

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01,
созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), по диссертации на соискание
ученой степени кандидата биологических наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 10 июня 2020 г. №17

О присуждении **Мамедову Азаду Энверовичу**, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярный механизм взаимодействия фрагментов основного белка миелина с главным комплексом гистосовместимости II класса человека» по специальности 03.01.03 (Молекулярная биология) принята к защите 27 марта 2020 г., протокол № 11 Диссертационным советом 002.019.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН; 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10), действующим на основании Приказа Минобрнауки России №75/нк от 15 февраля 2013 г.

Соискатель Мамедов Азад Энверович, 1985 года рождения, в 2007 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по специальности «Биохимия». В настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории биокатализа отдела пептидно-белковых технологий ИБХ РАН. Диссертация выполнена в лаборатории биокатализа отдела пептидно-белковых технологий ИБХ РАН.

Научный руководитель - академик РАН, доктор химических наук, профессор **Габиров Александр Габирович**, директор и заведующий лабораторией биокатализа ИБХ РАН.

Официальные оппоненты:

Лагарькова Мария Андреевна, чл.-корр. РАН, профессор, д.б.н., заведующая лабораторией клеточной биологии Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства России;

Ефимов Григорий Александрович, к.б.н., заведующий лабораторией трансплантационной иммунологии «Национального медицинского исследовательского центра гематологии» Минздрава России

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН), г. Москва, в своем *положительном* заключении, подписанном д.б.н., профессором Прасоловым Владимиром Сергеевичем, главным научным сотрудником лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний ФГБУН Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, и утвержденном д.б.н., профессором, академиком РАН Макаровым Александром Александровичем, директором ФГБУН Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, отметила, что диссертация Мамедова А.Э. является научно-квалифицированной работой, которая вносит заметный вклад в понимание природы рассеянного склероза, и указала, что диссертационная работа Мамедова Азада Энверовича соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - Молекулярная биология.

Соискатель имеет 8 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 3 работы, объемом 11 печатных листов, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, входящих в базы данных Web of Science и Scopus. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные работы по теме диссертации, в которые А.Э. Мамедов внес основной вклад, включают:

1. Mamedov A.E., Ponomarenko N.A., Belogurov A.A. Jr, Gabibov A.G. Heterodimer HLA-DM Fused with Constant Fragment of the Heavy Chain of the Human Immunoglobulin Accelerates Influenza Hemagglutinin HA306-318 Loading to HLA-DR1. Bull Exp Biol Med. 2016 May; 161(1):92-5. Epub 2016 Jun 6.
2. А.Э. Мамедов, М.Ю. Захарова, О.О. Фаворова, О.Г. Кулакова, А.Н. Бойко, В.Д. Кнорре, Н.А. Воробьева, Е.Н. Хурс, И.С. Киселев, Н.М. Баулина, академик РАН А.Г. Габиров, А.А. Белогуров. Скорость загрузки чужеродных и аутоантигенных детерминант на главный комплекс гистосовместимости второго класса опосредует резистентность к развитию рассеянного склероза. Доклады академии наук, 2019, том 485, №2, с. 113 – 116.
3. Azad Mamedov, Nadezhda Vorobyeva, Ioanna Filimonova, Maria Zakharova, Ivan Kiselev, Vitalina Bashinskaya, Natalia Baulina, Alexey Boyko, Alexander Favorov, Olga Kulakova, Rustam Ziganshin, Ivan Smirnov, Alina Poroshina, Igor Shilovskiy, Musa Khaitov, Yuri Sykulev, Olga Favorova, Valentin Vlassov, Alexander Gabibov and

Alexey Belogurov Jr. Protective Allele for Multiple Sclerosis HLA-DRB1*01:01 Provides Kinetic Discrimination of Myelin and Exogenous Antigenic Peptides. Front Immunol, 10, 3088, 2020 Jan 17.

