

*На правах рукописи*

**ОВЧИННИКОВ ВЛАДИМИР ЮРЬЕВИЧ**

**МИКРОРНК ТРЕМАТОД СЕМЕЙСТВА  
OPISTHORCHIDAE**

Генетика – 03.02.07

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Новосибирск – 2017

Работа выполнена в лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск

Научный руководитель: **Мордвинов Вячеслав Алексеевич**  
доктор биологических наук

Официальные оппоненты: **Гришанова Алевтина Юрьевна**  
доктор биологических наук, профессор,  
руководитель лаборатории биохимии  
чужеродных соединений НИИ молекулярной  
биологии и биофизики СО РАН

**Семенов Дмитрий Владимирович**  
кандидат химических наук, доцент, старший  
научный сотрудник лаборатории  
биотехнологии ФГБУН «Институт  
химической биологии и фундаментальной  
медицины» СО РАН

Ведущее учреждение: «Новосибирский национальный  
исследовательский государственный  
университет» (НГУ)

Защита диссертации состоится «\_\_»\_\_\_\_\_2017 г. на утреннем заседании диссертационного совета Д003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», в конференц-зале Института по адресу: пр. академика Лаврентьева 10, г. Новосибирск, 630090, тел: (383) 363-49-06 (1321); факс: (383) 333-12-78; e-mail: [dissov@bionet.nsc.ru](mailto:dissov@bionet.nsc.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте Института: [www.bionet.nsc.ru](http://www.bionet.nsc.ru).

Автореферат разослан «\_\_»\_\_\_\_\_2017 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

## Общая характеристика работы

### Актуальность

*Opisthorchis felineus*, *O. viverrini* и *Clonorchis sinensis* (класс Trematoda, отряд Plagiorchiida, семейство Opisthorchiidae) – паразитические плоские черви со сложным жизненным циклом. Развитие гельминтов проходит со сменой двух промежуточных хозяев: пресноводных брюхоногих моллюсков и карповых рыб. Конечным хозяином являются плотоядные животные, включая человека. *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis* вызывают заболевание гепатобилиарной системы – описторхоз/клонорхоз. У человека данное заболевание отличается длительностью, может протекать с частыми обострениями или асимптоматически, и может способствовать возникновению рака печени. *O. viverrini* и *C. sinensis* отнесены к 1-ой группе канцерогенов. Установлено, что на территории Таиланда *O. viverrini* является одним из основных факторов риска развития холангиокарциномы. *O. felineus* в настоящее время относят к 3-й группе канцерогенов (потенциально опасные для человека).

*C. sinensis* и *O. viverrini* распространены в восточной и юго-восточной Азии; и *O. felineus* – на территории бывшего Советского Союза (особенно в западной Сибири, в бассейне реки Обь) и в некоторых европейских странах. По предварительным оценкам, по меньшей мере, 1,2 миллиона человек в мире заражены *O. felineus*, 10 миллионов инфицированы *O. viverrini* и 35 миллионов – *C. sinensis*.

Известно, что во многих биологических процессах существенную роль играют микроРНК. Данные молекулы являются малыми некодирующими РНК (длина 18-25 нуклеотида (н.)), которые подавляют экспрессию мРНК на посттранскрипционном уровне. МикроРНК очень важны для развития любого многоклеточного организма. Они являются важными участниками регуляторных событий, определяющих характер экспрессии множества белок-кодирующих генов. Недавно были получены

данные о том, что микроРНК обнаружены вне клеток в составе экзосом или в виде циркулирующих комплексов с белками. Эти внеклеточные микроРНК стабильны и, вероятно, вовлечены в межклеточные взаимодействия. Важно отметить что, микроРНК паразитов недавно были обнаружены в крови организмов, зараженных *Schistosoma japonicum* и *S. mansoni*, а также в экзосомах экскреторно-секреторного продукта *Dicrocoelium dendriticum* и *Fasciola hepatica*. Не исключено, что данные микроРНК могут быть вовлечены во взаимодействие “паразит-хозяин”, играть определённую роль в механизмах патогенеза заболевания и модуляции иммунного ответа, а также принимать участие в развитии осложнений гельминтозов, включая формирование злокачественных опухолей.

