

## Perfil de similaridade entre os principais genes envolvidos no rearranjo *MLL* na leucemia linfoblástica aguda

### Similarity profile between major genes involved in *MLL* rearrangement in acute lymphoblastic leukemia

DOI:10.34117/bjdv7n7-509

Recebimento dos originais: 07/06/2021

Aceitação para publicação: 23/07/2021

#### **Alcides Euzebio Tavares Xavier**

Graduando em Biomedicina pelo centro Universitário Unifavip.

Instituição: Centro Universitário Unifavip

Endereço: Av. Adjar da Silva Casé, 800 - Indianópolis, Caruaru - PE, 55024-740 –  
Brasil

E-mail: [alcidestavaresx@outlook.com](mailto:alcidestavaresx@outlook.com)

#### **Cláudio José Mendes Júnior**

Graduando em Biomedicina pelo centro Universitário Unifavip.

Instituição: Centro Universitário Unifavip

Endereço: Av. Adjar da Silva Casé, 800 - Indianópolis, Caruaru - PE, 55024-740 –  
Brasil

E-mail: [jr\\_chininha@hotmail.com](mailto:jr_chininha@hotmail.com)

#### **Nathalia Joanne Bispo Cezar**

Doutora em Ciências Biológicas (Genética) pela Universidade de São Paulo

Instituição: Centro Universitário Unifavip

Endereço: Av. Adjar da Silva Casé, 800 - Indianópolis

#### **Lidiane Gomes da Silva**

Doutora em Genética pela Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Centro Universitário Unifavip

Endereço: Av. Adjar da Silva Casé, 800 - Indianópolis, Caruaru - PE, 55024-740 –  
Brasil

E-mail: [lidianegomesp@hotmail.com](mailto:lidianegomesp@hotmail.com)

#### **RESUMO**

A LLA caracterizada pela presença do rearranjo com o gene de linhagem mista *MLL* possui frequência em todos os estágios de idade, sendo considerado um marcador de obscuro prognóstico. A partir disto, o *MLL* possui uma diversidade de mais de 80 genes com capacidade de translocar-se. Dentre todos os genes que podem formar o rearranjo com o *MLL*, existem aqueles que possuem uma maior frequência e que em sua maioria, desempenham semelhança no fenótipo de LLA, de onde surge a indagação do motivo de tamanha semelhança, sendo estes genes tão distantes e distintos funcionalmente e molecularmente. O presente estudo buscou analisar a semelhança entre os genes *MLL*; *AF4*; *AF6*; *AF9* e *AF10*, através da metodologia filogenética de máxima parcimônia. Foi observado uma grande distinção entre os genes analisados, como já esperado, contudo, os genes apresentaram maior quantidade de sítios conservados em seu estado selvagem,

do que em seu estado translocado. O motivo da similaridade fenotípica e o método exato de atuação não está claro, sendo sugerido que as características similares podem estar relacionadas pela aquisição de um domínio N – terminal funcional (vinda do gene parceiro) ao qual é ausente na proteína do *MLL* selvagem, facilitando a interação com moléculas adjacentes e ligação ao DNA. Contudo, mais estudos são necessários para melhor compreensão da dinâmica entre os genes envolvidos no rearranjo *MLL*. 7

**Palavras-chave:** Interação gênica. LLA. Rearranjo. Prognóstico.

## ABSTRACT

ALL, characterized by the presence of the rearrangement with the *MLL* mixed lineage gene, has a frequency in all age stages, being considered a marker of obscure prognosis. From this, *MLL* has a diversity of more than 80 genes with the ability to translocate. Among all the genes that can form the rearrangement with *MLL*, there are those that have a higher frequency and that, for the most part, have similarities in the ALL phenotype, from which the question arises as to the reason for such similarity, these genes being so distant and functionally and molecularly distinct. The present study sought to analyze the similarity between *MLL* genes; *AF4*; *AF6*; *AF9* and *AF10*, using the maximum parsimony phylogenetic methodology. A great distinction was observed between the genes analyzed, as expected, however, the genes had a greater number of conserved sites in their wild state than in their translocated state. The reason for the phenotypic similarity and the exact method of action is not clear, and it is suggested that the similar characteristics may be related by the acquisition of an N-terminal functional domain (coming from the partner gene) which is absent in the wild *MLL* protein, facilitating the interaction with adjacent molecules and DNA binding. However, more studies are needed to better understand the dynamics between genes involved in *MLL* rearrangement. 7

