

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМ НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ВИРУСОВ КАРТОФЕЛЯ X И M

DEVELOPMENT OF MONOCLONAL ANTIBODIES — BASED TEST SYSTEMS FOR DETECTION OF POTATO VIRUSES X AND M

Замятина А.В.^{1,2}, Руденко Н.В.^{1,2}, Каратовская А.П.²,
Архипенко М.В.³, Фурсова К.К.², Бровко Ф.А.^{1,2}

¹ Пушчинский государственный естественно-научный институт,
142290, г. Пушкино, проспект Науки, д. 3

² Филиал ФГБУН ИБХ им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, 142290, г. Пушкино, проспект Науки, д. 6

³ Биологический факультет Московского государственного
университета им. М.В. Ломоносова, 119234, Москва,
Ленинские горы, 1, стр. 12
E-mail: nrudkova@mail.ru

Zamyatina A.V.^{1,2}, Rudenko N.V.^{1,2}, Karatovskaya A.P.²,
Archipenko M.V.³, Fursova K.K.², Brovko F.A.^{1,2}

¹ Pushchino State Institute of Natural Sciences

³ Prospekt Nauki, Pushchino, Moscow Region, 142290, Russia

² Pushchino Branch, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic
Chemistry

⁶ Prospekt Nauki, Pushchino, Moscow Region 142290, Russia

³ Biological faculty of Lomonosov Moscow State University
1 Lenin Hills, Moscow 119234, Russia

Вирусные заболевания наносят серьезный вред картофелеводству, значительно снижая урожайность культуры. Инфицирование растения одним вирусом приводит к потере урожая примерно на 30%, а одновременное влияние двух или более вирусов может привести к практически полной потере урожайности или даже гибели растений. Несомненной проблемой является понижение иммунитета инфицированных растений и их повышенная склонность к поражению грибковыми и микробными патогенами. В связи с этим контроль инфицированности семенного материала имеет важное значение. Представленная работа является частью исследования посвященного разработке мультипараметрической системы определения вирусов картофеля. Получены представительные панели моноклональных антител, узнающих вирусы картофеля X и M. Показана возможность использования моноклональных антител для выявления вирусных частиц иммуноблоттингом. На основе полученных антител разработаны тест-системы для количественного определения вирусов картофеля X и M с линейным диапазоном измерения ВКХ 0,4 — 50 нг/мл и ВКМ 6 — 400 нг/мл.

Ключевые слова: вирусы картофеля, сэндвич — иммуноферментный анализ, моноклональные антитела.

Для цитирования: Замятина А.В., Руденко Н.В., Каратовская А.П., Архипенко М.В., Фурсова К.К., Бровко Ф.А. РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМ НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ВИРУСОВ КАРТОФЕЛЯ X И M. *Аграрная наука.* 2019;(3):64–68.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-3-64-68>

Введение

Вирусные болезни наносят существенный ущерб картофелеводству, оказывая негативное влияние на развитие растений, снижая урожайность и качество клубней, используемых для вегетативного размножения. Возбудители болезней картофеля переходят в дочерние клубни от зараженного растения. Соответственно, доля зараженных вирусами растений увеличивается по мере размножения посевного материала. Вирусы вызывают ряд общих симптомов на наземной части пораженного растения: общее угнетение, морщинистость, скручивание и пятнистость листьев. В качестве примера на рисунке 1 показаны листья картофеля, пораженного вирусом M. В настоящее время известно около 50 видов вирусов, идентифицированных на картофеле, часть из которых, либо не вызывают серьезных проблем, либо имеют очень узкий ареал распространения. К числу наиболее опасных относятся вирусы: вирус скручиваемости листьев картофеля, вирусы картофеля Y, A, X, S и M. В России согласно ГОСТ Р 53136–2008 семенной материал высоких репродукций должен быть свободен

Viral diseases cause serious damage to the potato, significantly reducing crop yields. Infection of a plant with a single virus leads to a yield loss of approximately 30%, and the simultaneous influence of two or more viruses can lead to almost complete loss of yield or even death of plants. The undoubted problem is a decrease in the immunity of infected plants and their increased tendency to infect fungal and microbial pathogens. In this regard, the control of infection of seed material is important. The presented work is part of a study on the development of a multiparameter potato virus detection system. Representative panels of monoclonal antibodies that recognize potato viruses X and M have been obtained. The possibility of using monoclonal antibodies to detect virus particles by immunoblotting has been shown. On the basis of the obtained antibodies, test systems were developed for the quantitative determination of potato viruses X and M with a linear range of PVX measurement of 0.4 – 50 ng / ml and PVM 6 – 400 ng / ml.

