

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПЕРВИЧНЫХ В-КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ В ЗАРОДЫШЕВЫХ ЦЕНТРАХ

Бязрова М.Г.^{1,2}, Сухова М.М.^{1,3}, Михайлов А.А.^{1,3}, Прилипов А.Г.¹,
Филатов А.В.^{1,3}

¹ ФГБУН «Государственный научный центр «Институт иммунологии»» ФМБА, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

³ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Резюме. Основные этапы созревания антиген-специфических В-клеток протекают в герминативных центрах лимфоузлов. Здесь наивные В-клетки проходят процесс соматического гипермутагенеза, а также переключение классов синтезируемых антител. В процессе дифференцировки принимается решение, по какому пути В-клетки будут развиваться далее. Они либо превратятся в короткоживущие плазмбласты, либо в В-клетки памяти или плазматические клетки. Взаимоотношение этих процессов очень важно для развития продуктивного гуморального иммунного ответа. Имеется насущная необходимость в более детальном изучении отмеченных процессов. Целью работы являлось создание системы, которая *ex vivo* способна моделировать процессы, протекающие в герминативных центрах. В качестве исходного материала мы использовали первичные В-клетки из периферической крови человека. После иммуномагнитной сепарации В-лимфоциты стимулировали *in vitro* с помощью фидерных клеток, несущих молекулы CD40L. Другим стимулирующим фактором являлся рекомбинантный растворимый IL-21. При IL-21/CD40L стимуляции В-лимфоциты изменяли свою морфологию, поверхностный фенотип, а также функциональную активность. После активной экспансии в течении 10 дней дальнейший рост клеток останавливался, и через некоторое время они погибали. Для получения стабильно пролиферирующих В-клеток мы использовали лентивирусную трансдукцию IL-21/CD40L стимулированных IgM⁺ В-лимфоцитов. Для этого были получены препараты лентивируса, которые несли кассету, состоящую из генов *BCL6* и *BCL2L1*, разделенных последовательностью кодирующей саморазрезаемый пептид P2A, а также репортерный ген *GFP*, отделенный от целевых генов элементом IRES. Используемая кассета обеспечивала в клетках-мишенях синтез транскрипционного фактора Bcl-6 и белка Bcl-XL. Репрессор Bcl-6 не позволял В-клеткам уходить в терминальную дифференцировку и превращаться в плазматические клетки, а белок Bcl-XL оказывал анти-апоптотическое действие. Трансдуцированные В-клетки пролиферировали более месяца и сохраняли фенотип плазмбластов. При этом через 42 дня после начала стимуляции трансдуцированные В-клетки оставались GFP-позитивными, коэкспрессировали антигены CD27 и CD38, несли поверхностный CD20 и IgM, внутриклеточный Bcl-6, Bcl-XL и IgM, сохраняли секрецию IgM, но оставались негативными по поверхностному и внутриклеточному IgG. Таким образом, длительное культивирование

Адрес для переписки:

Филатов Александр Васильевич
ФГБУН «Государственный научный центр
«Институт иммунологии»» ФМБА
115522, Россия, Москва, Каширское шоссе, 24.
Тел.: 8 (495) 177-77-65.
E-mail: avfilat@yandex.ru

Address for correspondence:

Alexander V. Filatov
Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency
24 Kashirskoye Highway
Moscow
115522 Russian Federation
Phone: +7 (495) 177-77-65.
E-mail: avfilat@yandex.ru

Образец цитирования:

М.Г. Бязрова, М.М. Сухова, А.А. Михайлов,
А.Г. Прилипов, А.В. Филатов «Генетическая
модификация первичных В-клеток человека для
моделирования процессов в зародышевых центрах»
// Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27,
№ 2. С. 133–138.
doi: 10.46235/1028-7221-16622-GMO

© Бязрова М.Г. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.G. Byazrova, M.M. Sukhova, A.A. Mikhailov, A.G. Prilipov,
A.V. Filatov "Genetic modification of primary human B cells to
model the process of B cell development in germinal centers",
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 2, pp. 133–138.
doi: 10.46235/1028-7221-16622-GMO

© Byazrova M.G. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-16622-GMO

В-клеток не приводило к переключению класса синтезируемого Ig. Отработанная система стимуляции позволит имитировать ключевые аспекты развития В-клеток в зародышевых центрах для изучения формирования В-клеточной памяти, что в конечном счете будет способствовать разработке эффективных вакцин.

