

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

АВТУХ
Екатерина Владимировна

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ СПЛАЙСИНГА
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 50 страниц, 10 рисунков, 9 таблиц, 40 источников.

ГЕНЫ СПЛАЙСИНГА, RNA-SEQ, ГИБРИДНЫЙ ОНКОГЕН RUNX1/RUNX1T1, КЛЕТКИ KASUMI-1, ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ.

Объект исследования: дифференциальная экспрессия генов сплайсинга.

Цель: оценить влияние гибридного онкогена RUNX1/RUNX1T1 на экспрессию генов сплайсинга в клетках положительных по транслокации t(8;21) формы острого миелоидного лейкоза человека.

Методы исследования: методы биоинформатики, выделение РНК, синтез кДНК, электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле, полимеразная цепная реакция в реальном времени.

В ходе проделанной работы была проверено влияние гибридного онкогена RUNX1/RUNX1T1 на экспрессию генов сплайсинга в клетках положительных по транслокации t(8;21) формы острого миелоидного лейкоза человека. А именно, было идентифицировано 22 гена сплайсинга, экспрессия которых 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 ПЦР в реальном времени. В результате проведенного анализа мы подтвердили существование тесной обратной взаимосвязи между гибридным онкогеном RUNX1/RUNX1T1 и целевыми генами сплайсинга ANNAK и HNRNPLL.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 50 старонак, 10 малюнкаў, 9 табліц, 40 крыніц.

ГЕНЫ СПЛАЙСІНГА, RNA-SEQ, ГІБРЫДНЫ АНКАГЕН RUNX1/RUNX1T1, КЛЕТКІ KASUMI-1, ПАЛІМЕРАЗНАЯ ЛАНЦУГОВАЯ РЭАКЦЫЯ.

Аб'ект даследвання: дыферэнцыяльная экспрэсія генаў сплайсінга.

Мэта: ацаніць уплыў гібрыднага анкагена RUNX1/RUNX1T1 на экспрэсію генаў сплайсінга ў клетках станоўчых па транслакацыі t(8;21) формы вострага міелоіднагу лейкозу чалавека.

Метады даследвання: метады біяінфарматыкі, выдзяленне РНК, сінтэз кДНК, электрофарэз нуклеінавых кіслот у агарозным гелі, палімеразная ланцуговая рэакцыя ў рэальным часе.

У ходзе праведзенай работы быў правераны ўплыў гібрыднага анкагена RUNX1/RUNX1T1 на экспрэсію генаў сплайсінга ў клетках, станоўчых па транслакацыі t(8;21) формы вострага міелоіднага лейкозу чалавека. А менавіта, было ідэнтыфікавана 22 гены сплайсінга, экспрэсія якіх 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 наклаўне 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 палімеразнай ланцуговай рэакцыі ў рэальным часе. У выніку праведзенага аналізу мы пацвердзілі існаванне цеснай зваротнай ўзаемасувязі паміж гібрыдным анкагенам RUNX1/RUNX1T1 і мэтавымі генамі сплайсінга ANNAK і HNRNPLL.

ABSTRACT

Diploma work includes 50 pages of text, figures 10, tables 9, references 40.

SPLICING GENES, RNA-SEQ, FUSION ONCOGENE RUNX1/RUNX1T1, KASUMI-1 CELLS, REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION.

Object of research: differential expression of splicing genes.

Aim of work: to evaluate the effect of the fusion oncogene RUNX1/RUNX1T1 on expression of splicing genes in t(8;21)-positive acute myeloid leukemia cells.

Research methods: methods of bioinformatics, RNA extraction, cDNA synthesis, nucleic acid electrophoresis in agarose gel, real-time polymerase chain reaction.

The effect of RUNX1/RUNX1T1 fusion oncogene on expression of splicing genes was evaluated in t(8;21)-positive acute myeloid leukemia cells. It was shown that 22 splicing genes differentially expressed under siRNA-mediated RUNX1/RUNX1T1 knockdown conditions. Of these genes, AHNAK and HNRNPLL 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. Real-time PCR was also used for additional validation of RUNX1/RUNX1T1 effect on expression of selected splicing genes. With this analysis, we observed a close inverse relationship between expressions of RUNX1/RUNX1T1 fusion oncogene and AHNAK and HNRNPLL splicing genes.