



УДК 616.98: 579. 842. 23

ПРОТОЧНО-ЦИТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВЕТОРАССЕЯНИЯ В НЕОДНОРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ МЫШЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ КАПСУЛЬНЫМ АНТИГЕНОМ Ф1 ЧУМНОГО МИКРОБА



В. А. Кожевников, А. Ф. Курылина, А. Л. Кравцов, Т. Н. Щуковская, С. А. Бугоркова

Кожевников Виталий Александрович, младший научный сотрудник, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: 787868@mail.ru

Курылина Анжела Федоровна, научный сотрудник, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: rusrap1@microbe.ru

Кравцов Александр Леонидович, ведущий научный сотрудник, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: rusrap1@microbe.ru

Щуковская Татьяна Николаевна, главный научный сотрудник, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: rusrap1@microbe.ru

Бугоркова Светлана Александровна, заведующий отделом иммунологии, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (Саратов). E-mail: rusrap1@microbe.ru

Цель исследования – изучить неоднородные популяции лейкоцитов крови и брюшной полости мышей, иммунизированных капсульным антигеном чумного микроба. В работе использовали мышей самцов линии BALB/c. Реакцию клеток иммунофагоцитарной системы оценивали методом проточной цитофлуориметрии, по показателям интенсивности прямого и бокового светорассеяния, коррелирующим соответственно с изменениями клеточного объема и внутриклеточной гранулярности. Информация, полученная в ходе работы, свидетельствует об эффективности применения выбранных клеточных показателей при оценке уровня реактивности организма на противочумную вакцинацию.

Ключевые слова: противочумная вакцинация, проточная цитометрия, реактивность организма.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-446-451

Проточная цитометрия, как уникальная технология быстрого измерения различных параметров в неоднородных клеточных популяциях появилась в результате длительного естественного развития традиционных гистохимических и цитохимических методов анализа [1]. В современных проточных анализаторах автоматическую дифференцировку изучаемых объектов осуществляют по интенсивности флуоресценции, а также дополнительно по двум морфологическим параметрам путём измерения интенсивностей малоуглового и бокового светорассеяния для

каждой из десятков тысяч отдельных клеток в потоке [2]. Рассеяние света под малыми углами ($1-10^\circ$) измеряется для определения клеточного объёма (размера) [1, 2], связанного строгой прямой корреляционной зависимостью с таким важнейшим функциональным параметром, как уровень продукции клеткой суммарного белка [3]. Боковое рассеяние света (под углом 90°) несёт информацию о внутриклеточной структуре клетки – о степени гранулярности её цитоплазмы, а также о соотношении площадей ядра и цитоплазмы [2,4].

Параметры светорассеяния представляют особую ценность при экспресс-анализе лейкоцитов в микрообъёмах цельной крови, поскольку суммарная неоднородная лейкоцитарная популяция разделяется по степени гранулярности на три типа клеток (лимфоциты, моноциты и гранулоциты), а это открывает уникальную возможность для мониторинга за изменениями в крови относительного содержания лимфоцитов и клеток врождённого иммунитета (фагоцитов) [5, 6]. С другой стороны, оценка параметров светорассеяния – это наиболее простой и быстрый способ документации клеточной гибели, используемый в случаях предварительной, ориентировочной характеристики клеточного повреждения под влиянием того или иного реактогенного воздействия [2].

Структурно-функциональные изменения в клетках иммунной системы происходят при формировании в вакцинированном организме приобретённого противочумного иммунитета и всё чаще оцениваются в последние годы методом импульсной проточной цитометрии [7–9]. Однако показатели светорассеяния лейкоцитов в крови и других биологических жидкостях организма не изучались в процессе иммуногенеза при чуме современными автоматизированными методами цитологического анализа.

Целью настоящей работы явилось исследование показателей светорассеяния в неоднородных популяциях лейкоцитов крови и брюшной полости мышей, иммунизированных капсульным антигеном чумного микроба.



