

Лучший доклад на Школе молодых ученых
«Биоинформатика и системная биология – 2010»
ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

КОНСТИТУТИВНАЯ И ВАРИАБЕЛЬНАЯ КОМПОНЕНТЫ ПРОФИЛЕЙ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ПЕЧЕНИ СВИНЕЙ

Н.С. Хлопова, Т.Т. Глазко, В.И. Глазко

Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева,
Москва, Россия, email: vglazko@yahoo.com

Выполнен сравнительный анализ профилей генной экспрессии в печени и почках свиней, выделены группы конститутивно и вариабельно экспрессирующихся генов у исследованных животных. Обнаружено, что гены, уровень экспрессии которых варьирует от животного к животному (вариабельная часть профилей генной экспрессии), подразделяются на группы, внутри которых наблюдаются статистически достоверные корреляции по уровню экспрессии у разных животных. Обсуждается зависимость экспрессии таких групп генов от участия в метаболических путях, экзо- и эндогенных регуляторных факторов, а также вклад вариабельной части профилей генной экспрессии в отличия между результатами исследований разных лабораторий, выполненных на одних и тех же объектах.

Ключевые слова: экспрессия генов, индивидуальная изменчивость, перекрестная гибридизация, ДНК микрочипы.

Введение

За последнее десятилетие ДНК микрочипы (DNA microarrays) получили широкое применение в современной фундаментальной и прикладной медико-биологической науке. Использование геномных технологий позволило получить ряд уникальных данных о генах и генных взаимодействиях, работа которых связана с органоспецифичными функциями и их патологией у млекопитающих. Однако анализ данных, получаемых в результате исследований профилей генной экспрессии (ПГЭ) с применением ДНК микрочипов, часто затруднен в связи с наличием ряда источников ошибок, уменьшающих надежность использования данного метода. К таким источникам относятся, в частности, возможность перекрестной гибридизации между разными пробами (фрагментами ДНК на микрочипах) и ДНК копиями одних и тех же транскриптов (Okoniewski, Miller, 2006; Glazko *et al.*, 2009; Глазко и др., 2010),

технические и статистические погрешности обработки данных (Nguyen *et al.*, 2010). Другой проблемой получения неоднозначных данных по органоспецифичным ПГЭ является их индивидуальная изменчивость у исследуемых групп животных, связанная с действием экзо- и эндогенных регуляторных факторов, усиливающих или подавляющих экспрессию отдельных генов (Bai *et al.*, 2003; da Costa *et al.*, 2004; Cheon *et al.*, 2005; Rijk *et al.*, 2010).

Для того чтобы оценить вклад в оценки органоспецифичных ПГЭ тех генов, по которым обнаруживаются выраженные индивидуальные отличия, в настоящей работе выполнен сравнительный анализ ПГЭ в печени и почках свиней, проведен анализ генов с индивидуальной изменчивостью в экспрессии у разных животных. При сравнении органоспецифичного ПГЭ печени свиней (Zhao *et al.*, 2005) с полученным в нашем исследовании обсуждаются возможные причины частичных несовпадений органоспецифичных ПГЭ, выявляемых в разных лабораториях.

Материалы и методы

Исследования выполнялись на 5 свиньях одинакового возраста (6 месяцев) и пола (самки) породы ландрас, содержащихся в условиях экспериментального хозяйства Университета штата Миннесота, США. ДНК-микрочипы для последовательностей EST генома свиньи, используемые для получения экспериментальных данных, были разработаны проф. Гарби с коллегами (Garbe *et al.*, 2010). Работа по получению первичных данных по профилям генной экспрессии на этих микрочипах выполнялась Н.С. Хлоповой в лаборатории биотехнологии под руководством проф. Фаренкруга. Суммарную РНК выделяли из печени и почек, для каждого образца отдельно получали кДНК методом ОТ-ПЦР. Чистота, качество и концентрация суммарной РНК оценивались в каждом эксперименте, в частности по отсутствию «размытых» зон частичной деградации 28S рРНК и 18S рРНК при электрофоретическом разделении суммарной РНК в 1 %-м агарозном геле. Для получения кДНК зрелых матричных РНК методом ОТ-ПЦР использовали 1–5 мкг суммарной РНК каждого образца. К суммарной РНК (1–10 мкл) добавляли праймеры (1 мкл при концентрации 1 пмоль/мкл) с полиТ повтором и «фиксирующей» нуклеотидной последовательности, к которому при втором цикле гибридизации на ДНК-микрочипе будет гибридизоваться нуклеотидная последовательность на 5'-фланге, несущая около 375 молекул флуорохромного красителя Су3 или Су5.