На диссертацию поступили отзывы:

Отзыв официального оппонента д.б.н., профессора, чл.-корр. РАН Лагарьковой Марии Андреевны. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1. Автор не захотел, видимо, облегчить понимание своей рукописи – в диссертации отсутствуют разделы, повествующие о целях и задачах исследования.
2. Обзор литературы очень подробный, но в конце обзора хотелось бы прочитать некое заключение, которое подводило бы читателя к пониманию того, какие важные вопросы остались нерешенными, и как их предлагает решить диссертант.
3. Не очень удобно следить по тексту за описанием создания векторов. Карты помещены в приложение, а без карт следить за логикой клонирования довольно трудно. Списка праймеров тоже в диссертации не приведено, в результате описание конструирования векторов представляет часто набор заглавных букв из названий промежуточных конструкторов.
4. Обсуждение результатов практически отсутствует, и сразу за последней картинкой следуют выводы. Несколько удивляет отсутствие раздела «заключение» в самой диссертации, хотя в автореферате он есть, и отсутствие раздела «благодарности».
5. Хотелось бы получить от диссертанта разъяснение, что означает фраза «Полученные результаты обеспечивают новый вектор оптимизации пептидных лигандов с точки зрения кинетической дискриминации антигенов HLA класса II.» Куда направлен вектор и какая у дискриминации точка зрения?

Отзыв официального оппонента к.б.н. Ефимова Григория Александровича. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1. Отсутствие целей и задач в тексте диссертации. В автореферате этот раздел также написан недостаточно четко. Очевидно, что сам автор хорошо представляет себе, в чем заключаются цель и задачи его исследования, но умение четко структурировать эту информацию и подать ее в понятной для читателя форме также является важным навыком, наряду с тщательной постановкой экспериментов.
2. Вызывает сомнение использованный подход для оценки иммуногенности пептидов MBP, представляемых протективным аллелем. Тот факт, что в краткосрочной экспансии не были детектированы клетки, специфичные к пептиду

MBP₁₄₆₋₁₇₀, может свидетельствовать как об отсутствии его презентации, так и об эффективной отрицательной селекции специфичных Т-лимфоцитов в тимусе.

Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1. Имеются небольшие стилистические шероховатости и англицизмы.
2. На Рисунке 4.4.Б на фотографии геля не для всех маркерных полос приведена соответствующая им величина.

Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обосновывается их научными достижениями в области молекулярной иммунологии и нейродегенерации, которые подтверждены сериями их публикаций в ведущих российских и международных журналах. Высокая квалификация, большой опыт исследовательской работы оппонентов и представителей ведущей организации позволяет им объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, ее теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработаны модифицированные методики получения рекомбинантных HLA-DR и HLA-DM, а также иммуноферментного анализа кинетики загрузки антигенных фрагментов на MHC II с использованием рекомбинантных пептидов, слитных с тиоредоксином. Данный подход позволяет эффективно сравнивать скорости загрузки различных аутоантигенных и вирусных детерминант как в прямом, так и в конкурентном анализе. Диссертантом впервые предложен и подтвержден *in vitro* возможный протективный механизм одного из аллелей HLA-DRB1, заключающийся в кинетической дискриминации антигенов эндогенной и экзогенной природы, в случае рассеянного склероза. Кроме того, впервые было показано, что белок, продукт протективного аллеля HLA-DRB1, способен связывать аутоантигенный фрагмент с высокой аффинностью, а также был идентифицирован ранее неизвестный пептид MBP, расположенный на С-конце основного белка миелина (MBP), одного из антигенов рассеянного склероза, узнаваемый HLA-DR.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что автором получены результаты по кинетической составляющей в процессе пептидного обмена на MHC II, являющейся основой для одного из возможных механизмов протективности HLA-DR в случае рассеянного склероза. С использованием разработанных методов получения MHC II и иммуноферментного анализа загрузки рекомбинантных пептидов слитных с тиоредоксином, на HLA-DR, раскрыты молекулярные особенности, влияющие на различие в скорости загрузки пептидов на HLA-DR, а именно влияние строения С-