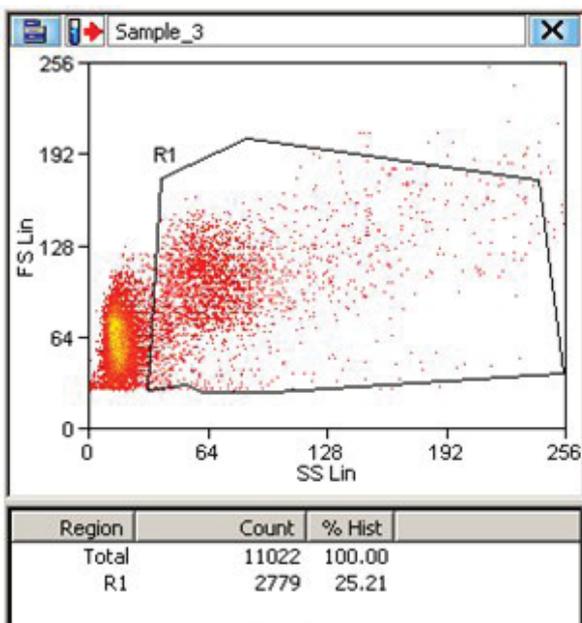
Материалы и методы

В работе использовали мышей самцов линии BALB/c весом 20–25 г, разделенных на 5 групп. Первую и вторую группы подкожно иммунизировали капсульным антигеном (Ф1) чумного микроба в дозах 50 мкг и 100 мкг в 0,2 мл забуференного физиологического раствора pH 7,4 (ЗФР). Третья группа мышей иммунизировалась дозой 50 мкг Ф1 вместе с полным адъювантом Фрейнда (ПАФ) [10]. В четвертой группе так же использовалось 50 мкг Ф1, но совместно с полиоксидонием (ПО), являющимся модулятором функциональной активности клеток врождённого иммунитета [11]. Пятая группа являлась контрольной, ей вводился только ЗФР.

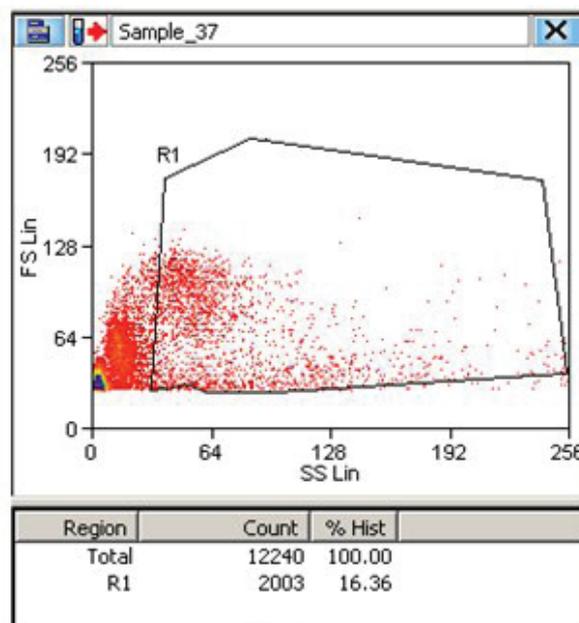
Реакцию клеток иммунофагоцитарной системы оценивали по исследуемым показателям в неоднородных популяциях лейкоцитов крови и перитонеального лаважа животных на 1-е, 3-и и 21-е сутки после иммунизации. Для этого мышей убивали с помощью декапитации, выделяли кровь в пробирки с гепарином, а в брюшную полость вводили по 4 мл стерильного ЗФР для последующего получения взвеси клеток перитонеального лаважа [12, 13]. По 100 мкл из каждого образца крови добавляли к 2 мл лизирующего раство-

ра (EasyLyse Erythrocyte Lysing Reagent фирмы Dako Cytomation, Дания) и выдерживали 15 мин при комнатной температуре до полного лизиса эритроцитов. Присутствующие в плазме крови лейкоциты исследовали на лазерном проточном цитометре CyAn ADP фирмы DakoCytomation (Дания) с использованием единых настроек прибора для всех образцов. Цитометрию клеток перитонеального лаважа проводили в ЗФР без использования процедуры лизиса эритроцитов [6].

