




ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ


Научная статья

УДК 577.218

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12027

Выделение внеклеточных везикул из листьев кукурузы дифференциальным ультрацентрифугированием и идентификация в них микроРНК miR165a

Дмитрий Николаевич Федорин, Виктория Олеговна Чуйкова, Александр Трофимович Епринцев 

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, bc366@bio.vsu.ru 

Аннотация. МикроРНК представляют собой класс некодирующих молекул РНК, как важнейших регуляторов различных биологических процессов в растениях. МикроРНК играют важнейшую регуляторную роль ранней ответной реакции клетки на стрессовое воздействие, в том числе и обеспечивая межклеточную сигнализацию. Внеклеточные везикулы растений играют ключевую роль в транспорте молекул в растениях. За последнее десятилетие были разработаны многочисленные методы выделения внеклеточных везикул, при этом дифференциальное центрифугирование позволяет выделять небольших маленькие везикулы. Применение метода дифференциального центрифугирования позволило выделить из листьев кукурузы две фракции внеклеточных везикул (Р40 и Р100), различающихся размером и молекулярной массой. Фракция больших везикул имела размер более 150 нм и содержала высокомолекулярные и низкомолекулярные нуклеиновые кислоты. При этом, для везикул фракции Р100 определен размер от 30 до 200 нм, которые содержат только низкомолекулярные нуклеиновые кислоты. Разработан специфический зонд для идентификации микроРНК miR165a с помощью полимеразной цепной реакции. Применение зонда типа «стебель-петля» позволило получить матрицы кДНК размером более 70 пар нуклеотидов (п.н.), что является достаточным для оценки методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Результаты ОТ-ПЦР-анализа со специфическими праймерами к микроРНК miR165a свидетельствуют о наличии продукта амплификации размером около 70-80 пар нуклеотидов, что соответствует теоретическим значениям. Следовательно, фракции внеклеточных везикул из листьев кукурузы содержат микроРНК miR165a, что, вероятно, обуславливает их физиологическую функцию межклеточного транспорта малых некодирующих РНК.


Ключевые слова: *Zea mays*, микроРНК, везикулы, ультрацентрифугирование, электрофорез, полимеразная цепная реакция.

Для цитирования: Федорин Д.Н., Чуйкова В.О., Епринцев А.Т. Выделение внеклеточных везикул из листьев кукурузы дифференциальным ультрацентрифугированием и идентификация в них микроРНК miR165a // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 1. С. 139-146. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12027>

Original article

Isolation of extracellular vesicles from corn leaves using differential ultracentrifugation and the identification of miR165a microRNA

Dmitriy N. Fedorin, Viktoria O. Chuikova, Alexander T. Eprintsev 

Voronezh State University, Voronezh, Russia, bc366@bio.vsu.ru 

Abstract. MicroRNAs are a class of non-coding RNA molecules that act as important regulators of various biological processes in plants. MicroRNAs play a significant regulatory role in the early reaction of the cell to a stressful impact, including intercellular signalling. Extracellular vesicles of plants are essential for the transport of molecules in plants. Numerous methods for isolating extracellular vesicles have been developed

over the past decade, and differential centrifugation allows the isolation of small vesicles. Using the differential centrifugation method, we managed to isolate two fractions of extracellular vesicles (P40 and P100) from corn leaves that were different in size and molecular weight. The fraction of large vesicles had a size of more than 150 nm and contained high and low molecular nucleic acids.

We also determined the sizes of vesicles of the P100 fraction which contained only low molecular nucleic acids: they were from 30 to 200 nm. A specific probe was designed to identify miR165a microRNA using polymerase chain reaction. Using the stem-loop probe allowed obtaining cDNA matrices larger than 70 nucleotide pairs (bp), which was sufficient to evaluate the polymerase chain reaction (PCR). The results of RT-PCR analysis with specific primers for miR165a microRNA showed the presence of an amplification product approximately 70-80 nucleotide pairs in size, which corresponded to theoretical values. Therefore, fractions of extracellular vesicle from corn leaves contained miR165a microRNA, which may explain their physiological function as intercellular transport of small non-coding RNAs.