Key words: potato viruses, sandwich ELISA, monoclonal antibodies.

For citation: Zamyatina A.V., Rudenko N.V., Karatovskaya A.P., Archipenko M.V., Fursova K.K., Brovko F.A. DEVELOPMENT OF MONOCLONAL ANTIBODIES — BASED TEST SYSTEMS FOR DETECTION OF POTATO VIRUSES X AND M. *Agrarian science.* 2019;(3):64–68. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-3-64-68>

от 5 вирусов: Y-, X-, S-, M-вирусов картофеля и вируса скручиваемости листьев картофеля [1].

Данная работа посвящена выявлению вирусов картофеля X и M. Вирусные частицы представляют собой гибкие нити со спиральной симметрией, длина которых для вируса картофеля X составляет 515 нм, для M — 610–700 нм, диаметр нитей равен 12–15 нм. Геном этих вирусов представлен одноцепочечной полиаденилированной РНК положительной полярности длиной около 6.5 тыс. и около 8.5 тыс. нуклеотидов, соответственно. ВКХ является представителем рода Potexvirus семейства Alfaflexiviridae, ВКМ — рода Carlavirus семейства Betaflexiviridae [2, 3, 4, 5, 6]. ВКХ и ВКМ встречаются повсеместно и являются одними из самых распространенных вирусов картофеля. В некоторых местах зараженность картофеля достигает 100 %. Инфицирование этими вирусами приводит к потерям урожая от 15 до 45 %. Заражение происходит при механической обработке картофеля на полях и с помощью тлей. Степень развития симптомов зависит от сорта картофеля, штамма вируса, стадии роста растения и условий окружающей

Рис. 1. Листья картофеля, инфицированного ВКМ



среды. Инфицированные растения отличаются укороченными побегами, искривленными скрученными листьями и мозаичной окраской.

Профилактика и борьба с вирусными заболеваниями сводится к использованию здорового посадочного материала. Совершенствование схемы контроля патогенов, в том числе и вирусов, в процессе оригинального семеноводства картофеля предполагает значительное увеличение объемов лабораторного тестирования. Поэтому к лабораторным методам для рутинных анализов предъявляются серьезные требования: высокая чувствительность, специфичность, воспроизводимость, возможность автоматизации, объективного документирования, а также время и себестоимость проведения анализа. Сегодня контроль над появлением и распространением вирусов и анализ качества семенного материала картофеля проводится лабораторными молекулярными методами: иммуноферментным анализом (ИФА) и полимеразной цепной реакцией (ПЦР). К сожалению, в России сегодня пока нет широкомасштабного тестирования посадочного материала, за исключением некоторых компаний, которые как правило используют тест-системы западных компаний, таких как: «Agritest» (Италия) [7], «Agdia» (США) [8], «BIOREBA AG» (Швейцария) [9], «Durviz» (Испания) [10], «LOEWE» (Германия) [11] и «Plant-Print Diagnostics» (Испания) [12].

В большинстве диагностических лабораторий для контроля вирусной инфицированности посевного материала используется иммуноферментный анализ. Данная работа является частью исследования, посвященного разработке отечественной конкурентно способной мультипараметрической тест-системы для выявления вирусов картофеля. Основной системы, разрабатываемой нами, являются моноклональные антитела, как высокоточные, обладающие уникальной специфичностью, воспроизводимые в препаративных количествах, инструменты детекции аналитов.

Целью представленной работы была разработка тест-систем в формате сэндвич-иммуноферментного анализа на основе моноклональных антител для детекции вирусов картофеля X и M.

Для решения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Получить неперекрестные моноклональные антитела против вирусов картофеля X и M.
2. Разработать на основе полученных антител тест-системы в формате сэндвич — ИФА для количественного определения вирусов картофеля X и M.
3. Апробировать разработанные методы определения количественного содержания вирусов картофеля X и M.

Результаты

Для получения гибридом, секретирующих моноклональные антитела к вирусам картофеля X и M, в качестве антигенов для иммунизации использовали препараты нативных вирусов, очищенных из листьев инфицированных растений.

