

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

Кафедра генетики

ТРОФИМОВИЧ
Надежда Викторовна

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ КОНТРОЛЯ
КАЧЕСТВА РНК 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 46 страниц, 9 рисунков, 9 таблиц, 43 источника.

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

Объект исследования: гены контроля качества РНК.

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

Методы исследования: анализ данных RNA-seq, сборка транскрипционных моделей и оценка дифференциальной экспрессии генов PARN и ZFP36L2 по RNA-seq ридам с помощью алгоритма Cufflinks/Cuffdiff, разработка праймеров для ПЦР в реальном времени, выделение тотальной РНК из клеток человека, синтез кДНК на матрице тотальной клеточной РНК, стандартная ПЦР, ПЦР в реальном времени, электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле.

В ходе проделанной работы было проверено влияние гибридного онкогена RUNX1/RUNX1T1 на экспрессию генов контроля качества РНК в клетках положительных по транслокации t(8;21) формы острого миелоидного лейкоза человека. А именно, было идентифицировано 49 генов, экспрессия которых меняется под воздействием гибридного белка RUNX1/RUNX1T1. По результатам исследования RNA-seq было идентифицировано 6 генов контроля качества РНК, которые значительно изменили свою экспрессию. Ссылаясь на показатели кратности различий и статистической значимости наблюдаемых различий, было решено сосредоточить свое внимание на двух генах (PARN, ZFP36L2) и провести их верификацию с помощью ПЦР в реальном времени.

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 контроля качества РНК в целевых клетках с помощью стандартной ПЦР и ПЦР в реальном времени. В результате проведенного анализа мы подтвердили влияние гибридного онкогена на анализируемые гены контроля качества РНК.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 46 старонак, 9 малюнкаў, 9 табліц, 43 крыніц.

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

Аб'ект даследвання: гены кантролю якасці РНК.

Мэта: ацаніць уплыў гібрыднага анкагена RUNX1/RUNX1T1 на экспрэсію генаў кантролю якасці РНК ў клетках станоўчай па транслокацыі t(8;21) формы вострага міелоіднага лейкозу чалавека.

Метады даследвання: аналіз дадзеных RNA-seq, зборка транскрыпцыйных мадэляў і ацэнка дыферэнцыяльнай экспрэсіі генаў PARN і ZFP36L2 па RNA-seq рыдам з дапамогай алгарытму Cufflinks/Cuffdiff, распрацоўка праймераў для палімеразнай ланцуговай рэакцыі ў рэальным часе, вылучэнне татальнай РНК з клетак чалавека, сінтэз кДНК на матрыцы татальнай клеткавай РНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, палімеразная ланцуговая рэакцыя ў рэальным часе, электрофарэз нуклеінавых кіслот.

У ходзе праведзенай працы быў правераны ўплыў гібрыднага анкагена RUNX1/RUNX1T1 на экспрэсію генаў кантролю якасці РНК ў клетках, станоўчых па транслокацыі t(8; 21) формы вострага міелоіднага лейкозу чалавека. А менавіта, было ідэнтыфікавана 49 генаў, экспрэсія якіх змяняецца пад уздзеяннем гібрыднага бялку RUNX1/RUNX1T1. Па выніках даследавання RNA-seq было ідэнтыфікавана 6 генаў кантролю якасці РНК, якія значна змянілі сваю экспрэсію. Спасылаючыся на паказчыкі кратнасці адрозненняў і статыстычнай значнасці назіраных адрозненняў, было вырашана засяродзіць сваю ўвагу на двух генах (PARN, ZFP36L2) і правесці іх верыфікацыю з дапамогай палімеразнай ланцуговай рэакцыі ў рэальным часе.

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 кантролю якасці РНК ў мэтавых клетках з дапамогай стандартнай палімеразнай ланцуговай рэакцыі і палімеразнай ланцуговай рэакцыі ў рэальным часе. У выніку праведзенага аналізу мы пацвердзілі ўплыў гібрыднага онкоген на аналізаваныя гены кантролю якасці РНК.

ABSTRACT

Diploma work includes 46 pages of text, figures 9, tables 9, references 43.

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

Object of research: genes of RNA quality control.

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

Research methods: analysis of RNA-seq data, assembly of full-length transcripts and evaluation of differential expression of PARN and ZFP36L2 genes using Cufflinks/Cuffdiff algorithm, development of primers for real-time PCR, isolation of total RNA from human cells, synthesis of, standard PCR, real-time PCR, nucleic acid electrophoresis.

During this work, the effect of RUNX1/RUNX1T1 fusion oncogene on the expression of RNA quality control genes in t(8;21)-positive acute myeloid leukemia cells was tested. In total, 49 genes with differential expression were identified under siRNA-mediated RUNX1/RUNX1T1 knockdown conditions. According to the results of the RNA-seq study, the expression of 6 genes was changed significantly. Of these genes, PARN and ZFP36L2 possess the most significant difference in expression between two states of leukemia cells and they were selected for subsequent independent validation.

Differential expression of selected genes was independently confirmed with Cufflinks/Cuffdiff algorithm. We also validated the effect of fusion oncogene RUNX1/RUNX1T1 on the expression of RNA quality control genes using standard PCR and real-time PCR. As a result of the analysis, we confirmed the effect of fusion oncogene on the analyzed RNA quality control genes.