

УДК 577.29

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *SERPINA1* В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ ОПУХОЛЕВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А.А. Маслакова, М.В. Телков¹, И.В. Орловский², О.С. Соколова

(кафедра физиологии человека и животных, кафедра биоинженерии;
e-mail: aitsana.dokrunova@gmail.com)

Изучали экспрессию гена *SERPINA1* в клетках опухолей предстательной железы человека (линии DU145, PC-3, LNCaP) и опухоли печени человека (HepG2). Определяли уровень альфа1-антитрипсина (ААТ) в экстрактах целых клеток, секретах, субклеточных фракциях и уровень мРНК *SERPINA1* в суммарных РНК из клеток указанных линий. Установлено несоответствие уровня мРНК уровню белка в линиях PC-3 и LNCaP. В ядрах клеток некоторых линий обнаружена новая изоформа ААТ массой 37 кДа, вероятно, укороченная с N-конца (в сравнении с полноразмерным ААТ). Предложен механизм внутриклеточного удерживания изоформы 37 кДа. В 3'-нетранслируемой области и в транскриптах гена *SERPINA1* идентифицировано 2 сайта полиаденилирования. Обсуждается влияние 3'-нетранслируемой области гена *SERPINA1* на трансляционную регуляцию экспрессии ААТ.

Ключевые слова: альфа1-антитрипсин, транскрипты *SERPINA1*, 3'-нетранслируемая область, альтернативное полиаденилирование, микроРНК.

Основная стадия опухолевой прогрессии — перестройка ядерных процессов трансформированных клеток и формирование механизмов управления стромой, способствующих разрушению внеклеточного матрикса и поддержанию процессов инвазии и метастазирования [1]. Протеолитическое remodelирование внеклеточного матрикса рассматривается как предпосылка и следствие миграции инвазивных клеток опухоли [2], а окологлобальный протеолиз играет ключевую роль в мезенхимальном типе движения неопластических клеток, претерпевших эпителиально-мезенхимальный переход [3]. Как следствие изменяется репертуар белков не только в трансформированных клетках, но и в клетках микроокружения опухоли и организма в целом. Клетки опухоли модулируют микроокружение “в свою пользу”, повышая шансы на выживание и избегая таким образом иммунного ответа организма и процесса клеточной гибели. Одним из потенциальных маркеров в протеоме трансформированной клетки и ее микроокружения является альфа1-антитрипсин (ААТ). В норме ААТ секретируется преимущественно гепатоцитами, а также моноцитами, нейтрофилами, макрофагами и альвеолярными эпителиальными клетками [4] и является основным антипротеолитическим агентом, защищающим ткани и органы от действия сериновых протеаз и поддерживающим в организме необходимый баланс протеаза-антипротеаза.

При опухолевой прогрессии могут происходить изменения функционального состояния ААТ: сни-

жение его антипротеолитической активности [5] и изменение типа гликозилирования [6]. Некоторые линии клеток опухолей легкого, почки и кишечника секретируют ААТ с повышенной разветвленностью олигосахаридов [7]. Показано, что ААТ с таким типом гликозилирования эффективно ингибирует цитотоксическое действие натуральных киллеров, выполняющих основную роль в защите организма от трансформированных клеток [8].

Повышенный уровень ААТ выявлен при развитии некоторых опухолей. Изменение уровня ААТ рассматривается в качестве диагностического и прогностического маркера. Иммуногистохимические исследования показывают, что пациенты с ААТ-позитивными аденокарциномами желудка и легких имеют наименее благоприятный прогноз выживания [9]. Увеличение секреции ААТ обнаружено в сыворотке крови при опухолях предстательной железы [10].

Ген *SERPINA1*, кодирующий ААТ, в геномном браузере UCSC Genome Browser расположен в длинном плече хромосомы 14 в участке с координатами 94843084-94857029 (протяженность гена 13946 п.н.), на параллельной цепи ДНК, содержит 4 кодирующих (экзоны 2–5), один некодирующий экзон и 3'-нетранслируемую область (3'-НТО) протяженностью 1702 п.н. [11]. В геномном браузере UCSC аннотировано 13 транскриптов *SERPINA1*, причем в одном из них отсутствует экзон 5. Возможно, существуют и другие транскрипты *SERPINA1*, выявление которых является частью представленной работы.

