























## Заключение

Из результатов проведенных анализов можно вывести некоторые общие закономерности, связывающие между собой эпигенетические процессы и паттерны распределения событий сплайсинга.

1. Канонические и разные типы альтернативных событий сплайсинга количественно распределяются очень схожим образом в двух проанализированных клеточных типах, хотя они относятся к разным формам онкологических заболеваний крови и связываются с разными генетическими причинами: в линии SEM острого лимфобластного лейкоза транслокация формирует ген, работающий в качестве эпигенетического активатора, а в линии Kasumi-1 острого миелоидного лейкоза другая транслокация создает гибридный ген для белка с функцией эпигенетического репрессора.

2. Маркирование хроматина в области сайтов сплайсинга также демонстрирует схожие паттерны в двух анализируемых клеточных линиях. В частности, это касается особенностей распределения в области интронов и сайтов сплайсинга проанализированных маркеров открытого хроматина, таких как ацетилирование гистона 3 (анализировался маркер H3K27ac в линии SEM и H3K9ac в линии Kasumi-1), которое благоприятствует, как известно, переходу хроматина в более открытое состояние, а также тесты на чувствительность к транспозазе (ATAC-Seq) или ДНКазе (DNase-Seq) в линиях SEM и Kasumi-1 соответственно, которые являются двумя взаимозаменяемыми вариантами детекции открытого хроматина.

3. Выявлены следующие закономерности в распределении эпигенетических маркеров:

- присутствие маркеров открытого хроматина в целом нехарактерно для сайтов сплайсинга на границах внутренних экзонов, при этом донорные сайты сплайсинга содержат такие маркеры заметно чаще, чем акцепторные;

- маркеры открытого хроматина с существенно более высокой частотой присутствуют на альтернативных сайтах сплайсинга, чем на канонических;

- границы первых альтернативных экзонов, напротив, реже несут маркеры активного хроматина по сравнению с каноническими первыми экзонами;

- маркеры H3K36me3, H3K79me2 и H3K79me3 отличаются от остальных очень широкими пиками, покрывая собой значительную часть тела экспрессирующихся генов. Маркер H3K36me3 в большинстве случаев демонстрирует противоположную направленность изменения по сравнению с маркерами открытого хроматина в проведенных анализах. Это указывает на его возможное значение в качестве фактора, поддерживающего не слишком развернутое состояние хроматина в области тела гена и замедляющего процесс транскрипции. В то же время маркеры H3K79me2 и H3K79me3 изменяются в положительной корреляции с маркерами открытого хроматина. Их функция в качестве регуляторов транскрипции и сплайсинга пока недостаточно ясна и представляет большой интерес для будущих исследований.

## Библиографические ссылки

1. Hyung D, Kim J, Cho SY, Park C. ASpedia: a comprehensive encyclopedia of human alternative splicing. *Nucleic Acids Research*. 2018 January 4;46(D1):D58–D63. DOI: 10.1093/nar/gkx1014.
2. Ramanouskaya TV, Grinev VV. The determinants of alternative RNA splicing in human cells. *Molecular Genetics and Genomics*. 2017 December;292(6):1175–1195. DOI: 10.1007/s00438-017-1350-0.
3. Grinev V, Ilyushonak I, Clough R, Nakjang S, Smink J, Martinez-Soria N, et al. RUNX1/RUNX1T1 controls alternative splicing in the t(8;21)-positive acute myeloid leukemia cells. *BioRxiv 628040* [Preprint]. 2019 [cited 2019 February 1]: [36 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1101/628040>.
4. Listerman I, Sapra AK, Neugebauer KM. Cotranscriptional coupling of splicing factor recruitment and precursor messenger RNA splicing in mammalian cells. *Nature Structural & Molecular Biology*. 2006 October;13(9):815–822. DOI: 10.1038/nsmb1135.
5. Veloso A, Kirkconnell KS, Magnuson B, Biewen B, Paulsen MT, Wilson TE, et al. Rate of elongation by RNA polymerase II is associated with specific gene features and epigenetic modifications. *Genome Research*. 2014;24:896–905. DOI: 10.1101/gr.171405.113.
6. Iwamori N, Tominaga K, Sato T, Riehle K, Iwamori T, Ohkawa Ya, et al. MRG15 is required for pre-mRNA splicing and spermatogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2016 September 13;113(37):E5408–E5415. DOI: 10.1073/pnas.1611995113.
7. Sanidas I, Polytaichou C, Hatzia Apostolou M, Ezell SA, Kottakis F, Hu L, et al. Phosphoproteomics screen reveals akt isoform-specific signals linking RNA processing to lung cancer. *Molecular Cell*. 2014 February 20;53(4):577–590. DOI: 10.1016/j.molcel.2013.12.018.
8. Kouwe E, Staber PhB. RUNX1-ETO: attacking the epigenome for genomic instable leukemia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(2):350. DOI: 10.3390/ijms20020350.
9. Kerry J, Godfrey L, Repapi E, Tapia M, Blackledge NP, Ma H, et al. MLL-AF4 spreading identifies binding sites that are distinct from super-enhancers and that govern sensitivity to DOT1L inhibition in leukemia. *Cell Reports*. 2017 January 10;18(2):482–495. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.12.054.
10. Гринеv ВВ, Хайденрайх О. Нокдаун гибридного онкогена *KMT2A-AFF1* ассоциирован с дифференциальным сплайсингом РНК в клетках острого лимфобластного лейкоза человека. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2017;3:21–27.