Для визуализации, анализа и статистической обработки цитометрических данных применяли программное обеспечение Summit v. 4.3 Built 2445 (Dako). Лейкоциты дифференцировали по двум показателям: по объёму (размеру) и по степени гранулярности цитоплазмы, измеряя от каждой клетки, соответственно, интенсивность малоуглового (FS) и бокового светорассеяния (SS). Результат представляли в виде цитограммы (рис. 1) и двух характерных гистограмм (рис. 2, 3), из которых определяли относительное содержание (в %) лимфоцитов и грануло-содержащих клеток (фагоцитов). Фагоциты с нормальным (исходным) состоянием цитоплазматических гранул учитывали в области R1 контрольной цитограммы (см. рис. 1) [6].



a



б



Рис. 1. Цитограммы интенсивности прямого (FS – Front Scatter) и бокового (SS – Side Scatter) светорассеяния отдельных лейкоцитов крови мышей. Результаты измерения представлены в условных единицах (каналах) интенсивности светорассеяния от 0 до 256. На каждой цитограмме область R1 соответствует фагоцитам, которые отличаются от лимфоцитов (клеток вне области R1) по степени гранулярности: *a* – до иммунизации, R1 – фагоциты с исходной степенью гранулярности цитоплазмы; *б* – через сутки после иммунизации, R1 – фагоциты с изменённой степенью гранулярности цитоплазмы

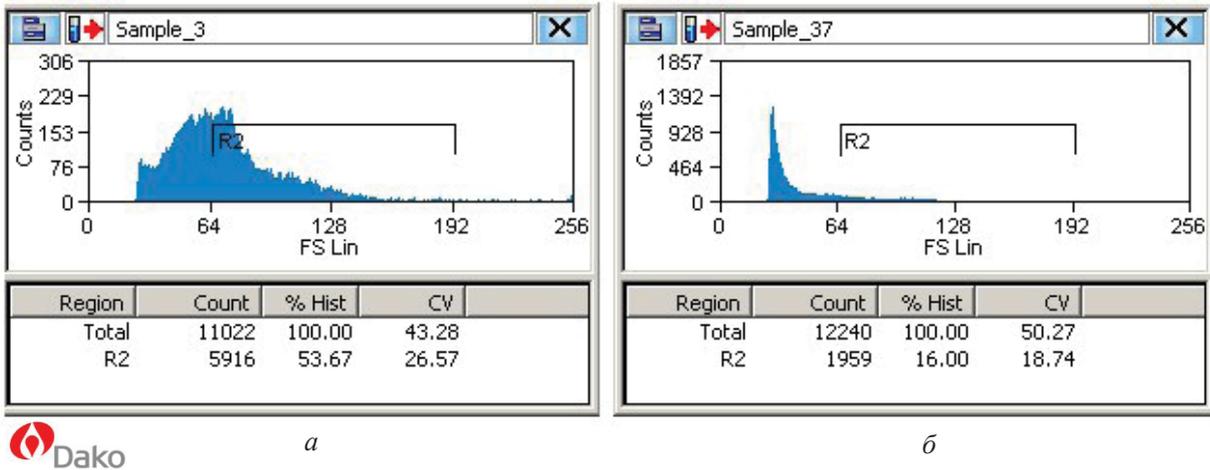


Рис. 2. Гистограммы, отражающие частотные распределения отдельных клеток по интенсивности прямого светорассеяния (FS). По оси абсцисс интенсивность FS от 0 до 256 условных единиц. По оси ординат количество клеток, зарегистрированных на каждую условную единицу. Область R2 соответствует крупным клеткам (Кр.К.) с интенсивностью светорассеяния более 64 условных единиц: а – до иммунизации; б – через сутки после иммунизации