Для каждого ДНК микрочипа готовилась гибридизационная смесь, состоящая из видоспецифичного Cot-1 DNA (для подавления неспецифического связывания), LNA dT блокатор поли А (2 мкл) и кДНК двух образцов, несущих фиксирующие последовательности для флуорохромов Су3 и Су5 (22,5 мкл). Гибридизационную смесь (50 мкл) накладывали на предварительно подогретый ДНК-микрочип, накрытый покровным стеклом, где она равномерно распределялась по микрочипу. Гибридизация осуществлялась в течение ночи при температуре 52 °С.

Флуоресцирующий 3DNA реагент (3DNA Array 350 Capture Reagent) содержит фиксирующие нуклеотидные последовательности, на

5'-конце которых присутствуют флуорохромы Су3 и Су5. Для гибридизации использовали 48 мкл 3DNA гибридизационной смеси. Гибридизация проводилась в течение 3–4 ч в темной влажной камере при температуре 55 °С. Далее посредством определения отношения Су3/Су5, осуществляемого путем сканирования ДНК-микрочипа, были получены числовые данные, характеризующиеся сигналом интенсивности гибридизации (с.и.) для каждого «пятна». Сканирование ДНК микрочипов с последующим сохранением изображения выполнялось на сканере ScanArray 5000 (Packard BioChip Technologies, Packard BioScience Company) с применением пакета программ ScanArray Express (PerkinElmer, USA). Нормализация данных проводилась с использованием программы BlueFuse для ДНК микрочипов (BlueGnome, Cambridge, UK). Последующая обработка экспериментальных данных, деление генов на группы по величинам с.и. выполнялись с использованием специально созданных макросов на базе Excel. Принадлежность генов к различным метаболическим путям оценивалась с использованием баз данных NCBI. Корреляционный анализ проведен с расчетом коэффициентов корреляции Пирсона (пакет STATISTICA 7, StatSoft, США).

Результаты и обсуждение

В результате проведенного анализа ПГЭ 600 генов, у которых сигнал интенсивности гибридизации с пробами ДНК микрочипов отличался более чем на 20 тыс. с.и. в печени и почках, выделена группа генов, экспрессия которых конститутивна, и группа из 24 генов, экспрессия которых варьировала от одного животного к другому. Среди них выделились 11 генов, по которым уровень экспрессии у исследованных животных коррелировал между печенью и почками ($r > 0,96$; $p < 0,05$). Это позволяет предположить, что экспрессия этих генов находится под влиянием общих для обоих органов регуляторных факторов. Оказалось также, что 24 гена, экспрессия которых варьировала от животного к животному, разбиваются на группы, внутри которых обнаруживаются статистически достоверные корреляции между уровнем экспрессии для разных животных ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$). В большинстве случаев

