



СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ ПО ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА 16S С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИЙ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ILLUMINA И NANOPORE НА ПРИМЕРЕ НЕФТЯНЫХ ОБРАЗЦОВ

*Анастасия Сергеевна Бурлаченко^{1,2✉}, Дарья Алексеевна Некрасова³,
Михаил Юрьевич Донников¹, Артем Михайлович Ермаков⁴,
Елизавета Сергеевна Жданова⁴, Людмила Васильевна Коваленко¹,
Лаврентий Глебович Данилов⁵, Олег Сергеевич Глотов²*

¹Сургутский государственный университет, Сургут, Россия

²Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

³ООО «Сербалаб», Санкт-Петербург, Россия

⁴Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

⁵Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Использование современных методов секвенирования позволяет определять таксономическое разнообразие различных бактериальных сообществ. В особенности это позволяет оценить разнообразие штаммов бактерий, которые являются некультивируемыми. На текущий момент существует 2 поколения технологий секвенирования, позволяющие определять разнообразие микробного сообщества – 2-е поколение (представлено Illumina и BG1) и 3-е поколение (Nanopore и PacBio). Однако, так как данные технологии используют разные подходы к секвенированию, встает вопрос о воспроизводимости получаемых результатов. Проведенные исследования показали, что результаты, полученные с использованием методов секвенирования Illumina и Nanopore, различаются по индексам разнообразия и таксономическому разнообразию. Полученные результаты выявляют необходимость в разработке изменения методов пробоподготовки и выделения дезоксирибонуклеиновых кислот для получения однозначного состава микробного сообщества.

Ключевые слова: метагеномика нефти, Illumina, нанопора, секвенирование нефтяных образцов

Финансирование: работа выполнена при поддержке Российского Фонда научно-технологического развития Югры (грант № 2023-568-05).

Шифр специальности: 3.3.3. Патологическая физиология.

Для цитирования: Бурлаченко А. С., Некрасова Д. А., Донников М. Ю., Ермаков А. М., Жданова Е. С., Коваленко Л. В., Данилов Л. Г., Глотов О. С. Сравнение методов таксономического определения бактерий по последовательности гена 16S с использованием технологий секвенирования Illumina и Nanopore на примере нефтяных образцов // Вестник СурГУ. Медицина. 2025. Т. 18, № 2. С. 81–87. <https://doi.org/10.35266/2949-3447-2025-2-11>.

Original article

COMPARISON OF BACTERIA TAXONOMIC PROFILING METHODS VIA 16S RRNA GENE SEQUENCING USING ILLUMINA AND NANOPORE TECHNOLOGIES ON OIL SAMPLES

Anastasiya S. Burlachenko^{1,2✉}, Daria A. Nekrasova³, Mikhail Yu. Donnikov¹, Artem M. Ermakov⁴, Elizaveta S. Zhdanova⁴, Lyudmila V. Kovalenko¹, Lavrentiy G. Danilov⁵, Oleg S. Glotov²

¹Surgut State University, Surgut, Russia

²Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

³ООО "Cerbab", Saint Petersburg, Russia

⁴Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

⁵Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Abstract. The use of modern sequencing methods enables us to determine the taxonomic biodiversity of various bacterial communities. Specifically, it allows to assess the diversity of bacterial strains that are not cultured. At present, there are two generations of sequencing technologies that enable the determination of microbial community diversity: 2nd generation (represented by Illumina and BGI) and 3rd generation (Nanopore and PacBio). However, as these technologies use different approaches to sequencing, there is a question of reproducibility of the results. This research revealed that using Illumina and Nanopore sequencing methods differs in terms of diversity indices and taxonomic diversity. This data emphasizes the requirement to develop advanced methods for sample preparation and DNA sequencing to achieve an unequivocal microbial community profile.

Keywords: oil metagenomics, Illumina, nanopore, oil samples sequencing

Funding: the research is supported by the Russian Foundation for Scientific and Technological Development of Yugra (Grant No. 2023-568-05).

Code: 3.3.3. Pathophysiology.

For citation: Burlachenko A. S., Nekrasova D. A., Donnikov M. Yu., Ermakov A. M., Zhdanova E. S., Kovalenko L. V., Danilov L. G., Glotov O. S. Comparison of bacteria taxonomic profiling methods via 16S rRNA gene sequencing using Illumina and Nanopore technologies on oil samples. *Vestnik SurGU. Meditsina*. 2025;18(2):81–87. <https://doi.org/10.35266/2949-3447-2025-2-11>.