Иммунизацию 7–8 недельных мышей линии BALB/c проводили подкожно в подушечки задних лап, индуцируя развитие иммунного ответа в подколенных лимфоузлах, с использованием полного и неполного адъювантов Фрейнда. Схема иммунизации предполагала развитие иммунного ответа, направленного на поверхностные эпитопы исследуемых вирусов. Антигены вводили в количестве 15 мкг в ходе одной инъекции в расчете на одно животное. После иммунизации степень развития иммунного ответа оценивали иммуноферментным анализом, в ходе которого проводили взаимодействие сыворотки иммунного животного с иммобилизованными на планшеты для ИФА вирусами. Сыворотки животных, иммунизированных ВКХ, взаимодействовали с иммобилизованным на планшеты для ИФА вирусом вплоть до разведения 1/512 000 (титр). Относительное содержание антител в сыворотках крови (титры) после иммунизации ВКМ составило 1/64 000. Сорбцию антигенов в обоих случаях проводили из концентрации 1 мкг/мл. Высокие титры свидетельствовали о формировании достаточного пула плазматических клеток для получения гибридомных клеточных линий, стабильно продуцирующих моноклональные антитела, как *in vitro*, так и *in vivo*. Для получения гибридом использовали лимфоциты из заметно увеличенных подколенных лимфоузлов и клетки миеломной линии SP2/0, которые гибридизовали по методу Келлера и Мильштейна с помощью полиэтиленгликоля [13]. В качестве источника лимфоцитов использовали животное, сыворотка которого демонстрировала максимальную антиген связывающую активность по сравнению с другими особями экспериментальной группы — 1/512 000 для ВКХ и 1/64 000 для ВКМ. Гибридные клоны выращивали в среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), содержащей НАТ (0.1 mM гипоксантин, 0.4 μM аминоптерин, 16 μM тимидин) и 20% эмбриональной телячьей сыворотки. Отбор гибридом, секретирующих специфичные антитела, проводили непрямым ИФА по взаимодействию с иммобилизованными соответствующими вирусами. В ходе культивирования оценивали морфологию растущих гибридных клеток, их пролиферативную активность, синтез специфических антител и способность его сохранения на постоянном уровне. В результате были отобраны гибридомы, которые были дважды клонированы методом лимитирующих разведений: 26 гибридом, секретирующих моноклональные антитела против вируса X, и 27 гибри-

дом, секретирующих моноклональные антитела против вируса М. Стабильные гибридные клоны были отобраны по результатам оценки пролиферативной активности и стабильности продукции антител. Эти клоны были использованы для разработки моноклональных антител *in vitro* в культуральной жидкости.

Для характеристики моноклональных антител провели их изотипирование в среде культивирования гибридных клонов. Результаты представлены в таблице 1 для антител к ВКМ и таблице 2 для антител к ВКХ. Большинство полученных моноклональных антител относились к иммуноглобулинам класса G, за исключением ВКМ-20, ВКМ-25, ВКМ-26, ВКХ-26 и ВКХ-39, которые относились к классу иммуноглобулинов М. Большинство гибридом продуцируют антитела, относящиеся к подклассу IgG 2a с типом легкой цепи к.

Моноклональные антитела класса G были очищены аффинной хроматографией на белок А-агарозе в модификации Моула и Лейна [14].

Содержание иммуноглобулинов в препаратах, оцененное с помощью электрофореза, составляло не менее 95%. Функциональную активность полученных препаратов моноклональных антител оценивали непрямым ИФА по взаимодействию с иммобилизованными вирусами. Все очищенные препараты антител эффективно взаимодействовали с вирусными препаратами.

Методом иммуноблоттинга была проверена способность антител взаимодействовать с денатурированными вирусными препаратами (рис. 2).

Эффективно взаимодействовали с денатурированными препаратами вирусов моноклональные антитела ВКХ 1, ВКХ 2, ВКХ 3, ВКХ 18, ВКХ 29, в случае ВКМ практически все моноклональные антитела взаимодействовали с денатурированным препаратом, за исключением, ВКМ 11, ВКМ 5, ВКМ 33, ВКМ 36, ВКМ 37. Эти антитела пригодны для анализа экстрактов из клубней картофеля методом иммуноблоттинга на предмет наличия в них вирусов картофеля.

Была проверена перекрестная реактивность антител по отношению к вирусам. Методами иммуноферментного анализа и иммуноблоттинга показано, что антитела против вируса Х не взаимодействуют с вирусом М, антитела к вирусу М не взаимодействуют с вирусом Х.

