



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΧΗΜΕΙΑΣ»
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ «ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ»**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για
τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές
μεθόδους**

**ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΘΕΟΦΙΛΟΣ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΑΘΗΝΑ

ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ 2014

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΘΕΟΦΙΛΟΣ

A.M.: 71102

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:

Ευρύκλεια Λιανίδου, Καθηγήτρια Αναλυτικής Χημείας – Κλινικής Χημείας Ε.Κ.Π.Α.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ευρύκλεια Λιανίδου, Καθηγήτρια Αναλυτικής Χημείας – Κλινικής Χημείας Ε.Κ.Π.Α.

Μιχαήλ Κουμπάρης, Καθηγητής Αναλυτικής Χημείας Ε.Κ.Π.Α.

Χρήστος Κρούπης, Επίκουρος Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας Ιατρικής Σχολής, Ε.Κ.Π.Α.

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 31/01/2014

Περίληψη

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως συγκαταλέγεται μέσα στους 5 πιο συχνά εμφανιζόμενους καρκίνους. Τα βασικά κλινικά προβλήματα αυτής της μορφής καρκίνου είναι οι επεμβατικές μέθοδοι διάγνωσης (κυστεοσκόπηση) και η έλλειψη βιοδεικτών. Τα ούρα, ως βιολογικό υγρό σε άμεση επαφή με την ουροδόχο κύστη, είναι πιθανόν να περιέχουν κάποια μόρια – δείκτες που θα βοηθήσουν στη διάγνωση και την πρόγνωση της ασθένειας.

Στην παρούσα εργασία ακολουθήθηκε μια πρωτεωμική προσέγγιση ανάλυσης ούρων ασθενών με καρκίνο ουροδόχου κύστεως αλλά και ασθενών με μη νεοπλασματικές ασθένειες του ουροποιητικού. Αρχικά, αξιολογήθηκε η τεχνική εμπλουτισμού των δειγμάτων ούρων σε πρωτεΐνες με χρήση χρωματογραφικών στηλών συγγένειας σε μεταλλικά ιόντα (IMAC) όπως το νικέλιο, με σκοπό την κλασμάτωση των υποψήφιων μορίων στα ούρα. Στη συνέχεια, τα δείγματα αυτά αναλύθηκαν με την τεχνική LC-MS/MS από όπου ταυτοποιήθηκαν 638 πρωτεΐνες. Μεταξύ αυτών βρίσκονται και δύο πρωτεΐνες με ιδιαίτερο ενδιαφέρον η H2B και η NIF-1 (zinc – finger 355).

Οι δύο αυτές πρωτεΐνες μελετήθηκαν εκτενέστερα μέσω των μεθόδων ELISA σε δείγματα ούρων (N=158 και N=147 δείγματα για την NIF-1 και H2B αντίστοιχα) και ανοσοϊστοχημείας σε δείγματα από ιστούς ασθενών με καρκίνο ουροδόχου κύστεως (N=29 για την NIF-1 και N=32 για την H2B). Ο σκοπός ήταν η αξιολόγηση της συσχέτισης των επιπέδων τους ως προς τα στάδια του καρκίνου και ως προς την καταλληλότητά τους ως βιοδείκτες. Τα αποτελέσματα των μεθόδων αποκάλυψαν στατιστικώς σημαντική συσχέτιση των επιπέδων των πρωτεϊνών και των σταδίων του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως, αλλά κυρίως μεταξύ των δειγμάτων από ασθενείς με μη νεοπλασματικές ασθένειες και ασθενείς με επιβεβαιωμένο καρκίνο ουροδόχου κύστεως (σε δείγματα ούρων για την NIF-1: Benign vs Ta $p=0.043$, Benign vs T1 $p=0.018$ και Benign vs T2+ $p=6.2*10^{-6}$, για την H2B: Benign vs Ta $p=4.3*10^{-6}$, Benign vs T1 $p=0.042$ και Benign vs T2+ $p=0.001$. Στα δείγματα ιστού για την NIF-1: Ta vs T2 $p=4.6*10^{-6}$ και T1 vs T2+ $p=0.001$, για την H2B: Ta vs T2+ $p=0.001$ και T1 vs T2+ $p=0.009$).

Τέλος, η εργασία αυτή αναδεικνύει τη σημαντικότητα και την αποτελεσματικότητα των τεχνικών πρωτεωμικής και κυρίως της τεχνικής χρωματογραφίας IMAC. Με

αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η κλασμάτωση των δειγμάτων ούρων και η ευκολότερη ανάλυσή τους σε σχέση με άλλες τεχνικές. Οι δύο πρωτεΐνες H2B και NIF-1 θα μπορούσαν να αποτελέσουν έναν πολλά υποσχόμενο διαγνωστικό στόχο. Ωστόσο, χρειάζεται περαιτέρω ανάλυση και έρευνα για την αποτελεσματικότητά τους ως βιοδείκτες στην αντιμετώπιση του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: πρωτεωμική ανάλυση, καρκίνος ουροδόχου κύστεως, βιοδείκτες

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: ούρα, πρωτεωμική ανάλυση, καρκίνος ουροδόχου κύστεως, NIF-1, H2B

Abstract

Bladder cancer (BC) is one of the 5 most frequently observed types of cancer. The basic clinical problems of that kind of cancer are the invasive methods for diagnosis (cystoscopy) and lack of prognostic biomarkers. The discovery of non invasive methods and biomarkers is needed to confront the disease. Urine, as a biological fluid in direct contact with the bladder, could contain molecules – markers which could help the diagnosis and prognosis process.

In the present study, a proteomic approach was established in order to analyze urine samples from patients with bladder cancer and patients with non neoplastic diseases. First, there was an evaluation of a chromatographic technique (IMAC), which enriches urine samples with proteins with affinity to metal ions, like nickel. The purpose of this technique was to simplify the number of candidate molecules in the samples. Next, the samples were analyzed with LC-MS/MS and 638 proteins were detected. Two of the proteins were studied further, H2B and NIF-1 (zinc – finger 355).

These two proteins were studied using ELISA in urine samples (N=158 and N=147 samples for NIF-1 and H2B respectively) and immunohistochemistry in human bladder tissue samples (N=29 for NIF-1 and N=32 for H2B). The aim was to evaluate the level of each protein in the different stages of BC and in samples with non neoplastic diseases and determine if these proteins could be candidate bladder cancer biomarkers. The results revealed statistically significant relation between the proteins and the bladder cancer stages. Furthermore, and most importantly, there was a significant difference between the samples coming from patients with bladder cancer and samples from patients with non neoplastic diseases (in urine samples for NIF-1: Benign vs Ta $p=0.043$, Benign vs T1 $p=0.018$ and Benign vs T2+ $p=6.2*10^{-6}$, for H2B: Benign vs Ta $p=4.3*10^{-6}$, Benign vs T1 $p=0.042$ and Benign vs T2+ $p=0.001$. In tissue samples for NIF-1: Ta vs T2 $p=4.6*10^{-6}$ and T1 vs T2+ $p=0.001$, for H2B: Ta vs T2+ $p=0.001$ and T1 vs T2+ $p=0.009$).

In conclusion, this study points out the importance and effectiveness of proteomics and especially the chromatography method of IMAC. With this method it is possible to fractionate the urine samples for further analysis. The two proteins, H2B and NIF-

1, could be two potential biomarkers for bladder cancer. Nevertheless, further investigation is needed to confirm the effectiveness of these two proteins as clinical tools in bladder cancer.

SUBJECT AREA: proteomics, bladder cancer, biomarkers

KEY WORDS: urine, proteomics, bladder cancer, NIF-1, H2B

Αφιερωμένη στους γονείς μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Κεφάλαιο 1^ο: Εισαγωγή.....	1 – 22
1.1: Καρκίνος.....	1 – 5
1.1.1: Γενικά.....	1
1.1.2: Καρκίνος και Καρκινογένεση.....	1 – 3
1.1.3: Καρκίνος και Μετάσταση.....	3 – 4
1.1.4: Διαβάθμιση και Σταδιοποίηση των καρκινικών όγκων.....	5
1.2: Καρκίνος Ουροδόχου Κύστεως.....	6 – 9
1.3: Βιοδείκτες για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης.....	10 – 14
1.3.1. Γενικά.....	10
1.3.2. Δείκτες για καρκίνο της ουροδόχου κύστης.....	11 – 14
1.4: Πρωτεωμική Τεχνολογία.....	15 – 19
1.4.1: Η ιστορία και οι στόχοι της πρωτεωμικής.....	15 – 17
1.4.2: Φασματοσκοπία Μάζας: το βασικό εργαλείο της πρωτεωμικής.....	17 – 19
1.4.3: Πρωτεωμική στην έρευνα του καρκίνου.....	19
1.5: Οι πρωτεΐνες NIF-1 και H2B.....	20 – 23
1.5.1: Η πρωτεΐνη NIF-1.....	20 – 21
1.5.2: Η πρωτεΐνη Histone2B.....	21 – 23
Κεφάλαιο 2^ο : Σκοπός της Εργασίας.....	24 - 25
Κεφάλαιο 3^ο : Υλικά και Μέθοδοι.....	26 – 39
3.1: Συλλογή, επεξεργασία και αποθήκευση δειγμάτων ούρων.....	26
3.2: Χρωματογραφία Συγγενείας με τη χρήση Νικελίου – Immobilized Metal Affinity Chromatography (IMAC).....	26 – 29
3.2.1: Αρχή της Μεθόδου.....	26 – 27
3.2.2: Αντιδραστήρια – Οργανολογία.....	27 – 28
3.2.3: Πειραματική Πορεία.....	28 – 29
3.3: Ηλεκτροφόρηση μιας Διάστασης για τον έλεγχο της αποδοτικότητας του εμπλουτισμού της χρωματογραφίας στήλης.....	29 – 31
3.3.1: Αντιδραστήρια – Οργανολογία.....	29 - 30
3.3.2: Αρχή της Μεθόδου.....	30 – 31
3.3.3: Πειραματική Πορεία.....	31
3.4: Ανάλυση LC-MS/MS για την ανίχνευση πεπτιδίων.....	31 – 34
3.4.1: Αρχή της Μεθόδου.....	31– 32

3.4.2: Αντιδραστήρια – Οργανολογία.....	32 – 33
3.4.3: Πειραματική Πορεία.....	33
3.4.5: LC-MS/MS – Ανάλυση δεδομένων.....	33 – 34
3.5: Ανάλυση δειγμάτων ούρων με τη μέθοδο ELISA.....	34 – 35
3.5.1: Αρχή της Μεθόδου.....	34
3.5.2 Αντιδραστήρια – Οργανολογία.....	35
3.5.3: Πειραματική Πορεία.....	35
3.6: Ανοσοϊστοχημική ανάλυση καρκινικών δειγμάτων από ιστούς ουροδόχου κύστεως.....	36 – 38
3.6.1: Αρχή της Μεθόδου.....	36
3.6.2: Πειραματική πορεία.....	36 – 37
3.6.3: Αξιολόγηση της Ανοσοϊστοχημείας.....	37 – 38
3.7: Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.....	38 - 39
Κεφάλαιο 4^ο : Αποτελέσματα.....	40 – 55
4.1: Αποτελέσματα από την ανάλυση δειγμάτων ούρων με LC-MS/MS μετά από διαχωρισμό με IMAC.....	40 – 43
4.2: Αποτελέσματα ανάλυσης δειγμάτων ούρων με ELISA.....	43 – 48
4.3: Αποτελέσματα Ανοσοϊστοχημικής ανάλυσης έκφρασης των πρωτεϊνών NIF-1 και H2B σε ιστούς καρκίνου ουροδόχου κύστεως.....	48 – 55
Κεφάλαιο 5^ο :Συζήτηση.....	56 – 60
5.1: Αξιολόγηση της μεθόδου χρωματογραφίας στήλης IMAC και ανάλυσης των δειγμάτων από LC-MSMS.....	56 – 58
5.2: Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων με μεθόδους ανοσολογίας των πρωτεϊνών H2B και NIF-1.....	58 – 60
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΩΝ.....	61
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ –ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ.....	62 – 63
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1.....	64 – 94
ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	95 – 100

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Σχηματική αναπαράσταση των σημαντικών αλλαγών στη φυσιολογία του κυττάρου ώστε να καταλήξει να γίνει καρκινικό.....	3
Εικόνα 1.2: Στάδια μετάστασης.....	4
Εικόνα 1.3: Σχηματική αναπαράσταση της εξέλιξης του διηθητικού καρκίνου της ουροδόχου κύστεως.....	9
Εικόνα 1.4: Σχηματική αναπαράσταση της κατάταξης των βασικών σταδίων του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως.....	9
Εικόνα 1.5: Κυστεοσκόπηση.....	11
Εικόνα 1.6 : Η ιστορία και η εξέλιξη της πρωτεωμικής.....	15
Εικόνα 1.7 : Τυπική πορεία πρωτεωμικής ανάλυσης και οι διάφορες τεχνολογίες και μέθοδοι που υπάρχουν σε κάθε στάδιο.....	16
Εικόνα 1.8: Το νουκλεόσωμα.....	20
Εικόνα 1.9: Τρισδιάστατη απεικόνιση του νουκλεοσώματος. Διακρίνεται με γαλάζιο η H2B.....	21
Εικόνα 3.1: Σχηματική παράσταση της προσκόλλησης πρωτεΐνης στη χρωματογραφία στήλης μέσω συμπλόκου μεταλλικού ιόντος.....	26
Εικόνα 3.2 A: Δημιουργία πόρων διαφορετικής διαμέτρου και B: Κινητικότητα πρωτεϊνικών μορίων διαφορετικού μεγέθους σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου.....	29
Εικόνα 3.3: Σχηματική παράσταση της διαδικασίας ανάλυσης δείγματος με τη μέθοδο LC-MS/MS.....	31
Εικόνα 3.4: Σχηματική αναπαράσταση του τρόπου λειτουργίας του μηχανήματος Orbitrap Velos FTMS.....	32
Εικόνα 3.5: Σχηματική παράσταση της αρχής της μεθόδου ELISA sandwich.....	33
Εικόνα 3.6: Σχηματική παράσταση της μεθόδου της ανοσοϊστοχημείας.....	35
Εικόνα 3.7: Ανάλυση αρχικής εικόνας από τομή ανοσοϊστοχημείας (πάνω αριστερά) σε τρεις εικόνες. Η εικόνα κάτω αριστερά δείχνει τις περιοχές όπου βρίσκεται η πρωτεΐνη και ως προς εκείνη ακολουθήθηκε η πειραματική πορεία.....	37
Εικόνα 4.1: Αντιπροσωπευτικές εικόνες πηκτωμάτων ανάλυσης μιας διάστασης μετά από επεξεργασία σε στήλη χρωματογραφίας IMAC. Δείγματα καρκινικά (T2+, T1, Ta) και από παθήσεις του ουροποιητικού (benign).....	38

Εικόνα 4.2: Διάγραμμα Venn συσχέτισης κοινών πρωτεϊνικών αναγνωρίσεων και σταδίων ασθένειας.....	40
Εικόνα 4.3: Κατηγοριοποίηση των αναγνωρισμένων πρωτεϊνών με βάση τις βιολογικές λειτουργίες. Η κατηγοριοποίηση έγινε σε 13 κατηγορίες βασιζόμενη στην ανάλυση μέσω GO και medline.....	41
Εικόνα 4.4: Διάγραμμα Boxplot της συγκέντρωσης της NIF-1 στις διάφορες κατηγορίες δειγμάτων. Με τα βέλη και τους αστερίσκους σημειώνονται οι κατηγορίες που παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά.....	44
Εικόνα 4.5: Διάγραμμα Boxplot της συγκέντρωσης της NIF-1 στις διάφορες κατηγορίες δειγμάτων. Με τα βέλη και τους αστερίσκους σημειώνονται οι κατηγορίες που παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά.....	46
Εικόνα 4.6: Διάγραμμα Boxplot της οπτικής έντασης της χρώσης στα καρκινικά δείγματα ιστών για την πρωτεΐνη NIF-1 (πυρηνικής/κυτταροπλασματικής). Στην εικόνα παρουσιάζονται ποιες κατηγορίες έχουν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους με βέλη και αστερίσκο. Επίσης παρουσιάζεται και τμήμα ιστού και η μεγέθυνση μιας επιλεγμένης περιοχής.....	48
Εικόνα 4.7: Διάγραμμα Boxplot της οπτικής έντασης της χρώσης στα καρκινικά δείγματα ιστών. Στην εικόνα παρουσιάζονται ποιες κατηγορίες έχουν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους με βέλη και αστερίσκο. Επίσης παρουσιάζεται και τμήμα ιστού και η μεγέθυνση μιας επιλεγμένης περιοχής.....	50
Εικόνα 4.8: Ποιοτική σύγκριση των δύο μεθόδων αξιολόγησης της χρώσης στις τομές των ιστών δειγμάτων καρκίνου ουροδόχου κύστεως στις πρωτεΐνες H2B (A) και NIF-1 (B). Τα αριστερά διαγράμματα παρουσιάζουν τα αποτελέσματα από τη μέτρηση της οπτικής έντασης ενώ τα δεξιά διαγράμματα απεικονίζουν την αξιολόγηση της χρώσης στην τομή σε κάθε δείγματος ανάλογα με τον αριθμό σταυρών σύμφωνα με τον παθολογοανατόμο.....	52

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστης.....	7
Πίνακας 1.2: Πρωτεϊνικά μόρια ως υποψήφιοι βιοδείκτες για την πρόγνωση της εξέλιξης του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως σε επίπεδο ιστού.....	14
Πίνακας 4.1: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων αναγνώρισης πρωτεϊνών της ανάλυσης των δειγμάτων με LC-MS/MS. παρατίθενται οι μοναδικές και κοινές αναγνωρίσεις ανά κατηγορία.....	39
Πίνακας 4.2: Λίστα υποψηφίων πρωτεϊνών στόχων για βιοδείκτες στον καρκίνο ουροδόχου κύστεως.....	42
Πίνακας 4.3: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων ανίχνευσης συγκέντρωσης της πρωτεΐνης NIF-1 με ELISA.....	43
Πίνακας 4.4: Αποτελέσματα της εφαρμογής του στατιστικού τεστ <i>Mann-Whitney</i> για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων <i>ELISA</i> της πρωτεΐνης <i>NIF-1</i>	43
Πίνακας 4.5: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων ανίχνευσης συγκέντρωσης της πρωτεΐνης H2B με ELISA.....	45
Πίνακας 4.6: Αποτελέσματα της εφαρμογής του στατιστικού τεστ <i>Mann-Whitney</i> για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων <i>ELISA</i> της πρωτεΐνης <i>H2B</i> . Για τη σύγκριση των <i>Ta</i> και <i>T2+</i> επιλέχθηκε το <i>t-test</i>	45
Πίνακας 4.7: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων υπολογισμού της οπτικής έντασης της πρωτεΐνης <i>NIF-1</i>	47
Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα της εφαρμογής του στατιστικού τεστ <i>t-test</i>	47
Πίνακας 4.9: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων υπολογισμού της οπτικής έντασης της πρωτεΐνης <i>H2B</i>	49
Πίνακας 4.10: Αποτελέσματα της εφαρμογής του στατιστικού τεστ <i>t-test</i>	49
Πίνακας 4.11: Κατάλογος με τα στοιχεία των δειγμάτων που αναλύθηκαν κατά την ποιοτική και ποσοτική ανοσοϊστοχημική αξιολόγηση. Η ένδειξη Δ/Α σημαίνει Δεν Αναλύθηκε.	52

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία διπλώματος ειδίκευσης στην Κλινική Χημεία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Βιοτεχνολογίας του Ιδρύματος Ιατροβιολογικών Εφαρμογών της Ακαδημίας Αθηνών (ΠΒΕΑΑ).

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια Ευρύκλεια Λιανίδου που μου έδωσε την ευκαιρία στα πλαίσια της εκπόνησης της διατριβής ειδίκευσης στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα της Κλινικής Χημείας να ασχοληθώ με έναν τομέα της επιστήμης που είναι στο κέντρο της παγκόσμιας έρευνας. Την ευχαριστώ για τις γνώσεις, τις συμβουλές και τις ευκαιρίες που μου προσέφερε σε επιστημονικά θέματα και μη. Από την ομάδα της κα. Λιανίδου θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την υποψήφια διδάκτορα Παρίση Κλειώ για τη βοήθεια που μου προσέφερε και για την πολύ καλή και ευχάριστη συνεργασία.

Εν συνεχεία, θα ήθελα να δώσω τις θερμότερες ευχές μου και ένα μεγάλο «ευχαριστώ» στα μέλη του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας του ΠΒΕΑΑ που με φιλοξενούν και με στηρίζουν τα τελευταία πέντε χρόνια. Πρώτα από όλους, στην Ε.Λ.Ε. Α Βαθμίδος Αντωνία Βλάχου που με δέχτηκε στην ομάδα της, με εμπιστεύτηκε και μου έδωσε κάθε ευκαιρία και όλα τα εφόδια για να αναπτύξω τις ικανότητές μου και να μάθω να λειτουργώ σαν επιστήμονας. Επίσης, ευχαριστώ όλα τα μέλη του εργαστηρίου για το ευχάριστο κλίμα και την συνεργασία που είχαμε. Ιδιαίτερα όμως θα ήθελα να ευχαριστήσω τον διδάκτορα Ζωιδάκη Ιερώνυμο που όλα αυτά τα χρόνια είναι δίπλα μου σε ό,τι χρειαστώ, με εμπιστεύεται, με συμβουλεύει και με καθοδηγεί σε όλα τα βήματά μου σαν νέος ερευνητής και τον διδάκτορα Μανούσο Μακρινδάκη για τις πολύτιμες και πάντα εύστοχες συμβουλές και παρατηρήσεις του. Τέλος, τις θερμότερες ευχές μου δίνω στην υποψήφια διδάκτορα Μαρία Φραντζή και την ευχαριστώ για τη βοήθεια που μου προσέφερε στην υλοποίηση αυτής της διατριβής και για την ευχάριστη παρέα της.

Ακόμη, εύχομαι τα καλύτερα στην επαγγελματική σταδιοδρομία των μεταπτυχιακών συμφοιτητών μου, Μαρίας Ανδρέου, Ειρήνης Ανδρέου, Μάνου Ανταλή και Κωνσταντίνου Νανόπουλου και τους ευχαριστώ για την παρέα και τη συνεργασία κατά τη διάρκεια των σπουδών μας στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα.

Τέλος, ευχαριστώ τους γονείς μου που με στηρίζουν με όλες τις δυνάμεις τους και τους αφιερώνω αυτή τη διπλωματική διατριβή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1: Καρκίνος

1.1.1. Γενικά

Δημιουργός του όρου «καρκίνος» θεωρείται ο Ιπποκράτης, που χρησιμοποίησε τον όρο αυτό για να περιγράψει το σκληρό κέντρο και τις ακανθώδεις προεκβολές των όγκων που μελετούσε και είχαν τη μορφή κάβουρα.

Ο καρκίνος είναι μια κατηγορία ασθενειών ή διαταραχών του DNA που χαρακτηρίζονται από ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό κυττάρων τα οποία έχουν τη δυνατότητα είτε να εισβάλουν σε παρακείμενο ιστό, είτε να διασπείρονται σε απόμακρες περιοχές μέσω μετάστασης. Παρά το γεγονός ότι ο καρκίνος είναι μια διαταραχή της κυτταρικής ανάπτυξης και συμπεριφοράς, και η βασική αιτία δημιουργίας του εντοπίζεται σε κυτταρικό ή υποκυτταρικό επίπεδο, πολλές επιδημιολογικές μελέτες συμβάλλουν κατά ένα ποσοστό στην εύρεση της προέλευσης του καρκίνου. Για αυτό το λόγο, πολλά ευρήματα προέρχονται από μελέτες που συνδέουν συγκεκριμένα περιβάλλοντα, φυλετικές και πολιτιστικές-πολιτισμικές επιρροές στην παρουσία κακοηθών νεοπλασιών. Ακόμα, η παρουσία συγκεκριμένων ασθενειών που συνδέονται με την αύξηση του κινδύνου της εμφάνισης του καρκίνου είναι ένα γεγονός που προσέφερε νέα δεδομένα για τη παθογένεια της κακοήθειας (1).

1.1.2. Καρκίνος και Καρκινογένεση

Οι γονιδιωματικές αλληλουχίες των κυττάρων είναι υπεύθυνες για την αυτονομία των κυττάρων. Σε φυσιολογικές καταστάσεις ρυθμίζουν τις λειτουργίες του κυττάρου, την ανάπτυξη και την επιδιόρθωση βλαβών. Όταν αυτές οι αλληλουχίες υποστούν μεταλλάξεις οδηγούν τα κύτταρα να παρουσιάσουν μη φυσιολογικούς φαινοτύπους. Μία από αυτές τις αλλαγές είναι και η απώλεια ρύθμισης της ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού, η οποία μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση μεγάλων πληθυσμών κυττάρων που δεν υπακούουν πια στους κανόνες που διέπουν την κατασκευή και τη διατήρηση της δομής του φυσιολογικού ιστού. Αυτοί οι πληθυσμοί μη φυσιολογικών κυττάρων αποτελούν τον όγκο ή το νεόπλασμα (2).

Όσο τα νεοπλασματικά κύτταρα παραμένουν συσσωρευμένα σε μια μοναδική μάζα καλείται υπερπλασία. Αν τα νεοπλασματικά κύτταρα αποκτήσουν την ικανότητα να προσβάλλουν γειτονικούς ιστούς τότε θεωρείται κακοήθης και πλέον γίνεται αναφορά στη δημιουργία καρκίνου. Τα κύτταρα αυτά συνήθως μεταναστεύουν από τον πρωτογενή όγκο μέσω αιμοφόρων αγγείων ή των λεμφαγγείων και σχηματίζουν δευτερογενείς όγκους (μεταστάσεις) σε άλλα σημεία του σώματος (1).

Ο σχηματισμός ενός όγκου εξελίσσεται σε τέσσερις φάσεις:

- Έναρξη
- Προαγωγή
- Μετατροπή σε κακοήθη όγκο
- Εξέλιξη

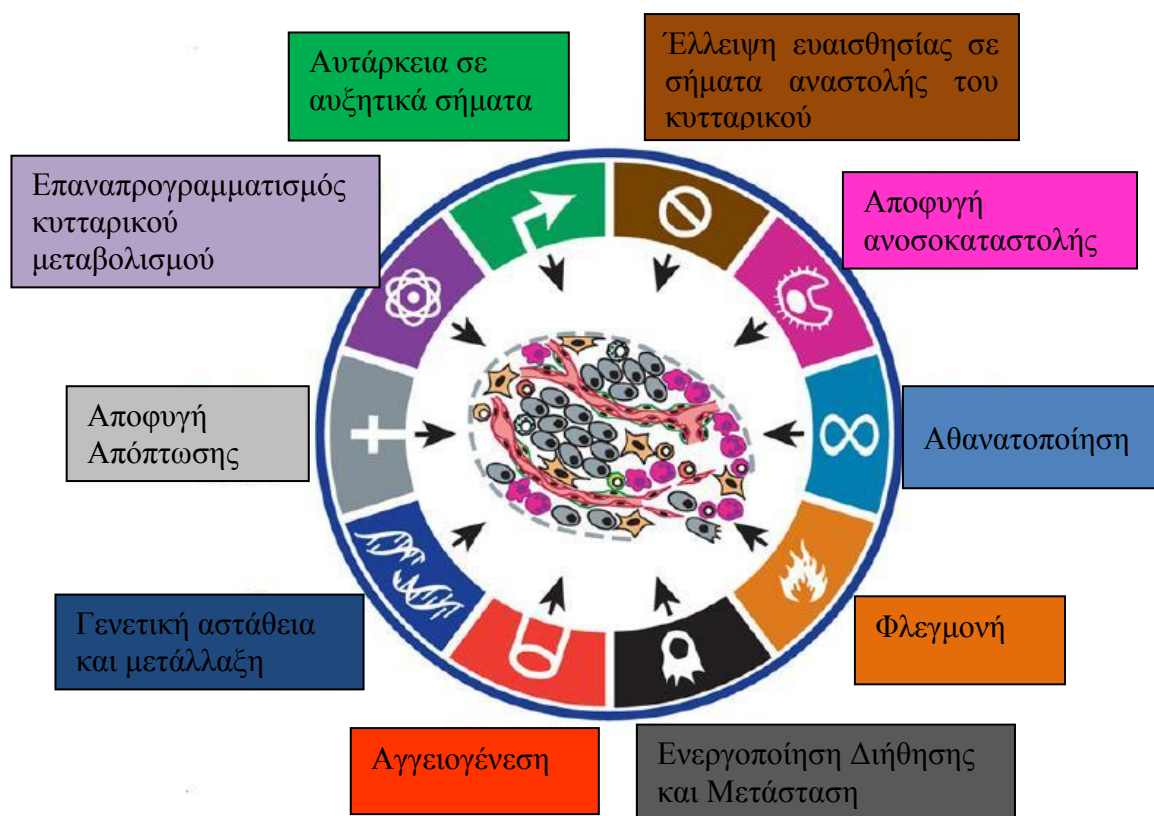
Χαρακτηριστικό των νεοπλασματικών νόσων αποτελεί το γεγονός ότι η ανάπτυξη του οποιουδήποτε είδους καρκίνου είναι μια πολυπαραγοντική διαδικασία με πολλά στάδια από τον σχηματισμό αδενωμάτων ως την εμφάνιση διηθητικού καρκίνου. Παρόλη την πολυπλοκότητα του καρκίνου, οι επί μακρόν έρευνες στο πεδίο έχουν δείξει ότι πρόκειται για μια πάθηση που μπορεί να προκληθεί είτε από επίκτητες είτε από κληρονομούμενες μεταλλάξεις σε γονίδια που ενέχονται στην κυτταρική αύξηση, τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό και τον κυτταρικό θάνατο (2).

Πολύχρονη έρευνα στο θέμα αυτό αποκάλυψε πως τα φυσιολογικά κύτταρα μετατρέπονται σε καρκινικά εξαιτίας της συσσώρευσης έξι σημαντικών αλλαγών στην κυτταρική φυσιολογία. Οι αλλαγές αυτές περιγράφονται στο άρθρο – ανασκόπηση στο περιοδικό Cell το 2000 από τους Weinberg και Hanahan (3) και είναι οι εξής:

- Αυτάρκεια σε αυξητικά σήματα
- Έλλειψη ευαισθησίας σε σήματα αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού
- Αποφυγή απόπτωσης
- Αθανατοποίηση
- Δυνατότητα αγγειογένεσης
- Μεταστατική ικανότητα

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Πλέον, η επικαιροποίηση της ανασκόπησης αυτής, 10 χρόνια μετά, έδειξε ότι η έρευνα έχει αποδείξει πως εκτός από αυτές τις έξι αλλαγές, απαραίτητες προϋποθέσεις για την αλλαγή ενός κυττάρου σε καρκινικό αποτελούν ο επαναπρογραμματισμός του μεταβολισμού των κυττάρων και η ικανότητα αύξησης σε περιβάλλον χρόνιας φλεγμονής. Ως προς την ανοσολογία, τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν νέες ιδιότητες που τους επιτρέπουν να περνούν απαρατήρητα από το ανοσολογικό σύστημα, όπως και να καταστέλλουν τις των ανοσολογικές αποκρίσεων (4).



Εικόνα 1.1: Σχηματική αναπαράσταση των σημαντικών αλλαγών στη φυσιολογία του κυττάρου ώστε να καταλήξει να γίνει καρκινικό (4)

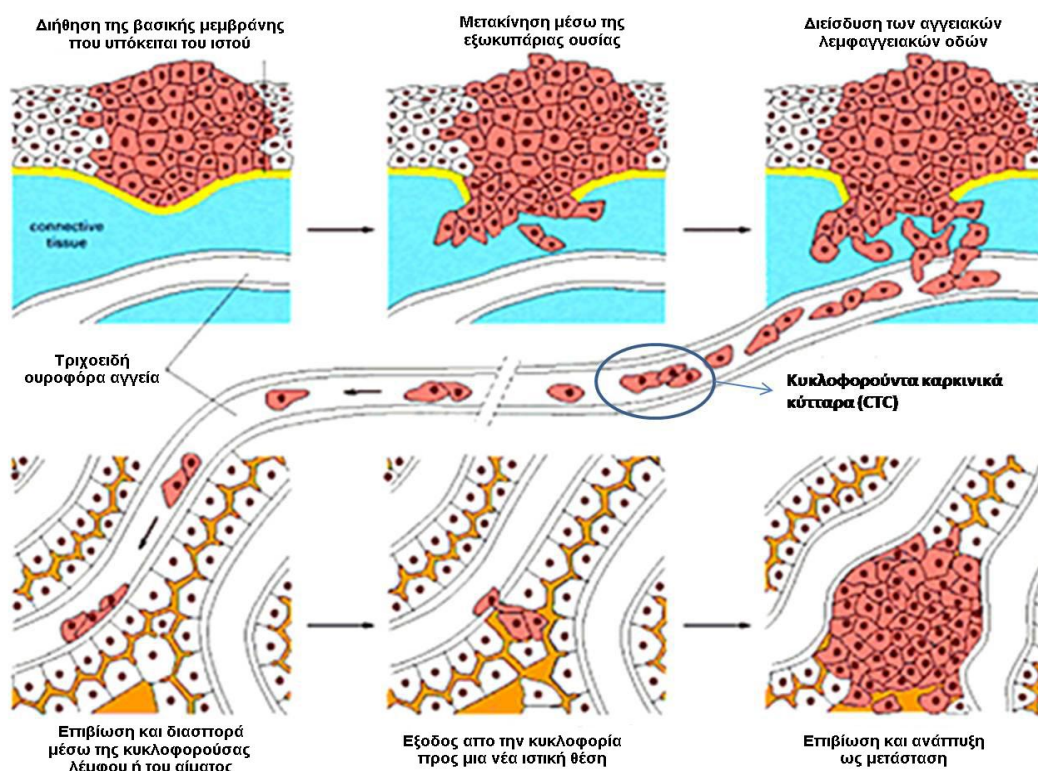
1.1.3. Καρκίνος και Μετάσταση

Μετάσταση είναι η ιδιότητα των καρκινικών κυττάρων να μεταναστεύουν από τον πρωτογενή όγκο σε μια άλλη τοποθεσία του οργανισμού, η οποία δε βρίσκεται σε επαφή με τον πρωτογενή όγκο. Η μετάσταση αποτελεί την πιο συχνή αιτία θανάτου ασθενών με καρκίνο. Οι διηθητικές ικανότητες των κακοήθων όγκων τους φέρνουν σε επαφή με τα αιμοφόρα αγγεία και τα λεμφαγγεία. Κατά τον ίδιο τρόπο που

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

διηθούν τους παρεγχυματικούς ιστούς, τα νεοπλασματικά κύτταρα μπορούν επίσης να διηθήσουν τις αγγειακές και λεμφικές οδούς, μέσω των οποίων διασπείρονται σε απομακρυσμένες θέσεις. Αν και λίγα είναι κατανοητά για το μοριακό μηχανισμό της μετάστασης λόγω της πολυπλοκότητας του φαινομένου, είναι σαφές ότι προκειμένου να εδραιωθεί μια μετάσταση από τα καρκινικά κύτταρα πρέπει να ακολουθηθεί μια σειρά βημάτων (Εικόνα 1.2):

1. Διήθηση της βασικής μεμβράνης που υπόκειται του ιστού
2. Μετακίνηση μέσω της εξωκυττάριας ουσίας
3. Διείσδυση των αγγειακών λεμφαγγειακών οδών
4. Επιβίωση και διασπορά μέσω της κυκλοφορούσας λέμφου ή του αίματος
5. Έξοδος από την κυκλοφορία προς μια νέα ιστική θέση
6. Επιβίωση και ανάπτυξη ως μετάσταση (5).



Εικόνα 1.2: Στάδια μετάστασης (5)

1.1.4. Διαβάθμιση και Σταδιοποίηση των καρκινικών όγκων

Στα πλαίσια προσπαθειών να μελετηθεί η κλινική συμπεριφορά και να θεσπιστούν κριτήρια θεραπείας, αρκετές μορφές καρκίνου ταξινομούνται βάσει κυτταρολογικής και ιστολογικής διαβάθμισης ή μέσω πρωτοκόλλων σταδιοποίησης που περιγράφουν την έκταση της εξάπλωσης.

- Η κυτταρολογική/ιστολογική διαβάθμιση (Grading):

Προσδιορίζεται συνεκτιμώντας το βαθμό διαφοροποίησης των κυττάρων σε σχέση με τον ιστό προέλευσης τους, και την ποικιλία του μεγέθους και του σχήματος των κυττάρων. Είναι γνωστό ότι μειωμένη διαφοροποίηση των κυττάρων αυξάνει το βαθμό ποικιλομορφίας, γεγονός που είναι χαρακτηριστικό των πιο επιθετικών καρκίνων. Επίσης, ένδειξη ταχείας ή μη φυσιολογικής αύξησης αποτελεί ο μιτωτικός δείκτης, ο οποίος παρέχει μια ένδειξη του ρυθμού κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

- Σταδιοποίηση του όγκου (Staging):

Το μέγεθος ενός πρωτοπαθούς όγκου, ο βαθμός τοπικής διήθησης και η έκταση της διασποράς είναι τα τρία χαρακτηριστικά ενός καρκίνου, ο προσδιορισμός των οποίων αποτελεί τη σταδιοποίηση του όγκου (5).

Η κλινική σταδιοποίηση είναι ανεξάρτητη από την κυτταρολογική διαβάθμιση και έχει κωδικοποιηθεί στο διεθνές σύστημα του καρκίνου ως Tumor Nodes Metastasis. Το TNM βασίζεται στην τοπική επέκταση του όγκου, στην προσβολή των επιχώριων λεμφαδένων και στην παρουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων.

Είναι δυνατόν ένα νεόπλασμα παρ' όλο που εμφανίζει κυτταρολογικά χαρακτηριστικά της κακοήθειας, δηλαδή κυτταρική πλειομορφία και αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα, ιστολογικά να μη παρουσιάζει διήθηση. Τα καρκινώματα αυτά («in situ») αφορούν πολύ πρώιμο στάδιο και παρατηρούνται συχνότερα σε επιθηλιακούς ιστούς, π.χ. στο πλακώδες επιθήλιο της μήτρας, στο δέρμα και στο μαστό όπου τα κακοήθη κύτταρα περιορίζονται μέσα σε πόρους ή σε λόβια. Η διάγνωση των όγκων αυτών είναι πολύ σημαντική και η αντιμετώπιση σε αυτό το στάδιο οδηγεί συχνά σε πλήρη θεραπεία (6).

1.2 Καρκίνος Ουροδόχου Κύστης

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης είναι ο 5^{ος} πιο συχνά εμφανιζόμενος καρκίνος στον Δυτικό Κόσμο. Είναι μια ετερογενής νόσος με το 70% των ασθενών να παρουσιάζουν επιφανειακό όγκο που τείνει να επανεμφανίζεται, αλλά, γενικά, δεν είναι απειλητικός για τη ζωή. Το 30% όμως των ασθενών παρουσιάζουν μεταστατικό καρκίνο με πιθανότητα θανάτου από μεταστάσεις. Το βασικό σύμπτωμα της νόσου είναι η χωρίς πόνο αιματουρία και η διάγνωση γίνεται με κυτταρολογική εξέταση ούρων και κυστεοσκόπηση (7).

