

ПРОТЕОМИКА

УДК 577.122: 616.65-006-07

©Коллектив авторов

ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКА DJ-1 ПРИ РАКЕ ПРОСТАТЫ В ОБРАЗЦАХ ТКАНЕЙ, В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ И В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ

*К.В. Лисицкая¹, Л.С. Еремина¹, А.В. Иванов¹, М.А. Ковалева¹, В.Е. Охриц²,
И.Ю. Торопыгин³, Л.И. Ковалев¹, С.С. Шишкин^{1*}*

¹Учреждение Российской академии наук Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН,
119071 Москва, Ленинский пр., д. 33, стр. 2, тел.: (495) 952-58-86;
эл. почта: shishkin@inbi.ras.ru

²Российская медицинская академия последипломного образования,
123995 Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

³Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский
институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН,
119121 Москва, ул. Погодинская, д. 10

При протеомном исследовании образцов тканей простаты, полученных от пациентов с раком (РПЖ) и доброкачественной гиперплазией (ДГПЖ) белок Dj-1 обнаружен в виде двух электрофоретических изоформ. В клеточных линиях PC-3, DU-145, LNCaP и VPH-1 белок Dj-1 также идентифицирован, при этом его наименьшее содержание оказалось в клетках VPH-1, моделирующих ДГПЖ. Иммуноферментное изучение содержания белков Dj-1, Vcl-2, IGF-1 и IGFBP-3 в образцах сыворотки крови выявило статистически достоверные различия между группами больных РПЖ и ДГПЖ ($p=0,004$, критерий Уилкоксона-Манна-Уитни) только для белка Dj-1. Таким образом, белок Dj-1 представляется перспективным биомаркером РПЖ.

Ключевые слова: Dj-1, рак предстательной железы, двумерный электрофорез, иммуноферментный анализ.

ВВЕДЕНИЕ. Белок Dj-1 был описан в 1997 г. как продукт онкогена *DJI* [1]. Начиная с 2001 г. накапливаются данные об участии данного белка в патогенезе опухолевых заболеваний и его ценности как потенциального онкомаркера [2-4]. Установлено, что белок Dj-1 присутствует в клетках многих злокачественных опухолей и играет роль в повышении клеточной пролиферации и устойчивости опухолевых клеток к апоптозу [3-5]. В частности, данный белок обнаружен в клетках предстательной железы [3, 6, 7], причем при раке предстательной железы (РПЖ) экспрессия Dj-1 значительно выше, чем в норме и при доброкачественной гиперплазии (ДГПЖ) [3]. Принципиальное значение для исследований белка Dj-1

* - адресат для переписки

ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКА Dj-1 ПРИ РАКЕ ПРОСТАТЫ

как потенциального онкомаркера имеют данные о том, что этот белок секретируется в различные биологические жидкости и, в частности, присутствует в сыворотке крови [2, 8, 9]. К настоящему времени отсутствуют данные об уровнях белка Dj-1 в крови пациентов с РПЖ и ДГПЖ.

В результате сравнительных протеомных исследований образцов тканей простаты пациентов с РПЖ и ДГПЖ, а также нескольких клеточных линий были идентифицированы две изоформы белка Dj-1 и выявлены существенные количественные различия его содержания в проанализированных тканях и клетках. Параллельно с помощью иммуноферментного анализа было проведено пилотное исследование уровней Dj-1 и трех других потенциальных онкомаркеров (Bcl-2, IGF-1 и IGFBP-3) в сыворотке крови больных РПЖ и ДГПЖ.

МЕТОДИКА. Биоматериалы – биоптаты и операционный материал тканей простаты (РПЖ n=56; ДГПЖ n=35), а также образцы сыворотки крови пациентов (РПЖ n=34; ДГПЖ n=28) – были предоставлены сотрудниками отделения урологии Городской клинической больницы им. С.П. Боткина. Диагностику заболеваний осуществляли с использованием принятых клинических, гистологических и иммунохимических (определение уровня ПСА) методов. Проводившаяся с целью гистологической верификации диагноза трансректальная мультифокальная пункционная биопсия выполнялась под контролем трансректальной ультрасонографии и обеспечивала получение от одного пациента до 18 образцов тканей из различных зон простаты [10, 11]. Гистологически все случаи рака простаты были охарактеризованы как аденокарцинома. Стадия рака по Глиссону определялась по общепринятой методике [10, 11].

