

Зміни експресії мітохондріальних генів у гліобластомі людини

В. В. Дмитренко, К. О. Шостак, О. І. Бойко, О. В. Хоменко¹, В. Д. Розуменко¹, Т. А. Малишева¹, М. І. Шамаєв¹, Ю. П. Зозуля¹, В. М. Кавсан

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

¹Інститут нейрохірургії ім. А. П. Ромоданова АМН України
Вул. Мануїльського, 32, Київ, 04050, Україна

Диференційною гібридизацією бібліотеки кДНК головного мозку ембріона людини виявлено 80 клонів, які різнилися за інтенсивністю сигналу з пробами тотальних кДНК гліобластоми та нормального головного мозку людини. Гібридизація відібраних клонів з тими ж пробами кДНК підтвердила цей результат для 38 клонів. Як показав аналіз, рівень вмісту нуклеотидних послідовностей шести клонів, до складу яких входять А₁и-повтори, зростає в гліобластомі. 20 клонів містили кДНК мітохондріальних білків — субодиниць II та III оксидази цитохрому С, субодиниць 6 АТФ-синтази, субодиниць I та 4 NADH-дегідрогенази, а також 12S рРНК. Для всіх мРНК, які відповідають цим мітохондріальним білкам, знайдено зменшення їхнього вмісту в гліобластомі порівняно з прилеглою до пухлини зоною нормального головного мозку.

Вступ. Злоякісні гліоми — найпоширеніші пухлини головного мозку людини. Вони характеризуються агресивністю, великою інвазивністю та нейрологічною деструктивністю. Середні строки виживання пацієнтів з гліобластомою (найагресивнішим проявом гліальних пухлин) складають лише від 9 до 12 місяців. Цей статистичний факт мало змінився за останні десятиріччя технологічного прогресу в нейрохірургії, хіміотерапії, радіотерапії і їхньому комплексному застосуванні. За цей же період відбувся вибух знань в біології раку та фундаментальній біології, який забезпечив значний прорив у лікуванні деяких неоплазій людини, включаючи рак молочної залози, легень і простати. Незважаючи на те, що вже сформувався досить докладне уявлення про генетичні ушкодження, які зустрічаються в гліомах, сучасні знання не дозволяють повністю зрозуміти потенційні біологічні механізми, які лежать в основі ініціації та формування

пухлин головного мозку. Спроби виявити кореляцію між відомими генетичними змінами, знайденими в пухлинах головного мозку, та наслідками лікування або чутливістю до терапії не дали однозначних результатів. Визначення і характеристика нових молекулярних маркерів необхідні для подальшого вивчення механізмів ініціації і прогресії пухлин.

Основну частину генетичних аномалій, які відбуваються на різних стадіях формування астроцитарних гліом, було виявлено аналізом ДНК пухлинних клітин. Однак більш інформативним для дослідження молекулярних основ гліальних пухлин є підхід, який полягає у вивченні змін експресії генів для концентрування уваги не лише на структурних змінах, але й на регуляторних відмінностях у функціонуванні генів у клітинах пухлин [1]. З'являється все більше фактичних даних про залучення до канцерогенезу сотень специфічних генів з репресією або активацією нормальної експресії, причому лише в поодиноких випадках за рахунок мутацій. Ці гени причетні до реалізації

© В. В. ДМИТРЕНКО, К. О. ШОСТАК, О. І. БОЙКО,
О. В. ХОМЕНКО, В. Д. РОЗУМЕНКО, Т. А. МАЛИШЕВА,
М. І. ШАМАЄВ, Ю. П. ЗОЗУЛЯ, В. М. КАВСАН, 2004

основних генетичних подій ініціації неопластичної трансформації у множинні фенотипічні зміни, які спостерігаються в злоякісних пухлинах. Глибше розуміння цих процесів має важливе значення для вдосконалення діагностики і прогностичної оцінки, для визначення біологічних мішеней при розробці хіміотерапевтичних препаратів.

Мета наших досліджень полягала у виявленні і характеристиці змін експресії генів, асоційованих з виникненням і прогресією астроцитарних пухлин головного мозку людини. Для визначення генів з диференційним розподілом вмісту їхніх мРНК в астроцитарних гліомах порівняно з нормальним головним мозком використано диференційну гібридизацію бібліотеки кДНК головного мозку ембріона людини із зондами кДНК нормального головного мозку та гліобластоми.

