

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЦИТОКИНОВ ЧЕЛОВЕКА ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА (sci-store.ru) ПРИ ПОЛУЧЕНИИ МОНОЦИТАРНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

Талаев В.Ю., Талаева М.В., Воронина Е.В., Заиченко И.Е.

*ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени акад.
И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия*

Резюме. Дендритные клетки – это специализированные антигенпрезентирующие клетки, критически необходимые для вовлечения наивных Т-лимфоцитов в процесс иммунного ответа. Дендритные клетки используются в многочисленных научных исследованиях, а также нашли практическое применение как основной компонент дендритноклеточных вакцин. Широко применяемым способом получения дендритных клеток является индукция их созревания из моноцитов под действием цитокинов в условиях *in vitro*. В данной работе незрелые и зрелые дендритные клетки получали из моноцитов взрослых здоровых доноров с использованием рекомбинантных цитокинов различных производителей, а затем сравнивали фенотип полученных клеток. Показано, что рекомбинантные белки человека интерлейкин-4 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор производства sci-store.ru эффективно стимулируют дифференцировку моноцитов человека в незрелые моноцитарные дендритные клетки в условиях *in vitro*. Полученные незрелые дендритные клетки демонстрируют типичную морфологию и фенотип, характеризующийся отсутствием моноцитарного маркера CD14 и экспрессией HLA-DR и костимулирующей молекулы CD80. Часть клеток экспрессирует костимулирующую молекулу CD86. Рекомбинантный белок человека интерлейкин-6 производства sci-store.ru в составе смеси медиаторов воспаления, состоящей из интерлейкина-6, интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли- α и простагландина E2, эффективно стимулирует терминальную дифференцировку незрелых дендритных клеток в зрелые дендритные клетки с характерной морфологией и фенотипом. Практически все дендритные клетки, полученные с использованием этого реагента, были лишены CD14 и экспрессировали HLA-DR, CD80, CD83 и CD86 с высокими показателями интенсивности флуоресценции.

Ключевые слова: дендритные клетки, моноциты, цитокины, созревание, мембранные молекулы

Адрес для переписки:

Талаев Владимир Юрьевич
ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии имени акад.
И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора
603950, Россия, г. Нижний Новгород, ул. М. Ямская, 71.
Тел.: 8 (831) 469-79-48.
E-mail: talaev@inbox.ru

Address for correspondence:

Talayev Vladimir Yu.
Nizhny Novgorod Research I.N. Blokhin Institute of
Epidemiology and Microbiology
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod,
M. Yamskaya str., 71.
Phone: 7 (831) 469-79-48.
E-mail: talaev@inbox.ru

Образец цитирования:

В.Ю. Талаев, М.В. Талаева, Е.В. Воронина, И.Е. Заиченко
«Оценка эффективности рекомбинантных цитокинов
человека отечественного производства (sci-store.ru) при
получении моноцитарных дендритных клеток»
// Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 4. С. 535-542.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-4-535-542

© Талаев В.Ю. и соавт., 2018

For citation:

V.Yu. Talayev, M.V. Talayeva, E.V. Voronina, I.E. Zaichenko
“Efficiency evaluation of the home-produced recombinant human
cytokines from the sci-store.ru for generation of monocyte-derived
dendritic cells”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya*, 2018, Vol. 20, no. 4, pp. 535-542.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-4-535-542

DOI: 10.15789/1563-0625-2018-4-535-542

EFFICIENCY EVALUATION OF THE HOME-PRODUCED RECOMBINANT HUMAN CYTOKINES FROM the *sci-store.ru* FOR GENERATION OF MONOCYTE-DERIVED DENDRITIC CELLS

Talayev V. Yu., Talayeva M. V., Voronina E. V., Zaichenko I. E.