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης μπορεί να εμφανιστεί σε όλες τις ηλικίες. Γενικά, όμως, είναι νόσος της μέσης ηλικίας και των ηλικιωμένων. Οι ηλικίες που συνήθως γίνεται η διάγνωση είναι γύρω στα 69 έτη για τους άντρες και στα 71 για τις γυναίκες και εμφανίζεται περίπου, 3 φορές συχνότερα σε άντρες από ό,τι σε γυναίκες. Η αύξηση του χρόνου ζωής στις Δυτικές χώρες έχει οδηγήσει ως φυσικό επακόλουθο στην αύξηση των κρουσμάτων της νόσου τα τελευταία 20 χρόνια, παρουσιάζοντας αύξηση κατά 5% σε σχέση με τις άλλες μορφές καρκίνου (8).

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η αιματουρία είναι το πιο σύνηθες σύμπτωμα της ασθένειας. Ωστόσο, η κλινική εκδήλωση των συμπτωμάτων σχετίζεται με την κατάσταση του καρκίνου και έτσι ποικίλει. Για παράδειγμα, απώλεια βάρους, σκελετικοί πόνοι και οίδημα στα άκρα σπάνια εμφανίζονται σε μη μεταστατικές καταστάσεις, είναι όμως χαρακτηριστικά στοιχεία μεταστατικού καρκίνου (7).

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης ακολουθεί τα ίδια γενικά στάδια με τους υπόλοιπους καρκίνους ως προς τη δημιουργία και ανάπτυξη. Η καρκινογένεση της ουροδόχου έχει αποδειχθεί πως σχετίζεται με τις επιδράσεις του περιβάλλοντος, το κάπνισμα και γενετικές ευπάθειες. Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη του καρκίνου παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (7).

Πίνακας 1.1: Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστης (8)

Περιβαλλοντικός παράγοντας	Σχόλιο
Κάπνισμα	50% των περιπτώσεων, το υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας
Αρωματικές αμίνες	Βαφές και άλλες βιομηχανικές χημικές ουσίες
Ιοντίζουσες ακτινοβολίες	Πυελική ακτινοθεραπεία, περιοχές μολυσμένες με ραδιενέργεια
Αρσενικό	Μόλυνση στο νερό
Νιτρώδη/νιτρικά από τη διατροφή	Λιπάσματα και φυτοφάρμακα
Χλώριο	Χλωριωμένο νερό, μικρή συσχέτιση
Χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες	Διαλύτες ουσιών καθαρισμού, μόλυνση εδάφους
Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες	Παραγωγή αλουμινίου, αέρια προϊόντα του άνθρακα, παραγωγής οπτάνθρακα, πίσσα και παράγωγα αυτής
Αλκυλιωτικοί παράγοντες	Κυκλοφωσφαμίδη Καρκινογόνος μεταβολίτης (ακρολεΐνη)
Άνθρακας	Ανθρακωρυχεία
Σχιστοσωμίαση	Ενδημικά στην Αφρική, Ασία και Νότιο Αμερική, Πλακώδες καρκίνωμα

Περισσότερες από το 90% των περιπτώσεων του καρκίνου της ουροδόχου κύστης είναι καρκίνωμα μεταβατικού επιθήλιου, 5% πλακώδες καρκίνωμα και λιγότερο από 2% είναι αδenoκαρκίνωμα. Από το σύνολο των νέων περιπτώσεων μεταβατικού κυτταρικού καρκινώματος, το 70% εμφανίζεται ως επιδερμικός καρκίνος, αλλά το 50-70% αυτών θα επανεμφανιστούν και από αυτά μόνο το 10-20% θα παρουσιάσει διήθηση στο μυϊκό ιστό (7).

Οι περισσότεροι επιθηλιακοί καρκίνοι διαγιγνώσκονται σε πρώιμο μεταστατικό ή επιδερμικό μεταστατικό στάδιο, επειδή, πιθανώς, είναι εύθραυστοι και τείνουν να ματώνουν, άρα γίνονται συμπτωματικοί. Οι επιθηλιακοί όγκοι μπορούν να αφαιρεθούν με εγχείριση. Είναι χαρακτηριστικό της ασθένειας να επανεμφανίζεται σε μέρη της ουροδόχου κύστης μακριά σχετικά από το μέρος που πρωτοεμφανίστηκε. Οι περισσότεροι καρκίνοι που επανεμφανίζονται προέρχονται από την ίδια κατηγορία με

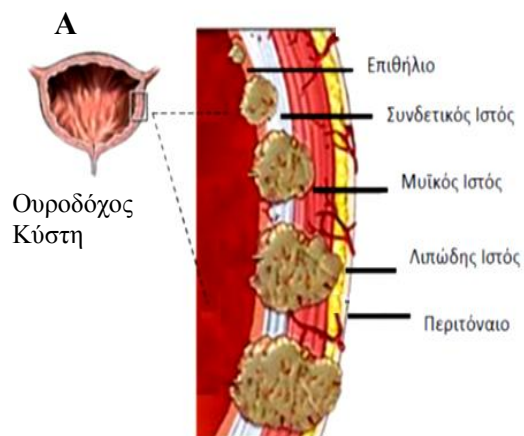
Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

τον αρχικό, αλλά επιπροσθέτως εξελίσσονται. Η πλειοψηφία των περιπτώσεων, περίπου 75%, ακολουθούν την πορεία απλών παθογόνων καταστάσεων χωρίς να δείχνουν κάποια συμπτώματα της ασθένειας. Παρόλα αυτά, η ασθένεια είναι ικανή να αναπτύξει όγκους ταχύτατα και να κάνει μεταστάσεις οποιαδήποτε στιγμή μέσα σε λίγους μήνες (9).

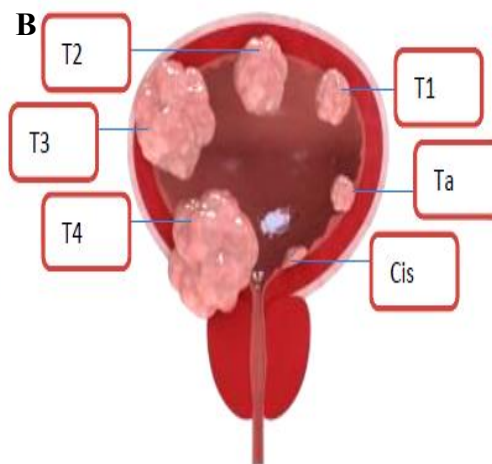
Οι πιο σημαντικοί παράγοντες της ανάπτυξης του καρκίνου είναι η παρουσία και το βάθος στο οποίο εμφανίζεται η μετάσταση στον υποουροποιητικό συνδετικό ιστό και στον υψηλό βαθμό κυτταρολογικής διαβάθμισης της κυτταρικής δυσπλασίας. Σημαντικό για τη διάγνωση του πόσο επιθετικός είναι ο καρκίνος είναι η ταυτόχρονη ιστοπαθολογική αξιολόγηση και ο βαθμός κυτταρικής διαφοροποίησης (grade). Αν και η ιστοπαθολογική αξιολόγηση είναι αρκετά ακριβής, η μοριακή διαγνωστική μπορεί να βελτιώσει τη διάγνωση της πιθανότητας εμφάνισης επιθετικού καρκίνου. Αν παρατηρηθεί υψηλή πιθανότητα επανεμφάνισης επιθετικού καρκίνου (περίπου 25%), τότε η νέα αποκοπή του όγκου μέσα σε 6 εβδομάδες και η χαρτογράφηση του ουροποιητικού είναι ικανά να διασφαλίσουν την ολοκληρωτική αφαίρεση του όγκου. Συνιστάται χημειοθεραπεία και παρακολούθηση (9).

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως κατηγοριοποιείται σε τρία βασικά στάδια σύμφωνα με τα TNM κριτήρια της Αμερικανικής Επιτροπής για τον καρκίνο (American Joint Committee on Cancer) με βάση την έκταση του πρωτογενούς όγκου (T -Tumor), την απουσία ή παρουσία ανάμειξης περιφερειακών λεμφαδένων (N-Node) και την παρουσία μεταστάσεων (M- Metastases). Κατά αυτό τον τρόπο προκύπτουν οι επιφανειακές περιπτώσεις καρκίνου ουροδόχου κύστεως που περιλαμβάνουν τα εξής στάδια: Tis (carcinoma in situ), Ta (μη διηθητικός noninvasive papillary carcinoma) , T1 (όγκους που διαπερνά το συνδετικό ιστό), διηθητικούς καρκίνους (στάδια T2-4) όγκους που διαπερνούν τη μυϊκή στοιβάδα και τη μεταστατική νόσο (στάδια N+/M+) (10).

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους



Εικόνα 1.3: Σχηματική αναπαράσταση της εξέλιξης του διηθητικού καρκίνου της ουροδόχου κύστεως.



Εικόνα 1.4: Σχηματική αναπαράσταση της κατάταξης των βασικών σταδίων του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως

1.3: Βιοδείκτες για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης

1.3.1. Γενικά

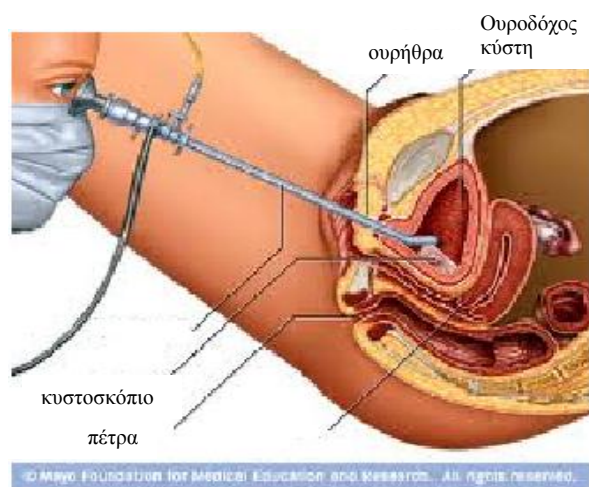
Ως δείκτης καρκίνου ορίζεται μία ουσία η οποία βρίσκεται στον όγκο, ή παράγεται από τον όγκο, ή από τον οργανισμό ως απάντηση στην παρουσία του όγκου. Ένας δείκτης καρκίνου μπορεί να αξιοποιηθεί για τη διαφοροποίηση του όγκου από τον φυσιολογικό ιστό, για τον προσδιορισμό της παρουσίας του όγκου με βάση αναλύσεις σε βιολογικά υγρά, όπως στο περιφερικό αίμα ή εκκριτικά υγρά. Μπορεί να βρεθεί σε κύτταρα, ιστούς και βιολογικά υγρά και να μετρηθεί ποσοτικά με χημικές, ανοσοχημικές και με μεθόδους μοριακής βιολογίας (11).

Πλήθος καρκινικών βιοδεικτών χρησιμοποιούνται στη διάγνωση ασθενειών, πρόγνωση, παρακολούθηση θεραπειών και πρόβλεψη θεραπευτικής αγωγής. Δυστυχώς, οι περισσότεροι βιοδείκτες έχουν πολύ μικρή ευαισθησία, ειδικότητα και προγνωστική σημασία, ειδικά όταν χρησιμοποιούνται για σπάνιες ασθένειες. Έτσι, υπάρχουν πολλά περιθώρια βελτίωσης των καρκινικών δεικτών ώστε να είναι κατάλληλοι για κλινική χρήση.

Οι περισσότεροι καρκινικοί δείκτες ανακαλύφθηκαν ύστερα από την ανάπτυξη αναλυτικών τεχνικών, όπως της **Ανοσολογικής Τεχνικής Συγγένειας Ενζύμου (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)** και των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Πολλοί επιστήμονες ισχυρίζονται πως οι καλύτεροι βιοδείκτες είναι πρωτεΐνες που πιθανώς εκκρίνονται από τα κύτταρα. Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν είναι απαραίτητο καθώς υπάρχουν πολλοί κλασικοί καρκινικοί βιοδείκτες, όπως το **καρκινοεμβρυικό αντιγόνο (Carcinoembryonic antigen, CEA)**, που είναι προσκολλημένοι στις κυτταρικές μεμβράνες ενώ τα εξωκυττάρια κομμάτια τους μπορούν να βρεθούν μέσω του αίματος στην κυκλοφορία. Άλλη ομάδα επιστημών χρησιμοποιεί τη βιοπληροφορική συγκρίνοντας το ποσοστό έκφρασης γονιδίων μεταξύ υγείων ατόμων και ασθενών με καρκίνο. Επίσης, υπάρχει και η πλευρά των επιστημών που ισχυρίζεται ότι όταν ένα μόριο είναι γνωστός καρκινικός βιοδείκτης, μέλη της ίδιας οικογένειας γονιδίων – πρωτεϊνών μπορούν να γίνουν πρότυποι βιοδείκτες (12).

1.3.2. Δείκτες για καρκίνο της ουροδόχου κύστης

Η πρόγνωση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης παραμένει μια πρόκληση για τους κλινικούς, ειδικά αν ληφθεί υπ' όψιν η νοσηρότητα και η θνησιμότητα της νόσου. Στους περισσότερους ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστης η διάγνωση γίνεται μετά την εμφάνιση των συμπτωμάτων αιματουρίας. Κατά τις αρχικές διαγνώσεις, το 30% των ασθενών παρουσιάζουν διηθητικό καρκίνο. Από αυτούς, το 50% παρουσιάζει άμεση μετάσταση μέσα σε 2 χρόνια και 60% πεθαίνουν μέσα σε 5 χρόνια παρά την οποιαδήποτε θεραπεία. Περίπου το 70% των ασθενών έχουν καρκίνο που εμφανίζεται στο επιθηλιακό ή στον υποεπιθηλιακό συνδετικό ιστό κατά την αρχική διάγνωση. Αυτού του είδους οι καρκίνοι αντιμετωπίζονται με ενδοσκοπική αφαίρεση και θεραπευτική αγωγή. Η επανεμφάνιση τέτοιου είδους καρκίνου είναι περίπου 50-70% και περίπου 10-15% των περιπτώσεων εμφανίζουν μετάσταση μέσα σε 5 χρόνια. Η διάγνωση και η παρακολούθηση του καρκίνου ουροδόχου κύστης γίνεται κυρίως με κυστεοσκόπηση και κυτταρολογική εξέταση ούρων.



Εικόνα 1.5: Κυστεοσκόπηση

Επειδή, η κυστεοσκόπηση είναι μια διαδικασία που είναι ιδιαίτερα επίπονη και επεμβατική και η κυτταρολογική εξέταση ούρων έχει χαμηλή ευαισθησία και εξειδίκευση, ειδικά σε μη μεταστατικούς όγκους, είναι επιθυμητή η εύρεση ενός βιοδείκτη που να προέρχεται από τη βιοχημική εξέταση των ούρων που να είναι πιο φθηνή και πιο ανώδυνη για τον ασθενή.

Ένας ιδανικός βιοδείκτης για τον καρκίνο ουροδόχου κύστης θα πρέπει να έχει τα εξής χαρακτηριστικά:

- να δίνει αποτελέσματα με ακρίβεια ώστε να παρακολουθείται το ιστορικό της του ασθενή
- να βοηθά στην έγκαιρη πρόγνωση μεταστάσεων
- να είναι σχετικά φθηνός
- να μπορεί να αντικαταστήσει, να καθυστερήσει ή να συμπληρώσει την κυστεοσκόπηση και την κυτταρολογική εξέταση ούρων
- να είναι εύχρηστος και να ερμηνεύεται εύκολα και άμεσα το αποτέλεσμα
- να έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικευση (13)

Πολλά βιολογικά υγρά, όπως πλάσμα και ούρα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση του καρκίνου. Αυτό είναι λογικό αν ληφθεί υπ' όψιν πως στα ούρα θα υπάρχουν υποψήφια μόρια προς ανάλυση που προέρχονται από πρώιμα στάδια του καρκίνου. Η πρωτεωμική ανάλυση των ούρων μπορεί να βοηθήσει σε αυτό το κομμάτι. Υπάρχουν ήδη διάφορα είδη δεικτών που ο καθένας ποικίλει ανάλογα με την ευαισθησία και την ειδικευση (12).

Ο αμερικανικός **Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration, FDA)** έχει εγκρίνει μόρια βιοδείκτες για τη χρήση τους ως εμπορικά διαθέσιμα διαγνωστικά και προγνωστικά εργαλεία για την αντιμετώπιση και την παρακολούθηση του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως. Παραδείγματα εγκεκριμένων μεθόδων είναι οι: α) η **FISH (fluorescence in situ hybridization)** στην οποία στηρίζεται το test UroVysion όπου με τη μέθοδο του φθορισμού ανιχνεύονται πολυσωμίες του ογκοκατασταλτικού γονιδίου P16 σε 4 χρωμοσώματα (στα 3, 7, 17 και στο 9p21) που σχετίζονται με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως (14), β) το **NMP22 BladderChek Test**, το οποίο ανιχνεύει ανοσοχρωματογραφικά την πρωτεΐνη **NMP22 (nuclear matrix protein 22)** σε ούρα, που αυξάνεται σε περιπτώσεις καρκίνου ουροδόχου κύστεως (15), γ) το **uCyt+/ImmunoCyt**, το οποίο ενισχύει την χαμηλή ευαισθησία της κυτταρολογικής εξέτασης ούρων με τη χρήση τριών φθορίζων μονοκλωνικών αντισωμάτων (M244, LDQ10 και 19A211) για την ανίχνευση αντιγόνων σε ούρα σε δείγματα καρκίνου ουροδόχου κύστεως (16), δ) η πρωτεΐνη **BTA (Bladder Tumor Antigen)** που χρησιμοποιείται στα διαγνωστικά τεστ **BTA stat** και **BTA-TRAK** (17) και ε) το **CxBladder** τεστ, το οποίο βασίζεται

στη διαφορά έκφρασης τεσσάρων γονιδίων, των **CDC2 (Cell Division Cycle protein 2)**, **MDK (Midkine)**, **IGFBP5 (insulin-like growth factor binding protein 5)** και **HOXA13 (homeobox A13)** για να ανιχνεύσει και να προσδιορίσει το στάδιο του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως σε κάποιον ασθενή σε δείγματα ούρων (18). Ωστόσο, καμία τεχνική δεν έχει αποδειχθεί πως είναι απόλυτα ακριβής και πολλές εμφανίζουν πρόβλημα στην ανίχνευση λόγω της αιματοουρίας που υπάρχει στα δείγματα ούρων από ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστεως. Μελέτες σε διάφορα βιολογικά υγρά έχουν αποκαλύψει και άλλους υποψήφιους καρκινικούς βιοδείκτες. Ήδη βρίσκονται σε δοκιμαστική ερευνητική φάση διάφορα μόρια όπως **VAX1 (ventral anterior homeobox 1)**, **KCNV1 (Potassium voltage-gated channel subfamily V member 1)**, **TAL1 (T-cell acute lymphocytic leukemia protein 1)**, **PPROX1 (Prospero homeobox protein 1)**, **CTFR (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)** σε επίπεδο γονιδιώματος, σε επίπεδο ρύθμισης της έκφρασης τα miR-143, miR-222, miR-452 αλλά και στόχοι – παράγοντες των παραπάνω μορίων όπως **VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)**, **BCL2 (B – Cell Lymphoma 2)**, **Erb2**, **FGFR (fibroblast growth factor receptors)**. Σε επίπεδο ιστού υπάρχουν πολλά υποσχόμενα μόρια που μελετώνται ως βιοδείκτες όπως **HRAS**, **KRAS**, **NRAS**, **FGFR3**, **PIK3CA (phosphatidylinositol-3-kinase catalytic subunit alpha)**, η μεθυλίωση των **Ιστονών** αλλά και πρωτεάσες όπως η **MMP9 (Matrix Metalloprotease 9)**.

Πίνακας 1.2: Πρωτεϊνικά μόρια ως υποψήφιοι βιοδείκτες για την πρόγνωση της εξέλιξης του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως σε επίπεδο ιστού

Υποψήφιοι Βιοδείκτες	Μέθοδος Ανίχνευσης	Αριθμός Τομών	Κατηγορία Καρκινικού Σταδίου	Αναφορές
p53, pRB, p21, p27	Ανοσοϊστοχημεία	692	pT3-4	Shariat et al. 2010 (19)
PTEN, c-myc, p27, pAKT, rhoS6, 4EBP1	Πρωτεϊνικές Μικροσυστοιχίες	132	Cis , pTa-T1 pT2+	Schultz et al. 2010 (20)
P16, Prb, P53	Ανοσοϊστοχημεία	27	Cis	Sato et al. 2011 (21)
Maspin	Πρωτεϊνικές Μικροσυστοιχίες	162	pTa (N=91) pT1 (N=71)	Kramer et al. 2010 (22)
BLCA P	Ανοσοϊστοχημεία	120	Όλα τα στάδια	Moreira et al. 2010 (23)
P53, pRB, p21, p27	Ανοσοϊστοχημεία	692	Όλα τα στάδια	Shariat et al. 2010 (24)
CC-3, Bax, COX-2, p53	Πρωτεϊνικές Μικροσυστοιχίες	151	Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα	Youssef et al. 2012 (25)
ErtBb2 , NFκB, p53, survivin	Ανοσοϊστοχημεία	35	pT2+	Koqa et al. 2011 (26)
p53, pRb, PTEN, Ki-67, FGFR3, CD9	Ανοσοϊστοχημεία	61	pT1	Park et al. 2011 (27)
p63 isoforms	Ανοσοϊστοχημεία	202	Όλα τα στάδια	Karni-Schmidt et al. 2011 (28)
EORTC calculator P53, p21, BCL-2 , cyclin D, MMP9	Ανοσοϊστοχημεία	42	pT1 υψηλού κινδύνου	Alkhateeb et al. 2011 (29)
Profilin-1	Πρωτεϊνικές Μικροσυστοιχίες	194	pT2+ (N=102) pT1G3 (N=92)	Zoidakis et al. 2012 (30)
P53	Ανοσοϊστοχημεία	521	pT1/T2N0M0	Stadler et al. 2011 (31)

1.4: Πρωτεωμική

1.4.1: Η ιστορία και οι στόχοι της πρωτεωμικής

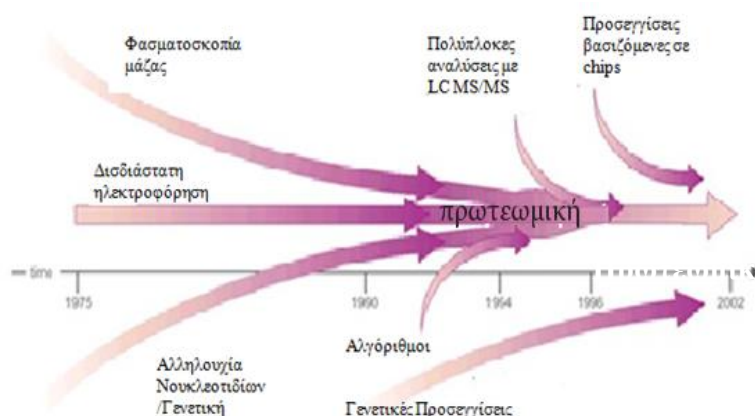
Στην αρχή της δεκαετίας του '90 η ταχεία εξάπλωση των πρωτεϊνικών αναλυτικών τεχνολογιών, σε συνδυασμό με τη φασματομετρία μάζας, τις βάσεις δεδομένων και τα εργαλεία αναζήτησης δεδομένων κατέστησαν δυνατό στους βιοχημικούς που ασχολούνται με πρωτεΐνες να μπορέσουν να ταυτοποιήσουν και να εξετάσουν την έκφραση πολλών πρωτεϊνών που διαχωρίζονταν με τη μέθοδο ηλεκτροφόρησης διπλής διάστασης. Κάτω από αυτό το πλαίσιο το 1994 στο πρώτο συνέδριο ηλεκτροφόρησης διπλής διάστασης στη Σιένα της Ιταλίας επινοήθηκε ο όρος «πρωτέωμα». Το πρωτέωμα ορίστηκε ως το συμπλήρωμα του γονιδιώματος και η διαδικασία μελέτης του πρωτεώματος ονομάστηκε «**πρωτεωμική**» (**proteomics**).

Η πολυπλοκότητα των πειραμάτων στην πρωτεωμική είναι πολύ μεγαλύτερη συγκριτικά με αυτήν της **γενωμικής (genomics)**. Το βασικό πρόβλημα των τεχνολογιών πρωτεωμικής είναι πως μόνο πρωτεΐνες απομονωμένες από φυσικές πηγές μπορούν να αναλυθούν, σε αντίθεση με τις τεχνικές ανάλυσης γονιδίων όπου με τη μέθοδο της PCR μπορεί να υπάρξει ενίσχυση του στόχου. Οι πρωτεωμικές αναλύσεις γενικά περιορίζονται από το εκάστοτε υπόστρωμα. Η πολυπλοκότητα του πρωτεώματος οφείλεται στο γεγονός πως οι περισσότερες πρωτεΐνες μέχρι να φτάσουν στην τελική λειτουργική δομή τους υφίστανται πολλές τροποποιήσεις και μπορεί να είναι προϊόντα από διάφορα γονιδιακά κομμάτια. Έτσι, ένας σχετικά μικρός αριθμός γονιδίων μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή ενός πολύ μεγάλου αριθμού πρωτεϊνών με εξαιρετική ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα (32).

Η πρωτεωμική είναι μια ιδιαίτερα πλούσια πηγή βιολογικών πληροφοριών γιατί οι πρωτεΐνες εμπλέκονται σχεδόν σε κάθε βιολογική δραστηριότητα, έχουν ποικίλες ιδιότητες και έτσι η γνώση σχετικά με τη δομή και τις λειτουργίες τους συνεισφέρει στην συνολική κατανόηση του βιολογικού συστήματος. Ένας από τους αρχικούς και μακροχρόνιους στόχους της πρωτεωμικής είναι η γρήγορη ταυτοποίηση όλων των πρωτεϊνών που εκφράζονται από τα κύτταρα και τον ιστό σε όλα τα είδη.

Οι σύγχρονοι στόχοι της πρωτεωμικής έρευνας ποικίλουν επικεντρώνονται στο συστηματικό καθορισμό των ιδιοτήτων των διάφορων πρωτεϊνών.

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

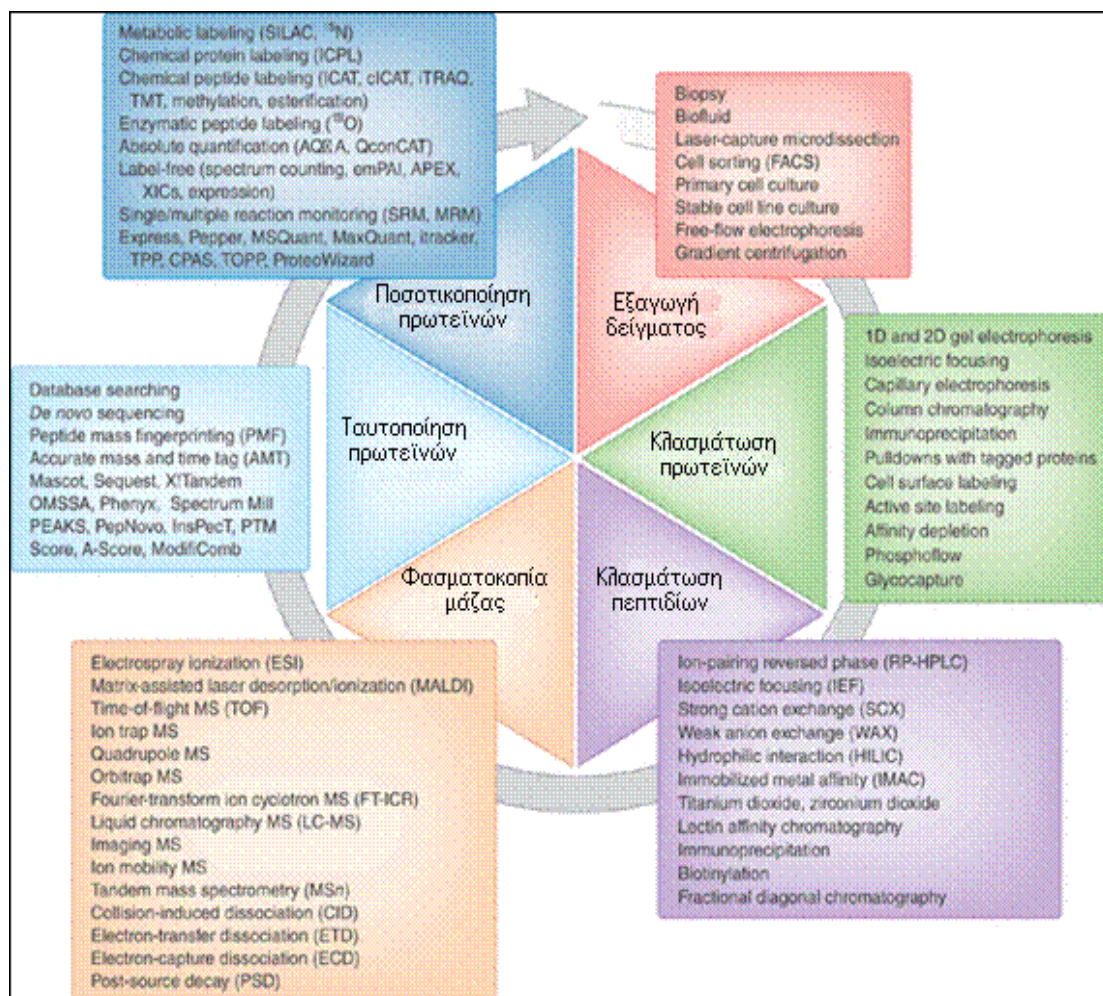


Εικόνα 1.6 : Η ιστορία και η εξέλιξη της πρωτεωμικής (32).

Αυτές οι διαδικασίες περιλαμβάνουν την μελέτη των πρωτεϊνών για την αλληλούχιση, την ποσοτικοποίηση, την εύρεση του επιπέδου αλλαγής, τις αλληλεπιδράσεις με άλλες πρωτεΐνες, την ενεργότητα, την ενδοκυτταρική κατανομή και τη δομή.

Για τον καθορισμό των ιδιοτήτων των πρωτεϊνών δημιουργήθηκαν, και εξακολουθούν να δημιουργούνται, ποικίλες τεχνικές και τεχνολογίες (33). Αυτές οι τεχνολογίες είναι το αποτέλεσμα της συνεργασίας διαφόρων επιστημών όπως μοριακής και κυτταρικής βιολογίας, πρωτεϊνικής και πεπτιδικής χημείας, βιοπληροφορικής, αναλυτικής και βιοαναλυτικής χημείας και με τη χρήση οργάνων, μεθόδων και προγραμμάτων όπως πολυδιάστατο ηλεκτροφορητικό και χρωματογραφικό διαχωρισμό και φασματομετρία μάζας (34).

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους



Εικόνα 1.7: Τυπική πορεία πρωτεωμικής ανάλυσης και οι διάφορες τεχνολογίες και μέθοδοι που υπάρχουν σε κάθε στάδιο (35).

1.4.2: Φασματομετρία Μάζας: το βασικό εργαλείο της πρωτεωμικής

Για πολλά χρόνια η φασματομετρία μάζας αποτελεί το βασικό εργαλείο του αναλυτικού χημικού στη μελέτη μικρών μορίων. Η φασματομετρία μάζας μπορεί να διαχωρίσει με μεγάλη ακρίβεια συγγενικά είδη και η συνεχόμενη φασματομετρία ή «**tandem MS/MS**» μπορεί να δώσει πληροφορίες σχετικά με τη δομή μοριακών ιόντων, τα οποία απομονώνονται και κλασμάτωνονται εντός του οργάνου.

Στα τέλη του 1980, αναπτύχθηκαν δύο μέθοδοι που επέτρεπαν τον ιοντισμό των πεπτιδίων και των πρωτεϊνών με υψηλή ευαισθησία και χωρίς έντονη κλασμάτωση. Αυτές οι καινοτόμες τεχνολογίες ήταν ο **ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό (electrospray ionization, 'ESI')** και ο **ιοντισμός εκρόφησης με τη βοήθεια υλικού μήτρας (matrix-assisted laser desorption ionization 'MALDI')**.

Οι μετρήσεις φασματομετρίας μάζας γίνονται στην αέριο φάση σε ιοντισμένους

αναλύτες. Ένα φασματομέτρο μάζας αποτελείται από μια πηγή ιοντισμού, έναν αναλυτή μάζας που μετρά το λόγο μάζας προς φορτίο (mass-to-charge ratio, m/z) των ιονισμένων αναλυτών και τον ανιχνευτή που καταχωρεί τον αριθμό των ιόντων σε κάθε τιμή του λόγου μάζας/φορτίου. Η τεχνολογία ESI ιονίζει τους αναλύτες σε διάλυμα και για αυτό είναι ενωμένο με τεχνικές διαχωρισμού βασιζόμενες στην υγρή φάση όπως χρωματογραφία ή ηλεκτροφόρηση. Το MALDI ιονίζει τα δείγματα σε μια στεγνή κρυστάλλινη μήτρα μέσω παλμών λέιζερ. Το MALDI-MS χρησιμοποιείται κυρίως για την ανάλυση απλών πεπτιδικών μιγμάτων, ενώ η υγρή χρωματογραφία ESI-MS (LC-MS) προτιμάται για ανάλυση πιο πολύπλοκων δειγμάτων.

Ο αναλυτής μάζας είναι το κέντρο της τεχνολογίας αυτής. Στην πρωτεωμική οι σημαντικοί παράμετροι που λαμβάνονται υπ' όψιν είναι η ευαισθησία, η ανάλυση, η ακρίβεια μάζας και η ικανότητα συλλογής των πληροφοριών. Υπάρχουν τεσσάρων ειδών αναλυτές μάζας. Έχουν διαφορές στη σχεδίαση και την απόδοση και κάθε αναλυτής έχει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα του:

1. **παγίδα ιόντων (ion trap)**. Τα ιόντα «παγιδεύονται» πρώτα στο εσωτερικό μεταξύ του πεδίου που δημιουργούν ηλεκτρόδια και στη συνέχεια υπόκεινται σε φασματομετρία MS ή MS/MS. Είναι ευαίσθητη και σχετικά φθηνή τεχνική, αλλά έχει μειωμένη ακρίβεια στη μέτρηση μαζών.
2. **χρόνου πτήσης (time-of-flight, TOF)**. Συνήθως η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται σε συνέχεια της πηγής ιοντισμού MALDI και καταγράφει τα φάσματα των πρωτεϊνών με ίδιο λόγο m/z με βάση το χρόνο πτήσης από τη μήτρα μέχρι τον ανιχνευτή. Τα μικρότερα θραύσματα «τρέχουν» πιο γρήγορα στον αναλυτή σε σχέση με τα μεγαλύτερα και έτσι μπορεί να γίνει η αναγνώριση των θραυσμάτων. Χρησιμοποιείται ευρέως στην ανάλυση πρωτεϊνών και βιομορίων λόγω της απλής λειτουργίας και της υψηλής διακριτικής ικανότητας, όμως η ακριβή οργανολογία και η περιορισμένη ευαισθησία αποτελούν σημαντικά μειονεκτήματα.
3. **τετράπολο (quadrupole)**. Τέσσερα ηλεκτρόδια δημιουργούν και εναλλάσσουν δυναμικό από το οποίο περνά μια ιοντική δέσμη. Τα μόρια που βρίσκονται στην ιοντική δέσμη και το κατάλληλο λόγο m/z είναι και αυτά που θα φτάσουν μέχρι τον αναλυτή. Αν και έχει περιορισμένο εύρος σάρωσης m/z και χαμηλή διακριτική ικανότητα, αποτελεί τον πιο αξιόπιστο και διαδεδομένο

αναλυτή, φθηνό, ταχύτατο και κατάλληλο για ποσοτικοποίηση.

4. **μετατροπής Fourier (Fourier transform ion cyclotron, FT-MS).** Ο αναλυτής αυτός χρησιμοποιεί την ιδέα παγίδευσης των ιόντων, αλλά όχι μέσα σε ηλεκτρομαγνητικό πεδίο, όπως στην παγίδα ιόντων, αλλά σε κενό μέσα σε ισχυρό μαγνητικό πεδίο. Έχει πολύ ισχυρή ευαισθησία, ακρίβεια στη μέτρηση της μάζας και ευκρίνεια στα αποτελέσματα. Στα αρνητικά συγκαταλέγονται το υψηλό κόστος του ανιχνευτή, η πολυπλοκότητα στο χειρισμό και οι περιορισμοί στην απόδοση μικρών πρωτεϊνικών θραυσμάτων.

Οι αναλυτές μπορούν να λειτουργήσουν αυτόνομα ή να τοποθετηθούν σε σειρά ώστε να αυξηθεί η απόδοση της ανάλυσης μέσα από τη δυναμική κάθε τεχνολογίας (36),

1.4.3: Πρωτεωμική στην έρευνα του καρκίνου

Η πρωτεωμική δίνει έμφαση στην ταυτοποίηση και την ποσοτική ανάλυση πρωτεϊνών που εκφράζονται διαφορετικά σε φυσιολογικό ιστό και σε ιστό με καρκίνο σε διάφορα στάδια. Οι πρωτεωμικές τεχνολογίες μπορούν να αναγνωρίσουν βιοδείκτες για την καρκινική διάγνωση, να παρακολουθήσουν την πρόοδο της ασθένειας και να αναγνωρίσουν θεραπευτικούς στόχους. Η πρωτεωμική είναι πολύτιμη στην ανακάλυψη βιοδεικτών γιατί το πρωτέωμα αντανακλά και το εσωτερικό γενετικό πρόγραμμα ενός κυττάρου αλλά και τις επιδράσεις στο άμεσο περιβάλλον του. Στο επίπεδο της πρωτεΐνης συμβαίνουν διάφορες αλλαγές κατά την μετατροπή ενός υγιούς κυττάρου σε καρκινικό. Οι αλλαγές αυτές μπορούν να σχετίζονται με διαφορές στην έκφραση των πρωτεϊνών, διαφορές στις τροποποιήσεις των πρωτεϊνών και αλλαγές σε συγκριμένες δραστηριότητες και παρεκκλίνουσες κατευθύνσεις. Όλες αυτές μπορεί να έχουν επίδραση στη λειτουργία του κυττάρου. Η αναγνώριση και η κατανόηση αυτών των αλλαγών είναι τα βασικά θέματα στόχοι της πρωτεωμικής ανάλυσης του καρκίνου. Ο κύριος στόχος είναι η εύρεση βιοδεικτών που μπορούν να λειτουργήσουν για την έγκαιρη διάγνωση και για τον καθορισμό της θεραπείας (37).