Кроме того, исследовали белки клеточных культур PC-3 (ACC 465), DU-145 (ACC 261), VPH-1 (ACC 143), приобретенных в German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (Германия), а также культивируемых клеток линии LNCaP, образцы которой были получены от д.б.н. И.Г. Шемякина (ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, г. Оболensk). Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением Hepes, пирувата натрия, гентамицина и 20% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС), как описано ранее [12]. Выращивание клеток производилось с использованием культурального пластика (“Costar”, США и “Nunc”, Дания) в CO₂-инкубаторе (“Sanyo”, Япония).

Приготовление белковых экстрактов, их фракционирование методом двумерного электрофореза по О’Фарреллу, визуализацию белков окрашиванием кумасси голубым R-250 и азотнокислым серебром и анализ полученных двумерных электрофореграмм (ДЭ) выполняли как описано ранее [13, 14]. При исследовании каждого биоптата было получено не менее трёх ДЭ, а при изучении белков клеточных линий – не менее 10 для каждой. Идентификацию белков методами MALDI-TOF MS и MS/MS масс-спектрометрии проводили на MALDI-времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex (“Bruker”, Германия) с УФ-лазером (336 нм) в режиме положительных ионов в диапазоне масс 500-8000 Да с калибровкой их по известным пикам аутолиза трипсина [13, 14]. Для определения молекулярных масс белковых фракций использовали наборы высокоочищенных рекомбинантных белков: “SM0661”, (10-200 кДа); “SM0671”, (10-170 кДа); (“Fermentas”, США). Денситометрию ДЭ и/или их отдельных фрагментов проводили после сканирования (сканер “Epson expression 1680”) или съёмки на цифровую фотокамеру (Nikon 2500 или Canon PowerShot A1000 IS). Компьютерную обработку полученных изображений с денситометрией белковых фракций осуществляли с помощью пакета программ Melanie ImageMaster, версий 6 и 7 (“Genebio”, Швейцария); этот компьютерный анализ включал попарное сравнение центральных участков электрофореграмм (зон расположения трансгелинов и белка Dj-1) образцов с РПЖ и ДГПЖ от одного и того же пациента для выявления количественных различий между ними.

Иммуноферментный анализ для определения концентрации исследуемых белков в сыворотке крови проводился с использованием наборов: Human Dj-1/PARK7 ELISA kit и Human Bcl-2 ELISA kit (“Abnova”), Human IGF-1 ELISA kit

и Human IGFBP-3 ELISA kit (“Immunodiagnostic Systems”). Тесты выполняли в 96-луночных планшетах в соответствии с протоколами фирм – производителей, интенсивность окраски в пробах измеряли с помощью планшетного ридера Multiscan ascent (“ThermoElectron”, США).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов программ BIOSTAT и Microsoft Office Excel 2003. Для сравнения количественных признаков в двух независимых группах применяли непараметрический критерий Уилкоксона-Манна-Уитни [15]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. На типичных ДЭ белков из образцов тканей РПЖ и ДГПЖ, а также из культивируемых клеточных линий при окраске азотнокислым серебром регистрировалось 550-600 фракций, распределявшихся в диапазоне Мм от 200 до 10 кДа и pI от 4,5 до 11,0. На рисунке 1 в качестве примера приведены ДЭ белков из биоптатов тканей РПЖ (А), из клеток линий РС-3 (Б) и ВРН-1 (В). При сравнении центральных областей этих ДЭ, где ранее было идентифицировано несколько изоформ трансгелина 1 [16], выявляется принципиальное различие между биопсийными материалами и культивируемыми клетками. В частности, на ДЭ белков культивируемых раковых клеток отсутствовали четыре мажорных белковых фракции (изоформы трансгелина 1), характерные для протеомного профиля биоптатов (рис. 1). Вместе с тем, в указанных областях ДЭ изучавшихся объектов были идентифицированы следующие белки: трансгелин 2 (Tgn2), митохондриальная супероксиддисмутаза (SOD2), пероксиредоксин 1 (PRDX1), а также белок Dj-1 (рис. 2). При РПЖ белок Dj-1 присутствовал в виде двух электрофоретических фракций, различающихся по количеству и по значениям pI (примерно на 0,13 еД рН). Для большей по размерам фракции Dj-1 покрытие аминокислотной последовательности выявленными триптических пептидами составило 70,4%, а для меньшей – 39,0% (рис. 3Б). Большую фракцию оценили как основную изоформу, а меньшую – как дополнительную электрофоретическую изоформу, которую обозначили как Dj-1-ei. На рисунке 3А представлен масс-спектр, полученный при анализе основной фракции белка Dj-1. В литературе имеется сообщение об обнаружении протеомными методами нескольких изоформ белка Dj-1 при раке молочной железы [2]. Сведения о наличии изоформ белка Dj-1 в клетках простаты отсутствуют, но по информации, приведенной в базе данных Swiss-Prot (запись Q99497), этот белок может подвергаться определенным посттрансляционным модификациям (фосфорилирование по Tyr67, сульфенирование по Cys106, ацетилирование по Lys148). Указанные модификации могут приводить к образованию электрофоретических изоформ с pI, меньшими, чем у основной изоформы. Таким образом, выявленная в данной работе изоформа Dj-1-ei, возможно, представляет собой продукт посттрансляционной модификации белка Dj-1, присутствующий в ткани простаты.

