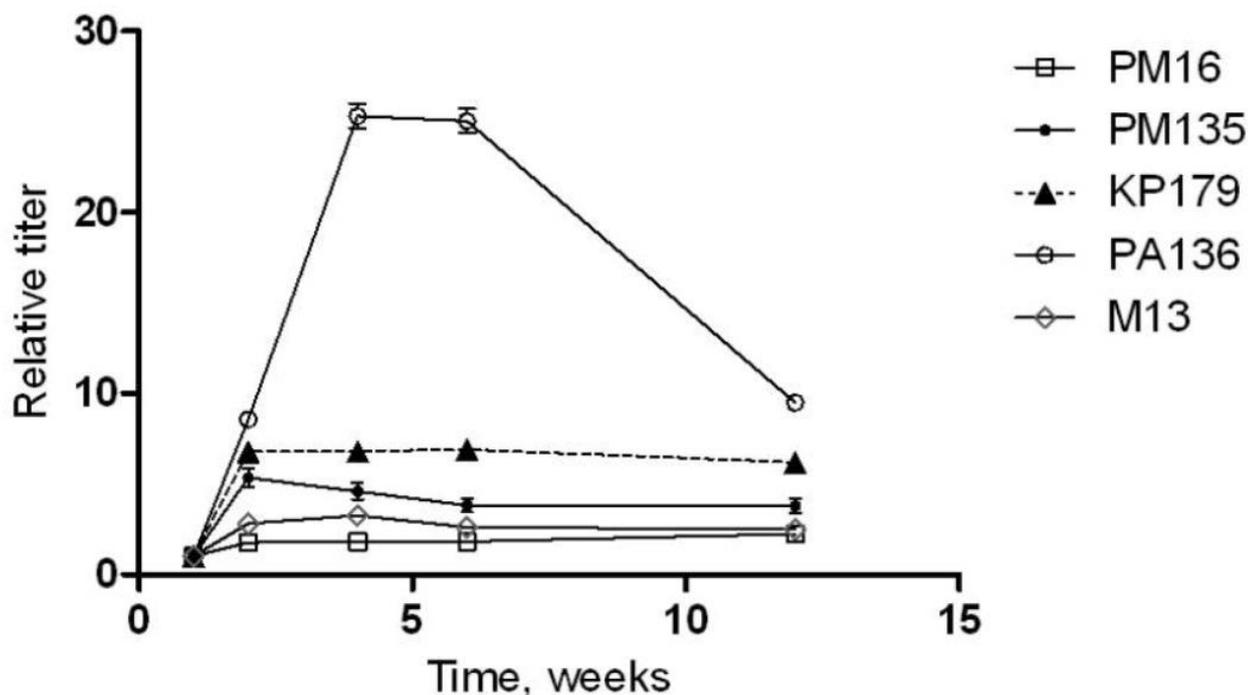


Рисунок 4. Фагоспецифический непрямой ИФА сывороток иммунизированных мышей. Образцы сыворотки получали до иммунизации и через 1, 2, 4, 6 и 12 недель после последней иммунизации мышей, которым трижды вводили выбранный фаг (PM16, PA136, PM135, KP179, или M13) без каких-либо адъювантов. Титры антител рассчитывали по пересечению кривых разведения с исходной линией. Результаты представлены в виде относительных титров антител, рассчитанных как отношение титров в различные моменты времени к начальному титру (до иммунизации) антител против соответствующего фага.

3.2 Вестерн-блот-анализ

Вестерн-блот-анализ проводили для выявления иммуногенных фаговых белков, распознаваемых антителами IgM и IgG из сывороток мышей, собранных до иммунизации, а также через 1, 2, 4, 6 и 12 недель после иммунизации CD1-мышей соответствующим фагом без адъюванта. Для PM16 не было обнаружено полос, а для PA136 были обнаружены полосы. Отсутствие белковых полос фага PM16 совпало с результатами ИФА и подтвердило низкую иммуногенность этого фага, введенного мышам.

