

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

Красовская
Елизавета Александровна

**ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ СПЛАЙСИНГА
ЭКЗОНА 15А ГИБРИДНОГО ОНКОГЕНА RUNX1-RUNX1T1
ЧЕЛОВЕКА**

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
доцент кафедры генетики
И.Н. Ильюшёнков

Минск, 2025

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 46 страниц, 10 рисунков, 4 таблицы, 129 использованных источников.

Ключевые слова: ЭКЗОН 15А, ГИБРИДНЫЙ ОНКОГЕН *RUNX1-RUNX1T1*, АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПЛАЙСИНГ, ФАКТОР СПЛАЙСИНГА, ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ.

Объект исследования: библиотеки RNA-Seq, полученные на тотальной РНК из культур клеток и образцов тканей человека.

Цель работы: изучение механизмов регуляции сплайсинга экзона 15а гибридного онкогена *RUNX1-RUNX1T1* человека.

Методы исследования: полнотранскриптомный RNA-Seq, анализ дифференциального сплайсинга, анализ дифференциальной экспрессии, биоинформатический анализ обогащения мотивами связывания.

RUNX1-RUNX1T1 транслокация играет значимую роль в развитии ОМЛ у человека. За счёт альтернативного сплайсинга меняется включение кассетного 15а экзона *RUNX1T1* части, от чего в транскрипте появляется стоп-кодон, происходит смещение открытой рамки считывания и получается укороченный вариант гибридного белка, который приводит к агрессивному течению болезни и низкой выживаемости пациентов. В данной работе с применением анализа дифференциальной экспрессии и оценки обогащения мотивами связывания осуществлялся поиск белков, участвующих в сплайсинге, способных регулировать включение 15а экзона в транскрипт и связываться вблизи и с экзоном 15а.

Были получены данные, что связанные со сплайсингом гены *DDX3Y*, *CLK1*, *RBM12B*, *CCNL1* и *DDX24* дифференциально экспрессировались в образцах с разным включением 15а экзона. Для белков регуляторов сплайсинга *DAZAP1*, *HNRNPM*, *KHDRBS1*, *PTB3*, *RBM41*, *RBM6*, *RBMS1*, *ZNF326* детектировались сайты связывания в прилегающих к 15а экзону интронных областях и в самом экзоне. Исходя из результатов работы, можно сделать вывод, что данных о сайтах связывания для белков дифференциально экспрессирующихся генов не найдено, поэтому нельзя точно определить, связаны ли изменения по включению экзона 15а в транскрипт с экспрессией регуляторных генов, мутациями в них или сайтов сплайсинга.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца змяшчае 46 старонак, 10 малюнкаў, 4 табліцы, 129 выкарыстаных крыніц.

Ключавыя словы: ЭКЗОН 15А, ГІБРЫДНЫ АНКАГЕН RUNX1-RUNX1Т1, АЛЬТЭРНАТЫЎНЫ СПЛАЙСІНГ, ФАКТАРЫ СПЛАЙСІНГУ, ДЫФЕРЭНЦЫЯЛЬНАЯ ЭКСПРЭСІЯ.

Аб'ект даследавання: бібліятэкі RNA-Seq, атрыманыя на татальнай РНК з культур клетак і узораў тканін чалавека.

Мэта працы: даследаванне механізмаў рэгуляцыі сплайсінгу экзона 15а гібрыднага анкагену *RUNX1-RUNX1Т1* чалавека.

Метады даследавання: поўнатранскрыптомны RNA-Seq, аналіз дыферэнцыяльнага сплайсінгу, аналіз дыферэнцыяльнай экспрэсіі, біяінфарматычны аналіз узбагачэння матывамі звязвання.

RUNX1-RUNX1Т1 транслакацыя гуляе значную ролю ў развіцці ВМЛ ў чалавека. За кошт альтэрнатыўнага сплайсінгу змяняецца ўключэнне касетнага 15а экзона *RUNX1Т1* часткі, ад чаго ў транскрыпце з'яўляецца стоп-кодон, адбываецца зрушэнне адкрытай рамкі счытвання і атрымліваецца скарачаны варыянт гібрыднага бялку, які прыводзіць да агрэсіўнай плыні хваробы і нізкай выжывальнасці пацыентаў. У дадзенай працы з ужываннем аналізу дыферэнцыяльнай экспрэсіі і адзнакі ўзбагачэння матывамі звязвання ажыццяўляўся пошук бялкоў, якія ўдзельнічаюць у сплайсінгу, здольных рэгуляваць уключэнне 15а экзона ў транскрыпт і звязвацца зблізка і з экзонам 15а.

Былі атрыманы дадзеныя, што звязаныя са сплайсінгу гены *DDX3Y*, *CLK1*, *RBM12B*, *CCNL1* і *DDX24* дыферэнцыяльна экспрэсаваліся ва ўзорах з розным уключэннем 15а экзона. Для бялкоў рэгулятараў сплайсінгу *DAZAP1*, *HNRNPM*, *KHDRBS1*, *PTB3*, *RBM41*, *RBM6*, *RBMS1*, *ZNF326* дэтэктаваліся сайты звязвання ў прылеглых да 15а экзону інтронных абласцях і ў самым экзоне. Зыходзячы з вынікаў працы, можна зрабіць выснову, што дадзеных аб сайтах звязвання для бялкоў дыферэнцыяльна экспрэсаваных генаў не знойдзена, таму нельга дакладна вызначыць, ці звязаныя змены па ўключэнні экзона 15а ў транскрыпт з экспрэсіяй рэгулятарных генаў, мутацыямі ў іх ці сайтаў сплайсінгу.

ABSTRACT

The graduation project contains 46 pages, 10 figures, 4 tables, 129 references.

Keywords: EXON 15A, HYBRID ONCOGENE RUNX1-RUNX1T1, ALTERNATIVE SPLICING, SPLICING FACTOR, DIFFERENTIAL EXPRESSION.

Object of the study: RNA-Seq libraries obtained on total RNA from cell cultures and human tissue samples.

Objective of the work: study of the mechanisms of regulation of splicing of exon 15a of the human hybrid oncogene *RUNX1-RUNX1T1*.

Research methods: whole-transcriptome RNA-Seq, differential exon usage, differential gene expression analysis, bioinformatics analysis of binding motif enrichment.

RUNX1-RUNX1T1 translocation plays a significant role in the development of AML in humans. Due to alternative splicing, the inclusion of the cassette 15a exon of the *RUNX1T1* part changes, which causes a stop codon to appear in the transcript, an open reading frame shift occurs, and a shortened version of the hybrid protein is obtained, which leads to an aggressive course of the disease and low patient survival. In this study, differential expression analysis and binding motif enrichment were used to search for proteins involved in splicing that are capable of regulating the inclusion of exon 15a in the transcript and binding near and to exon 15a.

Data were obtained that splicing-related genes *DDX3Y*, *CLK1*, *RBM12B*, *CCNLI* and *DDX24* were differentially expressed in samples with different inclusion of exon 15a. For the splicing regulatory proteins *DAZAP1*, *HNRNPM*, *KHDRBS1*, *PTB3*, *RBM41*, *RBM6*, *RBMS1*, *ZNF326*, binding sites were detected in the intron regions adjacent to exon 15a and in the exon itself. Based on the results of the work, it can be concluded that no data on binding sites for proteins of differentially expressed genes were found, so it is impossible to accurately determine whether changes in the inclusion of exon 15a in the transcript are associated with the expression of regulatory genes, mutations in them or splicing sites.