Nizhny Novgorod Research I. N. Blokhin Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. Dendritic cells are specialized antigen-presenting cells which are required to involve naive T-lymphocytes into immune response. Dendritic cells are used in numerous research studies, and have also found practical application as a main component of dendritic cell vaccines. *In vitro* induction of their maturation from monocytes using cytokines is the most widely used method to obtain these cells. In present study, we compared phenotypes of both immature and mature dendritic cells induced from monocytes of adult healthy donors by means of recombinant cytokines provided by different manufacturers. It is shown that recombinant human IL-4 and GM-CSF supplied by *sci-store.ru* could effectively stimulate *in vitro* differentiation of human monocytes to immature monocytic dendritic cells. The resulting immature dendritic cells exhibited a typical morphology and phenotype characterized by the absence of CD14 monocyte marker as well as HLA-DR and CD80 costimulatory molecule expression. A fraction of these cells expressed the CD86 costimulatory molecule. The recombinant human IL-6 from *sci-store.ru*, when used in a mixture of inflammatory mediators (IL-6, IL-1 β , TNF α and PGE2), has induced effective terminal differentiation of immature dendritic cells to mature dendritic cells exhibiting typical morphology and phenotype. Virtually all dendritic cells obtained with this reagent were devoid of CD14, and expressed HLA-DR, CD80, CD83 and CD86 at high fluorescence intensity.

Keywords: dendritic cells, monocytes, cytokines, maturation, membrane molecules

Введение

Дендритные клетки (ДК) – это специализированные антигенпрезентирующие клетки миелоидного ряда кроветворения [10, 11, 13]. Они разделены на 2 основные группы – плазматоидные ДК и классические, или «обычные» (conventional) ДК, ранее называвшиеся миелоидными. Классические ДК являются наиболее активными антигенпрезентирующими клетками нашего организма, тогда как основной функцией плазматоидных ДК является продукция интерферонов 1 типа [2, 8, 14, 15]. Наиболее многочисленная субпопуляция классических ДК (у человека – CD1c⁺ ДК) созревает из циркулирующих в крови коммитированных предшественников [10, 11] и из моноцитов, причем в условиях воспаления моноциты становятся основным источником созревания ДК [4]. Классические ДК являются объектом многочисленных научных исследований, а также нашли практическое применение как основной компонент дендритноклеточных вакцин против патогенов и опухолевых клеток. Традиционным способом

получения ДК для клинического использования является индукция их созревания из моноцитов крови *in vitro* [9]. Для фундаментальных научных исследований в настоящее время все шире используют ДК, созревшие в организме и выделенные с помощью иммуномагнитной сепарации и клеточных сортиров [8]. Однако выделение этих клеток из крови или тканей является трудоемким и дорогостоящим процессом и часто не позволяет получить значительного количества клеток, необходимого для экспериментов, особенно если объектом исследования являются ДК человека. Поэтому ДК, полученные из моноцитов *in vitro*, остаются самым распространенным объектом исследований иммуностимулирующих или толерогенных функций ДК [3, 5], процессов их созревания и апоптоза [1], а также внутриклеточного сигналинга в ДК [7]. Моноцитарные ДК также используются в работах по фармакологии, направленных на поиск иммуностропных препаратов и совершенствование вакцин [6].

До сих пор наиболее надежным методом получения моноцитарных ДК [5] является двухэтап-

ный способ стимуляции моноцитов, предложенный в 1994 г. Sallusto и Lanzavecchia [12]. На первом этапе этого метода из моноцитов получают незрелые ДК с помощью культивирования с интерлейкином-4 (IL-4) и гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (GM-CSF). Полученные незрелые ДК обладают высокой способностью к захвату антигенов, но ограниченной способностью к их презентации. Незрелые ДК можно нагрузить антигенами и затем индуцировать их терминальное созревание, инкубируя с молекулярными паттернами патогенов или с провоспалительными цитокинами. Зрелые ДК утрачивают способность к фагоцитозу новых антигенов, но приобретают выраженную способность к презентации фагоцитированного ранее материала и стимуляции наивных Т-лимфоцитов к пролиферации и дифференцировке в зрелые Т-клетки эффекторы. Для выполнения этой функции дендритные клетки используют молекулы главного комплекса гистосовместимости и костимулирующие молекулы, которые в лабораторной практике применяются как маркеры зрелости ДК.

В данной работе незрелые и зрелые ДК получали из моноцитов крови взрослых здоровых доноров с использованием рекомбинантных цитокинов человека различных производителей, а затем сравнивали фенотип ДК, полученных с использованием этих реагентов.

