

Received: 2015.10.27
Accepted: 2016.12.09
Published: 2017.05.17

Rola SRSF1 w procesie nowotworzenia*

The role of SRSF1 in cancer

Elżbieta Sokół, Joanna Bogusławska, Agnieszka Piekiełko-Witkowska

Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Streszczenie

SRSF1 jest wielofunkcyjnym białkiem biorącym udział w procesach związanych z metabolizmem RNA. Następstwem zaburzeń ekspresji SRSF1, obserwowanych w wielu typach nowotworów, są nieprawidłowości w składaniu pre-mRNA, zmiany stabilności transkryptów i poziomu translacji onkogenów oraz genów supresorowych. Regulując różnicowe składanie transkryptów genów *CCND1*, *RAC1*, *KLF6*, *BCL2L1*, *MCL1* oraz *CASP9*, SRSF1 indukuje zmiany w cyklu komórkowym, proliferacji i apoptozie. Czynnikiem SRSF1 wpływa także na angiogenezę nowotworową i przerzutowanie, m.in. promując powstawanie proangiogennych wariantów *VEGF* oraz wariantu splicingowego genu *RON*, który aktywuje proces przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego. Ze względu na istotną rolę SRSF1 w rozwoju i progresji nowotworów, białko to jest obiecującym celem terapii przeciwnowotworowych wykorzystujących związki hamujące jego aktywność.

W artykule przedstawiono najnowsze informacje o wpływie SRSF1 na nowotworzenie oraz jego potencjalne znaczenie w opracowaniu nowych strategii w leczeniu chorych z nowotworami.

Słowa kluczowe:

SRSF1 • różnicowe składanie pierwotnego transkryptu • nowotworzenie • starzenie komórkowe • przejście nabłonkowo-mezenchymalne

Summary

Splicing factor SRSF1 is a multifunctional protein involved in the regulation of alternative splicing and other processes related to RNA metabolism. The consequences of altered SRSF1 expression, often observed in cancer, include disturbances of alternative splicing, mRNA stability and translation of oncogenes and tumor suppressors. SRSF1 introduces changes in alternative splicing of *CCND1*, *RAC1*, *KLF6*, *BCL2L1*, *MCL1* and *CASP9*, thereby inducing changes in the cell cycle, proliferation and apoptosis. Furthermore, SRSF1 regulates tumor angiogenesis and metastasis by promoting synthesis of proangiogenic variants of *VEGF* and a splice variant of *RON* that activates epithelial-mesenchymal transition. Due to its important role in tumor progression, SRSF1 is considered as a promising target of anticancer therapies.

The aim of this review is to discuss recent findings on the role of SRSF1 in cancer and its potential significance in development of new anticancer strategies.

Keywords:

SRSF1 • alternative splicing • carcinogenesis • cellular senescence • epithelial-mesenchymal transition

*Praca finansowana z grantów: Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (nr POMOST/2012-6/1, projekt współfinansowany przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego) i Narodowego Centrum Nauki (nr 2014/13/B/NZ5/00283).

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1238140>

Word count: 2622
Tables: 2
Figures: 1
References: 68

Adres autorki: dr Joanna Bogusławska, Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, ul. Marymoncka 99/103, 01-813 Warszawa; e-mail: joanna.boguslawska@cmkp.edu.pl

Wykaz skrótów: **eIF4E** – eukariotyczny czynnik inicjujący translację 4E (eukaryotic translation initiation factor 4E), **EMT** – przejście nabłonkowo-mezenchymalne (epithelial-mesenchymal transition), **ESE** – sekwencja wzmacniająca składanie pre-mRNA, znajdująca się w eksonie (exonic splicing enhancer), **MOMP** – permeabilizacja zewnętrznej błony mitochondrialnej (mitochondrial outer membrane permeabilization), **NMD** – proces degradacji mRNA zawierających przedwczesny kodon STOP (nonsense-mediated mRNA decay), **OIS** – starzenie indukowane onkogenami (oncogene-induced senescence), **shRNA** – krótkie RNA o strukturze spinki (small hairpin RNA, short hairpin RNA).

WSTĘP

Nowotworzenie to wieloetapowy proces, w którym zachodzące w komórce zmiany genetyczne i epigenetyczne zaburzają proliferację, apoptozę i różnicowanie komórek. Dalsze etapy rozwoju nowotworu obejmują wykształcenie naczyń krwionośnych w guzie (angiogeneza, umożliwiającą jego wzrost), naciekanie sąsiadujących tkanek oraz powstanie przerzutów [19]. Jednym z wielu procesów, których nieprawidłowości tworzą molekularne podłoże rozwoju nowotworów, jest różnicowe składanie pierwotnego transkrypty (alternative splicing). Proces ten polega na wycinaniu z pre-mRNA intronów i różnicowym łączeniu eksonów, co umożliwia syntezę wielu różnych wariantów cząsteczek transkryptów na matrycy tego samego genu [66]. Zaburzenia składania pre-mRNA, zachodzące w nowotworach, mogą prowadzić do powstawania nieprawidłowych izoform mRNA lub zmiany stosunków ilościowych między prawidłowymi wariantami transkryptów [64]. W niektórych przypadkach powstające nieprawidłowe warianty mRNA nie są usuwane przez mechanizmy obronne komórki, lecz podlegają procesowi translacji, stanowiąc podstawę syntezy wadliwych białek, w tym regulatorów apoptozy, cyklu komórkowego czy angiogenezy [62]. W wyniku zaburzeń różnicowego składania pre-mRNA na matrycy tego samego genu mogą powstawać białka o przeciwnych właściwościach, promujące bądź hamujące nowotworzenie. Istotną rolę w tym procesie pełni białko SRSF1, jeden z podstawowych czynników regulujących proces różnicowego składania pierwotnego transkrypty.

SRSF1: BUDOWA, REGULACJA I FUNKCJE

Gen kodujący białko SRSF1 jest umiejscowiony na chromosomie 17q22. W regulacji ekspresji SRSF1 uczestniczy m.in. czynnik transkrypcyjny Myc, który aktywuje ekspresję SRSF1 i za jego pośrednictwem stymuluje proliferację, indukując zmiany w składaniu transkryptów

genów kodujących kinazę Mnk2 oraz regulator transkrypcji Tef1 [4]. Powstający na matrycy genu SRSF1 pierwotny transkrypt podlega procesowi różnicowego składania, w wyniku którego powstaje co najmniej sześć wariantów mRNA. Większość tych transkryptów nie podlega translacji lecz ze względu na obecność przedwczesnych kodonów STOP, jest degradowana w procesie NMD (nonsense-mediated mRNA decay) [58]. Translacji ulega głównie wariant 1 i to jemu jest poświęcona zdecydowana większość opublikowanych na temat SRSF1 prac. W badaniach prowadzonych na kurzej linii komórkowej DT40-ASF wykazano funkcjonalne znaczenie wariantu 3 SRSF1, który działa jako inhibitor kompetycyjny głównego wariantu 1, hamując składanie transkrypty genu IgV [22]. Różnicowe składanie pre-mRNA SRSF1 jest regulowane m.in. przez czynnik składania SRSF3. Wyciszenie ekspresji SRSF3 w komórkach raka wątrobowokomórkowego zmienia składanie transkryptów SRSF1 w kierunku zwiększonej ekspresji wariantu podlegającego procesowi NMD, co zmniejsza poziom białka SRSF1 [35].

