

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ГРАФЕНА НА АПОПТОЗ Т-ЛИМФОЦИТОВ И КЛЕТОК ЛИНИИ JURKAT

Усанина Д.И.^{1,2}, Ужвиюк С.В.¹, Заморина С.А.^{1,2}

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

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

Резюме. Графен и его производные – материалы с уникальными физико-химическими свойствами, углубленное изучение которых позволяет рассматривать их в качестве перспективных биомедицинских агентов для адресной доставки лекарств и генов, фототермической терапии раковых заболеваний, биовизуализации и пр. Однако для этого требуется комплексное изучение влияния наноматериалов на организм, в том числе на клетки иммунной системы.

Цель нашего исследования – изучение влияния пегилированных наночастиц оксида графена (ОГ) на апоптоз Т-лимфоцитов из крови здоровых доноров, а также клеток иммортализованной Т-клеточной линии Jurkat 5332. Сравнение полученных данных позволит углубить наше понимание биосовместимости наноматериалов, а также ответит на вопрос, насколько результаты, полученные с использованием клеточных линий, справедливы для аналогичных клеток здорового организма.

В работе мы использовали наночастицы ОГ разных размеров (100-200 нм, 1-5 мкм), функционализированные линейным и разветвленным полиэтиленгликолем (ПЭГ). Клетки культивировали в течение суток при 37 °С и 5% CO₂ с наночастицами в концентрациях 5 и 25 мкг/мл, после чего оценивали жизнеспособность, а также ранний и поздний апоптоз клеток линии Jurkat и CD3⁺ клеток здоровых доноров методом проточной цитометрии.

При изучении влияния наночастиц ОГ на Т-клетки здоровых доноров было установлено, что наночастицы малой размерности, покрытые линейным ПЭГ, в высокой концентрации (25 мкг/мл) способны достоверно понижать число живых клеток, а также увеличивать число клеток в состоянии позднего апоптоза. В то же время наночастицы большой размерности, покрытые разветвленным ПЭГ, в высокой концентрации (25 мкг/мл), увеличивали число Т-клеток, находящихся в раннем апоптозе.

Установлено, что наночастицы ОГ в исследуемых концентрациях не оказывали влияния на жизнеспособность, а также показатели апоптоза клеток линии Jurkat вне зависимости от размеров, концентрации и типа поверхностной функционализации частиц.

Полученные данные свидетельствуют о том, что наночастицы ОГ оказывают различные эффекты на здоровые и раковые Т-лимфоциты. Можно предположить, что подобные несоответствия могут быть объяснены большей устойчивостью опухолевых клеток в сравнении со здоровыми. Из этого можно сделать вывод о том, что при изучении воздействия наноматериалов на клетки нельзя ограничиваться экспериментами на клеточных линиях, так как их характеристики могут значительно отличаться от таковых у здоровых клеток.

Ключевые слова: наночастицы оксида графена, Т-лимфоциты, апоптоз, Jurkat

Адрес для переписки:

Усанина Дарья Игоревна
Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (342) 280-77-94.
E-mail: usanina_d@mail.ru

Address for correspondence:

Darya I. Usanina
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms
13 Golev St
Perm
614081 Russian Federation
Phone: +7 (342) 280-77-94.
E-mail: usanina_d@mail.ru

Образец цитирования:

Д.И. Усанина, С.В. Ужвиюк, С.А. Заморина
«Влияние наночастиц оксида графена на апоптоз
Т-лимфоцитов и клеток линии Jurkat» // Российский
иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 3. С. 409-414.
doi: 10.46235/1028-7221-9635-EOG

© Усанина Д.И. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

D.I. Usanina, S.V. Uzhviyuk, S.A. Zamorina “Effect
of graphene oxide nanoparticles on apoptosis of T lymphocytes
and Jurkat cells”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 3, pp. 409-414.
doi: 10.46235/1028-7221-9635-EOG

© Usanina D.I. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-9635-EOG

EFFECT OF GRAPHENE OXIDE NANOPARTICLES ON APOPTOSIS OF T LYMPHOCYTES AND JURKAT CELLS

Usanina D.I.^{a, b}, Uzhviyuk S.V.^a, Zamorina S.A.^{a, b}

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

^b Perm State University, Perm, Russian Federation

Abstract. Graphene and its derivatives are materials with unique physicochemical properties. A detailed study of these materials allows to consider them prospective biomedical agents for targeted drug and gene delivery, photothermal therapy of cancer, bioimaging, etc. However, this requires a comprehensive studies of their effects on the body tissues, including cells of the immune system.

