

Б. Экспериментальные исследования

© Коллектив авторов, 2016
УДК 616-006:61:575

Вопросы онкологии, 2016. Том 62, № 3

Л.Л. Круковская^{1,2}, Д.Е. Полев³, Т.В. Курбатова^{1,2}, Ю.К. Карнаухова^{1,2}, А.П. Козлов^{1,2}Изучение опухолеспецифичности экспрессии некоторых
эволюционно новых генов¹ФГАОУ ВО «СПбПУ»,²Биомедицинский центр,³СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

Показано, что эволюционно новые гены DCD1(Dermcidin), LINC00309 (Long intergenic non-protein coding RNA 309) и CLLU1(Chronic lymphocytic leukemia up-regulated 1) обладают опухолеспецифическим характером экспрессии. Наряду с ранее опубликованными нами результатами, это подтверждает существование феномена опухолеспецифической экспрессии эволюционно новых генов или, в английской транскрипции, TSEEN (Tumor Specifically Expressed, Evolutionarily New Genes).

Ключевые слова: опухолеспецифическая экспрессия, эволюционно новые гены, DCD1, LINC00309, CLLU1

В течение ряда лет наша лаборатория занимается изучением эволюционной новизны генов, экспрессирующихся преимущественно в опухолях. Нами был описан целый ряд таких генов с двойной специфичностью – экспрессирующихся преимущественно в опухолях и эволюционно новых, или молодых [2,3,14-16]. Кроме того, мы установили, что целый класс генов, кодирующих раково-тестикулярные антигены (CT genes), состоит преимущественно из эволюционно новых или эволюционно молодых генов [10]. В этой статье представлены результаты изучения опухолеспецифичности экспрессии генов, ранее охарактеризованных как эволюционно новые для человека. Мы изучали следующие гены: DCD1(Dermcidin), который не имеет ортологов в геноме мыши и собаки [9], LINC00309 (Long intergenic non-protein coding RNA 309), также не имеющий ортологов в геноме мыши и собаки [9], и ген CLLU1(Chronic lymphocytic leukemia up-regulated 1), который является эволюционно новым геном человека и появился после расхождения в эволюции человека и шимпанзе из некодирующей нуклеотидной последовательности [13].

Материалы и методы

Праймеры, ПЦР

Ген DCD(Dermcidin). Праймеры подбирались по последовательности BC062682.1. Для

ПЦР использовались следующие праймеры: Forv: 5' – AGCCCTGGTCTGTGCCTATG-3', Rev: 5' – GTCCTTTTACCCACGCTTTC-3'. Размер амплифицируемого фрагмента 252 п.н. Режим ПЦР: 95°C – 2 мин, затем 35 циклов: 95°C – 20 с, 58°C – 20 с, 72°C – 40 с; 72°C – 5 мин.

Ген LINC00309. Праймеры подбирались по последовательности AL137337.1. Использовались праймеры Forv: 5'-CATGTCAGTCCCACCTTGAA-3', Rev: 5'-GAGGCAGTATCCAGGGCTTA-3'. Размер амплифицируемого фрагмента 221 п.н. Режим ПЦР: 95°C – 2 мин, затем 35 циклов: 95°C – 20 с, 60°C – 20 с, 72°C – 40 с; 72°C – 5 мин.

Ген CLLU1(Chronic lymphocytic leukemia up-regulated 1). В качестве коровой последовательности использовалась NM 001025233.1. Использовались следующие праймеры Forv: 5'-CATCTCCTAGGCTTGTTT-3', Rev: 5'-GGGGAACATAAAGACTAAT-3'. Размер амплифицируемого фрагмента 535 п.н. Режим ПЦР: 95°C – 2 мин, затем 35 циклов: 95°C – 20 с, 59°C – 20 с, 72°C – 40 с; 72°C – 5 мин.

Панели кДНК. В исследовании были использованы коммерческие панели кДНК производства фирм Clontech (США) и BioChain Institute (США).

MTC™ Panels (Clontech, США). Панели содержат набор нормализованных одноцепочечных кДНК, синтезированных на основе поли(А) РНК, из различных нормальных тканей человека. Были использованы следующие панели: Human MTC™ Panel 1 (Каталожный № 636742), Human MTC™ Panel 2 (№ 636743), Human Immune System MTC™ Panel (№ 636748), Human Digestive System MTC™ Panel (№ 636746) и Human Fetal MTC™ Panel (№ 636747). По данным производителя, панели свободны от геномной ДНК и нормализованы по четырем генам домашнего хозяйства клетки. Каждый образец кДНК из панелей нормальных тканей был синтезирован производителем на матрице пула РНК, выделенных из образцов, полученных от доноров различного пола и возраста. Количество доноров варьировало от 2 до 550. Образцы кДНК из фетальных тканей были получены производителем на матрице пула РНК, выделенных из образцов спонтанно абортированных плодов на сроках беременности 18-36 недель.