ВВЕДЕНИЕ

Нанопоровое секвенирование, представленное платформой Oxford Nanopore Technologies (ONT), является мощным инструментом для изучения сложных микробных сообществ в различных средах, включая нефтяные загрязнения. Данный метод основан на прохождении молекул ДНК через нанопоры, встроенные в мембрану, при этом изменение электропроводности позволяет идентифицировать нуклеотидные последовательности [1].

Ранее основным ограничением метода была высокая частота ошибок при определении последовательностей, что затрудняло точное филогенетическое и функциональное профилирование микроорганизмов. Однако за последние годы произошли значительные усовершенствования в химии секвенирования и алгоритмах bascalling, что позволило существенно повысить точность метода [1].

Одним из ключевых достижений стало внедрение новой химии пор (R9.4 и R10), которая обеспечила более стабильный сигнал и повысила точность считывания последовательностей. Современные алгоритмы bascalling, такие как Guppy, использующие рекуррентные нейронные сети, позволили увеличить точность одиночных ридов с 60 (в ранних версиях)

до 96,5 % [2]. Благодаря этим усовершенствованиям стало возможным применение ONT для анализа сложных микробных сообществ, в том числе из экстремальных сред, таких как нефтяные пласты и загрязненные углеводородами участки.

Одним из ключевых преимуществ нанопорового секвенирования является возможность получения длинных прочтений, что критично при исследовании микробных сообществ и их идентификации до уровня вида. В частности, использование ONT MinION (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, Великобритания) позволило анализировать рибосомные опероны почти полной длины, что обеспечивает точное филогенетическое определение видов и штаммов микроорганизмов [3]. В отличие от платформ коротких прочтений, таких как Illumina, ONT позволяет исследователям секвенировать ампликоны без фрагментации.

Несмотря на существующие ограничения, такие как необходимость дополнительных корректировок данных и зависимость от качества выделенной ДНК, технология ONT уже доказала свою эффективность в анализе микробных сообществ сложных сред. По сравнению с методами Illumina MiSeq V4–V5, нанопоровое секвенирование обеспечивает более детальное исследование состава бактериальных

сообществ, позволяя идентифицировать не только родовой, но и видовой уровень таксономической принадлежности организмов [4].

Цель исследования – сравнение эффективности секвенирования участков 16S рРНК с использованием разных платформ секвенирования на примере образцов нефти.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение ДНК. Выделение ДНК проводилось с использованием набора «Meta Soil» Raissoil» с заменой оригинальных буферов производителя на буферы из литературных данных в соответствии с протоколом из статьи [5].

Аmplification образцов для нанопорового секвенирования. В ходе исследования применяли праймеры, специфичные к полному оперону 16S рРНК [6] и гипервариабельным участкам V3–V4 [7]. Подбор осуществляли на основе анализа научной литературы и данных референсной базы Silva.

Для увеличения концентрации итогового продукта, ампликонов 16S рРНК для бактерий и коротких фрагментов V3–V4 у бактерий проводилась постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием набора Encyclo Plus PCR kit (Евроген, Россия). Для получения длинных фрагментов 16S рРНК ПЦР проводилась в два этапа. Для коротких фрагментов V3–V4 – в один.

Алгоритм ПЦР для 16S состоял из двух этапов амплификации. В первом раунде нарабатывался целевой ампликон. Во время второго этапа ПЦР производилось баркодирование образцов.

Все образцы разводились до итоговой концентрации не более 10 нг/мкл ДНК для уменьшения действия возможных клеточных ингибиторов в образце. Измерение концентрации ДНК перед и после амплификации проводили с помощью Qubit Fluorometer and Qubit RNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, USA).

После образцы смешивали с реакционной смесью ПЦР (5X буфер, смесь dNTP (10 мМ), 50X Encyclo полимеразы, деионизированной водой, смесь праймеров (10 мМ)). Полученная смесь использовалась для проведения амплификации с заданной программой: предварительная денатурация цепи ДНК при 95 °C 3 мин, цикл – денатурация 95 °C 30 сек, отжиг праймеров 61 °C 30 сек, элонгация 72 °C 3 мин, итоговая элонгация – 72 °C 5 мин. Количество циклов варьировалось от 35 до 40. Полученный продукт реакции визуализировался с помощью электрофореза в 1,5 % агарозном геле.

