

Министерство науки и высшего образования РФ
Казанский (Приволжский) федеральный университет
Институт фундаментальной медицины и биологии
Научно-исследовательская лаборатория
«Регуляторная геномика»

Биология и генетика мышц

Международная конференция

Сборник тезисов

Биология и генетика мышц (25 ноября 2022, Казань) // Сборник тезисов. — Казань: НЦ «Регуляторная геномика» ИФМиБ КФУ, 2022. — 10 с. — <http://bgmconf.r-genomics.com/abstract/>

Сборник содержит тезисы международной конференции «Биология и генетика мышц» организованной на базе научно-исследовательской лаборатории «Регуляторная геномика» Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета. Конференция проведена в Казани с 25 ноября 2022 года при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075–15-2021-601).

Организационный комитет

О. А. Гусев
Е. И. Шагимарданова
А. Г. Кадилов
Т. Б. Андрюшкин

Графические материалы

Г. Р. Газизова

Оглавление

| | |
|---|----|
| Аллель-специфичная экспрессия транскрибируемых регуляторных элементов генома в образцах сердца человека..... | 4 |
| Разнообразие и дифференциальная экспрессия микроРНК в скелетных мышцах человека с различным соотношением быстрых и медленных волокон | 6 |
| Гетероплазмия митохондриальной ДНК как один из факторов старения и взаимосвязанные терапевтические маркеры здорового старения | 8 |
| Гетероплазмия мтДНК в скелетных мышцах пожилых людей: почему это сложно? | 10 |
| Высокопроизводительное клонирование плазмиды рUC19 как универсальный метод оценки копийности митохондриальной ДНК в ходе исследования процессов старения..... | 11 |
| Эффекты хронического воспаления, снижения двигательной активности и возраста на транскриптом скелетной мышцы человека | 12 |

Аллель-специфичная экспрессия транскрибируемых регуляторных элементов генома в образцах сердца человека

Буян А.И.^{1,2*}, Мещеряков Г.¹, Гамс А.³, Девятяров Р.², Сюняев Р.^{3,4,5}, Сингх Р.⁶, Шах П.^{3,6}, Татарнинова Т.В.⁷⁻⁹, Гусев О.^{2,10-12}, Ефимов И.Р.^{3,13}, Кулаковский И.В.^{1,2,9}

¹ Группа регуляции биосинтеза белка, Институт Белка РАН, Пущино, Россия

² Научный центр "Регуляторная геномика", Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского Федерального Университета, Казань, Россия

³ Лаборатория биомедицинской инженерии, Университет Джорджа Вашингтона, Вашингтон, США

⁴ Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

⁵ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия

⁶ Институт сердца и сосудов "Инова", Вирджиния, США

⁷ Университет Ла Верна, Калифорния, США

⁸ Институт проблем передачи информации имени А.А. Харкевича, Москва, Россия

⁹ Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Москва, Россия

¹⁰ Университет Юнтендо, Токио, Япония

¹¹ Центр интегративных медицинских наук, RIKEN, Иокогама, Япония

¹² ФГБУ «НМИЦ эндокринологии», Москва, Россия

¹³ Северо-западный Университет, Чикаго, США

* andreybuyanchik@gmail.com

Ключевые слова: CAGE, SNP, аллель-специфичная экспрессия, транскрибируемые регуляторные элементы, сердце

Цель работы: в настоящее время существует множество методов высокопроизводительного секвенирования РНК, позволяющих оценивать экспрессию транскрибируемых участков генома. Среди таких подходов можно выделить CAGE (от англ. *Cap Analysis Gene Expression*), позволяющий секвенировать непосредственно 5'-концы экспонированных РНК и выявлять транскрибируемые регуляторные участки генома: промоторы и энхансеры. В данной работе, с использованием результатов экспериментов CAGE, проводилось изучение влияния однонуклеотидных полиморфизмов (SNP, от англ. *Single-Nucleotide Polymorphisms*) на экспрессию транскрибируемых регуляторных элементов генома в сердце человека.