Tumor cDNA Panel (BioChain Institute, США) (№ C8235544, C8235545, C8235546, C8235547, C8235548, C8235549, C1235201, C1235218A, C1235171, C1235188, C1235246, C1235161B, C1235161A, C1235161). Образцы кДНК были получены производителем из опухолей человека, удаленных во время операций. Каждый образец получен от одного пациента и охарактеризован гистологически. По данным производителя, кДНК была синтезирована на матрице полиаденилированной РНК, свободной от геномной ДНК, и нормализована по гену β-актина.

Клинический материал. В работе использовали ткани опухолей различных локализаций, удаленные хирур-

гическим путем и хранившиеся при температуре (-70)°C. Операционный материал получен в Военно-Медицинской Академии им. С.М.Кирова (С.-Петербург, Россия) после информированного согласия больного, диагноз был подтвержден с помощью гистологического исследования. Выделение тотальной РНК из опухолевых тканей проводили по стандартной методике с гуанидин-тиоционатом [21]. Выделенную РНК обрабатывали ДНКазой I, свободной от РНКазы (Sigma, USA). Наличие в образце РНК примесей ДНК определяли с помощью ПЦР с праймерами к гену домашнего хозяйства *G3PDH*, используя в качестве матрицы выделенную тотальную РНК. Синтез кДНК проводили с помощью набора Revert Aid® First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Литва) с использованием гексануклеотидных праймеров, согласно рекомендациям производителя.

Коды пациентов и соответствующий им гистологический диагноз: молочная железа: 3, 246, 250, 251, 252 - инвазивный протоковый рак II-III стадии, 9 - киста с предраковой пролиферацией, 19 - аденокарцинома, III стадия; женская половая система: 1-2 - слабо дифференцированная бластома яичника, IV стадия, 2- плоскоклеточный рак шейки матки, IV стадия, 2а-1, 2а-2, 2а-3, 2а-4 - метастазы опухоли №2 в тело матки, большой сальник, левый и правый яичник соответственно, 6 - рак яичника, 13 - миосаркома шейки матки, II-III стадия, 156, 270 - умеренно дифференцированная аденокарцинома эндометрия матки II-III стадии; легкое: 12, 14-плоскоклеточный рак, 17 - рак бронха, III стадия; яичко: 7 - семинома; голова/шея: 45, 63 - менингиома, 140 - аденома гипофиза; лимфомы: 30 - хронический лимфолейкоз, IV стадия, 31 - неходжкинская Т-клеточная лимфома, IV стадия, 67 - лимфоаденопатия неясного генеза, 82 - неходжкинская лимфома, II стадия, 92- лимфогранулематоз, рецидив, IV стадия, 94 - гемолитическая анемия неясного генеза, 102, 113 - неходжкинская лимфома, IV стадия.

Результаты и обсуждение

Экспрессию трех эволюционно новых генов изучали с помощью ПЦР на различных образцах кДНК из опухолевых и нормальных тканей, амплифицируя генспецифический фрагмент. В работе было использовано 35 образцов кДНК из 29 взрослых нормальных тканей и 8 образцов из фетальных тканей(Clontech). Опухолевые образцы были представлены коммерческими панелями кДНК (BioChain) – 32 образца, а также собственной лабораторной панелью кДНК, синтезированной из клинического материала – 31 образец.

На рис. 1 представлены результаты по экспрессии гена *DCD* в нормальных тканях. Генспецифический фрагмент отмечается в дорожках, соответствующих лимфоцитам периферической крови (2 образца), ткани яичка, лимфатического узла и тимуса (3 образца, в том числе фетальный). За исключением ткани тимуса, сигнал в остальных тканях крайне незначителен, что свидетельствует о том, что экспрессия в лимфоцитах, яичке и лимфатическом узле очень низка.

Результаты по экспрессии *DCD* в опухолевых тканях представлены на рис. 2. Значительный по величине сигнал наблюдали в опухолях молочной железы, кожи, скелетной мышцы, око-

лоушной железы. Незначительный уровень экспрессии наблюдался также в опухолях легкого, почек, яичника, в некоторых образцах с неходжкинской лимфомой.

