

РОЛЬ ИНТЕРЛЕЙКИНА 6 В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АРТРИТЕ, ВЫЗВАННОМ ПЕРЕНОСОМ АРТРИТОГЕННЫХ АНТИТЕЛ

Друцкая М.С.^{1,2}, Горшкова Е.А.^{1,2}, Жданова А.С.^{1,2,3},
Атретханы К.-С.^{1,2}, Гоголева В.С.^{1,2}, Зварцев Р.В.¹, Круглов А.А.^{1,2,3},
Недоспасов С.А.^{1,2,3}

¹ ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.Н. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия

Резюме. Интерлейкин 6 (IL-6) выполняет важные функции в регуляции иммунной системы, но в случае повышенной экспрессии он может способствовать развитию аутоиммунных заболеваний, таких как артрит. Системные блокаторы IL-6, основанные на моноклональных антителах к IL-6 или к специфической субъединице рецептора IL-6, уже применяются в клинике и дополнили арсенал биологических лекарств, среди которых наибольшее распространение получили блокаторы Фактора некроза опухолей (TNF). Ревматические заболевания и их экспериментальную терапию можно моделировать на мышах. В настоящей работе сообщается о повышенном уровне системного IL-6 при развитии артрита, вызванного переносом «патогенных» антител, а также об эффектах нейтрализации IL-6 моноклональными антителами против IL-6 мыши. Наши результаты указывают на патогенную роль двух цитокинов, TNF и IL-6, в экспериментальной модели артрита, индуцированного пассивным переносом антител к коллагену.

Ключевые слова: IL-6, экспериментальный артрит, перенос антител к коллагену, нейтрализующие антитела, TNF

ROLE OF IL-6 IN EXPERIMENTAL ARTHRITIS CAUSED BY TRANSFER OF ARTHRITOGENIC ANTIBODIES

Drutskaya M.S.^{a,b}, Gorshkova E.A.^{a,b}, Zhdanova A.S.^{a,b,c},
Atretkhany K.-S.^{a,b}, Gogoleva V.S.^{a,b}, Zvartsev R.V.^a, Kruglov A.A.^{a,b,c},
Nedospasov S.A.^{a,b,c}

^a Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

^c Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. Interleukin-6 (IL-6) exerts important functions on immune regulation. In case of high expression, IL-6 may promote autoimmune disorders, e.g., arthritis. Systemic IL-6 blockers based on monoclonal

Адрес для переписки:

Друцкая Марина Сергеевна
ФГБУН «Институт молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта» РАН
119991, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32.
Тел.: 8 (499) 135-99-64.
Факс: 8 (499) 135-14-05.
E-mail: marinadru@gmail.com

Address for correspondence:

Drutskaya Marina S.
V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian
Academy of Sciences
119991, Russian Federation, Moscow, Vavilov str., 32.
Phone: 7 (499) 135-99-64.
Fax: 7 (499) 135-14-05.
E-mail: marinadru@gmail.com

Образец цитирования:

М.С. Друцкая, Е.А. Горшкова, А.С. Жданова,
К.-С. Атретханы, В.С. Гоголева, Р.В. Зварцев,
А.А. Круглов, С.А. Недоспасов «Роль интерлейкина 6
в экспериментальном артрите, вызванном переносом
артритогенных антител» // Медицинская иммунология,
2016. Т. 18, № 6. С. 569-574.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-6-569-574

© Друцкая М.С. и соавт., 2016

For citation:

M.S. Drutskaya, E.A. Gorshkova, A.S. Zhdanova,
K.-S. Atretkhany, V.S. Gogoleva, R.V. Zvartsev,
A.A. Kruglov, S.A. Nedospasov "Role of IL-6 in experimental
arthritis caused by transfer of arthritogenic antibodies",
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2016, Vol. 18, no. 6, pp. 569-574.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-6-569-574

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-6-569-574>

antibodies against IL-6, or its specific receptor subunit, are already used in clinical settings, adding to a range of known biological drugs, such as, TNF blockers. Rheumatic disorders and their experimental therapy are reproducible in mice. This study revealed systemically increased levels of IL-6 in developing arthritis caused by transfer of pathogenic antibodies, as well as the effects of IL-6 neutralization by monoclonal antibodies against murine IL-6. Our results suggest a pathogenic role of the two cytokines, TNF and IL-6, in experimental arthritis induced by passive transfer of anti-collagen antibodies.

