



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.723.23

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12589

Использование диоксида кремния в качестве сорбента для очистки ДНК из ткани печени крыс при бисульфитной конверсии

Михаил Михайлович Винокуров, Ярослав Игоревич Дедов,
Наталья Владимировна Селиванова, Александр Трофимович Епринцев[✉]

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

Аннотация. Эпигенетика – одно из наиболее прогрессивных направлений в современной молекулярной биологии. Одним из механизмов эпигенетической регуляции активности генов является процесс метилирования ДНК. Для определения метильного статуса гена чаще всего прибегают к анализу метилирования ДНК с помощью химической модификации цитозиновых оснований, с последующей детекцией с применением метил-специфической ПЦР. Учитывая, что бисульфит натрия является сильным ингибитором многих ферментов, в том числе ДНК-полимеразы, то при недостаточной очистке препарата ДНК, дальнейшая амплификация и детекция становится невозможной. В исследовании был применен модифицированный метод очистки ДНК от бисульфита натрия с помощью спин-колонок с диоксидом кремния (SiO_2) в качестве сорбента. Объектом исследования служили самцы лабораторных крыс (*Rattus norvegicus* L. линии Wistar). Электрофорез в 1% агарозном геле позволил установить, что очистка ДНК от бисульфита с помощью спин-колонок с силикагелем показала более эффективный результат по сравнению с обработкой ДНК смесью спирт-глицерин. В результате количественной оценки ДНК до и после бисульфитной обработки было показано, что выход ДНК после обработки с очисткой с помощью спин-колонок составил 0.95 мкг/мкл (концентрация ДНК до обработки – 1.19 мкг/мкл), а потери составили около 20%. Тогда как количество ДНК после обработки в случае очистки от бисульфита с помощью инкубации ДНК в смеси этанол-гликоген было 0.14 мкг/мкл (потери порядка 88%). В результате исследования при помощи горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле и дальнейшей визуализации были получены ПЦР-продукты следующих размеров: 518, 180, 140 п.н., потери целевого продукта в ходе модификации ДНК бисульфитом натрия и последующей очистки составили около 20%. Полученные в ходе метил-специфичной ПЦР продукты соответствовали теоретически рассчитанному размеру. Показано, что данный модифицированный метод очистки ДНК от бисульфита натрия пригоден для анализа метильного статуса промотора гена *pdhb* пируватдегидрогеназы при работе с животными тканями, в частности, с тканями печени лабораторных крыс.

Ключевые слова: кремнезем, сорбент, спин-колонка, метилирование, ген.

Для цитирования: Винокуров М.М., Дедов Я.И., Селиванова Н.В., Епринцев А.Т. Использование диоксида кремния в качестве сорбента для очистки ДНК из ткани печени крыс при бисульфитной конверсии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 6. С. 1023-1030. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12589>

Original article

The use of silicon dioxide as a sorbent for purification of DNA from rat liver tissue during bisulphite conversion

Mikhail M. Vinokurov, Yaroslav I. Dedov, Natalia V. Selivanova, Alexander T. Eprintsev[✉]
Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, bc366@bio.vsu.ru[✉]

Abstract. Epigenetics is one of the most progressive areas in modern molecular biology. One of the mechanisms for the epigenetic regulation of gene activity is the process of DNA methylation. To determine the methyl

status of a gene, DNA methylation analysis is most often used, accompanied by chemical modification of cytosine bases, followed by detection using methyl-specific PCR. Due to the fact that sodium bisulphite is a strong inhibitor of many enzymes, including DNA polymerase, with insufficient purification of the DNA preparation further amplification and detection become impossible. A modified method of DNA purification from sodium bisulphite using spin columns with silicon dioxide (SiO_2) as a sorbent was used in the study. The object of the study was male laboratory rats (*Rattus norvegicus* L. of the Wistar line). Electrophoresis in 1% agarose gel allowed establishing that DNA purification from bisulphite using spin columns with silica gel showed a more effective result as compared to DNA treatment with an alcohol-glycerin mixture.

