



УДК 575.117.2

## ГЕНЫ *NOLA2* И *RPS3A* КАК ВЫСОКОИНФОРМАТИВНЫЕ МАРКЕРЫ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА

© 2005 г. Д. К. Слижикова, Т. В. Виноградова<sup>#</sup>, Е. Д. Свердлов

Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,

117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 23.07.2004 г. Принята к печати 27.10.2004 г.

С использованием вычитающей гибридизации смесей кДНК из образцов плоскоклеточного рака легких от 10 пациентов и соответствующих смесей кДНК из нормальных тканей этих же пациентов получены библиотеки кДНК, обогащенные последовательностями, дифференциально транскрибируемыми в нормальной и опухолевой тканях. Анализ этих библиотек выявил два гена – *NOLA2* и *RPS3A*, экспрессия которых повышена у 70% пациентов, пораженных плоскоклеточным раком легких. Высокая частота встречаемости повышенной экспрессии этих генов при раковом заболевании делает их высокоинформативными маркерами плоскоклеточного рака легких, которые вместе с другими маркерами могут использоваться для надежной диагностики заболевания.

*Ключевые слова:* плоскоклеточный рак легких человека, экспрессия генов.

### ВВЕДЕНИЕ

Рак – это сложный многостадийный процесс, при котором происходят изменения на разных уровнях регуляции генома, что, в частности, выражается в изменении белкового состава клетки. Очевидно, что без знания генов, меняющих характер экспрессии при опухолеобразовании, понимание процессов инициации, эволюции и малигнизации опухоли невозможно.

Полагают, что для большинства генов изменение количества транслируемого белка обычно коррелирует с изменением количества транскрибируемой РНК [1]. Поэтому чаще всего анализ генов, специфически экспрессирующихся в раковых клетках, проводят на уровне транскриптов. Цель подобного рода анализов – выявление общих для большинства опухолей данного типа генов, изменение экспрессии которых сопровождает появление и прогресс опухоли. Такие гены называют маркерными. Маркерные гены не обязательно играют существенную роль в образовании опухоли.

Сложность поиска маркерных генов связана с характерной для большинства опухолей гетерогенностью [2, 3], то есть в одной и той же стадии прогрессии у разных индивидуумов могут экспрессироваться разные гены и на разном уровне. Сформировалось представление о том, что ни один из сотен

исследованных молекулярных маркеров не обладает значительной клинической ценностью при анализе такой гетерогенной опухоли, как рак легких, и только одновременный анализ тысяч генов может привести к надежной характеристике опухоли индивидуального пациента на молекулярном уровне [4]. Таким образом, поиск маркерных генов, общих для всех опухолей одного типа, представляется довольно сложной задачей.

Одним из подходов, позволяющих эффективно отбирать маркерные гены, является объединение РНК/кДНК из нескольких исследуемых образцов. В объединенной смеси по мере увеличения числа образцов концентрация РНК/кДНК, общих для всех образцов ткани, увеличивается, а различных – уменьшается. Такой подход был успешно применен при поиске маркерных генов рака поджелудочной железы методом микрочипов [5].

Немелкоклеточный рак легких (NSCLC, non-small cell lung cancer), основными формами которого являются аденокарцинома и плоскоклеточный рак легких (ПРЛ), занимает первое место в мире по числу летальных исходов среди онкологических заболеваний [6]. Несмотря на довольно большое число работ, посвященных поиску генов, дифференциально транскрибирующихся при ПРЛ [7–9], этот тип рака остается одним из наименее изученных с молекулярной точки зрения.

Широкомасштабный поиск генов, дифференциально транскрибирующихся при плоскоклеточном раке легких, был проведен методом SAGE (serial analysis of gene expression) [7]. В работе были использованы образцы ПРЛ от двух пациентов и первичная культура нормального эпителия брон-

Сокращения: ПРЛ – плоскоклеточный рак легких; NSCLC – немелкоклеточный рак легких; SAGE – серийный анализ экспрессии генов.

<sup>#</sup> Автор для переписки (тел.: (095) 330-65-47; эл. почта: tv@humgen.siocb.ras.ru).