При сравнительной денситометрии и компьютерном анализе количественного содержания основной изоформы Dj-1 на ДЭ белков четырех линий культивируемых клеток выявлено, что минимальный уровень Dj-1 наблюдался в клетках линии ВРН-1, моделирующей доброкачественную гиперплазию. В раковых клеточных линиях содержание белка Dj-1 было в 3-5 раз выше.

При сравнительном изучении содержания белка Dj-1 в биоптатах для нивелирования возможных межиндивидуальных различий анализировались образцы тканей РПЖ и ДГПЖ, полученных из разных участков предстательной железы одного и того же пациента. По результатам количественной денситометрии средний уровень белка Dj-1 в биоптатах с аденокарциномой в 5-10 раз превосходил содержание этого белка в образцах с гиперплазией. В качестве примера на рисунке 4 представлены фрагменты ДЭ белков раковых и гиперплазийных тканей, полученных от трёх пациентов.

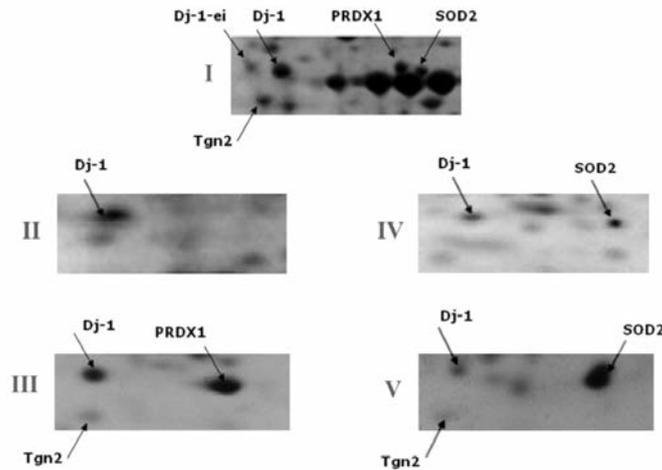
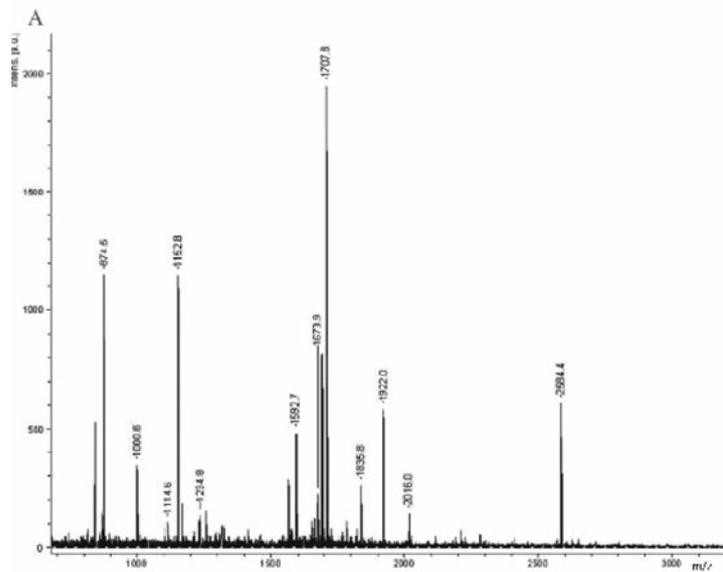


Рисунок 2.

