

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ  
Кафедра генетики**

**ВОЛОХОВА**  
Анастасия Ивановна

**ИЗУЧЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ РНК-ПРОДУКТОВ RUNX1T1-ЧАСТИ  
ГИБРИДНОГО ОНКОГЕНА RUNX1/RUNX1T1 ЧЕЛОВЕКА**

Аннотация  
к дипломной работе

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

Минск, 2015

## РЕФЕРАТ

### ИЗУЧЕНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ РНК-ПРОДУКТОВ *RUNX1T1*-ЧАСТИ ГИБРИДНОГО ОНКОГЕНА *RUNX1/RUNX1T1* ЧЕЛОВЕКА

Дипломная работа 41с., 16 рис., 4 табл., 23 источника.

*RUNX1T1*, *RUNX1-RUNX1T1*, ТРАНСЛОКАЦИЯ, ГИБРИДНЫЙ ГЕН, ОСТРЫЙ МИЕЛОИДНЫЙ ЛЕЙКОЗ, РНК-ТРАНСКРИПТ, КОРОТКИЕ ШПИЛЕЧНЫЕ РНК.

Объект исследования: ген *RUNX1T1*, выполняющий роль транскрипционного фактора на ранних стадиях гематопоза у человека и млекопитающих и участвующий в развитии острого миелоидного лейкоза при хромосомных перестройках.

Цель: изучение структурного разнообразия РНК-продуктов *RUNX1T1*-части гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1* человека.

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

Гибридный ген *RUNX1/RUNX1T1* с высокой частотой обнаруживается в клетках больных острым миелоидным лейкозом. Данный ген образует необычно высокое количество альтернативных транскриптов, подавляющее большинство которых может давать начало белкам, лишенных важных функциональных доменов. Было предположено, что развитие заболевания связано именно с присутствием таких укороченных транскриптов.

В результате данной работы были выявлены 17 различных транскриптов гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1*. Проверена работа аннотированных и предсказанных промоторных регионов гена *RUNX1* и областей терминации гена *RUNX1T1*. На основе полученных данных в клетках линии *Kasumi-1* идентифицированы 3 транскрипта *RUNX1T1*, выровняных относительно референс-сборки генома человека с помощью программы *BLAT* из геномного браузера *USCS Genome Browser*. Транскрипты клонированы в составе лентивирусного вектора *pHR-SINcPPT-SIEW*. Собрана вирусная частица для выяснения функциональной роли полученных альтернативных форм *RUNX1T1*-части гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1*.

Кроме того, разработана лентивирусная векторная конструкция, кодирующая анти-*RUNX1T1 17a (11a)* короткие шпилечные РНК. Полученная последовательность клонирована в составе вектора *pLVTHM* для постановки реакции нокаута транскриптов оканчивающихся 17a (11a) экзоном *RUNX1T1*-части гибридного онкогена *RUNX1/RUNX1T1*.

## РЭФЕРАТ

### ВЫВУЧЭННЕ РАЗНАСТАЙНАСЦІ РНК-ПРАДУКТАЎ *RUNX1T1*-ЧАСТКІ ГІБРЫДНАГА АНКАГЕНА *RUNX1 / RUNX1T1* ЧАЛАВЕКА

Дыпломная работа 41с., 16 мал., 4 табл., 23 крыніцы.

*RUNX1T1*, *RUNX1-RUNX1T1*, ТРАНСЛАКАЦЫЯ, ГІБРЫДНЫ ГЕН, ВОСТРЫ МІЯЛОІДНЫ ЛЕЙКОЗ, РНК-ТРАНСКРЫПТ, КАРОТКІЯ ШПІЛЕЧНЫЯ РНК.

Аб'ект даследавання: ген *RUNX1T1*, які выконвае ролю транскрыпцыйнага фактара на ранніх стадыях гематапаэзу ў чалавека і сысуноў і ўдзельнічае ў развіцці вострага міялоіднага лейкозу пры храмасомных перабудовах.

Мэта: вывучэнне структурнай разнастайнасці РНК-прадуктаў *RUNX1T1* часткі гібрыднага анкагена *RUNX1/RUNX1T1* чалавека.

Метады даследавання: біяінфармацыйны аналіз, культываванне эукарыятычных клетак, спектрафотаметрычныя і малекулярна-генетычныя метады (выдзяленне татальнай РНК, палімеразная ланцужковая рэакцыя, палімеразнай ланцужковая рэакцыя са зваротнай транскрыпцыяй, метады кароткіх шпілечных РНК, секвенаванне, трансфармацыя, котрансфекцыя).

