

ПОЛУЧЕНИЕ МИЕЛОИДНЫХ СУПРЕССОРНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ *IN VITRO*

Тимганова В.П.¹, Бочкова М.С.¹, Ужвиюк С.В.², Шардина К.Ю.¹,
Заморина С.А.^{1,2}, Раев М.Б.^{1,2}

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

² ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Резюме. Миелоидные супрессорные клетки (MDSC) представляют собой гетерогенную популяцию незрелых миелоидных клеток, которые в норме дифференцируются в макрофаги, гранулоциты и дендритные клетки. Однако при патологических состояниях эти клетки приобретают супрессорный фенотип, подавляя иммунный ответ. Так, уровень MDSC возрастает при многих патологических состояниях, включая воспаление, сепсис, травматический шок, аутоиммунные заболевания, онкологический процесс, а также беременность. В последние 12 лет наблюдается устойчивый рост интереса к этой популяции клеток [PUBMED: 2008 (65 статей); 2020 (> 650 статей)]. Таким образом, изучение данной субпопуляции клеток, позволит расширить наши представления о функционировании иммунной системы. У человека MDSC характеризуются экспрессией маркеров HLA-DR-CD33⁺CD11b⁺, подразделяясь на гранулоцитарные (G-MDSC), моноцитарные (M-MDSC), а также ранние MDSC (e-MDSC) с фенотипом HLA-DR-CD11b⁺CD33⁺CD14⁺CD66b⁻. Целью данной работы являлась разработка адекватной экспериментальной модели, позволяющей оценивать дифференцировку MDSC человека из мононуклеарных клеток периферической крови при помощи цитокинов в условиях длительного культивирования *in vitro*. Объектами исследования были изолированные мононуклеарные клетки крови здоровых доноров, индуцированные в фенотип MDSC при помощи GM-CSF и IL-6 (40 или 20 нг/мл) в течение 7, 14, 21 суток. В ряде экспериментов за сутки до фенотипирования в культуры вносили липополисахарид (LPS) в концентрации 100 нг/мл. Процент живых Zombie Aqua-негативных клеток в культурах (внутри гейта клеток по FSC/SSC) колебался в пределах 90,5-93,9%. Существенных отличий между культурами выявлено не было. В наших экспериментальных условиях средний процент общей субпопуляции MDSC достигал 2-2,3% от общего количества живых клеток в культуре. Это в 9-10 раз больше процента данных клеток в свежевыделенных мононуклеарных клетках здоровых людей. По итогам проведенной экспериментальной работы мы установили, что для индукции e-MDSC из мононуклеарных клеток периферической крови человека необходимо 2 недели культивирования с 40 нг/мл IL-6 и 40 нг/мл GM-CSF. Для получения «зрелых» MDSC (M-MDSC + G-MDSC) оптимальными для нашей экспериментальной системы были следующие условия: 3 недели культивирования с 20 нг/мл IL-6 и 20 нг/мл GM-CSF с добавлением 100 нг/мл LPS за одни сутки до окончания культивирования. В целом дальнейшее изучение факторов, модулирующих дифференцировку

Адрес для переписки:

Тимганова Валерия Павловна
Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (902) 836-14-55.
E-mail: timganovavp@gmail.com

Address for correspondence:

Timganova Valeriya P.
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
614081, Russian Federation, Perm, Golev str., 13.
Phone: 7 (902) 836-14-55.
E-mail: timganovavp@gmail.com

Образец цитирования:

В.П. Тимганова, М.С. Бочкова, С.В. Ужвиюк, К.Ю. Шардина, С.А. Заморина, М.Б. Раев «Получение миелоидных супрессорных клеток человека в экспериментальной модели *in vitro*» // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 2. С. 157-162. doi: 10.46235/1028-7221-352-GOH
© Тимганова В.П. и соавт., 2020

For citation:

V.P. Timganova, M.S. Bochkova, S.V. Uzhviyuk, K.Yu. Shardina, S.A. Zamorina, M.B. Rayev "Generation of human myeloid suppressor cells in the *in vitro* experimental model", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 2, pp. 157-162. doi: 10.46235/1028-7221-352-GOH
DOI: 10.46235/1028-7221-352-GOH

MDSC, позволит выявить условия, необходимые для генерации этой популяции клеток-супрессоров, что имеет терапевтические перспективы.