Полученные моноклональные антитела использовали для разработки тест-систем количественно выявляющих вирусы картофеля Х и М в формате твердофазного сэндвич иммуноферментного анализа как описано ранее [15]. Из полученных антител подбирали такие парные сочетания, которые взаимодействуют с вирусной частицей одновременно, не препятствуя друг другу.

Таблица 1.

Изотипирование моноклональных антител против ВКМ

№ п/п	Название клона	Тип тяжелой и легкой цепи	№ п/п	Название клона	Тип тяжелой и легкой цепи
1	ВКМ 1	IgG 2a κ	15	ВКМ 24	IgG 2a κ
2	ВКМ 2	IgG 2a κ	16	ВКМ 25	IgM λ
3	ВКМ 3	IgG 2a κ	17	ВКМ 26	IgM λ
4	ВКМ 5	IgG 2b κ	18	ВКМ 27	IgG 2b κ
5	ВКМ 6	IgG 2a κ	19	ВКМ 28	IgG 2b κ
6	ВКМ 7	IgG 2a κ	20	ВКМ 30	IgG 2a κ
7	ВКМ 8	IgG 2a κ	21	ВКМ 31	IgG 2a κ
8	ВКМ 9	IgG 2a κ	22	ВКМ 32	IgG 2a κ
9	ВКМ 12	IgG 2a κ	23	ВКМ 33	IgG 2b κ
10	ВКМ 13	IgG 2b κ	24	ВКМ 34	IgG 2a κ
11	ВКМ 15	IgG 2a κ	25	ВКМ 35	IgG 2b κ
12	ВКМ 19	IgG 2b κ	26	ВКМ 36	IgG 2a κ
13	ВКМ 21	IgM λ	27	ВКМ 37	IgG 2b κ
14	ВКМ 22	IgG 2a κ			

Таблица 2.

Изотипирование моноклональных антител против ВКХ

№ п/п	Название клона	Тип тяжелой и легкой цепи	№ п/п	Название клона	Тип тяжелой и легкой цепи
1	ВКХ 1	IgG 2b κ	14	ВКХ 17	IgG 2a κ
2	ВКХ 2	IgG 2a κ	15	ВКХ 18	IgG 2a κ
3	ВКХ 3	IgG 2a κ	16	ВКХ 20	IgG 2b κ
4	ВКХ 4	IgG 2a κ	17	ВКХ 22	IgG 2a κ
5	ВКХ 7	IgG 2a κ	18	ВКХ 26	IgM λ
6	ВКХ 8	IgG 2a κ	19	ВКХ 27	IgG 2a κ
7	ВКХ 9	IgG 2a κ	20	ВКХ 28	IgG 1 κ
8	ВКХ 10	IgG 2a κ	21	ВКХ 29	IgG 2a κ
9	ВКХ 11	IgG 2a κ	22	ВКХ 30	IgG 2a κ
10	ВКХ 12	IgG 2b κ	23	ВКХ 33	IgG 2b κ
11	ВКХ 13	IgG 2a κ	24	ВКХ 34	IgG 2a κ
12	ВКХ 14	IgG 2a κ	25	ВКХ 35	IgG 2a κ
13	ВКХ 15	IgG 2a κ	26	ВКХ 39	IgM λ

Такие пары антител должны при этом демонстрировать невысокие фоновые значения, т.е. должны быть приемлемы для использования в формате твердофазного сэндвич иммуноферментного анализа. С целью выявления детектирующих пар моноклональных антител для выявления вирусов были проверены все их возможные сочетания друг с другом. При этом каждое из них было использовано как в качестве антитела «захвата» (нижнего), так и в качестве антитела детекции (верхнего). В моноклональные антитела была введена биотиновая метка с использованием N-гидроксисукцинимидного эфира биотина, биотинилированные антитела использовались в качестве детектирующих (далее обозначаются как bio). Использование биотиновой метки позволило не только идентифицировать сигнал с помощью стрептавидина, меченного пероксидазой хрена, но и значитель-

Рис. 2. Взаимодействие моноклональных антител с ВКХ в иммуноблотте, над треками указаны названия моноклональных антител

