

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-2-45-52>



ИЗУЧЕНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА У ТРАНСГЕННЫХ ГУМАНИЗИРОВАННЫХ МЫШЕЙ ЛИНИИ HLA-A*02:01 НА ВВЕДЕНИЕ АНТИГЕНА — IgG ЛОШАДИ

В.Н. Каркищенко, А.Г. Берзина*, И.А. Помыткин, Е.С. Глотова, М.А. Савина,
Д.В. Петров, Л.А. Таболякова, Л.А. Болотских, И.А. Васильева

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

Введение трансгена может иметь негативное влияние на функционирование жизненно важных систем организма биомодели. Нами был проведён сравнительный анализ иммунного ответа мышей гуманизированной трансгенной линии HLA-A*02:01 и мышей, нокаутных по гену $\beta 2$ -микроглобулина мыши, полученных в НЦБМТ ФМБА России, в сравнении с мышами дикого типа в ответ на введение антигена — иммуноглобулина лошади. У животных линии HLA-A*02:01 и мышей дикого типа был получен максимальный иммунный ответ, который был достигнут на 30-й день от начала иммунизации. Титры антител у данных групп резко увеличились и стали близки — 1:8000000 и 1:4000000 соответственно — это показывает, что модификация генома у трансгенных гуманизированных мышей линии HLA-A*02:01 не повлияла на функционирование иммунной системы. У мышей, нокаутных по гену $\beta 2$ -микроглобулина мыши, подобной динамики увеличения титров антител не наблюдалось. На 7-й день титр антител в этой группе увеличился до значения 1:400 и к 30-му дню составил 1:6400. Слабый иммунный ответ у мышей с нокаутом по гену $\beta 2$ -микроглобулина мыши подтверждает неоспоримо важную роль этого белка в формировании иммунного ответа.

Ключевые слова: антитела, антиген, иммунный ответ, иммуноферментный анализ, трансгенные мыши, нокаутные мыши, HLA-A*02:01, $\beta 2$ -микроглобулин

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Каркищенко В.Н., Берзина А.Г., Помыткин И.А., Глотова Е.С., Савина М.А., Петров Д.В., Таболякова Л.А., Болотских Л.А., Васильева И.А. Изучение иммунного ответа у трансгенных гуманизированных мышей линии HLA-A*02:01 на введение антигена — IgG лошади. *Биомедицина*. 2024;20(2):45–52. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-2-45-52>

Поступила 01.04.2024

Принята после доработки 21.05.2024

Опубликована 10.06.2024

IMMUNE RESPONSE IN HLA-A*02:01 TRANSGENIC HUMANIZED MICE TO THE INTRODUCTION OF HORSE IgG ANTIGEN

Vladislav N. Karkischenko, Asya G. Berzina*, Igor A. Pomytkin, Elena S. Glotova,
Maria A. Savina, Dmitry V. Petrov, Lidiya A. Taboyakova,
Lubov' A. Bolotskih, Irina A. Vasil'eva

Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

The introduction of a transgene can impact negatively the functioning of vital systems in biomodels. We carried out a comparative analysis of the immune response of mice of the HLA-A*02:01 humanized transgenic line, mice with mouse β 2-microglobulin gene knockout, and wild-type mice to the introduction of horse immunoglobulin as an antigen. The biomodel lines were created at the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia. The maximum immune response was achieved on the 30th day from the onset of immunization in animals of the HLA-A*02:01 line and wild-type mice. Antibody titers in these groups increased sharply and approached 1:8,000,000 and 1:4,000,000, respectively. This indicates that genome modification in HLA-A*02:01 transgenic humanized mice did not affect functioning of the immune system. No similar dynamics of the increase in antibody titers was observed in the mice line with mouse β 2-microglobulin gene knockout. On the 7th and 30th day, the antibody titer in this group increased to a value of 1:400 and 1:6,400, respectively. The weak immune response in mice with mouse β 2-microglobulin gene knockout confirms the undeniably important role of this protein in immune response formation.