Участки, соответствующие зоне расположения изоформ трансгелина 1 на ДЭ биоптатов тканей простаты пациентов с РПЖ (I), клеточных линий DU145 (II), PC-3 (III), LNCaP (IV) и VPRH-1 (V).

Окраска азотнокислым серебром. Стрелками показаны идентифицированные белки: две фракции белка Dj-1 (Dj-1 и Dj-1-ei), митохондриальная супероксиддисмутаза (SOD2), пероксиредоксин (PRDX1) и трансгелин 2 (Tgn2).



I

```

001 maskRALVIL AKGAEMETV IPVDVMRRag ikVTVAGLAG KdpvqcsrDV
051 VICPDASLED AKKEGPDVIV VLPGGNLGAQ NLSESAAVKE ILKEQENRkg
101 liaaicagpt allaheigfg skVTTHPLAK DKMMNGGHYT YSENRvekDG
151 LILTSRGPCT SFEFALAIVE ALNGKevaaq vkaplvlkd
    
```

II

```

001 maskralvil akGAEMETV IPVDVMRrag ikvtvaglag kdpvqcsrdv
051 vicpdasled akkEGPDVIV VLPGGNLGAQ NLSESAAVKE ilkeqenrkg
101 liaaicagpt allaheigfg skvtthplak DKMMNGGHYT YSENRvekdg
151 LILTSRGPCT SFEFALAIVE ALNGKevaaq vkaplvlkd
    
```

Рисунок 3.

Результаты идентификации белка Dj-1. (А) - масс-спектр, полученный при идентификации белка Dj-1 методом MALDI-TOF-MS. (Б) - результаты масс-спектрометрической идентификации белка Dj-1 и его дополнительной электрофоретической фракции Dj-1-ei; прописными буквами и жирным шрифтом показаны выявленные триптические пептиды для фракций Dj-1 (I) и Dj-1-ei (II), покрывающие известную аминокислотную последовательность белка Dj-1.