гены, между экспрессией которых обнаруживались такие корреляции, принадлежали к общему метаболическому пути. Суммарно выделились 8 таких групп: 6 генов, продукты которых участвуют в формировании кровяного сгустка (*FGB*, *FGG*, *VTN*, *F2*, *PAI2*, *PLG*)¹; 6 генов – в транспорте и метаболизме липидов (*ApoC3*, *Apo-E*, *ApoA-I*, *AGP2*, *PRBP*, *FHR2*); 5 генов представляют маркеры клеток крови и лизосом (*TMEM8*, *PAI2*, *ST7*, *AGAP1*, *NAGA*); продукты 3 генов участвуют в апоптозе клеток (*CLU*, *TNFRSF19*, *PLG*) и регулируются гормонами (*FGB*, *ALR*, *VTN*). Три группы, включающие в себя по 2 гена, относились к транспортной системе Ca^{2+} (*Grin2b*, *KLHL1*), кодировали белки межклеточного матрикса (*HAPLN2*, *AHSG*), отражали функциональную активность митохондрий (*ALR*, *TrpRS*). Пять генов из вышеперечисленных вошли одновременно в разные группы, как, например, ген фибриногена бета (*FGB*) и витронектина (*VTN*), поскольку их экспрессия гормон-зависима и кодируемые ими белки участвуют в формировании кровяного сгустка. Гены плазминогена (*PLG*) и ингибитора активатора плазминогена 2 (*PAI2*) входят в группы генов, продукты которых участвуют в формировании кровяного сгустка, в регуляции апоптоза (*PLG*), а также относятся к маркерам клеток крови и лизосом (*PAI2*). Ген, экспрессия которого ассоциирована с регенерацией печени (*ALR*), входил в группы гормон-зависимых генов и генов, отражающих функциональную активность митохондрий.

При сравнительном анализе органоспецифического ПГЭ печени свиней, выявленного в наших исследованиях и описанного в работе проф. Зао (*Zhao et al.*, 2005), получены следующие данные. Из 135 генов, отнесенных в работе проф. Зао к органоспецифическому ПГЭ печени, к 14 генам авторы использовали на ДНК-микрочипах две разные пробы, 19 генов не имели белково-функциональной аннотации либо не были представлены на наших ДНК микрочипах. Эти 33 транскрипта нами в анализ не включались. Из выборки оставшихся 102 генов далее были исключены 25 генов, транскрипты которых в наших исследованиях гибридизовались с двумя и более пробами.

¹ Биохимические функции генов, упомянутых в тексте, указаны по данным NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Далее при анализе оставшихся 77 транскриптов, отнесенных в работе проф. Зао с коллегами к тканеспецифичным для печени, была исключена из нашего анализа группа из 26 генов, экспрессия которых хотя бы у одного из исследованных нами животных не превышала порог в 400 с.и., соответствующий среднему значению интенсивности свечения пустых ячеек ДНК микрочипа. То есть по результатам наших исследований транскрипция этих генов не может рассматриваться как органоспецифичная для печени. В результате была сформирована выборка для анализа, состоявшая из 51 гена.

При анализе интенсивности гибридизации проб ДНК микрочипов к кДНК транскриптам этих генов в наших исследованиях было выделено 2 группы. Первая группа включала 26 генов с относительно небольшими отличиями в с.и. между животными (менее чем в 3,5 раза), которых мы отнесли к группе генов с конститутивной экспрессией. Во вторую группу входило 25 генов с выраженными (более чем 3,5-кратными) индивидуальными отличиями по уровню экспрессии. Так же, как и при выполненном нами анализе варибельной части ПГЭ печени и почек у свиней, результаты которого описаны выше, эти 25 генов разбивались на 8 групп, внутри которых наблюдались статистически достоверные корреляции между уровнем экспрессии у разных животных (табл. 1).

В группу из 5 генов входили те, продукты которых участвуют в формировании и расщеплении кровяного сгустка – *VTN*, *PLG*, *FGG*, *ATIII*, *TAFI* (табл. 1.1).

Вторая группа из 8 генов включала в себя кодирующие белки-транспортёры. В нее входили *SHAP*, *TF*, *AGP2*, *MFE-2*, *HSD17B6*, *PRBP*, *SYND2*, *IGFBP-2*. Уровень экспрессии этих генов у разных животных в печени, по нашим данным, коррелировал с $r > 0,95$; $p < 0,05$ % (табл. 1.2).

Третья группа объединяла 6 генов, транскрипция которых субстрат-зависима: *HSD17B6*, *PRBP*, *MFE-2*, *SCAMOL*, *SCEH* и *CAT*. Уровень экспрессии генов этой группы в печени у разных животных коррелировал с $r > 0,97$, $p < 0,05$ % (табл. 1.3).