**Keywords:** Gene interaction. ALL Rearrangement. Prognosis.

## 1 INTRODUÇÃO

O processo onco - hematológico designado leucemia, consiste na proliferação desordenada de células produzidas no sistema hematopoiético interferindo diretamente na produção normal e no processo de diferenciação celular, a partir disto é possível classificar a leucemia em duas classes, com base no tipo celular que se encontra em desordem: i) leucemia mieloide; ii) leucemia linfóide, seguindo essa mesma linha, ainda é possível classificar esses dois tipos com base no estado de maturação celular: i) leucemia mieloide aguda e leucemia mieloide crônica; ii) leucemia linfóide aguda e leucemia linfóide crônica (LAGUNAS-RANGEL, 2016; JIMÉNEZ-MORALES; HIDALGO-MIRANDA, 2017).

A Leucemia Linfóide Aguda (LLA) possui uma diversidade de cenários, sendo na infância a condição oncológica mais frequente. Dentre suas caracterizações, os aspectos moleculares são achados extremamente importantes, e a partir desses aspectos é possível

ter-se ideia do prognóstico, aumentando a chance, também, de uma terapia particularizada. Partindo deste segmento, as translocações recíprocas são os achados mais discutidos e que, a partir deles é possível obter algumas respostas (LAGUNAS-RANGEL, 2016; LIN et al., 2016; KERRY et al., 2017; ZHANG et al., 2019).

Dentre toda a diversidade de translocações recíprocas presentes na LLA, o rearranjo envolvendo o gene *MLL* (Leucemia de Linhagem Mista) (6q23) é considerado uma anomalia molecular que caracteriza um mal prognóstico. O *MLL* possui influência direta em controles epigenéticos, por ser responsável pela produção de *histonas metiltransferases*, além de possuir uma alta taxa de possíveis genes, ao qual pode haver uma translocação. De modo geral e mais frequentemente relatado na LLA como parceiro de translocação está o gene *AF4* (4q21). Essa translocação tanto pode ser observada em pacientes infantis, como lactentes e neste cenário o rearranjo *MLL* (*r-MLL*) pode ser considerado como a única anomalia genética ligada a gênese da LLA. Em pacientes pediátricos este cenário muda, em geral o *r-MLL* está acompanhado de outras anomalias gênicas, por outro lado em pacientes adultos, é bem observado o *r-MLL* em pacientes recidivos oncológicos ( WINTERS; BERNT, 2017; MEYER et al., 2018a).

Já foram relatados mais de 80 genes que fazem translocação com o *MLL* e vários deles estão envolvidos na leucimogênese. Dentre as frequências das translocações em pacientes leucêmicos, as mais encontradas em pacientes infantis (até 12 meses de vida) com LLA (n = 692), são relacionadas ao gene *AF4*: 338 que já possui uma frequência maior dentre os *r-MLL* na LLA; *AF6*: 1 que possui uma menor frequência de acometimento; *AF9*: 113 e o *AF10*: 39. Em pacientes com LLA *r-MLL* pediátricos (de 12 meses a 18 anos) (n = 313) foram encontrados: *AF4*: 139; *AF6*: 16; *AF9*: 56 e *AF10*: 12. O cenário de incidência muda quanto aos pacientes adultos (> 18 anos) LLA *r-MLL* (n = 415): *AF4*: 332; *AF6*: 9; *AF9*: 9 e *AF10*: 33 (MEYER et al., 2018a).