Ключевые слова: наивные В-клетки, В-клетки памяти, плазматические клетки, IL-21, CD40L, Bcl-6, Bcl-XL

GENETIC MODIFICATION OF PRIMARY HUMAN B CELLS TO MODEL THE PROCESS OF B CELL DEVELOPMENT IN GERMINAL CENTERS

Byazrova M.G.^{a, b}, Sukhova M.M.^{a, c}, Mikhailov A.A.^{a, c}, Prilipov A.G.^a, Filatov A.V.^{a, c}

^a Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

^b P. Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

^c Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Abstract. The main stages of maturation of antigen-specific B cells occur in the germinal centers of the lymph nodes. During the process of differentiation, a decision is made on which path the B cells will take to develop further. They will either turn into short-lived plasmablasts or memory B cells or plasma cells. The relationship between these processes is very important for the development of a productive humoral immune response. The goal of the work was to create a system that is capable of simulating *ex vivo* processes occurring in germinal centers. We used primary B cells from human peripheral blood as starting material. B lymphocytes were stimulated *in vitro* using feeder cells carrying CD40L molecules and recombinant IL-21. Upon IL-21/CD40L stimulation, B lymphocytes changed their morphology, surface phenotype, and functional activity. After active expansion for 10 days, further cell growth stopped, and after some time they died. To generate stably proliferating B cells, we used lentiviral transduction of IL-21/CD40L stimulated IgM⁺ B cells. For this purpose, lentivirus preparations were obtained that carried a cassette consisting of the *BCL6* and *BCL2L1* genes, separated by a sequence encoding the self-cutting peptide P2A, as well as a *GFP* reporter gene separated from the target genes by an IRES element. The cassette used ensured the synthesis of the Bcl-6 transcription factor and the Bcl-XL protein in target cells. The Bcl-6 repressor prevented B cells from undergoing terminal differentiation and becoming plasma cells, and the Bcl-XL protein had an anti-apoptotic effect. Transduced B cells proliferated for more than a month and maintained a plasmablast phenotype. Forty-two days after the start of stimulation, transduced B cells remained GFP-positive, coexpressed CD27 and CD38 antigens, carried surface CD20 and IgM, intracellular Bcl-6, Bcl-XL and IgM, retained IgM secretion, but remained negative for surface and intracellular IgG. The proven stimulation system will allow us to simulate key aspects of B cell development in germinal centers to study the formation of B cell memory, which will ultimately facilitate the development of effective vaccines.

Keywords: naive B cells, memory B cells, plasma cells, IL-21, CD40L, Bcl-6, Bcl-XL

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-15-00289).

Введение

При первичном В-клеточном ответе происходит активация наивных антиген-специфических В-клеток и их дифференцировка в одну из следующих популяций: плазмбласты, клетки памяти и плазматические клетки [6]. Этот важный этап в развитии В-лимфоцитов проходит в герминативных центрах лимфоузлов. Дифференцировка В-клеток сопровождается переключением синтеза Ig и созреванием аффинности антител [5]. Для изучения процессов дифференцировки в зароды-

шевых центрах применяют несколько модельных систем, в частности используются генетически модифицированные мыши. Очевидно, что этот подход имеет серьезные ограничения; связанные, главным образом, с тем, что мыши не всегда точно отражают иммунологические процессы, проходящие у человека. Привлекательным решением является создание системы, которая позволит *ex vivo* моделировать процессы, происходящие в зародышевых центрах. В светлой зоне зародышевых центров присутствуют клетки, которые одновременно экспрессируют BCR и секретируют антитела [7]. Для создания модельной системы эти клетки наиболее интересны, поскольку они представляют популяцию пре-плазмбластов,

готовых к переходу как в В-клетки памяти, так и в плазматические клетки.