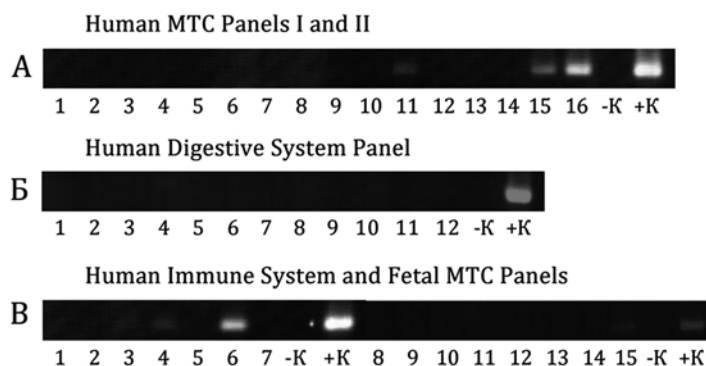
Результаты по изучению экспрессии в различных тканях гена *LINC00309* представлены на рис. 3 и 4. Ни в одной из изученных взрослых нормальных или фетальных тканей не наблюдали фрагментов, соответствующих *LINC00309* (рис. 3), тогда как в опухолевых образцах они присутствовали с разной интенсивностью в легком, желчном пузыре, желудке, тонком кишечнике, простате, надпочечниках, миндалевидных железах, молочной железе, различных лимфомах (рис. 4).

Результаты по изучению экспрессии гена *CLU1* представлены на рис. 5 и 6. *CLU1* не экспрессируется ни в одной изученной нормальной либо фетальной ткани (рис. 5); в то же время, экспрессию *CLU1* наблюдали в опухолях легкого, желудка, простаты и селезенки (рис. 6).

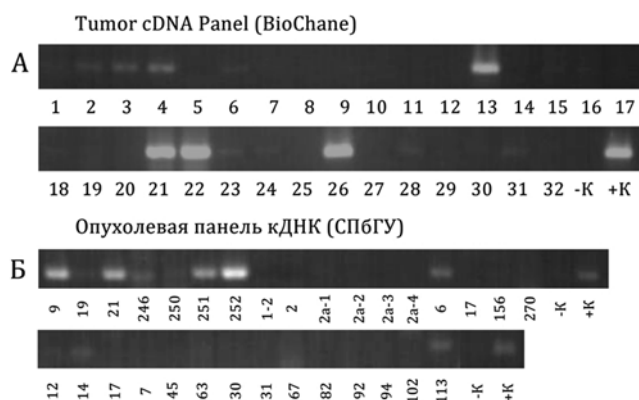
Переходя к обсуждению этих данных, отметим, что традиционный взгляд на опухоль как патологическое, заведомо вредное для организма новообразование лежит в основе общепринятой стратегии уничтожения опухолей всеми возможными средствами. Однако, такой подход не всегда эффективен и зачастую не предотвращает рецидивов онкологических заболеваний. Поэтому все чаще в среде биологов и клиницистов выражается мнение, что для достижения ощутимого прогресса в лечении злокачественных новообразований требуется создание новых парадигм, новых оригинальных подходов, концепций, с помощью которых стало бы возможно изменить наши представления о лечении рака.

Одним из таких оригинальных подходов стала теория об эволюционной роли опухолей, изложенная в монографии [14]. Создание новой парадигмы, рассматривающей опухоль как часть индивидуального и эволюционного развития организмов, открывает возможность разработки новой стратегии поддержания опухоли в контролируемом хроническом состоянии. Механизмом стабилизации опухоли может быть усиление иммунного ответа (как гуморального, так и клеточного) на эволюционно новые опухолевые антигены – продукты эволюционно новых генов, экспрессирующихся исключительно или преимущественно в опухолях.

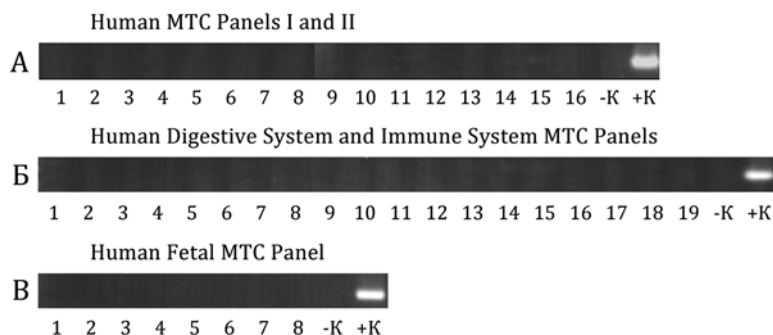
Экспериментальная проверка созданной теории предполагала подтверждение существования целого класса эволюционно новых генов с опухолеспецифической экспрессией. Доказательства существования таких генов можно было реализовать с двух сторон: либо сначала выявить гены с опухолеспецифической экспрессией, а затем исследовать их эволюционную новизну, либо