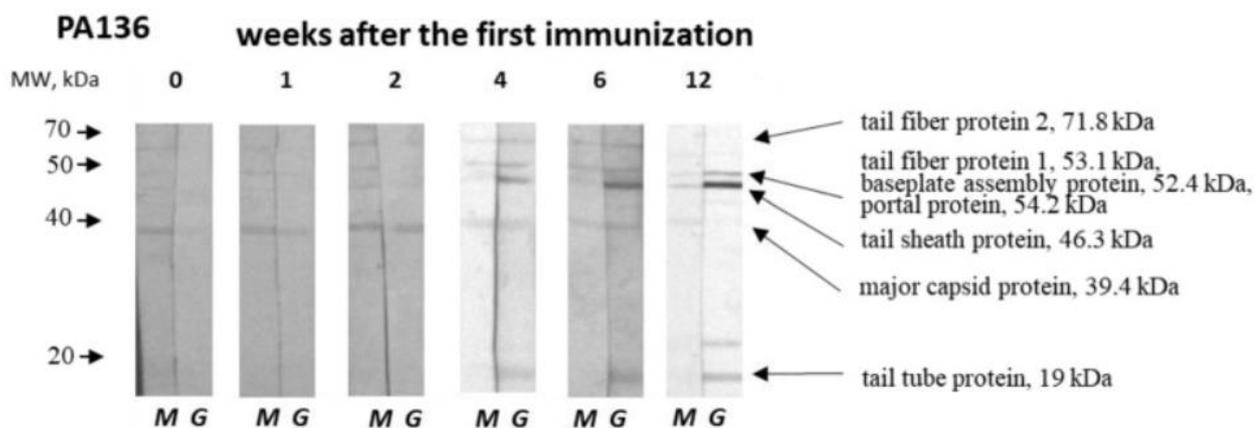


Рисунок 5. Вестерн-блот-анализ фаговых лизатов, фракционированных с помощью 12% SDS-PAGE и перенесенных на нитроцеллюлозную мембрану. Фаговые белки выявляли с помощью антифаговых антител IgM (M) и IgG (G) из объединенных образцов сыворотки, полученных до иммунизации, а также через 1, 2, 4, 6 и 12 недель после первой иммунизации мышей, которым трижды вводили выбранный фаг PA136 без каких-либо адьювантов.

Антитела IgM от интактных мышей были способны связываться с белком PA136 массой ~40 кДа, который, по данным масс-спектрометрии, вероятно, является капсидным белком PA136 (39,4 кДа). Этот белок распознавался IgM и IgG из образцов сыворотки, специфичных для PA136, и собранных за исключением IgG из сывороток, собранных через 12 недель после первой иммунизации. Разнообразие белковых полос было обнаружено с помощью IgM и IgG из конкретных образцов сыворотки, начиная со второй и четвертой недель после иммунизации соответственно. Белки PA136, обнаруженные с помощью IgM, могут соответствовать белку 1 хвостовой нити (53 кДа) и белку 2 хвостовой нити (71,8 кДа). IgG, вероятно, выявил белок 1 хвостовой нити PA136 (53 кДа), предполагаемый белок сборки базальной пластины и/или порталный белок (52,4 и/или 54,2 кДа), белок оболочки хвоста (46,3 кДа) и белок хвостовой трубки (19 кДа). Изменения интенсивности отдельных полос совпадают с результатами ИФА с PA136-специфичными сыворотками.

Интересным представляется то, что в сыворотках интактных мышей были обнаружены антитела класса IgM против основных капсидных белков фага PA136. У фага PM16 такого эффекта не наблюдалось. Интенсивность соответствующих белковых полос после иммунизации не увеличивалась. Эти ранее существовавшие антитела IgM могут указывать на предыдущий контакт мышей с этими фагами. До

исследования было проверено отсутствие фагов, специфичных для бактериальных штаммов хозяина *P. aeruginosa* КЭМТК 1804, а также фагов в образцах фекалий мышей.