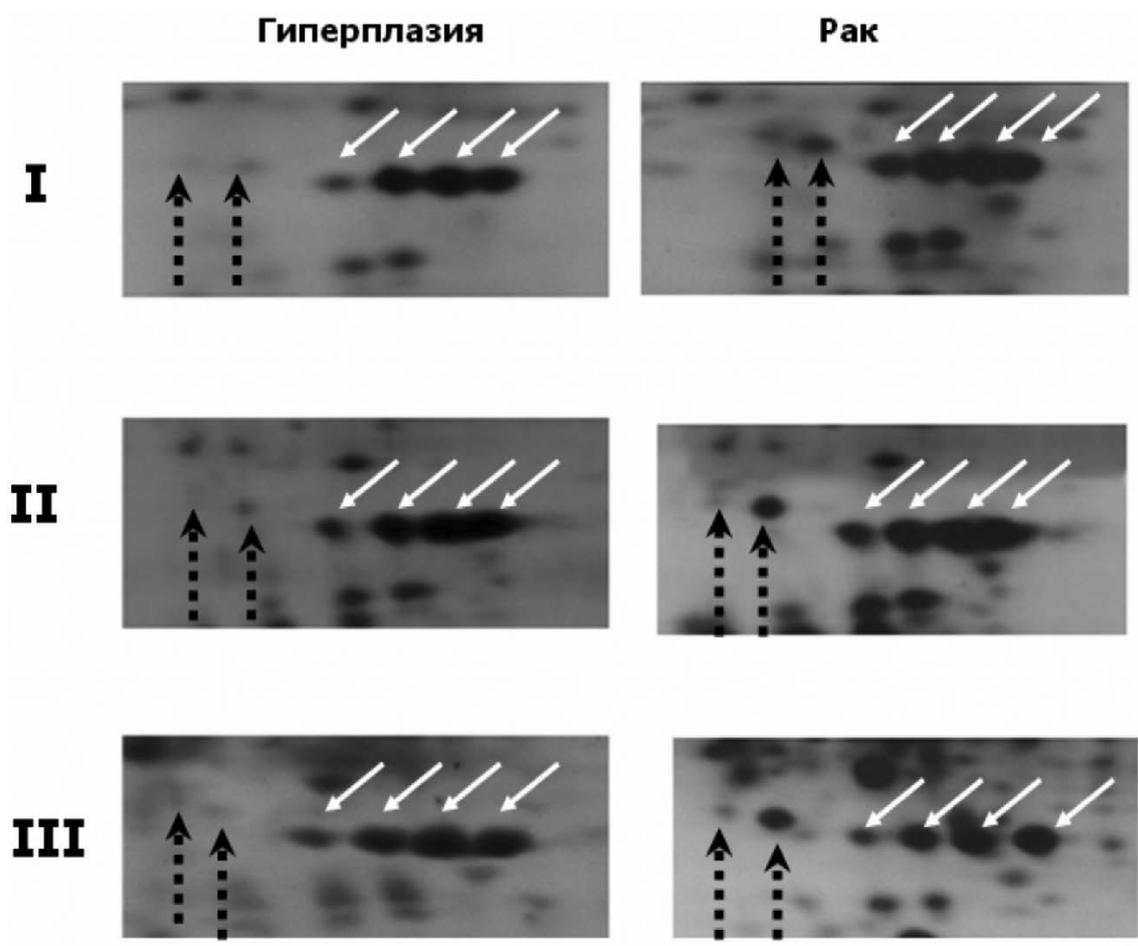


Рисунок 4.

Сравнительный анализ содержания белка Dj-1 в биопсийных образцах тканей аденокарциномы и гиперплазии, полученных их разных участков ПЖ трёх пациентов (I, II, III). Чёрными пунктирными стрелками показаны фракции Dj-1 и Dj-1-ei, белыми стрелками - идентифицированные ранее изоформы трансгелина 1.

Данные о повышенном содержании белка Dj-1 в тканях предстательной железы со злокачественными опухолями послужили основанием для проведения пилотного исследования уровня этого потенциального онкомаркера в сыворотке крови пациентов с РПЖ и ДГПЖ. Результаты этого исследования суммированы в таблице. Как видно из представленных данных, концентрация белка Dj-1 в сыворотке крови статистически достоверно различалась в группах больных РПЖ и ДГПЖ ($p=0,004$). Более того, внутри каждой из изучаемых групп наблюдалось различное распределение пациентов по уровням Dj-1 в сыворотке крови. Как видно из рисунка 5, около 40% пациентов с ДГПЖ имели уровень белка Dj-1 менее 15,0 нг/мл, более половины (53%) больных оказалось в подгруппе с уровнями в диапазоне 15,1-60 нг/мл, а уровень выше 60 нг/мл был выявлен только у двух пациентов (7%). При этом в группе больных РПЖ не оказалось ни одного человека с содержанием белка Dj-1 ниже 15,0 нг/мл, у более 70% обследованных данный показатель соответствовал содержанию 15,1-60 нг/мл и почти 30% характеризовались уровнями более 60 нг/мл.