 Рисунок 1. Экспрессия мРНК *DCD1* в нормальных тканях человека

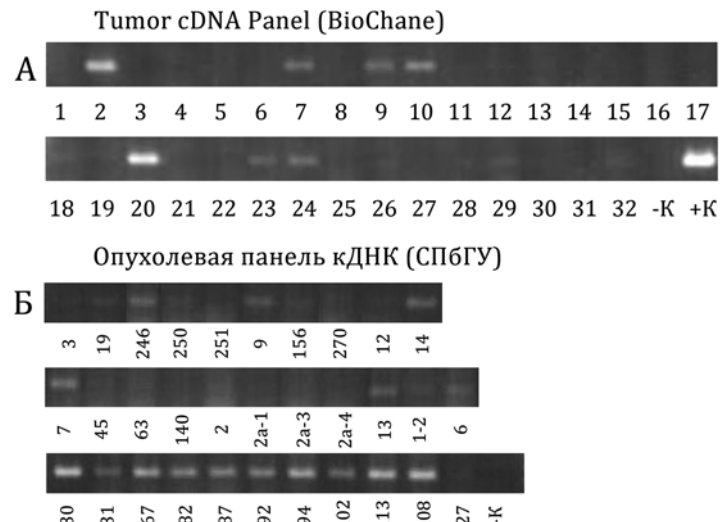
А: 1 – мозг, 2 – сердце, 3 – почка, 4 – печень, 5 – легкое, 6 – поджелудочная железа, 7 – плацента, 8 – скелетная мышца, 9 – толстая кишка, 10 – яичник, 11 – лейкоциты периферической крови, 12 – предстательная железа, 13 – тонкий кишечник, 14 – селезенка, 15 – яичко, 16 – тимус; Б: 1 – слепая кишка, 2 – восходящая ободочная кишка, 3 – нисходящая ободочная кишка, 4 – поперечная ободочная кишка, 5 – двенадцатиперстная кишка, 6 – пищевод, 7 – повздошно- слепая кишка, 8 – повздошная кишка, 9 – тощая кишка, 10 – печень, 11 – прямая кишка, 12 – желудок; В: 1 – костный мозг, 2 – фетальная печень, 3 – лимфатический узел, 4 – лейкоциты периферической крови, 5 – селезенка, 6 – тимус, 7 – миндалевидная железа, 8 – фетальный мозг, 9 – фетальное сердце, 10 – фетальная почка, 11 – фетальная печень, 12 – фетальное легкое, 13 – фетальная скелетная мышца, 14 – фетальная селезенка, 15 – фетальный тимус; А-В: -К – ПЦР без матрицы, +К – ПЦР на матрице ДНК.


 Рисунок 2. Экспрессия мРНК *DCD1* в опухолевых тканях человека

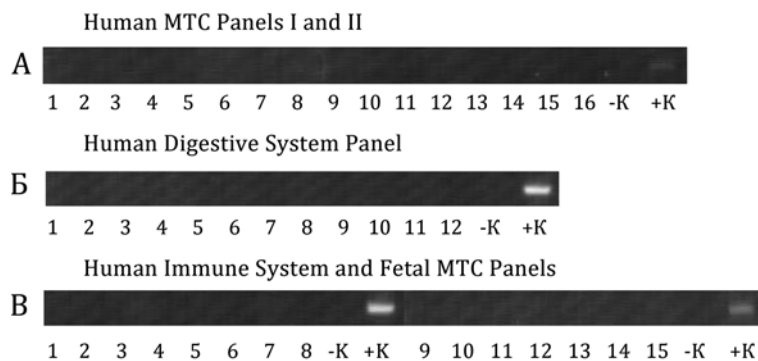
А: 1 – медуллобластома мозга, 2 – плоскоклеточный рак легкого, 3 – зернистоклеточный рак почки, 4 – светлоклеточный рак почки, 5 – холангиоцеллюлярный рак печени, 6 – гепатоцеллюлярный рак печени, 7 – аденокарцинома желчного пузыря, 8 – плоскоклеточный рак пищевода, 9 – перстневидноклеточный рак желудка, 10 – аденокарцинома тонкого кишечника, 11 – папиллярная аденокарцинома ободочной кишки, 12 – аденокарцинома прямой кишки, 13 – фиброаденома молочной железы, 14 – серозная цистоаденокарцинома яичника, 15 – медуллярный рак фаллопиевых труб, 16 – аденокарцинома матки, 17 – папиллярный переходноклеточный рак мочевого пузыря, 18 – переходноклеточный рак мочевого пузыря, 19 – семинома яичка, 20 – аденокарцинома предстательной железы, 21 – меланома кожи, 22 – злокачественная фиброзная гистиоцитома мышц, 23 – феохромоцитома надпочечника, 24 – неходжкинская лимфома, 25 – папиллярная аденокарцинома щитовидной железы, 26 – смешанная опухоль околоушной железы, 27 – аденокарцинома поджелудочной железы, 28 – семинома тимуса, 29 – аденокарцинома селезенки, 30 – неходжкинская лимфома, 31 – Т-клеточная ходжкинская лимфома, 32 – злокачественная лимфома; Б: гистологические диагнозы образцов указаны в разделе «Материалы и методы»; А-Б: -К – ПЦР без матрицы, +К – ПЦР на матрице ДНК.


