

УДК 571.27

Особенности презентации энцефалитогенного пептида МВР комплексами HLA-DR, обуславливающими протективность и предрасположенность к рассеянному склерозу

А. Э. Мамедов^{1*}, И. Н. Филимонова¹, И. В. Смирнов^{1,2}, А. А. Белогуров^{1,3}¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, 117997 Россия²Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, 420008 Россия³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

*E-mail: bioaz12@gmail.com

Поступила в редакцию 18.05.2020

Принята к печати 05.08.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11008

РЕФЕРАТ Предрасположенность к рассеянному склерозу (РС), хроническому аутоиммунному заболеванию центральной нервной системы, определяется различными факторами, среди которых одним из важнейших считается генетическая компонента. Наибольший вклад в развитие РС вносят гены HLA класса II. В качестве одного из главных генетических факторов, предрасполагающих к РС, рассматривается группа аллелей HLA-DRB1*15. Показано, что в русской популяции группа аллелей HLA-DRB1*01 обладает протективным эффектом в отношении данного заболевания. Нами проведено сравнение связывания энцефалитогенного фрагмента основного белка миелина (МВР) двумя комплексами HLA-DR, которые обуславливают протективное действие и предрасположенность к РС: HLA-DR1 (HLA-DRB1*0101) и HLA-DR15 (HLA-DRB1*1501) соответственно. Показано, что миелиновый пептид МВР⁸⁸⁻¹⁰⁰ связывается с HLA-DR1 со скоростью, практически на порядок меньшей по сравнению с вирусным пептидом гемагглютинаина (НА), а также с МВР⁸⁵⁻⁹⁷ и вирусным рр65 в контексте HLA-DR15. Строение С-концевой части пептида играет ключевую роль в связывании с HLA-DR1 при одинаково высокоаффинных N-концевых частях пептидов. IC₅₀ миелинового пептида МВР⁸⁸⁻¹⁰⁰ при конкуренции с вирусным НА за связывание с HLA-DR1 практически на порядок больше, чем с НА, а также с МВР⁸⁵⁻⁹⁷ и вирусным рр65 в контексте HLA-DR15. Таким образом, аутоантигенный пептид МВР не способен конкурировать с вирусным пептидом за связывание с протективным HLA-DR1, однако этот миелиновый фрагмент более конкурентоспособен, чем вирусный пептид в случае связывания с HLA-DR15.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА рассеянный склероз, HLA-DR, протективный аллель, аллель риска, пептид МВР, вирусный пептид.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ HLA – лейкоцитарный антиген человека; МВР – основной белок миелина; PBS – фосфатно-солевой буфер; TRX – тиоредоксин; АПК – антигенпрезентирующие клетки; ИФА – иммуноферментный анализ; ПЦР – полимеразная цепная реакция; РС – рассеянный склероз.

ВВЕДЕНИЕ

Гены лейкоцитарного антигена человека (HLA) кодируют белки, которые способны связывать и представлять антигенные пептиды и, следовательно, играют критическую роль в иммунном ответе на патогены, а также в аутоиммунитете [1]. Связывание антиген-

ных пептидов с молекулами HLA класса II приводит к образованию бинарных комплексов пептид–HLA, представляемых на поверхности антигенпрезентирующих клеток (АПК) для распознавания рецепторами CD4 Т-клеток [2]. Новосинтезированные белки HLA защищены инвариантной цепью от агрегации

[3]. В эндосомальном компартменте инвариантная цепь частично деградирует, оставляя пептид CLIP в бороздке связывания [4, 5]. Далее CLIP может обмениваться на антигенные пептиды, которые образуются в результате процессинга антигенов в эндосомах. Процесс обмена ускоряется белком HLA-DM [6]. Наконец, комплекс пептид-HLA транспортируется на поверхность АПК для узнавания CD4 Т-клетками. Механизмы презентации пептидов молекулами HLA класса II хорошо изучены [7], однако, каким образом формирование и презентация комплексов аутоантиген-HLA приводят к развитию аутоиммунных реакций до сих пор не установлено и остается предметом большого интереса. Таким образом, идентификация комплексов аутопептид-HLA, связанных с аутоиммунными реакциями, может дать ключ к пониманию патогенеза аутоиммунных заболеваний [8–10].