**Таблица 1.** Последовательности праймеров для ОТ-ПЦР

Название праймера	Последовательность (5' → 3')	Темп. отжига, °C
NOLA2 for	TGCGATGACCAAAATAAAGG	54
NOLA2 rev	CGAATCTGCTTCTGCTTCAC	55
RhoC for	TTTGGGGATGGTGCCTGT	55
RhoC rev	TCCCCAACAAGGATGATG	53
RPL10 for	CTGAAGATCCTGGTGTCCGCC	55
RPL10 rev	GCCATCTTTGCCACAACCTT	54
RPL10A for	ATGTGAACGCTCCGGGT A	56
RPL10A rev	CGGACATTCTGCCAGTTTT	54
RPS3A for	AAATCATGACCCGAGAGGTG	56
RPS3A rev	TTGGGCTTCTTCAGCATTTT	53

**Таблица 2.** Гены, дифференциально экспрессирующиеся при плоскоклеточном раке легких

Геномный locus	Хромосома	Ген	Функция белка
AC136632	5q35.3	<i>NOLA2</i>	Ядрышковый белок семейства А
AL603832	1p13.2	<i>RhoC</i>	Член семейства гомологов RAS
NT025065	Xq28	<i>RPL10</i>	Белок большой субъединицы рибосомы
BC011366	6p21.31	<i>RPL10A</i>	Белок большой субъединицы рибосомы
AB007148	4q31.2–q31.3	<i>RPS3A</i>	Белок малой субъединицы рибосомы

хов. После сравнения спектров транскрипции для двух образцов опухолевых тканей и для нормальных клеток удалось отобрать около 70 генов, транскрипция которых в обоих опухолевых образцах отличалась от нормальной. Лишь для пяти генов дифференциальный характер транскрипции был проверен методом ОТ-ПЦР на четырех образцах ПРЛ. Таким образом, говорить о том, что все обнаруженные 70 генов являются маркерами для ПРЛ преждевременно.

В данной работе поиск генов, дифференциально транскрибирующихся при плоскоклеточном раке легких, проводили методом вычитающей гибридизации. Для вычитания были использованы две смеси РНК: одна была получена объединением равных количеств РНК, выделенных из десяти нормальных тканей, другая – из десяти опухолевых. Это позволило нам обнаружить ряд генов, которые имеют тенденцию к дифференциальной транскрипции в плоскоклеточном раке легких по сравнению с нормальной тканью легкого.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования проводили на образцах нормальной и опухолевой тканей, взятых у десяти пациентов с диагнозом периферического плоскоклеточного рака легких II стадии, подтвержденным гистологическими исследованиями. Образцы тканей были любезно предоставлены Российским онкологическим научным центром им. Н.Н. Блохина РАМН.

Суммарные РНК, выделенные из образцов тканей, смешивали в равных количествах и получали две смеси суммарных РНК – из нормальных и из опухолевых тканей. Из этих смесей получали фракции мРНК. Смеси мРНК использовали для синтеза кДНК, с которыми проводили вычитающую гибридизацию в обе стороны [10]. После вычитания кДНК клонировали в вектор рGEM-T, и индивидуальные клоны переносили в лунки микротитровальных планшетов. Таким образом были получены упорядоченные клонотеки, обогащенные последовательностями с разным содержанием в сравниваемых образцах.

Из каждой клонотеки было отобрано по 15 клонов и определена первичная структура клонированной кДНК. Это позволило идентифицировать 28 предположительно дифференциальных генов. Для 14 из этих генов были получены праймеры и методом ОТ-ПЦР был определен уровень транскрипции на матрицах кДНК из нормальных и опухолевых тканей, с которыми проводили вычитание. Концентрации первых цепей смесей кДНК были выравнены по содержанию гена β-актина. Праймеры для ОТ-ПЦР (табл. 1) подбирали через интрон гена, чтобы можно было отличить продукты ОТ-ПЦР, синтезированные по матрице кДНК, от синтезированных по матрице геномной ДНК, случайно оказавшейся в реакционной смеси, несмотря на обработку ДНКазой I.

Результаты ОТ-ПЦР на смесях кДНК из нормальных и опухолевых тканей показали, что в опухолевых тканях уровень транскрипции генов *NOLA2*, *RhoC*, *RPL10* повышен, а генов *RPL10A*, *RPS3A* понижен (табл. 2). Сравнивая число циклов, необходимых для амплификации ДНК-продукта до детектируемого уровня, можно подсчитать, что содержание мРНК этих генов в смесях различается в 5–10 раз.