Матеріали і методи. Бібліотеку кДНК головного мозку ембріона людини (бібліотека № 415, вік ембріона 25 тижнів) надано Центром ресурсів проекту «Геном людини» Німеччини (RZPD). Клоні кДНК бібліотеки з високою щільністю нанесено в дублі у вигляді сітки з координатами (так звані «гриди») на два нейлонових фільтри по 27648 клонів на кожному.

Хірургічні зразки гліальних астроцитом та нормального головного мозку (гістологічно нормальна тканина головного мозку, яка прилягає до пухлини і видалається вимушено разом з пухлиною під час операції) отримано з Інституту нейрохірургії ім. А. П. Ромоданова АМН України.

Диференційну гібридизацію бібліотеки кДНК та ДНК-блотів, які містили плазмідні ДНК, проводили згідно з загальноприйнятими методиками [2]. «Гриди» послідовно гібридували з пробами радіоактивно мічених тотальних кДНК гліобластоми та нормального головного мозку людини і визначали координати клонів кДНК, які з різною інтенсивністю гібридувалися з обома пробами кДНК. Відібрані за допомогою диференційної гібридизації клони кДНК отримано з RZPD і проаналізовано гібридизацією з тими ж самими пробами.

Тотальну РНК виділяли із заморожених у рідкому азоті тканин методом фенольної екстракції гуанідинізоціанатного розчину [3]. Електрофорез РНК здійснювали в горизонтальному 1 %-му агарозному гелі у присутності 2,2 М формальдегіду в боратному буфері (0,2 мМ ЕДТА, рН 8,0, 30 мМ борна кислота, 3,3 мМ тетраборат натрію, рН 7,5), нозерн-гібридизацію проводили згідно зі стандартними методиками [2].

Мічені ізотопом ^{32}P кДНК-зонди синтезували, як описано для стандартної реакції зворотної транскрипції [2], але для отримання проби з високим рівнем радіоактивності кДНК синтезували з 100—150 мкКі $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{dCTP}$, не додаючи в реакцію «холодного» dCTP.

Плазмідні ДНК виділяли, використовуючи лізис бактеріальних клітин кип'ятінням [4]. Рестрикцію, електрофорез та блотинг плазмідних ДНК проводили за стандартними методиками [2].

Серійний аналіз експресії генів (SAGE) використано для підтвердження змін експресії мітохондріальних генів у гліобластомі. «Віртуальний нозерн» <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SAGE> здійснено для порівняння рівнів експресії всіх мітохондріальних генів у нормальному головному мозку і гліобластомі.

Результати і обговорення. В попередніх роботах ми повідомляли про пошук генів, експресія яких змінюється в астроцитарних гліомах, за допомогою диференційної гібридизації бібліотек кДНК головного мозку ембріона людини (вік ембріона 17 тижнів) та головного мозку немовляти [5—7]. Виявлено 18 нуклеотидних послідовностей, які змінювали рівень експресії у гліальних пухлинах порівняно з нормальним головним мозком. Однак подальший аналіз астроцитарних гліом різного ступеня злоякісності за допомогою РНК-блотингу показав, що лише ген *TSC-22*, який кодує транскрипційний фактор, має знижений рівень експресії більше ніж у половині астроцитарних гліом III та IV ступенів злоякісності за класифікацією ВООЗ [8]. Усі інші гени, відібрані диференційною гібридизацією, змінювали свій рівень експресії лише в поодиноких пухлинах і, таким чином, не можуть претендувати на роль молекулярних маркерів астроцитарних гліом. Тому ми вирішили продовжити пошук генів, які диференційно експресуються в астроцитарних гліомах і нормальному головному мозку, і використати для цього іншу бібліотеку кДНК головного мозку ембріона (вік ембріона 25 тижнів).

Первинний скринінг цієї бібліотеки виявив близько сотні клонів кДНК, які з різною інтенсивністю гібридувалися з пробами тотальних кДНК нормального головного мозку людини та гліобластоми (GB, астроцитом IV ступеня злоякісності за класифікацією ВООЗ). 80 клонів кДНК, різниця в гібридизації яких була більш виразна при порівнянні двох радіоавтографів, було отримано з RZPD для подальшого аналізу. З бак-

