

УДК 577.112.7

Я. Гармаш, асп., Д. Мінченко, наук. співроб.,
А. Харькова, асп., О. Мінченко, проф.
Інститут біохімії НАН України, Київ

ЕКСПРЕСІЯ МРНК G6PD, TALDO1, TKT, PGLS ТА RPIA У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ З ПРИГНІЧЕНОЮ ФУНКЦІЄЮ СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ ERN1 ЗА УМОВ ДЕФІЦИТУ ГЛЮКОЗИ

Оскільки пентозо-фосфатний цикл метаболізму глюкози відіграє важливу роль у рості злоякісних пухлин, нами проведено вивчення експресії генів основних ензимів цього циклу (G6PD, TKT, TALDO1, PGLS та RPIA) на рівні мРНК у клітинах гліоми лінії U87 з пригніченою функцією ERN1 (from endoplasmic reticulum to nuclei-1), основного сенсорно-сигнального ензиму стресу ендоплазматичного ретикулуму, в залежності від рівня глюкози у середовищі вирощування клітин. Встановлено, що рівень експресії генів TALDO1 та PGLS у клітинах гліоми знижувався за умов пригнічення функції сигнального ензиму ERN1, в той час як рівень експресії інших генів пентозо-фосфатного циклу при цьому істотно не змінювався. Також показано, що рівень експресії генів G6PD, TKT та PGLS підвищується, а гена RPIA знижується, у клітинах гліоми за умов дефіциту глюкози, причому виявлені зміни в експресії цих генів залежать від функції сигнального ензиму ERN1. Таким чином, результати даної роботи вказують на те, що у клітинах гліоми лінії U87 за умов пригнічення функції сигнального ензиму ERN1 знижувався рівень експресії лише двох із п'яти досліджених генів пентозо-фосфатного циклу, що за дефіциту глюкози у середовищі вирощування клітин гліоми по-різному змінювався рівень експресії більшості досліджених генів і що ці зміни залежали від опосередкованої ERN1 сигнальної системи стресу ендоплазматичного ретикулуму.

Ключові слова: пентозо-фосфатний цикл, метаболізм глюкози, злоякісні пухлини, експресія генів.

Вступ. Пентозо-фосфатний цикл метаболізму глюкози відіграє важливу роль у регуляції різноманітних процесів в організмі як в нормі, так і за різних патологічних процесів, зокрема у рості злоякісних пухлин, і є залежним від стресу ендоплазматичного ретикулуму [1]. Відомо, що блокада ERN1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулуму, призводить до зниження інтенсивності процесів проліферації клітин та пригнічення росту пухлин через зміни в експресії генів, які відповідають за контроль клітинного циклу, апоптозу, гліколізу і низки інших процесів [2 – 8]. У зв'язку з цим дослідження рівня експресії основних генів, що контролюють пентозо-фосфатний цикл метаболізму глюкози, зокрема G6PD (глюкозо-6-фосфатденгідрогенази), TKT (транскетолази), TALDO1 (трансальдолази 1), PGLS (6-фосфоглюконолактази) та RPIA (рибозо-5-фосфатізомерази) [9 – 11], є досить актуальним. Ці ензими є надзвичайно важливими, оскільки забезпечують утворення пентоз, необхідних для синтезу нуклеїнових кислот, і посилення процесів проліферації та росту пухлин, причому трансальдолаза є ключовим ензимом пентозо-фосфатного шляху і значною мірою контролює баланс метаболітів в ньому [12].

Дефіцит поживних речовин є важливим фактором росту злоякісних пухлин, оскільки він задіяний в індукції стресу ендоплазматичного ретикулуму, а його сигнальні системи змінюють експресію великої кількості генів, в тому числі і генів, що контролюють процеси проліферації та малигізації [13, 14]. Стрес ендоплазматичного ретикулуму є відповіддю на накопичення не згорнутих або не правильно згорнутих протеїнів у ендоплазматичному ретикулумі, що опосередковується трьома сенсорно-сигнальними системами, локалізованими в ендоплазматичному ретикулумі: PERK (PRK-like ER kinase), ERN1 (from endoplasmic reticulum to nuclei-1) та ATF6 (activating transcription factor 6), але ERN1 (від ендоплазматичного ретикулуму до ядра-1) є головним шляхом [15, 16]. Встановлено, що активація стресу ендоплазматичного ретикулуму призупиняє вхід протеїнів, синтезованих *de novo*, до ендоплазматичного ретикулуму і сприяє як фолдингу протеїнів в ендоплазматичному ретикулумі, так і їх деградації, відповідно для виживання клітин або їх смерті через асоційовані із стресом ендоплазматичного ретикулуму механізми [13, 17, 18]. Таким чином, він приймає участь у ранній реакції клітин на акумуляцію у люмені ендоплазматичного ретикулуму не згорнутих або не правильно згорнутих протеїнів як за фізіологічних, так і патологічних умов [13, 14].