As a result of the quantitative assessment of DNA before and after bisulphite treatment, it was shown that the yield of DNA after spin column purification was $0.95 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (DNA concentration before treatment was $1.19 \mu\text{g}/\mu\text{l}$), and losses were about 20%. Meanwhile the amount of DNA after purification from bisulphite by incubation of DNA in an ethanol-glycogen mixture was $0.14 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (losses of about 88%). As a result of the study, using horizontal electrophoresis in 2% agarose gel and further visualisation, PCR products of the following sizes were obtained: 518, 180, and 140 bp, losses of the target product during DNA modification with sodium bisulphite and subsequent purification were about 20%. The products obtained during methyl-specific PCR corresponded to the theoretically calculated size. It was shown that this modified method of DNA purification from sodium bisulphite is suitable for analysing the methyl status of the promoter of the *pdhb* pyruvate dehydrogenase gene when working with animal tissues, in particular with liver tissues of laboratory rats.

Keywords: silica, sorbent, spin-column, methylation, gene.

For citation: Vinokurov M.M., Dedov Ya.I., Selivanova N.V., Eprintsev A.T. The use of silicon dioxide as a sorbent for purification of DNA from rat liver tissue during bisulphite conversion. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(6): 1023-1030. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12589>

Введение

Одним из разделов генетики, который изучает изменение экспрессии генов под влиянием внешних факторов, без изменения кодирующей способности молекулы ДНК, является эпигенетика [1]. На данный момент известно несколько основных эпигенетических механизмов: модификация белков-гистонов, функционирование различных классов микро-РНК, мобильные генетические элементы, а также химическая модификация отдельных частей гена. В современных исследованиях наиболее часто отдается предпочтение изучению метильного статуса промоторов генов [2]. Метилирование – это процесс химической модификации молекулы ДНК без изменения нуклеотидной последовательности и без нарушения кодирующей способности ДНК, при которой специфические ферменты участвуют в переносе метильных групп с S-аденозилметионина на остатки азотистых оснований в составе CpG-динуклеотида [3]. Показано, что модификации подвергаются не только цитозин, но и аденин, в результате чего образуется C5-метилцитозин и N6-метиладенин соответственно [4]. Однако

именно метилирование цитозина является довольно распространенной пострепликационной модификацией ДНК, как у людей, так и многих других организмов. Изучение степени метилирования ДНК очень полезно для наблюдения за изменением уровня экспрессии генов, а также структуры хроматина при различных условиях. Наиболее часто для исследования метильного статуса применяется метил-специфичная ПЦР [5].

Как известно бисульфит натрия часто выступает сильным ингибитором многих ферментов, ДНК-полимераза не является исключением. Поэтому недостаточная очистка ДНК от названной соли может привести к нарушению процесса амплификации и последующего анализа. Наиболее частым некоммерческим методом очистки ДНК является инкубация с ацетатом аммония, однако время и выход очищенной ДНК очень мал, особенно при работе с органами лабораторных крыс. Применение диоксида кремния в качестве сорбента для выделения нуклеиновых кислот известно очень давно. Процесс взаимодействия SiO_2 с ДНК можно разделить на несколько стадий [6]:

1 – Электростатический эффект. Увеличение концентрации соли (а именно,



ионной силы раствора) способствует увеличению адсорбции молекулы ДНК. Считается, что повышенная концентрация катионов соли экранирует отрицательные заряды, как на поверхности ДНК, так и кремнезема, тем самым уменьшая электростатическое отталкивание (в процессе метилирования геномная ДНК обрабатывается довольно высокой концентрации бисульфита натрия).

2 – Эффекты дегидратации. Механизм напоминает процесс высаливания белков, в результате которого хаотропные соли разрушают гидратную оболочку, за счет захвата свободных молекул воды. В результате это также способствует увеличению адсорбции.

3 – Образование водородных связей между молекулой ДНК и силикой, зависит от значения рН (снижение рН способствует увеличению адсорбции, за счет того, что некоторые фосфатные группы нуклеотидов становятся протонированными). Помимо этого, имеются данные о том, что на процесс адсорбции оказывает влияние изменение пространственной организации молекулы ДНК [6]. Так, было показано, что конформационного состояния нуклеотида сильно зависит от концентрации электролита (при высоких концентрациях электролита наблюдалось повышение гибкости олигонуклеотида, что приводило к раскручиванию спирали и разделению двух нитей, позволяя им связываться непосредственно с поверхностью кремнезема и наоборот).