Keywords: antibodies, antigen, immune response, enzyme-linked immunosorbent assay, transgenic mice, knockout mice, HLA-A*02:01, β 2-microglobulin

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Karkischenko V.N., Berzina A.G., Pomytkin I.A., Glotova E.S., Savina M.A., Petrov D.V., Taboyakova L.A., Bolotskih L.A., Vasil'eva I.A. Immune Response in HLA-A*02:01 Transgenic Humanized Mice to the Introduction of Horse IgG Antigen. *Journal Biomed.* 2024;20(2):45–52. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-2-45-52>

Submitted 01.04.2024

Revised 21.05.2024

Published 10.06.2024

Введение

Реактивность иммунной системы экспериментальных животных, используемых при разработке новых лекарственных препаратов, играет важную роль в выборе адекватной биомодели и планировании доклинических исследований, интерпретации полученных результатов, а также понимании механизмов биологического ответа до начала клинических испытаний.

В настоящее время в медицинской практике широко используются моноклональные антитела (МКАТ) для лечения различных заболеваний и патологических состояний человека. Однако подобная иммунотерапия может приводить к опасным осложнениям, т.к. иммунная система человека способна вырабатывать антитела против таких терапевтических препаратов, а предсказать теоретически их влияние на эффективность препарата и побочные эффекты таких антилекарственных антител очень трудно. Проведение доклинических

испытаний *in vivo* позволяет прогнозировать вероятность появления осложнений, однако такие исследования осложняются тем, что у животных дикого типа любой человеческий белок вызывает иммунную реакцию, что приводит нас к необходимости тщательного подбора адекватной и релевантной биомодели.

На сегодня питомники предлагают большой выбор экспериментальных животных для различных исследований. Развитие технологий направленного активного редактирования генома позволило исследователям создавать уникальные биомодели, наиболее точно отражающие патологические состояния. Переход от выбора среди существующих к возможности создания биомодели под конкретный эксперимент позволяет наиболее детально исследовать поставленный вопрос.

Повсеместное применение трансгенных и/или нокаутных животных породило лавину научных и прикладных сведений,

которые ранее невозможно было получить при использовании стандартных подходов. Создание биомodelей, отражающих этнические, географические особенности различных групп населения, позволяет минимизировать возможные побочные эффекты терапии, делая её более безопасной и эффективной, что является важным этапом на пути к персонализированной медицине будущего.

В НЦБМТ ФМБА России был создан ряд биомodelей [1–4], отражающих биохимические и популяционные аспекты населения. В частности, нами была создана линия гуманизированных трансгенных мышей, несущих ген *HLA-A*02:01* [4]. Данная биомodelь отражает особенности иммунного ответа, ассоциированного с аллелью главного комплекса гистосовместимости (МНС) человека I класса HLA-A*02:01. Такие животные могут быть использованы в различных исследованиях как фундаментальной, так и научно-прикладной направленности, например тестировании вакцин нового поколения, фармакобезопасности и иммуногенности лекарственных препаратов, исследованиях в области онкологии и трансплантологии и многих других.

Использование трансгенных гуманизированных животных, которые экспрессируют человеческие молекулы МНС I класса, позволяет проводить тестирование препаратов в условиях, наиболее приближенных к реальным, т.к. предполагается, что иммунный ответ у таких гуманизированных животных должен быть аналогичен таковому у человека. В свою очередь, исследователи и разработчики трансгенных животных должны быть уверены, что встраиваемые гены работают корректно и не наносят вреда иммунной системе экспериментальных животных, а эффекторные иммунные клетки таких генно-модифицированных особей способны взаимодействовать с модифицированным рецептором МНС I класса и формировать адекватный иммунный ответ.

Целью настоящей **работы** стало изучение иммунного ответа у гуманизированных трансгенных мышей, несущих ген *HLA-A*02:01*, по сравнению с особями дикого типа и мышами с нокаутом гена $\beta 2$ -микроглобулина, в ответ на иммунизацию коммерческим препаратом иммуноглобулина лошади.

Для оценки уровня антител к различным антигенам как у человека, так и у животных широко используются иммунохимические методы, в частности, иммуноферментный анализ (ИФА) широко применяется в медицинской практике для выявления различных антител. Непрямой вариант ИФА позволяет с высокой точностью определить титр антител в сыворотках крови испытуемых. Полученные показатели позволяют получить представление о реактивности иммунной системы организма, что играет важную роль в понимании механизмов и прогнозировании развития иммунного ответа.

