

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук по диссертации на соискание ученой степени доктора наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 20 июня 2018 года № 12

О присуждении **Белогурову Алексею Анатольевичу**, гражданину Российской Федерации, ученой степени доктора химических наук.

Диссертация «Биохимические основы аутоиммунной нейродегенерации» по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия принята к защите 16 марта 2018 г., протокол №6 диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10), действующим на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель Белогуров Алексей Анатольевич, 1984 г. рождения. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук «Каталитическое расщепление основного белка миеллина антителами» защитил в 2008 году в диссертационном совете Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (диплом кандидата наук: серия ДКН № 062126). Работает старшим научным сотрудником лаборатории биокатализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. Диссертация выполнена в лаборатории биокатализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Угрюмов Михаил Вениаминович, академик РАН, профессор, доктор биологических наук, заведующий лабораторией нервных и нейроэндокринных регуляций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук (ИБР РАН);

Лаврик Ольга Ивановна, член-корреспондент РАН, профессор, доктор химических наук, заведующая лабораторией биоорганической химии ферментов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН);

Кочетков Сергей Николаевич, член-корреспондент РАН, профессор, доктор химических наук, заведующий лабораторией молекулярных основ действия физиологически активных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН),

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное учреждение «Федеральный

исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», г. Москва, в своем положительном заключении, составленном Левицким Дмитрием Ивановичем, доктором биологических наук, профессором, заведующим лабораторией структурной биохимии белка, и утвержденном директором, доктором химических наук, профессором, член-корреспондентом РАН Владимиром Олеговичем Поповым, указала, что по поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне диссертация Белогурова Алексея Анатольевича полностью соответствует требованиям "Положения 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), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор Белогуров Алексей Анатольевич заслуживает присуждения искомой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Соискатель имеет 64 опубликованные работы, из них по теме диссертации опубликована 31 научная работа общим объемом 33 печ. листа в рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендуемых Минобрнауки РФ для опубликования результатов диссертаций, из них – 3 обзора, кроме того имеется четыре патента и 1 монография. Соискателем опубликовано 27 работ в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации, в которые автор внес основной либо существенный вклад:

1. Exposure to the Epstein-Barr Viral Antigen Latent Membrane Protein 1 Induces Myelin-Reactive Antibodies In Vivo. Lomakin Y, Arapidi GP, Chernov A, Ziganshin R, Tsyganov E, Lyadova I, Butenko IO, Osetrova M, Ponomarenko N, Telegin G, Govorun VM, Gabibov A, **Belogurov A Jr.** *Front Immunol.* 2017 Jul 6;8:777. doi: 10.3389/fimmu.2017.00777
2. Ivanova VV, Khaiboullina SF, Gomzikova MO, Martynova EV, Ferreira AM, Garanina EE, Sakhapov DI, Lomakin YA, Khaibullin TI, Granatov EV, Khabirov FA, Rizvanov AA, Gabibov A, **Belogurov A Jr.** Divergent Immunomodulation Capacity of Individual Myelin Peptides-Components of Liposomal Therapeutic against Multiple Sclerosis. *Front Immunol.* 2017 Oct 16;8:1335. doi: 10.3389/fimmu.2017.01335
3. Stepanov A, Lomakin Y, Gabibov A, **Belogurov A.** Peptides against autoimmune neurodegeneration. *Curr Med Chem.* 2017 Jun 4. doi: 10.2174/0929867324666170605092221
4. Kudriaeva A, Galatenko VV, Maltseva DV, Khaustova NA, Kuzina E, Tonevitsky AG, Gabibov A, **Belogurov A.** The Transcriptome of Type I Murine Astrocytes under Interferon-Gamma Exposure and Remyelination Stimulus. (2017) *Molecules.* May 15;22(5). pii: E808. doi: 10.3390/molecules22050808.
5. **Belogurov, A., Jr.,** Zakharov, K., Lomakin, Y., Surkov, K., Avtushenko, S., Kruglyakov, P., Smirnov, I., Makshakov, G., Lockshin, C., Gregoriadis, G., Genkin, D., Gabibov, A., Evdoshenko, E. CD206-Targeted Liposomal Myelin Basic Protein Peptides in Patients with Multiple Sclerosis Resistant to First-Line Disease-Modifying Therapies: A First-in-Human, Proof-of-Concept Dose-Escalation Study (2016) *Neurotherapeutics*, 13 (4), pp. 895-904.
6. Stepanov, A., Belyy, A., Kasheverov, I., Rybinets, A., Dronina, M., Dyachenko, I., Murashev, A., Knorre, V., Sakharov, D., Ponomarenko, N., Tsetlin, V., Tonevitsky, A., Deyev, S., **Belogurov, A., Jr.**, Gabibov, A. Development of a recombinant immunotoxin for the immunotherapy of autoreactive lymphocytes expressing MOG-specific BCRs (2016) *Biotechnology Letters*, 38 (7), pp. 1173-1180.
7. **Belogurov, A., Jr.,** Kuzina, E., Kudriaeva, A., Kononikhin, A., Kovalchuk, S., Surina, Y., Smirnov, I., Lomakin, Y., Bacheva, A., Stepanov, A., Karpova, Y., Lyupina, Y., Kharybin, O., Melamed, D., Ponomarenko, N., Sharova, N., Nikolaev, E., Gabibov, A. Ubiquitin-independent proteosomal degradation of