Рассеянный склероз (РС) – хроническое аутоиммунное заболевание центральной нервной системы, для которого характерны воспаление, демиелинизация и нейродегенерация [11]. Природа генетической предрасположенности к РС сложна и зависит от взаимодействия между множественными генетическими и эпигенетическими факторами, а также факторами окружающей среды [12]. Считается, что гены области HLA вносят большой вклад в риск развития РС [13]. Определенные аллели высокополиморфного гена HLA класса II – *DRB1*, по-видимому, являются значимой генетической детерминантой в патологии РС и могут влиять как на предрасположенность, так и на устойчивость к заболеванию [14]. Аллель *HLA-DRB1*1501* и связанный с ним гаплотип (*DQA1*0102, DQB1*0602, DRB1*1501, DRB5*0101*) известны как универсальный фактор риска развития РС с 1970-х годов. Анализ ассоциаций HLA с РС в популяциях Северной Европы выявил группы аллелей *HLA-DRB1 (DRB1*03, *01, *10, *11, *14, *08)*, которые коррелировали с заболеванием положительно или отрицательно [15]. Более того, идентифицированы аутоантигенные пептиды, презентуемые аллелями риска. *HLA-DRB1*1501* связывает фрагмент основного белка миелина (MBP), энцефалитогенный пептид MBP₈₅₋₉₉ [8], тогда как *HLA-DRB5*0101* презентует пептид MBP₈₆₋₁₀₅ [10]. Причем определены CD4 Т-клеточные клоны, распознающие эти комплексы пептид-HLA, связанные с заболеванием [16–18].

Ранее на репрезентативной когорте этнических русских пациентов с РС и условно здоровых людей показано, что группа аллелей *HLA-DRB1*01* связана с устойчивостью к РС, тогда как аллели *HLA-DRB1*15* положительно ассоциированы с заболеванием. Анализ взаимодействия белков, кодируемых аллелем риска *HLA-DRB1*1501* и протективным

аллелем *HLA-DRB1*0101*, с библиотекой MBP показал, что оба белка способны связывать миелиновый пептид MBP₈₁₋₁₀₄ со сходной аффинностью [19]. Однако непонятно, каким образом связывание одного и того же миелинового фрагмента обеспечивает протективность в случае одного аллеля и предрасположенность к заболеванию в случае другого. Поэтому целью данного исследования было сравнение кинетических характеристик взаимодействия пептида MBP₈₁₋₁₀₄ с протективным *HLA-DR1* и предрасполагающим *HLA-DR15* при РС, а также сравнение с их вирусными антигенными детерминантами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Экспрессия и очистка белков

Рекомбинантные белки *HLA-DR1* (продукт генов *HLA-DRA1*0101* и *HLA-DRB1*0101*), *HLA-DR15* (продукт генов *HLA-DRA1*0101* и *HLA-DRB1*1501*) и *HLA-DM* получены с использованием методики, описанной ранее [20]. Пептид CLIP (PVSKMRMATPLLMQA) был связан ковалентно с N-концом β-цепей *HLA-DR1* и *HLA-DR15* через линкер с сайтом тромбина, по которому отрезали пептид для дальнейших экспериментов (1 ч, 20 U/мг, 25°C). Белки концентрировали в PBS и хранили при 4°C.

Слитые с тиоредоксином пептиды сконструированы и получены на основе созданной ранее библиотеки эпитопов MBP [21]. Генетические конструкции, кодирующие HA, pp65, миелиновые пептиды (MBP₈₈₋₁₀₀ и MBP₈₅₋₉₇), MBP с точечными мутациями (V86A, V87A, F89A, F90A) и химерные пептиды (HA-MBP, MBP-HA, pp65-MBP), получены путем ПЦР с использованием библиотеки эпитопов MBP в качестве матрицы. В белковых конструкциях пептиды были слиты с C-концом бактериального тиоредоксина через гибкий линкер (SGGGG)₃S, несущий His-теги для очистки. Конструкцию, несущую только тиоредоксин с линкером (TRX), использовали в качестве отрицательного контроля. Все слитые с тиоредоксином пептиды получены с использованием методики, описанной ранее [21]. Пептиды химически биотинилировали с помощью EZ-Link Sulfo-NHS-LC-биотина (Thermo Fisher Scientific) в молярном соотношении 1 : 20 в течение 30 мин при 25°C. Белки концентрировали в PBS и хранили при -20°C.

