

УДК 76.00.00

Опухолевые модели организменного уровня на основе *Danio rerio*

И. В. Мизгирев¹, Д. Р. Сафина², И. В. Демидюк², С. В. Костров²¹Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 68²Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, 2

E-mail: nauruz@mail.ru

Поступила в редакцию 15.11.2017

Принята к печати 14.05.2018

РЕФЕРАТ Разработка и использование адекватных моделей организменного уровня являются одним из ключевых элементов развития различных направлений медико-биологических исследований, в том числе в области экспериментальной онкологии. В последнее десятилетие все большую популярность приобретают работы, основанные на использовании *Danio rerio*. Данный обзор посвящен описанию различных подходов к созданию на основе *D. rerio* высокоэффективных моделей для онкологических исследований. Основное внимание уделено различным трансплантационным моделям и перспективам их сочетания с оптически прозрачными (в том числе клональными) линиями *D. rerio* и опухолями различной природы, несущими флуоресцентные метки. Комбинация трансплантационной организменной модели на основе прозрачных клональных линий *D. rerio* с методами флуоресцентной микроскопии, FACS-фракционирования клеточных популяций и транскрипционным анализом может стать одним из наиболее эффективных подходов к получению принципиально новых данных о процессах возникновения и развития опухолей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА аллогенная и ксеногенная трансплантация, биоимиджинг, молекулярная онкология, прозрачные линии, *Danio rerio*.

ВВЕДЕНИЕ

Рак представляет собой одну из наиболее серьезных проблем современной медицины. Смертность от рака занимает второе место в индустриальных странах и, по прогнозам, имеет весомую перспективу перейти на первое [1]. В связи с этим разработка биологических моделей, позволяющих создавать новые подходы к изучению механизмов возникновения и прогрессии злокачественных новообразований, а также к повышению эффективности поиска путей противоопухолевой терапии, остается одной из актуальных проблем современной онкологии.

Реализуемые в настоящее время подходы базируются преимущественно на использовании клеток человека и других млекопитающих *in vitro*. Несмотря на очевидные достоинства, эти модели имеют и ряд существенных ограничений. В первую очередь, это связано с тем, что получаемые с их использованием результаты находятся вне контекста организма как единого целого. Например, модели *in vitro* не отражают стадии развития или возраст организма, не позволяют оценить такие опосредованные организмом эффекты, как влияние тканевого микроокружения, гормонального статуса, иммунной системы

и др. Очевидно, что исследования, проводимые *in vitro*, должны быть дополнены организменными моделями *in vivo*. Центральной моделью такого уровня является модель с использованием грызунов. Перевиваемые опухолевые штаммы, которые могут быть трансплантированы инбредным линиям млекопитающих, считаются «золотым стандартом» экспериментальной онкологии, так как позволяют быстро получать необходимое количество синхронно развивающихся опухолей. С другой стороны, стандартные модели опухолевого роста *in vivo* с использованием грызунов оказались мало совместимыми с современными технологиями высокопроизводительного скрининга противоопухолевых средств по причине высокой стоимости и трудоемкости таких исследований. Необходимо также подчеркнуть, что эта модель не позволяет осуществлять высокоэффективный биоимиджинг развития опухоли и изменений в окружающих тканях организма, что является существенным недостатком при анализе тонких механизмов прогрессии опухоли. Поэтому внимание исследователей привлекает поиск альтернативных моделей опухолевого роста, способных, с одной стороны, составить конкуренцию грызунам в плане трансляции

результатов в клиническую практику, а с другой, обладающих существенно большей информативностью и производительностью.

В последние годы все более популярной моделью становится пресноводная рыба *Danio rerio* (полосатый данио, или рыба-зебра). Это обусловлено небольшими размерами (2.5–4 см), коротким жизненным циклом этой рыбы, а также возможностью получать от одной самки до нескольких сотен икринок в неделю, развитием *ex utero*, прозрачностью эмбрионов и личинок, относительной простотой содержания и разведения и существованием множества мутантных и трансгенных линий.