Четыре группы, объединенные на основании корреляций в изменчивости экспрессии между индивидуальными животными, включали по

Таблица 1

Деление генов варибельной части на функциональные группы и результат расчета статистически достоверных коэффициентов корреляции между уровнем экспрессии генов для разных животных внутри каждой группы

1.1. Группа генов, продукты которых участвуют в формировании и лизисе кровяного сгустка ($p < 0,05$ %)	<i>VTN</i>	<i>PLG</i>	<i>FGG</i>	<i>ATIII</i>	<i>TAFI</i>
Предшественник витронектина (<i>VTN</i>)	1,00	0,98	0,99	0,99	0,99
Предшественник плазминогена (<i>PLG</i>)	0,98	1,00	0,99	1,00	0,99
Предшественник γ -цепи фибриногена (<i>FGG</i>)	0,99	0,99	1,00	1,00	1,00
Предшественник антитромбина III (<i>ATIII</i>)	0,99	1,00	1,00	1,00	0,99
Предшественник карбоксипептидазы B (<i>TAFI</i>)	0,99	0,99	1,00	0,99	1,00

1.2. Группа генов-транспортеров ($p < 0,05$ %)	<i>SHAP</i>	<i>TF</i>	<i>AGP2</i>	<i>MFE-2</i>	<i>HSD17B6</i>	<i>PRBP</i>	<i>HSPG</i>	<i>IGFBP-2</i>
Предшественник сывроточного гиалурон-ассоциированного белка (<i>SHAP</i>)	1,00	–	–	1,00	0,96	–	0,96	1,00
Предшественник трансферрина (<i>TF</i>)	–	1,00	0,96	–	1,00	0,99	1,00	0,97
Предшественник α -1-кислого гликопротеина 2 (<i>AGP2</i>)	–	0,96	1,00	–	0,96	–	–	–
Пероксисомный мультифункциональный фермент типа 2 (<i>MFE-2</i>)	1,00	–	–	1,00	–	–	0,95	0,99
3-гидроксистероид эпимераза (<i>HSD17B6</i>)	0,96	1,00	0,96	–	1,00	0,98	1,00	0,98
Предшественник плазменного ретинол-связывающего белка (<i>PRBP</i>)	–	0,99	–	–	0,98	1,00	0,99	0,97
Предшественник синдекана 2 (<i>HSPG</i>)	0,96	1,00	–	0,95	1,00	0,99	1,00	0,98
Предшественник связывающего инсулиноподобного фактора роста (ИФР) 2-го типа (<i>IGFBP-2</i>)	1,00	0,97	–	0,99	0,98	0,97	0,98	1,00

1.3. Группа субстрат-зависимых генов ($p < 0,05$ %)	<i>HSD17B6</i>	<i>PRBP</i>	<i>MFE-2</i>	<i>SC4MOL</i>	<i>SCEH</i>	<i>CAT</i>
3-гидроксистероид эпимераза (<i>HSD17B6</i>)	1,00	0,98	–	0,97	0,99	0,98
Предшественник плазменного ретинол-связывающего белка (<i>PRBP</i>)	0,98	1,00	–	–	0,99	–
Пероксисомный мультифункциональный фермент типа 2 (<i>MFE-2</i>)	–	–	1,00	0,99	0,98	0,98
C-4 метилстерол оксидаза (<i>SC4MOL</i>)	0,97	–	0,99	1,00	0,99	1,00
Митохондриальный предшественник еноил-КоА-гидратазы (<i>SCEH</i>)	0,99	0,99	0,98	0,99	1,00	0,99
Каталаза (<i>CAT</i>)	0,98	–	0,98	1,00	0,99	1,00

1.4. Группа генов, участвующих в апоптозе, регуляции клеточного деления ($p < 0,05$ %)	<i>IGFBP-2</i>	<i>PLG</i>	<i>CAT</i>
Предшественник связывающего инсулиноподобного фактора роста (ИФР) 2-го типа (<i>IGFBP-2</i>)	1,00	0,99	0,99
Предшественник плазминогена (<i>PLG</i>)	0,99	1,00	0,98
Каталаза (<i>CAT</i>)	0,99	0,98	1,00