Keywords: interleukin-6, experimental arthritis, anti-collagen antibodies transfer, neutralizing antibodies, TNF

Работа поддержана грантом Российского научного фонда 14-25-00160.

Введение

Ревматические аутоиммунные заболевания затрагивают около 2% взрослого населения развитых стран. Существующие терапевтические схемы способны замедлить развитие артрита, снять некоторые его симптомы, улучшить качество жизни, но они не в состоянии элиминировать причину заболевания – наличие у пациента патогенных клонов лимфоцитов. Широкое применение в терапии ревматических заболеваний, таких как ревматоидный артрит и болезнь Бехтерева, получили блокаторы провоспалительных цитокинов – TNF, IL-6 и IL-1. К сожалению, эти терапевтические подходы эффективны не для всех пациентов, и поиск биомаркеров, способных предсказывать ответ на эту весьма дорогую терапию, по-прежнему является актуальной задачей. В настоящей работе была изучена связь системной продукции IL-6 с тяжестью экспериментального артрита, а также оценена роль TNF в этой модели заболевания.

Экспериментальный артрит у мышей можно вызвать несколькими способами. Во-первых, в некоторых мутантных линиях мышей заболевание развивается спонтанно и связано с повышенным уровнем продукции TNF [8, 10]. Во-вторых, артрит можно искусственно вызвать различными видами иммунизаций (например, коллагеном [3, 4] или пептидогликан-полисахаридными комплексами [11]). Считается, что при таком методе индукции болезни задействованы как Т-клеточные, так и В-клеточные механизмы. В-третьих, болезнь можно вызвать пассивным переносом антител к коллагену [7], предположительно минимизируя патогенную роль аутореактивных Т-клеток. В нашей работе использовали эту последнюю модель, одним из преимуществ которой была скорость развития заболевания (8-10 дней до пика заболевания у мышей линии BALB/c).

Интерлейкин 6 представляет собой иммунорегуляторный и провоспалительный цитокин, который сигнализирует через рецепторный комплекс, содержащий субъединицу gp130, вызывая акти-

вацию JAK-киназ и транскрипционных факторов семейства STAT [2]. Через эти же сигнальные каскады сигнализируют и многие другие цитокины, не только те, которые относятся к семейству IL-6. Предположительно у всех цитокинов есть уникальные невырожденные функции, которые можно выяснить методами обратной генетики или при фармакологической блокировке конкретного цитокина.

Одной из целей настоящей работы был поиск экспериментального заболевания, патогенез которого зависит от IL-6, для последующих исследований механизмов болезни и поиска возможных новых подходов к терапии.

Материалы и методы

Лабораторные животные

В работе использовали мышей линий BALB/c, C57Bl/6N, а также мышей с полным генетическим нокаутом TNF на генетической основе C57Bl/6N в возрасте 8-10 недель. Животных разводили и содержали в апатогенных (specific pathogen free) условиях на базе питомника для лабораторных животных SPF-категории «Пушино», ФИБХ РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова.

Индукция экспериментального артрита

Мышам, достигшим 8-недельного возраста, внутрибрюшинно вводили коктейль моноклональных антител к коллагену (Chondrex, США) из расчета 75-250 мкг на 1 г веса, а на третий день вводили липополисахарид (Chondrex, штамм 0111:B4, США) из расчета 2,5 мкг на 1 г веса. Развитие симптомов заболевания оценивали ежедневно по ранее опубликованной методике [1]. Вкратце: в зависимости от тяжести симптомов каждую из четырех конечностей оценивали по шкале от 0 до 4 баллов, тем самым максимально возможная оценка тяжести артрита на мышью составляла 16 баллов. Первые проявления заболевания отмечали на 3-4 день, пик развития заболевания приходился на 8-10 день, после чего мышью подвергали эвтаназии, собирали кровь и органы для дальнейшего гистологического, иммунофлуоресцентного и цитофлуориметрического анализа.

