

**mRNS ÉRÉSI RENDELLENESSÉGEK
VIZSGÁLATA A PIKKELYSÖMÖR
PATOGENEZISÉBEN**

A doktori disszertáció tézisei

Dr. Szlávicz Eszter

Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
Általános Orvostudományi Kar
Szegedi Tudományegyetem

Témavezető: Prof. Dr. Széll Márta

Szeged

2017

TARTALOMJEGYZÉK

1. CÉLKITŰZÉSEK.....	2
2. BEVEZETÉS.....	2
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	4
4. EREDMÉNYEK.....	8
5. KÖVETKEZTETÉSEK.....	13
6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	15
7. REFERENCIÁK.....	17
8. PUBLIKÁCIÓS LISTA.....	20

1. CÉLKITŰZÉSEK

1. A LUC7L3 (luc-7 like protein 3), PPIG (peptidyl-prolyl cis-trans isomerase G) és SFRS18 (arginine/serine-rich 18) splicing faktorok kifejeződésének vizsgálata pikkelysömörben és a humán keratinociták proliferációs és differenciációs folyamatai során.

2. A *LUC7L3*, *PPIG* és *SFRS18* fibronektin mRNS érésben betöltött funkciójának elemzése

3. A splicing faktorok megváltozott kifejezésekor kialakuló egyéb génexpressziós és mRNS érési eltérések vizsgálata humán keratinocitákban.

2. BEVEZETÉS

Napjainkban viszonylag már részletes ismeretek állnak rendelkezésre a pikkelysömör kialakulásával kapcsolatban, ugyanakkor a betegség molekuláris hátterét még mindig nem sikerült teljesen tisztázni. Számos kérdés merül fel a kiváltó mechanizmusokat ill. a patogenezis kezdeti lépéseit tekintve, kétségtelen viszont, hogy a keratinociták T-sejt szignálokra adott megváltozott válaszkészsége kulcsfontosságú szerepet játszik a kórkép kifejlődésében [1, 2, 3].

Az mRNS érés (splicing) idáig kevésbé vizsgált területnek számított a pikkelysömör kutatásában. A kevés tanulmány egyike Ting és

munkatársaié, amely során az EDA+ domént tartalmazó fibronectin izoforma (EDA+ fibronectin) fokozott kifejeződését igazolták a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben [4]. Kutatócsoportunk sikeresen kimutatta, hogy a proliferáló keratinociták is képesek előállítani ezt a fibronectin izoformát [5]. Eredményeink alapján az EDA+ fibronectin kifejeződése csekély az egészséges hámsejtekben, ugyanakkor a pikkelysömörös tünetmentes hámsejtek hatékonyan termelik ezt az izoformát.

Nemrég elvégzett cDNS microarray kísérletünkben T-limfokin indukált génextpressziós változásokat tanulmányoztunk [6]. A kísérlet során az egészséges ill. pikkelysömörös tünetmentes bőrből organotipikus kultúrákat hoztunk létre, és a minták felét GM-CSF, IFN- γ and IL-3 tartalmú limfokin keverékkel kezeltük. Korábbi eredményeink alapján az IFN- γ -GM-CSF és IL-3 jelenlétében elősegíti a tünetmentes bőrből származó hámsejt prekursorok proliferációját, így az említett citokinek fontos szerepet játszhatnak a korai patogenezisben [7]. A továbbiakban összehasonlítottuk az egészséges ill. tünetmentes bőrben bekövetkező változásokat a kezeletlen mintákhoz képest, és azokat a géneket válogattuk ki további vizsgálatainkhoz, amelyek eltérő kifejeződés változást mutattak [6].

Míg a limfokin kezelésre számos általunk azonosított gén fokozott kifejeződéssel reagált az egészséges epidermiszben, a tünetmentes

bőrben downregulációt vagy változatlan expressziót tapasztaltunk. Emellett azt is igazoltuk, hogy bizonyos SR-gazdag splicing faktorok megváltozott válaszkészséget mutatnak a T-limfokin stimulusra az egészséges és tünetmentes mintákban, ezek között a LUC7L3 (luc-7 like protein 3) [8-12], PPIG (peptidyl-prolyl cis-trans isomerase G) [13-15] és az SFRS18 (arginine/serine-rich 18) [15] regulátorokat azonosítottuk.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Organotipikus kultúrák

