

СРАВНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ мРНК ЦИТОКИНОВ С ИХ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ В СУПЕРНАТАНТЕ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ U937 ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА НЕЕ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АКТИВАТОРОВ

**Аутеншлюс А.И.^{1,2}, Иванов И.Д.², Голованова А.В.¹,
Студеникина А.А.¹, Михайлова Е.С.^{1,2}, Вавилин В.А.²,
Вараксин Н.А.³, Ляхович В.В.²**

¹ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

² Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия

³ АО «Вектор-Бест», п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Резюме. Изучение динамики экспрессии цитокинов, а также цитокинпродуцирующего потенциала иммунокомпетентных клеток позволяет расширить исследования их функциональных характеристик. Матричная РНК ряда генов цитокинов относительно стабильна, поэтому ее уровень может быть использован в качестве маркера для оценки степени активации и пролиферации иммунокомпетентных клеток, а также для оценки цитокинпродуцирующего потенциала иммунокомпетентных клеток.

В нашей работе было проведено сравнение показателей экспрессии матричной РНК цитокинов IL-10, TNF α , GM-CSF в дифференцированной в макрофаги клеточной культуре U937 с концентрацией белков этих же цитокинов в супернатанте культуры клеток U937 без воздействия и после воздействия поликлональных активаторов. Показатели экспрессии матричной РНК цитокинов IL-10, TNF α , GM-CSF определяли методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Концентрацию белков этих же цитокинов IL-10, TNF α , GM-CSF в супернатанте культуры клеток U937 измеряли методом иммуноферментного анализа. Использование в исследовании исходно однородной культуры клеток удобно, ввиду идентичности условий во всех вариантах исследования.

Наибольшее влияние поликлональные активаторы оказывают на экспрессию матричной РНК GM-CSF и на концентрацию этого цитокина в супернатанте клеточной культуры. Уровень матричной РНК TNF α при воздействии поликлональных активаторов снижался, в то время как концентрация данного цитокина в супернатанте возрастала. Белок TNF α в клеточной среде не отражает временных изменений в экспрессии клеточной мРНК TNF α , так как уменьшение клеточной мРНК возможно из-за ингибирования по механизму обратной связи. В то время как цитокины могут накапливаться и оставаться в супернатанте, события на уровне матричной РНК, приводящие к их образованию, могут завершаться ранее. Поэтому пути передачи сигналов и кинетику выделения цитокинов следует

Адрес для переписки:

Аутеншлюс Александр Исаевич
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный
медицинский университет»
630091, Россия, г. Новосибирск, Красный пр., 52.
Тел./факс: 8 (383) 226-35-60.
E-mail: lpciip@211.ru

Address for correspondence:

Autenshlyus Alexander I.
Novosibirsk State Medical University
630091, Russian Federation, Novosibirsk, Krasny ave., 52.
Phone/Fax: 7 (383) 226-35-60.
E-mail: lpciip@211.ru

Образец цитирования:

А.И. Аутеншлюс, И.Д. Иванов, А.В. Голованова,
А.А. Студеникина, Е.С. Михайлова, В.А. Вавилин,
Н.А. Вараксин, В.В. Ляхович «Сравнение экспрессии
мРНК цитокинов с их концентрацией в супернатанте
клеточной культуры U937 при воздействии на нее
поликлональных активаторов» // Медицинская
иммунология, 2019. Т. 21, № 4. С. 737-742.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-737-742

© Аутеншлюс А.И. и соавт., 2019

For citation:

A.I. Autenshlyus, I.D. Ivanov, A.V. Golovanova,
A.A. Studenikina, E.S. Mikhaylova, V.A. Vavilin,
N.A. Varaksin, V.V. Liakhovich "Expression of mRNA
for cytokines compared to their concentrations in culture
supernates of U937 cells exposed to polyclonal activators",
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2019, Vol. 21, no. 4, pp. 737-742.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-737-742

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-4-737-742

изучать после описания временной зависимости с короткими интервалами, которая может быть индивидуальной для каждого цитокина.