После первого этапа амплификации образцы подвергались очистке от неспецифических фрагментов и реагентов и концентрированию на спин-колонках с помощью набора Cleanup Mini (Евроген, Россия). Элюирование проводили в 15 мкл буфера.

Во втором раунде амплификации для увеличения концентрации целевого продукта и баркодирования образцов использовались ампликоны из первого раунда и смесь из деионизированной воды, свободной от нуклеаз, 10X Encyclo буфера для ПЦР, смеси dNTP (10 мМ), ПЦР праймера (10 мМ), 50X Encyclo полимеразы и смесь баркодов (10 мМ). Полученная смесь использовалась для проведения амплификации с заданной программой: предварительная денатурация цепи ДНК при 95 °C 3 мин, цикл – денатурация 95 °C

30 сек, отжиг праймеров 62 °C 30 сек, элонгация 72 °C 2 мин, итоговая элонгация 72 °C 5 мин, 15 циклов. Продукт реакции визуализировался с помощью электрофореза в 1,5 % агарозном геле.

В случае коротких фрагментов V3–V4 полимеразная цепная реакция проводилась в один этап. Создавалась общая реакционная смесь, включавшая в себя праймеры на вариативные регионы и баркоды (5X буфер, смесь dNTP (10 мМ), 50X Encyclo полимеразы, деионизированной водой, смесь праймеров для V3–V4 (10 мМ), ПЦР праймера (10 мМ), смесь баркодов (10 мМ)). Полученная смесь использовалась для проведения амплификации с заданной программой: предварительная денатурация цепи ДНК при 95 °C 3 мин, этап наработки фрагментов V3–V4 – денатурация 95 °C 20 сек, отжиг праймеров 55 °C 30 сек, элонгация 72 °C 30 сек, 5 циклов, после шел этап пришивания баркодов: денатурация 95 °C 20 сек, отжиг праймеров 62 °C 30 сек, элонгация 72 °C 30 сек, 30 циклов, итоговая элонгация проводилась при 72 °C 10 мин. Полученный продукт реакции визуализировался с помощью электрофореза в 1,5 % агарозном геле.

По завершению всех этапов амплификации образцы подвергались очистке от реакционной смеси на спин-колонках Cleanup Mini (Евроген, Россия).

Нанопоровое секвенирование. Секвенирование производилось на приборе MinION (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, Великобритания), использовался протокол для подготовки библиотеки Ligation Sequencing Kit (SQK-LSK109), с пропуском этапа баркодирования.

Предварительная очистка и удаление побочных фрагментов производилась на магнитных частицах MagPure A4 XP (Guangzhou Magen Biotechnology Co., Ltd, Китай) в соответствии с протоколом.

Бейсколлинг проводили с помощью программы Guppy (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, Великобритания) версии 6.4.6 параллельно с процессом секвенирования.

Пробоподготовка образцов для оптического секвенирования. Ключевые этапы протокола включали в себя смесь 5 мкл буфера, содержащего высокоточную ДНК-полимеразу и соответствующую смесь дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, 0,5 мкл прямого праймера 16S, 0,5 мкл обратного праймера 16S, 10 нг ДНК-матрицы и дополняли объем до 4 мкл воды Milli-Q. Кроме того, для контроля были подготовлены два отрицательных контрольных образца.

Получение ампликонов осуществлялось методом полимеразной цепной реакции. Процедура проведения реакции была следующей: начальное денатурирование проводилось при температуре 95 °C в течение 3 минут, после чего следовали 35 циклов, каждый из которых включал в себя 15-секундное денатурирование при 95 °C, отжиг при 55 °C в течение 30 секунд и удлинение фрагмента при 72 °C на протяжении 30 секунд. Завершалась реакция этапом при 72 °C в течение 5 минут, после чего температура была снижена до 4 °C и поддерживалась на этом уровне.