Ключевые слова: миелоидные супрессорные клетки, ранние миелоидные супрессорные клетки, культура клеток, IL-6, GM-CSF, LPS, мононуклеары, проточная цитометрия

GENERATION OF HUMAN MYELOID SUPPRESSOR CELLS IN THE *IN VITRO* EXPERIMENTAL MODEL

Timganova V.P.^a, Bochkova M.S.^a, Uzhviyuk S.V.^b, Shardina K.Yu.^a, Zamorina S.A.^{a,b}, Rayev M.B.^{a,b}

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

^b Perm State National Research University, Perm, Russian Federation

Abstract. Myeloid suppressor cells (MDSCs) are a heterogeneous population of immature myeloid cells that generally differentiate into macrophages, granulocytes, and dendritic cells. However, in pathology, these cells acquire a suppressor phenotype, blocking immune response. In particular, MDSC levels increase in many pathological conditions, including inflammation, sepsis, traumatic shock, autoimmune diseases, cancer, and pregnancy. Over the past 12 years, an interest in examining this cell population has been steadily increased [PUBMED: 2008 (65 articles); 2020 (> 650 entries)] that will expand our understanding of immune system functioning. In humans, MDSCs are characterized by HLA-DR⁺CD33⁺CD11b⁺ phenotype, in turn being subdivided into CD15⁺ or CD66⁺ granulocytic (G-MDSC), CD14⁺ monocytic (M-MDSC), and early (e-MDSC) MDSC bearing HLA-DR⁺CD11b⁺CD33⁺CD14⁺CD66b⁻ phenotype. This work was aimed to develop an adequate experimental model allowing to evaluate cytokine-driven differentiation of human MDSCs from peripheral blood mononuclear cells in long-term *in vitro* culture system. For this, peripheral blood mononuclear cells were isolated from healthy donors induced to express MDSC phenotype with GM-CSF and IL-6 (40 or 20 ng/ml) cultured for 7, 14, 21 days. In several experiments, LPS (100 ng/ml) was added to the cultured cells 24 hours before immunophenotyping. The percentage of living Zombie Aqua-negative cells in cultures (gated on cells according to FSC/SSC) ranged from 90.5–93.9%. No significant differences were observed between cultured cells. In our experimental conditions, the mean percentage of total MDSC subpopulation reached 2–2.3% of total living cells, exceeding that one by 9–10-fold found in freshly isolated mononuclear cells from healthy subjects. Based on the results of our experimental study, we found that induction of e-MDSC derived from human peripheral blood mononuclear cells requires two weeks of co-culture with 40 ng/ml IL-6 and 40 ng/ml GM-CSF. “Mature” MDSCs (M-MDSC + G-MDSC) yield was peaked in the following conditions: co-culture for 3 weeks with 20 ng/ml IL-6 and 20 ng/ml GM-CSF added with 100 ng/ml LPS 24 hours before completing protocol. Overall, further examining factors modulating MDSC differentiation will reveal conditions necessary for generating this suppressor cell subset potentially used in clinical practice.

Keywords: myeloid suppressor cells, early myeloid suppressor cells, cell culture, IL-6, GM-CSF, LPS, mononuclear cells, flow cytometry

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-29-04055 мк.

Введение

Миелоидные супрессорные клетки (myeloid derived suppressor cells, MDSC) – гетерогенная популяция, представленная незрелыми нейтрофилами, дендритными клетками и моноцитами, способными подавлять иммунный ответ, в том числе против опухолей [4]. Этим клеткам при-

писывается иерархическая вершина в регуляции иммунного ответа [11]. MDSC обнаруживаются в повышенном количестве в микроокружении солидных опухолей [7]. На данный момент очевидно, что MDSC защищают опухоль от иммунной системы, делая ее устойчивой к иммунотерапии. Также имеются данные, что MDSC участвуют в ангиогенезе и метастазировании при онкологическом процессе. Ликвидация этих клеток из микроокружения опухоли повышает выживаемость онкологических больных [12].