As translocações acontecem devido a proteínas de fusão, que são caracterizadas por apresentarem a ligação entre a porção N-terminal do gene *MLL* fundido com o domínio C – terminal de genes parceiros. A partir disto, as proteínas de fusão possuem uma atração pelas proteínas do *DOT1L* que são responsáveis pela metilação das histonas, fazendo com que haja uma hipermetilação de regiões importantes, como regiões promotoras e genes supressores de tumor. Em adição, a proteína do *DOT1L* está ligada com atividade antitumoral, porém é invertido quando está em conjunto com as proteínas de fusão. Um outro subconjunto importante são as proteínas produzidas pelo gene *MEN1*, essas proteínas possuem atividade antitumoral do sistema endócrino. As proteínas *menin*,

como são chamadas, possuem uma atração pela região N – terminal formando assim um complexo, que estimula a atividade ( YANG et al., 2018; SONG et al., 2019; WU et al., 2019).

Neste estudo buscou-se avaliar a semelhança entre os genes *MLL*, *AF4*, *AF6*, *AF9* e *AF10* em seu estado selvagem e quando rearranjado com o gene *MLL* (*MLL – AF4*; *MLL – AF6*; *MLL – AF9* e *MLL – AF10*), a fim de traçar um perfil de similaridade com a prerrogativa de tentar explicar o porquê de um fenótipo similar em LLA quando esses genes estão rearranjados com o *MLL*, mesmo os genes parceiros sendo tão distintos no sentido funcional e molecular.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sequências retiradas de bancos de dados públicos, os nucleotídeos foram obtidos do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) e as sequências foram pesquisadas com base no *Breakpoint* de interesse. Baseados na literatura, foram escolhidos os genes com maiores frequências de translocação com *MLL*. São eles: *MLL - AF4* (4;11); *MLL - AF6* (6;11); *MLL - AF9* (9;11) e *MLL - AF10* (10;11).

As sequências selvagens foram avaliadas e obtidas a partir da sua região selvagem, como: *AF4* (4q21); *AF6* (6q27); *AF9* (9p22) e *AF10* (10q21) o *Breakpoint* do *MLL* foi analisado de forma distinta, com o ponto de quebra (11q23).

Todas as sequências foram alinhadas de forma global, usando o *software Blastn* do NCBI. Posteriormente, foi realizado o alinhamento de todas as sequências em formato *fasta*, que foram armazenados em um único documento em formato *txt*. Em adição, o documento foi aberto no *software MEGA – X* para realização do alinhamento local, usando todas as sequências a partir da ferramenta de alinhamento *ClustalW*. O perfil de similaridade foi avaliado a partir da metodologia de filogenia, onde foi possível observar o quantitativo de sítios conservados, variáveis, parsimônio informativos e singletons.

Para a análise da literatura foi utilizada a base de dados do *pubmed* com ano de publicação entre 2016 – 2020

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca pelas sequências de nucleotídeos, foi realizada através banco de dados do NCBI usando os pontos de translocação como requisitos: “*MLL – AF4*”; “*MLL – AF6*”; “*MLL – AF9*” e “*MLL – AF10*”. A partir dessa busca foi possível encontrar as sequências referentes a fusão. Seguindo esta linha, foi feito o alinhamento global (*Blastn*) das sequências, para avaliação de sua veracidade, todas as sequências possuíram um *Query*

Cover igual a 100% com o mesmo percentual de identidade e um *E – Value* igual a 0,0 (Tabela 1).

**Tabela 1** Alinhamento global dos breakpoints das fusões

Gene	Ponto de quebra	Accession	Max Score	Total Score	E - value	Per. Ident.	Query Cover
t(MLL-AF4)	(q21;q23)	AM050795.1	1648	1648	0.0	100.00%	100%
t(MLL-AF6)	(q23;q27)	HE805695.1	1659	1659	0.0	100.00%	100%
t(MLL-AF9)	(p22;q23)	AC000007.8	1256	1256	0.0	100.00%	100%
t(MLL-AF10)	(q21;q23)	AF242207.1	2952	2952	0.0	100.00%	100%

A tabela demonstra os valores obtidos após o alinhamento global das sequências em seu *breakpoint*, usando o *software BLASTn*, onde foram tabuladas as seguintes informações: Max Score; Total Score; Total Score; E – value; Per. Ident. e Query Cover.