The aim of our research was to study the effects of nanoparticles based on pegylated graphene oxide (GO) upon apoptosis of T lymphocytes derived from blood of healthy donors and Jurkat 5332 cell line. Comparison of these cells will extend our knowledge of the effects of nanomaterials on the cells, and to respond the question, what results obtained with continuous cell lines are valid for normal non-malignant cells. In this work, we used GO nanoparticles (100–200 nm, 1–5 μm) coated with linear (LP-GO) and branched (BP-GO) polyethylene glycol (PEG). The cells were cultured for 24 hours at 37 °C and 5% CO₂ with nanoparticles at concentrations of 5 and 25 μg/mL. Viability and early and late apoptosis of incubated Jurkat cells and CD3⁺ cells from healthy donors were assessed by flow cytometry. It was found that the small nanoparticles coated with linear PEG at high concentrations (25 μg/mL) could significantly reduce the number of live cells and increase the number of cells in late apoptosis. At the same time, large nanoparticles coated with branched PEG at high concentrations (25 μg/mL) increased the percentage of T cells in early apoptosis.

Meanwhile, the GO nanoparticles at both concentrations did not affect the viability and apoptosis of Jurkat cells, regardless of the size, concentration, and type of surface function of the particles.

The obtained results suggest that GO nanoparticles exert different effects upon normal and malignant lymphocytes of T lineage. One may assume that these discrepancies could be explained by greater resistance of tumor cells compared to normal T cells. These findings suggests that studies of nanomaterials upon living cells should not be limited to experiments on cell lines, since their properties may significantly differ from those of non-malignant cells.

Keywords: graphene oxide, nanoparticles, T lymphocytes, apoptosis, Jurkat

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 19-15-00244-П.

Введение

Биомедицинские и фармацевтические исследования не теряют своей актуальности. Одно из перспективных направлений в данной области — наноматериалы. В последние десятилетия тема наноматериалов активно развивается благодаря их уникальным физико-химическим свойствам, возможностям направленной модификации и многофункциональности. Наноматериалы могут быть использованы для адресной доставки лекарств и генов, фототермической терапии раковых заболеваний, биовизуализации и пр. [10].

Наноматериалы на основе углерода включают в себя углеродные нанотрубки, фуллерены, нанолампы, графен и его производные. Преимуществами углеродных материалов являются обширные возможности модификации, малые размеры, большая удельная площадь поверхности, высокая тепло- и электропроводность, уникальные оптические и механические свойства. Углубленное изучение этих материалов позволяет рассматривать их в качестве перспективных биомедицинских агентов, однако требует тщательного

исследования их влияния на различные клетки организма [8, 12].

В настоящее время активно изучается биосовместимость графена и его производных. Актуальным является исследование взаимодействия графена с клетками иммунной системы, так как именно они будут первыми контактировать с наноматериалом в случае его биомедицинского применения. В литературе можно найти как отдельные исследования по этой теме, так и комплексные обзоры, охватывающие большое число клеточных популяций [3]. Стоит отметить, что наноматериалы обычно покрывают биосовместимыми полимерами, снижающими их цитотоксичность, такими как полиэтиленгликоль (ПЭГ).

В качестве модели для изучения биосовместимости материалов часто используют линии раковых клеток, так как это облегчает проведение экспериментов и позволяет избавиться от процедур изоляции клеток. Однако, ввиду большей устойчивости раковых клеток, остается спорным вопрос о возможности экстраполяции данных, полученных в ходе подобных экспериментов, на неизменные клетки.

Мы поставили перед собой цель выяснить, оказывают ли наночастицы оксида графена влияние на жизнеспособность и апоптоз

Т-лимфоцитов из крови здоровых людей, а также линию раковых лимфоцитов. Полученные данные позволяют расширить наше понимание взаимодействия наноматериалов с живыми системами, а также сделать выводы о достоверности данных, полученных лишь при использовании иммортализованных линий клеток.