¹ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи.

²НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ.

Молекулярные механизмы синтеза и транспорта ААТ трансформированными клетками остаются практически неизученными.

Материалы и методы

Культивируемые линии опухолей предстательной железы человека DU145, PC-3, LNCaP и суммарная РНК из клеток иммортализованной линии нормального эпителия предстательной железы человека RWPE-1 предоставлены сотрудниками Российского онкологического научного центра имени Н.Н. Блохина РАМН. Клеточная линия HerG2 предоставлена сотрудниками Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН. Клетки культивировали в пластиковых чашках (Greiner Bio-One, Австрия) в среде DMEM/F12 (DU145, PC-3 и HerG2) и RPMI1640 (LNCaP) с добавлением 10%-й эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, США) и раствора пенициллина/стрептомицина (100 ед/мл каждого антибиотика; Gibco, США) при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Клетки смывали с поверхности чашек раствором, содержащим 0,05% трипсина и 0,913 мМ ЭДТА (Gibco, США), и перевивали в соотношении 1:4—1:6 каждые 3—4 дня.

Синтез дезоксирибополионуклеотидов (олигонуклеотидов) и секвенирование фрагментов ДНК выполнены в компании “Синтол” (Москва, Россия).

Суммарную РНК из клеток культивируемых линий выделяли в соответствии с протоколом производителя реагента TRIzol (Life Technologies-Invitrogen, США). Концентрацию и качество РНК определяли спектрофотометрически (“Nanodrop”, Thermo Fisher Scientific, США).

Относительный уровень экспрессии гена *SERPINA1* в образцах суммарных РНК из клеток культивируемых линий определяли методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Для реакции обратной транскрипции использовали набор реагентов QuantiTect (Qiagen, Германия) в соответствии с протоколом производителя и 1 мкг суммарной РНК. Для контроля отсутствия геномной ДНК в препаратах РНК использовали реакционные смеси без добавления обратной транскриптазы.

Олигонуклеотиды (праймеры) для ПЦР-РВ. Фрагмент EX2/3: прямой праймер 5'-TGTTGGATTGGTCAAGG-3', обратный — 5'-CCTTCAACGGTGGTCAAC-3'; EX4/5: прямой праймер 5'-GCATCACTAAGGTCTTCA-3', обратный — 5'-GCTTCAGTCCCTTCTC-3'; EX5: прямой праймер 5'-GCCATACCCATGTCTATC-3', обратный — 5'-GAGCGAGAGGCAGTTA-3'; APA1: прямой праймер 5'-GCCATACCCATGTCTATC-3', обратный — 5'-TTGGGTGGGATTCACCAC-3'; APA2: прямой праймер для APA1, обратный — 5'-CTCAACCTTCTTTAATGTC-3'; APA3: прямой праймер 5'-GACCTGAGAGTCTGAAGA-3', обратный — 5'-CTTGAACATCATACCAACTC-3'; ген *GAPDH*: прямой

праймер 5'-CGTCAAGGCTGAGAAC-3', обратный — 5'-ACTCCACGACGTAATC-3'.

ПЦР-РВ проводили с набором реагентов Maxima SYBR Green qPCR Master Mix (2X) (Thermo Fisher Scientific, США) в термоциклере CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США), объем реакционной смеси — 20 мкл. Специфичность амплификации оценивали в режиме кривых плавления ампликонов, продукты амплификации анализировали в 2%-м агарозном геле. Условия ПЦР-РВ: 94°C — 10 мин; 45 циклов: 94°C — 10 с, 57,6°C — 20 с, 72°C — 30 с; 94°C — 10 с; режим кривых плавления: постепенное нагревание от 55° до 94° с шагом в 0,5°/10 с. Все эксперименты выполнены в трех параллельных повторах.

Эффективность амплификации рассчитывали по углу наклона стандартной кривой (α), полученной серией 4-кратных разведений реакционной смеси синтеза первой цепи кДНК на РНК из клеток HerG2, по формуле: $E = 10^{[-1/\alpha]}$ или $E(\%) = (E - 1) \times 100\%$. Расчет относительных уровней экспрессии выполняли по формуле Пфаффла с поправкой на эффективность амплификации [12], нормируя по уровню мРНК гена *GAPDH*. Эффективность амплификации варьирует от 93 до 99% ($R^2 > 0,99$).