Istotną rolę w regulacji ekspresji SRSF1 pełnią mikroRNA: krótkie, niekodujące cząsteczki RNA, które wiążą się do transkryptów regulowanych genów i modulują ich ekspresję. Wykazano, że miR-7, miR-28 i miR-505 hamują translację SRSF1, natomiast miR-10a i 10b powodują degradację mRNA tego czynnika [32,63,65].

Podobnie jak kilka innych czynników składania RNA [21,27,59], SRSF1 ma zdolność autoregulacji własnej ekspresji, wpływając na proces różnicowego składania pre-mRNA oraz wydajność translacji. Zwiększony poziom ekspresji SRSF1 doprowadza do przesunięcia różnicowego składania jego pre-mRNA w kierunku syntezy wariantów zawierających przedwczesny kodon STOP, które podlegają degradacji w procesie NMD [14,58]. SRSF1 hamuje też wydajność własnej translacji, prawdopodobnie wpływając na wiązanie mRNA z polirybosomami [58]. Innym mechanizmem, wykorzystywanym

przez SRSF1 do regulacji własnej ekspresji, jest interferencja RNA. SRSF1 promuje bowiem dojrzewanie mikroRNA miR-7, który zwrotnie hamuje jego translację [65].

Białko SRSF1 (dawna nazwa SF2/ASF) należy do grupy białek SR (serine- and arginine-rich proteins), regulujących proces składania pre-mRNA. W budowie SRSF1 wyróżnia się dwie domeny RRM (RNA recognition motif), których główną rolą jest wiązanie RNA oraz bogatą w reszty seryny i argininy domenę RS, uczestniczącą m.in. w oddziaływaniach z innymi białkami [25,46].

Na lokalizację i funkcjonowanie SRSF1 w istotny sposób wpływają modyfikacje potranslacyjne. SRSF1 należy do grupy białek przemieszczających się między kompartmentami komórkowymi i w zależności od stopnia ufosforylowania domeny RS umiejscawia się w jądrze komórkowym lub w cytoplazmie. Fosforylacja SRSF1 wpływa na jego oddziaływanie z innymi białkami oraz wiązanie RNA. Zarówno zbyt wysoki, jak i zbyt niski poziom fosforylacji SRSF1 uniemożliwia jego udział w obróbce mRNA [6,47]. Głównym miejscem fosforylacji SRSF1 są reszty seryny w domenie RS. Fosforylacja SRSF1 jest katalizowana przez kinazy SRPK, Clk, AKT, NEK2, PRP4, PKA i topoizomerazę I [14,41]. Kinaza SRPK1 fosforyluje pierwsze 12 reszt seryny domeny RS, co umożliwia oddziaływanie z transportyną SR-2 i w konsekwencji transport SRSF1 z cytoplazmy do znajdujących się w jądrze komórkowym struktur zwanych ziarnistościami jądrowymi (nuclear speckles lub IGC – interchromatin granule cluster). Tam kinaza Clk fosforyluje pozostałe reszty seryny, co prowadzi do rozproszenia SRSF1 w nukleoplazmie i umożliwia jego udział w składaniu pre-mRNA. Defosforylacja SRSF1, katalizowana przez fosfatazy PP1 i PP2A, powoduje jego translokację z jądra komórkowego do cytoplazmy, gdzie zachodzi proteolityczna degradacja tego białka [14].

Na wewnątrzkomórkowe umiejscowienie SRSF1 wpływa również metylacja reszt argininy (R93, R97 i R109). Zahamowanie metylacji powoduje akumulację SRSF1 w cytoplazmie, zwiększając aktywność tego czynnika w procesie translacji, a jednocześnie uniemożliwia udział SRSF1 w procesach przebiegających w jądrze komórkowym: składaniu RNA i procesie NMD [54].

SRSF1, wraz z innymi białkami SR, uczestniczy w regulacji składania pierwotnego transkryptu, zarówno kanonicznym, jak i różnicowym [50]. W składaniu kanonicznym umożliwia rozpoznanie eksonów i odróżnienie ich od intronów. W procesie różnicowego składania pre-mRNA SRSF1 oddziałuje m.in. z sekwencjami ESE (exonic splicing enhancers) i wpływa na wybór alternatywnych miejsc składania 3' lub 5' [64].

Poza istotną rolą w regulacji składania pierwotnego transkryptu, SRSF1 wpływa także na stabilność transkryptów [57], ich eksport z jądra komórkowego do cytoplazmy [50,60] oraz proces NMD [48,67].

SRSF1 reguluje również proces dojrzewania cząsteczek miRNA. Prekursory tych cząsteczek, zwane pri-miRNA, są syntetyzowane przez polimerazę RNA typu II, po czym podlegają obróbce przez rybonukleazy Dicer i Drosha. SRSF1 bierze udział w dojrzewaniu niektórych prekursorów miRNA (m.in. miR-7, miR-221, miR-222), wiążąc się z nimi i ułatwiając ich cięcie przez enzym Drosha [65].

SRSF1 wpływa jednocześnie na proces inicjacji translacji, regulując fosforylację białek oddziałujących z tzw. czapeczką mRNA (cap). Główną rolę w inicjacji translacji pełni białko eIF4E (eukaryotic translation initiation factor 4E), którego oddziaływanie z komponentami kompleksu wiążącego czapeczkę jest hamowane przez białko 4E-BP1. Fosforylacja 4E-BP1 przez kinazę mTOR uwalnia eIF4E, które wówczas może wiązać się z czapeczką mRNA i aktywować translację. Natomiast defosforylacja 4E-BP1 przez fosfatazę PP2A umożliwia ponowne oddziaływanie z eIF4E, blokując udział tego czynnika w procesie inicjacji translacji. SRSF1 reguluje inicjację translacji oddziałując zarówno z kinazą mTOR, jak i fosfatazą PP2A. Rekrutując mTOR do kompleksu związanych z mRNA białek, SRSF1 umożliwia fosforylację 4E-BP1 i aktywację inicjacji translacji przez eIF4E. Związanie fosfatazy PP2A przez SRSF1 powoduje zahamowanie jej aktywności, a tym samym defosforylację eIF4E, co również umożliwia aktywację translacji [33]. Wykorzystując ten mechanizm SRSF1 wpływa na translację ponad tysiąca różnych białek, zwłaszcza tych związanych z regulacją cyklu komórkowego. Aktywność SRSF1 jest więc niezbędna do prawidłowej progresji cyklu komórkowego [29].