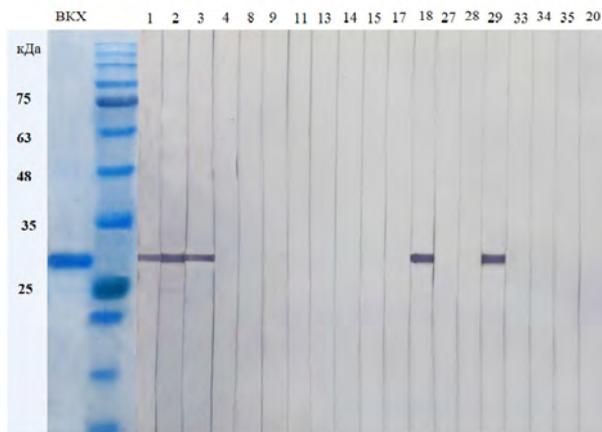
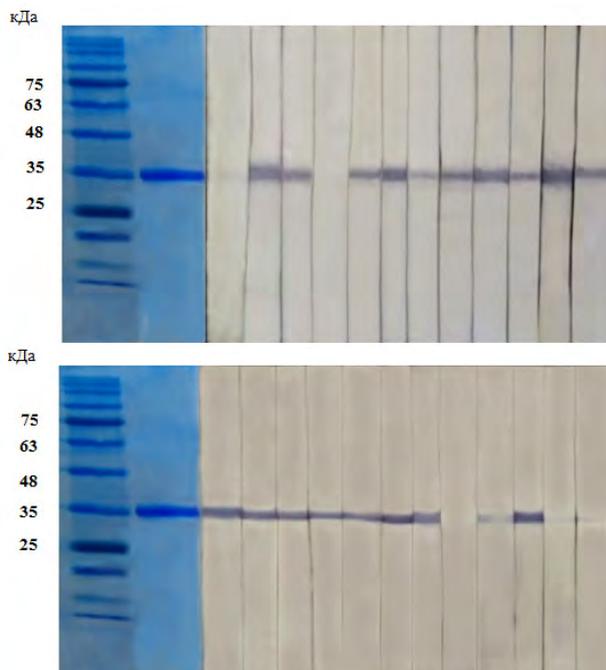


Рис. 3. Взаимодействие моноклональных антител с ВКМ в иммуноблотте, над треками указаны названия моноклональных антител



но его усилить, за счет высоко аффинного взаимодействия биотин-стрептавидин. Для каждого возможного сочетания антител было определено соотношение сигнал/фон (значения оптической плотности хромогенного субстрата пероксидазы в экспериментальных лунках к контрольным: с внесенными вирусными частицами и без них). В результате, в случае детекции вируса X была выявлена пара моноклональных антител ВКХ 34 + ВКХ 17 bio, для которой максимальное соотношение сигнал/фон равнялось 30; для вируса картофеля М — пара антител ВКМ 35 + ВКМ 27 bio с максимальным соотношением сигнал/фон равным 11,5. Для каждой из этих детектирующих пар были построены калибровочные графики определения вирусных частиц (рис. 4, 5).

Пределом детекции считали концентрацию искомого антигена, соответствующую фоновому значению оптического поглощения плюс два стандартных отклонения. Пара моноклональных антител ВКХ 34 + ВКХ 17 bio вы-

Рис. 4. Калибровочный график для определения концентрации ВКХ с помощью детектирующей пары моноклональных антител ВКХ 34 + ВКХ 17 bio

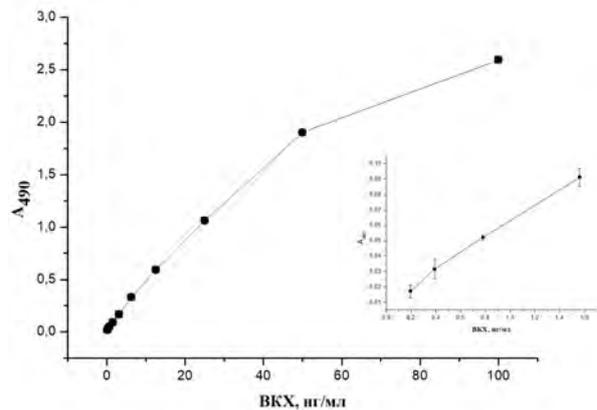


Рис. 5. Калибровочный график для определения ВКМ с помощью детектирующей пары моноклональных антител ВКМ 35 + ВКМ 27 bio