Метод: В исследовании использовались образцы предсердий и желудочков 31 людей (21 здоровых людей и 10 человек с кардиомиопатией), для которых проводились эксперименты CAGE. Прочтения, полученные из этих экспериментов, использовались для поиска SNP и определения случаев аллель-специфичной экспрессии регуляторных элементов. Прочтения картировались на геном человека *hg38* с использованием программы HISAT2 (v2.2.1) [1], аннотации GENCODE (v39, *comprehensive*) [2] и базы данных dbSNP (v151, *common*) [3]. Процедура определения SNP по данным картирования проводилась согласно протоколу GATK (v4.2.4.0) *RNA-Seq short variant discovery* [4]. Анализ аллель-специфичной экспрессии проводился по полученным покрытиям аллелей в гетерозиготных образцах согласно процедуре, используемой в ADAstra [5]. Тест на ассоциацию SNP, расположенных в стабильно экспрессирующихся регуляторных элементах генома, с кардиомиопатией проводился точным тестом Фишера с двусторонней альтернативой.

Результат: С использованием результатов экспериментов CAGE нами было определено 21258 SNP, расположенных в транскрибируемых регуляторных элементах генома сердца человека, среди которых 2 полиморфизма (*rs4256900* и *rs3172920*) оказались значимо ассоциированы с наличием кардиомиопатии. Также было определено 2033 SNP, демонстрирующих аллель-специфичную экспрессию. Для таких полиморфизмов нами был продемонстрирован случай дифференциальной аллель-специфичности, обнаруживаемой исключительно в больных образцах, что может быть обусловлено дифференциальной экспрессией определенных транскрипционных факторов.

Выводы: В данной работе по результатам экспериментов CAGE были идентифицированы однонуклеотидные полиморфизмы в образцах сердец людей с и

без кардиомиопатии, что позволило выявить случаи, ассоциированные с заболеваниями миокарда. Более того, была проанализирована аллель-специфичная экспрессия транскрибируемых регуляторных элементов генома этих образцов. Оказалось, что повышенная экспрессия транскрипционных факторов в больных образцах может приводить к дифференциальной аллель-специфичной экспрессии регуляторных элементов, содержащих сайты связывания этих белков.

Благодарность: Поддержана Российской Федерацией в лице министерства науки и образования (грант номер 075-15-2021-601).

Ссылки

1. Kim, D., Paggi, J.M., Park, C. et al. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. *Nat Biotechnol* 37, 907–915 (2019).
2. Harrow, J., Denoeud, F., Frankish, A. et al. GENCODE: producing a reference annotation for ENCODE. *Genome Biol* 7 (Suppl 1), S4 (2006).
3. S. T. Sherry, M.-H. Ward, M. Kholodov, J. Baker, L. Phan, E. M. Smigielski, K. Sirotkin, dbSNP: the NCBI database of genetic variation, *Nucleic Acids Research*, Volume 29, Issue 1, 1 January 2001, Pages 308–311.
4. DePristo, M., Banks, E., Poplin, R. et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nat Genet* 43, 491–498 (2011).
5. Abramov, S., Boytsov, A., Bykova, D. et al. Landscape of allele-specific transcription factor binding in the human genome. *Nat Commun* 12, 2751 (2021).

Разнообразие и дифференциальная экспрессия микроРНК в скелетных мышцах человека с различным соотношением быстрых и медленных волокон

Желанкин А.В.^{1*}, Юльметова Л.Н.¹, Генерозов Э.В.¹

¹ Лаборатория молекулярной генетики человека, ФГБУ ФНКЦ Физико-химической медицины ФМБА России

* zhelankin.andrey@gmail.com

Ключевые слова: скелетные мышцы, микроРНК, мышечные волокна, транскриптом, секвенирование

Соотношение быстрых и медленных волокон в разных скелетных мышцах человека достаточно вариабельно и во многом детерминировано на генетическом уровне. Быстрые и медленные волокна различаются как морфологически, так и по белковому и транскриптомному профилям. В данном исследовании мы использовали высокопроизводительное секвенирование малых РНК для изучения вклада микроРНК в состав волокон скелетных мышц.