Az organotipikus kultúrákat 4 egészséges ill. 4 középsúlyos plakkos psoriasisban szenvedő beteg megfelezett shave biopsziáiból állítottuk elő. Az így nyert kultúrák felét limfokin kezelésnek (1 ng/ml IFN γ , 1 ng/ml GM-CSF és 0.3 ng/ml IL-3) vetettük alá [6]. A tenyésztés során standard körülményeket alkalmaztunk (37°, 5%-os CO $_2$ atmoszféra). Az epidermisz és dermisz elválasztása diszpáz oldattal történt (4°, overnight inkubáció) majd a mintákat TRIreagensbe helyeztük.

Real-time RT-PCR

1 mikrogrammnyi totál RNS-t az iScript TM cDNA Synthesis kit segítségével írtunk át, majd Universal Probe Library-t, UPL

primereket és iQ Supermixet használtunk. A relatív génexpressziót a $\Delta\Delta C_t$ módszerrel határoztuk meg, 18S riboszomális RNS kifejeződéshez normalizálva eredményeinket.

Immunofluoreszcens festés

Az egészséges, pikkelysömörös tünetmentes és tünetes bőrbioptziákat 6- μ m-es darabokra metszettük. Elsődleges ellenanyagok: anti-LUC7L3 (1:300), anti-PPIG (1:300) és anti-SFRS18 (1:250). Másodlagos ellenanyagok: Anti-mouse IgG-Alexa Fluor 647 és anti-rabbit Alexa Fluor 546 (1:500). Negatív kontroll: normal rabbit IgG vagy inkubáció az elsődleges ellenanyag nélkül (a PPIG esetében). Magi jelölés: 2-(4-amidinophenyl)-1H-indole-6-carboxamide (DAPI). A mikroszkópos képek fluoreszcens intenzitását az ImageJ software-rel határoztuk meg.

HPV-KER sejtenyésztés

A HPV-KER sejteket 75 cm²-es flaskákban, standard körülmények között tenyésztettük, 1%-os antibiotikus és antifungális oldattal és 1%-os L-glutamin adalékkal kiegészített szérumentes médiumban. A HPV-KER sejtek kotakt inhibíció és növekedési faktor megvonása révén kerültek szinkronizálásra.

Western blot-analízis

A fehérjék azonos mennyiségét 10%-os SDS-PAGE gélen szeparáltuk, majd nitrocellulóz membránra vittük fel. Elsődleges ellenanyagok: anti-LUC7L3 (1:300), anti-PPIG (1:300), anti-SFRS18 (1:300). Másodlagos ellenanyagok: anti-egér és anti-nyúl IgG alkalikus foszfatáz. Jelmegjelenítés: Sigma Fast TM BCIP/NBT. Loading kontroll: α -aktin-specifikus ellenanyag.

Génspecifikus csendesítés

A HPV-KER immortalizált keratinocitákat tranziensen transzfektáltuk scrambled és génspecifikus siRNS-ekkel, ~70%-os konfluenciáig. A legmegfelelőbb hatékonyságot olyan szérumentes tenyésztő médiumban értük el, mely antibiotikumot és más adalékot nem tartalmazott.

Fibronektin polimeráz láncreakció

A humán fibronektin specifikus primerek ill. a PCR reakció körülményei korábbi cikkünkben leírtaknak megfelelőek voltak [6]. A kiértékeléshez a Bio-Rad Gel Doc XR denzitóméterét használtuk.

Flow-citometria

Az *LUC7L3/SFRS18* siRNS csendesített keratinociták tripszin-kezelés után fixálásra kerültek, majd PBS-ben lettek reszuszpendálva.

A felhasznált primer antitestek: anti-EDA⁺-fibronectin (1:500) és anti-fibronectin (1:1000). Másodlagos antitest: anti-egér IgG-Alexa Fluor 647 (1:500). A méréshez FACSCalibur flow cytometert alkalmaztunk.

cDNS-szekvenálás

A cDNS-szekvenálás Illumina HiScan SQ készüléken történt. A 2x100bp-os szekvenálási könyvtárak az Illumina-kompatibilis ScriptSeq RNA-Seq Library Preparation Kit-tel készültek, kondícióként kettős technikai replikációval. (2 kontroll és 2 siRNA-csendesített HPV-KER mintán).