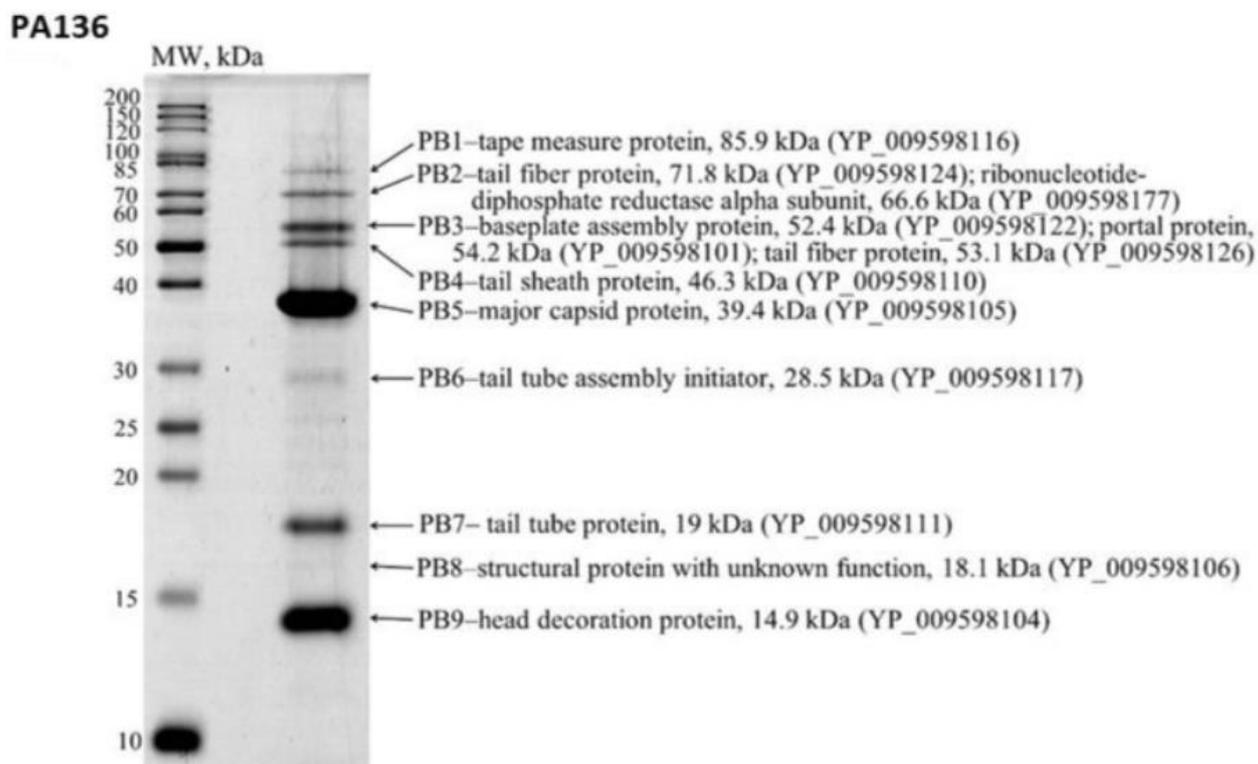


Рисунок 6. SDS-PAGE очищенных частиц бактериофага с последующим окрашиванием кумасси бриллиантовым синим R250. Левые дорожки представляют собой неокрашенные стандарты белка (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США). Справа указаны названия и молекулярные массы соответствующих белков. Идентификаторы GenBank для последовательностей показаны в скобках.

3.3 Профили цитокинов сыворотки через 6 и 24 часа после введения фага

Исследование влияния бактериофагов на гуморальный иммунитет проводили с использованием ИФА с набором LEGENDplex Mouse Inflammation Panel. Данный набор оценивает концентрации 13 цитокинов (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-23, IL-27, MCP-1, IFN- β , IFN- γ , TNF- α , and GM-CSF) в сыворотках мышей.

Бактериофаг PM16 вызывал заметное увеличение уровней IL-1, IFN γ и IL-6 через шесть часов после введения фага с последующим их снижением через 24 часа, тогда как IL-27 демонстрировал более чем двукратное снижение его медианного уровня через шесть часов и повышение исходного уровня через 24 часа после введения фага. IL-1 показал менее выраженный подъем. Инъекция PA136

сопровождалась похожими закономерностями для цитокинов IL-1, IFN γ , IL-6 и IL-27. Но не для IL-10, уровень которого снижался через 6 часов после введения фага с последующей нормализацией через 24 часа. Так же, несмотря на выраженные различия в содержании эндотоксинов в препаратах фагов, связи между уровнем эндотоксинов и цитокиновым профилем сыворотки не обнаружено. Различия в содержании эндотоксинов можно объяснить тем, что фаги PM16 и PA136 нарабатывали в разных хозяйских культурах. *P. mirabilis* КЭМТК 73 и *P. aeruginosa*, КЭМТК 1804, которые обладают различающимися по свойствам клеточными стенками, фрагменты которых и составляют основной пул эндотоксинов.

Эти данные подтвердили способность фагов индуцировать продукцию цитокинов, в частности TNF и IL-1, что может указывать на участие в иммунном ответе на фаги макрофагальных клеток. А также раннее повышение уровней IFN γ и IL-27, которые являются признаком адаптивного иммунного ответа может свидетельствовать об участии уже преобладающих фаг-специфичных Т- или В-клеток.

Следует отметить, что характер цитокинового ответа на введение бактериофага не зависел от морфологии фага. Так, паттерн антицитокинового ответа фага PM135, имеющего сифовирусную морфологию, в целом соответствовал таковому фага PM16 и PA136. А паттерн цитокинового ответа на введение бактериофага KP179, имеющего миовирусную морфологию отличается в случае TNF- α , IL-1, IL-6 IL-27 и INF- γ .

