

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА IL-1 β ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМПЛЕКСОВ миРНК, ОБЛАДАЮЩИХ ПРОТИВОГРИППОЗНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Пашков Е.А.^{1,2}, Пак А.В.¹, Абрамова Н.Д.², Яковлева И.В.²,
Вартанова Н.О.², Богданова Е.А.¹, Пашков Е.П.¹, Свитич О.А.^{1,2},
Зверев В.В.^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва,
Россия

Резюме. Грипп является одной из наиболее актуальных проблем мирового здравоохранения на сегодняшний день. Вирус гриппа обладает иммуносупрессивными свойствами, что способно приводить к развитию вторичных иммунодефицитов, препятствуя функционированию механизмов активации системы интерферонов, приводя к нарушению образования провоспалительных цитокинов. Наиболее важным участником формирования противовирусного иммунитета является IL-1 β . Данный цитокин играет важную роль в повышении экспрессии генов MCP-1 и MCP-3 и созревании макрофагов и дендритных клеток. Индукция выработки IL-1 β происходит в результате взаимодействия лиганда с Toll-подобными рецепторами. В настоящее время существует большое количество препаратов, направленных на профилактику и терапию гриппозной инфекции, однако их применение в ряде случаев является затруднительным ввиду высокой мутационной изменчивости вируса гриппа, что делает его устойчивым к данным препаратам. Следовательно, особо важным является вопрос разработки и создания эффективных методов борьбы с подобными инфекциями. Перспективным методом терапии и профилактики вирусных респираторных инфекций может являться процесс РНК-интерференции. РНК-интерференция – процесс деградации чужеродной мРНК посредством молекул малых интерферирующих РНК (миРНК). Целью настоящего исследования является оценка экспрессии гена IL-1 β при трансфекции комплексов миРНК, направленных к клеточным генам *FLT4*, *Nup98*, *Nup205*. Оценка изменения вирусной репродукции проводилась с помощью титрования по ЦПЭ вирусосодержащей жидкости. Уровень экспрессии гена IL-1 β определялся с помощью ОТ-ПЦР-РВ. По результатам оценки изменения вирусной репродукции получено, что использование всех комплексов миРНК, направленных к клеточным генам, приводит к достоверному снижению вирусной репродукции на первые сутки после заражения. Применение комплексов *Nup205* + *FLT4* и *FLT4* + *Nup205* + *Nup98* приводило к снижению вирусной репродукции также и на вторые сутки ($p < 0,05$) соответственно, по сравнению с неспецифическим и вирусным контролями. При анализе экспрессионного профиля гена IL-1 β наблюдался рост его экспрессии на 1-е сутки для всех комплексов миРНК и на 2-е и 3-и сутки для комплексов *Nup98* + *FLT4* и *Nup205* + *Nup98*. В ходе исследования было установлено, что подавление активности клеточных генов *FLT4*, *Nup98* и *Nup205*, необходи-

Адрес для переписки:

Пашков Евгений Алексеевич
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин
и сывороток имени И.И. Мечникова»
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.
Тел.: 8 (916) 228-73-53.
E-mail: pashckov.j@yandex.ru

Address for correspondence:

Pashkov Evgeny A.
I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera
105064, Russian Federation, Moscow, Maly Kazenny lane, 5a.
Phone: 7 (916) 228-73-53.
E-mail: pashckov.j@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.А. Пашков, А.В. Пак, Н.Д. Абрамова, И.В. Яковлева,
Н.О. Вартанова, Е.А. Богданова, Е.П. Пашков,
О.А. Свитич, В.В. Зверев «Изучение экспрессии гена
IL-1 β под действием комплексов миРНК, обладающих
противогриппозным действием» // Российский
иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 4. С. 485-490.
doi: 10.46235/1028-7221-1202-SEO

© Пашков Е.А. и соавт., 2022

For citation:

E.A. Pashkov, A.V. Pak, N.D. Abramova, I.V. Yakovleva,
N.O. Vartanova, E.A. Bogdanova, E.P. Pashkov, O.A. Svitich,
V.V. Zverev “Studying expression of IL-1 β gene under the
action of siRNA complexes with anti-influenza effect”, *Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal*, 2022, Vol. 25, no. 4, pp. 485-490.
doi: 10.46235/1028-7221-1202-SEO

DOI: 10.46235/1028-7221-1202-SEO

мых для вирусной репродукции, приводило к достоверному снижению вирусной активности и росту экспрессии IL-1 β .