Однако уровень MDSC увеличивается при многих патологических состояниях, включая воспаление, сепсис, травматический шок, аутоиммунные заболевания, а также беременность [6]. Их основная функция – супрессия врожденного и адаптивного иммунного ответа. MDSC ингибируют иммунный ответ через межклеточные взаимодействия с помощью молекул, синтезируемых на поверхности клеток, а также короткоживущих медиаторов [9]. Основные механизмы иммуносупрессорной активности MDSC связаны с экспрессией ряда поверхностных маркеров (CD73, ADAM17, PD-L1), внутриклеточной экспрессией аргиназы 1 (Arg 1), iNO-синтазы (индуцибельная синтаза оксида азота, iNOS), индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и продукцией ряда цитокинов (IL-10, TGF- β 1) [1,2].

В данном исследовании мы разрабатывали экспериментальную модель, связанную с работой с очень малой субпопуляцией клеток. У здоровых людей незрелые миелоидные клетки с фенотипом MDSC составляют менее 1%, их количество увеличивается в несколько раз при различных состояниях [2]. У человека MDSC характеризуются экспрессией маркеров HLA-DR-CD33⁺CD11b⁺, с подразделением на гранулоцитарную (G-MDSC) и моноцитарную (M-MDSC) субпопуляции MDSC [5]. На данный момент существует единственная возможность изучать данную субпопуляцию на клетках человека в культуре – это направленная индукция мононуклеарных клеток в фенотип MDSC при помощи цитокинов в условиях длительного культивирования *in vitro*. Целью данной работы являлась разработка адекватной экспериментальной модели, позволяющей оценивать дифференцировку MDSC человека.

Материалы и методы

Исследование проводилось согласно Хельсинкской Декларации ВМА 2000 г. и протоколу Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г., получено разрешение этического комитета ИЭГМ УрО РАН (IRB00010009) от 30.08.2019. В работе использовали фракционированные мононуклеарные клетки периферической крови (МПК) практически здоровых доноров (n = 3). МПК получали центрифугированием в градиенте плотности (1,077 г/см³, Dіасoll, «Диаэм», Россия).

Разработка адекватной экспериментальной модели получения MDSC *in vitro*

Оптимальная модель получения MDSC разрабатывалась для генерации нужной популяции клеток из мононуклеаров периферической крови. Нам было необходимо разработать собственную модель для 96 или 48-луночных планшетов с целью получения достаточного количества кле-

ток при минимальных расходах. Для разработки экспериментальной модели была проведена серия пилотных экспериментов, чтобы определить необходимые концентрации цитокинов и общую длительность культивирования.

Выбор общего времени культивирования и концентраций IL-6 и GM-CSF

Зависимость количества MDSC от присутствия LPS

Для выбора времени культивирования и оптимальных концентраций IL-6 и GM-CSF провели несколько пилотных экспериментов (n = 3). Клетки культивировали в 96-луночных планшетах в концентрации 1×10^6 кл/мл в полной питательной среде (ППС), (культуральная среда RPMI-1640, 10% ЭТС, 10 мМ Hepes, 2 мМ L-глутамин (ICN Ph., США), 100 мкл на 10 мл среды пенициллина–стрептомицина–амфотерицина (BI, Израиль)) с добавлением 20 нг/мл IL-6 и GM-CSF или 40 нг/мл IL-6 и GM-CSF в течение 7, 14 и 21 суток [10]. Помимо этого, за одни сутки до окончания культивирования в часть культур вносили липополисахарид (LPS, Sigma Aldrich) до конечной концентрации 100 нг/мл для оценки его влияния на количество «зрелых» MDSC. Замену среды производили один раз в 7 дней.

После 7, 14 или 21 дня культивирования при 37 °C и 5% CO₂ клетки переносили в пробирки для проточной цитометрии, обработав лунки реагентом “Accutase” (Сарpicorn Scientific, Германия) для полного снятия оставшихся клеток со дна планшета. Затем производили окрашивание клеток на жизнеспособность суправитальным красителем для проточной цитометрии Zombie Aqua (ZA) (Biolegend, США) согласно протоколу производителя. После отмывки клетки инкубировали с мечеными флуорохромами антителами для определения фенотипа MDSC на проточном цитометре. Использовали следующие антитела: anti HLA-DR-Alexa Fluor 750, anti CD33-APC, anti CD11b-Alexa Fluor 405, anti CD66b-PE, anti CD14-PerCP (R&D Systems, США). В качестве контролей, определяющих негативные популяции, использовали FMO (fluorescence minus one)-пробы. В работе использовали проточный цитометр “CytoFLEX S” (Beckman Coulter, США).

