

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

НИПОКУЛЬЧИНСКАЯ
Елизавета Вячеславовна

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ТРАНСКРИПТЫ ГЕНА RUNX1-RUNX1T1 В
КЛЕТКАХ ОМЛ: ИХ ЭКСПРЕССИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ В
КЛЕТОЧНЫХ КОМПАРТМЕНТАХ

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Т.В.Романовская

Минск, 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 58 страниц, 18 рисунков, 7 таблиц, 41 использованных источников.

Ключевые слова: АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПЛАЙСИНГ, ОСТРЫЙ МИЕЛОИДНЫЙ ЛЕЙКОЗ, RUNX1-RUNX1T1, KASUMI-1, ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ, ПЦР, ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ РНК, ЯДЕРНАЯ РНК, ТОТАЛЬНАЯ РНК.

Объект исследования: клеточная линия Kasumi-1.

Цель работы: изучение альтернативных транскриптов гена RUNX1-RUNX1T1 в клетках ОМЛ, их экспрессия и распределение в клеточных компартментах.

Методы исследования: выделение РНК, реакция обратной транскрипции, ПЦР, электрофорез, спектрофотометр.

Согласно прогнозам учёных, онкология является второй из основных причин смерти в мире.

Одними из самых распространенных онкологических заболеваний являются лейкозы. Для них характерно очень большое количество незрелых клеток крови, которые не выполняют функции здоровых клеток.

Основную часть лейкозов составляют острые миелоидные лейкозы. Учеными было доказано, что примерно у 20% людей больных этим заболеванием лейкозные клетки несут транслокацию между 8 и 21 хромосомами, которые дают дающий в конечном итоге белок AML1-ETO, обладающий определенными функциями.

Известно, что лейкозные заболевания возникают по различным причинам. Но одной из таких причин является нарушения в механизмах альтернативного сплайсинга.

В связи с прогрессированием онкологических заболеваний познание механизмов альтернативного сплайсинга становится все необходимее, и поэтому актуальность этой темы с каждым годом возрастает.

В ходе настоящего исследования был изучен онкоген RUNX1-RUNX1T1 и подобраны оптимальные праймеры. Выделены РНК ядерной, цитоплазматической и тотальной фракции. Благодаря реакции обратной транскрипции получены соответствующие кДНК, которые были использованы в реакции ПЦР. В результате качественного и количественного анализа результатов ПЦР были изучены альтернативные транскрипты данного гена в клетках ОМЛ и распределение в клеточных компартментах.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца ўтрымлівае 58 старонак, 18 малюнкаў, 7 табліц, 41 выкарастаных крыніц.

Ключавыя словы: АЛЬТЭРНАТЫЎНЫ СПЛАЙСІНГ, ВОСТРЫ МІЯЛОІДНЫ ЛЕЙКОЗ, RUNX1-RUNX1T1, KASUMI-1, ЗВАРОТНАЯ ТРАНСКРЫПЦЫЯ, ПЛР, ЦЫТАПЛАЗМАТЫЧНАЯ РНК, ЯДЗЕРНАЯ РНК, ТАТАЛЬНАЯ РНК.

Аб'ект даследавання: клеткавая лінія Kasumi-1.

Мэта працы: вывучэнне альтэрнатыўных транскрыптаў гена RUNX1-RUNX1T1 ў клетках ОМЛ, іх экспрэсію і размеркаванне ў клеткавых кампартментах.

Метады даследавання: вылучэнне РНК, рэакцыя зваротнай транскрыпцыі, ПЛР, электрофарэз, спектрафотометр.

Анкалогія з'яўляецца другой з асноўных прычын смерці ў свеце.

Аднымі з самых распаўсюджаных анкалагічных захворванняў з'яўляюцца лейкозы. Для іх характэрна вельмі вялікая колькасць няспелых клетак крыві, якія не выконваюць функцыі здаровых клетак.

Асноўную частку лейкозаў складаюць вострыя міялоідныя лейкозы. Навукоўцамі было даказана, што прыкладна ў 20% людзей хворых гэтым захворваннем лейкозныя клеткі нясуць транслакацыю паміж 8 і 21 храмасомамі, якія даюць у наступства новы анкаген AML1-ETO, які дае ў сваю чаргу бялок AML1-ETO, які валодае пэўнымі функцыямі.

Вядома, што лейкозныя захворванні ўзнікаюць па розных прычынах. Але адной з такіх прычын з'яўляецца парушэнні ў механізмах альтэрнатыўнага сплайсінгу.

У сувязі з прагрэсаванне анкалагічных захворванняў спазнанне механізмаў альтэрнатыўнага сплайсінг становіцца ўсё больш неабходна, і таму актуальнасць гэтай тэмы з кожным годам узрастае.

У ходзе гэтага даследавання быў вывучаны анкаген RUNX1-RUNX1T1 і падабраны аптымальныя праймеры. Выдзелены РНК ядзернай, цытаплазматычнай і татальнай фракцыі. Дзякуючы рэакцыі зваротнай транскрыпцыі атрыманы адпаведныя кДНК, якія былі скарыстаны ў рэакцыі ПЛР. У выніку якаснага і колькаснага аналізу вынікаў ПЛР былі вывучаны альтэрнатыўныя транскрыпты дадзенага гена ў клетках ОМЛ і размеркаванне ў клеткавых кампартментах.

ABSTRACT

The graduation project includes: 58 pages, 18 figure, 7 tables, 41 sources.

Keywords: ALTERNATIVE SPLICING, ACUTE MYELOID LEUKEMIA, RUNX1-RUNX1T1, KASUMI-1, RETURN TRANSCRIPTION, PCR, CYTOPLASMIC RNA, NUCLEAR RNA, TOTAL RNA.

Object of investigation: Kasumi-1 cell line.

Aim of work: study of alternative RUNX1-RUNX1T1 gene transcripts in OML cells, their expression and distribution in cellular compartments.

Methods: RNA isolation, reverse transcription reaction, PCR, electrophoresis, spectrophotometer.

According to scientists, cancer is the second leading cause of death in the world.

One of the most common cancers is leukemia. They are characterized by a very large number of immature blood cells that do not perform the functions of healthy cells.

The main part of leukemias is acute myeloid leukemias. Scientists have shown that in about 20% of people with this disease, leukemic cells carry a translocation between chromosomes 8 and 21, which give rise to the AML1-ETO protein that ultimately has certain functions.

It is known that leukemic diseases occur for various reasons. But one of these reasons is a violation in the mechanisms of alternative splicing.

In connection with the progression of oncological diseases, knowledge of the mechanisms of alternative splicing becomes more and more necessary, and therefore the relevance of this topic increases every year. In the present study, the RUNX1-RUNX1T1 oncogene was studied and optimal primers were selected. Nuclear, cytoplasmic, and total RNA fractions were isolated. Through reverse transcription reactions, the corresponding cDNAs were obtained and used in the PCR reaction. Qualitative and quantitative analysis of PCR results resulted in the study of alternative transcripts of a given gene in OML cells and their distribution in cellular compartments.