

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА И ПРОДУКЦИИ АБЗИМОВ У БОЛЬНЫХ АУТОИММУННЫМИ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

© 2025 г.

Г. А. НЕВИНСКИЙ

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск*

I. Введение. II. Механизмы развития аутоиммунных заболеваний. III. Исключительное разнообразие абзимов с ДНКазной и РНКазной активностями. IV. Исключительное разнообразие абзимов с протеазной активностью. V. Вариации различных свойств абзимов с каталазной, фосфатазной, амилазной и микро-РНКазной активностями. VI. Неожиданные изменения субстратной специфичности абзимов с протеазной активностью против H1 гистона при развитии экспериментального аутоиммунного энцефаломиелимита. VII. Уникальные изменения субстратной специфичности абзимов против H2A, H2B, H3 и H4 гистонов, VIII. Обсуждение. IX. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Антитела (АТ) классически характеризуются как белки, продуцируемые иммунной системой и специфически связывающие различные антигены. В этой классической концепции АТ могут действовать аналогично ферментам, специфически связывая различные антигены, но не могут катализировать какие-либо химические реакции. Для большинства АТ это утверждение верно. Для многих иммунологов оказалось неожиданным и непредсказуемым, что АТ, подобно ферментам, могут обладать самыми разными каталитическими активностями. Лайнус Полинг (1946 г.) пришел к выводу, что активные центры ферментов максимально комплементарны не к субстратам, а к переходным состояниям химических реакций, а сайты узнавания антителами различных антигенов должны быть максимально адаптированы к структурам переходных состояний [1]. Однако образование АТ против очень кратковременно существующих переходных состояний не возможно. Позже Дженкс (1969 г.) предположил, что каталитически активные антитела могут быть получены против стабильных аналогов переходных состояний химических реакций [2]. Эта идея была реализована в экспериментальной иммунологии значительно позже. Общие методы получения моноклональных АТ, обладающих ферментативными активностями против химически стабильных аналогов, были

Список сокращений: АТ – антитела; АГД – антигенные детерминанты; АБЗ – абзимы; АИЗ – аутоиммунные заболевания; ВИЧ – вирус иммунодефицита человека; ИФА – иммуноферментный анализ; ОБМ – основной белок миелина; РС – рассеянный склероз; МОГ – миелин-олигодендроцитарный гликопротеин; СКВ – системная красная волчанка; ЭДТА – этилендиаминтетраацетат.

Адрес для корреспонденции: nevinsky@niboch.nsc.ru

впервые описаны в 1985 г. [3]. Первые моноклональные АТ были получены против *n*-нитрофенилфосфорилхолина [4] и моноарилфосфонатных эфиров [5, 6]. Эти каталитические антитела были названы абзимами (AntiBody emZYMES; абзимы – АБЗ) [4–27]. К настоящему времени описано около 200 различных искусственных АБЗ. Создание искусственных абзимов в основном направлено на получение специфических моноклональных АБЗ как потенциальных лекарственных средств. В ряде обзоров проведен анализ данных о создании абзимов для медицинских целей [28–36].

В биологических жидкостях здоровых доноров присутствует множество различных аутоантител в низких концентрациях [37–56]. Однако их концентрации заметно или значительно выше у пациентов с различными аутоиммунными заболеваниями (АИЗ) [37–46] и у больных с неврологическими патологиями, вирусными и бактериальными инфекциями [47–57]. Наряду с обычными аутоантителами (аутоАТ), не имеющими ферментативной активности, до 30–40% аутоАТ к соответствующим антигенам могут проявлять абзимную активность [58–63]. Подобные антитела-абзимы обнаружены в биологических жидкостях больных многими АИЗ, неврологическими, вирусными и бактериальными заболеваниями [58–63].

Развитие АИЗ характеризуется спонтанной или антиген-стимулированной наработкой антител к пептидам, белкам, ДНК, РНК и их комплексам, нуклеотидам, полисахаридам и др. [28–36, 56–63]. Происхождение природных абзимов против внутренних компонентов млекопитающих сложное. Подобно искусственным АБЗ, они могут быть специфичными к множеству субстратов различных ферментов, действующих как гаптены [28–36, 56–63]. Некоторые гаптены могут менять свою конформацию после образования комплексов с высокомолекулярными компонентами, такими как белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды и их ассоциаты. В таких комплексах гаптены могут имитировать переходные состояния соответствующих субстратов в химических реакциях, катализируемых ферментами. Кроме того, при АИЗ происходит формирование антиидиотипических абзимов против активных центров ферментов, которые также обладают активностями ферментов [64–66]. В литературе хорошо описаны природные абзимы с самыми разными активностями из биологических жидкостей людей и животных [21–36, 56–63].

АБЗ, гидролизующие различные антигены, можно считать наиболее ранними и статистически значимыми маркерами начальных стадий различных АИЗ [58–63]. Абзимы выявляются уже на ранних стадиях АИЗ и неврологических патологий, когда типичные маркеры заболеваний еще отсутствуют, а изменения протеинурии и титров аутоАТ соответствуют типичным диапазонам этих показателей для условно здоровых индивидов. Обнаружение абзимов является существенно более чувствительным подходом, чем выявление титров аутоАТ методом иммуноферментного анализа (ИФА), поскольку катализ приводит к значительному накоплению продуктов реакции. Это позволяет обнаруживать даже небольшие количества абзимов с низкой, но достоверно тестируемой активностью. Например, анти-ДНК антитела обнаружены в повышенной концентрации по сравнению с таковыми у здоровых доноров только у 17–18% больных рассеянным склерозом (РС) и 38% больных системной красной волчанкой (СКВ) [67], тогда как ДНК-гидролизующие АТ – примерно у 90–95% больных РС [68] и СКВ [69]. Это обусловлено тем, что повышение титров аутоАТ больных АИЗ происходит лишь на поздних стадиях или при обострениях этих заболеваний. Таким образом, достоверное обнаружение абзимов, с нашей точки зрения, можно рассматривать как показатель даже

ранних стадий развития патологий, при которых происходит нарушение иммунного статуса. Причем сильное возрастание активности абзимов происходит только после достижения глубоких форм АИЗ [58–63].

У условно здоровых людей АБЗ обычно отсутствуют [58–63]. Тем не менее в крови некоторых условно здоровых доноров были обнаружены ауто-АБЗ с низкой активностью, гидролизующие полисахариды [70], тиреоглобулин [71–73] и вазоактивный нейропептид [74]. Абзимы, гидролизующие ДНК, выявлены у больных СКВ [68,69, 75–76], РС [68, 69], тиреоидитом Хашимото [77], сахарным диабетом [79], вирусным гепатитом [78], шизофренией [80] и у ВИЧ-инфицированных больных [81]. Абзимы, расщепляющие РНК и микроРНК, обнаружены в крови больных СКВ [68, 69, 82, 83], РС [69, 82], вирусным гепатитом [79] и шизофренией [84]. IgG антитела эффективно гидролизующие основной белок миелина (ОБМ) найдены в крови пациентов с СКВ [85], РС [86, 87], шизофренией [88] и ВИЧ-инфицированных пациентов [89]. В крови больных сепсисом обнаружены антитела с расширенной протеазной активностью [90], а у некоторых больных АИЗ найдены абзимы с альдолазной активностью [91]. Гидролиз абзимами фактора VIII обнаружен у больных гемофилией А [92]. Антитела из женского молока эффективно гидролизуют ДНК и белки [93].

Антитела, эффективно гидролизующие все пять гистонов (Н1–Н4), есть в крови больных РС [94], шизофренией [95] и ВИЧ-инфицированных пациентов [96]. В отличие от рассмотренных выше абзимов, в крови здоровых людей и животных обнаружены абзимы с окислительно-восстановительными функциями [97–102]. Однако активность таких антител у пациентов с АИЗ и неврологическими патологиями значительно выше [103].

II. МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Для понимания путей лечения людей с аутоиммунными и некоторыми неврологическими заболеваниями важно понимать причины и механизмы их развития. Как впервые было показано в ряде работ [58–63, 104–109], основным пусковым механизмом развития АИЗ и аутоиммунных процессов при некоторых аутоиммунных, неврологических, вирусных и бактериальных заболеваниях является нарушение профиля дифференцировки стволовых клеток костного мозга.

Согласно унитарной теории кроветворения А.А. Максимова, существует четыре класса кроветворных клеток [110]. Все клетки крови происходят из полипотентных стволовых клеток костного мозга. При делении стволовая клетка образует две клетки, одна из которых сохраняет свойства стволовой, а другая обладает способностью к дифференцировке во все без исключения клетки крови. Исходно, есть четыре основных типа гомопоэтических предшественников клеток крови:

1. Ранние эритроидные колонии (BFU-E, erythroid burst-forming unit; early erythroid colonies);
2. Гранулоцитарно-макрофагальные колонии (CFU-GM, granulocytic-macrophagic colony-forming unit);
3. Поздние эритроидные колонии (CFU-E, erythroid burst-forming unit; late erythroid colonies).
4. Гранулоцитарно-эритроидно-мегакариоцитарно-макрофагальные колонии (CFU-GEMM, granulocytic-erythroid-megacaryocytic-macrophagic colony-forming unit).

Кроме того, костный мозг содержит Т и В лимфоциты, которые являются продуктами дифференцировки гомопоэтических клеток.

У здоровых дюдей происходит формирование этих четырех пипов клеток, а также Т и В лимфоцитов, в определенном соотношении. При развитии АИЗ происходит проникновение различных внешних и внутренних антигенов через гематоэнцефалический барьер. Это приводит к нарушению соотношения шести типов образующихся клеток – к нарушению профиля дифференцировки стволовых клеток [58–63, 104–109]. В результате этого происходит формирование нового типа клеток, включая В-лимфоциты, продуцирующие антитела с самыми разными свойствами, в том числе патологические для людей абзимы. Дифференцировка клеток может происходить в несколько этапов. Часть В-лимфоцитов приобретает возможность синтезировать абзимы уже в цереброспинальной жидкости, а другие клетки подвергаются дополнительной дифференцировке только в крови и разных органах человека и животных.

Было показано, что синтез абзимов специфическими В клетками происходит уже на уровне костного мозга [58–63, 104–109, 111–113]. Относительная активность абзимов из цереброспинальной жидкости больных РС при гидролизе ДНК, ОБМ и олигосахаридов примерно в 30–60 раз выше, чем из крови тех же пациентов [111–113]. Четыре типа клеток костного мозга поступают в кровь и становятся клетками крови и различных органов человека, где клетки, не подвергнутые окончательной дифференцировке в цереброспинальной жидкости, могут подвергаться дополнительной дифференцировке под действием внешних и внутренних антигенов. Нарушение профиля дифференцировки стволовых клеток костного мозга ведет к резкому возрастанию уровня пролиферации лимфоцитов в различных органах, включая кровь, костный мозг, селезенку, тимус и лимфоузлы [58–63, 104–109]. В этих органах происходит дополнительный синтез абзимов с разными каталитическими функциями и свойствами.

В норме у людей также происходит наработка В лимфоцитов, синтезирующих вредные для организма антитела [114]. Однако, эти лимфоциты удаляются путем апоптоза вредных клеток. У больных АИЗ наблюдается подавление апоптоза лимфоцитов [58–63, 104–109]. Это приводит к тому, что усиливается пролиферация клеток, продуцирующих вредные антитела, включая абзимы.

Таким образом, развитие АИЗ обусловлено в основном нарушением профиля дифференцировки стволовых клеток костного мозга, возрастанием уровня пролиферации лимфоцитов в различных органах и подавлением апоптоза клеток. Кроме того, важную роль в развитии АИЗ играют абзимы, гидролизующие самые разные компоненты крови, клеток и тканей.

При анализе механизмов развития АИЗ необходимо учитывать еще один очень важный фактор. В случае с каноническими ферментами имеет место простая ситуация: один ген – один фермент. Образование антител к каждому антигену происходит совершенно по-другому. В процессе V(D)J рекомбинации формируются уникальные последовательности ДНК, кодирующие переменные домены антител. Переменные участки тяжелой (H) и легкой (L) цепей кодируются локусом, разделенным на несколько фрагментов – генные сегменты, которые обозначены V (переменный, variable), D (разнообразие, diversity) и J (соединяющий, joining) [115]. После активации антигеном В клетки начинают быстро пролиферировать. Повышенная частота точечных мутаций наблюдается параллельно с частыми делениями локусов, кодирующих гиперпеременные домены тяжелой и легкой цепей. Этот процесс называется соматической гипермутацией. В результате этого процесса дочерние клетки, образующиеся в результате деления, будут вырабатывать антитела с отличающимися переменными

доменами. Таким образом, соматическая гипермутация служит еще одним механизмом увеличения разнообразия антител и влияет на сродство антител к антигену [116, 117]. В результате потенциальное число В лимфоцитов, синтезирующих антитела с различными свойствами, включая разные абзимы против одного и того же антигена, может быть очень большим. Теоретически иммунная система человека может создать в ответ на один антиген около миллиона В лимфоцитов, продуцирующих антитела к одному и тому же антигену, но с разными свойствами [118]. Поэтому очень интересен вопрос о возможном разнообразии структур активных центров абзимов по сравнению с классическими ферментами. Кроме того интересно, сколько разных антител, включая абзимы, может формироваться в организмах млекопитающих с различными АИЗ и неврологическими патологиями, и какие у них биологические функции.

III. ИСКЛЮЧИТЕЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ АБЗИМОВ С ДНКазной И РНКазной АКТИВНОСТЯМИ

Исключительное разнообразие поликлональных абзимов с ДНКазной и РНКазной активностями из крови больных АИЗ и неврологическими патологиями ([39, 58–63, 68, 69, 77–84] и ссылки в них), аутоиммунных мышей [119] и здоровых животных, иммунизированных ДНК, РНК, РНКазой А, ДНКазой I и ДНКазой II ([58–63, 68] и ссылки в них), было продемонстрировано с помощью аффинной хроматографии поликлональных IgG на ДНК-целлюлозе с использованием градиента концентраций NaCl (0,05–3,0 М). IgG с ДНКазной активностью распределялись по всему профилю хроматографии, включая также антитела, элюируемые 3,0 М MgCl₂ и кислым буфером (рН 2,6), разрушающим прочные иммунные комплексы [39, 58–63, 68, 69, 77–84, 119]. Известно, что все классические ДНКазы обычно имеют только один оптимум рН [120, 121]. Фракции с различным сродством к ДНК-целлюлозе демонстрировали несколько различных оптимальных значений рН и изоэлектрических точек (pI от 4,5 до 9,0), а также зависимость или независимость от ионов разных металлов (Mg²⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, Co²⁺, Ni²⁺ [39, 58–63, 68, 69, 77–84] и ссылки в них).

Было показано, что активные центры абзимов расположены в переменных участках легких цепей, а роль переменных участков тяжелых цепей антител заключается в увеличении сродства антигенов к антителам [58–63, 94–96, 106–109].

Для оценки возможного числа абзимов с ДНКазной активностью в крови больных СКВ были использованы моноклональные легкие цепи АТ каппа типа (МЛЦ). МЛЦ были получены с использованием фаговой библиотеки, содержащей 106 вариантов различных легких цепей [122, 123]. Пул фаговых частиц был разделен на 11 пиков; МЛЦ всех пиков эффективно гидролизуют ДНК. Для получения индивидуальных колоний использовали фаговые частицы, элюированные с ДНК-целлюлозы 0,5 М NaCl, и кислым буфером (рН 2,6). Сорок пять из 451 отдельных колоний (элюированных 0,5 М NaCl) были выбраны случайным образом, и 15 из них (~33%) эффективно гидролизуют ДНК [122]. В случае элюции кислым буфером (пик 11) из 687 индивидуальных колоний было отобрано 33, из которых 19 (58%) проявляли ДНКазную активность [123]. Было получено 34 препарата МЛЦ, которые эффективно гидролизуют ДНК. Они отличались по уровню относительной активности, зависимости от ионов различных металлов, оптимальным значениям рН [122, 123]. Сродство МЛЦ к ДНК примерно на два-три порядка выше, чем у ДНКазы I (K_M = 46–58 мкМ) [124]. Среднее содержание абзимов с ДНКазной активностью, соответствующее 78 колониям двух из 11 проанализируемых

пиков, составляет 43,6%. Учитывая 1138 колоний, соответствующих двум чашкам Петри, примерно 496 колоний содержат лимфоциты, продуцирующие абзимы с ДНКазной активностью. Общее количество МЛЦ с ДНКазной активностью в 11 пиках можно приблизительно оценить порядка 2000–3000 [122, 123]. В целом было показано, что анти-ДНК-абзимы из сывороток больных СКВ могут обладать совершенно разными свойствами, соответствующими каноническим ДНКазе I и ДНКазе II: они могут быть как зависимыми от последовательностей ДНК, так и независимыми ([39, 58–63, 68, 69, 77–84] и ссылки в них).