Podsumowując, czynnik SRSF1 wpływa na wiele różnych mechanizmów regulacji ekspresji genów, począwszy od transkrypcji, poprzez składanie pre-mRNA, stabilność transkryptów i translację. Nie jest więc zaskakujące, że zaburzenia funkcjonowania SRSF1 mogą przekładać się na nieprawidłowości w funkcjonowaniu komórki, w tym te związane z procesem nowotworzenia.

WPLYW SRSF1 NA PROCES NOWOTWORZENIA

Jak wspomniano wyżej, ekspresja SRSF1 podlega kompleksowej kontroli, obejmującej procesy transkrypcji i obróbki potranskrypcyjnej. Mimo to w wielu typach nowotworów, m.in. w raku nerki, okrężnicy, tarczycy czy płuca, obserwuje się zaburzenia ekspresji SRSF1 (tab. 1). Zwiększenie ekspresji SRSF1 często wynika z amplifikacji locus 17q23; w raku piersi amplifikacja ta jest skorelowana z niską przeżywalnością pacjentów [53].

Większość badań nad funkcjonowaniem SRSF1 w komórkach nowotworowych, prowadzonych zarówno *in vitro* jak i *in vivo*, wskazuje na onkogeną rolę tego białka. Stosunkowo niewielkie (mniej niż dwukrotne) zwiększenie poziomu ekspresji SRSF1 wystarcza do transformacji nowotworowej fibroblastów NIH 3T3 i formowania mięsaków u myszy. Wyciszenie SRSF1 za pomocą shRNA pozwala na odwrócenie nowotworowego fenotypu komórek oraz zahamowanie rozwoju guzów u myszy

Tabela 1. Zmiany ekspresji SRSF1 w nowotworach

Nowotwór	Zmiana ekspresji SRSF1	Piśmiennictwo
Rak piersi	Wzrost	[2]
Gruzołakorak płuca	Wzrost (w 63% przypadków)	[16]
Płaskonabłonkowy rak płuca	Wzrost (w 68% przypadków)	[16]
Rak okrężnicy	Wzrost	[23]
Rak tarczycy	Wzrost	[23]
Rak jelita cienkiego	Wzrost	[23]
Rak nerki	Wzrost	[23]
Niedrobnokomórkowy rak płuca	Wzrost	[7,17]
Rak nerkowokomórkowy typu jasnokomórkowego	Wzrost (w 18% przypadków) Spadek (w 40% przypadków)	[43]
Gruzołak przysadki	Wzrost	[42]

[23]. Nadekspresja SRSF1 w hodowlach 3D komórek MCF-10A aktywuje wzrost nowotworu z powodu zwiększonej proliferacji komórek i zahamowania apoptozy [16]. Wzrost poziomu SRSF1 w komórkach gruczolakoraka płuca skutkuje zwiększoną agresywnością nowotworu, spowodowaną aktywacją szlaków sygnałowych PI3K/AKT i p42/44 MAPK, zwiększoną zdolnością komórek do tworzenia kolonii w agarze i ich opornością na cytostatyki: karboplatynę i paklitaksel [2].

Kancerogenne działanie SRSF1 wynika w dużej mierze z jego zdolności do regulacji ekspresji onkogenów (tab. 2). SRSF1 może też jednak promować syntezę białek o właściwościach supresorów nowotworzenia, hamujących proliferację i aktywujących apoptozę. Przykłady obu tych sposobów działania SRSF1 omówiono niżej.

SRSF1 JAKO MODULATOR PROLIFERACJI, STARZENIA KOMÓRKOWEGO I APOPTOZY

Transformacja nowotworowa jest ściśle związana z nabyciem przez komórki zdolności do nieograniczonych podziałów oraz utratą wrażliwości na sygnały indukujące apoptozę [18,19]. SRSF1 wpływa na działanie wielu białek kontrolujących oba te procesy.

Cyklina D1 (kodowana przez gen *CCND1*) jest ważnym regulatorem cyklu komórkowego. W raku stercza SRSF1 promuje powstawanie wariantu mRNA cykliny D1 pozbawionego eksonu 5 [37]. Powstające na matrycy tego transkryptu białko D1b promuje wzrost komórek niezależny od kontaktu z podłożem umożliwiając ich inwazyjność [24].

Mała GTP-aza Rac1 należy do rodziny białek Rho kontrolujących ścieżki sygnałowe odpowiedzialne za regulację transkrypcji genów i funkcjonowanie cytoskieletu aktynowego. W komórkach raka jelita grubego SRSF1 wiąże się do sekwencji ESE w eksonie 3b pre-mRNA Rac1 i promuje jego włączenie do dojrzalej cząsteczki transkryptu [15]. Powstaje w ten spo-

sób izoforma Rac1b, której zwiększoną ekspresję obserwuje się w raku jelita grubego i w wielu innych nowotworach [20,49,52,56]. W porównaniu z klasycznym białkiem Rac1, wariant Rac1b charakteryzuje się zwiększoną zdolnością wymiany nukleotydów, zmniejszoną szybkością hydrolizy GTP i brakiem zdolności do oddziaływania z regulatorowym białkiem GDI, które w warunkach fizjologicznych odpowiada za sekwestrację Rac1 w cytoplazmie [30]. W odróżnieniu od klasycznego białka Rac, wariant Rac1b nie aktywuje szlaków sygnałowych powodujących rozwój lamellipodiów czy aktywacji kinaz PAK1 i JNK. Rac1b jest natomiast zdolny do aktywacji szlaku NF- κ B, który odpowiada za inicjację odpowiedzi antyapoptotycznej w komórce, a także promuje progresję cyklu komórkowego przez wzrost ekspresji cykliny D1 [15].

KLF6 jest supresorem nowotworzenia należącym do rodziny czynników transkrypcyjnych regulujących cykl komórkowy, różnicowanie komórek i apoptozę. Aktywność białka SRSF1 jest niezbędna do syntezy prawidłowego wariantu KLF6, który hamuje nadmierną proliferację komórek nowotworowych. Wyciszenie ekspresji SRSF1 prowadzi do powstania wariantu SV1, zwiększającego zdolność komórek raka wątrobowokomórkowego do przerzutowania, a więc *de facto* do utraty supresorowych właściwości KLF6 [35].