Ключевые слова: РНК-интерференция, miРНК, респираторные вирусные инфекции, IL-1 β , экспрессия, вирус гриппа

STUDYING EXPRESSION OF IL-1 β GENE UNDER THE ACTION OF siRNA COMPLEXES WITH ANTI-INFLUENZA EFFECT

Pashkov E.A.^{a,b}, Pak A.V.^a, Abramova N.D.^b, Yakovleva I.V.^b, Vartanova N.O.^b, Bogdanova E.A.^a, Pashkov E.P.^a, Svitich O.A.^{a,b}, Zverev V.V.^{a,b}

^a I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

^b I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Abstract. Influenza is one of the most urgent global health problems today. The influenza virus has immunosuppressive properties, which can lead to the development of secondary immunodeficiencies, interfering with the functioning of the interferon system activation, thus leading to impaired production of pro-inflammatory cytokines. IL-1 β is the most important player in development of antiviral immunity. This cytokine plays an important role in boosting the expression of the MCP-1 and MCP-3 genes and maturation of macrophages and dendritic cells. Induction of IL-1 β production occurs due to interaction of the ligand with Toll-like receptors. Currently, there is a lot of drugs aimed at the prevention and treatment of influenza infection. However, their use in some cases is difficult due to high mutational variability of the influenza virus, thus making it resistant to these drugs. Therefore, the issue of developing and creating effective methods to combat such infections is of particular importance. A promising approach to the treatment and prevention of viral respiratory infections may be connected with RNA interference. This process consists of degradation of foreign mRNA by small interfering RNA (siRNA) molecules. The aim of the present study was to evaluate expression of the IL-1 β gene upon transfection of miRNA complexes directed to the cellular *FLT4*, *Nup98*, *Nup205* genes. Evaluation of changed viral reproduction was carried out using titration by CPE virus-containing fluid. Expression level of the IL-1 β gene was determined by means of real-time RT-PCR. Assessment of the changes in viral reproduction allowed us to reveal that the use of all the miRNA complexes directed to the cellular genes lead to a significant decrease in viral reproduction on the 1st day after infection. Usage of Nup205 + FLT4 and FLT4 + Nup205 + Nup98 complexes proved to cause a decrease in viral reproduction on the second day as well ($p < 0.05$), as compared with nonspecific and viral controls. When analyzing expression profile of the IL-1 β gene, an increase in its expression was observed on the 1st day for all miRNA complexes and on the 2nd and 3rd days for the Nup98 + FLT4 and Nup205 + Nup98 complexes. In the course of the study, it was found that suppression of the cellular genes *FLT4*, *Nup98* and *Nup205* activities, which are necessary for viral reproduction, led to a significant decrease in viral activity and an increase in IL-1 β expression.

Keywords: RNA interference, miRNA, respiratory viral infections, IL-1 β , expression, influenza virus

Введение

Среди респираторных вирусных заболеваний гриппозная инфекция на сегодняшний день не теряет своей актуальности. По оценке ВОЗ, ежегодно регистрируется около 1 миллиарда новых случаев гриппа, до 3-5 миллионов случаев осложнений и до 500 000 смертей во всем мире. Наряду с поражением дыхательной системы, грипп (ВГА, IAV) способен вызывать осложнения в работе ряда таких систем органов, как респираторная, сердечно-сосудистая либо иммунная [9].

Вирус гриппа обладает иммуносупрессивными свойствами, что способно приводить к развитию вторичных иммунодефицитов [8]. Вирусы гриппа имеют в своем составе белок NS-1 (nonstructural protein-1), чьей функцией является дисрегуляция

механизмов активации системы интерферонов, что приводит к нарушению образования провоспалительных цитокинов [8].

Наиболее важным участником формирования противовирусного иммунитета является IL-1 β [6]. Данный цитокин играет важную роль в повышении экспрессии генов MCP-1 и MCP-3 и созревании макрофагов и дендритных клеток. Индукция выработки IL-1 β происходит вследствие взаимодействия лиганда с Toll-подобными рецепторами 3-го типа [1, 2].