Гібрыдны ген *RUNX1/RUNX1T1* з высокай частатой выяўляецца ў клетках хворых вострым міэлоідным лейкозам. Дадзены ген ўтварае незвычайна вялікую колькасць альтэрнатыўных транскрыптаў, пераважная большасць якіх можа даваць пачатак бялкам, пазбаўленым важных функцыянальных даменаў. Было прапанавана, што развіццё захворвання звязана менавіта з прысутнасцю такіх скарачаных транскрыптаў.

У выніку лалзенай працы былі выяўлены 17 розных транскрыптаў гібрыднага гена *RUNX1/RUNX1T1*. Праверана работа анатаваных і прадказаных промоторных рэгіёнаў гена *RUNX1* і абласцей тэрмінацыі гена *RUNX1T1*. На аснове атрыманых дадзеных у клетках лініі *Kasumi-1* ідэнтыфікавана 3 транскрыпта *RUNX1T1*, выраўнаваных адносна рэферэнс-зборкі геному чалавека з дапамогай праграмы BLAT з геномнага браўзера *USCS Genome Browser*. Транскрыпты былі кланаваны ў складзе ленцівіруснага вектара *pHR-SINcPPT-SIEW*. Сабрана вірусная часціца для высвятлення функцыянальнай ролі атрыманых альтэрнатыўных формаў *RUNX1T1*-часткі гібрыднага гена *RUNX1/RUNX1T1*.

Акрамя таго, была распрацавана ленцівірусная вектарная канструкцыя, якая кадуе анты-*RUNX1T1 17a (11a)* кароткія шпілечныя РНК. Атрыманая паслядоўнасць кланіравалася ў складзе вектара *pLVTHM* для пастаноўкі рэакцыі накаўту транскрыптаў якія заканчваюцца 17a (11a) экзонам *RUNX1T1*-часткі гібрыднага анкагена *RUNX1/RUNX1T1*.

## ABSTRACT

### STUDY OF DIVERSITY RNA RUNX1T1-PRODUCTS OF HYBRID ONCOGENE RUNX1 / RUNX1T1 RIGHTS

Diploma work 41p., 16 fig., 4 tables., 23 sources.

RUNX1T1, RUNX1-RUNX1T1, TRANSLOCATION, FUSION GENE, ACUTE MYELOID LEUKEMIA, RNA TRANSCRIPTS, SHORT HAIRPIN RNA.

Object of study: gene *RUNX1T1*, that acts as a transcription factor in the early stages of hematopoiesis in humans and mammals, and is involved in the development of acute myeloid leukemia with chromosome rearrangement.

Goal: to analyse the structural diversity of *RUNX1T1* RNA-products of the fusion oncogene *RUNX1/RUNX1T1*.

Methods: bioinformatic analysis, cultivation of eukaryotic cells, spectrophotometric and molecular-genetic techniques (total RNA extraction, PCR, RT-PCR, method of short hairpin RNA, sequencing, transformation, co-transfection).

The fusion gene *RUNX1/RUNX1T1* is detected in the cells of patients with acute myeloid leukemia with high frequency. This gene forms an unusually high number of alternative transcripts, most of which can give rise to protein lacking the important functional domains. It has been suggested that the disease is associated with the presence of truncated transcripts.

During of this research 17 different fusion oncogene transcripts *RUNX1/RUNX1T1* have been identified. Function of the annotated and predicted gene promoter regions of *RUNX1* and termination regions of *RUNX1T1* had been checked. The three RNA-transcripts of *RUNX1T1*-part were indentified on the basis of the data in cell line Kasumi-1. These transcripts were realigned against the Homo sapiens reference genome assembly *NCBI36/hg18* (March 2006) by *BLAT* alignment tool in *USCS Genome Browser*. The transcripts were cloned into the lentiviral vector *pHR-SINcPPT-SIEW*. Viral particle was assembled to determine the functional role of alternative forms of *RUNX1T1*-part of fusion oncogene *RUNX1/RUNX1T1*.

Also lentiviral vector construction of encoding an anti-*RUNX1T1* 17a (11a) short hairpin RNA was developed. The resulting sequence was cloned into the vector *pLVTHM* to made transcripts ending 17a (11a) exon of *RUNX1T1*-part fusion oncogene *RUNX1/RUNX1T1* inoperative by gene knockout method.