Ранее был разработан метод очистки ДНК с помощью кремнезема, однако, низкая концентрации последнего (соотношение SiO_2 :ДНК -1:33) и последующие стадии отмывки приводили к потере целевого продукта [7]. Помимо этого, выделение геномной ДНК из животной клетки, без использования коммерческих наборов, связано с относительно низким выходом (около 1 мкг/мкл), который значительно снижается после бисульфитной конверсии, что делает затруднительным

последующий анализ. В связи с этим, целью исследования было модификация метода очистки ДНК, позволившая сократить время исследования и повысить выход конечного продукта, что имеет особое значение при бисульфитном секвенировании.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовались самцы лабораторных крыс (*Rattus norvegicus* L. линии Wistar) в возрасте 12 недель и массой тела 150-180 г ($n=5$). Животные содержались в виварии при одинаковых, стандартных условиях (температура 25°C, естественное освещение) и свободным доступом в течение дня к воде и корму.

Для получения ткани печени крысы были подвержены декапитации под эфирным наркозом с последующей аутопсией. Вскрытие животных и извлечение печеночной ткани проводили, согласно рекомендациям [8]. Забор биоматериала осуществлялся в течение часа с последующей отмывкой ледяным 0.9% NaCl до бледно-желтого цвета, заморозкой при -80°C и транспортировкой в лабораторию.

Нуклеиновые кислоты выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. В качестве главного осадителя РНК и ДНК применялся 10 М ацетат натрия [9]. Для разделения фракций РНК и ДНК использовался 8 М LiCl [10]. Качественный анализ ДНК осуществляли с помощью электрофореза в 1% агарозном геле (Helicon, Россия). Измерение концентрации ДНК осуществляли спектрофотометрически на спектрофотометре Evolution 200 («Thermo scientific», США). Измерения проводили в 0.9% растворе NaCl при длине волны 260 нм. Расчёт концентрации ДНК осуществляли в программе (http://molbiol.ru/scripts/01_03.html). Выход суммарной клеточной ДНК в процессе выделения составил 1.2 мкг/мкл.

Сорбент для спин-колонок готовили по ранее разработанной методике [5].

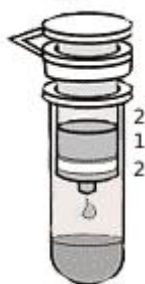


Рис. 1. Схема спин-колонки: 1 – сорбент; 2 – фильтр из нитроцеллюлозной мембраны
Fig. 1. Spin column diagram: 1 – sorbent; 2 – nitrocellulose membrane filter

Спин-колонку снизу и сверху фиксировали мембраной из нитроцеллюлозы, а в середину вносили сорбент (рис. 1).

Модификация ДНК бисульфитом натрия. Процесс модификации включал в себя три этапа [1]. На первом этапе, предварительно обработанная 3 М NaOH, ДНК конвертировалась путём добавления смеси, содержащий 4.5 М бисульфита натрия и 200 мМ гидрохинона. Данная смесь инкубировалась в амплификаторе Personal cycle («Biometra», Германия) в течение 3 часов. Программа включала в себя следующие стадии:

- Предварительная денатурация – 95°C на протяжении 5 минут;
- Проведение 11 циклов, включающих стадии: 95°C в течение 30 секунд; 55°C в течение 15 минут

Второй этап включал в себя очистку ДНК, подвергшейся модификации, от бисульфита натрия с использованием спин-колонок. В качестве сорбента была использована кремнеземная матрица. Смесь ДНК-бисульфит (150 мкл) наносили на спин-колонку и центрифугировали 2 мин при скорости 13000 оборотов/мин. Затем жидкость удаляли. Последующую экстракцию ДНК осуществляли путем добавления дистиллированной воды или ТЕ-буфера (с низкой ионной силой и рН 8.0), повторно центрифугировали 5 мин при скорости 13000 оборотов/мин. Полученный фильтрат содержал очищенную ДНК. Параллельно аналогичные образцы ДНК, обработанные бисульфитом очищали инкубацией с раствором

гликогена (20 мг/мл; 2 мкл) и 96% этанола (2 мл) на -20°C в течение 30 минут, после чего раствор центрифугировали 30 минут при скорости 13000 об/мин, осадок растворяли в 100 мкл ТЕ-буфера.

Третий этап – десульфитирование. Очищенную ДНК инкубировали с 0,3 М NaOH в течение 20 минут при 37°C. Затем к ДНК добавляли смесь спирта и ацетата аммония: 10 М ацетата аммония (35 мкл) и 3 объема изопропанола. Инкубировали не менее 30 минут при -20°C. Затем, центрифугировали в течение 30 минут при скорости 13 000 оборотов/мин, дважды промывали охлажденным 80% этанолом, высушивали и растворяли в воде, свободной от ДНКаз.