 Рисунок 3. Экспрессия мРНК *LINC00309* в нормальных тканях человека

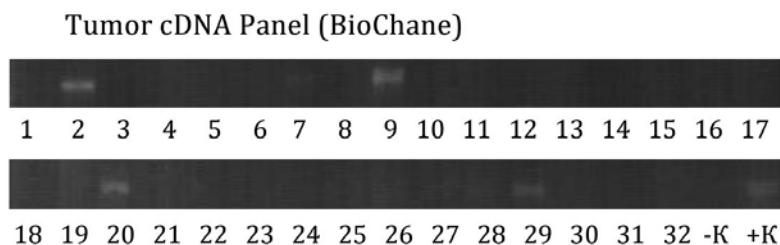
А: 1 – мозг, 2 – сердце, 3 – почка, 4 – печень, 5 – легкое, 6 – поджелудочная железа, 7 – плацента, 8 – скелетная мышца, 9 – толстая кишка, 10 – яичник, 11 – лейкоциты периферической крови, 12 – предстательная железа, 13 – тонкий кишечник, 14 – селезенка, 15 – яичко, 16 – тимус; Б: 1 – слепая кишка, 2 – восходящая ободочная кишка, 3 – нисходящая ободочная кишка, 4 – поперечная ободочная кишка, 5 – двенадцатиперстная кишка, 6 – пищевод, 7 – повздошно- слепая кишка, 8 – повздошная кишка, 9 – тощая кишка, 10 – печень, 11 – прямая кишка, 12 – желудок, 13 – костный мозг, 14 – фетальная печень, 15 – лимфатический узел, 16 – лейкоциты периферической крови, 17 – селезенка, 18 – тимус, 19 – миндалевидная железа; В: 1 – фетальный мозг, 2 – фетальное сердце, 3 – фетальная почка, 4 – фетальная печень, 5 – фетальное легкое, 6 – фетальная скелетная мышца, 7 – фетальная селезенка, 8 – фетальный тимус; А-В: -К – ПЦР без матрицы, +К – ПЦР на матрице ДНК.

Рисунок 4. Экспрессия мРНК *LINC00309* в опухолевых тканях человека

А: 1 – медуллобластома мозга, 2 – плоскоклеточный рак легкого, 3 – зернистоклеточный рак почки, 4 – светлоклеточный рак почки, 5 – холангиоцеллюлярный рак печени, 6 – гепатоцеллюлярный рак печени, 7 – аденокарцинома желчного пузыря, 8 – плоскоклеточный рак пищевода, 9 – перстневидноклеточный рак желудка, 10 – аденокарцинома тонкого кишечника, 11 – папиллярная аденокарцинома ободочной кишки, 12 – аденокарцинома прямой кишки, 13 – фиброаденома молочной железы, 14 – серозная цистоаденокарцинома яичника, 15 – медуллярный рак фаллопиевых труб, 16 – аденокарцинома матки, 17 – папиллярный переходноклеточный рак мочевого пузыря, 18 – переходноклеточный рак мочевого пузыря, 19 – семинома яичка, 20 – аденокарцинома предстательной железы, 21 – меланома кожи, 22 – злокачественная фиброзная гистiocитомы мышц, 23 – феохромоцитома надпочечника, 24 – неходжкинская лимфома, 25 – папиллярная аденокарцинома щитовидной железы, 26 – смешанная опухоль околоушной железы, 27 – аденокарцинома поджелудочной железы, 28 – семинома тимуса, 29 – аденокарцинома селезенки, 30 – неходжкинская лимфома, 31 – Т-клеточная лимфома, 32 – злокачественная лимфома; Б: гистологические диагнозы образцов указаны в разделе «Материалы и методы»; А-Б: -K – ПЦР без матрицы, +K – ПЦР на матрице ДНК.