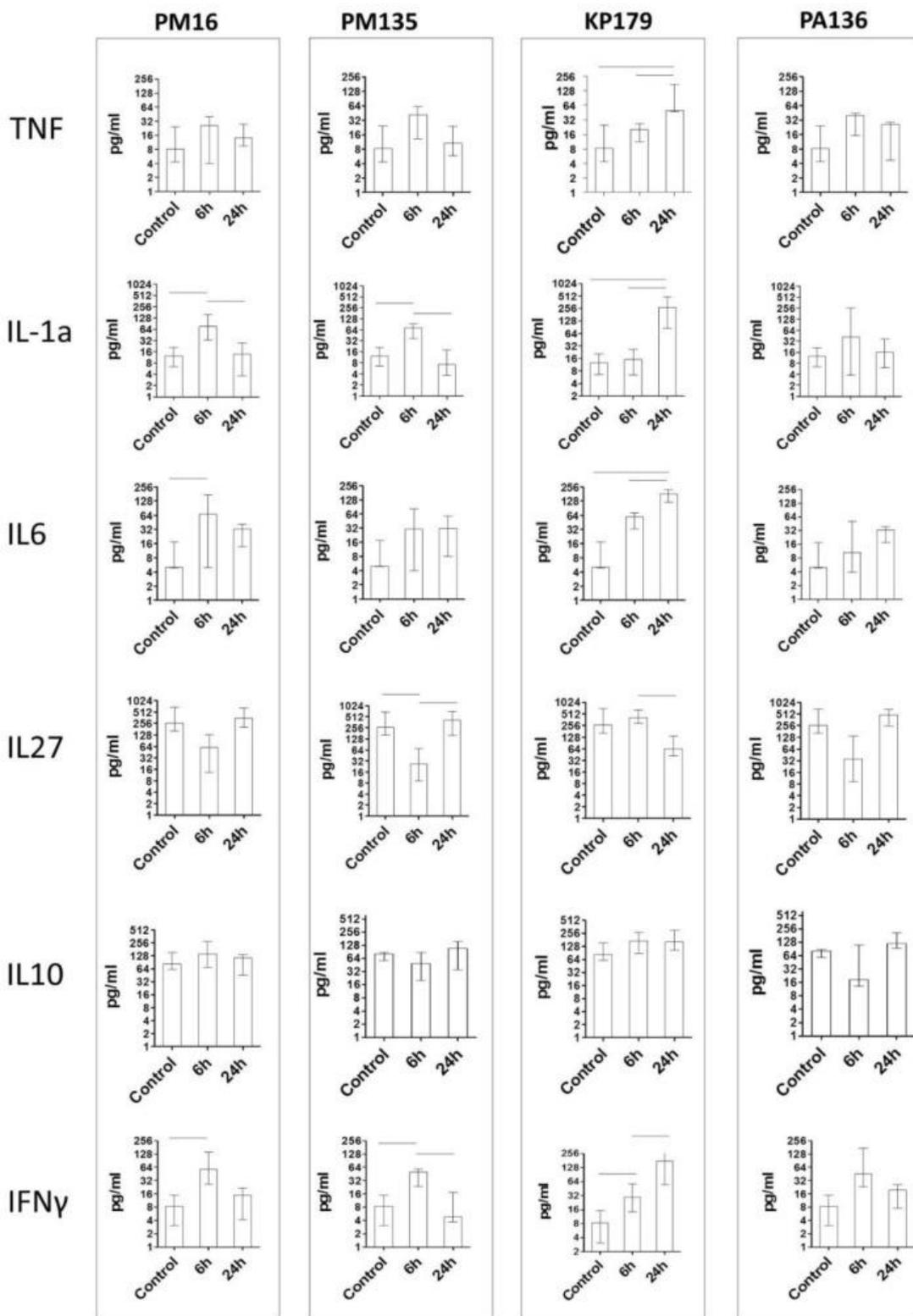


Рисунок 7. Концентрация цитокинов в плазме мышей после внутрибрюшинного введения фагов в целевой дозе 10^8 БОЕ на мышшь в 100 мкл 0,9% NaCl. Контроль показывает введение 100 мкл 0,9% NaCl. Концентрацию цитокинов оценивали через шесть и 24 часа после инъекции фага.

3.4 Влияние иммунных антисывороток на инфекционность фагов

В образцах сыворотки мыши против РМ16 не было обнаружено никаких изменений в инфекционной способности фага. Однако при сравнении литической активности фага РА136, обработанного сывороткой, собранной после иммунизации, с таковой для фага, смешанного с сывороткой, полученной до иммунизации, было обнаружено существенное снижение литической активности фага. Антитела, индуцированные фагом РА136, способны нейтрализовать инфекционность этих фагов. Этот результат хорошо согласуется с идентификацией ранее существовавших IgM в образцах сыворотки мышей до иммунизации.