Для определения метильного статуса CpG-динуклеотидов в промоторе гена *pdhb* пируватдегидрогеназы проводили метил-специфичную ПЦР с применением набора 5X qPCRmix-HS (ЗАО «Евроген», Москва). Амплификация осуществлялась на амплификаторе ТП4-ПЦР-01-«Терцик» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Были подобраны и использованы праймеры для метилспецифичной ПЦР. В каждом праймере анализировался один CpG-динуклеотид (табл.)

Амплификация включала следующие этапы:

1. Предварительная денатурация – 95°C на протяжении 10 минут;
2. Проведение 35 циклов, включающих стадии: 95°C в течение 45 секунд; 58°C в течение 45 секунд; 72°C в течение 45 секунд;

Таблица. Праймеры к генам пируватдегидрогеназы для метил-специфичной ПЦР
 Table. Primers for pyruvate dehydrogenase genes for methyl-specific PCR

Название	Положение исследуемого цитозина		Последовательность	Температура отжига, °С	Размер продукта, п.н.
M1 (f)	1	-224	5'-TTATTTAGGAAGGCGG-3'	51	518
MU (r)			5'-CCTAATAAAAATAAATACCAA-TATAA-3'		
U1 (f)			5'-TTTATTTAGGAAGGTGGG-3'		
MU (r)			5'-CCTAATAAAAATAAATACCAA-TATAA-3'		
M2 (f)	2	-268	5'-ATTTTGGGTAAGGTCG-3'	49	180
MU (r)			5'-CCTAATAAAAATAAATACCAA-TATAA-3'		
U2 (f)			5'-GATTTTGGGTAAGGTTG-3'		
MU (r)			5'-CCTAATAAAAATAAATACCAA-TATAA-3'		
M3 (f)	3	-603	5'-TAGGTTTGAAAGATCGG-3'	51	140
MU (r)			5'-CCTAATAAAAATAAATACCAA-TATAA-3'		
U3 (f)			5'-GAGTAGGTTTGAAAGATTG-3'		
MU (r)			5'-CCTAATAAAAATAAATACCAA-TATAA-3'		

3. Финальная элонгация осуществлялась в течение 10 минут при температуре 72°C.

Детекция продуктов осуществлялась путем электрофоретического анализа (2% агарозный гель). Для определения специфических продуктов использовались ДНК-маркеры ДНК 100+ bp («Евроген», Россия).

Опыты проводили в шестикратной повторности. Предварительная оценка характера распределения проводилась по асимметрии и эксцессу (Excel, MicrosoftOffice), дальнейший анализ проводили в программе Статтех (StatTech 4.2.6; ООО «Статтех», Россия). Данные, представленные в данной работе, статистически значимы, $p < 0.05$.

Обсуждение результатов

Методы, в основе которых лежит бисульфитная модификация ДНК, подразумевают предварительную денатурацию ДНК под действием щелочи, после чего

одноцепочечная ДНК обрабатывается бисульфитом натрия. Обработка ДНК бисульфитом натрия является причиной дезаминирования как метилированных, так и неметилированных остатков цитозина, но реакционная способность 5-метилцитозина намного ниже, чем у неметилированных остатков цитозина [11]; поэтому неметилированные цитозины превращаются в урацилы, в то время как метилированные цитозины остаются неизменными в CpG-динуклеотидах. Такая модификация позволяет различать метилированную и неметилированную ДНК. Условием успешного проведения реакции является полная обработка ДНК бисульфитом натрия [12]. После конверсии ДНК бисульфит натрия должен быть удален из смеси, так как его присутствие предотвращает репликацию ДНК.

Для анализа качества нуклеиновых кислот проводили электрофорез в 1% агарозном геле, результаты представлены на рисунке 2, из которого видно, что очистка

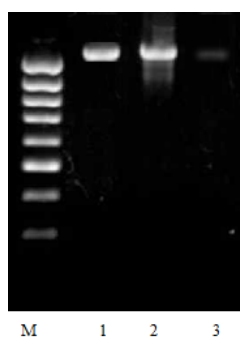


Рис. 2. Типичная электрофореграмма ДНК. М – маркеры длин ДНК, 1 – ДНК до обработки бисульфитом, 2 – ДНК после обработки бисульфитом с очисткой на спин-колодке, 3 – ДНК после обработки бисульфитом с очисткой с помощью инкубации с гликогеном и этанолом