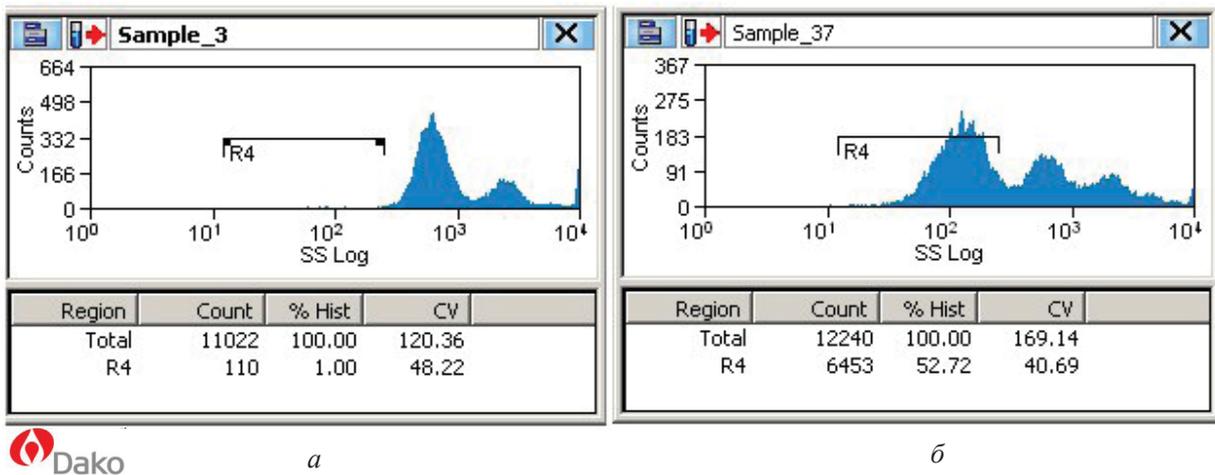


Рис. 3. Распределение клеток по интенсивности бокового светорассеяния (SS). По оси абсцисс SS в условных единицах интенсивности светорассеяния от 0 до 256. По оси ординат количество клеток, зарегистрированных на каждую условную единицу. В область R4 попадают клетки с измененной внутренней структурой: а – до иммунизации; б – через сутки после иммунизации

До и после иммунизации оценивали также в крови и брюшной полости животных долю крупных клеток (КрК), учитываемых цитометром в области R2 линейной FS гистограммы (см. рис. 2), соответствующей значениям более 64 условных единиц (каналов) интенсивности малоуглового светорассеяния. Степень неоднородности лейкоцитарных популяций по исследуемым параметрам FS и SS рассчитывали путём определения статистических значений коэффициентов вариации (CV).

Для оценки статистической значимости межгрупповых различий использовали *t*-критерий Стьюдента и достоверными считали различия при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Цитограмма, представленная на рис. 1, наглядно свидетельствует, что метод проточной цитометрии позволяет чётко дифференцировать лимфоциты по двум исследуемым показателям от более крупных гранулодержающих фагоцитов. В крови и брюшной полости интактных мышей доля клеток врождённого иммунитета (фагоцитов) была приблизительно одинаковой (около 30%), что подтверждается литературными данными [6, 13]. Однако через сутки после иммунизации, при двух исследованных дозах антигена, регистрировали снижение в периферической крови относительного количества фагоцитов с исходной степенью гранулярности. Доля крупных лейкоцитов (Кр.К.) через сутки



уменьшалась в крови более чем вдвое, а степень неоднородности суммарной лейкоцитарной популяции в этот срок по исследуемым показателям (CV_{SS} , CV_{FS}) существенно увеличивалась. В циркуляции появлялись клетки с характерными внутренними структурными изменениями (особая клеточная популяция по показателю SS), в норме отсутствующие в периферической крови контрольных лабораторных животных (табл. 1, 2).

Описанные выше изменения клеточного состава наглядно представлены в виде соответствующих гистограмм на рис. 3. Клетки с измененной внутренней структурой располагались в области R4 (см. рис. 3) опытной SS гистограммы. А сравнение областей R2 на опытной (см. рис. 2, б) и контрольной (см. рис. 2, а.) FS гистограммах иллюстрирует характерное снижение в крови доли более крупных клеточных элементов после иммунизации.

Таблица 1

Показатели светорассеяния лейкоцитов крови мышей в зависимости от срока иммуногенеза, дозы капсульного антигена и адьювантов

Препарат/доза	Сутки	Особая популяция SS,%	Фагоциты, %	Кр. К. %	CV SS, %	CV FS, %
Ф1 50 мкг	1	42,4 ± 3,8	18,8 ± 1,3	22,5 ± 0,6	160,2 ± 3,6	54,8 ± 1,6
	3	4,3 ± 0,9	45,6 ± 2,7	60,8 ± 2,0	109,7 ± 4,3	35,7 ± 0,5
	21	1,7 ± 0,1	37,7 ± 4,5	53,0 ± 3,6	95,2 ± 1,4	50,5 ± 1,2
Ф1 100 мкг	1	37,5 ± 2,4	22,4 ± 1,6	20,6 ± 1,7	169,1 ± 2,7	52,0 ± 1,3
	3	4,5 ± 1,1	46,1 ± 3,8	56,2 ± 0,3	113,8 ± 1,4	36,4 ± 0,8
	21	3,5 ± 1,5	44,1 ± 1,7	49,6 ± 5,3	80,0 ± 1,8	46,3 ± 1,1
Ф1 50 мкг + ПО	1	10,4 ± 1,3	24,6 ± 3,6	43,8 ± 2,8	133,8 ± 4,6	40,6 ± 3,0
	3	2,2 ± 0,2	35,3 ± 2,9	60,1 ± 2,6	106,4 ± 2,2	35,0 ± 1,1
	21	8,9 ± 2,0	26,8 ± 1,5	46,4 ± 2,5	102,1 ± 2,0	42,2 ± 0,6
Ф1 50 мкг + ПАФ	1	37,7 ± 8,3	22,7 ± 4,5	19,0 ± 0,4	184,0 ± 12,8	43,6 ± 2,0
	3	18,6 ± 3,4	35,2 ± 0,8	47,7 ± 4,1	122,0 ± 6,2	41,5 ± 1,9
	21	3,4 ± 0,6	44,2 ± 2,6	45,7 ± 4,6	92,2 ± 5,8	46,0 ± 3,0
Контроль	–	1,1 ± 0,2	33,7 ± 1,9	53,9 ± 0,5	110,7 ± 3,9	39,4 ± 0,8