SRSF1 bierze udział w procesie starzenia indukowanego onkogenami (OIS, oncogene-induced senescence), chroniącym komórki przed transformacją nowotworową. Główną rolę w OIS odgrywa białko p53, określane mianem „strażnika genomu”. Działanie p53 jest regulowane przez ligazę ubikwityny MDM2, która wiąże p53 i promuje jego eksport z jądra do cytoplazmy, a następnie degradację przez ubikwitynację. Swoisty mechanizm OIS, uruchamiany przez nadekspresję SRSF1, polega na przyłączeniu tego białka do MDM2, które w warunkach stresowych wiąże się z rybosomalnym białkiem RPL5 [5,8]. SRSF1 stabilizuje ten kompleks, blokując w ten sposób ubikwitynację podstawowego substratu MDM2,

Tabela 2. Przykłady regulacji splicingu transkryptów genów zaangażowanych w onkogenezę przez SRSF1

Lp	Gen	Białko	Funkcja/Aktywność	Wariant splicingowy promowany przez SRSF1	Wpływ na proces nowotworzenia	Piśmiennictwo
1	VEGFA	VEGF	Regulator angiogenezy	Wariant VEGF ₁₆₅	Wzrost ekspresji wariantu proangiogenego	[1,36]
2	BIN1	BIN1	Supresor nowotworowy	Wariant pozbawiony eksonu 12A	Utrata właściwości supresorowych	[23]
3	RPS6KB1	S6K1	Kinaza białkowa	Forma onkogenna	Promowanie procesu nowotworzenia	[23]
4	MKMK2	MNK2	Kinaza białkowa	Izoforma promująca niezależną od kinazy MAP fosforylację eIF4E	Promowanie procesu nowotworzenia	[23]
5	MST1R (RON)	Ron	Receptor o aktywności kinazy tyrozynowej	ΔRon, konstytutywnie aktywna forma receptora	Zwiększenie zdolności komórek do migracji	[12]
6	CASP9	Kaspaza 9	Regulator apoptozy	Wariant Proapoptotyczny 9a	Indukcja apoptozy	[51]
7	MCL1	Mcl-1	Regulator apoptozy	Wariant antyapoptotyczny Mcl-1 _L	Zahamowanie apoptozy	[10]
8	RAC1	Rac1	Mała GTPaza, regulująca zależny od aktywny ruch komórek i ekspresję genów	Rac1b (posiada alternatywny ekson 3b)	Zmiana właściwości regulatorowych, stymulacja szlaku sygnałowego NF-κB	[15]
9	BCL2L1	Bcl-x	Regulator apoptozy	Wariant antyapoptotyczny Bcl-xL	Zahamowanie apoptozy	[34]
10	KLF6	KLF6	Czynnik transkrypcyjny, supresor nowotworowy	Izoforma KLF6 o pełniej długości	Hamowanie procesu nowotworzenia	[35]
11	IRF3	IRF-3	Regulator odpowiedzi immunologicznej w infekcjach wirusowych	Antagonista izoformy o pełnej długości	Wytworzenie prozapalnego środowiska w obrębie guza	[17]
12	CCND1	Cyklina D1	Regulator cyklu komórkowego	Izoforma D1b promująca niezależny od kontaktu z podłożem wzrost komórek	Promowanie transformacji nowotworowej	[37]
13	FN1	Fibronektyna	Białko macierzy zewnątrzkomórkowej	Izoforma warunkująca zdolność do inwazji	Nabycie przez komórki zdolności inwazyjnych	[28]

czyli p53. Wykazano także, że nadekspresja SRSF1 indukuje w komórce zmiany charakterystyczne dla procesu starzenia komórkowego, takie jak akumulacja β-galaktozydazy, powiększenie i spłaszczenie komórki, obecność pęcherzyków wewnątrzkomórkowych oraz ognisk heterochromatyny, a także znacznie (nawet w 80%) hamuje proliferację komórek [8].

Zaburzenia ekspresji SRSF1 mogą wywołać nieprawidłowości w uruchamianiu programowanej śmierci komórki. W komórkach niedrobnokomórkowego raka płuca wyciszenie ekspresji SRSF1 indukuje apoptozę przez obniżenie stężenia antyapoptotycznego białka surwiwiny. SRSF1 swoicie wiąże się z mRNA surwiwiny i zwiększa jego stabilność, a także wzmacnia translację przez mechanizm zależny od mTORC1 w wyniku fosforylacji i inaktywacji represora translacji 4E-BP1 [7].

Mcl-1 i Bcl-x należą do rodziny białek Bcl2, których charakterystyczną cechą jest obecność 1-4 domen BH (domena homologii z Bcl2, Bcl2-homology domain). Białka zawierające wszystkie 4 domeny działają antyapoptotycznie, hamując permeabilizację zewnętrznej błony mitochondrialnej (MOMP, mitochondrial outer membrane permeabilization) i zatrzymując w ten sposób cząsteczki aktywujące apoptozę we wnętrzu mitochondrium. Natomiast izoformy pozbawione jednej lub więcej domen BH działają proapoptotycznie i aktywują MOMP. Różnicowe składanie pre-mRNA *MCL1* i *BCL-X* powoduje powstanie długich (L) bądź krótkich (S) wariantów mRNA, różniących się obecnością eksonu 2 i domen BH1 i BH2 w syntetyzowanym białku [34]. W rezultacie powstające izoformy białek mają odmienne właściwości: warianty S działają proapoptotycznie, a warianty L hamują apoptozę. W wielu typach nowotworów (m.in. raku piersi, jajnika, jelita grubego i wątroby) obser-

wuje się zwiększoną ekspresję izoform L [10,61], co najprawdopodobniej jest skutkiem wzmożonej aktywności SRSF1. Świadczą o tym badania wykazujące, że obniżenie ekspresji SRSF1 (indukowane za pomocą siRNA bądź inhibitorów komórkowych regulatorów ekspresji SRSF1) powoduje wzrost ekspresji proapoptotycznych izoform Mcl-1_s i Bcl-xS i uwrażliwia komórki na apoptozę [10,34].

SRSF1 nie można jednak przypisać jednoznacznie roli inhibitora apoptozy, na co mogą wskazywać badania nad składaniem pre-mRNA kaspazy 9. Na matrycy genu *CASP9* powstają dwa warianty kaspazy 9, proapoptotyczny (9a) i antyapoptotyczny (9b). Warianty różnią się obecnością kasety zawierającej eksony 3, 4, 5 i 6. Wyciszenie SRSF1 zwiększa syntezę antyapoptotycznego wariantu 9b, z jednoczesnym spadkiem ekspresji wariantu 9a. Zmniejszenie ekspresji kaspazy 9b przy niezmiennym poziomie wariantu 9a uwrażliwia komórki raka płuca na chemioterapeutyki, co może sugerować proapoptotyczną rolę SRSF1. W cytowanej pracy nie przeprowadzono jednak bezpośrednich badań nad wpływem SRSF1 na indukcję apoptozy, co nie wyjaśnia jego potencjalnej aktywności proapoptotycznej [51].

SRSF1 JAKO REGULATOR ANGIOGENEZY

Istotnym etapem rozwoju nowotworu jest wykształcenie w obrębie guza nowych naczyń krwionośnych w procesie angiogenezy [18]. Podstawowym regulatorem angiogenezy jest naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF, vascular endothelial growth factor). Białko to może występować w izoformach wykazujących właściwości zarówno pro-, jak i antyangiogenne. Włączenie do transkryptu VEGF eksonu 8a prowadzi do powstania stymulującej angiogenezę izoformy VEGF₁₆₅. Działanie antyangiogenne wykazuje natomiast białko VEGF₁₆₅b, powstające na matrycy transkryptu pozbawionego eksonu 8a [36,39]. Zaburzenia ekspresji pro- i antyangiogennych wariantów VEGF są często obserwowane w komórkach nowotworowych [3,26,40,45]. Jak już wspomniano, główną rolę w regulacji aktywności SRSF1 odgrywa fosforylacja i związany z nią transport białka z cytoplazmy do jądra komórkowego. Ufosforylowane przez kinazę SRPK1 białko SRSF1 powoduje włączenie do transkryptu VEGF eksonu 8a i syntezę proangiogennej izoformy VEGF₁₆₅. Wyciszenie ekspresji kinazy SRPK1 w komórkach raka jelita grubego zmniejsza syntezę VEGF₁₆₅ i zahamowuje angiogenezę oraz wzrost guzów inokulowanych u myszy [1].