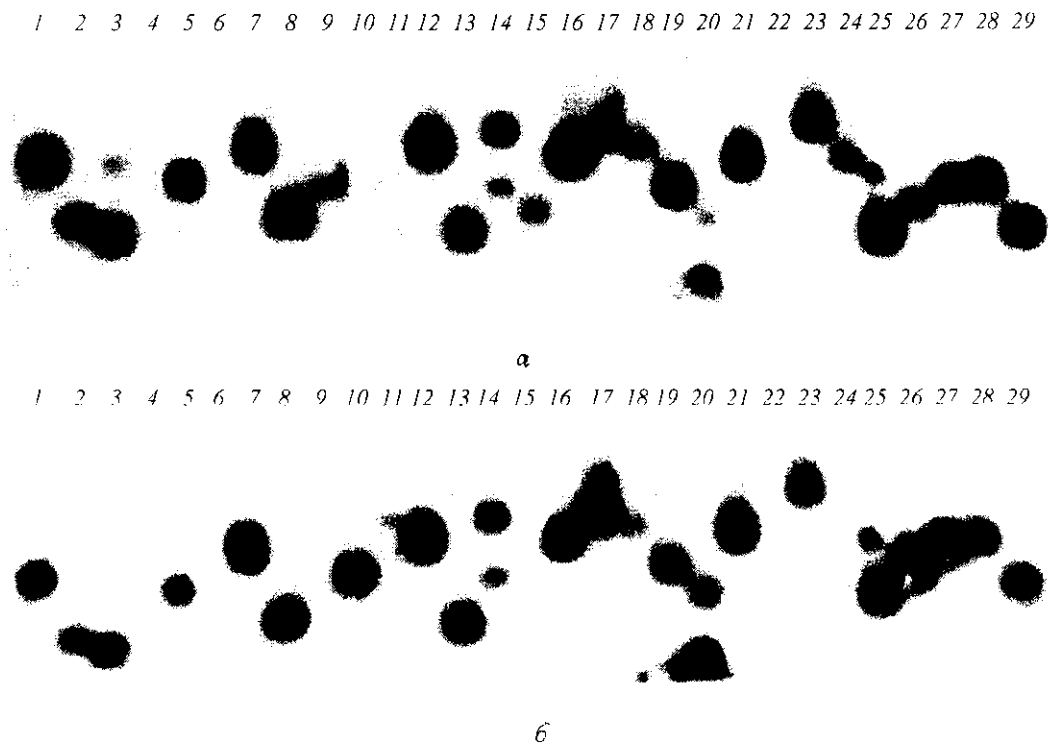


Рис. 1. Диференційна гібридизація плазмідних ДНК з пробами тотальних кДНК нормального головного мозку людини (а) та гліобластоми (б)

теріальних клітин виділяли плазмиди та розщеплювали їх рестриктазами *HindIII* та *EcoRI* для відокремлення вставок кДНК від векторної ДНК. Після електрофорезу розщеплених плазмідних ДНК і перенесення їх з агарозного гелю на поверхню нейлонових мембран диференційна гібридизація кДНК-вставок з 38 клонів виявила гібридизаційні сигнали різної інтенсивності з тими ж самими пробами тотальних кДНК нормального головного мозку людини та гліобластоми. На рис. 1 показано диференційну гібридизацію одного з ДНК-блотів, який містив рестриковані плазмідні ДНК. Можна бачити, що вставки кДНК деяких клонів гібридизуються з більшою інтенсивністю з кДНК нормального головного мозку (доріжки 1, 5, 9, 15, 16, 19, 24, 25, 28) або з кДНК гліобластоми (доріжки 10, 26).

Аналіз нуклеотидних послідовностей кДНК-вставок 26 клонів виявив шість клонів, які містили *Alu*-повтори в складі кДНК (табл. 1). Як очікувалося за результатами первинного скринінгу, ці нуклеотидні послідовності з більшою інтенсивністю гібридизувалися з пробою кДНК гліобластоми. Зростання рівня транскрипції гетерогенних за розміром *Alu*-вмісних послідовностей у гліобластомі було виявлено нами і в попередніх роботах [5, 6]. Накопичення гетерогенних за розміром транскриптів, які містять повторювані елементи геному, зок-

рема, *Alu*-повтори людини або гомологічні В-повтори мишей знайдено в різних типах пухлин та культурах трансформованих клітин [9—12], а також у Т-клітинах у відповідь на ВІЛ-інфекцію [13]. Авторами роботи [14] клоновано згадані транскрипти, в результаті чого виявлено, що унікальні послідовності, які входять до складу даних гетерогенних транскриптів, не містять ніяких відкритих рамок читування і, очевидно, не мають певних біологічних функцій в клітинах, в яких вони продукуються. Можна припустити, що повторювані елементи входять до складу цих транскриптів випадково, лише через те, що вони «розкидані» по всьому геному, або, навпаки, є певними «ярликами» для однієї з еукаріотичних РНК-полімераз (РНК-полімерази II або РНК-полімерази III), яка внаслідок певних причин продукує в трансформованих клітинах велику кількість аномальних транскриптів.