В исследование были включены десять мужчин-спортсменов в возрасте до 40 лет, которые дали письменное информированное согласие на участие в данном исследовании. Спортсмены были разделены на две группы на основе соотношения типов волокон скелетных мышц и типа тренировочной деятельности. В первую группу (*type1*, $n = 5$) вошли спортсмены на выносливость (стайеры) с преобладанием медленных мышечных волокон. Вторая группа (*type2*, $n = 5$) включала силовых атлетов или спринтеров с преобладанием быстрых мышечных волокон. Образцы ткани латеральной широкой мышцы бедра (*vastus lateralis*) были получены с помощью биопсии иглой Бергстрема с аспирацией под местной анестезией 2% раствором лидокаина. Образцы биопсии немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при температуре -80°C . Площадь поперечного сечения волокон (*CSA*, *fiber cross-sectional area*) для быстрых и медленных волокон оценивали после иммуногистохимического окрашивания участка ткани первичными антителами к изоформам тяжелой цепи миозина (*MHC*, *myosin heavy chain*). Малые РНК выделяли из образцов тканей с помощью набора *miRNeasy Mini Kit* (*Qiagen*, Германия). Библиотеки для секвенирования малых РНК готовили с помощью набора *NEBNext Small RNA Library Prep Set for Illumina* (*New England Biolabs*, США). Библиотеки секвенировали с помощью системы *MiSeq* (*Illumina*, США) с 50 циклами в режиме одноконцевых прочтений. Для анализа микроРНК были отобраны прочтения с длиной от 16 до 28 нуклеотидов со средним количеством по всем образцам более 2 и присутствующие как минимум в 10% образцов. С помощью программы *QuickMIRSeq* прочтения после обрезки адаптеров были выровнены на базу данных микроРНК, и были рассчитаны значения экспрессии микроРНК в *CPM* (*counts per million*). Транскриптомы были предварительно получены для всех образцов с помощью секвенирования РНК, очищенной от рибосомальной РНК.

Среднее количество прочтений на образец составило 1,09 млн (от 0,91 до 1,53 млн). В среднем, 95% прочтений приходилось на микроРНК. Общее количество детектированных микроРНК в образце составило от 346 до 399. Однако, порядка 80% прочтений приходилось на одну высокопредставленную микроРНК, специфичную для мышечной ткани, *miR-1-3p*.

Анализ главных компонент (*PCA*) на основе данных секвенирования микроРНК показал, что образцы из двух групп образуют два разных кластера на графике *PCA P1-P2*. Повышение уровней *miR-206*, *miR-501-3p* и *miR-185-5p* и понижение уровней *miR-499a-5p* и *miR-208-5p* было обнаружено в группе с преобладанием быстрых волокон по сравнению с группой с преобладанием медленных волокон (*quasi-likelihood F-test* в *EdgeR*, $p < 0,05$ и $\log_2FC > 1$). Четыре из этих микроРНК происходили от митохондрий – участков интронов генов, несущих гены микроРНК, и две из них (*miR-208b-3p* и *miR-499a-5p*) имели сильные корреляции в экспрессии со своими генами-носителями

(*MYH7* и *MYH7B*, соответственно). Мишени матричной РНК (мРНК) были найдены для микроРНК со средним значением *CPM* ≥ 20 по данным базы *miRTarBase*, учитывая взаимодействия, которые были экспериментально подтверждены по крайней мере тремя методами. Корреляции между экспрессией микроРНК и их генов-мишеней рассчитывались на основе значений *CPM*. Было выявлено 26 взаимодействий микроРНК-мРНК с высокой корреляцией. Примечательно, что три из этих взаимодействий принадлежали *miR-206*, что указывает на ее регуляторные связи с экспрессией генов *ESR1*, *NR1H3* и *ANXA1*. Была построена сеть взаимодействий между дифференциально экспрессированными микроРНК и их генами-мишенями. Таким образом, совместный анализ микроРНК и транскриптомов в образцах скелетных мышц человека с различным составом волокон позволил описать разнообразие микроРНК, их дифференциальную экспрессию и потенциальные взаимодействия с их генами-носителями или генами-мишенями. Профили микроРНК различались между образцами с преобладанием быстрых или медленных волокон. Пять выявленных дифференциально экспрессированных микроРНК можно разделить на три группы: микроРНК, экспрессия которых положительно коррелировала с генами-носителями; микроРНК, экспрессия которых не коррелировала с генами-носителями; и одна каноническая микроРНК, экспрессия которой коррелировала с некоторыми из их целевых мРНК. В основном, изменения в экспрессии микроРНК между группами можно объяснить изменениями в транскриптоме, а не наоборот. Для примерно двухсот генов, которые были дифференциально экспрессированы между группами, не было обнаружено четких доказательств влияния микроРНК на экспрессию их целевых мРНК.