В настоящее время существует большое количество препаратов, направленных на профилактику и терапию гриппозной инфекции. Однако достижение эффективного результата от применения лекарственных средств в ряде случаев является затруднительным ввиду высокой мута-

ционной изменчивости вируса гриппа, что делает его резистентным к данным препаратам [5].

Исходя из этого, особо важным является вопрос разработки и создания эффективных методов борьбы с подобными инфекциями. Потенциально перспективным методом терапии и профилактики вирусных респираторных инфекций может являться подавление активности клеточных генов, участвующих в репродукции вируса, с помощью РНК-интерференции.

РНК-интерференция – это процесс подавления экспрессии гена-мишени под влиянием малых интерферирующих РНК (миРНК, *siRNA*). Также процесс РНК-интерференции часто используется для подавления вирусной репродукции [4]. Наш подход также предполагает использование клеточных генов *FLT4*, *Nup98*, *Nup205*, подавление экспрессии которых приводит к значительному снижению вирусной репродукции *in vitro* [7].

Целью настоящего исследования является оценка экспрессии гена *IL-1 β* при трансфекции комплексов миРНК, направленных к клеточным генам *FLT4*, *Nup98*, *Nup205*.

Материалы и методы

Исследование выполнено с использованием научного оборудования центра коллективного пользования «НИИВС им. И.И. Мечникова» – при финансовой поддержке проекта Российской Федерацией в лице Министерства образования и науки России, Соглашение № 075-15-2021-676 от 28.07.2021. Дизайн миРНК осуществляли с помощью программы siDirect2.0. Все олигонуклеотиды синтезированы в «Синтол» (Россия). Подготовка миРНК к работе, а также их последовательности представлены в нашем более раннем исследовании [8]. В качестве неспецифического контроля использовалась миРНК *L2*, специфичная к гену светляковой люциферазы и не влияющая на жизненный цикл клеток A549. В работе использован вирус гриппа A/WSN/33 (H1N1) (Детский исследовательский госпиталь Святого Джуда, США). Культивирование и определение титра вируса проводилось на культуре клеток MDCK. Заражение культур клеток осуществлялось при множественности инфицирования 0,01. В работе использовались клетки почек кокерспаниеля MDCK (Институт Пастера, Франция) и клетки аденокарциномы человеческого легкого A549 (ATCC® CCL-185, США). Клетки MDCK выращивали в среде MEM («ПанЭко», Россия), содержащей 5% эмбриональной сыворотки коров (ЭСК) (Gibco, США), 40 мкг/мл гентамицина («ПанЭко», Россия), и 300 мкг/мл L-глутамин («ПанЭко», Россия) при 37 °С в CO₂-инкубаторе. Клетки A549 выращивали в среде DMEM («ПанЭко», Россия), содержащей 5% ЭСК (Gibco,

США), 40 мкг/мл гентамицина («ПанЭко», Россия) и 300 мкг/мл L-глутамин («ПанЭко», Россия) при 37 °С в CO₂-инкубаторе. Для оценки цитотоксичности трансфицируемых комплексов миРНК был использован МТТ-тест. На 1-е, 2-е, 3-е сутки после трансфекции в лунки с клетками 96-луночного планшета добавляли по 20 мкл раствора МТТ с концентрацией 5 мг/мл («ПанЭко», Россия) и инкубировали при 37 °С в атмосфере 5% CO₂ в течение 2 ч. Далее культуральную жидкость отбирали и добавляли в лунки по 100 мкл изопропанола (Sigma-Aldrich, США) в каждую лунку. С помощью планшетного спектрофотометра (Varioscan, Thermo Fisher Scientific, США) определяли оптическую плотность каждой лунки при 530 нм с учетом фоновых значений при 620 нм. Для трансфекции комплексов миРНК, клетки A549 высевали на 24-луночные планшеты в посевной концентрации 1:3. После образования 80% клеточного монослоя, клетки промывались раствором Хенкса («ПанЭко», Россия). Далее смесь Lipofectamin 2000 (Thermo Fisher Scientific, США) и Opti-MEM (Thermo Fisher Scientific, США) добавляли к раствору миРНК в среде Opti-MEM и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин. Суммарная концентрация каждого из четырех комплексов миРНК, необходимая для нокдауна генов, составила 20 пмоль/мкл на лунку. Составы комплексов миРНК указаны в таблице 1. После инкубации комплексы добавляли к клеткам. миРНК *siL2* была использована в качестве неспецифического контроля. Затем клетки инкубировали при 37 °С в CO₂-инкубаторе. Спустя 4 ч культуральную среду удаляли из всех лунок, кроме отрицательного контроля и добавляли по 0,5 мл вирусосодержащей жидкости с множественностью заражения (МОИ) 0,01, состоящей из среды DMEM, 0,001% тозил-фенилаланилхлорметилкетона (Tosyl phenylalanyl chloromethyl ketone, ТРСК) (Sigma-Aldrich, Германия), 40 мкг/мл гентамицина. После этого клетки вновь помещали в CO₂-инкубатор. В течение трех последующих суток отбирались образцы супернатанта для последующего титрования и клеточный лизат для оценки изменений экспрессии *IL-1 β* методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ). Комплексы миРНК, использованные в исследовании, представлены в таблице 1.