Statisztikai kiértékelés és bioinformatika

A PCR, denzitometriás és flow-citométeres mérések eredményeinek kiértékelése GraphPad Prism 5.0 szoftverrel történt. A prediktív interakciós hálózatok a STRING adatbázis alapján készültek. A nyers szekvenálási adatok minőségi és adapter-kontaminációs szűrése FASTQC-ben történt. A térképezéshez a STAR illesztőprogramot használtuk, a többszörösen térképeződő readok kizárásra kerültek az analízisből. A potenciális fúziós transzkriptek keresése a TopHat2 fusion-search algoritmusával történt, a transzkript-szintű predikció és annotáció pedig Cufflinks-ben. A kapott eredmények feldolgozása ezt követően a DESeq és DEXSeq programcsomagokkal folytatódott, amelyekben a differenciális expresszió és a differenciális exonhasználat került felmérésre. A felülreprezentált molekuláris

funciók a Gene Ontology adatbázisából kerültek felmérésre, az adatok vizualizációja az R és Cytoscape programokban történt.

4. EREDMÉNYEK

Az SR-gazdag splicing faktor gének a pikkelysömörös tünetmentes bőrben csökkent válaszkésztséget mutatnak T-limfokin kezelés hatására

cDNS microarray eredményeinket a LUC7L3 és PPIG esetében is sikeresen validáltuk Real-time RT-PCR segítségével: míg az egészséges mintákban a limfokin kezelés hatására upreguláció volt megfigyelhető, a tünetmentesekben változatlan állapot vagy éppen a kifejeződés csökkenése mutatkozott. Az SFRS18 esetében ugyan nem sikerült validálni az eredményt, de a LUC7L3-hoz és PPIG-hez hasonló funkciója miatt további vizsgálata mellett döntöttünk.

A kezeletlen mintákban alapszinten megjelenő mRNS szinteket is összehasonlítottuk a cDNS microarray kísérletünk egészséges és tünetmentes mintáiban, amely során a LUC7L3 és SFRS18 expresszióját kissé fokozottnak találtuk a tünetmentes bőrben az egészséges bőrhöz képest.

A LUC7L3, PPIG és az SFRS18 eltérő kifejeződést mutat az egészséges, pikkelysömörös tünetmentes és tünetes mintákban

A LUC7L3 splicing regulátor szignifikánsan magasabb szinten expresszáldott a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben, ezzel szemben az SFRS18 csak minimális upregulációt mutatott. A PPIG-nek a két másik splicing regulátorral szemben a pikkelysömörös tünetmentes bőrben csökkent a kifejeződése. Ugyanakkor a legmagasabb szinten mindhárom splicing faktor a pikkelysömörös tünetes bőrben fejeződött ki.

A LUC7L3, PPIG és SFRS18 hasonló expressziós mintázata szinkronizált, immortalizált keratinocitákban

Az mRNS és protein expressziós mintázatot egyaránt elemeztük szinkronizált, immortalizált sejtekben. A hámsejtek proliferációja és differenciációja során a LUC7L3, PPIG és SFRS18 kifejeződése nagyon hasonló mintázatot mutatott. Mivel a vizsgált splicing faktorokat kódoló gének különböző kromoszómákon helyezkednek el, genetikai kapcsoltság nem magyarázhatja a tapasztaltakat, ellenben a három gén közös upstream szabályozókkal rendelkezhet.

A LUC7L3, PPIG és SFRS18 splicing regulátorok csendesítése megváltoztatja az EDA+/totál fibronectin hányadost

Mivel kutatócsoportunk korábbi eredményei már utaltak arra, hogy bizonyos fibronectin splicing abnormalitásoknak fontos szerepe lehet

a pikkelysömör patogenezisében, célul tűztük ki, hogy a *LUC7L3*, *PPIG* és *SFRS18* splicing regulátorok fibronectin mRNS érsre gyakorolt hatását megvizsgáljuk.

Más differenciálatlan sejtekhez viszonyítva, a HPV-KER-ek szintén magasabb arányban fejezik ki az EDA+ fibronectint az EDA-variánsához képest. A *LUC7L3* siRNA transzfekciója csökkentette az EDA+ izoforma relatív arányát, de kisebb mértékű változás a *PPIG* és *SFRS18* esetében is obszerválható volt.

