



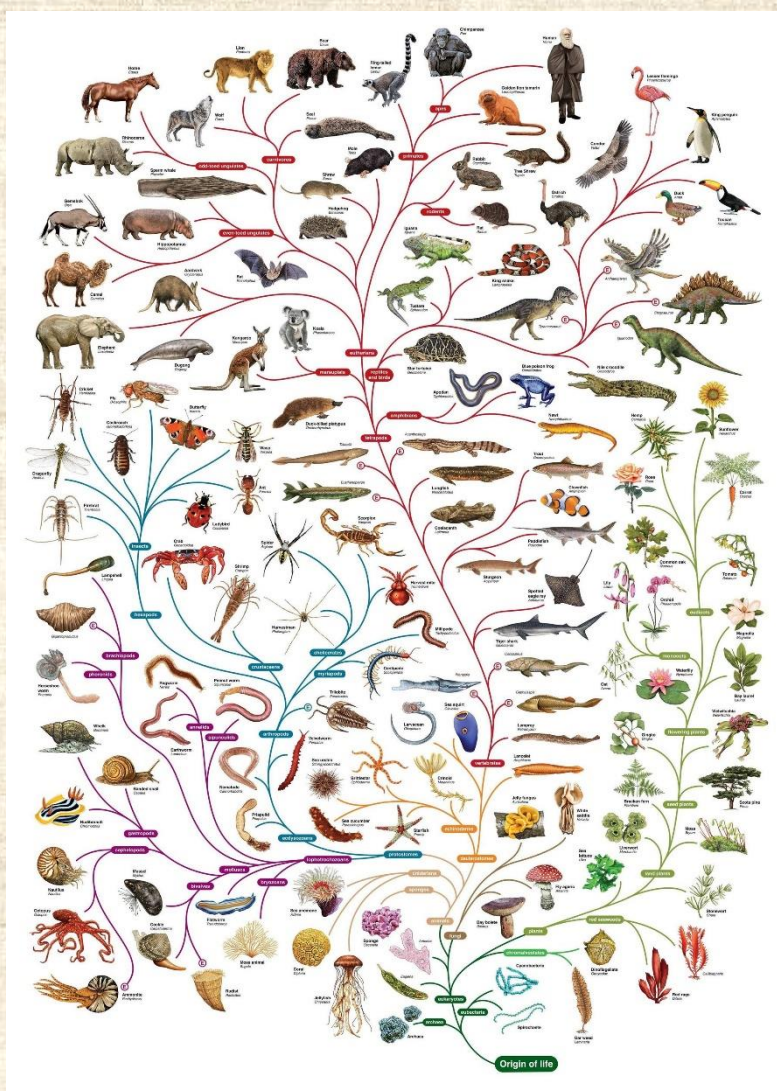
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ – ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ»

Δ Ι Π Λ Ω Μ Α Τ Ι Κ Η Ε Ρ Γ Α Σ Ι Α

Φυλογενετική ανάλυση αταβιστικών γονιδίων που
σχετίζονται με διάφορες μορφές καρκίνου.



ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΛΟΥΚΑ

ΑΘΗΝΑ 2020

Εκπόνηση

Αικατερίνη Λουκά

Πτυχιούχος Τμήματος Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Επίβλεψη

Αλέξανδρος Γεωργακίλας

Αναπληρωτής Καθηγητής

Σ.Ε.Μ.Φ.Ε., Εθνικό Μετσόβειο Πολυτεχνείο

Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Αλέξανδρος Γεωργακίλας

Αναπληρωτής Καθηγητής

Σ.Ε.Μ.Φ.Ε., Εθνικό Μετσόβειο Πολυτεχνείο

Παντελής Μπάγκος

Καθηγητής

Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ιωάννης Τρουγκάκος

Καθηγητής

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Nothing in Biology makes sense except in the light of evolution.

Theodosius Dobzhansky, 1972

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας συνέβαλαν με τον τρόπο τους πολλά άτομα τα οποία θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά. Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Αλέξανδρο Γεωργακίλα, τον επιβλέποντα καθηγητή και εμπνευστή του θέματος της παρούσας διπλωματικής για την καθοδήγησή του. Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω και στην κυρία Αθανασία Παυλοπούλου για όλα όσα με δίδαξε και για την πολύτιμη βοήθειά της την οποία προσέφερε ανιδιοτελώς. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τους κυρίους Παντελή Μπάγκο και Ιωάννη Τρουγκάκο που δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην τριμελή επιτροπή. Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές και φίλους μου για τη συντροφία και τη συμπαράστασή τους καθ' όλη τη διάρκεια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών καθώς και όλους τους καθηγητές και τα μέλη των εργαστηρίων για την καθοδήγησή τους.

Τέλος, ευχαριστώ μέσα από την καρδιά μου την οικογένεια μου και τους φίλους μου κυρίως για την ανοχή τους και την στήριξη που μου προσέφεραν σε κάθε μου βήμα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος και τα φαινόμενα που ομοιάζουν με καρκίνο έχουν παρατηρηθεί σχεδόν σε όλα τα είδη που χαρακτηρίζονται είτε από κλωνική είτε από συναθροιστική πολυκυτταρικότητα. Για την ακρίβεια, κάθε ένα από τα χαρακτηριστικά του καρκίνου αποτελεί παραβίαση των αρχών της συνεργασίας των κυττάρων σε πολυκυτταρικό επίπεδο. Ο καρκίνος αποτελεί μια αποδιοργάνωση των πολύπλοκων μοριακών και κυτταρικών μηχανισμών, που έχουν εξελιχθεί για να επιτευχθεί η συνεργασία των κυττάρων σε πολυκυτταρικό επίπεδο μέσω της επιβολής περιορισμών στην κυτταρική ανάπτυξη, με απώτερο αποτέλεσμα την εμφάνιση ενός πρωτόγονου κυτταρικού φαινοτύπου που μοιάζει με μονοκύτταρη μορφή ζωής. Κατά την καρκινογένεση, τα κύτταρα ακολουθούν μια πορεία αντίστροφης εξέλιξης διαταράσσοντας τον συντονισμό διεργασιών πολυκυτταρικής και μονοκυτταρικής προέλευσης και βασίζονται κυρίως στις δεύτερες. Αυτό επιτυγχάνεται διαταράσσοντας ορισμένα γονίδια που συνδέουν τα δύο υποδίκτυα που συγκροτούν το ανθρώπινο δίκτυο γονιδίων, το ένα μονοκυτταρικής και το άλλο πολυκυτταρικής προέλευσης, με το δεύτερο να έχει δομηθεί επί του πρώτου μετά από εκατομμύρια χρόνια εξέλιξης για να επιτευχθεί η συνεργασία των κυττάρων σε πολυκυτταρικό επίπεδο. Αυτό το φαινόμενο αμοιβαίου αποκλεισμού προκύπτει μέσω της διατάραξης ορισμένων γονιδίων που εμφανίζουν μεγάλο αριθμό αλληλεπιδράσεων και συνδέουν μεταξύ τους τα δύο υποδίκτυα. Συνεπώς, τα καρκινικά κύτταρα συμπεριφέρονται ως πρωτόγονοι μονοκύτταροι οργανισμοί των οποίων οι λειτουργίες και τα χαρακτηριστικά βρίσκονται κωδικοποιημένα εντός των γονιδίων ενός υγιούς κυττάρου και λίγες μόνο αλλαγές είναι αρκετές για να φέρουν στην επιφάνεια αυτό το ζωντανό απολίθωμα, που βρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση μέσα σε κάθε κύτταρο. Ουσιαστικά, ο καρκίνος αποτελεί μια αταβιστική κατάσταση σε κυτταρικό επίπεδο παρά σε επίπεδο οργανισμού.