11. Ptasinska A, Assi SA, Mannari D, James SR, Williamson D, Dunne J, et al. Depletion of RUNX1/ETO in t(8;21) AML cells leads to genome-wide changes in chromatin structure and transcription factor binding. *Leukemia*. 2012;26(8):1829–1841. DOI: 10.1038/leu.2012.49.
12. Liao Y, Smyth GK, Shi W. The Subread aligner: fast, accurate and scalable read mapping by seed-and-vote. *Nucleic Acids Research*. 2013 May 1;41(10):e108. DOI: 10.1093/nar/gkt214.
13. Гринеv ВВ. Сохранение интронов в транскриптомe лейкозных и нормальных клеток крови человека. *Молекулярная и прикладная генетика*. 2018;25:44–55.
14. Benito JM, Godfrey L, Kojima K, Hogda L, Wunderlich M, Geng H, et al. MLL-Rearranged Acute Lymphoblastic Leukemias Activate BCL-2 through H3K79 Methylation and Are Sensitive to the BCL-2-Specific Antagonist ABT-199. *Cell Reports*. 2015 December 29;13(12):2715–2727. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.12.003.
15. Lawrence M, Huber W, Pagès H, Aboyoun P, Carlson M, Gentleman R, et al. Software for Computing and Annotating Genomic Ranges. *PLoS Computational Biology*. 2013;9(8):e1003118. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1003118.
16. Li T, Liu Q, Garza N, Kornblau S, Jin VX. Integrative analysis reveals functional and regulatory roles of H3K79me2 in mediating alternative splicing. *Genome Medicine*. 2018;10:30. DOI: 10.1186/s13073-018-0538-1.

## References

1. Hyung D, Kim J, Cho SY, Park C. ASpedia: a comprehensive encyclopedia of human alternative splicing. *Nucleic Acids Research*. 2018 January 4;46(D1):D58–D63. DOI: 10.1093/nar/gkx1014.
2. Ramanouskaya TV, Grinev VV. The determinants of alternative RNA splicing in human cells. *Molecular Genetics and Genomics*. 2017 December;292(6):1175–1195. DOI: 10.1007/s00438-017-1350-0.
3. Grinev V, Ilyushonak I, Clough R, Nakjang S, Smink J, Martinez-Soria N, et al. RUNX1/RUNX1T1 controls alternative splicing in the t(8;21)-positive acute myeloid leukemia cells. *BioRxiv 628040* [Preprint]. 2019 [cited 2019 February 1]: [36 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1101/628040>.
4. Listerman I, Sapra AK, Neugebauer KM. Cotranscriptional coupling of splicing factor recruitment and precursor messenger RNA splicing in mammalian cells. *Nature Structural & Molecular Biology*. 2006 October;13(9):815–822. DOI: 10.1038/nsmb1135.
5. Veloso A, Kirkconnell KS, Magnuson B, Biewen B, Paulsen MT, Wilson TE, et al. Rate of elongation by RNA polymerase II is associated with specific gene features and epigenetic modifications. *Genome Research*. 2014;24:896–905. DOI: 10.1101/gr.171405.113.
6. Iwamori N, Tominaga K, Sato T, Riehle K, Iwamori T, Ohkawa Ya, et al. MRG15 is required for pre-mRNA splicing and spermatogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2016 September 13;113(37):E5408–E5415. DOI: 10.1073/pnas.1611995113.
7. Sanidas I, Polytarchou C, Hatzia Apostolou M, Ezell SA, Kottakis F, Hu L, et al. Phosphoproteomics screen reveals akt isoform-specific signals linking RNA processing to lung cancer. *Molecular Cell*. 2014 February 20;53(4):577–590. DOI: 10.1016/j.molcel.2013.12.018.
8. Kouwe E, Staber PhB. RUNX1-ETO: attacking the epigenome for genomic instable leukemia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(2):350. DOI: 10.3390/ijms20020350.
9. Kerry J, Godfrey L, Repapi E, Tapia M, Blackledge NP, Ma H, et al. MLL-AF4 spreading identifies binding sites that are distinct from super-enhancers and that govern sensitivity to DOT1L inhibition in leukemia. *Cell Reports*. 2017 January 10;18(2):482–495. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.12.054.
10. Grinev VV, Heidenreich O. The knockdown of the fusion oncogene *KMT2A-AFF1* is associated with differential RNA splicing in human acute lymphoblastic leukemia cells. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2017;3:21–27. Russian.
11. Ptasinska A, Assi SA, Mannari D, James SR, Williamson D, Dunne J, et al. Depletion of RUNX1/ETO in t(8;21) AML cells leads to genome-wide changes in chromatin structure and transcription factor binding. *Leukemia*. 2012;26(8):1829–1841. DOI: 10.1038/leu.2012.49.
12. Liao Y, Smyth GK, Shi W. The Subread aligner: fast, accurate and scalable read mapping by seed-and-vote. *Nucleic Acids Research*. 2013 May 1;41(10):e108. DOI: 10.1093/nar/gkt214.
13. Grinev VV. Intron retention in the transcriptome of leukemic and normal human blood cells. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika*. 2018;25:44–55. Russian.
14. Benito JM, Godfrey L, Kojima K, Hogda L, Wunderlich M, Geng H, et al. MLL-Rearranged Acute Lymphoblastic Leukemias Activate BCL-2 through H3K79 Methylation and Are Sensitive to the BCL-2-Specific Antagonist ABT-199. *Cell Reports*. 2015 December 29;13(12):2715–2727. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.12.003.
15. Lawrence M, Huber W, Pagès H, Aboyoun P, Carlson M, Gentleman R, et al. Software for Computing and Annotating Genomic Ranges. *PLoS Computational Biology*. 2013;9(8):e1003118. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1003118.
16. Li T, Liu Q, Garza N, Kornblau S, Jin VX. Integrative analysis reveals functional and regulatory roles of H3K79me2 in mediating alternative splicing. *Genome Medicine*. 2018;10:30. DOI: 10.1186/s13073-018-0538-1.