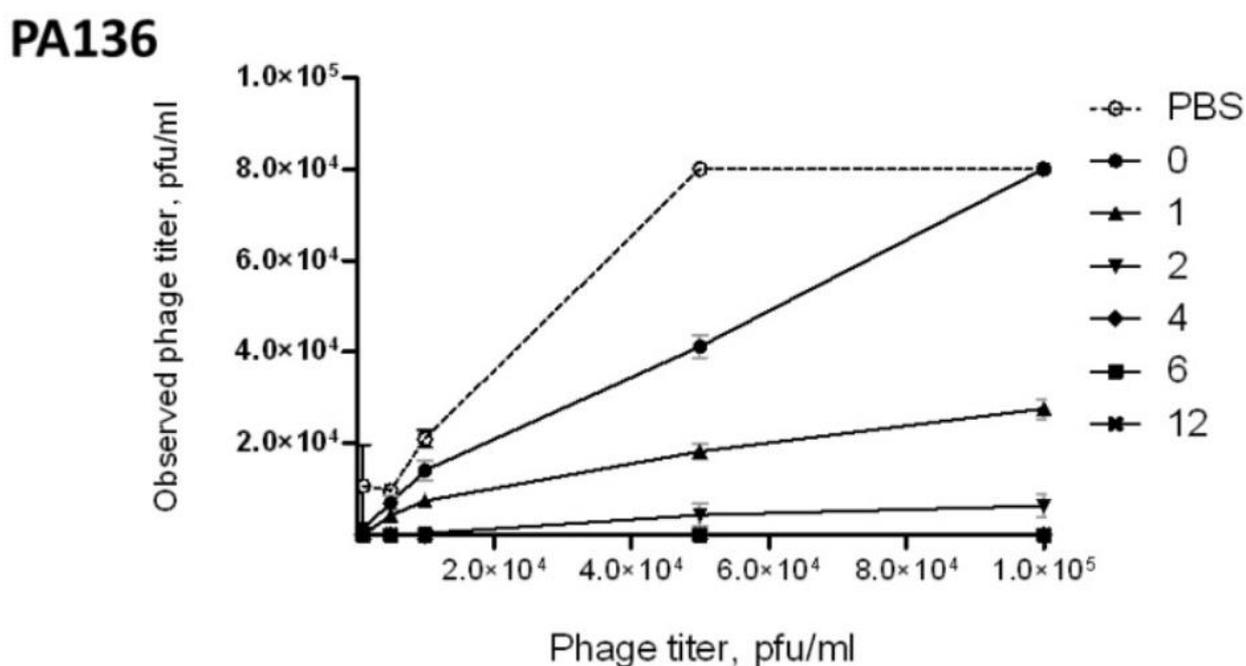


Рисунок 8. Нейтрализующая активность объединенных образцов сыворотки, полученных до иммунизации и через 1, 2, 4, 6 и 12 недель после последней иммунизации, мышам внутрибрюшинно трижды вводили фаг РА136 без каких-либо адъювантов.

4. Взаимодействие макрофагов, выделенных из костного мозга мышей с бактериофагами

В качестве объекта исследования были выбраны дендритные клетки, выделенные из костного мозга мышей самцов линии BALB/c и бактериофаги РМ16 и РА136. Для получения культуры клеток был использован стандартный протокол выделения адгезионной культуры клеток из костного мозга Abscam protocol. После культивирования при 37°C и 5% CO₂ в течение одной недели в среде, содержащей

15% добавку культуральной среды с линии клеток L929, клетки подсчитывали, рассаживали в 24-луночный планшет. Затем добавляли фаги в концентрации 10^7 PM16 и PA136. Инкубировали в течение 12 часов, 24 часов, 48 часов.

Выводы:

1 Сконструированы плазмидные ДНК, кодирующие основной капсидный белок и белок хвостового цилиндра бактериофага PA136.

2 Получены штаммы *E. coli*, продуцирующие вирионные белки: основной белок капсида и белок хвостового цилиндра фага PA136.

3 Отобраны мышинные моноклональные антитела против основного капсидного белка и белка хвостового цилиндра фага PA136 и против основного капсидного белка фага PM16.

4 Показано, что фаг PM16, имеющий подовирусную морфологию, обладает слабой иммуногенностью, и его введение мышам не вызывает значимого повышения анти-PM16 иммуноглобулинов. Введение в организм мышей фага PA136, имеющего миовирусную морфологию, индуцирует на 2-4 неделе синтез IgM против ряда структурных белков, преимущественно хвостовых, и на 4-12 неделе происходит переключение класса соответствующих антител IgM -> IgG.

5 Показано, что бактериофаги PA136 и фага PM16 индуцируют повышение уровней IL-1, IFN-gamma и IL-6 через 6 часов после введения и снижение таковых через сутки после введения; уровень IL-27, наоборот, понижается приблизительно в 2 раза через 6 часов после введения и возвращается к исходному уровню через 24 часа после введения. Уровень IL-10 понижается только при введении фага PA136.

6 Антитела, индуцированные фагом PA136, способны нейтрализовать инфекционность этих фагов. Результат хорошо согласуется с идентификацией ранее существовавших IgM в образцах сыворотки мышей до иммунизации.

Список литературы:

1. Nazarov P. A. MDR Pumps as Crossroads of Resistance: Antibiotics and Bacteriophages / P. A. Nazarov // Antibiotics. – 2022. – Т. 11. – MDR Pumps as Crossroads of Resistance. – № 6. – С. 734.
2. Pseudomonas aeruginosa: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics - PMC. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9233671/> (дата обращения: 01.08.2023). – Текст : электронный.

3. A systematic review of phage therapy applied to bone and joint infections: an analysis of success rates, treatment modalities and safety / J. Genevière, S. McCallin, A. Huttner [et al.] // EFORT Open Reviews. – 2021. – Vol. 6. – A systematic review of phage therapy applied to bone and joint infections. – № 12. – P. 1148-1156.
4. Bacterial lysis, autophagy and innate immune responses during adjunctive phage therapy in a child / A. Khatami, R. C. Y. Lin, A. Petrovic-Fabijan [и др.] // EMBO molecular medicine. – 2021. – Т. 13. – № 9. – С. e13936.
5. Bacteriophages concept and applications: A review on phage therapy / R. Sahu, A. K. Singh, A. Kumar [и др.] // Current Pharmaceutical Biotechnology. – 2022. – Bacteriophages concept and applications.
6. Danis-Wlodarczyk K. Phage Therapy: The Pharmacology of Antibacterial Viruses / K. Danis-Wlodarczyk, K. Dąbrowska, S. T. Abedon // Current Issues in Molecular Biology. – 2021. – Т. 40. – Phage Therapy. – С. 81-164.
7. Gordillo Altamirano F. L. Phage Therapy in the Postantibiotic Era / F. L. Gordillo Altamirano, J. J. Barr // Clinical Microbiology Reviews. – 2019. – Т. 32. – № 2.
8. Lytic bacteriophage PM16 specific for *Proteus mirabilis*: a novel member of the genus Phikmvvirus / V. Morozova, Y. Kozlova, E. Shedko [и др.] // Archives of Virology. – 2016. – Т. 161. – Lytic bacteriophage PM16 specific for *Proteus mirabilis*. – № 9. – С. 2457-2472.
9. Morozova V. V. Applications of Bacteriophages in the Treatment of Localized Infections in Humans / V. V. Morozova, V. V. Vlassov, N. V. Tikunova // Frontiers in Microbiology. – 2018. – Т. 9. – С. 1696.
10. Universal PCR amplification of mouse immunoglobulin gene variable regions: the design of degenerate primers and an assessment of the effect of DNA polymerase 3' to 5' exonuclease activity / Z. Wang, M. Raifu, M. Howard [и др.] // Journal of Immunological Methods. – 2000. – Т. 233. – Universal PCR amplification of mouse immunoglobulin gene variable regions. – № 1-2. – С. 167-177.
11. *Pseudomonas aeruginosa* Infection | HAI | CDC. – URL: <https://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html> (date accessed: 02.02.2023). – Text : electronic.