Fig. 2. A typical DNA electrophoregram. M – markers of DNA lengths, 1 – DNA before bisulfite treatment, 2 – DNA after bisulfite treatment with spin column purification, 3 – DNA after bisulfite treatment with purification by incubation with glycogen and ethanol

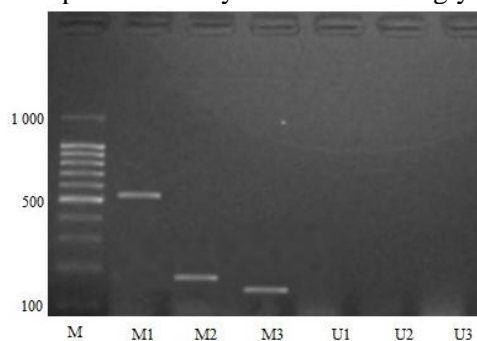


Рис. 3. Электрофореграмма ампликонов МС-ПЦР гена *pdhb*: М - маркер, М1 – ампликон с праймерами М1; М2 – ампликон с праймерами М2; М3 – ампликон с праймерами М3; U1 – ампликон с праймерами U1; U2 – ампликон с праймерами U2; U3 – ампликон с праймерами U3.

Fig. 3. Electrophoregram of the MS-PCR amplicons of the *pdhb* gene: M – marker, M1 – amplicon with M1 primers; M2 – amplicon with M2 primers; M3 – amplicon with M3 primers; U1 – amplicon with U1 primers; U2 – amplicon with U2 primers; U3 – amplicon with U3 primers.

ДНК от бисульфита с помощью спин-колонок с силикагелем показала более эффективный результат по сравнению с обработкой спирт-глицерин. В результате количественной оценки ДНК до и после бисульфитной обработки было показано, что выход ДНК после обработки с очисткой с помощью спин-колонок составил 0.95 мкг/мкл (концентрация ДНК до обработки – 1.19 мкг/мкл), а потери составили около 20%. Тогда как количество ДНК после обработки в случае очистки от бисульфита с помощью инкубации ДНК в смеси этанол-гликоген было 0.14 мкг/мкл (потери порядка 88%). Интересно, что потери ДНК после обработки

бисульфитом, предложенные ранее [7], составили 33%. Соответственно, модификация метода, предложенного Анохиной Г.Б. с соавторами, позволяет сократить потери образца, что может положительно сказаться на результатах эксперимента. Кроме того, использование спин-колонок с заряженным кремнеземом вместо добавления последнего к образцу ДНК значительно сокращает время очистки.

При последующем анализе постановкой метил-специфичной ПЦР и визуализации в 2% агарозном геле помощью трансиллюминатора SERVA BlueCube



300 (SERVA Electrophoresis GmbH, Германия) при λ -312 нм, нам удалось получить следующие продукты: 518, 180 и 140 п.н. (рис 3). Полученные ПЦР-продукты соответствовали теоретически рассчитанным размерам.

На основании полученных данных мы можем сделать вывод об эффективности данного метода очистки ДНК от бисульфита натрия из тканей печени животных организмов, в частности, лабораторных крыс.

Заключение

В ходе исследования был модифицирован ранее разработанный метод очистки ДНК от бисульфита натрия [7], что позволило сократить время и повысить выход целевого продукта. Также показано, что данный метод очистки приго-

Список литературы/References

1. Patkin E.L., Kvinn Dzh. E`pigeneticheskie mexanizmy` predraspolozhennosti k kompleksny`m patologiyam cheloveka. *E`kol. genetika*, 2010; 8(4): 44-56. (In Russ.)
2. Mehler M.F. Epigenetic principles and mechanisms underlying nervous system functions in health and disease. *Progr. Neurobiol.*, 2008; 86: 305-341.
3. Darst R.P., Pardo C.E., Ai L., Brown K.D., Kladdde M.P. Bisulfite sequencing of DNA, *Curr Protoc Mol Biol.*, 2010; 91(1): 7.9.1.-7.9.17. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0709s91>
4. Fernandes Sara B., Grova Nathalie, Roth Sarah, Duca Radu Corneliu, Godderis Lode, Guebels Pauline, Mériaux Sophie B., Lumley Andrew I., Bouillaud-Kremarik Pascaline, Ernens Isabelle, Devaux Yvan, Schroeder Henri, Turner Jonathan D. N6-Methyladenine in Eukaryotic DNA: Tissue Distribution, Early Embryo Development, and Neuronal Toxicity, *Front. Genet.*, 2021; 12: 657171. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.657171>
5. Ramalho-Carvalho J., Henrique R., Jerónimo C. Methylation-Specific PCR,

ден для дальнейшего исследования метильного статуса промотора генов пивратдегидрогеназы из печени лабораторных крыс.