Рисунок 5. Экспрессия мРНК *CLLU1* в нормальных тканях человека

А: 1 – мозг, 2 – сердце, 3 – почка, 4 – печень, 5 – легкое, 6 – поджелудочная железа, 7 – плацента, 8 – скелетная мышца, 9 – толстая кишка, 10 – яичник, 11 – лейкоциты периферической крови, 12 – предстательная железа, 13 – тонкий кишечник, 14 – селезенка, 15 – яичко, 16 – тимус; Б: 1 – слепая кишка, 2 – восходящая ободочная кишка, 3 – нисходящая ободочная кишка, 4 – поперечная ободочная кишка, 5 – двенадцатиперстная кишка, 6 – пищевод, 7 – повздошно- слепая кишка, 8 – повздошная кишка, 9 – тощая кишка, 10 – печень, 11 – прямая кишка, 12 – желудок; В: 1 – костный мозг, 2 – фетальная печень, 3 – лимфатический узел, 4 – лейкоциты периферической крови, 5 – селезенка, 6 – тимус, 7 – миндалевидная железа, 8 – фетальный мозг, 9 – фетальное сердце, 10 – фетальная почка, 11 – фетальная печень, 12 – фетальное легкое, 13 – фетальная скелетная мышца, 14 – фетальная селезенка, 15 – фетальный тимус; А-В: -K – ПЦР без матрицы, +K – ПЦР на матрице ДНК.

Рисунок 6 Экспрессия мРНК *CLLU1* в опухолевых тканях человека

1 – медуллобластома мозга, 2 – плоскоклеточный рак легкого, 3 – зернистоклеточный рак почки, 4 – светлоклеточный рак почки, 5 – холангиоцеллюлярный рак печени, 6 – гепатоцеллюлярный рак печени, 7 – аденокарцинома желчного пузыря, 8 – плоскоклеточный рак пищевода, 9 – перстневидноклеточный рак желудка, 10 – аденокарцинома тонкого кишечника, 11 – папиллярная аденокарцинома ободочной кишки, 12 – аденокарцинома прямой кишки, 13 – фиброаденома молочной железы, 14 – серозная цистоаденокарцинома яичника, 15 – медуллярный рак фаллопиевых труб, 16 – аденокарцинома матки, 17 – папиллярный переходноклеточный рак мочевого пузыря, 18 – переходноклеточный рак мочевого пузыря, 19 – семинома яичка, 20 – аденокарцинома предстательной железы, 21 – меланома кожи, 22 – злокачественная фиброзная гистiocитомы мышц, 23 – феохромоцитома надпочечника, 24 – неходжкинская лимфома, 25 – папиллярная аденокарцинома щитовидной железы, 26 – смешанная опухоль околоушной железы, 27 – аденокарцинома поджелудочной железы, 28 – семинома тимуса, 29 – аденокарцинома селезенки, 30 – неходжкинская лимфома, 31 – Т-клеточная лимфома, 32 – злокачественная лимфома; -K – ПЦР без матрицы, +K – ПЦР на матрице ДНК.

отобрать эволюционно новые гены, а затем изучать их экспрессию в опухолевых и нормальных тканях. Первоначально мы применили первый подход. С помощью компьютерного дифференциального дисплея [3] нам удалось выявить *in silico* порядка 200 опухолеспецифических нуклеотидных последовательностей (кластеров EST); выборочно для некоторых из них была проведена подтверждающая проверка на опухолеспецифичность экспрессии с помощью ПЦР на панелях кДНК из опухолевых и нормальных тканей человека [16]. Затем для генов/нуклеотидных последовательностей, экспериментально подтвердивших свою опухолеспецифичность, был проведен сравнительно-геномный анализ эволюционной новизны и консервативности [2,15]. Было показано, что из 9 изученных опухолеспецифических генов, 8 являются эволюционно новыми или молодыми. Мы также показали относительную эволюционную новизну целого класса генов, экспрессирующихся преимущественно в опухолях, а именно генов, кодирующих раково-тестикулярные антигены [10].

В этой статье представлены результаты, полученные при использовании второго подхода - изучения опухолеспецифичности экспрессии эволюционно новых генов. Первоначальный отбор эволюционно новых генов производился по данным литературы [9,13].