myelin basic protein contributes to development of neurodegenerative autoimmunity (2015) *FASEB Journal*, 29 (5), pp. 1901-1913.

8. **Belogurov Jr., A.**, Kudriaeva, A., Kuzina, E., Smirnov, I., Bobik, T., Ponomarenko, N., Kravtsova-Ivantsiv, Y., Ciechanover, A., Gabibov, A. Multiple sclerosis autoantigen myelin basic protein escapes control by ubiquitination during proteasomal degradation (2014) *Journal of Biological Chemistry*, 289 (25), pp. 17758-17766.

9. **Belogurov Jr., A.A.**, Stepanov, A.V., Smirnov, I.V., Melamed, D., Bacon, A., Mamedov, A.E., Boitsov, V.M., Sashchenko, L.P., Ponomarenko, N.A., Sharanova, S.N., Boyko, A.N., Dubina, M.V., Friboulet, A., Genkin, D.D., Gabibov, A.G. Liposome-encapsulated peptides protect against experimental allergic encephalitis (2013) *FASEB Journal*, 27 (1), pp. 222-231.

10. **Belogurov Jr., A.**, Smirnov, I., Ponomarenko, N., Gabibov, A. Antibody-antigen pair probed by combinatorial approach and rational design: Bringing together structural insights, directed evolution, and novel functionality (2012) *FEBS Letters*, 586 (18), pp. 2966-2973.

11. Gabibov, A.G.*, **Belogurov Jr., A.A.***, Lomakin, Y.A., Zakharova, M.Y., Avakyan, M.E., Dubrovskaya, V.V., Smirnov, I.V., Ivanov, A.S., Molnar, A.A., Gurtsevitch, V.E., Diduk, S.V., Smirnova, K.V., Avale, B., Sharanova, S.N., Tramontano, A., Friboulet, A., Boyko, A.N., Ponomarenko, N.A., Tikunova, N.V. Combinatorial antibody library from multiple sclerosis patients reveals antibodies that cross-react with myelin basic protein and EBV antigen (2011) *FASEB Journal*, 25 (12), pp. 4211-4221. *равный вклад

12. Stepanov, A.V.*, **Belogurov Jr., A.A.***, Ponomarenko, N.A., Stremovskiy, O.A., Kozlov, L.V., Bichucher, A.M., Dmitriev, S.E., Smirnov, I.V., Shamborant, O.G., Balabashin, D.S., Sashchenko, L.P., Tonevitsky, A.G., Friboulet, A., Gabibov, A.G., Deyev, S.M. Design of targeted B cell killing agents (2011) *PLoS ONE*, 6 (6), art. no. e20991 * равный вклад

13. **Belogurov Jr., A.A.**, Zargarova, T.A., Turobov, V.I., Novikova, N.I., Favorova, O.O., Ponomarenko, N.A., Gabibov, A.G. Suppression of ongoing experimental allergic encephalomyelitis in da rats by novel peptide drug, structural part of human myelin basic protein 4662(2009) *Autoimmunity*, 42 (4), pp. 362-364.