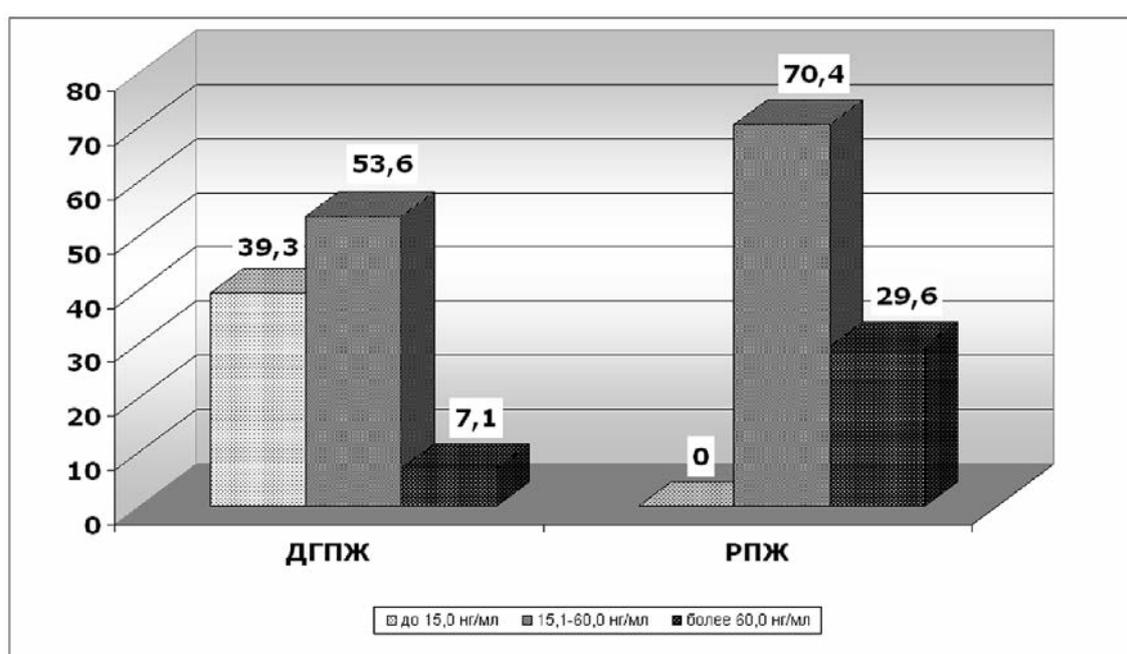


Рисунок 5.

Распределение пациентов (%) с ДГПЖ и РПЖ по трём уровням содержания белка Dj-1 в крови: менее 15 нг/мл, 15,1-60 нг/мл и более 60 нг/мл.

По литературным данным, белок Dj-1 вносит вклад в прогрессию злокачественных новообразований за счет усиления клеточной пролиферации [5]. Поскольку низкий уровень дифференцировки опухоли коррелирует с высокой интенсивностью пролиферации клеток, существенный интерес могут представлять данные о концентрациях в сыворотке крови белка Dj-1 у больных с высоко- и низкодифференцированными опухолями. Соответственно, в нашей выборке пациентов с РПЖ были выделены две подгруппы: 1 - с суммарным показателем Глисона 4-6 (высокодифференцированная и умеренно дифференцированная аденокарцинома); 2 - с суммой баллов по Глисона 7-10 (низкодифференцированная аденокарцинома), однако проведенный сравнительный анализ не выявил достоверных различий между ними (таблица). Ранее другие авторы иммуногистохимическим методом также не выявили корреляции между уровнем белка Dj-1 в тканях РПЖ и стадией по Глисона [6].

Таблица. Концентрация белка Dj-1 в сыворотке крови больных РПЖ и ДГПЖ.

Группы пациентов	n*	Концентрация белка Dj-1 в сыворотке крови, нг/мл			
		Среднее значение	Диапазон значений	Стандартное отклонение	P, U-критерий Уилкоксона-Манна-Уитни
Группа ДГПЖ	28	26,3	2,5-100,0	22,8	0,004
Группа РПЖ	34	44,9	15,0-122,0	29,8	U=243,5
Подгруппа РПЖ 1, стадии по Глисона 4-6	19	39,0	15,0-100,0	23,6	0,348
Подгруппа РПЖ 2, стадии по Глисона 7-10	15	52,3	16,5-122,0	35,7	U= 115,5

Примечание: * - количество образцов сыворотки крови в обследованных группах.

ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКА Dj-1 ПРИ РАКЕ ПРОСТАТЫ

На той же выборке пациентов с РПЖ и ДГПЖ было проведено определение сывороточной концентрации белка Vcl-2, который подобно Dj-1 играет важную роль в регуляции процессов апоптоза [17]. Белок Vcl-2 весьма активно изучается у больных раком молочной железы, но некоторые авторы рассматривают Vcl-2 и как перспективный потенциальный биомаркер РПЖ [17-19]. В нашей выборке пациентов средние значения содержания Vcl-2 в сыворотке крови больных РПЖ и ДГПЖ составили, соответственно, $2,90 \pm 0,57$ и $2,68 \pm 0,41$ нг/мл. Статистически достоверных различий между группами обнаружить не удалось. Также нами не было обнаружено зависимости между уровнями содержания Vcl-2 в крови больных РПЖ и стадийностью опухолей по Глиссону.