Виявлено два різних каталітичних домени у біфункціональному сенсорно-сигнальному ензимі ERN1: серин/треонінова кіназа та ендорибонуклеаза, які опосередковують ERN1 сигналінг. Асоційована з ERN1 кіназна активність аутофосфорилує цей ензим, що є необхідним моментом його димеризації та активації ендорибонуклеазного домену. Останній є відповідальним за деградацію певних мРНК та ініціацію альтернативного сплайсингу пре-XBP1 мРНК [14]. Зрілий сплайс-варіант мРНК XBP1 (XBP1s) кодує синтез транскрипційного фактора, який контролює експресію сотень генів, що мають відношення до стресу ендоплазматичного ретикулуму [7, 17]. Більше того, XBP1s має також ряд додаткових функцій, особливо у регуляції метаболізму глюкози [18, 19]. Так, протеїн-кіназа p38 MAP фосфорилує альтернативний сплайс-варіант XBP1 і посилює його міграцію до ядра. Крім того, регуляторна субодиниця фосфатидилінозитол 3-кінази взаємодіє з XBP1 і також збільшує його ядерну транслокацію [18]. Недавно було показано, що XBP1s взаємодіє з транскрипційним фактором FOXO1 (Forkhead box O1) і направляє його для деградації, опосередкованої протеасомою [19]. В той же час, було встановлено, що інгібітор кінази ERN1 може активувати ендорибонуклеазу цього ензиму, захищаючи клітини від стресу ендоплазматичного ретикулуму. Можливо, що ця активація ендорибонуклеази ERN1 є результатом взаємодії ERN1 сигнального шляху з іншими сенсор-сигнальними системами стресу ендоплазматичного ретикулуму в умовах пригнічення кіназної активності ERN1.

Злоякісні гліоми є надзвичайно агресивними пухлинами і характеризуються вираженим ангиогенезом та посиленою інвазією клітин в нормальну паренхіму мозку [13]. Як гіпоксія, так і чинники, що імітують ефекти ішемії, зокрема дефіцит глюкози, є асоційованими з ростом гліом і локально активують адаптивну відповідь, яка сприяє виживанню пухлинних клітин і посилює їх агресивність [3, 13]. Краще розуміння механізмів залежності клітин від ішемічних чинників є необхідною умовою для розробки терапевтичних стратегій пригнічення росту пухлин шляхом блокади регуляторних механізмів, зокрема шляхом можливого впливу на ключові регуляторні ензими пентозо-фосфатного шляху.

Метою даної роботи було вивчення експресії генів, що кодують синтез ключових ензимів пентозо-фосфатного шляху (G6PD, TKT, TALDO1, PGLS та RPIA) у клітинах гліоми лінії U87 з повним пригніченням функції сенсорно-сигнального ензиму ERN1 (виключені як кіназна, так і ендорибонуклеазна активності) за умов дефі-

циту глюкози у середовищі для вивчення залежності експресії цих генів від функції сенсорно-сигнального ензиму ERN1, ключового у відповіді клітин на стрес ендоплазматичного ретикулулу.

Матеріали та методи. Клітини гліоми лінії U87 були отримані із ATCC (США) і росли у середовищі DMEM (Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium; Gibco, Invitrogen, США) з високою концентрацією глюкози (4,5 г/л), що містило додатково 2 мМ глутаміну, 10% ембріональної сироватки телят (Equitech-Bio, Inc., США), пеніцилін (100 одиниць/мл; Gibco) та стрептоміцин (0,1 мг/мл; Gibco) при 37°C в інкубаторі з 5% CO₂. У цій роботі були використані дві сублінії клітин гліоми. Одну з них було отримано шляхом селекції клонів, стабільно трансфікованих вектором pcDNA3.1, який був використаний для створення домінант-негативних конструкцій, що містили кДНК сенсорно-сигнального ензиму ERN1 без кіназного та ендорибонуклеазного доменів (dnERN1). Сублінія клітин гліоми, трансфікованих вектором була використана в якості контрольних клітин гліоми, що позначені на рисунках як контроль 1. З ним порівнювали ефект дефіциту глюкози, а також ефект пригнічення функції ензиму ERN1, на експресію генів пентозо-фосфатного циклу (*G6PD*, *TALDO1*, *TKT*, *PGLS* та *RPIA*) у цих контрольних клітинах гліоми. Друга сублінія була отримана шляхом селекції клонів, стабільно трансфікованих домінант-негативною конструкцією dnERN1 у векторі pcDNA3.1. У цих клітинах гліоми була повністю пригнічена як кіназна, так і ендорибонуклеазна активності, що було оцінено по пригніченню фосфорилювання ERN1 та утворенню альтернативного сплайс-варіанту XBP1 за умов стресу ендоплазматичного ретикулулу, індукованого тунікамідом (10 мкг/мл – 2 години) у попередній роботі [20]. Ця сублінія клітин була використана як контроль 2 при вивченні ефекту дефіциту глюкози на експресію генів пентозо-фосфатного циклу саме у цих клітинах. Дефіцит глюкози створювали шляхом заміни середовища DMEM з глюкозою на середовище без глюкози (Gibco) і витримували протягом 16 годин.