Assim como as sequências da fusão, as sequências selvagens também foram obtidas através do NCBI. A busca por essas sequências foi realizada através de sua nomenclatura e região de interesse, foram: *MLL* (11q23); *AF4* (4q21); *AF6* (6q27); *AF9* (9p22) e *AF10* (10q21), posteriormente, foi realizado o *BLAST* das sequências para a obtenção de uma maior confiabilidade. Todas as sequências possuíram um *Query Cover* de 100% com um percentual de identidade de 100,00% e um *E – Value* igual a 0,0 (Tabela 2).

**Tabela 2** Alinhamento global das sequências em seu estado selvagem

Gene	Accession	Max Score	Total Score	E - value	Per. Ident.	Query Cover
MLL (11q23)	AF036405.1	82570	83230	0.0	100.00%	100%
AF4 (4q21)	AF177231.1	10959	10959	0.0	100.00%	100%
AF6 (6q27)	NM_001040000.3	14231	14231	0.0	100.00%	100%

AF9 (9p22)	NM_001286691.2	12253	12253	0.0	100.00%	100%
AF10 (10q21)	Ay598745.1	6202	6202	0.0	100.00%	100%

A tabela demonstra os valores obtidos após o alinhamento global das sequências selvagens a partir das bandas específicas usando o *software BLASTn*, onde foram tabuladas as informações: Max Score; Total Score; E – Value; Per. Ident e Query Cover.

A árvore criada para comparar a proximidade das sequências só foi possível ser realizada utilizando o método de máxima parcimônia, pois o mesmo visa a seleção da árvore filogenética mais simples, isto se deve ao fato de que neste método, a melhor árvore é considerada a mais simples, quanto menor a árvore filogenética, menor será a mudança de bases. Os outros métodos não geraram árvore, tendo em vista que os genes são muito distantes e em cromossomos diferentes. Foi encontrado na análise das sequências em seu estado selvagem: 340 sítios conservados; 7366 sítios variáveis; 1969 parsimônio informativo e 4568 singletons (Tabela 3).

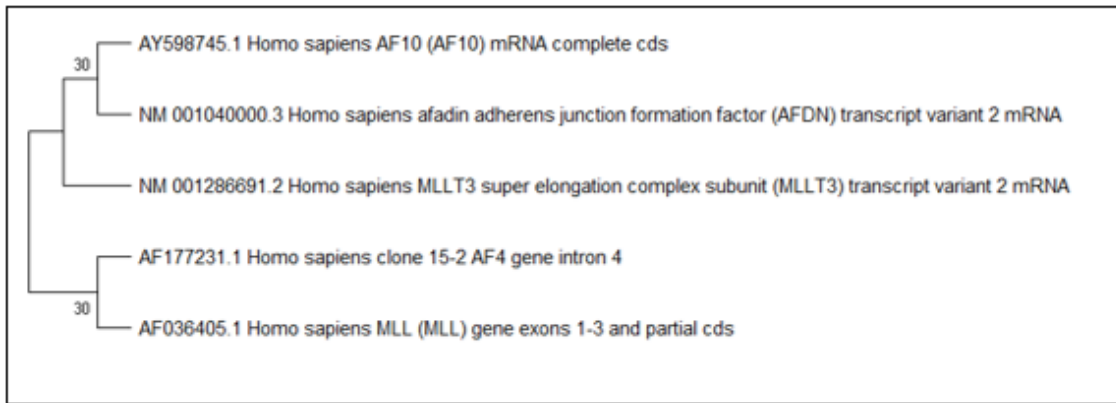
**Tabela 3** Valores encontrados após análise comparativa das sequências

	Sequências em estado selvagem	Sequências translocadas
Sítios Conservados	340	191
Sítios Variáveis	7366	1507
Parsimônio Informativos	1969	135
Singletons	4568	75

A tabela demonstra os valores obtidos após análise comparativo das sequências em seu estado selvagem e após a translocação

Apesar da alta diferença entre as sequências, que pode ser explicado por sua diferença de localização, foi possível observar, na montagem da árvore filogenética, que entre as sequências selvagens houve uma maior aproximação entre os genes *MLL* e *AF4*, que estão unidos através de um nó, bem como os genes *AF6* e *AF10*. Foi utilizado um *bootstrap* de 1000 para construção da árvore (Figura 1).