Уже более десяти лет ведутся активные исследования, направленные на установление ассоциации риска РПЖ с уровнем белков IGF1 и IGFBP3, относящихся к системе инсулино-подобных факторов роста и участвующих в реализации пролиферативных и подавляющих апоптоз каскадных путей [18, 20, 21]. В нашей выборке средний сывороточный уровень IGF1 у больных РПЖ составил 97,35 нг/мл, тогда как у больных ДГПЖ – 90,05 нг/мл. Хотя средний уровень белка в крови больных РПЖ незначительно превышал таковой у пациентов с ДГПЖ, это различие было статистически недостоверным. Уровни IGFBP3 в крови больных ДГПЖ и РПЖ также статистически не различались. Возможно, что отсутствие достоверных различий по уровням IGF1 и IGFBP3 обусловлено сравнительно небольшими размерами изучавшихся групп, и для убедительного заключения по данному вопросу требуется существенное увеличение объемов выборок (до тысяч обследуемых).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Результаты проведенного протеомного исследования показали, что белок Dj-1 в образцах тканей простаты, полученных от пациентов с РПЖ и ДГПЖ, в большинстве случаев присутствует в виде двух электрофоретических изоформ. При этом содержание белка Dj-1 в образцах тканей с РПЖ было существенно выше, чем в образцах с ДГПЖ. Белок Dj-1 выявлялся также в четырех культивируемых клеточных линиях, которые рассматриваются как модели РПЖ (PC-3, DU-145, LNCaP) и ДГПЖ (VRH-1). Наименьшее содержание белка Dj-1 оказалось в клетках VRH-1. Данные, полученные при пилотном изучении содержания нескольких белков – потенциальных биомаркеров РПЖ в образцах сыворотки крови больных с РПЖ и ДГПЖ, позволяют рассматривать белок Dj-1 как весьма перспективный для дальнейших исследований. Однако решение вопроса о валидации белка Dj-1 в качестве сывороточного биомаркера РПЖ потребует организации крупномасштабного клинико-биохимического изучения этого белка у пациентов с РПЖ и ДГПЖ [11, 22].

ЛИТЕРАТУРА

1. Nagakubo D., Taira T., Kitaura H., Ikeda M., Tamai K., Iguchi-Arigo S.M., Ariga H. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **231**, 509-513.
2. Le Naour F., Misek D.E., Krause M.C., Deneux L., Giordano T.J., Scholl S., Hanash S.M. (2001) *Clin. Cancer Res.*, **7**, 3328-3335.
3. Hod Y. (2004) *J. Cell Biochem.*, **92**, 1221-1233.
4. Arnouk H., Merkley M.A., Podolsky R.H., Stoppler H., Santos C., Alvarez M., Mariategui J., Ferris D., Lee J.R., Dynan W.S. (2009) *Proteomics Clin. Appl.*, **3**, 516-527.
5. Vasseur S., Afzal S., Tardivel-Lacombe J., Park D.S., Iovanna J.L., Mak T.W. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 1111-1116.
6. Tillman J.E., Yuan J., Gu G., Fazli L., Ghosh R., Flynt A.S., Gleave M., Rennie P.S., Kasper S. (2007) *Cancer Res.*, **67**, 4630-4637.
7. Bindukumar B., Schwartz S., Aalinkeel R., Mahajan S., Lieberman A., Chadha K. (2008) *Prostate*, **68**, 1531-1545.