1.5: Οι πρωτεΐνες NIF-1 και H2B

1.5.1: Η πρωτεΐνη NIF-1

Οι πυρηνικοί υποδοχείς είναι μεταγραφικές ορμόνες εξαρτημένες από υποκαταστάτες που ελέγχουν και συντονίζουν την έκφραση δικτύων γονιδίων σε πολλές φυσιολογικές, μεταβολικές και αναπτυξιακές διεργασίες. Οι δυσλειτουργίες των πυρηνικών υποδοχέων οδηγούν σε μια σειρά ασθενειών σχετικές με τον πολλαπλασιασμό, την αναπαραγωγή και το μεταβολισμό όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, η στειρότητα και παχυσαρκία. Η βιολογική λειτουργία των πυρηνικών υποδοχέων βασίζεται σε συνενεργοποιητές που εκπροσωπούν μια ποικιλία πρωτεϊνικών ομάδων και ενισχύουν τη μεταφραστική λειτουργία. Έχουν χαρακτηριστεί περίπου 200 τέτοιες πρωτεΐνες που γενικά ενεργούν: 1) σχηματίζοντας σύμπλοκα μεταξύ του DNA και των πυρηνικών υποδοχέων, 2) παρουσιάζοντας ενζυματική δραστηριότητα όπως μεθυλίωση και ακετυλίωση ιστονών που αλλάζουν τη δομή της χρωματίνης και 3) σχηματίζοντας σύμπλοκα μεταξύ των πυρηνικών υποδοχέων και της RNA πολυμεράσης. Μια τέτοια πρωτεΐνη είναι και η **NRC (Nuclear Receptor Coregulator)** η οποία αποτελεί έναν πολύ σημαντικό συνενεργοποιητή όχι μόνο για τους πυρηνικούς υποδοχείς αλλά και για μια σειρά από γνωστούς μεταγραφικούς παράγοντες όπως ο c-Fos και c-Jun. Η NRC έχει βρεθεί να εμπλέκεται στην ανάπτυξη, στη διαμόρφωση, στην κυτταρική επιβίωση, στην επούλωση πληγών και στη διατήρηση της ομοιόστασης. Η ανάλυση των συμπλόκων της NRC δείχνει πως εμπλέκεται σε διεργασίες μεθυλίωσης των ιστονών, επιδιόρθωσης του DNA και μεταγραφής μέσω πυρηνικών υποδοχέων (38).

Ένας από τους παράγοντες που αλληλεπιδρά με την NRC είναι και η **NIF-1 (NRC Interacting Factor 1) ή zinc-finger protein 355**. Η έκφραση της NIF-1 ενισχύει την ενεργότητα των πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων καθώς και άλλων συμπαραγόντων όπως των c-Fos και c-Jun (38). Είναι μια πυρηνική πρωτεΐνη 1342 αμινοξέων και αποτελείται από έξι περιοχές Cys-2/His-2 με συνάφεια για ψευδάργυρο (zinc finger), μια όξινη αμινοτελική περιοχή περίπου 35 αμινοξέων πλούσια σε γλουταμίνη και ασπαράγινη, ένα μοτίβο LxxLL και ένα μοτίβο 2α ελίκων λευκίνης στο καρβόξυτελικό άκρο. Η NIF-1 περιέχει πολλές θέσεις φωσφορυλίωσης (39). Το γονίδιο της εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 20 στη θέση 20q13.12, η καταγεγραμμένη ονομασία του είναι *ZNF335* και αποτελείται από 28 εξόνια και 27 ιντρόνια. Διαθέτει 4

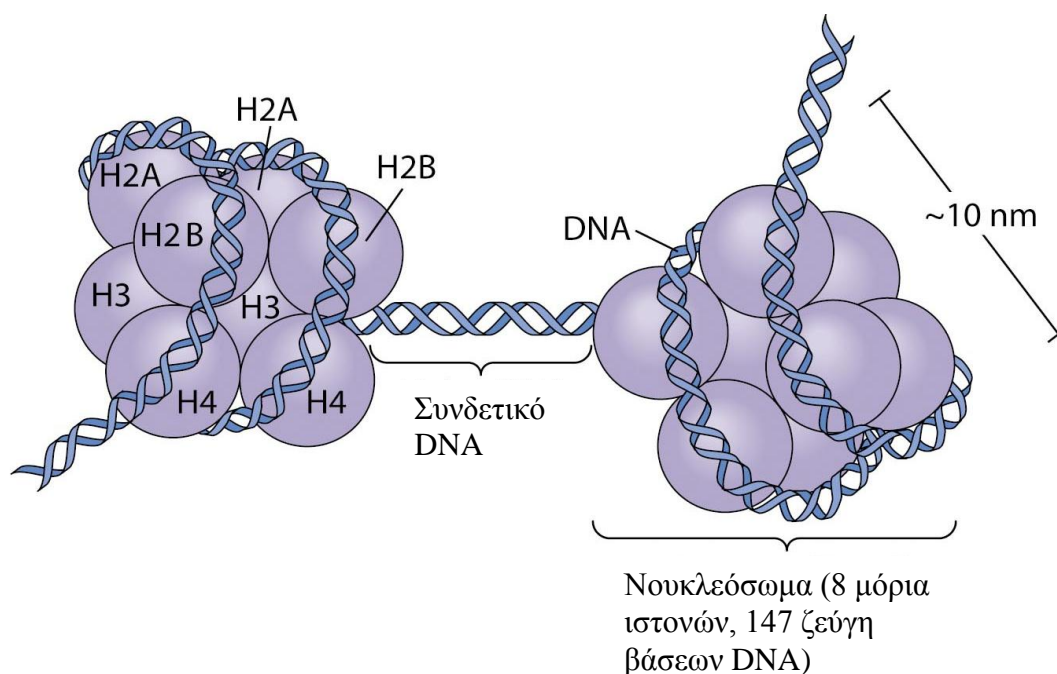
Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

εναλλακτικά μετάγραφα (splice variants) εκ των οποίων μόνο το ένα (το ZNF355-001) έχει χαρακτηριστεί πλήρως.

Η πρωτεΐνη NIF-1 δεν έρχεται σε άμεση επαφή με τους πυρηνικούς ορμονικούς υποδοχείς. Ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί μέρος συμπλόκων ορμονικών υποδοχέων μέσω των συνενεργοποιητών (όπως η NRC) αλλά και άλλων συμπαραγόντων. Επίσης, σύμπλοκα της NIF-1 έχουν ενεργό ρόλο στη μεθυλίωση των οκταμερών ιστόνης. Τέλος, η NIF-1 μαζί με άλλες πρωτεΐνες όπως η DBC-1 (Deleted in bladder cancer protein 1) και η EMSY φαίνεται να σχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών αλλά και στη ρύθμιση της δράσης των μεταγραφικών παραγόντων SOX9, HOXA1 (38).

1.5.2: Η πρωτεΐνη Histone2B

Η χρωματίνη είναι ένα σύμπλοκο DNA και πρωτεϊνών και εξυπηρετεί λειτουργίες όπως μεταγραφή γονιδίων, διπλασιασμό και επιδιόρθωση του DNA. Η βασική δομική μονάδα της χρωματίνης είναι το νουκλεόσωμα το οποίο αποτελείται από 147 βάσεις DNA τυλιγμένες 1,6 φορά γύρω από ένα οκταμερές σύμπλοκο ιστονών, ένα τετραμερές H3-H4 και δύο διμερή H2A-H2B. (40)

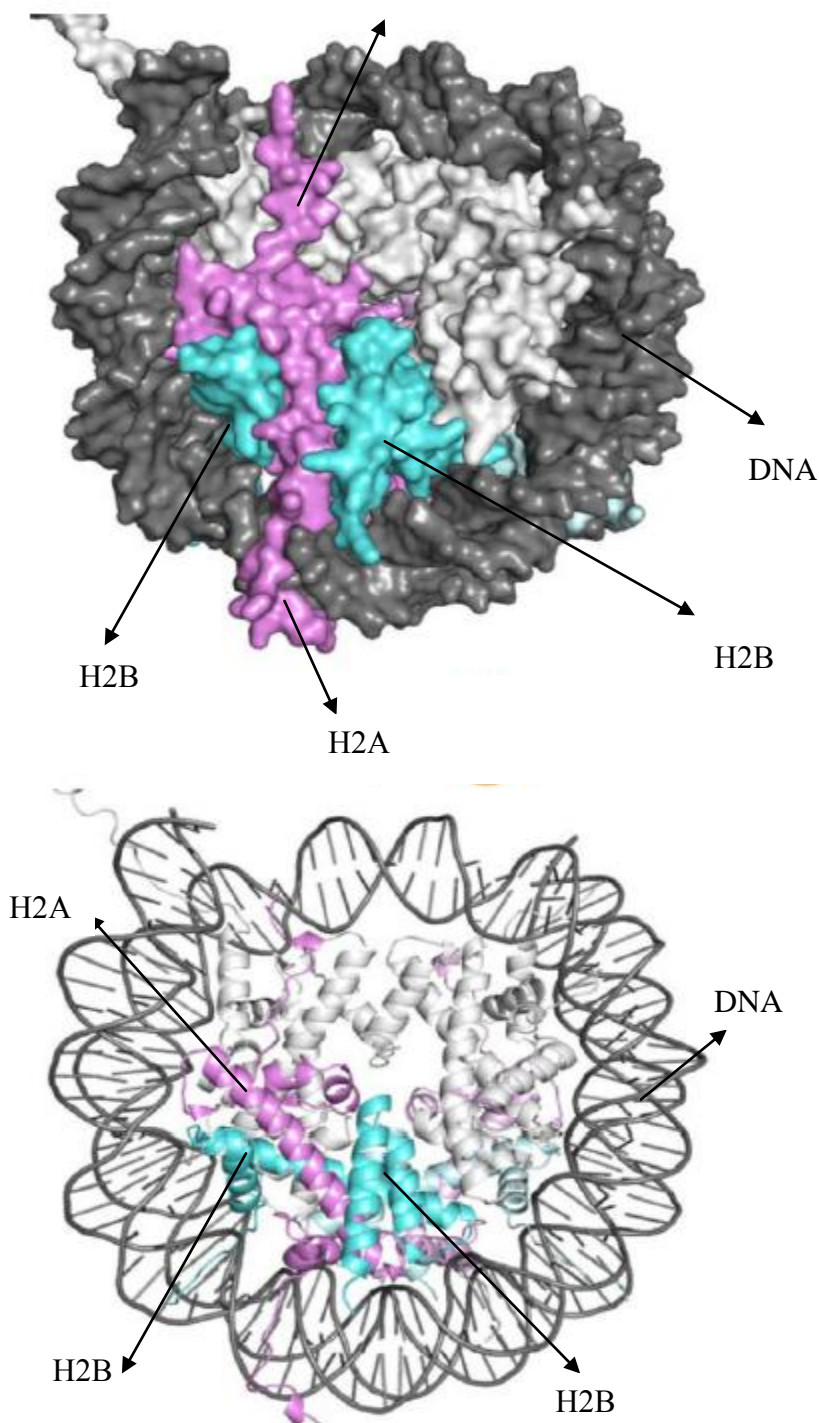


Εικόνα 1.8: Το νουκλεόσωμα.

Το τετραμερές H3-H4 έχει πολλές άμεσες αλληλεπιδράσεις με το DNA, ενώ τα διμερή H2A-H2B βρίσκονται πιο απομονωμένα στο εσωτερικό του νουκλεοσώματος.

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Οι H2A και H2B υφίστανται πολλές μετα-μεταφραστικές αλλαγές, κυρίως στα αμινοτελικά άκρα τους που επηρεάζουν τη δομή της χρωματίνης και την έκφραση των γονιδίων (41).



Εικόνα 1.9: Τρισδιάστατη απεικόνιση του νουκλεοσώματος. Διακρίνεται με γαλάζιο η H2B (42).

Η H2B έχει μια αρκετά βασική αμινοτελική περιοχή που αλληλεπιδρά με το DNA καθώς εκείνο τυλίγεται γύρω από το νουκλεόσωμα. Στο καρβόξυ-τελικό άκρο διαμορφώνεται μια α -έλικα που αποτελεί το κομμάτι που είναι πιο εκτεθειμένο σε

όλο το νουκλεόσωμα και περιέχει τις σημαντικές θέσεις πρόσδεσης της ουβικουιτίνης (42). Το γονίδιο της εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1 στη θέση 1q21.2 και έχει την ονομασία *HIST2H2BE*. Δεν διαθέτει εναλλακτικά ματίσματα, καθώς αποτελείται μόνο από ένα εξόνιο. Η H2B επιδέχεται τις κοινές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις όπως μεθυλίωση, ακετυλίωση και φωσφορυλίωση αλλά και την ουβικουιτινίωση. Η ουβικιτίνωση προκαλεί στερεοδομικές αλλαγές στην χρωματίνη που βοηθούν στην επιδιόρθωση του DNA, στη μεταγραφή και τη μεταφορά του mRNA. Ένα ακόμα στοιχείο είναι πως ενεργοποιεί την έκφραση του γονιδίου *HoxA1* που είναι σημαντικός μεταγραφικός παράγοντας (43).

Σύμφωνα, λοιπόν, με τη βιβλιογραφία η Ιστόνες και η NRC εμπλέκονται σε φυσιολογικές και μη λειτουργίες του κυττάρου. Για την NIF-1 υπάρχουν ελάχιστα στοιχεία μέχρι τώρα, όμως η σχέση της με την NRC θεωρείται δεδομένη. Έτσι, ανοίγεται ένα πεδίο έρευνας για τη σχέση που μπορεί να έχουν οι NIF-1 και H2B και το ρόλο τους στη διαμόρφωση καρκινικών κυττάρων. Επί πρόσθετα, δεν υπάρχει κάποια αναφορά για τις πρωτεΐνες αυτές σχετικά με την παρουσία τους στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως.

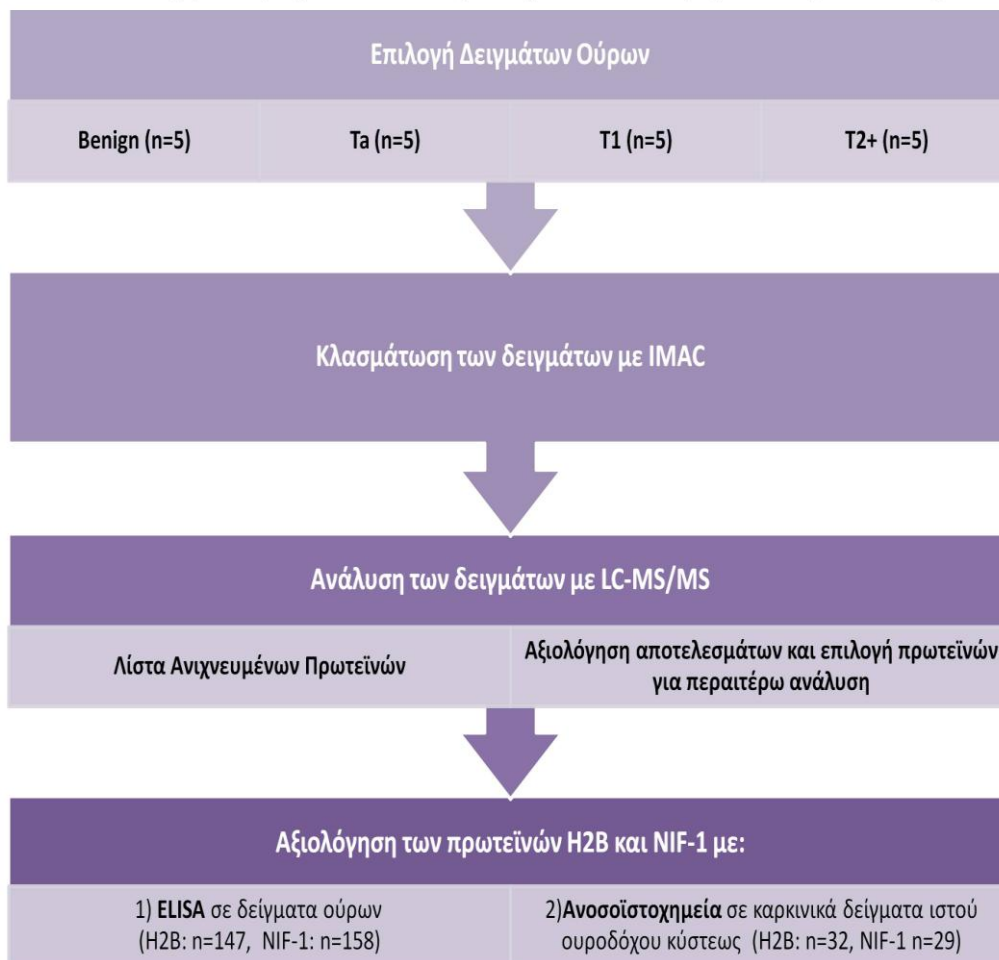
Κεφάλαιο 2^ο : Σκοπός της Εργασίας

Ο σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η ανάπτυξη μιας μεθοδολογίας ανάλυσης δειγμάτων ούρων με τεχνικές πρωτεωμικής για τη διερεύνηση πιθανών βιοδεικτών σχετικά με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως.

Αναλυτικότερα, ακολουθήθηκε η εξής πειραματική πορεία:

1. Συλλογή και επεξεργασία δειγμάτων ούρων από διάφορες κατηγορίες ασθενών. Συγκεκριμένα οι κατηγορίες ήταν: ασθενείς με μη νεοπλασματικές ασθένειες του ουροποιητικού (Benign), ασθενείς σε πρώιμο στάδιο καρκίνου ουροδόχου κύστεως (T_a), ασθενείς σε μη μεταστατικό στάδιο καρκίνου ουροδόχου κύστεως (T₁) και ασθενείς σε προχωρημένο (μεταστατικό) στάδιο καρκίνου ουροδόχου κύστεως (T₂+).
2. Επεξεργασία των δειγμάτων με την μέθοδο χρωματογραφίας συγγένειας μετάλλου (IMAC).
3. Ανάλυση των δειγμάτων που προέρχονται από τη μέθοδο χρωματογραφίας συγγένειας με την τεχνική LC-MS/MS.
4. Δημιουργία βάσης δεδομένων με το σύνολο των πρωτεϊνών που ανιχνεύθηκαν από την ανάλυση των δειγμάτων με LC-MS/MS.
5. Επιλογή δύο πρωτεϊνών, της H2B και της NIF-1, για περαιτέρω ανάλυση και αξιολόγηση για την καταλληλότητά τους ως βιοδείκτες του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως. Η ανάλυση των πρωτεϊνών έγινε με ELISA σε δείγματα ούρων και ποσοτική αξιολόγηση αποτελεσμάτων ανοσοϊστοχημείας από τομές δειγμάτων ουροδόχου κύστεως με καρκίνο.
6. Αξιολόγηση των συνολικών αποτελεσμάτων.

Διάγραμμα Πειραματικής Πορείας



Κεφάλαιο 3^ο : Υλικά και Μέθοδοι

3.1: Συλλογή, επεξεργασία και αποθήκευση δειγμάτων ούρων

Συνολικά 166 δείγματα ούρων ενδιάμεσης σύρσης συλλέχθηκαν με τυχαία διαλογή από δύο νοσοκομεία της Αθήνας, το Λαϊκό Νοσοκομείο Αθηνών και το Ασκληπιείο Βούλας.

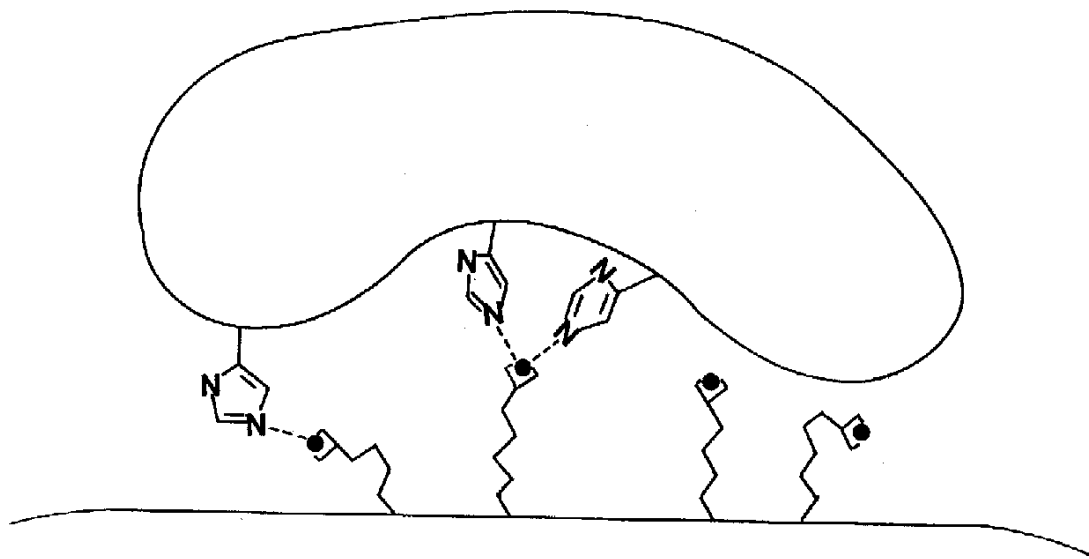
Η συλλογή γινόταν με τη συγκατάθεση του εθελοντή – δότη παρουσία του επιβλέποντα ιατρού. Τα δείγματα διαμοιράστηκαν κατά τη συλλογή τους σε αποστειρωμένα φιαλίδια πολυπροπυλενίου χωρητικότητας 5mL. Η διαδικασία συλλογής τηρούσε τις προδιαγραφές κατοχυρωμένου πρωτοκόλλου συλλογής ούρων όπως ορίζει η **European Kidney and Urine Proteomics (EuroKUP)** και το **Human Kidney and Urine Proteome Project (HKUPP)** δίκτυο, το οποίο περιλαμβάνει ψύξη στους -80°C μέσα σε 3 ώρες από τη συλλογή των ούρων και φυγοκέντρηση πριν την πρωτεωμική ανάλυση. Κάθε δείγμα πριν την ανάλυση αφήνεται να ξεπαγώσει σε θερμοκρασία δωματίου και εν συνεχεία φυγοκεντρείται στα 3000g για 20min στους 4°C για την απομάκρυνση αδιάλυτων συστατικών. Τα δείγματα συλλέχθηκαν την περίοδο 2003-2012 με αποτέλεσμα να διαφέρει ο χρόνος αποθήκευσης ανά δείγμα αλλά ο χρόνος αυτός διανέμεται παρόμοια μεταξύ των κατηγοριών των δειγμάτων. Τα δείγματα προέρχονται από ασθενείς με διαγνωσμένο καρκίνο της ουροδόχου κύστεως και χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: α) δείγματα από ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστεως αρχικού σταδίου (T_a), β) δείγματα από ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστεως μη μεταστατικού προχωρημένου σταδίου (T₁) και γ) δείγματα από ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστεως μεταστατικού σταδίου (T₂+). Επίσης συλλέχθηκαν και δείγματα ούρων από ασθενείς χωρίς διάγνωση καρκίνου ουροδόχου κύστεως αλλά με τυπικές ουρολογικές παθήσεις όπως λιθίαση, αιματουρία και ουρολοίμωξη.

3.2: Χρωματογραφία Συγγενείας με τη χρήση Νικελίου – Immobilized Metal Affinity Chromatography (IMAC)

3.2.1: Αρχή της Μεθόδου

Η ιδέα της χρωματογραφίας συγγενείας αρχικά προτάθηκε από τους Porath et.al. το 1975 και βασίζεται στη συγγένεια που παρουσιάζουν μεταλλικά ιόντα μετάπτωσης

όπως ψευδάργυρος (Zn^{2+}), χαλκός (Cu^{2+}), νικέλιο (Ni^{2+}) και κοβάλτιο (Co^{2+}) ως προς την κυστεΐνη, την ιστιδίνη και την τρυπτοφάνη σε υδατικά διαλύματα. Στη μέθοδο IMAC η επικόλληση των πρωτεϊνών βασίζεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ των ακινητοποιημένων μεταλλικών ιόντων στη στήλη και ομάδων που είναι δότες ηλεκτρονίων που βρίσκονται στις επιφάνειες των πρωτεϊνών. Άτομα δότες ηλεκτρονίων, όπως άζωτο (N), θείο (S) και οξυγόνο (O), που βρίσκονται στα αμινοξέα των πρωτεϊνών, δημιουργούν χημικά σύμπλοκα με τα ιόντα. Τα σύμπλοκα αυτά είναι από δισχιδή έως και πεντασχιδή. Οι θέσεις που μένουν χωρίς ένωση συμπληρώνονται από μόρια νερού ή ρυθμιστικού διαλύματος και μπορούν να ανταλλάξουν με ομάδες δότες ηλεκτρονίων προερχόμενες από τις πρωτεΐνες. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιώντας ως μεταλλικό ιόν το Ni^{2+} είναι κατάλληλη για τον εμπλουτισμό δειγμάτων σε πρωτεΐνες με C₂H₂ zinc – finger περιοχές ή και φωσφορυλιωμένες πρωτεΐνες. Έτσι, πρωτεΐνες πλούσιες σε ιστιδίνη, αργινίνη και λυσίνη (αμινοξέα με μεγάλη συγγένεια στο νικέλιο) προσκολλώνται στη στήλη και μπορούν στη συνέχεια να διαχωριστούν από το αρχικό δείγμα (44).



Εικόνα 3.1: Σχηματική παράσταση της προσκόλλησης πρωτεΐνης στη χρωματογραφία στήλης μέσω συμπλόκου μεταλλικού ιόντος (44).

3.2.2: Αντιδραστήρια – Οργανολογία

- Χρωματογραφική στήλη με ειδική μη φορτισμένη ρητίνη (Profinity IMAC uncharged resin, BioRad)
- Φυγόκεντρος speedvac (Eppendorf Concentrator 5301)

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

- Ρητίνη (Biorad)
- Διάλυμα Πρόσδεσης (50mM NaH₂PO₄, 300mM NaCl, 1mM Ιμιδαζόλιο, pH= 8.00)
- Διάλυμα Εξισορρόπησης (50mM CH₃COONa, 300mM NaCl, pH= 4.00)
- Διάλυμα Νικελίου (200mM NiSO₄, pH= 6.80) Sigma
- Διάλυμα Πρόσδεσης (50mM NaH₂PO₄, 300mM NaCl, 1mM Ιμιδαζόλιο, pH= 8.00)
- Διάλυμα Έκπλυσης (50mM NaH₂PO₄, 300mM NaCl, 5mM Ιμιδαζόλιο, pH= 8.00)
- Διάλυμα Έκλουσης (50mM NaH₂PO₄, 300mM NaCl, 500mM Ιμιδαζόλιο, pH= 8.00)
- Νερό καθαρότητας HPLC

3.2.3: Πειραματική Πορεία

Για την κλασμάτωση του πρωτεώματος των ούρων χρησιμοποιήθηκε ειδική μη φορτισμένη ρητίνη (Profinity IMAC uncharged resin, BioRad) σε χρωματογραφικές στήλες των 10mL σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Συνοπτικά, χρησιμοποιήθηκαν 0.5mL ρητίνης και η στήλη πλύθηκε με 8mL απιονισμένο νερό. Μετά το πλύσιμο της στήλης ακολούθησε ένα στάδιο εξισορρόπησης με 8mL διαλύματος πρόσδεσης. Πριν φορτωθούν τα ιόντα νικελίου στη στήλη, γίνεται εκ νέου εξισορρόπηση με 8mL διαλύματος εξισορρόπησης. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 8mL διαλύματος νικελίου και μετά η στήλη ξεπλύθηκε με 10mL απιονισμένο νερό. Ακολούθησε ένα νέο στάδιο εξισορρόπησης της στήλης με 8mL διαλύματος πρόσδεσης. Μετά από αυτό το στάδιο τα δείγματα ούρων αναμείχθηκαν με το διάλυμα πρόσδεσης σε μια αναλογία 1:4 αντίστοιχα και πέρασαν από τη στήλη. Η ποσότητα που φορτώθηκε στη στήλη ήταν 1mg ανά δείγμα (210 με 770 μL) μετρούμενο με τη μέθοδο Bradford. Η στήλη ξεπλύθηκε με 10mL διαλύματος έκπλυσης και κατά τη διάρκεια του ξεπλύματος συλλέχθηκαν 5 κλάσματα (2mL/κλάσμα) για να γίνει έλεγχος της αποδοτικότητας του πλυσίματος. Η έκλουση έγινε με την προσθήκη 4mL διαλύματος έκλουσης και συλλέχθηκαν δύο κλάσματα έκλουσης (2mL/κλάσμα). Σε αυτά τα κλάσματα, στη συνέχεια, έγινε διαπήδηση σε 3L νερού (3 αλλαγές νερού ανά 4 ώρες έλαβαν μέρος). Μετά από αυτό το βήμα διαπήδησης, τα εκλούσματα, το καθένα χωριστά, αποξηράθηκαν σε συσκευή

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

φυγοκέντρωσης υπό κενό (speedvac) και έγινε ανασύσταση σε 40-100μL HPLC νερού. Ποσότητα ίση με 20μL αναλύθηκε με LC-MS/MS ενώ το υπόλοιπο αποθηκεύτηκε στους -80°C χωρίς την προσθήκη αναστολέα πρωτεΐνης. Η ποσότητα πρωτεΐνης που συλλέχθηκε στα εκλούσματα κυμαινόταν από 7 έως 89μg ανάλογα με το δείγμα.

Για την ανάλυση αυτή χρησιμοποιήθηκαν 5 δείγματα ανά κατηγορία και η μέση τιμή και το εύρος των ηλικιών των ασθενών ήταν 77 (72 – 84, 4 άντρες, 1 γυναίκα) για τα δείγματα από παθήσεις του ουροποιητικού, 65 (60 – 76, 4 άντρες, 1 γυναίκα) για τα δείγματα Tα, 61 (55 – 67, 4 άντρες, 1 γυναίκα) για τα δείγματα T1 και 60 (27 – 71, 2 άντρες, 3 γυναίκες) για τα δείγματα T2+.

3.3: Ηλεκτροφόρηση μιας Διάστασης για τον έλεγχο της αποδοτικότητας του εμπλουτισμού της χρωματογραφίας στήλης και χρώση αργύρου

3.3.1: Αντιδραστήρια – Οργανολογία

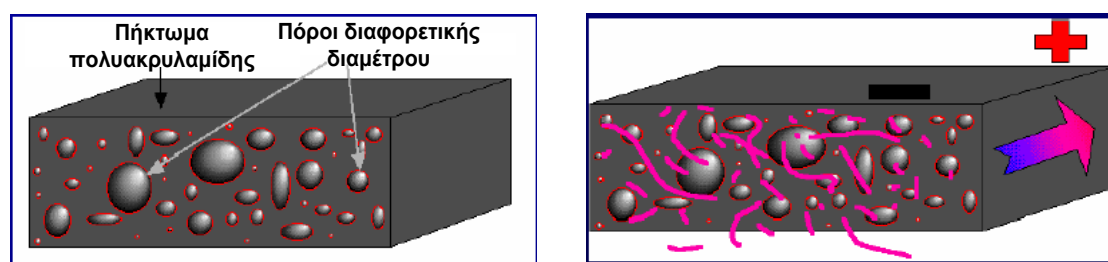
- Συσκευή ηλεκτροφόρησης BioRad
- *Διάλυμα πηκτώματος διαχωρισμού:* Πολυακρυλαμίδιο 10%(v/v), Tris-HCl 0,375M, pH= 8.80, SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) 0,1%(v/v), APS (Ammonium PerSulfate) 0,05%(v/v), TEMED (Tetramethylethylenediamine) 0,05%(v/v)
- *Διάλυμα πηκτώματος επιστοιβαξής:* Πολυακρυλαμίδιο 4%(v/v), Tris-HCl 0,125M, pH= 6.80, SDS 0,1%(v/v), APS 0,05%(v/v), TEMED 0,1%(v/v)
- *Αναγωγικό διάλυμα διαλυτοποίησης δειγμάτων (4x):* Tris-HCl 200mM, pH= 6.80, SDS 8%(w/v), Γλυκερόλη 40%(v/v), β-μερκαπτοαιθανόλη 20%(v/v), κυανό της βρωμοφαινόλης 0,4%(w/v)
- *Ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτροφόρησης Tris-Glycine-SDS (TGS, Biorad):* Αραιώθηκε το εμπορικά διαθέσιμο TGS 10x σε τελική συγκέντρωση 1x. Το TGS 1x περιείχε: Tris-HCl 25mM, pH= 8,30, γλυκίνη 192mM, SDS 0,1%(v/v).
- *Διάλυμα μονιμοποίησης:* 30% EtOH, 10% CH₂COOH
- *Διάλυμα ευαισθητοποίησης:* 0.8mM ένυδρο θειοσουλφιδικό νάτριο
- *Διάλυμα χρώσης:* 12mM διαλύματος AgNO₃

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

- *Διάλυμα εμφάνισης:* 3% K_2CO_3 , 25μl διαλύματος H_2CO 37%, 12.5μl διαλύματος πεντάνυδρου θειοσουλφιδικού νατρίου 10%
- *Διάλυμα παύσης:* 4% w/v Tris και 2% CH_2COOH

3.3.2: Αρχή της Μεθόδου

Η ηλεκτροφόρηση μιας διάστασης είναι μια τεχνική διαχωρισμού πρωτεϊνών. Σε αυτή τη μέθοδο ο διαχωρισμός γίνεται με βάση το μοριακό βάρος των πρωτεϊνών και επιτελείται μέσω κάθετης ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου το οποίο διαθέτει την επιθυμητή συγκέντρωση ακρυλαμίδης ανάλογα με τις δεδομένες πειραματικές συνθήκες. Η μέθοδος της ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου είναι από τις πλέον συνήθεις τεχνικές διαχωρισμού και προσδιορισμού των φαινομενικών μοριακών βαρών των πρωτεϊνών. Τα πηκτώματα πολυακρυλαμιδίου αποτελούνται από αλυσίδες πολυμερισμένου ακρυλαμιδίου που διασυνδέονται μεταξύ τους με τη βοήθεια του N,N'- μεθυλενοδισακρυλαμίδιο. Ο πολυμερισμός γίνεται με τη βοήθεια υπερθειϊκού αμμωνίου (APS), το οποίο παρέχει ελεύθερες ρίζες και επιταχύνεται με την προσθήκη TEMED, που καταλύει το σχηματισμό τους. Η διαδικασία αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία πόρων στο πηκτώμα. Το μέγεθος των πόρων καθώς και το αποτελεσματικό εύρος διαχωρισμού του πηκτώματος (Εικ.2.2) εξαρτώνται από τη συγκέντρωση του πολυακρυλαμιδίου. Τα πρωτεϊνικά μόρια μικρότερου μεγέθους κινούνται πιο γρήγορα σε σχέση με τα μεγαλύτερα.(45)



A.

B.

Εικόνα 3.2 A: Δημιουργία πόρων διαφορετικής διαμέτρου και B: Κινητικότητα πρωτεϊνικών μορίων διαφορετικού μεγέθους σε πηκτώμα πολυακρυλαμιδίου.

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Η ηλεκτροφόρηση γίνεται κάτω από συνθήκες που εξασφαλίζουν την αποδιάταξη των πρωτεϊνών στις πολυπεπτιδικές υπομονάδες. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται το δωδέκυλο σουλφονικό νάτριο (SDS), ένα ισχυρό ανιονικό απορρυπαντικό, μαζί με κάποιον αναγωγικό παράγοντα.

Για να γίνουν ορατές οι πρωτεΐνες μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης τα πηκτώματα χρωματίζονται με Χρώση Αργύρου (SilverStain). Η βασική αρχή της μεθόδου είναι απλή: οι πρωτεΐνες ενώνονται με Ag^+ , τα οποία στη συνέχεια κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες ανάγονται. Το αποτέλεσμα είναι να γίνονται ορατές οι πρωτεΐνες στα πηκτώματα. (46).

3.3.3: Πειραματική Πορεία

Για τον έλεγχο της αποδοτικότητας του εμπλουτισμού μέσω της χρωματογραφίας αναλύθηκε μια μικρή ποσότητα δείγματος (10 μ L, 0,5 μ g) από κάθε κλάσμα με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου μονής διάστασης με σύσταση 4% διάλυμα επιστοίβαξης, 10% διάλυμα διαχωρισμού σε ασυνεχές σύστημα. Ακολούθησε χρώση με SilverStain σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Chevallet et. al. (46). Συνοπτικά, τα πηκτώματα τοποθετούνται σε διάλυμα μονιμοποίησης για 30 λεπτά, ξεπλένονται με διάλυμα 20% αιθανόλης και τοποθετούνται σε διάλυμα ευαισθητοποίησης για 1min. Ύστερα από ένα σύντομο στάδιο έκπλυσης, τα πηκτώματα χρωματίζονται με διάλυμα χρώσης για 30min. Εν συνεχεία ξεπλένονται και προστίθεται διάλυμα εμφάνισης μέχρι να γίνουν ορατές οι πρωτεΐνες (περίπου 15-20 min), απομακρύνεται το διάλυμα εμφάνισης με έκπλυση. Τέλος τοποθετείται το διάλυμα παύσης και τα πηκτώματα σαρώνονται σε υπολογιστή.

3.4: Ανάλυση LC-MS/MS για την ανίχνευση πεπτιδίων

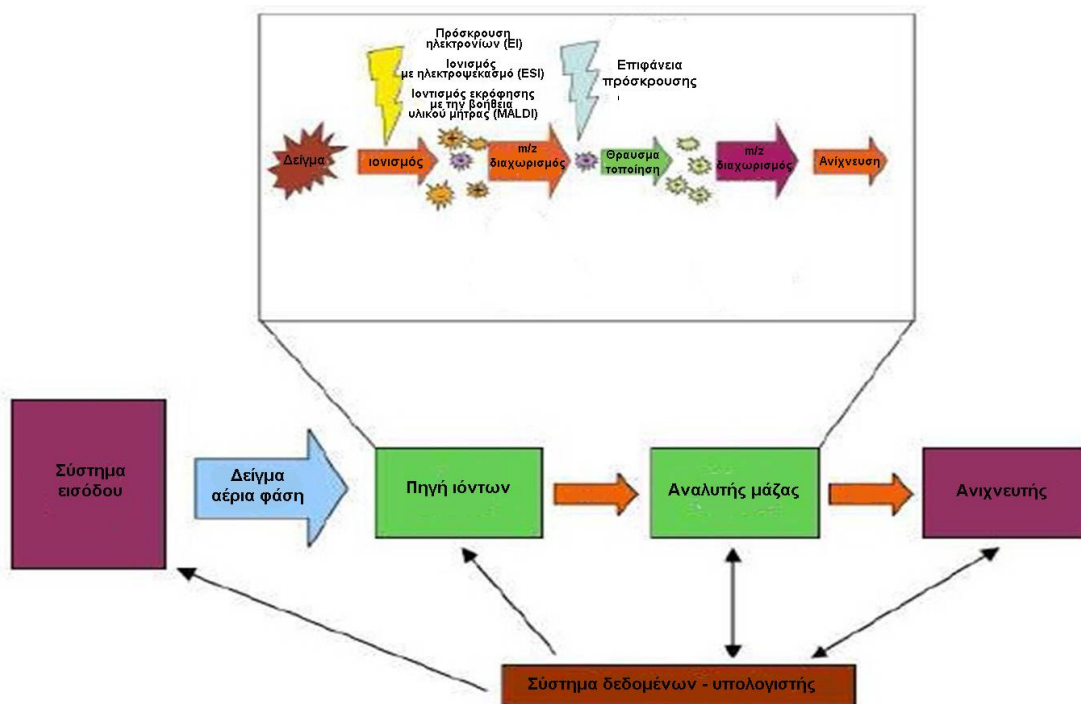
3.4.1: Αρχή της Μεθόδου

Ένας φασματογράφος μάζας αποτελείται από την πηγή ιονισμού, τον αναλυτή μάζας, τον ανιχνευτή και το σύστημα συλλογής των φασματομετρικών δεδομένων. Η βασική μεθοδολογία που ακολουθείται είναι η εξής: το υπό ανάλυση δείγμα εισάγεται στην πηγή ιονισμού του οργάνου και τα μόρια του δείγματος ιονίζονται. Τα ιόντα, λόγω του φορτίου τους, είναι ευκολότερα στον χειρισμό τους σε σχέση με τα ουδέτερα μόρια. Τα ιόντα που δημιουργούνται οδηγούνται στον αναλυτή μάζας και

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

διαχωρίζονται σύμφωνα με το λόγο μάζα/φορτίο (m/z). Τα διαχωριζόμενα ιόντα ανιχνεύονται με τη μορφή ηλεκτρικού σήματος. Ο αναλυτής και ο ανιχνευτής του φασματογράφου, συνήθως και η πηγή ιονισμού βρίσκονται υπό κενό προκειμένου τα προκύπτοντα ιόντα να έχουν τη δυνατότητα μετακίνησης από τη μία άκρη του οργάνου ως την άλλη χωρίς να παρεμποδίζονται από μόρια αέρα (47). Η πειραματική διαδικασία της φασματομετρίας μάζας MS οδηγεί στη δημιουργία ενός χαρακτηριστικού φάσματος που περιέχει όλα τα πεπτίδια μιας πρωτεΐνης.