Гетероплазмия митохондриальной ДНК как один из факторов старения и взаимосвязанные терапевтические маркеры здорового старения

Козенков И.И.^{1*}, Татаркина М.А.¹, Лобанова В.В.¹, Попадъин К.Ю.^{1,2}, Ефименко Б.Э.¹

¹ Центр геномных исследований, БФУ им. И. Канта, Калининград, РФ

² Федеральная политехническая школа Лозанны, Лозанна, Швейцария

* ivankozenkov@gmail.com

Ключевые слова: митохондрия, гетероплазмия, эгоистичные мутации, мутационный спектр, здоровое старение

Цель работы: Провести анализ ассоциаций генетических маркеров (гетероплазмия митохондриальной ДНК) с фенотипическими и психоневрологическими маркерами здорового старения. Среди множества возможных движущих сил старения митохондриальный геном выделяется как возможный главный драйвер, так как он управляет процессом формирования митохондриальных соматических мутаций, что, в свою очередь, приводит к проявлению основных фенотипических признаков старения — нейродегенерации и мышечной дистрофии. В совокупности сочетание высокой скорости мутаций и внутриклеточного отбора может привести к тому, что митохондриальный геном с возрастом станет более «опасным» (реактивным) и накопит эгоистичные мутации. Непролиферирующие (постмитотические) ткани наиболее уязвимы для таких эгоистичных мутантов. Митохондриальные соматические делеции в нейронах и клетках скелетных мышц накапливаются с возрастом у всех людей и поэтому связаны с нормальным процессом старения (здоровым старением), характеризующимся общим ослаблением умственных и физических возможностей человека. Митохондриальные соматические делеции (как и другие варианты гетероплазмии) вредны, но даже в здоровой популяции существует огромная вариабельность возраста, в котором впервые проявляется фенотипический порог гетероплазмии мтДНК, и скорости ее распространения: у кого-то первая делеция становится обнаруживаемой в 20 лет, у кого-то в 60 лет ; у одних людей делеции чрезвычайно быстро размножаются и в конечном итоге приводят к гибели клетки-хозяина всего за 10 лет, у других этот процесс дегенерации растягивается более чем на 50 лет.

Метод: Выборка из 300 человек в возрасте старше 45 лет, биопсийная экстракция мышечной ткани из коленного или бедренного суставов, выделение и обогащение фракции митохондрий из мышечной ткани, выделение митохондриальной ДНК, глубокое секвенирование мтДНК на платформах Illumina MiSeq и BGI, биоинформатический анализ данных секвенирования и экстракция данных о гетероплазмии, статистическая корреляция с фенотипическими и психоневрологическими маркерами здорового старения.

Результат: Анализ массива данных по гетероплазмии в мтДНК и связанных с ними данных нейропсихиатрических тестов у 300 пациентов с широким фенотипическим описанием (образ жизни, физическая и умственная активность, вид труда - тяжелый, легкий, вредный или стрессовый) показал, что некоторые терапевтические маркеры лучше коррелирует с возрастным процессом старения, а не ассоциированным с болезнью.

Выводы: Предложенные фенотипические маркеры здорового старения могут служить надежной и селективной диагностикой в исследовании заболеваний, связанных с возрастными нарушениями физиологии. Предложенные терапевтические маркеры могут служить надежным и селективным диагностическим инструментом, коррелирующим с уровнем гетероплазмии в мышечной ткани пожилых людей.

Благодарность: Исследование поддержано грантом РФФ 21-75-20145 «Поиск и анализ детерминант соматической митохондриальной гетероплазмии пожилых людей».

Гетероплазмия мтДНК в скелетных мышцах пожилых людей: почему это сложно?