Важную роль в созревании В-лимфоцитов играют фолликулярные Т-хелперы (Tfh), которые несут на своей поверхности молекулу CD40L, взаимодействие которой с рецептором CD40 на В-лимфоците приводит к запуску NF-κB пути активации. В дополнении к этому Tfh стимулируют созревание В-клеток с помощью секретируемых цитокинов, среди которых наиболее мощным драйвером дифференцировки В-клеток является IL-21, который инициирует STAT3 путь активации [4]. Совместное действие IL-21 и CD40L является минимальной комбинацией сигналов, которая обеспечивает надежную активацию В-лимфоцитов. Однако эта система имеет существенный недостаток: активированные клетки быстро достигают терминальной дифференцировки, которая сопровождается остановкой клеточного цикла. Решить эту проблему возможно с помощью трансгенеза. В настоящей работе получены генетически модифицированные В-клетки крови человека, которые в течении двух месяцев поддерживались в состоянии преплазмабластов.

Материалы и методы

Плазмиды MSCV-Vcl6 (#31391) и pMIG-Vcl-xL (#3541), кодирующие белки Vcl-6 и Vcl-XL, были получены из Addgene (США). Используя эти плазмиды, была получена кассета, которая состояла из генов *BCL6* и *BCLXL*, разделенных последовательностью саморазрезаемого пептида P2A. В качестве репортерного гена использовали GFP, который был отделен от целевых генов последовательностью IRES. Кассету клонировали в лентивирусный вектор pUHR (#110661, Addgene, США).

Для получения лентивирусных частиц клетки HEK293 временно трансфицировали тремя плаزمидами: трансферной pUHR-Vcl6-Vcl-XL-IRES-GFP, упаковочной 8.2R и плазмидой, кодирующей поверхностный гликопротеин вируса везикулярного стоматита VSV-G (#14888, AddGene, США). Через 4 дня после трансфекции лентивирусные частицы собирали из культуральных супернатантов и концентрировали методом ультрацентрифугирования.

Образцы цельной крови собирали в гепаринизированные вакутейнерные пробирки (Sarstedt, Германия). Мононуклеарные клетки крови выделяли центрифугированием в градиенте плотности фикола-верографина ($\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$). В-лимфоциты обогащали методом отрицательной иммуномагнитной сепарации с использованием набора Dynabeads Untouched human B cell kit (Thermo Fisher Scientific, США).

В качестве источника CD40L использовали фидерные клетки A549, которые были стабильно трансфицированы геном, кодирующим

CD40L [1]. Фидерные клетки, обработанные 10 мкг/мл митомизином-С (Киова Хакко Когио, Япония), а также выделенные В-лимфоциты высевали по 10000 клеток на лунку в 96-луночный планшет. В-лимфоциты культивировали в среде DMEM с добавлением 10%-ной фетальной бычьей сыворотки, 24 мкг/мл гентамицина, 1 мМ пирувата натрия, 10 мМ HEPES (НПП «ПанЭко», Россия) и 25 нг/мл IL-21 (ООО «СайСторЛаб», Россия) при 37 °C в 5% CO₂.

Для окрашивания лимфоцитов использовали моноклональные антитела: CD19-PE (клон LT19), CD27-PECy5.5 (клон LT27), CD38-PECy7 (клон LT38), против IgG (клон CH1) и IgM (клон CH2) человека, которые ранее были получены в нашей лаборатории [1]. Использовали также моноклональные антитела против Bcl-6 (клон 7D1, BioLegend, США) и Bcl-XL (поликлон sc-634, Santa Cruz, США). Флуоресценцию клеток регистрировали с помощью проточного цитометра CytoFLEX S (Beckman Coulter, США).

Результаты и обсуждение

В-лимфоциты, выделенные из крови, стимулировали с помощью рекомбинантного IL-21 в присутствии фидерных клеток, несущих поверхностный CD40L. При IL-21/CD40L стимуляции изменялась морфология В-лимфоцитов и их функциональная активность. В-клетки, которые исходно имели сферический вид, в процессе стимуляции принимали нерегулярную форму с образованием псевдоподий, группировались вокруг фидерных клеток. Между В-лимфоцитами наблюдалась гомотипическая адгезия, одиночные клетки начали активно двигаться, клетки пролиферировали и их количество возрастало.