Для получения полных экстрактов клетки промывали буфером DPBS (Gibco, США) и лизировали реагентом RIPA Lysis Buffer System (Santa Cruz, США). Секретомы (культивационные среды, насыщенные секретирующимися клеточными белками) получали, инкубируя клетки в среде без сыворотки в течение 48 ч. Ядерные и цитоплазматические экстракты готовили по оригинальной методике, позволяющей добиться хорошего разделения ядер и содержимого цитоплазмы клеток без использования гомогенизатора [13]. Секретомы концентрировали с “порогом” 10 кДа. Концентрацию суммарного белка в экстрактах и секретомы определяли с помощью набора реагентов BCA protein assay (Thermo Fisher Scientific, США). Для иммуноблоттинга использовали поликлональные антитела кролика — против С-концевого участка ААТ (LS-C31768, LSBio, США) и козы — против полноразмерного ААТ (ab7633, Abcam, США), в паре с антивидовыми антителами 170-6515 (Bio-Rad, США) и ab6741 (Abcam, США), соответственно конъюгированными пероксидазой. Иммуноблоттинг выполняли по протоколу производителя антител Abcam. Мембрану после гибридизации сканировали в системе ChemiDoc XRS+ (Bio-Rad, США). В качестве положительного контроля использовали препарат коммерческого ААТ (178251, Calbiochem, Германия). В качестве маркера молекулярных масс белков использовали Precision Plus Protein WesternC standards (Bio-Rad, США).

Обработка данных амплификации в ПЦР-РВ участков гена *SERPINA1* выполнена с помощью программы MS Excel (Microsoft, США). Результа-

ты иммуноблоттинга обрабатывали в программе ImageLab 5.0 (Bio-Rad, США). Данные представлены в виде: среднее значение \pm стандартная ошибка среднего значения.

3'-RACE (rapid amplification of cDNA 3'-ends).

1 мкг очищенной суммарной РНК из клеточных линий, обработанной ДНКазой I (Thermo Fisher Scientific, США), использовали для реакции обратной транскрипции с ревертазой SuperScript III Reverse Transcriptase (Life Technologies-Invitrogen, США), праймер — олигонуклеотид 5'-GTGCCCTTCGTGCGCTTTTTTTTTTTTTTTTTNNN-3', объем реакционной смеси — 20 мкл. Для ПЦР использовали систему Expand High Fidelity PCR System (Roche, Швейцария) и олигонуклеотиды: прямой праймер (экзон 5 гена *SERPINA1*) 5'-GCCATACCCATGTCTATC-3' и обратный адаптерный праймер — 5'-GTGCCCTTCGTGCGCT-3'. Условия ПЦР: 94°C — 2,5 мин; 10 циклов: 94°C — 15 с, 62°C — 30 с, 72°C — 2 мин; 25 циклов: 94°C — 15 с, 60°C — 30 с, 72°C — 2 мин, инкремент 5 с; 72°C — 7 мин. Продукты амплификации анализировали электрофоретически, выделяли из 1,5% агарозного геля с помощью набора реагентов MinElute Gel Extraction Kit (QIAGEN, Германия) в соответствии с протоколом производителя и секвенировали.

Результаты и их обсуждение

ААТ в экстрактах целых клеток, секретах (рис. 1, А) и в субклеточных фракциях (рис. 1, Б)

выявляли методом иммуноблоттинга. Отсутствие полноразмерного ААТ в цитоплазме и его наличие в секретах можно объяснить стимулирующим действием глюкозы, входящей в состав культивационных сред DMEM/F12 и RPMI1640 в эффективной концентрации (17,5 мМ и 11,1 мМ глюкозы соответственно) [14]. В ядерной фракции клеток линий опухолей предстательной железы обнаружено большее количество ААТ, чем в цитоплазме (рис. 1, В, Г), что позволяет предположить транслокацию ААТ в ядро. В ядрах тех же клеток идентифицирована неизвестная ранее изоформа ААТ массой 37 кДа. Связывание антител против С-концевого участка ААТ позволяет предполагать, что указанная изоформа укорочена с N-конца. Известно, что предшественник ААТ состоит из 418 аминокислот с сигнальным пептидом секреции длиной 24 аминокислотных остатка с N-конца, а зрелый белок включает 394 аминокислоты, около 15% молекулярной массы ААТ составляет углеводная часть [15]. Для эффективной секреции ААТ необходимо наличие олигосахаридных модификаций остатков аспарагина в положениях 46, 83 и 247 полипептидной цепи ААТ [16], кодируемых в экзонах 2 и 3 (рис. 2, А). Можно предположить, что изоформа ААТ 37 кДа теряет способность к секреции, так как не содержит сигнального пептида, в секретах указанной изоформы не обнаружено (результаты не показаны). Предположили, что изоформе ААТ 37 кДа может соответствовать укороченная с 5'-конца мРНК, не содержащая участ-