Необходимо подчеркнуть, что модель *D. rerio* прекрасно адаптирована к использованию современных молекулярно-генетических подходов. Расшифрован и достаточно подробно аннотирован геном этого организма [www.ncbi.nlm.nih.gov/genom/GRCz11]. Детально отработаны методы введения генетического материала в эмбрионы рыб, в том числе разработаны подходы к направленному введению мутаций с использованием платформы ZFNs (zinc finger nucleases) [2–4]. Отработан метод высокоэффективного инсерционного мутагенеза с использованием ретровирусов [5] и транспозонных элементов [6, 7]. Активно ведутся эксперименты по редактированию генома *D. rerio* с использованием системы CRISPR/Cas9 [8]. Сконструированы разнообразные генетически маркированные линии *D. rerio*, разрабатываются трансплантационные модели, включая модели ксеногенной трансплантации тканей человека в организм рыб.

МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ ИНДУЦИРОВАННЫХ ОПУХОЛЕЙ *D. rerio*

Начало моделированию опухолевого роста у *D. rerio* положили пионерские работы Stanton [9] и Khudoley [10] по индукции опухолей печени химическими канцерогенами. Эта модель до сих пор остается одним из наиболее востребованных инструментов изучения различных аспектов опухолевого роста у рыб (рис. 1).

Кроме того, путем введения в зиготы *D. rerio* векторной ДНК, содержащей различные онкогены, управляемые тканеспецифическими промоторами, создано множество новых моделей, основанных на индукции опухолей [11]. Таким способом получены эмбриональные рабдомиосаркомы [12], меланомы [13], гепатоцеллюлярные карциномы [14], а также различные типы лейкоза [15–17].

Важно отметить, что многие генетически индуцированные опухоли несут гены флуоресцентных белков-репортеров, что дает возможность определять время возникновения опухоли и отслеживать ее рост по нарастанию флуоресценции опухолевых клеток [18]. В некоторых из этих моделей используются

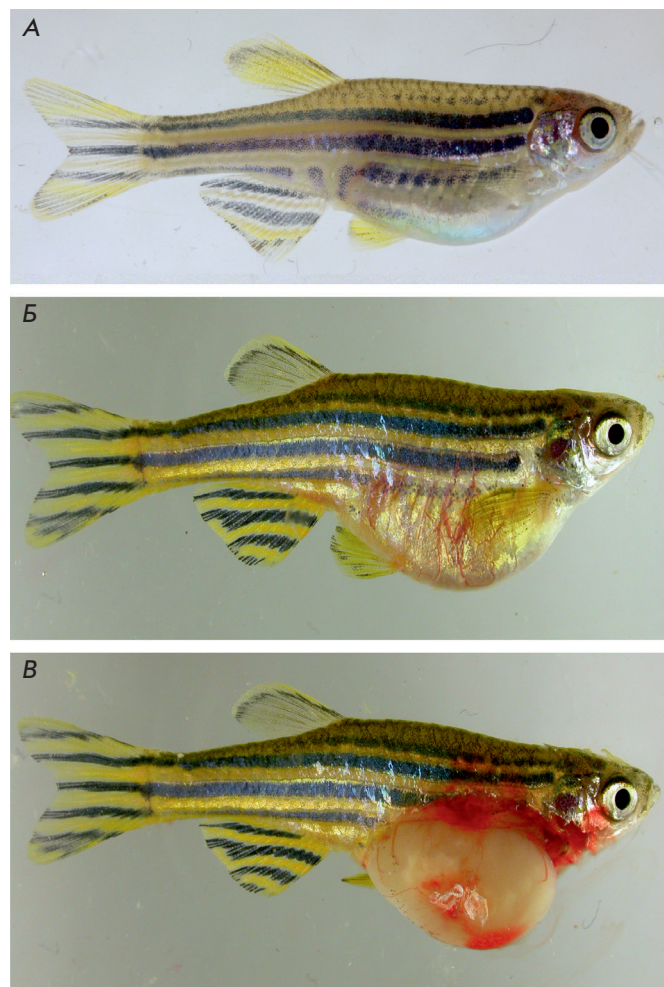


Рис. 1. *D. rerio* с индуцированной канцерогеном опухолью печени. А – здоровая рыба. Б – рыба с индуцированной гепатокарциномой. В – эта же рыба со вскрытой в процессе аутопсии брюшной полостью. Индукция опухоли проведена по методике, описанной в работе Khudoley [10]

генетические конструкции с регуляторными элементами, позволяющими управлять временем возникновения опухолей. В частности, разработаны подходы к индукции образования гепатоцеллюлярных карцином доксициклином [19] и мифепристоном [20]. Однако недостатком большинства указанных выше моделей остается их низкая частота и длительный латентный период возникновения опухолей, что затрудняет их использование, например, для скрининга потенциальных лекарственных средств.

ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЕ МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ *D. rerio*

В настоящее время исследования, направленные на создание моделей злокачественного роста, основанных на трансплантации маркированных опухолевых

клеток млекопитающих или рыб в организм *D. rerio*, ведутся во многих лабораториях мира [21–25].

Однако до последнего времени все попытки использования в онкологических исследованиях трансплантационных моделей на основе *D. rerio* сталкивались с рядом существенных ограничений. В частности, долгое время опухоли удавалось перевивать только сублетально облученным рыбам или эмбрионам на самых ранних этапах развития.

При этом подход, связанный с использованием сублетального гамма-облучения [26], оказался не очень удобным из-за высокой смертности рыб, а также достаточно быстрого восстановления иммунной системы у выживших особей.

Технология аллогенной или ксеногенной трансплантации опухолевых клеток, в том числе клеток человека [27] или грызунов [28], в эмбрионы *D. rerio* выглядит более привлекательно и интенсивно развивается в последние годы. Трансплантаты, пересаженные эмбрионам на ранних стадиях развития (до возраста 48 часов), не отторгаются из-за незрелости иммунной системы эмбрионов и способны выживать в организме реципиента. В ряде случаев такие клетки могут мигрировать на некоторое расстояние от места инъекции [29] и индуцировать рост кровеносных сосудов, продуцируя ангиогенные факторы [30–32]. Тем не менее трансплантационные модели этого типа имеют и ряд ограничений, связанных, например, с не оптимальными для роста клеток млекопитающих температурными условиями в организме эмбрионов рыб, культивируемых при 28°C. Однако следует отметить, что в течение некоторого времени культивировать эмбрионы *D. rerio* без существенно ущерба для их выживаемости можно и при более высокой температуре (до 35°C), более физиологичной для клеток млекопитающих [33]. Недавно ксенотрансплантацию опухолей в эмбрионы *D. rerio* успешно использовали для оценки чувствительности опухолей, полученных от пациентов, к действию различных препаратов и их комбинаций с целью подбора оптимальной стратегии лекарственной терапии [34]. Ранее подобного рода исследования проводили исключительно на бестимусных мышцах, однако в силу высокой стоимости и трудоемкости этот подход имеет крайне ограниченные перспективы для широкого использования в клинической онкологии.

К сожалению, все попытки создания инбредных линий *D. rerio*, аналогичных инбредным линиям млекопитающих, используя стандартную генетическую технику, потерпели неудачу из-за падения фертильности рыб после нескольких раундов близкородственного скрещивания.

В настоящее время проблема трансплантации чужеродных тканей в организм *D. rerio* в значительной

степени преодолена в связи с развитием трех новых экспериментальных подходов. Первый из них основан на получении гомозиготных диплоидных клональных линий *D. rerio* [35], что впервые позволило осуществить перенос опухолевых или нормальных клеток от одной рыбы к другой в пределах линии без отторжения трансплантата. Принципиальная возможность конструирования таких линий впервые была показана Streisinger и соавт. [36]. Для конструирования клональных линий используется метод двойного теплового шока [37]. При этом яйцеклетки *D. rerio* оплодотворяют *in vitro* инактивированными УФ-облучением сперматозоидами, после чего подвергают короткому тепловому шоку для блокирования первого деления дробления. Выжившие эмбрионы (приблизительно 0.5% от подвергнутых тепловому шоку зигот) выращивают до взрослого состояния. Эта процедура приводит к созданию полностью гомозиготных диплоидных рыб, которые, тем не менее, генетически различаются между собой. На втором этапе яйцеклетки, полученные от каждой из гомозиготных самок, подвергают следующему раунду оплодотворения УФ-облученными сперматозоидами с последующим тепловым шоком. Потомки, полученные от каждой гомозиготной самки, являются полной генетической копией (клоном) этой самки, а также друг друга по причине изначальной гомозиготности материнского организма. Дальнейшее поддержание клональных линий осуществляется скрещиванием рыб одного клона друг с другом. Следует отметить, что пол у *D. rerio* определяется не половыми хромосомами, а физиологическими факторами, действующими на ранних этапах развития, поэтому в потомстве от скрещивания клональных рыб будут появляться как самцы, так и самки. Эти линии характеризуются полной генетической идентичностью и гомозиготностью особей внутри каждого клона и являются прямыми аналогами инбредных линий грызунов.