При стимуляции наблюдались также изменения фенотипа клеток. На 4-й день стимуляции около 20% клеток начинали коэкспрессировать антигены CD27 и CD38, к 10-му дню доля двойных позитивных CD27⁺CD38⁺ клеток увеличилась до 40%. Одновременно с этим снижалась поверхностная экспрессия CD20 антигена. Наблюдалось также снижение доли клеток, несущих поверхностный IgG или IgM, при этом увеличивался процент лимфоцитов с внутриклеточным окрашиванием IgG. Уровень секреции IgG в культуральный супернатант возрастал более чем в 5 раз. В покоящихся В-лимфоцитах детектировался невысокий уровень Vcl-6, который при IL-21/CD40L стимуляции снижался ниже порога детекции. К 10-му дню экспансия В-клеток оставалась, и они вступали в апоптоз.

Суммируя все наблюдаемые изменения, можно утверждать, что IL-21/CD40L стимулированные В-клетки по своим свойствам приближались к плазмабластам и плазматическим клеткам. Это согласуется с тем, что IL-21 инициирует STAT3 путь активации, который приводит к положи-

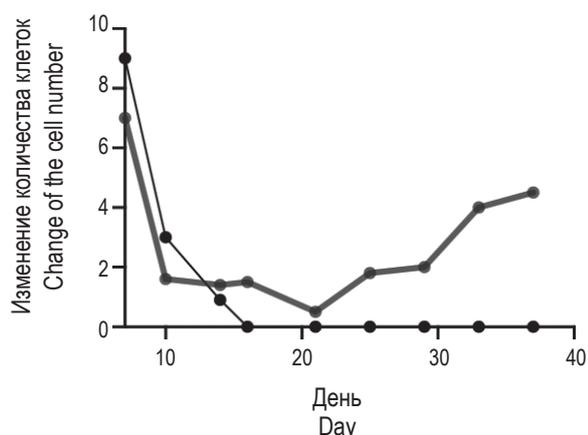


Рисунок 1. Динамика роста В-клеток трансдуцированных генами *BCL6* и *BCL2L1*

Примечание. Тонкой линией показан отрицательный контроль с В-клетками без трансдукции.

Figure 1. Dynamics of B cell growth after transduction with the *BCL6* and *BCL2L1* genes

Note. The thin line shows the negative control with B cells without transduction.

тельной регуляции транскрипционного фактора *Blimp-1*. Воздействие *CD40L* запускает альтернативный *NF-κB* сигнальный путь, который через ряд медиаторов, включая транскрипционный репрессор *Bcl-6*, снимает блокаду с *Blimp-1*. Таким образом, *IL-21* и *CD40L*, действуя синергически, обеспечивают повышение активности *Blimp-1*, который в свою очередь определяет переход В-клеток в терминальную стадию дифференцировки, на которой происходит остановка клеточного деления и В-лимфоцит окончательно превращается в плазматическую клетку [3].

Для моделирования В-клеточной дифференцировки более привлекательным является удержание В-лимфоцита в состоянии пролиферирующих преплазмабластов, в котором выбор дальнейшей дифференцировки в пользу В-клеток памяти или плазматических клеток еще не сделан. Стабильно пролиферирующие В-клетки можно получить трансдукцией генов *BCL6* и *BCL2L1*, которые кодируют транскрипционный фактор *Bcl-6* и анти-апоптотический белок *Bcl-XL* соответственно [8]. В экспериментах по трансдукции мы использовали более многочисленную популяцию IgM^+ клеток, которые