Татаркина М.М.^{1*}, Лобанова В.В.¹, Ефименко Б.Э.¹, Козенков И.И.¹

¹ Центр Геномных Исследований, БФУ им. И. Канта, Калининград, Россия

* tatarkina.maria.al@gmail.com

Ключевые слова: митохондрии, мтДНК, старение, скелетные мышцы, эгоистичные мутации

Цель работы: Исследование спектра соматических мутаций мтДНК в скелетных мышцах людей. Данное исследование проводилось на группе из 350 человек в возрасте от 40 до 95 лет.

Старение - это чрезвычайно сложный процесс, связанный с многочисленными фенотипами. Считается, что соматические мутации в митохондриальном геноме (мтДНК) являются одним из наиболее важных факторов старения из-за высокой скорости мутагенеза мтДНК.

Например, было показано, что вредные соматические делеции мтДНК в нейронах и скелетных мышцах накапливаются с возрастом, приводящим к нейродегенерации и мышечной дистрофии. Постмитотические ткани являются наиболее уязвимыми для соматических мутаций мтДНК из-за возможности клонального расширения эгоистичной (с вредным вариантом) мтДНК в клетке. Мы предполагаем, что соматическое мутационное бремя мтДНК может быть чувствительным маркером биологического возраста.

Методы: биопсийная экстракция мышечной ткани из коленного или бедренного суставов, выделение и обогащение фракции митохондрий из мышечной ткани, выделение митохондриальной ДНК подготовка PCR-free библиотек, секвенирование на платформе Illumina MiSeq, NovaSeq и BGI, биоинформатический анализ данных секвенирования.

Результат: Мы собрали и аннотировали 350 образцов мышечной ткани людей, для 100 из них подготовлены PCR-free библиотеки, которые были отсеквенированы на платформе Illumina NovaSeq. Мы наблюдали положительную связь между мутационным бременем мтДНК и возрастом.

Выводы: спектр соматических мутаций и их количество в мтДНК положительно коррелирует с различными фенотипами старения.

Благодарность: Исследование поддержано грантом РФ «Поиск и анализ детерминант соматической митохондриальной гетероплазмии пожилых людей», (21-75-20145).

Высокопроизводительное клонирование плазмиды pUC19 как универсальный метод оценки копийности митохондриальной ДНК в ходе исследования процессов старения.

Козенкова Е.И.^{1*}, Татаркина М.А.¹, Лобанова В.В.¹, Скрипская В.В.¹, Гончаров А.Г.¹

¹ Центр геномных исследований, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, РФ

* ekozenkova1@gmail.com

Ключевые слова: митохондрия, гетероплазмия, мутационный спектр, здоровое старение

Цель работы: Создание стандарта копийности мтДНК - плазмиды pUC19 со вставками генов из ядерного (b-actin) и митохондриального (TRNF) человеческого генома с целью оценки копийности при проведении анализа ПРЦ в реальном времени при работе с выявлением гетероплазмии митохондриальной ДНК при старении. В данном исследовании использовалась плазида pUC19, в которую были последовательно заклонированы гены b-actin и TRNF.

Метод: Участок b-actin был выделен из человеческой ядерной ДНК и амплифицирован с помощью ПЦР, вырезан и очищен из агарозного геля после электрофореза и вставлен в плазмиду pUC19 по сайтам рестрикции BamHI и EcoRI. TRNF был выделен из человеческой митохондриальной ДНК и амплифицирован с помощью ПЦР, вырезан и очищен из агарозного геля после электрофореза и вставлен в плазмиду pUC19 по сайтам рестрикции HindIII и XbaI. Данные, полученные с помощью нескольких различных методов (флуориметрическое определение концентрации ДНК с интеркалирующим красителем, ПЦР в реальном времени, гель-электрофорез и денситометрия геля) хорошо коррелируют между собой.

Результат: получена плазида pUC19 с заклонированными генами ядерного и митохондриального человеческого генома для дальнейшей оценки копийности митохондриальной ДНК при старении.

Выводы: в ходе эксперимента получена плазида pUC19 с заклонированными генами ядерного и митохондриального человеческого генома для дальнейшей оценки копийности митохондриальной ДНК при старении.

Благодарность: Исследование поддержано грантом «Поиск и анализ детерминант соматической митохондриальной гетероплазмии пожилых людей», (21-75-20145).