Таким образом, использование спинколонок с диоксидом кремния в качестве сорбента способствует эффективной очистке молекул ДНК, выделенной из животных тканей, от бисульфита натрия и может быть использовано в качестве промежуточного этапа бисульфитной конверсии промоторов генов.

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.

Methods Mol Biol., 2018; 1708: 447-472. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7481-8_23

6. Rimola A., Costa D., Sodupe M., Lambert J-F., Ugliengo P. Silica Surface Features and Their Role in the Adsorption of Biomolecules: Computational Modeling and Experiments, *Chem. Revs.*, 2013; 113(6): 4216-4313. <https://doi.org/10.1021/cr3003054>

7. Anokhina G.B., Selivanov A.Yu., Gryazev A.S., Eprintsev A.T., Chukhlebova O.E. Razrabotka effektivnogo metoda ochistki DNK pri bisul'fitnoi konversii s ispol'zovaniem oksida kremniya v kachestve sorbenta, *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy*, 2023; 23(2): 290-298. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11152>

8. Коптыяева К.Е., Мухикян А.А., Гущин Я.А., Беляева Е.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Methodika vskrytiya i izvlecheniya organov laboratornykh zhivotnykh (krysy), *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy*, 2018; (2). <https://doi.org/10.29296/2618723X-2018-02-08>

9. Rae Peter M.M., Barnett T.R., Babbitt D.G. Factors influencing the yield of satellite DNA in extractions from *Drosophila virilis* and *Drosophila melanogaster* adults



and embryos, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1976; 432(2): 154-160. [https://doi.org/10.1016/0005-2787\(76\)90157-X](https://doi.org/10.1016/0005-2787(76)90157-X)

10. Moss D., Harbison S.A., Saul D.J. An easily automated, closed-tube forensic DNA extraction procedure using a thermostable proteinase, *Int. J. Legal Med.*, 2003; 117(6): 340-349. <https://doi.org/10.1007/s00414-003-0400-9>

11. Wang R.Y.H., Gehrke C.W., Ehrlich M. Comparison of bisulfite modification of

5-methyldeoxycytidine and deoxycytidine residues. *Nucleic Acids Res*, 1980; 8(20): 4777-4790. <https://doi.org/10.1093/nar/8.20.4777>

12. Pajares M.J., Palanca-Ballester C., Urtasun R., Alemany-Cosme E., Lahoz A., Sandoval J. Methods for analysis of specific DNA methylation status. *Methods. Elsevier Inc.*, 2020; 187:3-12. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.06.021>

Информация об авторах / Information about the authors

М.М. Винокуров – студент 6 курса, медико-биологический факультет ВГУ, Воронеж, Россия

Я.И. Дедов – аспирант 2 курса, медико-биологический факультет ВГУ, Воронеж, Россия

Н.В. Селиванова – к.б.н., доцент, кафедра биохимии и физиологии клетки, ВГУ, Воронеж, Россия

А.Т. Епринцев – д.б.н., профессор, зав. кафедрой биохимии и физиологии клетки, ВГУ, Воронеж, Россия

M.M. Vinokurov – 6th-year Student, Department of Medicine and Biology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: vinokurovm41@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-3755-1174>

Ya.I. Dedov – 2th-year Postgraduate Student, Department of Medicine and Biology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: yar.dedov@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0003-3232-451X>

N.V. Selivanova – Cand. Sci. (biology), Associate Professor, Department of Biochemistry and Cell Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: kir2202@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7148-3415>

A.T. Eprintsev – Ph.D. (biology), Professor, Head of the Department of Biochemistry and Cell Physiology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: bc366@bio.vsu.ru, <http://orcid.org/0009-0007-7339-7773>

Статья поступила в редакцию 03.07.2024; одобрена после рецензирования 27.11.2024; принята к публикации 04.12.2024.

The article was submitted 03.07.2024; approved after reviewing 27.11.2024; accepted for publication 04.12.2024.