Окончание таблицы 1

1.5. Группа генов, связанных с функцией митохондрий ($p < 0,05$ %)	<i>PCB</i>	<i>SCEH</i>	<i>AT</i>
Пируват карбоксилаза (<i>PCB</i>)	1,00	0,99	0,96
Митохондриальный предшественник ацил-КоА-гидратазы (<i>SCEH</i>)	0,99	1,00	0,97
Глицин-амидинотрансфераза (<i>AT</i>)	0,96	0,97	1,00
1.6. Группа генов, ассоциированных с функцией иммунной системы ($p < 0,05$ %)	<i>AGP 2</i>	<i>C1R</i>	<i>TF</i>
Предшественник альфа-1-кислого гликопротеина 2 (<i>AGP 2</i>)	1,00	–	0,96
Компонент C1г системы комплемента (<i>C1R</i>)	–	1,00	–
Трансферрин (<i>TF</i>)	0,96	–	1,00
1.7. Группа генов-предшественников цикла Кребса ($p < 0,05$ %)	<i>FAH</i>	<i>4HPPD</i>	<i>PCB</i>
Фумарилацетоацетат-гидролаза (FAH)	1,00	0,98	1,00
4-диоксифенилпируватдиоксигеназа (4HPPD)	0,98	1,00	0,99
Пируваткарбоксилаза (PCB)	1,00	0,99	1,00
1.8. Группа генов, участвующих в детоксикации алкоголя	<i>CLDN1</i>	<i>ZADH2</i>	
Клаудин 1 (<i>CLDN1</i>)	1,00	–0,99	
Цинк-связывающая алкоголь дегидрогеназа, содержащая домен с белком 1 (<i>ZADH2</i>)	–0,99	1,00	

3 гена, связанных с функцией митохондрий, участвующих в контроле клеточного деления и апоптоза, а также с некоторыми функциями иммунной системы (табл. 1.4–1.7). Уровень экспрессии по всем генам внутри каждой из этих групп коррелировал от одного животного к другому с коэффициентом корреляции более 0,98 для четвертой и третьей групп (табл. 1.4, 1.5) и более 0,96 для остальных (табл. 1.6, 1.7) при $p < 0,05$ %.

В 8-ю группу входили два гена, уровень экспрессии которых у индивидуальных животных отрицательно коррелировал с высоким статистически достоверным коэффициентом корреляции $r = -0,99$ при $p < 0,05$ % (табл. 1.8). Это были ген алкогольдегидрогеназы *ZADH1* – главный фермент детоксикации алкоголя, и клаудин – *CLDN1*, продукт которого участвует в формировании плотных межклеточных контактов между эпителиальными клетками. По-видимому, выявленная отрицательная корреляция между экспрессией этих двух генов может быть обусловлена тем, что повышенная активность алкогольдегидрогеназы ассоциирована с пониженной плотностью межклеточных контактов,

определяемых активностью клаудина, в ответ на активацию процессов детоксикации алкоголя.

Ген, катализирующий деградацию РНК, рибонуклеаза *UK114*, не вошел ни в одну группу.

Большая часть генов в представленных группах выполняют специализированные печеночные функции: участие в регуляции липидного обмена, синтез многих транспортных белков, белков формирования сгустка крови, ферментов детоксикации, энергетического метаболизма. Функция многих из этих генов тесно связана с митохондриями, что может быть обусловлено органоспецифическими особенностями митохондрия печени: до 2 тыс. митохондрий на один гепатоцит (David, 1979).

В результате анализа 25 генов, отнесенных к работе проф. Зао с сотр. к тканеспецифичным для печени и представленных на ДНК микрочипах в наших исследованиях двумя и более пробами, было выделено 3 гена, у которых интенсивность гибридизации разных участков была относительно постоянной (отличалась между разными пробами к одному транскрипту у индивидуальных животных менее чем в 2 раза). Среди них ген катепсин L (*MEP*), который

по уровню экспрессии в наших исследованиях был отнесен к ПГЭ почек. Компонент C1S системы комплемента (C1S) и цитоплазматическая ГМГ-КоА-синтаза (HMGCS1) имели конститутивную экспрессию в печени, но HMGCS1 по интенсивности гибридизации нескольких проб не превзошел порог в 400 с.и., вследствие чего HMGCS1 не может быть отнесен к ПГЭ печени.