Keywords: *Zea mays*, microRNA, vesicles, ultracentrifugation, electrophoresis, polymerase chain reaction.

For citation: Fedorin D.N., Chuikova V.O., Eprintsev A.T. Isolation of extracellular vesicles from corn leaves using differential ultracentrifugation and the identification of miR165a microRNA. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(1): 139-146. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12027>

Введение

В настоящее время наблюдается значительный рост исследований, связанных с внеклеточными везикулами растительного происхождения в биологических и медицинских областях [1]. Внеклеточные везикулы представляют собой мембранные округлые гетерогенные группы частиц, которые вырабатываются и секретируются прокариотическими и эукариотическими клетками как в нормальных, так и в патофизиологических условиях [2]. Первоначально предполагалось, что внеклеточные везикулы участвуют только в выведении ненужных соединений из клетки. Сегодня установлено, что они в основном осуществляют передачу сигналов между клетками и организмами.

Считается, что везикулы растений образуют гетерогенную популяцию везикул различного происхождения, включая многовезикулярные тельца (MVB), аутофагосомы, вакуоли и экзоцист-позитивные органеллы (EXPO). Размер колеблется в пределах 30-5000 нм и зависит от исходного материала и метода выделения. Внеклеточные везикулы разного размера выделяли из винограда (*V. vinifera*; 400 нм), апельсина (*C. aurantium*; 105-396 нм), имбиря (*Z. officinale*; 125-250 нм), брокколи (*B. oleracea*; 18-400 нм), моркови (*D. carota*; 100-1000 нм), хлопка (*G. arboreum*; 150 нм) [3].

Растительные везикулы представляют собой нано- и микроструктуры круглой формы, содержащие широкий спектр белков, нуклеиновых кислот (мРНК, микроРНК и другие типы коротких РНК) и вторичных метаболитов, окруженных липидным бислоем с мембранными белками, каналами, лигандами и рецепторами [4]. За последнее десятилетие было четко продемонстрировано их участие в иммунных реакциях и ответе на биотический и абиотический стрессы. Кроме того, они также могут быть вовлечены в реорганизацию клеточной стенки и в межклеточную коммуникацию [4], могут переноситься в клетки-реципиенты, изменять экспрессию генов и опосредовать функциональные эффекты [5].

Первые предположения о том, что микроРНК может транслоцироваться в соседние клетки, были получены в результате исследований miR165/166 у кукурузы и *Arabidopsis thaliana*. miR165a участвует в формировании меристемы, установлении адаксиальной/абаксиальной полярности листьев, формировании радиального рисунка корней и спецификации сосудов посредством понижающей регуляции факторов транскрипции гомеодоменлейциновой молнии III класса (HD-ZIP III) [6].

Выделение внеклеточных растительных везикул очень важно для последующего анализа микроРНК, однако имеются



различные ограничения, которые не позволяют применять один универсальный подход [1].

Метод ультрафильтрации, основанный на разделении по размеру, достаточно прост, эффективен, обладает высокой скоростью извлечения, а также не влияет на биологическую активность растительных везикул [7]. Ультрацентрифугирование включает последовательную смену низкоскоростного и высокоскоростного этапа, что использовалось для выделения микровезикул из листьев арабидопсиса, семян и проростков подсолнечника, впитывающих влагу, и листьев *Nicotiana benthamiana* [8]. Такой способ выделения обладает достаточно высоким процентом выхода чистых растительных везикул, содержащих вторичные метаболиты и нуклеиновые кислоты, которые могут быть использованы в качестве экспериментального материала в последующих исследованиях [7].

В связи с этим, целью данной работы являлось выделение внеклеточных растительных везикул с помощью дифференциального ультрацентрифугирования и исследование содержания микроРНК miR165a в разных фракциях.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования были использованы листья 14-дневной кукурузы (*Zea mays* L.), которая была выращена гидропонным способом при 25°C, 10-часовом световом дне с интенсивностью 90 мкмоль квантов·м⁻²·с⁻¹.