Отчет о проверке на заимствования №1



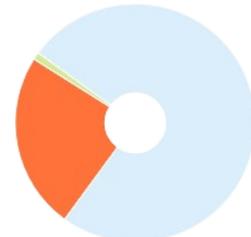
Автор: Кравчук Богдана Ивановна
 Проверяющий: Гапонова Светлана Константиновна
 Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» - <http://users.antiplagiat.ru>

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 18
 Начало загрузки: 19.09.2023 05:28:10
 Длительность загрузки: 00:00:34
 Имя исходного файла: Научный доклад Кравчук_без ссылок.docx
 Название документа: Научный доклад Кравчук_без ссылок
 Языки текста документа: русский, английский
 Размер текста: 27 кБ
 Символов в тексте: 27717
 Слов в тексте: 3403
 Число предложений: 186
 Способ извлечения текста: OCR

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)
 Начало проверки: 19.09.2023 05:28:45
 Длительность проверки: 00:05:15
 Комментарии: не указано
 Поиск с учетом редактирования: да
 Модули поиска: Библиография, eLIBRARY.RU, Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu), ИПС Адилет, Переводные заимствования по Интернету (KyRu), Перефразирования по коллекции издательства Wiley, Переводные заимствования по Интернету (KkRu), Шаблонные фразы, СМИ России и СНГ, Переводные заимствования по Интернету (EnRu), Перефразирования по Интернету (EN), Медицина, Переводные заимствования, Переводные заимствования (KyEn), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (KyRu), Переводные заимствования (KkEn), Переводные заимствования издательства Wiley, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Цитирование, Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика, Коллекция НБУ, Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (KkRu), Перефразирования по eLIBRARY.RU, Патенты СССР, РФ, СНГ, Сводная коллекция РГБ, СПС ГАРАНТ: аналитика, Переводные заимствования (RuEn), Диссертации НББ, Кольцо вузов, Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика, Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Издательство Wiley, Сводная коллекция ЭБС, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация, Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, IEEE, Перефразирования по Интернету, Интернет Плюс*



СОВПАДЕНИЯ	САМОЦИТИРОВАНИЯ	ЦИТИРОВАНИЯ	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ
23,55%	0%	1,11%	75,34%

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.

Самоцитирование — 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.

Цитирование — 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.

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

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.

№	Доля в тексте	Доля в отчете	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Блоков в отчете	Блоков в тексте	Комментарии
[01]	6,26%	6,26%	https://mdpi-res.com/d_attachment/vir... https://mdpi-res.com	25 Янв 2023	Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте	5	5	
[02]	5,49%	1,79%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/fetch.... http://niboch.nsc.ru	11 Июл 2020	Интернет Плюс*	12	27	
[03]	4,31%	1%	http://niboch.nsc.ru khlusevich_dissert.pdf	24 Апр 2021	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	3	5	
[04]	3,96%	3,23%	http://niboch.nsc.ru khlusevich_autoref.pdf	27 Мая 2021	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	2	3	
[05]	3,09%	3,09%	https://cmac-journal.ru/en/publication/... https://cmac-journal.ru	24 Янв 2023	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в	2	2	