Чтобы посмотреть, как результаты, полученные на смесях кДНК, соотносятся с индивидуальными изменениями уровней транскрипции этих генов при переходе от нормальной ткани к опухолевой, мы исследовали уровень экспрессии изучаемых генов отдельно у каждого из десяти пациентов. Каждый ОТ-ПЦР проводили не менее трех раз с использованием независимо полученных препаратов РНК и кДНК. Результаты ОТ-ПЦР для смесей кДНК и кДНК каждого из пациентов в отдельности суммированы в табл. 3 и на рисунке.

Как это обычно бывает при анализе индивидуальных опухолевых образцов, уровень экспрессии всех анализируемых генов сильно варьировал. Рисунок и табл. 3 демонстрируют, что транскрипция генов *NOLA2*, *RPS3A* повышена в опухолевых тканях, экспрессия гена *RhoC* подавлена в части опухолевых тканей, а гены *RPL10* и *RPL10A* характеризуются повышенной в опухолевых тканях экспрессией в одной половине случаев и подавленной в другой половине.

Гены *RPL10*, *RPL10A* кодируют рибосомные белки. Ранее [7] было показано, что экспрессия ряда других рибосомных белков повышается в тканях плоскоклеточного рака легких. Надо отметить, что данные работы [7] были получены при сравнении всего двух образцов ПРЛ с первичной культурой бронхиального эпителия. Такое количество образцов, имея в виду разброс наших данных по уровню транскрипции рибосомных генов в 10 образцах, скорее всего, недостаточно для того, чтобы оценить дифференциальность экспрессии генов.

Предполагается, что белок RPL10 может действовать как опухолевый супрессор [11]. Ранее изменений в уровне его транскрипции при плоскоклеточном раке легких, а также в других типах рака, показано не было. В наших опытах уровень его экспрессии понижен в 50% опухолей, что согласуется с гипотезой о его супрессорной функции. Однако в другой половине случаев уровень экспрессии этого гена в опухолевых тканях повышен. Поэтому вывод о возможной супрессорной функции этого белка требует дальнейшего анализа.

Белок RhoC вовлечен в процессы, связанные с клеточной дифференцировкой и сигнальной трансдукцией [12]. Недавно появились данные о том, что этот белок играет важную роль в опухолеобразовании и метастазировании опухолевых клеток [13] и вовлечен в процессы проникновения раковых клеток в сосудистое русло [14, 15]. Повышенная экспрессия *RhoC* показана при разных видах рака [16, 17], в том числе и при немелкоклеточном раке легких (NSCLC) [15]. Количество копий мРНК *RhoC* в опухолевой ткани NSCLC-пациентов хорошо коррелировало с количеством белка и было значительно выше, чем эти показатели для соответствующей нормальной ткани легкого. В нашем случае имеет место обратная ситуация. Транскрипция гена *RhoC* была понижена в опухолевой ткани у четырех пациентов, а повышена по сравнению с нормальными тканями легкого только у одного пациента, у пяти пациентов уровень его экспрессии не менялся. Основываясь на этих результатах, можно предположить, что *RhoC* вовлечен в опухолеобразование на более поздних этапах, чем II стадия плоскоклеточного рака, которую исследовали мы. Нельзя исключать и того, что различия, наблюдаемые на-