Выделение растительных внеклеточных везикул осуществляли с помощью метода дифференциального ультрацентрифугирования. Из растительного материала массой 0,5 г осуществляли сбор чистой апопластической жидкости путем вакуумной инфльтрации и центрифугирования при 900 г. Выделение из апопластической жидкости двух фракций везикул производили последовательными этапами низкоскоростного центрифуги-

рования при 2000 г и 10000 г с дальнейшим высокоскоростным ультрацентрифугированием при 40000 г и 100000 г [8].

Визуализацию внеклеточных везикул после разделения на фракции P40 и P100 осуществляли с помощью метода микроскопирования на приборе Olympus CX41 (Olympus, Япония) с увеличением 1000×. Выделение нуклеиновых кислот из разных фракций везикул осуществляли методом фенол-хлороформной экстракции [9].

Количественную оценку содержания нуклеиновых кислот в образцах, выделенных из фракций везикул P40 и P100, и их чистоту осуществляли спектрофотометрически на приборе NanoPhotometer C40 (Implen, Германия).

Для получения кДНК проводили обратную транскрипцию с набором MMLV (СибЭнзим, Россия) со специфическим разработанным зондом для miR165a, для чего брали 100 нг нуклеиновых кислот из каждой фракции. Параметры проведения обратной транскрипции следующие: инкубация смеси при 16°C – 30 мин, 42°C – 30 мин, 85°C – 5 мин [10].

Полимеразную цепную реакцию проводили на амплификаторе Терцик со специфическими праймерами с набором AmpliSence (Хеликон, Россия). Нуклеотидный состав праймеров miR165a: прямой – 5' cactgatcggaccaggcttca 3'; обратный – 5' gtcgatccagtgcagggtcc 3'. Параметры амплификации были следующие: предварительная денатурация – 95°C 5 минут, цикл – 95°C – 30 сек., 58°C – 30 сек., 72°C – 30 сек., финальная элонгация – 72°C – 10 минут.

Контроль качества продуктов амплификации осуществлялся с помощью гель-электрофореза в 2% агарозном геле с инттеркалирующим красителем бромистым этидием.

Денситометрические исследования электрофореграмм продуктов амплификации, с применением программного обеспечения Gel Analyzer 19.1.

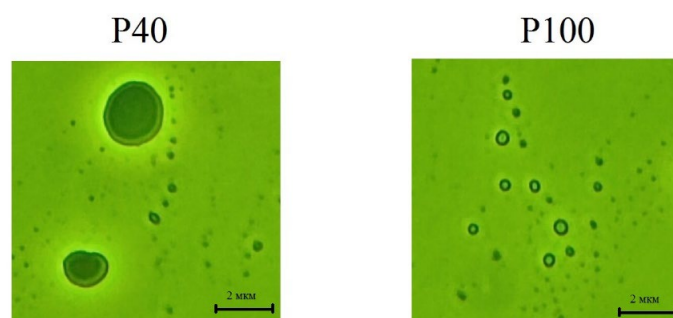


Рис. 1. Фотографии фракций внеклеточных везикул фракций P40 и P100, сделанных с помощью микроскопа Olympus CX41 с увеличением 1000×. P40 – фракция везикул, полученная после дифференциального центрифугирования со скоростью 40000 g, имеющая размер от 100 нм и более. P100 – фракция везикул, выделенная после центрифугирования со скоростью 100000 g и имеющая размер до 200 нм.

Fig. 1. Photographs of extracellular vesicle fractions P40 and P100 taken using an Olympus CX41 microscope with a magnification of 1000×. P40 is a fraction of vesicles obtained after differential centrifugation at a rate of 40,000 g with a size of 100 nm or more. P100 is a fraction of vesicles isolated after centrifugation at a rate of 100,000 g with a size of up to 200 nm.