Περαιτέρω διάσπαση των μορίων στόχων οδηγεί στην MS/MS ή Tandem MS. Βασική αρχή του MS/MS είναι ότι τα πεπτίδια που παράγονται από την διάσπαση των πρωτεϊνών διασπώνται περαιτέρω προκειμένου να επιτευχθεί η αλληλούχισή τους (48). Στην περίπτωση της διαδικασίας MS/MS επιλέγεται κάθε πεπτίδιο που έχει ανιχνευθεί προηγουμένως για περαιτέρω ανάλυση, διασπάται (συνήθως βομβαρδιζόμενο από μόρια κάποιου αδρανούς αερίου) και στη συνέχεια μέσω του καινούργιου φάσματος αναγνωρίζεται η αλληλουχία των αμινοξέων του.



Εικόνα 3.3: Σχηματική παράσταση της διαδικασίας ανάλυσης δείγματος με τη μέθοδο LC-MS/MS.

3.4.2: Αντιδραστήρια – Οργανολογία

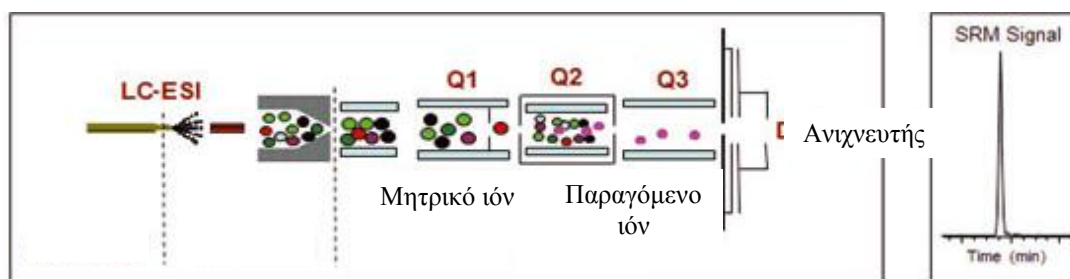
- Αντλία Ultimate 3000 nano-LC (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) ενωμένη με το μηχάνημα LTQ-Velos (Thermo Corp.)

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

- Στήλη Dionex 100 μ m x 2 cm 5 μ m C18 nano trap
- Στήλη αντίστροφης φάσης C18 (75 μ m ID X 150 mm, 100 E, Acclaim Pep Map RSLC C18, Dionex)
- Ψεκαστήρας Proxeon nano spray ESI (Thermo Fisher, Hemel, UK)
- Μηχάνημα Orbitrap Velos FTMS
- Ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης 80% CH₃CN, 0.2% HCOOH

3.4.3: Πειραματική Πορεία

5 μ L από τα εκλούσματα (περίπου 1 μ g) των δειγμάτων που αναλύθηκαν με IMAC φορτώθηκαν σε στήλη Dionex με ροή 5 μ l/min και διαχωρίστηκαν σε μια στήλη αντίστροφης φάσης C18. Τα πεπτίδια εκλύονται με τη βοήθεια ενός ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης με μια ροή 300 nL/min. Το έκλουσμα της στήλης μεταφέρεται στον ψεκαστήρα Proxeon nanospray ESI που λειτουργεί με θετικά ιόντα και εν συνεχεία στο μηχάνημα Orbitrap Velos FTMS. Το δυναμικό ιονισμού ήταν 2.5 kV και η θερμοκρασία του τριχοειδούς ήταν 200 $^{\circ}$ C. Ο φασματογράφος μάζας ήταν ρυθμισμένος στην επιλογή ανάλυσης MS/MS ανακτώντας φάσματα με εύρος λόγου μάζας φορτίου 380 με 2000 amu. Η ανάλυση έγινε με τη μέθοδο High Energy Collision Dissociation (HCD). Μητρικά ιόντα με φορτίο 1+ απορρίφθηκαν.



Εικόνα 3.4: Σχηματική αναπαράσταση του τρόπου λειτουργίας του μηχανήματος Orbitrap Velos FTMS (49)

3.4.5: LC-MS/MS – Ανάλυση δεδομένων

Έγινε επεξεργασία των δεδομένων από την LC-MS/MS ανάλυση των δειγμάτων με το πρόγραμμα Thermo Proteome Discoverer 1.2. Η επιλογή των κορυφών των φασμάτων έγινε κάτω από προκαθορισμένες ρυθμίσεις όπως μόνο πεπτίδια με φορτίο μεγαλύτερο του +2, αναλογία σήματος/θορύβου μεγαλύτερη του 1.5 και τα φάσματα να προέρχονται από μητρικά πεπτίδια με μοριακό βάρος μεταξύ 700 – 8000 Da. Οι

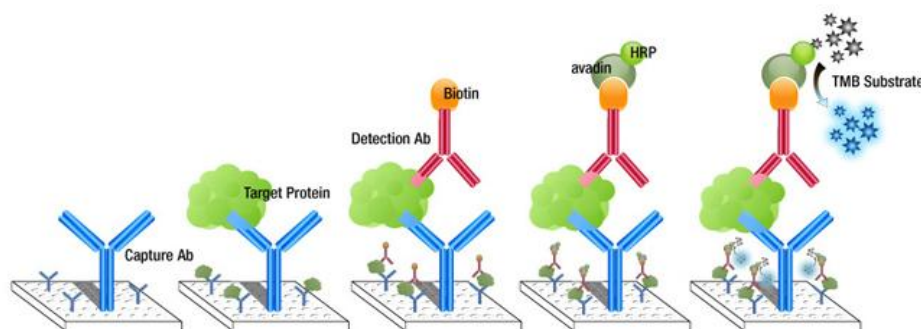
Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

πεπτιδικές και οι πρωτεϊνικές αναγνωρίσεις έγιναν μέσω του αλγορίθμου SEQUEST και η ανίχνευση μέσω των τελευταίων εκδόσεων των βάσεων δεδομένων IPI (<http://www.ebi.ac.uk/IPI>) και Uniprot (<http://www.uniprot.org/>) της ανθρώπινης ταξονομίας. Από το σύνολο των πεπτιδίων που προέκυψε από την ανάλυση επιλέχθηκαν εκείνα τα πεπτιδικά φάσματα τα οποία χαρακτηρίστηκαν από λογισμικό ως «υψηλής εμπιστοσύνης».

3.5: Ανάλυση δειγμάτων ούρων με τη μέθοδο ELISA

3.5.1: Αρχή της Μεθόδου

Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ELISA τύπου Sandwich. Τα πλακίδια μικροτιτλοδότησης είχαν επωαστεί με αντισώματα ειδικά ως προς τις προ ανάλυση πρωτεΐνες. Τα πρότυπα διαλύματα και τα δείγματα τοποθετούνται στις μικροκυψελίδες των πλακιδίων και επωάζονται ώστε να γίνει η σύνδεση της πρωτεΐνης στόχου με το αντίσωμα. Στη συνέχεια προστίθεται πολυκλωνικό αντίσωμα συζευγμένο με βιοτίνη ειδικό για την εκάστοτε πρωτεΐνη στόχο και αβιδίνη συζευγμένη με υπεροξειδάση του ραπανακίου (HRP). Στη συνέχεια προστίθεται ως υπόστρωμα **τετραμεθυλοβενζιδίνη (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, TBM)** και το μείγμα επωάζεται. Μόνο όσα πηγάδια περιέχουν το σύστημα αντίσωμα-πρωτεΐνη-πολυκλωνικό αντίσωμα με βιοτίνη-αβιδίνη θα αλλάξει το χρώμα τους και θα δώσουν σήμα στο φωτόμετρο.



Εικόνα 3.5: Σχηματική παράσταση της αρχής της μεθόδου ELISA sandwich

3.5.2 Αντιδραστήρια – Οργανολογία

- Φωτόμετρο Spectra Max 190
- Διαλύματα ανίχνευσης 1 και 2, διάλυμα έκπλυσης, διάλυμα υποστρώματος και διάλυμα παύσης. Όλα περιλαμβάνονταν στη συσκευασία Δεν περιλαμβάνονταν διαλύματα ελέγχου.

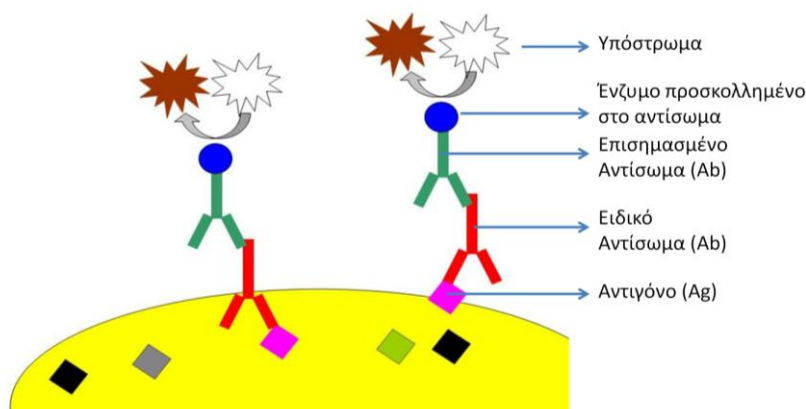
3.5.3: Πειραματική Πορεία

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των πρωτεϊνών H2B και NIF-1 σε δείγματα ακατέργαστων ούρων χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά διαθέσιμα ELISA Kits (από την εταιρία USCNLIFE, INC, Κίνα). Συνολικά αναλύθηκαν 166 διαφορετικά δείγματα ούρων (141 άντρες, 19 γυναίκες) από ασθενείς με παθήσεις του ουροποιητικού (benign) (μέση ηλικία δότη 66, εύρων ηλικιών 29 - 88) και ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστεως Ta (μέση ηλικία δότη 69, εύρων ηλικιών 39 - 88), T1 (μέση ηλικία δότη 70, εύρων ηλικιών 49 - 90) και T2+ (μέση ηλικία δότη 68, εύρων ηλικιών 49 - 86). Τα επίπεδα της H2B στα ούρα εξετάστηκαν σε 147 δείγματα ούρων: 39 benign, 40 Ta, 36 T1 και 32 T2+. Για την NIF-1 χρησιμοποιήθηκαν 158 δείγματα ούρων: 47 benign, 44 Ta, 36 T1 και 31 T2+. Η πειραματική πορεία έγινε με βάση τις οδηγίες του κατασκευαστή χρησιμοποιώντας ποσότητα 100μL ούρων ανά δείγμα. Αναλυτικά, 100μL δείγματος, προτύπων και τυφλού τοποθετήθηκαν στις μικροκυψελίδες των πλακιδίων και αφέθηκαν προς επώαση στους 37 °C για 2h. Μετά το πέρας των 2h αφαιρέθηκαν τα υγρά από κάθε μικροκυψελίδα και προστέθηκαν 100μL του πρώτου αντιδραστηρίου ανίχνευσης (πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού έναντι της πρωτεΐνης συζευγμένο με βιοτίνη) και τα πλακίδια επώαστηκαν για 1h στους 37 °C. Ακολούθησαν 3 πλυσίματα των πλακιδίων με το διάλυμα έκπλυσης και προστέθηκαν 100μL του δεύτερου ανιχνευτή (αβιδίνη συζευγμένη με υπεροξειδάση του ραπανακίου) και επώαση για 1h στους 37 °C. Ύστερα, καθαρίζονται τα πλακίδια 5 φορές με διάλυμα έκπλυσης και προστίθεται το διάλυμα υποστρώματος. Η επώαση διαρκεί 30min στους 37 °C. Τέλος προστίθεται το διάλυμα παύσης και το πλακίδιο μετράται σε φωτόμετρο στα 450nm. Όσα δείγματα έδιναν συγκέντρωση κάτω από το ελάχιστο όριο ανίχνευσης λάμβαναν την τιμή "0" για την περαιτέρω στατιστική επεξεργασία.

3.6: Ανοσοϊστοχημική ανάλυση καρκινικών δειγμάτων από ιστούς ουροδόχου κύστεως

3.6.1: Αρχή της Μεθόδου

Η αρχή της μεθόδου της ανοσοϊστοχημείας είναι απλή και αποτελεί συνδυασμό τριών διαφορετικών επιστημονικών αρχών: ανοσολογία, ιστολογία και χημεία. Η βασική αρχή είναι η επίδειξη αντιγόνων που βρίσκονται στον ιστό με τη βοήθεια αντισωμάτων. Η σύνδεση αντιγόνου – αντισώματος αποκαλύπτεται μέσω μιας έγχρωμης ιστοχημικής αντίδρασης, ορατής με μικροσκόπιο φωτός ή με χρωμοφόρα σε υπεριώδες φως (50).



Εικόνα 2.6: Σχηματική παράσταση της μεθόδου της ανοσοϊστοχημείας

3.6.2: Πειραματική πορεία

Αναλύθηκαν συνολικά 32 δείγματα ιστών από καρκίνο ουροδόχου κύστεως, επεξεργασμένα με φορμόλη και εγκλείστηκαν σε παραφύση, (μέση ηλικία κατά τη διάγνωση 67 χρόνια, εύρος ηλικιών 50–86 χρόνια, 27 άντρες, 5 γυναίκες) με τη μέθοδο της Ανοσοϊστοχημείας. Τα δείγματα αυτά συλλέχθηκαν από κυστεοσκόπηση της ουροδόχου κύστεως ή μέσω κυστεκτομής. Δείγματα ιστών από ασθενείς με μη νεοπλασματικές ασθένειες δεν υπήρχαν καθώς λόγω του επεμβατικού τρόπου που γίνεται η συλλογή ιστού εκτελείται όταν υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις παρουσίας καρκίνου. Οι τομές των ιστών αξιολογήθηκαν με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης και βαθμολογήθηκαν με βάση τον τρόπο αξιολόγησης WHO 1973 ως βαθμού διαφοροποίησης 1 (5 περιπτώσεις), βαθμού 2 (13 περιπτώσεις), βαθμού 3 (14 περιπτώσεις). Η βαθμολόγηση έγινε με βάση την κατάταξη κατά TNM/UICC(2009)

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

ως: pTa (11 περιπτώσεις), pT1 (12 περιπτώσεις), pT2 (9 περιπτώσεις). In situ καρκίνωμα βρέθηκε να συνυπάρχει σε 6 περιπτώσεις.

Η ανοσοϊστολογική χρώση των Histone2B και NIF-1 έγινε σε τομές ιστού πάχους 4μm επεξεργασμένα με φορμόλη και παραφίνη. Για την ενίσχυση της ανάκτησης του αντιγόνου οι τομές επεξεργάστηκαν με μικροκύματα στα 750W για τρεις κύκλους των 5min μέσα σε διάλυμα κιτρικού οξέος 10 mM, pH= 6.00. Ως θετικά δείγματα και για τις δύο πρωτεΐνες H2B και NIF-1 έγινε ανοσοϊστοχημεία σε ιστούς με παραφίνη από καρκίνο του μαστού. Για τα αρνητικά δείγματα είχε παραλειφθεί το βασικό αντίσωμα και αντικαταστάθηκε με μη ανοσολογικό φυσιολογικό ορό του ίδιου είδους. Η ενδογενής ενεργότητα της υπεροξειδάσης μειώθηκε με 0.3% υπεροξείδιο του υδρογόνου σε Tris-buffered saline (TBS). Μετά την πλύση με TBS, χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός αλόγου για 30min προς παρεμπόδιση μη ειδικών συνδέσεων των αντισωμάτων. Στη συνέχεια, οι τομές επώαστηκαν ολονύκτια στους 4 °C με τα εξής αντισώματα: μονοκλωνικό αντίσωμα κουνελιού έναντι της Histone2B (cloneEP957Y, Millipore, Temecula, CA, USA), αραιωμένο 1:500 και πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού έναντι της NIF-1 (cat.No.IHC-00194, Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA) αραιωμένο 1:80.

Μια τεχνική τριών βημάτων χρησιμοποιήθηκε για την οπτικοποίηση, με τη διαμινobenζιδίνη ως χρωμοφόρο, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (Avidin-Biotin-Peroxidase, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Τέλος, οι τομές χρωματίστηκαν με αιματοξυλίνη.

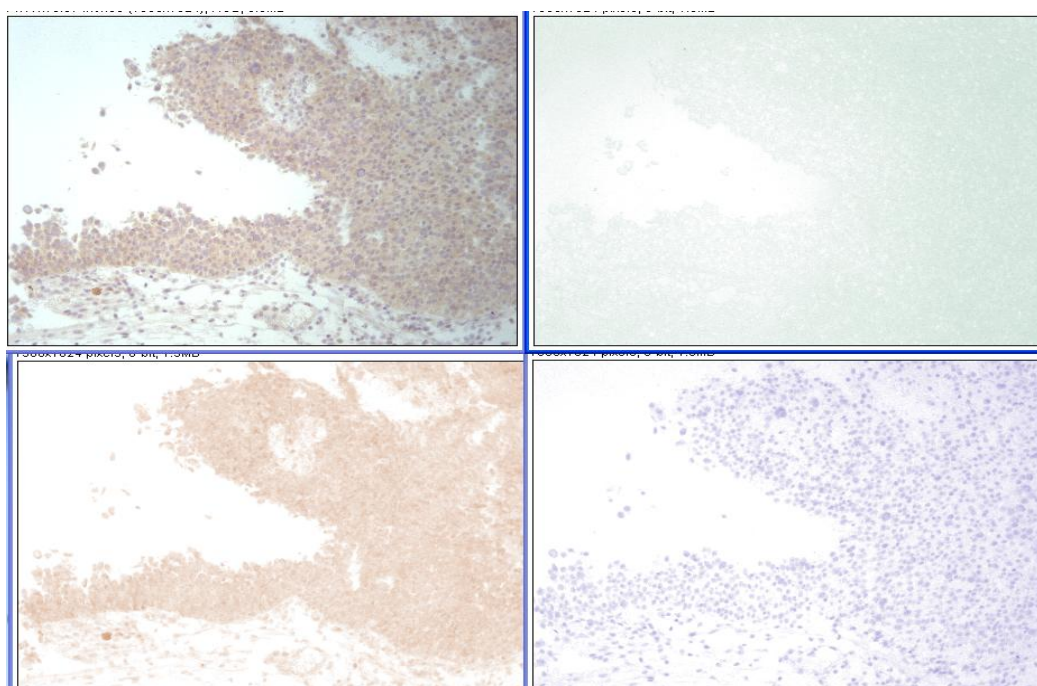
3.6.3: Αξιολόγηση της Ανοσοϊστοχημείας

Η αξιολόγηση της ανοσοϊστολογικής διαδικασίας έγινε από δύο ανοσοϊστοπαθολόγους, οι οποίοι δεν γνώριζαν τα κλινικά δεδομένα του κάθε ασθενούς. Από αυτήν την αρχική ανάλυση δεν βρέθηκε κάποια ψευδής χρώση και παρατηρήθηκε μια ομοιόμορφη έκφραση των δύο πρωτεϊνών σε όλα τα επιθηλιακά κύτταρα. Τέλος, παρατηρήθηκε πυρηνική ανοσοαντιδραστικότητα για την H2B και πυρηνική και κυτταροπλασματική ανοσοαντιδραστικότητα για την NIF-1.

Για την αξιολόγηση των δειγμάτων ανεξάρτητα από την οπτική παρατήρηση, η οποία πολλές φορές περιέχει την ανθρώπινη υποκειμενικότητα, έγινε μια προσπάθεια ποσοτικοποίησης των αποτελεσμάτων με μια μέθοδο ανάλυσης εικόνας χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα ImageJ, που επιτρέπει την ανάλυση μιας RGB

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

εικόνας σε χωριστά κανάλια, όπως περιγράφεται από τους Ruifrok et. al. (51). Η διαδικασία έγινε ως εξής: κάθε τομή ιστού σαρώθηκε κάτω από οπτικό μικροσκόπιο χρησιμοποιώντας μεγέθυνση X20. Ανάλογα το μέγεθος του ιστού, ελήφθησαν 5-10 εικόνες ανά τομή. Στη συνέχεια, κάθε εικόνα αναλύθηκε με το πρόγραμμα IMAGE J, όπου πρώτα φιλτράρεται ώστε να προκύψει μια εικόνα με διχρωμία. Από αυτήν την τελευταία εικόνα λήφθηκαν 10-50 πεδία ιδίων διαστάσεων (16200nm²) και μετρήθηκε η οπτική ένταση αυτών. Η οπτική ένταση κανονικοποιήθηκε ως προς το υπόβαθρο του ιστού που λειτούργησε σαν αρνητικό σήμα. Τέλος υπολογίστηκαν η μέση τιμή της έντασης ανά εικόνα και ακολούθως ανά δείγμα ιστού.



Εικόνα 3.7: Ανάλυση αρχικής εικόνας από τομή ανοσοϊστοχημείας (πάνω αριστερά) σε τρεις εικόνες. Η εικόνα κάτω αριστερά δείχνει τη χρώση στις περιοχές όπου βρίσκεται η πρωτεΐνη και σε αυτήν έγινε η ανάλυση όπως περιγράφεται στην πειραματική πορεία.

3.7: Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων

Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS statistical software (SPSS 17.0: IBM). Το Kolmogorov – Smirnov test (K-S test) χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της κανονικότητας των δεδομένων. Τιμή >0.05 φανερώνει πως τα δεδομένα παρουσιάζουν κανονικότητα. Στην περίπτωση που δεν παρουσιαζόταν κανονικότητα, γινόταν χρήση του Mann-Whitney test για τη

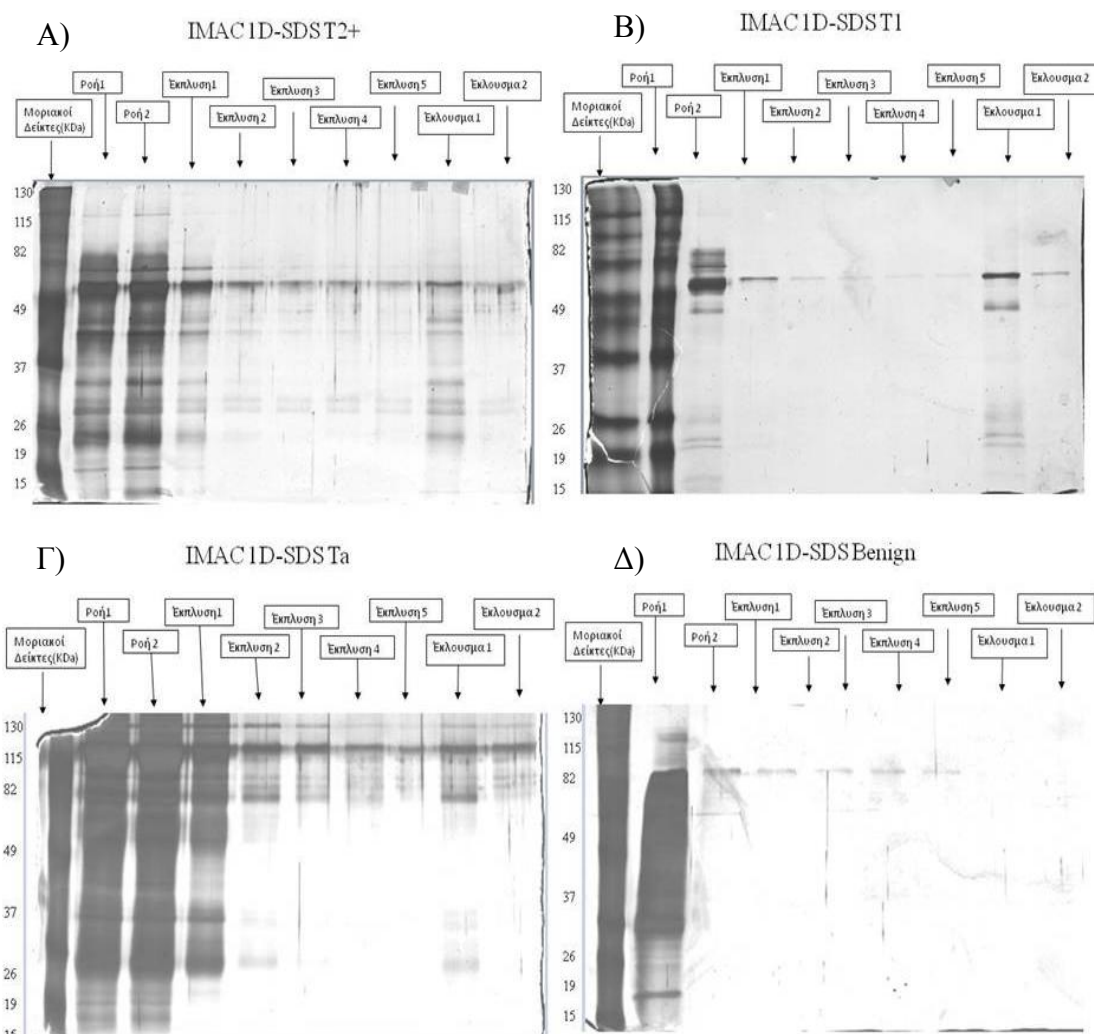
Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

σύγκριση δύο ομάδων δεδομένων, ενώ για κανονικοποιημένα δεδομένα το student t-test. Σε κάθε περίπτωση στατιστικώς σημαντική ήταν η παρατήρηση με $p < 0.05$. Τα διαγράμματα boxplots δημιουργήθηκαν με το πρόγραμμα Origin software (Origin Pro.8: Origin Lab Corporations). Συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων των βιοδεικτών και συγκέντρωσης πρωτεϊνών στα ούρα ερευνήθηκαν με τη χρήση του Pearson correlation test.

Κεφάλαιο 4^ο : Αποτελέσματα

4.1: Αποτελέσματα από την ανάλυση δειγμάτων ούρων με LC-MS/MS μετά από διαχωρισμό με IMAC

Συλλέχθηκαν δείγματα ούρων από 4 διαφορετικές κατηγορίες ασθενών: 6 δείγματα από ασθενείς με μη κακοήθεις παθήσεις του ουροποιητικού (benign), 5 δείγματα από ασθενείς με πρώιμη μορφή καρκίνου ουροδόχου κύστεως (T_a), 5 δείγματα από ασθενείς με μη μεταστατικό καρκίνο ουροδόχου κύστεως (T₁) και 5 δείγματα από ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο ουροδόχου κύστεως (T₂⁺). Τα δείγματα αυτά πέρασαν από επεξεργασία με IMAC και τα εκλούσματα αναλύθηκαν με 1D-SDS PAGE. Ενδεικτικά παρατίθενται στην εικόνα 4.1 τα πηκτώματα από την ηλεκτροφόρηση ενός δείγματος ανά κατηγορία.



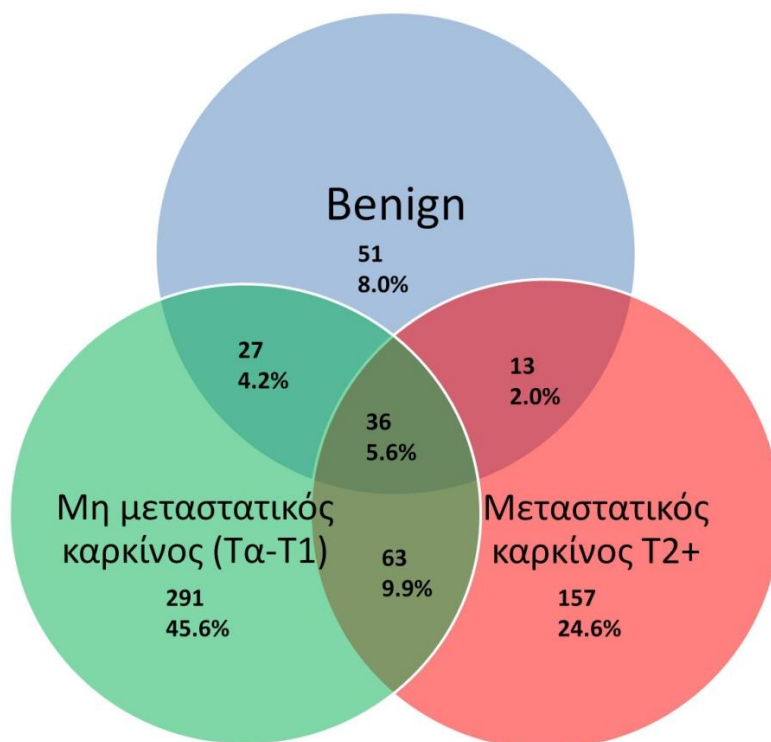
Εικόνα 4.1: Αντιπροσωπευτικές εικόνες πηκτωμάτων ανάλυσης μιας διάστασης μετά από επεξεργασία σε στήλη χρωματογραφίας IMAC. Δείγματα καρκινικά (T₂⁺, T₁, T_a) και από παθήσεις του ουροποιητικού (benign).

Τα 21 αυτά εκλούσματα των δειγμάτων αναλύθηκαν με LC-MS/MS και προέκυψαν συνολικά 1845 πεπτιδικές αναγνωρίσεις που πληρούν τα αυστηρά κριτήρια αναγνώρισης (βλέπε Κεφ. 2 Υλικά & Μέθοδοι). Αυτά τα πεπτίδια αντιστοιχούν σε 638 συνολικά πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες που αναγνωρίστηκαν παρουσιάζονται αναλυτικά σε πίνακα στο Παράρτημα 1. Στον Πίνακα 4.1 και την Εικόνα 4.2 παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα των πρωτεϊνικών αναγνωρίσεων, όπως προέκυψαν από την ανάλυση των δειγμάτων. Στον πίνακα παρατίθενται αναλυτικά οι αναγνωρίσεις ανά κατηγορία (Benign, Ta, T1, T2+).

Πίνακας 4.1: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων αναγνώρισης πρωτεϊνών της ανάλυσης των δειγμάτων με LC-MS/MS. Παρατίθενται οι μοναδικές και κοινές αναγνωρίσεις ανά κατηγορία.

Στάδιο ασθένειας	Αριθμός αναγνωρισμένων πρωτεϊνών ανά στάδιο	Ποσοστό επί του συνόλου των αναγνωρισμένων πρωτεϊνών (638)
Benign	51	8,0%
Benign, T2+	13	2,0%
Benign, T1	24	3,8%
Benign, Ta,T1	2	0,3%
Benign, Ta	1	0,2%
Όλα τα στάδια(B, Ta, T1, T2+)	8	1,3%
Benign, T1,T2	28	4,4%
T2	157	24,6%
T1	287	45,0%
Ta	4	0,6%
T1,T2+	62	9,7%
Ta,T1,T2+	1	0,2%

Στην εικόνα 4.2 οι κατηγορίες Ta και T1 ενώθηκαν σε μια νέα κατηγορία, αυτή του μη μεταστατικού καρκίνου.



Εικόνα 4.2: Διάγραμμα Venn συσχέτισης κοινών πρωτεϊνικών αναγνωρίσεων και σταδίων ασθένειας

Από τις αναγνωρίσεις 36 πρωτεΐνες εμφανίζονται κοινές στις τρεις κατηγορίες (Benign, μη μεταστατικού και μεταστατικού καρκίνου) και είναι πρωτεΐνες του πλάσματος όπως σφαιρίνες, η αλβουμίνη, ισομορφές απολιποπρωτεΐνης, κολαγόνο, S100-A9 κ.ά. η ταυτοποίηση αυτών των πρωτεϊνών είναι αναμενόμενη καθώς έχουν συγγένεια σε μεταλλικά ιόντα, όπως π.χ. η αλβουμίνη. Γενικά, τα καρκινικά δείγματα (Tα, T1, T2+) δίνουν περισσότερες αναγνωρίσεις σε σχέση με τα δείγματα παθήσεων ουροποιητικού. Η παρατήρηση αυτή είναι αναμενόμενη καθώς τα καρκινικά δείγματα λογικά υπερεκφράζουν μεταλλοπρωτεάσες και μεταγραφικές πρωτεΐνες που περιέχουν τομείς πρόσδεσης μετάλλων.

Η τεχνική χρωματογραφίας IMAC με Ni^{2+} είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για την απομόνωση πρωτεϊνών που περιέχουν περιοχές (domains) πρόσδεσης μετάλλων ή είναι φωσφορυλιωμένες. Ωστόσο, τα αποτελέσματα δείχνουν πως αυτά τα δύο δομικά στοιχεία δεν αποτελούν το μοναδικό κριτήριο. Επειδή τα αμινοξέα Ιστιδίνη, Αργινίνη και Λυσίνη έχουν συγγένεια για το Ni^{2+} , πολλές πρωτεΐνες που περιέχουν έστω και ένα από αυτά τα αμινοξέα ακινητοποιούνται στη χρωματογραφική στήλη. Αυτό επιβεβαιώνεται από το ποσοστό των πρωτεϊνών που αναγνωρίστηκαν και περιέχουν

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

τουλάχιστον ένα από τα τρία αμινοξέα και ανέρχεται στο 94%. Μάλιστα, 18 πεπτίδια βρέθηκαν να προέρχονται από πρωτεΐνες με τομείς zinc-finger.

Ακολούθησε “in silico” ανάλυση και αξιολόγηση των ευρημάτων για τον βιολογικό ρόλο των πρωτεϊνών χρησιμοποιώντας εργαλεία γενετικής οντολογίας (GO, gene ontology) καθώς και βάσεις δεδομένων όπως “Human Protein Atlas” και “UniProt” (Εικόνα 4.3). Το ενδιαφέρον σημείο της ανάλυσης είναι η υπερεκπροσώπιση πεπτιδίων στα καρκινικά δείγματα που σχετίζονται με πυρηνικές πρωτεΐνες (όπως τις Ιστόνες) αλλά και μεταγραφικές πρωτεΐνες με τομείς zinc-finger (Παράρτημα 1).



Εικόνα 4.3: Κατηγοριοποίηση των αναγνωρισμένων πρωτεϊνών με βάση τις βιολογικές λειτουργίες. Η κατηγοριοποίηση έγινε σε 13 κατηγορίες βασισμένη στην ανάλυση μέσω GO και medline.

Για να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα της πρωτεωμικής ανάλυσης επιλέχθηκαν 2 πρωτεΐνες, η H2B και η NIF-1 που περιέχουν περιοχές πρόσδεσης μετάλλου (zinc finger domain) και βρίσκονται στην περιοχή των μεταστατικών δειγμάτων στο διάγραμμα Venn (Εικόνα 4.2). Στον Πίνακα 5.1 παρουσιάζονται επιπρόσθετοι υποψήφιοι στόχοι βασισμένοι στα ευρήματα της εργασίας, την υποθετική λειτουργία τους και τις υπάρχουσες γνώσεις για αυτούς.

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Πίνακας 4.2: Λίστα υποψηφίων πρωτεϊνών στόχων για βιοδείκτες στον καρκίνο ουροδόχου κύστεως

Πρωτεΐνη	Στάδιο Ανίχνευσης	Λειτουργία
Bromodomain adjacent to zinc finger domain protein 2B	T2+	Μεταγραφική Ρύθμιση, Ανταπόκριση σε βλάβες του DNA, Ρύθμιση του H2A.X (52)
Histone acetyltransferase p300	B	Αναδιαμόρφωση Χρωματίνης –Απομάκρυνση του διμερούς H2A-H2B Ανταπόκριση σε βλάβες του DNA(53)
Zinc finger protein 703	T2+	Μεταγραφική Ρύθμιση, Ογκογονίδιο του Καρκίνου του Μαστού(54)
Transcription factor Sp2	T1	Μεταγραφικός Παράγοντας σχετιζόμενος με Ψευδάργυρο, Ογκογονίδιο(55)
POU domain, class 2, transcription factor 1	T1	Ρυθμιστής της H2B, Χαρακτηριστική Σωματικών και Καρκινικών Βλαστικών Κυττάρων(56, 57)
Roundabout homolog 4	T1,T2+	Υποδοχέας της πρωτεΐνης Slit – Αγγειογένεση, Στόχος Όγκου μέσω αγγείων (58)
Slit homolog 2	T1	Αναστολέας Κυτταρικής Διαίρεσης(59)
A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 12	T1	Μεταλλοπρωτεάση Ψευδαργύρου, Αναδιαμόρφωση Ιστού και Αγγειογένεση(60)
MeprinA sub unit alpha	T1	Μεταλλοπρωτεάση Ψευδαργύρου. Προ-αγγειογενετική & Προ-Μεταναστευτικής δραστηριότητα(61)

4.2: Αποτελέσματα ανάλυσης δειγμάτων ούρων με ELISA

Μελετήθηκε ποσοτικά το επίπεδο των πρωτεϊνών H2B και NIF-1 σε δείγματα ούρων με τη μέθοδο της ELISA.

Για την πρωτεΐνη NIF-1:

Αναλύθηκαν 158 δείγματα ούρων χωρισμένα στις εξής κατηγορίες: 47 δείγματα από ασθενείς με παθήσεις του ουροποιητικού συστήματος (benign), 44 δείγματα από ασθενείς από την καρκινική κατηγορία T_a, 36 δείγματα από ασθενείς με μη μεταστατικό καρκίνο της ουροδόχου κύστεως T1 και τέλος 31 δείγματα από ασθενείς

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

με μεταστατικό καρκίνο ουροδόχου κύστεως T2+. Στα περισσότερα δείγματα (106/111 καρκινικά δείγματα) ανιχνεύθηκε η πρωτεΐνη NIF-1. Οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων ανά κατηγορία παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.2.

Πίνακας 4.3: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων ανίχνευσης συγκέντρωσης της πρωτεΐνης NIF-1 με ELISA.