Материалы и методы

Исследование проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации 2000 г. и протоколом Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г., на используемую экспериментальную схему получено разрешение Этического комитета «Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» (IRB00010009) от 30.08.2019. От каждого донора было получено информированное согласие.

В работе использовали наночастицы оксида графена размерами 100-200 нм (маленькие, «м»), и 1-5 мкм (большие, «б») (Ossila Ltd, Великобритания). Функционализированные наночастицы были получены в рамках проекта РФФИ № 19-15-00244 (рук. Заморина С.А.). Процедуры модификации наночастиц осуществлялись в ИТХ УрО РАН к.х.н. Нечаевым А.И.

Модификация наночастиц оксида графена линейным (П-ОГ) и разветвленным (рП-ОГ) полиэтиленгликолем осуществлялась методом ковалентной пришивки аминогрупп к карбоксильным группам на поверхности оксида графена через образование амидной связи [5]. Покрытие наночастиц разветвленным ПЭГ по сравнению с линейным улучшает их коллоидную стабильность в растворах. Модификацию структуры и состава оксида графена полиэтиленгликолем подтверждали при помощи УФ- и ИК-Фурье спектроскопии. Определение степени покрытия наночастиц полиэтиленгликолем проводили методом термogravиметрического анализа. Характеристика наночастиц и процедуры функционализации ОГ была представлена нами ранее [7].

Для сравнения эффектов, оказываемых оксидом графена на здоровые, и раковые клетки, мы использовали лимфоциты, полученные из крови условно здоровых доноров ($n = 5$), а также клетки иммортализованной Т-клеточной линии Jurkat 5332 (Российская коллекция клеточных культур позвоночных Института цитологии РАН, г. Санкт-Петербург) ($n = 5$).

Лейкоциты выделяли из крови методом спонтанной седиментации в течение 40 минут при 37 °С, после чего культивировали в полной культуральной среде (ССМ, RPMI (Sigma) с добавлением 1% пенициллина-стрептомицина-амфотерицина (ВИ), 10% объединенной человеческой сыворотки, 2 мМ L-глутамин, 10 мМ HEPES. Клетки линии Jurkat 5332 культивировали в питательной среде RPMI-1640 с добавлением 2 мМ L-глутамин, 100 Ед пенициллина, 0,1 мг/мл стрептомицина, 2,5 мкг/мл амфотерицина В и

10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки.

Клетки культивировали в 96-луночных планшетах в концентрации 1 млн клеток/мл. Клетки культивировали во влажной атмосфере в CO₂-инкубаторе при 37 °С и 5% CO₂ в течение суток. Так как число доноров для получения мононуклеарных клеток составляло 5, с клетками Jurkat также проводили серию из пяти экспериментов. Наночастицы П-ОГ и рП-ОГ вносили до конечных концентраций 5 и 25 мкг/мл. Контролем служили лунки без добавления наночастиц.

Для определения жизнеспособности клеток после культивирования в присутствии наночастиц оксида графена использовали краситель Zombie aqua (ZA) (Invitrogen, США). Для оценки числа апоптозирующих клеток использовали Annexin V FITC (BioLegend, США). Оценивали ранний (ZA-AnnV⁺) и поздний апоптоз/некроз (ZA⁺AnnV⁺) клеток. Лейкоциты из крови доноров также окрашивали антителами к CD3-PB (Miltenyi Biotec, США) и оценивали апоптоз в субпопуляции CD3⁺ (Т-клетки). Окрашенные образцы анализировали с использованием проточного цитометра CytoFLEX S (Beckman Coulter, США). Порог между позитивными (окрашенными) и негативными субпопуляциями клеток определяли с использованием неокрашенных проб, а также контролей флуоресценции минус один (FMO). Данные проточной цитометрии анализировали с помощью программы CytExpert (Beckman Coulter, США).

Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism 8.0.1. Для оценки использовали тест Фридмана и post-hoc тест Данна для множественных сравнений. Результаты представляли в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей – Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Уровень значимости принимали за 0,05.