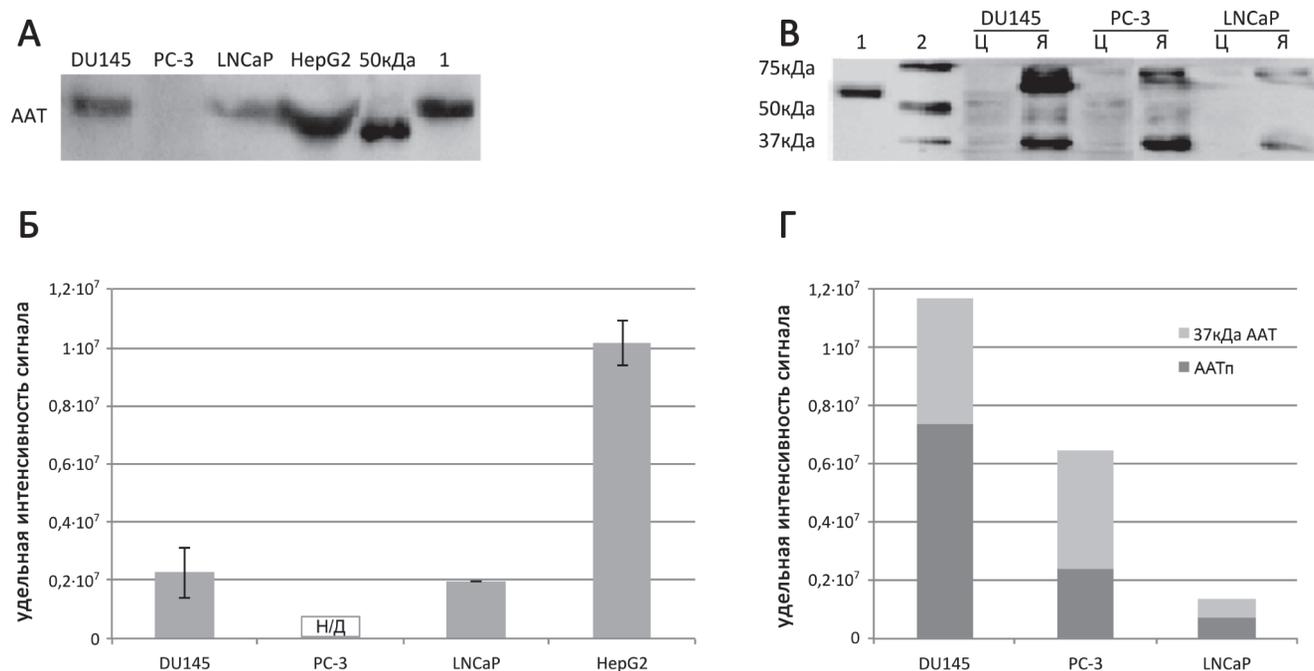


Рис. 1. Определение уровня ААТ. **А**) Иммуноблоттинг секретомов клеточных линий (по 20 мкг суммарного белка на дорожку): 50 кДа — маркер молекулярной массы, 1 — 200 нг коммерческого ААТ. **Б**) Относительное содержание ААТ в секретах на основе денситометрического анализа сигналов ААТ ($n = 3$), н/д — не детектируется. **В**) Иммуноблоттинг цитоплазматических (Ц) и ядерных (Я) клеточных экстрактов (по 25 мкг суммарного белка на дорожку): 1 — 100 нг коммерческого препарата ААТ, 2 — маркер молекулярных масс белков. Иммуноблоттинг после проявки антителами против полноразмерного ААТ. **Г**) Денситометрический анализ сигналов, соответствующих ядерным изоформам ААТ: ААТп — полноразмерный ААТ, учтены сигналы для изоформ ААТ с молекулярной массой > 50 кДа

