

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ И ГЛИКОЛИЗА В CD4⁺T-ЛИМФОЦИТАХ ВИЧ/ВГС КОИНФИЦИРОВАННЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НЕОТВЕТЧИКОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ SEAHORSE

Королевская Л.Б., Власова В.В., Шмагель Н.Г., Сайдакова Е.В.

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

Резюме. Окислительное фосфорилирование и гликолиз необходимы для выживания, деления и функционирования CD4⁺T-лимфоцитов. Однако косвенные данные свидетельствуют о том, что у ВИЧ-позитивных, коинфицированных вирусом гепатита С (ВГС) иммунологических неответчиков на антиретровирусную терапию изменены показатели метаболической активности CD4⁺T-клеток. Эти данные позволяют предположить, что в основе неспособности CD4⁺T-лимфоцитов иммунологических неответчиков продуктивно делиться и увеличивать свою численность после подавления вирусной репликации антиретровирусными препаратами может лежать метаболическая дисфункция. Ставшая доступной сравнительно недавно технология анализа внеклеточных потоков с использованием оборудования Seahorse XF дает возможность оценить метаболическую активность клеток. Целью настоящей работы была оценка эффективности окислительного фосфорилирования и гликолиза в CD4⁺T-лимфоцитах ВИЧ/ВГС коинфицированных иммунологических неответчиков с использованием технологии Seahorse. Исследованы образцы периферической крови пациентов двух групп: ВИЧ/ВГС коинфицированных иммунологических неответчиков с числом CD4⁺T-лимфоцитов менее 350/мкл крови и ВИЧ/ВГС коинфицированных иммунологических ответчиков с числом CD4⁺T-клеток более 500/мкл крови. В изолированных из крови CD4⁺T-лимфоцитах проведена оценка базальной и максимальной скорости потребления кислорода комплексами электрон-транспортной цепи митохондрий, а также скорость закисления среды протонами, формирующимися в процессе гликолиза. Установлено, что у ВИЧ/ВГС коинфицированных иммунологических неответчиков сни-

Адрес для переписки:

Королевская Лариса Борисовна
Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (342) 280-83-34.
Факс: 8 (342) 280-92-11.
E-mail: bioqueen@mail.ru

Address for correspondence:

Larisa B. Korolevskaya
Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms
13 Golev St
Perm
614081 Russian Federation.
Phone: +7 (342) 280-83-34.
Fax: +7 (342) 280-92-11.
E-mail: bioqueen@mail.ru

Образец цитирования:

Л.Б. Королевская, В.В. Власова, Н.Г. Шмагель, Е.В. Сайдакова «Исследование показателей окислительного фосфорилирования и гликолиза в CD4⁺T-лимфоцитах ВИЧ/ВГС коинфицированных иммунологических неответчиков с применением технологии Seahorse» // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 3. С. 307-312.
doi: 10.46235/1028-7221-9936-SOO

© Королевская Л.Б. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

L.B. Korolevskaya, V.V. Vlasova, N.G. Shmagel, E.V. Saidakova "Study of oxidative phosphorylation and glycolysis in CD4⁺T lymphocytes of HIV/HCV coinfecting immunological non-responders by means of the Seahorse technology", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 3, pp. 307-312.
doi: 10.46235/1028-7221-9936-SOO

© Korolevskaya L.B. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-9936-SOO

жена как базальная, так и максимальная скорость потребления кислорода митохондриями CD4⁺T-клеток. Более того, в выделенных из крови CD4⁺T-лимфоцитах иммунологических неответчиков увеличена базальная скорость гликолиза. Можно предположить, что значительная часть CD4⁺T-лимфоцитов ВИЧ/ВГС коинфицированных иммунологических неответчиков находится в состоянии активации и готовности к гомеостатической пролиферации, что обостряет необходимость получения дополнительной энергии и макромолекул. Однако клетки оказываются неспособными скоординированно изменять свой метаболизм для удовлетворения данных потребностей. Выявленная нами дисрегуляция метаболических путей может вносить вклад в низкую регенеративную способность CD4⁺T-лимфоцитов у ВИЧ/ВГС коинфицированных иммунологических неответчиков.