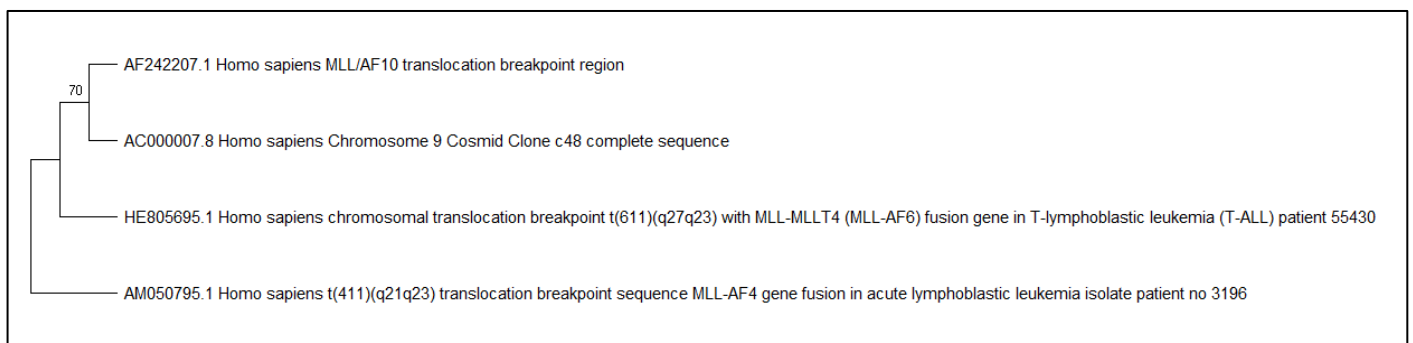
**Figura 1** Árvore filogenética das sequências em seu estado selvagem



A história evolutiva foi inferida usando o método da Parcimônia Máxima. A árvore mais parcimoniosa com comprimento = 14327 é mostrada. O índice de consistência é (0,704425), o índice de retenção é (0,321483) e o índice composto é 0,291505 (0,226461) para todos os sites e sites informativos de parcimônia (entre parênteses). A porcentagem de árvores replicadas nas quais os táxons associados agrupados no teste de bootstrap (1000 réplicas) são mostradas ao lado dos ramos Felsenstein J. (1985). A árvore MP foi obtida usando o algoritmo Subtree-Pruning-Regrafting (SPR) (pág. 126 na ref. Nei M. and Kumar S. (2000) com nível de pesquisa 1 em que as árvores iniciais foram obtidas pela adição aleatória de sequências (10 repetições). Esta análise envolveu 5 sequências de nucleotídeos. As posições de códon incluídas foram 1<sup>a</sup> + 2<sup>a</sup> + 3<sup>a</sup> + Não codificantes. Havia um total de 44725 posições no conjunto de dados final. As análises evolutivas foram conduzidas no MEGA X Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018).

Ao analisar a árvore filogenética com as sequências translocadas, foi possível observar que houve uma maior aproximação entre as translocações *MLL – AF10* e *MLL – AF9* que estão unidos por um único nó da árvore, não obstante, a translocação *MLL – AF4* foi a mais distantes entre as quatro translocações. Foi usado um *bootstrap* de 1000 para construção da árvore (figura 2).