Таким образом, полученные результаты исследования с использованием поликлональных активаторов позволяют сделать выводы о том, что поликлональные активаторы, являясь митогенами, оказывают существенное влияние на концентрацию секретируемых IL-10, TNF α и GM-CSF. При этом поликлональные активаторы оказывают влияние на уровни мРНК генов этих цитокинов, что указывает на транскрипционный механизм его действия. Но в связи с тем, что данные неоднозначны, для достижения большего соответствия изменений изученных белков и мРНК необходимо подробное описание временной зависимости изменений содержания мРНК.

Ключевые слова: цитокины, клеточная культура, иммуноферментный анализ, экспрессия

EXPRESSION OF mRNA FOR CYTOKINES COMPARED TO THEIR CONCENTRATIONS IN CULTURE SUPERNATES OF U937 CELLS EXPOSED TO POLYCLONAL ACTIVATORS

Autenshlyus A.I.^{a,b}, Ivanov I.D.^b, Golovanova A.V.^a, Studenikina A.A.^a, Mikhaylova E.S.^{a,b}, Vavilin V.A.^b, Varaksin N.A.^c, Liakhovich V.V.^b

^a Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

^b Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

^c JSC "Vector-Best", Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Investigation of the cytokine expression dynamics as well as the cytokine-producing potential of immune-competent cells allows extensive studies of their functional characteristics. mRNAs encoding a number of cytokine genes are relatively stable, thus their level may be used as a marker for assessing the levels of activation and proliferation of immunocompetent cells as well as for evaluating the cytokine-producing potential of immunocompetent cells.

In our work, we assessed correlations between the levels of mRNA expression specific for IL-10, TNF α , GM-CSF cytokines determined in a culture of differentiated macrophage U937 cells, and protein concentrations of the same cytokines as measured in supernates of U937 cell cultures, without and after exposure to polyclonal activators. The IL-10, TNF α , GM-CSF mRNA expression was determined by real-time quantitative polymerase chain reaction. Protein concentrations of IL-10, TNF α , GM-CSF cytokines in the culture supernatant of U937 cells were measured by an enzyme immunoassay. The use of an initially homogeneous cell culture in the study is convenient due to the identical conditions in all experimental variants.

The most pronounced effect of polyclonal activators is exerted upon production of GM-CSF mRNA, as well as protein concentration of this cytokine in the cell culture supernatants, thus actually coinciding with RT-qPCR results. The TNF α mRNA level decreased under the influence of polyclonal activators, whereas concentration of this cytokine was decreased in the cell supernate. The TNF α protein in a culture medium did not reflect temporal changes in the cellular TNF α mRNA expression, probably, due to potential decrease of cellular mRNA occurring by the feedback inhibitory mechanism. While the cytokines can accumulate and remain in the supernatant, the mRNA-related events leading to cytokine formation may be completed earlier. Therefore, the signalling pathways and cytokine release kinetics should be studied after establishing the time dependence at short time intervals, which may be individual for each cytokine.

Thus, the results of a study using polyclonal activators suggest that polyclonal activators applied as mitogens, have a significant effect upon the concentration of secreted IL-10, TNF α and GM-CSF. In this case, polyclonal activators affect the levels of mRNA encoded by cytokine genes, thus indicating transcriptional mechanisms of its action. But, in view of the fact that the data are ambiguous, in order to achieve greater correspondence between the changes in the studied proteins and specific mRNAs, a detailed description of the time dependence is required for the changes in mRNA contents.

Keywords: cytokines, cell culture, linked immunosorbent assay, expression

Известно, что для определения активации клеток иммунной системы используют метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-qPCR), позволяющий оценивать в одной пробе большое количество транскриптов генов и проводить одновременное исследование широкого спектра цитокинов в одной временной точке [9, 12]. Изучение динамики экспрессии цитокинов, а также цитокинпродуцирующего потенциала иммунокомпетентных клеток позволяет расширить исследования их функциональных характеристик.