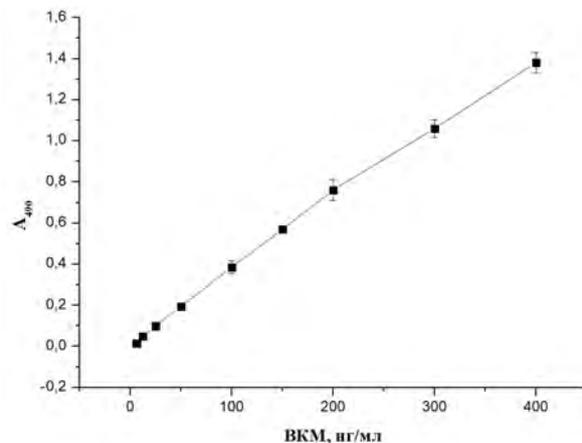
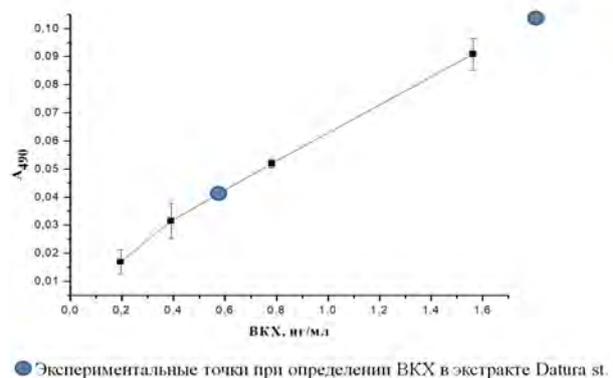


Рис. 6. Определение ВКХ в экстракте *Datura stramonium* помощью детектирующей пары моноклональных антител ВКХ 34 + ВКХ 17 bio. Выделены экспериментальные точки



являла вирус X, не выявляя ВКМ, вплоть до концентрации 0,4 нг/мл, линейный диапазон измерения составил 0,4 — 50 нг/мл. Пара моноклональных антител ВКМ 35 + ВКМ 27 bio выявляла вирус М вплоть до концентрации 6 нг/мл, линейный диапазон измерения составил 6 — 400 нг/мл, не выявляя вирус X.

Разработанные тест-системы были апробированы на растительных экстрактах, полученных из листьев следующих растений: *Nicotiana benthamiana* (табак Бент-

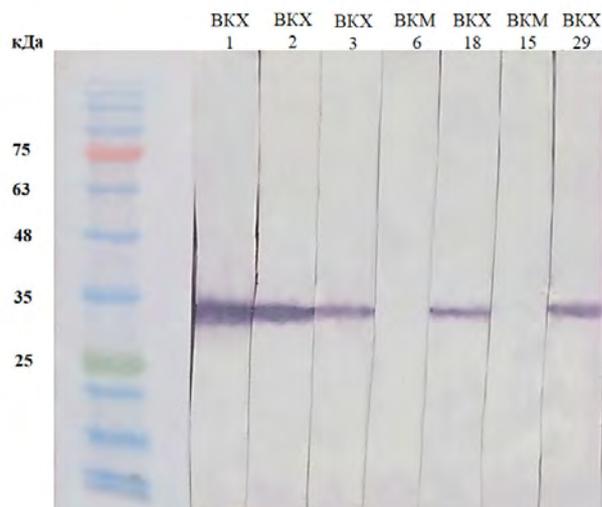
хама) как зараженного вирусом табачной мозаики, так и свободного от вирусов; *Bromus inermis* (Костёр безостый), зараженного вирусом мозаики костры; *Datura stramonium* (дурман обыкновенный) как зараженного вирусом картофеля X, так и свободного от вирусов. Экстракты получали растиранием листьев в жидком азоте с последующими экстрагированием и центрифугированием.

С помощью разработанных тест-систем методом сэндвич-иммуноферментного анализа было определено отсутствие ВКХ и ВКМ в листьях растений *Nicotiana benthamiana*, *Bromus inermis*, *Datura stramonium* не зараженных вирусами. В листьях *Datura stramonium* зараженных ВКХ содержание вирусных частиц было определено количественно, и оно составило $3,5 \pm 0,2$ мкг/мл экстракта. Результат представлен на рисунке 6.

Растительные экстракты были также проанализированы иммуноблоттингом. Для окрашивания были использованы только те антитела, которые окрашивали денатурированные формы вирусов. На рисунке 7 показано детектирование вирусного белка моноклональными антителами ВКХ 1, ВКХ 2, ВКХ3, ВКХ 18, ВКХ 29. Моноклональные антитела эффективно выявляют вирус в экстрактах листьев, следовательно, пригодны в качестве инструмента детекции вируса данным иммунохимическим методом.