В текущем исследовании ДНК-библиотеки подвергали очистке от компонентов реакционной смеси ПЦР с использованием коммерческого набора для очистки ДНК AMPure XP, основанного на парамагнитных частицах, что позволяло эффективно удалять дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (dNTPs), соли,

праймеры и димеры праймеров. После завершения реакции ПЦР в каждую микропробирку с ДНК-библиотекой добавляли 16 микролитров парамагнитных частиц и 10 микролитров деионизированной воды типа Milli-Q для оптимизации удаления мелких фрагментов ДНК, инкубируя при комнатной температуре в течение пяти минут для обеспечения связывания ампликонов ДНК с частицами. Затем пробирки помещали на магнитный штатив и удаляли супернатант, к каждому образцу добавляли 200 микролитров свежеприготовленного 80%-го этанола. После удаления этанола пробирки инкубировали при комнатной температуре в течение 3–5 минут для высыхания остаточных капель спирта. В окончательной стадии ДНК элюировали, добавляя 25 микролитров сверхчистой воды Milli-Q, а затем отбирали 23 микролитра элюата без магнитных частиц в чистые пробирки. Концентрация ДНК в полученных образцах была определена с использованием набора для количественного измерения двухцепочечную ДНК (dsDNA).

Индексы были лигированы к полученным ампликонам с использованием реакции ПЦР, в ходе которой применялись индексы Nextera XT Index 1 (N7XX) и Nextera XT Index 2 (S5XX). В реакционную смесь вводили 10 нг ДНК, 1 мкл каждого из индексов, что обеспечивало уникальную комбинацию двух различных типов последовательностей, а также 5 мкл буфера, содержащего высокоточную ДНК-полимеразу и смесь дезоксирибонуклеозидтрифосфатов KAPA HiFi HS RM. Остаточный объем доводили водой.

Программа амплификации была следующей: первый этап – нагревание до 94 °C в течение 3 минут, за которым следовало 8 циклов, включающих денатурацию при 94 °C в течение 30 секунд, отжиг при 57 °C в течение 30 секунд и завершение программы при 72 °C в течение 8 минут, после чего образцы оставляли при 4 °C.

Очистка амплифицированной ДНК снова проводилась с помощью набора AMPure XP, следуя ранее описанному протоколу. После очистки была выполнена оценка концентрации ДНК с использованием набора для количественного определения двухцепочечной ДНК (dsDNA). Далее образцы были пулированы с количеством ДНК каждого из образцов 30 нг.

Биоинформатическая обработка. Обработка результатов секвенирования проводилась с использованием среды программирования R (v. 4.4.3) [8]. Для фильтрации прочтений, удаления химер и определения таксономического разнообразия использовался пакет dada2 (v. 1.30.0) [9]. Для таксономической классификации ампликонных последовательностей использовали базу данных SILVA (v.138.2) [10], содержащую выровненные последовательности 16S рРНК с сопоставленной таксономией. Для последующих манипуляций использовались следующие пакеты: phyloseq (v. 1.46.0) [11] – для интеграции данных о таксономии и последовательностях с метаданными; vegan (v. 2.6–

10) [12] – для расчета индексов α - и β -разнообразия. Статистическое сравнение индексов α -разнообразия проводилось с использованием теста Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При обработке результатов секвенирования нами было обнаружено 111 родов при использовании секвенатора Oxford Nanopore и 89 родов при использовании технологии Illumina (рис. 1).

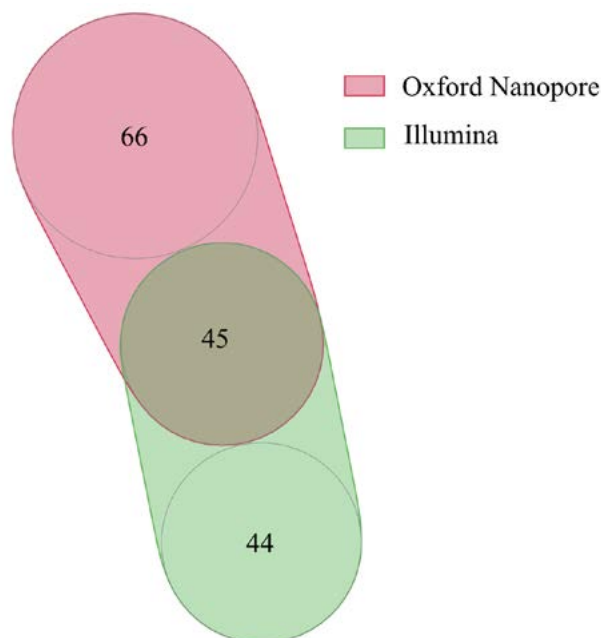


Рис. 1. Количество общих родов для разных платформ секвенирования

Примечание: составлено авторами.