Опыты проводились в 3-х кратной биологической и 4-х кратной аналитической повторности. В таблице представлены данные опытов, в которых каждое значение – это среднее арифметическое, посчитанное по результатам трех повторностей. Для получения достоверных данных использовались методы статистической обработки. Результаты являются достоверными, если различия между ними не больше $p \leq 0.05$ [11]. Изображения представляют собой данные типичного эксперимента, повторенного три-четыре раза.

Обсуждение результатов

Метод дифференциального центрифугирования является наиболее часто используемым способом выделения внеклеточных растительных везикул из клеточных культур и биологических жидкостей. Он состоит из нескольких этапов, включая выделение чистой апопластической жидкости с помощью вакуумной инфльтрации и центрифугирования; осуществления низкоскоростного центрифугирования при 2000 g и 10000 g для удаления мертвых клеток, клеточного мусора и крупных везикул с последующим высокоскоростным центрифугированием при

40000 g и 100000 g для получения крупных (P40) и мелких (P100) гранул везикул из листьев кукурузы [8].

Во фракции P40 основная доля наблюдаемых везикул имела диаметр более 150 нм, в то время как во фракции P100 размер полученных везикул находился в диапазоне 30-200 нм [8]. Следовательно, центрифугирование при 40000 g приводит к выделению более крупных растительных везикул, что обусловлено их большей массой (рис. 1). При этом, центрифугирование при 100000 g позволило получить везикулы небольшого размера с большой эффективностью. Применение метода дифференциального ультрацентрифугирования позволило провести качественное выделение внеклеточных везикул из листьев кукурузы в виде двух фракций, что обусловлено разницей их молекулярных масс. Масса везикул зависит от содержания в них веществ, которые включаются в ее состав при формировании самой везикулы, включая большое количество белковых компонентов, что характерно для фракции P40 [12]. Согласно литературным данным, в состав крупных и мелких везикул входят малые некодирующие РНК, в том числе и микроРНК [13].

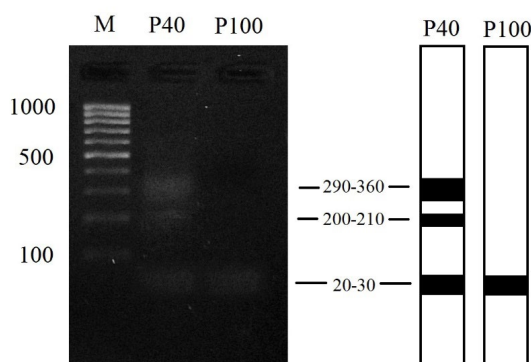


Рис. 2. Электрофореграмма нуклеиновых кислот, выделенных из фракций внеклеточных везикул P40 и P100 листьев кукурузы, в 2% агарозном геле. М – маркеры длин нуклеиновых кислот. P40 – фракция везикул, полученная после дифференциального центрифугирования со скоростью 40000 g. P100 – фракция везикул, выделенная после центрифугирования со скоростью 100000 g.

Fig. 2. Electropherogram of nucleic acids isolated from extracellular vesicle fractions P40 and P100 of corn leaves in 2% agarose gel. M – markers of nucleic acid lengths. P40 – vesicle fraction obtained after differential centrifugation at a rate of 40,000 g. P100 – vesicle fraction isolated after centrifugation at a rate of 100,000 g.

Для исследования наличия нуклеиновых кислот (НК), входящих в состав внеклеточных везикул, нами проведена их экстракция фенол-хлороформным методом. Аналитический электрофорез выделенной суммарной нуклеиновой кислоты из везикул фракций P40 и P100 проводили в 2% агарозном геле и установили различие в наборе высоко- и низкомолекулярных нуклеиновых кислот между исследуемыми фракциями. Показано, что везикулы фракции P40 содержат и высокомолекулярные соединения с молекулярной массой более 400 п.н., и низкомолекулярные – менее 100 п.н. (рис. 2). Однако, везикулы фракции P100 содержали только низкомолекулярные соединения.

