

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

ЗАМАРАЕВА
Вероника Александровна

РАЗНООБРАЗИЕ РНК-ПРОДУКТОВ ГЕНА RUNX1 ЧЕЛОВЕКА
В КЛЕТКАХ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА
С ТРАНСЛОКАЦИЕЙ $t(8;21)(q22;q22)$

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент В.В. Гринев

Минск, 2014

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 57 с., 23 рис., 5 табл., 47 источников.

RUNX1, RUNX1-RUNX1T1, ТРАНСЛОКАЦИЯ, ОСТРЫЙ МИЕЛОИДНЫЙ ЛЕЙКОЗ, БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ, РНК-ТРАНСКРИПТЫ, кДНК.

Объект исследования: ген *RUNX1*, контролирующий ключевые этапы гематопоеза и ангиогенеза у человека и млекопитающих и участвующий в развитии острого миелоидного лейкоза при хромосомных перестройках.

Цель: анализ разнообразия РНК-продуктов гена *RUNX1* в клетках острого миелоидного лейкоза с транслокацией $t(8;21)(q22;q22)$.

Методы исследования: биоинформационный анализ, культивирование эукариотических клеток, спектрофотометрические и молекулярно-генетические методы (выделение тотальной РНК, полимеразная цепная реакция, количественная полимеразная цепная реакция, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией, секвенирование).

В результате проведенного биоинформационного исследования было идентифицировано 62 уникальных экзона гена *RUNX1*. Из всех идентифицированных экзонов 17 относятся к кассетным, а 42 экзона являются перекрывающимися и могут быть объединены в 8 групп перекрытия. Выявлено 20 различных транскриптов гена *RUNX1* по данным системы аннотирования генома *AceView*, а также на основе кДНК и *EST* из *GenBank* и *dbEST*. Проведён сравнительный анализ полученных данных с другими системами аннотирования, такими как *RefSeq NCBI*, *UCSC Genome Browser*, *Ensembl Genome Browser*. Обработана информация о результатах микроэррей-анализа 106 образцов больных, положительных по транслокации $t(8;21)(q22;q22)$ формы ОМЛ. На основе этих данных в клетках острого миелоидного лейкоза идентифицировано 14 различных транскриптов *RUNX1*, выровняных относительно референс-сборки генома человека с помощью программы *BLAT* из геномного браузера *UCSC Genome Browser*.

Высокий уровень экспрессии *RUNX1* и *RUNX1-RUNX1T1* в клетках ОМЛ установлен путём количественной полимеразной цепной реакции. Выявлена экспрессия гена *RUNX1*, в 7-8 раз превышающая экспрессию референсного гена *TBP*. Разработаны праймеры к 5'UTRs и 3'UTRs транскриптов гена *RUNX1* и оптимизированы условия амплификации для создания путём обратной транскрипции библиотеки полноразмерных кДНК гена *RUNX1* в клетках ОМЛ. Идентифицировано 4 новых транскрипта гена *RUNX1*, не встречающихся ранее в литературе и базах данных.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 57 с., 23 мал., 5 табл., 47 крыніц.

RUNX1, RUNX1-RUNX1T1, ТРАНСЛАКАЦЫЯ, ВОСТРЫ
МІЯЛОІДНЫ ЛЕЙКОЗ, БІЯІНФАРМАЦЫЙНЫ АНАЛІЗ,
РНК-ТРАНСКРЫПТЫ, кДНК.

Аб'ект даследвання: ген *RUNX1*, які кантралюе ключавыя этапы гема-тапаэзу і ангіагенэзу ў чалавека і сысуноў і ўдзельнічае ў развіцці вострага міялоіднага лейкозу пры храмасомных перабудовах.

Мэта: аналіз разнастайнасці РНК-прадуктаў гена *RUNX1* у клетках вос-трага міялоіднага лейкозу з транслакацыяй *t(8;21)(q22;q22)*.

Метады даследвання: біяінфармацыйны аналіз, культываванне эука-рыятычных клетак, спектрафотаметрычныя і малекулярна-генетычныя мета-ды (выдзяленне татальнай РНК, палімеразная ланцужковая рэакцыя, коль-касная палімеразная ланцужковая рэакцыя, палімеразная ланцужковая рэак-цыя са зваротнай транскрыпцыяй, секвенаванне).