Клональные линии, состоящие из генетически идентичных особей, оказались удобной моделью для серийных трансплантаций опухолевых клеток. Некоторые опухолевые штаммы, ведущие свое начало от индуцированных нитрозодиэтиламиноом карцином печени и поджелудочной железы клональных рыб, прошли более 20 последовательных пассажей без признаков отторжения. В более поздних исследованиях клональные рыбы линий CG1 и CG2 были использованы для индукции и последующей перевивки сингенным реципиентам меченных флуоресцентными репортерами рабдомиосаркомы [38] и лейкозных клеток [39]. При этом небольшие размеры личинок и эмбрионов *D. rerio* делают их идеальным объектом массовой трансплантации опухолевых клеток сотням

сингенных реципиентов в течение короткого промежутка времени.

Второй подход, который начал развиваться совсем недавно, основан на использовании иммунодефицитных линий рыб [40], аналогичных бестимусным мышам NOD/SCID [41]. Такая модель позволяет осуществлять достаточно эффективную аллогенную трансплантацию реципиенту опухолевых и нормальных тканей. Однако необходимо подчеркнуть, что использование животных с иммунодефицитом не позволяет, в частности, изучать целый ряд аспектов взаимодействия опухоли с организмом хозяина.

В этой связи особенно перспективным представляется еще один подход, основанный на разработанной недавно технике двойной трансплантации [42]. В основе этого подхода лежит введение в эмбрионы *D. rerio* на самых ранних стадиях развития (до 48 ч после оплодотворения) летально облученных опухолевых клеток. Показано, что такие клетки персистируют в организме реципиента около 2 недель, не влияют на его жизнеспособность, однако приводят к развитию специфической иммунологической толерантности к данной опухоли, не вызывая при этом глобального иммунодефицита. Через 3 месяца после первичной трансплантации таким животным могут быть введены необлученные клетки соответствующей опухоли. Такие опухоли эффективно развиваются, формируют опухолевые узлы, способны к метастазированию. Подход опробован на различных опухолях человека, в том числе гепатокарциноме и опухоли предстательной железы. Таким образом, эта модель позволяет перевивать аллогенные и ксеногенные опухоли взрослым рыбам и достаточно точно имитирует процесс развития опухоли в организме.

ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЕ МОДЕЛИ НА ОСНОВЕ ТРАНСПАРЕНТНЫХ ЛИНИЙ *D. rerio*

Еще одно ограничение на использование *D. rerio* в качестве организменной опухолевой модели – потеря по мере взросления рыбы прозрачности стенок тела из-за появления в коже, глазах и перитонеальной выстилке пигментных клеток – хромофоров, продуцирующих черный (меланофоры), светоотражающий (иридофоры) и желтый (ксантофоры) пигменты. Это существенно затрудняет биоимиджинговый анализ развития трансплантированных или индуцированных опухолей в организме животного. Однако в настоящее время получены оптически прозрачные линии (*ruby*, *casper*, *sheer*) [43, 44], которые утратили большинство пигментных клеток и, как следствие, имеют прозрачные стенки тела, через которые можно видеть все висцеральные органы, а также трансплантированные нормальные и опухолевые ткани (рис. 2, 3). Таким образом, прозрачные линии



Рис. 2. *D. rerio* прозрачной линии *sheer*. Возраст 3 недели



Рис. 3. Индуцированная канцерогеном гепатоцеллюлярная карцинома у *D. rerio* прозрачной линии *sheer*. Индукция опухоли проведена по методике, описанной в работе Khudoley [10]

представляют собой практически идеальную модель для неинвазивного изучения опухолевого роста *in vivo* в реальном масштабе времени и с уровнем пространственного разрешения, достаточным для выявления даже одной опухолевой клетки. Очевидно, что следующим шагом станет конструирование клональных оптически прозрачных линий, а также сочетание прозрачных линий с технологией двойной трансплантации.