РНК із клітин гліоми виділяли як описано раніше [20]. Осад РНК промивали 75 % етанолом, розчиняли у воді, вільній від рибонуклеаз, пересаджували етанолом для позбавлення препаратів РНК залишків реагенту Trisol, знову розчиняли у воді і використовували для синтезу комплементарної ДНК.

Рівень експресії генів *G6PD*, *TALDO1*, *TKT*, *PGLS* та *RPIA* у клітинах гліоми визначали методом кількісної полімеразної реакції, використовуючи набір реагентів SYBRGreen Mix (AB gene, Велика Британія) та апарат "Mx 3000P QPCR" (Stratagene, США). Синтез кДНК проводили за допомогою QuantiTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN, Німеччина) згідно протоколу виробника. Для ампліфікації кДНК *G6PD* (glucose-6-phosphate dehydrogenase) були використані такі праймери: прямий (5'-GAGGCCGTGTACACCAAGAT-3' та зворотний (5'-TACCCAAGGCCGTACTTGTC-3'). Нуклеотидні послідовності цих праймерів відповідають послідовності 1430 – 1439 та 1644 – 1625 кДНК *G6PD* людини (GenBank номер NM_000402). Розмір ампліфікованого фрагмента 215 п.н.з. Ампліфікацію кДНК *TKT* (transketolase) проводили за допомогою прямого (5'-

GACAACCTTGTGGCCATTCT-3') та зворотного (5'-TCTGCTCAGCCATGTTTTTG-3') праймерів, які відповідають послідовності 1530 – 1549 та 1834 – 1815 кДНК *TKT* людини (GenBank номер NM_001064). Розмір ампліфікованого фрагмента 283 п.н.з. Для ампліфікації кДНК *TALDO1* (transaldolase 1) були використані такі праймери: прямий (5'-GGCTGTGACTTCCTCACCAT-3' та зворотний (5'-CTCAGGGATGCGCTACTTTC-3'). Нуклеотидні послідовності цих праймерів відповідають послідовності 795 – 814 та 1076 – 1057 кДНК *TALDO1* людини (GenBank номер NM_006755). Розмір ампліфікованого фрагмента 282 п.н.з. Ампліфікацію кДНК *PGLS* (6-phosphogluconolactonase, 6PGL) проводили за допомогою прямого 5'-CTGCTCACTCTTCCCAGACC-3' та зворотного (5'-TCCAGTTGCCACAAAGATGA-3') праймерів, які відповідають послідовності 515 – 534 та 665 – 646 кДНК *PGLS* людини (GenBank номер NM_012088). Розмір ампліфікованого фрагмента 151 п.н.з. Для ампліфікації кДНК *RPIA* (5-phosphate isomerase A) були використані такі праймери: прямий – 5'-AGTGCTGGGAATTGGAAGTG-3' та зворотний – 5'-CGATCACGATGAAGCGACTA-3'. Нуклеотидні послідовності цих праймерів відповідають послідовності 335 – 354 та 627 – 608 кДНК *RPIA* людини (GenBank номер NM_144563). Розмір ампліфікованого фрагмента 293 п.н.з. Ампліфікацію кДНК бета-актину (*ACTB*) проводили за допомогою прямого – 5'-GGACTTCGAGCAAGAGATGG-3' та зворотного – 5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3' праймерів. Нуклеотидні послідовності цих праймерів відповідають послідовності 747 – 766 та 980 – 961 кДНК *ACTB* людини (GenBank номер NM_001101). Розмір ампліфікованого фрагмента 234 п.н.з. По рівню експресії мРНК бета-актину оцінювали кількість РНК, взятої для аналізу. Праймери були отримані з компанії "Sigma-Aldrich" (США).

Аналіз результатів дослідження експресії генів *G6PD*, *TALDO1*, *TKT*, *PGLS* та *RPIA* виконували з допомогою спеціальної комп'ютерної програми "Differential expression calculator" а статистичний аналіз – з використанням програмного забезпечення OriginPro 7.5. Значення експресії генів *PLK1*, *PLK2*, *PLK3* та *PLK4* нормалізували по рівню експресії бета-актину і представляли у відсотках від контролю (100 %). Представлені середні значення $\pm m$ чотирьох незалежних експериментів.