IgG с РНКазной активностью были получены из сывороток больных СКВ [69, 82, 83], РС [68], тиреоидитом Хашимото, полиартритами [82], шизофренией [84] и различными видами гепатита [79]. Они гидролизуют различные гомополинуклеотиды, сСМР и дрожжевую РНК. По аналогии с анализом антител с ДНКазной активностью было показано, что антитела с РНКазной активностью при аффинной хроматографии разделяются на большое число фракций, имеют разные оптимальные значения pH, различную специфичность в гидролизе РНК и микро-РНК, независимость или зависимость от различных ионов металлов [58–63, 69, 79, 82–84]. Относительная активность сильно зависела от изучаемых субстратов и заболеваний; максимальная активность РНКазных АБЗ наблюдалась при РС и СКВ [58–63, 68, 69, 82, 83]. Показан IgG-зависимый сайт-специфический гидролиз различных микро-РНК. Средняя активность IgG больных СКВ, РС и шизофренией была статистически значимой и она в 22,3–84,8 раза превышала таковую у условно здоровых доноров [82–84].

IV. ИСКЛЮЧИТЕЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ АБЗИМОВ С ПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Абзимы с протеазной активностью выявлены у больных некоторыми аутоиммунными, неврологическими и вирусными заболеваниями. Их исключительное разнообразие показано с помощью аффинной хроматографии поликлональных АТ на сорбентах с разными иммобилизованными белками [85, 125]. При хроматографии на ОБМ-сефарозе происходит распределение антител и их активности по всему профилю [85, 126]. Кроме того, IgG всех четырех подклассов (IgG1–IgG4) обладают ОБМ-гидролизующей активностью [85, 125]. Вклад АТ каждого подкласса в общую активность абзимов индивидуален для каждого пациента и анализируемых заболеваний, а также типа протеолитической активности. Суммарные препараты антител IgG и IgM, обладающие протеолитической активностью, в основном представлены АТ с каталитической активностью подобной сериновым протеазам [58–63].

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) является возбудителем одного из самых опасных заболеваний человека – синдрома приобретенного иммунодефицита человека. Ретровирусы, к которым относится ВИЧ, вызывают хроническую инфекцию организма человека. В течение жизненного цикла вируса его ДНК интегрируется (встраивается) в геном клетки-хозяина с помощью специфического фермента ВИЧ – интегразы [126, 127]. Абзимы из сыворотки крови ВИЧ-инфицированных больных демонстрируют множественное разнообразие в гидролизе вирусной обратной транскриптазы и интегразы [58–63].

Первыми примерами антител, содержащих фракции с сериновой и ярко выраженной металлозависимой протеолитической активностью, были IgG больных РС [86, 128] и СКВ [129]. Совершенно неожиданный результат был получен при анализе типа про-

теолитической активности антител IgG и IgM ВИЧ-инфицированных больных, гидролизующих вирусную интегразу ([58–63, 130] и ссылки в них). Наряду со значительным подавлением активности абзимов специфическими ингибиторами сериновых и металлозависимых протеаз, специфические ингибиторы кислых и тиоловых протеаз также очень сильно подавляли активность этих абзимов. Однако в случае пяти препаратов IgG и семи препаратов IgM суммарный эффект четырех специфических ингибиторов превысил 100%. Таким образом, было обнаружено, что иммунная система ВИЧ-инфицированных больных способна вырабатывать антиинтегразные абзимы с различной структурой активных центров, имеющие аминокислотные остатки, характерные для четырех различных протеаз: кислых, тиоловых, сериновых и металлопротеаз [58–63, 130].

Было впервые показано, что 100 % IgG препаратов, выделенных из сыворотки 32 ВИЧ-инфицированных пациентов, эффективно расщепляют все пять гистонов человека [131]. Относительная активность гидролиза гистонов H1, H2A, H2B, H3 и H4 существенно различалась для IgG разных пациентов. IgG из крови 40 % здоровых доноров также гидролизуют пять гистонов, но в ~16–20 раз менее эффективно, чем из крови ВИЧ-инфицированных пациентов [131]. Гистон-гидролизующая активность АТ подавлялась специфическими ингибиторами металлозависимых и сериновых протеаз, но наблюдалось также неожиданное значительное подавление их активности специфическим ингибитором тиол-подобных протеаз. Все полученные данные указывали на возможность синтеза иммунной системой ВИЧ-инфицированных пациентов множества антител с абсолютно разными каталитическими свойствами. Анализ моноклональных абзимов с протеазной активностью подтвердило этот вывод.

Для анализа ОБМ-гидролизующих МЛЦ использовали ту же библиотеку легких цепей к-типа и те же подходы к получению образцов гомогенных МЛЦ [132–135], что и для анализа МЛЦ с ДНКазной активностью [122, 123]. Пул фаговых частиц с разным сродством к ОБМ-сефарозе разделяли на десять фракций с разным сродством к ОБМ. Образцы всех фракций эффективно гидролизovali ОБМ. Фракцию, элюированную с ОБМ-сефарозы 0,5 М раствором NaCl, использовали для получения индивидуальных колоний [132–135]. Препараты всех десяти фракций эффективно гидролизovali ОБМ. Фаговые частицы, элюированные с ОБМ-сефарозы с использованием 0,5 М NaCl, использовали для получения индивидуальных колоний и затем препаратов антител, соответствующих этим колониям. Всего из 440 отдельных колоний случайным образом было выбрано 72 колонии. Из 72 колоний 22 (~30%) обладали ОБМ-гидролизующей активностью. Все 22 препарата МЛЦ были очищены с помощью хроматографией на NiTrap™ сорбенте, заряженном Ni²⁺, с последующей высокоэффективной гель-фильтрацией. Эффективности гидролиза ОБМ 22 препаратами МЛЦ сильно отличалась [132–135]. Были получены неожиданные результаты: 12 из 22 препаратов МЛЦ проявляли металлопротеазную активность, которая подавлялась только этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА). Было обнаружено, что четыре препарата МЛЦ являются сериновыми протеазами; только фенилметилсульфонил фторид (PMSF) подавлял их активность. Эффекты PMSF и ЭДТА в случае трех МЛЦ были сопоставимыми: ~ 40 % и 60 %, соответственно. Активность еще трех МЛЦ сильно подавлялась только йодацетамидом – специфическим ингибитором тиол-подобных протеаз. Интересно, что йодацетамид значительно подавлял активность МЛЦ, которые также значительно ингибировались ЭДТА. Логично было предположить, что две эти МЛЦ являются химерными антителами, активные центры которых содержат аминокислотные остатки тиоловых и метал-

лопротеаз. Особенно неожиданные данные были получены для одной МЛЦ; ее активность значительно ингибировалась ЭДТА, PMSF и йодацетамидом; общий эффект трех ингибиторов составил 154%. Эти данные показали, что в активном центре этой МЛЦ совмещены аминокислотные остатки трех типов классических протеаз. Все описанные МЛЦ отличались по оптимальным значениям pH и активации самыми разными ионами металлов: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} и Mn^{2+} .

Особенно неожиданные результаты были получены при анализе трех препаратов МЛЦ: NGTA1-Me-pro, NGTA2-Me-pro-Tr и NGTA3-pro-DNase [132–135]. Был проведен анализ ДНК последовательностей, кодирующих эти три МЛЦ. Они оказались идентичными (88–100%) зародышевым линиям генов легкой цепи IgLV8 нескольких описанных в литературе антител [132–135].

NGTA1-Me-pro оказалась металлопротеазой, ингибируемой только ЭДТА [133]. Ее активность в гидролизе ОБМ снижалась в присутствии семи различных ионов металлов в следующем порядке: $\text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Ni}^{2+} \gg \text{Zn}^{2+} \gg \text{Co}^{2+} \gg \text{Mn}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$. NGTA1-Me-pro демонстрировала два разных оптимума pH: 6,0 и 8,5. Кроме того, при pH = 6,0 оптимальная концентрация CaCl_2 – 6,0 мМ, а при pH 8,5 – 1,0 мМ. K_M для ОБМ и k_{cat} при pH 6,0 ($20,0 \pm 2,0$ мкМ; $0,22 \pm 0,02$ мин⁻¹) и при pH 8,5 ($40,0 \pm 3,0$ мкМ; $0,07 \pm 0,005$ мин⁻¹) различались. Эти данные однозначно свидетельствовали о том, что NGTA1-Me-pro обладает двумя разными металлозависимыми активностями в пределах одного активного центра [133].

PMSF (42%) и ЭДТА (58%) были специфическими ингибиторами NGTA2-Me-pro-Tr: она проявляет свойства химерной протеазы с сериновой и метал-зависимой активностью [134]. После обработки МЛЦ с помощью PMSF оптимум pH металлопротеазной активности оказался 6,5–6,6. После диализа МЛЦ против ЭДТА оптимум pH ее серин-подобной активности был 7,4–7,5. При pH 7,5 для ОБМ $K_M = 9,0 \pm 1,0$ мкМ, а $k_{\text{cat}} = 8,0 \pm 0,6$ мин⁻¹. При pH 6,5 (в присутствии CaCl_2) сродство ОБМ было ниже ($K_M = 24,0 \pm 2,0$ мкМ), а скорость катализа выше ($k_{\text{cat}} = 15,2 \pm 1,1$ мин⁻¹) [135]. Таким образом, NGTA2-Me-pro-Tr была первым примером абзимов с активным центром, сочетающим сериноподобную и металлопротеазную активности [134].

Следует особо подчеркнуть, что все рекомбинантные МЛЦ были получены с использованием одного и того подхода [132–135]. Учитывая это, при анализе ферментативной активности NGTA3-pro-DNase был получен весьма неожиданный результат [135]. Только эта из 25 рекомбинантных МЛЦ эффективно гидролизовала не только МВР, но и ДНК. Инкубация этой МЛЦ как с PMSF (67%), так и с ЭДТА (36%) приводила к подавлению ее протеазной активности. Ионы различных металлов активировали протеазную активность: $\text{Ca}^{2+} \geq \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+} \gg \text{Mn}^{2+} \geq \text{Cu}^{2+} \gg \text{Zn}^{2+} \geq \text{Mg}^{2+}$. CaCl_2 (3,0 мМ) является лучшим активатором ее активности. У NGTA3-pro-DNase два разных оптимума pH в гидролизе ОБМ. После инкубации МЛЦ с PMSF ее металлопротеазная активность была максимальной при pH 8,6, а в присутствии ЭДТА оптимум сериновой активности соответствует pH 7,0 [135]. МЛЦ после обработки PMSF в присутствии 3,0 мМ CaCl_2 (pH 7,0) имела сродство к ОБМ ($K_M = 15,0 \pm 1,1$ мкМ) выше, чем в присутствии ЭДТА при pH 8,6 ($K_M = 45 \pm 1,1$ мкМ). В то же время сериновый центр МЛЦ катализирует гидролиз ОБМ ($k_{\text{cat}} = 0,40 \pm 0,03$ мин⁻¹) примерно в два раза быстрее, чем ее металлопротеазный центр ($k_{\text{cat}} = 0,2 \pm 0,04$ мин⁻¹) [135].

Показано, что Mg^{2+} (10 мМ) является оптимальным кофактором ДНКазы I, тогда как ионы других металлов ее активируют очень слабо [120, 121]. Оптимальные концент-

рации ионов Mn^{2+} , Mg^{2+} и Ni^{2+} в случае этой МЛЦ ниже (4–5 мМ); Ca^{2+} и Zn^{2+} – 2 мМ, а Co^{2+} и Cu^{2+} – 10 мМ. ДНКазная активность NGTA3-pro-DNase в присутствии ионов металлов снижается в следующем порядке: $Mn^{2+} \approx Co^{2+} \geq Mg^{2+} > Cu^{2+} \approx Ni^{2+} \geq Ca^{2+} > Zn^{2+}$, что полностью отличает эту МЛЦ от канонических ДНКаз. В оптимальных условиях МЛЦ имеет оптимум pH 6,5–6,6 и очень высокое сродство к ДНК: $K_M = 2,0 \pm 0,2$ нМ ($k_{cat} = (1,1 \pm 0,1) \times 10^{-3}$ мин⁻¹) [135], что примерно на 3,5 порядка выше, чем у ДНКазы I ($K_M = 46–58$ мкМ) [124]. Таким образом, NGTA3-pro-DNase является первым примером антител, содержащих активный центр, в котором совмещены три активных центра – сериновой, металлопротеазной и ДНКазной активностей. [135].

Вопросом в том, как объяснить образование активного центра NGTA3-pro-DNase соответствующего трем ферментативным активностям. Как было показано ранее, ОБМ в крови образует прочные комплексы с ДНК [62, 63]. Таким образом, на стыке молекул ОБМ и ДНК могут формироваться новые антигенные детерминанты, включающие фрагменты последовательностей ОБМ и ДНК. Кроме того, комплекс ОБМ и ДНК может быть связан с одним или несколькими ионами металлов. За счет V(D)J-рекомбинации могут формироваться специфические участки ДНК и ОБМ, кодирующие уникальные переменные домены антител.

Проведен анализ гомологии белковых последовательностей NGTA1-Me-pro [133], NGTA2-Me-pro-Tr [133, 134] и NGTA3-pro-DNase [135] с последовательностями известных сериновых, Zn^{2+} - и Ca^{2+} -зависимых протеаз человека. Обнаружены фрагменты белковых последовательностей этих легких цепей, ответственные за специфическое связывание ОБМ, хелатирование ионов металлов, аминокислотные остатки, участвующие непосредственно в катализе гидролиза белков. В случае NGTA3-pro-DNase также были обнаружены белковые последовательности, сходные с ДНКазой I, ответственные за ДНКазную активность. Модель расположения аминокислот, ответственных за три активности этой МЛЦ, представлена на рис. 1 [135].

Таким образом, в отличие от классических ферментов, активные центры абзимов могут включать структурные элементы энзимов с разными активностями,

V. ВАРИАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ СВОЙСТВ АБЗИМОВ С КАТАЛАЗНОЙ, ФОСФАТАЗНОЙ, АМИЛАЗНОЙ И МИКРО-РНКАЗНОЙ АКТИВНОСТЯМИ

Особый интерес вызывает вопрос о том, как изменения профиля дифференцировки стволовых клеток костного мозга (СККМ) при развитии АИЗ связаны с продукцией разных абзимов на разных стадиях развития этих патологий. У мышей C57BL/6 обычно наблюдается относительно медленное спонтанное развитие ЭАЭ (экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит), которое существенно ускоряется при индукции заболевания гликопротеином миелиновых олигодендроцитов (MOG) и комплексом ДНК–гистоны [58–63, 104–109, 111–112]. Спонтанное развитие ЭАЭ у мышей начинается примерно на 3-м месяце жизни.

Абзимы с амилазной активностью были обнаружены в цереброспинальной жидкости и крови больных РС [111], а также крови нескольких АИЗ [70] и аутоиммунных MRL-lpr/lpr мышей [104, 105]

Абзимы с фосфатазной активностью были детектированы в крови кроликов, иммунизированных ДНК, РНК, ДНКазой I, ДНКазой II и РНКазой А [136–138]. Антитела, гидролизующие РНК и микро-РНК были выделены из крови пациентов с разными АИЗ [58–63, 79, 82, 83]. Антитела с оксидоредуктазными, включая каталазную, активностями выделены из крови людей и животных [58–63, 97–103].

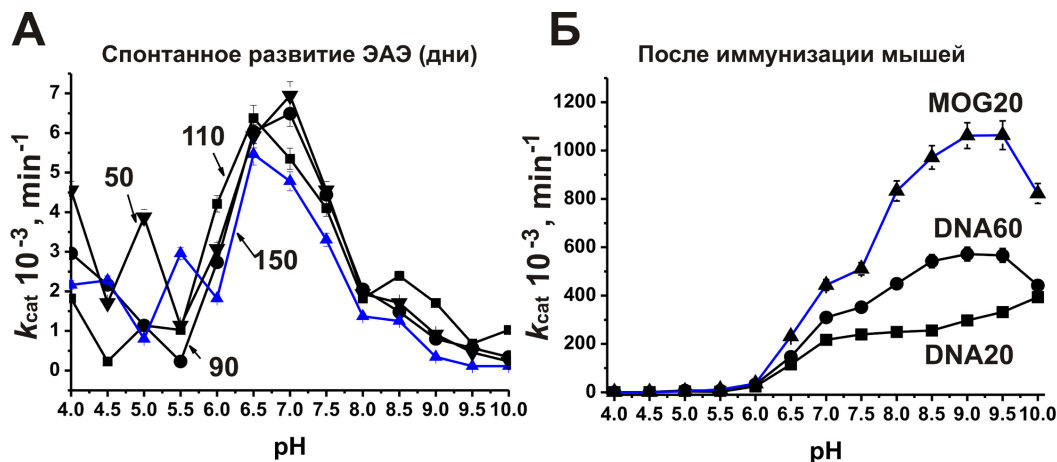


Рис. 2. Зависимость относительной фосфатазной активности антител при гидролизе *n*-нитрофенилфосфата при различных pH реакционных смесей в случае четырех препаратов антител, соответствующих разным дням спонтанного развития ЭАЭ : 50 (Спонт-50д), 90 (Спонт-90д), 110 (Спонт-110д) и 150 (Спонт-150д) дней после рождения мышей (А) и после иммунизации 3-х месячных мышей с помощью MOG (MOG20; 20 дней) или комплексом ДНК–гистоны: ДНК20 (20 дней) и ДНК60 (60 дней) (Б) [142].