Στάδιο	Αριθμός δειγμάτων	Μέση τιμή (ng/ml)	Τυπική απόκλιση	Θετικά	Kolmogorov-Smirnov (>0,05)
Benign	47	2,2	2,7	38/47	0,025
Ta	44	3,3	4,1	42/44	0,036
T1	36	5,2	6,5	34/36	0,027
T2+	31	6,8	8,0	30/31	0,031

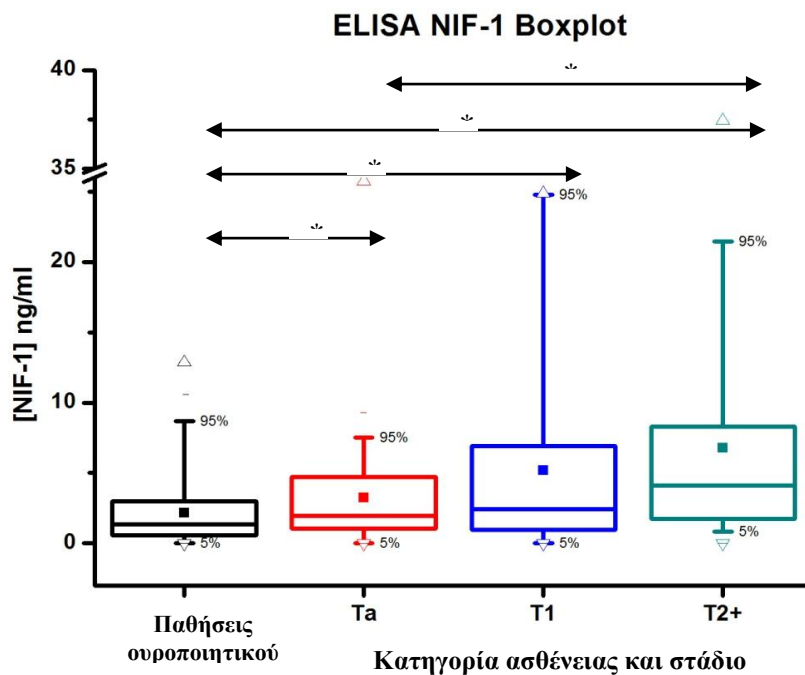
Αναλυτικά τα αποτελέσματα για κάθε δείγμα φαίνονται στο Παράρτημα 2Α. Σύμφωνα με το τεστ κανονικότητας Kolmogorov – Smirnov σε καμία κατηγορία τα αποτελέσματα δεν ακολουθούν κανονική κατανομή. Για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των κατηγοριών χρησιμοποιήθηκε το Mann – Whitney test από το οποίο προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των κατηγοριών benign και όλων των καρκινικών κατηγοριών κι ακόμα μεταξύ του μη μεταστατικού καρκίνου Ta και του μεταστατικού T2+. Αντιθέτως δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των κατηγοριών Ta και T1 και T1 και T2+. Τα αποτελέσματα του τεστ παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3.

Πίνακας 4.4: Αποτελέσματα της εφαρμογής του στατιστικού τεστ Mann-Whitney για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων ELISA της πρωτεΐνης NIF-1

Mann-Whitney test	p (<0,05)	Στατιστικώς Σημαντική διαφορά
B vs Ta	0,043	NAI
B vs T1	0,018	NAI
B vs T2+	$6,20 \cdot 10^{-6}$	NAI
Ta vs T1	0,486	OXI
Ta vs T2+	0,014	NAI
T1 vs T2+	0,145	OXI

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Η παρουσίαση των αποτελεσμάτων με τη χρήση διαγράμματος boxplot (Εικόνα 4.4) αποκαλύπτει την τάση που υπάρχει να αυξάνεται η συγκέντρωση της NIF-1 στα ούρα όσο προχωρά το στάδιο του καρκίνου. Σε κάθε περίπτωση η συγκέντρωση είναι μεγαλύτερη στα καρκινικά δείγματα σε σχέση με τα δείγματα που προέρχονται από παθήσεις του ουροποιητικού.



Εικόνα 4.4: Διάγραμμα Boxplot της συγκέντρωσης της NIF-1 στις διάφορες κατηγορίες δειγμάτων. Με τα βέλη και τους αστερίσκους σημειώνονται οι κατηγορίες που παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά

Για την πρωτεΐνη H2B:

Έγινε ποσοτικός προσδιορισμός της πρωτεΐνης H2B σε 147 δείγματα ούρων. Στην περίπτωση αυτή ο αριθμός των δειγμάτων που έδωσαν θετικό σήμα ποικίλει περισσότερο σε σχέση με την NIF-1 πρωτεΐνη. Η μέση τιμή της ποσότητας της πρωτεΐνης και ο αριθμός των δειγμάτων ανά κατηγορία παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.5.

Πίνακας 4.5: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων ανίχνευσης συγκέντρωσης της πρωτεΐνης H2B με ELISA.

Στάδιο	Αριθμός δειγμάτων	Μέση τιμή (ng/ml)	Τυπική απόκλιση	Θετικά	Kolmogorov-Smirnov (>0,05)
Benign	39	0,07	0,11	15/39	0,0014
Ta	40	0,26	0,21	35/40	0,435
T1	36	0,18	0,24	19/36	0,021
T2+	32	0,23	0,22	23/32	0,216

Τα αποτελέσματα της χρήσης του Kolmogorov–Smirnov test δείχνουν πως οι τιμές των δειγμάτων των κατηγοριών Ta και T2+ ακολουθούν κανονική κατανομή ($p < 0.05$). Από τη στατιστική σύγκριση των κατηγοριών προκύπτει πως όπως και στην πρωτεΐνη NIF-1 τα δείγματα προερχόμενα από ασθενείς με νόσους του ουροποιητικού συστήματος (benign) εμφανίζουν σημαντική διαφορά σε σχέση με τα δείγματα ασθενών με καρκίνο ουροδόχου κύστεως. Μεταξύ των δειγμάτων των ασθενών με καρκίνο σημαντική στατιστική διαφορά προκύπτει μόνο μεταξύ των Ta και T1. Τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας παρουσιάζονται στον πίνακα 4.6.

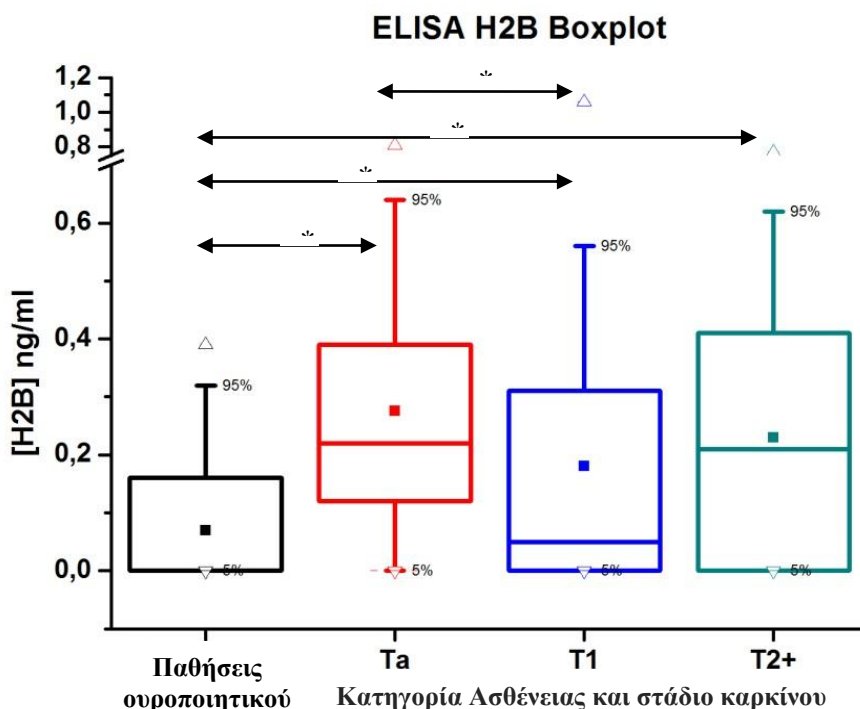
Πίνακας 4.6: Αποτελέσματα της εφαρμογής του στατιστικού τεστ Mann-Whitney για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων ELISA της πρωτεΐνης H2B. Για τη σύγκριση των Ta και T2+ επιλέχθηκε το t-test.

Mann-Whitney test	p (<0,05)	Στατιστικώς Σημαντική διαφορά
B vs Ta	$4,30 \cdot 10^{-6}$	NAI
B vs T1	0,042	NAI
B vs T2+	0,001	NAI
Ta vs T1	0,033	NAI
Ta vs T2+	0,542 (t-test)	OXI
T1 vs T2+	0,164	OXI

Η απεικόνιση των αποτελεσμάτων της συγκέντρωσης H2B (Εικόνα 4.5) στις διάφορες κατηγορίες αποκαλύπτει τη διαφορά που υπάρχει μεταξύ των καρκινικών δειγμάτων και των δειγμάτων των παθήσεων του ουροποιητικού. Ωστόσο, στα

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

καρκινικά δείγματα παρουσιάζεται μια αύξηση στα Ta δείγματα και στα T2+, σε αντίθεση με τα T1 δείγματα. Οι διαφορές αυτές επιβεβαιώνουν τα στατιστικά αποτελέσματα.



Εικόνα 4.5: Διάγραμμα Boxplot της συγκέντρωσης της NIF-1 στις διάφορες κατηγορίες δειγμάτων. Με τα βέλη και τους αστερίσκους σημειώνονται οι κατηγορίες που παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντική διαφορά

4.3: Αποτελέσματα Ανοσοϊστοχημικής ανάλυσης έκφρασης των πρωτεϊνών NIF-1 και H2B σε ιστούς καρκίνου ουροδόχου κύστεως

Εκτός από την ανάλυση ούρων για τον προσδιορισμό των επιπέδων των προς μελέτη πρωτεϊνών, έγινε και ιστολογική ανάλυση σε δείγματα ιστών με καρκίνο ουροδόχου κύστεως.

Αναλυτικά, για την πρωτεΐνη NIF-1 μελετήθηκαν συνολικά 29 δείγματα ιστών από καρκίνο ουροδόχου κύστεως που ανήκουν σε τρεις κατηγορίες: 11 από Ta, 10 από T1 και 8 από T2+. Οι ιστοί χρωματίστηκαν για να αναλυθούν με ανοσοϊστοχημική μέθοδο. Ο χρωματισμός του ιστού παρουσίαζε μια ομοιομορφία στην κατανομή στο εκάστοτε δείγμα. Εκτός από την αξιολόγηση του βαθμού διαφοροποίησης του καρκίνου από ιστοπαθολόγο (που δεν γνώριζε τη σταδιοποίηση του καρκίνου)

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

πραγματοποιήθηκε μια ποσοτικοποίηση της χρώσης στο κάθε δείγμα με τη χρήση του προγράμματος ImageJ. Από κάθε δείγμα επιλέχθηκαν 5-10 εικόνες (ανάλογα με το μέγεθος του ιστού) ως αντιπροσωπευτικές και μετρήθηκε η οπτική ένταση του κάθε δείγματος. Στη συνέχεια, ακολούθησε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, η οποία αποκάλυψε στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των T_a και T₂₊ ($p = 4,6 * 10^{-6}$) και T₁ και T₂₊ ($p = 0,001$). Τα αποτελέσματα προκύπτουν μέσω t-test αφού το Kolmogorov–Smirnov test απέδειξε πως οι τιμές σε όλες τις κατηγορίες ακολουθούν κανονική κατανομή. Τα στατιστικά από κάθε δείγμα καθώς και η στατιστική ανάλυση φαίνονται στους Πίνακες 4.7 και 4.8.

Πίνακας 4.7: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων υπολογισμού της οπτικής έντασης της πρωτεΐνης NIF-1.

Στάδιο	Αριθμός Δειγμάτων	Αριθμός εικόνων ανά δείγμα	Μέσος Όρος Οπτικής Έντασης	Τυπική Απόκλιση	Kolmogorov – Smirnov test
T _a	11	7	$6,7 * 10^4$	$1,4 * 10^4$	0,849
T ₁	10	6	$5,8 * 10^4$	$1,6 * 10^4$	0,301
T ₂₊	8	5	$3,1 * 10^4$	$1,0 * 10^4$	0,889

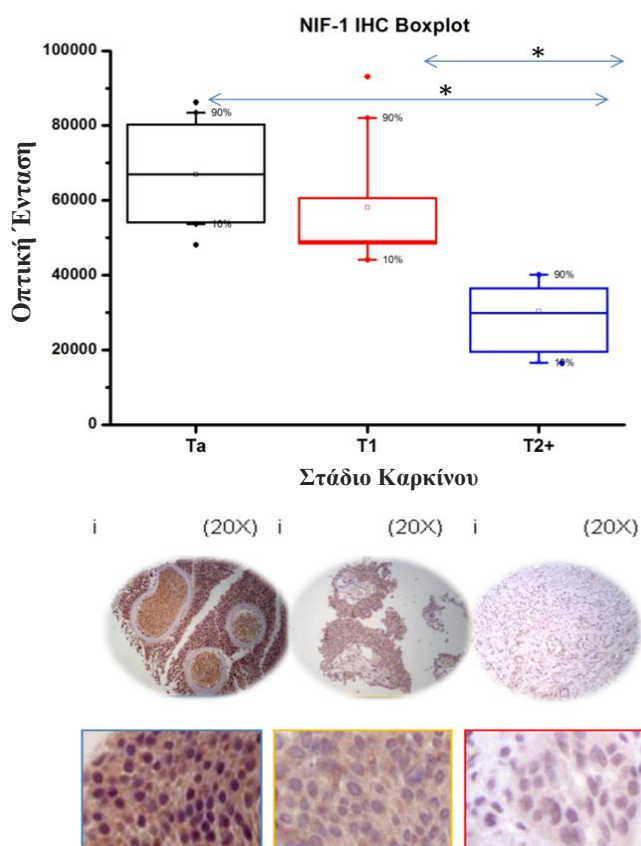
Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα της εφαρμογής του στατιστικού τεστ t-test.

T-Test	p (<0,05)	Στατιστικώς Σημαντική διαφορά
T _a vs T ₁	0,196	OXI
T _a vs T ₂₊	$4,60 * 10^{-6}$	NAI
T ₁ vs T ₂₊	0,001	NAI

Τα αποτελέσματα αποτυπώνονται ποιοτικά μέσω του διαγράμματος boxplot (εικόνα 4.6) στο οποίο φανερώνεται η τάση της μείωσης της έντασης της χρώσης όσο προχωρά το καρκινικό στάδιο. Αξίζει να επισημανθεί η διαφορά της τάσης σε σχέση

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

με τα δείγματα που αναλύθηκαν με ELISA, όπου τα δείγματα με μεταστατικό καρκίνο (T2+) παρουσιάζουν υψηλότερη συγκέντρωση πρωτεΐνης NIF-1.



Εικόνα 4.6: Διάγραμμα Boxplot της οπτικής έντασης της χρώσης στα καρκινικά δείγματα ιστών για την πρωτεΐνη NIF-1 (πυρηνικής/κυτταροπλασματικής). Στην εικόνα παρουσιάζονται ποιες κατηγορίες έχουν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους με βέλη και αστερίσκο. Επίσης παρουσιάζεται και τμήμα ιστού και η μεγέθυνση μιας επιλεγμένης περιοχής.

Για την περίπτωση της πρωτεΐνης H2B ακολουθήθηκε η ίδια τακτική ποσοτικοποίησης. 32 δείγματα ιστών προερχόμενα από καρκίνο ουροδόχου κύστεως χρωματίστηκαν και αυτά ομοιόμορφα, όπως και στην NIF-1. Τα δείγματα χωρίστηκαν στις εξής κατηγορίες: 11 Ta, 12 T1 και 9 T2+. Μετρήθηκε η οπτική ένταση της χρώσης και ακολούθησε στατιστική επεξεργασία ανάμεσα στις κατηγορίες. Οι τιμές σε όλες τις κατηγορίες παρουσιάζουν κανονικότητα, σύμφωνα με το Kolmogorov–Smirnov test. Η στατιστική ανάλυση με το t-test φανέρωσε στατιστική διαφορά παρόμοια με την πρωτεΐνη NIF-1, δηλαδή διαφορά μεταξύ Ta

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

και T2+ ($p = 0,001$) και T1 και T2+ ($p = 0,009$). Πάλι, δεν παρουσιάστηκε διαφορά μεταξύ Ta και T1 ($p=0,998$). Τα στατιστικά της ανάλυσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.8 και 4.9.

Πίνακας 4.9: Συνοπτική παρουσίαση των αποτελεσμάτων υπολογισμού της οπτικής έντασης της πρωτεΐνης H2B.

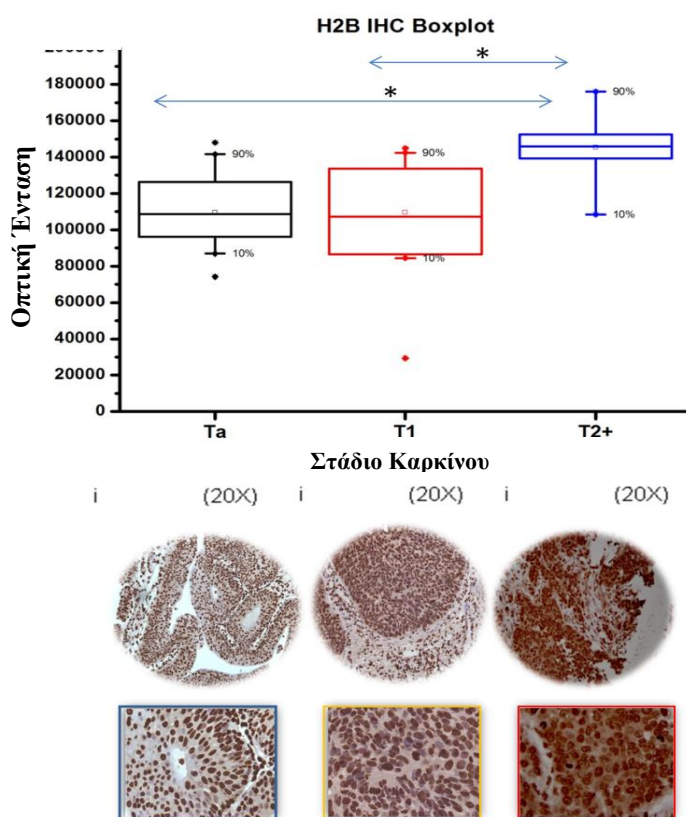
Στάδιο	Αριθμός Δειγμάτων	Αριθμός εικόνων ανά δείγμα	Μέσος Όρος Οπτικής Έντασης	Τυπική Απόκλιση	Kolmogorov – Smirnov test
Ta	11	5	$1,1 \cdot 10^5$	$2,2 \cdot 10^4$	0,905
T1	12	7	$1,1 \cdot 10^5$	$3,3 \cdot 10^4$	0,969
T2+	9	5	$15 \cdot 10^4$	$19 \cdot 10^4$	0,947

Πίνακας 4.10: Αποτελέσματα της εφαρμογής του στατιστικού τεστ *t-test*.

T-Test	$p (<0,05)$	Στατιστικώς Σημαντική διαφορά
Ta vs T1	0,998	OXI
Ta vs T2+	0,001	NAI
T1 vs T2+	0,009	NAI

Τα αποτελέσματα αποτυπώνονται ποιοτικά μέσω του διαγράμματος boxplot (εικόνα 4.7) στο οποίο η τάση της έντασης της χρώσης παρουσιάζει αύξηση όσο προχωρά το καρκινικό στάδιο. Σε αντίθεση με την NIF-1, η τάση είναι παρόμοια με εκείνη στα δείγματα ούρων που αναλύθηκαν με ELISA.

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

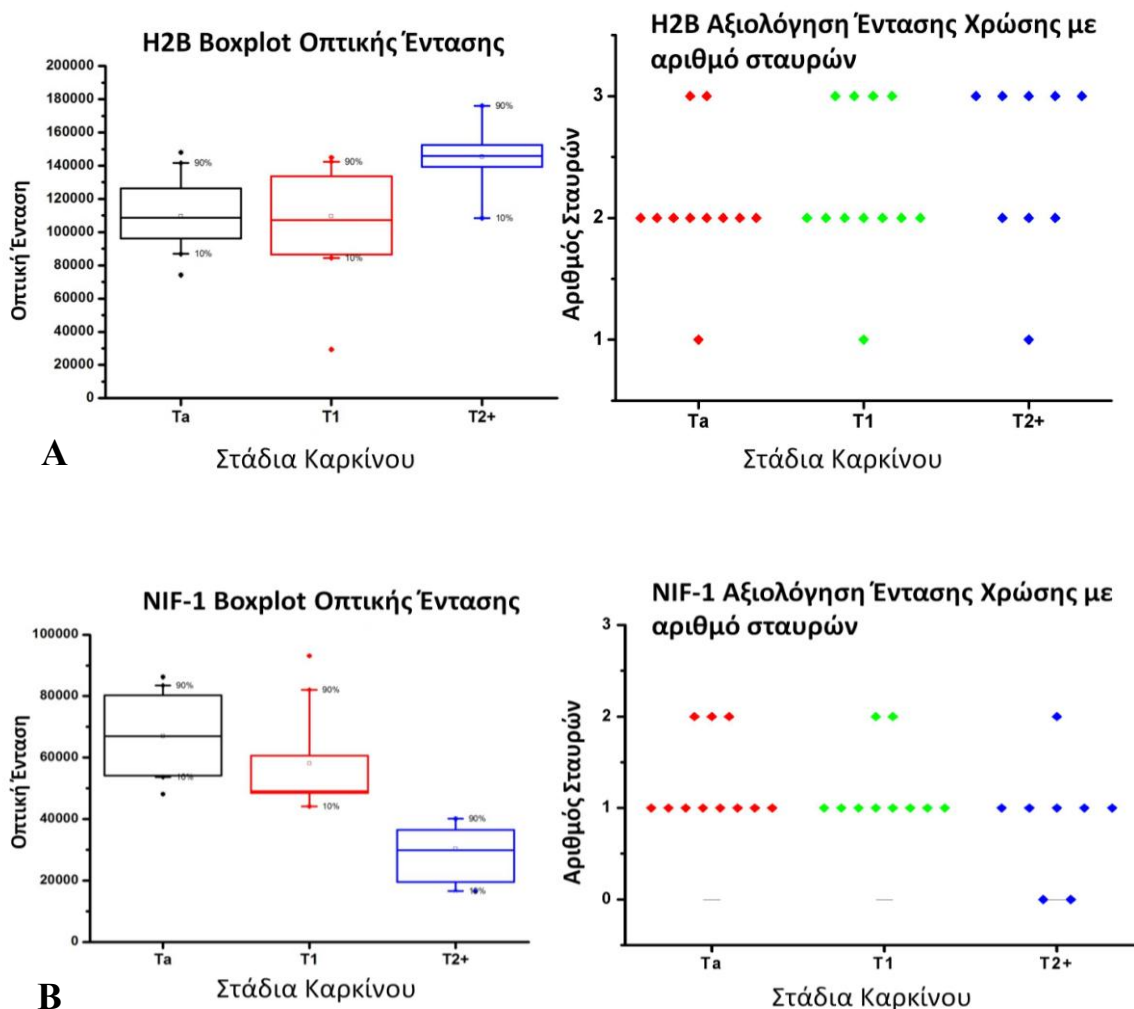


Εικόνα 4.7: Διάγραμμα Boxplot της οπτικής έντασης της πυρηνικής χρώσης στα καρκινικά δείγματα ιστών. Στην εικόνα παρουσιάζονται ποιες κατηγορίες έχουν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ τους με βέλη και αστερίσκο. Επίσης παρουσιάζεται και τμήμα ιστού και η μεγέθυνση μιας επιλεγμένης περιοχής.

Τα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημικής ανάλυσης των δύο πρωτεϊνών, H2B και NIF-1, παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Και στις δύο πρωτεΐνες παρατηρείται μεταβολή στο επίπεδο της έντασης της χρώσης όσο προχωρά το καρκινικό στάδιο. Ωστόσο, είναι αξιοσημείωτο πως ενώ η ένταση της χρώσης στην H2B αυξάνεται όσο προχωρά το στάδιο του καρκίνου, στην NIF-1 μειώνεται. Έχει παρατηρηθεί πως H2B και NIF-1 αλληλεπιδρούν (38). Για την επιβεβαίωση της αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών εφαρμόστηκε μια εκτίμηση καμπύλης αλληλεπίδρασης. Το αποτέλεσμα φανέρωσε τη συσχέτιση αυτή ($p=0,036$) με Pearson Correlation value = $-0,391$ που αποδεικνύει την αντιστρόφως ανάλογη σχέση των δύο πρωτεϊνών όσο προχωρά το στάδιο του καρκίνου.

Τα στοιχεία των ασθενών από όπου προέρχονται τα αναλυθέντα δείγματα μαζί με τις τιμές αξιολόγησης της οπτικής ενεργότητας και της εκτίμησης της έντασης του σήματος από τον ανοσοϊστοπαθολόγο παρουσιάζονται στον πίνακα 4.10. Αξίζει να σημειωθεί πως τα δείγματα ιστού δεν είχαν αντίστοιχο δείγμα ούρων. Επίσης, σε όλα τα δείγματα μετρήθηκε η οπτική ένταση, ενώ στην εκτίμηση της χρώσης από τον ανοσοϊστοπαθολόγο κάποια δείγματα χαρακτηρίστηκαν από έλλειψη χρώσης. Αυτή η διαφορά έγκειται στην υποκειμενικότητα της εξέτασης από τον ανοσοϊστοπαθολόγο. Ακόμη, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στο εύρος των ηλικιών ανά στάδιο καρκίνου και στις εκτιμήσεις του ανοσοϊστοπαθολόγου και της οπτικής έντασης (11 δείγματα Tα με μέσο όρο ηλικίας τα 63 χρόνια και με εύρος ηλικιών 54 – 80 και ένα δείγμα ασθενούς ηλικίας 38, 12 δείγματα T1 με μέσο όρο ηλικίας τα 73 χρόνια και με εύρος ηλικιών 55 – 86 και 9 δείγματα T2+ με μέσο όρο ηλικίας τα 67 χρόνια και με εύρος ηλικιών 50 – 79). Τέλος, έγινε μια ποιοτική αξιολόγηση της συσχέτισης των αποτελεσμάτων από τη μέτρηση της οπτικής έντασης με τον αριθμό των σταυρών που αξιολόγησε ο παθολογοανατόμος την ένταση της χρώσης στις τομές των ιστών και παρατηρήθηκαν συγκρίσιμα αποτελέσματα που δείχνουν πως οι δύο μέθοδοι έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα.

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους



Εικόνα 4.8: Ποιοτική σύγκριση των δύο μεθόδων αξιολόγησης της χρώσης στις τομές των ιστών δειγμάτων καρκίνου ουροδόχου κύστεως στις πρωτεΐνες H2B (A) και NIF-1 (B). Τα αριστερά διαγράμματα παρουσιάζουν τα αποτελέσματα από τη μέτρηση της οπτικής έντασης ενώ τα δεξιά διαγράμματα απεικονίζουν την αξιολόγηση της χρώσης στην τομή σε κάθε δείγματος ανάλογα με τον αριθμό σταυρών σύμφωνα με τον παθολογοανατόμο.

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Πίνακας 4.11: Κατάλογος με τα στοιχεία των δειγμάτων που αναλύθηκαν κατά την ποιοτική και ποσοτική ανοσοϊστοχημική αξιολόγηση. Η ένδειξη Δ/Α σημαίνει Δεν Αναλύθηκε. Η ένδειξη «χ» σημαίνει πως δεν υπήρξε τιμή για αυτή τη μέτρηση καθώς δεν υπήρχε δείγμα προς ανάλυση. Ο βαθμός σταδιοποίησης δόθηκε από τον ανοσοϊστοπαθολόγο ως εξής: (-) απουσία χρώσης, (+) ασθενής χρώση, (++) μεσαίας έντασης χρώση, (+++) έντονη χρώση, (-/+) οριακή μεταξύ απουσίας και ασθενής χρώσης.

Α/Α	ΗΛΙΚΙΑ	ΣΤΑΔΙΟ	NIF-1		H2B	
			Εκτίμηση Παθολογοανατόμου	Οπτική ένταση	Εκτίμηση παθολογοανατόμου	Οπτική ένταση
1	68	pT1	[++]	93147	[++]	84462
2	65	pT1	[+]	48532	[+++]	29397
3	86	pT1	[+]	53627	[++]	107147
4	55	pT1	[+]	48926	[+++]	117660
5	61	pT1	[+]	44134	[+++]	142414
6	81	pT1	[+]	47575	[+]	86435
7	76	pT1	[+]	60566	[++]	98071
8	73	pT1	[+]	82034	[++]	133623
9	76	pT1	[++]	53214	[+++]	144932
10	62	pT1	[+]	49132	[++]	103298
11	78	pT1	Δ/Α	x	[+++]	140283
12	78	pT1	Δ/Α	x	[++]	126719
13	64	pT2+	[-]	29831	[++]	139181
14	70	pT2+	[+]	19532	[+++]	145968
15	79	pT2+	Δ/Α	x	[+++]	148907
16	61	pT2+	[++]	16540	[+]	161439
17	65	pT2+	[+]	35251	[+++]	131255
18	73	pTa	[++]	68312	[+++]	126299
19	75	pT2	[-]	40081	[+++]	176044
20	50	pT2+	[+]	26069	[++]	108474
21	64	pTa	[+]	48124	[++]	141543
22	54	pTa	[+]	86264	[+++]	147969
23	80	pTa	[+]	66951	[+]	86854
24	64	pTa	[-/+]	79458	[++]	74181
25	55	pTa	[++]	80339	[++]	96281
26	66	pTa	[-/+]	53662	[++]	100219
27	74	pTa	[+]	83469	[++]	111698
28	60	pTa	[+]	55358	[++]	98178
29	38	pTa	[+]	54173	[++]	112668
30	63	pT2+	[+]	36546	[++]	145883
31	73	pT2+	[+]	39375	[+++]	152505
32	61	pTa	[++]	60476	[++]	108746

Κεφάλαιο 5^ο : Συζήτηση

5.1: Αξιολόγηση της μεθόδου χρωματογραφίας στήλης IMAC και ανάλυσης των δειγμάτων με LC-MSMS

Ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως αποτελεί μια κακοήθεια ιδιαίτερου ενδιαφέροντος εξαιτίας της αυξανόμενης ετερογένειας του όγκου, του υψηλού ποσοστού επανεμφάνισης και προόδου καθώς και της έλλειψης αποτελεσματικών μη επεμβατικών μεθόδων για τη διάγνωση και την πρόγνωση. Τα ούρα αποτελούν ένα κατάλληλο βιολογικό υγρό προς ανάλυση καθώς μπορούν να συλλεχθούν ανώδυνα και εύκολα. Έχοντας, λοιπόν, αυτά υπ' όψιν για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως και τα ούρα είναι λογική η ανάγκη να αναπτυχθεί η έρευνα για την ανακάλυψη βιοδεικτών στα ούρα.

Η τεχνική IMAC αποτελεί ένα βασικό εργαλείο για την ανακάλυψη βιοδεικτών καθώς μέσω αυτής επιτυγχάνεται ο εμπλουτισμός των δειγμάτων σε πρωτεΐνες και πεπτίδια με συγγένεια σε μεταλλικά ιόντα, καθιστώντας τα δείγματα λιγότερο πολύπλοκα για τις περαιτέρω αναλύσεις (62-65). Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η σταθερότητα των μεταλλικών ιόντων που δρουν ως σύνδεσμοι, η δυνατότητα φόρτωσης μεγάλης ποσότητας πρωτεΐνης στη στήλη χρωματογραφίας, οι ήπιες συνθήκες έκλουσης των προσδεμένων πρωτεϊνών, η δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης της στήλης και το μικρό κόστος. Αντίθετα, η τοξικότητα των μετάλλων αποτελεί μειονέκτημα της τεχνικής. Συνοπτικά, η τεχνική IMAC θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως μια γρήγορη τεχνική εμπλουτισμού με μέτρια ειδικότητα και ικανή να αφαιρέσει μεγάλη ποσότητα αλβουμίνης από τα δείγματα.

Αναλύθηκαν συνολικά 21 δείγματα ούρων, 5 ανά καρκινικό στάδιο και 6 από ασθενείς με τυπικές μη νεοπλασματικές ασθένειες του ουροποιητικού. Ο αριθμός των δειγμάτων είναι μικρός για μια αξιόπιστη στατιστική ανάλυση και σύγκριση των αποτελεσμάτων. Ωστόσο, από την ηλεκτροφόρηση των εκλουσμάτων των δειγμάτων σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου και χρώση με AgNO₃ παρατηρούνται πρωτεϊνικές ζώνες των οποίων ο αριθμός αυξάνεται στα δείγματα που προέρχονται από ασθενείς με καρκίνο σε σχέση με τα δείγματα που προέρχονται από ασθενείς με τυπικές μη νεοπλασματικές ασθένειες. Επίσης, ο μεγαλύτερος αριθμός ταυτοποιημένων πρωτεϊνών σε καρκινικά δείγματα με τη μέθοδο της φασματοσκοπίας μάζας

αποδεικνύει ότι η χρωματογραφία IMAC απομονώνει πρωτεΐνες που σχετίζονται με τον καρκίνο.

Όπως προαναφέρθηκε και στα αποτελέσματα, ταυτοποιήθηκαν 638 πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε μια μεγάλη ποικιλία κυτταρικών μονοπατιών. Πολλές έχουν αναφερθεί να σχετίζονται με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως και ακόμα κάποιες έχουν αξιολογηθεί ως καρκινικοί δείκτες. Ενδεικτικά οι πρωτεΐνες **Urinary Fibrinogen fragments** (66), **Peroxiredoxin** (67, 68), **Tenascin** (69), έχουν βρεθεί να σχετίζονται με συγκεκριμένους φαινοτύπους καρκίνου ουροδόχου κύστεως. Παρομοίως, οι **Απολιποπρωτεΐνη A-II**, **Ceruloplasmin** και **Complement C4** έχουν βρεθεί με ποσοτική φασματοσκοπία μάζας να υπερεκφράζονται σε περιπτώσεις καρκίνου ουροδόχου κύστεως (70), και η ενεργότητα της **Hyaluronidase** (71) και της **TGF-β** (72) έχουν επίσης αξιολογηθεί ως διαγνωστικά τεστ της νόσου.

Επίσης, πολλές πρωτεΐνες, που βρέθηκαν σε υψηλή συγκέντρωση σε δείγματα ούρων από ασθενείς με καρκίνο ουροδόχου κύστεως, έχουν παρατηρηθεί να υπάρχουν σε αυξημένες ποσότητες σε καρκινικά κύτταρα. Επί παραδείγματι, οι ισομορφές της **GST (Glutathione S Transferase)** έχουν προταθεί ως ανοσοκυτταροχημικοί δείκτες του καρκίνου ουροδόχου κύστεως για την αύξηση της διαγνωστικής αξίας της κυτταρολογίας ούρων (73). Η **S100A9** έχει προταθεί ως προγνωστικός δείκτης για το μεταστατικό στάδιο της νόσου σε συνδυασμό με ανάλυση μικροσυστοιχιών (74), και η **Thymosin beta-4** έχει βρεθεί να υπερεκφράζεται σε καρκίνο ουροδόχου κύστεως σε ανάλυση ιστών με μικροσυστοιχιές (75). Ακόμα, η **Tumour protein 63**, που έχει αναγνωρισθεί σε δείγματα T1, έχει αναφερθεί πως ρυθμίζει αρνητικά τη μετάσταση στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως (76). Η **Y-box-binding πρωτεΐνη 2** βρέθηκε σε T2+ καρκινικά δείγματα να ενισχύει την ανάπτυξη του καρκίνου ουροδόχου κύστεως (77). Αυτές οι παρατηρήσεις αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου IMAC στην απομόνωση πρωτεϊνών που σχετίζονται με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως.

Από τις ταυτοποιημένες πρωτεΐνες επιλέχθηκαν για περαιτέρω ανάλυση η H2B, και η zinc-finger 335 ή NIF-1. Και οι δύο πρωτεΐνες ανιχνεύθηκαν επιλεκτικά σε προχωρημένες περιπτώσεις πιο επιθετικών μορφών του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως. Η ιστόνη H2B αποτελεί βασικό συστατικό της χρωματίνης και έχει βρεθεί ότι αυξάνονται τα επίπεδά της σε καρκινικά κύτταρα (78).

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Η πρωτεΐνη NIF-1 αποτελεί μέρος ενός συμπλόκου πρωτεϊνών που μεθυλιώνει τις ιστόνες (συμπεριλαμβανομένης της H2B). Επίσης, η NIF-1 εμπλέκεται στη ρύθμιση της μετάφρασης πυρηνικών υποδοχέων (38, 39).

5.2: Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων με μεθόδους ανοσολογίας των πρωτεϊνών H2B και NIF-1

Οι δύο πρωτεΐνες H2B και NIF-1 επιλέχθηκαν για περαιτέρω ανάλυση με μεθόδους ανοσολογίας. Η απόφαση αυτή βασίστηκε στο γεγονός της έλλειψης σχετικής βιβλιογραφίας σχετικά με την εμπλοκή αυτών των πρωτεϊνών με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως αλλά και στην προηγούμενη διαπίστωση για τη λειτουργική συσχέτιση των δύο πρωτεϊνών. Τα επίπεδα των πρωτεϊνών παρουσιάζονταν αυξημένα στις περιπτώσεις καρκινώματος ουροθηλίου. Τα υψηλότερα επίπεδα της NIF-1 και της Ιστόνης H2B παρατηρούνταν στις πιο επιθετικές μορφές καρκίνου T1 και T2+, παρατήρηση που είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα από την μεθοδολογία IMAC και LC-MS/MS. Ωστόσο, θα πρέπει να τονιστεί πως δεν γίνεται άμεση σύγκριση των αποτελεσμάτων από την LC-MS/MS ανάλυση και της ανάλυσης επαλήθευσης με ELISA καθώς οι δύο πρωτεΐνες δεν ανιχνεύτηκαν στα δείγματα ασθενών benign και Τα μέσω της LC-MS/MS ανάλυσης. Αντίθετα, ανιχνεύτηκαν ποσότητες αυτών των πρωτεϊνών σε δείγματα αντίστοιχων κατηγοριών που αναλυθήκαν με ELISA. Αυτό το αποτέλεσμα ίσως οφείλεται στις διαφορές στην ευαισθησία των δύο τεχνικών καθώς και στην αδυναμία πρόσδεσης των NIF-1 και H2B στο νικέλιο όταν η συγκέντρωσή τους είναι χαμηλή.

Στο επίπεδο της ιστολογικής ανάλυσης υπήρχε μια ξεκάθαρη τάση, η οποία ενισχύει την υπόθεση για συσχέτιση των δύο πρωτεϊνών με τον καρκίνο ουροδόχου κύστεως. Συγκεκριμένα, η έκφραση της NIF-1 μειώνεται, ενώ της H2B αυξάνεται όσο προχωρά το στάδιο του καρκίνου. Τα ιστολογικά δεδομένα της H2B έρχονται σε συμφωνία με τα δεδομένα από την ανάλυση ούρων με ELISA ως προς την τάση της έκφρασης της πρωτεΐνης. Αυτό είναι λογικό καθώς τα νεοπλασματικά κύτταρα παρουσιάζουν πολυπλοειδία και έτσι είναι αναμενόμενο να αυξάνονται τα επίπεδα έκφρασης της H2B. Η περίπτωση της NIF-1 είναι διαφορετική, καθώς παρατηρήθηκε αντίθετη τάση στην έκφραση της πρωτεΐνης στον ιστό και στα ούρα. Στον ιστό μειωνόταν όσο προχωρούσε το στάδιο του καρκίνου (λιγότερο στα T2+) ενώ αντίθετα αυξανόταν στα δείγματα ούρων (περισσότερο στα T2+). Η παρατήρηση

αυτή χρήζει περαιτέρω μελέτης. Μια υπόθεση που θα μπορούσε να γίνει είναι πως όσο προχωρά το καρκινικό στάδιο αυξάνεται ο αριθμός των αποπτωτικών κυττάρων στα ούρα. Έτσι, αν και η παραγωγή της NIF-1 μειώνεται ανά κύτταρο, ταυτόχρονα αυξάνεται η συγκέντρωση της πρωτεΐνης στα ούρα λόγω του αυξανόμενου αριθμού των αποπτωτικών κυττάρων.