WPŁYW SRSF1 NA PROCES PRZERZUTOWANIA

Przeście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT, epithelial-mesenchymal transition) polega na zmianie właściwości komórek nabłonkowych, które tracą polarność i zdolności adhezyjne, stają się bardziej ruchliwe i mogą dokonywać inwazji sąsiadujących tkanek [44]. EMT jest jednym z podstawowych etapów progresji nowotworowej. Jednym z białek regulujących EMT jest Ron, nale-

żący do rodziny receptorów MET, wpływających na wzrost komórek, ich podatność na apoptozę, zdolność do poruszania się i inwazji macierzy zewnątrzkomórkowej [68]. Wariant Δ Ron, którego ekspresja jest podwyższona w raku piersi i okrężnicy, powstaje na skutek wyłączenia z transkryptu eksonu 11, co powoduje usunięcie 49-aminokwasowego regionu z domeny zewnątrzkomórkowej receptora. Delecja ta istotnie wpływa na właściwości białka, bowiem izoforma Δ Ron wykazuje konstytutywną aktywność także przy braku liganda [12]. Włączenie bądź wyłączenie z transkryptu Ron alternatywnego eksonu 11 jest kontrolowane przez dwie sekwencje regulatorowe umiejscowione w eksonie 12, powodujące wzmocnienie lub wyciszenie składania pre-mRNA. Białko SRSF1 wiąże się do sekwencji wzmacniającej, indukując syntezę Δ Ron. W komórkach nowotworowych zwiększona ekspresja SRSF1 wywołuje nadekspresję wariantu Δ Ron i zmianę morfologii komórek z towarzyszącą reorganizacją cytoskieletu. Komórki takie charakteryzują się wrzecionowatym kształtem, redystrybucją β -kateniny, obniżoną ekspresją E-kadheryny oraz obecnością swoistych markerów mezenchymalnych. W rezultacie nadekspresja SRSF1 zwiększa ruchliwość komórek [12].

SRSF1 JAKO CEL TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

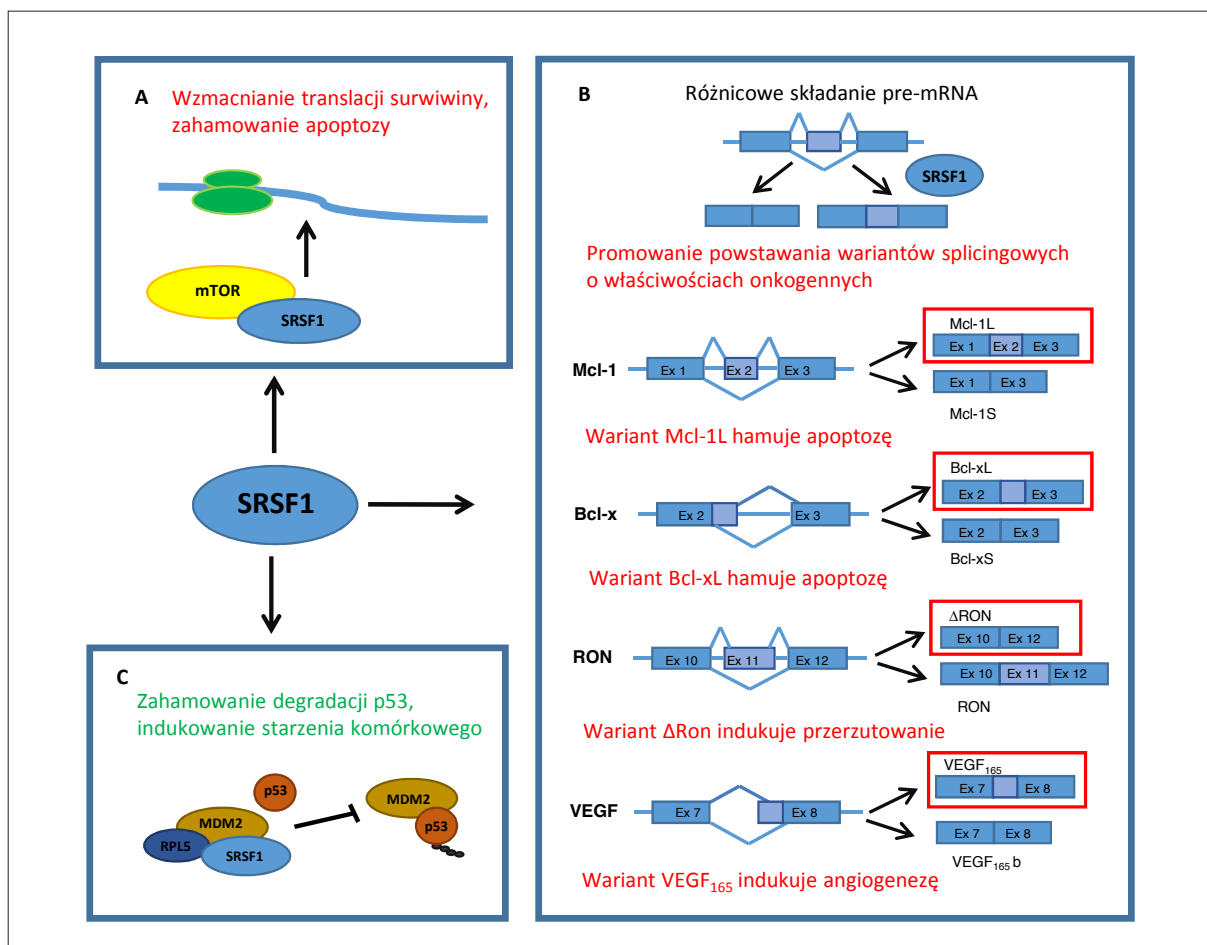
Ze względu na istotne znaczenie SRSF1 w procesie nowotworzenia są podejmowane próby wykorzystania tego czynnika jako celu terapii przeciwnowotworowej. Większość badań skupia się na związkach hamujących fosforylację, czyli główny mechanizm regulujący aktywność SRSF1. Szczególnie obiecujące wydają się badania nad pochodnymi indolu, będącymi inhibitorami fosforylacji katalizowanej przez topoizomerazę I [55]. Należący do tej grupy związek IDC92 selektywnie hamuje aktywowaną przez SRSF1 syntezę Δ Ron i inwazyjność komórek nowotworowych [11]. Wykorzystując drobnocząsteczkowe inhibitory kinazy SRPK1 można wpływać na regulowane przez SRSF1 składanie transkryptów VEGF i Rac [38]. W komórkach raka stercza inhibitor SRPK1 o nazwie SPHINX zwiększa syntezę antyangiogennej izoformy VEGF₁₆₅b, a w mysim modelu tego nowotworu, po podaniu dootrzewnowym, hamuje wzrost guza [31]. Podobne wyniki uzyskano stosując inhibitor SRPIN340 w komórkowym oraz mysim modelu przerzutowego czerniaka [9]. W komórkach raka jelita grubego SRPIN340 obniża ekspresję izoformy Rac1b, podtrzymującej żywotność komórek [13]. Wyniki tych badań sugerują, że inhibitory kinaz fosforylujących SRSF1 mogą znaleźć zastosowanie w terapiach wywołujących śmierć komórek nowotworowych.