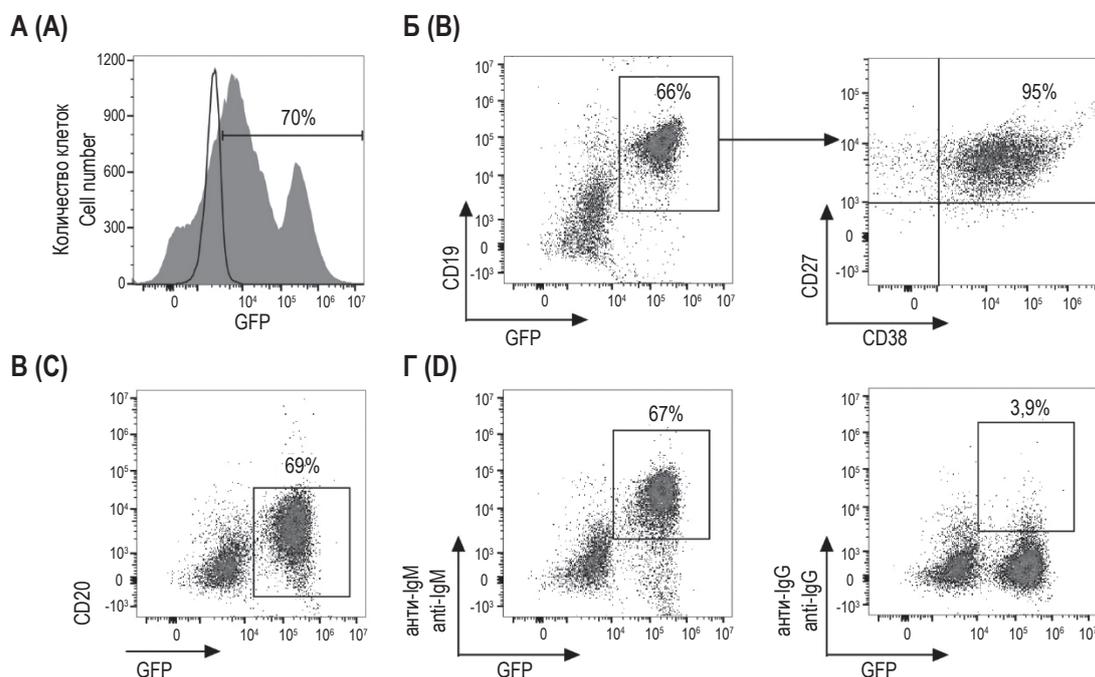


Рисунок 2. Фенотипирование трансдуцированных В-клеток на 42-й день после начала стимуляции по поверхностным маркерам

Примечание. А – распределение по флуоресценции GFP^+ клеток. Линией показан отрицательный контроль. Б – коэкспрессия антигенов *CD27* и *CD38*. В – экспрессия антигенов *CD20* (слева), *IgM* (в центре), *IgG* (справа). Цифрами указаны % положительных клеток.

Figure 2. Phenotyping of transduced B cells on day 42 after the start of stimulation using surface markers

Note. A, distribution of GFP^+ cell fluorescence. The line shows the negative control. B, coexpression of *CD27* and *CD38* antigens. C, expression of antigens *CD20* (left), *IgM* (center), and *IgG* (right). The numbers indicate the % of positive cells.

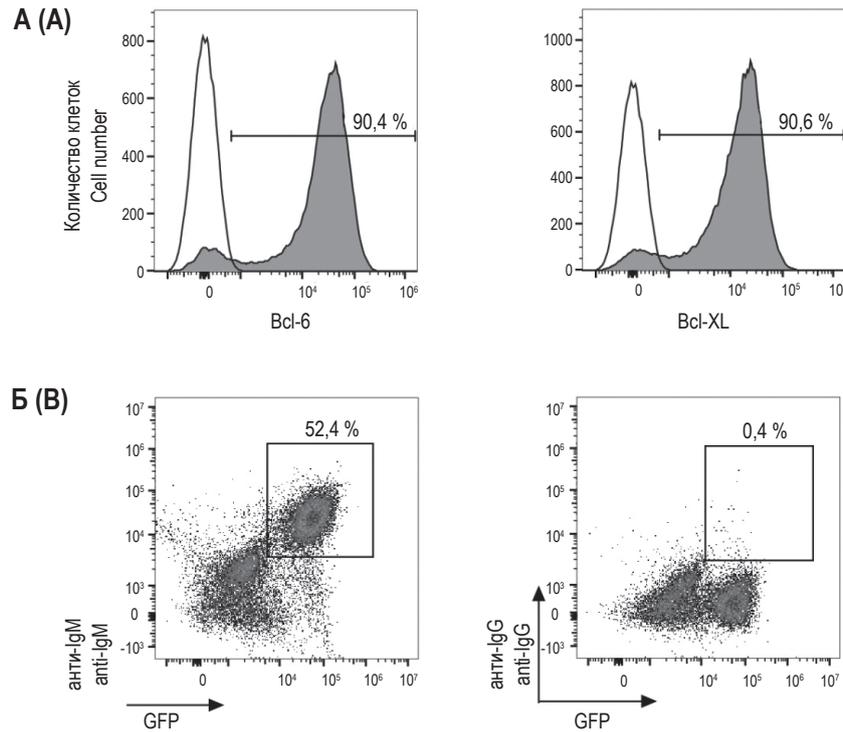


Рисунок 3. Фенотипирование трансдуцированных В-клеток на 42-й день после начала стимуляции по внутриклеточным маркерам