ионов металлов и т. д. Особенно ярко это видно на примере фосфатазной активности антител. На рис. 2 показано изменение оптимальных значений pH фосфатазной активности IgG в разные периоды спонтанного развития ЭАЭ и после иммунизации мышей с помощью MOG и комплексом ДНК–гистоны. При спонтанном развитии ЭАЭ гидролиз *n*-нитрофенилфосфата антителами происходит при очень разных значениях pH от 4 до 10. Однако основная часть субфракций IgG-абзимов проявляет максимальную активность при pH = 6,5–7,0 (рис. 2А).

Иммунизация мышей комплексом ДНК–гистоны и MOG приводит к образованию абзимов с фосфатазной активностью, которые лучше гидролизуют субстрат при оптимальных значениях pH от 7,5 до 10,0 и особенно 8,5–9,5 (рис. 2Б). Эти антитела, подобно абзимам, соответствующим спонтанному развитию ЭАЭ, гидролизуют *n*-нитрофенилфосфат и при pH от 6,5–7,0. Однако в этой зоне значения относительной активности низкие, соответствующие лишь плечам на этих зависимостях (рис. 2Б).

Канонические фосфатазы, являются магний-зависимыми ферментами [143–145]. Абзимы с фосфатазной активностью тоже оказались магний зависимыми [142]. В отличие от абзимов, соответствующих спонтанному развитию ЭАЭ, после иммунизации мышей MOG и комплексом ДНК–гистоны зависимости от концентрации ионов магния стали двухфазными. Это может свидетельствовать о том, что различные субфракции моноклональных антител в составе суммарных АТ могут сильно различаются по сродству к ионам магния. Иммунизация мышей MOG привела к возрастанию фосфатазной активностью при pH 9,0 по сравнению со спонтанным развитием ЭАЭ примерно в 1060 раз, а комплексом ДНК–гистоны в 570 (ДНК60) и 310 раз (ДНК20).

Примерно тажеого же рода изменения в оптимумах pH, зависимостях от ионов металлов обнаружены и в случае абзимов с амилазной, каталазной и микро-РНК-гидролизующей активностями. После иммунизации мышей с помощью MOG и комплексом ДНК–гистоны также было обнаружено изменение сайтов гидролиза микро-РНК.

Таким образом было показано, что на разных стадиях спонтанного и антиген-индуцированного развития ЭАЭ может происходить активация наработки В лимфоцитов, продуцирующих абзимы с сильно отличающимися ферментативными свойствами. Особенно интересные и неожиданные результаты были получены при изучении гидролиза пяти гистонов и ОБМ антителами-абзимами при спонтанном и антиген-индуцированном развитии ЭАЭ.

VI. НЕОЖИДААННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ АБЗИМОВ С ПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРОТИВ Н1 ГИСТОНА ПРИ РАЗВИТИИ ЭАЭ

Самые неожиданные результаты, свидетельствующие о чрезвычайном разнообразии и изменении свойств абзимов на разных стадиях развития ЭАЭ, были получены при анализе антител, гидролизующих пять гистонов и ОБМ. Как указано выше, IgG из крови ВИЧ-инфицированных пациентов против каждого из пяти индивидуальных гистонов эффективно гидролизуют все гистоны и ОБМ, и наоборот; АТ против ОБМ расщепляют и ОБМ и каждый из гистонов [130, 131]. Эти данные свидетельствовали о том, что абзимы против гистонов и ОБМ обладают не только описанной ранее полиреактивностью в комплексообразовании [125–128], но и впервые открытой на примере абзимов ВИЧ-инфицированных больных каталитической перекрестной активностью [89, 96, 131].

Совершенно аналогичные результаты были получены при анализе IgG к пяти гистонам и ОБМ, выделенным из сыворотки крови мышей C57BL/6 [146–149]. В этих работах абзимы против пяти гистонов и ОБМ, соответствующие разным стадиям развития ЭАЭ, были изучены более детально. Для этого, сначала были получены электрофоретически гомогенные поликлональные IgG мышей ЭАЭ против пяти индивидуальных гистонов и ОБМ свободные от примесей канонических протеаз [146–149]. Все описанные процедуры были проведены для всех препаратов IgG, соответствующих разным стадиям спонтанного (обозначение – Спонт) развития ЭАЭ и после иммунизации мышей MOG (обозначение – MOG) или комплексом ДНК–гистоны (обозначение – ДНК). Описание всех препаратов IgG, соответствующих разным стадиям развития ЭАЭ, приведено в табл 1.

Все эти препараты IgG использовали для анализа гидролиза гистонов Н1, Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Показано, что IgG против каждого отдельного гистона гидролизуют все пять гистонов и ОБМ, и наоборот, антитела против ОБМ гидролизуют ОБМ и каждый из пяти гистонов [57, 48, 149, 150]. Фракции IgG, обладающие высоким сродством к каждому из пяти индивидуальных гистонов и ОБМ, были использованы для определения сайтов гидролиза каждого из пяти индивидуальных гистонов Н1–Н4 с помощью метода матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ-масс-спектрометрии). Эти данные опубликованы в работах [146–149]. К сожалению, совокупность данных по гидролизу всех пяти гистонов привести в данном обзоре невозможно. Однако для понимания того, что же происходит с наработкой антител против разных гистонов на разных стадиях развития ЭАЭ, необходимо детально описать все неожиданные особенности иммунного ответа у ЭАЭ мышей хотя бы на примере одного гистона. Ниже проведен детальный анализ гидролиза Н1 гистона антителами против всех пяти гистонов и ОБМ.

Сначала с помощью IgG против 5 индивидуальных гистонов и ОБМ были обнаружены сайты гидролиза гистона Н1, соответствующие началу эксперимента (3-х месячные мыши) и спонтанному развитию ЭАЭ (без иммунизации мышей) в течение 60

Таблица 1. IgG антитела против всех пяти гистонов, ОБМ и пяти индивидуальных гистонов (Н1–Н4), соответствующих разным стадиям развития ЭАЭ*.

Суммарные IgG		Название препарата
Нулевое время (контроль – Конт) начало эксперимента, IgG к 5 гистонам и ОБМ.	1	Конт-аН1-0д
	2	Конт-аНА-0д
	3	Конт-аНВ-0д
	4	Конт-аНЗ-0д
	5	Конт-аН4-0д
	6	Конт-ОБМ-0д
Спонтанное (Спонт) развитие ЭАЭ в течение 60 дней; IgG против 5 гистонов и ОБМ	7	Спонт-аН1-60д
	8	Спонт-аН2А-60д
	9	Спонт-аН2В-60д
	10	Спонт-аН3-60д
	11	Спонт-аН4-60д
	12	Спонт-аОБМ-60д
IgG против 5 гистонов и ОБМ соответствующие 20 дням после иммунизации мышей MOG	13	MOG20-аН1
	14	MOG20-аН2А
	15	MOG20-аН2В
	16	MOG20-аН3
	17	MOG20-аН4
	18	MOG20-аОБМ-60д
IgG против пяти гистонов и ОБМ; соответствующие 20 дням после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны	19	ДНК20-аН1
	20	ДНК20-аН2А
	21	ДНК20-аН2В
	22	ДНК20-аН3
	23	ДНК20-аН4
	24	ДНК20-аОБМ
IgG против 5 гистонов; соответствующие 60 дням после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны	25	ДНК60-аН1
	26	ДНК60-аН2А
	27	ДНК60-аН2В
	28	ДНК60-аН3
	29	ДНК60-аН4
	30	ДНК60-аОБМ

* Все обозначения препаратов, использованные в таблице, приведены в работах [146–149].

дней (рис. 3). Сразу после добавления IgG антител Н1 гистон был почти гомогенным, демонстрирующим два сигнала соответствующих одно- (m/z ; отношение массы соединения к заряду) = 20719,1 Дальтон) и двухзарядным ионам (m/z = 10359,6 Да). Для всех препаратов IgG, перечисленных в таблице 1, было получено 8–10 спектров. В качестве примера на рисунке 4 показаны несколько типичных спектров. Такие спектры продуктов гидролиза Н1 гистона были получены для всех 30 препаратов IgG, указанных в таблице 1.

Все специфические сайты гидролиза и относительные эффективности расщепления Н1 всеми препаратами IgG были установлены по усредненным данным 8–10 незави-

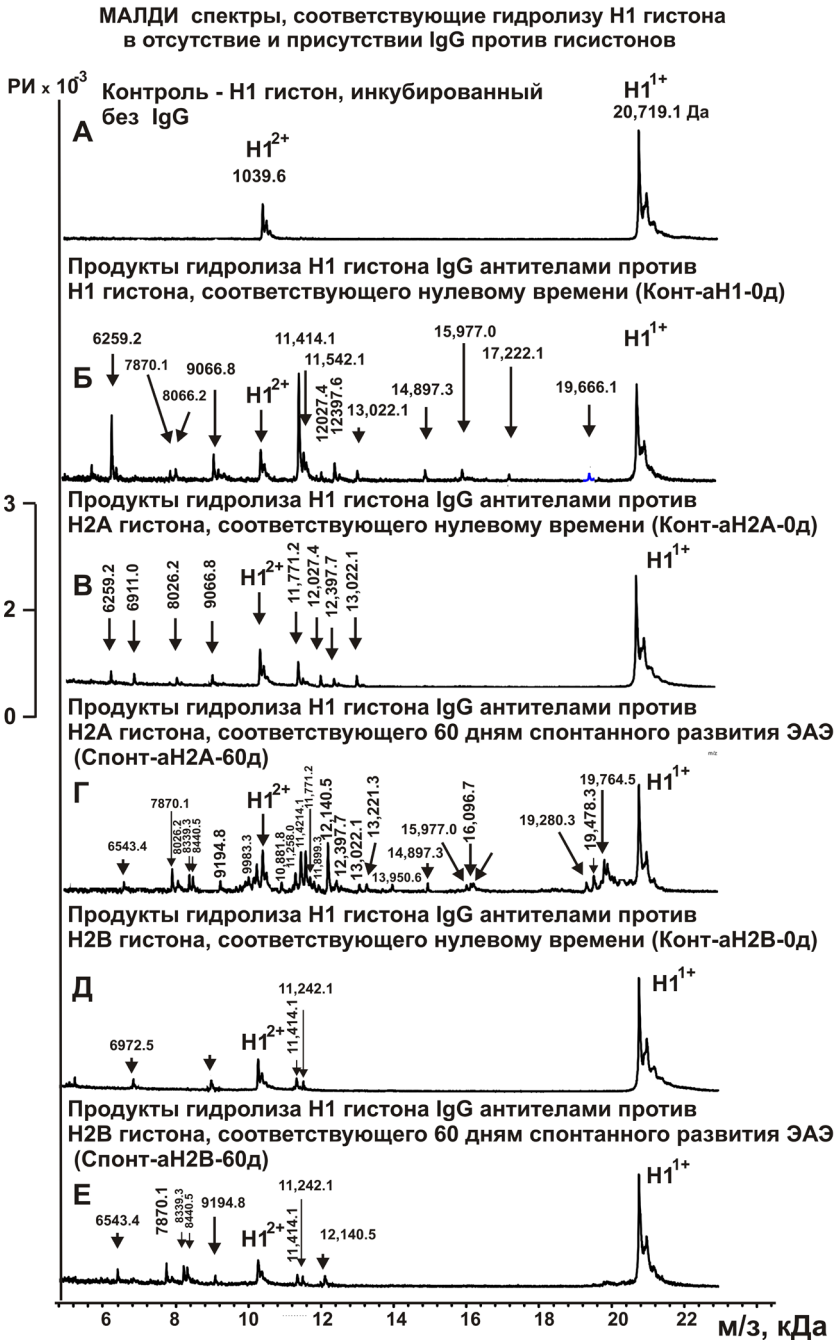


Рис. 3 МАЛДИ спектры, соответствующие продуктам гидролиза H1 гистона в отсутствие (А) и присутствии IgG антител против гистонов: Конт-аH1-0д (Б), Конт-аH2A-0д (В), Спонт-аH2A-60д (Г), Конт-аH2B-0д (Д) и Спонт-аH2B-60д (Е).

Все обозначения IgG и значения отношения масса/заряд (м/з) показанные на рисунке взяты из работы [149].

А 26 сайтов гидролиза Н1 гистона IgG антителами против Н1 гистона 20 дней иммунизации мышей с помощью MOG

1-tenstsapaakpk**R***Akaskkst**D★**Hpkysdmivaaiaeknragssrq**S***Iqkyik**S*H**-56
 57- ykvgenadsqiklsi**K*RIV***Ttgvlk**Q↓TK★**Gvg**A↓SgsF★RIA★K↓**Sde-99
 100-**P↓K↓KS*VA★**Fkktkkekikvatp**K*KA***Skpk**A*AskaptK↓KpkA↓T**-140
 141-pvkkakk**K↓LA↓A↓T**pkkakkpktivakpvkaskpkkakpvkp**K↓Aks★A**kragkkk-193

Б 4 сайта гидролиза Н1 гистона IgG антителами против Н2А гистона 20 дней иммунизации мышей с помощью MOG

1-tenstsapaakpkrakaskkstdhpkysdmivaaiaeknragssrqsikyiksh-56
 57-**Y*K**vgena**D*S**qiklsikrlvttgvlkqtkvgasgfrlaksde-99

100-pkksva**F★KK***Tkkeikkvatpkkaskpkkaaskaptkkpkat-140

141-pvkkakkklaatpkkakkpktivakpvkaskpkkakpvkp**kakssakragkkk**-193

В 5 сайтов гидролиза Н1 гистона IgG антителами против Н2В гистона 20 дней иммунизации мышей с помощью MOG

1-tenstsapaakpkrakaskkstdhpkysdmivaaiaeknragssrqsikyiksh**H★Y**-57

58-kvgenadsqi**K*L**sikrlvttgvlkqt**K★G**vgasgfrlaksde-99

100-**P★K**ksva**F★K**ktkkekikvatpkkaskpkkaaskaptkkpkat-140

141-pvkkakkklaatpkkakkpktivakpvkaskpkkakpvkp**kakssakragkkk**-193

Г 7 сайтов гидролиза Н1 гистона IgG антителами против Н3 гистона 20 дней иммунизации мышей с помощью MOG

1-tenstsapaakpkrakaskkstdhpkysdmivaaiaeknragssrqsikyiksh-56

57-ykvgenadsqiklsi**K*R↓**Lvttgvlkqt**K★G**vgasgfr**R*LA*K**sde-99

100-**P*K**ksva**F★K**ktkkekikvatpkkaskpkkaaskaptkkpkat-140

141-pvkkakkklaatpkkakkpktivakpvkaskpkkakpvkp**kakssakragkkk**-193

Д 14 сайтов гидролиза Н1 гистона IgG антителами против Н4 гистона 20 дней иммунизации мышей с помощью MOG

1-tenstsapaakpkrakaskkstdhpkysdmivaaiaeknragssrqsikyiksh-56

57-**Y↓K**vgena**D*S**qi**K*L**sikr**L*VtT***Gvlk**Q*T↓K★G**vgasgfrlaksde-99

100-pkks**S*V**a**F★K↓K***Tkkeik**K*V**atp**K↓K**askpkkaaskaptkkpkat-140

141-pvkkakkklaatpkkakkpktivakpvkaskpkkakpvkp**kakssakragkkk**-193

Рис. 4. Сайты гидролиза Н1 гистона IgG против пяти гистонов Н1–Н4, соответствующие 20 дням после иммунизации мышей MOG: MOG20-аН1(А), MOG20-аН2А (Б), MOG20-аН2В (В), MOG20-аН3 (Г) и MOG20-аН4 (Д).

Мажорные сайты гидролиза Н1 гистона показаны большими звездочками (★), умеренные – стрелками (↓), а минорные – маленькими звездочками (*) [149].