Несмотря на высокую медицинскую значимость *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*, эти трематоды слабо изучены на молекулярном уровне, особенно плохо изучены микроРНК паразитов. Таким образом, исследования микроРНК описторхид являются многообещающими в установлении молекулярных механизмов заболеваний, развития трематодозов и болезней, ассоциированных с этими паразитами. Кроме того, результаты исследования микроРНК описторхид могут быть использованы в будущем для разработки более совершенных диагностических инструментов.

### **Цели и задачи**

Целью представленной работы является идентификация и функциональная аннотация микроРНК *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Определить *in silico* микроРНК *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*;
- 2) Провести сравнительный анализ консервативных микроРНК плоских червей разных классов;

- 3) Определить мРНК-мишени в транскриптомах *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*;
- 4) Провести анализ экспрессии генов микроРНК на разных стадиях жизненного цикла *O. felineus*.

### **Научная новизна работы**

В данной работе впервые установлены нуклеотидные последовательности фракции малых РНК для *O. felineus* и *O. viverrini*, идентифицированы 55 консервативных микроРНК и одна “новая” микроРНК для *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*. Обнаружены 4 кластера генов микроРНК и 3 интронных микроРНК. Также впервые выявлены стадия-специфические микроРНК описторхид.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

МикроРНК двух организмов (*O. felineus* и *O. viverrini*) описаны впервые. Результаты секвенирования фракции малых РНК трех описторхид депонированы в базе данных NCBI (PRJNA270708). Результаты данной работы представляют основу для дальнейших исследований молекулярных механизмов жизнедеятельности описторхид, взаимодействий паразита и хозяина и патогенеза трематодозов и заболеваний, ассоциированных с этими паразитами.

### **Положения, выносимые на защиту**

- 1) Практически все зрелые микроРНК *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis* обладают идентичными последовательностями.
- 2) Большинство генов, кодирующих микроРНК, не образует кластеров у плоских червей в отличие от генов микроРНК других представителей Lophotrochozoa.
- 3) Эндопаразитические плоские черви, принадлежащие к классам Trematoda и Cestoda, в отличие от свободноживущих и эктопаразитических плоских червей утратили микроРНК из четырёх и восьми консервативных семейств микроРНК, соответственно.

## **Апробация результатов**

Основные результаты данного исследования были представлены и обсуждены: на международной конференции “High-Throughput Sequencing in Genomics” (Новосибирск, 2013); на международной конференции “МССМВ-2013” (Москва, 2013); на международной конференции молодых ученых, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов (Кольцово, 2014); на международной конференции “The Non-Coding Genome” (Гейдельберг, Германия, 2015); на международной конференции “Molecular Helminthology: An Integrated Approach” (Гианис, США, 2017).

## **Структура и объем работы**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов, обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 233 ссылки, работа изложена на 222 страницах, содержит 6 таблиц, 30 рисунков и 16 приложений.

## **Основное содержание работы**

### **Результаты компьютерного предсказания микроРНК**

#### **описторхид**

Известно, что предсказание микроРНК можно выполнить на базе результатов высокопроизводительного секвенирования. Для предсказания микроРНК описторхид были созданы библиотеки из фракции малых РНК *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*. В результате секвенирования этих библиотек по технологии SOLiD были получены следующие результаты:

- 1) 126 млн. чтений для *C. sinensis*;
- 2) 150 млн. – для *O. viverrini*;
- 3) 152 млн. – для участка мариты *O. felineus* без матки с яйцами;
- 4) 131 млн. – для участка мариты *O. felineus* с маткой и яйцами;
- 5) 162 млн. – для метацеркарий *O. felineus*.