Результати дослідження та їх обговорення. Як видно із даних, приведених на рис. 1А, пригнічення функції кіназної та ендорибонуклеазної активностей сенсорно-сигнального ензиму ERN1, основного сигнального шляху стресу ендоплазматичного ретикулулу, знижує у клітинах гліоми лінії U87 рівень експресії таких генів пентозо-фосфатного циклу як *TALDO1* та *PGLS*, у порівнянні з контрольними клітинами гліоми, трансфікованими вектором pcDNA3.1 (рис. 1А). Разом з тим, рівень експресії генів *G6PD*, *TKT* та *RPIA* істотно не залежить від функції сигнального ензиму ERN1, оскільки за умов пригнічення активності сигнального ензиму ERN1 істотних змін у рівнях експресії всіх цих генів не було виявлено (рис. 1А).

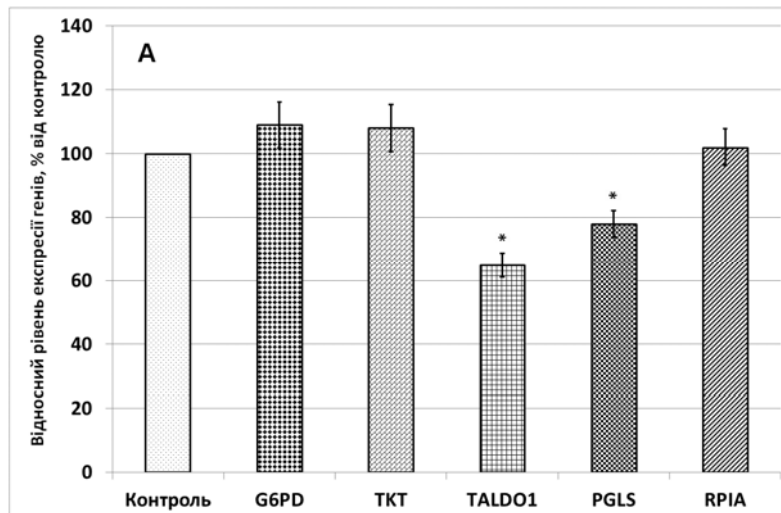


Рис. 1А

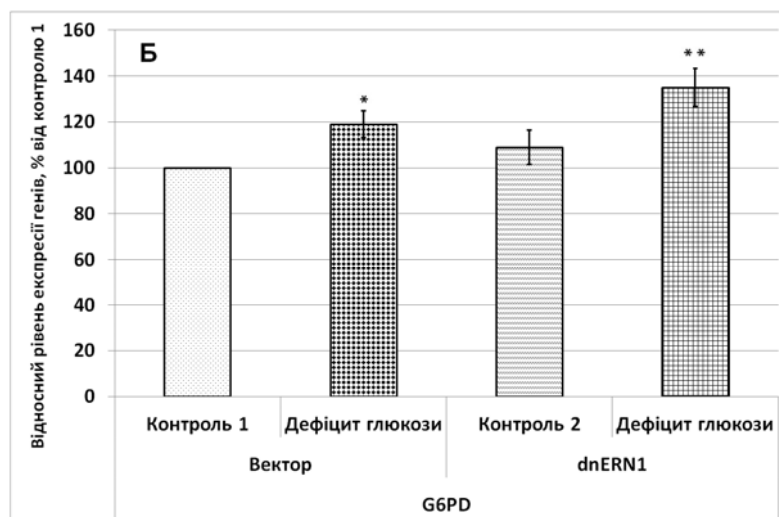


Рис. 1Б

Рис. 1. Відносний рівень експресії генів *G6PD*, *TALDO1*, *TKT*, *PGLS* та *RPIA* у клітинах гліоми лінії U87, стабільно трансфікованих домінант-негативною конструкцією ензиму ERN1 (dnERN1) на основі вектору pcDNA3.1 та клітин, трансфікованих вектором pcDNA3.1 (Контроль) (А), а також гена *G6PD* (glucose-6-phosphate dehydrogenase) за умов дефіциту глюкози у середовищі (Б) по даним кількісної полімеразної ланцюгової реакції. Величину рівня експресії цих мРНК нормалізували по експресії мРНК бета-актину і порівнювали з контролем, який був прийнятим за 100 %; $n = 4$; * – $P < 0,05$ при порівнянні з контролем 1; ** – $P < 0,05$ при порівнянні з контролем 2

Таким чином, зменшення рівня експресії генів *TALDO1* та *PGLS*, а особливо гена *TALDO1*, як ключового гена пентозо-фосфатного циклу, за умов виключення функції сенсорно-сигнального ензиму ERN1 може призводити до зниження інтенсивності синтезу рибози і, відповідно, нуклеотидів, і може бути причетним до пригнічення процесів проліферації клітин гліоми без функціонального ERN1 [4, 5, 7, 8].