Иммуноферментный анализ связывания пептидов HLA-DR

Биотинилированные пептид MBP₈₁₋₁₀₄ и его варианты с точечными мутациями (V86A, V87A, F89A, F90A) (750 нМ) инкубировали в течение 18 ч при 37°C в 50 мкл PBS с *HLA-DR* с CLIP (*HLA-DR1*

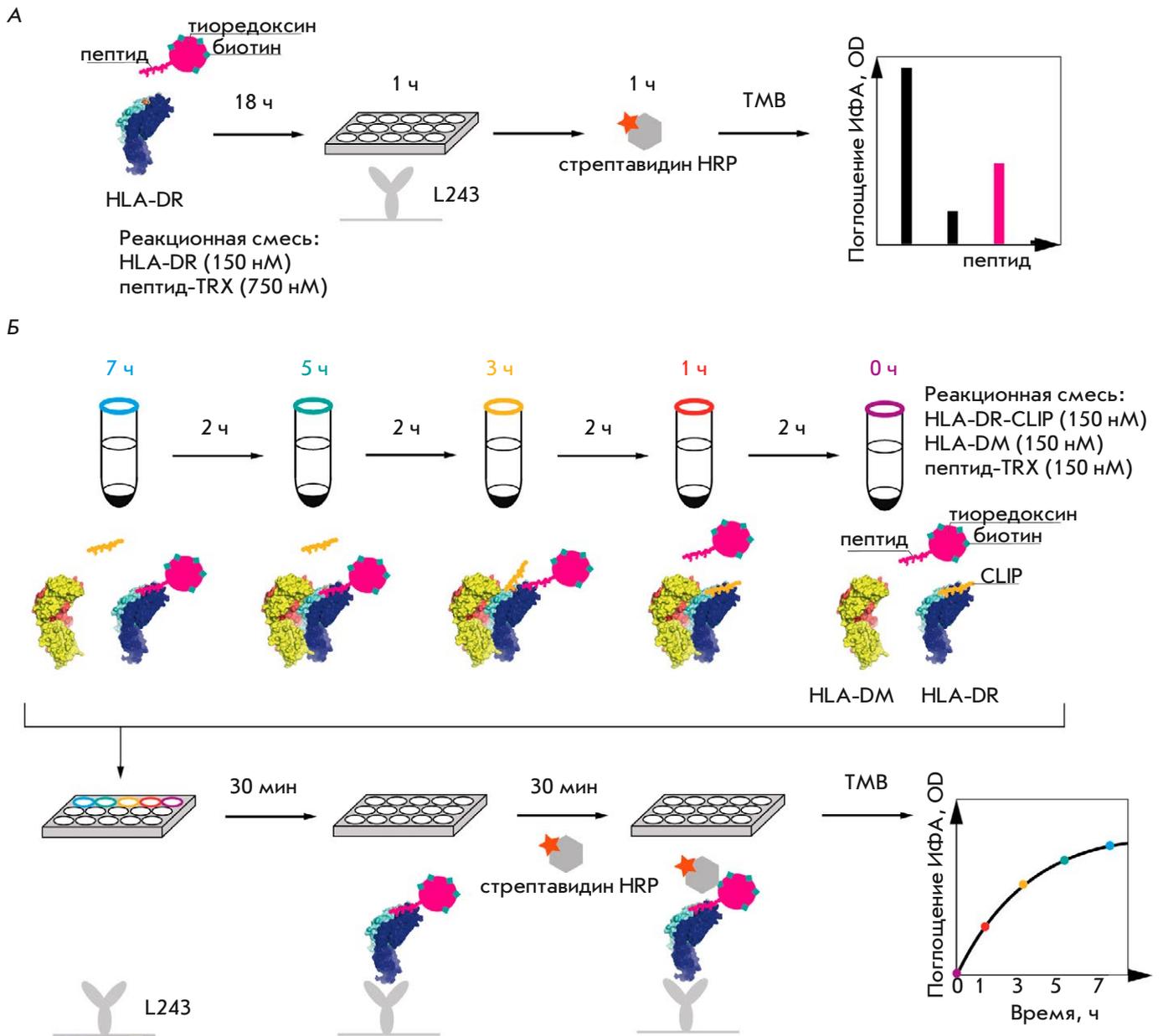


Рис. 1. Схемы иммуноферментного анализа связывания пептидов HLA-DR (А) и кинетики загрузки пептидов на HLA-DR (Б). Каждая из временных точек отмечена цветом. L243 – иммобилизованные в планшете моноклональные антитела к HLA-DR

или HLA-DR15) (150 нМ) (рис. 1А). Тиоредоксин с линкером (TRX) использовали в качестве отрицательного контроля. Комплексы DR–пептид затем добавляли к антителам L243 к HLA-DR, иммобилизованном в планшете и заблокированным PBS с 2% обезжиренным сухим молоком. Связанный с HLA-DR биотинилированный пептид количественно определяли с помощью стрептавидина, конъюгированного с пероксидазой хрена.