Στην παρούσα μελέτη, εξερευνήσαμε ορισμένα γονίδια που έχουν ήδη αποδειχθεί ότι εμφανίζουν μεγάλης έκτασης διάσπαση των αλληλεπιδράσεών τους σε πολλές μορφές καρκίνου και συνεισφέρουν στο φαινόμενο του αμοιβαίου αποκλεισμού. Κάθε γονίδιο έχει συσχετιστεί με πολλές μορφές καρκίνου σε διαφορετικούς ιστούς και θεωρούνται δείκτες ή στόχοι φαρμάκων για αυτές τις μορφές καρκίνου. Πιο συγκεκριμένα, όλα αυτά τα γονίδια έχουν συσχετιστεί με το πιο επικίνδυνο χαρακτηριστικό του καρκίνου, τη δημιουργία μεταστάσεων. Επίσης, κάθε γονίδιο συμμετέχει σε τουλάχιστον ένα μονοπάτι ή κυτταρική διεργασία που έχει συσχετιστεί με τον καρκίνο. Κατά συνέπεια, εφόσον οι απαρχές του καρκίνου θεωρείται ότι βρίσκονται στην αρχική μεταβατική φάση από την μονοκυτταρική στην πολυκυτταρική μορφή ζωής, πολύ πριν την εμφάνιση των πολύπλοκων Μεταζώων, διεξήγαμε φυλογενετική ανάλυση των προαναφερθέντων γονιδίων ακολουθώντας την εξελικτική γραμμή του ανθρώπου. Ορισμένα από αυτά τα γονίδια είναι παρόντα αποκλειστικά στα Μετάζωα, ενώ άλλα εμφανίζονται μόνο στους Ευκαρυώτες και κάποια άλλα πρωτοεμφανίστηκαν στον καθολικό κοινό πρόγονο των Ευκαρυωτών, των Προκαρυωτών και των Αρχαίων. Επομένως, τα γονίδια που παίζουν καίριο ρόλο στην καρκινογένεση και στη μετάσταση έχουν βαθιές εξελικτικές ρίζες αφού εμφανίστηκαν πολύ πριν την εμφάνιση των ανθρώπων, ενώ κάποια από αυτά μπορούν να εντοπιστούν πίσω στην εμφάνιση της ζωής αυτής καθαυτής δισεκατομμύρια χρόνια πριν.

Αυτά τα ευρήματα έχουν σημαντικές επιπτώσεις στις θεραπευτικές στρατηγικές, καθώς ορισμένα γονίδια και τα προϊόντα τους όπως και οι διεργασίες και τα μονοπάτια στα οποία συμμετέχουν, μπορούν να θεωρηθούν πανκαρκινικοί δείκτες και στόχοι φαρμάκων για μια μεγάλη ποικιλία μορφών καρκίνου. Γενικά, η εφαρμογή εξελικτικών αρχών και αναλύσεων στον τομέα της συγκριτικής ογκολογίας μπορεί να οδηγήσει στη βαθύτερη κατανόηση του καρκίνου ως ένα φαινόμενο άρρηκτα συνδεδεμένο με την πολυκυτταρικότητα και στην ανακάλυψη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για την εξάλειψη μιας αρχαιότατης ασθένειας.

ABSTRACT

Cancer and cancer-like phenomena have been observed in almost all species that exhibit either clonal or aggregative multicellularity. In fact, each one of the hallmarks of cancer is a direct violation of the principles of multicellular cooperation. Cancer represents a disruption of the complex molecular and cellular mechanisms, which enable multicellular cooperation by imposing constraints on cell growth and the result is a more primitive cellular phenotype resembling a unicellular life form. During carcinogenesis, cells follow a path of reverse evolution by disrupting the coordination of multicellular and unicellular processes and depending heavily on the latter. This is achieved by disrupting certain genes that connect the two subnetworks of the human genes network, one of unicellular origin and the other of multicellular origin with the latter having been built upon the first one through years of evolution to enable multicellular cooperation. This phenomenon of mutual exclusivity occurs through the disruption of certain hub genes which connect the two subnetworks. Thus, cancer cells behave as primitive unicellular organisms whose functions and characteristics are encoded within the genes of the healthy cell and just a few changes are enough to bring this living fossil that lies dormant within every cell to the surface. According to the atavistic model of cancer, cancer cells display some unicellular behavior.

In the present study, we investigated certain genes which have previously been proven to exhibit highly disrupted interactions in many types of cancer and contribute to the phenomenon of mutual exclusivity. Each gene has been associated with multiple types of cancer in different tissues and are considered as biomarkers or drug targets for these types of cancer. More precisely, all those genes are associated with cancer's most dangerous characteristic, the formation of metastasis. Furthermore, each gene participates in at least one of the paths and cellular processes which are associated with cancer. Consequentially, since the

origin of cancer is believed to be found in the early transitional phase from unicellular to early multicellular life forms, long before the emergence of complex Metazoans, we conducted phylogenetic analysis of the aforementioned genes by following the lineage of humans. Certain of those genes were present solely in Metazoans while others were present solely on Eukaryotes and some have occurred in a catholic common ancestor of Eukaryotes, Prokaryotes and Archaea. Therefore, the genes that play a crucial role in carcinogenesis and metastasis have deep evolutionary roots, since they appeared long before the emergence of Metazoa and some of them can be traced back to the emergence of life itself billions of years ago.

Those findings have important implications on therapeutic strategies, since certain genes and their products as well as the functions and paths in which they participate, can be considered as pancancer biomarkers and drug targets for a wide variety of cancer types. In general, the application of evolutionary principles and analysis in the field of comparative oncology can lead to a deeper understanding of cancer as a phenomenon that is inextricably linked with multicellularity and provide novel therapeutic approaches for the cure of an ancient disease.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ABSTRACT.....	8
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	10
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
Πολυκυτταρικότητα.....	12
Βασικές Αρχές της Πολυκυτταρικότητας	12
Εξέλιξη της Πολυκυτταρικότητας.....	19
Καρκίνος	21
Βασικά Χαρακτηριστικά του Καρκίνου.....	21
Καρκίνος και Πολυκυτταρικότητα.....	26
Ο Καρκίνος στο Δέντρο της Ζωής	33
Γενετική Βάση του Καρκίνου.....	40
Μοντέλα Καρκίνου.....	52
Υπόθεση του Εγωιστικού Κυττάρου και Υπόθεση Εσωτερικού Δαρβινισμού.....	52
Αταβιστικό Μοντέλο του Καρκίνου.....	55
Γνωστά Αταβιστικά Γονίδια που Σχετίζονται με Διάφορες Μορφές Καρκίνου ...	62
<i>RCC2 (Regulator of Chromosome Condensation 2)</i>	65
<i>TLN1 (Talin 1)</i>	67
<i>VASP (Vasodilator Stimulated Phosphoprotein)</i>	70
<i>ACTG1 (Actin Gamma 1)</i>	72
<i>PLEC (Plectin 1)</i>	75
<i>CTTN (Cortactin)</i>	77
<i>DSP (Desmoplakin)</i>	81
<i>ILK (Integrin Linked Kinase)</i>	84
<i>PKN2 (Protein Kinase N2)</i>	88
<i>CTNNA1 (Catenin Alpha 1)</i>	90
<i>CTNND1 (Catenin Delta 1)</i>	95
<i>PKP3 (Plakophilin 3)</i>	100
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	104
Αποκομιδή Αλληλουχιών.....	105
Επιλογή Είδους Αλληλουχιών	105
Συλλογή Αλληλουχιών.....	109

Στοιχισή Αλληλουχιών.....	115
Καθορισμός Μοντέλου Αντικατάστασης.....	117
Κατασκευή Φυλογενετικών Δέντρων.....	122
Φυλογενετικά Δέντρα.....	122
Μέθοδοι Κατασκευής Φυλογενετικών Δέντρων.....	124
Μέθοδοι Γενετικών Αποστάσεων.....	124
Μέθοδοι Διακριτών Χαρακτηριστικών.....	125
Επιλογή Μεθόδων Κατασκευής Φυλογενετικών Δέντρων.....	125
Αξιολόγηση Φυλογενετικών Δέντρων.....	129
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	131
<i>RCC2</i>	131
<i>TLN1</i>	134
<i>VASP</i>	137
<i>ACTG1</i>	140
<i>PLEC</i>	144
<i>CTTN</i>	146
<i>DSP</i>	148
<i>ILK</i>	150
<i>PKN2</i>	153
<i>CTNNA1 & CTNND1</i>	157
<i>PKP3</i>	161
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	164
Συμπεράσματα.....	164
Εξελικτικές Προσεγγίσεις για τη Θεραπεία του Καρκίνου.....	169
Μελλοντικές Μελέτες.....	173
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	175
ΣΥΝΟΛΟ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	213

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πολυκυτταρικότητα

Βασικές Αρχές της Πολυκυτταρικότητας

Ο Knoll ορίζει ότι η σύνθετη πολυκυτταρικότητα περιλαμβάνει τη διαφοροποίηση και τη δημιουργία περισσότερων των δύο τύπων κυττάρων (σωματικά και αναπαραγωγικά), τη διακυτταρική επικοινωνία, τον συχνό και προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, την τρισδιάστατη οργάνωση δομών, με κάποια κύτταρα να μην έρχονται σε επαφή με το εξωκυττάριο περιβάλλον και συστήματα μεταφοράς ουσιών για τη διανομή θρεπτικών συστατικών και την απομάκρυνση αποβλήτων όταν η διάχυση αυτών δεν είναι πλέον αρκετή για να εξυπηρετήσει όλα τα κύτταρα του οργανισμού (Knoll, 2011).