14. **Belogurov Jr., A.**, Kozyr, A., Ponomarenko, N., Gabibov, A. Catalytic antibodies: Balancing between Dr. Jekyll and Mr. Hyde (2009) *BioEssays*, 31 (11), pp. 1161-1171.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. **Отзыв официального оппонента Угрюмова М.В., отзыв положительный, содержит следующие замечания:** В «Обзоре литературы» не уточняется, какие причины вызывают быстрый рост числа больных; прямо не прописано, что является причиной смерти нейронов; нет описания стадий проникновения лимфоцитов через гемато-энцефалический барьер. В разделе «Материалы и методы» фактически отсутствует описание методов оценки поведения животных при экспериментальном моделировании рассеянного склероза; очень схематично описана общая процедура иммуногистохимического выявления антигенов, в явной форме не указано, какими критериями руководствовались при диагностировании рассеянного склероза. В разделе «Результаты и обсуждение» имеются определенные недостатки в плане обсуждения вследствие совмещения этих двух частей; поведение животных оценивается визуально – в баллах, хотя уже многие годы для оценки поведения используют объективный автоматизированный анализ; в морфологических исследованиях также используется визуальная оценка (в баллах), следует также отметить довольно низкую информативность представленных микрофотографий, а в отдельных случаях и их некорректную интерпретацию; широкие возрастные критерии включения пациентов с РС – от 25 до 55 лет, нет ли при этом риска смешения больных с принципиально различной этиологией? В некоторых выводах имеются стилистические неточности, обусловленные тем, что они сформулированы как процесс изучения, а не как результат, полученный при проведении исследований.

2. Отзыв официального оппонента Лаврик О.И., отзыв положительный, содержит следующие замечания: Не очень понятен вывод об «устойчивости» результирующей аффинности комбинаций VH и VL миелин-реактивных антител. Из обсуждения не до конца ясно, работает ли механизм убиквитин-независимый механизм деградации МВР только при одновременном истощении АТР и ингибировании химотрипсиновой активности протеасомы или существуют физиологические условия, при которых могут работать оба механизма: убиквитин-зависимая и убиквитин-независимая деградация МВР? Хотелось бы увидеть в работе более концентрированное обоснование в главе 4.2.2 выбора определенных пептидов МВР, вошедших в состав препарата Хемус. Определенный интерес представляло бы рассмотрение перспектив совместного применения для лечения РС индукции иммунотолерантности пептидами МВР и ингибиторов протеасомы. Несмотря на очень хорошее оформление диссертации, следует отметить, что список сокращений неполный. В тексте диссертации встречаются опечатки и неудачные выражения, хотя число этих недочетов весьма небольшое для такого объемного труда.

3. Отзыв официального оппонента Кочеткова С.Н., отзыв положительный, содержит следующие замечания: Часть рисунков (состоящих из 3-5 составных частей) выглядят перегруженными и иногда достаточно трудны для восприятия. Недостатки работы совершенно теряются среди ее достоинств и носят главным образом редакционный характер. Так, обозначение аденозинтрифосфата как «АТФ» не соответствует принятым в настоящее время нормам. Рисунки в главе «Заключение», в которой прекрасно суммируется проделанная работа, тем не менее требуют более обширного комментария (в первую очередь рис. 5-4). Вывод 2 было бы лучше конкретизировать, указав на результаты работы.

4. Отзыв ведущей организации, отзыв положительный, содержит следующие замечания:

При обсуждении рисунка 4.2 следовало указать динамический (плавающий) характер констант связывания антител. В части «Изучение особенностей фрагментации МВР различными типами протеасом» возможно стоило бы привести результаты контрольных экспериментов, демонстрирующих правильность расчета количества пептидов, образованных протеасомой и иммунопротеасомой, исходя из теоретического изотопного распределения. К диссертационной работе имеется ряд незначительных замечаний оформительского характера.

5. Отзыв на автореферат председателя комитета по здравоохранению г. Санкт-Петербурга, академика РАН, д.м.н., Дубины М.В. Отзыв положительный замечаний не содержит.

6. Отзыв на автореферат заведующего отделом иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, академика РАН, д.м.н., проф. Петрова Р.В. Отзыв положительный замечаний не содержит.

7. Отзыв на автореферат директора Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России) член-корр. РАН, д.м.н., проф.

Хаитова М.Р. Отзыв положительный замечаний не содержит.

8. Отзыв на автореферат заведующей лабораторией ионных каналов клеточных мембран Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, д.б.н., Казначеевой Е.В. Отзыв положительный замечаний не содержит.