На рис. 1А представлені результати дослідження впливу дефіциту глюкози на рівень експресії гена *G6PD* у контрольних клітинах гліоми та в клітинах з повним

пригніченням функції сенсорно-сигнального ензиму ERN1. Встановлено, що дефіцит глюкози у середовищі призводить до посилення експресії цього гена у контрольних клітинах гліоми на 19 % у порівнянні з контролем 1, а у клітинах з пригніченою функцією сигнального ензиму ERN1 ефект дефіциту глюкози на рівень експресії цього гена був дещо більшим (+ 24 %). Аналогічні дані були отримані при вивченні дії дефіциту глюкози на рівень експресії іншого гена пентозо-фосфатного циклу – *TKT* (рис. 2А).

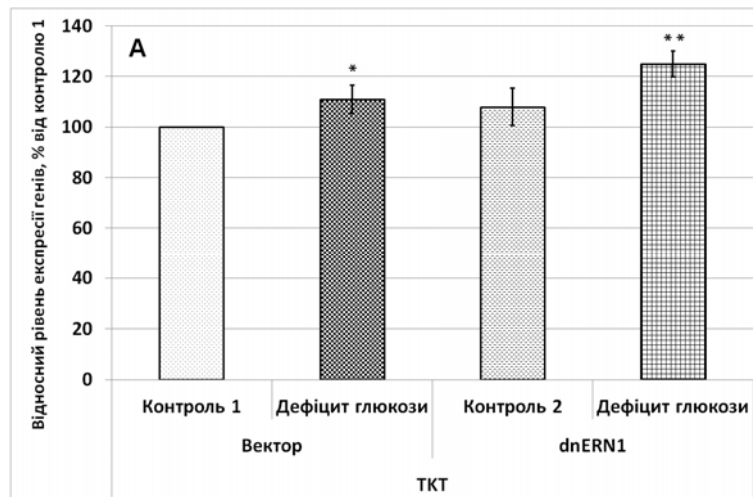


Рис. 2А

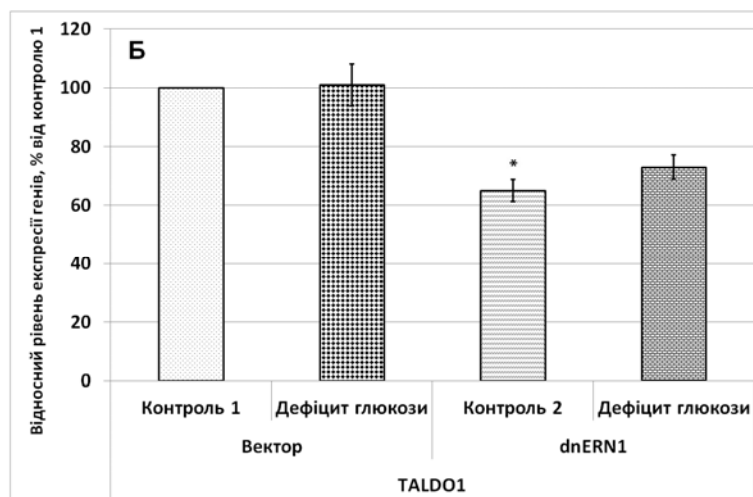


Рис. 2Б

Рис. 2. Відносний рівень експресії генів TKT (transketolase) та TALDO1 (transaldolase; Б) у клітинах гліоми лінії U87, трансфікованих вектором рсDNA3.1 (Контроль) та клітин, стабільно трансфікованих домінант-негативною конструкцією ензиму ERN1 (dnERN1) за умов дефіциту глюкози у середовищі по даним кількісної полімеразної ланцюгової реакції, де TKT (А), а TALDO1 (Б). Величину рівня експресії цих мРНК нормалізували по експресії мРНК бета-актину і порівнювали з контролем, який був прийнятим за 100 %; n = 4; * – P < 0,05 при порівнянні з контролем 1; ** – P < 0,05 при порівнянні з контролем 2

Так, за умов дефіциту глюкози у середовищі спостерігається зростання рівня експресії цього гена у контрольних клітинах гліоми на 11 % у порівнянні з контролем 1, в той час як у клітинах з пригніченою функцією сигнального ензиму ERN1 ефект дефіциту глюкози на рівень експресії цього гена був також більшим (+ 16 %), що переконливо свідчить про залежність регуляції експресії цих генів концентрацією глюкози у середовищі від функції сигнального ензиму ERN1.