Ключевые слова: окислительное фосфорилирование, гликолиз, технология Seahorse technology, ВИЧ-инфекция, CD4⁺T-лимфоциты, иммунологические неответчики

STUDY OF OXIDATIVE PHOSPHORYLATION AND GLYCOLYSIS IN CD4⁺T LYMPHOCYTES OF HIV/HCV COINFECTED IMMUNOLOGICAL NON-RESPONDERS BY MEANS OF THE SEAHORSE TECHNOLOGY

Korolevskaya L.B., Vlasova V.V., Shmagel N.G., Saidakova E.V.

Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Abstract. Oxidative phosphorylation and glycolysis are essential for CD4⁺T lymphocyte survival, division, and functioning. However, indirect evidence suggests the parameters of metabolic activity CD4⁺T cell to be impaired in HIV/ hepatitis C virus (HCV)-coinfected immunological non-responders to antiretroviral therapy. These data imply that, in immunological non-responders, the failure of CD4⁺T lymphocytes to divide and expand after viral suppression by antiretroviral drugs may be caused by metabolic dysfunction. The newly released technology for the analysis of extracellular fluxes using seahorse XF equipment permits assessment of the cells' metabolic activity. The aim of this study was to evaluate the efficiency of oxidative phosphorylation and glycolysis in CD4⁺T lymphocytes of HIV/HCV co-infected immunological non-responders by means of the Seahorse technology. We studied peripheral blood samples from patients of two groups: HIV/HCV coinfected immunological non-responders with CD4⁺T lymphocyte counts of < 350/μL, and HIV/HCV coinfected immunological responders with CD4⁺T cell counts > 500/μL. In isolated CD4⁺T lymphocytes, we assessed the basal and maximal oxygen consumption rates by complexes of the mitochondrial electron transport chain, as well as the rates of incubation medium acidification by protons formed during glycolysis. We have found that, in HIV/HCV coinfected immunological non-responders, both basal and maximal oxygen consumption rates by CD4⁺T cell mitochondria are reduced. Moreover, the basal rate of glycolysis was found to be increased in isolated CD4⁺T lymphocytes of the non-responders. One may assume that a significant part of CD4⁺T lymphocytes in HIV/HCV co-infected immunological non-responders is activated, thus being ready for homeostatic proliferation, with increasing requirements for additional energy and macromolecules. However, the cells are unable to change their metabolism in a coordinated manner to meet these demands. The revealed dysregulation of metabolic pathways may contribute to the low regenerative capacity of CD4⁺T lymphocytes in HIV/HCV co-infected immunological non-responders.

Keywords: oxidative phosphorylation, glycolysis, Seahorse technology, HIV infection, CD4⁺T lymphocytes, immunological non-responders

Работа выполнена в рамках государственного задания № 121112500044-9; поддержана РФФИ и Пермским краем (научный проект № 20-415-596002).

Введение

Для выживания, деления, выполнения эффекторных и регуляторных функций CD4⁺T-лимфоцитам требуются энергия и макромолекулы, образуемые в ходе различных биохимических реакций. Магистральными метаболическими путями, обеспечивающими клетку не только аденозинтрифосфатом (АТФ), но и множеством промежуточных продуктов синтеза нуклеиновых кислот, белков и липидов являются гликолиз и окислительное фосфорилирование [6]. Эти метаболические пути критически важны для CD4⁺T-лимфоцитов.

Современным подходом к исследованию метаболической активности клеток является технология анализа внеклеточных потоков (англ. Extracellular flux (XF) analysis) с использованием оборудования Seahorse XF (Agilent Technologies, США). Анализатор клеточного метаболизма Seahorse XF фиксирует скорость поглощения кислорода и скорость закисления среды клетками, что позволяет оценить интенсивность митохондриального дыхания и скорость гликолиза соответственно. Добавление ингибиторов окислительного фосфорилирования и гликолиза расширяет возможности метода, позволяя определять не только базовые биоэнергетические параметры, но и измерять метаболическую приспособляемость клеток. Ввиду того, что технология Seahorse XF стала доступной относительно недавно, исследования с ее применением ограничены, в частности отсутствуют данные о метаболической активности CD4⁺T-лимфоцитов у коинфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и вирусом гепатита С (ВГС) иммунологических неответчиков на антиретровирусную терапию (АРТ).