Υπάρχουν μονοκύτταροι οργανισμοί που επιδεικνύουν αξιοσημείωτα επίπεδα μορφολογικής πολυπλοκότητας. Η εμφάνιση των πολυκύτταρων οργανισμών όμως, οδήγησε στην εμφάνιση ενός νέου, ανώτερου επιπέδου οργάνωσης καθώς αποτελεί έναν ιδιαίτερα πολύπλοκο φαινότυπο. Η πολύπλοκη πολυκυτταρικότητα έχει εξελιχθεί ανεξάρτητα τουλάχιστον επτά φορές και πιο συγκεκριμένα στις γενεαλογίες των Μεταζώων, των Ασκομυκήτων, των Βασιδιομυκήτων, των Εμβρυόφυτων, των Χλωροφυκών, των Ροδοφυκών και των Ετερόκοντων (Knoll, 2011; Niklas and Newman, 2013).

Στην πραγματικότητα, υπάρχει όχι απλά μια σύνδεση αλλά μια συνέχεια από τη μονοκύτταρη στην πολυκύτταρη ανάπτυξη. Πολλοί μονοκύτταροι οργανισμοί μπορούν να σχηματίσουν αποικίες στις οποίες τα κύτταρα εκτίθενται σε διαφορετικά μικροπεριβάλλοντα και αποκρίνονται καταλλήλως. Για παράδειγμα, σε μια αποικία βακτηρίων που καλλιεργείται σε ένα τρυβλίο, τα κύτταρα που βρίσκονται στο κέντρο της αποικίας εκτίθενται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις θρεπτικών και αποβλήτων σε σχέση με τα κύτταρα που βρίσκονται στην περιφέρεια της αποικίας (Barton, 2013). Για να εξασφαλιστεί η επιβίωση των

κυττάρων και κατ' επέκταση της αποικίας, στα διαφορετικά κύτταρα μεταγράφονται διαφορετικά γονίδια και ενεργοποιούνται διαφορετικά μεταβολικά μονοπάτια (Barton, 2013). Άλλοι μονοκύτταροι οργανισμοί μπορούν να θεωρηθούν αποικιακοί διότι πάντα εντοπίζονται σε οργανωμένες κοινωνίες φαινομενικά μεμονωμένων ατόμων, τα οποία όμως, υπό την επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων, μπορούν να εμφανίσουν διαφοροποιήσεις με αποτέλεσμα να μην υπάρχει απόλυτη ομοιογένεια μεταξύ των ατόμων του "αποικιακού οργανισμού" (Barton, 2013). Στους πραγματικά πολυκύτταρους οργανισμούς όμως, η διαφοροποίηση των κυττάρων ελέγχεται με προβλέψιμο και ακριβή τρόπο, ώστε να υπάρχει μια αναπαραγωγίμη παραγωγή των διαφορετικών κυτταρικών τύπων που απαρτίζουν τον οργανισμό. Τελικά, η επιβίωση ολόκληρου του οργανισμού εξαρτάται από την ύπαρξη πολλών διακριτά διαφορετικών κυτταρικών τύπων (Barton, 2013).

Η πολυκυτταρικότητα, στην απλούστερη αποικιακή της μορφή, επιτυγχάνεται μέσω δύο βασικών μηχανισμών. Ο πρώτος μηχανισμός αφορά την κυτταρική διαίρεση, μετά την ολοκλήρωση της οποίας τα κύτταρα αντί να διαχωριστούν, παραμένουν προσκολλημένα (Barton, 2013). Ανάλογα με την κανονικότητα και τον προσανατολισμό της κυτταρικής διαίρεσης, αυτό το πρότυπο δημιουργίας πολυκυτταρικότητας μπορεί εύκολα να οδηγήσει στην ανάπτυξη κάποιου μακροσκοπικού οργανισμού με πολλές πιθανές μορφές όπως μακρά νημάτια, επίπεδες πλάκες και τέλειες σφαίρες (Barton, 2013). Ο δεύτερος μηχανισμός αφορά την επίτευξη της πολυκυτταρικότητας μέσω της διευθέτησης μονοκύτταρων ατόμων που πολλές φορές μπορεί να προκληθεί από την επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων. Οι διευθετήσεις αυτές μπορούν να χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένα σχήματα και συμπεριφορές, ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες που οδήγησαν στο σχηματισμό τους (Barton, 2013).

Η ικανότητα των κυττάρων να αντιδρούν σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα αποτελεί μια θεμελιώδη ιδιότητα των έμβιων οργανισμών και αποτελεί προϋπόθεση για την επίτευξη

πολλαπλών, διαφοροποιημένων κυτταρικών ατραπών εντός του οργανισμού. Ουσιαστικά, η πολυκυτταρικότητα προέκυψε ως απόκριση στις περιβαλλοντικές πιέσεις και κυρίως λόγω του γεγονότος ότι οι εξωτερικές αυτές πιέσεις δρούσαν διαφορετικά σε ομοιογενή συσσωματώματα κυττάρων. Ακόμα και στη απλούστερη μορφή της, στην οποία τα επιμέρους κύτταρα δεν διαφέρουν μεταξύ τους, η πολυκυτταρικότητα έχει πολλαπλά οφέλη όπως η προστασία εναντίον των θηρευτών, η βελτιωμένη προσκόλληση σε υποστρώματα και η μεγαλύτερη ικανότητα απόκρισης σε κυμαινόμενα περιβάλλοντα (Barton, 2013). Από τη στιγμή που θα επιτευχθεί η συσσωμάτωση, η διαδικασία μπορεί να προχωρήσει στο επόμενο βήμα το οποίο αφορά τη διαφοροποίηση και εξειδίκευση των κυττάρων του συσσωματώματος (Barton, 2013).

Με την πολυκυτταρικότητα εμφανίστηκαν πρόοδοι στην εξέλιξη της πολυπλοκότητας και της έκτασης της διαφοροποίησης και πιο συγκεκριμένα εξασφαλίστηκε η αναπαραγωγίμη διευθέτηση των κυττάρων με διαφορετικές λειτουργίες εντός ενός οργανισμού κατά την ανάπτυξη από έμβρυο σε ώριμο άτομο. Πιο συγκεκριμένα, τα έμβρυα Φυτών και Μεταζώων έχουν αποκτήσει έλεγχο επί του μικροπεριβάλλοντος, που περιβάλλει τα κύτταρά τους, κατά την ανάπτυξη (Barton, 2013). Η ίδια διεργασία που παλαιότερα οδηγούσε στην δημιουργία ελαφρά διαφοροποιημένων μεταξύ τους αποικιακών κυττάρων, εξελίχθηκε σε ένα σύστημα δημιουργίας ενός ελεγχόμενου περιβάλλοντος που επιτυγχάνει αναπαραγωγίμα πρότυπα κυτταρικής διαφοροποίησης. Μετάζωα και Φυτά εξασφαλίζουν ότι τα κατάλληλα ερεθίσματα λαμβάνονται στους κατάλληλους χρόνους και θέσεις από τα εμβρυϊκά κύτταρα, έχοντας ως τελικό αποτέλεσμα αξιοθαύμαστα επίπεδα διαφοροποίησης κυτταρικών τύπων και δομική πολυπλοκότητα σε μεγάλη κλίμακα (Barton, 2013). Αυτή η διεργασία της διαφοροποίησης, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, φτάνει σε όλο και υψηλότερα επίπεδα λεπτομερούς και περίτεχνου σχεδιασμού, δημιουργώντας οργανισμούς όπως ο άνθρωπος που απαρτίζονται από

αρκετές χιλιάδες διαφοροποιημένων κυτταρικών τύπων, καθένας με το δικό του σύνολο λειτουργιών που συνεισφέρουν στην επιτυχία του οργανισμού ως σύνολο (Barton, 2013).

Αν και όλα τα διαφοροποιημένα κύτταρα ενός οργανισμού περιέχουν την ίδια γενετική πληροφορία (εξαιρέση αποτελούν τα αναπαραγωγικά κύτταρα), κάθε διαφοροποιημένος κυτταρικός τύπος εμφανίζει μια χαρακτηριστική μορφολογία και διεξάγει ένα συγκεκριμένο σύνολο βιοχημικών διεργασιών που απαιτεί έναν ειδικευμένο συνδυασμό λειτουργικών πρωτεϊνών (Barton, 2013). Οι περισσότερες αποφάσεις για το ποιες πρωτεΐνες θα παραχθούν σε ένα συγκεκριμένο κύτταρο λαμβάνονται στο επίπεδο της γονιδιακής ρύθμισης μέσω του ελέγχου της μεταγραφής και εμπλέκουν τη δράση μεταγραφικών παραγόντων σε ρυθμιστικές περιοχές γονιδίων, τη σίγαση γονιδίων και άλλους μοριακούς μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί της διαφοροποίησης συχνά αλληλοσχετίζονται και ανατροφοδοτούν ο ένας τον άλλο και τελικά η διαδικασία της κυτταρικής εξειδίκευσης είναι συχνά προοδευτική (Barton, 2013).

