

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

БАКУНОВИЧ
Александра Андреевна

**ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГИБРИДНОГО ОНКОГЕНА
RUNX1/RUNX1T1 НА СПЛАЙСИНГ ГЕНОВ PARL И TRAPPC2L В
КЛЕТКАХ ЛИНИИ KASUMI-1 ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА
ЧЕЛОВЕКА**

Аннотация
к дипломной работе

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

Минск, 2017

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 43 с., 14 рис., 8 табл., 42 источника.

Ключевые слова: ПЦР, ПЦР в реальном времени, экспрессия, PARL, TRAPPC2L, RUNX1/RUNX1T1, Kasumi-1.

ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГИБРИДНОГО ОНКОГЕНА RUNX1/RUNX1T1 НА СПЛАЙСИНГ ГЕНОВ PARL И TRAPPC2L В КЛЕТКАХ ЛИНИИ KASUMI-1 ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА ЧЕЛОВЕКА.

Объект исследования: клетки линии Kasumi-1 острого миелоидного лейкоза человека.

Цель: определить влияние экспрессии гибридного онкогена RUNX1/RUNX1T1 на сплайсинг генов PARL и TRAPPC2L в клетках линии Kasumi-1 острого миелоидного лейкоза человека.

Методы исследования: молекулярно-генетические методы (выделение РНК, синтез кДНК, полимеразная цепная реакция, полимеразная цепная реакция в реальном времени, гель-электрофорез).

В ходе проделанной работы была проверено влияние гибридного онкогена RUNX1/RUNX1T1 на процесс сплайсинга в клетках линии Kasumi-1 острого миелоидного лейкоза человека. Было идентифицировано 95 генов, в которых регистрируются дифференциальные события сплайсинга. Экспрессия данных генов меняется под воздействием гибридного белка RUNX1/RUNX1T1. Из них выбраны 2 гена, которые имеют наиболее значимые статистические различия в экспрессии между двумя состояниями клеток. Дифференциальная экспрессии данных генов в целевых клетках при нокдауне гибридного онкогена RUNX1/RUNX1T1 была подтверждена с помощью алгоритма Cufflinks/Cuffdiff. Также мы провели независимую верификацию влияния гибридного онкогена RUNX1/RUNX1T1 на экспрессию генов сплайсинга в целевых клетках с помощью стандартной ПЦР и ПЦР в реальном времени. В результате проведенного анализа мы подтвердили существование тесной взаимосвязи между уровнем экспрессии гибридного онкогена RUNX1/RUNX1T1 и наличием дифференциальных сплайсинговых событий в целевых генах PARL и TRAPPC2L.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 43 с., 14 мал., 8 табл., 42 крыніцы.

Ключавыя словы: ПЛР, ПЛР ў рэальным часе, экспрэсія, PARL, TRAPPC2L, RUNX1/RUNX1T1, Kasumi-1.

ЎПЛЫЎ ЭКСПРЭСІІ ГІБРЫДНАГА АНКАГЕНУ RUNX1/RUNX1T1 НА СПЛАЙСІНГ ГЕНАЎ PARL І TRAPPC2L Ў КЛЕТКАХ ЛІНІІ KASUMI-1 ВОСТРАГА МІЕЛОІДНАГА ЛЕЙКОЗУ ЧАЛАВЕКА.

Аб'ект даследавання: клеткі лініі Kasumi-1 вострага міелоіднага лейкозу чалавека.

Мэта: вызначыць уплыў экспрэсіі гібрыднага анкагену RUNX1/RUNX1T1 на сплайсінг генаў PARL і TRAPPC2L ў клетках лініі Kasumi-1 вострага міелоіднага лейкозу чалавека.

Метады даследавання: малекулярна-генетычныя метады (вылучэнне РНК, сінтэз кДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, палімеразная ланцуговая рэакцыя ў рэжыме рэальнага часу, гель-электрафарэз).

У ходзе праведзенай работы быў правераны ўплыў гібрыднага анкагена RUNX1/RUNX1T1 на экспрэсію генаў сплайсінга ў клетках лініі Kasumi-1 вострага міелоіднага лейкозу чалавека.. Было ідэнтыфікавана 95 генаў, у якіх існуюць дыферэнцыяльныя падзеі сплайсінга. Экспрэсія гэтых генаў змяняецца пад уздзеяннем гібрыднага бялку RUNX1/RUNX1T1. З іх абраны 2 гены, якія маюць найбольш значныя статыстычныя адрозненні ў экспрэсіі паміж двума станамі клетак. Дыферэнцыяльная экспрэсія дадзеных генаў у мэтавых клетках пры нацкаўне гібрыднага анкагена RUNX1/RUNX1T1 была пацверджана з дапамогай алгарытму Cufflinks / Cuffdiff. Таксама мы правялі незалежную верыфікацыю ўплыву гібрыднага анкагена RUNX1/ RUNX1T1 на экспрэсію генаў сплайсінга ў мэтавых клетках з дапамогай стандартнай палімеразнай ланцуговай рэакцыі і палімеразнай ланцуговай рэакцыі ў рэальным часе. У выніку праведзенага аналізу мы пацвердзілі існаванне цеснай ўзаемасувязі паміж узроўнем экспрэсіі гібрыднага анкагену RUNX1/RUNX1T1 і існаваннем дыферэнцыяльных сплайсінгавых падзей у мэтавых генах PARL і TRAPPC2L.

ABSTRACT

Diploma work 43 p., 14 fig., 8 tables, 42 sources.

Key words: PCR, real time PCR, the expression of PARL, TRAPPC2L, RUNX1/RUNX1T1, Kasumi-1.

THE EFFECT OF EXPRESSION OF THE HYBRID ONCOGENE RUNX1/RUNX1T1 ON THE PROCESS OF SPLICING OF PARL AND TRAPPC2L GENES IN THE CELL LINE KASUMI-1 HUMAN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Object of study: cell line Kasumi-1 human acute myeloid leukemia.

Objective: to determine the effect of expression of the hybrid oncogene RUNX1/RUNX1T1 on the process of splicing of PARL and TRAPPC2L genes in the cell line Kasumi-1 human acute myeloid leukemia.

Research methods: molecular genetic methods (isolation of RNA, synthesis of cDNA, polymerase chain reaction, real-time polymerase chain reaction, gel electrophoresis).

The effect of RUNX1/RUNX1T1 fusion oncogene on expression of splicing genes was evaluated in cell line Kasumi-1 human acute myeloid leukemia. It was shown that 95 genes have differential splicing events in them. The level of expression of these genes differs under siRNA-mediated RUNX1/RUNX1T1 knockdown conditions. Of these genes, PARL and TRAPPC2L possess the most significant difference in expression between two states of leukemia cells and they were selected for subsequent independent validation. Cufflinks/Cuffdiff algorithm independently confirmed differential expression of these genes in target cells under siRNA-mediated RUNX1/RUNX1T1 knockdown conditions. PCR and real-time PCR were also used for additional validation of RUNX1/RUNX1T1 effect on expression of selected splicing genes. With this analysis, we observed a close relationship between the expression of RUNX1/RUNX1T1 fusion oncogene and the presence of differential splicing events in PARL and TRAPPC2L genes.