Коинфекция ВИЧ и ВГС широко распространена в Пермском крае [1]. По сравнению с ВИЧ моноинфицированными субъектами ВИЧ/ВГС коинфицированные больные подвержены более высокому риску развития СПИД-неассоциированных заболеваний и смерти [3]. Более того, у зараженных ВИЧ коинфекция ВГС повышает вероятность развития иммунологического неответа на АРТ. При этом типе ответа на лечение подавление репликации ВИЧ под действием антиретровирусных препаратов не сопровождается значительным приростом численности CD4⁺T-лимфоцитов [2]. У иммунологических неответчиков (ИН) глубокая хро-

ническая CD4⁺T-лимфопения увеличивает риск развития СПИД и смерти [5]. Хотя показано, что нарушение регенерации CD4⁺T-клеток вызвано непродуктивным делением этих лимфоцитов, причины развития иммунологического неответа у значительной части ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов, получающих АРТ, остаются невыясненными.

Ранее мы показали, что у ИН изменены косвенные показатели энергетического обмена в CD4⁺T-клетках памяти, а именно увеличена масса митохондрий и снижена экспрессия генов, кодирующих компоненты комплексов электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) [9].

Цель настоящей работы — оценка эффективности окислительного фосфорилирования и гликолиза в CD4⁺T-лимфоцитах ВИЧ/ВГС коинфицированных иммунологических неответчиков с использованием технологии Seahorse.

Материалы и методы

Проведение исследования было одобрено этическим комитетом Пермского краевого центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (рег. № комитета IRB00008964). Каждый участник подписал информированное согласие. Включенные в исследование пациенты соответствовали следующим требованиям: подтвержденные диагнозы ВИЧ- и ВГС-инфекций, приверженность АРТ в течение двух и более лет, вирусная нагрузка ВИЧ менее 50 копий/мл, отсутствие лечения интерферонами или анти-ВГС препаратами прямого действия.

Были сформированы две группы: 1) ВИЧ/ВГС коинфицированные ИН (n = 4) с числом CD4⁺T-лимфоцитов менее 350/мкл крови; 2) ВИЧ/ВГС коинфицированные иммунологические ответчики (ИО; n = 4) с числом CD4⁺T-клеток более 500/мкл крови.

Кровь объемом до 30 мл забирали натошак из кубитальной вены в вакуумные пробирки, содержащие литий гепарин (Weihai Hongyu Medical Devices Cj., Ltd, Китай). Мононуклеарные клетки выделяли путем центрифугирования двукратно разведенной фосфатно-солевым буферным раствором Дульбекко (DPBS, Gibco, США) периферической крови в градиенте плотности Диаколла (1,077 г/мл, «Диаэм», Россия). Выделенные клетки собирали, дважды отмывали раствором DPBS, подсчитывали в камере Горяева, после чего подвергали контролируемому замораживанию в жидком азоте в среде, содержащей 90% термоинактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, Gibco, Колумбия) и 10% диметилсульфоксида (AppliChem, Германия). Перед проведением исследования клетки разморажива-

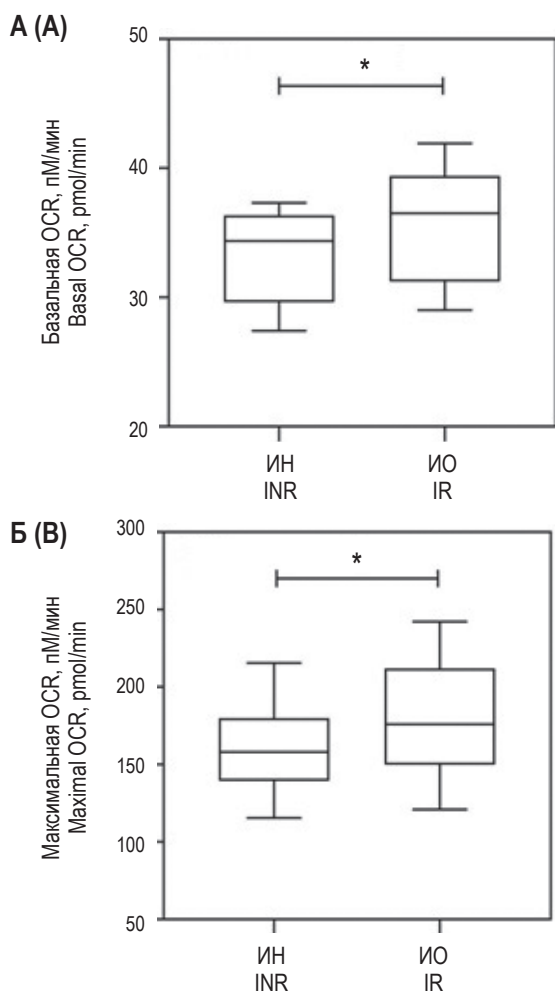


Рисунок 1. Базальная (А) и максимальная (Б) скорость потребления кислорода $CD4^+$ Т-лимфоцитами ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с различной эффективностью ответа на антиретровирусную терапию