Материалы и методы

ДК получали из моноцитов крови взрослых здоровых доноров. Для этого традиционным способом выделяли мононуклеарные клетки периферической крови и засеивали их в концентрации 4×10^6 клеток/мл в 24-луночные планшеты (Costar, США) в среде RPMI-1640 (Gibco, США) с 10% эмбриональной телячьей сыворотки (РАА, Австрия). Через 2 ч лимфоциты тщательно смывали средой, контролируя чистоту удаления неприлипающих клеток с помощью микроскопии, а адгезировавшиеся клетки (моноциты) инкубировали в среде того же состава с добавлением цитокинов. Для индукции дифференцировки моноцитов в незрелые ДК в культуры добавляли рекомбинантные человеческие цитокины IL-4 и GM-CSF производства sci-store.ru или те же цитокины производства известного лидирующего американского производителя (компетитор). Референсные цитокины производства компетитора были выбраны нами ранее среди аналогичных продуктов нескольких зарубежных

производителей, как наиболее эффективные для получения ДК *in vitro*. Цитокины в культуры добавлялись дважды – при засеивании и на 3 сутки культивирования. Оба раза цитокины добавлялись в концентрациях: IL-4 – по 20 нг/мл, GM-CSF – по 100 нг/мл. Кроме того, в отдельном эксперименте мы получали незрелые ДК с использованием IL-4 и GM-CSF производства sci-store.ru в указанных выше концентрациях и в концентрациях, увеличенных в 1,5 раза. После 7 суток культивирования незрелые ДК собирали и оценивали экспрессию маркеров с помощью проточной лазерной цитометрии. Для иммунофлуоресцентной окраски использовали антитела к молекулам HLA-DR, меченные флуоресцеинизотиоцианатом (Сорбент, Россия) и к молекулам CD14 (Сорбент, Россия), CD80, CD83 и CD86 (eBioscience, США), меченные фикоэритрином. Анализ проводили на лазерном проточном цитофлуориметре FacsCalibur (BD Biosciences, США). ДК гейтировали по параметрам прямого и бокового светорассеяния (FSC и SSC соответственно). При анализе результатов оценивали процент клеток, несущих соответствующий маркер, и геометрическую среднюю интенсивности их флуоресценции (GMFI) – параметр, зависящий от количества маркера на каждой клетке.

В других экспериментах для оценки действия рекомбинантного человеческого IL-6 (sci-store.ru) получали незрелые ДК описанным выше способом, а затем стимулировали их терминальное созревание смесями медиаторов воспаления следующего состава:

– смесь 1: 25 нг/мл IL-6 (sci-store.ru, Россия), 25 нг/мл IL-1 (R&D, США), 50 нг/мл фактора некроза опухоли- α (R&D, США) и 1 мкг/мл простагландина E2 (Sigma-Aldrich, США);

– смесь 2 аналогичного состава, но с использованием IL-6 производства компетитора.

После 2 суток инкубирования зрелые ДК собирали и оценивали фенотип описанным выше способом. Данные цитометрии обрабатывали с помощью программы CellQuest (BD Biosciences, США). Статистический анализ проводили с использованием t-теста Стьюдента. Данные в таблицах представлены как $M \pm m$.

Результаты

Оценка действия IL-4 и GM-CSF производства sci-store.ru, Россия

Инкубирование моноцитов с IL-4 и GM-CSF обоих производителей вызывало сходные морфологические изменения, типичные для созревания