Материалы и методы

Экспериментальные животные

В работе использовались следующие линии мышей: гуманизированной трансгенной линии с интегрированным геном *HLA-A*02:01*, представляющей аллель человеческого МНС I класса HLA A-, линии, нокаутной по гену $\beta 2$ -микроглобулина мыши ($\beta 2m$ mus ko), полученные в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России [4], а также гибриды F1 CBA/lac \times C57BL/6, полученные из филиала «Столбовая», которые являются генетическим фоном для анализируемых в данной работе трансгенной и нокаутной линий (для удобства чтения в тексте обозначены как WT или F1). Для получения F2 и следующих поколений плеядра формировали из подтверждённых особей предыдущего поколения по технологии инбредного скрещивания. Животные соответствовали категории улучшенных конвенциональных. Группы формировались методом пар-аналогов, по 6 особей в группе.

Сформированные группы содержались в системе индивидуальных вентилируемых клеток при световом режиме 12/12 со свободным доступом к корму и воде, по 2 особи в клетке. Условия содержания соответствовали стандартным зоотехническим нормам, применяемым для лабораторных мышей.

Схема эксперимента

Исследование по определению иммунного ответа на вводимый антиген — коммерческий препарат γ -глобулина лошади (IgG horse, “Sigma-Aldrich”, США) проводили на 18 взрослых мышах в возрасте 2 мес., разделённых на 3 группы ($n=6$): I группа — трансгенные мыши линии HLA-A*02:01, II группа — мыши линии, нокаутной по гену $\beta 2$ -микроглобулина мыши ($\beta 2m$ mus ko), III группа — F1 (CBA/lac \times C57BL/6, WT). Всем животным вводили антиген в дозе 25 мкг/мышь по схеме, которая включала две подкожные инъекции с интервалом 14 дней. Антиген вводили в одну точку в объёме 0,1 мл. Препарат для иммунизации с концентрацией 0,25 мг IgG horse готовили на физ. р-ре в смеси 1:1 с полным адъювантом Фрейнда (“Sigma-Aldrich”, США). Полный адъювант Фрейнда (ПАФ) использовали только при первой инъекции, далее вводили антиген в той же концентрации в физ. р-ре без адъюванта. Заборы крови у мышей осуществляли прижизненно стеклянным капилляром по 0,2 мл из ретроорбитального сплетения на 7, 14, 21 и 30-й день от начала иммунизации.

Биоматериал для анализа

Для анализа иммунного ответа использовали сыворотку крови. Кровь брали в пробирки с активатором свёртывания, затем выдерживали 30 мин при комнатной температуре. Образцы сыворотки крови мышей получали путем центрифугирования крови при 3000 об./мин в течение 15 мин. Хранение осуществляли при -20°C .

Непрямой иммуноферментный анализ

Анализ индивидуальных сывороток крови мышей на наличие специфических антител к иммуноглобулину лошади проводили с помощью непрямого метода ИФА по стандартной методике [8]. Адсорбцию антигена ($c=5$ мкг/мл) в лунках полистирольных 96-луночных планшетов (“Dynatech”, Швейцария) проводили в 0,05 М Na-карбонатном буфере ($\text{pH}=9,5$) при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение ночи. Для блокировки неспецифической реакции в буфер (PBST) добавляли 0,3% бычьего сывороточного альбумина (БСА). После стадии отмывки в лунки планшетов вносили сыворотки крови испытуемых мышей, используя двукратные разведения в буфере PBST. Инкубацию проводили в течение 1 ч при 37°C . Для выявления реакции антиген-антитело использовали иммунопероксидазный антивидовой конъюгат Anti-Mouse IgG+Ph (“Sigma-Aldrich”, США) в разведении 1:4000. Инкубацию проводили при $+37^{\circ}\text{C}$ 45 мин. В качестве субстрата пероксидазы использовали р-р тетраметилбензидина (ТМБ, ООО «Абисенс», Россия). Оптическую плотность окрашенного продукта ферментативной реакции измеряли на планшетном мультимодальном ридере Feyond-A400 (“Allsheng”, Китай) при длине волны 450 нм. За величину титра принимали максимальное разведение сыворотки крови мышей, при котором оптическая плотность (OP_{450}) окрашенного продукта ферментативной реакции превышала значения в контроле в 3 раза. Отрицательным контролем в реакции ИФА служила сыворотка крови неиммунной мыши.