симых спектров [149]. Кроме того, полученные результаты были представлены в виде рисунков с последовательностями H1 гистона с указанием сайтов и относительной эффективности гидролиза гистона H1 для всех препаратов IgG. В качестве примера на рис. 4 приведены данные о сайтах гидролиза H1 гистона антителами против H1, H2A, H2B, H3 и H4 гистонов, соответствующих препаратам после иммунизации мышей MOG. Все 30 IgG препаратов гидролизуют гистон H1 во многих сайтах, число и тип которых различаются для разных препаратов.

Для более упрощенного сравнения различных сайтов гидролиза H1 гистона антителами против разных гистонов они суммированы в виде таблиц. В качестве примера данные по гидролизу H1 гистона препаратами IgG против H1, H2A и H2B гистонов в нулевое время и 60 дней после спонтанного развития ЭАЭ приведены в табл. 2 (см. на развороте). Таблицы гидролиза H1 гистона всеми 30 препаратами антител, указанных в табл. 1, приведены в работе [149].

IgG против H1 3-х месячных мышей (препарат Конт-аH1-0д) гидролизуют этот гистон по 16, тогда как после 60 дней спонтанного развития ЭАЭ (Спонт-аH1-60д) только по 15 сайтам. Из 15–16 – 9 были разными сайтами гидролиза H1 гистона (табл. 2). При спонтанном развитии ЭАЭ в течении 60 дней число сайтов гидролиза H1 гистона IgG антителами против H2A гистона увеличилось с 15 (Конт-аH2A-0д) до 25 (Спонт-аH2A-60д); появилось еще 11 новых мажорных и умеренных сайтов гидролиза (табл. 2). Число сайтов гидролиза H1 гистона антителами против гистона H2B (Конт-аH2B-0д) в нулевое время равно всего 4, но увеличилось до 8 сайтов к 60 дням эксперимента (Спонт-аH2B-60д).

Несколько иная ситуация наблюдается при гидролизе H1 гистона в случае IgG против гистонов H3 и H4. Число сайтов гидролиза H1 гистона для Спонт-аH3-60д уменьшается по сравнению с Конт-аH3-0д с 17 до 10, и только 1 сайт является одинаковым для обоих IgG препаратов (табл. 2).

Максимальное число сайтов гидролиза гистона H1 (23) в нулевое время выявлено для IgG против H4 гистона (Конт-аH4-0д), которое уменьшилось до 17 к 60-му дню спонтанного развития ЭАЭ (табл. 2); в случае обоих препаратов IgG есть по 5 мажорных сайтов гидролиза, но они разные (табл. 2).

Было показано, что иммунизация мышей с помощью MOG приводит к очень сильному изменению профиля дифференцировки СККМ мышей по сравнению с таковым в нулевое время и после спонтанного развития ЭАЭ [106–109, 146–149]. Различие в профилях дифференцировки СККМ приводит к появлению других В лимфоцитов, которые продуцируют антитела против H1 гистонов с другими свойствами. Иммунизация ЭАЭ мышей с помощью MOG привела к увеличению сайтов гидролиза H1 гистона IgG против H1 от 16 (нулевое время) до 26 сайтов [149]. При этом обнаружено 4 новых мажорных и несколько минорных сайтов расщепления гистона для MOG20-аH1 по сравнению с Конт-аH1-0д. Только 5 из 26 сайтов гидролиза H1 гистона MOG20-аH1 антителами совпали с 5 из 15 сайтов его гидролиза антителами, соответствующими 60 дням спонтанного развития ЭАЭ (Спонт-аH1-60д).

Интересно, что иммунизация мышей с помощью MOG привела к значительному уменьшению сайтов гидролиза H1 гистона IgG антителами против гистона H2A с 15 (Конт-аH2A-0д) до 4 сайтов (MOG20-аH2A). При этом в обоих случаях обнаружен только один и тот же мажорный сайт гидролиза H1 гистона (F106–K107). Один минорный сайт гидролиза H1 гистона MOG20-аH2A антителами совпадает с одним сайтом умеренного

гидролиза Н1 антителами, соответствующими спонтанному развитию ЭАЭ (Спонт-аН1-60д).

После иммунизации мышей с помощью MOG число сайтов гидролиза Н1 гистона IgG антителами против Н2В гистона (MOG20-аН2В) увеличилось по сравнению с нулевым временем (Конт-аН2В-0д) с 4 до 5. Все четыре сайта гидролиза Н1 с помощью Конт-аН2В-0д были минорными, а четыре из 5 сайтов расщепления этого гистона MOG20-аН2В антителами – мажорными.

Иммунизация ЭАЭ мышей с помощью MOG привела к уменьшению сайтов гидролиза Н1 гистона антителами против гистона Н3 с 17 (Конт-аН2В-0д) до 7 (MOG20-аН3). Только один минорный сайт гидролиза (R93–L94) был общим для двух препаратов IgG. Для MOG20-аН3 и Спонт-аН3-60д выявлены два одинаковых сайта гидролиза.

После иммунизации мышей с помощью MOG число сайтов гидролиза Н1 антителами против гистона Н4 уменьшилось с 24 (Конт-аН4-0д) до 17 (MOG20-аН4). Только три сайта гидролиза гистона Н1 этими препаратами совпадают, но различаются по эффективности гидролиза Н1 гистона.

В целом, обработка мышей с помощью MOG приводит к сильному увеличению числа сайтов гидролиза Н1 только в случае IgG антител против гистона Н1. Для остальных абзимов, за исключением IgG к Н2В гистону, выявлена тенденция к уменьшению числа сайтов гидролиза Н1 гистона. Однако во всех случаях сайты гидролиза гистона Н1 абзимами, соответствующими нулевому времени и спонтанному развитию ЭАЭ в течение 60 дней, существенно отличаются от таковых после иммунизации мышей с помощью MOG [149].

Ускорение развития ЭАЭ у мышей происходит не только после их иммунизации с помощью MOG, но и комплексом ДНК–гистоны [146]. При этом профиль дифференцировки МККМ после обработки мышей комплексом ДНК–гистоны отличается от таковых для спонтанного развития ЭАЭ и после иммунизации мышей с помощью MOG. Это приводит к тому, что антитела против разных гистонов гидролизуют Н1 гистон по другому числу и типу специфических сайтов по сравнению с сайтами гидролиза Н1 гистона абзимами, соответствующими спонтанному развитию ЭАЭ и иммунизации мышей с помощью MOG.

Через 20 дней после иммунизации мышей с помощью комплекса ДНК–гистоны число сайтов гидролиза Н1 гистона IgG антителами против Н1 гистона (ДНК20–аН1), в отличие от спонтанного развития ЭАЭ, оказалось равным с таковым в нулевое время (16 сайтов; Конт-аН1-0д). Однако только 7 из 16 сайтов гидролиза Н1 гистона у этих двух препаратов абзимов совпадают. Число сайтов гидролиза Н1 гистона через 20 дней после иммунизации мышей MOG (MOG20-аН1) – 26, а не 16 [149]. Только 4 сайта гидролиза Н1 этими препаратами антител (MOG20-аН1 и ДНК20–аН1) одинаковые. Если MOG20-аН1 абзимы эффективно гидролизуют Н1 гистон в его С-концевой зоне белка (K120-A186), то в случае абзимов ДНК20-аН1 в этой зоне сайты гидролиза отсутствуют. Число сайтов гидролиза Н1 анти-Н2А-абзимами после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны (ДНК20–аН2А) уменьшилось с 15 до 13, и только один мажорный сайт гидролиза (F106–K107) является общим для Конт-аН2А-0д и ДНК20–аН2А антител.

Иммунизация ЭАЭ мышей с помощью MOG привела к уменьшению сайтов гидролиза Н1 абзимами против Н2А гистона с 15 до 4; только один (Y57–K58) из этих четырех сайтов расщепления совпадает с таковыми для ДНК20–аН2А [149].

Таблица 2. Сайты гидролиза H1 гистона IgG против пяти гистонов в нулевое время и после спонтанного развития ЭАЭ в течение 60 дней

Число и тип сайтов										
Конт-аН1-0д	Спонт-аН1-60д	Конт-аН2А-0д	Спонт-аН2А-60д	Конт-аН2В-0д	Спонт-аН2В-60д	Конт-аН3-0д	Спонт-аН3-60д	Конт-аН4-0д	Спонт-аН4-60д	Спонт-аН4-60д
16	15	15	25	4	8	17	10	23	17	17
K11-P12*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	R14-A15*	-	-	-	-	-	-	R14-A15
-	-	-	-	-	-	-	-	D23-H24	-	D23-H24*
A33-A36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F33-A34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	S44-S45	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	Y52-I53	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	S55-H56	-	S55-H56
Y57-K58	Y57-K58	-	-	-	-	-	Y57-K58	-	-	-
-	-	-	-	-	-	V59-G60	-	V59-G60	-	V59-G60
-	-	-	G60-E61	-	G60-E61	G60-E61	-	-	-	-
-	-	N62-A63	N62-A63	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	D64-S65	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	167-K68	-	167-K68	-	-
-	-	-	-	-	K68-L69	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	171-K72	-	171-K72
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R73-L74	R73-L74	-	K72-R73	-	-	-	R73-L74	-	-	-
-	-	R73-L74	R73-L74	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	V75-T76	-	V75-T76	-	V75-T76
T76-T77	T76-T77	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	T77-G78	-	T77-G78	-	-	-	-	-
-	-	-	V79-L80	-	V79-L80	-	-	-	-	-
L80-K81	L80-K81	L80-K81	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	K81-Q82	-	-	-	-	-	-	-
-	Q82-T83	Q82-T83	Q82-T83	-	-	Q82-T83	-	Q82-T83	-	Q82-T83
T83-K84	T83-K84	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K84-G85	K84-G85	K84-G85	K84-G85	K84-G85	K84-G85	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	G85-V86	-	-	-	-
V86-G87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Окончание табл. 2 см. на сл. стр.

Число сайтов гидролиза Н1 антителами против Н2В гистона (ДНК20–аН2В) после обработки мышей комплексом ДНК–гистоны по сравнению с нулевым временем (Конт–аН2В–0д) возрастает с 4 до 5; 4 из них совпадают. Но только 2 сайта гидролиза являются общими для антител ДНК20–аН2В и МОГ20–аН2В. Таким образом, иммунизация мышей комплексом ДНК–гистоны приводит к снижению числа препаратов IgG против Н2В гистона, способных гидролизовать гистон Н1.

Через 20 дней после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны число сайтов гидролиза Н1 анти–Н3–IgG абзимами уменьшилось с 17 до 9. Особенностью ДНК20–аН3 антител является то, что все сайты гидролиза Н1 гистона, соответствующие нулевому времени (Конт–аН3–0д) и 20 дням после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны (ДНК20–аН3), совершенно разные. Уменьшение числа сайтов гидролиза Н1 с 17 до 7 было обнаружено после обработки мышей с помощью МОГ (МОГ20–аН3), причем 3 из этих 7 сайтов одни и те же, что и 3 сайта у IgG препарата после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны (ДНК20–аН3).

Максимальное число сайтов гидролиза Н1 гистона (23) в нулевое время было обнаружено для антител против Н4 гистона (Конт–аН4–0д), которое уменьшилось после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны до 10 (ДНК20–аН4), а после обработки мышей с помощью МОГ до 17 (МОГ20–аН4). Из 10 сайтов в случае ДНК20–аН4 препарата 7 были идентичны сайтам, соответствующим МОГ20–аН4. Только два из десяти сайтов гидролиза Н1 антителами ДНК20–аН4 были такими же, как и для Конт–аН4–0д.

Изменение профиля дифференцировки СККМ может происходить несколько раз в процессе спонтанного развития ЭАЭ и после иммунизации мышей с помощью МОГ или комплексом ДНК–гистоны. Если в случае иммунизации мышей с помощью МОГ ярко выражены только три основных стадии: начало ускорения развития ЭАЭ (7–8 дней после иммунизации), острая фаза (20–21 день, максимальная активность абзимов) и ремиссия (после примерно 30 дней, медленное снижение активности абзимов). После иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны наблюдаются все эти три стадии, но примерно через 50–60 дней появляется еще одна острая фаза, которая характеризуется очень сильным возрастанием активности абзимов и особенно антител с ДНКазной активностью [107]. Учитывая это, нами был проведен анализ активности абзимов спустя 60 дней после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны.

Интересно, что по сравнению со спонтанным развитием ЭАЭ иммунизация мышей комплексом ДНК–гистоны через 60 дней приводит к увеличению числа сайтов расщепления Н1 антителами против Н2В (ДНК60–аН2В) и Н3 гистона (ДНК60–аН3). Однако для IgG против трех других гистонов (Н1, Н2А и Н4) наблюдалось уменьшение числа сайтов гидролиза Н1 гистона.

Из восьми сайтов гидролиза Н1 гистона ДНК60–аН1 антителами только 3 совпадают с 3 сайтами, соответствующими 60 дням спонтанного прогрессирования ЭАЭ – Спонт–аН1–60д [149]. Обнаружено 16 сайтов гидролиза Н1 IgG антителами против гистона Н1 (Конт–аН1–0д), соответствующих нулевому времени. Ни один из восьми сайтов гидролиза Н1 абзимами против Н1 гистона после обработки мышей комплексом ДНК–гистоны (ДНК60–аН1) не совпадает с сайтами расщепления, обнаруженными для Конт–аН1–0д. В отличие от иммунизации комплексом ДНК–гистоны, обработка мышей с помощью МОГ (МОГ20–аН1) приводит не к снижению, а к увеличению числа сайтов гидролиза Н1 с 16 до 26 по сравнению с Конт–аН1–0д. Таким образом, разница числа сайтов гидролиза Н1, расщепляемых абзимами МОГ20–аН1 и DNA60–аН1, составляет 18.

Если спонтанное развитие ЭАЭ в течение 60 дней приводит к наработке анти-Н2А IgG (Спонт-аН2А-60д), гидролизующих Н1 гистон по 25 сайтам, то иммунизация мышей комплексом ДНК–гистоны через 60 дней ведет к уменьшению числа сайтов гидролиза Н1 гистона (ДНК60–аН2А) до 15. Кроме того, совпадают только 3 сайта гидролиза в случае Спонт-аН2А-60д и ДНК60–аН2А антител. Число сайтов гидролиза Н1 гистона анти-Н2А антителами в нулевое время и через 60 дней после обработки мышей комплексом ДНК–гистоны (ДНК60–аН2А) сопоставимо – 16 и 15 сайтов, но только 1 сайт слабого расщепления у них общий. Из четырех сайтов гидролиза Н1 антителами против Н2А гистона после иммунизации мышей MOG (MOG20–аН2А) два совпадают с двумя из восьми сайтов гидролиза Н1 гистона Спонт-аН2А-60д антителами.

После спонтанного развития ЭАЭ в течение 60 дней (Спонт-аН2В-60д) IgG антитела против Н2В гистона гидролизуют Н1 гистон по 8 сайтам, а через 60 дней после обработки мышей комплексом ДНК–гистон (ДНК60–аН2В) – по 12 сайтам. Антитела против Н2В гистона (Конт-аН2В-0д), соответствующие нулевому времени, расщепляют Н1 гистон только по 4 сайтам; два из них совпадают с сайтами, соответствующими ДНК60–аН2В антителам. Из пяти сайтов гидролиза Н1 гистона антителами против Н2В гистона после иммунизации мышей с помощью MOG (MOG20–аН2В) 3 сайта такие же, как и для ДНК60–аН2В.

Интересно, что спонтанное развитие ЭАЭ от нулевого времени (Конт-аН3-0д) до 60 дней (Спонт-аН3-60д) приводит к уменьшению сайтов гидролиза Н1 гистона абзимами против Н3 гистона с 17 до 10, тогда как после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны число сайтов гидролиза через 60 дней – 16 (ДНК60–аН2В). Для абзимов Спонт-аН3-60д и ДНК60–аН2В обнаружено только 3 идентичных сайта. Из 7 сайтов гидролиза Н1 гистона IgG после иммунизации мышей MOG (MOG20–аН3) четыре сайта совпадают с четырьмя из 16 сайтов расщепления Н1 гистона антителами против Н3 гистона (Спонт-аН3-60д).

Если после спонтанного развития ЭАЭ в течение 60 дней IgG против Н4 гистона гидролизуют Н1 гистон по 17 сайтам, то иммунизация мышей комплексом ДНК–гистоны приводит к уменьшению числа сайтов гидролиза до 6. Кроме того, происходит наработка В лимфоцитов, продуцирующих другие антитела (ДНК60–аН4), ни один из 6 сайтов гидролиза Н1 гистона этими антителами не совпадает с таковыми в случае Спонт-аН4-60д и только 4 сайта такие же, как для Конт-аН4-0д. Однако из 17 сайтов расщепления Н1 гистона антителами после иммунизации мышей с помощью MOG (MOG20–аН4) и 6 сайтов гидролиза после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны 5 сайтов совпадают.