A STRING adatbázis segítségével végzett bioinformatikai predikció a *LUC7L3* és *SFRS18* kölcsönhatását vetette fel. Ezt alátámasztva a az EDA+/total fibronectin hányados legerőteljesebb csökkenését a *LUC7L3/SFRS18* kettős csendesítése eredményezte.

Az EDA+ és összfibronectin arány alakulását flow cytometria segítségével is megvizsgáltuk, a *LUC7L3* és *SFRS18* kettős csendesítése szignifikánsan csökkentette az EDA+ izoforma mennyiségét, míg az összfibronectin szintje változatlan maradt- az eredmények a splicing mechanizmus érintettségére utalnak.

Immortalizált keratinociták globális transzkriptom analízise

További kísérleteinkben az SR-gazdag splicing regulátorok által befolyásolt egyéb biológiai útvonalak felderítését tűztük ki célul. Vizsgálatainkhoz a *LUC7L3/SFRS18* együttes csendesítését választottuk. Mivel a kísérleti összeállítás hatékony módszertani hátteret igényel, RNS-szekvenálást alkalmaztunk, amely a különböző

splicing variánsok és nem-kódoló transzkriptek azonosítására is alkalmas. A csendesítési hatékonyság 70-80% -ot ért el és kiváló (RIN: 10) RNS minőséget igazoltunk.

A *LUC7L3* és *SFRS18* kombinált csendesítését követően differenciális expresszió és exonhasználat került leírásra RNS-szekvenálás segítségével.

A Hg19 humán referenciagenomon kerültek térképezésre a leolvasott cDNS fragmensek, majd *de novo* transzkript rekonstrukciót követően az egyes exonok pontos meghatározása és a mintánkénti transzkript modellek összegzése következett. Annak érdekében, hogy a splicing faktorok csendesítésének hatásait pontosan felmérjük, a génszintű differenciális expresszió, valamint a differenciális exonhasználat külön is kiértékelésre került. Annak érdekében, hogy elkerüljük a differenciális izoforma-expresszió becslésére használt módszerekre (pl. Cufflinks algoritmus) jellemző hibákat, jelen mintákon a differenciális exonhasználat kiértékelését választottuk a DEXSeq programmal.

Differenciális génexpresszió

A *LUC7L3* és az *SFRS18* kombinált csendesítése mérsékelt, de szignifikáns változást eredményezett a génexpresszióban, azonban jelentősebb eltéréseket idézett elő az exonhasználatban. 35 protein-kódoló gén differenciális expresszióját azonosítottuk ($\log_{2}FC > 0.5$,

FDR < 0.05), köztük az IFI6, MX1, ISG15 és KRT6A mRNS-ek mutatták a legerőteljesebb különbséget. A differenciálisan expresszázó gének funkcionális analízise során azt találtuk hogy a *LUC7L3* és *SFRS18* szabályozott gének jelentős része az I-es típusú interferon szignalizációhoz kapcsolódik, emellett a citokin stimulusra adott válasz és a virális genom replikáció voltak a Gene Ontology meghatározás legfontosabb eredményei.

A legerőteljesebb változást mutató, ismert pikkelysömör-asszociált *IFI6* gén [16, 17] Real-Time RT-PCR validációja legalább 4-szeres upregulációt mutatott ki három biológiai replikátumban, mely jól korrelál az RNA-Seq eredményeinkkel.

Differenciális exonhasználat

A *de novo* transzkript-rekonstrukciót követően a differenciális exonhasználat került kiértékelésre, mely 224 exonban mutatott szignifikáns eltérést (logFC >0.5, FDR <0.1), melyek 217 génhez tartoztak. Megfigyelhető ez egy génen belüli több, differenciálisan expresszált exon jelenléte, amely a splicing-reguláció finomhangolásának megváltozására is utalhat. Számos nem-kódoló RNS is mutatott differenciális exonhasználatot, köztük a NEAT1 és a keratinociták terminális differenciációjában közreműködő TINCR [18].

Részen ezzel is magyarázható, hogy ellentétben a differenciálisan expresszált génekből alkotott hálózattal, a differenciális

exonhasználatot mutató gének hálózata kevésbé kiterjedt kapcsolatokat mutat a gének molekuláris funkcióiban, mint a koexpresszió szintjén.