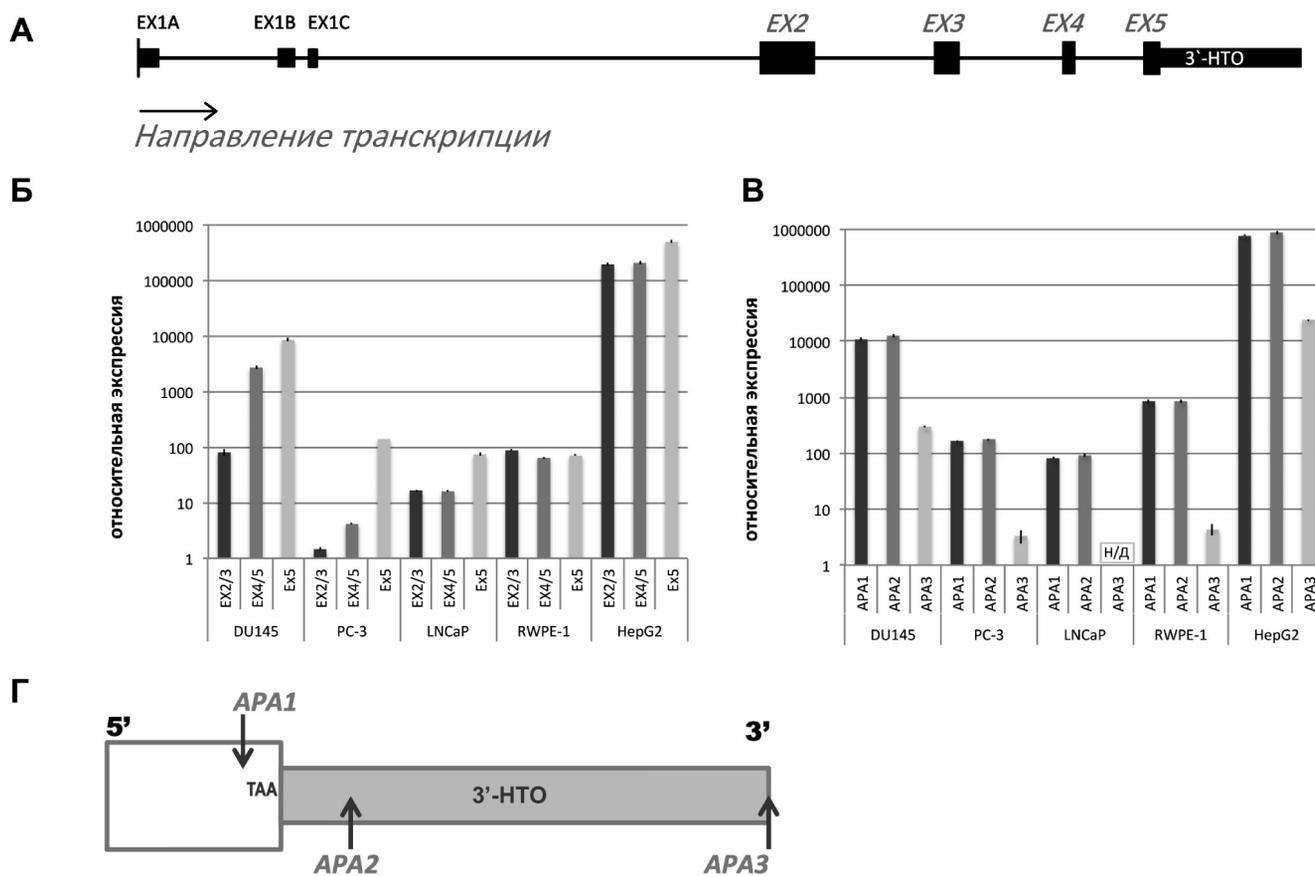


Рис. 2. А) Схема гена *SERPINA1*: черные прямоугольники — экзоны, курсивом набраны обозначения кодирующих экзонов, прямым шрифтом — нетранслируемых экзонов. Относительные уровни экспрессии гена *SERPINA1* в суммарных клеточных РНК, установленные методом ПЦР-РВ: Б) участки кодирующей области; В) участки 3'-НТО гена *SERPINA1*, прилежащие к альтернативным сайтам полиаденилирования. Уровни экспрессии, нормированные на мРНК *GAPDH*, представлены в логарифмической шкале. Минимальные уровни экспрессии в образцах PC-3 EX2/3 (Б) и RWPE-1 APA3 (В) приняты за 1; н/д — не детектируется. Г) Схема расположения сайтов APA в 3'-НТО гена *SERPINA1*. Белый прямоугольник — фрагмент экзона 5, указан стоп-кодон TAA