						русском сегменте			
[06]	2,46%	0,34%	http://www.vector.nsc.ru/userfiles/files/... http://vector.nsc.ru	28 Сен 2019	Интернет Плюс*		2	12	
[07]	2,46%	0%	http://www.vector.nsc.ru/userfiles/files/... http://vector.nsc.ru	04 Окт 2020	Интернет Плюс*		0	12	
[08]	2,46%	0%	http://www.vector.nsc.ru/userfiles/files/... http://vector.nsc.ru	04 Окт 2020	Интернет Плюс*		0	12	
[09]	2,46%	0%	http://www.vector.nsc.ru/userfiles/files/... http://vector.nsc.ru	13 Янв 2020	Интернет Плюс*		0	12	
[10]	2,15%	0%	https://cmac-journal.ru/en/publication/... https://cmac-journal.ru	24 Янв 2023	Интернет Плюс*		0	10	
[11]	2,13%	0%	http://conf.nsc.ru/files/conferences/M... http://conf.nsc.ru	21 Янв 2021	Интернет Плюс*		0	8	
[12]	2,03%	0%	Терапевтическое применение бактер... https://elibrary.ru	31 Дек 2021	eLIBRARY.RU		0	3	
[13]	1,78%	0,17%	Смирнова, Виктория Владимировна ... http://dlib.rsl.ru	28 Июн 2022	Сводная коллекция РГБ		1	3	
[14]	1,75%	0%	Клещи, которые нас кусают https://elementy.ru	24 Июн 2022	Интернет Плюс*		0	6	
[15]	1,74%	0%	ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ А... https://sibvest.elpub.ru	19 Сен 2023	Интернет Плюс*		0	8	
[16]	1,7%	0%	https://vestnikramn.spr-journal.ru/jour... https://vestnikramn.spr-journal.ru	19 Сен 2023	Интернет Плюс*		0	5	
[17]	1,61%	1,61%	https://mdpi-res.com/d_attachment/vir... https://mdpi-res.com	25 Янв 2023	Интернет Плюс*		11	11	
[18]	1,6%	1,6%	matveev_dissert.pdf http://niboch.nsc.ru	20 Авг 2022	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте		2	2	
[19]	1,58%	1,58%	Сведения об авторах. http://elibrary.ru	26 Дек 2013	eLIBRARY.RU		2	2	
[20]	1,58%	0%	Рудометова, Надежда Борисовна Кон... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2021	Сводная коллекция РГБ		0	2	
[21]	1,58%	0%	Национальные приоритеты России: ... http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС		0	2	
[22]	1,55%	0,71%	CollectionMM2017.pdf http://conf.nsc.ru	08 Мая 2021	Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте		1	2	
[23]	1,43%	0%	Студенников, Артем Евгеньевич Чело... http://dlib.rsl.ru	30 Мар 2022	Сводная коллекция РГБ		0	4	
[24]	1,29%	0%	Сведения об авторах. http://elibrary.ru	25 Дек 2016	eLIBRARY.RU		0	3	
[25]	1,26%	0,07%	Студенников, Артем Евгеньевич Анти... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2022	Сводная коллекция РГБ		1	4	
[26]	1,26%	0,32%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/fetch... http://niboch.nsc.ru	30 Мая 2022	Интернет Плюс*		1	4	
[27]	1,26%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/fetch... http://niboch.nsc.ru	12 Мая 2023	Интернет Плюс*		0	4	
[28]	1,16%	0%	Клещевые риккетсиозы — близкие р... https://elementy.ru	19 Сен 2023	Интернет Плюс*		0	3	
[29]	1,11%	1,11%	не указано	13 Янв 2022	Шаблонные фразы		8	8	
[30]	0,93%	0,93%	Получение и характеристика монокл... http://elibrary.ru	27 Окт 2017	Перефразирования по eLIBRARY.RU		1	1	
[31]	0,93%	0%	Сборник тезисов. Том 2 http://istina.msu.ru	05 Янв 2017	Перефразирования по Интернету		0	1	
[32]	0,93%	0%	Материалы конференции http://vector.nsc.ru	08 Янв 2017	Перефразирования по Интернету		0	1	
[33]	0,93%	0%	http://rcpcm.org/wp-content/uploads/... http://rcpcm.org	12 Фев 2023	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте		0	1	
[34]	0,93%	0%	CollectionMM2017.pdf http://conf.nsc.ru	08 Мая 2021	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте		0	1	
[35]	0,93%	0%	ACTA_NATURAE_2016.pdf https://pure.spbu.ru	09 Мая 2021	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте		0	1	
[36]	0,92%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/fetch... http://niboch.nsc.ru	11 Сен 2023	Интернет Плюс*		0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[37]	0,89%	0%	Государственная фармакопея Россий... http://ivo.garant.ru	21 Апр 2020	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация		0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[38]	0,84%	0,02%	Получение и характеристика монокл... http://elibrary.ru	27 Окт 2017	eLIBRARY.RU		1	1	
[39]	0,84%	0%	http://rcpcm.org/wp-content/uploads/... http://rcpcm.org	12 Фев 2023	Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте		0	1	
[40]	0,84%	0%	ACTA_NATURAE_2016.pdf https://pure.spbu.ru	09 Мая 2021	Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте		0	1	