Результаты и обсуждение

При изучении влияния пегилированных наночастиц оксида графена установлено, что в исследуемых концентрациях они не оказывают влияния на жизнеспособность клеток линии Jurkat вне зависимости от типа поверхностной функционализации (рис. 1). Средние значения жизнеспособности клеток в культурах с добавлением графена колебались в пределах 96,97-97,47% (контроль – 97,18%) Однако частицы малых размеров, функционализированные линейным полиэтиленгликолем, в концентрации 25 мкг/мл достоверно понижали жизнеспособность Т-лимфоцитов здоровых доноров (рис. 1).

Эти же наночастицы (П-ОГм, 25 мкг/мл) повышали число клеток в состоянии позднего апоптоза (рис. 2). В то же время в отношении раннего апоптоза зафиксирован стимулирующий эффект другого типа наночастиц – больших, функционализированных разветвленным полиэтиленгликолем (рП-ОГб, 25 мкг/мл) (рис. 2).

В отношении клеток линии Jurkat не установлено достоверных различий в числе клеток в состоянии раннего и позднего апоптоза в присутствии наночастиц оксида графена (рис. 2).

Ранее нами было установлено, что наночастицы пегилированного оксида графена вызывают снижение прироста клеточной массы Т-лимфоцитов линии Jurkat [1]. При этом статистический анализ не выявил достоверного снижения жизнеспособности клеток, что согласуется с данными текущего исследования. Исходя из полученной информации, можно сделать вывод о том, что пегилированный оксид графена в концентрации 5–25 мкг/мл затрудняет лишь пролиферацию клеток данной линии, не вызывая их гибели.

Проведенные ранее исследования свидетельствуют также о снижении клеточной массы мононуклеарных клеток периферической крови человека при суточной инкубации с оксидом графена [2]. Наиболее выраженный подавляющий эффект наблюдался у частиц, покрытых разветвленным ПЭГом, которые также вызвали образование клеточных агрегатов; а в текущей работе такие частицы повышали число клеток в состоянии раннего апоптоза. Одновременно, не было отмечено влияния наночастиц ОГ на жизнеспособность мононуклеарных клеток [2]. В настоящей работе наночастицы вызвали достоверное снижение процента живых CD3⁺ клеток, однако нельзя игнорировать тот факт, что в целом, показатели жизнеспособности остаются довольно высокими. Кроме того, CD3⁺ клетки составляют 45–70% от всех мононуклеаров крови, и изменения количества живых клеток в этой субпопуляции могли быть не детектируемы в предыдущем исследовании.

Известно, что присутствие наночастиц оксида графена может вызывать гибель клеток, однако оказываемые эффекты находятся в зависимости от размеров и концентрации частиц, а также типа поверхностной функционализации [11]. Например, в отношении Т-клеток известно, что ОГ без поверхностной модификации, а также ОГ-СООН, обладают хорошей биосовместимостью в концентрациях до 25 мкг/мл, в то время как покрытые полиэтиленамином частицы токсичны уже в концентрации 1,6 мкг/мл [5]. При этом в большей степени апоптозу подвержены активированные Т-лимфоциты [9]. Так, в исследованиях Ding с соавт. [5] в состоянии позднего апоптоза находилось до 67,4% клеток из культуры Т-лимфоцитов после суточной инкубации с ОГ. В нашем исследовании Т-клетки не подвергались предварительной активации, что объясняет гораздо меньшую выраженность цитотоксических эффектов графена. Кроме того, при покрытии частиц полиэтиленгликолем, как и в нашем случае, также обнаруживается снижение апоптоза клеток [11].

Для оценки биосовместимости материалов, в том числе графена, зачастую используют линии раковых клеток [4, 6]. В большинстве случаев, как и в нашем исследовании, отмечается, что жизнеспособность раковых клеток снижается в меньшей степени, чем у нормальных. Это может быть объяснено тем, что линии раковых клеток более устойчивы к повреждениям или метаболическим нарушениям. Наше исследование подтверждает, что использование клеточных линий не может полностью заменить эксперименты со здоровыми клетками, а к полученным данным следует относиться с осторожностью: иммортализованные клетки не отображают процессы, происходящие