A differenciális exonhasználatot mutató génekből alkotott funkcionális hálózat 172 gént tartalmaz, amelyeket a hálózat nódusai reprezentálnak. Ezek átlagos összekötöttségi foka 13.4, amely a hálózat magas konnektivitásra utal. A nódusokat összekötő élek nagy része koexpressziós kapcsolatot reprezentál, ezt követik a fizikai-majd genetikai interakciót reprezentáló élek. Összességében a hálózatot felépítő gének közötti koordinált transzkripciós és poszt-transzkripciós szabályzásra következtethetünk.

Vizsgálataink során a korábbi eredményeknek megfelelően igazoltuk az EDA-domén csendesítés hatására bekövetkező csökkent beépülését, valamint a transzkripcióban résztvevő *CREBI* megváltozott splicingját. Az ubikvitinációs folyamatokban közreműködő *HERC6* and *CUL1* [19, 20] esetében is kimutattuk a differenciális exonhasználatot.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

Az elmúlt években a szélesskálájú génextpressziós technikák elterjedésének köszönhetően jelentősen bővültek ismereteink a pikkelysömör patogenezisét tekintve. A korábbi cDNS microarray

tanulmányok, majd az újgenerációs szekvenáláson alapuló RNA-Seq is jelentős áttörést hozott, ennek ellenére továbbra is számos megválaszolatlan kérdés maradt, különösen a kezdeti lépésekkel kapcsolatban.

A kísérleteink előzményeként szolgáló microarray-tanulmányunkban azonosított három splicing regulátor - luc-7 like protein 3 (*LUC7L3*), peptidyl-prolyl cis-trans isomerase G (*PPIG*) és arginine/serine-rich 18 (*SFRS18*) – eredményeink alapján fontos szerepet játszik a keratinociták T-limfokin stimulusra adott kóros válaszáért. További vizsgálatainkban igazoltuk, hogy a splicing regulátorok kifejeződése határozott az éretlen hámsejtekben és a pikkelysömörös epidermiszben, ami a pikkelysömör patogenezisében nyújtott sokrétű funkciójukat jelzi. Ezenkívül, *LUC7L3*, *PPIG* és *SFRS18* feltehetően közös upstream szabályozó elemekkel rendelkezik.

Szintén bizonyítást nyert az SR-gazdag splicing faktorok fibronektin mRNS érésben nyújtott szerepe, valamennyien elősegítik a psoriasis asszociált EDA domén beépülését. Ebben a folyamatban a *LUC7L3* és *SFRS18* szinergisztikus funkcióját tártuk fel. RNA-Seq kísérletünkben a *LUC7L3/SFRS18* kombinált csendesítésekor számos jól ismert pikkelysömörhöz kapcsolódó útvonal érintettségét leírtuk, közülük az IFN szignalizáció, antivirális immunitás, sejtciklus szabályozás és az ubikvitináció emelendő ki. A *LUC7L3* és az *SFRS18* felelős lehet a pro- és antiapoptotikus események közti egyensúlyért,

hatással vannak a keratinociták differenciációjára (ennek egyik példája a TINCR hosszú nem-kódoló RNS érésében igazolt szerepük), és különböző feed-back mechanizmusok részei lehetnek, elősegítve a betegségekre jellemző molekuláris eltérések fennmaradását. Az eredmények külön jelentőségét adja, hogy az interferon-asszociált abnormalitások pikkelysömörben még mindig nem tisztázódtak teljesen, pedig a TNF- α és az IL17/IL23/IL22 tengely citokinjei mellett szerepük kétségtelen. A LUC7L3, PPIG és SFRS18 fontos tényezői lehetnek a kezdeti fázisnak, ugyanakkor a kórkép fennmaradásában is jelentős részt vállalhatnak.

6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Először is szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Széll Mártának a Ph. D. program alatt nyújtott támogatásáért és ösztönzéséért, amely nélkül a bemutatott munka nem valósulhatott volna meg.