Таблица 2

Показатели светорассеяния клеток брюшной полости мышей в различные сроки иммуногенеза, влияние дозы капсульного антигена и адьювантов

Препарат/доза	Сутки	Особая популяция SS,%	Фагоциты, %	Кр. К. %	CV SS, %	CV FS, %
Ф1 50 мкг	1	1,8 ± 0,2	33,3 ± 3,4	74,2 ± 1,3	121,5 ± 6,4	31,3 ± 0,6
	3	0,56 ± 0,1	24,6 ± 1,6	86,3 ± 0,4	93,8 ± 2,1	26,5 ± 0,7
	21	0,34 ± 0,07	28,1 ± 1,0	82,3 ± 0,5	102,5 ± 2,2	28,3 ± 0,7
Ф1 100 мкг	1	1,6 ± 0,3	21,1 ± 1,0	70,1 ± 1,7	137,9 ± 4,3	32,7 ± 0,7
	3	0,9 ± 0,08	17,6 ± 0,5	82,1 ± 0,4	95,7 ± 1,1	26,2 ± 0,4
	21	0,5 ± 0,05	28,3 ± 2,1	77,8 ± 0,3	111,4 ± 2,2	28,8 ± 1,4
Ф1 50 мкг + ПО	1	4,8 ± 2,0	23,2 ± 1,9	54,4 ± 3,0	122,1 ± 3,0	35,5 ± 1,8
	3	0,8 ± 0,3	23,8 ± 0,6	82,2 ± 1,6	94,6 ± 3,2	27,1 ± 0,7
	21	0,7 ± 0,2	26,2 ± 2,3	74,9 ± 2,3	107,2 ± 0,8	31,1 ± 1,1
Ф1 50 мкг + ПАФ	1	1,7 ± 0,3	20,9 ± 2,4	71,3 ± 0,2	110,3 ± 1,5	32,4 ± 0,9
	3	0,3 ± 0,06	22,6 ± 0,9	83,4 ± 0,7	102,5 ± 4,9	27,6 ± 0,3
	21	0,8 ± 0,2	20,2 ± 1,1	78,1 ± 1,6	122,6 ± 6,0	29,3 ± 0,3
Контроль	–	0,13 ± 0,03	25,4 ± 5,4	63,6 ± 3,6	88,3 ± 2,9	38,2 ± 2,0



Известно, что капсульный антиген чумного микроба после подкожного введения его мышам в дозе 100 мкг запускает в организме животных этого вида процесс формирования приобретённого противочумного иммунитета. При этом в максимальном количестве антиген поступает в кровь из места введения на 1-е сутки иммуногенеза, а к 3-м суткам уже полностью выводится из организма и серологическими методами в крови не детектируется. Видимо, поэтому мы регистрировали по показателям светорассеяния наиболее выраженную клеточную реакцию в ответ на Ф1 чумного микроба только в крови и только на 1-е сутки. Особенность реакции клеток брюшной полости заключалась в том, что в исследуемые сроки капсульный антиген не изменял относительное содержание фагоцитов в перитонеальном лаваже. Доля КрК достоверно увеличивалась, начиная с 3-х суток иммуногенеза (см. табл. 1 и табл. 2), не за счёт миграции в брюшную полость клеток врождённого иммунитета (нейтрофилов и макрофагов), а за счёт активированных лимфоцитов, которые, как известно, увеличиваются в размерах и, как следствие, приобретают способность к более интенсивному прямому светорассеянию, когда начинают синтезировать повышенное количество суммарного белка (цитокиннов, антител и др.) на клетку [3].