**Figura 2** Arvore filogenética das sequências translocadas



A história evolutiva foi inferida usando o método da Parcimônia Máxima. A árvore mais parcimoniosa com comprimento = 2154 é mostrada. O índice de consistência é (0,616438), o índice de retenção é (0,377778) e o índice composto é 0,363045 (0,232877) para todos os sites e sites informativos de parcimônia (entre parênteses). A porcentagem de árvores replicadas nas quais os táxons associados agrupados no teste de bootstrap (1000 réplicas) são mostradas próximo aos ramos (Felsenstein J. 1985). A árvore MP foi obtida usando o algoritmo Subtree-Pruning-Regrafting (SPR) (pág. 126 na ref. Nei M. and Kumar S. (2000) com nível de pesquisa 1 em que as árvores iniciais foram obtidas pela adição aleatória de sequências (10 repetições). Esta análise envolveu 4 sequências de nucleotídeos. As posições de códon incluídas foram 1<sup>a</sup> + 2<sup>a</sup> + 3<sup>a</sup> + Não codificantes. Havia um total de 40556 posições no conjunto de dados final. As análises evolutivas foram conduzidas no MEGA X (Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. 2018).



Estudos demonstram que aproximadamente 80% dos casos de LLA na infância é *r-MLL* e, assim como já foi anteriormente descrito, é caracterizado como um fator de mal prognóstico. Pacientes com estas particularidades possuem alta possibilidade de infiltração no sistema nervoso central e/ou recidivas (ZHANG et al., 2019). Em geral, estes pacientes são submetidos a tratamento intensivo de quimioterapia e/ou transplantes de medula óssea, o que pode aumentar as possibilidades de complicações futuras. Sendo assim, é de extrema importância a compreensão de todos os fatores intrínsecos a gênese de LLA *r-MLL*, para maior compreensão e futuramente um melhor estabelecimento de terapias multimodais com maiores expectativas.

A LLA *r-MLL* em comparação a LLA não-rearranjo (LLA *n-MLL*) possui uma alta progressão, com início súbito e evolução bastante agressiva. Em bebês (< 1 ano) é comum encontrar uma LLA com hiperleucocitose, com um início abrupto de rápida progressão, já em adultos é comum ser encontrado em quadros recidivados, que passaram por tratamento quimioterápico alternativo, piorando assim o prognóstico (BRITTEN; RAGUSA; TOSI, 2019).

O gene *MLL* é responsável pela produção de um coativador transcricional com influência na regulação da expressão gênica de genes envolvidos no processo de hematopoese (NCBI, 2020). O gene *AF4* que possui uma maior frequência no rearranjo, possui uma atuação na regulação de expressão, atuando principalmente no processo de remodelação e alongamento da cromatina, também sendo apontado como um dos genes responsáveis pela produção de uma glicoproteína que influencia na sobrevivência de células leucêmicas, a glicoproteína CD133 (NCBI, 2020). O *AF6* é apontado como um gene que possui um produto proteico com multi-domínio e está envolvido no processo de junção celular na embriogênese (NCBI, 2020). O *AF10* é um gene responsável pela produção de um fator de transcrição, contudo o mesmo apresenta várias isoformas com outras funções (NCBI, 2020). Em contrapartida, a função do gene *AF9* ainda não está bem descrita, estima-se que este gene possua função regulatória (WINTERS; BERNT, 2017).

A indagação da similaridade gênica foi baseada no contexto de que nesses rearranjos apesar de serem formados por genes distantes apresentam fenótipo de LLA similar. Não foi encontrado na literatura trabalhos que expliquem a fundo o motivo da similaridade fenotípica da LLA que apresenta esses tipos de rearranjo *r-MLL*.

Em geral, o rearranjo *MLL* é mais incidente em LLA de células B ou Pró-B, contudo, Meyer et al. (2018), demonstra que o gene *AF6* possui recorrência em LLA de



células T, além de possuírem uma caracterização peculiar que é também a expressão de marcadores mieloides na superfície do blasto, diante disto, o mesmo apresenta uma caracterização de linhagem mista. Apesar do rearranjo envolvendo o gene *AF9* possuir uma incidência maior que as translocações envolvendo o gene *AF6*, sua aparição ainda é baixa. De maneira geral, as características fenotípicas possuem diferenças e podem ser encontradas em LLA pró – B ou pré – B, além de sua ambiguidade de linhagem, nesse contexto a heterogeneidade fenotípica ainda é uma questão a ser bastante discutida (MEYER et al., 2018b; SMITH et al., 2017; WINTERS; BERNT, 2017).