Нами был рассчитан индекс биоразнообразия Шеннона для оценки представленности сообществ (рис. 2). Было показано наличие статистически значимых отличий (проведено сравнение с использованием теста Вилкоксона, p -value = 4.68e-08). Также стоит отметить, что секвенирование с использованием нанопоры приводило к обнаружению большего количества таксонов, что позволяет предположить возможность более точной детекции последовательностей.

Проведенный нами РСоА-анализ, рассчитанный с учетом расстояния Брея – Кертиса, показал частичное разделение микробиомных профилей, полученных с использованием исследуемых платформ (рис. 3). Анализ методом PERMANOVA подтвердил наличие статистически значимого отличия между группами (p -value = 0,001), что отражает различия в чувствительности к определению таксонов. Притом следует отметить, что повышенный уровень разнообразия наблюдался у образцов, отсеквенированных с использованием технологии Nanopore.

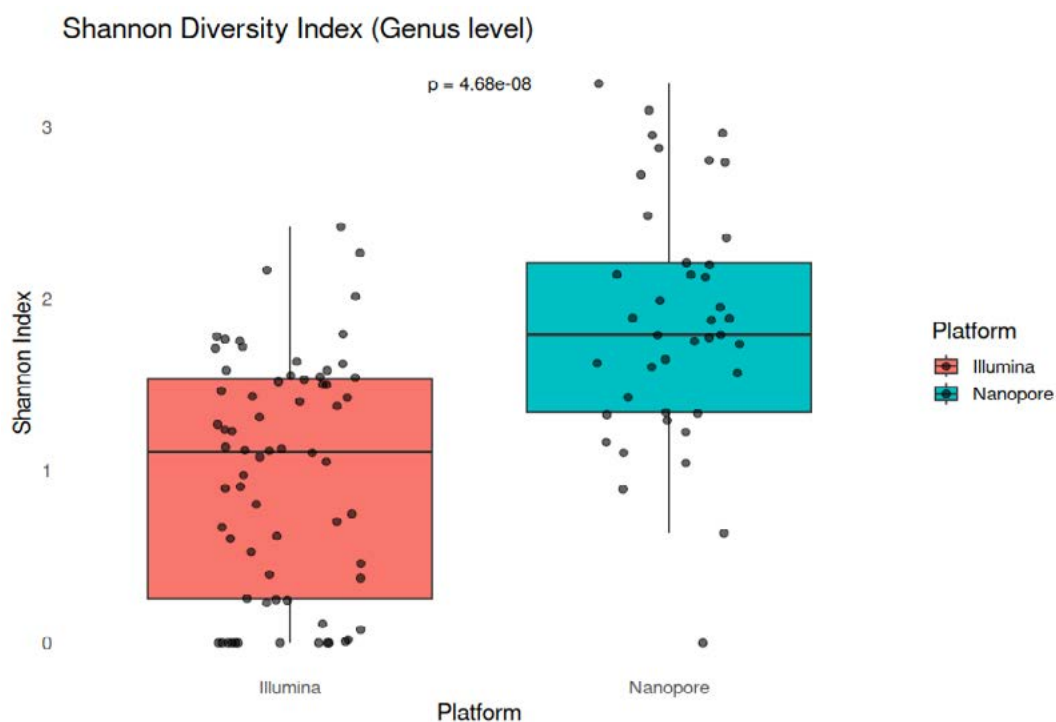


Рис. 2. Сравнение индекса Шеннона

Примечание: составлено авторами.