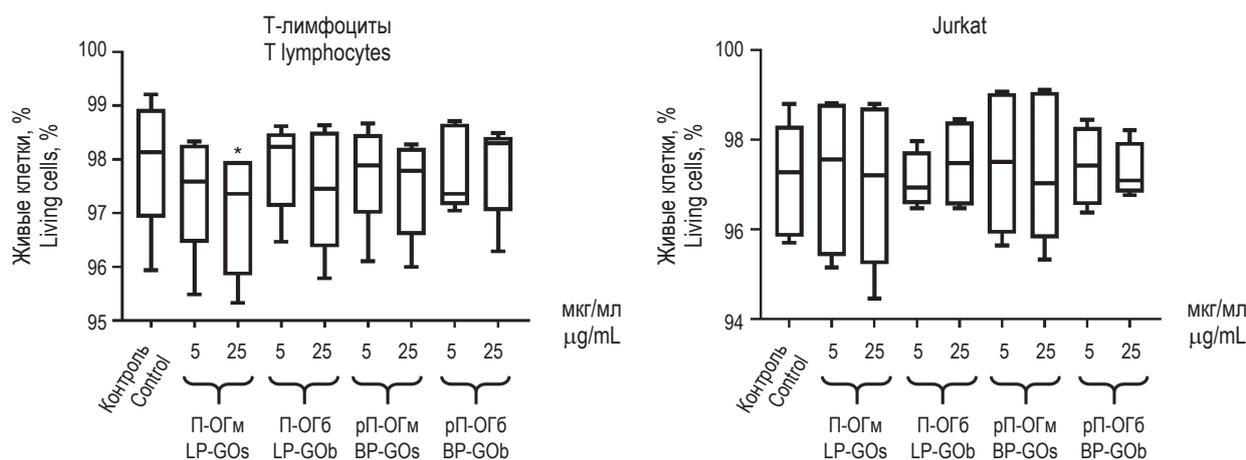


Рисунок 1. Влияние оксида графена на жизнеспособность Т-лимфоцитов из крови здоровых доноров и клеток линии Jurkat

Примечание. По оси X обозначены тип и концентрация наночастиц оксида графена, по оси Y – процент живых клеток (ZA). Контроль – культуры без добавления графена. Звездочкой обозначены значения $p < 0,05$.

Figure 1. Effect of graphene oxide on the viability of T lymphocytes from the blood of healthy donors and Jurkat cells

Note. The x-axis indicates the type and concentration of nanoparticles; the y-axis is the percentage of living cells (ZA). Control, culture without GO. Significant differences ($p < 0.05$) are indicated (*).