A atividade carcinogênica do rearranjo *MLL* é atribuída a proteína de fusão, de modo sucinto a proteína do *MLL* em seu estado selvagem não possui a porção N – terminal funcional, contudo, na proteína de fusão a porção N – terminal é originada do gene parceiro ao qual possui esta região funcional, levando a possibilidade de ligação com DNA e proteínas remanescentes formando complexos que influenciam no controle epigenético (CHAER; KENG; BALLEEN, 2020; SONG et al., 2019). Sendo assim, a similaridade fenotípica pode ser, de certa forma, demonstrada pela aquisição do domínio funcional e abrindo a possibilidade de novas interações na regulação epigenética. Desta forma, estes resultados podem ser confirmados no presente estudo que mostrou que os genes *AF4*, *AF6*, *AF9* e *AF10* apesar de estarem envolvidos em um rearranjo e contribuírem para a gênese leucêmica de fenótipo similar possuem uma alta diferença genotípica, além de suas características e funções.

Foi observado que nas sequências translocadas, o perfil de similaridade genotípico foi menor (Sítios Conservados: 191; Sítios Variáveis: 1507; Parsimônio Informativos: 135; Singletons: 75), que nas sequências selvagens. Estes resultados se refletem devido ao fato de que as sequências translocadas apresentam informações de dois genes, e conseqüentemente apresentarão uma maior variação genotípica.

Na análise filogenética das sequências selvagens o gene *MLL* e o *AF4* foram os mais próximos, estando unidos por um nó da árvore (Figura 1). Em contrapartida, na análise entre as sequências translocadas, foi possível observar que a sequência da fusão *MLL – AF4* apresentou-se como a fusão aparentemente mais primitiva e que as outras aconteceram evolutivamente posterior a *MLL-AF4* (Figura 2). Contudo, não foi possível correlacionar com dados da literatura, o que demonstra mais uma vez, a necessidade de estudos a respeito das translocações com *MLL* que causam LLA.

#### 4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, é interessante destacar que mesmo com a semelhança fenotípica dos rearranjos *MLL* na LLA, houve uma diferença significativa entre as sequências, tanto em estado selvagem quanto translocadas. Sendo assim, podemos concluir que mais estudos são necessários para compreender melhor a dinâmica dos genes envolvidos na translocação com o gene *MLL* que causam a LLA, tendo em vista que tais informações podem aprimorar o desenvolvimento de técnicas e tratamentos de cunho multimodal a fim de melhorar o quadro de prognóstico de pacientes com LLA r – *MLL*, além de proporcionar um maior entendimento das características moleculares presentes nesta patologia.

## REFERÊNCIAS

BRITTEN, O.; RAGUSA, D.; TOSI, S. Is There a Role for CAR-T Cell Therapy ? **Cells**, v. 8(11):1341, p. 1–22, 2019.

CHAER, F. EL; KENG, M.; BALLEEN, K. K. MLL -Rearranged Acute Lymphoblastic Leukemia. **Current Hematologic Malignancy Reports**, v. 15, p. 83–89, 2020.

JIMÉNEZ-MORALES, S.; HIDALGO-MIRANDA, A. Leucemia linfoblástica aguda infantil : una aproximación genómica. **Boletín Médico del Hospital Infantil de México**, v. 74, n. 1, p. 13–26, 2017.

KERRY, J. 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**, v. 18, n. 2, p. 482–495, 2017.

KRIVTSOV, A. V et al. Article A Menin-MLL Inhibitor Induces Specific Chromatin Changes and Eradicates Disease in Models of MLL - Rearranged Leukemia Article A Menin-MLL Inhibitor Induces Specific Chromatin Changes and Eradicates Disease in Models of MLL -Rearranged Leukemia. **Cancer Cell**, v. 36, n. 6, p. 660- 673.e11, 2019.