Полученные нами экспериментальные результаты по экспрессии генов *DCD1*, *LINC00309*, *CLLU1* подтвердили феномен экспрессии эволюционно новых генов в опухолях (рис. 1-6). Мы впервые изучили опухолеспецифичность экспрессии гена *LINC00309* в различных тканях. При этом было показано, что некодирующая РНК *LINC00309*, являющаяся транскриптом гена - сироты (orphan), имеет опухолеспецифический характер экспрессии. Она абсолютно отсутствует в нормальных тканях (рис. 3) и выявляется в опухолевых тканях легкого, желчного пузыря, желудка, тонкого кишечника, предстательной железы, надпочечника, миндалевидной железы, молочной железы, а также при различных лимфомах (рис. 4).

Полученные нами данные об экспрессии в опухолях генов *DCD1* и *CLLU1* находятся в соответствии с данными, полученными другими авторами, но наши данные относятся к значительно более широкому кругу опухолей и нормальных тканей. Что касается гена *CLLU1*, то основная часть статей посвящена его оценке, как прогностического биомаркера при лечении хронической лимфоидной лейкемии (ХЛЛ) [6,7,12,20]. Публиковались также данные о том, что уровень белка *CLLU1* имеет существенное различие при ХЛЛ и других В-клеточных неоплазмах [17]. В нашей работе, в дополнение к

этому известному факту, продемонстрированы экспрессия в опухолях легкого, желудка, простаты и селезенки и полное отсутствие экспрессии в нормальных тканях (рис. 5 и 6).

В дополнение к ранее показанной экспрессии гена *DCD1* в плоскоклеточном раке и аденокарциноме легких человека [8] и раке молочной железы [5,19], мы выявили его экспрессию в опухоли кожи, скелетной мышцы, околоушной железы и почки (рис. 2). Следует отметить, что помимо экспрессии *DCD1* в опухолевых тканях, значительную его экспрессию наблюдали и в тканях нормального и фетального тимуса, а также в ткани яичка (рис.1). Факт экспрессии опухолевых антигенов в тканях тимуса и яичка давно известен и описан в литературе [4,11], что отражено даже в названии целого класса генов - гены раково-тестикулярных антигенов. Экспрессия в тимусе в случае с *DCD1* возможно связана с функцией гена, поскольку он кодирует антимикробный пептид дермцидин, который относится к эффекторным молекулам врожденного иммунитета [23].

Ранее в нашей лаборатории были получены данные об эволюционной новизне и опухолеспецифической экспрессии гена *PBOV1* (Prostate and breast cancer overexpressed 1) [1,22]. Мы показали, что *PBOV1* возникает *de novo* у человека. *PBOV1* экспрессируется в большом числе опухолей и не экспрессируется ни в одной из изучавшихся нормальных тканей. Данные, полученные в настоящей статье, аналогичны ранее представленным сведениям.

Таким образом, результаты этой статьи, вместе с ранее опубликованными нами результатами [1,2,10,14-16,18,22], подтверждают существование феномена опухолеспецифической экспрессии эволюционно новых генов или, в английской транскрипции *TSEEN* (Tumor Specifically Expressed, Evolutionarily New Genes).

ЛИТЕРАТУРА

1. Круковская Л.Л., Самусик Н.А., Шилов Е.С. Опухолеспецифическая экспрессия эволюционно нового гена *PBOV1* // Вопр. онкол. - 2010. - Т. 56. - № 3. - С. 327-332.
2. Самусик Н.А., Галачянц Ю.П., Козлов А.П. Анализ эволюционной новизны последовательностей, экспрессирующихся в опухолях // Экологич. генетика. - 2009. - Т. VII. - № 2. - С. 26-37.
3. Baranova A.V., Lobashev A.V., Ivanov D.V. et al. In silico screening for tumour-specific expressed sequences in human genome // FEBS Lett. - 2001. - Vol. 508 (1). - P. 143-148.
4. Bos R., van Duikeren S., van Hall T. et al. Expression of a natural tumor antigen by thymic epithelial cells impairs the tumor-protective CD4+ T-cell repertoire // Cancer Res. - 2005. - Vol. 65 (14). - P. 6443-6449.