Конструирование оптически прозрачных, в первую очередь клональных, линий *D. rerio* придает особые перспективы использованию для трансплантации флуоресцентно меченных опухолей. Получение таких опухолей посредством введения в зиготы генетических конструкций, содержащих различные онкогены в комбинации с флуоресцентными белками-репортерами, отработано, как сказано выше, на клональных линиях *D. rerio* [38, 39]. В то же время опухоли, индуцированные канцерогенами у обычных не трансгенных рыб, и по своим биологическим особенностям наиболее сходные с опухолями человека, не способны к экспрессии флуоресцентных репортеров. Для преодоления этого ограничения в последнее время разрабатываются подходы, позволяющие получать трансплантабельные флуоресцентные опухоли и при действии химических канцерогенов. В частности, с этой целью созданы трансгенные сублинии *D. rerio*, ведущие свое происхождение от клональной линии CG2 и способные к экспрессии флуоресцентных маркеров во всех клетках тела. Любые опухоли, индуцированные



Рис. 4. Рост меченной зеленым флуоресцентным белком рабдомиосаркомы, перевиваемой на клональной линии *D. rerio*. Внутримышечная трансплантация, 4-й пассаж

у рыб одной из этих сублиний, будут нести флуоресцентную метку и смогут перевиваться рыбам исходной клональной линии (рис. 4). Реализация подобной техники на клональных транспарентных линиях *D. rerio* позволит получить трансплантационную модель, предоставляющую совершенно исключительные возможности для детального биоимиджингового исследования опухолевого роста.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ МОДЕЛИ

Одна из наиболее интересных стратегий в развитии моделей на основе *D. rerio* – ее комбинирование с современными подходами к транскриптомному анализу. В настоящее время с использованием технологии микрочипов и РНК-секвенирования получены данные транскриптомного анализа целого ряда опухолей *D. rerio* различного генеза (гепатоцеллюлярной карциномы, меланомы, рабдомиосаркомы и др.). Эти результаты были сопоставлены с результатами анализа соответствующих опухолей человека. Основным выводом из этих исследований стала констатация консервативности транскриптомных изменений, сопровождающих опухолевую трансформацию у человека и *D. rerio* [45, 46]. Этот вывод крайне важен для дальнейшего развития данной системы, поскольку указывает на возможность ее использования для детального анализа механизмов возникновения и развития опухолей человека и высокоэффективного скрининга противоопухолевых средств. Одно из наиболее перспективных направлений, позволяющее надеяться на создание новых подходов к терапии опухолевых заболеваний, – детальное изучение взаимодействия опухоли с окружающей стромальной тканью [47]. К настоящему моменту очевидно, что микроокружение, представленное, в пер-

вую очередь фибробластами, клетками эндотелия, перидитами, лейкоцитами и внеклеточным матриксом, составляет интегральную часть опухоли и непосредственно вовлечено в контроль ее образования, роста и прогрессии. В свою очередь, клетки опухоли оказывают активное ремоделирующее действие на окружающую ткань. Таким образом, процесс опухолевого роста включает в себя сложный набор различных взаимодействий, меняющихся в ходе прогрессии новообразования. Очевидно, что анализ взаимодействия опухоли со стромальной тканью невозможен без использования организменных моделей. Используемые в настоящее время ключевые системы основаны на иммунодефицитных линиях грызунов. При этом методология исследований предполагает сочетание организменной модели, флуоресцентной микроскопии, FACS-фракционирования клеточных популяций и транскрипционного анализа [48]. Однако все большую популярность приобретает модель *D. rerio* [49, 50]. Представляется весьма вероятным, что реализация такого подхода в комбинации с трансплантационной моделью на основе оптически транспарентных линий *D. rerio* позволит получить принципиально новые данные как о процессах развития опухолей, так и о механизмах их взаимодействия с окружающей тканью. ●