Эффекты хронического воспаления, снижения двигательной активности и возраста на транскриптом скелетной мышцы человека

Попов Д.В.^{1, 2*}, Курочкина Н.С.¹, Виговский М.А.^{1, 2}, Вепхвадзе Т.Ф.^{1, 2}, Леднев Е.М.¹, Махновский П.А.¹, Григорьева О.А.², Ефименко А.Ю.²

¹ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

* danil-popov@yandex.ru

Ключевые слова: старение, гипокинезия, хроническое воспаление, скелетная мышца, транскриптом

Цель работы: Старение организма ассоциировано с комплексными изменениями, включающими снижение двигательной активности, падение массы и функциональных возможностей (инсулиновая чувствительность, работоспособность и сила мышц) скелетных мышц, и с развитием различных заболеваний, зачастую проводящих к развитию хронического воспаления. Цель работы – исследовать изменения транскриптомного профиля скелетной мышцы человека при старении на фоне хронического воспаления и снижения двигательной активности.

Методы: Транскриптомный профиль (РНК секвенирование) скелетной мышцы пожилых пациентов с первичным артрозом коленного/тазобедренного сустава (ОР, n=35, 72(66-83) года, индекс массы тела (ИМТ) 30(21-43) кг/м²) сопоставляли с транскриптомом молодых здоровых добровольцев (УН, n=10, 35(25-43) лет, ИМТ 22,5(18,9-29,4) кг/м²). Для выявления роли хронического воспаления и снижения двигательной активности в изменении генной экспрессии, УН сопоставляли с группой молодых пациентов с артрозом (УР, n=7, 39(26-45) лет, ИМТ 25,8(25,4-30,9) кг/м²). Для оценки влияния возраста сопоставляли группы пациентов УР и ОР. Пробы ткани из m. vastus lateralis у пациентов брали перед операцией по замене сустава, у здоровых людей – с помощью игольчатой биопсии.

Результаты: У пациентов субъективная оценка двигательных возможностей не различалась, но была значительно ниже, чем у УН. Маркеры воспалительного ответа (уровень лейкоцитов и нейтрофилов крови) были сопоставимы между ОР и УР, но значительно выше, чем в УН. У пациентов наблюдались прогрессирующие с возрастом изменения: снижение размеров мышц бедра и метаболические нарушения (повышение уровня глюкозы и инсулина крови натощак, увеличение ИМТ). У старых людей (сравнение ОР vs. УН) увеличилась экспрессия генов (1875 мРНК) внеклеточного матрикса, мембранных белков и иммунного ответа; гены с пониженной экспрессией (2288 мРНК), преимущественно, кодировали белки митохондрий, регуляторы углеводного обмена и протеостаза. У молодых пациентов (сравнение УР vs. УН) количество генов, изменивших экспрессию, было несколько меньше (2772 мРНК), чем в предыдущем сравнении, однако направленность изменений транскриптомного профиля была очень похожа. Оказалось, что при сравнении пациентов разного возраста изменения транскриптома были невелики (111 и 362 мРНК увеличили и снизили экспрессию, соответственно). Гены, снизившие экспрессию, преимущественно кодировали различные транскрипционные факторы, а также ключевой белок антиоксидантной защиты – митохондриальную супероксиддисмутазу.

Выводы: При сопоставлении ОР vs. УН выявлены масштабные изменения транскриптома, согласующиеся с данными литературы. Большинство из этих изменений были обнаружены у молодых пациентов с артрозом (сравнение УР vs. УН), что связано с наличием хронического системного воспаления и снижением двигательной активности и свидетельствует о ключевой роли этих факторов в развитии старческого фенотипа скелетной мышцы. Сопоставление ОР vs. УР впервые позволило выявить гены, ассоциированные непосредственно со старением среди пациентов; эти гены преимущественно снизили экспрессию и включали ряд транскрипционных факторов и митохондриальную супероксиддисмутазу.

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФ (21-15-00405, биоматериалы здоровых добровольцев, транскриптомное исследование, биоинформатическое исследование), государственным заданием МГУ им. М.В. Ломоносова и выполнена с использованием оборудования, полученного в рамках программы развития МГУ им. М.В. Ломоносова (биоматериалы пациентов, клинические и лабораторные исследования).