В конкурентном анализе биотинилированные пептиды HA и pp65 (150 нМ) инкубировали с соответствующим HLA-DR (HLA-DR1 или HLA-DR15) (150 нМ) в присутствии небитинилированных HA, pp65, миелиновых пептидов (MBP₈₈₋₁₀₀ и MBP₈₅₋₉₇) или химерных пептидов (HA-MBP, MBP-HA, pp65-MBP) (в концентрациях 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6 и 7.8 нМ) в течение 18 ч при 37°C в 50 мкл PBS. Эксперименты проводили в трех повторностях.

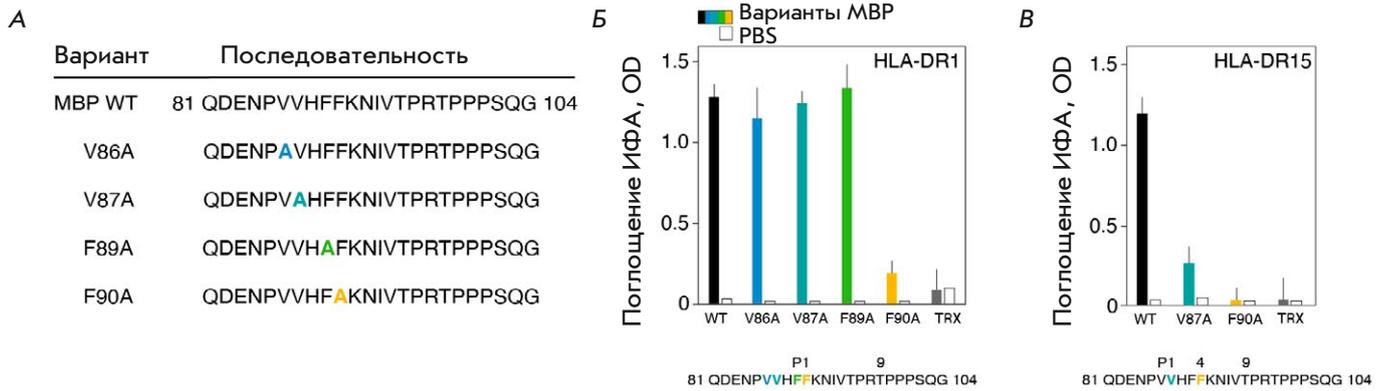


Рис. 2. А – последовательности пептида MBP₈₁₋₁₀₄ и его вариантов с точечными заменами аминокислот на аланин. Точечные замены обозначены разными цветами. Б, В – связывание пептида MBP₈₁₋₁₀₄ и его вариантов (750 нМ) с точечными заменами аминокислот на аланин с HLA-DR1 (Б) и HLA-DR15 (В) с CLIP (150 нМ). Цвета столбцов соответствуют цветам точечных замен. Белые столбцы представляют фоновый сигнал с PBS. Тиоредоксин с линкером (TRX) использовали в качестве отрицательного контроля. Стандартное отклонение отмечено

Иммуноферментный анализ кинетики загрузки пептидов на HLA-DR

Соответствующий HLA-DR с CLIP (HLA-DR1 или HLA-DR15) (150 нМ) инкубировали в присутствии HLA-DM (150 нМ) в 50 мкл цитратного буфера (50 мМ цитрат натрия, 150 мМ NaCl, pH 5.3) при 37°C с биотинилированными HA, pp65, миелиновыми пептидами (MBP₈₈₋₁₀₀ и MBP₈₅₋₉₇) или химерными пептидами (HA-MBP, MBP-HA, pp65-MBP) (150 нМ) в течение 7, 5, 3, 1 и 0 ч (рис. 1Б). Каждую временную точку смешивали отдельно, начиная с крайнего времени инкубации (7 или 5 ч), каждые 2 ч, после чего все временные точки вносили в планшет одновременно. ИФА проводили, как описывалось выше, лишь с той разницей, что время инкубации реакционных смесей в планшете и со стрептавидином было сокращено до 30 мин. Эксперименты проводили в трех повторностях. Анализ кинетических кривых проводили с применением модуля Enzyme Kinetics программы SigmaPlot (Sigma-Aldrich). Аппроксимации кривых связывания выполняли с помощью нелинейного приближения наименьших квадратов к модели связывания Ленгмюра, описывающей стехиометрию связывания 1 : 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение эпитопов MBP₈₁₋₁₀₄, распознаваемые HLA-DR1 и HLA-DR15

Нами проведено сравнение кинетических характеристик взаимодействия энцефалитогенного миелинового фрагмента MBP₈₁₋₁₀₄ с белками главного комплекса гистосовместимости II класса человека: протективным HLA-DR1 и предрасполагающим HLA-DR15 [19] в случае рассеянного склероза, а также с их анти-