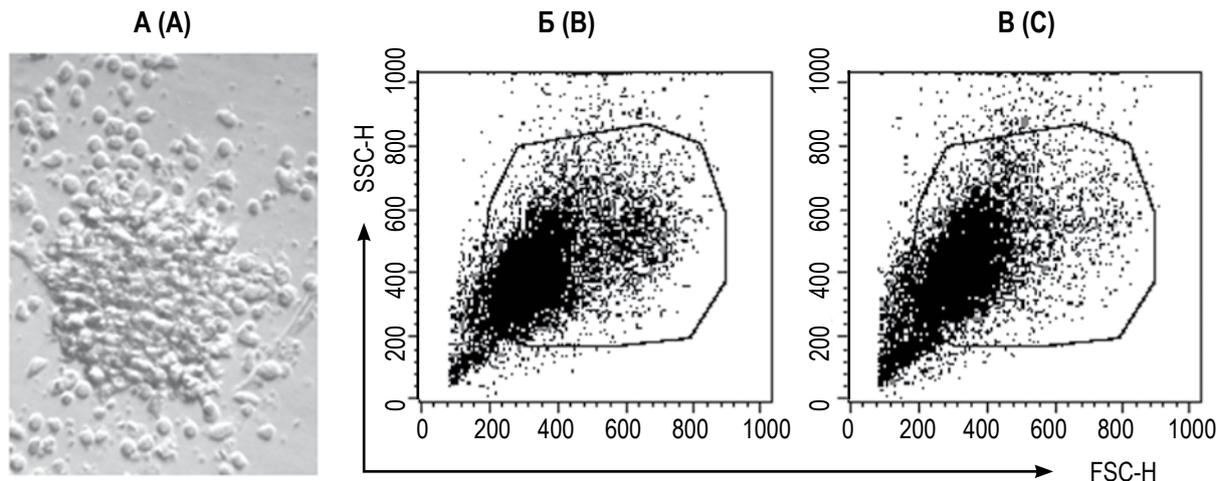


Рисунок 1. Вид культуры незрелых ДК, полученных с использованием IL-4 и GM-CSF производства sci-store.ru (А); прямое и боковое светорассеяние незрелых моноцитарных ДК, полученных с использованием IL-4 и GM-CSF производства sci-store.ru (Б) и компетитора (В)

Примечание. А – микроскопия с модуляционным контрастом Хоффмана; увеличение $\times 200$. Б и В – ДК выделены в гейт.

Figure 1. Culture of immature DCs obtained using IL-4 and GM-CSF from sci-store.ru (A). Forward and side light scattering of immature monocyte DCs obtained using IL-4 and GM-CSF from sci-store.ru (B) and a competitor (C)

Note. A, microscopy with Hoffmann modulation contrast; Increase $\times 200$. B and C, DCs are gated.

ДК. Клетки увеличивались в размерах и снижали свою адгезивность. В результате они приобретали округлую форму и собирались в крупные кластеры (рис. 1А). К концу культивирования (7 суток) все культуры обладали высокой жизнеспособностью ($> 95\%$). Выход клеток не различался. Распределение клеток по параметрам FSC/SSC при цитометрии также существенно не различалось, что свидетельствует о сходстве размеров и структуры клеток, полученных с использованием цитокинов разных производителей (рис. 1Б).

Оценка фенотипа ДК не выявила существенных различий между цитокинами разных производителей. Клетки, полученные с использованием цитокинов производства sci-store.ru и цитокинов производства компетитора, демон-

стрировали типичный фенотип незрелых ДК. Они экспрессировали молекулу главного комплекса гистосовместимости HLA-DR со средним уровнем интенсивности флуоресценции, были лишены моноцитарного маркера CD14, экспрессировали костимулирующую молекулу CD80. Часть клеток экспрессировала костимулирующую молекулу CD86. Экспрессия маркера зрелых ДК – молекулы CD83 – оставалась на низком уровне. Средние показатели экспрессии маркеров, полученные в 3 независимых экспериментах, приведены в таблице 1, гистограммы, отражающие экспрессию молекул на ДК, стимулированных различными цитокинами в репрезентативном эксперименте, – на рисунке 2.