Примечание. А – пермеабиллизованные клетки окрашивали антителами против Bcl-6 (слева) или Bcl-XL (справа) и вторичными антителами против IgM мыши, мечеными фикоэритрином. Для отрицательного контроля приведены гистограммы флуоресценции клеток, окрашенных только вторичными антителами. Б – экспрессия внутриклеточного IgM (слева) и IgG (справа) на GFP⁺ клетках. Цифрами указаны % позитивных клеток.

Figure 3. Phenotyping of transduced B cells on day 42 after the start of stimulation using intracellular markers

Note. A, Permeabilized cells were stained with antibodies against Bcl-6 (left) or Bcl-XL (right) and secondary antibodies against mouse IgG labeled with phycoerythrin. For the negative control, fluorescence histograms of cells stained with secondary antibodies only are shown. B, expression of intracellular IgM (left) and IgG (right) on GFP⁺ cells. The numbers indicate the % of positive cells.

предварительно выделяли с помощью проточного сортировщика.

На разные сроки после начала IL-21/CD40L стимуляции к В-клеткам мы добавляли лентивирусные частицы, несущие гены *BCL6* и *BCL2L1*, а также репортерный ген *GFP*. В зависимости от дозы и времени добавления лентивирусов было получено 9 различных вариантов трансдуцированных В-лимфоцитов. Каждые три дня с помощью проточной цитометрии мы подсчитывали количество лимфоцитов, после чего клетки пересаживали в новые лунки со свежими фидерными клетками и с добавлением IL-21.

После трансдукции некоторая доля В-лимфоцитов сохраняла свою жизнеспособность вплоть до 20-го дня культивирования, после чего наблюдалось устойчивое увеличение количества лимфоцитов (рис. 1). Лимфоциты трансдуцированные на 4-й день стимуляции демонстрировали более высокий уровень пролиферации, чем лимфоциты, трансдуцированные на 7-й день

стимуляции. Оптимальная доза лентивируса обеспечивала пролиферацию в течении двух месяцев с начала стимуляции. Через 42 дня после начала стимуляции более 72% клеток сохраняли GFP-флуоресценцию (рис. 2А), коэкспрессировали антигены CD27 и CD38 (рис. 2Б), несли поверхностный CD20 и IgM, но оставались негативными по поверхностному IgG (рис. 2Д, Г). Трансдуцированные В-клетки сохраняли секрецию IgM, экспрессировали внутриклеточный Bcl-6 и Bcl-XL (рис. 3А), а также внутриклеточный IgM, но не IgG (рис. 3Б). Таким образом, культивирование В-клеток в течение 42 дней не приводило к переключение класса синтезируемого Ig.

Закключение

Таким образом, в настоящей работе показано, что первичные В-клетки крови, стимулированные в системе IL-21/CD40L и трансдуцирован-

ные генами *BCL6* и *BCL2L1*, дифференцируются в плазмабласты, которые могут пролиферировать в течении нескольких недель. Такие клетки имитируют ключевые аспекты развития В-клеток в зародышевых центрах.

Разработанная система стимуляции может служить удобным инструментом для последующих исследований по дифференцировке наивных В-клеток в предшественники В-клеток памяти и плазматические клетки.