ков экзонов 2 и/или 3. Для проверки этой гипотезы определили относительные уровни экспрессии отдельных участков кодирующей области гена *SERPINA1* амплификацией в ПЦР-РВ стыка экзонов 2—3 (EX2/3), 4—5 (EX4/5) и участка экзона 5 (EX5) (рис. 2, Б). В качестве положительного контроля использовали суммарную РНК из клеток линии HepG2. Относительный уровень ААТ в секретах, нормированный на суммарный секретиремый белок (рис. 1, Б), коррелирует с результатами ПЦР-РВ (рис. 2, Б). Установлено, что уровни экспрессии индивидуальных участков транскрипуемой области гена *SERPINA1* в суммарных клеточных РНК различаются (рис. 2, Б). Полученные данные могут свидетельствовать о наличии транскриптов *SERPINA1*, не содержащих участка EX2/3 и, возможно, соответствующих обнаруженной изоформе ААТ массой 37 кДа. Нельзя исключить существование транскриптов, содержащих только экзоны 4 и 5 и/или только экзон 5 гена *SERPINA1*. Интересно отметить, что в иммортализованных клетках эпителия предстательной железы (линия RWPE-1) уровни экспрессии трех индивидуальных участков гена *SERPINA1* одинаковы (рис. 2, Б), т.е. можно

предполагать, что указанные транскрипты специфичны для опухолевых клеток.

В клетках линии LNCaP уровни экспрессии участков EX2/3 и EX4/5 выше, чем в PC-3. Из результатов иммуноблоттинга ядерных и цитоплазматических экстрактов следует, что уровень полноразмерного ААТ и изоформы 37 кДа в линии PC3 выше, чем в клетках линии LNCaP (рис. 1, В, Г). Можно предполагать более эффективную трансляцию транскриптов гена *SERPINA1* в клетках линии PC-3 вследствие выведения 3'-НТО из-под негативной регуляции трансляции микроРНК [16]. Методом 3'-RACE и секвенированием полученных фрагментов установлены сайты полиаденилирования транскриптов *SERPINA1* в суммарных РНК из опухолевых линий. Показано наличие двух альтернативных сайтов полиаденилирования (alternative polyadenylation, APA) в дополнение к дистальному сайту APA3 (рис. 2, Г), аннотированному ранее (GenBank Accession numbers JC537036-46).

Методом ПЦР-РВ установили относительные уровни экспрессии участков 3'-НТО, соответствующих трем сайтам полиаденилирования (рис. 2, В). Для сайтов APA1 и APA2 одновременно амплифици-

цируются фрагменты из дистальных (по отношению к рассматриваемым) областей APA2 + APA3 и APA3 соответственно. Во всех образцах полиаденилирование осуществляется преимущественно по проксимальным сайтам APA1 и APA2. В суммарной РНК из клеток линии РС-3 уровень экспрессии фрагментов транскрибируемой области ниже, чем в LNCaP (рис. 2, Б), но уровни экспрессии APA1 и APA2 при этом выше (рис. 2, В), т.е., большая часть транскриптов содержит укороченную 3'-НТО. Известно, что подобное укорочение 3'-НТО за счет альтернативного полиаденилирования увеличивает стабильность транскриптов и эффективность трансляции [17]. Полиаденилирование по сайту APA1 должно приводить к образованию мРНК без стоп-кодона, такие мРНК, как показано в независимых исследованиях, нестабильны и подвергаются деградации [18], поэтому можно предполагать, что основным проксимальным сайтом полиаденилирования является сайт APA2.