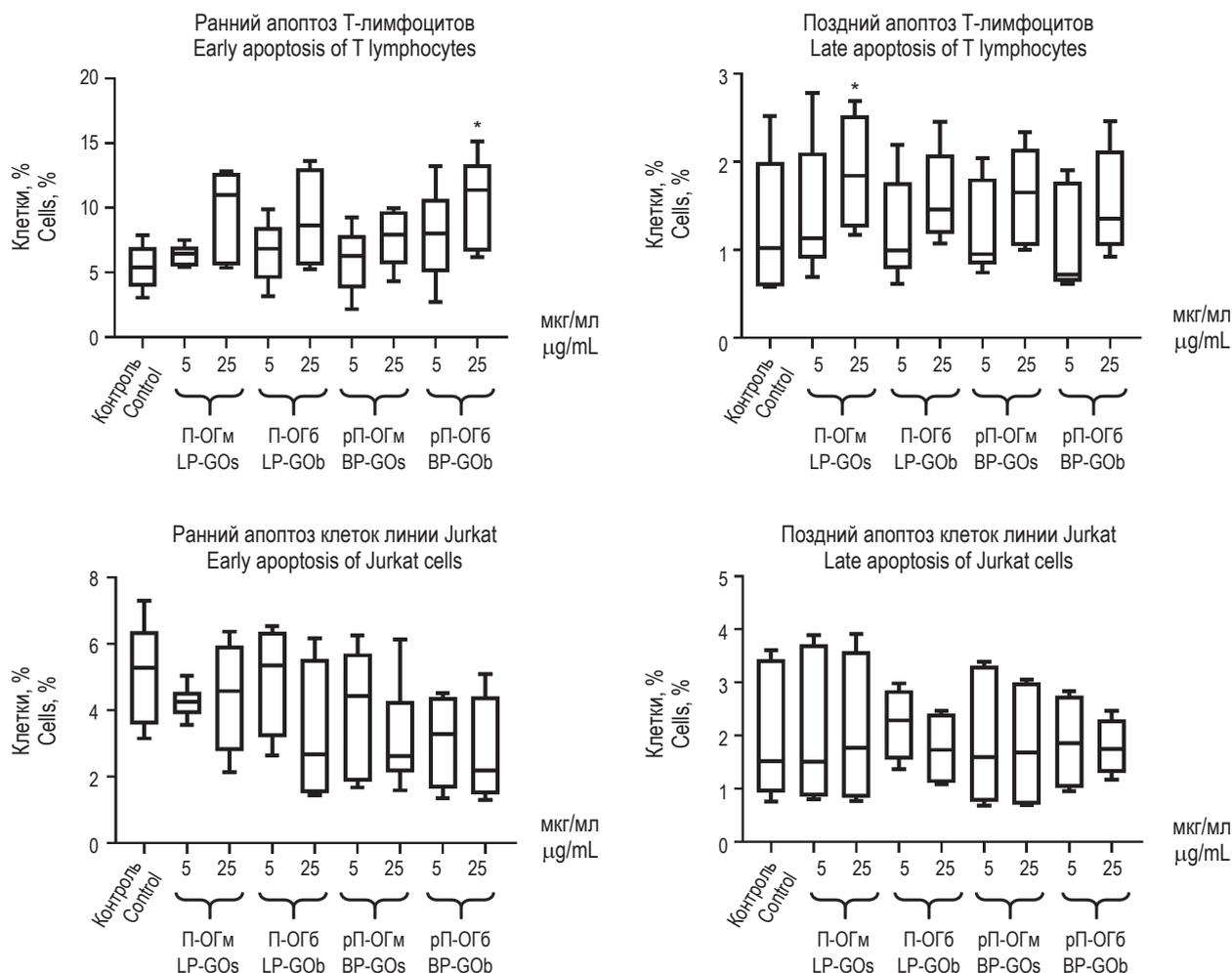


Рисунок 2. Влияние оксида графена на ранний и поздний апоптоз Т-лимфоцитов и клеток линии Jurkat

Примечание. По оси X обозначены тип и концентрация наночастиц оксида графена, по оси Y – процент клеток в состоянии раннего и позднего апоптоза соответственно. Контроль – культуры без добавления графена. Звездочкой обозначены значения $p < 0,05$.

Figure 2. Effect of graphene oxide on early and late apoptosis of T lymphocytes and Jurkat cells

Note. The x-axis indicates the type and concentration of nanoparticles; the y-axis is the percentage of cells in the state of early and late apoptosis, respectively. Control, culture without GO. Significant differences ($p < 0.05$) are indicated (*).

при взаимодействии наноматериала со здоровыми клетками.

Выводы

Показано, что наночастицы оксида графена в концентрации 25 мкг/мл способны вызывать апоптоз Т-клеток, а также снижать их жизнеспособность. Оказываемые эффекты определяются типом поверхностной функционализации и раз-

мером частиц. В то же время наночастицы ОГ не оказывали цитотоксического влияния на изучаемые параметры клеток линии Jurkat.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что наночастицы ОГ по-разному влияют на Т-лимфоциты и клетки линии Jurkat, из-за чего данные, полученные при использовании клеточной линии, нельзя экстраполировать на здоровые клетки.

Список литературы / References

1. Заморина С.А., Храмов П.В., Раев М.Б., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Нечаев А.И., Шунькин Е.О., Хазиахматова О.Г., Малащенко В.В., Литвинова Л.С. Взаимодействие наночастиц оксида графена с клетками линии Jurkat в системе Cell-IQ // Доклады российской академии наук. Науки о жизни, 2021. Т. 501. С. 78-84. [Zamorina S.A., Khramtsov P.V., Rayev M.B., Timganova V.P., Bochkova M.S., Nechaev A.I., Shunkin E.O., Khaziakhmatova O.G., Malashchenko V.V., Litvinova L.S. Graphene oxide nanoparticles interaction with Jurkat cell line in Cell-IQ system. *Doklady rossiyskoy akademii nauk. Nauki o zhizni = Reports of the Russian Academy of Sciences. Life Sciences*, 2021, Vol. 501, pp. 78-84. (In Russ.)]