Δεν υπάρχουν πολλές πληροφορίες διαθέσιμες για την πρωτεΐνη NIF-1. Επίσης, δεν έχει αναφερθεί κάποια συσχέτιση της NIF-1 με την πρόοδο του καρκίνου οποιουδήποτε τύπου. Ωστόσο, οι παρατηρήσεις της εργασίας αυτής φαίνεται να συμφωνούν με την τάση σχετικά με τις εκφράσεις των άμεσων στόχων της NIF-1, των SOX9 και HOXA1. Σύμφωνα με τα δεδομένα ανοσοϊστοχημείας οι δύο αυτοί μεταγραφικοί παράγοντες φανερώνουν αρνητική ή αδύναμη έκφραση σε καρκινώματα ουροθηλίου σε σχέση με τον φυσιολογικό ιστό. Αυτό το εύρημα επιτρέπει τη διατύπωση μιας θεωρίας σχετικά με το λειτουργικό ρόλο της NIF-1 στην ανάπτυξη του καρκίνου της ουροδόχου κύστεως. Ειδικότερα, θα μπορούσε να ειπωθεί πως η μείωση της NIF-1 οδηγεί στην ανάπτυξη του καρκίνου στην ουροδόχο κύστη γιατί έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του SOX9, ενός μεταφραστικού παράγοντα που επάγει την έκφραση της πρωτεΐνης CDKN1A (cyclin-dependent kinase inhibitor 1A) η οποία αποτρέπει την ανάπτυξη του κυττάρου (79). Σε επιθετικά στάδια όπου παρατηρείται πολυπλοειδία, σε αντίθεση με την NIF-1, η H2B αυξάνεται. Η NIF-1 μπορεί επίσης να σχετίζεται με τη ρύθμιση της H2B σε επιγενετικό επίπεδο μέσω της ενεργότητας μεθυλοτρανσφεράσης ιστονών (NRC-methyltransferase) (80).

Συνοψίζοντας, η εργασία αυτή προσθέτει στοιχεία στην πρωτεωμική ανάλυση και στην ανίχνευση πρωτεϊνών – στόχων, την αξιολόγηση των διαφορετικών εκφράσεων και την έρευνα σχετικά με τις λειτουργίες τους. Κυρίως φανέρωσε νέους υποψήφιους στόχους, όπως η NIF-1, που θα μπορούσαν να λειτουργήσουν σαν βιοδείκτες για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως. Τέλος αξίζει να ερευνηθεί η υπόθεση για τον μηχανισμό NIF-1/SOX9 όπως επίσης και ο πρωτεολυτικός μηχανισμός που οδηγεί στα παρατηρούμενα πεπτίδια που βρίσκονται στα ούρα και προέρχονται από αυτές τις πρωτεΐνες σε σχέση με την προαγωγή της νόσου.

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής έχουν δημοσιευθεί στο περιοδικό “Journal of Proteome Research” τον Αύγουστο του 2013 με τον τίτλο: «*IMAC fractionation in combination with LC-MS reveals H2B and NIF-1 peptides as potential bladder cancer biomarkers*», *Frantzi et.al.(81)* .

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΩΝ

Αγγλικός Όρος	Ελληνικός Όρος
Benign	Μη Νεοπλασματική Νόσος
Fourier transform ion cyclotron, FT-MS	Φασματοσκοπία Μάζας με μετασχηματισμό κατά Fourier
genomics	Γενομική
Grading	Βαθμός Διαφοροποίησης
in silico	Στον Υπολογιστή
in situ	Επί τόπου
ion trap	Παγίδα Ιόντων
noninvasive papillary carcinoma	Μη μεταστατικό θηλωματώδες καρκίνωμα
proteomics	Πρωτεωμική
quadrupole	Τετράπολο
SilverStain	Χρώση Αργύρου
splice variants	εναλλακτικά μετάγραφα
Staging	Σταδιοποίηση
T1	Μη μεταστατικό Νεοπλασματικό Καρκίνωμα
T2+	Μεταστατικό Νεοπλασματικό Καρκίνωμα
Ta	Πρώιμο Νεοπλασματικό Καρκίνωμα
Tandem MS	Συνεχόμενη Φασματοσκοπία Μάζας
time-of-flight	Χρόνος πτήσης
zinc finger	Περιοχή Πρόσδεσης στον ψευδάργυρο

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ -ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ

Συντμήσεις	Αγγλικός Όρος	Ελληνικός Όρος
ID-SDS PAGE	1 Dimension – Sodium Dodecyl Sulfate – PolyAcrylamide Gel Electrophoresis	Μονής Διάστασης Ηλεκτροφόρηση σε Πήκτωμα Πολυακρυλαμιδίου παρουσία Δωδέκυλο Σουλφονικού Νατρίου
APS	Ammonium PerSulfate	Δισουλφιδικό Αμμώνιο
BCL2	B – Cell Lymphoma 2	B-κυτταρικό Λέμφωμα
BTA	Bladder Tumor Antigen	Αντιγόνο Καρκίνου Ουροδόχου Κύστεως
CEA	CarcinoEmbryonic Antigen	ΚαρκινοΕμβρυϊκό Αντιγόνο
CTFR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	ρυθμιστής της διαμεμβρανικής αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης
Cys	Cysteine	Κυστεΐνη
DBC-1	Deleted in bladder cancer protein 1	Πρωτεΐνη απύσα στον καρκίνο ουροδόχου κύστεως
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay	Ανοσολογική τεχνική συγγένειας βασισμένη στη χρήση ενζύμου
ESI	ElectroSpray Ionization	Ιονισμός με Ηλεκτροψεκασμό
FDA	Food and Drug Administration	Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων
FGFR	fibroblast growth factor receptors	Υποδοχείς αυξητικών παραγόντων ινοβλαστών
FISH	fluorescent in situ hybridization	Φθορισμός in situ υβριδισμού
HCD	Higher energy Collisional Dissociation	Ανώτερης ενέργειας συγκρούσεων διάσπασης
IMAC	Immobilized Metal Affinity Chromatography	Χρωματογραφία Συγγενείας Μετάλλου με τη χρήση Νικελίου
KCNV1	Potassium voltage-gated channel subfamily V member 1	Κανάλι Καλίου υποομάδα V
LC-MS	Liquid Chromatography Mass Spectrometry	Υγρή Χρωματογραφία Φασματοσκοπία Μάζας
MALDI	Matrix-assisted laser desorption/ionization	Ιοντισμός εκρόφησης με τη βοήθεια υλικού μήτρας
NIF-1	NRC Interacting Factor 1	Παράγοντας αλληλεπίδρασης της NRC
NMP22	Nuclear Matrix Protein 22	Πρωτεΐνη Πυρηνικής Μεμβράνης
NRC	Nuclear Receptor Coregulator	Συνρυθμιστής Πυρηνικού Υποδοχέα
PCR	Polymerase Chain Reaction	Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης
PIK3CA	phosphatidylinositol-3-kinase catalytic subunit alpha	Καταλυτική υπομονάδα Άλφα της κινάσης της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης 3
PPROX1	Prospero homeobox protein 1	Πρόσπερο homeobox πρωτεΐνη 1
RGB εικόνα	Red – Green - Blue	Κόκκινο – Πράσινο -Μπλε
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate	Δωδέκυλο Σουλφονικό Νάτριο
TAL1	T-cell acute lymphocytic leukemia protein 1	T-κυττάρων οξείας λεμφοκυτταρικής αναιμίας πρωτεΐνη 1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Συντμήσεις	Αγγλικός Όρος	Ελληνικός Όρος
TBM	Tetramethylbenzidine	τετραμεθυλοβενζιδίνη
TBS	Tris-buffered saline	Τρις αλατούχο διάλυμα
TEMED	Tetramethylethylenediamine	Τετραμεθυλοαιθυλενοδιαμίνη
TGS	Tris-Glycine-SDS (TGS)	Τρις υδροχλωρικό – Γλυκίνη - Δωδέκυλο Σουλφονικό Νάτριο
TOF	time-of-flight	Χρόνος πτήσης
VAX1	Ventral anterior homeobox 1	Πρόσθια κοιλιακή homeobox πρωτεΐνη 1
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
WHO	World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
H2B	Histone 2B	Ιστόνη 2B
MMP9	Matrix Metalloprotease 9	Μεταλλοπρωτεάση Μήτρας 9
TNM	Tumor Nodes Metastasis	Μετάσταση στους λεμφαδένες
CDC2	Cell Division Cycle protein 2	Πρωτεΐνη 2 του κύκλου της κυτταρικής διαίρεσης
MDK	Midkine	Μιντκίνη
IGFBP5	insulin-like growth factor binding protein 5	Πρωτεΐνη δέσμευσης αυξητικού παράγοντα παρόμοιου ινσουλίνης
HOXA13	homeobox A13	Homeobox πρωτεΐνη A13

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

Οι 638 πρωτεΐνες που ανιχνεύθηκαν με τη μέθοδο IMAC και LC-MS/MS. Στον πίνακα παρουσιάζονται οι κωδικοί που είναι καταχωρημένες οι πρωτεΐνες στις βάσεις δεδομένων, το όνομα της πρωτεΐνης, ο λειτουργικός της ρόλος και το στάδιο της ασθένειας που εντοπίστηκε (Τα και Τ1 μη μεταστατικά στάδια καρκίνου, Τ2+ μεταστατικό στάδιο καρκίνου, Β (benign) μη νεοπλασματικές ασθένειες του ουροποιητικού). Με έντονα γράμματα οι πρωτεΐνες με συγγένεια μετάλλου

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
O75038	1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase eta-2 OS=Homo sapiens GN=PLCH2 PE=2 SV=3 - [PLCH2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q6L8Q7	2',5'-phosphodiesterase 12 OS=Homo sapiens GN=PDE12 PE=1 SV=2 - [PDE12_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T2
P55036	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 4 OS=Homo sapiens GN=PSMD4 PE=1 SV=1 - [PSMD4_HUMAN]	Πρωτεόλυση	B
Q02218	2-oxoglutarate dehydrogenase, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=OGDH PE=1 SV=3 - [ODO1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q9UGJ0	5'-AMP-activated protein kinase subunit gamma-2 OS=Homo sapiens GN=PRKAG2 PE=1 SV=1 - [AAKG2_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P41595	5-hydroxytryptamine receptor 2B OS=Homo sapiens GN=HTR2B PE=1 SV=1 - [5HT2B_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B
Q86UY8	5'-nucleotidase domain-containing protein 3 OS=Homo sapiens GN=NT5DC3 PE=2 SV=1 - [NT5D3_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P58397	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 12 OS=Homo sapiens GN=ADAMTS12 PE=1 SV=2 - [ATS12_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q96IU4	Abhydrolase domain-containing protein 14B OS=Homo sapiens GN=ABHD14B PE=1 SV=1 - [ABHEB_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
P62736	Actin, aortic smooth muscle OS=Homo sapiens GN=ACTA2 PE=1 SV=1 - [ACTA_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
P60709	Actin, cytoplasmic 1 OS=Homo sapiens GN=ACTB PE=1 SV=1 - [ACTB_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
Q9NQW6	Actin-binding protein anillin OS=Homo sapiens GN=ANLN PE=1 SV=2 - [ANLN_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q9BYD9	Actin-related protein M1 OS=Homo sapiens GN=ARPM1 PE=2 SV=1 - [ARPM1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	B
O95996	Adenomatous polyposis coli protein 2 OS=Homo sapiens GN=APC2 PE=1 SV=1 - [APC2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q96M93	Adenosine deaminase domain-containing protein 1 OS=Homo sapiens GN=ADAD1 PE=1 SV=1 - [ADAD1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q8N6S5	ADP-ribosylation factor-like protein 6-interacting protein 6 OS=Homo sapiens GN=ARL6IP6 PE=1 SV=1 - [AR6P6_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
O75366	Advillin OS=Homo sapiens GN=AVIL PE=1 SV=3 -	Κυτταροσκελετική	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
	[AVIL_HUMAN]		
Q9UNA3	Alpha-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase OS=Homo sapiens GN=A4GNT PE=2 SV=1 - [A4GCT_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P01009	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=3 - [A1AT_HUMAN]	Πρωτεόλυση	B, T1, T2
P02765	Alpha-2-HS-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AHSG PE=1 SV=1 - [FETUA_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1
P01023	Alpha-2-macroglobulin OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=3 - [A2MG_HUMAN]	Πρωτεόλυση	B, T2
Q9H4A4	Aminopeptidase B OS=Homo sapiens GN=RNPEP PE=1 SV=2 - [AMPB_HUMAN]	Πρωτεόλυση	B, T1
Q8N6M6	Aminopeptidase O OS=Homo sapiens GN=AOPEP PE=1 SV=2 - [AMPO_HUMAN]	Πρωτεόλυση	B
Q6FI81	Anamorsin OS=Homo sapiens GN=CIAPIN1 PE=1 SV=2 - [CPIN1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	B
Q9UJX5	Anaphase-promoting complex subunit 4 OS=Homo sapiens GN=ANAPC4 PE=1 SV=2 - [APC4_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	B, T1
Q8N302	Angiogenic factor with G patch and FHA domains 1 OS=Homo sapiens GN=AGGF1 PE=1 SV=2 - [AGGF1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
P48751	Anion exchange protein 3 OS=Homo sapiens GN=SLC4A3 PE=1 SV=2 - [B3A3_HUMAN]	Μεταφοράς	B
Q9P0K7	Ankyrin OS=Homo sapiens GN=RAI14 PE=1 SV=2 - [RAI14_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
O75179	Ankyrin repeat domain-containing protein 17 OS=Homo sapiens GN=ANKRD17 PE=1 SV=3 - [ANR17_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1,T2
Q5XXA6	Anoctamin-1 OS=Homo sapiens GN=ANO1 PE=1 SV=1 - [ANO1_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
O00203	AP-3 complex subunit beta-1 OS=Homo sapiens GN=AP3B1 PE=1 SV=3 - [AP3B1_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
O14617	AP-3 complex subunit delta-1 OS=Homo sapiens GN=AP3D1 PE=1 SV=1 - [AP3D1_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
P02647	Apolipoprotein A-I OS=Homo sapiens GN=APOA1 PE=1 SV=1 - [APOA1_HUMAN]	Μεταβολισμού	B, T1, T2
P02652	Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 - [APOA2_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q6Q788	Apolipoprotein A-V OS=Homo sapiens GN=APOA5 PE=1 SV=1 - [APOA5_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
P05090	Apolipoprotein D OS=Homo sapiens GN=APOD PE=1 SV=1 - [APOD_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q400G9	Archaeometzincin-1 OS=Homo sapiens GN=AMZ1 PE=1 SV=1 - [AMZ1_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
O00192	Armadillo repeat protein deleted in velo-cardio-facial syndrome OS=Homo sapiens GN=ARVCF PE=1 SV=1 - [ARVC_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q8NEN0	Armadillo repeat-containing protein 2 OS=Homo sapiens GN=ARMC2 PE=1 SV=4 - [ARMC2_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B
Q5VUY0	Arylacetylamide deacetylase-like 3 OS=Homo sapiens GN=AADACL3 PE=2 SV=4 - [ADCL3_HUMAN]	Άλλα	T2
Q6SPF0	Atherin OS=Homo sapiens GN=SAMD1 PE=1 SV=1 - [SAMD1_HUMAN]	Άλλα	B, T1
Q5TGY3	AT-hook DNA-binding motif-containing protein 1 OS=Homo sapiens GN=AHDC1 PE=1 SV=1 - [AHDC1_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	B, Ta
P24539	ATP synthase subunit b, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=ATP5F1 PE=1 SV=2 - [AT5F1_HUMAN]	Μεταβολισμού	B, T1, T2
Q8WWZ4	ATP-binding cassette sub-family A member 10 OS=Homo sapiens GN=ABCA10 PE=1 SV=3 - [ABCAA_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q86UK0	ATP-binding cassette sub-family A member 12 OS=Homo sapiens GN=ABCA12 PE=1 SV=3 - [ABCAC_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
O60706	ATP-binding cassette sub-family C member 9 OS=Homo sapiens GN=ABCC9 PE=1 SV=2 - [ABCC9_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q7Z3C6	Autophagy-related protein 9A OS=Homo sapiens GN=ATG9A PE=1 SV=3 - [ATG9A_HUMAN]	Άλλα	B
P02730	Band 3 anion transport protein OS=Homo sapiens GN=SLC4A1 PE=1 SV=3 - [B3AT_HUMAN]	Μεταφοράς	T1,T2
Q9BXC9	Bardet-Biedl syndrome 2 protein OS=Homo sapiens GN=BBS2 PE=1 SV=1 - [BBS2_HUMAN]	Άλλα	T2
Q7L1Q6	Basic leucine zipper and W2 domain-containing protein 1 OS=Homo sapiens GN=BZW1 PE=1 SV=1 - [BZW1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P10163	Basic salivary proline-rich protein 4 OS=Homo sapiens GN=PRB4 PE=1 SV=3 - [PRB4_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P61769	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1 - [B2MG_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	B, T2
Q562R1	Beta-actin-like protein 2 OS=Homo sapiens GN=ACTBL2 PE=1 SV=2 - [ACTBL_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
P35626	Beta-adrenergic receptor kinase 2 OS=Homo sapiens GN=ADRBK2 PE=2 SV=2 - [ARBK2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
P05814	Beta-casein OS=Homo sapiens GN=CSN2 PE=1 SV=4 - [CASB_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
O95342	Bile salt export pump OS=Homo sapiens GN=ABCB11 PE=1 SV=2 - [ABCBB_HUMAN]	Μεταφοράς	T1,T2
P54132	Bloom syndrome protein OS=Homo sapiens GN=BLM PE=1 SV=1 - [BLM_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q9BUH8	Brain-enriched guanylate kinase-associated protein OS=Homo sapiens GN=BEGAIN PE=1 SV=1 - [BEGIN_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
O75815	Breast cancer anti-estrogen resistance protein 3 OS=Homo sapiens GN=BCAR3 PE=1 SV=1 - [BCAR3_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B
P51587	Breast cancer type 2 susceptibility protein OS=Homo sapiens GN=BRCA2 PE=1 SV=2 - [BRCA2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
O75363	Breast carcinoma-amplified sequence 1 OS=Homo sapiens GN=BCAS1 PE=1 SV=2 - [BCAS1_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q5TH69	Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 3 OS=Homo sapiens GN=ARFGEF3 PE=1 SV=3 - [BIG3_HUMAN]	Άλλα	T1,T2
Q96GW7	Brevican core protein OS=Homo sapiens GN=BCAN PE=1 SV=2 - [PGCB_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q6PL45	BRICHOS domain-containing protein C16orf79 OS=Homo sapiens GN=C16orf79 PE=2 SV=3 - [CP079_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B, T1, T2
Q9NRL2	Bromodomain adjacent to zinc finger domain protein 1A OS=Homo sapiens GN=BAZ1A PE=1 SV=2 - [BAZ1A_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	B
Q9UIF8	Bromodomain adjacent to zinc finger domain protein 2B OS=Homo sapiens GN=BAZ2B PE=1 SV=3 - [BAZ2B_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q9BYE9	Cadherin-related family member 2 OS=Homo sapiens GN=CDHR2 PE=1 SV=2 - [CDHR2_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T2
Q14CN2	Calcium-activated chloride channel regulator 4 OS=Homo sapiens GN=CLCA4 PE=1 SV=2 - [CLCA4_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q12791	Calcium-activated potassium channel subunit alpha-1 OS=Homo sapiens GN=KCNMA1 PE=1 SV=2 - [KCMA1_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
O14967	Calmegin OS=Homo sapiens GN=CLGN PE=1 SV=1 - [CLGN_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1,T2
Q9Y6W3	Calpain-7 OS=Homo sapiens GN=CAPN7 PE=1 SV=1 - [CAN7_HUMAN]	Πρωτεόλυση	B, T1
P27815	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4A OS=Homo sapiens GN=PDE4A PE=1 SV=3 - [PDE4A_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
O15438	Canalicular multispecific organic anion transporter 2 OS=Homo sapiens GN=ABCC3 PE=1 SV=3 - [MRP3_HUMAN]	Μεταφοράς	B
Q9GZX3	Carbohydrate sulfotransferase 6 OS=Homo sapiens GN=CHST6 PE=1 SV=1 - [CHST6_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
P00915	Carbonic anhydrase 1 OS=Homo sapiens GN=CA1 PE=1 SV=2 - [CAH1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1,T2
P00918	Carbonic anhydrase 2 OS=Homo sapiens GN=CA2 PE=1 SV=2 - [CAH2_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
P35219	Carbonic anhydrase-related protein OS=Homo sapiens GN=CA8 PE=1 SV=3 - [CAH8_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	Ta
P22792	Carboxypeptidase N subunit 2 OS=Homo sapiens GN=CPN2 PE=1 SV=3 - [CPN2_HUMAN]	Πρωτεόλυση	B, T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q9UJA2	Cardiolipin synthase OS=Homo sapiens GN=CRLS1 PE=2 SV=1 - [CRLS1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
A5YM72	Carnosine synthase 1 OS=Homo sapiens GN=CARNS1 PE=1 SV=3 - [CRNS1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1,T2
Q8IUL8	Cartilage intermediate layer protein 2 OS=Homo sapiens GN=CILP2 PE=2 SV=2 - [CILP2_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T2
Q8WY07	Cationic amino acid transporter 3 OS=Homo sapiens GN=SLC7A3 PE=1 SV=1 - [CTR3_HUMAN]	Μεταφοράς	B
Q86Y33	Cell division cycle protein 20 homolog B OS=Homo sapiens GN=CDC20B PE=2 SV=3 - [CD20B_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
P00450	Ceruloplasmin OS=Homo sapiens GN=CP PE=1 SV=1 - [CERU_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
Q70JA7	Chondroitin sulfate synthase 3 OS=Homo sapiens GN=CHSY3 PE=1 SV=3 - [CHSS3_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P54219	Chromaffin granule amine transporter OS=Homo sapiens GN=SLC18A1 PE=2 SV=1 - [VMAT1_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q12873	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 3 OS=Homo sapiens GN=CHD3 PE=1 SV=3 - [CHD3_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	B
Q9H0L4	Cleavage stimulation factor subunit 2 tau variant OS=Homo sapiens GN=CSTF2T PE=1 SV=1 - [CSTFT_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q9BWC9	Coiled-coil domain-containing protein 106 OS=Homo sapiens GN=CCDC106 PE=1 SV=1 - [CC106_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1,T2
Q96AQ8	Coiled-coil domain-containing protein 90A, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=CCDC90A PE=2 SV=1 - [CC90A_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
Q9Y6H1	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain-containing protein 2, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=CHCHD2 PE=1 SV=1 - [CHCH2_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B
P02452	Collagen alpha-1(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A1 PE=1 SV=5 - [CO1A1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	All
P02458	Collagen alpha-1(II) chain OS=Homo sapiens GN=COL2A1 PE=1 SV=3 - [CO2A1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	Ta,T1,T2
P02461	Collagen alpha-1(III) chain OS=Homo sapiens GN=COL3A1 PE=1 SV=4 - [CO3A1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1,T2
P02462	Collagen alpha-1(IV) chain OS=Homo sapiens GN=COL4A1 PE=1 SV=3 - [CO4A1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
P20849	Collagen alpha-1(IX) chain OS=Homo sapiens GN=COL9A1 PE=1 SV=3 - [CO9A1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	B, T2
P20908	Collagen alpha-1(V) chain OS=Homo sapiens GN=COL5A1 PE=1 SV=3 - [CO5A1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	B, T1, T2
Q03692	Collagen alpha-1(X) chain OS=Homo sapiens GN=COL10A1 PE=1 SV=2 - [COAA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T2
P12107	Collagen alpha-1(XI) chain OS=Homo sapiens GN=COL11A1 PE=1 SV=4 - [COBA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	B, T1,T2
Q14993	Collagen alpha-1(XIX) chain OS=Homo sapiens GN=COL19A1 PE=1 SV=3 - [COJA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q07092	Collagen alpha-1(XVI) chain OS=Homo sapiens GN=COL16A1 PE=1 SV=2 - [COGA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1,T2
Q9UMD9	Collagen alpha-1(XVII) chain OS=Homo sapiens GN=COL17A1 PE=1 SV=3 - [COHA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	B, T1, T2
P39060	Collagen alpha-1(XVIII) chain OS=Homo sapiens GN=COL18A1 PE=1 SV=5 - [COIA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1
Q9P218	Collagen alpha-1(XX) chain OS=Homo sapiens GN=COL20A1 PE=1 SV=4 - [COKA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1,T2
Q86Y22	Collagen alpha-1(XXIII) chain OS=Homo sapiens GN=COL23A1 PE=1 SV=1 - [CONA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1
Q8IZC6	Collagen alpha-1(XXVII) chain OS=Homo sapiens GN=COL27A1 PE=1 SV=1 - [CORA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	B, T1, T2
P08123	Collagen alpha-2(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A2 PE=1 SV=7 - [CO1A2_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	B, T1, T2
P08572	Collagen alpha-2(IV) chain OS=Homo sapiens GN=COL4A2 PE=1 SV=4 - [CO4A2_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	B, T1, T2
Q14055	Collagen alpha-2(IX) chain OS=Homo sapiens GN=COL9A2 PE=1 SV=2 - [CO9A2_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	B, T1, T2
P05997	Collagen alpha-2(V) chain OS=Homo sapiens GN=COL5A2 PE=1 SV=3 - [CO5A2_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1
P25067	Collagen alpha-2(VIII) chain OS=Homo sapiens GN=COL8A2 PE=1 SV=2 - [CO8A2_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1,T2
P13942	Collagen alpha-2(XI) chain OS=Homo sapiens GN=COL11A2 PE=1 SV=4 - [COBA2_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1
P53420	Collagen alpha-4(IV) chain OS=Homo sapiens GN=COL4A4 PE=1 SV=3 - [CO4A4_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1
P29400	Collagen alpha-5(IV) chain OS=Homo sapiens GN=COL4A5 PE=1 SV=2 - [CO4A5_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1,T2
Q14031	Collagen alpha-6(IV) chain OS=Homo sapiens GN=COL4A6 PE=1 SV=3 - [CO4A6_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1
A6NMZ7	Collagen alpha-6(VI) chain OS=Homo sapiens GN=COL6A6 PE=1 SV=2 - [CO6A6_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T1
P01024	Complement C3 OS=Homo sapiens GN=C3 PE=1 SV=2 - [CO3_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
P0C0L4	Complement C4-A OS=Homo sapiens GN=C4A PE=1 SV=1 - [CO4A_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
P00751	Complement factor B OS=Homo sapiens GN=CFB PE=1 SV=2 - [CFAB_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
Q86X12	Condensin-2 complex subunit G2 OS=Homo sapiens GN=NCAPG2 PE=1 SV=1 - [CNDG2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q9UP83	Conserved oligomeric Golgi complex subunit 5 OS=Homo sapiens GN=COG5 PE=1 SV=3 - [COG5_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
P83436	Conserved oligomeric Golgi complex subunit 7 OS=Homo sapiens GN=COG7 PE=1 SV=1 - [COG7_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q8WYK1	Contactin-associated protein-like 5 OS=Homo sapiens GN=CNTNAP5 PE=2 SV=1 - [CNTP5_HUMAN]	Κυτταρικής Μembrάνης	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
P60606	Cortixin-1 OS=Homo sapiens GN=CTXN1 PE=2 SV=1 - [CTXN1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B, T1, T2
Q7Z407	CUB and sushi domain-containing protein 3 OS=Homo sapiens GN=CSMD3 PE=2 SV=3 - [CSMD3_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T2
Q8TEY5	Cyclic AMP-responsive element-binding protein 3-like protein 4 OS=Homo sapiens GN=CREB3L4 PE=1 SV=1 - [CR3L4_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	B, T1
P31930	Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=UQCRC1 PE=1 SV=3 - [QCR1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1,T2
P22695	Cytochrome b-c1 complex subunit 2, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=UQCRC2 PE=1 SV=3 - [QCR2_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
O14949	Cytochrome b-c1 complex subunit 8 OS=Homo sapiens GN=UQCRQ PE=1 SV=4 - [QCR8_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P98187	Cytochrome P450 4F8 OS=Homo sapiens GN=CYP4F8 PE=1 SV=1 - [CP4F8_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1,T2
Q8NCM8	Cytoplasmic dynein 2 heavy chain 1 OS=Homo sapiens GN=DYNC2H1 PE=1 SV=4 - [DYHC2_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q9HCK1	DBF4-type zinc finger-containing protein 2 OS=Homo sapiens GN=ZDBF2 PE=1 SV=3 - [ZDBF2_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1,T2
Q92564	DCN1-like protein 4 OS=Homo sapiens GN=DCUN1D4 PE=1 SV=2 - [DCNL4_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
Q8NA75	DDB1- and CUL4-associated factor 4-like protein 2 OS=Homo sapiens GN=DCAF4L2 PE=1 SV=1 - [DC4L2_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q92608	Dedicator of cytokinesis protein 2 OS=Homo sapiens GN=DOCK2 PE=1 SV=2 - [DOCK2_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1
Q6ZUT9	DENN domain-containing protein 5B OS=Homo sapiens GN=DENND5B PE=1 SV=2 - [DEN5B_HUMAN]	Άλλα	B
P81605	Dermcidin OS=Homo sapiens GN=DCD PE=1 SV=2 - [DCD_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1,T2
Q68CQ4	Digestive organ expansion factor homolog OS=Homo sapiens GN=DIEXF PE=1 SV=2 - [DIEXF_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	B, T1
P53634	Dipeptidyl peptidase 1 OS=Homo sapiens GN=CTSC PE=1 SV=2 - [CATC_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
Q9Y2E4	Disco-interacting protein 2 homolog C OS=Homo sapiens GN=DIP2C PE=2 SV=2 - [DIP2C_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q8TC27	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 32 OS=Homo sapiens GN=ADAM32 PE=1 SV=2 - [ADA32_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
Q9PIA6	Disks large-associated protein 2 OS=Homo sapiens GN=DLGAP2 PE=1 SV=4 - [DLGP2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q6UX65	DNA damage-regulated autophagy modulator protein 2 OS=Homo sapiens GN=DRAM2 PE=1 SV=1 -	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
	[DRAM2_HUMAN]		
O60673	DNA polymerase zeta catalytic subunit OS=Homo sapiens GN=REV3L PE=1 SV=2 - [DPOLZ_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
P28715	DNA repair protein complementing XP-G cells OS=Homo sapiens GN=ERCC5 PE=1 SV=3 - [ERCC5_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q9BRT9	DNA replication complex GINS protein SLD5 OS=Homo sapiens GN=GINS4 PE=1 SV=1 - [SLD5_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
P51530	DNA2-like helicase OS=Homo sapiens GN=DNA2 PE=1 SV=3 - [DNA2L_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	B
Q9NX36	DnaJ homolog subfamily C member 28 OS=Homo sapiens GN=DNAJC28 PE=1 SV=2 - [DJC28_HUMAN]	Άλλα	T1
P46977	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit STT3A OS=Homo sapiens GN=STT3A PE=1 SV=2 - [STT3A_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
P55265	Double-stranded RNA-specific adenosine deaminase OS=Homo sapiens GN=ADAR PE=1 SV=4 - [DSRAD_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T2
Q8TD84	Down syndrome cell adhesion molecule-like protein 1 OS=Homo sapiens GN=DSCAML1 PE=1 SV=2 - [DSCL1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T2
Q13627	Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A OS=Homo sapiens GN=DYRK1A PE=1 SV=2 - [DYR1A_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q9P2D7	Dynein heavy chain 1, axonemal OS=Homo sapiens GN=DNAH1 PE=1 SV=4 - [DYH1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1,T2
Q0VDD8	Dynein heavy chain 14, axonemal OS=Homo sapiens GN=DNAH14 PE=2 SV=3 - [DYH14_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
Q8TD57	Dynein heavy chain 3, axonemal OS=Homo sapiens GN=DNAH3 PE=2 SV=1 - [DYH3_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
Q8TE73	Dynein heavy chain 5, axonemal OS=Homo sapiens GN=DNAH5 PE=1 SV=3 - [DYH5_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1,T2
Q03001	Dystonin OS=Homo sapiens GN=DST PE=1 SV=4 - [DYST_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	B
P11532	Dystrophin OS=Homo sapiens GN=DMD PE=1 SV=3 - [DMD_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	B, T1
Q13474	Dystrophin-related protein 2 OS=Homo sapiens GN=DRP2 PE=2 SV=2 - [DRP2_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	B
Q8IYU2	E3 ubiquitin-protein ligase HACE1 OS=Homo sapiens GN=HACE1 PE=1 SV=2 - [HACE1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q7Z6E9	E3 ubiquitin-protein ligase RBBP6 OS=Homo sapiens GN=RBBP6 PE=1 SV=1 - [RBBP6_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T2
Q5T4S7	E3 ubiquitin-protein ligase UBR4 OS=Homo sapiens GN=UBR4 PE=1 SV=1 - [UBR4_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q9HC35	Echinoderm microtubule-associated protein-like 4 OS=Homo sapiens GN=EML4 PE=1 SV=3 - [EMAL4_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
Q9BXX0	EMILIN-2 OS=Homo sapiens GN=EMILIN2 PE=1 SV=3 - [EMIL2_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T2
Q99961	Endophilin-A2 OS=Homo sapiens GN=SH3GL1 PE=1 SV=1 - [SH3G1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q6NXG1	Epithelial splicing regulatory protein 1 OS=Homo sapiens GN=ESRP1 PE=1 SV=2 - [ESRP1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
Q9H6T0	Epithelial splicing regulatory protein 2 OS=Homo sapiens GN=ESRP2 PE=1 SV=1 - [ESRP2_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
O75821	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit G OS=Homo sapiens GN=EIF3G PE=1 SV=2 - [EIF3G_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
O15372	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit H OS=Homo sapiens GN=EIF3H PE=1 SV=1 - [EIF3H_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	B, Ta, T1
Q8IWU6	Extracellular sulfatase Sulf-1 OS=Homo sapiens GN=SULF1 PE=1 SV=1 - [SULF1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T2
Q9BX63	Fanconi anemia group J protein OS=Homo sapiens GN=BRIP1 PE=1 SV=1 - [FANCJ_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T1
O95864	Fatty acid desaturase 2 OS=Homo sapiens GN=FADS2 PE=1 SV=1 - [FADS2_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q969U6	F-box/WD repeat-containing protein 5 OS=Homo sapiens GN=FBXW5 PE=1 SV=1 - [FBXW5_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
A9Z1Z3	Fer-1-like protein 4 OS=Homo sapiens GN=FER1L4 PE=2 SV=1 - [FR1L4_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
P02671	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2 - [FIBA_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	B, T1, T2
P02675	Fibrinogen beta chain OS=Homo sapiens GN=FGB PE=1 SV=2 - [FIBB_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
P02679	Fibrinogen gamma chain OS=Homo sapiens GN=FGG PE=1 SV=3 - [FIBG_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
P02751	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4 - [FNC_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q5CZC0	Fibrous sheath-interacting protein 2 OS=Homo sapiens GN=FSIP2 PE=1 SV=4 - [FSIP2_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
P21333	Filamin-A OS=Homo sapiens GN=FLNA PE=1 SV=4 - [FLNA_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	B, T1
Q7Z7B0	Filamin-A-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=FILIP1 PE=1 SV=1 - [FLIP1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
Q8WUP2	Filamin-binding LIM protein 1 OS=Homo sapiens GN=FBLIM1 PE=1 SV=2 - [FBLI1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q8N475	Follistatin-related protein 5 OS=Homo sapiens GN=FSTL5 PE=2 SV=2 - [FSTL5_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
O00358	Forkhead box protein E1 OS=Homo sapiens GN=FOXE1 PE=1 SV=3 - [FOXE1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q96RU3	Formin-binding protein 1 OS=Homo sapiens GN=FNBP1 PE=1 SV=2 - [FNBP1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
P51114	Fragile X mental retardation syndrome-related protein 1 OS=Homo sapiens GN=FXR1 PE=1 SV=3 - [FXR1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
P05062	Fructose-bisphosphate aldolase B OS=Homo sapiens GN=ALDOB PE=1 SV=2 - [ALDOB_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q9NYZ3	G2 and S phase-expressed protein 1 OS=Homo sapiens GN=GTSE1 PE=1 SV=3 - [GTSE1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
P54803	Galactocerebrosidase OS=Homo sapiens GN=GALC PE=1 SV=2 - [GALC_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
Q10981	Galactoside 2-alpha-L-fucosyltransferase 2 OS=Homo sapiens GN=FUT2 PE=2 SV=1 - [FUT2_HUMAN]	Μεταβολισμού	B, T1, T2
P20142	Gastricsin OS=Homo sapiens GN=PGC PE=1 SV=1 - [PEPC_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
P06396	Gelsolin OS=Homo sapiens GN=GSN PE=1 SV=1 - [GELS_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
Q8TEQ6	Gem-associated protein 5 OS=Homo sapiens GN=GEMIN5 PE=1 SV=3 - [GEMIN5_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q9UKN8	General transcription factor 3C polypeptide 4 OS=Homo sapiens GN=GTF3C4 PE=1 SV=2 - [TF3C4_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q6EKJ0	General transcription factor II-I repeat domain-containing protein 2B OS=Homo sapiens GN=GTF2IRD2B PE=1 SV=1 - [GTD2B_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q8TCU5	Glutamate [NMDA] receptor subunit 3A OS=Homo sapiens GN=GRIN3A PE=1 SV=2 - [NMD3A_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B
Q13224	Glutamate [NMDA] receptor subunit epsilon-2 OS=Homo sapiens GN=GRIN2B PE=1 SV=3 - [NMDE2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
O15399	Glutamate [NMDA] receptor subunit epsilon-4 OS=Homo sapiens GN=GRIN2D PE=1 SV=2 - [NMDE4_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1,T2
P42262	Glutamate receptor 2 OS=Homo sapiens GN=GRIA2 PE=1 SV=3 - [GRIA2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q6IA69	Glutamine-dependent NAD(+) synthetase OS=Homo sapiens GN=NADSYN1 PE=1 SV=3 - [NADE_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q2TAL8	Glutamine-rich protein 1 OS=Homo sapiens GN=QRICH1 PE=1 SV=1 - [QRIC1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P09211	Glutathione S-transferase P OS=Homo sapiens GN=GSTP1 PE=1 SV=2 - [GSTP1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπτωσης/ Διαφοροποίησης	T2
O95249	Golgi SNAP receptor complex member 1 OS=Homo sapiens GN=GOSR1 PE=1 SV=1 - [GOSR1_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q8N9W4	Golgin subfamily A member 6-like protein 2 OS=Homo sapiens GN=GOLGA6L2 PE=2 SV=2 - [GG6L2_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q5H8A4	GPI ethanolamine phosphate transferase 2 OS=Homo sapiens GN=PIGG PE=1 SV=1 - [PIGG_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q9BY21	G-protein coupled receptor 87 OS=Homo sapiens GN=GPR87 PE=2 SV=1 - [GPR87_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q8WXG9	G-protein coupled receptor 98 OS=Homo sapiens GN=GPR98 PE=1 SV=2 - [GPR98_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q9H3K2	Growth hormone-inducible transmembrane protein OS=Homo sapiens GN=GHITM PE=1 SV=2 - [GHITM_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q5VVW2	GTPase-activating Rap/Ran-GAP domain-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=GARNL3 PE=1 SV=2 - [GARL3_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q03113	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12 OS=Homo sapiens GN=GNA12 PE=1 SV=4 - [GNA12_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1,T2
P51793	H(+)/Cl(-) exchange transporter 4 OS=Homo sapiens GN=CLCN4 PE=1 SV=2 - [CLCN4_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q14774	H2.0-like homeobox protein OS=Homo sapiens GN=HLX PE=1 SV=3 - [HLX_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
P00738	Haptoglobin OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1 - [HPT_HUMAN]	Μεταφοράς	B, T1, T2
P00739	Haptoglobin-related protein OS=Homo sapiens GN=HPR PE=2 SV=2 - [HPTR_HUMAN]	Μεταφοράς	B, T1, T2
Q9Y450	HBS1-like protein OS=Homo sapiens GN=HBS1L PE=1 SV=1 - [HBS1L_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P34932	Heat shock 70 kDa protein 4 OS=Homo sapiens GN=HSPA4 PE=1 SV=4 - [HSP74_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	B
P69905	Hemoglobin subunit alpha OS=Homo sapiens GN=HBA1 PE=1 SV=2 - [HBA_HUMAN]	Μεταφοράς	All
P69905	Hemoglobin subunit alpha OS=Homo sapiens GN=HBA1 PE=1 SV=2 - [HBA_HUMAN]	Μεταφοράς	All
P68871	Hemoglobin subunit beta OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=2 - [HBB_HUMAN]	Μεταφοράς	All
P68871	Hemoglobin subunit beta OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=2 - [HBB_HUMAN]	Μεταφοράς	All
P68871	Hemoglobin subunit beta OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=2 - [HBB_HUMAN]	Μεταφοράς	All
P68871	Hemoglobin subunit beta OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=2 - [HBB_HUMAN]	Μεταφοράς	All
P02790	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2 - [HEMO_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
P30825	High affinity cationic amino acid transporter 1 OS=Homo sapiens GN=SLC7A1 PE=1 SV=1 - [CTR1_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q09472	Histone acetyltransferase p300 OS=Homo sapiens GN=EP300 PE=1 SV=2 - [EP300_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	B
Q96KK5	Histone H2A type 1-H OS=Homo sapiens GN=HIST1H2AH	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
	PE=1 SV=3 - [H2A1H_HUMAN]		
P62807	Histone H2B type 1-C/E/F/G/I OS=Homo sapiens GN=HIST1H2BC PE=1 SV=4 - [H2B1C_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T2
Q99525	Histone H4-like protein type G OS=Homo sapiens GN=HIST1H4G PE=2 SV=1 - [H4G_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	B
O15047	Histone-lysine N-methyltransferase SETD1A OS=Homo sapiens GN=SETD1A PE=1 SV=3 - [SET1A_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	B, T2
Q8NCD3	Holliday junction recognition protein OS=Homo sapiens GN=HJURP PE=1 SV=2 - [HJURP_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T1,T2
P39880	Homeobox protein cut-like 1 OS=Homo sapiens GN=CUX1 PE=1 SV=3 - [CUX1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q8IYA7	Homeobox protein Mohawk OS=Homo sapiens GN=MKX PE=2 SV=2 - [MKX_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P51610	Host cell factor 1 OS=Homo sapiens GN=HCFC1 PE=1 SV=2 - [HCFC1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	B,T1
P38567	Hyaluronidase PH-20 OS=Homo sapiens GN=SPAM1 PE=1 SV=1 - [HYALP_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q4G0P3	Hydrocephalus-inducing protein homolog OS=Homo sapiens GN=HYDIN PE=1 SV=3 - [HYDIN_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
P01876	Ig alpha-1 chain C region OS=Homo sapiens GN=IGHA1 PE=1 SV=2 - [IGHA1_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
P01877	Ig alpha-2 chain C region OS=Homo sapiens GN=IGHA2 PE=1 SV=3 - [IGHA2_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
P01860	Ig gamma-3 chain C region OS=Homo sapiens GN=IGHG3 PE=1 SV=2 - [IGHG3_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
P01834	Ig kappa chain C region OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=1 - [IGKC_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	B, T2
P0CG05	Ig lambda-2 chain C regions OS=Homo sapiens GN=IGLC2 PE=1 SV=1 - [LAC2_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
Q6UXK2	Immunoglobulin superfamily containing leucine-rich repeat protein 2 OS=Homo sapiens GN=ISLR2 PE=2 SV=1 - [ISLR2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
P52292	Importin subunit alpha-2 OS=Homo sapiens GN=KPNA2 PE=1 SV=1 - [IMA2_HUMAN]	Μεταφοράς	T1,T2
Q14623	Indian hedgehog protein OS=Homo sapiens GN=IHH PE=1 SV=4 - [IHH_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q14573	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 3 OS=Homo sapiens GN=ITPR3 PE=1 SV=2 - [ITPR3_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
O43314	Inositol hexakisphosphate and diphosphoinositol-pentakisphosphate kinase 2 OS=Homo sapiens GN=PIIP5K2 PE=1 SV=3 - [VIP2_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
P05107	Integrin beta-2 OS=Homo sapiens GN=ITGB2 PE=1 SV=2 - [ITB2_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
P19823	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2 OS=Homo sapiens GN=ITIH2 PE=1 SV=2 - [ITIH2_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q9NP19	Inward rectifier potassium channel 16 OS=Homo sapiens GN=KCNJ16 PE=2 SV=1 - [IRK16_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q4KMZ1	IQ domain-containing protein C OS=Homo sapiens GN=IQCC PE=2 SV=2 - [IQCC_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
P78413	Iroquois-class homeodomain protein IRX-4 OS=Homo sapiens GN=IRX4 PE=2 SV=2 - [IRX4_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1,T2
O43837	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit beta, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=IDH3B PE=1 SV=2 - [IDH3B_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
O60229	Kalirin OS=Homo sapiens GN=KALRN PE=1 SV=2 - [KALRN_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
P29622	Kallistatin OS=Homo sapiens GN=SERPINA4 PE=1 SV=3 - [KAIN_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
Q9NXS3	Kelch-like protein 28 OS=Homo sapiens GN=KLHL28 PE=2 SV=2 - [KLH28_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q9C0H6	Kelch-like protein 4 OS=Homo sapiens GN=KLHL4 PE=2 SV=2 - [KLHL4_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1,T2
P35527	Keratin, type I cytoskeletal 9 OS=Homo sapiens GN=KRT9 PE=1 SV=3 - [K1C9_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	All
Q15058	Kinesin-like protein KIF14 OS=Homo sapiens GN=KIF14 PE=1 SV=1 - [KIF14_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	B
Q9NS87	Kinesin-like protein KIF15 OS=Homo sapiens GN=KIF15 PE=1 SV=1 - [KIF15_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	B
Q8N4N8	Kinesin-like protein KIF2B OS=Homo sapiens GN=KIF2B PE=1 SV=3 - [KIF2B_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q2M1P5	Kinesin-like protein KIF7 OS=Homo sapiens GN=KIF7 PE=1 SV=2 - [KIF7_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	B, T1, T2
Q14678	KN motif and ankyrin repeat domain-containing protein 1 OS=Homo sapiens GN=KANK1 PE=1 SV=3 - [KANK1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1,T2
Q9H9P8	L-2-hydroxyglutarate dehydrogenase, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=L2HGDH PE=1 SV=3 - [L2HDH_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1,T2
P02788	Lactotransferrin OS=Homo sapiens GN=LTF PE=1 SV=6 - [TRFL_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
P25391	Laminin subunit alpha-1 OS=Homo sapiens GN=LAMA1 PE=1 SV=2 - [LAMA1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T2
P55268	Laminin subunit beta-2 OS=Homo sapiens GN=LAMB2 PE=1 SV=2 - [LAMB2_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q659C4	La-related protein 1B OS=Homo sapiens GN=LARP1B PE=1 SV=2 - [LAR1B_HUMAN]	Άλλα	T2
Q71RC2	La-related protein 4 OS=Homo sapiens GN=LARP4 PE=1 SV=3 - [LARP4_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	B
O95447	Lebercilin-like protein OS=Homo sapiens GN=LCA5L PE=2 SV=1 - [LCA5L_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
P02750	Leucine-rich alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=LRG1 PE=1 SV=2 - [A2GL_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	B