Примечание. Группы обследованных: ИН – иммунологические неответчики; ИО – иммунологические ответчики. OCR (англ. oxygen consumption rate) – скорость потребления кислорода. Представлены медианы, интерквартильные интервалы и 10-90% размахи. Статистические расчеты выполнены по методу Манна–Уитни: * – $p < 0,05$.

Figure 1. $CD4^+$ T lymphocyte basal (A) and maximal (B) oxygen consumption rates in HIV/HCV coinfected patients with different response efficiency to antiretroviral therapy

Note. Groups: INR, immunological non-responders; IR, immunological responders. OCR, oxygen consumption rate. Medians, interquartile ranges, and 10-90% ranges are shown. Statistical calculations were made according to the Mann–Whitney method: *, $p < 0.05$.

ли. Жизнеспособные лимфоциты подсчитывали, окрашивая клетки трипановым синим.

Негативную селекцию $CD4^+$ Т-лимфоцитов проводили с использованием коммерческого набора Dynabeads Untouched Human $CD4$ T cells (Invitrogen, США) согласно инструкции производителя.

Изолированные $CD4^+$ Т-клетки ресуспендировали в среде XF RPMI Medium (Agilent Technologies, США), содержащей 10 мМ глюкозы (Sigma-Aldrich, США), 2 мМ глутамина («Диаэм», Россия) и 1 мМ пирувата натрия (Sigma-Aldrich, США), и вносили по $2,5 \times 10^5$ клеток в лунки планшета (Agilent Technologies, США), предварительно обработанного поли-D-лизинном (50 мкг/мл, Sigma, США). Планшет центрифугировали в течение 4 мин при 200 g для формирования монослоя клеток. Объем среды в лунке доводили до 175 мкл, планшет инкубировали при $+37^\circ C$ в течение 60 мин. Активность митохондриального дыхания и гликолиза определяли с использованием анализатора Seahorse XFe96 (Agilent Technologies, США) по показателям скорости потребления кислорода (англ. oxygen consumption rate – OCR) и скорости ацидификации среды (англ. extracellular acidification rate – ECAR) соответственно. Измерения производили на базальном уровне и после внесения ингибиторов дыхательной цепи митохондрий: олигомицина в конечной концентрации 2,5 мкМ, карбонилцианид-4-(трифлуорометокси)фенилгидразона (FCCP; 2 мкМ), ротенона и антимицина А (P/AA; 0,5 мкМ). Вышеперечисленные реагенты были получены в Agilent Technologies, США.

В пробах определяли базальную скорость потребления кислорода (разница между OCR на базальном уровне и OCR после внесения P/AA) и максимальную скорость потребления кислорода (разница между OCR после внесения FCCP и OCR после добавления P/AA). Показатель гликолиза – ECAR – определяли на базальном уровне и в ответ на действие P/AA. Анализ данных производили с использованием программного обеспечения Wave Desktop (Agilent Technologies, США).

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием непараметрических методов. В выборке рассчитывали медиану и интерквартильный размах – Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Достоверность различий между группами устанавливали с помощью U-критерия Манна–Уитни. Проведение статистических расчетов и построение графиков осуществляли с использованием программы GraphPad Prism 8.0.1.