Так как цитокины являются быстрыми сигнальными молекулами, мРНК многих из них нестабильна, подвергается быстрой деградации и обычно служит субстратом для других сигнальных механизмов в клетке. Тем не менее мРНК ряда генов цитокинов относительно стабильна, поэтому ее уровень может быть использован в качестве маркера для оценки степени активации и пролиферации иммунокомпетентных клеток [2, 7], а также для оценки цитокинпродуцирующего потенциала иммунокомпетентных клеток.

В частности, молекулярные исследования цитокинов проводят на культуре клеток U937, которая является промоноцитарной клеточной линией миелоидного лейкоза человека [11]. Эта линия обладает характеристиками моноцитов и проста в использовании, например в качестве экспериментальной модели для выяснения механизмов дифференциации моноцитов и макрофагов, которые выполняют три основные функции: фагоцитоз, презентация антигена и производство цитокинов [6].

Существующие технологии анализа позволяют провести исследование культуры клеток различными методами одновременно. Например, можно исследовать уровень белковых продуктов методом ELISA и проводить RT-qPCR в одной временной точке. С помощью анализа показателей экспрессии мРНК различных генов, в том числе цитокинов, можно создавать комплексные профили селективной индукции большого количества генов высокоспецифичных для конкретной популяции иммунокомпетентных клеток [1].

Целью настоящего исследования явилось сравнение показателей экспрессии мРНК цитокинов в клетках U937 с концентрацией белков этих же цитокинов в супернатанте культуры клеток U937, подвергнутых воздействию поликлональных активаторов.

Суспензионную культуру U937 выращивали в среде RPMI, содержащей 10% фетальной сыворотки при температуре 37 °С, в атмосфере 5% CO₂ до концентрации $1,5 \times 10^6$ клеток на мл среды. Клетки осаждали при 800 g в течение 5 мин и ресуспендировали в свежей порции среды, со-

держащей форбол-12-миристан-13 ацетат (ФМА) в концентрации 60 нг/мл. Во всех вариантах исследования количество клеток было одинаковым. Использование в исследовании исходно однородной культуры клеток удобно, ввиду идентичности условий во всех вариантах исследования. После того как через 72 ч моноциты трансформировались в макрофаги, удаляли культуральную жидкость и вместе с ней не осевшие клетки. Затем инкубировали макрофаги в свежей порции среды без ФМА в течение 48 ч [5, 10].

Для индукции цитокинов в этих предварительно дифференцированных клетках (макрофагах) использовали комплекс поликлональных активаторов (ПА), состоящий из фитогемагглютинаина Р (РНА-Р; Sigma) – 2 мкг, фитогемагглютинаина М (РНА-М; Sigma) – 2 мкг, конканавалина А (ConA; Sigma) – 4 мкг, липополисахарида (LPS; Sigma) – 2 мкг (стандартный набор «ЦИТОКИН-СТИМУЛ-БЕСТ», производство АО «Вектор-Бест». После 24 часов воздействия из культуральной жидкости удаляли клеточный дебрис центрифугированием при 2000 g × 4 мин, а супернатант использовали для определения концентрации продуцируемых макрофагами цитокинов. В супернатанте с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) определяли концентрации следующих цитокинов: IL-10, TNFα, GM-CSF. Использовали наборы реагентов производства АО «Вектор-Бест».

Из предварительно дифференцированных клеток (макрофагов) выделяли РНК с использованием TRI-REAGENT (MRC, США), согласно протоколу производителя. На обработку одной 3-сантиметровой лунки с клетками брали 200 мкл реагента, клеточный лизат дважды экстрагировали 100 мкл смеси хлороформ-изоамиловый спирт (24:1), разделяя фазы центрифугированием в течение 5 мин при 10 000 g. Затем вносили 200 мкл изопропилового спирта, осаждали РНК при 12 000 g в течение 10 мин, дважды промывали осадок 80% этанолом, подсушивали и растворяли в бидистиллированной воде, содержащей RNase-free реагент (Ambion, США). Препараты РНК хранили при -70 °С, использовали для обратной транскрипции в течение 24-48 ч.