Szintén köszönettel tartozok Prof. Dr. Kemény Lajosnak és Prof. Dr. Bata-Csörgő Zsuzsannának a munka háttérének megteremtéséért, valamint Dr. Szabó Kornéliának és Dr. Groma Gergelynek a gyakorlati kérdésekben nyújtott segítségéért. Köszönetet szeretnék mondani Dr. Franco Paganinak az ICGEB Trieste-ben eltöltött gyakorlatom és a Ph.D. tézis elkészítését segítő technikák elsajátítása

kapcsán, illetve Prof. Dr. Gyulai Rollandnak, amiért a Pécsi Tudományegyetemen eltöltött rezidens éveim során támogatta Ph.D. képzésemet. Emellett köszönöm az SZTE ÁOK Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika munkatársainak segítségét.

Hálával tartozok Prof. Dr. Borsodi Annának tudományos munkám elindításában nyújtott segítségéért, és állandó támogatásáért.

Végül, köszönetet szeretnék kifejezni férjemnek, Péternek, aki a bemutatott anyag bioinformatikai részében jelentős szerepet vállalt, és családomnak is.

Az Illumina könyvtárkészítés, szekvenálás és az elsődleges bioinformatikai analízis a Debreceni Egyetem Klinikai Genomikai és Személyre Szabott Orvoslási Központjában történt.

A bemutatott munka az OTKA K105985, OTKA K111885 és TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0035, GINOP-2.3.2-15-2016-00015 forrásából került megvalósításra.

7. REFERENCIÁK

1. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2009 Jul 30;361(5):496-509.
2. Di Meglio P, Villanova F, Nestle FO. Psoriasis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014 Aug 1;4(8).
3. Lowes MA, Suárez-Fariñas M, Krueger JG. Immunology of psoriasis. *Annu Rev Immunol*. 2014;32:227-55.
4. Ting KM, Rothaupt D, McCormick TS, Hammerberg C, Chen G, Gilliam AC, Stevens S, Culp L, Cooper KD. Overexpression of the oncofetal Fn variant containing the EDA splice-in segment in the dermal-epidermal junction of psoriatic uninvolved skin. *J Invest Dermatol*. 2000 Apr;114(4):706-11.
5. Széll M, Bata-Csörgő Z, Koreck A, Pivarsci A, Polyánka H, Szeg C, Gaál M, Dobozy A, Kemény L. Proliferating keratinocytes are putative sources of the psoriasis susceptibility-related EDA+ (extra domain A of fibronectin) oncofetal fibronectin. *J Invest Dermatol*. 2004 Sep;123(3):537-46.
6. Szabó K, Bata-Csörgő Z, Dallos A, Bebes A, Franciszti L, Dobozy A, Kemény L, Széll M. Regulatory networks contributing to psoriasis susceptibility. *Acta Derm Venereol*. 2014 Jul;94(4):380-5.

7. Bata-Csorgo Z, Hammerberg C, Voorhees JJ, Cooper KD. Kinetics and regulation of human keratinocyte stem cell growth in short-term primary ex vivo culture. Cooperative growth factors from psoriatic lesional T lymphocytes stimulate proliferation among psoriatic uninvolved, but not normal, stem keratinocytes. *J Clin Invest.* 1995 Jan;95(1):317-27.
8. Nishii Y, Morishima M, Kakehi Y, Umehara K, Kioka N, Terano Y, Amachi T, Ueda K. CROP/Luc7A, a novel serine/arginine-rich nuclear protein, isolated from cisplatin-resistant cell line. *FEBS Lett.* 2000 Jan 14;465(2-3):153-6.
9. Umehara H, Nishii Y, Morishima M, Kakehi Y, Kioka N, Amachi T, Koizumi J, Hagiwara M, Ueda K. Effect of cisplatin treatment on speckled distribution of a serine/arginine-rich nuclear protein CROP/Luc7A. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003 Feb 7;301(2):324-9.
10. Puig O, Bragado-Nilsson E, Koski T, Séraphin B. The U1 snRNP-associated factor Luc7p affects 5' splice site selection in yeast and human. *Nucleic Acids Res.* 2007;35(17):5874-85.
11. Li Y, Ito M, Sun S, Chida T, Nakashima K, Suzuki T. LUC7L3/CROP inhibits replication of hepatitis B virus via suppressing enhancer II/basal core promoter activity. *Sci Rep.* 2016 Nov 18;6:36741.