Гейтирование осуществляли согласно характеристикам светорассеяния, затем выделяли живые клетки, не окрасившиеся суправитальным красителем Zombie Aqua (ZA), далее гейтировали HLA-DR⁺ клетки, которые, в свою очередь, отображали на двухпараметрическом графике CD33-APC против CD11b-Alexa Fluor 405. Гейтированные таким образом живые HLA-DR⁺CD11b⁺CD33⁺ клетки отображали на двухпараметрическом графике CD66b-PE против CD14-PerCP, определяя

таким образом М- и G-субпопуляции клеток MDSC. В итоге за М-MDSC считали клетки с фенотипом HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD66⁻CD14⁺, а за G-MDSC — с фенотипом HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁻CD66b⁺. Процент живых ZA⁻ клеток в культурах (внутри гейта клеток по FSC/SSC) колебался в пределах 90,5-93,9%. Существенных отличий между культурами выявлено не было.

Результаты и обсуждение

Миелоидные супрессоры представляют собой гетерогенную популяцию клеток, включающую в себя не только М-MDSC и G-MDSC, но и так называемые ранние MDSC (Im- или e-MDSC от слов “immature” — незрелые или “early” — ранние). Имеющиеся данные говорят о том, что e-MDSC, хотя и не несут на себе ни маркеров клеток моноцитарного ряда, таких как CD14, ни гранулоцитарных (CD15), все же обладают супрессорной активностью [3, 13].

Учитывая тот факт, что e-MDSC в культуре клеток человека практически не изучены, представляют интерес любые новые данные, касающиеся этой субпопуляции. В нашем исследовании мы определяли e-MDSC как клетки с фенотипом HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁻CD66b⁻. Процент условно зрелых, то есть несущих моноцитарные и нейтрофильные маркеры MDSC, определяли следующим образом: складывали количество М-MDSC (HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁺) и G-MDSC (HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD66b⁺) клеток в культуре и вычисляли их процент от общего количества живых клеток. На рисунке 1 пред-

ставлено изменение процента ранних e-MDSC и «зрелых» MDSC в зависимости от длительности культивирования, концентраций цитокинов и добавления LPS. Показано, что при использовании высокой концентрации цитокинов (40 нг/мл) уровень e-MDSC повышался на 2-й и 3-й неделе культивирования, в то время как присутствие LPS не оказывало видимого эффекта. Однако для получения зрелых MDSC необходимо 3 недели, а также высокая концентрация цитокинов (40 нг/мл) или сочетаний цитокинов (20 нг/мл) с LPS. Таким образом, оптимальным временем культивирования для получения зрелых MDSC в культуре мононуклеарных клеток можно считать 3 недели, так как процент этих клеток достиг своего максимума в нашей экспериментальной системе. Оптимальным сочетанием концентраций цитокинов и внесения LPS можно считать 20 нг/мл IL-6 + 20 нг/мл GM-CSF с добавлением 100 нг/мл LPS за одни сутки до окончания культивирования. В отношении e-MDSC показано, что оптимальными для нашей экспериментальной системы являются следующие условия: 2 недели культивирования с 40 нг/мл IL-6 и 40 нг/мл GM-CSF.

В наших экспериментальных условиях средний процент общей субпопуляции MDSC достигал 2-2,3% от общего количества живых клеток в культуре (табл. 1). Это в 9-10 раз больше процента данных клеток в свежeweделенных мононуклеарах здоровых людей [8]. Однако получение достаточного количества индуцированных MDSC из мононуклеарных клеток здоровых доноров оказалось довольно сложной задачей. Стандартные рекомендации предполагают оценку MDSC