Обратную транскрипцию проводили с использованием набора “High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit” (Applied Biosystems), согласно протоколу производителя. На реакцию брали 2-5 мкг суммарной РНК, добавляли рандом-праймеры, нагревали в течение 5 мин при 70 °С и переносили в ледяную баню на 2 мин, затем вносили смесь остальных реагентов (РНК-зависимую ДНК-полимеразу, дезоксинуклеотидтрифосфаты), инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре, затем в термостате

ТАБЛИЦА 1. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРАЙМЕРОВ

TABLE 1. SEQUENCES OF OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS

Ген Gene	Последовательности Sequences
<i>GAPDH</i>	F:5'-GGAGTCAACGGATTTGGTC-3' R:5'-TGGGTGGAATCATATTGGAACAT-3'
<i>TNFA</i>	F:5'-GCTGAT CCGATTCTGAAAC-3' R: 5'-CTCAGCTTGAGGGTTTGC-3'
<i>GM-CSF</i>	F:5'-GCTGCTGAGATGAATGAAACAG-3' R:5'-CGGAACTTCTGTGCAAC-3'
<i>IL 10</i>	F:5'-CAAGGCGCATGTGAACTC-3' R:5'-GCTTTGTAGATGCCTTTCTCTTG-3'

ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ мРНК РАЗЛИЧНЫХ ЦИТОКИНОВ В КЛЕТКАХ U937, ВЫЯВЛЕННЫЙ ПРИ ПОМОЩИ RT-qPCR

TABLE 2. LEVEL OF mRNA OF VARIOUS CYTOKINES IN U937 CELLS DETECTED BY RT-qPCR

Ген Gene	Ct (СП) Ct (SP)	Δ Ct	Ct (ПА) Ct (PA)	Δ Ct
<i>IL10</i>	27,26	10,76	29,19	10,34
<i>GAPDH</i>	16,50		18,85	
<i>TNFA</i>	25,44	9,20	28,65	10,33
<i>GAPDH</i>	16,24		18,32	
<i>GM-CSF</i>	31,10	14,90	27,79	9,49
<i>GAPDH</i>	16,20		18,30	

Примечание. Δ Ct – разность между циклами выхода исследуемого цитокина и *GAPDH*. Ct (СП) – пороговый цикл при спонтанной продукции цитокина, Ct (ПА) – пороговый цикл при воздействии поликлональных активаторов.

Note. Δ Ct, difference between the yield cycles of the cytokine and *GAPDH* studied. Ct (SP), threshold cycle for spontaneous cytokine production, Ct (PA), threshold cycle when exposed to polyclonal activators.

2 ч при 37 °С. По окончании реакцию останавливали прогреванием при 85 °С в течение 15 мин.

RT-qPCR проводили с использованием “Био-Мастер HS-qPCR SYBR Blue (2x)” (ООО Биоллабмикс, г. Новосибирск). Подобранные условия позволяли проводить амплификацию каждого из выбранных для исследования генов: 95 °С – 3 мин; 45 циклов (95 °С – 12 с, 58 °С – 15 с, 72 °С – 20 с, измерение флуоресценции); построение кривой плавления. На каждую точку брали по три повтора. В качестве референсного гена использовали *GAPDH*. Дизайн праймеров осуществляли с использованием онлайн-программы <https://eu.idtdna.com/calc/analyzer>. Последовательности праймеров приведены в таблице 1.

«Пороговый цикл» Ct строго коррелирует с начальным количеством комплементарной ДНК (кДНК, синтезированная на матрице мРНК в реакции обратной транскрипции) в пробе. Линейно зависит от логарифма количества исходной кДНК (обратно пропорциональная зависимость). Как видно из данных, представленных в таблице 2, наибольшее влияние ПА оказал на уровень мРНК *GM-CSF* – фактора роста продуцируемого дифференцированными в макрофа-

ги клетками U937. Что касается уровней мРНК *IL-10* и *TNF α* , то их изменения под влиянием ПА были менее выражены, по сравнению с мРНК *GM-CSF*.