2. Ужвиюк С.В., Храмов П.В., Раев М.Б., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Хазиахматова О.Г., Малащенко В.В., Литвинова Л.С., Заморина С.А. Взаимодействие наночастиц оксида графена с мононуклеарными клетками человека в системе Cell-IQ // Клеточные технологии в биологии и медицине, 2023. № 1. [Uzhviyuk S.V., Khramtsov P.V., Rayev M.B., Timganova V.P., Bochkova M.S., Khaziakhmatova O.G., Malashchenko V.V., Litvinova L.S., Zamorina S.A. Graphene oxide nanoparticles interaction with human mononuclear cells in Cell-IQ system. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine = Cellular Technologies in Biology and Medicine*, 2023, Vol. 1. (In Russ.)]
3. Храмов П.В., Раев М.Б., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Заморина С.А. Взаимодействие наночастиц оксида графена с клетками иммунной системы // Гены и клетки, 2020. Т. 15, № 3. С. 29-38. [Khramtsov P.V., Rayev M.B., Timganova V.P., Bochkova M.S., Zamorina S.A. Interaction of graphene oxide nanoparticles with cells of the immune system. *Geny i kletki = Genes and Cells*, 2020, Vol. 15, pp. 29-38. (In Russ.)]
4. Cai X., Tan S., Yu A., Zhang J., Liu J., Mai W., Jiang Z. Sodium 1-naphthalenesulfonate-functionalized reduced graphene oxide stabilizes silver nanoparticles with lower cytotoxicity and long-term antibacterial activity. *Chem. Asian J.*, 2012, Vol. 7, no. 7, pp. 1664-1670.
5. Ding Z., Zhang Z., Ma H., Chen Y. *In vitro* hemocompatibility and toxic mechanism of graphene oxide on human peripheral blood T lymphocytes and serum albumin. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2014, Vol. 6, no. 22, pp. 19797-19807.
6. Hong B.J., Compton O.C., An Z., Eryazici I., Nguyen S.T. Successful Stabilization of Graphene Oxide in Electrolyte Solutions: Enhancement of biofunctionalization and cellular uptake. *ACS Nano*, 2012, Vol. 6, no. 1, pp. 63-73.
7. Khramtsov P., Bochkova M., Timganova V., Nechaev A., Uzhviyuk S., Shardina K., Maslennikova I., Rayev M., Zamorina S. Interaction of graphene oxide modified with linear and branched PEG with monocytes isolated from human blood. *Nanomaterials*, 2022, Vol. 12, no. 1, 126. doi: 10.3390/nano12010126.
8. Kiew S.F., Kiew L.V., Lee H.B., Imae T., Chung L.Y. Assessing biocompatibility of graphene oxide-based nanocarriers: A review. *J. Control. Release*, 2016, Vol. 226, pp. 217-228.
9. Lenardo M., Chan K.M., Hornung F., McFarland H., Siegel R., Wang J., Zheng L. Mature T lymphocyte apoptosis – immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Annu Rev. Immunol.*, 1999, Vol. 17, pp. 221-253.
10. Liao C., Li Y., Tjong S.C. Graphene nanomaterials: synthesis, biocompatibility, and cytotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, Vol. 19, no. 11, 3564. doi:10.3390/ijms19113564.
11. Ou L., Lin S., Song B., Liu J., Lai R., Shao L. The mechanisms of graphene-based materials-induced programmed cell death: a review of apoptosis, autophagy, and programmed necrosis. *Int. J. Nanomedicine*, 2017, Vol. 12, pp. 6633-6646.
12. Rhazouani A., Gamrani H., El Achaby M., Aziz K., Gebrati L., Uddin M.S., Aziz F. Synthesis and toxicity of graphene oxide nanoparticles: a literature review of *in vitro* and *in vivo* studies. *Biomed Res Int.*, 2021, Vol. 2021, 5518999. doi: 10.1155/2021/5518999.

Авторы:

Усанина Д.И. – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; магистр кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Ужвиюк С.В. – инженер лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь Россия

Заморина С.А. – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; профессор кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Authors:

Usanina D.I., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – Branch of Perm Federal Research Center; Master Student, Department of Microbiology and Immunology, Perm State University, Perm, Russian Federation

Uzhviyuk S.V., Engineer, Laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – Branch of Perm Federal Research Center, Perm, Russian Federation

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