ТАБЛИЦА 1. ЭКСПРЕССИЯ МЕМБРАННЫХ МОЛЕКУЛ (%) НА НЕЗРЕЛЫХ ДК, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИТОКИНОВ РАЗЛИЧНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

TABLE 1. MEMBRANE MOLECULE EXPRESSION (%) ON IMMATURE DC OBTAINED WITH CYTOKINES OF DIFFERENT MANUFACTURERS

Производитель цитокинов Cytokine manufacturer	HLA-DR	CD14	CD80	CD83	CD86
sci-store.ru	96,9 \pm 3,49	1,35 \pm 0,18	81,52 \pm 12,83	9,87 \pm 2,88	46,89 \pm 12,82
компетитор competitor	97,8 \pm 0,59	0,95 \pm 0,10	84,0 \pm 9,05	10,27 \pm 0,85	41,98 \pm 10,32

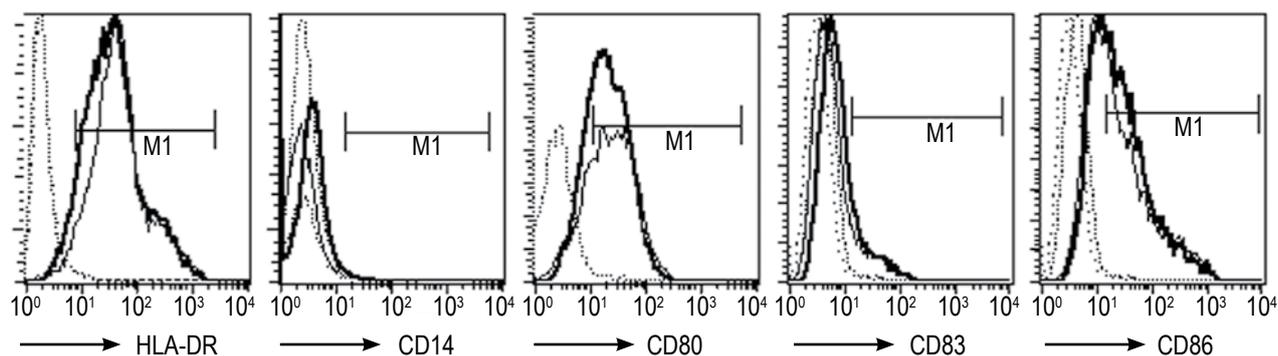


Рисунок 2. Сравнение экспрессии мембранных молекул на незрелых ДК, полученных с использованием IL-4 и GM-CSF производства sci-store.ru (толстые сплошные линии) и конкурента (тонкие линии)

Примечание. Пунктирные линии – негативные контроли окрашивания. Названия маркеров указаны под гистограммами.

Figure 2. Comparison of membrane molecule expression on immature DCs obtained using IL-4 and GM-CSF from sci-store.ru (thick solid lines) and a competitor (thin lines)

Note. Dotted lines, negative control of staining. The markers are indicated under the histograms.

Таким образом, цитокины двух производителей в равной степени эффективно стимулируют дифференцировку моноцитов в незрелые ДК с высокой жизнеспособностью, типичной морфологией и набором экспрессируемых мембранных молекул.

Увеличение концентрации цитокинов производства sci-store.ru в полтора раза не привело к существенному дополнительному приросту экспрессии исследуемых маркеров. Концентрации цитокинов 20 и 30 нг/мл для IL-4 и 100 и 150 нг/мл – для GM-CSF индуцируют практически полную утрату моноцитарного маркера CD14 и одинаково высокий уровень экспрессии типичных для ДК маркеров HLA-DR, CD80 и CD86 как по доле несущих маркер клеток, так и по интенсивности флуоресценции клеток (табл. 2). Следовательно, эти concentra-

ции лежат на «плато» дозовой зависимости, и для получения незрелых ДК можно рекомендовать традиционно используемые концентрации цитокинов производства sci-store.ru: 20 нг/мл для IL-4 и 100 нг/мл – для GM-CSF.

Оценка действия рекомбинантного IL-6 человека производства sci-store.ru

Инкубирование незрелых ДК со смесями провоспалительных медиаторов, содержащих IL-6 двух производителей, вызывало сходные морфологические изменения, типичные для терминального созревания ДК: дополнительное увеличение размера клеток и приобретение характерной отростчатой морфологии. Все культуры обладали высокой жизнеспособностью (> 95%). Распределение клеток по параметрам FSC/SSC при цитометрии существенно не различалось, что свидетельствует о сходстве размеров и структуры