В итоге биоинформатического анализа результатов секвенирования

фракции малых РНК *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*, а также компьютерного анализа геномов *O. viverrini* и *C. sinensis* были выявлены 55 консервативных микроРНК, принадлежащих к 34 семействам (*bantam*, *let-7*, *miR-1*, *miR-2*, *miR-7*, *miR-8*, *miR-9*, *miR-10*, *miR-12*, *miR-22*, *miR-31*, *miR-36*, *miR-46*, *miR-67*, *miR-71*, *miR-76*, *miR-87*, *miR-92*, *miR-96*, *miR-124*, *miR-133*, *miR-184*, *miR-190*, *miR-210*, *miR-219*, *miR-277*, *miR-278*, *miR-279*, *miR-750*, *miR-1175*, *miR-1989*, *miR-1992*, *miR-1993*, *miR-2160*) (Таблица 1) и один кандидат в микроРНК (“новая” микроРНК). Большинство семейств представлено одним геном микроРНК, но семейства *miR-1*, *miR-7*, *miR-71*, *miR-92*, *miR-190*, *miR-190*, *miR-210*, *miR-277* и *miR-2160* представлены двумя генами микроРНК, семейства *miR-36* и *let-7* – тремя генами микроРНК, *miR-10* – пятью генами микроРНК, *miR-2* – шестью генами микроРНК.

### **Особенности организации микроРНК-генов**

При картировании микроРНК на геномы *C. sinensis* и *O. viverrini* были выявлены 4 кластера генов микроРНК *miR-277b/miR-277a*, *miR-750/miR-755*, *miR-71a/2* и *miR-71b/2*. Согласно последним исследованиям микроРНК, из семейств *miR-277*, *miR-750*, *miR-1175(miR-755)* и *miR-2* обнаружены только у первичноротых. Кластеры *miR-71a/2* и *miR-71b/2* были верифицированы с использованием ПЦР.

В работе Jin с соавторами участка генома с генами микроРНК *miR-1* и *miR-133* были обозначены как кластер генов микроРНК у трех цестод *E. granulosus*, *E. multilocularis* и *H. microstoma*. Стоит отметить, что участки между последовательностями, которые соответствуют генам микроРНК у плоских червей, обладают значительной длиной, начиная от 11705 пар нуклеотидов (п.н.) у *E. multilocularis* и заканчивая 34008 п.н. в *C. sinensis*. Таким образом, расстояние между генами микроРНК *miR-1* и *miR-133*, превышающее 10000 п.н., указывает на то, что рассматриваемые гены

микроРНК не соответствуют определению кластера генов микроРНК. Следовательно, корректно данные участки называть "участок, похожий на кластер miR-1/miR-133".

Таблица 1. Распределение найденных консервативных семейств микроРНК среди билатеральных животных. Серый цвет означает наличие микроРНК семейств у представителей определённого таксона.

Семейства микроРНК	Protostomia				Deuterostomia			
	Lophotrochozoa		Ecdysozoa	Echinodermata	Hemichordata	Chordata		
	Platyhelminthes	Остальные Lophotrochozoa				Cephalochordata	Urochordata	Vertebrata
miR-2160								
miR-1989, miR-1992								
bantam, miR-2,								
miR-12, miR-36, miR-67, miR-76, miR-87, miR-277, miR-279, miR-750, miR-755, miR-1993								
miR-278								
miR-46, miR-71								
miR-210								
let-7, miR-1, miR-7, miR-8, miR-9, miR-10, miR-22, miR-31, miR-92, miR-96, miR-124, miR-133, miR-184, miR-190, miR-219								

Во многих таксонах вторичноротых существует кластер let-7/miR-100/miR-125. Ранее было показано, что данный кластер не существует у плоских червей. Более того, у плоских червей не был обнаружен ген микроРНК miR-100. У описторхид нами не были обнаружены miR-100-



подобные последовательности. Другие составляющие этого кластера были обнаружены в геномах плоских червей, но сочетание генов *let-7* и *miR-125* с расстоянием меньше чем 10000 п.н. не было обнаружено у всех плоских червей.