Выбор проксимальных сигналов АРА приводит к потере сайтов связывания микроРНК в 3'-НТО, позволяя таким образом избежать репрессии трансляции. Наиболее вероятной представляется негативная регуляция, опосредованная miR-940, для которой в 3'-НТО гена *SERPINA1* идентифицировано 4 сайта связывания [19]. Проксимальный

сайт связывания miR-940 локализован в транскриптах, полиаденилированных по сайту APA2, остальные — в транскриптах с более протяженной 3'-НТО (APA3). Полагают, что особенно “активен” дистальный сайт связывания miR-940, поэтому наибольшей репрессии трансляции посредством miR-940 подвержены транскрипты гена *SERPINA1* с более длинной 3'-НТО [19].

Показано, что на выбор сайтов АРА могут влиять различные физиологические состояния, такие как пролиферация [20], дифференцировка и эмбриогенез [21] и патологические процессы, прежде всего — канцерогенез [17]. Можно предполагать, что укорочение 3'-НТО гена *SERPINA1* является одним из изменений экспрессионных механизмов клетки в процессе канцерогенеза.

Проведенный сравнительный анализ экспрессии гена *SERPINA1* как на уровне мРНК, так и на уровне белка позволяет дать предварительную оценку роли ААТ в развитии некоторых видов опухолей и использования альфа1-антитрипсина в качестве маркера при канцерогенезе.

* * *

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (№ 14-24-00031).

СПИСК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rowe R.G., Weiss S.J. Navigating ECM barriers at the invasive front: the cancer cell-stroma interface // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2009. Vol. 25. P. 567—595.
2. Friedl P., Wolf K. Tube travel: The role of proteases in individual and collective a cancer cell invasion // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68. N 18. P. 7247—7249.
3. Wolf K., Wu Y.I., Liu Y., Geiger J., Tam E., Overall C., Stack M.S., Friedl P. Multi-step pericellular proteolysis controls the transition from individual to collective cancer cell invasion // *Nat. Cell Biol.* 2007. Vol. 9. N 8. P. 893—904.
4. Perlmutter D.H., Cole F.S., Kilbridge P., Rossing T.H., Colten H.R. Expression of the alpha 1-proteinase inhibitor gene in human monocytes and macrophages // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1985. Vol. 82. N 3. P. 795—799.
5. Wozniak A., Mila-Kierzenkowska C., Schachtschabel D.O., Wozniak B., Rozwodowska M., Drewa T., Drewa S., Sir J., Sir I., Maciak R., Krzyzyska-Malinowska E. Activity of cathepsin D and alpha(1)-antitrypsin in the blood serum of patients with mammary carcinoma // *Exp. Oncol.* 2005. Vol. 27. N 3. P. 233—237.
6. Докрунова А.А., Уласова Н.Ю., Крамина Т.Е., Альбицкий И.А., Хасигов П.З., Соколова О.С. Полиморфизм альфа1-антитрипсина при раке и гиперплазии предстательной железы // *Молекулярная медицина.* 2010. № 6. С. 43—49.
7. Kataoka H., Seguchi K., Inoue T., Koono M. Properties of alpha 1-antitrypsin secreted by human adenocarcinoma cell lines // *FEBS Lett.* 1993. Vol. 328. N 3. P. 291—295.
8. Lejeune P.J., Mallet B., Farnarier C., Kaplanski S. Changes in serum level and affinity for concanavalin A of human alpha 1-proteinase inhibitor in severe burn patients: relationship to natural killer cell activity // *Biochim. Biophys. Acta.* 1989. Vol. 990. N 2. P. 122—127.
9. Fukushima M., Fukuda Y., Kawamoto M., Yamana N. Elastosis in lung carcinoma: immunohistochemical, ultrastructural and clinical studies // *Pathol. Int.* 2000. Vol. 50. N 8. P. 626—635.
10. Докрунова А.А., Соколова О.С. Содержание α 1-антитрипсина в сыворотке при заболеваниях предстательной железы // *Урология.* 2012. № 5. С. 77—80.
11. Kent W.J., Sugnet C.W., Furey T.S., Roskin K.M., Pringle T.H., Zahler A.M., Haussler D. The human genome browser at UCSC // *Genome Res.* 2002. Vol. 12. N 6. P. 996—1006.
12. Pfaffle M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT—PCR // *Nucleic Acids Res.* 2001. Vol. 29. N 9. P. e45.
13. Rosner M., Schipany K., Hengstschläger M. Merging high-quality biochemical fractionation with a refined flow cytometry approach to monitor nucleocytoplasmic protein expression throughout the unperturbed mammalian cell cycle // *Nat. Protoc.* 2013. Vol. 8. N 3. P. 602—626.
14. Feng L., Arvan P. The trafficking of alpha 1-antitrypsin, a post-Golgi secretory pathway marker, in INS-1 pancreatic beta cells // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. N 34. P. 31486—31494.
15. Owen M.C., Brennan S.O., Lewis J.H., Carrell R.W. Mutation of antitrypsin to antithrombin: alpha 1-antitrypsin