9. Отзыв на автореферат заведующей лабораторией молекулярной иммуногенетики рака Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии гена Российской академии наук, д.б.н., профессора Сащенко Л.П. Отзыв положительный замечаний не содержит.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их достижениями в областях науки, соответствующих теме представленной диссертации. Это подтверждается наличием у них значительного количества публикаций в ведущих российских и международных научных журналах и изданиях. Стоит отметить, что сотрудниками ФИЦ Биотехнологии РАН ведутся работы по изучению специфичности антител, созданию полипептидных вакцин, а также исследованию различных нейродегенеративных заболеваний. Научные интересы Угрюмова М.В. и сотрудников руководимой им лаборатории тесно связаны с изучением нейроэндокринных регуляций в норме и при протекании нейродегенеративных процессов. Лаврик О.И. известна своими фундаментальными и прикладными работами по физико-химическому исследованию ферментов и белок-белковых взаимодействий. Кочетков С.Н. является одним из ведущих специалистов в области энзимологии и молекулярных механизмов действия вирусов. Наличие солидного опыта и высокой квалификации в приведенных выше областях позволяет им объективно судить о научной новизне, а также теоретической и практической значимости диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований соискателю удалось совершить ряд открытий в биоорганической химии:

На структурном уровне, а также на уровне отдельных клеток, изучен репертуар аутореактивных иммуноглобулинов к ряду миелиновых аутоантигенов. Путем обнаружения моноклональных антител, способных одновременно связывать антиген вируса Эпштейн-Барр и основной белок миелина, впервые экспериментально подтверждена гипотеза молекулярной мимикрии как одного из вариантов возникновения рассеянного склероза. Продемонстрирован уникальный на настоящий момент факт убиквитин-независимой внутриклеточной деградации физиологически значимого аутоантигена – основного белка миелина – протеасомой, показан непосредственный вклад данного процесса в этиологию и патогенез аутоиммунной нейродегенерации. Детализирован молекулярный механизм убиквитин-независимой деградации основного белка миелина протеасомой. В результате создана искусственная последовательность, придающая белкам способность подвергаться убиквитин-независимой внутриклеточной деградации. Показано, что химическая конъюгация полипептидов с низкомолекулярными основными химическими веществами также преобразует белкам в протеасомные субстраты. На основе этих данных высказана гипотеза об универсальности данного механизма, обуславливающего прямой захват основных полипептидных субстратов регуляторными комплексами протеасомы. Разработан целый ряд оригинальных подходов к направленной терапии

аутоиммунной нейродегенерации. Созданы модульные бифункциональные иммунотоксины, позволяющие проводить узконаправленную элиминацию заранее предопределенных популяций патологических лимфоцитов, а также продемонстрирована потенциальная возможность блокады каталитических субъединиц иммунопротеасомы в качестве терапевтического средства. Предложен метод индукции иммунологической толерантности иммунодоминантными фрагментами основного белка миелина, инкапсулированными в малоразмерные маннозилированные липосомы. На основе этих разработок создан препарат Хемус, детализирован механизм его действия. В настоящий момент он успешно прошел I и II фазы клинических испытаний с имеющимся одобренным синопсисом на фазу III.

Диссертация Белогурова А.А. является важным научным исследованием и вносит существенный вклад в развитие знания об этиологии и патогенезе аутоиммунной нейродегенерации.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что работы выполнены на высоком экспериментальном уровне, результаты воспроизводимы в различных условиях, а методы исследования, предложенные и разработанные соискателем, прошли независимую экспериментальную проверку в лабораториях по всему миру и используются повсеместно.

Личный вклад соискателя состоит в том, что он принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментов. Весь экспериментальный материал получен лично автором и руководимыми им аспирантами и студентами, за исключением широкомасштабного секвенирования, проведенного в Центре коллективного пользования "Геномика" СО РАН под руководством к.б.н. Кабилова Марселя Расимовича на базе ИХБФМ СО РАН, и масс-спектрометрических исследований, осуществленных в лаборатории протеомики ИБХ РАН и ФНКЦ Физико-химической медицины ФМБА под руководством академика Говоруна Вадима Марковича. Анализ полученных данных проведен лично соискателем, кроме того, подготовка основных публикаций по диссертационной работе выполнена лично или при активном участии автора.

На заседании 20 июня 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Белогурову Алексею Анатольевичу ученую степень доктора химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 25 человек, из них 7 докторов наук (по специальности диссертации 02.00.10 – Биоорганическая химия), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени – 25, против присуждения учёной степени – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель
диссертационного совета
академик РАН

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор физ.-мат.наук




Иванов Вадим Тихонович


Олейников Владимир Александрович