При картировании микроРНК на геномы *C. sinensis* и *O. viverrini* были также выявлены 3 интронных микроРНК *miR-190a*, *miR-190b* и *miR-92b* (Рисунок 1).

Сравнивая результаты анализа геномного окружения *miR-190* в геномах пяти трематод *C. sinensis*, *O. viverrini*, *F. hepatica*, *S. mansoni* и *S. japonicum*, удалось выяснить, что *miR-190a* располагается в интроне гена, кодирующего белок *Talin*. Стоит отметить, что согласно нашим данным только в геноме *C. sinensis* *miR-190b* располагается в интроне гена, вероятно, кодирующего белок *Talin*. Однако, в связи с несовершенством аннотации геномов паразитических плоских червей этот результат нуждается в дополнительной проверке.

В отличие от *miR-190* только один паралог *miR-92* является интронным у описторхид. Предположительно, *miR-92b* располагается в интроне гена, вероятно, кодирующего фактор лицензирования репликации ДНК *MCM2* (DNA replication licensing factor *MCM2*). По доступным данным аннотации геномов удалось установить, что в геноме *F. hepatica* оба паралога находятся в интронах генов, кодирующих фактор лицензирования репликации ДНК *MCM2*. У *S. mansoni* оба паралога *miR-92* не являются интронными, а у *S. japonicum* так же, как и у описторхид, *miR-92b* (ранее не описанная микроРНК) располагается в интроне гена, кодирующего фактор лицензирования репликации ДНК *MCM2*.