ТАБЛИЦА 2. ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЗРЕЛЫХ ДК, ПОЛУЧЕННЫХ СО СТАНДАРТНОЙ И ПОВЫШЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ IL-4 И GM-CSF ПРОИЗВОДСТВА sci-store.ru

TABLE 2. PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF IMMATURE DCs OBTAINED WITH STANDARD AND INCREASED CONCENTRATIONS OF IL-4 AND GM-CSF FROM sci-store.ru

Концентрация цитокинов Cytokine concentration	HLA-DR		CD14	CD80		CD83		CD86	
	%	GMFI	%	%	GMFI	%	GMFI	%	GMFI
Стандартная Standard	99,9	145	1,2	98,4	74,9	12,8	36,2	60,2	44,2
Повышенная Increased	98,3	132,7	1,1	98,6	85,0	13,2	27,0	62,4	46,2

ТАБЛИЦА 3. ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗРЕЛЫХ ДК, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ IL-6 ПРОИЗВОДСТВА sci-store.ru

TABLE 3. PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF MATURE DCs OBTAINED USING IL-6 FROM sci-store.ru

Производитель IL-6 Manufacturer of IL-6	HLA-DR		CD14	CD80		CD83		CD86	
	%	GMFI	%	%	GMFI	%	GMFI	%	GMFI
sci-store.ru	99,85 ±0,05	430,3 ±33,3	1,0	99,22 ±0,25	189,0 ±10,3	92,45 ±1,53	50,4 ±2,4	98,52 ±0,05	838,2 ±54,0
компетитор competitor	99,71 ±0,12	375,2 ±12,6	0,7	98,9 ±0,63	210,9 ±11,8	90,33 ±1,79	49,3 ±1,7	99,33 ±0,05	905,1 ±48,5