PODSUMOWANIE

Białko SRSF1 wpływa wszechstronnie na nowotworzenie, regulując procesy proliferacji, apoptozy, angiogenezy czy przerzutowania. Pod wpływem różnych mechanizmów (regulacja składania pierwotnego transkryptu, stabilność mRNA oraz translacja) SRSF1 wpływa na działanie onkogenów i supresorów nowotworzenia

stanowiących główne ogniwa szlaków sygnałowych, których zaburzenia powodują zachwianie homeostazy komórki. Ze względu na istotną rolę SRSF1 w rozwoju

i progresji nowotworów związki hamujące działanie tego białka mogą się stać w przyszłości podstawą opracowania nowych terapii antynowotworowych.



Ryc. 1. Pleiotropowy wpływ SRSF1 na proces nowotworzenia; A - SRSF1 poprzez oddziaływanie z kinazą mTOR wzmacniania translację antyapoptotycznego białka surwiwiny, co hamuje apoptozę, B - SRSF1 reguluje różnicowe składanie pre-mRNA, indukując syntezę wariantów splicingowych o właściwościach onkogennych. Z udziałem SRSF1 powstają antyapoptotyczne izoformy białek z rodziny Bcl2 regulujących apoptozę: Mcl-1L oraz Bcl-xL, proangiogeny wariant głównego regulatora angiogenezy VEGF₁₆₅ oraz izoforma receptora Ron (ΔRon) stymulująca migrację komórek i inwazję macierzy zewnątrzkomórkowej, C - SRSF1 przyłącza się do kompleksu ligazy ubikwiny MDM2 i rybosomalnego białka PRL5, co powoduje hamowanie degradacji p53 i promowanie procesu określanego jako starzenie indukowane onkogenami

PIŚMIENICTWO

[1] Amin E.M., Oltean S., Hua J., Gammons M.V., Hamdollah-Zadeh M., Welsh G.I., Cheung M.K., Ni L., Kase S., Rennel E.S., Symonds K.E., Nowak D.G., Royer-Pokora B., Saleem M.A., Hagiwara M., Schumacher V.A., Harper S.J., Hinton D.R., Bates D.O., Ladomery M.R.: WT1 mutants reveal SRPK1 to be a downstream angiogenesis target by altering VEGF splicing. *Cancer Cell*, 2011; 20: 768-780

[2] Anczuków O., Rosenberg A.Z., Akerman M., Das S., Zhan L., Karni R., Muthuswamy S.K., Krainer A.R.: The splicing factor SRSF1 regulates apoptosis and proliferation to promote mammary epithelial cell transformation. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2012; 19: 220-228

[3] Bates D.O., Cui T.G., Doughty J.M., Winkler M., Sugiono M., Shields J.D., Peat D., Gillatt D., Harper S.J.: VEGF165b, an inhibitory splice

variant of vascular endothelial growth factor, is down-regulated in renal cell carcinoma. *Cancer Res.*, 2002; 62: 4123-4131

[4] Das S., Anczuków O., Akerman M., Krainer A.R.: Oncogenic splicing factor SRSF1 is a critical transcriptional target of MYC. *Cell Rep.*, 2012; 1: 110-117

[5] Das S., Fregoso O.I., Krainer A.R.: A new path to oncogene-induced senescence: at the crossroads of splicing and translation. *Cell Cycle*, 2013; 12: 1477-1479

[6] Das S., Krainer A.R.: Emerging functions of SRSF1, splicing factor and oncoprotein, in RNA metabolism and cancer. *Mol. Cancer Res.*, 2014; 12: 1195-1204