Δεν αρκεί όμως η εξειδίκευση των κυττάρων διότι για να εξασφαλιστεί η επιβίωση και η εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού, απαιτείται και η διατήρηση αυτής της διαφοροποίησης (Barton, 2013). Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, τα κύτταρα διανύουν την αναπτυξιακή τους πορεία σχετικά γρήγορα και σε κάποιο σημείο η φυσιογνωμία της κυτταρικής εξειδίκευσης καθίσταται σταθερή. Διάφοροι βιοχημικοί κύκλοι συνεισφέρουν στην εγκαθίδρυση της σταθερότητας. Για παράδειγμα, οι μεταγραφικοί παράγοντες συχνά αυτορρυθμίζουν τη δική τους μεταγραφή και σηματοδοτικά μονοπάτια συχνά διασυνδέουν σταθερά μικρές ομάδες γειτονικών κυττάρων. Επιπλέον, κάποιος έλεγχος της μεταγραφής επιτυγχάνεται με την υψηλότερης τάξης δόμηση συγκεκριμένων περιοχών των χρωμοσωμάτων, χαρακτηριστικό που φαίνεται να μεταβιβάζεται στα θυγατρικά κύτταρα που προκύπτουν μέσω κυτταρικής διαίρεσης. Τελικά, υψηλά εξειδικευμένα κύτταρα παύουν να διαιρούνται. Αυτή η κατάσταση σταθερής διαφοροποίησης είναι στην ουσία ένα νέο είδος κληρονομικότητας που βασίζεται πρωτίστως στην γονιδιακή έκφραση παρά στις αλληλουχίες του DNA (Barton, 2013).

Τελικά, κανένα από αυτά τα εξειδικευμένα κύτταρα δεν θα επιβίωνε από μόνο του, αλλά ως μέρος ενός ολοκληρωμένου οργανισμού επιτυγχάνουν από κοινού σε βαθμό που κανένα συσσωμάτωμα ομοιογενών κυττάρων δεν θα μπορούσε ποτέ. Αυτή η εξειδίκευση των κυττάρων και ο επακόλουθος καταμερισμός εργασίας, αποτελεί το κλειδί για την επιτυχία των πολυκύτταρων οργανισμών.

Η πολυκυτταρικότητα λοιπόν, χαρακτηρίζεται από συνεργασία μεταξύ κυττάρων, ιστών και συστημάτων οργάνων για την ανάπτυξη, τη συντήρηση και την αναπαραγωγή των πολυκύτταρων οργανισμών. Οι διεργασίες πάνω στις οποίες βασίστηκε η μετάβαση από τους μονοκύτταρους στους πολυκύτταρους οργανισμούς (Michod, 2007) προέκυψαν από κάποιες βασικές αρχές της θεωρίας της συνεργασίας (Nowak, 2006; Frank, 1998).

Οι πέντε σημαντικότερες καινοτομίες, οι οποίες είναι και οι βασικές αρχές της πολυκυτταρικότητας, αφορούν τη διακυτταρική συνεργασία και είναι:

1. Η αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (proliferation inhibition) (Maynard Smith and Szathmary, 2010)
2. Η ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου (controlled cell death) (Alberts et al., 2002; Hotchkiss et al., 2009)
3. Ο καταμερισμός εργασίας (division of labor) (Maynard Smith and Szathmary, 1995; Michod and Roze, 2001)
4. Η μεταφορά πόρων (resource transport and allocation) (Knoll, 2011; Pfeiffer and Bonhoeffer, 2003)
5. Η διαμόρφωση και διατήρηση του εξωκυτταρίου περιβάλλοντος (extracellular environment maintenance) (Hynes, 2012; Adams, 2013)

Αναλυτικά, οι βασικές αρχές της πολυκυτταρικότητας όπως διατυπώθηκαν από την Athina Aktipis και τους συνεργάτες της στη δημοσίευση της το 2015 (Aktipis et al., 2015) είναι οι εξής:

1. Ο έλεγχος επί του πολλαπλασιασμού των κυττάρων είναι προαπαιτούμενο για την ανάπτυξη και την εύρυθμη λειτουργία ενός πολυκύτταρου οργανισμού. Με εξαίρεση τα εξειδικευμένα βλαστικά κύτταρα και τους άμεσους απογόνους τους, τα κύτταρα των ιστών που λόγω της λειτουργίας τους χαρακτηρίζονται από αυξημένους ρυθμούς αντικατάστασης των κυττάρων τους καθώς και τα κύτταρα κάποιων έντονα αναγεννώμενων ιστών, όπως το ήπαρ, η δυνατότητα των κυττάρων να πολλαπλασιάζονται περιορίζεται σημαντικά και με αυστηρά κριτήρια. Για να ελέγξουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, οι πολυκύτταροι οργανισμοί έχουν εξελίξει μεγάλο αριθμό μηχανισμών ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και μηχανισμούς που πυροδοτούν την απόπτωση ή την γήρανση των κυττάρων όταν αυτά αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται εκτός προγράμματος (Evan and Vousden, 2001). Χωρίς αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, δεν μπορεί να υπάρξει πολυκυτταρικότητα.

2. Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος αποτελεί έναν μηχανισμό που παίζει κεντρικό ρόλο κατά την ανάπτυξη, την οργάνωση και τη συντήρηση του σώματος (Alberts et al., 2002), διότι απουσία του θα ήταν αδύνατη η ανάπτυξη του εμβρύου και η συντήρηση των ιστών (Hotchkiss et al., 2009; Strasser et al., 2000). Η εξελικτική προέλευση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου στους πολυκύτταρους οργανισμούς, μπορεί να εντοπιστεί εξετάζοντας παρόμοιους αντίστοιχους μηχανισμούς μονοκύτταρων οργανισμών (Durand et al., 2011; Nedelcu et al., 2011; Twomey and McCarthy, 2005) που εμπλέκονται κυρίως στην άμυνα του οργανισμού ενάντια στις μολύνσεις. Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος εξασφαλίζει την εξάλειψη κυττάρων με μειωμένης λειτουργικότητας φαινοτύπους (Johnston, 2009), τη δημιουργία δομών (Glucksmann, 1951), τον ακριβή συντονισμό και τη συνεργασία μεγάλου αριθμού κυττάρων που ανήκουν σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους (Raff, 1992) καθώς και την εξάλειψη ιστών σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια (Jacobson et al., 1997). Σε έναν ενήλικο

πολυκύτταρο οργανισμό, ο ευαίσθητος αυτός μηχανισμός παρέχει προστασία από μολύνσεις, δυσμορφίες ή ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των κυττάρων (Fuchs and Steller, 2011) και κυρίως από τον καρκίνο καθώς είναι ένας από τους βασικούς ογκοκατασταλτικούς μηχανισμούς (Delbridge et al., 2012; Evan and Vousden, 2001).

3. Η κατανομή εργασίας αφορά τη διαφοροποίηση ιστών και κυττάρων (Delbridge et al., 2012) χάρη στην οποία μπορούν να επιτελούνται πολλές διαφορετικές διεργασίες σε ένα μόνο σώμα και είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη πολύπλοκων πολυκύτταρων οργανισμών. Ακόμα και ένας ιστός, που αποτελείται από πολλά κύτταρα, για να είναι λειτουργικός, πρέπει συγκεκριμένα κύτταρα του ιστού να επιτελέσουν συγκεκριμένες λειτουργίες (Maynard Smith and Szathmary, 1995; Maynard Smith and Szathmary, 1995). Η κατανομή εργασίας φαίνεται να προκύπτει αυθόρμητα σε διάφορα εξελικτικά μοντέλα που μελετούν την εμφάνιση της πολυκυτταρικότητας (Isolatov et al., 2012). Η διαδικασία της διαφοροποίησης που οδηγεί στη δημιουργία όλων αυτών των κυτταρικών τύπων πρέπει να ελέγχεται αυστηρά κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης αλλά και για τη συντήρηση των ιστών μετέπειτα.