Особый интерес представляют данные о том как изменяется число сайтов гидролиза Н1 гистона на разных стадиях спонтанного развития ЭАЭ. В зависимости от специфичности антител (против Н1, Н2А, Н2В, Н3 или Н4 гистона) число сайтов гидролиза Н1 гистона после 60 дней спонтанного развития ЭАЭ может почти не изменяться, увеличиваться или снижаться: Н1 (16←15), Н2А (15→25), Н2В (4→8), Н3 (17←10) и Н4 (23←17). После иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны в период от 20 (ДНК20–аН3) до 60 (ДНК60–аН3) дней, происходит возрастание сайтов гидролиза Н1 гистона антителами против Н3 гистона, с 9 до 16. Такого же рода существенные изменения в числе и типе гидролизующих сайтов наблюдаются в гидролизе Н1 гистона за 40 дней от 20 до 60 дней после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны: Н1 (16←8), Н2А (13→15), Н2В (5→12), Н3 (9→16) и Н4 (10←6). При этом наблюдается слабое совпадение сайтов

гидролиза в 20 и 60 дней спонтанного развития ЭАЭ. Следовательно в ходе спонтанного или антиген-индуцированного развития ЭАЭ происходят дополнительные изменения профиля дифференцировки СККМ, приводящие к синтезу новых лимфоцитов, продуцирующих абзимы, способные гидролизовать Н1 гистон по другому числу и типу сайтов.

Как указано выше, антитела против всех пяти гистонов гидролизуют не только все индивидуальные гистоны и ОБМ и наоборот антитела против ОБМ эффективно гидролизуют все пять гистонов.

Анти-ОБМ антитела в нулевое время гидролизуют гистон Н1 только по 5 сайтам. Через 20 дней после иммунизации мышей с помощью MOG число сайтов уменьшается до 3, а комплексом ДНК–гистоны – до 2. Через 60 дней после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны число сайтов гидролиза Н1 анти-ОБМ антителами возрастает до 8. Таким образом, антитела против ОБМ гидролизуют Н1 гистон по меньшему числу специфических сайтов, чем антитела против пяти гистонов. Кроме того, сайты гидролиза Н1 гистона анти-ОБМ абзимами почти не совпадают с таковыми для антител против гистонов [149].

Выше для примера проведен детальный анализ гидролиза Н1 гистона антителами против всех пяти гистонов и ОБМ, соответствующих различным стадиям развития ЭАЭ. Этот анализ свидетельствует об очень сложном изменении профиля дифференцировки СККМ, ведущим к формированию В лимфоцитов продуцирующим АТ с абсолютно разными свойствами.

VII. УДИВИТЕЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ АБЗИМОВ ПРОТИВ Н2А, Н2В, Н3 И Н4 ГИСТОНОВ

Такой же детальный анализ, как описан выше для Н1 гистона, был проведен в случае гидролиза остальных индивидуальных гистонов (Н2А, Н2В, Н3 и Н4) антителами против всех пяти гистонов и ОБМ. Все полученные данные приведены в работах [146–149]. Как видно из табл. 3, все 30 препаратов антител гидролизуют пять гистонов по разному числу сайтов. Минимальное число сайтов гидролиза (2 и 3) обнаружено в случае гидролиза Н1 гистона IgG препаратами против основного белка миелина (ДНК20-аОБМ и MOG20-аОБМ), соответствующих 20 дням после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны и MOG. Три препарата антител гидролизовали разные гистоны по 4, а два по 5 сайтам (табл. 3). Максимальное число сайтов гидролиза (35 и 33) демонстрировали два препарата (Спонт-аН3-60д и ДНК60–аН1) в гидролизе Н2А и Н2В гистонов, соответственно.

Антитела против гистона Н2А 3-х месячных мышей (Конт-аН2А-0д) гидролизуют Н2А гистон по 7 сайтам, а через 60 дней спонтанного развития ЭАЭ (Спонт-аН2А-60д) – по 28 сайтам и только 5 сайтов для этих препаратов одинаковые [147]. Число сайтов гидролиза Н2А антителами против Н2В гистона (Конт-аН2В-0в) в нулевое время равно 8, но увеличилось до 27 сайтов через 60 дней спонтанного развития ЭАЭ (Спонт-аН2В-60д); 4 мажорных сайта гидролиза Н2А в случае каждого из этих препаратов антител разные. Число сайтов гидролиза Н2А препаратом Спонт-аН3-60д уменьшилось по сравнению с Конт-аН3-0д с 15 до 12, но идентичных сайтов гидролиза этими препаратами Н2А гистона не было обнаружено. После 60 дней спонтанного развития ЭАЭ число сайтов гидролиза Н2А антителами против гистона Н4 (Конт-аН4-0д) уменьшилось с 8 до 7; все сайты гидролиза оказались разными. Такая ситуация изменения числа и типа сайтов гидролиза Н2А гистона обнаружена для всех препаратов

Таблица 3. Данные об изменении числа сайтов гидролиза пяти индивидуальных гистонов антителами против этих гистонов и основного белка миелина на разных стадиях развития ЭАЭ*

Число сайтов гидролиза пяти индивидуальных гистонов антителами против пяти гистоноа и ОБМ									
Названия препаратов антител*									
Конт-аН1-0д	Спонт-аН1-60д	Конт-аН2А-0д	Спонт-аН2А-60д	Конт-аН2В-0д	Спонт-аН2В-60д	Конт-аН3-0д	Спонт-аН3-60д	Конт-аН4-0д	Спонт-аН4-60д
Число сайтов гидролиза Н1 гистона разными препаратами IgG									
16	15	15	25	4	8	17	10	23	17
Число сайтов гидролиза Н2А гистона разными препаратами IgG									
7	28	4	17	8	27	15	12	8	7
Число сайтов гидролиза Н2В гистона разными препаратами IgG									
4	28	9	6	6	10	6	15	6	7
Число сайтов гидролиза Н3 гистона разными препаратами IgG									
15	21	16	11	13	13	11	12	18	6
Препараты антител после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны									
ДНК20-аН1	ДНК20-аН2А	ДНК20-аН2В	ДНК20-аН3	ДНК20-аН4	ДНК60-аН1	ДНК60-аН2А	ДНК60-аН2В	ДНК60-аН3	ДНК60-аН4
Число сайтов гидролиза Н1 гистона разными препаратами IgG									
16	13	5	9	10	8	16	12	16	6
Число сайтов гидролиза Н2А гистона разными препаратами IgG									
11	27	19	11	23	11	22	35	23	24
Число сайтов гидролиза Н2В гистона разными препаратами IgG									
7	8	10	5	15	33	3	11	10	6
Число сайтов гидролиза Н3 гистона разными препаратами IgG									
20	12	6	9	8	7	9	7	13	5
Препараты антител после иммунизации мышей MOG и анти-ОБМ пантитела									
MOG20-аН1	MOG20-аН2А	MOG20-аН2В	MOG20-аН3	MOG20-аН4	Конт-аОБМ	MOG20-аОБМ	ДНК20-аОБМ	ДНК60-аОБМ	
Число сайтов гидролиза Н1 гистона разными препаратами IgG									
26	4	5	7	17	5	3	2	8	
Число сайтов гидролиза Н2А гистона разными препаратами IgG									
15	11	7	6	11	19	21	22	18	
Число сайтов гидролиза Н2В гистона разными препаратами IgG									
26	26	7	6	11	11	14	9	4	
Число сайтов гидролиза Н3 гистона разными препаратами IgG									
15	12	16	8	20	14	12	9	8	

* Использованы препараты, описанные в таблице 1. В таблице приведены данные из работ [146–149].

соответствующих спонтанному развитию ЭАЭ и после иммунизации мышей как MOG, так и комплексом ДНК–гистоны [148]. Важно отметить, что такая же ситуация наблюдалась в случае гидролиза всех пяти гистонов антителами против каждого из пяти гистонов [146–149].

Антитела против H1 гистона в гидролизе H2B, соответствующие 60 дням после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны равно 29. Одинадцать из 29 препаратов антител гидролизовали разные гистоны по 23–28 сайтам (табл. 3). Эти данные свидетельствуют о том, что в процессе спонтанного, а также индуцированного MOG и комплексом ДНК–гистоны развития ЭАЭ происходит специфические изменения профилей дифференцировки СККМ, ведущие к появлению В лимфоцитов синтезирующих антитела с сильно отличающимися свойствами. Однако специфическое изменение профиля дифференцировки СККМ ведет не только к наработке антител, гидролизующих пять гистонов по разному числу сайтов, но к изменению типа и эффективности гидролиза по этим сайтам.

На основании совокупности полученных данных можно привести много примеров об изменении типа сайтов гидролиза гистонов даже в тех случаях когда нет сильного изменения их числа. Некоторые из таких примеров приведены выше при анализе данных по гидролизу H1 гистона разными антителами.

Число сайтов гидролиза H2A антителами против H2B гистона (Конт-аH2B-0д) в нулевое время равно 8, но увеличилось до 27 сайтов через 60 дней (Спонт-аH2B-60д); даже 4 мажорных сайта гидролиза H2A в случае каждого из этих препаратов антител разные. Число сайтов гидролиза H2A препаратом Спонт-аH3-60д уменьшилось по сравнению с Конт-аH3-0д с 15 до 12, но одинаковых сайтов гидролиза H2A гистона этими препаратами не обнаружено. После 60 дней спонтанного развития ЭАЭ число сайтов гидролиза H2A антителами против гистона H4 (Конт-аH4-0д) уменьшилось с 8 до 7; все сайты гидролиза оказались разными. Такая ситуация изменения сайтов гидролиза H2A гистона обнаружена для всех препаратов соответствующих спонтанному развитию ЭАЭ и после иммунизации мышей как MOG, так и комплексом ДНК–гистоны [147]. Важно отметить, что такая же общая закономерность выявлена в случае гидролиза всех пяти гистонов антителами против каждого из гистонов.

При спонтанном развитии ЭАЭ число сайтов гидролиза гистона H2B антителами против H2A гистона уменьшается с 9 (Конт-аH2A-0д) до 4 (Спонт-аH2A-60д) и только два сайта одинаковые [148]. Число сайтов гидролиза H2B гистона IgG препаратом против гистона H2B (Конт-аH2B-0д) в нулевое время всего 6, но увеличивается до 10 сайтов к 60 дням спонтанного развития ЭАЭ (Спонт-аH2B-60д), и снова только 2 сайта совпадают. Число сайтов гидролиза H2B антителами против гистона H4 (Конт-аH4-0д) увеличилось с 6 до 7 в течение 60 дней спонтанного развития ЭАЭ. Однако все сайты гидролиза, кроме одного, отличаются.

Спонтанное развитие ЭАЭ приводит к увеличению числа сайтов гидролиза H3 гистона IgG антителами против гистона H1 с 15 (Con-аH1-0д) до 21 (Spont-аH1-60д); появляются еще 9 других мажорных и умеренных сайтов гидролиза гистона H3. Иммунизация мышей с помощью MOG не привела к изменению числа сайтов гидролиза по сравнению с нулевым временем, но только 7 из 15 сайтов для Конт-аH1-0д и MOG20-аH1 совпадают. Число сайтов гидролиза H3 гистона IgG против H2A гистона (Конт-аH2A-0д) в нулевое время максимально (16), но затем снижается до: 11 (Спонт-аH2A-60д), 12 (MOG20-аH2A и ДНК20-аH2A) и 10 сайтов (ДНК60-аH2A). Интересно, что для всех

пяти указанных выше препаратов IgG против H2A гистона нет хотя бы одного общего сайта гидролиза. Интересно, что развитие ЭАЭ от 20 до 60 дней после иммунизации мышей комплексом ДНК–гистоны происходит таким образом, что для ДНК20–аH2A и ДНК60–аH2A препаратов есть только два общих сайта гидролиза гистона H3. Особенностью антител против H2A гистона является то, что сайты гидролиза гистона H3 препаратами Конт-аH2A-0д и Спонт-аH2A-60д встречаются очень редко в случае других препаратов антител.

При анализе этих данных следует учитывать, что изменение профиля дифференцировки СККМ приводит к тому, что синтез антител В лимфоцитами происходит уже на уровне спинномозговой жидкости костного мозга [111–113]. Антитела, выделенные из спинномозговой жидкости костного мозга больных РС, имели в 30–60 раз более высокую активность в гидролизе ДНК, ОБМ и олигосахаридов по сравнению с антителами из крови тех же больных [111–113]. Кроме того, на разных стадиях спонтанного развития СКВ и ЭАЭ наблюдалось несколько периодов изменения профиля дифференцировки стволовых клеток костного мозга [104–109].

С помощью анализа каталитической активности антител впервые удалось показать, что ауто-антитела, 30–40 % из которых являются абзимами, могут очень сильно отличаться по своим свойствам даже на разных стадиях развития аутоиммунных заболеваний. Учитывая это, представляет интерес вопрос о причинах исключительного многообразия антител и абзимов в организмах больных аутоиммунными и неврологическими заболеваниями.

VIII. ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время остается очень много вопросов о возможностях иммунного ответа на разные антигены при аутоиммунных, неврологических и некоторых вирусных заболеваниях. Иммунная система человека теоретически способна синтезировать примерно около миллиона антител против одного и того же антигена с самыми разными свойствами [118]. Какое число антител и с какими специфическими свойствами реально может сформироваться в организмах здоровых людей и пациентов с аутоиммунными, неврологическими и вирусными заболеваниями пока не понятно. На эти вопросы не возможно ответить с использованием таких широко используемых подходов как ИФА или аффинная хроматография антител на специфических сорбентах. Возможности этих методов в анализе исключительного многообразия антител, которые образуются на внешние (экзоантигены) и внутренние (эндоантигены) антигены и их роль в патогенезе разных заболеваний, очень ограничены [58–63]. С использованием методов анализа моноклональных антител, полученных с помощью методов фагового дисплея проведена оценка возможного числа антител в крови больных СКВ [122, 123, 132–135]. Оказалось, что число антител против ДНК и ОБМ в крови пациентов с СКВ может превышать 3–4 тысячи и примерно 30–40 % из них являются абзимами гидролизующими ДНК и ОБМ. Однако и этот подход не позволил понять все многообразие различных свойств таких антител.

Одним из подходов к более детальному анализу специфических свойств антител является анализ их каталитических активностей в гидролизе разных внешних и внутренних антигенов. Некоторые антитела-абзимы могут выполнять положительную, а другие отрицательную роль в развитии разных заболеваний. Например, у ВИЧ-инфицированных больных происходит образование антител против вирусных обратной транскриптазы и

интегразы, гидролизующих эти белки. Это может вести к замедлению развития синдрома иммунодефицита человека [58–63, 130]. Другие антитела играют отрицательную роль в патогенезе вирусных, аутоиммунных и неврологических заболеваний. Например ДНК- и гистон-гидролизующие антитела проникают через клеточные и ядерные мембраны, гидролизуют ДНК и гистоны хроматина и стимулируют апоптоз клеток [34, 58–63, 75]. В результате этого происходит «разжигание» аутоиммунных процессов при многих патологиях. Антитела против ОБМ гидролизуют этот белок в оболочках нервных тканей, что ведет к развитию РС [58–63]. Особого внимания заслуживает тот факт, что абзимы против пяти гистонов гидролизуют каждый их этих гистонов и ОБМ, а антитела против основного белка миелина и ОБМ и все пять гистонов [62, 63, 89, 106–109, 146–148]. Именно на этом примере можно более детально проанализировать возможную роль абзимов против различных антигенов в реализации их расширенной роли в патогенезе различных АИЗ.