генными детерминантами вирусного происхождения. Для осуществления данного анализа было необходимо первоначально определить связывающий эпитоп в составе MBP₈₁₋₁₀₄, распознаваемый HLA-DR1. Аланиновый скрин (замена гидрофобных и ароматических остатков на аланин, начиная с N-конца пептида (рис. 2А)) MBP₈₁₋₁₀₄ выявил остаток Phe в положении 90 в качестве гидрофобного якоря P1 (рис. 2Б); в свою очередь, это позволило предположить, что карманы P6/P7 и P9 в HLA-DR1, связанные с MBP₈₁₋₁₀₄, заняты остатками Thr, Pro и Thr в положениях 95, 96 и 98 соответственно. Эпитоп связывания MBP₈₁₋₁₀₄ с HLA-DR15, где Val87 и Phe90 находятся в положениях P1 и P4 соответственно [8], подтвержден с использованием соответствующих мутантных форм MBP₈₁₋₁₀₄ (рис. 2В).

Сравнение кинетики загрузки пептида MBP на HLA-DR1 и HLA-DR15

На следующем этапе изучена кинетика связывания HLA-DR1 с пептидами HA₃₀₆₋₃₁₈, MBP₈₈₋₁₀₀ и их химерными конструкциями MBP-HA и HA-MBP в присутствии HLA-DM, ускоряющего скорость обмена CLIP на изучаемый пептид (рис. 3Б). HA является фрагментом гемагглютинаина вируса гриппа – классической вирусной антигенной детерминантой для HLA-DR1 [22]. Для сравнения с аллелем риска HLA-DRB1*1501 также получены кинетические кривые связывания HLA-DR15 с пептидом pp65₁₀₉₋₁₂₃, который, в свою очередь, является фрагментом белка цитомегаловируса, вирусной детерминантой HLA-DR15 [23], миелиновым пептидом MBP₈₅₋₉₇ и химерной конструкцией pp65-MBP (рис. 3В). Важно отметить, что в химерных пептидах граница между N- и C-концевыми частями составляющих пептидов