Інші 20 клонів з 26 проаналізованих містили кДНК, що відповідають нуклеотидним послідовностям мітохондріальних генів: субодиницям II та III оксидази цитохрому С (COXII та COXIII), субодиниці 6 АТФ-синтази (АТФ6), субодиницям 1 та 4 NADH-дегідрогенази (ND1 та ND4) та 12S рРНК (табл. 1). Ці кДНК гібридизувалися інтенсивніше з пробою кДНК нормального головного мозку. Те, що зміни експресії в пухлинних кліти-

Таблиця 1

Нуклеотидні послідовності з бібліотеки кДНК головного мозку ембріона людини (вік ембріона 25 тижнів), які диференційно експресуються в гліобластомі і нормальному головному мозку людини

| Клон | Зміна експресії в гліобластомі | Назва нуклеотидної послідовності |
|----------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| DKFZp415A2296 | Знижена | Субодиниця 1 NADH-дегідрогенази |
| DKFZp415L2318 | Знижена | Субодиниця 1 NADH-дегідрогенази |
| DKFZp415N0897 | Знижена | Субодиниця 1 NADH-дегідрогенази |
| DKFZp415B1316 | Знижена | Субодиниця 4 NADH-дегідрогенази |
| DKFZp415G18136 | Знижена | Субодиниця 4 NADH-дегідрогенази |
| DKFZp415M02136 | Знижена | Субодиниця 4 NADH-дегідрогенази |
| DKFZp415G06136 | Знижена | Субодиниця III оксидази цитохрому С |
| DKFZp415E117 | Знижена | Субодиниця II оксидази цитохрому С |
| DKFZp415E1874 | Знижена | Субодиниця III оксидази цитохрому С |
| DKFZp415E1386 | Знижена | Субодиниця III оксидази цитохрому С |
| DKFZp415J19138 | Знижена | Субодиниця III оксидази цитохрому С |
| DKFZp415L07128 | Знижена | Субодиниця III оксидази цитохрому С |
| DKFZp415K05112 | Знижена | Субодиниця III оксидази цитохрому С |
| DKFZp415H0983 | Знижена | Субодиниця 6 АТФ-синтази |
| DKFZp415J0588 | Знижена | Субодиниця 6 АТФ-синтази |
| DKFZp415H20103 | Знижена | Субодиниця 6 АТФ-синтази |
| DKFZp415L24135 | Знижена | Субодиниця 6 АТФ-синтази |
| DKFZp415N0519 | Знижена | Субодиниця 6 АТФ-синтази |
| DKFZp415N0413 | Знижена | Субодиниця 6 АТФ-синтази |
| DKFZp415E0479 | Знижена | 12S рРНК |
| DKFZp415B1084 | Підвищена | Alu-повтор |
| DKFZp415B09144 | Підвищена | Alu-повтор |
| DKFZp415E24110 | Підвищена | Alu-повтор |
| DKFZp415G0992 | Підвищена | Alu-повтор |
| DKFZp415H2294 | Підвищена | Alu-повтор |
| DKFZp415N055 | Підвищена | Alu-повтор |

нах були виявлені лише для нуклеотидних послідовностей з *Alu*-повторами і для мітохондріальних кодуючих білок генів, можливо, відображує специфічність молекулярних подій в даному зразку гліобластомі, які пов'язані з координованою зміною експресії всього мітохондріального геному. При цьому відбирали клони кДНК, різниця в гібридизації яких була виразнішою при порівнянні двох радіоавтографів. Дійсно, як показано за допомогою нозерн-гібридизації, експресія СОХІІІ у нормальному головному мозку (зразок 181, гістологічно нормальна тканина головного мозку, прилегла до гліобластомі, зразок 182) була значно вищою, ніж у гліобластомі (рис. 2). Саме з цих зразків тканин було виділено РНК для приготування проб кДНК, які використовували для первинно-

го скринінгу бібліотеки кДНК. Як впливає з даних рис. 2, середній рівень експресії гена СОХІІ в гліобластомах приблизно в 2 рази менший порівняно з таким у нормальному головному мозку. Вміст мРНК СОХІІІ варіює в різних зразках проаналізованих гліобластом, що є наслідком молекулярної гетерогенності гліальних пухлин. Незважаючи на це, зміни експресії генів навіть в обмеженій кількості випадків можуть забезпечити інформацією про механізми пухлинного патогенезу. Раніше диференційною гібридизацією бібліотеки кДНК головного мозку немовляти ми виявили зміни експресії також лише для мітохондріальних генів (mt16S рРНК і mt12S рРНК) та цитоплазматичної 28S рРНК. Цим же методом виявлено по два клони, які містили мітохондріальні послідовності [5, 6].