5. Brauer H.A., D'Arcy M., Libby T.E. et al. Dermcidin expression is associated with disease progression and survival among breast cancer patients // *Breast Cancer Res Treat.* - 2014. - Vol. 144 (2). - P. 299-306.
6. Buhl A.M., Jurlander J., Geisler C.H. et al. CLLU1 expression levels predict time to initiation of therapy and overall survival in chronic lymphocytic leukemia // *Eur J Haematol.* - 2006. - Vol. 76 (6). - P. 455-464.
7. Buhl A.M., Jurlander J., Jrgensen F.S. et al. Identification of a gene on chromosome 12q22 uniquely overexpressed in chronic lymphocytic leukemia // *Blood.* - 2006. - Vol. 07 (7). - P. 2904-2911.
8. Chang W.C., Huang M.S., Yang C.J. et al. Dermcidin identification from exhaled air for lung cancer diagnosis // *Eur Respir J.* - 2010. - Vol. 35 (5). - P. 1182-1185.
9. Clamp M., Fry B., Kamal M. et al. Distinguishing protein-coding and noncoding genes in the human genome // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 2007. - Vol. 104 (49) - P. 19428-19433.
10. Dobrynin P., Matyunina E., Malov S.V., Kozlov A.P. The novelty of human cancer/testis antigen encoding genes in evolution // *Int J Genomics.* - 2013. - Vol. 2013. - Article ID 105108.
11. Huijbers I.J., Soudja S.M., Uyttenhove C. et al. Minimal tolerance to a tumor antigen encoded by a cancer-germline gene // *J. Immunol.* - 2012. - Vol. 188 (1). - P. 111-121.
12. Josefsson P., Geisler C.H., Leffers H. et al. CLLU1 expression analysis adds prognostic information to risk prediction in chronic lymphocytic leukemia // *Blood.* - 2007. - Vol. 109 (11). - P. 4973-4979.
13. Knowles DG, McLysaght A. Recent de novo origin of human protein-coding genes // *Genome Res.* - 2009. - Vol. 19 (10) - P. 1752-1759.
14. Kozlov A.P. Evolution by Tumor Neofunctionalization: The role of Tumors in the Origin of New Cell Types and Organs // *Academic Press/ Elsever.* - 2014.
15. Kozlov A.P., Galachyants Y.P., Dukhovlinov I.V. et al. Evolutionarily new sequences expressed in tumors // *Infect Agent Cancer.* - 2006. - Vol. 25. - P. 1-8.
16. Krukovskaja L.L., Baranova A., Tyzelova T. et al. Experimental study of human expressed sequences newly identified in silico as tumor specific // *Tumour Biol.* - 2005. - Vol. 26. - № 1. - P. 17-24.
17. Oppliger Leibundgut E., Rogenmoser-Dissler D., de Beer D. et al. CLLU1 expression distinguishes chronic lymphocytic leukemia from other mature B-cell neoplasms // *Leuk Res.* - 2012. - Vol. 36 (9) - P. 1204-1207.
18. Plev DE, Karnaukhova IK, Krukovskaya LL, Kozlov AP. ELFN1-AS1: a novel primate gene with possible microRNA function expressed predominantly in human tumors // *Biomed Res Int.* - 2014. - 2014:398097.
19. Porter D., Weremowicz S., Chin K. et al. A neural survival factor is a candidate oncogene in breast cancer // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 2003. - Vol. 100 (19). - P. 10931-10936.
20. Rosenquist R., Cortese D., Bhoi S. et al. Prognostic markers and their clinical applicability in chronic lymphocytic leukemia: where do we stand? // *Leuk Lymphoma.* - 2013. - Vol. 54 (11). - P. 2351-2364.
21. Sambrook J., Russel D.W. Molecular cloning: a laboratory manual // 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 2001.
22. Samusik N., Krukovskaya L., Meln I. et al. PBOV1 is a human de novo gene with tumor-specific expression that is associated with a positive clinical outcome of cancer // *PLoS One.* - 2013. - Vol. 8 (2) - e56162.
23. Schitteck B., Hipfel R., Sauer B. et al. Dermcidin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands // *Nat Immunol.* - 2001. - Vol. 2 (12). - P. 1133-1137.

Поступила в редакцию 26.10.2015 г.

*L.L.Krukovskaya^{1,2}, D.E.Polev³, T.V.Kurbatova^{1,2},
Yu.K.Karnaukhova^{1,2}, A.P.Kozlov^{1,2}*

Study of tumor-specific expression of some evolutionary new genes

¹St. Petersburg State Polytechnic University

²Biomedical Center

³St. Petersburg State University
St. Petersburg

In this paper we have showed that evolutionary new genes DCD1(Dermcidin), LINC00309 (Long intergenic non-protein coding RNA 309) and CLLU1(Chronic lymphocytic leukemia up-regulated 1) have tumor-specific expression profile. Along with our previously published results this confirms the existence of the phenomenon of TSEEN (Tumor-Specifically Expressed, Evolutionarily Novel).

Key words: tumor-specific expression, evolutionary new genes, DCD1, LINC00309, CLLU1