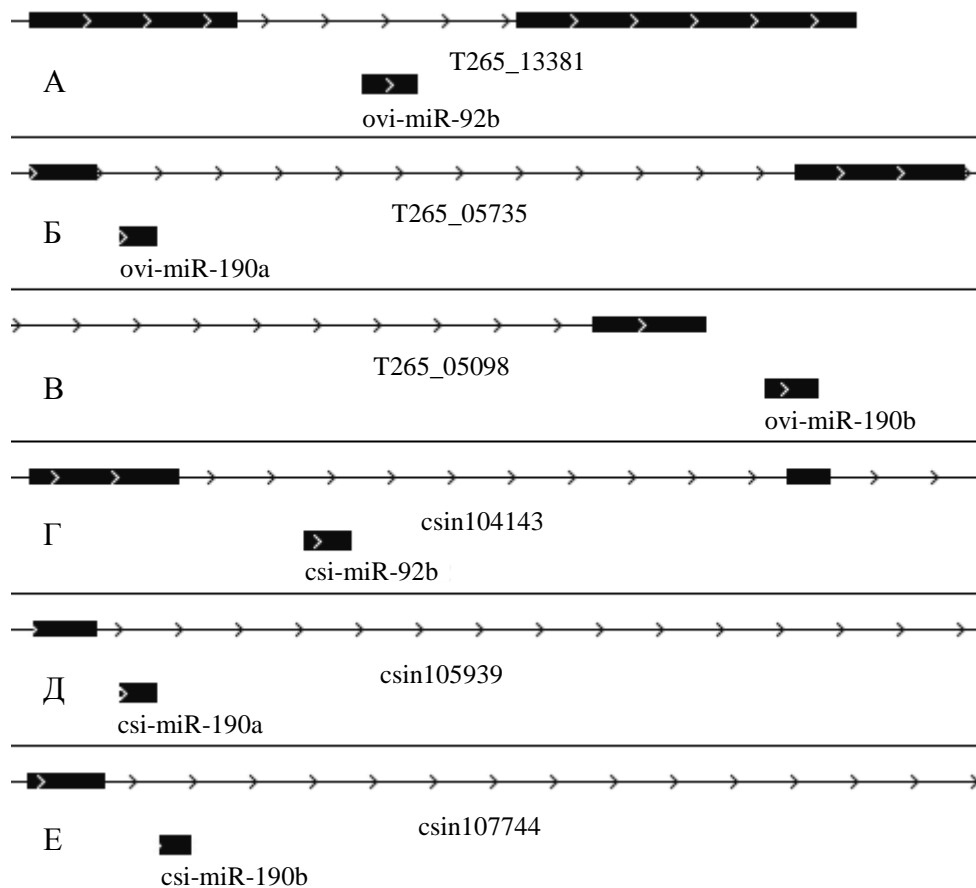


Рисунок 1. Интронные микроРНК описторхид. А) интронная микроРНК ovi-miR-92b; Б) интронная микроРНК ovi-miR-190a; В) микроРНК ovi-miR-190b; Г) интронная микроРНК csi-miR-92b; Д) интронная микроРНК csi-miR-190b; Е) интронная микроРНК csi-miR-190a. Идентификаторы белок-кодирующих генов (взяты из wormbase parasite) и микроРНК генов приведены под схемой гена. Прямоугольниками обозначены экзоны и микроРНК гены. Прямыми линиями со стрелочками обозначены интроны.

### Сравнительный анализ микроРНК репертуара плоских червей

Для сравнительного анализа репертуара консервативных микроРНК плоских червей были взяты последовательности пре-микроРНК свободноживущей планарии *S. midterinea*, моногенеи *G. salaris*, пяти видов трематод: фасциолиды *F. hepatica*, описторхид *C. sinensis* и *O. viverrini*, шистосомотид *S. japonicum* и *S. mansoni*, а также цестод *H. microstoma*, *E. granulosus* и *E. multilocularis*. Для выше перечисленных видов было проведено предсказание ранее неописанных консервативных микроРНК. В

результате было выявлены 10 ранее неописанных консервативных микроРНК *F. hepatica*, 1 – *G. salaris*, 13 – *S. japonicum*, 13 – *S. mansoni*, 10 – *H. microstoma*, 5 – *E. granulosus* и 5 – *E. multilocularis*.

В результате проведенного исследования установлено, что трематоды утратили микроРНК из следующих консервативных семейств – miR-153 (микроРНК из этого семейства найдены во всех классах плоских червей, кроме трематод), miR-2001 (микроРНК из этого семейства обнаружены только у *G. salaris*), miR-216 и miR-315 (микроРНК из этих семейства выявлены только у *S. midterinea*). Помимо этого, один из двух паралогов микроРНК из семейств miR-124 отсутствует у всех видов трематод, взятых в исследование, кроме шистосом.

Также было установлено, что микроРНК, принадлежащие к семействам miR-76, miR-278, miR-750, miR-1175 и miR-1989, присутствуют у всех плоских червей, кроме цестод. Отсутствие этих микроРНК у цестод может свидетельствовать о том, что данные микроРНК регулируют процессы и участвуют в развитии органов, которые были редуцированы у цестод, например, пищеварительной системы.

### **Компьютерное предсказание мРНК-мишеней для микроРНК**

Одним из продолжений исследования микроРНК является их функциональная аннотация, а именно, выявление для них мРНК-мишеней. Для того чтобы провести компьютерное предсказание мишеней, из базы данных NCBI были взяты последовательности мРНК *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis*. Далее из последовательностей мРНК были выделены последовательности 3'-нетранслируемых регионов для *C. sinensis* (187), *O. felineus*(11737), и *O. viverrini* (5656). В результате компьютерного предсказания с помощью программ RNAhybrid, PITA и TargetScan были получены следующие результаты (Приложение 13):

- 1) одна мРНК-мишень для одной микроРНК *C. sinensis*.

- 2) 289 мРНК-мишеней для 45 микроРНК *O. felineus*.
- 3) 164 мРНК-мишеней для 41 микроРНК *O. viverrini*.