Обработка данных

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism.

Результаты и их обсуждение

В настоящей работе было проведено сравнение гуморального иммунного ответа

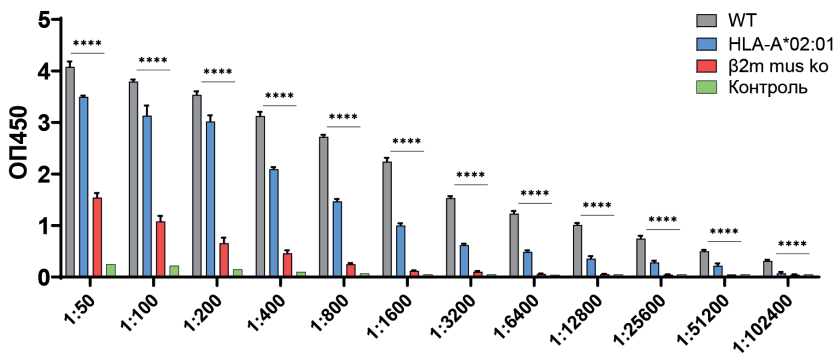


Рис. Сравнение гуморального иммунного ответа на вводимый антиген у экспериментальных групп на 7-й день после начала иммунизации. Среднее ± стандартное отклонение (n=6). **** — $p<0,0001$ (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, множественные сравнения Тьюки).

Примечание: на оси абсцисс показаны разведения сыворотки крови.

Fig. Comparison of the humoral immune response to the administered antigen in the experimental groups on the 7th day after the onset of immunization. Mean ± standard deviation (n=6). **** — $p<0.0001$ (two-way ANOVA, Tukey's multiple comparisons).

Note: the x-axis shows blood serum dilutions.

у трансгенных мышей линии HLA-A*02:01 по показателям титров специфических антител к вводимому антигену — иммуноглобулину лошади, с аналогичным ответом у мышей WT и мышей, нокаутных по гену β2-микроглобулина мыши (β2m mus ko). Было выявлено, что развитие иммунной реакции на гетероантиген у групп HLA-A*02:01 и WT в значительной мере совпадает. На рисунке представлены результаты тестирования сывороток крови экспериментальных мышей непрямым методом ИФА на 7-й день от начала иммунизации.

Титры антител в группах трансгенных мышей и мышей WT различались в 4 раза: 1:25600 и 1:102400 соответственно. Как видно из рисунка, у мышей, нокаут-

ных по гену β2-микроглобулина мыши (β2m mus ko), выработка антител была резко снижена, титр антител составил 1:400, что свидетельствует о нарушениях в работе клеток, ответственных за синтез иммуноглобулинов, и подчеркивает важность белка β2-микроглобулина в развитии иммунного ответа.

Увеличение нагрузки на иммунную систему путем дополнительных инъекций антигена оказалось эффективным приемом и позволило оценить динамику функциональной активности иммунокомпетентных клеток. В таблице представлены результаты изучения динамики иммунного ответа мышей 3-х экспериментальных групп по результатам определения титров специфиче-

Таблица. Продукция специфических антител к IgG лошади у мышей экспериментальных групп на 7-й, 14-й, 21-й и 30-й день от начала иммунизации

Table. Production of specific antibodies to horse IgG in mice of experimental groups on the 7th, 14th, 21th, and 30th day from the onset of immunization

Группа	Титр антител			
	7-й день	14-й день	21-й день	30-й день
HLA-A*02:01	1:25600	1:51200	1:819200	1:8000000
β2m mus ko	1:400	1:800	1:3200	1:6400
WT	1:102400	1:204800	1:409600	1:4000000

ских антител к иммуноглобулину лошади в сыворотках крови на 7, 14, 21 и 30-й день от начала иммунизации методом непрямого ИФА.