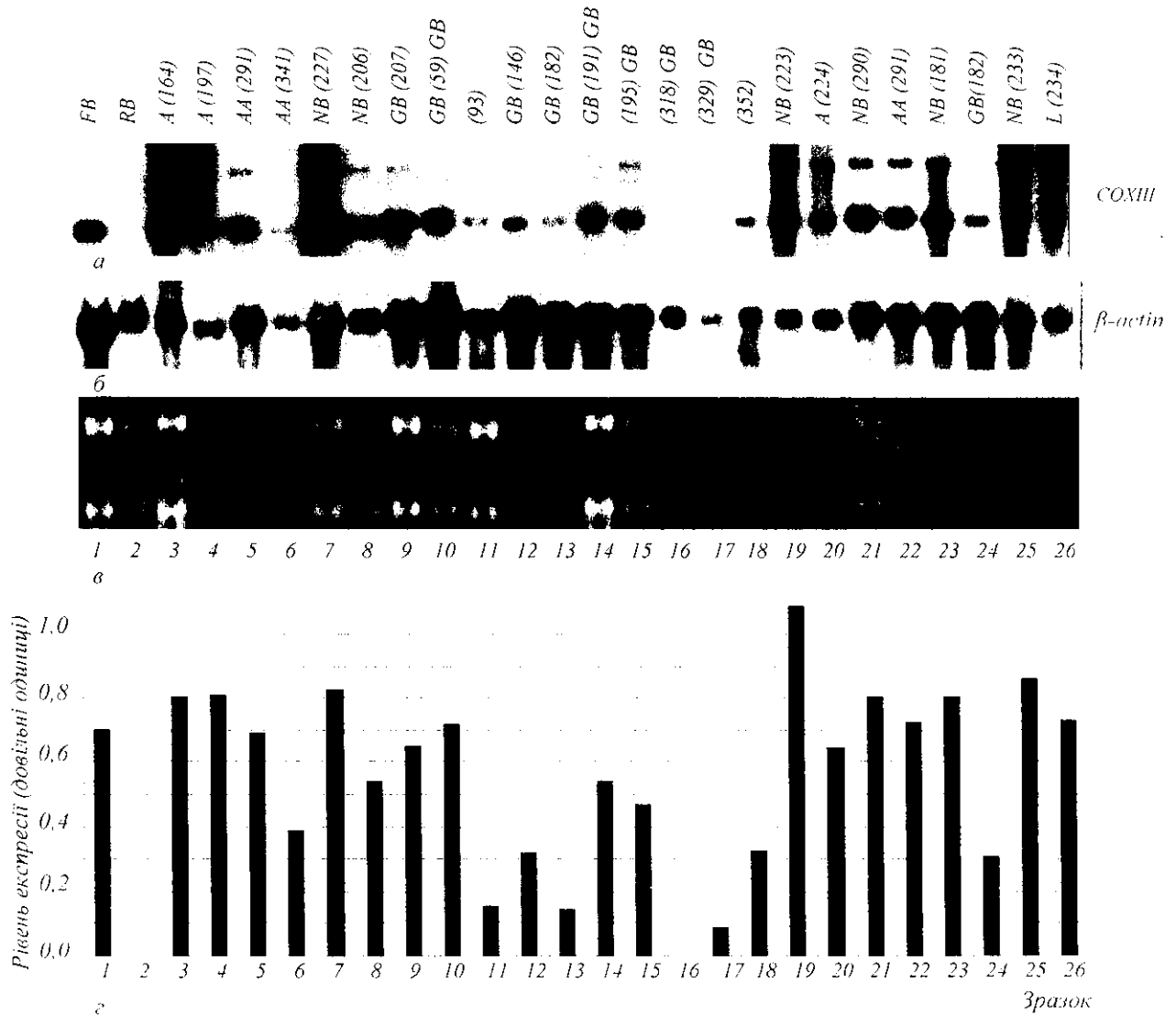


Рис. 2. Експресія гена субодиниці III оксидази цитохрому С (COXIII) в нормальних тканинах і пухлинах головного мозку: а — нозерн-гібридизація ³²P-міченої проби кДНК COXIII з панеллю РНК (типи тканин і види пухлин позначено над кожною доріжкою блоту, числа в дужках — умовні номери зразка РНК; *FB* — мозок ембріона людини (1); *RB* — мозок щура (2); *A* — астроцитом (3, 4, 20); *AA* — анапластична астроцитом (5, 6, 22); *NB* — нормальний головний мозок людини (7, 8, 19, 21, 23, 25); *GB* — гліобластома (9—18, 24); *L* — лімфома (26)); б — нозерн-гібридизація цього ж блоту з контрольною пробою кДНК β-актину; в — фотографія агарозного гелю, забарвленого бромистим етидієм; г — діаграма, яка показує відносний рівень експресії гена COXIII