### Анализ экспрессии микроРНК

Для анализа экспрессии микроРНК были использованы результаты секвенирования, которые картировались на последовательности предшественников микроРНК, полученные из геномов *C. sinensis* и *O. viverrini*. В результате было обнаружено, что профили экспрессии предсказанных микроРНК взрослых червей трех видов описторхид очень похожи. Три микроРНК miR-125a, miR-71a и miR-281 демонстрируют наибольший уровень экспрессии у трех видов описторхид. Кроме этого было установлено, что miR-12 не экспрессируются у *O. viverrini* и *O. felineus*, а miR-1992 не экспрессируются у *C. sinensis*. При сравнении результатов картирования чтений из разных библиотек *O. felineus* были обнаружены различия уровней экспрессии микроРНК между двумя стадиями (марита и метацеркария) и между двумя участками тела мариты (участок с маткой, содержащей яйца, и участок без матки с яйцами). Также было установлено, что miR-76, miR-993 и miR-2160a экспрессируются только на стадии мариты.

Кроме этого, было установлено для всех кластеров генов микроРНК трех исследуемых видов, что микроРНК, принадлежащие одному кластеру, обладают разным уровнем экспрессии, в частности, экспрессия микроРНК семейства miR-71 значительно превышает экспрессию последующих микроРНК семейства miR-2 (рисунок 2).

Для того чтобы подтвердить независимым методом различия в уровнях экспрессии микроРНК генов, расположенных в одном кластере, была выделена суммарная РНК из *O. felineus* и проведена цифровая капельная ПЦР.

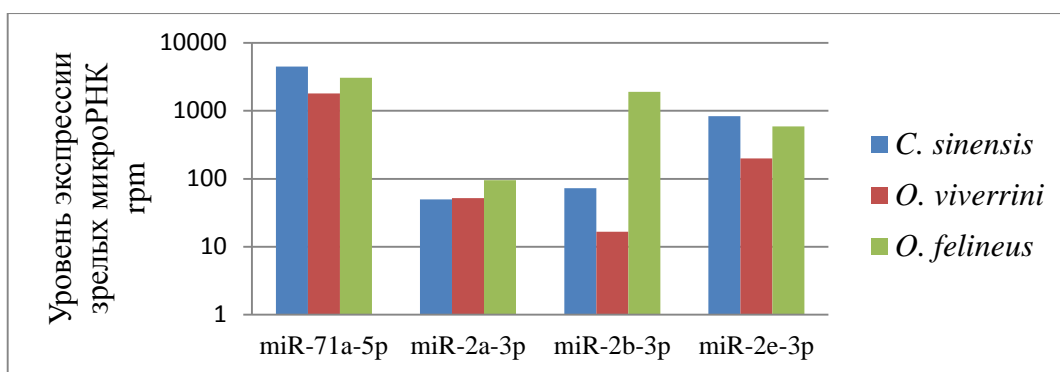


Рисунок 2. Уровни экспрессии зрелых микроРНК, входящих в кластеры. Данные получены при обработке результатов высокопроизводительного секвенирования. Rpm (reads per million) – количество чтений на миллион картированных чтений.

В результате анализа с использованием цифровой капельной ПЦР были обнаружены различия в уровнях экспрессии микроРНК, входящих в один кластер (рисунок 3). Паттерн экспрессии микроРНК, полученный в результате цифровой капельной ПЦР, отличается от результатов, полученных при анализе результатов секвенирования. При этом в результатах секвенирования и цифровой капельной ПЦР уровень экспрессии микроРНК из семейства miR-71 значительно превышает уровни экспрессий микроРНК из семейства miR-2.