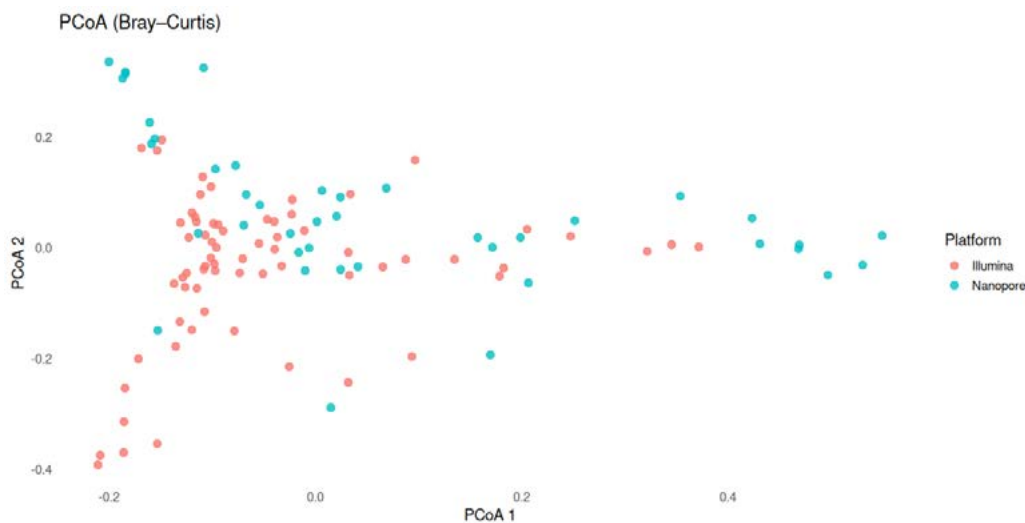


Рис. 3. Анализ бета-разнообразия образцов

Примечание: составлено авторами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного анализа можно сделать вывод о том, что особенности микробиомного состава нефтяных сообществ оказывают влияние на его оценку. Использование различных платформ секвенирования приводит к получению достаточно разнонаправленных результатов и для более полной картины необходимо сочетать различные методы секвенирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

REFERENCES

1. Rang F. J., Kloosterman W. P., de Ridder J. From squiggle to basepair: Computational approaches for improving nanopore sequencing read accuracy // *Genome Biology*. 2018. Vol. 19.
2. Wick R. R., Judd L. M., Gorrie C. L. et al. Completing bacterial genome assemblies with multiplex MinION sequencing // *Microbial Genomics*. 2017. Vol. 3, no. 10. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000132>.
3. Karst S. M., Dueholm M. S., McIlroy S. J. et al. Retrieval of a million high-quality, full-length microbial 16S and 18S rRNA gene sequences without primer bias // *Nature Biotechnology*. 2018. Vol. 36. P. 190–195. <https://doi.org/10.1038/nbt.4045>.
4. Kerkhof L. J., Dillon K. P., Häggblom M. M. et al. Profiling bacterial communities by MinION sequencing of ribosomal operons // *Microbiome*. 2017. Vol. 5.
5. Бурлаченко А. С., Данилов Л. Г., Готов О. С. Оптимизация метода выделения бактериальной ДНК из нефтяных образцов // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2024. № 4. С. 9.
6. Klindworth A., Pruesse E., Schweer T. et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies // *Nucleic Acids Research*. 2012. Vol. 41, no. 1.
7. Neubeck A., Sun L., Müller B. et al. Microbial community structure in a serpentine-hosted abiotic gas seepage at the Chimaera Ophiolite, Turkey // *Applied and Environmental Microbiology*. 2017. Vol. 83, no. 12.
8. The R Project for Statistical Computing. URL: <https://www.r-project.org/> (дата обращения: 01.04.2025).
9. Callahan B. J., McMurdie P. J., Rosen M. J. et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data // *Nature Methods*. 2016. Vol. 13. P. 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
10. Quast C., Pruesse E., Yilmaz P. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools // *Nucleic Acids Research*. 2013. Vol. 41. P. D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
11. McMurdie P. J., Holmes S. phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, no. 4. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.
12. Oksanen J., Simpson G. L., Blanchet F. G. et al. vegan: Community Ecology Package. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan> (дата обращения: 01.04.2025).
1. Rang F. J., Kloosterman W. P., de Ridder J. From squiggle to basepair: Computational approaches for improving nanopore sequencing read accuracy. *Genome Biology*. 2018;19.
2. Wick R. R., Judd L. M., Gorrie C. L. et al. Completing bacterial genome assemblies with multiplex MinION sequencing. *Microbial Genomics*. 2017;3(10). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000132>.
3. Karst S. M., Dueholm M. S., McIlroy S. J. et al. Retrieval of a million high-quality, full-length microbial 16S and 18S rRNA gene sequences without primer bias. *Nature Biotechnology*. 2018;36:190–195. <https://doi.org/10.1038/nbt.4045>.
4. Kerkhof L. J., Dillon K. P., Häggblom M. M. et al. Profiling bacterial communities by MinION sequencing of ribosomal operons. *Microbiome*. 2017;5.
5. Burlachenko A. S., Danilov L. G., Glotov O. S. Optimization of bacterial DNA extraction method from oil samples. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra URO RAN*. 2024;(4):9. (In Russ.).
6. Klindworth A., Pruesse E., Schweer T. et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*. 2012;41(1).
7. Neubeck A., Sun L., Müller B. et al. Microbial community structure in a serpentine-hosted abiotic gas seepage at the Chimaera Ophiolite, Turkey. *Applied and Environmental Microbiology*. 2017;83(12).
8. The R Project for Statistical Computing. URL: <https://www.r-project.org/> (accessed: 01.04.2025).
9. Callahan B. J., McMurdie P. J., Rosen M. J. et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*. 2016;13:581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
10. Quast C., Pruesse E., Yilmaz P. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*. 2013;41:D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
11. McMurdie P. J., Holmes S. phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS ONE*. 2013;8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.
12. Oksanen J., Simpson G. L., Blanchet F. G. et al. vegan: Community Ecology Package. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan> (accessed: 01.04.2025).