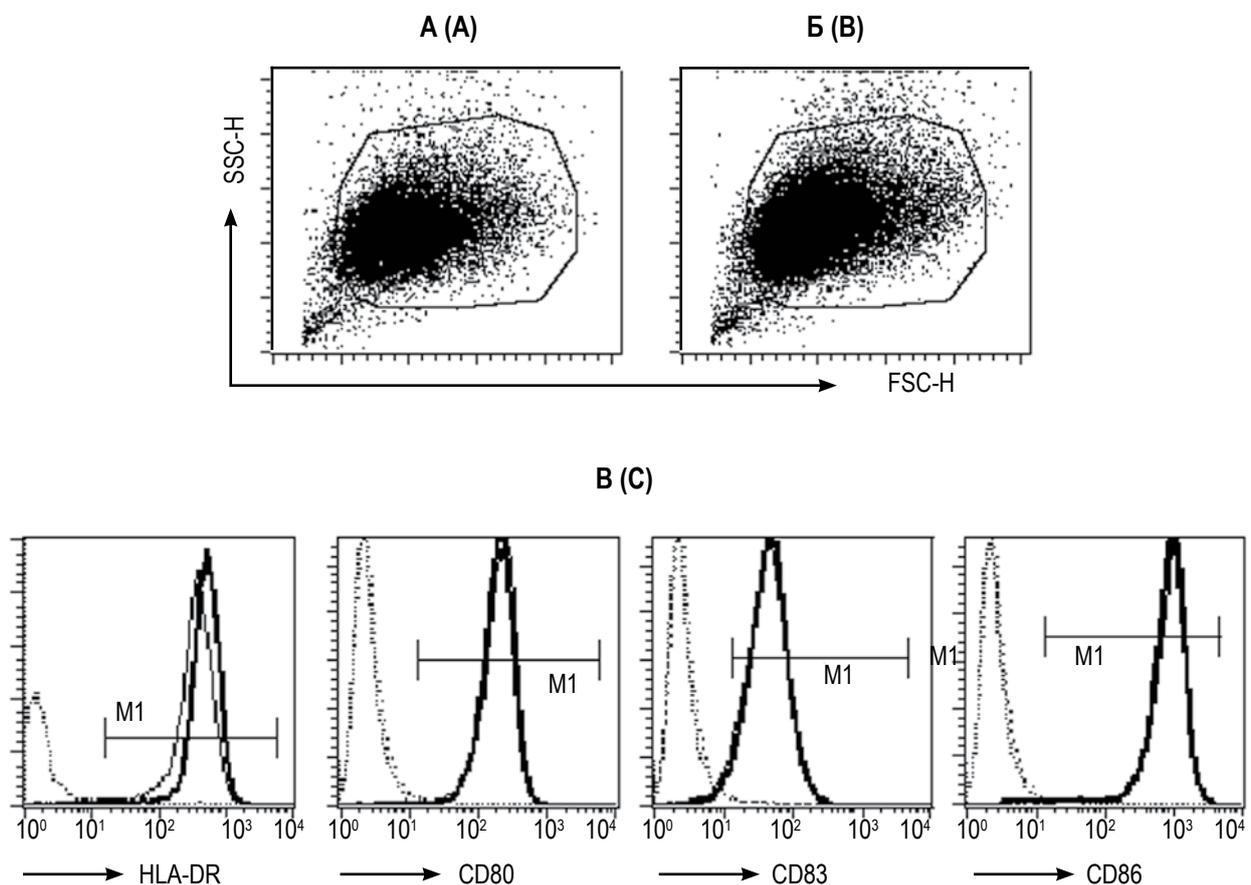


Рисунок 3. Характеристика зрелых ДК, полученных с использованием цитокинов различных производителей
Примечание. Прямое и боковое светорассеяние зрелых ДК, полученных с использованием смеси провоспалительных медиаторов с IL-6 производства sci-store.ru (А) и конкурента (Б). ДК выделены в гейт. В – фенотип зрелых ДК, полученных с использованием IL-6 производства sci-store.ru (толстые сплошные линии) и конкурента (тонкие линии) в составе смеси провоспалительных медиаторов. Пунктирные линии – негативные контроли. Названия маркеров указаны под гистограммами.

Figure 3. Characteristics of mature DCs obtained using cytokines from different manufacturers
Note. Forward and side light scattering of mature DCs obtained using a mixture of proinflammatory mediators with IL-6 manufactured by sci-store.ru (A) and a competitor (B). DCs are gated. C, The phenotype of mature DCs obtained using IL-6 from sci-store.ru (thick solid lines) and competitor (thin lines) in a mixture of proinflammatory mediators. Dotted lines, negative control. The markers are indicated under the histograms.

клеток, полученных с использованием цитокинов разных производителей (рис. 3).

Анализ экспрессии маркеров ДК также не выявил различий между культурами, полученными с использованием IL-6 различных производителей. Все клетки демонстрировали типичный фенотип зрелых ДК, характеризующийся отсутствием моноцитарного маркера CD14, наличием молекул HLA-DR, CD80, CD83 и CD86 практически на всех клетках, а также большими значениями GMFI для этих молекул, что свидетельствует о высокой плотности их экспрессии (табл. 3). На рисунке 3 представлен пример фенотипа зрелых ДК и сравнение действия смесей провоспалительных медиаторов с IL-6 производства sci-store.ru и компетитора. Отмечается практически полное совпадение профиля флуоресценции окрашенных молекул CD80, CD83 и CD86 на сравниваемых ДК и незначительное повышение показателя GMFI окрашенной мо-

лекулы HLA-DR на ДК, полученных с использованием IL-6 sci-store.ru, по сравнению с IL-6 компетитора.

Заключение

Рекомбинантные белки человека IL-4 и GM-CSF производства sci-store.ru эффективно стимулируют дифференцировку моноцитов человека в незрелые моноцитарные дендритные клетки в условиях *in vitro*. Полученные незрелые дендритные клетки демонстрируют типичную морфологию и фенотип. Рекомбинантный белок человека IL-6 производства sci-store.ru в составе смеси медиаторов воспаления, состоящей из IL-6, IL-1 β , фактора некроза опухоли- α и простагландина E2, эффективно стимулирует терминальную дифференцировку незрелых дендритных клеток в зрелые дендритные клетки с характерной морфологией и фенотипом.