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q9ULI1	Leucine-rich repeat and WD repeat-containing protein KIAA1239 OS=Homo sapiens GN=KIAA1239 PE=2 SV=3 - [K1239_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
A6NHZ5	Leucine-rich repeat-containing protein 14B OS=Homo sapiens GN=LRRC14B PE=3 SV=3 - [LR14B_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
Q8NEP3	Leucine-rich repeat-containing protein 50 OS=Homo sapiens GN=LRRC50 PE=1 SV=5 - [LRC50_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	Ta
Q96JA1	Leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains protein 1 OS=Homo sapiens GN=LRIG1 PE=1 SV=2 - [LRIG1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q6UXM1	Leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains protein 3 OS=Homo sapiens GN=LRIG3 PE=2 SV=1 - [LRIG3_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
Q8N423	Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily B member 2 OS=Homo sapiens GN=LILRB2 PE=1 SV=4 - [LIRB2_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1
Q15722	Leukotriene B4 receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LTB4R PE=1 SV=2 - [LT4R1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1,T2
Q86X29	Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor OS=Homo sapiens GN=LSR PE=1 SV=4 - [LSR_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
P28330	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=ACADL PE=2 SV=2 - [ACADL_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
O95573	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 3 OS=Homo sapiens GN=ACSL3 PE=1 SV=3 - [ACSL3_HUMAN]	Μεταβολισμού	B
Q9ULC5	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 5 OS=Homo sapiens GN=ACSL5 PE=1 SV=1 - [ACSL5_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
Q7Z4F1	Low-density lipoprotein receptor-related protein 10 OS=Homo sapiens GN=LRP10 PE=1 SV=2 - [LRP10_HUMAN]	Μεταβολισμού	B
P01229	Lutropin subunit beta OS=Homo sapiens GN=LHB PE=1 SV=3 - [LSHB_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B, T1
Q99698	Lysosomal-trafficking regulator OS=Homo sapiens GN=LYST PE=1 SV=3 - [LYST_HUMAN]	Άλλα	B
P34810	Macrosialin OS=Homo sapiens GN=CD68 PE=1 SV=2 - [CD68_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q96ES6	Major facilitator superfamily domain-containing protein 3 OS=Homo sapiens GN=MFSD3 PE=2 SV=1 - [MFSD3_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q6N075	Major facilitator superfamily domain-containing protein 5 OS=Homo sapiens GN=MFSD5 PE=2 SV=2 - [MFSD5_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q9BUB5	MAP kinase-interacting serine/threonine-protein kinase 1 OS=Homo sapiens GN=MKNK1 PE=1 SV=1 - [MKNK1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q86YW9	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 12-like protein OS=Homo sapiens GN=MED12L PE=1 SV=2 -	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
	[MD12L_HUMAN]		
P32245	Melanocortin receptor 4 OS=Homo sapiens GN=MC4R PE=1 SV=2 - [MC4R_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
P43356	Melanoma-associated antigen 2 OS=Homo sapiens GN=MAGEA2 PE=1 SV=1 - [MAGA2_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	B
Q15049	Membrane protein MLC1 OS=Homo sapiens GN=MLC1 PE=1 SV=5 - [MLC1_HUMAN]	Μεταφοράς	B, T2
Q86UL8	Membrane-associated guanylate kinase, WW and PDZ domain-containing protein 2 OS=Homo sapiens GN=MAGI2 PE=1 SV=3 - [MAGI2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q16819	Meprin A subunit alpha OS=Homo sapiens GN=MEP1A PE=1 SV=2 - [MEP1A_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
O15303	Metabotropic glutamate receptor 6 OS=Homo sapiens GN=GRM6 PE=1 SV=2 - [GRM6_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q96E52	Metalloendopeptidase OMA1, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=OMA1 PE=2 SV=1 - [OMA1_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	T1
Q99707	Methionine synthase OS=Homo sapiens GN=MTR PE=1 SV=2 - [METH_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q9UPN3	Microtubule-actin cross-linking factor 1, isoforms 1/2/3/5 OS=Homo sapiens GN=MACF1 PE=1 SV=3 - [MACF1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	B
P78559	Microtubule-associated protein 1A OS=Homo sapiens GN=MAP1A PE=1 SV=6 - [MAP1A_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q9NZJ7	Mitochondrial carrier homolog 1 OS=Homo sapiens GN=MTCH1 PE=1 SV=1 - [MTCH1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1,T2
Q16891	Mitochondrial inner membrane protein OS=Homo sapiens GN=IMMT PE=1 SV=1 - [IMMT_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q99797	Mitochondrial intermediate peptidase OS=Homo sapiens GN=MIPEP PE=1 SV=2 - [MIPEP_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T2
O75648	Mitochondrial tRNA-specific 2-thiouridylase 1 OS=Homo sapiens GN=TRMU PE=1 SV=2 - [MTU1_HUMAN]	Μεταβολισμού	B, T1
P55851	Mitochondrial uncoupling protein 2 OS=Homo sapiens GN=UCP2 PE=1 SV=1 - [UCP2_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q13164	Mitogen-activated protein kinase 7 OS=Homo sapiens GN=MAPK7 PE=1 SV=2 - [MK07_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q02779	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 10 OS=Homo sapiens GN=MAP3K10 PE=1 SV=3 - [M3K10_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B, T1
O95819	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase 4 OS=Homo sapiens GN=MAP4K4 PE=1 SV=2 - [M4K4_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q8NB16	Mixed lineage kinase domain-like protein OS=Homo sapiens GN=MLKL PE=1 SV=1 - [MLKL_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B
Q99549	M-phase phosphoprotein 8 OS=Homo sapiens GN=MPHOSPH8 PE=1 SV=2 - [MPP8_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q02817	Mucin-2 OS=Homo sapiens GN=MUC2 PE=1 SV=2 - [MUC2_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1,T2
Q6W4X9	Mucin-6 OS=Homo sapiens GN=MUC6 PE=1 SV=3 - [MUC6_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
P33527	Multidrug resistance-associated protein 1 OS=Homo sapiens GN=ABCC1 PE=1 SV=3 - [MRP1_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
O15440	Multidrug resistance-associated protein 5 OS=Homo sapiens GN=ABCC5 PE=1 SV=2 - [MRP5_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q13201	Multimerin-1 OS=Homo sapiens GN=MMRN1 PE=1 SV=3 - [MMRN1_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q7Z7M0	Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8 OS=Homo sapiens GN=MEGF8 PE=1 SV=2 - [MEGF8_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
P56270	Myc-associated zinc finger protein OS=Homo sapiens GN=MAZ PE=1 SV=1 - [MAZ_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P05164	Myeloperoxidase OS=Homo sapiens GN=MPO PE=1 SV=1 - [PERM_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1
Q14814	Myocyte-specific enhancer factor 2D OS=Homo sapiens GN=MEF2D PE=1 SV=1 - [MEF2D_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P35749	Myosin-11 OS=Homo sapiens GN=MYH11 PE=1 SV=3 - [MYH11_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
O94832	Myosin-Id OS=Homo sapiens GN=MYO1D PE=1 SV=2 - [MYO1D_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q9Y4I1	Myosin-Va OS=Homo sapiens GN=MYO5A PE=1 SV=2 - [MYO5A_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
P58546	Myotrophin OS=Homo sapiens GN=MTPN PE=1 SV=2 - [MTPN_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q9NP98	Myozenin-1 OS=Homo sapiens GN=MYOZ1 PE=1 SV=1 - [MYOZ1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
P20933	N(4)-(beta-N-acetylglucosaminy)-L-asparaginase OS=Homo sapiens GN=AGA PE=1 SV=2 - [ASPG_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T2
Q86W24	NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 14 OS=Homo sapiens GN=NLRP14 PE=2 SV=1 - [NAL14_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T2
Q96P20	NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3 OS=Homo sapiens GN=NLRP3 PE=1 SV=3 - [NALP3_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
Q13423	NAD(P) transhydrogenase, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=NNT PE=1 SV=3 - [NNTM_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q9NTG7	NAD-dependent deacetylase sirtuin-3, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=SIRT3 PE=1 SV=2 - [SIRT3_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	T1,T2
Q96PH1	NADPH oxidase 5 OS=Homo sapiens GN=NOX5 PE=1 SV=1 - [NOX5_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P22570	NADPH:adenodoxin oxidoreductase, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=FDXR PE=1 SV=3 -	Μεταβολισμού	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
	[ADRO_HUMAN]		
O43847	Nardilysin OS=Homo sapiens GN=NRD1 PE=1 SV=2 - [NRDC_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1,T2
Q8WXH0	Nesprin-2 OS=Homo sapiens GN=SYNE2 PE=1 SV=3 - [SYNE2_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
Q9UMX5	Neudesin OS=Homo sapiens GN=NENF PE=1 SV=1 - [NENF_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q8IXF0	Neuronal PAS domain-containing protein 3 OS=Homo sapiens GN=NPAS3 PE=2 SV=1 - [NPAS3_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q92542	Nicastrin OS=Homo sapiens GN=NCSTN PE=1 SV=2 - [NICA_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1,T2
Q9Y2I6	Ninein-like protein OS=Homo sapiens GN=NINL PE=1 SV=2 - [NINL_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
Q6KC79	Nipped-B-like protein OS=Homo sapiens GN=NIPBL PE=1 SV=2 - [NIPBL_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T2
Q9BZM6	NKG2D ligand 1 OS=Homo sapiens GN=ULBP1 PE=1 SV=1 - [N2DL1_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
Q9NQR1	N-lysine methyltransferase SETD8 OS=Homo sapiens GN=SETD8 PE=1 SV=3 - [SETD8_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T2
Q96S42	Nodal homolog OS=Homo sapiens GN=NODAL PE=1 SV=2 - [NODAL_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T1
O60443	Non-syndromic hearing impairment protein 5 OS=Homo sapiens GN=DFNA5 PE=1 SV=2 - [DFNA5_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q12769	Nuclear pore complex protein Nup160 OS=Homo sapiens GN=NUP160 PE=1 SV=3 - [NU160_HUMAN]	Μεταφοράς	B, T2
P37198	Nuclear pore glycoprotein p62 OS=Homo sapiens GN=NUP62 PE=1 SV=3 - [NUP62_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q9Y6Q9	Nuclear receptor coactivator 3 OS=Homo sapiens GN=NCOA3 PE=1 SV=1 - [NCOA3_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P51843	Nuclear receptor subfamily 0 group B member 1 OS=Homo sapiens GN=NR0B1 PE=1 SV=2 - [NR0B1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
O15381	Nuclear valosin-containing protein-like OS=Homo sapiens GN=NVL PE=1 SV=1 - [NVL_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q9BVI4	Nucleolar complex protein 4 homolog OS=Homo sapiens GN=NOC4L PE=1 SV=1 - [NOC4L_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q9NR30	Nucleolar RNA helicase 2 OS=Homo sapiens GN=DDX21 PE=1 SV=5 - [DDX21_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q9BVL2	Nucleoporin p58/p45 OS=Homo sapiens GN=NUPL1 PE=1 SV=1 - [NUPL1_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q96R30	Olfactory receptor 2V2 OS=Homo sapiens GN=OR2V2 PE=2 SV=3 - [OR2V2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q6IEV9	Olfactory receptor 4C11 OS=Homo sapiens GN=OR4C11 PE=2 SV=1 - [OR4CB_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
P58180	Olfactory receptor 4D2 OS=Homo sapiens GN=OR4D2 PE=2 SV=1 - [OR4D2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q8NGJ6	Olfactory receptor 51A4 OS=Homo sapiens GN=OR51A4 PE=2 SV=1 - [O51A4_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B
Q9NZP5	Olfactory receptor 5AC2 OS=Homo sapiens GN=OR5AC2 PE=2 SV=2 - [O5AC2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q9NZP2	Olfactory receptor 6C2 OS=Homo sapiens GN=OR6C2 PE=2 SV=2 - [OR6C2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q13416	Origin recognition complex subunit 2 OS=Homo sapiens GN=ORC2 PE=1 SV=2 - [ORC2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	B, T1, T2
P10451	Osteopontin OS=Homo sapiens GN=SPP1 PE=1 SV=1 - [OSTP_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	B, T2
Q8TE49	OTU domain-containing protein 7A OS=Homo sapiens GN=OTUD7A PE=1 SV=1 - [OTU7A_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
Q5BJF6	Outer dense fiber protein 2 OS=Homo sapiens GN=ODF2 PE=1 SV=1 - [ODFP2_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	B,T1
Q12889	Oviduct-specific glycoprotein OS=Homo sapiens GN=OVGP1 PE=2 SV=1 - [OVGP1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
A6NDB9	Paralemmin-3 OS=Homo sapiens GN=PALM3 PE=3 SV=2 - [PALM3_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
Q96HC4	PDZ and LIM domain protein 5 OS=Homo sapiens GN=PDLIM5 PE=1 SV=5 - [PDLI5_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q96RV3	Pecanex-like protein 1 OS=Homo sapiens GN=PCNX PE=2 SV=2 - [PCX1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
O95613	Pericentrin OS=Homo sapiens GN=PCNT PE=1 SV=4 - [PCNT_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
Q96Q06	Perilipin-4 OS=Homo sapiens GN=PLIN4 PE=2 SV=2 - [PLIN4_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
P56645	Period circadian protein homolog 3 OS=Homo sapiens GN=PER3 PE=2 SV=4 - [PER3_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P32119	Peroxiredoxin-2 OS=Homo sapiens GN=PRDX2 PE=1 SV=5 - [PRDX2_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	T1,T2
P51659	Peroxisomal multifunctional enzyme type 2 OS=Homo sapiens GN=HSD17B4 PE=1 SV=3 - [DHB4_HUMAN]	Μεταβολισμού	B, T1, T2
O43933	Peroxisome biogenesis factor 1 OS=Homo sapiens GN=PEX1 PE=1 SV=1 - [PEX1_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q86YN6	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-beta OS=Homo sapiens GN=PPARGC1B PE=1 SV=2 - [PRGC2_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
O75420	PERQ amino acid-rich with GYF domain-containing protein 1 OS=Homo sapiens GN=GIGYF1 PE=1 SV=2 - [PERQ1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q9BQI7	PH and SEC7 domain-containing protein 2 OS=Homo sapiens GN=PSD2 PE=2 SV=3 - [PSD2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q92539	Phosphatidate phosphatase LPIN2 OS=Homo sapiens GN=LPIN2 PE=1 SV=1 - [LPIN2_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q9UKL6	Phosphatidylcholine transfer protein OS=Homo sapiens GN=PCTP PE=1 SV=1 - [PPCT_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
O60331	Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase type-1 gamma OS=Homo sapiens GN=PIP5K1C PE=1 SV=2 - [PI51C_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q86VP3	Phosphofurin acidic cluster sorting protein 2 OS=Homo sapiens GN=PACS2 PE=1 SV=3 - [PACS2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q8WYR1	Phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit 5 OS=Homo sapiens GN=PIK3R5 PE=1 SV=1 - [PI3R5_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
P46019	Phosphorylase b kinase regulatory subunit alpha, liver isoform OS=Homo sapiens GN=PHKA2 PE=1 SV=1 - [KPB2_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
Q6P3X8	PiggyBac transposable element-derived protein 2 OS=Homo sapiens GN=PGBD2 PE=2 SV=1 - [PGBD2_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q8WU39	Plasma cell-induced resident endoplasmic reticulum protein OS=Homo sapiens GN=PACAP PE=1 SV=1 - [PERP1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1,T2
P20020	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1 OS=Homo sapiens GN=ATP2B1 PE=1 SV=3 - [AT2B1_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
P05155	Plasma protease C1 inhibitor OS=Homo sapiens GN=SERPING1 PE=1 SV=2 - [IC1_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
Q8NC51	Plasminogen activator inhibitor 1 RNA-binding protein OS=Homo sapiens GN=SERBP1 PE=1 SV=2 - [PAIRB_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P13797	Plastin-3 OS=Homo sapiens GN=PLS3 PE=1 SV=4 - [PLST_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
Q6ZR37	Pleckstrin homology domain-containing family G member 7 OS=Homo sapiens GN=PLEKHG7 PE=2 SV=1 - [PKHG7_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q8IVE3	Pleckstrin homology domain-containing family H member 2 OS=Homo sapiens GN=PLEKHH2 PE=2 SV=2 - [PKHH2_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q86UU1	Pleckstrin homology-like domain family B member 1 OS=Homo sapiens GN=PHLDB1 PE=1 SV=1 - [PHLB1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1,T2
P57721	Poly(rC)-binding protein 3 OS=Homo sapiens GN=PCBP3 PE=1 SV=2 - [PCBP3_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q8TDX9	Polycystic kidney disease protein 1-like 1 OS=Homo sapiens GN=PKD1L1 PE=2 SV=1 - [PK1L1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q81XK0	Polyhomeotic-like protein 2 OS=Homo sapiens GN=PHC2 PE=1 SV=1 - [PHC2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
P01833	Polymeric immunoglobulin receptor OS=Homo sapiens GN=PIGR PE=1 SV=4 - [PIGR_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1
Q5K4E3	Polyserase-2 OS=Homo sapiens GN=PRSS36 PE=1 SV=2 - [POLS2_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
O60741	Potassium/sodium hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 1 OS=Homo sapiens GN=HCN1 PE=2 SV=3 - [HCN1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q86YR6	POTE ankyrin domain family member D OS=Homo sapiens GN=POTED PE=2 SV=2 - [POTED_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
P14859	POU domain, class 2, transcription factor 1 OS=Homo sapiens GN=POU2F1 PE=1 SV=2 - [PO2F1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P78424	POU domain, class 6, transcription factor 2 OS=Homo sapiens GN=POU6F2 PE=1 SV=3 - [PO6F2_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
P57071	PR domain zinc finger protein 15 OS=Homo sapiens GN=PRDM15 PE=2 SV=4 - [PRD15_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q92620	Pre-mRNA-splicing factor ATP-dependent RNA helicase PRP16 OS=Homo sapiens GN=DHX38 PE=1 SV=2 - [PRP16_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1,T2
Q8NBM8	Prenylcysteine oxidase-like OS=Homo sapiens GN=PCYOX1L PE=1 SV=2 - [PCYXL_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q9NV35	Probable 7,8-dihydro-8-oxoguanine triphosphatase NUDT15 OS=Homo sapiens GN=NUDT15 PE=1 SV=1 - [NUD15_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T2
Q13206	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX10 OS=Homo sapiens GN=DDX10 PE=1 SV=2 - [DDX10_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	B
Q92771	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX12 OS=Homo sapiens GN=DDX12 PE=2 SV=3 - [DDX12_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T2
Q81Y21	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX60 OS=Homo sapiens GN=DDX60 PE=2 SV=3 - [DDX60_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	Ta
Q9HD20	Probable cation-transporting ATPase 13A1 OS=Homo sapiens GN=ATP13A1 PE=1 SV=2 - [AT131_HUMAN]	Μεταφοράς	B, T1, T2
Q4VNC1	Probable cation-transporting ATPase 13A4 OS=Homo sapiens GN=ATP13A4 PE=2 SV=3 - [AT134_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q9HA77	Probable cysteinyl-tRNA synthetase, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=CARS2 PE=1 SV=1 - [SYCM_HUMAN]	Μεταβολισμού	B, T2
Q8NFN8	Probable G-protein coupled receptor 156 OS=Homo sapiens GN=GPR156 PE=2 SV=2 - [GP156_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q99680	Probable G-protein coupled receptor 22 OS=Homo sapiens GN=GPR22 PE=2 SV=2 - [GPR22_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q96GX9	Probable methylthioribulose-1-phosphate dehydratase OS=Homo sapiens GN=APIP PE=1 SV=1 - [MTNB_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q8WVZ1	Probable palmitoyltransferase ZDHHC19 OS=Homo sapiens GN=ZDHHC19 PE=2 SV=2 - [ZDH19_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1,T2
Q86Y79	Probable peptidyl-tRNA hydrolase OS=Homo sapiens GN=PTRH1 PE=1 SV=1 - [PTH_HUMAN]	Μεταβολισμού	B,T1
P98198	Probable phospholipid-transporting ATPase ID OS=Homo sapiens GN=ATP8B2 PE=1 SV=2 - [AT8B2_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q8WUM4	Programmed cell death 6-interacting protein OS=Homo sapiens GN=PDCD6IP PE=1 SV=1 - [PDC6I_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	B, T1, T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q14005	Pro-interleukin-16 OS=Homo sapiens GN=IL16 PE=1 SV=4 - [IL16_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1
Q5FWE3	Proline-rich transmembrane protein 3 OS=Homo sapiens GN=PRRT3 PE=1 SV=3 - [PRRT3_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1,T2
P41222	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1 - [PTGDS_HUMAN]	Μεταβολισμού	B, T2
P02760	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1 - [AMBP_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	T2
Q9UNK9	Protein angel homolog 1 OS=Homo sapiens GN=ANGEL1 PE=1 SV=1 - [ANGE1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
O14744	Protein arginine N-methyltransferase 5 OS=Homo sapiens GN=PRMT5 PE=1 SV=4 - [ANM5_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q96DF8	Protein DGCR14 OS=Homo sapiens GN=DGCR14 PE=1 SV=1 - [DGC14_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q9Y2G0	Protein EFR3 homolog B OS=Homo sapiens GN=EFR3B PE=2 SV=2 - [EFR3B_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q9H1Q7	Protein FAM113A OS=Homo sapiens GN=FAM113A PE=1 SV=1 - [F113A_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q05DH4	Protein FAM160A1 OS=Homo sapiens GN=FAM160A1 PE=2 SV=2 - [F16A1_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q8IX21	Protein FAM178A OS=Homo sapiens GN=FAM178A PE=1 SV=2 - [F178A_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπτωσης/ Διαφοροποίησης	T2
Q8IXR5	Protein FAM178B OS=Homo sapiens GN=FAM178B PE=2 SV=2 - [F178B_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπτωσης/ Διαφοροποίησης	T2
A6NE01	Protein FAM186A OS=Homo sapiens GN=FAM186A PE=2 SV=3 - [F186A_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B,T1
Q92520	Protein FAM3C OS=Homo sapiens GN=FAM3C PE=1 SV=1 - [FAM3C_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q8NEM7	Protein FAM48A OS=Homo sapiens GN=FAM48A PE=1 SV=2 - [FA48A_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q8NBR6	Protein FAM63B OS=Homo sapiens GN=FAM63B PE=1 SV=2 - [FA63B_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q8IYT1	Protein FAM71A OS=Homo sapiens GN=FAM71A PE=2 SV=2 - [FA71A_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q8IWB4	Protein FAM75A7 OS=Homo sapiens GN=FAM75A7 PE=2 SV=4 - [F75A7_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1,T2
Q6ZRV2	Protein FAM83H OS=Homo sapiens GN=FAM83H PE=1 SV=3 - [FA83H_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q96ST2	Protein IWS1 homolog OS=Homo sapiens GN=IWS1 PE=1 SV=2 - [IWS1_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1,T2
Q9Y4F5	Protein KIAA0284 OS=Homo sapiens GN=KIAA0284 PE=1 SV=4 - [K0284_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
Q8NHV4	Protein NEDD1 OS=Homo sapiens GN=NEDD1 PE=1 SV=1 - [NEDD1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1,T2
Q9Y6V0	Protein piccolo OS=Homo sapiens GN=PCLO PE=1 SV=4 - [PCLO_HUMAN]	Μεταφοράς	T1,T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q5THK1	Protein PRR14L OS=Homo sapiens GN=PRR14L PE=1 SV=1 - [PR14L_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	T2
Q5JSZ5	Protein PRRC2B OS=Homo sapiens GN=PRRC2B PE=1 SV=2 - [PRC2B_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
P06702	Protein S100-A9 OS=Homo sapiens GN=S100A9 PE=1 SV=1 - [S10A9_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T2
Q96ER3	Protein SAAL1 OS=Homo sapiens GN=SAAL1 PE=1 SV=2 - [SAAL1_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	T1,T2
P18583	Protein SON OS=Homo sapiens GN=SON PE=1 SV=4 - [SON_HUMAN]	Μεταβολισμού	B,T1
O95487	Protein transport protein Sec24B OS=Homo sapiens GN=SEC24B PE=1 SV=2 - [SC24B_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q9NQW1	Protein transport protein Sec31B OS=Homo sapiens GN=SEC31B PE=1 SV=1 - [SC31B_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q9P2J2	Protein turtle homolog A OS=Homo sapiens GN=IGSF9 PE=1 SV=2 - [TUTLA_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T2
Q9UPX0	Protein turtle homolog B OS=Homo sapiens GN=IGSF9B PE=2 SV=2 - [TUTLB_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B
O14795	Protein unc-13 homolog B OS=Homo sapiens GN=UNC13B PE=1 SV=2 - [UN13B_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q76NI1	Protein very KIND OS=Homo sapiens GN=KNDC1 PE=2 SV=2 - [VKIND_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B
Q93098	Protein Wnt-8b OS=Homo sapiens GN=WNT8B PE=2 SV=3 - [WNT8B_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q6TGC4	Protein-arginine deiminase type-6 OS=Homo sapiens GN=PADI6 PE=2 SV=2 - [PADI6_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q14517	Protocadherin Fat 1 OS=Homo sapiens GN=FAT1 PE=1 SV=2 - [FAT1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1,T2
Q9Y5H0	Protocadherin gamma-A3 OS=Homo sapiens GN=PCDHGA3 PE=2 SV=2 - [PCDG3_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T2
Q2VWP7	Protogenin OS=Homo sapiens GN=PRTG PE=2 SV=1 - [PRTG_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
P10911	Proto-oncogene DBL OS=Homo sapiens GN=MCF2 PE=1 SV=3 - [MCF2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	B, T1, T2
Q58EX7	Puratrophin-1 OS=Homo sapiens GN=PLEKHG4 PE=1 SV=1 - [PKHG4_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q96HN2	Putative adenosylhomocysteinase 3 OS=Homo sapiens GN=AHCYL2 PE=1 SV=1 - [SAHH3_HUMAN]	Μεταβολισμού	B, T2
Q8TEC5	Putative E3 ubiquitin-protein ligase SH3RF2 OS=Homo sapiens GN=SH3RF2 PE=1 SV=3 - [SH3R2_HUMAN]	Πρωτεόλυση	B
P46087	Putative ribosomal RNA methyltransferase NOP2 OS=Homo sapiens GN=NOP2 PE=1 SV=2 - [NOP2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q9NQ29	Putative RNA-binding protein Luc7-like 1 OS=Homo sapiens GN=LUC7L PE=1 SV=1 - [LUC7L_HUMAN]	Μεταβολισμού	B
Q4G0T1	Putative scavenger receptor cysteine-rich domain-containing protein LOC619207 OS=Homo sapiens PE=5 SV=2 - [SRCRM_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
A6NKX4	Putative solute carrier family 22 member ENSG00000182157 OS=Homo sapiens PE=3 SV=3 - [S22AX_HUMAN]	Μεταφοράς	B
Q9H7F4	Putative transmembrane protein 185B OS=Homo sapiens GN=TMEM185B PE=5 SV=2 - [T185B_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
Q8NA97	Putative uncharacterized protein C8orf54 OS=Homo sapiens GN=C8orf54 PE=2 SV=1 - [CH054_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q96MT0	Putative uncharacterized protein FLJ31958 OS=Homo sapiens PE=2 SV=1 - [YJ006_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q6ZRM9	Putative uncharacterized protein FLJ46235 OS=Homo sapiens PE=1 SV=1 - [YG024_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B,T1
P30613	Pyruvate kinase isozymes R/L OS=Homo sapiens GN=PKLR PE=1 SV=2 - [KPYR_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
Q8NFW9	Rab effector MyRIP OS=Homo sapiens GN=MYRIP PE=1 SV=2 - [MYRIP_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q6WKZ4	Rab11 family-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=RAB11FIP1 PE=1 SV=2 - [RFIP1_HUMAN]	Άλλα	B, T1, T2
Q86YS3	Rab11 family-interacting protein 4 OS=Homo sapiens GN=RAB11FIP4 PE=1 SV=1 - [RFIP4_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q6R327	Rapamycin-insensitive companion of mTOR OS=Homo sapiens GN=RICTOR PE=1 SV=1 - [RICTR_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
P46940	Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1 OS=Homo sapiens GN=IQGAP1 PE=1 SV=1 - [IQGA1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B, T1, T2
Q86VI3	Ras GTPase-activating-like protein IQGAP3 OS=Homo sapiens GN=IQGAP3 PE=1 SV=2 - [IQGA3_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
O14807	Ras-related protein M-Ras OS=Homo sapiens GN=MRAS PE=1 SV=2 - [RASM_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q9UL25	Ras-related protein Rab-21 OS=Homo sapiens GN=RAB21 PE=1 SV=3 - [RAB21_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P04626	Receptor tyrosine-protein kinase erbB-2 OS=Homo sapiens GN=ERBB2 PE=1 SV=1 - [ERBB2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B,T1
Q9NS28	Regulator of G-protein signaling 18 OS=Homo sapiens GN=RGS18 PE=1 SV=1 - [RGS18_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
A5PLK6	Regulator of G-protein signaling protein-like OS=Homo sapiens GN=RGSL1 PE=2 SV=1 - [RGSL_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q8N4K4	Reprimo-like protein OS=Homo sapiens GN=RPRML PE=2 SV=2 - [RPRML_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q9UKL0	REST corepressor 1 OS=Homo sapiens GN=RCOR1 PE=1 SV=1 - [RCOR1_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q9HB40	Retinoid-inducible serine carboxypeptidase OS=Homo sapiens GN=SCPEP1 PE=1 SV=1 - [RISC_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T2
Q9P227	Rho GTPase-activating protein 23 OS=Homo sapiens GN=ARHGAP23 PE=1 SV=2 - [RHG23_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q52LW3	Rho GTPase-activating protein 29 OS=Homo sapiens GN=ARHGAP29 PE=1 SV=2 - [RHG29_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B
O14559	Rho GTPase-activating protein 33 OS=Homo sapiens GN=ARHGAP33 PE=1 SV=2 - [RHG33_HUMAN]	Μεταφοράς	T1,T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q8N1W1	Rho-guanine nucleotide exchange factor OS=Homo sapiens GN=RGNEF PE=1 SV=3 - [RGNEF_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T2
P62745	Rho-related GTP-binding protein RhoB OS=Homo sapiens GN=RHOB PE=1 SV=1 - [RHOB_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T2
Q99575	Ribonucleases P/MRP protein subunit POP1 OS=Homo sapiens GN=POP1 PE=1 SV=2 - [POP1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q8TDN6	Ribosome biogenesis protein BRX1 homolog OS=Homo sapiens GN=BRX1 PE=1 SV=2 - [BRX1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q6ZP01	RNA-binding protein 44 OS=Homo sapiens GN=RBM44 PE=2 SV=2 - [RBM44_HUMAN]	Άλλα	T2
Q9UNW9	RNA-binding protein Nova-2 OS=Homo sapiens GN=NOVA2 PE=1 SV=1 - [NOVA2_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q8WZ75	Roundabout homolog 4 OS=Homo sapiens GN=ROBO4 PE=1 SV=1 - [ROBO4_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T1,T2
Q6ZMJ2	Scavenger receptor class A member 5 OS=Homo sapiens GN=SCARA5 PE=2 SV=1 - [SCAR5_HUMAN]	Μεταφοράς	B,T1
Q9NR16	Scavenger receptor cysteine-rich type 1 protein M160 OS=Homo sapiens GN=CD163L1 PE=1 SV=2 - [C163B_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1,T2
Q6P3W7	SCY1-like protein 2 OS=Homo sapiens GN=SCYL2 PE=1 SV=1 - [SCYL2_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
P63302	Selenoprotein W OS=Homo sapiens GN=SEPW1 PE=2 SV=3 - [SELW_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	T1
Q9H3S1	Semaphorin-4A OS=Homo sapiens GN=SEMA4A PE=1 SV=2 - [SEM4A_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
Q13535	Serine/threonine-protein kinase ATR OS=Homo sapiens GN=ATR PE=1 SV=3 - [ATR_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	T1
Q9Y5S2	Serine/threonine-protein kinase MRCK beta OS=Homo sapiens GN=CDC42BPB PE=1 SV=2 - [MRCKB_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
Q16513	Serine/threonine-protein kinase N2 OS=Homo sapiens GN=PKN2 PE=1 SV=1 - [PKN2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q6P3R8	Serine/threonine-protein kinase Nek5 OS=Homo sapiens GN=NEK5 PE=1 SV=1 - [NEK5_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T1
O75914	Serine/threonine-protein kinase PAK 3 OS=Homo sapiens GN=PAK3 PE=1 SV=2 - [PAK3_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q7L7X3	Serine/threonine-protein kinase TAO1 OS=Homo sapiens GN=TAOK1 PE=1 SV=1 - [TAOK1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1,T2
P30153	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A alpha isoform OS=Homo sapiens GN=PPP2R1A PE=1 SV=4 - [2AAA_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q8TF05	Serine/threonine-protein phosphatase 4 regulatory subunit 1 OS=Homo sapiens GN=PPP4R1 PE=1 SV=1 - [PP4R1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απώπωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q8NB46	Serine/threonine-protein phosphatase 6 regulatory ankyrin repeat subunit C OS=Homo sapiens GN=ANKRD52 PE=1 SV=3 - [ANR52_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
P02787	Serotransferrin OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=3 - [TRFE_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q14140	SERTA domain-containing protein 2 OS=Homo sapiens GN=SERTAD2 PE=2 SV=1 - [SRTD2_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P02768	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2 - [ALBU_HUMAN]	Μεταφοράς	B, T1, T2
Q9Y566	SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 1 OS=Homo sapiens GN=SHANK1 PE=1 SV=2 - [SHAN1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
Q9BYB0	SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 3 OS=Homo sapiens GN=SHANK3 PE=1 SV=2 - [SHAN3_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
P78314	SH3 domain-binding protein 2 OS=Homo sapiens GN=SH3BP2 PE=1 SV=2 - [3BP2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
P29353	SHC-transforming protein 1 OS=Homo sapiens GN=SHC1 PE=1 SV=4 - [SHC1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
P48995	Short transient receptor potential channel 1 OS=Homo sapiens GN=TRPC1 PE=1 SV=1 - [TRPC1_HUMAN]	Μεταφοράς	B, T1, T2
Q8TEL6	Short transient receptor potential channel 4-associated protein OS=Homo sapiens GN=TRPC4AP PE=1 SV=2 - [TP4AP_HUMAN]	Πρωτεόλυση	B
P08240	Signal recognition particle receptor subunit alpha OS=Homo sapiens GN=SRPR PE=1 SV=2 - [SRPR_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
P42224	Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta OS=Homo sapiens GN=STAT1 PE=1 SV=2 - [STAT1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
O60292	Signal-induced proliferation-associated 1-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=SIPA1L3 PE=1 SV=3 - [SIP1L3_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q2VWA4	SKI family transcriptional corepressor 2 OS=Homo sapiens GN=SKOR2 PE=1 SV=2 - [SKOR2_HUMAN]	Άλλα	T1
P12757	Ski-like protein OS=Homo sapiens GN=SKIL PE=1 SV=2 - [SKIL_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1,T2
O94813	Slit homolog 2 protein OS=Homo sapiens GN=SLIT2 PE=1 SV=1 - [SLIT2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
O75094	Slit homolog 3 protein OS=Homo sapiens GN=SLIT3 PE=2 SV=3 - [SLIT3_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
O43147	Small G protein signaling modulator 2 OS=Homo sapiens GN=SGSM2 PE=1 SV=4 - [SGSM2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q96HU1	Small G protein signaling modulator 3 OS=Homo sapiens GN=SGSM3 PE=1 SV=1 - [SGSM3_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q5SXM2	snRNA-activating protein complex subunit 4 OS=Homo sapiens GN=SNAPC4 PE=1 SV=1 - [SNPC4_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
Q9Y345	Sodium- and chloride-dependent glycine transporter 2 OS=Homo sapiens GN=SLC6A5 PE=1 SV=3 - [SC6A5_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q96N87	Sodium-dependent neutral amino acid transporter B(0)AT3 OS=Homo sapiens GN=SLC6A18 PE=2 SV=2 - [S6A18_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q9BZJ4	Solute carrier family 25 member 39 OS=Homo sapiens GN=SLC25A39 PE=2 SV=2 - [S2539_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
Q9BXS9	Solute carrier family 26 member 6 OS=Homo sapiens GN=SLC26A6 PE=1 SV=1 - [S26A6_HUMAN]	Μεταφοράς	T1,T2
Q92673	Sortilin-related receptor OS=Homo sapiens GN=SORL1 PE=1 SV=2 - [SORL_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q9UBP0	Spastin OS=Homo sapiens GN=SPAST PE=1 SV=1 - [SPAST_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T2
Q96R06	Sperm-associated antigen 5 OS=Homo sapiens GN=SPAG5 PE=1 SV=2 - [SPAG5_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q12872	Splicing factor, suppressor of white-apricot homolog OS=Homo sapiens GN=SFSWAP PE=1 SV=3 - [SFSWA_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q8WWQ8	Stabilin-2 OS=Homo sapiens GN=STAB2 PE=1 SV=3 - [STAB2_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1,T2
P02808	Statherin OS=Homo sapiens GN=STATH PE=1 SV=2 - [STAT_HUMAN]	Άλλα	T1
Q9P246	Stromal interaction molecule 2 OS=Homo sapiens GN=STIM2 PE=1 SV=2 - [STIM2_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
P04179	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial OS=Homo sapiens GN=SOD2 PE=1 SV=2 - [SODM_HUMAN]	Ανταπόκριση στο στρες	T2
O60264	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily A member 5 OS=Homo sapiens GN=SMARCA5 PE=1 SV=1 - [SMCA5_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T2
Q05940	Synaptic vesicular amine transporter OS=Homo sapiens GN=SLC18A2 PE=1 SV=2 - [VMAT2_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
O43426	Synaptojanin-1 OS=Homo sapiens GN=SYNJ1 PE=1 SV=2 - [SYNJ1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
O43581	Synaptotagmin-7 OS=Homo sapiens GN=SYT7 PE=1 SV=3 - [SYT7_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
Q96C24	Synaptotagmin-like protein 4 OS=Homo sapiens GN=SYTL4 PE=1 SV=2 - [SYTL4_HUMAN]	Άλλα	Ta
O15061	Synemin OS=Homo sapiens GN=SYNM PE=1 SV=2 - [SYNEM_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
Q9UMZ2	Synergmin gamma OS=Homo sapiens GN=SYNRG PE=1 SV=2 - [SYNRG_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q9Y6J9	TAF6-like RNA polymerase II p300/CBP-associated factor-associated factor 65 kDa subunit 6L OS=Homo sapiens GN=TAF6L PE=1 SV=1 - [TAF6L_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	B, T1, T2
Q9Y490	Talin-1 OS=Homo sapiens GN=TLN1 PE=1 SV=3 - [TLN1_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	B, T1, T2
A7MCY6	TANK-binding kinase 1-binding protein 1 OS=Homo sapiens GN=TBKBP1 PE=1 SV=1 - [TBKB1_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
P82094	TATA element modulatory factor OS=Homo sapiens GN=TMF1 PE=1 SV=2 - [TMF1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q9UMR3	T-box transcription factor TBX20 OS=Homo sapiens GN=TBX20 PE=1 SV=4 - [TBX20_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q99973	Telomerase protein component 1 OS=Homo sapiens GN=TEP1 PE=1 SV=2 - [TEP1_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
O14746	Telomerase reverse transcriptase OS=Homo sapiens GN=TERT PE=1 SV=1 - [TERT_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	B
P54274	Telomeric repeat-binding factor 1 OS=Homo sapiens GN=TERF1 PE=1 SV=3 - [TERF1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωση/ Διαφοροποίησης	T1
Q9NYB0	Telomeric repeat-binding factor 2-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=TERF2IP PE=1 SV=1 - [TE2IP_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q92752	Tenascin-R OS=Homo sapiens GN=TNR PE=1 SV=3 - [TENR_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q9UKZ4	Teneurin-1 OS=Homo sapiens GN=ODZ1 PE=1 SV=2 - [TEN1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B,T1
Q9NT68	Teneurin-2 OS=Homo sapiens GN=ODZ2 PE=1 SV=3 - [TEN2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B
Q9NXF1	Testis-expressed sequence 10 protein OS=Homo sapiens GN=TEX10 PE=1 SV=2 - [TEX10_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T1
Q9UKR8	Tetraspanin-16 OS=Homo sapiens GN=TSPAN16 PE=2 SV=1 - [TSN16_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
P19447	TFIIH basal transcription factor complex helicase XPB subunit OS=Homo sapiens GN=ERCC3 PE=1 SV=1 - [ERCC3_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q9H6P5	Threonine aspartase 1 OS=Homo sapiens GN=TASP1 PE=1 SV=1 - [TASP1_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
P62328	Thymosin beta-4 OS=Homo sapiens GN=TMSB4X PE=1 SV=2 - [TYB4_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
Q9NQE7	Thymus-specific serine protease OS=Homo sapiens GN=PRSS16 PE=2 SV=2 - [TSSP_HUMAN]	Ανοσοανταπόκριση	T1
Q6YHU6	Thyroid adenoma-associated protein OS=Homo sapiens GN=THADA PE=1 SV=1 - [THADA_HUMAN]	Άλλα	T1
Q8IUC6	TIR domain-containing adapter molecule 1 OS=Homo sapiens GN=TICAM1 PE=1 SV=1 - [TCAM1_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	B, Ta,T1
Q8WZ42	Titin OS=Homo sapiens GN=TTN PE=1 SV=2 - [TITIN_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1,T2
Q15025	TNFAIP3-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=TNIP1 PE=1 SV=2 - [TNIP1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q9NR97	Toll-like receptor 8 OS=Homo sapiens GN=TLR8 PE=1 SV=1 - [TLR8_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
O14776	Transcription elongation regulator 1 OS=Homo sapiens GN=TCERG1 PE=1 SV=2 - [TCRG1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	B,T1
O00570	Transcription factor SOX-1 OS=Homo sapiens GN=SOX1 PE=1 SV=2 - [SOX1_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q02086	Transcription factor Sp2 OS=Homo sapiens GN=SP2 PE=1 SV=3 - [SP2_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q02446	Transcription factor Sp4 OS=Homo sapiens GN=SP4 PE=1 SV=2 - [SP4_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
O00268	Transcription initiation factor TFIID subunit 4 OS=Homo sapiens GN=TAF4 PE=1 SV=2 - [TAF4_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1,T2
O95359	Transforming acidic coiled-coil-containing protein 2 OS=Homo sapiens GN=TACC2 PE=1 SV=3 - [TACC2_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1,T2
Q96QT4	Transient receptor potential cation channel subfamily M member 7 OS=Homo sapiens GN=TRPM7 PE=1 SV=1 - [TRPM7_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
P46199	Translation initiation factor IF-2, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=MTIF2 PE=1 SV=2 - [IF2M_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q9C0B7	Transmembrane and coiled-coil domain-containing protein 7 OS=Homo sapiens GN=TMCO7 PE=2 SV=2 - [TMCO7_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
Q7Z5M5	Transmembrane channel-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=TMC3 PE=1 SV=3 - [TMC3_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
Q86T26	Transmembrane protease serine 11B OS=Homo sapiens GN=TMPRSS11B PE=2 SV=3 - [TM11B_HUMAN]	Πρωτεόλυση	T1
Q8IXX5	Transmembrane protein 183A OS=Homo sapiens GN=TMEM183A PE=2 SV=2 - [T183A_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
Q96B77	Transmembrane protein 186 OS=Homo sapiens GN=TMEM186 PE=2 SV=1 - [TM186_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q6ZT21	Transmembrane protein with metallophosphoesterase domain OS=Homo sapiens GN=TMPPE PE=2 SV=2 - [TMPPE_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
P02766	Transthyretin OS=Homo sapiens GN=TTR PE=1 SV=1 - [TTHY_HUMAN]	Μεταφοράς	B, T2
Q13428	Treacle protein OS=Homo sapiens GN=TCOF1 PE=1 SV=3 - [TCOF_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q8NDV7	Trinucleotide repeat-containing gene 6A protein OS=Homo sapiens GN=TNRC6A PE=1 SV=2 - [TNR6A_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T2
Q6ZTA4	Tripartite motif-containing protein 67 OS=Homo sapiens GN=TRIM67 PE=2 SV=3 - [TRI67_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1,T2
P07951	Tropomyosin beta chain OS=Homo sapiens GN=TPM2 PE=1 SV=1 - [TPM2_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	B
P49815	Tuberin OS=Homo sapiens GN=TSC2 PE=1 SV=2 - [TSC2_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T2
Q9H3D4	Tumor protein 63 OS=Homo sapiens GN=TP63 PE=1 SV=1 - [P63_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q12888	Tumor suppressor p53-binding protein 1 OS=Homo sapiens GN=TP53BP1 PE=1 SV=2 - [TP53B_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T2