Дослідження гена експресії гена *TALDO1* у клітинах гліоми за умов дефіциту глюкози показало, що рівень його експресії за цих експериментальних умов істотно не змінюється (рис. 2Б), що може вказувати на важливість цього ензиму у функціонуванні пентозо-фосфатного шляху не лише як джерела рибозо-5-фосфату і нуклеотидів, а і для підтримання рівня

NADPH, необхідного для синтезу ліпідів, а також відновленого глутатіону для захисту сульфгідрильних груп і цілісності клітин від оксидативного стресу. На рис. 3А представлені результати дослідження впливу дефіциту глюкози на рівень експресії гена *PGLS* у контрольних клітинах гліоми та в клітинах з повним пригніченням функції сенсорно-сигнального ензиму ERN1. Встановлено, що дефіцит глюкози у середовищі призводить до збільшення рівня експресії цього гена у контрольних клітинах гліоми на 16 % у порівнянні з контролем 1, а у клітинах з пригніченою функцією сигнального ензиму ERN1 ефект дефіциту глюкози на рівень експресії цього гена був значно більшим. Так, за умов пригнічення функції сигнального ензиму ERN1 рівень експресії гена *PGLS* у клітинах гліоми збільшувався на 37 % (рис. 3А).

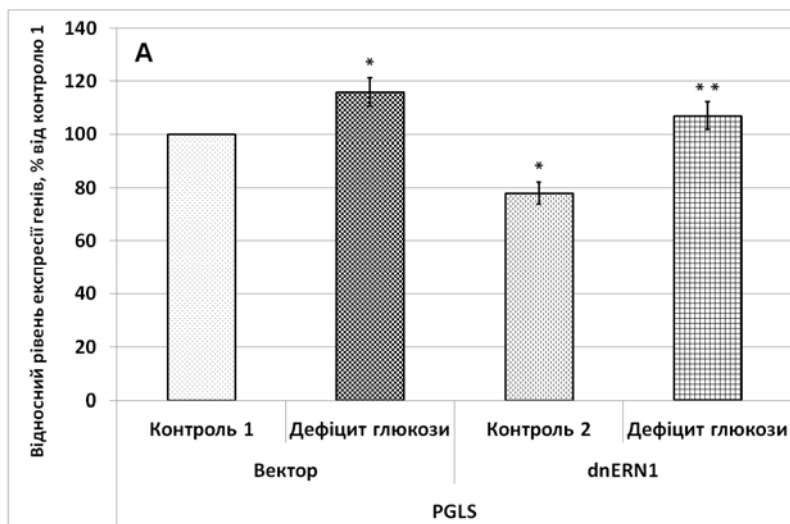


Рис. 3А

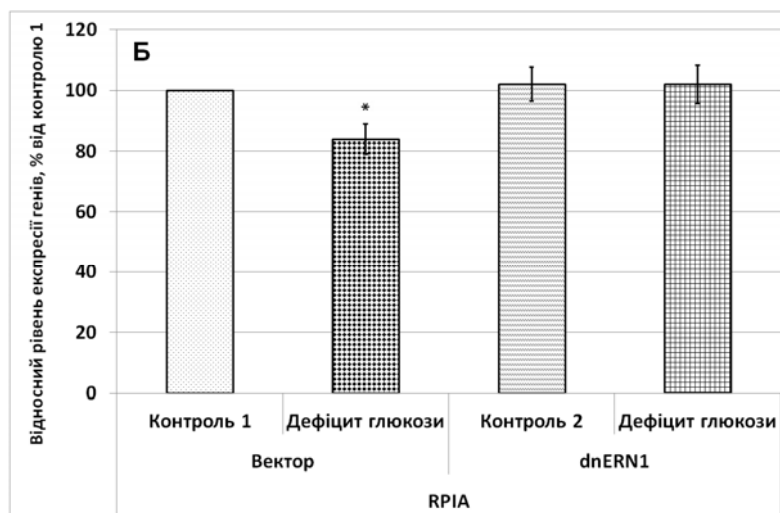


Рис. 3Б

Рис. 3. Відносний рівень експресії генів PGLS (6-phosphogluconolactonase; А) та RPIA (5-phosphate isomerase А; Б) у клітинах гліоми лінії U87, трансфікованих вектором pcDNA3.1 (Контроль) та клітин, стабільно трансфікованих домінант-негативною конструкцією ензиму ERN1 (dnERN1) за умов дефіциту глюкози у середовищі по даним кількісної полімеразної ланцюгової реакції, де PGLS (А), а RPIA (Б). Величину рівня експресії цих мРНК нормалізували по експресії мРНК бета-актину і порівнювали з контролем, який був прийнятим за 100 %; n = 4; * – P < 0,05 при порівнянні з контролем 1; ** – P < 0,05 при порівнянні з контролем 2

Разом з тим, серед досліджених генів пентозо-фосфатного шляху метаболізму глюкози був виявлений ген, рівень експресії якого знижувався у клітинах гліоми, але лише у тих клітинах, що мали нативний ERN1 (рис. 3Б). Це ген рибозо-5-фосфатізомерази (RPIA), причому у клітинах гліоми з пригніченою функцією ензиму ERN1 рівень його експресії істотно не змінювався за умов відсутності у середовищі глюкози у порівнянні з контролем 2. Ці дані свідчать про різно-направлений характер змін рівня експресії генів пентозо-фосфатного шляху за умов дефіциту глюкози, хоча рівень експресії гена ключового ензиму цього шляху, трансальдолази 1, при цьому істотно не змінюється. Враховуючи дані про те, що гіпоксія і ішемія є важливими чинниками росту злоякісних пухлин [3, 4, 7], посилення експресії частини генів пентозо-фосфатного шляху за умов дефіциту глюкози може в деякій мірі пояснити ефект ішемії.