Pittsburgh (358 Met leads to Arg), a fatal bleeding disorder // *New Engl. J. Med.* 1983. Vol. 309. N 12. P. 694–698.

16. *Samandari T., Brown J.L.* A study of the effects of altering the sites for N-glycosylation in alpha-1-proteinase inhibitor variants M and S // *Protein Sci.* 1993. Vol. 2. N 9. P. 1400–1410.

17. *Mayr C., Bartel D.P.* Widespread shortening of 3' UTRs by alternative cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells // *Cell.* 2009. Vol. 138. N 4. P. 673–684.

18. *Saito S., Hosoda N., Hoshino S.* The Hbs1-Dom34 protein complex functions in non-stop mRNA decay in mammalian cells // *J. Biol. Chem.* 2013. Vol. 288. N 24. P. 17832–17843.

19. *Hassan T., Smith S.G., Gaughan K., Oglesby I.K., O'Neill S., McElvaney N.G., Greene C.M.* Isolation and identification of cell-specific microRNAs targeting a messenger RNA using a biotinylated anti-sense oligonucleotide capture affinity technique // *Nucleic Acids Res.* 2013. Vol. 41. N 6. P. e71.

20. *Sandberg R., Neilson J.R., Sarma A., Sharp P.A., Burge C.B.* Proliferating cells express mRNAs with shortened 3' untranslated regions and fewer microRNA target sites // *Science.* 2008. Vol. 320. N 5883. P. 1643–1647.

21. *Ji Z., Lee J.Y., Pan Z., Jiang B., Tian B.* Progressive lengthening of 3' untranslated regions of mRNAs by alternative polyadenylation during mouse embryonic development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. Vol. 106. N 17. P. 7028–7033.

Поступила в редакцию
08.03.2015

COMPARATIVE ANALYSIS OF *SERPINA1* GENE EXPRESSION IN TUMOR CELL LINES

A.A. Maslakova, M.V. Telkov, I.V. Orlovsky, O.S. Sokolova

The expression of *SERPINA1* gene in prostate prostate (DU145, PC-3 and LNCaP) and human liver (HepG2) tumor cell lines was studied. Alpha1-antitrypsin (AAT) level in the whole cell extracts, secretomes, subcellular fractions and *SERPINA1* mRNA level in the corresponding cells were detected. Discordance between expression at these two levels in PC-3 and LNCaP lines was revealed. A new 37 KDa AAT N-terminus truncated isoform was detected in the nuclear extracts of some prostate tumor cell lines. The mechanism of 37 KDa AAT isoform intracellular retention was proposed. Two polyadenylation sites in the 3'-untranslated region of *SERPINA1* transcripts were identified. A *SERPINA1* gene 3'-untranslated region influence on AAT translation has been discussed.

Key words: *alpha1-antitrypsin, SERPINA1 transcripts, 3'-untranslated region, alternative polyadenylation, microRNAs.*

Сведения об авторах

Маслакова Айтсана Алексеевна — мл. науч. сотр. лаборатории эндокринологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-926-349-17-02; e-mail: aitsana.dokrunova@gmail.com

Телков Мирослав Васильевич — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи. Тел.: 8-968-339-66-70; e-mail: telkov77@gmail.com

Орловский Игорь Вячеславович — канд. биол. наук, науч. сотр. отдела молекулярных основ онтогенеза НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ. Тел.: 8-495-939-54-12; e-mail: igor.orlovsky@belozersky.msu.ru

Сokolova Ольга Сергеевна — докт. биол. наук, доц. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-938-00-05; e-mail: sokolova@mail.bio.msu.ru