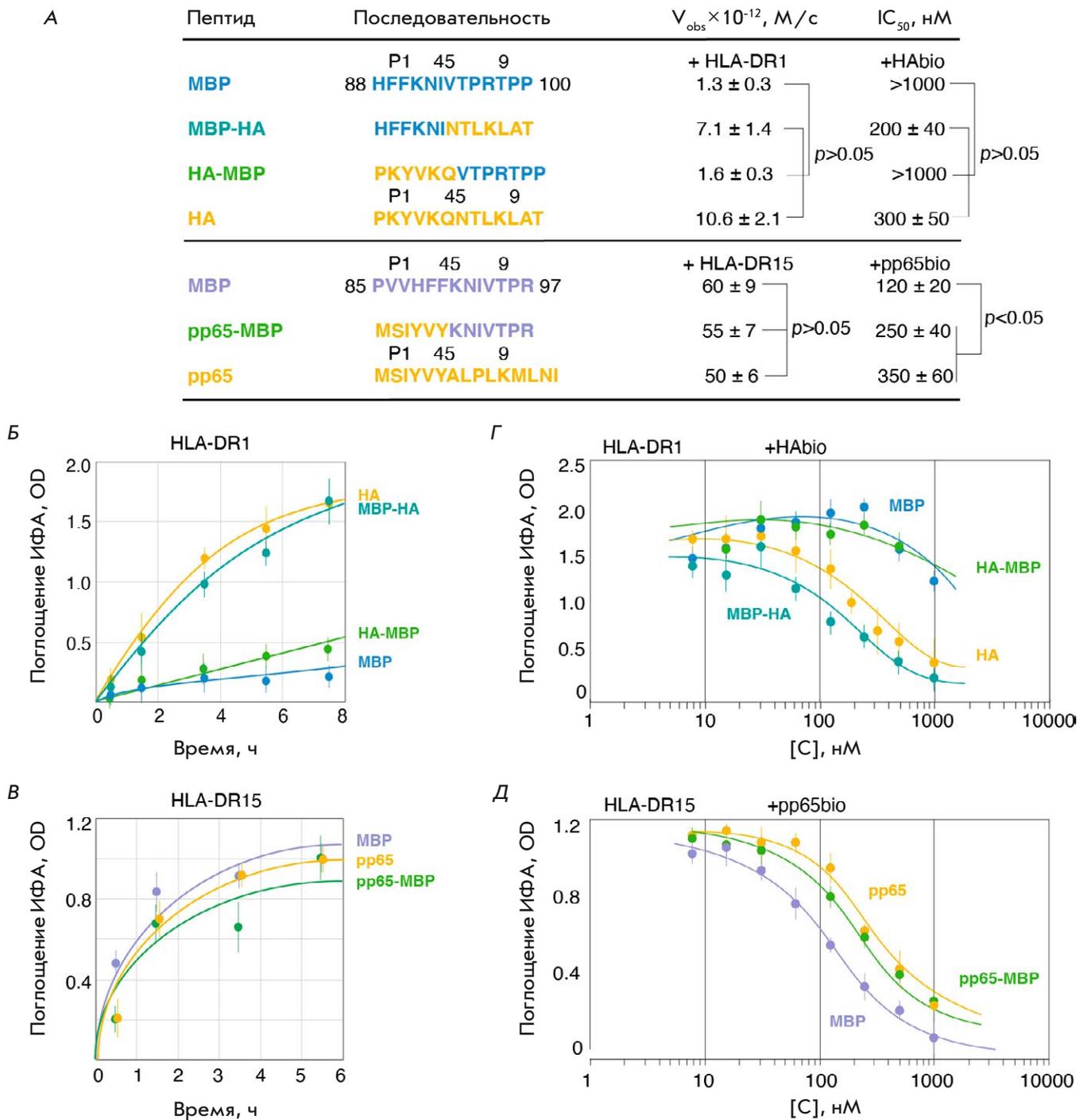


Рис. 3. А – последовательности пептидов MBP₈₈₋₁₀₀, MBP-НА, НА-MBP, НА, MBP₈₅₋₉₇, pp65-MBP и pp65. У химерных пептидов цветом отмечены части составляющих пептидов, а также положения аминокислотных остатков P1/4/5/9. Указаны значения начальной скорости взаимодействия каждого из пептидов с соответствующим HLA-DR1 или HLA-DR15 с CLIP, а также значения IC_{50} в конкуренции с соответствующим пептидом HAbio или pp65bio. Б, В – кинетика связывания биотинилированных пептидов MBP₈₈₋₁₀₀, MBP-НА, НА-MBP и НА (150 нМ) с предзагруженным CLIP HLA-DR1 (150 нМ) (Б) и биотинилированных пептидов MBP₈₅₋₉₇, pp65-MBP и pp65 (150 нМ) с предзагруженным CLIP HLA-DR15 (150 нМ) (В) в присутствии HLA-DM (150 нМ). Г, Д – конкурентное взаимодействие HLA-DR1 (150 нМ) с биотинилированным пептидом HAbio (150 нМ) (Г) и HLA-DR15 (150 нМ) с биотинилированным пептидом pp65bio (150 нМ) (Д) в присутствии возрастающих концентраций (7.8 нМ–1 мкМ) небитинилированных пептидов MBP₈₈₋₁₀₀, MBP-НА, НА-MBP и НА (Г), и MBP₈₅₋₉₇, pp65-MBP и pp65 (Д) в присутствии HLA-DM (150 нМ). Стандартное отклонение и значения p отмечены

проходила между аминокислотными остатками в положениях P4 и P5 (рис. 3А).

Известно, что вирусный пептид HA прочно связывается в пептидсвязывающей бороздке HLA-DR1 с высокой скоростью [24], поэтому в случае взаимодействия пептида HA с HLA-DR1 наблюдается выход кинетической кривой на плато уже в течение 8 ч (рис. 3Б). В то же время миелиновый пептид MBP₈₈₋₁₀₀ связывается с HLA-DR1 со скоростью, практически на порядок меньшей по сравнению с вирусным пептидом. Таким образом, можно утверждать, что протективный HLA-DR1 кинетически различает экзогенный вирусный и эндогенный миелиновый антигены. Химерный пептид HA-MBP, содержащий N-концевую часть HA (306–311) и C-концевую часть MBP (94–100), связывается с HLA-DR1 с низкой скоростью, схожей с кинетикой взаимодействия с MBP₈₈₋₁₀₀. Однако в случае химерного пептида MBP-HA, состоящего из N-концевой части MBP (88–93) и C-концевой части HA (312–318), скорость связывания очень высокая, как и при связывании природного вирусного пептида HA. На основании полученных данных можно сделать вывод, что кинетические показатели связывания химерных пептидов с HLA-DR1 свидетельствуют о важности C-концевой части для эффективного взаимодействия с HLA-DR1 при одинаково высокоаффинных N-концевых частях пептидов. В изучаемых фрагментах N-концевые части содержат основной якорь в кармане связывания P1: ароматические остатки Tyr308 в случае HA и Phe90 в случае MBP. Можно предположить, что именно наличие Pro96 в C-концевой части пептидов MBP₈₈₋₁₀₀ и химерного HA-MBP меняет положение пептида в борозде связывания из-за природной конформационной жесткости пролина, тем самым ухудшает взаимодействие пептида с карманом связывания P7. В случае пептидов HA и MBP-HA в положении 314 C-концевой части в кармане P7 находится гидрофобный аминокислотный остаток лейцина, благоприятствующий связыванию.