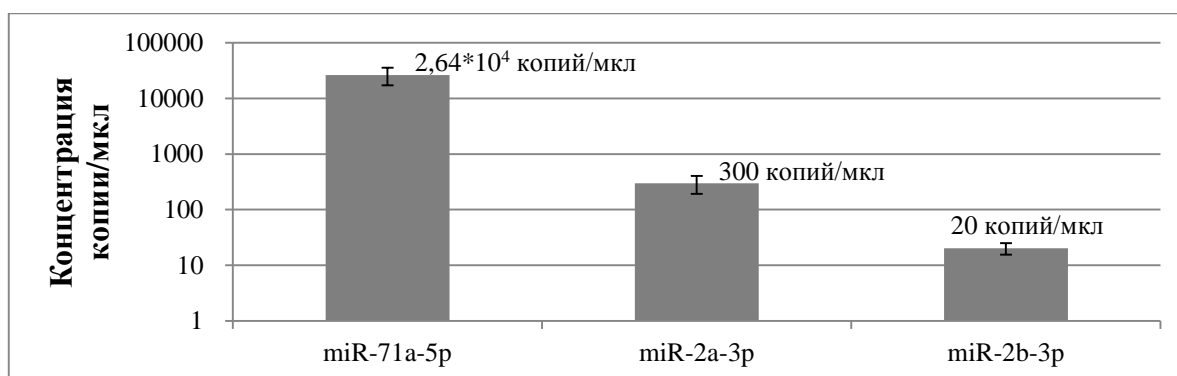


Рисунок 3. Уровни экспрессии зрелых микроРНК, входящих в кластер miR-71a/miR-2a/miR-2b/miR-2e. Данные получены цифровой капельной ПЦР. На диаграмме изображено среднее значение ( $\pm$  стандартное отклонение).

## Заключение

Данная работа посвящена исследованию микроРНК трёх представителей паразитических плоских червей семейства Opisthorchiidae. В настоящей работе впервые были предсказаны консервативные и новые микроРНК для *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis* с использованием массового параллельного секвенирования с дальнейшим биоинформатическим анализом, был проведен анализ геномной локализации генов микроРНК, осуществлён анализ экспрессии микроРНК и предсказаны мишени для микроРНК описторхид.

В соответствии с поставленными задачами, были достигнуты следующие результаты:

- 1) Обнаружено 55 консервативных микроРНК, принадлежащих к 34 семействам, и одна “новая” микроРНК, ранее не описанная;
  - a) Двенадцать консервативных микроРНК образуют четыре кластера;
  - b) Три консервативных микроРНК являются интронными;
  - c) Две консервативные микроРНК образуют участок, похожий на кластер;
  - d) микроРНК, принадлежащие к семействам *let-7* и *miR-10* (подсемейства *miR-125*), не образуют кластер *let-7/miR-100/miR-125*;
- 2) Проведён сравнительный анализ микроРНК репертуаров плоских червей, в результате которого;
  - a) Были предсказаны консервативные микроРНК, которые ранее не были выявлены у *G. salaris*, *F. hepatica*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, *H. microstoma*, *E. granulosus* и *E. multilocularis*;
  - b) У трематод не выявлены микроРНК принадлежащие к 4 консервативным семействам *miR-153*, *miR-2001*, *miR-216* и *miR-315*, которые описаны у свободноживущих и эктопаразитических плоских червей;

- с) Обнаружены микроРНК принадлежащие к 5 консервативным семействам miR-76, miR-278, miR-750, miR-1175 и miR-1989, присутствующие у трематод и отсутствующие у цестод;
- 3) Предсказаны мРНК-мишени;
- а) 289 мРНК-мишеней для 45 микроРНК *O. felineus*;
  - б) 164 мРНК-мишеней для 41 микроРНК *O. viverrini*;
  - с) одна мРНК-мишень для микроРНК *C. sinensis*;
- 4) В результате анализа экспрессии микроРНК-генов на разных стадиях жизненного цикла *O. felineus* были выявлены;
- а) три стадия специфические микроРНК;
  - б) наличие разного уровня экспрессии зрелых микроРНК, входящих в один кластер.

Полученные результаты являются базисом для дальнейших исследований эволюции микроРНК, молекулярных механизмов онтогенеза плоских червей и взаимодействия “паразит-хозяин”, а также могут быть использованы для разработок новых систем диагностики заболеваний, вызываемых паразитическими плоскими червями.