Гистология суставов

Коленные суставы очищали от прилегающей мышечной ткани и фиксировали в 4% растворе параформальдегида в течение суток. Затем ткань промывали фосфатно-солевым буфером, pH = 7,4 в течение часа и помещали в 20% раствор EDTA на 7 суток при температуре 37 °С для удаления кальция из костной ткани. Декальцифицированную ткань далее промывали в течение суток в проточной воде, после чего обезвоживали в спиртах восходящей концентрации: 70% этанол, 96% этанол, изопропанол и хлороформ, выдерживали 18 часов в 50% растворе парафина (Paraplast, Leica) в хлороформе и переводили в парафин при температуре 56 °С на 5 суток. Из ткани, залитой в парафиновых гистологических блоках, изготавливали фронтальные срезы толщиной 7 мкм при помощи ротационного микротомы SLEE CUT 4055. Готовые срезы окрашивали железным гематоксилином Вейгерта, красителем Fast Green и Сафранином О для исследования морфологии синовиальной мембраны сустава и оценки стадии дегенерации хряща.

Анализ IL-6 в сыворотке крови

На 10 день эксперимента у мышей собирали кровь и получали сыворотку. Концентрацию IL-6 в сыворотке оценивали методом ИФА с использованием набора для IL-6 мыши ELISA Ready-SET-Go! (eBioscience, США), следуя протоколу производителя.

Цитометрия

Суспензию клеток селезенки инкубировали в буфере для лизиса эритроцитов, отмывали, после чего полученные спленоциты инкубировали с антителами к рецептору Fc- γ (клон 2.4G2) из расчета 1×10^6 клеток в 100 мкл фосфатного буфера, содержащего 1% Fetal Bovine Serum (FBS), далее клетки осаждали центрифугированием, отмывали и инкубировали с антителами к Gr-1-FITC (R86-8C5) и CD11b-Cy5 (клон M1/70), а также с Viability Dye-APC-Cy7 (eBioscience, USA). Цитофлуориметрический анализ проводили на приборе FACS Canto II, а анализ данных в программе Flow Jo.

Статистический анализ

Для статистического анализа данных использовали программу GraphPad Prism 6 (GraphPad Software). Данные представлены в виде средних значений и стандартного отклонения для каждой группы мышей. Статистически значимые различия определяли с помощью t-критерия Стьюдента или U-критерия Манна–Уитни. Различия между группами считали статистически достоверными при уровне значимости $P \leq 0,05$.

Результаты

Отработка модели экспериментального артрита, вызываемого пассивным переносом антител к коллагену, в мышах на генетической основе BALB/c и C57BL/6

Нашей целью является установление механизмов патогенеза заболеваний, связанных с экспрессией некоторых цитокинов, включая TNF и IL-6, а также разработка новых подходов к их фармакологической блокировке. В настоящей работе мы опробовали и валидировали новую для лаборатории модель индукции артрита. Эта модель позволяет использовать в экспериментах мышей с разной генетической основой, в частности мышей C57BL/6 с генетическим нокаутом TNF [9] и мышей линии BALB/c, характеризующихся повышенной чувствительностью к артриту, вызванному переносом антител к коллагену [1].

Известно, что TNF является патогенным фактором при разных формах артрита, как у людей, так и у экспериментальных животных. Тем не менее в литературе отсутствуют сообщения о роли TNF в конкретной модели артрита, вызываемом переносом артритогенных антител. Как следует из рисунка 1, и в этой модели роль TNF критична для развития болезни, так как мыши с полным генетическим дефицитом TNF не проявляют симптомов заболевания (рис. 1А).

Ход развития артрита, а также сравнение гистологических препаратов суставов мышей дикого типа и мышей, дефицитных по TNF, на 10 день заболевания показаны на рисунке 1Б и составляют главные феноменологические характеристики этой экспериментальной модели артрита. Кроме того, с помощью проточной цитометрии нами проводилось иммунопрофилирование некоторых типов клеток, получаемых из лимфоидных органов здоровых и больных мышей (данные не показаны).

Появление и уровни IL-6 в сыворотке крови мышей с артритом коррелируют с развитием и тяжестью заболевания

В двух группах мышей — развивших и не развивших болезнь (рис. 1В) — были определены уровни IL-6 в сыворотке крови, причем он оказался высоким у мышей дикого типа и практически не определялся у мышей, дефицитных по TNF (рис. 1Г), или у здоровых мышей, не получивших артритогенных антител (не показано).

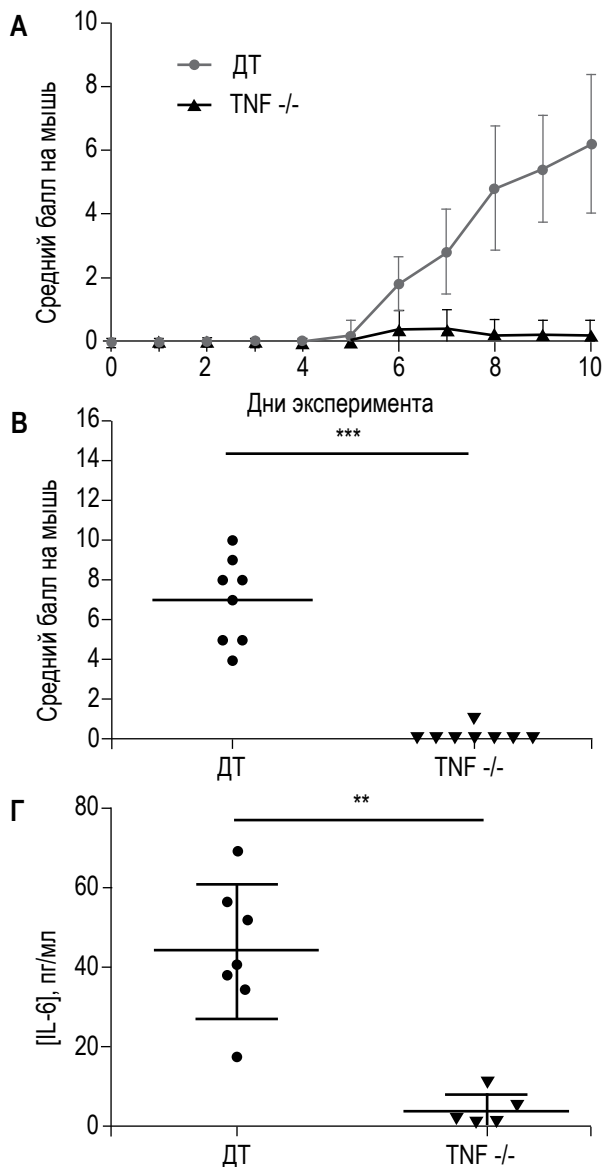


Рисунок 1. Мыши, дефицитные по TNF, не развивают артрит, индуцированный пассивным переносом антител к коллагену

Примечание. (А) Динамика развития артрита у мышей дикого типа (ДТ) и мышей, дефицитных по TNF (TNF^{-/-}), данные представлены в виде средних значений на группу (n = 5) ±SD. (Б, см. 3-ю стр. обложки) Гистология коленных суставов при окрашивании Fast Green и Сафранином О. В отличие от TNF^{-/-} мышей у мышей ДТ наблюдается потеря окрашивания хряща Сафранином О (красный цвет, отмечено синей стрелкой), свидетельствующая о его деградации, а также гиперплазия синовиальной оболочки и инфильтрация клеток (отмечено красной стрелкой). Изображения получены на микроскопе Leica DM4000 B LED при 50X увеличении (объектив Leica N Plan 5x 0.12). Оценку тяжести симптомов заболевания (В) и концентрацию IL-6 в сыворотке (Г) у мышей ДТ и TNF^{-/-} мышей проводили на десятый день эксперимента. P ≤ 0,001 (**); P ≤ 0,0001 (***).

В следующей серии экспериментов (рис. 2А, Б) мы стратифицировали BALB/c мышей, развивающих болезнь, на две группы – с тяжелым артритом и с умеренной формой болезни в за-

висимости от вводимой концентрации артритагенных антител из расчета 150 и 75 мкг на г веса мыши соответственно. Оказалось, что уровень IL-6 в сыворотке коррелировал с тяжестью заболевания, в то время как у здоровых мышей системный уровень IL-6 практически не детектировался (рис. 2В). Мы также отметили корреляцию тяжести артрита с процентным содержанием воспалительных моноцитов в селезенке больных и здоровых мышей (рис. 2Г).

Фармакологическая блокировка IL-6 мыши моноклональными антителами приводит к снижению симптомов заболевания

Сам факт присутствия высоких уровней провоспалительного цитокина IL-6 у мышей с артритом еще не означает, что IL-6 напрямую связан с патогенезом болезни. Для установления причинной роли IL-6 в этой модели артрита в следующем эксперименте сравнивали две группы мышей, получивших артритагенные антитела, – те, которым дополнительно внутрибрюшинно вводили антитела, нейтрализующие IL-6 мыши, из расчета 250 мкг на мышь каждые три дня, и те, которые получали инъекции фосфатного буфера (контрольная группа). Оказалось, что нейтрализация IL-6 моноклональными антителами значительно снижает симптомы болезни (рис. 3), что прямо указывает на патогенную роль IL-6 в этом модельном заболевании, не зависящем от Т клеток. Интересно, что патологическая роль IL-6 была ранее продемонстрирована в другой экспериментальной модели артрита, индуцированного иммунизацией коллагеном, в которой IL-6 способствовал дифференцировке аутореактивных Th17-клеток, а его ингибирование приводило к снижению патогенеза артрита [6].

Обсуждение

Конечной целью программы исследований нашей лаборатории является разработка новых методов антицитокиновой терапии, основанном на глубоком молекулярном анализе механизмов развития болезни. На начальном этапе нам было необходимо валидировать экспериментальную модель заболеваний, которые зависят от одного или нескольких провоспалительных цитокинов – TNF, IL-6 и IL-1. Поскольку цитокины могут регулировать экспрессию других цитокинов, то патогенная роль нескольких цитокинов в одном заболевании может быть связана через взаимную регуляцию.

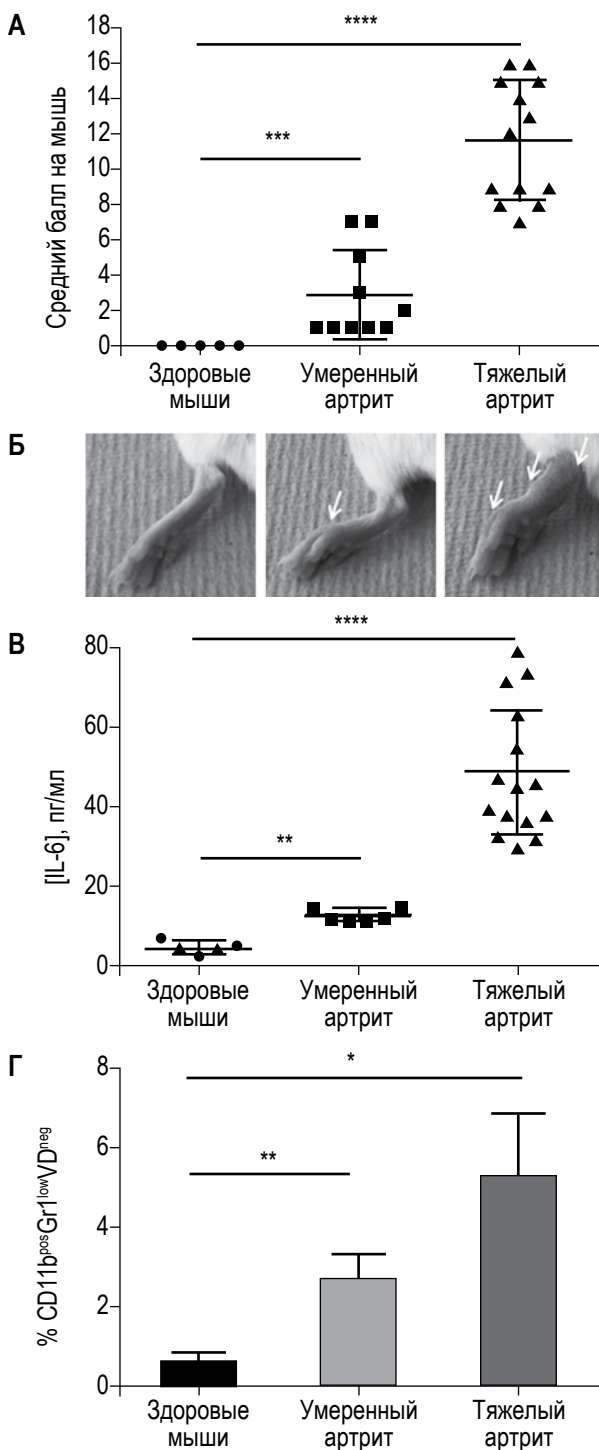


Рисунок 2. У мышей линии BALB/c развитие артрита коррелирует с повышенной продукцией IL-6 в сыворотке и повышенным содержанием воспалительных моноцитов в селезенке на десятый день эксперимента

Примечание. Оценку тяжести симптомов заболевания (А) проводили макроскопически у мышей с умеренной и тяжелой формой артрита, в зависимости от вводимой дозы артритогенных антител, а также у здоровых мышей (Б). Концентрацию IL-6 в сыворотке определяли методом ИФА (В), а процентное содержание CD11b^{pos}Gr-1^{low}VLD^{neg} воспалительных моноцитов в селезенке – методом цитофлуориметрии (Г). P ≤ 0,05 (*); P ≤ 0,001 (**); P ≤ 0,0001 (***); P ≤ 0,00001 (****).

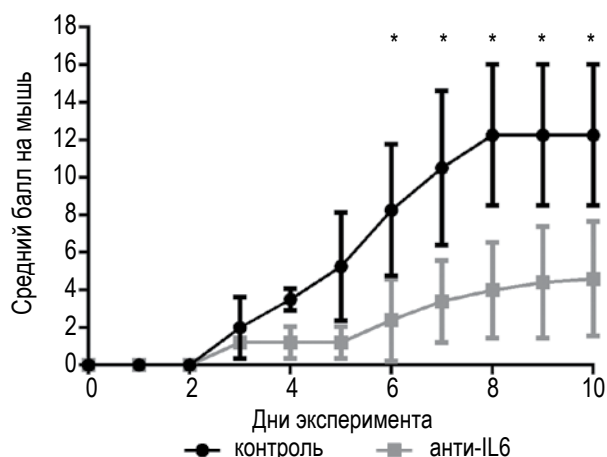


Рисунок 3. Фармакологическая блокировка IL-6 значительно снижает симптомы артрита, индуцированного пассивным переносом антител к коллагену

Примечание. Показана динамика развития артрита у мышей линии Balb/C на фоне нейтрализации IL-6 моноклональными антителами (анти-IL-6, клон MP5-20F3), которые вводили внутривенно из расчета 250 мкг/мышь каждые три дня. Контрольная группа мышей (контроль) получала внутривенные инъекции фосфатно-солевого буфера каждые три дня. Данные представлены в виде средних значений на группу (n = 5) ±SD; P ≤ 0,05 (*).

В настоящей работе нами отработана модель артрита, основанная на переносе коктейля моноклональных артритогенных антител к коллагену [7]. Поскольку патогенные антитела поступают в организм «в готовом виде», предполагается, что в этой модели роль Т-клеток минимальна, хотя этот вопрос и требует дальнейшего изучения.

Оказалось, что такой вид экспериментального артрита зависит как минимум от двух цитокинов – TNF и IL-6. Без дополнительных экспериментов мы не можем ответить на вопрос, являются ли вклады этих двух цитокинов независимыми, или они вовлечены во взаимную регуляцию. В любом случае отработанная IL-6 зависимая модель заболевания позволяет нам теперь применить весь арсенал методов обратной генетики и определить клеточные источники патогенного IL-6 в артрите. Если таким источником будет служить только один основной вид клеток, то нашим следующим шагом будет разработка биспецифических антител, лимитирующих действие цитокина только из конкретного клеточного источника. Принципиальную возможность такого подхода мы обосновали в недавней работе с TNF [5].

Благодарности

Авторы благодарят Д.В. Купраша за критические замечания.

Список литературы / References

1. Друцкая М.С., Ефимов Г.А., Зварцев Р.В., Чащина А.А., Чудаков Д.М., Тиллиб С.В., Круглов А.А., Недоспасов С.А. Экспериментальные модели артрита для изучения действия блокаторов фактора некроза опухолей // Биохимия, 2014. Т. 79, № 12. С. 1647-1656. [Drutskaya M.S., Efimov G.A., Zvartsev R.V., Chashchina A.A., Chudakov D.M., Tillib S.V., Kruglov A.A., Nedospasov S.A. Experimental models of arthritis in which pathogenesis is dependent on TNF expression. *Biokhimiya = Biochemistry*, 2014 Vol. 79, no. 12, pp. 1349-1357. (In Russ.)]
2. Друцкая М.С., Носенко М.А., Атретханы К.-С.Н., Ефимов Г.А., Недоспасов С.А. Интерлейкин-6 – от молекулярных механизмов передачи сигнала к физиологическим функциям и терапевтическим мишеням. Молекулярная биология, 2015. Т. 49, № 6. С. 1-7. [Drutskaya M.S., Nosenko M.A., Atretkhany K.S., Efimov G.A., Nedospasov S.A. [Interleukin-6 From molecular mechanisms of signal transduction to physiological properties and therapeutic targeting]. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2015, Vol. 49, no. 6, pp. 937-943. (In Russ.)]
3. Bevaart L., Vervoordeltonk M.J., Tak P.P. Collagen-induced arthritis in mice. *Methods in Molecular Biology*, 2010, no. 602, pp. 181-192.
4. Brand D.D., Latham K.A., Rosloniec E.F. Collagen-induced arthritis. *Nature Protocols*, 2007, Vol. 2, no. 5, pp. 1269-1275.
5. Efimov G.A., Kruglov A.A., Khlupchatnikova Z.V., Rozov F.N., Mokhonov V.V., Rose-John S., Scheller J., Gordon S., Stacey M., Drutskaya M.S., Tillib S.V., Nedospasov S.A. Cell-type-restricted anti-cytokine therapy: TNF inhibition from one pathogenic source. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2016, Vol. 113, pp. 3006-3011.
6. Fujimoto M., Serada S., Mihara M., Uchiyama Y., Yoshida H., Koike N., Ohsugi Y., Nishikawa T., Rippe B., Kimura A., Kishimoto T., Naka T. Interleukin-6 blockade suppresses autoimmune arthritis in mice by the inhibition of inflammatory Th17 responses. *Arthritis Rheumatology*, 2008, Vol. 58, no. 12, pp. 3710-3719.
7. Hutamekalin P., Saito T., Yamaki K., Mizutani N., Brand D.D., Waritani T., Terato K., Yoshino S. Collagen antibody-induced arthritis in mice: development of a new arthritogenic 5-clone cocktail of monoclonal anti-type II collagen antibodies. *Journal of Immunological Methods*, 2009, Vol. 343, no. 1, pp. 49-55.
8. Keffer J., Probert L., Cazlaris H., Georgopoulos S., Kaslaris E., Kiousis D., Kollias G. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. *EMBO Journal*, 1991, Vol. 10, no. 13, pp. 4025-4031.
9. Kuprash D.V., Tumanov A.V., Liepinsh D.J., Koroleva E.P., Drutskaya M.S., Kruglov A.A., Shakhov A.N., Southon E., Murphy W.J., Tessarollo L., Grivnenskoy S.I., Nedospasov S.A. Novel tumor necrosis factor-knockout mice that lack Peyer's patches. *European Journal of Immunology*, 2005, Vol. 35, no. 5, pp. 1592-1600.
10. Lacey D., Hickey P., Arhatari B.D., O'Reilly L.A., Rohrbach L., Kiriazis H., Du X.J., Bouillet P. Spontaneous retrotransposon insertion into TNF 3'UTR causes heart valve disease and chronic polyarthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2015, Vol. 112, no. 31, pp. 9698-9703.
11. Li X., Bradford B.U., Dalldorf F., Goyert S.M., Stimpson S.A., Thurman R.G., Makarov S.S. CD14 mediates the innate immune responses to arthropathogenic peptidoglycan-polysaccharide complexes of Gram-positive bacterial cell walls. *Arthritis Research and Therapy*, 2004, Vol. 6, no. 3, pp. R273-281.

Авторы:

Друцкая М.С. – к.б.н., старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН; кафедра иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия
Горшкова Е.А. – лаборант, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН; кафедра иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия
Жданова А.С. – лаборант, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН; кафедра иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва; ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.Н. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия
Атретханы К.-С. – младший научный сотрудник, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН; кафедра иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия
Гоголева В.С. – лаборант, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН; кафедра иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия
Зварцев Р.В. – младший научный сотрудник, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия
Круглов А.А. – к.б.н., старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН; кафедра иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва; ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.Н. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия
Недоспасов С.А. – д.б.н., член-корр. РАН, главный научный сотрудник, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН; кафедра иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва; ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.Н. Лобачевского», г. Нижний Новгород, Россия

Поступила 06.09.2016

Отправлена на доработку 19.09.2016

Принята к печати 22.09.2016

Authors:

Drutskaya M.S., PhD (Biology), Senior Research Associate, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Gorshkova E.A., Assistant, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Department of Immunology, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Zhdanova A.S., Assistant, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow; Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Atretkhany K.-S., Junior Research Associate, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Gogoleva V.S., Assistant, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Zvartsev R.V., Junior Research Associate, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Kruglov A.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow; Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Nedospasov S.A., PhD, MD (Biology), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head Research Associate, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences; Department of Immunology, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow; Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Received 06.09.2016

Revision received 19.09.2016

Accepted 22.09.2016