Общую РНК выделяли из клеточного лизата набором ExtractRNA («Евроген», Россия). Для постановки реакции обратной транскрипции применяли набор реагентов «ОТ-1» («Синтол», Россия). Для оценки экспрессии *IL-1 β* использовали ОТ-ПЦР-РВ, а также 2^{- $\Delta\Delta C_t$} метод. Вирусный титр определялся по крайней точке визуального проявления цитопатического эффекта в культуре клеток MDCK. Клетки MDCK сеяли в

96-луночные планшеты с посевной концентрацией $1 \times 10^4/\text{см}^2$. Через 2 суток питательная среда удалялась из лунок, вносились 10-кратные последовательные разведения вирусного материала в поддерживающей среде без трипсина и инкубировали на протяжении 4 суток в CO_2 -инкубаторе при 37°C . На четвертые сутки проводили визуальный учет результатов титрования под микроскопом на наличие специфического цитопатического эффекта для вируса гриппа (изменение, деформация, открепление мертвых клеток со дна лунки). Статистическую значимость полученных результатов определяли с помощью критерия Манна–Уитни. Разница считалась достоверной при $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,05$. Показатели достоверности рассчитывались с использованием ПО Minitab 2.0 (Minitab, США).

Результаты и обсуждение

С целью определения эффективности противовирусного действия миРНК и снижения вирусной репродукции, на культуре клеток MDCK выполнялось титрование вирусосодержащей жидкости на 1-е, 2-е и 3-и сутки с момента трансфекции. Было установлено, что при множественности заражения 0,01 использование всех комплексов миРНК, направленных к клеточным генам, приводит к достоверному снижению вирусной репродукции на первые сутки после заражения. Применение комплексов Nup205 + FLT4 и FLT4 + Nup205 + Nup98 приводило к снижению вирусной репродукции на 1,8 и 2 lg ТЦД₅₀/мл на первые и на 1,8 и 2,5 lg ТЦД₅₀/мл на вторые сутки ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с неспецифическим и вирусным контролями.

Оценка экспрессии IL-1 β проводилась с использованием метода ОТ-ПЦР-РВ и оценочно-го критерия $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$. В таблице 2 показаны результаты оценки экспрессии IL-1 β . Было выявлено, что при MOI = 0,01, достоверное повышение экспрессии IL-1 β на 28% (Nup98 + FLT4), 58% (Nup205 + Nup98), 62% (Nup205 + FLT4) и 33% (FLT4 + Nup205 + Nup98) наблюдалось относительно неспецифической миРНК L2 на первые

сутки ($p \leq 0,05$). При трансфекции комплексов А и В также отмечалось достоверное повышение экспрессии IL-1 β на вторые и третьи сутки. На вторые сутки рост экспрессии составил 84% для комплекса А и 77% для комплекса В относительно миРНК L2 ($p \leq 0,05$). На третьи сутки повышенная экспрессия IL-1 β также отмечалась в клетках, трансфицированных комплексами А и В, и составила 90% для комплекса А и 332% для комплекса В относительно миРНК L2.

