

## STRESZCZENIE

Apoptoza pozwala na usuwanie z organizmu komórek uszkodzonych lub niepotrzebnych. Kluczową rolę odgrywają w niej kaspazy, doprowadzające do degradacji komórki oraz regulatorowe cząsteczki proapoptotyczne i antyapoptotyczne. Komórki nowotworowe często tracą kontrolę nad apoptozą, co zwiększa ich przeżywalność i obniża wrażliwość na terapię przeciwnowotworową.

Rak nerkowokomórkowy typu jasnokomórkowego (ccRCC) jest najczęściej identyfikowanym nowotworem nerki u człowieka. W ccRCC zidentyfikowano zaburzenia w regulacji apoptozy, które mogą być częściowo odpowiedzialne za jego wysoką oporność na terapię przeciwnowotworową.

Czynnik splicingowy SRSF2 wpływa na apoptozę w komórkach nowotworowych poprzez indukowanie zmian w różnicowym składaniu transkryptów genów apoptotycznych. Poza tym bierze udział w regulacji transkrypcji i wpływa na stabilność transkryptów. Uczestniczy także w powstawaniu oporności komórek nowotworowych na terapię przeciwnowotworową. Ekspresja SRSF2 jest zaburzona w ccRCC, ale jego wpływ na apoptozę w tym nowotworze nie był badany.

Celem prezentowanej pracy było sprawdzenie czy zmiany ekspresji SRSF2 mogą wpływać na wzory składania transkryptów, ekspresję i aktywność cząsteczek biorących udział w kontroli szlaków apoptotycznych i powodować zaburzenia regulacji apoptozy w tym nowotworze.

Badania przeprowadziłam wykorzystując cztery linie komórkowe wyprowadzone z ccRCC oraz w 32 pary guzów-kontroli ccRCC. W badaniach wykorzystywałam liczne techniki biologii molekularnej i komórkowej, w tym qPCR, RT-PCR, Western-blot, wyciszanie ekspresji genów za pomocą siRNA, analizę cytometrii przepływową oraz testy aktywności kaspaz i żywotności komórek.

Wykazałam, że ekspresja SRSF2 jest obniżona w guzach ccRCC w porównaniu do odpowiadających im nienowotworowych próbek kontrolnych.

Stwierdziłam, że wyciszenie ekspresji SRSF2 w komórkach ccRCC powoduje zmiany we wzorach składania transkryptów kaspazy 8 i kaspazy 9, CFLAR, MCL1, BIM, surwiwiny, Trail oraz Smac/DIABLO, polegające na spadku ekspresji proapoptotycznych wariantów splicingowych i/lub wzroście ekspresji antyapoptotycznych wariantów splicingowych.

Ponadto zidentyfikowałam zaburzenia poziomu ekspresji genów, uczestniczących w kontroli szlaków apoptotycznych: *TNFRSF1B*, *TNFRSF9*, *CRADD*, *BCL2L2*, *BCL2A1* oraz *TP53* w komórkach ccRCC z wyciszoną ekspresją SRSF2 jak również w guzach ccRCC w porównaniu do odpowiadających im kontroli. Wykazałam również istnienie korelacji pomiędzy poziomem ich ekspresji a poziomem ekspresji SRSF2 w parach guzów-kontroli ccRCC.

Dodatkowo zaobserwowałam, że wyciszenie ekspresji SRSF2 w komórkach ccRCC zmniejsza ich liczbę na wczesnym etapie apoptozy. Powoduje także spadek aktywności kaspazy 9 oraz zwiększa ich przeżywalność po naświetlaniu UV.

Uzyskane wyniki pozwalają wnioskować, że zaburzenia ekspresji SRSF2, poprzez zmiany w składaniu transkryptów oraz poziomie ekspresji genów apoptotycznych, prowadzą do zaburzenia regulacji apoptozy w ccRCC.