Результаты и обсуждение

Исследование интенсивности окислительного фосфорилирования в изолированных из периферической крови $CD4^+$ Т-лимфоцитах показало следующее. У ИН по сравнению с ИО снижена базальная скорость потребления кисло-

рода дыхательной цепью митохондрий в CD4⁺T-клетках (рис. 1А). Более того, в условиях повышенного запроса на АТФ, созданных внесением разобщителя окислительного фосфорилирования FCCP, митохондрии CD4⁺T-лимфоцитов ИН не могут достичь показателей интенсивности потребления кислорода, характерных для митохондрий ИО (рис. 1Б). Представленные данные подтверждают полученные нами ранее результаты: у ИН низкая экспрессия генов, кодирующих компоненты ЭТЦ, сопровождается снижением функциональной активности митохондрий CD4⁺T-лимфоцитов. По-видимому, клетки компенсируют нехватку генерируемой митохондриями АТФ посредством активизации внемитохондриального метаболического пути: гликолиза.

Для оценки этого предположения мы проанализировали, насколько интенсивно протекает гликолиз в CD4⁺T-лимфоцитах субъектов исследуемых групп. Было установлено, что показатели базального гликолиза в CD4⁺T-клетках ИН значительно превосходят таковые в соответствующих лимфоцитах ИО (рис. 2). Известно, что покоящиеся клетки получают энергию за счет окислительного фосфорилирования, тогда как гликолитический фенотип характерен для активированных и делящихся Т-лимфоцитов [4]. Ранее было показано, что для CD4⁺T-клеток ИН свойственен высокий уровень хронической иммунной активации, ассоциированный, в том числе, с увеличенной плотностью экспрессии транспортера глюкозы Glut1 [7]. Также необходимо отметить, что у ИН малочисленные CD4⁺T-лимфоциты постоянно получают сигналы для запуска гомеостатической пролиферации, которая, хоть и не является продуктивной, может быть сопряжена с переключением биоэнергетических показателей в пользу гликолиза.

Заключение

Таким образом, мы показали, что при иммунологическом неответе на АРТ у ВИЧ/ВГС коинфицированных больных увеличена гликолитическая активность CD4⁺T-лимфоцитов, что может свидетельствовать об активированном статусе и готовности клеток к пролиферации. Примечательно, что этот феномен не сопровождается соответствующим приростом интенсивности окислительного фосфорилирования в митохондриях. Более того, интенсивность работы ЭТЦ митохондрий в CD4⁺T-клетках ИН снижается. Можно предположить, что лимфоциты, испытывающие потребность в АТФ и макромолекулах, оказываются неспособными скоординированно

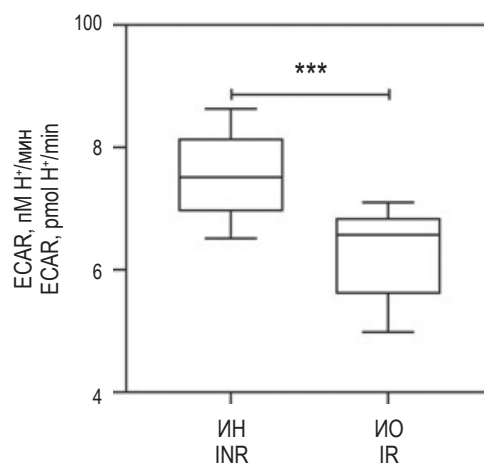


Рисунок 2. Скорость закисления среды CD4⁺T-лимфоцитами ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с различной эффективностью ответа на антиретровирусную терапию

Примечание. Группы обследованных: ИН – иммунологические неотвечники; ИО – иммунологические ответчики. ECAR (англ. extracellular acidification rate) – скорость закисления среды. Представлены медианы, интерквартильные интервалы и 10-90% размахи. Статистические расчеты выполнены по методу Манна–Уитни: *** – $p < 0,001$.

Figure 2. Rate of medium acidification by CD4⁺T lymphocytes in HIV/HCV coinfected patients with different response efficiency to antiretroviral therapy

Note. Groups: INR, immunological non-responders; IR, immunological responders. ECAR, extracellular acidification rate. Medians, interquartile ranges, and 10-90% ranges are shown. Statistical calculations were made according to the Mann–Whitney method: ***, $p < 0.001$.

изменять свой метаболизм для удовлетворения потребностей. Следует отметить, что нарушение работы ЭТЦ останавливает клеточный цикл и не позволяет клеткам делиться *in vitro* [8], а гликолиз, хоть и поставляет АТФ и субстраты для синтеза белков, липидов и нуклеиновых кислот дочерних лимфоцитов, не может компенсировать недостаточность функциональной активности митохондрий. По-видимому, у ВИЧ/ВГС коинфицированных ИН отмечается дисрегуляция метаболических путей, обеспечивающих биоэнергетические и биосинтетические потребности клетки. Это в свою очередь может вносить вклад в низкую регенеративную способность CD4⁺T-лимфоцитов.