У выніку праведзенага біяінфармацыйнага даследавання было ідэнтыфікавана 62 унікальных экзона гена *RUNX1*. З усіх ідэнтыфікаваных экзонаў 17 маюць дачыненне да касетных, а 42 экзона перакрываюцца і мо-гуць быць аб'яднаны ў 8 груп перакрыцця. Выяўлена 20 розных транскрыптаў гена *RUNX1* па дадзеных сістэмы анатавання геному *AceView*, а таксама на аснове кДНК і *EST* з *GenBank* і *dbEST*. Праведзены параўнальны аналіз атрыманых дадзеных з іншымі сістэмамі анатавання, такімі як *RefSeq NCBI*, *UCSC Genome Browser*, *Ensembl Genome Browser*. Апрацавана інфармацыя аб выніках мікраэррэй-аналізу 106 узораў хворых, станоўчых па транслакацыі *t(8;21)(q22;q22)* формы ОМЛ. На аснове гэтых дадзеных у клетках вострага міялоіднага лейкозу ідэнтыфікавана 14 розных транскрыптаў *RUNX1*, выраўнаваных адносна рэферэнс-зборкі геному чала-века з дапамогай праграмы *BLAT* з геномнага браўзера *UCSC Genome Browser*.

Высокі ўзровень экспрэсіі *RUNX1* і *RUNX1-RUNX1T1* у клетках ОМЛ усталяваны шляхам колькаснай полімеразнай ланцужковай рэакцыі. Выяўлена экспрэсія гена *RUNX1*, якая у 7-8 раз перавышае экспрэсію рэферэнснага гена *TBP*. Распрацаваны праймеры да 5'UTRs і 3'UTRs транскрыптаў гена *RUNX1* і аптымізаваны ўмовы ампліфікацыі для стварэння шляхам зваротнай транскрыпцыі бібліятэкі поўнапамерных кДНК гена *RUNX1* у клетках ОМЛ. Ідэнтыфікавана 4 новых транскрыптаў гена *RUNX1*, не сустраканых раней у літаратуры і базах дадзеных.

ABSTRACT

Diploma work 57 p., 23 fig., 5 tables, 47 sources.

RUNX1, RUNX1-RUNX1T1, TRANSLOCATION, ACUTE MIELOID LEUKEMIA, BIOINFORMATIC ANALYSIS, RNA-TRANSCRIPTS, cDNA.

Object of research: gene *RUNX1*, that controls key stages of hematopoiesis and angiogenesis in humans and mammals and is involved in the development of acute myeloid leukemia with chromosomal rearrangements.

Aim of work: diversity analysis of *RUNX1* RNA-product in cells of acute myeloid leukemia with translocation *t(8;21)(q22;q22)*.

Research methods: bioinformatic analysis, cultivation of eukaryotic cells, spectrophotometric and molecular-genetic techniques (total RNA extraction, PCR, qPCR, RT-PCR, sequencing).

In our study 62 unique exons of *RUNX1* were identified. Of all the identified the 17 exons are cassette and the 42 exons are overlapping and can be grouped into 8 overlap groups. The 20 different *RUNX1* RNA-transcripts are revealed according genome annotation system *AceView*, as well as *GenBank* and *dbEST*. The comparative analysis of these findings were made with other systems annotation, such as *RefSeq NCBI*, *UCSC Genome Browser*, *Ensembl Genome Browser*. Results of microarray analysis with the 106 samples of patients, positive for translocation *t(8;21)(q22;q22)*, were processed. The 14 RNA-transcripts were identified on the basis of these data. These transcripts were realigned against the Homo sapiens reference genome assembly *NCBI36/hg18* (March 2006) by *BLAT* alignment tool in the *UCSC Genome Browser*.

High expression level of *RUNX1* and *RUNX1-RUNX1T1* was shown in AML cells by quantitative polymerase chain reaction. *RUNX1* expression was higher than reference gene *TBP* in 7-8 times. For the creation by reverse transcription cDNA-library of full length *RUNX1* in AML cells the primers to 5'UTRs and 3'UTRs *RUNX1* transcripts were designed. In this way four new *RUNX1* transcript were identified. These transcripts were not previously described in the literature and databases.