Настоящая работа является исследованием по изучению экспрессии гена IL-1 β как основного провоспалительного цитокина и в качестве одного из критериев эффективности применения миРНК в отношении клеточных генов, принимающих непосредственное участие в репродукции вируса гриппа. IL-1 β является основным провоспалительным цитокином. Данный цитокин играет важную роль в повышении экспрессии генов MCP-1 и MCP-3 и созревании макрофагов и дендритных клеток. Это приводит к более выраженной воспалительной реакции и активации эффективной системы презентации антигена [3]. Параллельно с этим, IL-1 β обладает и другими иммунологическими функциями: способствует дифференцировке и пролиферации В- и Т-лимфоцитов (преимущественно Т-хелперов), повышение продукции белков острой фазы и стимуляция активности клеток эндотелия. Также IL-1 β служит индуктором активации для Т-клеток через систему АПК [3].

В ходе исследования было установлено, что подавление активности клеточных генов *FLT4*, *Nup98* и *Nup205*, необходимых для вирусной репродукции, приводило к достоверному снижению вирусной активности и росту экспрессии IL-1 β . Важно, однако, учитывать, что комплексы миРНК по-разному влияли на экспрессию IL-1 β . Можно сделать предположение, что подобный результат обусловлен тем фактом, что каждый комплекс миРНК уникален и имеет собственную нуклеотидную последовательность и способен по-разному взаимодействовать с Toll-подобными рецепторами 3-го типа, поскольку именно они взаимодействуют с двухцепочечной молекулой

ТАБЛИЦА 1. КОМПЛЕКСЫ миРНК, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В РАБОТЕ

TABLE 1. COMPLEX siRNA USED IN THE WORK

Комплекс миРНК Complex siRNA	Процессы вирусной репродукции, на которые влияет комплекс миРНК Virus reproduction processes in which siRNA complexes are found
Nup98 + FLT4	Ядерный импорт вРНК / вирусный эндоцитоз vRNA nuclear import / viral endocytosis
Nup205 + Nup98	Ядерный импорт вРНК vRNA nuclear import
Nup205 + FLT4	Ядерный импорт вРНК / вирусный эндоцитоз vRNA nuclear import / viral endocytosis
FLT4 + Nup205 + Nup98	Ядерный импорт вРНК / вирусный эндоцитоз vRNA nuclear import/viral endocytosis

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНА IL-1 β В ТЕЧЕНИЕ ТРЕХ СУТОК С МОМЕНТА ТРАНСФЕКЦИИ И ЗАРАЖЕНИЯ, % (* – p \leq 0,05 ОТНОСИТЕЛЬНО НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ L2)

TABLE 2. DYNAMICS OF IL-1 β GENE EXPRESSION DURING THREE DAYS WITH THE MOMENTS OF TRANSFECTION AND INFECTION, % (*, p \leq 0.05 RELATIVE TO NON-SPECIFIC CONTROL L2)

Комплекс миРНК Complex siRNA	Сутки Day		
	1	2	3
Nup98 + FLT4 / IAV	32 \pm 6*	96 \pm 9*	112 \pm 8*
Nup205 + Nup98 / IAV	62 \pm 38*	89 \pm 15*	354 \pm 69*
Nup205 + FLT4 / IAV	66 \pm 50*	20 \pm 4	103 \pm 86
FLT4 + Nup205 + Nup98 / IAV	37 \pm 7*	32 \pm 3	56 \pm 3
L2 / IAV	4 \pm 5	12 \pm 6	22 \pm 12
IAV	10 \pm 7	35 \pm 10	18 \pm 16
Отриц. контроль Negative control	100 \pm 20	105 \pm 26	105 \pm 26

Примечание. * – данные в таблице приведены в процентном соотношении. За 100 процентов принято экспрессия гена IL-1 β в незараженных клетках (отриц. контроль). Расчет достоверности результатов проводился относительно зараженных клеток с неспецифической миРНК L2 (L2/IAV).

Note. *, the data in the table are given as a percentage. The expression of the IL-1 β gene in uninfected cells was taken as 100 percent (negative control). The calculation of the reliability of the results was carried out in relation to infected cells with non-specific miRNA L2 (L2/IAV).

РНК. Совокупность этих факторов может приводить, по-нашему мнению, к неоднородному росту экспрессии IL-1 β .

Заключение

Применение миРНК в качестве лекарственного средства не ограничивается респиратор-

ными или иными вирусными инфекциями, но также может находить применение в терапии соматических и наследственных заболеваний, поскольку роль Toll-подобные рецепторы принимают непосредственное участие в развитии многих патологий, в том числе и неинфекционных.