4. Η μεταφορά και κατανομή πόρων είναι απαραίτητη για την επιβίωση των κυττάρων και την εξασφάλιση της λειτουργικότητάς τους. Μεγάλου μεγέθους πολυκυτταρικές δομές απαιτούν την ύπαρξη συστημάτων μεταφοράς πόρων διότι κύτταρα που εντοπίζονται στο εσωτερικό των δομών δεν μπορούν να καλύψουν τις ανάγκες τους για οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά αποκλειστικά μέσω διάχυσης (Knoll, 2011; Knoll and Hewitt, 2011). Η μεταφορά πόρων από ιστούς στους οποίους έχουν μεγάλη συγκέντρωση, προς πιο φτωχούς ιστούς φαίνεται να ευνοεί τη συνάθροιση κυττάρων, σε μοντέλα που μελετούν την εξέλιξη της πολυκυτταρικότητας (Pfeiffer and Bonhoeffer, 2003). Κατά συνέπεια, συστήματα μεταφοράς πόρων είναι απαραίτητα για την συνεργασία των κυττάρων στους πολυκύτταρους οργανισμούς (Beaumont, 2009; Knoll, 2011). Το πιο απλό σύστημα

επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων είναι οι χασμοσύνδεσμοι (gap junctions). Επιπροσθέτως, τα κύτταρα πολυκύτταρων οργανισμών εμφανίζουν πιο αποδοτικό και λιγότερο δαπανηρό μεταβολισμό σε σχέση με τους μονοκύτταρους οργανισμούς (Pfeiffer, 2001).

5. Η διαμόρφωση και διατήρηση του εξωκυττάρου περιβάλλοντος είναι απαραίτητη για την επιβίωση, πόσο μάλλον την εύρυθμη λειτουργία των κυττάρων. Για παράδειγμα, τα "απόβλητα" του μεταβολισμού των κυττάρων, αποβάλλονται από αυτά και πρέπει να απομακρυνθούν από το εξωκυττάριο περιβάλλον τους πριν συσσωρευτούν και αρχίσουν να βλάπτουν τα κύτταρα. Επίσης, απαραίτητος είναι ο εντοπισμός και η απομάκρυνση νεκρών κυττάρων. Τα κύτταρα πρέπει λοιπόν να διατηρούν σταθερές τις συνθήκες του εξωκυττάρου περιβάλλοντός τους (Adams, 2013) το οποίο αποτελείται από ολόκληρα δίκτυα πρωτεϊνών που συγκροτούν υποστηρικτικές δομές, όπως είναι οι βασικές μεμβράνες (Hynes, 2012).

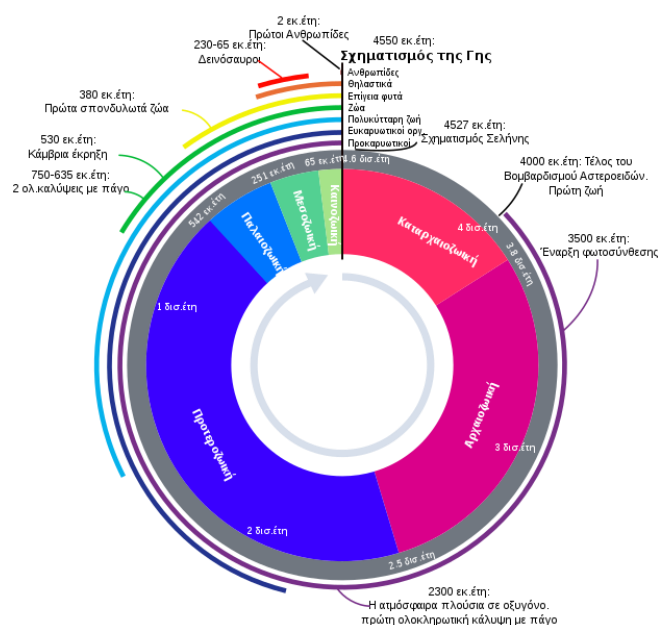
Εξέλιξη της Πολυκυτταρικότητας

Η μετάβαση από την μονοκυτταρικότητα στην πολυκυτταρικότητα είναι ένα από τα μεγαλύτερα εξελικτικά άλματα που συντελέστηκαν (Grosberg and Strathmann, 2007) εφάμιλλο μόνο της εμφάνισης της ίδιας της ζωής. Η πολυκυτταρικότητα έχει εξελιχθεί ανεξάρτητα τουλάχιστον 25 φορές στους ευκαρυώτες (Grosberg and Strathmann, 2007; Parfrey and Lahr, 2013), αλλά και σε προκαρυώτες όπως οι οργανισμοί Actinobacteria, Myxobacteria, Actinomycetes, *Magnetoglobus multicellularis* και Methanosarcina (Lyons and Kolter, 2015). Η πολύπλοκη πολυκυτταρικότητα έχει εξελιχθεί ανεξάρτητα τουλάχιστον επτά φορές και πιο συγκεκριμένα στις γενεαλογίες των Μεταζώων, των Ασκομυκήτων, των Βασιδιομυκήτων, των Εμβρυόφυτων, των Χλωροφυκών, των Ροδοφυκών και των Ετερόκοντων (Knoll, 2011; Niklas and Newman, 2013).

Οι πρώτες ενδείξεις πολυκυτταρικότητας εντοπίζονται πριν 3 δισεκατομμύρια χρόνια, ηλικία την οποία φαίνονται να έχουν απολιθωμένα αποτυπώματα συναθροίσεων μικροβίων που μοιάζουν με Κυανοβακτήρια (Grosberg and Strathmann, 2007). Άλλοι τοποθετούν την απαρχή της πολυκυτταρικότητας πριν από 2 δισεκατομμύρια χρόνια, εποχή στην οποία ανήκουν απολιθώματα σπειροειδών δομών που απαρτίζονται από πράσινα φύκη, ενώ άλλοι θεωρούν ότι η πρώτη ένδειξη πολυκυτταρικότητας είναι μικροσκοπικά νημάτια σχηματιζόμενα από το είδος *Grypania spiralis* και έχουν ηλικία 2,5 δισεκατομμυρίων ετών (Pennisi, 2018).

Πολύπλοκοι πολυκύτταροι οργανισμοί όμως εμφανίζονται πολύ αργότερα. Τα Μετάζωα, με την πολύπλοκη μορφή που έχουν σήμερα, δηλαδή οργανισμοί που χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη διαφοροποιημένων, εξειδικευμένων κυττάρων και διακριτών οργάνων, προήλθαν από αποικίες ευκαρυωτικών κυττάρων στις οποίες η συνεργασία μεταξύ των προσκολλημένων κυττάρων ήταν υποτυπώδης. Αυτά τα πρώτα υποτυπώδη Μετάζωα ήταν ουσιαστικά δίκτυα προσκολλημένων κυττάρων που αντάλλασσαν πληροφορία μέσω χημικών σημάτων και δημιουργούσαν αυτό-οργανωμένες συναθροίσεις με περιορισμένο καταμερισμό εργασίας. Ήταν μικρά, χαλαρά συνδεδεμένα οικοσυστήματα και ωχριούσαν μπροστά στην πολύπλοκη οργάνωση και ρύθμιση που εντοπίζονται στα σύγχρονα Μετάζωα (Davies and Lineweaver, 2011).

Τα πρώτα απολιθώματα που αντιπροσωπεύουν τα σύγχρονα Μετάζωα ανήκουν σε προγόνους των σημερινών Σπόγγων που έζησαν πριν από 665



Εικόνα 1. Γεωλογικό ρολόι περιόδων και γεγονότων

εκατομμύρια χρόνια (Mallof et al., 2010). Οι πρώτοι πολυκύτταροι οργανισμοί που βρίσκονται σε αφθονία στο αρχείο των απολιθωμάτων ονομάζονται συνολικά Εδιάκαρα τα οποία αν και δεν μοιάζουν πολύ μορφολογικά στα σύγχρονα Μετάζωα, έχει αποδειχθεί ότι ανήκουν σε αυτά (Bobrovskiy et al., 2018). Αυτή η ομάδα οργανισμών, που περιλαμβάνει περίπου 100 είδη οργανισμών, έζησε κατά την Ενδιακαρτανική Εποχή δηλαδή μεταξύ 635 και 542 εκατομμυρίων ετών πριν. Τα περισσότερα Φύλα Μεταζώων εμφανίστηκαν κατά την έκρηξη της Κάμβριας περιόδου που ξεκινά πριν από 542 εκατομμύρια χρόνια. Οι πλέον σύγχρονες μορφές Μεταζώων, τα Αμφίπλευρα, που διαχωρίζονται σε δύο κύριους κλάδους, τα Πρωτοστόμια και τα Δευτεροστόμια, ποικιλοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της περιόδου αυτής.

Τελικά, χρειάστηκαν περίπου 3 δισεκατομμύρια χρόνια από την εμφάνιση της πολυκυτταρικότητας, που μέσω εξελικτικών αλλαγών στις διεργασίες, στους μηχανισμούς και στα πρότυπα διαφοροποίησης, οδηγήθηκε στην αξιοθαύμαστη ποικιλότητα πολυκύτταρων οργανισμών που παρατηρούμε σήμερα στη Γη.