По литературным данным, на 1-е сутки иммуногенеза в периферической крови мышей, привитых препаратами Ф1 чумного микроба, в наибольшем количестве появляются лейкоциты с изменённым состоянием ядерного хроматина и цитоплазматических гранул [7, 8]. Эти внутриклеточные структурные изменения не могли не проявиться в сдвигах показателей интенсивности светорассеяния, в снижении в крови доли фагоцитов, обладающих исходной степенью гранулярности. В особую популяцию клеток с пониженными значениями показателя SS, вероятнее всего, попадали после иммунизации фагоциты с деконденсированным ядерным хроматином [13] и пониженным в результате секреторной дегрануляции содержанием цитоплазматических гранул [4]. С другой стороны, хорошо известно, что при некрозе и на поздних этапах апоптоза, когда лейкоциты распадаются на апоптозные тельца, метод импульсной проточной цитометрии позволяет регистрировать при анализе больших статистических выборок отдельных клеток резкое снижение показателей прямого и бокового светорассеяния [2]. Поэтому не исключено, что в особую популяцию попадали также активированные лимфоциты и фагоциты, подвергающиеся после взаимодействия с антигеном апоптозу и по-

следующему пост-апоптотическому аутолизису (вторичному некрозу).

Скорость поступления капсульного антигена в циркуляцию мы изменяли путем введения его в организм мышей совместно с ПАФ. В данном случае иммуноген поступает в кровь постепенно и выводится из организма в течение 3–4 суток, что, как известно, продлевает и усиливает гуморальный иммунный ответ на введение Ф1 [10]. Результаты наших исследований подтверждают, что использование ПАФ изменяет реактивность организма на клеточном уровне, продлевая до 3 суток и усиливая реакцию лейкоцитов крови по исследуемым параметрам светорассеяния. Совсем иную клеточную реакцию отмечали при использовании адъюванта нового поколения (полиоксидония), который, наоборот, снижал реактогенность используемой дозы капсульного антигена чумного микроба по исследуемым клеточным показателям (см. табл. 1). Это можно объяснить известной способностью полиоксидония модулировать функциональную активность фагоцитов [11] и, как следствие, ослаблять повреждающий эффект бактериальных антигенов на клетки врождённого иммунитета организма хозяина в условиях *in vivo* [6].

Таким образом, полученная в работе информация свидетельствует, что на клеточном уровне реакцию организма в ответ на противочумную вакцинацию можно эффективно оценивать методом проточной цитометрии по показателям интенсивности прямого и бокового светорассеяния. Применение такого подхода при исследовании клеток крови и других биологических жидкостей не требует длительной пробоподготовки, использования дорогостоящих флуоресцирующих красителей или меченых красителями фенотипических маркеров. Экономически это выгодно, когда требуется быстрая, предварительная сравнительная оценка нескольких препаратов, различающихся по реактогенности и иммуногенности. Используя показатели светорассеяния, можно повысить эффективность определения оптимальных сроков наиболее интенсивной ответной клеточной реакции на исследуемые антигены для дальнейшего детального изучения молекулярных механизмов этой реакции с использованием дорогостоящих поверхностных или внутриклеточных флуоресцирующих маркеров.

Список литературы

1. Muirhead K. A., Horan P. K., Poste G. Flow cytometry: present and future // *Biotechnology*. 1985. Vol. 3, № 4. P. 337–3356.