«Віртуальний нозерн» підтвердив результати диференційної гібридизації. Як видно з табл. 2, вміст «ярликів» усіх мітохондріальних генів у декілька разів більший в двох SAGE-бібліотеках нормального головного мозку порівняно з двома SAGE-бібліотеками гліобластом.

Про зміни експресії мітохондріальних генів

повідомлялося для інших типів раку (див. огляд [15]). Зокрема, активацію генів, які кодують COXI і COXII та 16S рРНК, знайдено в трансформованих щурих фібробластах [16], генів 16S рРНК, ND5 та ND6, COXII, цитохрому b — у хімічно індуктованих гепатомах [17], генів рРНК та ND1 — у родинних поліпозах тонкої кишки [18]. Підви-

Таблиця 2
Дані «віртуального нозерну» для мітохондріальних генів

| «Ярлик» гена | Кількість «ярликів» гена на 1 млн «ярликів» | | | | Кластер «унігена» | Назва гена |
|--------------|---|---------------------------------------|---|---|-------------------|--|
| | Гліобlastома ¹ (70087)* | Гліобlastома ² (61886)* | Нормальний голо- вний мозок ³ (94876)* | Нормальний голо- вний мозок ⁴ (63208)* | | |
| GTAAGTGTAC | 28 | 145 | 664 | 727 | Hs. 205401 | 12S рРНК (SPTBN1, спектрин-бета, не-еритроїдний 1) |
| СТААGACTTC | 1983 | 3651 | 16864 | 10489 | — | 16S рРНК |
| САССТААТТG | 2282 | 4314 | 9053 | 11739 | Hs. 135015 | Субодиниця 6 АТФ-синтази (мРНК FLJ40906 гіпотетичного білка FLJ40906) |
| САССТААТТG | 2282 | 4314 | 9053 | 11739 | Hs. 135015 | Субодиниця 8 АТФ-синтази (мРНК FLJ40906 гіпотетичного білка FLJ40906) |
| САСТАСТСАС | 570 | 646 | 1443 | 1439 | — | Цитохром b |
| АТТТGAGAAG | 2297 | 2165 | 4163 | 6992 | — | Субодиниця I оксидази цитохрому C |
| СССАТСGТСС | 4879 | 10616 | 11267 | 14001 | — | Субодиниця II оксидази цитохрому C |
| ТGАТТТСАСТ | 1383 | 1276 | 4279 | 4176 | Hs. 74335 | Субодиниця III оксидази цитохрому C (HSPCB, білок 1-бета теплового шоку, 90 кДа) |
| АСССТТGGCC | 870 | 1842 | 6840 | 8748 | — | Субодиниця 1 NADH-дегідрогенази |
| АСТААСАССС | 784 | 1939 | 6861 | 5505 | — | Субодиниця 2 NADH-дегідрогенази |
| АGСССТАСAA | 1169 | 3571 | 8621 | 8574 | — | Субодиниця 3 NADH-дегідрогенази |
| ТТСАТАСАСС | 3167 | 3183 | 5354 | 4002 | — | Субодиниця 4 NADH-дегідрогенази |
| ТТСАТАСАСС | 3167 | 3183 | 5354 | 4002 | — | Субодиниця 4L NADH-дегідрогенази |
| АGАСССАСAA | 99 | 226 | 653 | 648 | — | Субодиниця 5 NADH-дегідрогенази |
| GGGGТСАGGG | 57 | 145 | 242 | 221 | Hs. 145820 | Субодиниця 6 NADH-дегідрогенази (PYGB глікогенфосфорилаза з мозку) |

Примітка. *Кількість «ярликів» генів у SAGE-бібліотеках; ¹SAGE-бібліотека гліобlastоми (GSM696: SAGE_Duke_GBM_H1110); ²SAGE-бібліотека гліобlastоми (GSM765: SAGE_pooled_GBM); ³SAGE-бібліотека нормального головного мозку (GSM676: SAGE_BB542_whitematter); ⁴SAGE-бібліотека нормального головного мозку (GSM763: SAGE_poptal_pool(6th)).