Καρκίνος

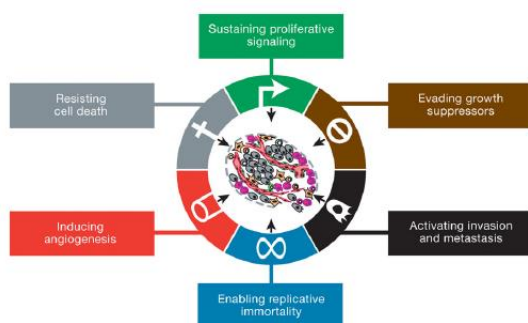
Βασικά Χαρακτηριστικά του Καρκίνου

Με το όρο "καρκίνος" περιγράφεται μια ομάδα ασθενειών που χαρακτηρίζονται από τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Σε αντίθεση με τα φυσιολογικά κύτταρα που αναπτύσσονται, διαιρούνται και πεθαίνουν με αυστηρά καθορισμένο και ελεγχόμενο τρόπο, τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από αφύσικη κυτταρική ανάπτυξη, με μοναδικό τους στόχο την επιβίωση πάση θυσία (Vincent, 2012).

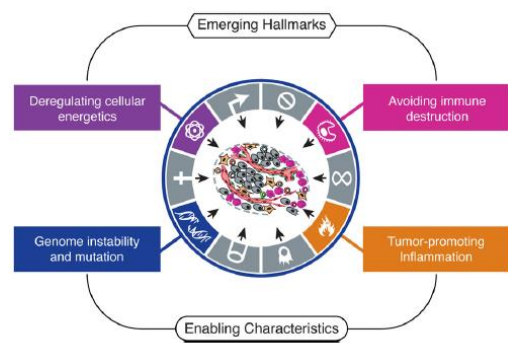
Τα καρκινικά κύτταρα ακόμα και αν ανήκουν σε διαφορετικά νεοπλάσματα που εντοπίζονται σε διαφορετικούς ιστούς με διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο, εμφανίζουν

ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με αλλαγές σε βασικές κυτταρικές διεργασίες. Τα βασικά τους χαρακτηριστικά, όπως ορίστηκαν από τους Hanahan και Weinberg (Hanahan and Weinberg, 2011), είναι:

1. Η παρατεταμένη σηματοδότηση της κυτταρικής αύξησης και του πολλαπλασιασμού
2. Η παράκαμψη μηχανισμών αναστολής της κυτταρικής αύξησης και του πολλαπλασιασμού
3. Η ανθεκτικότητα στην απόπτωση και τον κυτταρικό θάνατο γενικότερα
4. Η ικανότητα επαγωγής της αγγειογένεσης
5. Η επίτευξη κυτταρικής αθανασίας μέσω ανάκτησης των σταδιακά μειούμενων τελομερών
6. Η ενεργοποίηση της δυνατότητας διήθησης του πρωτογενούς ιστού, εισβολή σε ξένους ιστούς και δημιουργία μεταστάσεων
7. Η διαφυγή της κατασταλτικής δράσης του ανοσοποιητικού συστήματος
8. Η απορρύθμιση των μηχανισμών παραγωγής ενέργειας και ρύθμισης του μεταβολισμού



Εικόνα 2. Τα βασικά χαρακτηριστικά του καρκίνου (Hanahan and Weinberg, 2011)



Εικόνα 3. Χαρακτηριστικά του καρκίνου που μελετήθηκαν πρόσφατα και προστίθενται στα βασικά (Hanahan and Weinberg, 2011)

Πιο ειδικά, το καρκινικό κύτταρο χαρακτηρίζεται από την απώλεια της γενωμικής ομοιότητας που οδηγεί στην γενωμική αστάθεια. Τα καρκινικά κύτταρα διαθέτουν ένα μεγάλο εύρος γενετικών τροποποιήσεων, από σημειακές μεταλλάξεις μέχρι αλλοιώσεις

εκτενών χρωμοσωμικών περιοχών (Stephens et al., 2011). Ιδιαίτερη σημασία έχει το γεγονός ότι οι μεταλλάξεις που εντοπίζονται σε κύτταρα νεοπλασμάτων επηρεάζουν τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, την αγγειογένεση, την απόπτωση και την σύνθεση των τελομερών. Το αποτέλεσμα είναι να υπάρχουν πολλά κύτταρα, που λόγω της γενωμικής υποβάθμισης, δεν είναι πλέον βιώσιμα και λειτουργικά. Από την άλλη όμως, κάποια κύτταρα, ακριβώς λόγω των μεταλλάξεων, καθίστανται πιο ανθεκτικά και καλύτερα προσαρμοσμένα από τα φυσιολογικά σωματικά κύτταρα (Vincent, 2012). Τα κύτταρα αυτά χάνουν την ταυτότητά τους, η οποία συνδέεται άρρηκτα με τη γενωμική σταθερότητα και αποδιαφοροποιούνται καθώς πλέον δεν διαθέτουν τα κυτταρικά χαρακτηριστικά που είναι απαραίτητα για την εκτέλεση των εξειδικευμένων λειτουργιών τους (Vincent, 2012).

Η αλλαγή του φαινοτύπου του κυττάρου περιλαμβάνει και αλλαγές στις μεταβολικές πορείες του, διότι το καρκινικό κύτταρο επιβιώνει και μάλιστα ευημερεί υπό συνθήκες υποξίας και βασίζεται στην γλυκόλυση, με μειωμένη ή καθόλου οξειδωτική φωσφορυλίωση ακόμα και παρουσία οξυγόνου, για την παραγωγή ενέργειας (Vincent, 2012).

Παράλληλα, το καρκινικό κύτταρο επιτυγχάνει την αθανασία παύοντας να είναι ευαίσθητο στη δράση παραγόντων που αναστέλλουν την ανάπτυξή του, αποφεύγει το γήρας λόγω της ενεργοποίησης της τελομεράσης και τον κυτταρικό θάνατο πέραν του ορίου Hayflick (Vincent, 2012). Γενικά, το καρκινικό κύτταρο καταφέρνει να επιβιώνει από απόπειρες εξάλειψής του είτε πρόκειται για κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, είτε για εξωγενείς ενέργειες (Vincent, 2012). Το καρκινικό κύτταρο πλέον ελέγχει το ίδιο την ανάπτυξή του καθώς η διαίρεσή του διεγείρεται από αυξητικούς παράγοντες που εκκρίνει αδιάκοπα το ίδιο με αποτέλεσμα τον ακατάπαυστο πολλαπλασιασμό του μέσω πολλαπλών κυτταρικών διαιρέσεων (Vincent, 2012).

Όλη η ενέργεια των καρκινικών κυττάρων επενδύεται πλέον στην επιβίωση και την αναπαραγωγή και όχι σε εξειδικευμένες λειτουργίες και λόγω αυτού εμφανίζουν εκθετική

αύξηση του αριθμού τους που με τη σειρά της οδηγεί στη διαμόρφωση όγκου. Τα κύτταρα του όγκου επάγουν την ανάπτυξη αιμοφόρων αγγείων, σε περιοχή που φυσιολογικά δεν υπάρχουν, προκειμένου να εξασφαλίσουν τους απαραίτητους πόρους για την ανάπτυξή τους (Vincent, 2012). Κατευθύνουν λοιπόν πόρους από τον ξενιστή προς τον εαυτό τους και αποστασιοποιούνται από τις ανάγκες του ιστού στον οποίο ανήκουν (Vincent, 2012). Τα καρκινικά κύτταρα μάλιστα, επάγουν την αυτοφαγία γειτονικών τους υγιών κυττάρων, προκειμένου να απελευθερώσουν θρεπτικά συστατικά και γενικά επηρεάζουν τον ιστό στον οποίο ανήκουν ώστε να τίθενται σε προτεραιότητα οι δικές τους ανάγκες και όχι του οργανισμού (Vincent, 2012).

Το επόμενο βήμα είναι η μετάσταση κατά την οποία καρκινικά κύτταρα μεταναστεύουν από τον αρχικό ιστό, εισβάλλουν και εγκαθιδρύονται σε απομακρυσμένους ιστούς και εκμεταλλεύονται με μεγάλη επιτυχία αυτά τα νέα περιβάλλοντα. Τελικά, αυτή η προοδευτική αποδόμηση των ιστών οδηγεί στην απώλεια της εξειδίκευσής τους, παρεμποδίζει τη λειτουργία τους και τελικά τη βιωσιμότητά τους μέχρι να οδηγήσει σε πλήρη κατάρρευση της ανατομικής ακεραιότητας του ξενιστή, δηλαδή σε θάνατο (Vincent, 2012).