Список литературы / References

1. Ганковская О.А., Бахарева И.В., Ганковская Л.В., Сомова О.Ю., Зверев В.В. Исследование экспрессии генов TLR9, NF- κ B, ФНО α в клетках слизистой цервикального канала беременных с герпесвирусной инфекцией // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2009. № 2. С. 61-64. [Gankovskaya O.V., Bakhareva I.V., Gankovskaya L.V., Somova O.Yu., Zverev V.V. Study of expression of TLR9, NF- κ B, TNF α genes in cells of cervical canal mucosa in pregnant women with herpesvirus infection. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2009, no. 2, pp. 61-64. (In Russ.)]
2. Макаров О.В., Бахарева И.В., Ганковская Л.О. [и др.] // Toll-подобные рецепторы в генезе невынашивания беременности // Акушерство и гинекология, 2008. № 2. С. 22-27. [Makarov O.V., Bakhareva I.V., Gankovskaya L.V., Romanovskaya V.V., Gankovskaya O.A. Toll-like receptors in the genesis of miscarriage. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*, 2015, no. 2, pp. 22-27. (In Russ.)]
3. Duan T., Du Y., Xing C., Wang H.Y., Wang R.F. Toll-like receptor signaling and its role in cell-mediated immunity. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 3, pp. 1-22. doi: 10.3389/fimmu.2022.812774.
4. Gavrillov K., Saltzman W.M. Therapeutic siRNA: principles, challenges, and strategies. *Yale J. Biol. Med.*, 2012, Vol. 85, no. 2, pp. 187-200.
5. Han J., Perez J., Schafer A., Cheng H., Peet N., Rong L., Manicassamy B. Influenza virus: small molecule therapeutics and mechanisms of antiviral resistance. *Curr. Med. Chem.*, 2018, Vol. 25, no. 38, pp. 5115-5127.
6. Park H.S., Liu G., Thulasi Raman S.N., Landreth S.L., Liu Q., Zhou Y. NS1 Protein of 2009 Pandemic Influenza A Virus Inhibits Porcine NLRP3 Inflammasome-Mediated Interleukin-1 Beta Production by Suppressing ASC Ubiquitination. *J. Virol.*, 2018, Vol. 92, no. 8, pp. 1-16.
7. Pashkov E., Korchevaya E., Faizuloev E., Rtishchev A., Cherepovich B., Bystritskaya E., Sidorov A., Poddubikov A., Bykov A., Dronina Y., Svitch O., Zverev V. Knockdown of FLT4, Nup98, and Nup205 cellular genes effectively suppresses the reproduction of influenza virus strain A/WSN/1933 (H1N1) *in vitro*. *Infect. Disord. Drug Targets*, 2022, Vol. 5, pp. 100-108.
8. Plotnikova M.A., Klotchenko S.A., Vasin A.V. Development of a multiplex quantitative PCR assay for the analysis of human cytokine gene expression in influenza A virus-infected cells. *J. Immunol. Methods*, 2016, Vol. 430, pp. 51-55.

9. Trougakos I.P., Stamatelopoulos K., Terpos E., Tsitsilonis O.E., Aivalioti E., Paraskevis D., Kastritis E., Pavlakis G.N., Dimopoulos M.A. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. *J. Biomed. Sci.*, 2021, Vol. 28, no. 1, 9. doi: 10.1186/s12929-020-00703-5.

Авторы:

Пашков Е.А. — ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет); младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Пак А.В. — студентка ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Абрамова Н.Д. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Яковлева И.В. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточных гибридов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Вартанова Н.О. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории условно-патогенных бактерий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Богданова Е.А. — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Пашков Е.П. — д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Свитич О.А. — д.м.н., член-корр. РАН, заведующая лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Зверев В.В. — д.б.н., академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Authors:

Pashkov E.A., Assistant Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Pak A.V., Student, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Abramova N.D., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Yakovleva I.V., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Cell Hybridomas, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Vartanova N.O., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Microbiology of Opportunistic Bacteria, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Bogdanova E.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Pashkov E.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Svitich O.A., PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Director, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Zverev V.V., PhD, MD (Biology), Full Member, Russian Academy of Sciences, Scientific Advisor, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; Professor, Head, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Поступила 15.07.2022

Отправлена на доработку 20.07.2022

Принята к печати 28.07.2022

Received 15.07.2022

Revision received 20.07.2022

Accepted 28.07.2022