Кроме того, в наших исследованиях была выявлена группа из 22 генов, представленных на ДНК микрочипах более чем одной пробой, у которых с.и. существенно отличались между пробами к кДНК одной и той же мРНК. Половина из них (11 генов) характеризовалась воспроизводимостью от животного к животному более чем двукратными различиями по интенсивности гибридизации разных участков кДНК одной мРНК с пробами ДНК микрочипов. То есть у исследованных животных наблюдалось

воспроизводимое участие в гибридизации кДНК транскрипта более чем одного гена. Вторая половина генов этой группы (11 генов) включала транскрипты, гибридизация разных участков которых варьировала у индивидуальных животных. Таким образом, по всем этим генам отчетливо выявлялась перекрестная гибридизация проб к транскриптам разных генов, причем вторая группа генов обнаруживала индивидуальную изменчивость по такой гибридизации.

Сравнительный анализ наших данных и данных, представленных в работе проф. Зао с соавт., позволил получить полные совпадения по органоспецифичному ПГЭ печени свиней только по 27 генам (~27%). Эти 27 генов имели конститутивную экспрессию в печени, превосходящую порог в 400 с.и. у всех исследованных животных (табл. 2). Основные отличия были обусловлены вариабельной частью ПГЭ печени свиней, выявленной нами.

Таблица 2

Список генов, экспрессия которых в наших исследованиях была конститутивна и превосходила порог в 400 с.и.

№	Название гена
1	Стероил КоА десатураза (SCD)
2	Субъединица бета электронпереносающего флавопротеина (ETFB)
3	Предшественник ангиопэтин-подобного белка 4 (ANGPTL4)
4	Митохондриальный предшественник 2,3-транс-еноил-КоА-изомеразы (DCI)
5	Предшественник кортикостероид-связывающего глобулина (CBG)
6	Транспортный белок натрия / таурохолата (SLC10A1)
7	Пальцевый кольцевой белок 170 (RNF170)
8	Фактор пероксисомного биогенеза 1 (PEX1)
9	Кардиолипин синтаза (CRLS1)
10	Нуклеотидсвязывающий гистидинтриадный белок 2 (HINT2)
11	Предшественник маннозосвязывающего белка С (MBP-C)
12	ДОФА-хром-таутомераза (DDT)
13	Предшественник макрофаг-стимулирующего белка (MSP)
14	Предшественник компонента C1S системы комплемента (C1S)
15	Предшественник матриксной металлопротеиназы 19 (MMP-18)
16	NDRG2 белок (NDRG2)
17	Трансмембранная сериновая протеаза I (HPN)
18	Фенилаланин-4-монооксигеназа (PAH)
19	Малеилацетоацетат-изомераза (GSTZ1)
20	Эпоксид гидролаза 2 (EPHX2)
21	Протеин-тирозин-фосфатаза 4 a1 (PRL1)
22	Инициатор ввода в митоз 1 (CDCA3)
23	Предшественник бета-2-гликопротеина-1 (APOH)
24	Предшественник витамин К-зависимого белка С (PROC)
25	Гипоксантин-гуанин фосфорибозилтрансфераза (HPRT1)
26	УДФ-глюкоза-пирофосфорилаза 2 (UGP2)
27	Аланин-глиоксилат аминотрансфераза 2 (AGXT2L1)

Полученные данные свидетельствуют о том, что при анализе органоспецифичных ПГЭ необходимо выделять конститутивную и переменную части, поскольку гены, попадающие в переменную составляющую ПГЭ, отчетливо группируются по функциям и могут отражать отличия между животными по действию экзо- и эндогенных факторов, регулирующих их транскрипцию.