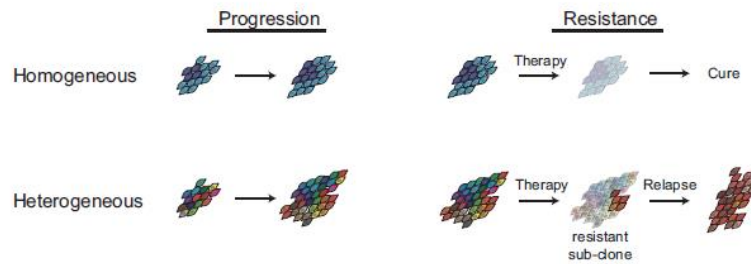
Παρά την ύπαρξη κοινών γνωρισμάτων που εντοπίζονται σε όλα τα καρκινικά κύτταρα, ο καρκίνος χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλομορφία ακόμα και στις πιο λεπτές του εκφάνσεις, πέρα από τις προφανείς διαφορές μεταξύ καρκινικών κυττάρων που προέρχονται από διαφορετικούς ιστούς.

Ακόμα και καρκινικά κύτταρα που ανήκουν στον ίδιο όγκο, εμφανίζουν μεγάλη ετερογένεια μεταξύ τους, η οποία οφείλεται πρωτίστως στη γενωμική αστάθεια (Aktipis and Nesse, 2013). Αυτή η ετερογένεια που χαρακτηρίζει τα νεοπλάσματα, είναι καθοριστική για την εξέλιξη της νόσου καθώς και την αντίσταση των καρκινικών κυττάρων στη θεραπευτική αγωγή (Aktipis and Nesse, 2013). Η ετερογένεια όμως, δεν περιορίζεται μόνο σε γενετικό επίπεδο, αλλά αφορά και τα διαφορετικά μικροπεριβάλλοντα που εντοπίζονται σε έναν όγκο

και διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Το οικοσύστημα στο οποίο διαβιούν τα καρκινικά κύτταρα συνεχώς μεταβάλλεται και είναι ιδιαίτερα δυσμενές καθώς δέχονται συνεχώς πιέσεις και στερούνται θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου (Aktipis and Nesse, 2013).

Ιδιαίτερα σημαντικό είναι το γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα υφίστανται έντονο ανταγωνισμό. Μάλιστα, τα καρκινικά κύτταρα ενός νεοπλάσματος ανταγωνίζονται μεταξύ τους για την απόκτηση πόρων (Aktipis and Nesse, 2013). Ανταγωνισμός υπάρχει και μεταξύ καρκινικών κυττάρων και μικροοργανισμών που αποτελούν τη φυσιολογική μικροχλωρίδα του ιστού στον οποίο αναπτύσσεται ο όγκος καθώς και με τα γειτονικά τους υγιή κύτταρα. Αυτές οι συνθήκες του ανταγωνισμού, σε συνδυασμό με το δυσμενές περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσονται τα καρκινικά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων εξωτερικών παραγόντων που εφαρμόζονται ως θεραπεία (π.χ. χημειοθεραπεία), οδηγούν στην επιβίωση μόνο των πιο καλά προσαρμοσμένων, δηλαδή των πιο ανθεκτικών κυττάρων (Aktipis and Nesse, 2013). Στα νεοπλάσματα δηλαδή υφίσταται επιλογή σε επίπεδο σωματικών κυττάρων. Τα καρκινικά κύτταρα μάλιστα, λόγω της γενωμικής αστάθειάς τους, εμφανίζουν ιδιαίτερα αυξημένους εξελικτικούς ρυθμούς, με αποτέλεσμα να αυξάνουν την προσαρμοστικότητα τους συνεχώς (Aktipis and Nesse, 2013).

Τελικά, τα καρκινικά κύτταρα που καταφέρνουν να επιβιώσουν είναι τόσο ανθεκτικά και επιθετικά, που πλέον είναι πολύ δύσκολο να εξαλειφθούν, τόσο τα ίδια όσο και τα θυγατρικά τους. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε αντίσταση στη θεραπεία (Lee and Swanton, 2012), στην επανεμφάνιση της νόσου μετά από θεραπεία, στη δημιουργία μεταστάσεων και γενικά στην κακή πρόγνωση για την εξέλιξη της νόσου (Aktipis et al., 2013; Correia and Bissell, 2012; Nakasone et al., 2012; Pontiggia et al., 2011).



Εικόνα 4. Η ετερογένεια που χαρακτηρίζει τους καρκινικούς όγκους, αυξάνει την πιθανότητα ύπαρξης ανθεκτικών κυττάρων. Ακόμα και μετά την εφαρμογή θεραπείας, τα κύτταρα αυτά μπορούν να οδηγήσουν σε εκ νέου καρκινογένεση (Aktipis and Nesse, 2013).

Καρκίνος και Πολυκυτταρικότητα

Η μετάβαση από τη μονοκύτταρη διαβίωση στην πολυκυτταρικότητα, χαρακτηρίζεται από την αύξηση της ιεραρχικής πολυπλοκότητας του οργανισμού στον οποίον τα κύτταρα οργανώνονται και συνεργάζονται στα πλαίσια μιας συλλογικότητας (Herron and Michod, 2008; Okasha, 2008; Rainey, 2007). Αυτή η μετάβαση δημιουργεί συγκρούσεις μεταξύ της επιβίωσης του μεμονωμένου κυττάρου και την συλλογικής ευημερίας καθώς χρειάζονται προσαρμογές που να προωθούν τη συνεργασία και προσαρμογές που μειώνουν τις συγκρούσεις. Στα τελικά στάδια της μετάβασης στην πολυκυτταρικότητα, τα συσσωματώματα κυττάρων πλέον λειτουργούν ως νέες αυθύπαρκτες οντότητες με τον δικό τους κύκλο ζωής και με διαχωρισμένη την συλλογική ευημερία από την ατομική. Στο πλαίσιο αυτό, έχει υποτεθεί ότι η εμφάνιση της πολυκυτταρικότητας πρέπει να έχει συνοδευτεί από την εμφάνιση μηχανισμών που ελέγχουν κύτταρα που μπορεί να παραβιάσουν τις αρχές της συλλογικότητας (Rainey, 2007).

Η ιστορία του καρκίνου λοιπόν, είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ιστορία της πολυκυτταρικότητας. Για να αναπτυχθούν και να επιβιώσουν, οι μεγαλόσωμοι και πολύπλοκοι πολυκύτταροι οργανισμοί έπρεπε να εξασφαλίσουν τη συνεχή και εύρυθμη συνεργασία μεταξύ των κυττάρων τους, των ιστών τους, των οργάνων τους και των συστημάτων οργάνων τους. Η βασική απειλή για τον συντονισμό αυτό είναι φαινόμενα που παραβιάζουν τις βασικές αρχές

του, τα οποία και πρέπει να κατασταλούν. Γι' αυτό το λόγο η καταστολή του καρκίνου είναι κρίσιμης σημασίας για τους πολυκύτταρους οργανισμούς και μάλιστα αποτέλεσε προϋπόθεση για την εξέλιξη της ίδιας της πολυκυτταρικότητας.

Πριν την εμφάνιση της πολυκυτταρικότητας, η φυσική επιλογή ευνοούσε τους μονοκύτταρους οργανισμούς που διέθεταν ευνοϊκά για τη διαβίωσή τους γνωρίσματα και μπορούσαν να τα μεταδώσουν στις επόμενες γενιές. Τέτοια γνωρίσματα ήταν κυρίως ο ταχύτερος πολλαπλασιασμός καθώς και η ικανότητα εισβολής σε νέα ενδιαιτήματα και εκμετάλλευσης των πόρων τους. Σε αυτό το στάδιο, μηχανισμοί που περιόριζαν τον πολλαπλασιασμό ήταν άχρηστοι, με μία μόνη εξαίρεση. Όταν το κύτταρο βρισκόταν σε περιβάλλον με ιδιαίτερα δύσκολες συνθήκες, ανέστειλε την αναπαραγωγή του για να εξασφαλίσει την επιβίωσή του κάνοντας οικονομία πόρων και ενέργειας. Άρα, ακόμα και πριν τη μετάβαση στην πολυκυτταρικότητα, υπήρχαν μηχανισμοί ελέγχου της κυτταρικής διαίρεσης.