### **Выводы**

- 1) Результаты комплексного анализа микроРНК трематод *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis* указывают на то, что данные виды обладают схожим репертуаром микроРНК.
- 2) Репертуары консервативных микроРНК *O. felineus*, *O. viverrini* и *C. sinensis* отличается от репертуаров консервативных микроРНК свободноживущих и эктопаразитических плоских червей. В частности у данных описторхид отсутствуют микроРНК из четырех консервативных семейств микроРНК miR-153, miR-2001, miR-216 и miR-315.

- 3) Большинство генов микроРНК описторхид располагаются в некодирующих участках генома и не образуют кластеры, что соответствует локализации генов микроРНК в геномах других плоских червей.
- 4) Обнаружены стадия-специфические микроРНК *O. felineus* miR-76, miR-993 и miR-2160a. Экспрессия данных микроРНК не обнаружена на стадии метацеркарии, но хорошо выражена у половозрелых особей *O. felineus*.
- 5) Проведено предсказание мишеней микроРНК для исследуемых видов описторхид. Согласно аннотациям Kegg, микроРНК описторхид в основном вовлечены в регуляцию метаболических процессов.

#### **Список работ, опубликованных автором по теме диссертации**

##### Статьи:

- 1) Ovchinnikov V.Y., Afonnikov D.A., Vasiliev G.V., Kashina E.V., Sripa B., Mordvinov V.A., Katokhin A.V. Identification of microRNA genes in three opisthorchiids // PLOS Neglected Tropical Diseases. 2015. Vol.9, №4. :e0003680.
- 2) Fromm B., Ovchinnikov V., Høyе E., Bernal D., Hackenberg M., Marcilla A. On the presence and immunoregulatory functions of extracellular microRNAs in the trematode *Fasciola hepatica* // Parasite immunology. 2017. Vol. 39, №2. doi: 10.1111/pim.12399.
- 3) Ovchinnikov V.Y., Mordvinov V.A., Fromm B. Extreme conservation of miRNA complements in Opisthorchiids // Parasitology International. doi: 10.1101/146654

##### Тезисы:



- 1) Овчинников В. Ю., Афонников Д.А., Васильев Г.В., Катохин А.В., Кашина Е.В., Мордвинов В.А. Компьютерный и экспериментальный анализ генов микроРНК трематод семейства Opisthorchiidae. // International conference «High-throughput sequencing in genomics». 2013. Новосибирск, Россия. С. 22
- 2) Ovchinnikov V.Y., Afonnikov D.A., Vasilyev G.V., Katokhin A.V., Kashina E.V., Mordvinov V.A. Computational and experimental analysis of miRNA genes of Opisthorchiidae family liver flukes. // International conference Moscow Conference on Computational Molecular Biology (MCCMB-2013). 2013. Moscow, Russia.  
<http://mccmb.belozersky.msu.ru/2013/abstracts/abstracts/243.pdf>
- 3) Овчинников В.Ю., Афонников Д.А., Васильев Г.В., Кашина Е.В., Срипа В., Мордвинов В.А., Катохин А.В. Идентификация микроРНК генов плоских червей семейства Opisthorchiidae. // Международная конференция молодых ученых, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов. Сборник тезисов. 2014. Кольцово, Россия. С. 129
- 4) Ovchinnikov V.Y., Katokhin A.V., Mordvinov V.A. Identification of microRNAs genes in three Opisthorchiids. // International conference “The Non-Coding Genome”. 2015. Heidelberg, Germany. P. 288
- 5) Ovchinnikov V.Y., Fromm B. Careful reanalysis reveals enlarged and highly conserved miRNA complements in Opisthorchiids. International conference “Molecular Helminthology: An Integrated Approach”. 2017. Hyannis, USA.  
<https://elsevier.conference-services.net/viewsecurePDF.asp?conferenceID=4110&abstractID=953848>