Информация об авторах

А. С. Бурлаченко – младший научный сотрудник;

<https://orcid.org/0000-0003-2456-8912>,

nastya_sergeevna99@mail.ru

Д. А. Некрасова – кандидат фармацевтических наук, биоинформатик;

<https://orcid.org/0000-0002-0028-9727>,

nekrasovadasha22@yandex.ru

М. Ю. Донников – врач-лабораторный генетик, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник;

<https://orcid.org/0000-0003-0120-4163>,

donnikov@gmail.com

А. М. Ермаков – заведующий лабораторией;

<https://orcid.org/0000-0001-7810-0675>,

ao_ermakovy@rambler.ru

Е. С. Жданова – младший научный сотрудник;

<https://orcid.org/0000-0002-2390-8463>,

dla_lisa@mail.ru

Л. В. Коваленко – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патофизиологии и общей патологии, директор Медицинского института;

<https://orcid.org/0000-0002-0918-7129>,
kovalenko_lv@surgu.ru

Л. Г. Данилов – младший научный сотрудник;

<https://orcid.org/0009-0000-7015-1208>,
ldanilov@spbu.ru

О. С. Глотов – доктор биологических наук, заведующий отделом экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга;

<https://orcid.org/0000-0002-0091-2224>,
olglov@mail.com

About the authors

A. S. Burlachenko – Junior Researcher;

<https://orcid.org/0000-0003-2456-8912>,
nastya_sergeevna99@mail.ru

D. A. Nekrasova – Candidate of Sciences (Pharmaceutics), Bioinformatician;

<https://orcid.org/0000-0002-0028-9727>,
nekrasovadasha22@yandex.ru

M. Yu. Donnikov – Geneticist, Candidate of Sciences (Medicine), Leading Researcher;

<https://orcid.org/0000-0003-0120-4163>,
donnikov@gmail.com

A. M. Ermakov – Head of Laboratory;

<https://orcid.org/0000-0001-7810-0675>,
ao_ermakovy@rambler.ru

E. S. Zhdanova – Junior Researcher;

<https://orcid.org/0000-0002-2390-8463>,
dla_lisa@mail.ru

L. V. Kovalenko – Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head of Pathophysiology and General Pathology Department, Director of Medical Institute;

<https://orcid.org/0000-0002-0918-7129>,
kovalenko_lv@surgu.ru

L. G. Danilov – Junior Researcher;

<https://orcid.org/0009-0000-7015-1208>,
ldanilov@spbu.ru

O. S. Glotov – Doctor of Sciences (Biology), Head of the Experimental Medical Virology, Molecular Genetics and Biobanking Department;

<https://orcid.org/0000-0002-0091-2224>,
olglov@mail.com