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q8NHX9	Two pore calcium channel protein 2 OS=Homo sapiens GN=TPCN2 PE=2 SV=2 - [TPC2_HUMAN]	Μεταφοράς	T1,T2
P00519	Tyrosine-protein kinase ABL1 OS=Homo sapiens GN=ABL1 PE=1 SV=4 - [ABL1_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	B
P42684	Tyrosine-protein kinase ABL2 OS=Homo sapiens GN=ABL2 PE=1 SV=1 - [ABL2_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	T1
Q9H3S7	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 23 OS=Homo sapiens GN=PTPN23 PE=1 SV=1 - [PTN23_HUMAN]	Πολλαπλασιασμού/ Απόπτωσης/ Διαφοροποίησης	T1
Q9NYH9	U3 small nucleolar RNA-associated protein 6 homolog OS=Homo sapiens GN=UTP6 PE=1 SV=2 - [UTP6_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q53GS9	U4/U6.U5 tri-snRNP-associated protein 2 OS=Homo sapiens GN=USP39 PE=1 SV=2 - [SNUT2_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
O94966	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 19 OS=Homo sapiens GN=USP19 PE=1 SV=2 - [UBP19_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q92560	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase BAP1 OS=Homo sapiens GN=BAP1 PE=1 SV=2 - [BAP1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q8TF42	Ubiquitin-associated and SH3 domain-containing protein B OS=Homo sapiens GN=UBASH3B PE=1 SV=2 - [UBS3B_HUMAN]	Μεταφορά Σήματος	T1
P78381	UDP-galactose translocator OS=Homo sapiens GN=SLC35A2 PE=1 SV=1 - [S35A2_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q5VWN6	Uncharacterized protein C10orf18 OS=Homo sapiens GN=C10orf18 PE=1 SV=1 - [CJ018_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1,T2
Q96LP6	Uncharacterized protein C12orf42 OS=Homo sapiens GN=C12orf42 PE=2 SV=2 - [CL042_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B
Q5RHP9	Uncharacterized protein C1orf173 OS=Homo sapiens GN=C1orf173 PE=2 SV=1 - [CA173_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
Q86WW8	Uncharacterized protein C2orf64 OS=Homo sapiens GN=C2orf64 PE=1 SV=1 - [CB064_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q86YA3	Uncharacterized protein C4orf21 OS=Homo sapiens GN=C4orf21 PE=1 SV=2 - [CD021_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B,T1
Q9H799	Uncharacterized protein C5orf42 OS=Homo sapiens GN=C5orf42 PE=2 SV=3 - [CE042_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
P0C671	Uncharacterized protein C6orf222 OS=Homo sapiens GN=C6orf222 PE=2 SV=1 - [CF222_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q8NEG2	Uncharacterized protein C7orf57 OS=Homo sapiens GN=C7orf57 PE=1 SV=3 - [CG057_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q5VTT2	Uncharacterized protein C9orf135 OS=Homo sapiens GN=C9orf135 PE=1 SV=1 - [CI135_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B
Q6ZU35	Uncharacterized protein KIAA1211 OS=Homo sapiens GN=KIAA1211 PE=1 SV=3 - [K1211_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1,T2
Q9P206	Uncharacterized protein KIAA1522 OS=Homo sapiens GN=KIAA1522 PE=1 SV=2 - [K1522_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B,T1
Q14146	Unhealthy ribosome biogenesis protein 2 homolog OS=Homo sapiens GN=URB2 PE=1 SV=2 -	Άγνωστη λειτουργία	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
	[URB2_HUMAN]		
Q765I0	Urotensin-2B OS=Homo sapiens GN=UTS2D PE=2 SV=2 - [UTS2B_HUMAN]	Άλλα	B
Q96RL7	Vacuolar protein sorting-associated protein 13A OS=Homo sapiens GN=VPS13A PE=1 SV=2 - [VP13A_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
Q7Z7G8	Vacuolar protein sorting-associated protein 13B OS=Homo sapiens GN=VPS13B PE=1 SV=2 - [VP13B_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q5THJ4	Vacuolar protein sorting-associated protein 13D OS=Homo sapiens GN=VPS13D PE=1 SV=1 - [VP13D_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1
Q8N3P4	Vacuolar protein sorting-associated protein 8 homolog OS=Homo sapiens GN=VPS8 PE=1 SV=3 - [VPS8_HUMAN]	Άλλα	T1
Q6VVX0	Vitamin D 25-hydroxylase OS=Homo sapiens GN=CYP2R1 PE=1 SV=1 - [CP2R1_HUMAN]	Μεταβολισμού	T2
P04004	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1 - [VTNC_HUMAN]	Κυτταρικής Μεμβράνης	B, T2
Q02641	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit beta-1 OS=Homo sapiens GN=CACNB1 PE=1 SV=3 - [CACB1_HUMAN]	Μεταφοράς	T1
O95180	Voltage-dependent T-type calcium channel subunit alpha-1H OS=Homo sapiens GN=CACNA1H PE=1 SV=4 - [CAC1H_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
P21281	V-type proton ATPase subunit B, brain isoform OS=Homo sapiens GN=ATP6V1B2 PE=1 SV=3 - [VATB2_HUMAN]	Μεταφοράς	T2
O75717	WD repeat and HMG-box DNA-binding protein 1 OS=Homo sapiens GN=WDHD1 PE=1 SV=1 - [WDHD1_HUMAN]	Πρωτεΐνη Χρωματίνης	T1
O75083	WD repeat-containing protein 1 OS=Homo sapiens GN=WDR1 PE=1 SV=4 - [WDR1_HUMAN]	Κυτταροσκελετική	T1
Q8IV35	WD repeat-containing protein 49 OS=Homo sapiens GN=WDR49 PE=1 SV=1 - [WDR49_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	B
Q96KV7	WD repeat-containing protein 90 OS=Homo sapiens GN=WDR90 PE=1 SV=2 - [WDR90_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T1,T2
Q96G27	WW domain-binding protein 1 OS=Homo sapiens GN=WBP1 PE=1 SV=1 - [WBP1_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2
Q6P2D8	X-ray radiation resistance-associated protein 1 OS=Homo sapiens GN=XRRA1 PE=2 SV=2 - [XRRA1_HUMAN]	Άλλα	T1
Q8NB16	Xyloside xylosyltransferase 1 [XXLT1_HUMAN]	Μεταβολισμού	B
Q9Y2T7	Y-box-binding protein 2 OS=Homo sapiens GN=YBX2 PE=1 SV=2 - [YBOX2_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q9H5U6	Zinc finger CCHC domain-containing protein 4 OS=Homo sapiens GN=ZCCHC4 PE=1 SV=3 - [ZCHC4_HUMAN]	Μεταβολισμού	T1
Q9C0A1	Zinc finger homeobox protein 2 OS=Homo sapiens GN=ZFHX2 PE=2 SV=3 - [ZFHX2_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	B
P17025	Zinc finger protein 182 OS=Homo sapiens GN=ZNF182 PE=1 SV=2 - [ZN182_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q3ZCT1	Zinc finger protein 260 OS=Homo sapiens GN=ZNF260 PE=2 SV=3 - [ZN260_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q14586	Zinc finger protein 267 OS=Homo sapiens GN=ZNF267 PE=1 SV=3 - [ZN267_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Q9H4Z2	Zinc finger protein 335 OS=Homo sapiens GN=ZNF335 PE=1 SV=1 - [ZN335_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q9Y4E5	Zinc finger protein 451 OS=Homo sapiens GN=ZNF451 PE=1 SV=2 - [ZN451_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1
Κωδικός Πρωτεΐνης	Περιγραφή Πρωτεΐνης	Λειτουργία πρωτεΐνης	Στάδιο
Q9HCE3	Zinc finger protein 532 OS=Homo sapiens GN=ZNF532 PE=1 SV=2 - [ZN532_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q8N9K5	Zinc finger protein 565 OS=Homo sapiens GN=ZNF565 PE=2 SV=1 - [ZN565_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1,T2
Q8N184	Zinc finger protein 567 OS=Homo sapiens GN=ZNF567 PE=2 SV=3 - [ZN567_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T1,T2
Q5EBL2	Zinc finger protein 628 OS=Homo sapiens GN=ZNF628 PE=2 SV=2 - [ZN628_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
Q9H7S9	Zinc finger protein 703 OS=Homo sapiens GN=ZNF703 PE=1 SV=1 - [ZN703_HUMAN]	Αντιγραφής/Μεταγραφής/Ρύθμισης	T2
A7E2V4	Zinc finger SWIM domain-containing protein KIAA0913 OS=Homo sapiens GN=KIAA0913 PE=1 SV=1 - [K0913_HUMAN]	Άγνωστη λειτουργία	T2

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Alberts B. Molecular biology of the cell. 4th ed. New York: Garland Science, 2002:xxxiv, 1548 p.pp.
2. Weinberg RA. The biology of cancer. Second edition. ed, 2013.
3. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000;100:57-70.
4. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. Cell 2011;144:646-74.
5. Kufe DW, Holland JF, Frei E, American Cancer Society. Cancer medicine 6. 6th ed. Hamilton, Ont. ; Lewiston, NY: BC Decker, 2003.
6. Sobin LH GM, Wittekind C, . Tnm classification of malignant tumors. UICC International Union Against Cancer New York, NY: Wiley-Blackwell 2009; Ed7:p.262-5.
7. Kaufman DS, Shipley WU, Feldman AS. Bladder cancer. Lancet 2009;374:239-49.
8. Volanis D, Kadiyska T, Galanis A, Delakas D, Logotheti S, Zoumpourlis V. Environmental factors and genetic susceptibility promote urinary bladder cancer. Toxicology letters 2010;193:131-7.
9. Zieger K. High throughput molecular diagnostics in bladder cancer - on the brink of clinical utility. Molecular oncology 2008;1:384-94.
10. Cheng L, Montironi R, Davidson DD, Lopez-Beltran A. Staging and reporting of urothelial carcinoma of the urinary bladder. Mod Pathol 2009;22 Suppl 2:S70-95.
11. E. A. E. Σ. Μαθήματος "κλινική χημεία". Vol., 2008.
12. Diamandis EP. How are we going to discover new cancer biomarkers? A proteomic approach for bladder cancer. Clinical chemistry 2004;50:793-5.
13. Daher C. Chade SFS, Guilherme Godoy , Siegfried Meryn and Guido Dalbagni. Critical review of biomarkers for the early detection and surveillance of bladder cancer Journal of Men's Health 2009;Volume 6:368-82.
14. Halling KC, Kipp BR. Bladder cancer detection using fish (urovysion assay). Advances in anatomic pathology 2008;15:279-86.
15. Grossman HB, Messing E, Soloway M, Tomera K, Katz G, Berger Y, Shen Y. Detection of bladder cancer using a point-of-care proteomic assay. JAMA : the journal of the American Medical Association 2005;293:810-6.
16. Comploj E, Mian C, Ambrosini-Spaltro A, Dechet C, Palermo S, Trenti E, et al. Ucyt+/immunocyt and cytology in the detection of urothelial carcinoma: An update on 7422 analyses. Cancer cytopathology 2013;121:392-7.
17. Miyake M, Goodison S, Rizwani W, Ross S, Bart Grossman H, Rosser CJ. Urinary bta: Indicator of bladder cancer or of hematuria. World journal of urology 2012;30:869-73.
18. Holyoake A, O'Sullivan P, Pollock R, Best T, Watanabe J, Kajita Y, et al. Development of a multiplex rna urine test for the detection and stratification of transitional cell carcinoma of the bladder. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research 2008;14:742-9.
19. Shariat SF, Youssef RF, Gupta A, Chade DC, Karakiewicz PI, Isbarn H, et al. Association of angiogenesis related markers with bladder cancer outcomes and other molecular markers. The Journal of urology 2010;183:1744-50.
20. Schultz L, Albadine R, Hicks J, Jadallah S, DeMarzo AM, Chen YB, et al. Expression status and prognostic significance of mammalian target of

- rapamycin pathway members in urothelial carcinoma of urinary bladder after cystectomy. *Cancer* 2010;116:5517-26.
21. Sato M, Yanai H, Morito T, Oda W, Shin-no Y, Yamadori I, et al. Association between the expression pattern of p16, prb and p53 and the response to intravesical bacillus calmette-guerin therapy in patients with urothelial carcinoma in situ of the urinary bladder. *Pathology international* 2011;61:456-60.
 22. Kramer MW, Waalkes S, Hennenlotter J, Serth J, Stenzl A, Kuczyk MA, Merseburger AS. Maspin protein expression correlates with tumor progression in non-muscle invasive bladder cancer. *Oncology letters* 2010;1:621-6.
 23. Moreira JM, Ohlsson G, Gromov P, Simon R, Sauter G, Celis JE, Gromova I. Bladder cancer-associated protein, a potential prognostic biomarker in human bladder cancer. *Molecular & cellular proteomics : MCP* 2010;9:161-77.
 24. Shariat SF, Chade DC, Karakiewicz PI, Ashfaq R, Isbarn H, Fradet Y, et al. Combination of multiple molecular markers can improve prognostication in patients with locally advanced and lymph node positive bladder cancer. *The Journal of urology* 2010;183:68-75.
 25. Youssef R, Kapur P, Shariat SF, Arendt T, Kabbani W, Mosbah A, et al. Prognostic value of apoptotic markers in squamous cell carcinoma of the urinary bladder. *BJU international* 2012;110:961-6.
 26. Koga F, Yoshida S, Tatokoro M, Kawakami S, Fujii Y, Kumagai J, et al. Erbb2 and nfkb overexpression as predictors of chemoradiation resistance and putative targets to overcome resistance in muscle-invasive bladder cancer. *PloS one* 2011;6:e27616.
 27. Park J, Song C, Shin E, Hong JH, Kim CS, Ahn H. Do molecular biomarkers have prognostic value in primary t1g3 bladder cancer treated with bacillus calmette-guerin intravesical therapy? *Urologic oncology* 2013;31:849-56.
 28. Karni-Schmidt O, Castillo-Martin M, Shen TH, Gladoun N, Domingo-Domenech J, Sanchez-Carbayo M, et al. Distinct expression profiles of p63 variants during urothelial development and bladder cancer progression. *The American journal of pathology* 2011;178:1350-60.
 29. Alkhateeb SS, Neill M, Bar-Moshe S, Rhijn BV, Kakiashvili DM, Fleshner N, et al. Long-term prognostic value of the combination of eortc risk group calculator and molecular markers in non-muscle-invasive bladder cancer patients treated with intravesical bacille calmette-guerin. *Urology annals* 2011;3:119-26.
 30. Zoidakis J, Makridakis M, Zerefos PG, Bitsika V, Esteban S, Frantzi M, et al. Profilin 1 is a potential biomarker for bladder cancer aggressiveness. *Molecular & cellular proteomics : MCP* 2012;11:M111 009449.
 31. Stadler WM, Lerner SP, Groshen S, Stein JP, Shi SR, Raghavan D, et al. Phase iii study of molecularly targeted adjuvant therapy in locally advanced urothelial cancer of the bladder based on p53 status. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2011;29:3443-9.
 32. Patterson SD, Aebersold RH. Proteomics: The first decade and beyond. *Nature genetics* 2003;33 Suppl:311-23.
 33. Altelaar AF, Munoz J, Heck AJ. Next-generation proteomics: Towards an integrative view of proteome dynamics. *Nature reviews Genetics* 2013;14:35-48.

34. Gulcicek EE, Colangelo CM, McMurray W, Stone K, Williams K, Wu T, et al. Proteomics and the analysis of proteomic data: An overview of current protein-profiling technologies. *Current protocols in bioinformatics / editorial board, Andreas D Baxevanis [et al] 2005;Chapter 13:Unit 13 1.*
35. Mallick P, Kuster B. Proteomics: A pragmatic perspective. *Nature biotechnology 2010;28:695-709.*
36. Aebersold R, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics. *Nature 2003;422:198-207.*
37. Srinivas PR, Srivastava S, Hanash S, Wright GL, Jr. Proteomics in early detection of cancer. *Clinical chemistry 2001;47:1901-11.*
38. Garapaty S, Xu CF, Trojer P, Mahajan MA, Neubert TA, Samuels HH. Identification and characterization of a novel nuclear protein complex involved in nuclear hormone receptor-mediated gene regulation. *J Biol Chem 2009;284:7542-52.*
39. Mahajan MA, Murray A, Samuels HH. Nrc-interacting factor 1 is a novel cotransducer that interacts with and regulates the activity of the nuclear hormone receptor coactivator nrc. *Mol Cell Biol 2002;22:6883-94.*
40. Li Q, Burgess R, Zhang Z. All roads lead to chromatin: Multiple pathways for histone deposition. *Biochim Biophys Acta 2012;1819:238-46.*
41. Wyrick JJ, Parra MA. The role of histone h2a and h2b post-translational modifications in transcription: A genomic perspective. *Biochim Biophys Acta 2009;1789:37-44.*
42. Wyrick JJ, Kyriakos MN, Davis WB. Ascending the nucleosome face: Recognition and function of structured domains in the histone h2a-h2b dimer. *Biochim Biophys Acta 2012;1819:892-901.*
43. Johnsen SA. The enigmatic role of h2bub1 in cancer. *FEBS letters 2012;586:1592-601.*
44. Block H, Maertens B, Spriestersbach A, Brinker N, Kubicek J, Fabis R, et al. Reprint of: Immobilized-metal affinity chromatography (imac): A review. *Protein Expr Purif 2011.*
45. Frantzi M, Bitsika V, Charonis A, Vlahou A. Proteomics approaches in the quest of kidney disease biomarkers. *Prilozi / Makedonska akademija na naukite i umetnostite, Oddelenie za biologski i medicinski nauki = Contributions / Macedonian Academy of Sciences and Arts, Section of Biological and Medical Sciences 2011;32:33-51.*
46. Chevallet M, Luche S, Rabilloud T. Silver staining of proteins in polyacrylamide gels. *Nature protocols 2006;1:1852-8.*
47. Domon B, Aebersold R. Mass spectrometry and protein analysis. *Science 2006;312:212-7.*
48. Marzo A, Bo LD. Tandem mass spectrometry (lc-ms-ms): A predominant role in bioassays for pharmacokinetic studies. *Arzneimittelforschung 2007;57:122-8.*
49. Shi T, Su D, Liu T, Tang K, Camp DG, 2nd, Qian WJ, Smith RD. Advancing the sensitivity of selected reaction monitoring-based targeted quantitative proteomics. *Proteomics 2012;12:1074-92.*
50. Ramos-Vara JA. Technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary pathology 2005;42:405-26.*
51. Ruifrok AC, Johnston DA. Quantification of histochemical staining by color deconvolution. *Anal Quant Cytol Histol 2001;23:291-9.*

52. Xiao A, Li H, Shechter D, Ahn SH, Fabrizio LA, Erdjument-Bromage H, et al. Wstf regulates the h2a.X DNA damage response via a novel tyrosine kinase activity. *Nature* 2009;457:57-62.
53. Ogiwara H, Ui A, Otsuka A, Satoh H, Yokomi I, Nakajima S, et al. Histone acetylation by cbp and p300 at double-strand break sites facilitates swi/snf chromatin remodeling and the recruitment of non-homologous end joining factors. *Oncogene* 2011;30:2135-46.
54. Holland DG, Burleigh A, Git A, Goldgraben MA, Perez-Mancera PA, Chin SF, et al. Znf703 is a common luminal b breast cancer oncogene that differentially regulates luminal and basal progenitors in human mammary epithelium. *EMBO Mol Med* 2011;3:167-80.
55. Kim TH, Chiera SL, Linder KE, Trempus CS, Smart RC, Horowitz JM. Overexpression of transcription factor sp2 inhibits epidermal differentiation and increases susceptibility to wound- and carcinogen-induced tumorigenesis. *Cancer Res* 2010;70:8507-16.
56. Segil N, Roberts SB, Heintz N. Mitotic phosphorylation of the oct-1 homeodomain and regulation of oct-1 DNA binding activity. *Science* 1991;254:1814-6.
57. Maddox J, Shakya A, South S, Shelton D, Andersen JN, Chidester S, et al. Transcription factor oct1 is a somatic and cancer stem cell determinant. *PLoS Genet* 2012;8:e1003048.
58. Yoshikawa M, Mukai Y, Okada Y, Tsumori Y, Tsunoda SI, Tsutsumi Y, et al. Robo4 is an effective tumor endothelial marker for antibody-drug conjugates based on the rapid isolation of the anti-robo4 cell-internalizing antibody. *Blood* 2013.
59. Chen WF, Gao WD, Li QL, Zhou PH, Xu MD, Yao LQ. Slit2 inhibits cell migration in colorectal cancer through the akt-gsk3beta signaling pathway. *Int J Colorectal Dis* 2013.
60. El Hour M, Moncada-Pazos A, Blacher S, Masset A, Cal S, Berndt S, et al. Higher sensitivity of adamts12-deficient mice to tumor growth and angiogenesis. *Oncogene* 2010;29:3025-32.
61. Minder P, Bayha E, Becker-Paully C, Sterchi EE. Meprinalpha transactivates the epidermal growth factor receptor (egfr) via ligand shedding, thereby enhancing colorectal cancer cell proliferation and migration. *J Biol Chem* 2012;287:35201-11.
62. Roos PH, Jakubowski N. Methods for the discovery of low-abundance biomarkers for urinary bladder cancer in biological fluids. *Bioanalysis* 2010;2:295-309.
63. Gonzalez-Ortega O, Porath J, Guzman R. Adsorption of peptides and small proteins with control access polymer permeation to affinity binding sites. Part ii: Polymer permeation-ion exchange separation adsorbents with polyethylene glycol and strong anion exchange groups. *J Chromatogr A* 2012;1227:126-37.
64. Ye J, Zhang X, Young C, Zhao X, Hao Q, Cheng L, Jensen ON. Optimized imac-imac protocol for phosphopeptide recovery from complex biological samples. *J Proteome Res* 2010;9:3561-73.
65. Feng S, Ye M, Zhou H, Jiang X, Zou H, Gong B. Immobilized zirconium ion affinity chromatography for specific enrichment of phosphopeptides in phosphoproteome analysis. *Mol Cell Proteomics* 2007;6:1656-65.

66. Jeong S, Park Y, Cho Y, Kim YR, Kim HS. Diagnostic values of urine cyfra21-1, nmp22, ubc, and fdp for the detection of bladder cancer. *Clin Chim Acta* 2012;414:93-100.
67. Chen YT, Chen CL, Chen HW, Chung T, Wu CC, Chen CD, et al. Discovery of novel bladder cancer biomarkers by comparative urine proteomics using itraq technology. *J Proteome Res* 2010;9:5803-15.
68. Memon AA, Chang JW, Oh BR, Yoo YJ. Identification of differentially expressed proteins during human urinary bladder cancer progression. *Cancer Detect Prev* 2005;29:249-55.
69. Richter P, Tost M, Franz M, Altendorf-Hofmann A, Junker K, Borsi L, et al. B and c domain containing tenascin-c: Urinary markers for invasiveness of urothelial carcinoma of the urinary bladder? *Journal of cancer research and clinical oncology* 2009;135:1351-8.
70. Chen YT, Chen HW, Domanski D, Smith DS, Liang KH, Wu CC, et al. Multiplexed quantification of 63 proteins in human urine by multiple reaction monitoring-based mass spectrometry for discovery of potential bladder cancer biomarkers. *J Proteomics* 2012;75:3529-45.
71. Eissa S, Zohny SF, Shehata HH, Hegazy MG, Salem AM, Esmat M. Urinary retinoic acid receptor-beta2 gene promoter methylation and hyaluronidase activity as noninvasive tests for diagnosis of bladder cancer. *Clin Biochem* 2012;45:402-7.
72. Eissa S, Salem AM, Zohny SF, Hegazy MG. The diagnostic efficacy of urinary tgf-beta1 and vegf in bladder cancer: Comparison with voided urine cytology. *Cancer Biomark* 2007;3:275-85.
73. Oguztuzun S, Sezgin Y, Yazici S, Firat P, Ozhavzali M, Ozen H. Expression of glutathione-s-transferases isoenzymes and p53 in exfoliated human bladder cancer cells. *Urol Oncol* 2011;29:538-44.
74. Kim WJ, Kim SK, Jeong P, Yun SJ, Cho IC, Kim IY, et al. A four-gene signature predicts disease progression in muscle invasive bladder cancer. *Mol Med* 2011;17:478-85.
75. Jo JO, Kang YJ, Ock MS, Kleinman HK, Chang HK, Cha HJ. Thymosin beta4 expression in human tissues and in tumors using tissue microarrays. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2011;19:160-7.
76. Tran MN, Choi W, Wszolek MF, Navai N, Lee IL, Nitti G, et al. The p63 protein isoform delta p63alpha inhibits epithelial-mesenchymal transition in human bladder cancer cells: Role of mir-205. *J Biol Chem* 2013;288:3275-88.
77. Shiota M, Yokomizo A, Itsumi M, Uchiumi T, Tada Y, Song Y, et al. Twist1 and y-box-binding protein-1 promote malignant potential in bladder cancer cells. *BJU Int* 2011;108:E142-9.
78. Thompson LL, Guppy BJ, Sawchuk L, Davie JR, McManus KJ. Regulation of chromatin structure via histone post-translational modification and the link to carcinogenesis. *Cancer metastasis reviews* 2013;32:363-76.
79. Passeron T, Valencia JC, Namiki T, Vieira WD, Passeron H, Miyamura Y, Hearing VJ. Upregulation of sox9 inhibits the growth of human and mouse melanomas and restores their sensitivity to retinoic acid. *J Clin Invest* 2009;119:954-63.
80. Vicent GP, Nacht AS, Font-Mateu J, Castellano G, Gaveglia L, Ballare C, Beato M. Four enzymes cooperate to displace histone h1 during the first minute of hormonal gene activation. *Genes Dev* 2011;25:845-62.

Εύρεση και αξιολόγηση νέων βιοδεικτών H2B και NIF-1 για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως με πρωτεωμικές μεθόδους

81. Frantzi M, Zoidakis J, Papadopoulos T, Zurbig P, Katafigiotis I, Stravodimos K, et al. Imac fractionation in combination with lc-ms reveals h2b and nif-1 peptides as potential bladder cancer biomarkers. *Journal of proteome research* 2013;12:3969-79.