Результаты денситометрии свидетельствуют о преобладании высокомолекулярных НК в везикулах P40 по сравнению с фракцией P100 (рис. 3). Наличие высокомолекулярных НК в везикулах фракции P40, вероятно, обусловлено их размерами, позволяющими включать в себя ряд мРНК, размер которых составляет до 500 п.н., что соответствует ранее полученным данным для модельного растительного объекта *A. thaliana* [14]. При этом, характер НК, наблюдаемый для об-

разца P40, полностью отличался от рисунка, наблюдаемого для тотальной клеточной РНК, что указывает на то, что выделение внеклеточных везикул методом дифференциального ультрацентрифугирования не вызывает существенного разрушения клеток. В то же время, результаты денситометрии указывают на наличие в маленьких везикулах фракции P100 только низкомолекулярных НК, размер которых не превышает 100 п.н., что соответствует большинству малых некодирующих РНК, в том числе и микроРНК.

Следовательно, фракции везикул P40 и P100 отличаются по размеру и качественному составу нуклеиновых кислот с преобладанием высокомолекулярных в составе везикул фракции P40. Высокомолекулярные молекулы нуклеиновых кислот в везикулах представлены мРНК [4], в то время как для везикул фракции P100 характерно наличие низкомолекулярных нуклеиновых кислот, в основном микроРНК и других малых некодирующих РНК.

Спектрофотометрически определено содержание нуклеиновых кислот во фракциях P40 и P100, что характеризовалось величинами 49.14 и 46.18 нг/мкл, со

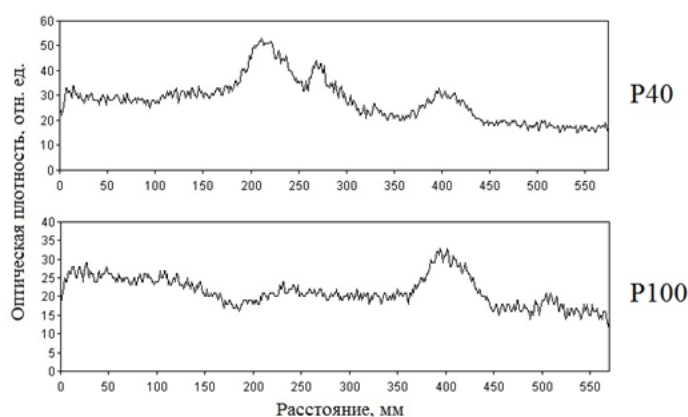


Рис. 3. Денситограмма образцов нуклеиновых кислот, выделенных из внеклеточных везикул листьев кукурузы. P40 – фракция везикул, полученная после дифференциального центрифугирования со скоростью 40000 g. P100 – фракция везикул, выделенная после центрифугирования со скоростью 100000 g.

Fig. 3. Densitogram of nucleic acid samples isolated from extracellular vesicles of corn leaves. P40 – vesicle fraction obtained after differential centrifugation at a rate of 40,000 g. P100 – vesicle fraction isolated after centrifugation at a rate of 100,000 g.

Таблица 1. Количественные характеристики препаратов нуклеиновых кислот, выделенных из везикул фракций P40 и P100 листьев кукурузы

Table 1. Quantitative characteristics of nucleic acid preparations isolated from the P40 and P100 vesicle fractions of corn leaves

Фракция везикул	Концентрация НК, нг/мкл	Чистота препарата
P40	49.14 ± 2.45	1.828 ± 0.091
P100	46.18 ± 1.85	1.739 ± 0.069

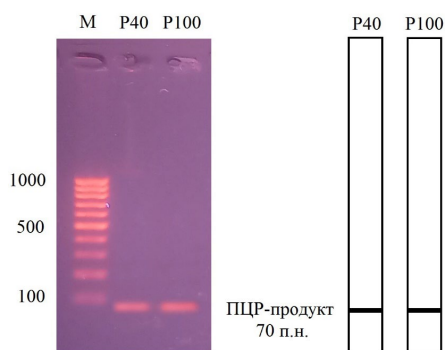


Рис. 4. Электрофореграмма ПЦР-продуктов со специфическими праймерами к микроРНК miR165a.