Как указано выше, аутоиммунные процессы у больных АИЗ и пациентов с некоторыми неврологическими и вирусными заболеваниями начинаются после изменения профиля дифференцировки стволовых клеток костного мозга с клональной экспансией аутореактивных клонов В-лимфоцитов [62, 63, 89, 106–109, 146–148]. Однако в процессе спонтанного развития ЭАЭ у мышей наблюдается несколько этапов изменения этого профиля. Более того, ускорение развития ЭАЭ после иммунизации мышей с помощью MOG и комплексом ДНК–гистоны профиль дифференцировки СККМ совершенно другой, чем при спонтанном развитии ЭАЭ [26–28, 139–142]. Вопрос заключается в том, как изменение профиля дифференцировки СККМ может влиять на наработку В лимфоцитов, синтезирующих ауто-антитела и абзимы вредные для человека и животных. В ряде работ показано, что на разных стадиях развития ЭАЭ у мышей очень сильно изменяется соотношение ауто-антител с и без каталитических активностей [26–28, 139–142]. Однако абзимы, катализирующие разные реакции, соответствующие разным стадиям развития ЭАЭ, могут очень сильно отличаться по удельной активности, оптимальным значениям pH, зависимости или независимости от ионов одно и двухвалентных металлов, сродству к антигенам-субстратам, изоэлектрическим точкам, термостабильности и т.д. [58–63, 106–109, 146–149]. Особенно ярко разные изменения профиля дифференцировки стволовых клеток на разных этапах развития ЭАЭ проявляются в специфичности гидролиза гистонов и ОБМ по отличающимся сайтам их белковых последовательностей [146–149]. Как показано выше, на разных стадиях спонтанного MOG- и ДНК–гистоны ускоренного развития ЭАЭ антитела против 5 гистонов гидролизуют H1–H4 гистоны совершенно по разному числу и типу сайтов этих белков. Например, в зависимости от препарата IgG, число сайтов гидролиза H1 гистона варьирует от 2 to 26 [149]. Аналогичная ситуация наблюдается в гидролизе других четырех гистонов (H2A, H2B, H3 и H4) [146–149]. При этом, даже в случае наличия относительно большого числа сайтов гидролиза для какой либо пары из 30 препаратов АТ совпадение сайтов гидролиза обычно минимальное. Эти данные поставили ряд новых вопросов о том, почему на разных стадиях спонтанного развития ЭАЭ и после иммунизации мышей с помощью MOG и комплекса ДНК–гистоны может происходить формирование антител и абзимов с самыми разными новыми свойствами. Это может быть следствием нескольких причин.

Во-первых, рассеянный склероз человека является как минимум двух- или даже трех фазной аутоиммунной патологией [150]. Каскад нескольких специфических реакций на первой стадии воспаления очень сложен и включает в себя несколько хемокинов, цитокинов, различных белков, ферментов, макрофагов и других клеток, продуцирующих радикал NO [150]. Скоординированное действие В- и Т-клеток, медиаторов воспаления, системы комплемента и ауто-антител приводит к образованию очагов демиелинизации и нарушению аксонопроводимости. Возникающая позднее нейродегенеративная стадия заболевания связана непосредственно с деструкцией нервной ткани [150]. Поэтому при анализе медицинских, иммунологических и биохимических показателей РС необходимо учитывать особенности каждой конкретной стадии заболевания, включая изменения системных особенностей метаболизма, иммунорегуляции, истощение различных адаптивных и компенсаторных механизмов [150].

Считается, что развитие АИЗ, включая РС, может быть стимулировано чужеродными антигенами различных бактерий или вирусов [47–51]. Молекулярная мимикрия, связанная с гомологией между молекулами человека и вирусов или бактерий, включая вирусы Эпштейна-Барр, кори, гепатита В, простого герпеса, гриппа и папилломы, может быть триггером аутоиммунных процессов при РС и других АИЗ [47–51, 58–63]. Различные антигены некоторых вирусов или бактерий способны проникать через гематоэнцефалический барьер и стимулировать специфические изменения в костном мозге, приводящие к продукции антител против таких антигенов. В случае длительного заболевания из-за мимикрии может происходить специфическое переключение иммунной системы на синтез В лимфоцитов, продуцирующих антитела против собственных антигенов [47–51, 58–63].

Однако развитие РС у людей и ЭАЭ у мышей может быть не связанным с вирусными и бактериальными заболеваниями. В организмах млекопитающих происходит постоянный апоптоз разных клеток, что ведет к повышению концентрации в крови комплексов гистонов с ДНК [42]. Кроме того, в крови людей есть свободные молекулы ОБМ и пептидов, соответствующих разным белкам оболочек нервных тканей. На ранних стадиях развития РС и ЭАЭ эти компоненты крови могут проникать через гематоэнцефалический барьер и могут запускать локальные воспалительные процессы, включая индукцию аутореактивных абзимных клонов В-лимфоцитов. Такие изменения в профиле дифференциации СККМ могут приводить к изменению репертуара В лимфоцитов, синтезирующих антитела против этих антигенов с самыми разными специфическими свойствами. Как известно, при АИЗ происходит нарушение гематоэнцефалического барьера, через который начинают проникать разные, включая крупные молекулы [151, 152].

На разных стадиях спонтанного и антиген-индуцированного развития ЭАЭ может происходить формирование ассоциатов каждого из индивидуальных гистонов, их фрагментов и комплексов с ДНК, а также ОБМ с множеством других белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов, клеток, и т. д. При этом, как указано выше, каждая стадия развития РС характеризуется наличием в крови самых разных компонентов. Учитывая это, на каждой стадии развития ЭАЭ в ликвор костного мозга могут проникать очень разные комплексы гистонов и ОБМ с ДНК и другими компонентами крови. Это должно приводить к изменению профиля дифференцировки СККМ и появлению в крови и органах окончательно или не полностью дефференцированных В лимфоцитов, продуцирующих ауто-антитела и абзимы все с новыми и новыми свойствами. Как показано

в работах [111–113], активность антител гидролизующих ДНК, ОБМ и олигосахариды из церебральной жидкости пациентов с РС в 30–60 раз более активны, чем из крови тех же пациентов. Это свидетельствует о том, что часть лимфоцитов проходит полный цикл дифференцировки уже на уровне костного мозга. Но не все лимфоциты проходят полную дифференцировку в цереброспинальной жидкости, часть из них распределяется по разным органам, где происходит их дополнительная дифференцировка под влиянием компонентов крови и клеток. Эти лимфоциты также могут продуцировать абзимы, но уже с другими свойствами, чем в спинном мозге.

Еще один важный вопрос касается механизмов появления абзимов с перекрестной каталитической активностью и их возможной роли в патогенезе АИЗ. Учитывая это, следует отметить, что антитела против разных антигенов могут образовывать «полуспецифические» комплексы с соединениями, содержащими элементы структур специфических антигенов. Этот широко распространенный феномен получил название полиреактивности или полиспецифичности комплексообразования антител [40, 153–155]. Как было показано ранее, белковые последовательности всех пяти гистонов и ОБМ, а особенно их антигенных детерминант, обладают высоким уровнем гомологии [58–63, 106–109, 146–149]. Кроме того, все гистоны и ОБМ содержат много остатков лизина и аргинина и все они положительно заряжены. Это приводит к тому, что ауто-антитела и абзимы против пяти гистонов и ОБМ способны образовывать комплексы с любым из этих белков, обеспечивая их полиреактивность в образовании «полуспецифических» комплексов.

Формирование природных абзимов происходит против специфических структур различных молекул, которые способны имитировать переходные состояния химических реакций [1–12, 58–63]. В принципе, абзимы против белков могут быть образованы против разных антигенных детерминант или белковых последовательностей, имитирующих переходные состояния, реакции гидролиза пептидных связей. Сайты гидролиза белков абзимами преимущественно локализованы в их антигенных детерминантах (АГД) [58–63]. Однако для каждого из гистонов идентифицировано от 3 до 11 различных АГД [159–162]. ОБМ имеет 4 антигенные детерминанты [163]. Эффективность формирования абзимов против разных АГД гистонов и ОБМ существенно отличается и может зависеть от иммуногенности детерминант в свободной состоянии или в комплексе с другими молекулами [58–63]. Показано, что основным антигеном для образования антител против гистонов и ДНК являются их комплексы с ДНК, которые появляются в крови в результате апоптоза клеток [42]. Но ОБМ также эффективно образует комплексы с ДНК [156]. Поэтому ауто-антитела и абзимы могут быть разными, когда они формируются против отдельных гистонов или белковых комплексов, а также их ассоциатов с ДНК или другими молекулами. Абзимы против ОБМ и комплексов ОБМ–ДНК также могут быть разными. По данным ряда исследований, разные АГД гистонов и ОБМ могут существенно различаются по эффективности образования абзимов против их белковых последовательностей [58–63, 145–149]. В то же время на разных стадиях развития ЭАЭ за счет образования комплексов отдельных гистонов и их комплексов с различными молекулами крови, характерными для отдельных стадий каждого АИЗ, часть антигенных детерминант может быть менее иммуногенными, а другие АГД или даже другие последовательности гистонов и ОБМ могут стать более доступными и иммуногенными – лучше имитировать переходные состояния реакций гидролиза пептидных связей. Кроме того, недавно было показано, что на ствках белковых последовательностей

гистонов и их комплексов с ДНК могут образовываться новые АГД, образование антител против которых приводит к формированию абзимов, гидролизующих как ДНК, так и гистоны [136].

Таким образом, на разных стадиях развития ЭАЭ все гистоны, ОБМ и их комплексы могут представлять собой разные фрагменты белковых последовательностей, имитирующие переходные состояния гидролиза пептидных связей для образования абзимов. Это может привести к тому, что на разных стадиях развития ЭАЭ абзимы против гистонов или ОБМ могут формироваться против разных последовательностей этих белков и их комплексов. Это может быть основной причиной того, что абзимы против пяти гистонов и ОБМ, соответствующих спонтанному и антиген-индуцированному развитию ЭАЭ, сильно различаются по числу и типу гидролизующих связей.

В целом, следует отметить, что высокая встречаемость каталитических антител связана с несколькими причинами рассмотренными выше. Иммунизация мышей, склонных к АИЗ, антигенами приводит к значительному расширению репертуара абзимов по сравнению с неаутоиммунными мышами [157, 158]. Это связано с тем, что только в случае мышей, склонных к аутоиммунным заболеваниям, иммунизация антигенами вызывает изменение профиля дифференцировки СККМ с клональной экспансией аутореактивных клонов В-лимфоцитов с абзимной активностью [38–63, 104, 105]. Иммунизация антигенами мышей, не склонных к аутоиммунным заболеваниям, не ведет к изменению профиля дифференцировки СККМ [104, 105]. Появление абзимов в крови таких мышей с меньшей активностью происходит за счет дифференцировки и повышенной пролиферации лимфоцитов в кроаи, тимусе, лимфатических узлах, селезенке и других органах [104, 105]. Появление абзимов с перекрестной ферментативной активностью в гидролизе гистонов и ОБМ связано с высоким уровнем гомологии последовательностей этих белков.

IX. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время остается очень много вопросов о механизмах развития аутоиммунных и неврологических заболеваний и возможностях иммунного ответа на разные антигены при этих патологиях. Иммунная система человека теоретически способна синтезировать примерно около миллиона антител против одного и того же антигена с самыми разными свойствами. Сколько антител и с какими свойствами реально может сформироваться в организмах здоровых людей и пациентов с разными заболеваниями, пока мало известно. С помощью анализа моноклональных антител, полученных с помощью методов фагового дисплея, показано, что в крови больных системной красной волчанкой (СКВ) число антител против ДНК и белков может превышать 3–4 тысячи, и примерно 30–40 % из них являются абзимами, гидролизующими ДНК и основной белок миелина (ОБМ). В данном обзоре впервые проведен анализ роли дифференцировки стволовых клеток костного мозга при развитии рассеянного склероза (РС) и СКВ и в формировании В лимфоцитов, продуцирующих вредные для млекопитающих абзимы. Показано, что абзимы против пяти гистонов гидролизуют каждый из этих гистонов и ОБМ, а антитела против ОБМ – ОБМ и все пять гистонов. Кроме того, установлено, что субстратная специфичность абзимов в гидролизе гистонов и ОБМ очень сильно изменяется в зависимости от стадии развития РС и СКВ. В обзоре впервые обобщены данные об исключительном многообразии аутоантител и абзимов и их необычных биологических функций и роли в патогенезе аутоиммунных патологий.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00103).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pauling, L. (1946) Molecular basis of biological specificity, *Chemical & Engineering News*, **24**, 13751–13377.
2. Jencks, W. (1969) *Catalysis in Chemistry and Enzymology*. New York: McGraw-Hill, 644 p.
3. Schochetman, G. Massey, R. (1985) International Patent no. W085/02414.
4. Pollack, S.J., Jacobs, J.W., Schultz, P.G. (1986) Selective chemical catalysis by an antibody, *Science*, **234**, 1570–1573.
5. Tramontano, A., Janda, K.D., Lerner, R.A. (1986) Catalytic antibodies, *Science*, **234**, 1566–1570.
6. Tramontano, A., Janda, K.D., Lerner, R.A. (1986) Chemical reactivity at an antibody binding site elicited by mechanistic design of a synthetic antigen, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **83**, 6736–6740.
7. Lerner, R.A., Tramontane, A. (1987) Antibodies as enzymes, *Trends in Biochemical Sciences*, **12**, 427–438.
8. Stewart, J.D., Benkovic, S.J. (1993) Recent developments in catalytic antibodies, *International Reviews of Immunology*, **10**, 229–240.
9. Martin, A.B., Schultz, P.G. (1999) Opportunities at the interface of chemistry and biology, *Trends in Cell Biology*, **9**, 24–28.
10. Tanaka, F. (2002) Catalytic antibodies as designer proteases and esterases, *Chemical Reviews*, **102**, 4885–4906.
11. Deng, S.X., de Prada, P., Landry, D.W. (2002) Anticocaine catalytic antibodies, *Journal of Immunological Methods*, **269**, 299–310.
12. Dias, S., Jovic, F., Renard, P.Y., Taran, F., Créminon, C., Mioskowski, C., Grassi, J. (2002) Immunologically driven chemical engineering of antibodies for catalytic activity, *Journal of Immunological Methods*, **269**, 81–98.
13. Tanaka, F., Barbas, C.F. 3rd. (2002) Reactive immunization: a unique approach to catalytic antibodies, *Journal of Immunological Methods*, **269**, 67–79.
14. Hilvert, D. (2000) Critical analysis of antibody catalysis, *Annual Review of Biochemistry*, **69**, 751–793.
15. Tramontane, A., Gololobov, G., Paul, S. (2000) Proteolytic antibodies: origins, selection and induction, *Chemical Immunology*, **77**, 1–17.
16. Roberts, V.A., Stewart, J., Benkovic, S.J., Getzoff, E.D. (1994) Catalytic antibody model and mutagenesis implicate arginine in transition-state stabilization, *Journal of Molecular Biology*, **235**, 1098–1116.
17. Hilvert, D., Hill, K.W., Nared, K.D., Auditor, M.T. (1989) Antibody catalysis of the Diels-Alder reaction, *Journal of the American Chemical Society*, **111**, 9261–9262.

18. Rao, D.N., Wootla, B. (2007) Catalytic antibodies: Concept and promise, *Resonance*, **12**, 6–21.
19. Zhao, D., Chen, J., Hu, X., Zhang, S. (2023) Catalytic Antibodies: Design, Expression, and Their Applications in Medicine, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **195**, 1514–1540.
20. Gallacher, G., Jackson, C.S., Searcey, M., Badman, G.T., Goel, R., Topham, C.M., Mellor, G., Brocklehurst, K. (1991) A polyclonal antibody preparation with Michaelian catalytic properties, *The Biochemical Journal*, **279**, 871–881.
21. Planque, S., Nishiyama, Y., Taguchi, H., Salas, M., Hanson, C., Paul, S. (2008) Catalytic antibodies to HIV: physiological role and potential clinical utility, *Autoimmunity Reviews*, **7**, 473–479.
22. Padiolleau-Lefèvre, S., Ben Naya, R., Shahsavarian, M.A., Friboulet, A., Avalle, B. (2014) Padiolleau-Lefèvre, S., Ben Naya, R., Shahsavarian, M.A., Friboulet, A., Avalle, B. (2014), *Biotechnology Letters*, **36**, 1369–1379, *Biotechnology Letters*, **36**, 1369–1379.
23. Dimitrov, D.S. (2019) From Catalytic Antibodies to Antibody-Drug Conjugates, *Cell Chemical Biology*, **26**, 1200–1201.
24. Hanson, C.V., Nishiyama, Y., Paul, S. (2005) Hanson, C.V., Nishiyama, Y., Paul, S. (2005) Catalytic antibodies and their applications, *Current Opinion Biotechnology*, **16**, 631–636.
25. Gabibov, A.G., Ponomarenko, N.A., Tretyak, E.B., Paltsev, M.A., Suchkov, S.V. (2006) Catalytic autoantibodies in clinical autoimmunity and modern medicine. *Autoimmunity Reviews*, **5**, 324–330.
26. Planque, S.A., Massey, R.J., Paul, S. (2020) Catalytic antibody (catabody) platform for age-associated amyloid disease: From Heisenberg's uncertainty principle to the verge of medical interventions, *Mechanisms of Ageing and Development*, **185**, 111188.
27. Ostler, E.L., Resmini, M., Brocklehurst, K., Gallacher, G.J. (2002) Polyclonal catalytic antibodies, *Journal of Immunological Methods*, **269**, 111–124.
28. Keinan, E.E. (Eds.) (2005) *Catalytic Antibodies*, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, p. 586.
29. Suzuki, H. (1994) Recent advances in abzyme studies, *Journal of Biochemistry*, **115**, 623–633.
30. Paul, S. (1996) Natural catalytic antibodies, *Molecular Biotechnology*, **5**, 197–207.
31. Dimitrov, J.D., Lacroix-Desmazes, S. (2020) Noncanonical functions of antibodies. *Trends Immunology*, **41**, 379–393.
32. Wootla, B., Lacroix-Desmazes, S., Warrington, A.E., Bieber, A.J., Kaveri, S.V., Rodriguez, M. (2011) Autoantibodies with enzymatic properties in human autoimmune diseases, *Journal Autoimmunity*, **37**, 144–150.
33. Kamalanathan, A.S., Goulvestre, C., Weill, B., Vijayalakshmi, M.A. (2010) Proteolysis activity of IgM antibodies from Rheumatoid arthritis patients' sera: evidence of atypical catalytic site, *Journal of Molecular Recognition*, **23**, 577–582.
34. Kozyr, A.V., Gabibov, A.G. (2009) DNA-hydrolyzing Ab: is catalytic activity a clue for physiological significance? *Autoimmunity*, **42**, 359–361.
35. Ponomarenko, N.A., Vorobiev, I.I., Alexandrova, E.S., Reshetnyak, A.V., Telegin, G.B., Khaidukov, S.V., Avalle, B., Karavanov, A., Morse, H.C 3rd, et al. (2006) *Biochemistry*, **45**, 324–330.
36. Belogurov, A.Jr., Kozyr, A., Ponomarenko, N., Gabibov, A. (2009) Catalytic antibodies: balancing between Dr. Jekyll and Mr. Hyde, *Bioessays*, **31**, 1161–1171.

