

Министерство науки и высшего образования РФ  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

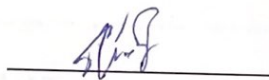
Специальность: 06.03.01 – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
Дипломная работа

ИССЛЕДОВАНИЕ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В  
СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ЧЕЛОВЕКА

Работа завершена:

«14» 06 2023 г.



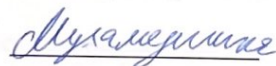
(М. Е. Яценко)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

д.м.н., доцент

«14» 06 2023 г.



(Я. О. Мухамедшина)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«14» 06 2023 г.



(А. Р. Каюмов)

Казань – 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	4
ВВЕДЕНИЕ .....	6
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	8
1.1 Малые некодирующие РНК .....	8
1.2 МикроРНК .....	9
1.3 Травма спинного мозга .....	45
1.4 Постановка диагноза .....	45
1.5 Источники получения микроРНК при ТСМ .....	45
1.6 Выделение и анализ микроРНК из СМЖ человека .....	45
1.6.1 Сбор и хранение образцов СМЖ .....	18
1.6.2 Выделение микроРНК .....	19
1.6.3 Оценка качества полученной микроРНК .....	20
1.6.4 Методы нормализации полученных данных .....	21
Заключение .....	23
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ .....	24
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	24
2.1 Биологический материал .....	24
2.2 Реактивы .....	24
2.3 Выделение микроРНК с помощью фенол-хлороформной экстракции TRIzol™ LS Reagent .....	24
2.4 Анализ полученных фракций .....	25
2.4.1 Количественный анализ РНК .....	25
2.4.2 Качественный анализ РНК .....	25
2.5 Построение библиотеки для секвенирования .....	26
2.6 Секвенирование следующего поколения .....	28
2.7 Биоинформатический анализ .....	28
2.8 Статистический анализ .....	28

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	29
3.1 Определение количества выделенных фракций РНК .....	29
3.2 Анализ полученных результатов .....	30
3.2.1 hsa-miR-145-5p.....	32
3.2.2 hsa-miR-130a-3p .....	34
3.2.3 hsa-miR-204-5p.....	38
3.2.4 hsa-miR-27b-3p.....	41
ВЫВОДЫ.....	44
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	45

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТ	Апоптотические тельца
АФК	Активные формы кислорода
БП	Болезнь Паркинсона
ГР	Глюкокортикоидные рецепторы
ГЭБ	Гемато-энцефалический барьер
И/Р	Ишемия/Реперфузия
кДа	Килодальтон
ЛПВП	Липопротеины высокой плотности
ЛПС	Липополисахарид
миРНК	МикроРНК
Мкл	Микролитры
Мл	Миллилитры
МР	Минералокортикоидные рецепторы
мРНК	Матричная РНК
мякРНК	Малые ядрышковые РНК
мяРНК	Малые ядерные РНК
Нг	Нанограмм
нкРНК	Некодирующие РНК
Пкг	Пикограмм
РНК	Рибонуклеиновая кислота

СМЖ	Спинномозговая жидкость
ТСМ	Травма спинного мозга
ЦНС	Центральная нервная система
ЧМТ	Черепно-мозговая травма
ЧСгм	Черная субстанция головного мозга
АГО2	Argonaute 2
МQ	Mili-Q вода

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на прогресс в области нейробиологии и нейрохирургии, актуальными остаются вопросы надежной терапии и прогнозирования восстановления людей, пострадавших от нейротравмы. Существующие подходы для физиологической оценки нейротравм включают инструменты для визуализации, такие как магнитно-резонансная томография и компьютерная томография, которые дают исчерпывающую информацию о локализации повреждения и его тяжести на уровне всего организма. Биохимические показатели крови так же помогают оценить степень полученной травмы, но до сих пор нет надежного способа назначить корректную терапию и сделать прогноз о восстановлении пациента после нейротравмы. В качестве биомаркеров рассматриваются различные биологические молекулы, в том числе некодирующие РНК, роль которых активно изучается учеными [Herrold *et al.*, 2021].

Наиболее изученной группой некодирующих РНК является микроРНК. В качестве биомаркеров микроРНК привлекальны тем, что данные молекулы можно обнаружить в любых биологических жидкостях, клетках и тканях живых организмов. Также, они устойчивы при различных уровнях рН, стабильны после многократных циклов замораживания-оттаивания, а также профили микроРНК специфично изменяются в ответ на патологические состояния. Эти биологические молекулы уже используются в терапевтических целях как в экспериментах на животных моделях, так и в клинических испытаниях на людях. Спинномозговая жидкость рассматривается как перспективный источник биомаркеров при нейротравмах, поскольку она непосредственно контактирует с центральной нервной системой [Baichurina *et al.*, 2022].

**Целью** работы являлось идентифицировать микроРНК в спинномозговой жидкости человека, наиболее подходящие на роль биомаркеров для прогнозирования состояния при травме спинного мозга.

В работе решались следующие **задачи**:

1) Выделить микроРНК из образцов спинномозговой жидкости пациентов с травмой спинного мозга в количестве, достаточном для транскриптомного анализа.

2) Исследовать профили микроРНК пациентов с травмой спинного мозга с помощью технологии секвенирования следующего поколения и выявить микроРНК с дифференциальной экспрессией у пациентов с травмой спинного мозга в острый и подострый период.

## СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

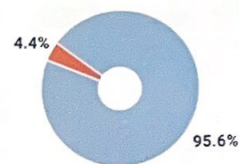
о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

### ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ STRUCTURE

**Автор работы:** Яценко Мария Евгеньевна  
**Самоцитирование**  
**рассчитано для:** Яценко Мария Евгеньевна  
**Название работы:** Исследование малых некодирующих РНК в спинномозговой жидкости человека  
**Тип работы:** Выпускная квалификационная работа  
**Подразделение:** КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ, ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ, КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

### РЕЗУЛЬТАТЫ

СОВПАДЕНИЯ	4.4%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	95.6%
ЦИТИРОВАНИЯ	0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 10.06.2023

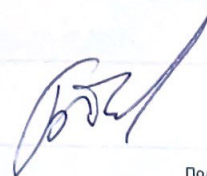
**Структура документа:** Проверенные разделы: основная часть с.1-31

**Модули поиска:** ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс\*; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ: аналитика; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Коллекция НБУ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по Интернету (EN); Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

**Работу проверил:** Бабынин Эдуард Викторович

ФИО проверяющего

**Дата подписи:**



Подпись проверяющего



Чтобы убедиться  
в подлинности справки, используйте QR-код,  
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование  
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.  
Предоставленная информация не подлежит использованию  
в коммерческих целях.