концевой части пептида на эффективность связывания с МНС II. Кроме того, изучена конкурирующая способность миелиновых и вирусных пептидов за связывание с тем или иным HLA-DR. В данной работе показано, что в ходе дискриминации пептидов, связывающихся специфически с МНС, важную роль играет не только специфичность связывания, но и скорость самого процесса. Полученные в этой работе данные дают перспективу дальнейшему изучению механизмов протективности и влияния особенностей кинетики процесса загрузки тех или иных аутоантигенных или вирусных детерминант и расширению области исследования в сторону других аутоиммунных заболеваний, а, возможно, и вирусных инфекций. Все вышесказанное расширяет современное представление о молекулярных механизмах пептидного обмена на МНС II.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, что разработанный подход кинетической дискриминации может позволить делать отбор наиболее конкурентноспособных пептидов (или модифицировать пептиды, для которых свойственна низкая скорость загрузки так, чтобы ее увеличить). Такие пептиды могут стать в будущем хорошими терапевтическими агентами. Дальнейшие исследования должны определить, может ли предполагаемый молекулярный механизм загрузки антигенного пептида на МНС II, иметь более общее значение в вопросе защиты людей от аутоиммунных реакций наряду с центральной толерантностью, установленной во время отрицательного отбора пролифилирующих Т-клеток в тимусе, что может лечь в основу лечения аутоиммунных заболеваний. Понимание молекулярных тонкостей процесса презентации, от загрузки пептидов на HLA-DR до представления и распознавания их Т-клетками, может также помочь в разработке методов лечения рассеянного склероза и других аутоиммунных заболеваний.

Достоверность результатов исследования сомнений не вызывает: экспериментальные данные были получены с использованием сертифицированного оборудования, воспроизводимость результатов продемонстрирована неоднократно. При анализе данных были использованы современные методы сбора и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в разработке, планировании и проведении экспериментов, анализе полученных результатов. Основные результаты работы были получены лично соискателем – получение всех генетических конструкций и рекомбинантных белков, разработка метода анализа кинетики загрузки пептидов на HLA-DR, все эксперименты *in vitro* по изучению загрузки пептидов на HLA-DR. Генетический анализ аллелей гена HLA-DRB1 пациентов с РС русской

национальности был проведен совместно с профессором О.О. Фаворовой, доцентом О.Г. Кулаковой и Лабораторией медицинской геномики РНИМУ им. Н.И. Пирогова, а также профессором А.Н. Бойко и Московским центром рассеянного склероза. Пептидный анализ LC-MS/MS был выполнен совместно с Р.Х. Зиганшиным и лабораторией протеомики ИБХ РАН. Анализ пролиферации Т-клеток с помощью CFSE был проведен совместно с чл.-корр. РАН, профессором М.Р. Хаитовым, И.П. Шиловским, А.С. Порошиной и Институтом иммунологии ФМБА России. Автор лично представлял результаты работы на различных конференциях, принимал непосредственное участие в написании и подготовке к печати всех публикаций по проделанной работе.

На основании вышеизложенного диссертационный совет заключает, что диссертация Мамедова А.Э. является законченной научно-квалификационной работой, результаты которой имеют важное значение для развития молекулярной иммунологии, в частности для понимания молекулярных механизмов презентации антигенов. Работа написана автором самостоятельно и содержит новые и актуальные научные результаты. Таким образом, диссертационная работа Мамедова Азада Энверовича «Молекулярный механизм взаимодействия фрагментов основного белка миелина с главным комплексом гистосовместимости II класса человека», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, соответствует всем требованиям (в том числе п.9), предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650).

На заседании 10 июня 2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Мамедову Азаду Энверовичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 7 докторов наук (по специальности 03.01.03 – молекулярная биология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 23, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель
диссертационного совета

академик РАН, д.х.н. Иванов В.Т.

Ученый секретарь
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.

15 июня

2020 г.