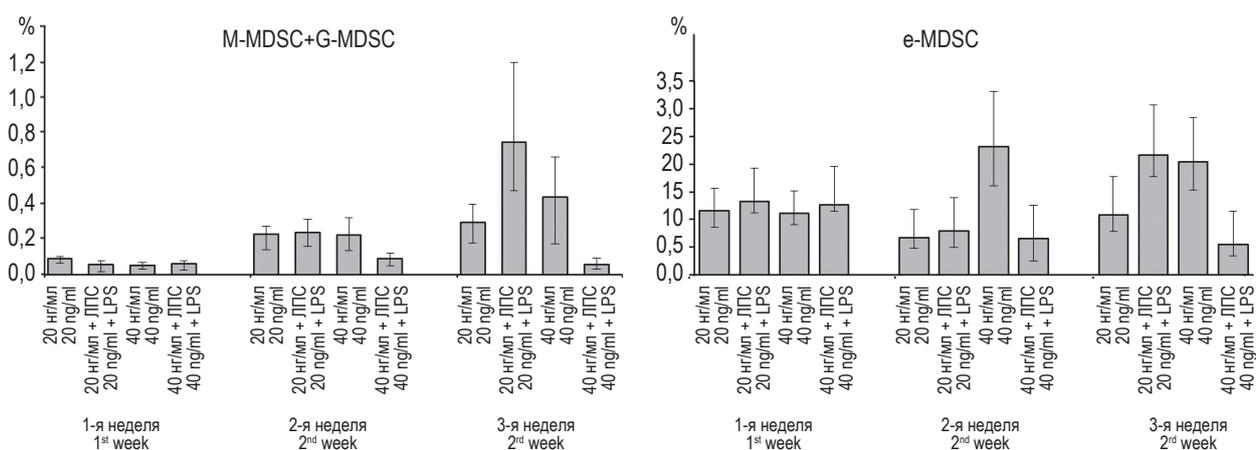


Рисунок 1. Влияние длительности культивирования, концентраций IL-6 и GM-CSF и добавления LPS на процент e-MDSC (HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁻CD66b⁻) и «зрелых» MDSC (HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁺ + HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD66b⁺) в культурах мононуклеаров периферической крови, M±m, n = 3

Figure 1. Effect of cultivation duration, IL-6 and GM-CSF concentrations, and LPS addition on the percentage of e-MDSC (HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁻CD66b⁻) and “mature” MDSC (HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁺ + HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD66b⁺) in cultures of peripheral blood mononuclear cells, M±m, n = 3

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ ВРЕМЕНИ И УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ПРОЦЕНТ ОБЩЕЙ СУБПОПУЛЯЦИИ MDSC (HLA-DR⁺CD33⁺CD11b⁺), M±m, n = 3

TABLE 1. EFFECT OF TIME AND CULTURE CONDITIONS ON THE PERCENTAGE OF THE TOTAL MDSC SUBPOPULATION (HLA-DR⁺CD33⁺CD11b⁺), M±m, n = 3

Время/условия культивирования Time/culture conditions	IL-6 + GM-CSF (20 нг/мл) IL-6 + GM-CSF (20 ng/ml)	IL-6 + GM-CSF (20 нг/мл) + LPS (100 нг/мл) IL-6 + GM-CSF (20 ng/ml) + LPS (100 ng/ml)	IL-6 + GM-CSF (40 нг/мл) IL-6 + GM-CSF (40 ng/ml)	IL-6 + GM-CSF (40 нг/мл) + LPS (100 нг/мл) IL-6 + GM-CSF (40 ng/ml) + LPS (100 ng/ml)
1-я неделя 1 st week	1,158±0,476	1,325±0,761	1,112±0,659	1,258±0,875
2-я недели 2 nd weeks	0,677±0,258	0,797±0,476	2,313±1,114	0,650±0,355
3-я недели 3 rd weeks	1,079±0,536	2,166±0,654	2,035±0,872	0,551±0,254

в периферической крови, и это довольно просто сделать. Но для решения массы задач, связанных с модуляцией активности этих клеток, необходимы эксперименты *in vitro*. На данном этапе мы связываем низкий уровень MDSC в культурах с тем фактом, что наши здоровые доноры изначально имели низкий уровень этих клеток в крови. Помимо этого, лимфоциты в культуре за 3 недели культивирования без активации TCR не способны активно пролиферировать и синтезировать цитокины.

Заключение

Таким образом, по итогам проведенной экспериментальной работы мы установили, что для

индукции e-MDSC из мононуклеарных клеток периферической крови человека необходимо 2 недели культивирования с 40 нг/мл IL-6 и 40 нг/мл GM-CSF. Для получения «зрелых» MDSC оптимальными для нашей экспериментальной системы были следующие условия: 3 недели культивирования с 20 нг/мл IL-6 и 20 нг/мл GM-CSF с добавлением 100 нг/мл LPS за одни сутки до окончания культивирования. В целом дальнейшее изучение факторов, модулирующих дифференцировку MDSC, позволит выявить условия, необходимые для генерации этой популяции клеток-супрессоров, что имеет терапевтические перспективы.