- [7] Ezponda T., Pajares M.J., Agorreta J., Echeveste J.I., López-Picazo J.M., Torre W., Pio R., Montuenga L.M.: The oncoprotein SF2/ASF promotes non-small cell lung cancer survival by enhancing survivin expression. *Clin. Cancer Res.*, 2010; 16: 4113-4125
- [8] Fregoso O.I., Das S., Akerman M., Krainer A.R.: Splicing-factor oncoprotein SRSF1 stabilizes p53 via RPL5 and induces cellular senescence. *Mol. Cell*, 2013; 50: 56-66
- [9] Gammons M.V., Lucas R., Dean R., Coupland S.E., Oltean S, Bates D.O.: Targeting SRPK1 to control VEGF-mediated tumour angiogenesis in metastatic melanoma. *Br. J. Cancer.*, 2014; 111: 477-485
- [10] Gautrey H.L., Tyson-Capper A.J.: Regulation of Mcl-1 by SRSF1 and SRSF5 in cancer cells. *PLoS One*, 2012; 7: e51497
- [11] Ghigna C., De Toledo M., Bonomi S., Valacca C., Gallo S., Apicella M., Eperon I., Tazi J., Biamonti G.: Pro-metastatic splicing of Ron proto-oncogene mRNA can be reversed: therapeutic potential of bifunctional oligonucleotides and indole derivatives. *RNA Biol.*, 2010; 7: 495-503
- [12] Ghigna C., Giordano S., Shen H., Benvenuto F., Castiglioni F., Comoglio P.M., Green M.R., Riva S., Biamonti G.: Cell motility is controlled by SF2/ASF through alternative splicing of the Ron proto-oncogene. *Mol. Cell*, 2005; 20: 881-890
- [13] Goncalves V., Henriques A., Pereira J.F., Neves Costa A., Moyer M.P., Moita L.F., Gama-Carvalho M., Matos P., Jordan P.: Phosphorylation of SRSF1 by SRPK1 regulates alternative splicing of tumor-related Rac1b in colorectal cells. *RNA*, 2014; 20: 474-482
- [14] Goncalves V., Jordan P.: Posttranscriptional regulation of splicing factor SRSF1 and its role in cancer cell biology. *Biomed. Res. Int.*, 2015; 2015: 287048
- [15] Goncalves V., Matos P., Jordan P.: Antagonistic SR proteins regulate alternative splicing of tumor-related Rac1b downstream of the PI3-kinase and Wnt pathways. *Hum. Mol. Genet.*, 2009; 18: 3696-3707
- [16] Gout S., Brambilla E., Boudria A., Drissi R., Lantuejoul S., Gazzeri S., Eymin B.: Abnormal expression of the pre-mRNA splicing regulators SRSF1, SRSF2, SRPK1 and SRPK2 in non small cell lung carcinoma. *PLoS One*, 2012; 7: e46539
- [17] Guo R., Li Y., Ning J., Sun D., Lin L., Liu X.: HnRNP A1/A2 and SF2/ASF regulate alternative splicing of interferon regulatory factor-3 and affect immunomodulatory functions in human non-small cell lung cancer cells. *PLoS One*, 2013; 8: e62729
- [18] Hanahan D., Weinberg R.A.: Hallmarks of cancer. *Cell*, 2000; 100: 57-70
- [19] Hanahan D., Weinberg R.A.: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011; 144: 646-674
- [20] Jordan P., Brazão R., Boavida M.G., Gespach C., Chastre E.: Cloning of a novel human Rac1b splice variant with increased expression in colorectal tumors. *Oncogene*, 1999; 18: 6835-6839
- [21] Jumaa H., Nielsen P.J.: The splicing factor Srp20 modifies splicing of its own mRNA and ASF/SF2 antagonizes this regulation. *EMBO J.*, 1997; 16: 5077-5085
- [22] Kanehiro Y., Todo K., Negishi M., Fukuoka J., Gan W., Hikasa T., Kaga Y., Takemoto M., Magari M., Li X., Manley J.L., Ohmori H., Kanayana N.: Activation-induced cytidine deaminase (AID)-dependent somatic hypermutation requires a splice isoform of the serine/arginine-rich (SR) protein SRSF1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: 1216-1221
- [23] Karni R., de Stanchina E., Lowe S.W., Sinha R., Mu D., Krainer A.R.: The gene encoding the splicing factor SF2/ASF is a proto-oncogene. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2007; 14: 185-193
- [24] Kim C.J., Nishi K., Isono T., Okuyama Y., Tambe Y., Okada Y., Inoue H.: Cyclin D1b variant promotes cell invasiveness independent of binding to CDK4 in human bladder cancer cells. *Mol. Carcinog.*, 2009; 48: 953-964
- [25] Kowalska-Loth B., Girstun A., Trzcńska A.M., Piekielek-Witkowska A., Staroń K.: SF2/ASF protein binds to the cap region of human topoisomerase I through two RRM domains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, 331: 398-403
- [26] Lee Y.H., Tokunaga T., Oshika Y., Suto R., Yanagisawa K., Tomisawa M., Fukuda H., Nakano H., Abe S., Tateishi A., Kijima H., Yamazaki H., Tamaoki N., Ueyama Y., Nakamura M.: Cell-retained isoforms of vascular endothelial growth factor (VEGF) are correlated with poor prognosis in osteosarcoma. *Eur. J. Cancer*, 1999; 35: 1089-1093
- [27] Lejeune F., Cavaloc Y., Stevenin J.: Alternative splicing of intron 3 of the serine/arginine-rich protein 9G8 gene. Identification of flanking exonic splicing enhancers and involvement of 9G8 as a transacting factor. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 7850-7858
- [28] Lopez-Mejia I.C., De Toledo M., Della Seta F., Fafet P., Rebouissou C., Deleuze V., Blanchard J.M., Jorgensen C., Tazi J., Vignais M.L.: Tissue-specific and SRSF1-dependent splicing of fibronectin, a matrix protein that controls host cell invasion. *Mol. Biol. Cell*, 2013; 24: 3164-3176
- [29] Maslon M.M., Heras S.R., Bellora N., Eyraes E., Cáceres J.F.: The translational landscape of the splicing factor SRSF1 and its role in mitosis. *Elife*, 2014; 3: e02028
- [30] Matos P., Collard J.G., Jordan P.: Tumor-related alternatively spliced Rac1b is not regulated by Rho-GDP dissociation inhibitors and exhibits selective downstream signaling. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 50442-50448
- [31] Mavrou A., Brakspear K., Hamdollah-Zadeh M., Damodaran G., Babaei-Jadidi R., Oxley J., Gillatt D.A., Ladomery M.R., Harper S.J., Bates D.O., Oltean S.: Serine-arginine protein kinase1 (SRPK1) inhibition as a potential novel targeted therapeutic strategy in prostate cancer. *Oncogene*, 2015; 34: 4311-4319
- [32] Meseguer S., Mudduluru G., Escamilla J.M., Allgayer H., Baretino D.: MicroRNAs-10a and -10b contribute to retinoic acid-induced differentiation of neuroblastoma cells and target the alternative splicing regulatory factor SRSF1 (SF2/ASF). *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 4150-4164
- [33] Michlewski G., Sanford J.R., Cáceres J.F.: The splicing factor SF2/ASF regulates translation initiation by enhancing phosphorylation of 4E-BP1. *Mol. Cell*, 2008; 30: 179-189
- [34] Moore M.J., Wang Q., Kennedy C.J., Silver P.A.: An alternative splicing network links cell-cycle control to apoptosis. *Cell*, 2010; 142: 625-636
- [35] Muñoz Ú., Puche J.E., Hannivoort R., Lang U.E., Cohen-Naftaly M., Friedman S.L.: Hepatocyte growth factor enhances alternative splicing of the Kruppel-like factor 6 (KLF6) tumor suppressor to promote growth through SRSF1. *Mol. Cancer Res.*, 2012; 10: 1216-1227
- [36] Nowak D.G., Amin E.M., Rennel E.S., Hoareau-Aveilla C., Gammons M., Damodaran G., Hagiwara M., Harper S.J., Woolard J., Ladomery M.R., Bates D.O.: Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) splicing from pro-angiogenic to anti-angiogenic isoforms: a novel therapeutic strategy for angiogenesis. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 5532-5540
- [37] Olshavsky N.A., Comstock C.E., Schiewer M.J., Augello M.A., Hyslop T., Sette C., Zhang J., Parysek L.M., Knudsen K.E.: Identification of ASF/SF2 as a critical, allele-specific effector of the cyclin D1b oncogene. *Cancer Res.*, 2010; 70: 3975-3984
- [38] Oltean S., Gammons M., Hulse R., Hamdollah-Zadeh M., Mavrou A., Donaldson L., Salmon A.H., Harper S.J., Ladomery M.R., Bates D.O.: SRPK1 inhibition in vivo: modulation of VEGF splicing and potential treatment for multiple diseases. *Biochem. Soc. Trans.*, 2012; 40: 831-835
- [39] Peiris-Pagès M.: The role of VEGF 165b in pathophysiology. *Cell Adh. Migr.*, 2012; 6: 561-568
- [40] Peiris-Pagès M., Harper S.J., Bates D.O., Ramani P.: Balance of pro- versus anti-angiogenic splice isoforms of vascular endothelial

growth factor as a regulator of neuroblastoma growth. *J. Pathol.*, 2010; 222: 138-147