**Таблица 3.** Результаты ОТ-ПЦР первых цепей кДНК из нормальных и опухолевых тканей плоскоклеточного рака легких\*

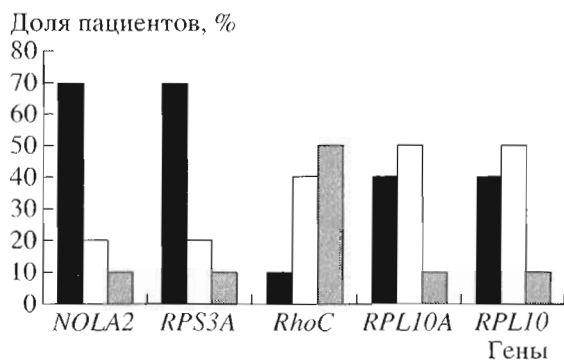
Пациент		Гены					
		$\beta$ -Актин	<i>NOLA2</i>	<i>RhoC</i>	<i>RPL10</i>	<i>RPL10A</i>	<i>RPS3A</i>
Смеси	Н	24	36	30	30	36	24
	О	24	33	33	27	39	21
3	Н	24	27	24	21	33	27
	О	24	30	24	24	36	24
6	Н	24	36	33	24	36	27
	О	24	33	33	27	36	27
8	Н	24	33	27	24	36	24
	О	24	30	30	21	33	18
11	Н	24	33	33	24	39	27
	О	24	30	30	21	33	24
12	Н	24	30	27	27	36	21
	О	24	24	27	18	33	18
13	Н	24	33	24	21	36	27
	О	24	30	24	24	33	24
14	Н	24	33	27	24	30	27
	О	24	30	30	21	36	24
15	Н	24	33	27	18	30	21
	О	24	30	30	21	33	24
16	Н	24	30	30	24	36	27
	О	24	39	33	27	33	24
18	Н	24	30	30	24	36	21
	О	24	30	30	24	33	27

\* Цифры обозначают число циклов ОТ-ПЦР, необходимое для получения 20 нг продукта (см. "Эксперимент. часть"). В качестве матрицы для ОТ-ПЦР использовали кДНК (Н) из нормальной ткани и из опухолевой ткани (О).

ми, связаны с разными типами NSCLC в наших экспериментах и в экспериментах других авторов.

Из исследованных генов только для двух показано увеличение уровня экспрессии в опухолевых тканях с высокой (70%) частотой (табл. 3, рисунок). Усиление экспрессии генов рибосомных белков, к которым относится *RPS3A*, может быть объяснено возрастанием общего уровня белкового синтеза в раковых клетках, и, следовательно, увеличением количества рибосом. Известно, что сборка рибосомных субъединиц и уровень синтеза белка – важнейшие модуляторы неопластической трансформации и клеточного роста [18].

Ген *NOLA2* кодирует белок, входящий в состав теломеразного комплекса [18, 19]. Высокий уровень активности теломеразы был обнаружен в опухолевых клетках более чем у 90% пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легких [7]. Обнаруженный нами повышенный уровень транс-



Доля пациентов, у которых уровень транскрипции соответствующего гена повышен в опухолевых тканях по сравнению с нормальными (черные столбцы); доля пациентов, у которых уровень транскрипции понижен в опухолевых тканях (белые столбцы); серые столбцы соответствуют доле пациентов, у которых отсутствовали различия в уровне транскрипции между нормальными и опухолевыми тканями.

крипции *NOLA2* в тканях ПРЛ, возможно, связан с участием белка *NOLA2*, входящего в состав теломеразного комплекса, в поддержании длины концов хромосом.

Высокая частота встречаемости изменений в уровнях экспрессии генов *NOLA2* и *RPS3A* позволяет рассматривать их в качестве кандидатов на роль маркеров плоскоклеточного рака легких. Механизмы, которые приводят к наблюдаемым изменениям, требуют детального анализа.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали образцы тканей человека, полученные в результате операций при раке легкого (предоставлены Российским онкологическим научным центром им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва). Часть каждого образца помещали в жидкий азот, а другую использовали для гистологического анализа. В работе использовали ткани от десяти пациентов с диагнозом периферический плоскоклеточный рак легких II стадии.

**Выделение РНК.** Суммарную РНК выделяли из замороженных и измельченных в азоте тканей, используя "Rnasy Mini RNA purification kit" (Qiagen, США). Все образцы РНК обрабатывали ДНКазой I (Promega, США). Качество и чистоту РНК проверяли электрофорезом в 2% агарозе в присутствии бромистого этидия. Количество РНК определяли спектрофотометрически [20].

**Получение смесей мРНК.** Суммарные РНК, выделенные из образцов тканей, смешивали в равных количествах и получали две смеси суммарных РНК – из нормальных и из опухолевых тканей. Из этих смесей получали фракции мРНК с помощью набора реактивов "Oligotex Direct mRNA Midi Kit" (Qiagen, США).