щений рівень експресії мітохондріальних генів (ND5, АТР6, цитохрому b, СОХI та СОХII) було виявлено в папілярній тироїдній карциномі порівняно з нормальною тироїдною тканиною [19]. У роботі Шарпа і співавт. [20] при аналізі 17 пухлин молочної залози зареєстровано активацію експресії гена СОХII, але не виявлено змін експресії генів ND2, ND4 та АТР6. В іншій роботі [21] автори знайшли зменшення експресії гена СОХIII у пухлинах товстої кишки порівняно із слизовою непухлинної товстої кишки.

Таким чином, в даній роботі продемонстровано зміни експресії мітохондріальних генів та нуклеотидних послідовностей, які містять повторювані елементи геному людини. Зниження рівнів експресії мітохондріальних генів у гліобlastомах, але не в астроцитомах або анапластичних астроцитомах, вказує на зменшення активності мітохондріального геному з прогресією пухлин. Активація експресії мітохондріальних генів, яка була виявлена в різних типах раку іншими авторами, можливо,

є наслідком гетерогенності експресії мітохондріальних генів в індивідуальних пухлинах, а також може пояснюватися тим, що автори аналізували пухлини проміжних ступенів анаплазії, а не злоякісних пухлин на останній стадії їхнього розвитку. Подальший аналіз експресії мітохондріальних генів у великій кількості пухлин головного мозку дозволить визначити причетність зміни експресії мітохондріальних генів до процесу формування пухлин.

Роботу частково профінансовано Державним фондом фундаментальних досліджень, проект № Ф7.282-2001, та NATO Collaborative Linkage Grant No. 977284.

V. V. Dmitrenko, K. O. Shostak, O. I. Boyko, O. V. Khomenko, V. D. Rozumenko, T. A. Malisheva, M. I. Shamayev, Yu. P. Zozulya, V. M. Kavsan

Changes in the expression of mitochondrial genes in human glioblastoma

Summary

80 cDNA clones differentially hybridized with total cDNA probes of

glioblastoma and normal human brain were revealed by differential hybridization of human fetal brain cDNA library. Hybridization of the DNA of selected clones with the same cDNA probes verified the difference for 38 clones. The levels of six nucleotide sequences from 6 clones containing Alu-repeats were increased in glioblastoma. 20 clones contained cDNAs corresponding to mitochondrial genes for ATP synthase subunit 6 (ATP6), cytochrome C oxidase subunit II (COXII), cytochrome C oxidase subunit III (COXIII), NADH dehydrogenase subunit I (ND1), NADH dehydrogenase subunit 4 (ND4) and mitochondrial 12S rRNA. The expression of all these mitochondrial genes was decreased in glioblastomas as compared to tumor-adjacent normal brain.

В. В. Дмитренко, Е. А. Шостак, О. І. Бойко, А. В. Хоменко, В. Д. Розуменко, Т. А. Малышева, М. І. Шамаев, Ю. П. Зозуля, В. М. Кавсан

Изменения экспрессии митохондриальных генов в глиобластоме человека

Резюме

Дифференциальной гибридизацией библиотеки кДНК головного мозга эмбриона человека выявлены 80 клонов, различающихся по интенсивности сигнала с пробами тотальных кДНК глиобластомы и нормального головного мозга. Гибридизация ДНК отобранных клонов с теми же пробами кДНК подтвердила этот результат для 38 клонов. Как показал анализ, содержащих нуклеотидных последовательностей шести клонов, в состав которых входят Alu-повторы, увеличивается в глиобластоме. 20 клонов содержали кДНК, соответствующие генам митохондриальных белков — субъединицы 6 АТФ-синтазы, субъединиц II и III оксидазы цитохрома С, субъединиц I и 4 NADH-дегидрогеназы, а также митохондриальной 12S рРНК. Для мРНК этих митохондриальных белков выявлено уменьшение уровня синтеза в глиобластоме по сравнению с прилегающей к опухоли зоной нормального головного мозга.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Sager R. Expression genetics in cancer: shifting the focus from DNA to RNA // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1997.—94, N 3.—P. 952—955.
2. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Molecular cloning. A laboratory manual.—New York: Cold Spring Harbor Lab. press, 1989.—625 p.
3. Chomchinsky P., Sacchi N. Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // Anal. Biochem.—1987.—162, N 1.—P. 156—159.
4. Holmes D. S., Quigley M. A rapid boiling method for the preparation of bacterial plasmids // Anal. Biochem.—1981.—114, N 1.—P. 193—197.
5. Дмитренко В. В., Шостак К. О., Гарифулін О. М., Зозуля Ю. П., Кавсан В. М. Зміни експресії генів у клітинах астроцитом головного мозку людини // Експерим. онкологія.—1998.—20.—С. 1—7.
6. Зозуля Ю. А., Шостак Е. А., Гарифулін О. М., Розуменко В. Д., Хоменко А. В., Дмитренко В. В., Кавсан В. М. Роль зміненої експресії генів в розвитку гліом головного мозку людини // Вопр. нейрохірургії.—2002.—2.—С. 43—50.
7. Shostak K. O., Dmitrenko V. V., Garifulin O. M., Rozumenko V. D., Homenko O. V., Zozulya Y. P., Zehetner G., Kavsan V.