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 18-04-00319 и 17-00-00189, Президиума Российской академии наук в рамках Программы научных исследований «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий» и «Молекулярная и клеточная биология».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Murray T., Thun M.J. // *CA Cancer J. Clin.* 2008. V. 58. № 2. P. 71–96.
2. Reyon D., Kirkpatrick J.R., Sander J.D., Zhang F., Voytas D.F., Joung J.K., Dobbs D., Coffman C.R. // *BMC Genomics.* 2011. V. 12. P. 83.
3. Cifuentes D., Xue H., Taylor D.W., Patnode H., Mishima Y., Cheloufi S., Ma E., Mane S., Hannon G.J., Lawson N.D., et al. // *Science.* 2010. V. 328. № 5986. P. 1694–1698.
4. Siekmann A.F., Standley C., Fogarty K.E., Wolfe S.A., Lawson N.D. // *Genes Dev.* 2009. V. 23. № 19. P. 2272–2277.
5. Amsterdam A., Nissen R.M., Sun Z., Swindell E.C., Farrington S., Hopkins N. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 35. P. 12792–12797.
6. Kwan K.M., Fujimoto E., Grabher C., Mangum B.D., Hardy M.E., Campbell D.S., Parant J.M., Yost H.J., Kanki J.P., Chien C.B. // *Dev. Dyn.* 2007. V. 236. № 11. P. 3088–3099.
7. Villefranc J.A., Amigo J., Lawson N.D. // *Dev. Dyn.* 2007. V. 236. № 11. P. 3077–3087.
8. Li M., Zhao L., Page-McCaw P.S., Chen W. // *Trends Genet.* 2016. V. 32. № 12. P. 815–827.
9. Stanton M.F. // *J. Natl. Cancer Inst.* 1965. V. 34. P. 117–130.
10. Khudoley V.V. // *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 1984. V. 65. P. 65–70.
11. Etchin J., Kanki J.P., Look A.T. // *Methods Cell Biol.* 2011. V. 105. P. 309–337.
12. Chen E.Y., Langenau D.M. // *Methods Cell Biol.* 2011. V. 105. P. 383–402.
13. Bootorabi F., Manouchehri H., Changizi R., Barker H., Palazzo E., Saltari A., Parikka M., Pincelli C., Aspatwar A. // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. № 7. P. 1550.
14. Nguyen A.T., Emelyanov A., Koh C.H., Spitsbergen J.M., Lam S.H., Mathavan S., Parinov S., Gong Z. // *Dis. Model Mech.* 2011. V. 4. № 6. P. 801–813.
15. Langenau D.M., Traver D., Ferrando A.A., Kutok J.L., Aster J.C., Kanki J.P., Lin S., Prochownik E., Trede N.S., Zon L.I., et al. // *Science.* 2003. V. 299. № 5608. P. 887–890.
16. Teittinen K.J., Grönroos T., Parikka M., Rämetsä M., Lohi O. // *Leuk. Res.* 2012. V. 36. № 9. P. 1082–1088.
17. Moore F.E., Langenau D.M. // *Adv. Hematol.* 2012. V. 2012. P. 478164.
18. Ignatius M.S., Langenau D.M. // *Methods Cell Biol.* 2011. V. 105. P. 437–459.
19. Li Z., Zheng W., Wang Z., Zeng Z., Zhan H., Li C., Zhou L., Yan C., Spitsbergen J.M., Gong Z. // *Dis. Model Mech.* 2013. V. 6. № 2. P. 414–423.
20. Nguyen A.T., Emelyanov A., Koh C.H., Spitsbergen J.M., Parinov S., Gong Z. // *Dis. Model Mech.* 2012. V. 5. № 1. P. 63–72.
21. Le X., Pugach E.K., Hettmer S., Storer N.Y., Liu J., Wills A.A., DiBiase A., Chen E.Y., Ignatius M.S., Poss K.D., et al. // *Development.* 2013. V. 140. № 11. P. 2354–2356.
22. Li Z., Zheng W., Li H., Li C., Gong Z. // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 7. P. e0132319.
23. Kaufman C.K., Mosimann C., Fan Z.P., Yang S., Thomas A.J., Ablain J., Tan J.L., Fogley R.D., van Rooijen E., Hagedorn E.J., et al. // *Science.* 2016. V. 351(6272). P. 2197.
24. Moore F.E., Garcia E.G., Lobbardi R., Jain E., Tang Q., Moore J.C., Cortes M., Molodtsov A., Kasheta M., Luo C.C., et al. // *J. Exp. Med.* 2016. V. 213. № 6. P. 979–992.
25. Tulotta C., He S., van der Ent W., Chen L., Groenewoud A., Spaik H.P., Snaar-Jagalska B.E. // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016. V. 916. P. 239–263.