При анализе аллеля, обуславливающего риск возникновения РС, вирусный, миелиновый и химерный пептиды связываются с HLA-DR15 практически с одинаковой скоростью (рис. 3В). В отличие от HLA-DR1 у HLA-DR15 ключевым для связывания пептида является карман P4, куда идеально подходят ароматические аминокислотные остатки, а второстепенным – гидрофобный карман P1. Поэтому эффективность связывания вирусного, миелинового и химерного пептидов может быть объяснена благоприятными для взаимодействия пептидов с пептидсвязывающей бороздкой HLA-DR15 аминокислотными остатками, заполняющими важные для загрузки пептидов карманы P1 и P4:

Le111 и Tyr114 в случае pp65, Val87 и Phe90 в MBP. Несмотря на то что вирусный пептид pp65 также содержит в C-концевой части пролин в кармане P7, он не уменьшает эффективность взаимодействия пептида с пептидсвязывающей бороздкой, так как в случае HLA-DR15 карманы P6/P7/P9 играют меньшую роль, чем P4. Разницу в скорости взаимодействия HA с HLA-DR1 и pp65 с HLA-DR15 (примерно в 5 раз) можно объяснить различиями в устройстве карманов данных комплексов HLA-DR и наличием якорных остатков в соответствующих пептидах (рис. 3А).

Сравнение скорости загрузки протективного HLA-DR1 и положительно ассоциированного с РС HLA-DR15 различными пептидами экзогенной и эндогенной природы может свидетельствовать о большей важности кинетической, а не термодинамической составляющей во взаимодействии комплекса МНС II с антигенами.

Сравнение конкурентной способности пептида MBP за связывание с HLA-DR1 и HLA-DR15

Принимая во внимание, что миелиновый пептид связывается и с HLA-DR1, и с HLA-DR15, хоть и с разной скоростью, на заключительном этапе оставался вопрос, способен ли он конкурировать за связывание с высокоаффинными вирусными антигенами. Для прояснения данного вопроса провели эксперименты по изучению конкурентного связывания пептидов HA, миелинового MBP₈₈₋₁₀₀ и химерных HA-MBP и MBP-HA с HLA-DR1 в присутствии вирусного HA_{Bio} (рис. 3Г), а также пептидов pp65, миелинового MBP₈₅₋₉₇ и химерного pp65-MBP с HLA-DR15 в присутствии вирусного pp65_{Bio} (рис. 3Д). Кинетические данные свидетельствуют, что эффективно конкурировать с вирусным HA_{Bio} за связывание с HLA-DR1 способны HA и химерный пептид MBP-HA. Причем значимое падение сигнала ИФА при их добавлении начинается с концентрации, равной 30 нМ. В отличие от них добавление миелинового MBP₈₈₋₁₀₀ и химерного HA-MBP незначительно понижает сигнал ИФА, начиная лишь с высокой концентрации (300 нМ) (рис. 3Г). IC₅₀ этих пар пептидов различаются практически на порядок, что говорит о неспособности миелинового пептида MBP₈₈₋₁₀₀ эффективно конкурировать с вирусным HA за связывание с HLA-DR1 (рис. 3А). В случае HLA-DR15 снижение сигнала ИФА в реакциях конкуренции MBP₈₅₋₉₇ и pp65 начинается с 30 нМ конкурирующего пептида pp65_{Bio} (рис. 3Д) – аналогично взаимодействию пептида HA с HLA-DR1. При этом IC₅₀ пептида MBP₈₅₋₉₇ приблизительно в 3 раза меньше, чем у pp65, таким образом, пептид MBP₈₅₋₉₇ в отличие от MBP₈₈₋₁₀₀ даже более конкурентоспособен, чем вирусный (рис. 3А).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из полученных данных, можно предположить, что в отличие от HLA-DR15 фрагмент основного белка миеллина будет с низкой вероятностью представлен в комплексе с HLA-DR1 на поверхности антигенпрезентирующих клеток в достаточной плотности, необходимой для активации Т-клеточного ответа. По-видимому, протективные свойства аллеля HLA-DRB1*0101 могут быть связаны со способностью белкового продукта этого аллеля HLA-DR1 кинетически различать миелиновые и экзогенные пептиды. С другой стороны, предрасполагающий к РС HLA-DR15 способен эффективно представлять фрагмент МВР даже в конкуренции с экзоген-