**Вычитающая гибридизация.** Синтез кДНК осуществляли на матрицах мРНК, полученных из двух смесей РНК (нормальной и опухолевой тканей). Вычитающую гибридизацию проводили, используя набор реактивов "Clontech PCR-Select cDNA Substraction Kit" (Clontech, США), согласно прилагаемому протоколу. Фрагменты кДНК, полученные в результате вычитающей гибридизации, клонировали в вектор pGEM-T в соответствии с рекомендациями "pGEM-T Vector System" (Promega, США).

**Анализ библиотеки фрагментов кДНК.** Определение первичной структуры фрагментов кДНК проводили на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3100-Avant Genetic Analyzer.

Поиск гомологичных последовательностей выполняли в базе данных GenBank NCBI при помощи компьютерной программы MEGABLAST (<http://ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Повторяющиеся последовательности анализировали с использованием программы RepeatMasker (<http://ftp.genome.washington.edu/cgi-bin/RepeatMasker>). Картирование фрагментов кДНК проводили с использованием программ Human Genome BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/HsBlast.html>) и Draft Human Genome Browser (<http://genome.ucsc.edu/goldenPath/hgTracks.html>).

Дизайн праймеров для ОТ-ПЦР проводили при помощи программы PRIMER3 (<http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3-www.cgi>) (см. табл. 1).

**ОТ-ПЦР.** Синтез первых цепей кДНК проводили на матрице суммарной РНК по стандартному протоколу, используя обратную транскриптазу Powerscript (Clontech, США) и праймер (dT)<sub>16-18</sub>.

В каждой реакции ОТ-ПЦР в качестве матрицы использовали кДНК в количестве, эквивалентном 20 нг суммарной РНК. Амплификацию проводили со специфическими праймерами (табл. 1). Реакционная смесь содержала матрицу, буфер (166 мМ сульфат аммония, 670 мМ Трис-НСl pH 8.8, 0.1% Твин-20), 2 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0.125 мМ dNTPs и 0.4 мМ праймеры, 1 ед. акт. *Taq*-ДНК-полимераза (Диалат, Россия). Суммарный объем реакционной смеси – 50 мкл. Стандартную реакцию проводили в режиме: 94°C – 30 с, отжиг праймеров – температура индивидуальная для каждой пары праймеров (табл. 1) – 30 с, 72°C – 40 с. Полимеразную цепную реакцию проводили в автоматических ПЦР-амплификаторах "PTC-200 Peltier Thermal Cycler" и "PTC-150 MiniCycler" (MJ Research, США). После 18 циклов ОТ-ПЦР через каждые 3 цикла отбирали аликвоту реакционной смеси и продолжали амплификацию до 39-го цикла. Продукты амплификации анализировали с помощью электрофореза в 1.2% агарозном геле. Различия в уровне экспрессии определяли по разнице в числе циклов, после которых можно было визуализиро-

вать продукт (примерно 20 нг продукта в отобранной аликвоте). Параллельно проводили контрольные реакции на чистоту реакционной смеси для ПЦР и контроль на отсутствие амплификации геномной ДНК. Каждую реакцию воспроизводили не менее трех раз.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность М.В. Киселевскому (Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН) за предоставленные образцы тканей, В.К. Потапову и Н.В. Скапцовой за синтез олигонуклеотидов, Л.Г. Николаеву за помощь в работе над статьей. Исследования проведены при поддержке грантов РФФИ НШ-2006.2003.4 и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН "Молекулярная и клеточная биология".