Анализируя данные таблицы 3, можно прийти к заключению, что наиболее выраженное влияние ПА оказывает на продукцию ростового фактора, вырабатываемого макрофагами *GM-CSF*, что в принципе совпадает с результатами RT-qPCR. Сравнивая данные таблиц 2 и 3, необходимо отметить, что уровень мРНК *TNF α* при воздействии ПА снижался, в то время как концентрация данного цитокина в супернатанте возрастала. Полученные нами результаты согласуются с данными литературы о том, что белок *TNF α* в клеточной среде не отражает временных изменений в экспрессии клеточной мРНК *TNF α* , так как уменьшение клеточной мРНК возможно из-за ингибирования по механизму обратной связи [3, 8, 13].

В то время как цитокины могут накапливаться и оставаться в супернатанте, события на уровне мРНК, приводящие к их образованию, могут завершаться ранее [3, 4, 8, 13]. Поэтому пути передачи сигналов и кинетику выделения цитоки-

ТАБЛИЦА 3. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТЕ КЛЕТОК

TABLE 3. CONCENTRATION OF CYTOKINES IN THE CELL SUPERNATANT

Цитокины Cytokines	СП (пг/мл) SP (pg/ml)	ПА (пг/мл) PA (pg/ml)	ИВПА (у. е.) IVPA (с. у.)
IL-10	40,4	250,6	6,2
TNF α	96,6	308,3	3,2
GM-CSF	9,5	452,5	47,6

Примечание. СП – спонтанная продукция цитокина; ПА – при воздействии поликлональных активаторов. ИВПА = А/Б, где А – уровень стимулированной ПА продукции цитокина, Б – уровень спонтанной продукции цитокина.

Note. SP, spontaneous production of cytokine; PA, when exposed to polyclonal activators. IVPA = A/B, where A is the level of stimulated PA production of the cytokine, B is the level of spontaneous cytokine production.

нов следует изучать после описания временной зависимости с короткими интервалами, которая может быть индивидуальной для каждого цитокина.

Таким образом, полученные результаты исследования с использованием ПА позволяют сделать выводы о том, что: ПА, являясь митогенами, оказывают существенное влияние на концен-

трацию секретируемых IL-10, TNF α и GM-CSF; ПА оказывают влияние на уровни мРНК генов этих цитокинов, что указывает на транскрипционный механизм его действия; для достижения большего соответствия изменений изученных белков и мРНК необходимо подробное описание временной зависимости изменений содержания мРНК.