ными пептидами, такими, как вирусный рр65. Наши данные позволяют считать, что один и тот же энцефалитогенный миелиновый фрагмент может презентироваться с абсолютно разной результирующей скоростью в зависимости от аллеля HLA-DR. Другими словами, иммуногенность компонентов миеллина при РС в большей степени может определяться не их доступностью для иммунных клеток, а, скорее, генетической предрасположенностью за счет носительства того или иного аллеля HLA-DR. ●

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 17-74-30019 и гранта РФФИ ЕМБЛ_т № 18-54-74006.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Todd J.A., Acha-Orbea H., Bell J.I., Chao N., Fronck Z., Jacob C.O., McDermott M., Sinha A.A., Timmerman L., Steinman L. // *Science*. 1988. V. 240. P. 1003–1009.
- Huppa J.B., Davis M.M. // *Nat. Rev. Immunol.* 2003. V. 3. № 12. P. 973–983.
- Cresswell P. // *Annu. Rev. Immunol.* 1994. V. 12. P. 259–293.
- Ghosh P., Amaya M., Mellins E., Wiley D.C. *Nature*. 1995. V. 378. P. 457–462.
- Jasanoff A., Park S.J., Wiley D.C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995. V. 92. № 21. P. 9900–9904.
- Sherman M.A., Weber D.A., Jensen P.E. // *Immunity*. 1995. V. 3. № 2. P. 197–205.
- Roche P.A., Furuta K. // *Nat. Rev. Immunol.* 2015. V. 15. № 4. P. 203–216.
- Smith K.J., Pyrdol J., Gauthier L., Wiley D.C., Wucherpfennig K.W. // *J. Exp. Med.* 1998. V. 188. № 8. P. 1511–1520.
- Yin Y., Li Y., Mariuzza R.A. // *Immunol. Rev.* 2012. V. 250. № 1. P. 32–48.
- Li Y., Li H., Martin R., Mariuzza R.A. // *J. Mol. Biol.* 2000. V. 304. № 2. P. 177–188.
- Hemmer B., Kerschensteiner M., Korn T. // *Lancet Neurol.* 2015. V. 14. № 4. P. 406–419.
- Sawcer S., Franklin R.J.M., Ban M. // *Lancet Neurol.* 2014. V. 13. № 7. P. 700–709.
- Canto E., Oksenberg J.R. // *Mult. Scler.* 2018. V. 24. № 1. P. 75–79.
- Zhang Q., Lin C.Y., Dong Q., Wang J., Wang W. // *Autoimmun. Rev.* 2011. V. 10. № 8. P. 474–481.
- Ramagopalan S.V., Ebers G.C. // *Genome Med.* 2009. V. 1. № 11. P. 1–5.
- Yin Y., Li Y., Kerzic M.C., Martin R., Mariuzza R.A. // *EMBO J.* 2011. V. 30. № 6. P. 1137–1148.
- Hahn M., Nicholson M.J., Pyrdol J., Wucherpfennig K.W. // *Nat. Immunol.* 2005. V. 6. № 5. P. 490–496.
- Li Y., Huang Y., Lue J., Quandt J.A., Martin R., Mariuzza R.A. // *EMBO J.* 2005. V. 24. P. 2968–2979.
- Mamedov A.E., Zakharova M.Y., Favorova O.O., Kulakova O.G., Boyko A.N., Knorre V.D., Vorobieva N.A., Khurs E.N., Kiselev I.S., Baulina N.M., et al. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2019. V. 485. № 1. P. 115–118.
- Mamedov A.E., Ponomarenko N.A., Belogurov A.A., Gabibov A.G. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. V. 161. № 3. P. 442–446.
- Belogurov A.A., Kurkova I.N., Friboulet A., Thomas D., Misikov V.K., Zakharova M.Y., Suchkov S.V., Kotov S.V., Alehin A.I., Avale B., et al. // *J. Immunol.* 2008. V. 180. № 2. P. 1258–1267.
- Stern L.J., Brown J.H., Jardetzky T.S., Gorga J.C., Urban R.G., Strominger J.L., Wiley D.C. // *Nature*. 1994. V. 368. № 6468. P. 215–221.
- Muixí L., Carrascal M., Alvarez I., Daura X., Martí M., Armengol M.P., Pinilla C., Abian J., Pujol-Borrell R., Jaraquemada D. // *J. Immunol.* 2008. V. 181. № 1. P. 795–807.
- Yin L., Maben Z.J., Becerra A., Stern L.J. // *J. Immunol.* 2015. V. 195. № 2. P. 706–716.