Таким образом, в работе получены представительные панели неперекрестных моноклональных антител против вирусов картофеля X и М. На основе полученных

Рис. 7. Анализ растительного экстракта *Datura stramonium* моноклональными антителами к ВКХ



антител разработаны тест-системы в формате сэндвич — ИФА для количественного определения вирусов картофеля X и М. Также показана возможность детекции вирусов в растительных экстрактах иммуноблоттингом. Разработанные методы определения содержания вирусов картофеля X и М применены для анализа растительных экстрактов.

ЛИТЕРАТУРА

- ГОСТ Р 53136–2008 Картофель семенной. Технические условия. М. 2010. 10 с.
- Scholthof K-B. G., Adkins S., Czosnek H., et al. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology // MOLECULAR PLANT PATHOLOGY. 2011. V.12. P.938–954. DOI: 10.1111/J.1364–3703.2011.00752.X
- Aguilar E., Almendral D., Allende L., Pacheco R., Chung B.N., Canto T., Tenllado F. The P25 protein of Potato virus X (PVX) is the main pathogenicity determinant responsible for systemic necrosis in PVX-associated synergisms. // J. Virol. 2015. V.89(4). P.2090–2103. DOI 10.1128/JVI.02896–14.
- Lico C., Benvenuto E., Baschieri S. The two-faced Potato virus X: from plant pathogen to smart nanoparticle. // Front. Plant Sci. 2015. V.6. P.1009. DOI 10.3389/fpls.2015.01009.
- Xu H., D'Aubin J., Nie J. Genomic variability in Potato virus M and the development of RT-PCR and RFLP procedures for the detection of this virus in seed potatoes. // Virol. J. 2010. V. 7. P. 25. DOI 10.1186/1743–422X-7–25.
- Brandes J., Wetter C., Bagnall R.H., Larson R.H. Size

REFERENCES

- DNA cloning. A practical approach. / Ed. D.M. Glover. — Washington DC:Oxford, 1987. — 368 p.

ОБ АВТОРАХ:

Руденко Н.В., доцент, кандидат химических наук, старший научный сотрудник
Каратовская А.П., кандидат биологических наук, младший научный сотрудник
Архипенко М.В., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Фурсова К.К., кандидат биологический наук, старший научный сотрудник
Бровко Ф.А., доцент, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией иммунологии

- and shape of the particles of Potato virus S, Potato virus M, and Carnation latent virus. // Phytopathol. 1959. V. 49(7). P.443–446.
- «Agritest» [Электронный ресурс] <http://www.agritest.it/>
 - «Agdia» [Электронный ресурс] <http://www.agdia.com/>
 - «BIOREBAAG» [Электронный ресурс] <http://www.bioreba.ch/saas/web/bioreba/web.aspx?PageID=59&WPPParams=43CCD7D4B5DDE6B7C2E0B1CDE1C8B6B794989487>
 - «Durviz» [Электронный ресурс] <https://durviz.com>
 - «LOEWE» [Электронный ресурс] <https://www.loewe-info.com>
 - «Plant-Print Diagnostics»[Электронныйресурс] <https://www.pocketdiagnostic.com>
 - Kohler G., Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. // Nature. 1975. V.256. P.495–497.
 - Новое клонирование ДНК. Методы. / Под ред. Д. Гловера. — М.:Мир, 1989. — 368 с..
 - Руденко Н.В., Аббасова С.Г., Гришин Е.В. Получение и характеристика моноклональных антител к протективному антигену *Bacillus anthracis* // Биооргани. химия. 2011. Т.37. С.344–353.
 - Rudenko N.V., Abbasova S.G., Grishin E.V. Production and characterization of the monoclonal antibodies to *Bacillus anthracis* protective antigen. // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2011. V. 37. P. 316–321.

ABOUT THE AUTHORS:

Zamyatina A.V., undergraduate, research-engineer
Rudenko N.V., associate Professor, PhD in Chemistry, Senior Researcher
Karatsovskaya A.P., PhD in Biology, Junior Researcher
Archipenko M.V., PhD in Biology, Senior Researcher
Fursova K.K., PhD in Biology, Senior Researcher
Brovko F.A., associate Professor, PhD in Biology, Chief Researcher, head of the immunology laboratory