26. Langenau D.M., Ferrando A.A., Traver D., Kutok J.L., Hezel J.P., Kanki J.P., Zon L.I., Look A.T., Trede N.S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 19. P. 7369–7374.
27. Jung D.W., Oh E.S., Park S.H., Chang Y.T., Kim C.H., Choi S.Y., Williams D.R. // *Mol. Biosyst.* 2012. V. 8. № 7. P. 1930–1939.
28. Nicoli S., Ribatti D., Cotelli F., Presta M. // *Cancer Res.* 2007. V. 67. № 7. P. 2927–2931.
29. Marques I.J., Weiss F.U., Vlecken D.H., Nitsche C., Bakkers J., Lagendijk A.K., Partecke L.I., Heidecke C.D., Lerch M.M., Bagowski C.P. // *BMC Cancer.* 2009. V. 9. P. 128.
30. Tran T.C., Sneed B., Haider J., Blavo D., White A., Aiyerorun T., Baranowski T.C., Rubinstein A.L., Doan T.N., Dingleline R., et al. // *Cancer Res.* 2007. V. 67. № 23. P. 11386–11392.
31. Rouhi P., Lee S.L., Cao Z., Hedlund E.M., Jensen L.D., Cao Y. // *Cell Cycle.* 2010. V. 9. № 5. P. 913–917.
32. Zhao C., Wang X., Zhao Y., Li Z., Lin S., Wei Y., Yang H. // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 7. P. e21768.
33. Marques I.J., Weiss F.U., Vlecken D.H., Nitsche C., Bakkers J., Lagendijk A.K., Partecke L.I., Heidecke C.D., Lerch M.M., Bagowski C.P. // *BMC Cancer.* 2009. V. 9. P. 128.
34. Fior R., Póvoa V., Mendes R.V., Carvalho T., Gomes A., Figueiredo N., Ferreira M.G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017. V. 114. № 39. P. 8234–8243.
35. Mizgirev I.V., Revskoy S.Y. // *Cancer Res.* 2006. V. 66. № 6. P. 3120–3125.
36. Streisinger G., Walker C., Dower N., Knauber D., Singer F. // *Nature.* 1981. V. 291. № 5813. P. 293–296.
37. Mizgirev I., Revskoy S. // *Nat. Protocols.* 2010. V. 5. № 3. P. 383–394.
38. Ignatius M.S., Chen E., Elpek N.E., Fuller A., Tenente I.M., Clagg R., Liu S., Blackburn J.S., Linardic C.M., Rosenberg A., et al. // *Cancer Cell.* 2012. V. 21. № 5. P. 680–693.
39. Mizgirev I.V., Revskoy S. // *Cancer Biol. Ther.* 2010. V. 9. № 11. P. 895–902.
40. Moore J.C., Tang Q., Yordan N.T., Moore F.E., Garcia E.G., Lobbardi R., Ramakrishnan A., Marvin D.L., Anselmo A., Sadreyev R.I., et al. // *J. Exp. Med.* 2016. V. 213. № 12. P. 2575–2589.
41. Ito M., Hiramatsu H., Kobayashi K., Suzue K., Kawahata M., Hioki K., Ueyama Y., Koyanagi Y., Sugamura K., Tsuji K., et al. // *Blood.* 2002. V. 100. P. 3175–3182.
42. Zhang B., Shimada Y., Hirota T., Ariyoshi M., Kuroyanagi J., Nishimura Y., Tanaka T. // *Transl. Res.* 2016. V. 170. P. 89–98. e3.
43. White R.M., Sessa A., Burke C., Bowman T., LeBlanc J., Ceol C., Bourque C., Dovey M., Goessling W., Burns C.E., et al. // *Cell Stem Cell.* 2008. V. 2. № 2. P. 183–189.
44. Ren J.Q., McCarthy W.R., Zhang H., Adolph A.R., Li L. // *Vision Res.* 2002. V. 42. № 3. P. 293–299.
45. Lam S.H., Wu Y.L., Vega V.B., Miller L.D., Spitsbergen J., Tong Y., Zhan H., Govindarajan K.R., Lee S., Mathavan S., et al. // *Nat. Biotechnol.* 2006. V. 24. № 1. P. 73–75.
46. Lam S.H., Gong Z. // *Cell Cycle.* 2006. V. 5. № 6. P. 573–577.
47. Pietras K., Östman A. // *Exp. Cell Res.* 2010. V. 316. № 8. P. 1324–1331.
48. Yang N., Huang B., Tsinkalovsky O., Brekkå N., Zhu H., Leiss L., Enger P.Ø., Li X., Wang J. // *Cancer Cell Int.* 2014. V. 14. № 1. P. 541.
49. Wang J., Cao Z., Zhang X.M., Nakamura M., Sun M., Hartman J., Harris R.A., Sun Y., Cao Y. // *Cancer Res.* 2015. V. 75. № 2. P. 306–315.
50. Vittori M., Breznik B., Gredar T., Hrovat K., Bizjak Mali L., Lah T.T. // *Radiol. Oncol.* 2016. V. 50. № 2. P. 159–167.