Обращает на себя внимание функциональная близость групп генов, изменчивость которых была скоррелирована у разных животных при сравнении ПГЭ печени и почек у одних и тех же животных в наших исследованиях, а также при сравнении ПГЭ только печени, полученных нами и проф. Зао с соавторами. В обоих случаях к одной из наиболее крупных групп переменных генов в ПГЭ печени относились гены, продукты которых участвуют в формировании сгустка крови.

Следует отметить, что отсутствие полного совпадения между генами, входящими в такие функциональные группы, для которых характерна скоррелированная изменчивость экспрессии у разных животных, может быть обусловлено тем, что биохимические основы формирования каждой функции зависят от генных взаимодействий, образующих общую

функциональную сеть. Структура таких генных сетей может быть достаточно сложной (Sole, Valverde, 2006), и одни и те же органоспецифические функции, отраженные в ПГЭ органа, могут обеспечиваться относительно повышенной экспрессией разных эффекторных генов такой сети (Flori *et al.*, 2009).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в качестве основных причин отличий в ПГЭ одних и тех же органов, получаемых в разных лабораториях на одних и тех же объектах, необходимо выделить возможности перекрестной гибридизации проб с кДНК транскриптами более чем одного гена, а также изменчивость экзо- и эндогенных регуляторных факторов, контролирующих органоспецифичные функции и соответственно приводящих к индивидуальным отличиям животных по экспрессии генов, входящих в соответствующие функциональные сети (в нашем случае 25 генов из 51).

Благодарности

Авторы выражают благодарность проф. Фаренкругу за руководство работой при получении первичных экспериментальных данных по профилям генной экспрессии.

Сокращения, используемые в тексте

- ПГЭ – профиль генной экспрессии;
- с.и. – сигнал интенсивности гибридизации;
- FGB – предшественник α -цепи фибриногена;
- FGG – предшественник γ -цепи фибриногена;
- VTN – предшественник витронектина,
- F2 – предшественник протромбина,
- PLG – предшественник плазминогена,
- PAI2 – ингибитор активатора плазминогена 2;
- АроС3 – предшественник аполипопротеина С3;
- Аро-Е – предшественник аполипопротеина Е,
- АроА-I – предшественник аполипопротеина А-I;
- AGP2 – предшественник α -1-кислого гликопротеина 2;
- PRBP – предшественник плазменного ретинол-связывающего белка;
- FHR2 – фактор дополнения Н-родственного белка 2;
- TMEM8 – трансмембранный белок 8;
- PAI2 – ингибитор активатора плазминогена 2;
- ST7 – ген изоформы b супрессии онкогенности;
- AGAP1 – центаурин-гамма 2;
- NAGA – предшественник α -N- ацетилгалактозаминидазы;

CLU – предшественник кластерина;
 TNFRSF19 – предшественник гена рецептора к фактору некроза опухоли 19;
 PLG – предшественник плазминогена;
 Grin2b – предшественник субъединицы эpsilon 2 глутаматного [MNDА] рецептора;
 KLHL1 – Kelch-like белок 1;
 HAPLN2 – ген гиалурон- и протеогликансвязывающего белка 2;
 AHSГ – предшественник α -2-HS гликопротеина;
 ALR -; TrpRS – триптофанил-тРНК синтетаза;
 АТIII – предшественник антитромбина III;
 TAFI – предшественник карбоксипептидазы В;
 SHAP – предшественник сывороточного гиалуронассоциированного белка;
 TF – предшественник трансферрина;
 MFE-2 – пероксисомный мультифункциональный фермент типа 2;
 HSD17B6 – 3-гидроксистероид эпимераза;
 SYND2 – предшественник синдекана 2;
 IGFBP-2 – предшественник связывающего инсулиноподобного фактора роста (ИФР) 2-го типа;
 SC4MOL – С-4 метилстерол оксидаза;
 SCEH – митохондриальный предшественник еноил-КоА-гидратазы;
 CAT – каталаза;
 PCB – пируват карбоксилаза;
 AT – глицин-аминотрансфераза;
 C1R – компонент C1г системы комплемента;
 CLDN1 – клаудин 1;
 ZADH2 – цинк-связывающая алкоголь дегидрогеназа, содержащая домен с белком 1;
 HMGCS1 – предшественник цитоплазматической ГМГ-КоА-синтазы;
 MEP – катепсин L;
 C1S – C1S-системы комплемента.