M. Downregulation of putative tumor suppressor gene TSC-22 in human brain tumors // J. Surg. Oncol.—2003.—82.—P. 57—64.

8. Kleihues P., Louis D. N., Scheithauer B. W., Rorke L. B., Reifenberger G., Burger P. C., Cavenee W. K. The WHO classification of tumors of the nervous system // J. Neuro-pathol. Exp. Neurol.—2002.—61, N 3.—P. 215—225.
9. Yamamoto M., Maehara Y., Takahashi K., Endo H. Cloning of sequences expressed specifically in tumors of rat // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1983.—80.—P. 7524—7527.
10. Grigoryan M. S., Kramerov D. A., Tulchinsky E. M., Revasova E. S., Lukanidin E. M. Activation of putative transposition intermediate formation in tumor cells // EMBO J.—1985.—4, N 9.—P. 2209—2215.
11. Limborska S. A., Korneev S. A., Maleeva N. E., Slominsky P. A., Jincharadze A. G., Ivanov P. L., Ryskov A. P. Cloning of Alu-containing cDNAs from fibroblasts and identification of small Alu + poly(A) + RNAs in a variety of human normal and tumor cells // FEBS Lett.—1987.—212, N 2.—P. 208—212.
12. White R. J., Stott D., Rigby P. W. J. Regulation of RNA polymerase III transcription in response to Simian virus 40 transformation // EMBO J.—1990.—9, N 11.—P. 3713—3721.
13. Koga Y., Lindstrom E., Fenyo E. M., Wigzell H., Mak T. W. High levels of heterodisperse RNAs accumulate in T cells infected with human immunodeficiency virus and in normal thymocytes // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1988.—85.—P. 4521—4525.
14. Kohnoe S., Maehara Y., Endo H. A systematic survey of repetitive sequences abundantly expressed in rat tumors // Biochim. et biophys. acta.—1987.—909.—P. 107—114.
15. Penta J. S., Johnson F. M., Wachsmann J. T., Copeland W. C. Mitochondrial DNA in human malignancy // Mutat. Res.—2001.—488, N 2.—P. 119—133.
16. Gleichennhaus N., Leopold P., Cuzin F. Increased levels of mitochondrial gene expression in rat fibroblast cells immortalized or transformed by viral and cellular oncogenes // EMBO J.—1986.—25.—P. 1261—1265.
17. Tichonicky L., Guguen-Guillouzo C., Kruh J., Defer N., Corral M., Paris B., Baffet G. Increased level of the mitochondrial ND5 transcript in chemically induced rat hepatomas // Exp. Cell Res.—1989.—2184.—P. 158—166.
18. Yamamoto A., Horai S., Yuasa Y. Increased level of mitochondrial gene expression in polyps of familial polyposis coli patients // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1989.—2159.—P. 1100—1106.
19. Haugen D., Fluge O., Reigstad L. E., Varhaug J. E., Lillehaug J. R. Increased expression of genes encoding mitochondrial proteins in papillary thyroid carcinomas // Thyroid.—2003.—13, N 7.—P. 613—620.
20. Sharp M. G. F., Adams S. M., Walker R. A. Differential expression of the mitochondrial gene cytochrome oxidase II in benign and malignant breast cancer // J. Pathol.—1992.—168.—P. 163—168.
21. Heerdt B. G., Chen J., Stewart L. R. Polymorphisms, but lack of mutations or instability, in the promoter region of the mitochondrial genome in human colonic tumors // Cancer Res.—1994.—54.—P. 3912—3915.

УДК 577.21:577.214 + 616-006.48
Надійшла до редакції 28.11.03