37. Ali, A., Sayed, Z., Ameer, M.A., Arif, A.W., Kiran, F., Iftikhar, A., Iftikhar, W., Ahmad, M.Q., Malik, M.B., Kumar, V., Dass, A., Sami, S.A., Sapna, F., Waqas, N. (2018) *Cureus*, **10**, e3288.
38. Waegemans, T. (2004) Auto-antibodies in multiple sclerosis: an hypothesis, *Biomedicine Pharmacotherapy*, **58**, 282–228.
39. Williamson, R.A., Burgoon, M.P., Owens, G.P., Ghausi, O., Leclerc, E., Firme, L., Carlson, S., Corboy, J., Parren, P.W., Sanna, P.P., Gilden, D.H., Burton, D.R. (2001) Anti-DNA antibodies are a major component of the intrathecal B cell response in multiple sclerosis, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**, 1793–1798.
40. Zhou, Z.H., Tzioufas, A.G., Notkins, A.L. (2007) Properties and function of polyreactive antibodies and polyreactive antigen-binding B cells, *Journal of Autoimmunity*, **29**, 219–228.
41. Alves, J.D., Ames, P.R. (2003) Atherosclerosis, oxidative stress and auto-antibodies in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome, *Immunobiology*, **207**, 23–28.
42. Fournel, S., Muller, S. (2002) Antinucleosome antibodies and T-cell response in systemic lupus erythematosus, *Annals of Internal Medicine*, **153**, 513–519.
43. Steiner, J., Schiltz, K., Bernstein, H.-G.B., Gerts, B. (2015) Antineuronal antibodies against neurotransmitter receptors and synaptic proteins in schizophrenia: current knowledge and Clinical Implications, *CNS Drugs*, **29**, 197–206.
44. Galinowski, A., Levy-Soussan, P., Lôo, H. (1992) Schizophrenia and immunity, *Annales Medco-Psychologiques (Paris)* **150**, 138–142.
45. Bergink, V., Gibney, S.M., Drexhage, H.A. (2014) Autoimmunity, inflammation, and psychosis: a search for peripheral markers, *Biological Psychiatry*, **75**, 324–331.
46. Dayan, C.M., Daniels, G.H. (1996) Chronic autoimmune thyroiditis, *New England Journal of Medicine*, **335**, 99–107.
47. Abu-Shakra, M., Shoenfeld, Y. (1991) Chronic infections and autoimmunity, *Immunology Series* **55**, 285–313.
48. Yamamoto, K. (1994) Possible mechanisms of autoantibody production and the connection of viral infections in human autoimmune diseases, *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, **173**, 75–82.
49. Van Ghelue, M., Moens, U., Bendiksen, S., Rekvig, O.P. (2003) Autoimmunity to nucleosomes related to viral infection: a focus on hapten-carrier complex formation, *Journal Autoimmunity*, **20**, 171–182.
50. Barzilai, O., Ram, M., Shoenfeld, Y. (2007) Viral infection can induce the production of auto-antibodies, *Current Opinion in Rheumatology*, **19**, 636–643.
51. **Zauli, D., Cassani, F., Bianchi, F.B. (1999) *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **53**, 234–241.**
52. Russo, S., Lopalco, L. (2006) Is autoimmunity a component of natural immunity to HIV? *Current HIV Research*, **4**, 177–190.
53. Malik, T.A., Saeed, S. (2010) Autoimmune hepatitis: a review. *Journal of the Pakistan Medical Association*, **60**, 38.
54. Triger, D.R. (1976) Bacterial, viral and auto antibodies in acute and chronic liver disease. *Annals of Clinical Research*, **8**, 174–181.
55. Koma, T., Veljkovic, V., Anderson, D.E., Wang, L.F., Rossi, S.L., Shan, C., Shi, P.Y., et al. (2018) Zika virus infection elicits auto-antibodies to C1q, *Scientific Reports*, **8**, 1882.
56. Joubert, B., Dalmau, J. (2019) The role of infections in autoimmune encephalitides, *Revue Neurologique (Paris)* **175**, 420–426.

57. Fomsgaard, A., Svenson, M., Bendtzen, K. (1989) Auto-antibodies to tumour necrosis factor alpha in healthy humans and patients with inflammatory diseases and gram-negative bacterial infections, *Scandinavian Journal of Immunology*, **30**, 219–223.
58. Nevinsky, G.A., Buneva, V.N. (2005) Natural catalytic antibodies—abzymes. In *Catalytic antibodies*, Keinan, E. Ed.; VCH-Wiley Press: Weinheim, Germany, pp. 505–569.
59. Nevinsky, G.A. (2011) Natural catalytic antibodies in norm and in HIV-infected patients. In *Understanding HIV/AIDS Management and Care—Pandemic Approaches the 21st Century*, Kasenga, F.H. Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, pp. 151–192.
60. Nevinsky, G.A. (2010) Natural catalytic antibodies in norm and in autoimmune diseases, In *Autoimmune Diseases: Symptoms, Diagnosis and Treatment*, Brenner, K.J. Ed.; Nova Science Publishers Inc.: New York, NY, USA, pp. 1–107.
61. Nevinsky, G.A. (2016) Autoimmune processes in multiple sclerosis: Production of harmful catalytic antibodies associated with significant changes in the hematopoietic stem cell differentiation and proliferation. In *Multiple sclerosis*, Conzalez-Quevedo, A. Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, pp. 100–147.
62. Nevinsky, G.A. (2021) Catalytic antibodies in norm and systemic lupus erythematosus, In *Lupus*, Khan, W. A. Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, pp. 41–101.
63. Nevinsky, G.A. (2021) The extreme diversity of autoantibodies and abzymes against different antigens in patients with various autoimmune diseases. Chapter in the book «*Advances in Medicine and Biology*» Nova Science Publishers, Inc.; New York, USA, 1–130.
64. Friboulet, A., Izadyar, L., Avalle, B., Roseto, A., Thomas, D. (1994) Abzyme generation using an anti-idiotypic antibody as the «internal image» of an enzyme active site, *Applies Biochemistry and Biotechnology*, **47**, 229–237;
65. Kolesnikov, A.V., Kozyr, A.V., Alexandrova, E.S., Koralewski, F., Demin, A.V., Titov, M.I., Avalle, B., Tramontane, A., Paul, S., Thomas, D., Gabibov, A.G., Friboulet, A. (2000) Enzyme mimicry by the antiidiotypic antibody approach, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97**, 13526–13531.
66. Ponomarenko, N.A., Pillet, D., Paon, M., Vorobiev, II., Smirnov, I.V., Adenier, H., Avalle, B., Kolesnikov, A.V., Kozyr, A.V., Thomas, D., Gabibov, A.G., Friboulet, A. (2007) *Biochemistry*, **46**, 14598–14609.
67. Shoenfeld, Y., Ben-Yehuda, O., Messinger, Y., Bentwitch, Z., Rauch, J., Isenberg, D. I., Gadoth, N. (1988) Autoimmune diseases other than lupus share common anti-DNA idiotypes, *Immunology Letters*, **17**, 285–291.
68. Барановский А.Г., Канышкова Т.Г., Могильницкий А.С., Наумов В.А., Бунева В.Н., Бойко А.Н., Фаворова О.О., Невинский Г.А. (1998) Поликлональные антитела из крови больных рассеянным склерозом эффективно гидролизуют РНК и ДНК, *Биохимия*, **63**, 11239–1248.
69. Andrievskaya, O.A., Buneva, V.N., Baranovskii, A.G., Gal'vita, A.V., Benzo, E.S., Naumov, V.A., Nevinsky, G.A. (2002) Catalytic diversity of polyclonal RNA-hydrolyzing IgG antibodies from the sera of patients with systemic lupus erythematosus, *Immunology Letters*, **81**, 191–198.
70. Savel'ev, A.N., Eneyskaya, E.V., Shabalin, K.A., Filatov, M.V., Neustroev, K.N. (1999) Antibodies with amyolytic activity, *Protein Peptide Letters*, **6**, 179–181.
71. Li, L., Paul, S., Tyutyulkova, S., Kazatchkine, M.D., Kaveri, S.J. (1995) Catalytic activity of anti-thyroglobulin antibodies, *Journal of Immunology*, **154**, 3328–3332.

72. Kalaga, R., Li, L., O'Dell, J.R., Paul, S. (1995) Unexpected presence of polyreactive catalytic antibodies in IgG from unimmunized donors and decreased levels in rheumatoid arthritis, *Journal of Immunology*, **155**, 2695–2702.
73. Paul, S., Li, L., Kalaga, R., O'Dell, J., Dannenbring, R.E., Jr., Swindells, S., Hinrichs, S., Caturegli, P., Rose, N.R. (1997) Characterization of thyroglobulin-directed and polyreactive catalytic antibodies in autoimmune disease. *Journal of Immunology*, **159**, 1530–1536.
74. Paul, S., Volle, D.J., Beach, C.M., Johnson, D.R., Powell, M.J., Massey, R.J. (1989) Catalytic hydrolysis of vasoactive intestinal peptide by human autoantibody, *Science*, **244**, 1158–1162.
75. Kozyr, A.V., Kolesnikov, A.V., Aleksandrova, E.S., Sashchenko, L.P., Gnuchev, N.V., Favorov, P.V., Kotelnikov, M.A., Iakhnina, E.I., Astsaturov, I.A., Prokaeva, T.B., Alekberova, Z.S., Suchkov, S.V., Gabibov, A.G. (1998) Novel functional activities of anti-DNA autoantibodies from sera of patients with lymphoproliferative and autoimmune diseases, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **75**, 45–61.
76. Shuster, A.M., Gololobov, G.V., Kvashuk, O.A., Bogomolova, A.E., Smirnov, I.V., Gabibov, A.G. (1992) *Science*, **256**, 665–667.
77. Nevinsky, G.A., Breusov, A.A., Baranovskii, A.G., Prints, A.V., Kanyshkova, T.G., Galvita, A.V., Naumov, V.A., Buneva, V.N. (2001) Effect of different drugs on the level of DNA-hydrolyzing polyclonal IgG antibodies in sera of patients with Hashimoto's thyroiditis and nontoxic nodal goiter, *Medical Science Monitor*, **7**, 201–211.
78. Galvita, A.V., Baranovskii, A.G., Kuznetsova, I.A., Vinshu, N.V., Galenok, V.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2007) Peculiarities of DNA hydrolysis by antibodies from blood of patients with pancreatic diabetes, *Russian Journal of Immunology*, **1**, 116–131.
79. Baranovsky, A.G., Matushin, V.G., Vlassov, A.V., Zabaram V.G., Naumov, V.A., Giege, R., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (1997) DNA- and RNA-hydrolyzing antibodies from the blood of patients with various forms of viral hepatitis, *Biochemistry (Moscow)* **62**, 1358–1366.
80. Ermakov, E.A., Smirnova, L.P., Parkhomenko, T.A., Dmitrenok, P.S., Krotenko, N.M., Fattakhov, N.S., Bokhan, N.A., Semke, A.V., Ivanova, S.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2015) DNA-hydrolysing activity of IgG antibodies from the sera of patients with schizophrenia, *Open Biology*, **5**, 150064.81.
81. Одинцова Е.С., Харитоновна М.А., Барановский А.Г., Сизякина Л.П., Бунева В.Н., Невинский Г.А. (2006) ДНК-гидролизующие IgG антитела из крови пациентов с синдромом приобретенного иммунодефицита, *Молекулярная биология*, **40**, 770–777.
82. Vlassov, A., Florentz, C., Helm, M., Naumov, V., Buneva, V., Nevinsky, G., Giege, R. (1998) Characterization and selectivity of catalytic antibodies from human serum with RNase activity, *Nucleic Acids Research*, **26**, 5243–5250.
83. Ermakov, E.A., Kabirova, E.M., Sizikov, A.E., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2020) IgGs-Abzymes from the Sera of Patients with Systemic Lupus Erythematosus Hydrolyzed miRNAs. *Journal of Inflammation Research*, **13**, 681–699.
84. Ermakov, E.A., Ivanova, S.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2018) Hydrolysis by catalytic IgGs of microRNA specific for patients with schizophrenia. *IUBMB Life*, **70**, 153–164.
85. Bezuglova, A.M., Konenkova, L.P., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2012) IgGs containing light chains of the λ - and κ -type and of all subclasses (IgG1-IgG4) from the sera of patients with systemic lupus erythematosus hydrolyze myelin basic protein, *International Immunology*, **24**, 759–770.

86. Polosukhina, D.I., Kanyshkova, T.G., Doronin, B.M., Tyshkevich, O.B., Buneva, V.N., Boiko, A.N., Gusev, E.I., Favorova, O.O., Nevinsky, G.A. (2004) Hydrolysis of myelin basic protein by polyclonal catalytic IgGs from the sera of patients with multiple sclerosis, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **8**, 359–368.
87. Ponomarenko, N.A., Durova, O.M., Vorobiev, II., Belogurov, A.A. Jr., Kurkova, I.N., Petrenko, A.G.; et al. (2006) Autoantibodies to myelin basic protein catalyze site-specific degradation of their antigen, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**, 281–286.
88. Parshukova, D., Smirnova, L.P., Ermakov, E.A., Bokhan, N.A., Semke, A.V., Ivanova, S.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2019) Autoimmunity and immune system dysregulation in schizophrenia: IgGs from the sera of patients hydrolyze myelin basic protein, *Journal of Molecular Recognition*, **32**, e2759.
89. Baranova, S.V., Dmitrienok, P.S., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2019) Autoantibodies in HIV-infected patients: Cross site-specific hydrolysis of H1 histone and myelin basic protein, *Biofactors*, **45**, 211–222.
90. Lacroix-Desmazes, S., Bayry, J., Kaveri, S.V., Hayon-Sonsino, D., Thorenoor, N., Charpentier, J., Luyt, C.E., Mira, J.P., Nagaraja, V., Kazatchkine, M.D., Dhainaut, J.F., Mallet, V.O. (2005) High levels of catalytic antibodies correlate with favorable outcome in sepsis, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **102**, 4109–4113.
91. Barbas, C.F., Heine, A., Zhong, G., Hoffmann, T., Gramatikova, S., Bjornestedt, R., List, B., Anderson, J., Stura, E.A., Wilson, I.A., Lerner, R.A. (1997) Immune versus natural selection: antibody aldolases with enzymic rates but broader scope, *Science*. **278**, 2085–2092.
92. Grosbois, S.S., Brionne, M.F., de Longcamp, A.L., Gautier, P.V., Kaveri, S., Borel-Derlon, A., Repessé, Y. (2013) Hydrolysis of factor VIII mediated by catalytic antibodies occurs in haemophilia A patients with or without factor VIII inhibitors, *Haemophilia*, **19**, 322–329.
93. Невинский Г.А., Бунева В.Н. (2009) Особенности абзимов из крови и молока здоровых доноров и пациентов с аутоиммунными и вирусными заболеваниями, *Биохимия*, **74**, 1165–1183.
94. Baranova, S.V., Mikheeva, E.V., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2019) Antibodies from the sera of multiple sclerosis patients efficiently hydrolyze five histones, *Biomolecules*, **9**, 741.
95. Ermakov, E.A., Parshukova, D.A., Nevinsky, G.A., Buneva, V.N. (2020) Natural catalytic IgGs hydrolyzing histones in schizophrenia: are they the link between humoral immunity and inflammation? *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, E7238.
96. Baranova, S.V., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2016) Antibodies from the sera of HIV-infected patients efficiently hydrolyze all human histones, *Journal of Molecular Recognition*, **29**, 346–362.
97. Wentworth, A.D., Jones, L.H., Wentworth, P.Jr., Janda, K.D., Lerner, R.A. (2000) Antibodies have the intrinsic capacity to destroy antigens, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**, 10930–10935.
98. Wentworth, P.Jr., Jones, L.H., Wentworth, A.D., Zhu, X., Larsen, N.A., Wilson, I.A., Xu, X., Goddard, W.A. 3rd, Janda, K.D., Eschenmoser, A., Lerner, R.A. (2001) Antibody catalysis of the oxidation of water, *Science*. **293**, 1806–1811.
99. Wentworth, P.Jr., Nieva, J., Takeuchi, C., Galve, R., Wentworth, A.D., Dilley, R.B., DeLaria, G.A., Savev, A., Babior, B.M., Janda, K.D., Eschenmoser, A., Lerner, R.A. (2003) Evidence for ozone formation in human atherosclerotic arteries, *Science*, **302**, 1053–1056.