Литература

- Глазко В.И., Хлопова Н.С., Глазко Т.Т., Фаренкруг С. Сравнение профилей генной экспрессии в печени и почках свиней (*Sus scrofa*) // Докл. РАСХН. 2010. № 1. С. 34–39.
- Bai Q., McGillivray C., da Costa N. *et al.* Development of a porcine skeletal muscle cDNA microarray: analysis of differential transcript expression in phenotypically distinct muscles // available at <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/4/8>. 2003.
- Cheon Y., Nara T.Y., Band M.R. *et al.* Induction of overlapping genes by fasting and a peroxisome proliferator in pigs: evidence of functional PPARalpha in nonproliferating species // Amer. J. Physiol. 2005. V. 288. № 6. P. 1525–1535.
- David H. Quantitative and qualitative changes in the mitochondria in hepatocytes during postnatal development of male rats // Exp. Pathol. 1979. V. 17. P. 359–373.
- da Costa N., McGillivray C., Bai Q. *et al.* Restriction of dietary energy and protein induces molecular changes in young porcine skeletal muscles // J. Nutrition. 2004. V. 134. № 9. P. 2191–2199.
- Flori L., Fritz S., Jaffrezic F. *et al.* The genome response to artificial selection: A case study in dairy cattle // PLoS ONE. 2009. 4(8): e6595. doi:10.1371/journal.pone.0006595.
- Garbe J.R., Elsik C.G., Antoniou E. *et al.* Development and Application of Bovine and Porcine Oligonucleotide Arrays with Protein-Based Annotation. 2010. available at <http://www.hindawi.com/journals/jbb/2010/453638.html>.
- Glazko T.T., Khlopova N.S., Fahrenkrug S., Glazko V.I. Gene expression profiles in liver and kidney of pig // Izvestia of Timiryazev Academy. Spec. Issue. 2009. P. 55–60.
- Nguyen T.T., Almon R.R., DuBois D.C. *et al.* Importance of replication in analyzing time-series gene expression data: Corticosteroid dynamics and circadian patterns in rat liver. 2011. available at <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/11/279>.
- Okoniewski M.J., Miller C.J. Hybridization interactions between probesets in short oligo microarrays lead to spurious correlations // BMC Bioinformatics. 2006. V. 7. P. 276–290.
- Rijk J.C.W., Peijnenburg A., Hendriksen P.J.M. *et al.* Feasibility of a liver transcriptomics approach to

- assess bovine treatment with the prohormone dehydroepiandrosterone (DHEA) // available at <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/6/44>. 2010.
- Sole R.V., Valverde S. Are network motifs the spandrels of cellular complexity? // *Trends Ecol. Evol.* 2006. V. 21. № 8. P. 419–422.
- Zhao S.H., Recknor J., Lunney J.K. *et al.* Validation of a first-generation long-oligonucleotide microarray for transcriptional profiling in the pig // *Genomics.* 2005. V. 86. № 5. P. 618–625.

CONSTITUTIVE AND VARIABLE COMPONENTS OF GENE EXPRESSION PROFILES IN PIG LIVER

N.S. Khlopova, T.T. Glazko, V.I. Glazko

Russian State Agrarian University–Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia,
e-mail: vglazko@yahoo.com

Summary

Comparative analysis of gene expression profiles (GEPs) was carried out in the liver and kidneys of pigs. Groups of genes with constitutive and variable expression were recognized. It was found that the variable part of GEPs could be subdivided into groups whose genes demonstrated expression level correlations from animal to animal. The dependence of the expression of such gene groups on their involvement in metabolic pathways and on exo- and endogenous regulating factors is discussed, as well as the role of the variable GEP portion in the variation of the results of studies performed in different laboratories with the same objects.

Key words: gene expression, individual variability, cross hybridization, microarrays.