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Brazma A., Robinson A., Cameron G., Ashburner M.* // Nature. 2000. V. 403. P. 699–700.
2. *Yatabe Y., Mitsudomi T., Takahashi T.* // Oncogene. 2004. V. 23. P. 4041–4049.
3. *Yoshimura A., Gemma A., Hosoya Y., Komaki E., Hosomi Y., Okano T., Takenaka K., Matuda K., Seike M., Uematsu K., Hibino S., Shibuya M., Yamada T., Hirohashi S., Kudoh S.* // Genes Chromosomes Cancer. 2003. V. 37. P. 159–164.
4. *Yanagisawa K., Xu B.J., Carbone D.P., Caprioli R.M.* // Clin Lung Cancer. 2003. V. 5. P. 113–118.
5. *Bloomston M., Durkin A., Yang I., Rojiani M., Rosemurgy A.S., Enkmann S., Yeatman T.J., Zervos E.E.* // Ann. Surg. Oncol. 2004. V. 11. P. 413–419.
6. *Parkin D.M., Pisani P., Ferlay J.* // CA Cancer J. Clin. 1999. V. 49. P. 33–64.
7. *Nacht M., Dracheva T., Gao Y., Fujii T., Chen Y., Player A., Akmaev V., Cook B., Dufault M., Zhang M., Zhang W., Guo M., Curran J., Han S., Sidransky D., Buetow K., Madden S.L., Jen J.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. V. 98. P. 15203–15208.
8. *Kettunen E., Annila S., Seppanen J.K., Karjalainen A., Edgren H., Lindstrom I., Salovaara R., Nissen A.M., Salo J., Mattson K., Hollmen J., Knuutila S., Wikman H.* // Cancer Genet Cytogenet. 2004. V. 149. P. 98–106.
9. *Amatschek S., Koenig U., Auer H., Steinlein P., Pachter M., Gruenfelder A., Dekan G., Vogl S., Kubista E., Heider K.H., Stratowa C., Schreiber M., Sommergruber W.* // Cancer Res. 2004. V. 64. P. 844–856.
10. *Diatchenko L., Lau Y.F., Campbell A.P., Chenchik A., Moqadam F., Huang B., Lukyanov S., Lukyanov K., Gurskaya N., Sverdlov E.D., Siebert P.D.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 6025–6030.
11. *Oh H.S., Kwon H., Sun S.K., Yang C.H.* // J. Biol. Chem. 2002. V. 277. P. 36489–36498.
12. *Weissman B.E., Saxon P.J., Pasquale S.R., Jones G.R., Geiser A.G., Stanbridge E.J.* // Science. 1987. V. 236. P. 175–180.
13. *Sahai E., Marshall C.J.* // Nat. Rev. Cancer. 2002. V. 2. P. 133–142.
14. *Okabe H., Satoh S., Kato T., Kitahara O., Yanagawa R., Yamaoka Y., Tsunoda T., Furukawa Y., Nakamura Y.* // Cancer Res. 2001. V. 61. P. 2129–2137.
15. *Shikada Y., Yoshino I., Okamoto T., Fukuyama S., Kameyama T., Maehara Y.* // Clin. Cancer Res. 2003. V. 9. P. 5282–5286.
16. *Suwa H., Ohshio G., Imamura T., Watanabe G., Arii S., Imamura M., Narumiya S., Hiai H., Fukumoto M.* // Br. J. Cancer. 1998. V. 77. P. 147–152.
17. *van Golen K.L., Wu Z.F., Qiao X.T., Bao L.W., Merajver S.D.* // Cancer Res. 2000. V. 60. P. 5832–5838.
18. *Kho C.J., Wang Y., Zarbl H.* // Cell Growth Differ. 1996. V. 7. P. 1157–1166.
19. *Tollervy D., Kiss T.* // Curr. Opin. Cell Biol. 1997. V. 9. P. 337–342.
20. *Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T.* Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 2nd Ed. Cold Spring Harbor; N.Y.; CSHL Press, 1989.

## The *NOLA2* and *RPS3A* Genes As Highly Informative Markers of Human Squamous Cell Lung Cancer

D. K. Slizhikova, T. V. Vinogradova<sup>#</sup>, and E. D. Sverdlov

<sup>#</sup>Phone: +7 (095) 330-6547; e-mail: tv@humgen.siobc.ras.ru  
Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

cDNA libraries enriched with sequences that are differentially transcribed in normal and tumor tissues were prepared using the subtractive hybridization of mixtures of cDNAs from ten patients with squamous cell lung cancer and the corresponding mixtures of cDNAs from normal tissues of the same patients. An analysis of the libraries revealed two genes, *NOLA2* and *RPS3A*, whose expression in patients with squamous cell lung cancer increased by 70%. A high frequency of enhanced expression of these genes in the cancer makes them highly informative markers of squamous cell lung cancer, which, together with other markers, can be used for reliable diagnosis of the disease. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, vol. 31, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

*Key words:* gene expression, human squamous cell lung cancer