LAGUNAS-RANGEL, F. A. Leucemia mieloide aguda. Una perspectiva de los mecanismos moleculares del cáncer. **Gaceta Mexicana de Oncología**, v. 15, n. 3, p. 150–157, 2016.

LIN, S. et al. Instructive Role of MLL-Fusion Proteins Revealed by a Model of t(4;11) Pro-B Acute Lymphoblastic Leukemia. **Cancer Cell**, v. 30, n. 5, p. 737–749, 2016.

Meyer C, Burmeister T, Gröger D, Tsaour G, Fechina L, Renneville A, Sutton R, Venn NC, Emerenciano M, Pombo-de-Oliveira MS, Barbieri Blunck C, Almeida Lopes B, Zuna J, Trka J, Ballerini P, Lapillonne H, De Braekeleer M, Cazzaniga G, Corral Abascal L, van der Velden VHJ, Delabesse E, Park TS, Oh SH, Silva MLM, Lund-Aho T, Juvonen V, Moore AS, Heidenreich O, Vormoor J, Zerkalenkova E, Olshanskaya Y, Bueno C, Menendez P, Teigler-Schlegel A, Zur Stadt U, Lentjes J, Göhring G, Kustanovich A, Aleinikova O, Schäfer BW, Kubetzko S, Madsen HO, Gruhn B, Duarte X, Gameiro P, Lippert E, Bidet A, Cayuela JM, Clappier E, Alonso CN, Zwaan CM, van den Heuvel-Eibrink MM, Izraeli S, Trakhtenbrot L, Archer P, Hancock J, Möricke A, Alten J, Schrappe M, Stanulla M, Strehl S, Attarbaschi A, Dworzak M, Haas OA, Panzer-Grümayer R, Sedék L, Szczepański T, Caye A, Suarez L, Cavé H, Marschalek R. The MLL recombinome of acute leukemias in 2017. *Leukemia*. 2018 Feb;32(2):273-284. doi: 10.1038/leu.2017.213. Epub 2017 Jul 13. PMID: 28701730; PMCID: PMC5808070. SMITH, M. J. et al. Evolution of AF6-RAS association and its implications in mixed-lineage leukemia. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, 2017.

Felsenstein J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.

Nei M. and Kumar S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.

Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549

Song X, Yang L, Wang M, Gu Y, Ye B, Fan Z, Xu RM, Yang N. A higher-order configuration of the heterodimeric DOT1L-AF10 coiled-coil domains potentiates their leukemogenic activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Oct 1;116(40):19917-19923. doi: 10.1073/pnas.1904672116. Epub 2019 Sep 16. PMID: 31527241; PMCID: PMC6778216.

WINTERS, A. C.; BERNT, K. M. MLL-rearranged leukemias- An update on science and clinical approaches. *Frontiers in Pediatrics*, v. 5, n. February, p. 11–13, 2017.

Wu Y, Doepner M, Hojnacki T, Feng Z, Katona BW, He X, Ma J, Cao Y, Busino L, Zhou F, Hua X. Disruption of the menin-MLL interaction triggers menin protein degradation via ubiquitin-proteasome pathway. *Am J Cancer Res*. 2019 Aug 1;9(8):1682-1694. PMID: 31497350; PMCID: PMC6726985.

Yang L, Ding L, Liang J, Chen J, Tang Y, Xue H, Gu L, Shen S, Li B, Chen J. Relatively favorable prognosis for MLL-rearranged childhood acute leukemia with reciprocal translocations. *Pediatr Blood Cancer*. 2018 Oct;65(10):e27266. doi: 10.1002/pbc.27266. Epub 2018 Jun 26. PMID: 29943896.

ZHANG, H. et al. Identification of hub genes and molecular mechanisms in infant acute lymphoblastic leukemia with MLL gene rearrangement. *PeerJ*, v. 2019, n. 8, 2019.