

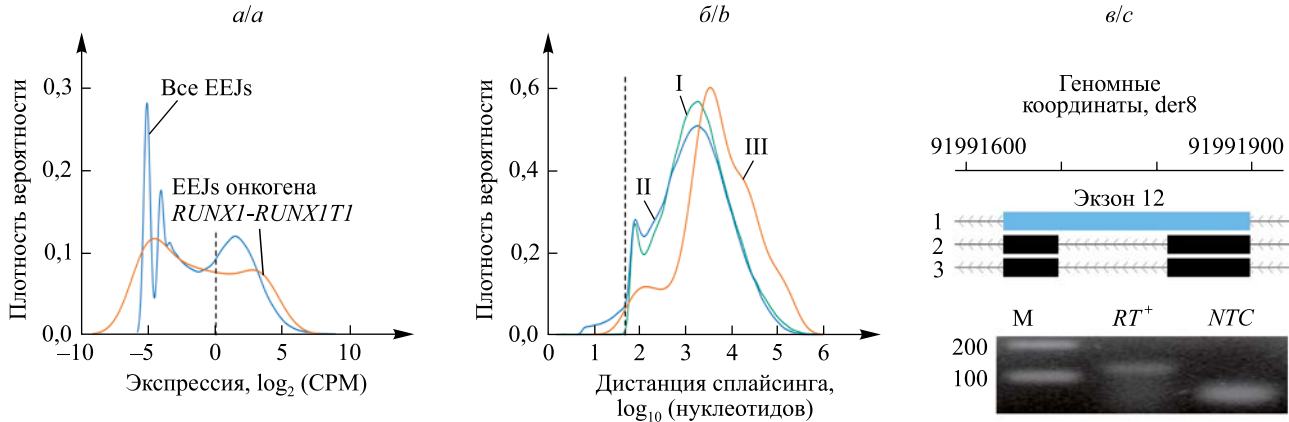


Рис. 4. Поиск технических артефактов в наборе EEJs гибридного онкогена *RUNX1-RUNXIT1*, идентифицированных с помощью RNA-Seq:

а – существенная часть EEJs, идентифицированных с помощью технологии RNA-Seq в транскриптоме клеток линии Kasumi-1 как для гибридного онкогена *RUNX1-RUNXIT1*, так и для других генов, характеризуются очень низким уровнем экспрессии. Для снижения шума в экспериментальных данных такие плохо подтверждаемые EEJs могут быть устранены на этапе разведочного анализа данных;

б – распределение EEJs по дистанциям сплайсинга (длине интронов).

На графике представлены результаты анализа трех наборов данных:

EEJs, идентифицированных в тех молекулах РНК человека, которые депонированы в базе данных NCBI RefSeq (I);

всех EEJs, идентифицированных с помощью технологии RNA-Seq в транскриптоме клеток линии Kasumi-1 (II);

EEJs гибридного онкогена *RUNX1-RUNXIT1*, идентифицированных

с помощью технологии RNA-Seq в транскриптоме клеток линии Kasumi-1 (III);

в – EEJs гибридного онкогена *RUNX1-RUNXIT1*, идентифицированные по технологии RNA-Seq, могут быть успешно валидированы методом обратной транскрипции и последующей амплификации с помощью полимеразной цепной реакции.

В качестве примера представлена валидация экзитрона, обнаруженного в каноническом экзоне 12 (трек 1, выделен голубым цветом) гибридного онкогена *RUNX1-RUNXIT1* методом тотальной (трек 2) или направленной (трек 3) RNA-Seq.

На электрофореграмме показан результат контрольной (без кДНК-матрицы, *NTC*) и специфической (после обратной транскрипции, *RT*⁺) амплификации.

M – маркеры *Thermo Scientific™ GeneRuler™ DNA Ladder Mix*

Fig. 4. Identification of technical artifacts among EEJs of the fusion oncogene *RUNX1-RUNXIT1* detected by RNA-Seq:

a – substantial part of EEJs detected by RNA-Seq in the transcriptome of Kasumi-1 cells demonstrates very low level of expression. This remains true for both fusion oncogene EEJs and EEJs of other genes expressed in leukemia cells.

To reduce the noise in the experimental data, such poorly supported EEJs can be eliminated during the exploratory data analysis phase;

b – distribution of EEJs on splicing distances (or introns length).

This plot shows the results of the analysis of three data sets: EEJs retrieved from human NCBI RefSeq RNAs (I);

all EEJs identified by RNA-Seq in the transcriptome of Kasumi-1 cells (II);

EEJs of the fusion oncogene *RUNX1-RUNXIT1* detected by RNA-Seq in the transcriptome of Kasumi-1 cells (III);

c – RNA-Seq detected EEJs of the fusion oncogene *RUNX1-RUNXIT1* can be successfully validated by reverse transcription and polymerase chain reaction.

Validation of exon located in canonical exon 12 (track 1, sky blue rectangle) of the fusion oncogene *RUNX1-RUNXIT1* is presented as example. Exon was detected by RNA-Seq on total RNA (track 2) or only RNA

of the fusion oncogene (track 3). Electropherogram demonstrates the results of control (without cDNA template, *NTC*)

and specific (after reverse transcription, *RT*⁺) amplification. *M* – markers *Thermo Scientific™ GeneRuler™ DNA Ladder Mix*