2. Вопросы современной проточной цитометрии. Клиническое применение / под ред. С. В. Хайдукова, А. В. Зурочки. Челябинск : Бумажный двор, 2008. 195 с.
3. Iritani B. M., Eisenman R. N. C-Myc enhances protein synthesis and cell size during B lymphocyte development // PNAS. 1999. Vol. 96, № 23. P. 13180–13185.
4. Sklar L. A., Oades Z. G., Finnay D. A. Neutrophil degranulation detected by right angle light scattering : spectroscopic methods suitable for simultaneous analysis of degranulation or shape change, elastase release, and cell aggregation // J. Immunology. 1984. Vol. 133, № 3. P. 1483–1487.
5. Исследование системы крови в клинической практике / под ред. Г. И. Козинца, В. А. Макарова. М. : Триада-Х, 1997. 480 с.
6. Кравцов А. Л., Клюева С. Н., Бугоркова С. А. Влияние иммуномодуляторов на реактивность клеток иммунной системы при моделировании противотуляремийного вакцинного процесса // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. Т. 15, № 3 (88). С. 94–101.
7. Кравцов А. Л. Микрофлуориметрическое исследование в потоке гетерогенных популяций бактерий *Yersinia pestis* и клеток иммунной системы инфицированных чумой лабораторных животных : дис. ... д-ра биол. наук. Саратов, 1997. 239 с.
8. Киреев М. Н., Кравцов А. Л., Тараненко Т. М., Храменкова Т. А., Клюева С. Н., Гусева Н. П., Шмелькова Т. П. Сравнительная оценка методом проточной цитофлуориметрии степени активации клеток иммунофагоцитарной системы у мышей, иммунизированных различными препаратами капсульного антигена чумного микроба // Проблемы особо опасных инфекций. 2007. № 2 (94). С. 61–64.
9. Фирстова В. В., Бахтеева И. В., Титарева Г. М., Зырина Е. В., Иванов С. А., Киселёва Н. В., Копылов П. Х., Анисимов А. П., Дятлов И. А. Определение экспрессии маркера ранней активации CD69 на лимфоцитах иммунных мышей после стимуляции их антигенами чумного микроба // Проблемы особо опасных инфекций. 2010. № 1 (103). С. 56–59.
10. Леви М. И., Басова Н. Н., Дурихин К. В., Фоменко Г. А., Кравцов Ф. Е., Лившиц М. М. Количественная связь между дозой антигена и длительностью его обнаружения в месте введения при первичной иммунизации // ЖМЭИ. 1972. № 1. С. 42–49.
11. Пинегин Б. В., Некрасов А. В., Хаитов Р. М. Иммуномодулятор полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения // Цитокины и воспаление. 2004. № 3. С. 41–47.
12. Фримель Х. Иммунологические методы. М. : Медицина, 1987. 472 с.
13. Landoni V. I., Chiarella P., Martire-Greco D., Schierloh P., Rooijen N. van, Rearte B., Palermo M. S., Isturiz M. A., Fernandez G. C. Tolerance to lipopolysaccharide promotes an enhanced neutrophil extracellular traps formation leading to a more efficient bacterial clearance in mice // Clin. Exper. Immunol. 2012. Vol. 168. P. 153–63.

Flow Cytometry Investigations Indicators Light Scattering in the Heterogeneous Population Immune System Cells from Mice Immunized with F1 Capsular Antigen, *Yersinia pestis*

V. A. Kozhevnikov, A. F. Kurylina, A. L. Kravtsov, T. N. Shchukovskaya, S. A. Bugorkova

Vitaliy A. Kozhevnikov, ORCID 0000-0001-7267-7027, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, 787868@mail.ru

Anzhela F. Kurylina, ORCID 0000-0001-9639-6764, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Alexander L. Kravtsov, ORCID 0000-0002-9016-6578, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Tatyana N. Shchukovskaya, ORCID 0000-0001-8995-0894, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Svetlana A. Bugorkova, ORCID 0000-0001-7548-4845, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya Str., 410005, Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

Aim – heterogeneous populations of blood leukocytes and abdominal cavity of mice immunized with a capsular antigen of a plague microbe. Male mice of the BALB / c line were used in the work. The reaction of the cells of the immunophagocytic system was assessed by flow cytometry, in terms of the intensity of direct and lateral light scattering, correlating with changes in the cell volume and intracellular granularity. The information obtained in the course of the work testifies to the effectiveness of the application of selected cellular indices when assessing the level of the organism's reactivity to antiplague vaccination.

Key words: antiplague vaccination, flow cytometry, body reactivity.

Образец для цитирования:

Кожевников В. А., Курьлина А. Ф., Кравцов А. Л., Шуковская Т. Н., Бугоркова С. А. Проточно-цитометрическое исследование показателей светорассеяния в неоднородных популяциях клеток иммунной системы мышей, иммунизированных капсульным антигеном Ф1 чумного микроба // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 446–451. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-446-451.

Cite this article as:

Kozhevnikov V. A., Kurylina A. F., Kravtsov A. L., Shchukovskaya T. N., Bugorkova S. A. Flow Cytometry Investigations Indicators Light Scattering in the Heterogeneous Population Immune System Cells from Mice Immunized with F1 Capsular Antigen, *Yersinia pestis*. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 446–451 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-446-451.