Благодарности

В работе было использовано оборудование ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УрО РАН.

Список литературы / References

1. Шмагель Н.Г., Шмагель К.В., Черешнев В.А. Клинические аспекты неэффективности высокоактивной антиретровирусной терапии // *Инфекционные болезни*, 2011. Т. 9, № 1. С. 5-10. [Shmagel N.G., Shmagel K.V., Chereshevnev V.A. Clinical aspects of inefficiency of highly active antiretroviral therapy. *Infektzionnyye bolezni = Infectious Diseases*, 2011, Vol. 9, no. 1, pp. 5-10. (In Russ.)]
2. Autran B., Carcelain G., Li T.S., Gorochov G., Blanc C., Renaud M., Durali M., Mathez D., Calvez V., Leibowitch J., Katlama C., Debre P. Restoration of the immune system with anti-retroviral therapy. *Immunol. Lett.*, 1999, Vol. 66, no. 1-3, pp. 207-211.
3. Chen T.Y., Ding E.L., Seage G.R. III, Kim A.Y. Meta-analysis: increased mortality associated with hepatitis C in HIV-infected persons is unrelated to HIV disease progression. *Clin. Infect. Dis.*, 2009, Vol. 49, no. 10, pp. 1605-1615.
4. Grist J.T., Jarvis L.B., Georgieva Z., Thompson S., Kaur Sandhu H., Burling K., Clarke A., Jackson S., Wills M., Gallagher F.A., Jones J.L. Extracellular lactate: a novel measure of T cell proliferation. *J. Immunol.*, 2018, Vol. 200, no. 3, pp. 1220-1226.
5. Gutierrez F., Padilla S., Masia M., Iribarren J.A., Moreno S., Viciano P., Hernandez-Quero J., Aleman R., Vidal F., Salavert M., Blanco J.R., Leal M., Dronza F., Perez Hoyos S., del Amo J., and Ris Md Co. Patients' characteristics and clinical implications of suboptimal CD4 T-cell gains after 1 year of successful antiretroviral therapy. *Curr. HIV Res.*, 2008, Vol. 6, no. 2, pp. 100-107.
6. Li X.B., Gu J.D., Zhou Q.H. Review of aerobic glycolysis and its key enzymes – new targets for lung cancer therapy. *Thorac. Cancer*, 2015, Vol. 6, no. 1, pp. 17-24.
7. Masson J.J.R., Cherry C.L., Murphy N.M., Sada-Ovalle I., Hussain T., Palchaudhuri R., Martinson J., Landay A.L., Billah B., Crowe S.M., Palmer C.S. Polymorphism rs1385129 within glut1 gene SLC2A1 is linked to poor CD4⁺ T cell recovery in antiretroviral-treated HIV⁺ individuals. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 17, no. 9, 900. doi: 10.3389/fimmu.2018.00900.
8. Wheaton W.W., Weinberg S.E., Hamanaka R.B., Soberanes S., Sullivan L.B., Anso E., Glasauer A., Dufour E., Mutlu G.M., Budigner G.S., Chandel N.S. Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis. *Elife*, 2014, Vol. 3, no. 3, e02242. doi: 10.7554/eLife.02242.
9. Younes S.A., Talla A., Pereira Ribeiro S., Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel K.V., Shive C.L., Freeman M.L., Panigrahi S., Zweig S., Balderas R., Margolis L., Douek D.C., Anthony D.D., Pandiyan P., Cameron M., Sieg S.F., Calabrese L.H., Rodriguez B., Lederman M.M. Cycling CD4⁺ T cells in HIV-infected immune nonresponders have mitochondrial dysfunction. *J. Clin. Invest.*, 2018, Vol. 128, no. 11, pp. 5083-5094.

Авторы:

Королевская Л.Б. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Власова В.В. — 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», г. Пермь, Россия

Шмагель Н.Г. — д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Сайдакова Е.В. — д.б.н., заведующая лабораторией молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Пермь, Россия

Authors:

Korolevskaya L.B., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Vlasova V.V., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Shmagel N.G., PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

Saidakova E.V., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation