

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЛЛО- И КСЕНОГРАФТНЫХ МОДЕЛЕЙ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ПРОТИВОРАКОВЫХ ВАКЦИН И ОНКОЛИТИЧЕСКИХ ВИРУСОВ

Непомнящих Т.С., Гаврилова Е.В., Максютлов Р.А.

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии „Вектор“ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека», р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Резюме. На настоящий момент онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности и заболеваемости у населения. Последние достижения в области изучения молекулярно-генетических механизмов онкогенеза и иммунного ответа организма открывают широкие возможности для создания новых эффективных средств борьбы с неопластическими заболеваниями, более специфичных к опухолевым клеткам и менее токсичных для организма. Одними из наиболее многообещающих подходов являются иммунотерапевтические противораковые вакцины и онколитические вирусы. Для проведения быстрого и надежного скрининга и доклинического тестирования необходимо использование релевантных животных моделей. Такие модели обеспечивают возможность воспроизвести микроокружение и васкуляризацию опухоли, а также в некоторой мере воздействие иммунной системы. Наиболее активно в исследованиях раковых заболеваний используются аллогraftные и ксенографтные опухолевые модели. Аллогraftная трансплантация предполагает перенос раковых клеток или фрагментов опухоли от одного организма к другому организму того же вида. Ксенопластическая трансплантация предполагает перенос опухолевых клеток или тканей между организмами, относящимися к разным биологическим видам. Для ксенотрансплантации могут быть использованы как клеточные линии, так и клетки опухоли, полученные от пациентов в результате биопсии. За последние несколько десятилетий исследователям удалось разработать целый ряд линий иммунодефицитных мышей и крыс, пригодных для использования в качестве моделей человеческих опухолей. Однако несмотря на достигнутые успехи такие модели имеют существенные ограничения, связанные с невозможностью полностью воспроизвести микроокружение опухоли, реконструировать функциональную иммунную систему человека у мышей, а также с развитием реакции отторжения трансплантата. Таким образом, при планировании экспериментов необходим тщательный анализ и критическое рассмотрение достоинств и недостатков различных линий животных, используемых в экспериментальной онкологии.

Ключевые слова: рак, иммунный ответ, иммунотерапия, онколитические вирусы, противораковые вакцины, аллогraftные модели, ксенографтные модели, лабораторные животные

Адрес для переписки:

Непомнящих Татьяна Сергеевна
ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии „Вектор“ Роспотребнадзора
630559, Россия, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, 28/97.
Тел.: 8 (383) 363-47-00 (доб. 13-69).
E-mail: antonec@ngs.ru, nepomnyashchik_ts@vector.nsc.ru

Address for correspondence:

Nepomnyashchikh Tatyana S.
State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”
630559, Russian Federation, Novosibirsk Region, Koltsovo, bldg 28, apt 97.
Phone: 7 (383) 363-47-00 (add. 13-69).
E-mail: antonec@ngs.ru, nepomnyashchik_ts@vector.nsc.ru

Образец цитирования:

Т.С. Непомнящих, Е.В. Гаврилова, Р.А. Максютлов
«Некоторые аспекты использования алло- и ксенографтных моделей при разработке противораковых вакцин и онколитических вирусов»
// Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 2.
С. 221–230. doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-221-230
© Непомнящих Т.С. и соавт., 2019

For citation:

T.S. Nepomnyashchikh, E.V. Gavrilova, R.A. Maksyutov
“Some applications of allo- and xenograft models for developing novel anti-cancer vaccines and oncolytic viruses”,
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2019, Vol. 21, no. 2, pp. 221–230.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-221-230
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-2-221-230

SOME APPLICATIONS OF ALLO- AND XENOGRAFT MODELS FOR DEVELOPING NOVEL ANTI-CANCER VACCINES AND ONCOLYTIC VIRUSES

Nepomnyashchikh T.S., Gavrilova E.V., Maksyutov R.A.

State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Abstract. To date, cancer diseases are one of the leading causes of mortality and morbidity in the world. Recent advances in understanding the molecular genetic mechanisms of oncogenesis and anti-cancer immune responses open new opportunities for the development of novel effective therapeutic strategies against cancer diseases; the therapies that would be more specific to tumor cells and less toxic to the host. Immunotherapeutic anti-cancer vaccines and oncolytic viruses are among the most promising approaches of this kind. For rapid and reliable screening and preclinical testing of new therapeutic approaches, the relevant animal models are of critical importance. Such models provide the ability to partially reproduce tumor microenvironment and vascularization, as well as to model the immune system reactions to some extent. Allograft and xenograft tumor models are the most common in cancer research. Allogeneic transplantation involves the cancer cells or tumor fragments transfer between the same-species organisms. Xenoplastic transplantation involves the transfer of tumor cells, or tissues between the organisms of distinct species. Both tumor cell lines and patient-derived tumor cells and fragments obtained with biopsy can be used for xenotransplantation. Over the past decades, the researchers developed numerous strains of immunodeficient mice and rats, suitable for xenografting human tumors. However, despite wide spread of immunodeficient laboratory animals as *in vivo* models in experimental oncology, these models do also have significant limitations because of associated inability to fairly reproduce the tumor microenvironment and human immune system functions in mice, as well as due to development of graft-versus-host reactions. Thus, when planning the experiments, it is necessary to carefully analyze all the benefits and disadvantages of animal strains, supposed to be used in experimental oncology studies.

Keywords: cancer, immune response, immunotherapy, oncolytic viruses, cancer vaccines, allograft models, xenograft models, laboratory animals

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-10101).

Введение

За последние несколько десятилетий исследователям удалось значительно продвинуться в понимании молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе многих биологических процессов, включая онкогенез и особенности противоопухолевого иммунного ответа. Благодаря этим знаниям открываются широкие возможности для создания новых противораковых лекарств, более специфичных к опухолям и менее токсичных для организма в целом [2]. В числе наиболее многообещающих подходов можно упомянуть иммунотерапию, в том числе иммунотерапевтические противораковые вакцины и терапию, основанную на использовании онколитических вирусов. Критическое значение для разработки и доклинических исследований новых противораковых средств и терапевтических стратегий имеет использование релевантных животных моделей [2]. Такие модели обеспечивают возможность воспроизвести микроокружение

и васкуляризацию опухоли, а также в некоторой мере воздействие иммунной системы. Наиболее активно в исследованиях раковых заболеваний используются аллогraftные и ксенографтные опухолевые модели. Аллогенная трансплантация предполагает перенос раковых клеток или фрагментов опухоли от одного организма к другому организму того же вида. Ксенопластическая (ксеногенная) трансплантация предполагает перенос опухолевых клеток или тканей от одного организма (человека) к другому (например, мышь или крыса). Для ксенотрансплантации могут быть использованы как клеточные линии (Cell-line-derived xenografts), так и клетки и фрагменты опухоли, полученные от пациентов в результате биопсии (Patient-derived xenografts). На данный момент создано большое количество различных линий иммунодефицитных мышей и крыс, которые могут быть использованы для ксенотрансплантации человеческих опухолей [33, 73]. Такие модели могут быть успешно использованы для трансплантации как различных опухолевых клеточных линий, так и материала, полученного от пациентов, страдающих от онкологических заболеваний. Несмотря на успехи, достигнутые

с использованием иммунодефицитных мышей в экспериментальной онкологии, у таких моделей есть и множество ограничений и недостатков, связанных с невозможностью полностью воспроизвести микроокружение опухоли или функции иммунной системы человека у организма-реципиента, а также с развитием реакции отторжения трансплантата и др., которые требуют дальнейших исследований в этой области. Тщательный анализ и критическое рассмотрение достоинств и недостатков выбранных животных моделей являются необходимыми при проведении исследований в области экспериментальной онкологии и в особенности при разработке новых средств терапии раковых заболеваний.

В наши дни раковые заболевания остаются одной из основных причин смертности и заболеваемости у населения. На данный момент описано более 200 различных раковых заболеваний. Разработка средств иммунотерапии, противораковых вакцин и онколитических вирусов является перспективным способом борьбы с раковыми заболеваниями [73].

Существует два основных типа иммунотерапии рака: 1) пассивная терапия с использованием моноклональных антител против поверхностных антигенов раковых клеток (например, трастузумаб, направленный против рецептора HER2 клеток карциномы молочной железы и желудка, или цетуксимаб, направленный против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) при колоректальном раке); 2) активная иммунотерапия, основанная на стимуляции иммунного ответа против специфичных раковых антигенов (например, сипулейцел-Т, используемый для лечения некоторых видов рака предстательной железы) [37]. Иммунотерапия позволяет оказывать таргетированное действие на опухолевые клетки и, как правило, обладает относительно низкой токсичностью [6]. Преимущество противораковых вакцин по сравнению с пассивной иммунотерапией заключается в том, что благодаря индукции Т-клеток памяти снижается вероятность рецидива заболевания [37]. Успешным примером профилактических вакцин против инфекционных агентов, которые могут вызывать рак, являются вакцины против ряда вирусов папилломы человека, приводящих к развитию рака, и против вируса гепатита В [36].

Онколитические вирусы способны селективно заражать раковые клетки и реплицироваться в них, вызывая их лизис. Клинические исследования показали, что терапия онколитическими вирусами является безопасной и высокоэффективной [40]. Например, в Китае аденовирус H101 одобрен для лечения рака головы/шеи [20].

Для разработки новых подходов к противораковой терапии используется широкий спектр вирусов, обладающих онколитическим потенциалом, в том числе вирус осповакцины, вирус везикулярного стоматита, вирус Синдбис, вирус леса Семлики, вирус болезни Ньюкасла, вирус простого герпеса и другие [29]. Оказалось, что онколитические вирусы имеют двойной механизм действия против опухолей [29]. Во-первых, онколитические вирусы непосредственно вызывают лизис зараженных клеток опухоли (онколиз). Во-вторых, введение онколитических вирусов способствует активации иммунной системы (в первую очередь Т-лимфоцитов), что приводит к более эффективной элиминации опухолевых клеток [32, 51], а также способствует развитию долгосрочного противоопухолевого иммунитета [43]. Для активации противоопухолевых Т-клеток основным условием является представление фрагментов опухолевых антигенов молекулами главного комплекса гистосовместимости на поверхности антигенпредставляющих клеток [23]. Имуногенные пептидные фрагменты — Т-клеточные эпитопы — обычно имеют длину около 8-18 аминокислот и представляются молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) I или II класса, что приводит к активации антигенспецифических CD8⁺ и CD4⁺Т-лимфоцитов соответственно [47]. Опухолевые антигены могут быть получены из пептидных фрагментов мутированных онкобелков и опухолевых супрессоров, сверхэкспрессированных клеточных белков, модифицированных гликопротеинов, онкофетальных белков, тканеспецифичных белков дифференцировки и белков, полученных из онкогенных вирусов [12, 70]. Идентификация таких опухолевых антигенов и перспективных Т-клеточных эпитопов для активации антигенспецифического противоракового иммунного ответа представляет собой очень перспективную область для развития средств иммунотерапии рака [5].

Модели экспериментальной онкологии, основанные на перевиваемых опухолях

Проведение исследований рака на культурах клеток *in vitro* не обеспечивает полноценной картины, так как отсутствует микроокружение опухоли, васкуляризация, воздействие иммунной системы и т.д. Использование лабораторных животных (особенно мышей и крыс) в качестве *in vivo* моделей позволяет преодолеть часть этих ограничений. В настоящее время в исследованиях раковых заболеваний активно используются аллографтные и ксенографтные опухолевые модели. Аллогенная трансплантация представляет собой перенос клеток, органов или тканей от одного организма к другому организму того же вида [45].

В ксенографтных моделях опухолевые клетки человека переносят в иммунодефицитных мышей, у которых не происходит отторжения клеток другого организма [55]. Для ксенотрансплантации используются как клеточные линии, так и клетки опухоли, полученные от пациентов. Ксенотрансплантация линий клеток человека мышам является одной из наиболее простых и часто используемых модельных систем. Такие модели могут быть успешно использованы для исследований генетики рака, однако они имеют такие ограничения, как сниженная внутриопухолевая гетерогенность, а также слабая способность предсказывать клинически эффективные методы лечения. Кроме того, зачастую используемые линии клеток относятся к высокоагрессивным злокачественным опухолям, что не позволяет изучать ранние события, происходящие при развитии первичной опухоли [30]. Ксенотрансплантация клеток, полученных от пациента, позволяет преодолеть часть ограничений моделей, использующих клеточные линии. При таком подходе сохраняются многие важные особенности первичной опухоли человека, в том числе кинетика роста опухоли, гистологические особенности, инвазивность, метастатическая способность и соответствующий ответ на терапию [15, 27, 41, 74]. Однако остаются ограничения, связанные с межвидовыми различиями микроокружения опухоли и отсутствием полноценного иммунного ответа у иммунодефицитных животных. Следует также отметить, что создание ксенографтных моделей с использованием клеток пациентов требует значительного времени (от нескольких месяцев до лет), что сильно ограничивает их применение в клинике. Тем не менее такие модели имеют большой потенциал для доклинических исследований [30].

В настоящее время рассматриваются три основные модели индукции опухоли: ортотопическая, гетеротопическая и метастатическая [61, 73]. В ортотопической модели опухолевые клетки вводятся в место происхождения опухоли. В гетеротопической модели клетки вводят в подкожное пространство. В метастатической модели опухолевые клетки чаще всего вводят либо в латеральную хвостовую вену мыши, либо внутрикардиально (в левый желудочек сердца) [33, 73]. Также используются внутрибрюшинные, внутрикостные (в голень или бедренную кость), внутриселезеночные или внутривенные инъекции [4, 60, 67]. Далее опухолевые клетки метастазируют, поражая различные органы.

Наиболее распространенной является подкожная гетеротопическая модель из-за ее относительной простоты, в связи с чем данная модель часто используется для быстрого скрининга по-

тенциальных терапевтических соединений, в том числе для поиска новых противораковых препаратов [34]. Суспензия опухолевых клеток обычно вводится в правый и/или левый бок мыши [61]. Суспензия должна содержать порядка 10^6 клеток на 0,1 мл для образования твердой опухоли, так как использование малого числа клеток может привести к отсутствию роста ксенотрансплантата [18]. Обычно опухоль становится видимой примерно через две-шесть недель в зависимости от типа клеток, места введения, восприимчивости хозяина и т.д. [16, 61]. Необходимо постоянно оценивать рост опухоли (порядка двух-трех раз в неделю), так как некоторые клеточные линии могут не образовывать твердых опухолей у мышей или их образование может быть затруднено, как, например, в случае с клетками карциномы САК11 [77]. Измеряются длина l — наибольший продольный диаметр и ширина w — наибольший поперечный диаметр опухоли [48, 49]; эти параметры используются для определения площади, которая рассчитывается как $l \cdot w$, или объема — $1/2(l \cdot w^2)$ опухоли [54, 76].

Для метастатической модели следует отметить такие преимущества, как быстрое развитие опухоли и хорошая воспроизводимость [33]. Однако метастатическая и гетеротопическая модели имеют свои недостатки, поскольку они неточно отражают клинический сценарий развития первичной опухоли в связи с отсутствием соответствующего микроокружения [33]. Кроме того, в метастатических моделях отсутствуют ранние стадии канцерогенеза, и структура метастатических эмболов, образовавшихся в кровотоке, отличается от структуры таковых, наблюдаемой в опухолях, метастазирующих спонтанно [33, 34, 71].

В ортотопической модели опухолевые клетки вводятся либо путем прямой инъекции, либо путем микрохирургической имплантации в орган происхождения опухоли. Было показано, что опухоли, введенные прямой инъекцией, имеют более низкие показатели метастазирования и сильнее отличаются по структуре от первичной опухоли по сравнению с микрохирургической имплантацией [73]. Для микрохирургической имплантации обычно используют 1 мм^3 опухолевой ткани [26, 28, 62]. При введении опухоли путем прямой инъекции используется такое же количество клеток, как и в подкожной модели [24, 26, 78]. Считается, что в ортотопических моделях микроокружение органа животного способствует развитию опухоли, более приближенному к аналогичному у человека [73]. Показано также, что в ортотопических моделях более часто, чем в подкожных, наблюдается спонтанное метастазирование [33]. Ответ на применение противоо-

пухоловых препаратов в ортотопической модели лучше коррелирует с активностью лекарств, наблюдаемой в клинической практике [28]. В связи с этим во многих случаях использование ортотопических моделей является наилучшим выбором при изучении роста опухоли, проведении фармакологических исследований и разработке методов диагностики [28, 73].

Линии мышей, используемые как модели экспериментальной онкологии, основанные на перевиваемых опухолях

Одной из первых описанных линий мышей [17], используемых как экспериментальные модели для изучения рака, являются атимические голые мыши Nude (Nu). Генетическая особенность этих мышей связана с наличием мутации с потерей функции двух копий гена FoxN1 [42]. Важнейшей особенностью голых Nude мышей является отсутствие тимуса [50]. В норме специфический Т-клеточный иммунный ответ вовлечен в уничтожение инфицированных и злокачественных клеток, а также участвует в реакции отторжения трансплантата хозяином [7, 58]. У голых Nude мышей в связи с отсутствием тимуса наблюдается значительный дефицит Т-лимфоцитов, что дает возможность для приживления, роста и метастазирования опухолевых клеток ксенотрансплантата [71, 72]. У бестимусных голых Nude мышей обычно развивается зачаток тимуса, который образован эпителиальными клетками-предшественниками, однако, его созревания не происходит [53]. При отсутствии белка FoxN1 из-за рецессивной мутации *nu/nu* нарушается дифференцировка и пролиферация эпителиальных клеток тимуса, васкуляризация тимуса, а также созревание предшественников Т-лимфоцитов [73]. Наиболее ярким внешним фенотипическим признаком голых мышей Nude является отсутствие шерстного покрова. При рождении волосные фолликулы имеют нормальную структуру, однако по мере роста волосы начинают скручиваться в области волосистой воронки (*infundibulum*), в результате чего они не проникают в эпидермис [17, 42]. У атимических голых мышей наблюдается также замедленный рост, снижение фертильности, недоразвитие молочных желез, отсутствие вибриссов при рождении и сниженная продолжительность жизни (от 6 месяцев до одного года) [17]. Поскольку у бестимусных голых мышей недостаточно развиты молочные железы, самки не способны к полноценному выкармливанию потомства. В связи с этим при разведении самцов голых мышей Nude скрещивают с гетерозиготными самками [31]. Интересно отметить, что гетерозиготы не имеют заметных фенотипических изме-

нений, за исключением небольших отклонений размера тимуса и изменений иммунного ответа по сравнению со здоровыми мышами [31].

Следует отметить, что использование атимических голых мышей имеет определенные ограничения, поскольку иммунодефицит, наблюдаемый у данных мышей, является тяжелым, но не абсолютным [73]. Несмотря на то, что уровень Т-клеток ничтожно мал, врожденный иммунитет остается активным, что может отрицательно влиять на скорость приживления и рост большинства первичных твердых опухолей и на их способность образовывать метастазы, а также делает невозможным приживление злокачественных гемопоэтических клеток [63, 64]. Поскольку активность Т-клеток возрастает с возрастом, для повышения скорости приживления и воспроизводимости результатов целесообразно использовать молодых животных в возрасте 5-10 недель [21, 39, 49]. Несмотря на эти ограничения, атимические голые мыши успешно используются в качестве *in vivo* модели для изучения приживления, роста, инвазии и метастазирования раковых клеток [73]. Кроме того, у бестимусных голых мышей относительно легко отслеживать рост опухолей из-за естественного отсутствия шерстного покрова.

В настоящее время выведено несколько линий мышей, которые несут мутацию *nude* гена FoxN1, полученных путем скрещивания атимических голых мышей с другими линиями мышей, такими как Balb/c, CD-1 или NMRI [73]. Другая линия иммунодефицитных мышей CB17, называемых также SCID (тяжелого комбинированного иммунодефицита — *severe combined immunodeficiency*), несет спонтанную мутацию в гене *Prkdc*, которая приводит к нарушению развития зрелых Т- и В-лимфоцитов. Мыши линии *hairless* SCID гомозиготны как по мутации *Hr^{hr}*, так и по *Prkdc^{scid}*, поэтому демонстрируют иммунодефицитный фенотип, характерный для SCID-мышей, и при этом лишены шерсти [22]. Примером тяжелого комбинированного иммунодефицита является линия Nude/SCID [56]. Линия мышей *Rag1^{null}* характеризуется полным отсутствием зрелых Т- и В-клеток, в отличие от гомозигот *Prkdc^{scid}*, которые продуцируют некоторые количества В-клеток и IgM [44, 66]. Мыши линии *Rag2^{null}* имеют дефекты гемопоэтической и иммунной систем, включая нарушения развития В- и Т-клеток на этапе про-В и про-Т-клеток соответственно [25, 38]. Другой важной моделью является линия иммунодефицитных мышей, несущих мутацию в гене гамма-цепи рецептора интерлейкина-2 (*IL2rg^{null}*). Эта мутация в сочетании с мутациями *scid*, *Rag1^{null}* или *Rag2^{null}* приводит к тому, что у мышей полностью отсут-

ствуется адаптивный иммунитет и сильно снижен врожденный иммунитет. Другим примером сочетанного нарушения иммунитета может служить линия мышей SCID Beige, в которой представлены мутации в генах *Prkdc* и *Lyst*. Ген *Lyst* кодирует регулятор лизосомного транспорта и его мутации приводят к тяжелым нарушениям функций натуральных киллеров [19]. Мыши линии NIH-III несут мутации в трех генах: *nude* (ген *FoxN1*), приводящую к отсутствию тимуса и Т-клеточного иммунного ответа; *beige* (ген *Lyst*), связанную с нарушениями натуральных киллеров; и в гене *xid*, связанном с X-хромосомой, определяющим недостаточность гуморального иммунитета и созревания В-лимфоцитов [14]. Линия NOD SCID была получена при переносе мутации *scid* в гене *Prkdc* в линию диабетических мышей, не страдающих ожирением (NOD), несущих мутацию в гене *SIRP1α*. Такие мыши имеют нарушения Т- и В-лимфоцитов, а также натуральных киллеров [52]. Другой интересной моделью являются мыши линии NSG (NOD/*scid*/IL-2γ-receptor null), которые имеют фенотип *scid*, NOD, связанный с полиморфизмом *SIRP1α*, а также мутации в гене гамма цепи рецептора интерлейкина-2 (IL-2Rγс). Мутация *SIRP1α* обеспечивает взаимодействие *SIRP1α* и *CD47*, вследствие чего не происходит фагоцитоза клеток человека моноцитами мыши, а мутация гамма-цепи рецептора интерлейкина-2 приводит к дефициту натуральных киллеров и нарушению путей передачи сигнала от IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 и IL-21 [35]. Примером иммунодефицитных крыс, используемых для исследований рака, являются крысы линии NIH nude, которые были выведены в 1979-1980 гг. У таких крыс наблюдается дефицит Т-клеток и нарушения в тимусзависимых зонах периферических лимфоидных органов [75]. Описанные выше животные очень восприимчивы к трансплантации человеческих клеток, тканей и первичных опухолей [63, 65, 73]. На основании этих линий выведено большое число новых моделей для проведения исследований раковых заболеваний. Так, например, в электронном каталоге Лаборатории Джексона (Jackson Laboratory, <https://www.jax.org/mouse-search>) по запросу "xenograft" представлено 196 результатов, которые соответствуют линиям мышей, подходящим для проведения ксенотрансплантации.

Воссоздание иммунной системы человека у мышей, используемых как модели экспериментальной онкологии

Для разработки и оценки эффективности новых способов иммунотерапии рака крайне желательно наличие полного набора функциональных иммунных клеток человека в модели [11].

В настоящее время разработаны методы воздействия как на иммунную систему мышей, так и на перевиваемые опухоли для создания гуманизированных мышей, путем совместной трансплантации фрагмента опухоли с человеческими CD34⁺ гемопоэтическими стволовыми клетками, изолированными из пуповинной крови, костного мозга или периферической крови одного донора или независимых доноров [46, 69]. Например, для клеточной линии рака молочной железы человека, перенесенной в печень мышей линии NSG совместно с CD34⁺ гемопоэтическими стволовыми клетками человека, выделенными из пуповинной крови, через пять недель иммунные клетки человека определялись во всех тканях мыши-реципиента, а опухолевые клетки были обнаружены в легких и костном мозге [13]. Через три месяца после трансплантации опухолевые клетки и макроскопические опухоли идентифицировались в печени и селезенке и рост опухоли сопровождался экспрессией маркеров созревания и активации Т-клеток [13]. Использование CD34⁺ гемопоэтических стволовых клеток человека позволяет восстанавливать человеческие лимфоциты и клетки врожденного иммунитета без реакции отторжения трансплантата, однако существует ограничение, связанное с тем, что для человеческих Т-клеток в этой модели отсутствует иммунологическое «обучение» в тимусе из-за отсутствия человеческого тимуса у мышей-реципиентов [13]. Кроме того, трансплантация CD34⁺ гемопоэтических стволовых клеток независимого донора приводит к развитию натуральных киллеров, экспрессирующих KIR рецепторы человека, которые могут не соответствовать HLA донора опухоли, что может влиять на активность натуральных киллеров по отношению к трансплантированной опухоли [1].

Другой подход к частичному воссозданию иммунной системы человека у модельных мышей заключается во введении мононуклеарных клеток периферической крови человека мыши-реципиенту [13], причем мононуклеарные и опухолевые клетки также могут быть получены как от одного донора [10, 59], так и от разных [9, 57]. Несмотря на то, что и в первом, и во втором случаях совместное введение мононуклеарных клеток периферической крови человека и опухолевых клеток позволяет моделировать функции человеческой иммунной системы у мышей-реципиентов, в случае разных человеческих доноров этот подход подходит в основном для краткосрочных экспериментов, поскольку он ограничен быстрым развитием реакции отторжения трансплантата, которая может приводить к завышению оценки успеха тестируемого лечения [8]. Использование

опухолевой ткани, а также стволовых клеток, полученных из костного мозга, и тканей тимуса одного донора значительно бы улучшило качество моделей [65], однако такой подход является весьма инвазивным и поэтому в настоящее время не может быть широко применим [8].

При трансплантации опухоли человека была показана возможность переноса мышам-реципиентам также и клеток иммунной системы человека, инфильтрирующих ткани опухоли [68]. В этой модели была проведена подкожная трансплантация ненарушенной первичной опухоли легкого человека, которая привела к успешному приживлению опухоли, а также развитию человеческих Т-клеток у мышей. Через несколько месяцев иммунные клетки человека были обнаружены в селезенке, легких, печени, почках и кишечнике мыши и имели фенотип эффекторных Т-клеток памяти [68]. Аналогичный подход был применен и в другой работе, где опухолевые клетки яичников, стромы, лимфоциты и фибробласты опухоли, полученные из биопсий пациентов, были успешно перенесены мышам линии NSG [2]. Было показано, что перенесенные иммунные клетки человека оставались функциональными, что подтверждалось их способностью реагировать на стимуляцию цитокинами [2].

Заключение

Таким образом, за последние несколько десятилетий был разработан целый ряд животных моделей для скрининга и доклинического тестирования противораковых препаратов [3]. В настоящее время активно используются линии иммунодефицитных мышей, например SCID или атимические голые мыши Nude, которые могут быть использованы как модели человеческих опухолей [73]. Возможна трансплантация как различных опухолевых клеточных линий, так и материала биопсий пациентов.

Описанные выше модели могут быть использованы для исследований новых способов иммунотерапии рака *in vivo*, однако вопросы о механизмах взаимодействия иммунной системы и перевиваемой опухоли, а также соответствия реакций иммунной системы даже в гуманизированных моделях и естественных реакций иммунной системы человека являются крайне сложными и требуют дальнейшего изучения. Результаты, полученные в таких моделях, несмотря на их огромное практическое и теоретическое значение, следует транслировать на человеческий организм с большой осторожностью. При планировании экспериментов необходим тщательный анализ ограничений каждой из моделей.

Список литературы / References

1. Augusto D.G. The impact of KIR polymorphism on the risk of developing cancer: not as strong as imagined? *Front. Genet.*, 2016, Vol. 7, p. 121.
2. Bankert R.B., Balu-Iyer S.V., Odunsi K., Shultz L.D., Kelleher R.J.Jr, Barnas J.L., Simpson-Abelson M., Parsons R., Yokota S.J. Humanized mouse model of ovarian cancer recapitulates patient solid tumor progression, ascites formation, and metastasis. *PLoS ONE*, 2011, Vol. 6, no. 9, e24420. doi:10.1371/journal.pone.0024420.
3. Bankert R.B., Hess S.D., Egilmez N.K. SCID mouse models to study human cancer pathogenesis and approaches to therapy: potential, limitations, and future directions. *Front. Biosci.*, 2002, Vol. 7, pp. 44-62.
4. Bollard J., Couderc C., Blanc M., Poncet G., Lepinasse F., Hervieu V., Gouysse G., Ferraropeyret C., Benslama N., Walter T., Scoazec J.Y., Roche C. Antitumor effect of everolimus in preclinical models of high-grade gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinomas. *Neuroendocrinology*, 2013, Vol. 97, pp. 331-340.
5. Buonaguro L., Petrizzo A., Tornesello M.L., Buonaguro F.M. Translating tumor antigens into cancer vaccines. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2011, Vol. 18, no. 1, pp. 23-34.
6. Butterfield L.H. Lessons learned from cancer vaccine trials and target antigen choice. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2016, Vol. 65, no. 7, pp. 805-812.
7. Cadili A., Kneteman N. The role of macrophages in xenograft rejection. *Transplant. Proc.*, 2008, Vol. 40, pp. 3289-3293.
8. Cassidy J.W., Caldas C., Bruna A. Maintaining tumor heterogeneity in patient-derived tumor xenografts. *Cancer Res.*, 2015, Vol. 75, no. 15, pp. 2963-2968.
9. Chang D.K., Moniz R.J., Xu Z., Sun J., Signoretti S., Zhu Q., Marasco W.A. Human anti-CAIX antibodies mediate immune cell inhibition of renal cell carcinoma *in vitro* and in a humanized mouse model *in vivo*. *Mol. Cancer*, 2015, Vol. 14, p. 119.
10. Chester C., Ambulkar S., Kohrt H.E. 4-1BB agonism: adding the accelerator to cancer immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2016, Vol. 65, no. 10, pp. 1243-1248.
11. Cho S.Y., Kang W., Han J.Y., Min S., Kang J., Lee A., Kwon J.Y., Lee C., Park H. An integrative approach to precision cancer medicine using patient-derived xenografts. *Mol. Cells*, 2016, Vol. 39, no. 2, pp. 77-86.
12. Coulie P.G., van den Eynde B.J., van der Bruggen P., Boon T. Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Cancer*, 2014, Vol. 14, no. 2, pp. 135-146.

13. Decker W.K., da Silva R.F., Sanabria M.H., Angelo L.S., Guimarães F., Burt B.M., Kheradmand F., Paust S. Cancer immunotherapy: historical perspective of a clinical revolution and emerging preclinical animal models. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, p. 829.
14. Defosse D.L., Duray P.H., Johnson R.C. The NIH-3 immunodeficient mouse is a model for Lyme borreliosis myositis and carditis. *Am. J. Pathol.*, 1992, Vol. 141, no. 1, p. 3.
15. DeRose Y.S., Wang G., Lin Y.-C., Bernard P.S., Buys S.S., Ebbert M.T.W., Factor R., Matsen C., Milash B.A., Nelson E., Neumayer L., Randall R.L., Stijleman I.J., Welm B.E., Welm A.L. Tumor grafts derived from women with breast cancer authentically reflect tumor pathology, growth, metastasis and disease outcomes. *Nat. Med.*, 2011, Vol. 17, pp. 1514-1520.
16. Dipersio L.P. Regional growth differences of human tumour xenografts in nude mice. *Lab. Anim.*, 1981, Vol. 15, pp. 179-180.
17. Flanagan S.P. 'Nude', a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genet. Res.*, 1966, Vol. 8, pp. 295-309.
18. Fogh J., Fogh J.M., Orfeo T. One hundred and twenty-seven cultured human tumor cell lines producing tumors in nude mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1977, Vol. 59, pp. 221-226.
19. Froidevaux S., Looor F. A quick procedure for identifying doubly homozygous immunodeficient scid beige mice. *J. Immunol. Methods*, 1991, Vol. 137, no. 2, pp. 275-279.
20. Garber K. China approves world's first oncolytic virus therapy for cancer treatment. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2006, Vol. 98, pp. 298-300.
21. Giovanella B.C., Fogh J. The nude mouse in cancer research. *Adv. Cancer Res.*, 1985, Vol. 44, pp. 69-120.
22. Gotoh K., Kariya R., Matsuda K., Hattori S., Vaeteewoottacharn K., Okada S. A novel EGFP-expressing nude mice with complete loss of lymphocytes and NK cells to study tumor-host interactions. *Biosci. Trends*, 2014, Vol. 8, no. 4, pp. 202-205.
23. Grakoui A., Bromley S.K., Sumen C., Davis M.M., Shaw A.S., Allen P.M., Dustin M.L. The immunological synapse: a molecular machine controlling T cell activation. *Science*, 1999, Vol. 285, no. 5425, pp. 221-227.
24. Greco A., Albanese S., Auletta L., Mirabelli P., Zannetti A., d'Alterio C., di Maro G., Orlandella F.M., Salvatore G., Soricelli A., Salvatore M. High-frequency ultrasound-guided injection for the generation of a novel orthotopic mouse model of human thyroid carcinoma. *Thyroid*, 2016, Vol. 26, pp. 552-558.
25. Hao Z., Rajewsky K. Homeostasis of peripheral B cells in the absence of B cell influx from the bone marrow. *J. Exp. Med.*, 2001, Vol. 194, no. 8, pp. 1151-1164.
26. He L., Tian D.-A., Li P.-Y., He X.-X. Mouse models of liver cancer: progress and recommendations. *Oncotarget*, 2015, Vol. 6, pp. 23306-23322.
27. Hidalgo M., Amant F., Biankin A.V., Budinska E., Byrne A.T., Caldas C., Clarke R.B., de Jong S., Jonkers J., Maelandsmo G.M., Roman-Roman S., Seoane J., Trusolino L., Villanueva A. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. *Cancer Discov.*, 2014, Vol. 4, pp. 998-1013.
28. Hoffman R.M. Orthotopic metastatic mouse models for anticancer drug discovery and evaluation: a bridge to the clinic. *Invest. New Drugs*, 1999, Vol. 17, pp. 343-359.
29. Holay N., Kim Y., Lee P., Gujar S. Sharpening the edge for precision cancer immunotherapy: targeting tumor antigens through oncolytic vaccines. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, p. 800.
30. Holen I., Speirs V., Morrissey B., Blyth K. *In vivo* models in breast cancer research: progress, challenges and future directions. *Dis. Model. Mech.*, 2017, Vol. 10, no. 4, pp. 359-371.
31. Holub M. The nude mouse. *ILAR J.*, 1992, Vol. 34, pp. 1-3.
32. Kaufman H.L., Kohlhaup F.J., Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2015, Vol. 14, no. 9, pp. 642-662.
33. Khanna C., Hunter K. Modeling metastasis *in vivo*. *Carcinogenesis*, 2005, Vol. 26, pp. 513-523.
34. Killion J.J., Radinsky R., Fidler I.J. Orthotopic models are necessary to predict therapy of transplantable tumors in mice. *Cancer Metastasis Rev.*, 1998, Vol. 17, pp. 279-284.
35. Kinter A.L., Godbout E.J., McNally J.P., Sereti I., Roby G.A., O'Shea M.A., Fauci A.S. The common gamma-chain cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 induce the expression of programmed death-1 and its ligands. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 181, no. 10, pp. 6738-6746.
36. Klebanoff C.A., Acquavella N., Yu Z., Restifo N.P. Therapeutic cancer vaccines: are we there yet? *Immunol. Rev.*, 2011, Vol. 239, no. 1, pp. 27-44.
37. Kudrin A., Hanna Jr M.G. Overview of the cancer vaccine field: are we moving forward? *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2012, Vol. 8, no. 8, pp. 1135-1140.
38. Lang J., Weiss N., Freed B.M., Torres R.M., Pelanda R. Generation of hematopoietic humanized mice in the newborn BALB/c-Rag2 null Il2r γ null mouse model: a multivariable optimization approach. *Clin. Immunol.*, 2011, Vol. 140, no. 1, pp. 102-116.
39. Liu Z., Sun Y., Hong H., Zhao S., Zou X., Ma R., Jiang C., Wang Z., Li H., Liu H. 3-bromopyruvate enhanced daunorubicin-induced cytotoxicity involved in monocarboxylate transporter 1 in breast cancer cells. *Am. J. Cancer Res.*, 2015, Vol. 5, pp. 2673-2685.
40. Mansfield D.C., Kyula J.N., Rosenfelder N., Chao-Chu J., Kramer-Marek G., Khan A.A., Roulstone V., McLaughlin M., Melcher A.A., Vile R.G., Pandha H.S., Khoo V., Harrington K.J. Oncolytic vaccinia virus as a

vector for therapeutic sodium iodide symporter gene therapy in prostate cancer. *Gene Ther.*, 2016, Vol. 23, no. 4, pp. 357-368.

41. Marangoni E., Vincent-Salomon A., Auger N., Degeorges A., Assayag F., de Cremoux P., de Plater L., Guyader C., de Pinieux G., Judde J.-G., Rebucci M., Tran-Perennou C., Sastre-Garau X., Sigal-Zafrani B., Delattre O., Diéras V., Poupon M.F. A new model of patient tumor-derived breast cancer xenografts for preclinical assays. *Clin. Cancer Res.*, 2007, Vol. 13, pp. 3989-3998.

42. Mecklenburg L., Tychsen B., Paus R. Learning from nudity: lessons from the nude phenotype. *Exp. Dermatol.*, 2005, Vol. 14, pp. 797-810.

43. Melcher A., Parato K., Rooney C.M., Bell J.C. Thunder and lightning: immunotherapy and oncolytic viruses collide. *Mol. Ther.*, 2011, Vol. 19, no. 6, pp. 1008-1016.

44. Mombaerts P., Iacomini J., Johnson R.S., Herrup K., Tonegawa S., Papaioannou V.E. RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes. *Cell*, 1992, Vol. 68, no. 5, pp. 869-877.

45. Moore J.C., Langenau D.M. Allograft cancer cell transplantation in zebrafish. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2016, Vol. 916, pp. 265-287.

46. Morton J.J., Bird G., Refaeli Y., Jimeno A. Humanized mouse xenograft models: narrowing the tumor-microenvironment gap. *Cancer Res.*, 2016, Vol. 76, no. 21, pp. 6153-6158.

47. Neefjes J., Ovaa H. A peptide's perspective on antigen presentation to the immune system. *Nat. Chem. Biol.*, 2013, Vol. 9, no. 12, pp. 769-775.

48. Nölting S., Giubellino A., Tayem Y., Young K., Lauseker M., Bullova P., Schovanek J., Anver M., Fliedner S., Korbonits M., Göke B., Vlotides G., Grossman A., Pacak K. Combination of 13-Cis retinoic acid and lovastatin: marked antitumor potential *in vivo* in a pheochromocytoma allograft model in female athymic nude mice. *Endocrinology*, 2014, Vol. 155, pp. 2377-2390.

49. Pacak K., Sirova M., Giubellino A., Lencesova L., Csaderova L., Hudecova S., Krizanov O. NF- κ B inhibition significantly upregulates the norepinephrine transporter system, causes apoptosis in pheochromocytoma cell lines and prevents metastasis in an animal model. *Int. J. Cancer*, 2012, Vol. 131, pp. 2445-2455.

50. Pantelouris E.M. Athymic development in the mouse. *Differentiation*, 1973, Vol. 1, pp. 437-450.

51. Parato K.A., Senger D., Forsyth P.A.J., Bell J.C. Recent progress in the battle between oncolytic viruses and tumours. *Nat. Rev. Cancer*, 2005, Vol. 5, no. 12, pp. 965-976.

52. Prochazka M.I.C.H.A.L., Gaskins H.R., Shultz L.D., Leiter E.H. The nonobese diabetic scid mouse: model for spontaneous thymomagenesis associated with immunodeficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, Vol. 89, no. 8, pp. 3290-3294.

53. Prowse D.M., Lee D., Weiner L., Jiang N., Magro C.M., Baden H.P., Brissette J.L. Ectopic expression of the nude gene induces hyperproliferation and defects in differentiation: implications for the self-renewal of cutaneous epithelia. *Dev. Biol.*, 1999, Vol. 212, pp. 54-67.

54. Rahal O.M., Nie L., Chan L.-C., Li C.-W., Hsu Y.-H., Hsu J., Yu D., Hung M.-C. Selective expression of constitutively active pro-apoptotic protein BikDD gene in primary mammary tumors inhibits tumor growth and reduces tumor initiating cells. *Am. J. Cancer Res.*, 2015, Vol. 5, pp. 3624-3634.

55. Richmond A., Su Y. Mouse xenograft models vs GEM models for human cancer therapeutics. *Dis. Model. Mech.*, 2008, Vol. 1, no. 2-3, pp. 78-82.

56. Romano R., Palamaro L., Fusco A., Iannace L., Maio S., Vigliano I., Giardino G., Pignata C. From murine to human nude/SCID: the thymus, T-cell development and the missing link. *Clin. Dev. Immunol.*, 2012, Vol. 2012, 467101. doi: 10.1155/2012/467101.

57. Roth M.D., Harui A. Human tumor infiltrating lymphocytes cooperatively regulate prostate tumor growth in a humanized mouse model. *J. Immunother. Cancer*, 2015, Vol. 3, p. 12.

58. Ruiz P., Maldonado P., Hidalgo Y., Gleisner A., Sauma D., Silva C., Saez J.J., Nuñez S., Roseblatt M., Bono M.R. Transplant tolerance: new insights and strategies for long-term allograft acceptance. *Clin. Dev. Immunol.*, 2013, Vol. 2013, 210506. doi: 10.1155/2013/210506.

59. Sanmamed M.F., Pastor F., Rodriguez A., Perez-Gracia J.L., Rodriguez-Ruiz M.E., Jure-Kunkel M., Melero I. Agonists of co-stimulation in cancer immunotherapy directed against CD137, OX40, GITR, CD27, CD28, and ICOS. *Semin. Oncol.*, 2015, Vol. 42, no. 4, pp. 640-655.

60. Saxena M., Christofori G. Rebuilding cancer metastasis in the mouse. *Mol. Oncol.*, 2013, Vol. 7, pp. 283-296.

61. Schuh J.C.L. Trials, tribulations, and trends in tumor modeling in mice. *Toxicol. Pathol.*, 2004, Vol. 32, pp. 53-66.

62. Scott C.L., Mackay H.J., Haluska P. Patient-derived xenograft models in gynecological malignancies. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book*, 2014, Vol. 3, pp. e258-e266.

63. Shultz L.D., Brehm M.A., Garcia-Martinez J.V., Greiner D.L. Humanized mice for immune system investigation: progress, promise and challenges. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, Vol. 12, pp. 786-798.

64. Shultz L.D., Goodwin N., Ishikawa F., Hosur V., Lyons B.L., Greiner D.L. Human cancer growth and therapy in NOD/SCID/IL2R γ null (NSG) mice. *Cold Spring Harb. Protoc.*, 2014, Vol. 2014, pp. 694-708.

65. Shultz L.D., Ishikawa F., Greiner D.L. Humanized mice in translational biomedical research. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007, Vol. 7, no. 2, pp. 118-130.

66. Shultz L.D., Lang P.A., Christianson S.W., Gott B., Lyons B., Umeda S., Leiter E., Hesselton R., Wagar E.J., Leif J.H., Kollet O., Lapidot T., Greiner D.L. NOD/LtSz-Rag1null mice: an immunodeficient and human

hematolymphoid cells, HIV infection, and adoptive transfer of NOD mouse diabetogenic T cells. *J. Immunol.*, 2000, Vol. 164, pp. 2496-2507.

67. Simmons J.K., Hildreth B.E., Supsavhad W., Elshafae S.M., Hassan B.B., Dirksen W.P., Toribio R.E., Rosol T.J. Animal models of bone metastasis. *Vet. Pathol.*, 2015, Vol. 52, pp. 827-841.

68. Simpson-Abelson M.R., Sonnenberg G.F., Takita H., Yokota S.J., Conway T.F. Jr., Kelleher R.J. Jr., Shultz L.D., Barcos M., Bankert R.B. Long-term engraftment and expansion of tumor-derived memory T cells following the implantation of non-disrupted pieces of human lung tumor into NOD-scid IL2Rgamma(null) mice. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 180, no. 10, pp. 7009-7018.

69. Siolas D., Hannon G.J. Patient-derived tumor xenografts: transforming clinical samples into mouse models. *Cancer Res.*, 2013, Vol. 73, no. 17, pp. 5315-5319.

70. Srinivasan R., Wolchok J.D. Tumor antigens for cancer immunotherapy: therapeutic potential of xenogeneic DNA vaccines. *J. Transl. Med.*, 2004, Vol. 2, no. 1, p. 12.

71. Stakleff K.D.S., von Gruenigen V.E. Rodent models for ovarian cancer research. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2003, Vol. 13, pp. 405-412.

72. Sun L., Li H., Luo H., Zhao Y. Thymic epithelial cell development and its dysfunction in human diseases. *Biomed Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 206929. doi:10.1155/2014/206929.

73. Szadvari I., Krizanov O., Babula P. Athymic nude mice as an experimental model for cancer treatment. *Physiol. Res.*, 2016, Vol. 65 (S. 4), pp. S441-S453.

74. Tentler J.J., Tan A.C., Weekes C.D., Jimeno A., Leong S., Pitts T.M., Arcaroli J.J., Messersmith W.A., Eckhardt S.G. Patient-derived tumour xenografts as models for oncology drug development. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2012, Vol. 9, pp. 338-350.

75. Thomas F.T., Marchman W., Carobbi A., DeMasi R., Araneda D., Patselas T., Larkin E., Pittman K., Alqaisi M., Haisch C., Thomas J.M. Immunobiology of xenografting in rodents. In Cooper D.K.C., Kemp E., Reemtsma K., White D.J.G. (eds) *Xenotransplantation*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1991, pp. 139-160.

76. Tomayko M.M., Reynolds C.P. Determination of subcutaneous tumor size in athymic (nude) mice. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1989, Vol. 24, pp. 148-154.

77. Workman P., Aboagye E.O., Balkwill F., Balmain A., Bruder G., Chaplin D.J., Double J.A., Everitt J., Farningham D.A., Glennie M.J., Kelland L.R., Robinson V., Stratford I.J., Tozer G.M., Watson S., Wedge S.R., Eccles S.A. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *Br. J. Cancer*, 2010, Vol. 102, pp. 1555-1577.

78. Xiong Y., Kotian S., Zeiger M.A., Zhang L., Kebebew E. miR-126-3p inhibits thyroid cancer cell growth and metastasis, and is associated with aggressive thyroid cancer. *PloS ONE*, 2015, Vol. 10, e0130496. doi: 10.1371/journal.pone.0130496.

Авторы:

Непомнящих Т.С. — к.б.н., старший научный сотрудник ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии „Вектор“ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека», р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Гаврилова Е.В. — к.б.н., заместитель генерального директора по научной работе ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии „Вектор“ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека», р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Максютов Р.А. — д.б.н., генеральный директор ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии „Вектор“ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека», р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Authors:

Nepomnyashchikh T.S., PhD (Biology), Senior Research Associate, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Gavrilova E.V., PhD (Biology), Deputy Director General for Research, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Maksyutov R.A., PhD, MD (Biology), General Director, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Поступила 07.09.2018
Принята к печати 19.09.2018

Received 07.09.2018
Accepted 19.09.2018