[41]	0,84%	0,84%	СВЯЗЫВАЮЩИЕ ПОЛИПЕПТИДЫ И И... http://elibrary.ru	01 Янв 2015	Перефразирования по eLIBRARY.RU	1	1	
[42]	0,76%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/fetch... http://niboch.nsc.ru	19 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[43]	0,68%	0%	https://mdpi-res.com/d_attachment/vir... https://mdpi-res.com	17 Фев 2023	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[44]	0,65%	0%	https://mdpi-res.com/d_attachment/vir... https://mdpi-res.com	17 Фев 2023	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[45]	0,64%	0%	Posters https://doi.org	02 Июл 2021	Издательство Wiley	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[46]	0,63%	0%	Диссертация_Олейнов (final).doc	21 Ноя 2012	Кольцо вузов	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[47]	0,63%	0%	Диссертация-ГАРИН_26.06-финал	27 Июн 2023	Кольцо вузов	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[48]	0,57%	0%	не указано http://ivo.garant.ru	03 Авг 2022	СПС ГАРАНТ: аналитика	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[49]	0,57%	0%	не указано http://ivo.garant.ru	03 Авг 2022	СПС ГАРАНТ: аналитика	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[50]	0,56%	0%	Поздравляем директора Российско-а... http://barnaul.bezformata.com	17 Авг 2019	СМИ России и СНГ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[51]	0,56%	0%	Т. 2 http://emll.ru	08 Июл 2017	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[52]	0,56%	0%	Экспертиза в российском законодате... http://studentlibrary.ru	19 Дек 2016	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[53]	0,56%	0%	Теоретические основы новых направ... http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[54]	0,56%	0%	Технология микроволнового обезво... http://diss.natlib.uz	23 Июл 2021	Коллекция НБУ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[55]	0,56%	0%	Исследование интеллектуализации эл... http://diss.natlib.uz	07 Сен 2021	Коллекция НБУ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[56]	0,56%	0%	Способ получения наноразмерной с... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[57]	0,56%	0%	Способ очистки вируса осповакцины ... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[58]	0,56%	0%	Средство для нейтрализации вируса н... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[59]	0,56%	0%	Харьков, Антон Михайлович Электри... http://dlib.rsl.ru	17 Ноя 2014	Сводная коллекция РГБ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[60]	0,56%	0%	не указано http://ivo.garant.ru	04 Авг 2022	СПС ГАРАНТ: аналитика	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[61]	0,56%	0%	Экраны электромагнитного излучени... http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[62]	0,56%	0%	Джаксыбаев Арыстан.16-111	08 Июн 2023	Кольцо вузов	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[63]	0,56%	0%	Указ Главы Республики Бурятия от 19 ... http://ivo.garant.ru	27 Дек 2014	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[64]	0,56%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 2... http://ivo.garant.ru	30 Июн 2022	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[65]	0,56%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 2... http://ivo.garant.ru	04 Мая 2021	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[66]	0,56%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 2... http://ivo.garant.ru	27 Фев 2021	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[67]	0,56%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 2... http://ivo.garant.ru	02 Авг 2021	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[68]	0,56%	0%	Interpretation of radioimpedance soun... https://ieeexplore.ieee.org	04 Ноя 2013	IEEE	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[69]	0,56%	0%	https://www.cnmt.ru/doc/BMF-2019_fin... https://cnmt.ru	05 Мая 2022	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[70]	0,56%	0%	https://www.mcb.nsc.ru/sites/mcb.nsc.r... https://mcb.nsc.ru	19 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[71]	0,56%	0%	https://www.cnmt.ru/doc/BMF-2019_fin... https://cnmt.ru	22 Июн 2022	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[72]	0,48%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/fetch... http://niboch.nsc.ru	24 Мар 2022	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[73]	0,45%	0%	https://openbio.ru/openbio_tezis_2014... https://openbio.ru	10 Апр 2022	Интернет Плюс*	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[74]	0,43%	0%	Молекулярно-генетическая диагност... http://dep.nlb.by	06 Дек 2018	Диссертации НББ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[75]	0,41%	0%	Экспресс-тест на клещевой энцефали... http://novosibirsk.bezformata.ru	15 Мая 2015	СМИ России и СНГ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[76]	0,4%	0%	http://www.cryocenter.ru/files/1nkrm/t... http://cryocenter.ru	30 Дек 2021	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[77]	0,39%	0%	141945 http://biblioclub.ru	18 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[78]	0,36%	0%	Боковые петли РНК - мишени для сел... http://elibrary.ru	28 Авг 2007	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[79]	0,35%	0%	70462 http://e.lanbook.com	09 Мар 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[80]	0,32%	0%	http://rcpcm.org/wp-content/uploads/... http://rcpcm.org	28 Янв 2022	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[81]	0,32%	0%	https://pure.spbu.ru/ws/portalfiles/por... https://pure.spbu.ru	08 Июн 2023	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[82]	0,32%	0%	ДИЗАЙН РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ http://diss.seluk.ru	19 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[83]	0,27%	0%	Моноклональные антитела как лекар... https://studopedia.net	19 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[84]	0,27%	0%	OnlineHelpStud.ru - Техника получени... https://onlinehelpstud.ru	22 Апр 2020	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[85]	0,26%	0%	ВЛИЯНИЕ ЕЖЕСУТОЧНЫХ КРАТКОВРЕ... http://elibrary.ru	12 Мая 2010	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[86]	0,25%	0%	ТОРМОЖЕНИЕ РОСТА БАКТЕРИЙ В КУ... http://elibrary.ru	16 Фев 2016	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[87]	0,23%	0%	https://instmech.ru/images/ewB3lQXlu... https://instmech.ru	15 Ноя 2022	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[88]	0,22%	0%	http://www.spbraaci.ru/files/2017/01.pdf http://spbraaci.ru	19 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[89]	0,21%	0%	Предложения по совершенствовани... http://ivo.garant.ru	10 Сен 2022	СПС ГАРАНТ: аналитика	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[90]	0,11%	0%	не указано	13 Янв 2022	Цитирование	0	1	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

Кравчук Богдана Ивановна

«Исследование механизмов взаимодействия бактериофагов с отдельными
компонентами иммунной системы млекопитающих»

Оригинальность работы составляет 75.34%, 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. Гапонова