[41] Piekielko-Witkowska A.: Plejotropowy efekt fosforylacji białek wiążących RNA bogatych w serynę i argininę. *Postępy Biochem.*, 2006; 52: 383-389

[42] Piekielko-Witkowska A., Kedzierska H., Poplawski P., Wojcicka A., Rybicka B., Maksymowicz M., Grajkowska W., Matyja E., Mandat T., Bonicki W., Nauman P.: Alternative splicing of iodothyronine deiodinases in pituitary adenomas. Regulation by oncoprotein SF2/ASF. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1832: 763-772

[43] Piekielko-Witkowska A., Wiszomirska H., Wojcicka A., Poplawski P., Bogusławska J., Tanski Z., Nauman A.: Disturbed expression of splicing factors in renal cancer affects alternative splicing of apoptosis regulators, oncogenes, and tumor suppressors. *PLoS One*, 2010; 5: e13690

[44] Pieniążek M., Donizy P., Ziętek M., Szyngłarewicz B., Matkowski R.: Rola szlaków sygnalizacyjnych związanych z TGF- β w patogenezie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) jako głównego elementu warunkującego progresję choroby nowotworowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 583-591

[45] Pritchard-Jones R.O., Dunn D.B., Qiu Y., Varey A.H., Orlando A., Rigby H., Harper S.J., Bates D.O.: Expression of VEGF(xxx)b, the inhibitory isoforms of VEGF, in malignant melanoma. *Br. J. Cancer*, 2007; 97: 223-230

[46] Sanford J.R., Ellis J., Cáceres J.F.: Multiple roles of arginine/serine-rich splicing factors in RNA processing. *Biochem. Soc. Trans.*, 2005; 33: 443-446

[47] Sanford J.R., Ellis J.D., Cazalla D., Cáceres J.F.: Reversible phosphorylation differentially affects nuclear and cytoplasmic functions of splicing factor 2/alternative splicing factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 15042-15047

[48] Sato H., Hosoda N., Maquat L.E.: Efficiency of the pioneer round of translation affects the cellular site of nonsense-mediated mRNA decay. *Mol. Cell*, 2008; 29: 255-262

[49] Schnelzer A., Prechtel D., Knaus U., Dehne K., Gerhard M., Graeff H., Harbeck N., Schmitt M., Lengyel E.: Rac1 in human breast cancer: overexpression, mutation analysis, and characterization of a new isoform, Rac1b. *Oncogene*, 2000; 19: 3013-3020

[50] Shepard P.J., Hertel K.J.: The SR protein family. *Genome Biol.*, 2009; 10: 242

[51] Shultz J.C., Goehe R.W., Murudkar C.S., Wijesinghe D.S., Mayton E.K., Massiello A., Hawkins A.J., Mukerjee P., Pinkerman R.L., Park M.A., Chalfant C.E.: SRSF1 regulates the alternative splicing of caspase 9 via a novel intronic splicing enhancer affecting the chemotherapeutic sensitivity of non-small cell lung cancer cells. *Mol. Cancer Res.*, 2011; 9: 889-900

[52] Silva A.L., Carmo F., Bugalho M.J.: RAC1b overexpression in papillary thyroid carcinoma: a role to unravel. *Eur. J. Endocrinol.*, 2013; 168: 795-804

[53] Sinclair C.S., Rowley M., Naderi A., Couch F.J.: The 17q23 amplicon and breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2003; 78: 313-322

[54] Sinha R., Allemand E., Zhang Z., Karni R., Meyers M.P., Krainer A.R.: Arginine methylation controls the subcellular localization and

functions of the oncoprotein splicing factor SF2/ASF. *Mol. Cell. Biol.*, 2010; 30: 2762-2774

[55] Soret J., Bakkour N., Maire S., Durand S., Zekri L., Gabut M., Fic W., Divita G., Rivalle C., Dauzonne D., Nguyen C.H., Jeanteur P., Tazi J.: Selective modification of alternative splicing by indole derivatives that target serine-arginine-rich protein splicing factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 8764-8769

[56] Stallings-Mann M.L., Waldmann J., Zhang Y., Miller E., Gauthier M.L., Visscher D.W., Downey G.P., Radisky E.S., Fields A.P., Radisky D.C.: Matrix metalloproteinase induction of Rac1b, a key effector of lung cancer progression. *Sci. Transl. Med.*, 2012; 4: 142ra95

[57] Sun D., Novotny M., Bulek K., Liu C., Li X., Hamilton T.: Treatment with IL-17 prolongs the half-life of chemokine CXCL1 mRNA via the adaptor TRAF5 and the splicing-regulatory factor SF2 (ASF). *Nat. Immunol.*, 2011; 12: 853-860

[58] Sun S., Zhang Z., Sinha R., Karni R., Krainer A.R.: SF2/ASF autoregulation involves multiple layers of post-transcriptional and translational control. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2010; 17: 306-312

[59] Sureau A., Gattoni R., Dooghe Y., Stévenin J., Soret J.: SC35 autoregulates its expression by promoting splicing events that destabilize its mRNAs. *EMBO J.*, 2001; 20: 1785-1796

[60] Twyffels L., Gueydan C., Krays V.: Shuttling SR proteins: more than splicing factors. *FEBS J.*, 2011; 278: 3246-3255

[61] Um H.D.: Bcl-2 family proteins as regulators of cancer cell invasion and metastasis: a review focusing on mitochondrial respiration and reactive oxygen species. *Oncotarget*, 2016; 7: 5193-5203

[62] Venables J.P.: Unbalanced alternative splicing and its significance in cancer. *Bioessays*, 2006; 28: 378-386

[63] Verduci L., Simili M., Rizzo M., Mercatanti A., Evangelista M., Mariani L., Rainaldi G., Pitto L.: MicroRNA (miRNA)-mediated interaction between leukemia/lymphoma-related factor (LRF) and alternative splicing factor/splicing factor 2 (ASF/SF2) affects mouse embryonic fibroblast senescence and apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 39551-39563

[64] Wiszomirska H., Piekielko-Witkowska A., Nauman A.: Zaburzenia różnicowego składania pierwotnego transkrypty w kancerogenezie. *Postępy Biochem.*, 2011; 57: 257-265

[65] Wu H., Sun S., Tu K., Gao Y., Xie B., Krainer A.R., Zhu J.: A splicing-independent function of SF2/ASF in microRNA processing. *Mol. Cell*, 2010; 38: 67-77

[66] Wysokiński D., Błasiak J.: Perspektywy wykorzystania interferencji RNA w terapii chorób związanych z zaburzeniami alternatywnego składania RNA. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 683-695

[67] Zhang Z., Krainer A.R.: Involvement of SR proteins in mRNA surveillance. *Mol. Cell*, 2004; 16: 597-607

[68] Zhao S., Cao L., Freeman J.W.: Knockdown of RON receptor kinase delays but does not prevent tumor progression while enhancing HGF/MET signaling in pancreatic cancer cell lines. *Oncogenesis*, 2013; 2: e76

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.