Таким чином, результати цих досліджень вказують на залежність експресії частини генів пентозо-фосфатного шляху метаболізму глюкози у клітинах гліоми лінії U87 від функціональної активності ERN1, основного сигнального ензиму стресу ендоплазматичного ретикулуму, а також чутливість їх експресії до дефіциту глюкози у середовищі, причому ефект дефіциту глюкози на рівень експресії більшості досліджених генів змінювався у клітинах гліоми з пригніченою функцією сигнального ензиму ERN1. Більше того, зниження рівня експресії генів *TALDO1* та *PGLS* у клітинах гліоми з виключеною функцією сигнального ензиму ERN1 повністю узгоджується з пригніченням росту пухлин з цих клітин *in vivo* [4, 7, 8], оскільки посилення експресії генів пентозо-фосфатного шляху метаболізму глюкози корелює з посиленою проліферацією клітин.

Висновки

1. Встановлено, що пригнічення функцій біфункціонального сенсорно-сигнального ензиму ERN1 (від ендоплазматичного ретикулу до ядра-1), який є основною сигнальною системою стресу ендоплазматичного ретикулу, зменшує рівень експресії генів пентозо-фосфатного циклу *TALDO1* та *PGLS* у клітинах гліоми лінії U87, але при цьому рівень експресії генів *G6PD*, *TKT* та *RPIA* істотним чином не змінюється.

2. Показано, що рівень експресії генів *G6PD*, *TKT* та *PGLS* збільшується у клітинах гліоми за умов дефіциту глюкози у середовищі і залежить від функції сигнального ензиму ERN1.

3. Показано, що рівень експресії гена *TALDO1*, ключового гена пентозо-фосфатного циклу, істотно не змінюється за умов дефіциту глюкози у середовищі в обох типах клітин гліоми, а гена *RPIA* – знижується, але лише у контрольних клітинах гліоми.

4. Результати досліджень свідчать про залежність експресії частини ключових генів пентозо-фосфатного циклу від функції сигнального ензиму ERN1, а також від рівня глюкози у середовищі, причому сигнальний ензим стресу ендоплазматичного ретикулу ERN1 змінює ефект глюкози на експресію більшості цих генів.

Список використаних джерел

1. Minchenko D.O., Garmash I.A., Bashta Y.M. et al. // *Int. J. Genomic Med.* – 2013. – Vol. 1, N 1. – P. 104 (1-5).
2. Minchenko D., Hubenya O., Terletsky B. et al. // *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska.* – 2010. – 23, N 3. – P. 179-184.

3. Drogat B., Auguste P., Nguyen D.T. et al. // *Cancer Res.* – 2007. – 67. – P. 6700 – 6707.
4. Auf G., Jabouille A., Guérit S. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010. – 107, N 35. – P. 1555 – 15558.
5. Minchenko D.O., Karbovskiy L.L., Danilovskiy S.V. et al. // *Nat. Sci.* – 2012. – 4, N 1. – P. 38-46.
6. Minchenko D.O., Karbovskiy L.L., Danilovskiy S. V. et al. // *Am. J. Mol. Biol.* – 2012. – 2, N 1. – P. 21-31.
7. Minchenko O.H., Kubaichuk K.I., Minchenko D.O., Kovalevska O.V., Kulnich A.O., Lypova N.M. Molecular mechanisms of ERN1-mediated angiogenesis. *Int. J. Physiol. Pathophysiol.* – 2014. – 5, N 1. – P. 1-22.
8. Auf G., Jabouille A., Delugin M. et al. // *BMC Cancer.* – 2013. – 13, N 1. – P. 597.
9. Pan S., World C.J., Kovacs C.J., Berk B.C. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2009. – 29, N 6. – P. 895-901.
10. Wamelink M.M., Struys E.A., Jakobs C. // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2008. – 31, N 6. – P. 703-717.
11. Berry G.T. // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2008. – 31, N 6. – P. 661.
12. Basu R., Barosa C., Basu A. et al. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2011. – 300, N 2. – P. E296-E303.
13. Moenner M., Pluquet O., Bouhecaille M., Chevet E. // *Cancer Res.* 2007. – 67, N 22. – P. 10631 – 10634.
14. Zhang K., Kaufman R.J. // *J. Biol. Chem.* – 2004. 279, N 25. – P. 25935 – 25938.
15. Aragón T., van Anken E., Pincus D. et al. // *Nature.* – 2009. – 457, N 7230. – P. 736 – 740.
16. Fels D.R., Koumenis C. // *Cancer Biology & Therapy.* – 2006. – 5, N 7. – P. 723 – 728.
17. Hollien J., Lin J.H., Li H. et al. // *J. Cell. Biol.* – 2009. – 186, N 3. – P. 323 – 331.
18. Lee J., Sun C., Zhou Y. et al. // *Nature Medicine.* – 2011. – 17, N 10. – P. 1251 – 1260.
19. Zhou Y., Lee J., Reno C.M. et al. // *Nature Medicine.* – 2011. – 17, N 3. – P. 356 – 365.
20. Minchenko D.O., Kubaichuk K.I., Hubenya O.V. et al. *Adv. Biol. Chem.* – 2011. – 2, N 2. – P. 198 – 206.