8. *Tian M., Cui Y.Z., Song G.H., Zong M.J., Zhou X.Y., Chen Y., Han J.X.* (2008) *BMC Cancer*, **8**, 241.
9. *Hirofani M., Maita C., Niino M., Iguchi-Arigo S., Hamada S., Ariga H., Sasaki H.* (2008) *Mult. Scler.*, **14**, 1056-1060.
10. *Коган М.И., Лоран О.Б., Петров С.Б.* (2006) *Радикальная хирургия рака предстательной железы. Из-во "Гэотар-Медиа". М. 392 с.*
11. *Шишкин С.С., Ковалев Л.И., Ковалева М.А., Крахмалева И.Н., Еремина Л.С., Макаров А.А., Лисицкая К.В., Лоран О.Б., Велиев Е.И., Охриц В.Е.* (2009) *Проблемы ранней диагностики рака простаты и возможности применения новых потенциальных биомаркеров. (Информационно-методическое письмо). Из-во ООО "Оригинальная компания". М. 45с.*
12. *Черников В.Г., Терехов С.М., Крохина Т.Б., Шишкин С.С., Смирнова Т.Д., Лунга И.Н., Аднорал Н.В., Ребров Л.Б., Денисов-Никольский Ю.И., Быков В.А.* (2001). *Бюлл. экп. биол. мед.*, **131**, 680-682.
13. *Kovalyov L.I., Shishkin S.S., Efimochkin A.S., Kovalyova M.A., Ershova E.S., Egorov T.A., Musalyamov A.K.* (1995) *Electrophoresis*, **16**, 1160–1169.
14. *Ковалева М.А., Ковалев Л.И., Еремина Л.С., Макаров А.А., Буракова М.В., Торопыгин И.Ю., Серебрякова М.В., Шишкин С.С., Арчаков А.И.* (2008) *Биомед. химия*, **54**, 420-434.
15. *Гублер Е.В., Генкин А.А.* (1973) *Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. — Л.: Медицина.*
16. *Еремина Л.С., Ковалев Л.И., Шишкин С.С., Торопыгин И.Ю., Буракова М.И., Ковалева М.А., Макаров А.А., Дзеранов Н.К., Казаченко А.В., Тотров К.И., Кононков И.В., Лоран О.Б.* (2007) *Вопр. биол. мед. фарм. химии*, №3, 49-52.
17. *Knillová J., Kolář Z.* (2003) *Biomed. Papers*, **147**, 3–10.
18. *Kehinde E.O., Maghrebi M.A., Anim J.T.* (2008) *Can. J. Urol.*, **15**, 3967-3974.
19. *Concato J., Jain D., Uchio E., Risch H., Li W.W., Wells C.K.* (2009) *Ann. Intern. Med.*, **150**, 595-603.
20. *Cutting C.W., Hunt C., Nisbet J.A., Bland J.M., Dalgleish A.G., Kirby R.S.* (1999) *BJU Int.*, **83**, 996-999.
21. *Tajtakova M., Pidanicova A., Valansky L., Lachvac L., Nagy V., Sivonova M., Dobrota D., Kliment J., Petrovicova J.* (2010) *Neoplasma*, **57**, 118-122.
22. *Шишкин С.С., Ковалев Л.И., Ковалева М.А., Крахмалева И.Н., Еремина Л.С., Лисицкая К.В., Дзеранов Н.К., Ощепков В.Н., Кешишев Н.Г., Тотров К.И.* (2009) *Рак простаты и современные протеомно-биотехнологические подходы к его молекулярной диагностике. (Информационно-методическое письмо). Из-во ООО "Оригинальная компания". М. 36 с.*

Поступила: 09. 06. 2010.

STUDY OF DJ-1 PROTEIN IN TISSUE SPECIMENS, CULTURED CELLS AND SERUM
OF PROSTATE CANCER PATIENTS

*K.V. Lisitskaya¹, L.S. Eremina¹, A.V. Ivanov¹, M.A. Kovalyova¹, V.E. Okhrits², I.Y. Toropygin³,
L.I. Kovalyov¹, S.S. Shishkin¹*

¹A.N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Medical Sciences, Leninsky prospect, 33, bld. 2,
Moscow, 119071 Russia; tel.: (495) 952-58-86; e-mail: shishkin@inbi.ras.ru

²Russian Medical Academy of Postgraduate Education, ul. Barrikadnaya, 2/1, Moscow, 123995 Russia

³Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Pogodinskaya, 10,
Moscow, 119121 Russia

Two isoforms of Dj-1 protein were identified using a proteomic study in tissue specimens from two groups of patients with confirmed benign prostate hyperplasia (BPH) and prostate cancer (PCa). Dj-1 was also found in the cell lines PC-3, DU-145, LNCaP, BPH-1, and the lowest level of Dj-1 was found in BPH-1. Immunochemical study (ELISA) of serum levels of Dj-1, Bcl-2, IGF-1 and IGFBP-3 proteins revealed statistically significant distinctions between two groups of patients ($p=0,004$, Mann-Whitney test) only for Dj-1. Taken together, these data suggest that Dj-1 protein is a perspective biomarker candidate for PCa.

Key words: Dj-1, prostate cancer, two-dimensional electrophoresis, ELISA.