Список литературы / References

1. Талаев В.Ю., Заиченко И.Е., Матвейчев А.В., Талаева М.В., Воронина Е.В. Регуляция апоптоза в процессе созревания дендритных клеток – приглашение на казнь // Иммунология, 2016. Т. 37, № 5. С. 281-291. [Talayev V.Yu., Zaichenko I.E., Matveichev A.V., Talayeva M.V., Voronina E.V. Regulation of apoptosis during dendritic cell maturation – invitation to an execution. *Immunologiya = Immunology*, 2016, Vol. 37, no. 5, pp. 281-291. (In Russ.)]
2. Colonna M., Trinchirelli G., Liu Y.J. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat. Immunol.*, 2004, Vol. 5, no. 12, pp. 1219-1226.
3. Guernonprez P., Valladeau J., Zitvogel L., Thery C., Amigorena S. Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2002, Vol. 20, pp. 621-667.
4. Ingersoll M.A., Platt A.M., Potteaux S., Randolph G.J. Monocyte trafficking in acute and chronic inflammation. *Trends Immunol.*, 2011, Vol. 32, no. 10, pp. 470-477.
5. Kalantari T., Kamali-Sarvestani E., Ciric B., Karimi M.H., Kalantari M., Faridar A., Xu H., Rostami A. Generation of immunogenic and tolerogenic clinical-grade dendritic cells. *Immunol. Res.*, 2011, Vol. 51, no. 2-3, pp. 153-160.
6. Kamgang R.K., Ramos I., Duarte L.R., Ghielmetti M., Freudenberg M., Dahinden C., Padovan E. Using distinct molecular signatures of human monocytes and dendritic cells to predict adjuvant activity and pyrogenicity of TLR agonists. *Med. Microbiol. Immunol.*, 2008, Vol. 197, pp. 369-379.
7. Kawai T., Akira S. Toll-like receptor and RIG-I-like receptor signaling. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2008, Vol. 1143, pp. 1-20.
8. Merad M., Sathe P., Helft J., Miller J., Mortha A. The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annu. Rev. Immunol.*, 2013, Vol. 31, pp. 563-604.
9. Naik S.H. Dendritic cell protocols. New York: Humana Press, 2010, p. 446.
10. Naik S.H., Sathe P., Park H.Y., Metcalf D., Proietto A.I., Dakic A., Carotta S., O'Keeffe M., Bahlo M., Papenfuss A., Kwak J.Y., Wu L., Shortman K. Development of plasmacytoid and conventional dendritic cell subtypes from single precursor cells derived *in vitro* and *in vivo*. *Nat. Immunol.*, 2007, Vol. 8, no. 11, pp. 1217-1226.
11. Onai N., Obata-Onai A., Schmid M.A., Ohteki T., Jarrossay D., Manz M.G. Identification of clonogenic common Flt3⁺M-CSFR⁺ plasmacytoid and conventional dendritic cell progenitors in mouse bone marrow. *Nat. Immunol.*, 2007, Vol. 8, no. 11, pp. 1207-1216.
12. Sallusto F., Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. *J. Exp. Med.*, 1994, Vol. 179, no. 4, pp. 1109-1118.

13. Steinman R.M. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.*, 1991, Vol. 9, pp. 271-296.
14. Wu L., Dakic A. Development of dendritic cell system. *Cell. Mol. Immunol.*, 2004, Vol. 1, no. 2, pp. 112-118.
15. Wu L., Liu Y-J. Development of dendritic-cell lineages. *Immunity*, 2007, Vol. 26, pp. 741-750.

Авторы:

Талаев В.Ю. — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточной иммунологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

Талаева М.В. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

Воронина Е.В. — младший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

Заиченко И.Е. — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

Authors:

Talayev V. Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Cellular Immunology, Nizhny Novgorod Research I.N. Blokhin Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Talayeva M. V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunology, Nizhny Novgorod Research I.N. Blokhin Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Voronina E. V., Junior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunology, Nizhny Novgorod Research I.N. Blokhin Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Zaichenko I. E., PhD (Biology), Leading Research Associate Laboratory of Cellular Immunology, Nizhny Novgorod Research I.N. Blokhin Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Поступила 17.08.2017
Отправлена на доработку 25.09.2017
Принята к печати 30.11.2017

Received 17.08.2017
Revision received 25.09.2017
Accepted 30.11.2017