Fig. 4. Electropherogram of PCR products with specific primers for miR165a microRNA

ответственно (табл. 1). Для аналитических исследований нуклеиновых кислот, выделенных из фракций везикул P40 и P100, использовали 100 нг для идентификации в них микроРНК miR165a, расположение которой может быть, как на поверхности, так и внутри везикулы. Для этого применили схему обратной тран-

скрипции-ПЦР с использованием специфически созданного зонда по типу «стебель-петля», обеспечивающего формирование кДНК-матрицы для дальнейшего получения ПЦР-продукта на основе специфических праймеров [10].

Результаты ОТ-ПЦР-анализа со специфическими праймерами к miR165a показали наличие продукта амплификации

размером около 70-80 п.н. при электрофоретическом исследовании в 2% агарозном геле (рис. 4). Результаты ПЦР соотносятся с теоретическими данными, обусловленными применением зонда «стебель-петля», позволяющего сформировать кДНК длиной 70 п.н. Наличие ПЦР-продукта при амплификации НК, выделенных из везикул фракций P40 и P100, является доказательством присутствия в их составе микроРНК miR165a.

Заключение

Известно, что растительные везикулы различаются по своим размерам, химическому и молекулярному составу, что отражается на их функциональном значении [15]. Применение метода дифференциального ультрацентрифугирования с предварительной вакуумной инфльтрацией позволило получить две фракции растительных внеклеточных везикул, отличающихся по молекулярной массе. Последовательная смена низкоскоростного центрифугирования при 2000 g и 10000 g и высокоскоростного ультрацентрифугирования при 40000 g и 100000 g позволило выделить из апопластического пространства тяжелые гранулы с большой молекулярной массой (P40), а также частицы (P100), молекулярная масса которых значительно меньше. Обе фракции везикул, выделенных из листьев кукурузы, отличаются размерами и молекулярной массой, что обусловлено особенностями их формирования и включением в их состав различных биомолекул, в том

числе и разных видов нуклеиновых кислот [12, 13].

Результаты электрофоретических исследований выделенной суммарной фракции нуклеиновых кислот из разных фракций везикул свидетельствуют об их разнородном составе с преобладанием высокомолекулярных соединений во фракции P40. Применение специфических праймеров к микроРНК miR165a позволило получить ПЦР-продукт, что подтверждает наличие во фракция P40 и P100 внеклеточных везикул микроРНК miR 165a.

Таким образом, применение дифференциального ультрацентрифугирования позволило получить внеклеточные везикулы из листьев кукурузы и выделить две фракции на основе их молекулярных масс. Крупные везикулы (фракция P40) осаждались при 40000 g и имели размер от 150 до 2000 нм, маленькие везикулы (фракция P100), размером менее 200 нм, осаждались при 100000 g. Обе фракции внеклеточных везикул из листьев кукурузы содержат микроРНК miR165a, что, вероятно, обуславливает их физиологическую функцию межклеточного транспорта малых некодирующих РНК [16].

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список литературы/References

1. Xu Z., Xu Y., Zhang K., Liu Y., Liang Q., Thakur A., Liu W., Yan Y. Plant-derived extracellular vesicles (PDEVs) in nanomedicine for human disease and therapeutic modalities. *J Nanobiotechnology*. 2023; 21: 114. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01858-7>
2. Zhou Q., Ma K., Hu H., Xing X., Huang X., Gao H. Extracellular vesicles: Their functions in plant-pathogen interactions.