100. Ikhmyangan, E.N., Vasilenko, N.L., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2005) IgG antibodies with peroxidase-like activity from the sera of healthy Wistar rats, *FEBS Letters*, **579**, 3960–3964.
101. Tolmacheva, A.S., Blinova, E.A., Ermakov, E.A., Buneva, V.N., Vasilenko, N.L., Nevinsky, G.A. (2015) IgG abzymes with peroxidase and oxidoreductase activities from the sera of healthy humans, *Journal of Molecular Recognition*, **28**, 565–580.
102. Ermakov, E.A., Smirnova, L.P., Bokhan, N.A., Semke, A.V., Ivanova, S.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2017) Catalase activity of IgG antibodies from the sera of healthy donors and patients with schizophrenia, *PLoS One*, **12**, e0183867.
103. Tolmacheva, A.S., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2019) Substrate specificity of IgGs with peroxidase and oxidoreductase activities from the sera of patients with systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis, *Journal of Molecular Recognition*, **32**, e2807.
104. Andryushkova, A.S., Kuznetsova, I.A., Buneva, V.N., Toporkova, L.B.; Sakhno, L.V., Tikhonova, M.A., Chernykh, E.R., Orlovskaya, I.A., Nevinsky, G.A. (2007) Formation of different abzymes in autoimmune-prone MRL-lpr/lpr mice is associated with changes in colony formation of haematopoietic progenitors, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **11**, 531–551.
105. Andryushkova, A.A., Kuznetsova, I.A., Orlovskaya, I.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2006) *FEBS Letters*, **580**, 5089–5095.
106. Doronin, V.B., Parkhomenko, T.A., Korablev, A., Toporkova, L.B., Lopatnikova, J.A., Alshevskaja, A.A., Sennikov, S.V., Buneva, V.N., Budde, T., Meuth, S.G., Orlovskaya, I.A., Popova, N.A., Nevinsky, G.A. (2016) Changes in different parameters, lymphocyte proliferation and hematopoietic progenitor colony formation in EAE mice treated with myelin oligodendrocyte glycoprotein, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **20**, 81–94.
107. Aulova, K.S., Toporkova, L.B., Lopatnikova, J.A., Alshevskaya, A.A., Sedykh, S.E., Buneva, V.N., Budde, T., Meuth, S.G., Popova, N.A., Orlovskaya, I.A., Nevinsky, G.A. (2018) Changes in cell differentiation and proliferation lead to production of abzymes in EAE mice treated with DNA-Histone complexes, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **22**, 5816.
108. Aulova, K.S., Urusov, A.E., Toporkova, L.B., Sedykh, S.E., Shevchenko, Y.A., Tereshchenko, V.P., Sennikov, S.V., Budde, T., Meuth, S.G., Popova, N.A., Orlovskaya, I.A., Nevinsky, G.A. (2019) Production of Abzymes in Th, CBA, and C57BL/6 Mice before and after MOG Treatment: Comparing Changes in Cell Differentiation and Proliferation, *Biomolecules*, **10**, 5.
109. Aulova, K.S., Urusov, A.E., Toporkova, L.B., Sedykh, S.E., Shevchenko, Y.A., Tereshchenko, V.P., Sennikov, S.V., Orlovskaya, I.A., Nevinsky, G.A. (2022) Cell Differentiation and Proliferation in the Bone Marrow and Other Organs of 2D2 Mice during Spontaneous Development of EAE Leading to the Production of Abzymes, *Molecules*, **27**, 2195.
110. Хайруллин Р.М. (1968) Унитарная теория кроветворения Александра Максимова – новые концепции и старые факты Общие вопросы гистологии органов и систем <https://biomed.szgmu.ru/morphology/v5/065-068.pdf>
111. Doronin, V.B., Parkhomenko, T.A., Castellazzi, M., Cesnik, E., Buneva, V.N., Granieri, E., Nevinsky, G.A. (2016) Comparison of antibodies with amylase activity from cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis, *PLoS ONE*, **11**, e0154688.
112. Doronin, V.B., Parkhomenko, T.A., Castellazzi, M., Padroni, M., Pastorem M., Buneva, V.N., Granieri, E., Nevinsky, G.A. (2014) Comparison of antibodies hydrolyzing myelin basic protein from the cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis, *PLoS One*, **9**, e107807.

113. Parkhomenko, T.A., Doronin, V.B., Castellazzi, M., Padroni, M., Pastore, M., Buneva, V.N., Granieri, E., Nevinsky, G.A. (2014) Comparison of DNA-hydrolyzing antibodies from the cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis, *PLoS One*, **9**, e93001.
114. Бойко А.Н., Фаворова О.О. (1995) Рассеянный склероз: молекулярные и клеточные механизмы. *Молекулярная Биология*, **29**, 727–749.
115. Nemazee, D. (2006) Receptor editing in lymphocyte development and central tolerance. *Nature Reviews, Immunology*, **6**, 728–740.
116. Diaz, M., Casali, P. (2002) Somatic immunoglobulin hypermutation, *Current Opinion in Immunology*, **14**, 235–240.
117. Honjo, T., Habu, S. (1985) Origin of immune diversity: genetic variation and selection, *Annual Review of Biochemistry*, **54**, 803–830.
118. Хайтов Р.М., Игнатъева Г.Л., Сидорович И.Г. (2000) Иммунология, Москва, Медицина, 432 с.
119. Kuznetsova, I.A., Orlovskaya, I.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2007) Activation of DNA-hydrolyzing antibodies from the sera of autoimmune-prone MRL-lpr/lpr mice by different metal ions, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1774**, 884–896.
120. Suck, D. (1994) DNA recognition by DNase I, *Journal of Molecular Recognition*, **7**, 65.
121. Bernardi, G. (1971) In *The Enzymes*, edited Boyer P. D., Academic Press, New York.
122. Kostrikina, I.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2014) Systemic lupus erythematosus: molecular cloning of fourteen recombinant DNase monoclonal kappa light chains with different catalytic properties, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1840**, 1725–1737.
123. Botvinovskaya, A.V., Kostrikina, I.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2013) Systemic lupus erythematosus: molecular cloning of several recombinant DNase monoclonal kappa light chains with different catalytic properties, *Journal of Molecular Recognition*, **26**, 450–460.
124. Gololobov, G.V., Chernova, E.A., Schourov, D.V., Smirnov, I.V., Kudelina, I.A., Gabibov, A.G. (1995) Cleavage of supercoiled plasmid DNA by autoantibody Fab fragment: application of the flow linear dichroism technique, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **92**, 254–257.
125. Legostaeva, G.A., Polosukhina, D.I., Bezuglova, A.M., Doronin, B.M., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2010) Affinity and catalytic heterogeneity of polyclonal myelin basic protein-hydrolyzing IgGs from the sera of patients with multiple sclerosis, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **14**, 699–709.
126. Masur, H., Michelis, M.A., Greene, J.B., et. al. (1981) An outbreak of community-acquired pneumocystis carinii pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction, *New England Journal of Medicine*, **305**, 1431–1438.
127. Varmus, H. (1988) Retroviruses, *Science*, **240**, 1427–1428.
128. Polosukhina, D.I., Kanyshkova, T.G., Doronin, B.M., Tyshkevich, O.B., Buneva, V.N., Boiko, A.N., Gusev, E.I., Favorova, O.O., Nevinsky, G.A. (2006) Metal-dependent hydrolysis of myelin basic protein by IgGs from the sera of patients with multiple sclerosis, *Immunology Letters*, **103**, 75–81.
129. Bezuglova, A.M., Konenkova, L.P., Doronin, B.M., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2011) Affinity and catalytic heterogeneity and metal-dependence of polyclonal myelin basic protein-hydrolyzing IgGs from sera of patients with systemic lupus erythematosus, *Journal of Molecular Recognition*, **24**, 960–974.

130. Baranova, S.V., Buneva, V. N., Kharitonova, M. A., Sizyakina, L. P., Calmels, C., Andreola, M. L., Parissi, V., Nevinsky, G.A. (2009) HIV-1 integrase-hydrolyzing antibodies from sera of HIV-infected patients, *Biochimie*, **91**, 1081–1086.
131. Baranova, S.V., Dmitrienok, P.S., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2010) HIV-Infected Patients: Cross Site-Specific Hydrolysis of H2a and H2b Histones and Myelin Basic Protein with Antibodies against These Three Proteins, *Biomolecules*, **10**, 1501.
132. Timofeeva, A.M., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2015) Systemic lupus erythematosus: molecular cloning and analysis of 22 individual recombinant monoclonal kappa light chains specifically hydrolyzing human myelin basic protein, *Journal of Molecular Recognition*, **28**, 614–627.
133. Timofeeva, A.M., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2016) Systemic lupus erythematosus: molecular cloning and analysis of recombinant monoclonal kappa light chain NGTA1-Me-pro with two metalloprotease active centers, *Molecular BioSystems*, **12**, 3556–3566.
134. Timofeeva, A.M., Ivanisenko, N.V., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2015) Systemic lupus erythematosus: molecular cloning and analysis of recombinant monoclonal kappa light chain NGTA2-Me-pro-Tr possessing two different activities-trypsin-like and metalloprotease, *International Immunology*, **27**, 633–645.
135. Timofeeva, A.M., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2017) SLE: Unusual Recombinant Monoclonal Light Chain NGTA3-Pro-DNase. Possessing Three Different Activities Trypsin-like, Metalloprotease and DNase, *Lupus Open Access*, **2**, 127.
136. Красноруцкий М.А., Бунева В.Н., Невинский Г.А. (2011) ДНКазная, РНКазная и фосфатазная активности антител, образующиеся при иммунизации ДНК, ДНКазой I и ДНКазой II, *Биохимия*, **76**, 1305–1314.
137. Krasnorutskii, M.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2008) Antibodies against RNA hydrolyze RNA and DNA. *Journal of Molecular Recognition*, **21**, 338–347.
138. Krasnorutskii, M.A., Buneva, V.N.; Nevinsky, G.A. (2008) Antibodies against pancreatic ribonuclease A hydrolyze RNA and DNA, *International Immunology*, **20**, 1031–1040.
139. Urusov, A.E., Aulova, K.S., Nevinsky, G.A (2024) Experimental Autoimmune Encephalomyelitis of Mice: Autoantibodies-Abzymes with Amylase Activity, *Journal of Immunology*, in press.
140. Urusov, A.E., Tolmacheva, A.S., Aulova, K.S., Nevinsky, G.A. (2023) *Molecules*, **28**, 1330.
141. Nevinsky, G.A., Urusov, A.E., Aulova, K.S., Ermakov, E.A. (2023) Experimental Autoimmune Encephalomyelitis of Mice: IgGs from the Sera of Mice Hydrolyze miRNAs, *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, 4433.
142. Urusov, A.E., Aulova, K.S., Nevinsky, G.A. (2024) Autoantibodies-Abzymes with Phosphatase Activity in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Mice, *Molecules*, **29**, 1382.
143. Millán, J.L. (2006) Alkaline Phosphatases: Structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes, *Purinergic Signalling*, **2**, 335–341.
144. Tamás, L., Huttová, J., Mistrk, I., Kogan, G. (2002) Effect of carboxymethyl chitin-glucan on the activity of some hydrolytic enzymes in maize plants, *Chemical Papers*, **56**, 326–329.
145. Alkaline Phosphatase Level Test (ALP) Healthline. <https://www.testing.com/tests/alkaline-phosphatase-arp/> (10 august 2018; last modified on Nov 24, 2022)
146. Urusov, A.E., Aulova, K.S., Dmitrenok, P.S., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2022) Experimental Autoimmune Encephalomyelitis of Mice: Enzymatic Cross Site-Specific Hydrolysis

- of H4 Histone by IgGs against Histones and Myelin Basic Protein, *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, 9182.
147. Urusov, A.E., Aulova, K.S., Dmitrenok, P.S., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2023) EAE of Mice: Enzymatic Cross Site-Specific Hydrolysis of H2A Histone by IgGs against H2A, H1, H2B, H3, and H4 Histones and Myelin Basic Protein, *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, 8636.
 148. Urusov, A.E., Aulova, K.S., Dmitrenok, P.S., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2023) EAE of Mice: Enzymatic Cross Site-Specific Hydrolysis of H2B Histone by IgGs against H1, H2A, H2B, H3, and H4 Histones and Myelin Basic Protein, *Molecules*, **28**, 2973.
 149. Urusov, A.E., Aulova, K.S., Dmitrenok, P.S., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A. (2023) Experimental autoimmune encephalomyelitis of mice: Catalytic cross site-specific hydrolysis of H1 histone by IgG antibodies against H1, H2A, H2B, H3, H4 histones, and myelin basic protein, *Journal of Biomedical Research*, **4**, 33–60.
 150. Steinman, L (2001) Multiple sclerosis a two-stage disease, *Nature Immunology*, **2**, 2762–2764.
 151. Mader, S., Brimberg, L., Diamond, B. (2017) The Role of Brain-Reactive Autoantibodies in Brain Pathology and Cognitive Impairment, *Frontiers in Immunology*, **8**, 1101.
 152. Balasa, R., Barcutean, L., Balasa, A., Motataianu, A., Roman-Filip, C., Manu, D. (2020) The action of TH17 cells on blood brain barrier in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis, *Human Immunology*, **81**, 237–243.
 153. James, L.C., Roversi, P., Tawfik, D.S. (2003) Antibody multispecificity mediated by conformational diversity, *Science*, **299**, 1362–1367.
 154. James, L.C., Tawfik, D.S. (2003) Conformational diversity and protein evolution – a 60-year-old hypothesis revisited, *Trends in Biochemical Sciences*, **28**, 361–368.
 155. James, L.C., Tawfik, D.S. (2003) The specificity of cross-reactivity: promiscuous antibody binding involves specific hydrogen bonds rather than nonspecific hydrophobic stickiness, *Protein Science*, **12**, 2183–2193.
 156. Krasitskaya, V.V., Chaukina, V.V., Abroskina, M.V., Vorobyeva, M.A., Ilminskaya, A.A., Kabilov, M.R., Prokopenko, S.V., Nevinsky, G.A., Venyaminova, A.G., Frank, L.A. (2019) Bioluminescent aptamer-based sandwich-type assay of anti-myelin basic protein autoantibodies associated with multiple sclerosis, *Analitica Chimica Acta*, **1064**, 112–118.
 157. Nishi, Y. (2002) Evolution of catalytic antibody repertoire in autoimmune mice, *Journal of Immunological Methods*, **269**, 213–233.
 158. Tawfik, D.S., Chap, R., Green, B.S., Sela, M., Eshhar, Z. (2002) Unexpectedly high occurrence of catalytic antibodies in MRL/lpr and SJL mice immunized with a transition-state analog: is there a linkage to autoimmunity? *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **92**, 2145–2149.
 159. Thomas, J.O., Wilson, C.M., Hardin, J.A. (1984) The major core histone antigenic determinants in systemic lupus erythematosus are in the trypsin-sensitive regions, *FEBS Letters*, **169**, 90–96.
 160. Banchev, T.B., Zlatanova, J.S. (1991) Antigenic structure of histone H1. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **107**, 161–168.
 161. Muller, S., Soussanich, A., Bouley, J.P., Reinbolt, J., Van Regenmortel, M.H. (1983) Localization of two antigenic determinants in histone H4, *Biochimica et Biophysica Acta*, **747**, 100–106.

-
162. Muller, S., Plaue, S., Couppez, M., Van Regenmortel, M.H. (1986) Comparison of different methods for localizing antigenic regions in histone H2A, *Molecular Immunology*, **23**, 593–601.
 163. Hashim, G.A. (1978) Myelin basic protein: Structure, function and antigenic determinants, *Immunological Reviews*, **39**, 60–107.