Максимальные показатели иммунного ответа у животных групп HLA-A*02:01 и WT были достигнуты на 30-й день от начала иммунизации. При этом титры антител в данных группах стали близки по значениям — 1:8000000 и 1:4000000 соответственно. Развитие иммунного ответа у нокаутных мышей шло медленными темпами от 1:400 до 1:6400 к 30-му дню от начала иммунизации. Следует отметить, что наличие высоких титров антител к IgG лошади в сыворотках крови трансгенных мышей линии HLA-A*02:01 никоим образом не повлияло на их физиологическое состояние и поведение. Морфология органов иммунной системы (селезенки и лимфоузлов) не имела патологических изменений по окончании эксперимента.

Полученные нами результаты согласуются с литературными данными по изучению иммунного ответа у трансгенных животных. Так, в литературе имеются данные об изучении иммунного ответа к различным антигенам у трансгенных животных — мышей [5, 7] и мини-пигов [6]. Авторами работы [6] было показано, что у гуманизированных мини-пигов иммунный ответ не нарушался при выработке антител к рекомбинантным терапевтическим антителам, используемым в медицинской практике. Авторы проверили, как наличие трансгена повлияло на иммунную систему: мини-пиги не страдали от повышенной инфекционной нагрузки, морфология селезенки, костного мозга и лимфоузлов осталась прежней. Реакция на модельный антиген — гемоцианин улитки — оказалась нормальной.

В наших исследованиях модельным антигеном был выбран иммуноглобулин лошади, поскольку в медицинской практике широкое применение нашли вакцинные препараты — антирабический и антимоцитарный лошадиный иммуноглобулин. Реакция трансгенных мышей линии HLA-A*02:01 на иммунизацию иммуноглобулином лошади оказалась нормальной, что свидетельствует о возможности применения данной линии для выполнения исследований широкого профиля, в т.ч. в области фармакобезопасности, онкологии и при тестировании вакцин и лекарственных препаратов.

Выводы

Таким образом, на основании проделанной работы можно сделать следующие выводы:

1. Мыши трансгенной гуманизированной линии HLA-A*02:01 в экспериментах по иммунизации препаратом IgG лошади показали способность синтезировать специфические IgG-антитела в высоких титрах (1:8000000).
2. В группе WT иммунный ответ был несколько ниже, титр антител к вводимому антигену составил 1:4000000.
3. Иммунизация мышей, нокаутных по гену $\beta 2$ -микроглобулина мыши, приводила к низкому уровню титра специфических IgG-антител (1:6400) на 30-й день от начала иммунизации.
4. Количественная оценка гуморального звена иммунитета по величине титра образующихся специфических антител к IgG лошади после иммунизации мышей позволяет сделать вывод о том, что модификация генома у трансгенных гуманизированных мышей линии HLA-A*02:01 не повлияла на функционирование иммунной системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каркищенко В.Н., Болотских Л.А., Капанадзе Г.Д., Каркищенко Н.Н., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Матвеев Е.Л., Петрова Н.В., Рябых В.П., Ревякин А.О., Станкова Н.В., Семёнов Х.Х. Создание линий трансгенных животных-моделей с генами человека *NAT1* и *NAT2*. *Биомедицина*. 2016;1:74–84. [Karkischenko V.N., Bolotskih L.A., Kapanadze G.D., Karkischenko N.N., Koloskova E.M., Maksimenko S.V., Matveyenko E.L., Petrova N.V., Ryabiyh V.P., Revyakin A.O., Stankova N.V., Semenov N.N. Sozdanie liniy transgennykh zhivotnykh-modelej s genami cheloveka *NAT1* i *NAT2* [Creation of lines of transgenic animal models with human *NAT1* and *NAT2* genes]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2016;1:74–84. (In Russian)].
2. Каркищенко В.Н., Рябых В.П., Болотских Л.А., Семенов Х.Х., Капанадзе Г.Д., Петрова Н.В., Езерский В.А., Жукова О.Б., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Столярова В.Н., Трубицина Т.П. Физиолого-эмбриологические аспекты создания трансгенных мышей с интегрированными генами *NAT1* и *NAT2* человека. *Биомедицина*. 2016;1:52–65. [Karkischenko V.N., Ryabiyh V.P., Bolotskih L.A., Semenov N.N., Kapanadze G.D., Petrova N.V., Ezerskiy V.A., Zhukova O.B., Koloskova E.M., Maksimenko S.V., Stolyarova V.N., Trubicina T.P. Fiziologo-embriologicheskie aspekty sozdaniya transgennykh myshey s integrirovannymi genami *NAT1* i *NAT2* cheloveka [Physiological and Embryological Aspects of Creation of Transgenic Mice with Integrated Human *NAT1* and *NAT2* Genes]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2016;1:52–65. (In Russian)].
3. Каркищенко Н.Н., Лазарев В.Н., Манувера В.А., Бобровский П.А., Петрова Н.В., Колоскова Е.М., Глотова Е.С. Принципы создания генно-инженерной конструкции для получения гуманизированных трансгенных мышей, несущих ген *HLA-C*07:02:01:01*, как прообраз инновационных трансгенно-нокаутных биомоделей. *Биомедицина*. 2024;20(1):8–20. [Karkischenko N.N., Lazarev V.N., Manuvera V.A., Bobrovsky P.A., Petrova N.V., Koloskova E.M., Glotova E.S. Principy sozdaniya genno-inzhenernoj konstrukcii dlya polucheniya humanizirovannykh transgennykh myshey, nesushchikh gen *HLA-C*07:02:01:01*, kak proobraz innovatsionnykh transgenno-nokautnykh biomodelej [Principles of Creation of a Genetic Engineering Construction for Obtaining Humanized Transgenic Mice with *HLA-C*07:02:01:01*, as a Promote of Innovative Transgenic and Knockout Biomodels]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2024;20(1):8–20. (In Russian)].
4. Савченко Е.С., Огнева Н.С., Каркищенко Н.Н. Эмбриологические аспекты создания новой гуманизированной трансгенной линии мышей с интегрированным геном человека *HLA A*02:01:01:01*. *Биомедицина*. 2022;18(4):10–23. [Savchenko E.S., Ogneva N.S., Karkischenko N.N. Embriologicheskie aspekty sozdaniya novoy humanizirovannoy transgennoj linii myshey s integrirovannym genom cheloveka *HLA-A*02:01:01:01* [Embryological Aspects of Creation a New Humanized Transgenic Mice with Integrated human *HLA-A*02:01:01:01* gene]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2022;18(4):10–23. (In Russian)].
5. Chuprin J., Buettner H., Seedhom M.O., et al. Humanized mouse models for immuno-oncology research. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2023;20(3):192–206. DOI: 10.1038/s41571-022-00721-2.
6. Flisikowska T., Egli J., Flisikowski K., et al. A humanized minipig model for the toxicological testing of therapeutic recombinant antibodies. *Nat. Biomed. Eng.* 2022;6(11):1248–1256. DOI: 10.1038/s41551-022-00921-2.
7. Scardino A., Correale P., Firat H., et al. In vivo study of the GC90/IRIV vaccine for immune response and autoimmunity into a novel humanised transgenic mouse. *Br. J. Cancer.* 2003;89(1):199–205. DOI: 10.1038/sj.bjc.6601028.
8. Wright P.F. International standards for test methods and reference sera for diagnostic tests for antibody detection. *Rev. Sci. Tech.* 1998;17(2):527–549. DOI: 10.20506/rst.17.2.1118.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Каркищенко Владислав Николаевич, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Vladislav N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Берзина Ася Григорьевна*, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: berzina07@mail.ru

Asya G. Berzina*, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: berzina07@mail.ru

Помыткин Игорь Анатольевич, к.х.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ipomytkin@mail.ru

Глотова Елена Сергеевна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: savelaine@gmail.com

Савина Мария Анатольевна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: graff22@mail.ru

Петров Дмитрий Валерьевич, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: 1941-65@mail.ru

Табоякова Лидия Александровна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: lida-vet@mail.ru

Болотских Любовь Александровна, к.с.х.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: lyuba.bolotskikh@mail.ru

Васильева Ирина Андреевна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: rozhtul@mail.ru

Igor A. Pomytkin, Cand. Sci. (Chem.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ipomytkin@mail.ru

Elena S. Glotova, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: savelaine@gmail.com

Maria A. Savina, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: graff22@mail.ru

Dmitry V. Petrov, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: 1941-65@mail.ru

Lidiya A. Taboyakova, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: lida-vet@mail.ru

Lubov' A. Bolotskih, Cand. Sci. (Agric.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: lyuba.bolotskikh@mail.ru

Irina A. Vasil'eva, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: rozhtul@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author