12. Shipman KL, Robinson PJ, King BR, Smith R, Nicholson RC. Identification of a family of DNA-binding proteins with homology to RNA splicing factors. *Biochem Cell Biol.* 2006 Feb;84(1):9-19.
13. Dubourg B, Kamphausen T, Weiwad M, Jahreis G, Feunteun J, Fischer G, Modjtahedi N. The human nuclear SRcyp is a cell cycle-regulated cyclophilin. *J Biol Chem.* 2004 May 21;279(21):22322-30.
14. Lin CL, Leu S, Lu MC, Ouyang P. Over-expression of SR-cyclophilin, an interaction partner of nuclear pinin, releases SR family splicing factors from nuclear speckles. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004 Aug 27;321(3):638-47.
15. Zimowska G, Shi J, Munguba G, Jackson MR, Alpatov R, Simmons MN, Shi Y, Sugrue SP. Pinin/DRS/memA interacts with SRp75, SRm300 and SRp130 in corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003 Nov;44(11):4715-23.
16. Gytz H, Hansen MF, Skovbjerg S, Kristensen AC, Hørlyck S, Jensen MB, Fredborg M, Markert LD, McMillan NA, Christensen EI, Martensen PM. Apoptotic properties of the type 1 interferon induced family of human mitochondrial membrane ISG12 proteins. *Biol Cell.* 2017 Feb;109(2):94-112.
17. Szegedi K, Sonkoly E, Nagy N, Németh IB, Bata-Csörgo Z, Kemény L, Dobozy A, Széll M. The anti-apoptotic protein G1P3 is

overexpressed in psoriasis and regulated by the non-coding RNA, PRINS. *Exp Dermatol.* 2010 Mar;19(3):269-78

18. Kretz M. TINCR, staufen1, and cellular differentiation. *RNA Biol.* 2013 Oct;10(10):1597-601.

19. Chen L, Liu T, Tu Y, Rong D, Cao Y. Cul1 promotes melanoma cell proliferation by promoting DEPTOR degradation and enhancing cap-dependent translation. *Oncol Rep.* 2016 Feb;35(2):1049-56.

20. Sánchez-Tena S, Cubillos-Rojas M, Schneider T, Rosa JL. Functional and pathological relevance of HERC family proteins: a decade later. *Cell Mol Life Sci.* 2016 May;73(10):1955-68.

8. PUBLIKÁCIÓS LISTA

A tézishez közvetlenül kapcsolódó publikációk:

- I. Szlavicz E, Szabo K, Groma G, Bata-Csorgo Z, Pagani F, Kemeny L, Szell M (2017) Analysis of psoriasis-relevant gene expression and exon usage alterations after silencing of SR-rich splicing regulators. Article submitted to *Experimental Dermatology*, under review. **IF: 2,68**
- II. Szlavicz E, Szabo K, Groma G, Bata-Csorgo Z, Pagani F, Kemeny L, Szell M (2017) Splicing factors differentially expressed in psoriasis alter mRNA maturation of disease-

- associated EDA+ fibronectin Molecular and Cellular Biochemistry, doi: 10.1007/s11010-017-3090-1 **IF: 2,67**
- III. Szlavicz E, Szabo K, Bata-Csorgo Z, Kemeny L, Szell M (2014) What have we learned about non-involved psoriatic skin from large-scale expression studies? World Journal of Dermatology, 3(3):50-57. doi: 10.5314/wjd.v3.i3.50

A tézishez nem kapcsolódó, egyéb publikációk:

- I. Szlavicz E, Perera PS, Tomboly C, Helyes Z, Zador F, Benyhe S, Borsodi A, Bojnik E (2015) Further Characterization of Hemopressin Peptide Fragments in the Opioid and Cannabinoid Systems. Anesthesia and Analgesia, 121(6):1488-94. doi: 10.1213/ANE.0000000000000964. **IF: 3,83**
- II. Zador F, Samavati R, Szlavicz E, Tuka B, Bojnik E, Fulop F, Toldi J, Vecsei L, Borsodi A (2014) Inhibition of opioid receptor mediated G-protein activity after chronic administration of kynurenic acid and its derivative without direct binding to opioid receptors. CNS Neurol Disord Drug Targets. 13(9):1520-9. doi: 10.2174/1871527314666141205164114 **IF: 2,6**