Надійшла до редколегії 17.04.14.

Я. Гармаш, асп., Д. Минченко. науч. сотр., А. Харькова. асп., А. Минченко. проф.
Институт биохимии НАН Украины, Киев

ЭКСПРЕССИЯ мРНК G6PD, TALDO1, TKT, PGLS И RPIA В КЛЕТКАХ ГЛИОМЫ С ПОДАВЛЕННОЙ ФУНКЦИЕЙ СИГНАЛЬНОГО ЭНЗИМА ERN1 В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ГЛЮКОЗЫ

Поскольку пентозо-фосфатный цикл метаболизма глюкозы играет важную роль в росте злокачественных опухолей, нами проведено изучение экспрессии генов основных ферментов этого цикла (*G6PD*, *TKT*, *TALDO1*, *PGLS* и *RPIA*) на уровне мРНК в клетках глиомы линии U87 с подавленной функцией ERN1 (from endoplasmic reticulum to nuclei -1), основного сенсорно-сигнального фермента стресса эндоплазматического ретикула, в зависимости от уровня глюкозы в среде выращивания клеток. Установлено, что уровень экспрессии генов *TALDO1* и *PGLS* в клетках глиомы снижался в условиях угнетения функции сигнального фермента ERN1, в то время как уровень экспрессии других генов пентозо-фосфатного цикла при этом существенно не менялся. Также показано, что уровень экспрессии генов *G6PD*, *TKT* и *PGLS* повышается, а гена *RPIA* снижается в клетках глиомы в условиях дефицита глюкозы, причем обнаружены изменения в экспрессии этих генов зависят от функции сигнального фермента ERN1. Таким образом, результаты данной работы указывают на то, что в клетках глиомы линии U87 в условиях угнетения функции сигнального фермента ERN1 снижался уровень экспрессии только двух из пяти исследованных генов пентозо-фосфатного цикла, что при дефиците глюкозы в среде выращивания клеток глиомы по-разному менялся уровень экспрессии большинства исследованных генов и эти изменения зависели от опосредованной ERN1 сигнальной системы стресса эндоплазматического ретикула.

Ключевые слова: пентозо-фосфатный цикл, метаболизм глюкозы, злокачественные опухоли, экспрессия генов.

I. Garmash, PhD stud., D. Minchenko, research., A. Kharkova, PhD stud., O. Minchenko, prof.
Palladin institute of biochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine NASU

EXPRESSION OF G6PD, TALDO1, TKT, PGLS AND RPIA MRNA IN GLIOMA CELLS WITH BLOCKADE OF ERN1 SIGNALING ENZYME FUNCTION IN GLUCOSE DEPRIVATION CONDITION

Pentose-phosphate cycle of glucose metabolism plays an important role in tumor growth. We studied the gene expressions at mRNA level of basic enzymes of this cycle (*G6PD*, *TKT*, *TALDO1*, *PGLS* and *RPIA*) in U87 glioma cells with suppressed function of ERN1 (from endoplasmic reticulum to nuclei-1), the major sensor and signaling enzyme of endoplasmic reticulum stress, upon glucose level in the growing medium. It was shown that the level of *TALDO1* and *PGLS* gene expressions in glioma cells is significantly decreased upon suppression of ERN1 signaling enzyme function. At the same time, the expression level of other genes of pentose-phosphate cycle did not change significantly. It was also shown that the expression level of *G6PD*, *TKT* and *PGLS* genes is increased, but *RPIA* gene is decreased in glioma cells upon glucose deprivation. Moreover, the changes in the expression level of these genes is dependent upon ERN1 signaling enzyme function. Thus, these results demonstrate that in glioma cells upon suppression of ERN1 signaling enzyme function is decreased the expression level of only two from five studied genes of pentose-phosphate cycle and that glucose deprivation conditions is induced in glioma cells variable changes in the expression of most investigated genes in dependence from ERN1 signaling enzyme function.

Key words: Pentose-phosphate cycle, glucose metabolism, gene expressions, tumor growth.