Список литературы / References

1. Атретханы К.-С.Н., Друцкая М.С. Миелоидные супрессорные клетки и провоспалительные цитокины как мишени терапии рака // Биохимия, 2016. Т. 81, № 11. С. 1520-1529. [Atretkhany K.-S.N., Drutskaya M.S. Myeloid-derived suppressor cells and proinflammatory cytokines as targets for cancer therapy *Biokhimiya = Biochemistry*, 2016, Vol. 81, no. 11, pp. 1520-1529. (In Russ.)]
2. Пономарев А.В. Миелоидные супрессорные клетки: общая характеристика // Иммунология, 2016. Т. 37, № 1. С. 47-50. [Ponomarev A.V. Myeloid suppressor cells: general characteristics. *Immunologiya = Immunology*, 2016, Vol. 37, no. 1, pp. 47-50. (In Russ.)]
3. Dumitru C.A., Moses K., Trellakis S., Lang S., Brandau S. Neutrophils and granulocytic myeloid-derived suppressor cells: immunophenotyping, cell biology and clinical relevance in human oncology. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2012, Vol. 61, no. 8, pp. 1155-1167.
4. Gabrilovich D.I., Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009, Vol. 9, pp. 162-174.
5. Gabrilovich D.I., Ostrand-Rosenberg S., Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, Vol. 12, no. 4, pp. 253-268.
6. Goedegebuure P., Mitchem J.B., Porembka M.R., Tan M.C.B., Belt B.A., Wang-Gillam A., et al. Myeloid-derived suppressor cells: general characteristics and relevance to clinical management of pancreatic cancer. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2011, Vol. 11, no. 6, pp. 734-751.
7. Greten T.F., Manns M.P., Korangy F. Myeloid derived suppressor cells in human diseases. *Int. Immunopharmacol.*, 2011, Vol. 11, no. 7, pp. 802-807.
8. Kotsakis A., Harasymczuk M., Schilling B., Georgoulas V., Argiris A., Whiteside T.L. Myeloid-derived suppressor cell measurements in fresh and cryopreserved blood samples. *J. Immunol. Methods*, 2012, Vol. 381, pp. 14-22.

9. Kumar V., Patel S., Tcyganov E., Gabrilovich D.I. The nature of myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment. *Trends Immunol.*, 2016, Vol. 37, pp. 208-220.
10. Lechner M.G., Liebertz D.J., Epstein A.L. Characterization of cytokine-induced myeloid derived suppressor cells from normal human peripheral blood mononuclear cells. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 185, no. 4, pp. 2273-2284.
11. Pak V.N. Selective targeting of myeloid-derived suppressor cells in cancer patients through AFP-binding receptors. *Future Sci. OA*, 2018, Vol. 5, no. 1. doi: 10.4155/fsoa-2018-0029.
12. Tesi R.J. MDSC; The most important cell you have never heard of. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2019, Vol. 40, no. 1, pp. 4-7.
13. Veglia F., Perego M., Gabrilovich D. Myeloid-derived suppressor cells coming of age. *Nat. Immunol.*, 2018, Vol. 19, no. 2, pp. 108-119.

Авторы:

Тимганова В.П. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

Бочкова М.С. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

Шардина К.Ю. — аспирант лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

Ужвийук С.В. — магистрант кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Заморина С.А. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук; профессор кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Раев М.Б. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук; профессор кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Authors:

Timganova V.P., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Bochkova M.S., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Shardina K. Yu., Graduate Student, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Uzhviyuk S.V., Student, Microbiology and Immunology Department, Faculty of Biology, Perm State National Research University, Perm, Russian Federation

Zamorina S.A., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Professor, Microbiology and Immunology Department, Faculty of Biology, Perm State National Research University, Perm, Russian Federation

Rayev M.B., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Professor, Microbiology and Immunology Department, Faculty of Biology, Perm State National Research University, Perm, Russian Federation