Список литературы / References

1. Чулкина М.М., Трофимов Д.Ю., Кофиади И.А., Алексеев Л.П., Савилова А.М. Комплексный анализ кинетики экспрессии мРНК цитокинов в реакции бластной трансформации с митогеном кола // Иммунология, 2014. Т. 36, № 6. С. 306-312. [Chulkin M.M., Trofimov D.Yu., Kofidi I.A., Alekseev L.P., Savilova A.M. Complex analysis of kinetics of mRNA expression of cytokines in the blast transformation reaction with mitogen of the cola. *Immunologiya = Immunology*, 2014, Vol. 36, no. 6, pp. 306-312. (In Russ.)]
2. Hitti E., Iakovleva T., Brook M., Deppenmeier S., Gruber A.D., Radzioch D., Clark A.R., Blackshear P.J., Kotlyarov A., Gaestel M. Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 regulates tumor necrosis factor mRNA stability and translation mainly by altering tristetraprolin expression, stability, and binding to adenine/uridine-rich element. *Mol. Cell. Biol.*, 2006, Vol. 26, no. 6, pp. 2399-2407.
3. Huang H., Fletcher A., Niu Y., Wang T.T.Y., Yu L. Characterization of lipopolysaccharide-stimulated cytokine expression in macrophages and monocytes. *Inflamm. Res.*, 2012, Vol. 61, no. 1, pp. 1329-1338.
4. Jaguin M., Houlbert N., Fardel O., Lecureur V. Polarization profiles of human M-CSF-generated macrophages and comparison of M1-markers in classically activated macrophages from GM-CSF and M-CSF origin. *Cell. Immunol.*, 2013, Vol. 281, no. 1, pp. 51-61.
5. Kang K., Jung H., Nam S., Lim J.S. NDRG2 Promotes GATA-1 Expression through regulation of the JAK2/STAT Pathway in PMA-stimulated U937 cells. *Immune Netw.*, 2011, Vol. 11, no. 6, pp. 348-357.
6. Liu L., Zubik L., Collins F.W., Marko M., Meydani M. The antiatherogenic potential of oat phenolic compounds. *Atherosclerosis*, 2014, Vol. 175, no. 1, pp. 39-49.
7. Mahmoud L., Al-Enezi F., Al-Saif M., Warsy A., Khabar K.S., Hitti E.G. Sustained stabilization of Interleukin-8 mRNA in human macrophages. *RNA Biol.*, 2014, Vol. 11, no. 2, pp. 124-133.
8. Murray P.J., Allen J.E., Biswas S.K., Fisher E.A., Gilroy D.W., Goerdt S., Gordon S., Hamilton J.A., Ivashkiv L.B., Lawrence T., Locati M., Mantovani A., Martinez F.O., Mege J.L., Mosser D.M., Natoli G., Saeij J.P., Schultze J.L., Shirey K.A., Sica A., Suttles J., Udalova I., van Ginderachter J.A., Vogel S.N., Wynn T.A. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*, 2014, Vol. 41, no. 1, pp. 14-20.
9. Nemeth Z.H., Bogdanovski D.A., Barratt-Stopper P., Paglinco S.R., Antonioli L., Rolandelli R.H. Crohn's disease and ulcerative colitis show unique cytokine profiles. *Cureus*, 2017, Vol. 9, no. 4, pp. 1-11.
10. Song M.G., Ryoo I.G., Choi H.Y., Choi B.H., Kim S.T., Heo T.H., Lee J.Y., Park P.H., Kwak M.K. NRF2 signaling negatively regulates phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA)-induced differentiation of human monocytic U937 cells into pro-inflammatory macrophages. *PLoS ONE*, 2015, Vol. 10, no. 7, pp. 1-18.
11. Sundstrom C., Nilsson K. Establishment and characterization of a human histiocytic lymphoma cell line (U-937). *Int. J. Cancer*, 1976, Vol. 17, no. 5, pp. 565-577.
12. Wang X., Guo J., Wang Y., Xiao Y., Wang L., Hua S. Expression levels of interferon regulatory factor 5 (IRF5) and related inflammatory cytokines associated with severity, prognosis, and causative pathogen in patients with community-acquired pneumonia. *Med. Sci. Monit.*, 2018, Vol. 30, no. 24, pp. 3620-3630.

13. Wong L.Y.F., Cheung B.M.Y., Li Y.Y., Tang F. Adrenomedullin is both proinflammatory and antiinflammatory: its effects on gene expression and secretion of cytokines and macrophage migration inhibitory factor in NR8383 macrophage cell line. *Endocrinology*, 2005, Vol. 146, no. 3, pp. 1321-1327.

Авторы:

Аутеншилюс А.И. — д.б.н., профессор, заведующий центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»; главный научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия

Иванов И.Д. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия

Голованова А.В. — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

Студеникина А.А. — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

Михайлова Е.С. — научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»; старший научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия

Вавилин В.А. — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией метаболизма лекарств и фармакокинетики, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия

Вараксин Н.А. — заведующий лабораторией АО «Вектор-Бест», п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Ляхович В.В. — д.б.н., профессор, академик РАН, научный руководитель лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Autenshlyus A.I., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Chief Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

Ivanov I.D., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

Golovanova A.V., Junior Research Associate, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Studenikina A.A., Junior Research Associate, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Mikhaylova E.S., Research Associate, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Senior Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

Vavilin V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Senior Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

Varaksin N.A., Head of Laboratory, JSC "Vector-Best", Novosibirsk, Russian Federation

Liakhovich V.V., PhD, MD (Biology), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Research Supervisor, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 17.09.2018

Отправлена на доработку 19.09.2018

Принята к печати 19.09.2018

Received 17.09.2018

Revision received 19.09.2018

Accepted 19.09.2018