Mol Plant Pathol. 2022; 23: 760-771. <https://doi.org/10.1111/mpp.13170>

3. Kocholata M., Maly J., Martinec J., Auer Malinska H. Plant Extracellular Vesicles and Their Potential in Human Health Research, the Practical Approach. *Physiol Res*. 2022; 71: 327-339. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934886>
4. Alfieri M., Leone A., Ambrosone A. Plant-Derived Nano and Microvesicles for Human Health and Therapeutic Potential in Nanomedicine. *Pharmaceutics*. 2021; 13:



498. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040498>
5. Turchinovich A., Samatov T.R., Tonevitsky A.G., Burwinkel B. Circulating miRNAs: cell-cell communication function? *Front. Genet.* 2013; 4: 119. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00119>
6. Marin-Gonzalez E, Suarez-Lopez P. "And yet it moves": cell-to-cell and long-distance signaling by plant microRNAs. *Plant Sci.* 2012; 196: 18-30. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.009>
7. Xu D., Di K., Fan B., Wu J., Gu X., Sun Y., Khan A., Li P., Li Z. MicroRNAs in extracellular vesicles: Sorting mechanisms, diagnostic value, isolation, and detection technology. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022; 10: 948959. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.948959>
8. Huang Y., Wang S., Cai Q., Jin H. Effective methods for isolation and purification of extracellular vesicles from plants. *J Integr Plant Biol.* 2021; 63: 2020-2030. <https://doi.org/10.1111/jipb.13181>
9. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry.* 1987; 162: 156-159. <https://doi.org/10.1006/abio.1987.9999>
10. Fedorin D.N., Chuykova V.O., Yeprintsev A.T. Sozdaniye spetsificheskogo zonda «stebel'-petlya» dlya identifikatsii mikroRNK miR165a v list'yakh kukuruzy. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya.* 2023; 4: 41-47. (In Russ.)
11. Lakin G.F. Biometrics. M.: Higher school, 1990. 351 p. (In Russ.)
12. Cai Q., Halilovic L., Shi T., Chen A., He B., Wu H., Jin H. Extracellular vesicles: cross-organismal RNA trafficking in plants, microbes, and mammalian cells. *Extracell Vesicles Circ Nucleic Acids.* 2023; 4: 262-282. <https://doi.org/10.20517/evcna.2023.10>
13. Cai Q., Qiao L., Wang M, He B., Lin F-M., Palmquist J., Huang S-D., Jin H. Plants send small RNAs in extracellular vesicles to fungal pathogen to silence virulence genes. *Science.* 2018; 360: 1126-1129. <https://doi.org/10.1126/science.aar4142>
14. Karimi H.Z., Baldrich P., Rutter B.D., Borniego L., Zajt K.K., Meyers B.C., Innes R.W. Arabidopsis apoplastic fluid contains sRNA- and circular RNA-protein complexes that are located outside extracellular vesicles. *The Plant Cell.* 2022; 34: 1863-1881. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac043>
15. Rutter B.D., Innes R.W. Extracellular Vesicles Isolated from the Leaf Apoplast Carry Stress-Response Proteins. *Plant Physiology.* 2017; 173: 728-741. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01253>
16. Yan Y., Ham B-K. The Mobile Small RNAs: Important Messengers for Long-Distance Communication in Plants. *Front Plant Sci.* 2022; 13: 928729. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.928729>

Информация об авторах / Information about the authors

Д.Н. Федорин – доцент кафедры биохимии и физиологии клетки, доцент, кандидат биологических наук. Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

В.О. Чуйкова – бакалавр кафедры биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

А.Т. Епринцев – заведующий кафедрой биохимии и физиологии клетки, профессор, доктор биологических наук. Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

D.N. Fedorin – Associate Professor of the Department of Biochemistry and Cell Physiology, Associate Professor, Candidate of Biological Sciences. Voronezh State University, Voronezh, Russia

V.O. Chuykova – Bachelor of the Department of Biochemistry and Cell Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russia

A.T. Eprintsev – Head of the Department of Biochemistry and Cell Physiology, Professor, Doctor of Biological Sciences. Voronezh State University, Voronezh, Russia

Статья поступила в редакцию 04.12.2023; одобрена после рецензирования 20.02.2024; принята к публикации 21.02.2024.

The article was submitted 04.12.2023; approved after reviewing 20.02.2024; accepted for publication 21.02.2024.