Список литературы / References

1. Бязрова М.Г., Астахова Е.А., Спиридонова А.Б., Васильева Ю.В., Прилипов А.Г., Филатов А.В. Стимуляция В-лимфоцитов человека *in vitro* с помощью ИЛ-21/CD40L и их характеристика. Иммунология, 2020. Т. 41, № 1. С. 18-27. [Byazrova M.G., Astakhova E.A., Spiridonova A.B., Vasileva Yu.V., Prilipov A.G., Filatov A.V. IL-21/CD40L stimulation of human B-lymphocytes in vitro and their characteristics. *Immunologiya = Immunologiya*, 2020, Vol. 41, no. 1, pp. 18-27. (In Russ.)]
2. Boswell K.L., Watkins T.A., Cale E.M., Samsel J., Andrews S.F., Ambrozak D.R., Driscoll J.I., Messina M.A., Narpala S., Hopp C.S., Cagigi A., Casazza J.P., Yamamoto T., Zhou T., Schief W.R., Crompton P.D., Ledgerwood J.E., Connors M., Gama L., Kwong P.D., McDermott A., Mascola J.R., Koup R.A. Application of B cell immortalization for the isolation of antibodies and B cell clones from vaccine and infection settings. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 1087018. doi: 10.3389/fimmu.2022.1087018.
3. Diehl S.A., Schmidlin H., Nagasawa M., van Haren S.D., Kwakkenbos M.J., Yasuda E., Beaumont T., Scheeren F.A., Spits H. STAT3-mediated up-regulation of BLIMP1 is coordinated with BCL6 down-regulation to control human plasma cell differentiation. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 180, no. 7, pp. 4805-4815.
4. Ding B.B., Bi E., Chen H., Yu J.J., Ye B.H. IL-21 and CD40L synergistically promote plasma cell differentiation through upregulation of Blimp-1 in human B cells. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 190, no. 4, pp. 1827-1836.
5. Inoue T., Kurosaki T. Memory B cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2024, Vol. 24, no. 1, pp. 5-17.
6. Inoue T., Shinnakasu R., Kurosaki T. Generation of high quality memory B cells. *Front Immunol.*, 2022, 12, 825813. doi: 10.3389/fimmu.2021.825813.
7. Kwakkenbos M.J., Diehl S.A., Yasuda E., Bakker A.Q., van Geelen C.M., Lukens M.V., van Bleek G.M., Widjoatmodjo M.N., Bogers W.M., Mei H., Radbruch A., Scheeren F.A., Spits H., Beaumont T. Generation of stable monoclonal antibody-producing B cell receptor-positive human memory B cells by genetic programming. *Nat. Med.*, 2010, Vol. 16, no. 1, pp. 123-128.
8. Kwakkenbos M.J., van Helden P.M., Beaumont T., Spits H. Stable long-term cultures of self-renewing B cells and their applications. *Immunol. Rev.*, 2016, Vol. 270, no. 1, pp. 65-77.

Авторы:

Бязрова М.Г. — научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФГБУН «Государственный научный центр “Институт иммунологии”» ФМБА; ассистент кафедры иммунологии медицинского института, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Сухова М.М. — младший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФГБУН «Государственный научный центр “Институт иммунологии”» ФМБА; аспирант кафедры иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Михайлов А.А. — лаборант лаборатории иммунохимии ФГБУН «Государственный научный центр “Институт иммунологии”» ФМБА; студент кафедры иммунологии биологического факультета, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Прилипов А.Г. — д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФГБУН «Государственный научный центр “Институт иммунологии”» ФМБА, Москва, Россия

Филатов А.В. — д.б.н., профессор, заведующий лабораторией иммунохимии ФГБУН «Государственный научный центр “Институт иммунологии”» ФМБА; профессор кафедры иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Authors:

Byazrova M.G., Research Associate, Laboratory of Immunochimistry, Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency; Assistant, Department of Immunology, Medical Institute, P. Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Sukhova M.M., Junior Research Associate, Laboratory of Immunochimistry, Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency; Graduate Student, Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Mikhailov A.A., Laboratory Assistant, Laboratory of Immunochimistry, Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency; Student, Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Prilipov A.G., PhD, MD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Immunochimistry, Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Filatov A.V., PhD, MD (Biology), Professor, Head of Laboratory of Immunochimistry, Institute of Immunology, Federal Medical-Biological Agency; Professor, Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Поступила 22.03.2024

Отправлена на доработку 24.03.2024

Принята к печати 25.03.2024

Received 22.03.2024

Revision received 24.03.2024

Accepted 25.03.2024