Η μετάβαση στην πολυκυτταρικότητα κατέστη δυνατή μόνον όταν κύτταρα που συνεργάστηκαν και κατάφεραν να καταστείλουν τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό τους, απέκτησαν εξελικτικό πλεονέκτημα σε σύγκριση με κύτταρα που διαβιούσαν αυτόνομα (Maynard et al., 1995). Σε αυτές τις πρώτες κοινωνίες συνεργαζόμενων κυττάρων, η επιβίωση του συνόλου βασιζόταν στην ικανότητα της κοινωνίας να καταστείλει ή να εξαλείψει κύτταρα που δεν συνεργάζονταν (Nunney, 2012). Το αποτέλεσμα ήταν η δημιουργία μηχανισμών που καταστέλλουν τον καρκίνο όπως οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης DNA, τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, η απόπτωση, οι επιγενετικές τροποποιήσεις καθώς και η αρχιτεκτονική των ιστών που εμποδίζει σε ένα βαθμό, τα κύτταρα να πολλαπλασιάζονται και να εξαπλώνονται ανεξέλεγκτα (Gatenby et al., 2010).

Στους πολυκύτταρους οργανισμούς όμως, δεν επαρκεί η ύπαρξη των προαναφερθέντων μηχανισμών διότι απαιτείται και προσεκτική ρύθμισή τους. Ιδανικά, ένας

πολυκύτταρος οργανισμός περιορίζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του, αλλά διατηρεί την ικανότητα επιδιόρθωσης των ιστών. Για να επέλθει η ίαση, τα κύτταρα πρέπει να έχουν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται και να κινούνται (Guo and Dipietro, 2010), αυτές όμως οι ιδιότητές τους καθιστούν τον οργανισμό εύαλωτο στον καρκίνο (Hofman and Vouret-Craviari, 2012). Το ίδιο ισχύει για την ταχεία αγγειογένεση, η οποία είναι απαραίτητη κατά την επιδιόρθωση τραυμάτων προκειμένου να τροφοδοτούνται τα νέα κύτταρα με οξυγόνο και θρεπτικά (Guo and Dipietro, 2010), αλλά αποτελεί και ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά του καρκίνου (Hanahan and Weinberg, 2000). Ένα ακόμα παράδειγμα αποτελεί η δράση των κυττάρων του οργανισμού στα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια, όπως η εισβολή κυττάρων σε όμορους αναπτυσσόμενους ιστούς κατά τη γαστριδίωση και η ικανότητα κάποιων κυττάρων να μετατρέπονται από στάσιμα επιθηλιακά κύτταρα σε κινητικά μεσεγχυματικά κύτταρα (Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT). Αν τα κύτταρα δεν διέθεταν τις απαραίτητες ικανότητες για να επιτελεστούν αυτές οι λειτουργίες, δεν θα μπορούσε να επιτευχθεί η ανάπτυξη, αλλά αυτές οι ίδιες ικανότητες των κυττάρων καθιστούν δυνατή τη μετάσταση καρκινικών κυττάρων (Hofman and Vouret-Craviari, 2012).

Κάποιοι από τους μηχανισμούς καταστολής του καρκίνου εντοπίζονται σε μια πληθώρα οργανισμών διότι εμφανίστηκαν σε έναν αρχαίο κοινό πρόγονο. Ιδιαίτερα ο μηχανισμός του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου είναι αρχαιότατος καθώς εντοπίζεται σε μονοκύτταρους οργανισμούς αλλά και σε περίπλοκους πολυκύτταρους οργανισμούς (Nedelcu, 2009). Άλλοι μηχανισμοί εντοπίζονται μόνο στα είδη που ανήκουν σε συγκεκριμένες γενεαλογίες, διότι εμφανίστηκαν για πρώτη φορά σε έναν πιο πρόσφατο κοινό τους πρόγονο.

Οι προαναφερθέντες μηχανισμοί έχουν μελετηθεί σε πολυκύτταρους οργανισμούς των οποίων τα κύτταρα προήλθαν από ένα αρχικό κύτταρο, το ζυγωτό, οπότε και γίνεται λόγος για κλωνική πολυκυτταρικότητα. Σε αυτή την περίπτωση, μειώνονται οι συγκρούσεις και

ενισχύεται η συνεργασία μεταξύ των κυττάρων, καθιστώντας την ύπαρξη μεγάλης κλίμακας, πολύπλοκης πολυκυτταρικής δυνατής. Από την άλλη όμως και σε περιπτώσεις συναθροιστικής πολυκυτταρικής, όπως είναι τα βακτηριακά βιοφίλμ, έχει παρατηρηθεί συνεργασία των κυττάρων και πολύπλοκη οργάνωση (Stoodley et al., 2002; Watnick and Kolter, 2000). Συνεπώς, για να επιτευχθεί η συνεργασία και η πολυπλοκότητα, δεν είναι απαραίτητη η κοινή καταγωγή των κυττάρων που συγκροτούν μια πολυκύτταρη δομή, αλλά είναι απαραίτητος ο έλεγχος για παραβίαση των βασικών αρχών της πολυκυτταρικής.

Τελικά, μετά από χιλιάδες χρόνια εξέλιξης, οι σύγχρονοι οργανισμοί διαθέτουν μια ποικιλία διαδικασιών ελέγχου και στρατηγικών για να επιδιορθώνουν τυχόν βλάβες. Αν το DNA έχει υποστεί βλάβη και δεν μπορεί να επιδιορθωθεί, υπάρχουν δευτερεύοντες μηχανισμοί επιδιόρθωσης που αναλαμβάνουν δράση. Αν και αυτοί αποτύχουν και το κύτταρο αρχίσει να πολλαπλασιάζεται, μηχανισμοί κυτταρικής σηματοδότησης και αναστολές της ανάπτυξης αναλαμβάνουν δράση. Αν και αυτοί οι μηχανισμοί δεν καταφέρουν να αναστείλουν τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου, υπάρχει μία επιπλέον γραμμή άμυνας, ο μηχανισμός της απόπτωσης ή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου λόγω του οποίου το κύτταρο οδηγείται στην "αυτοκτονία" αντί να γίνει καρκινικό. Σε όλα αυτά έρχεται να προστεθεί η δράση του ανοσοποιητικού συστήματος που αποτελεί ίσως τη σημαντικότερη γραμμή άμυνας απέναντι στον καρκίνο. Εάν όμως, όλοι αυτοί οι μηχανισμοί αποτύχουν να σώσουν ή να εξαλείψουν το προβληματικό κύτταρο, το αποτέλεσμα είναι η κακοήθης, ανεξέλεγκτη ανάπτυξη, δηλαδή ο καρκίνος (Davies and Lineweaver, 2011).

Επομένως, η εξελικτική ιστορία του καρκίνου και των μηχανισμών που τον καταστέλλουν αφορά κυρίως τον τρόπο με τον οποίο η φυσική επιλογή ευνόησε κάποιους περιορισμούς. Ο καρκίνος υπάρχει διότι τα κύτταρα ήταν αρχικά προγραμματισμένα να πολλαπλασιάζονται όσο το δυνατόν περισσότερο, αλλά είναι και σπάνιος διότι η εξέλιξη

καθιέρωσε ισχυρούς μηχανισμούς που καταστέλλουν την ανάπτυξή του (Aktipis and Nesse, 2013).

Ο καρκίνος λοιπόν, αναπτύσσεται όταν παραβιάζονται οι αρχές της πολυκυτταρικότητας. Κάθε μια από τις βασικές αυτές αρχές έρχεται σε σύγκρουση με χαρακτηριστικά που εμφανίζουν τα καρκινικά κύτταρα και τα νεοπλάσματα.

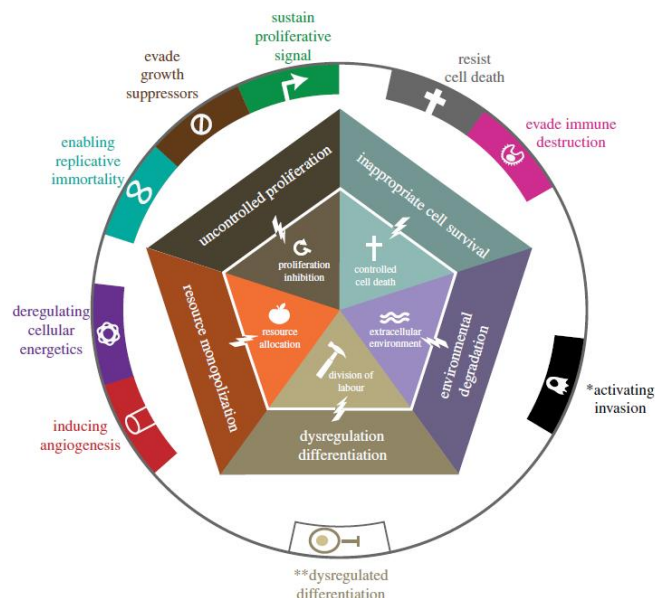
Αρχικά, η αρχή της αναστολής του πολλαπλασιασμού παραβιάζεται από την ακατάπαυστη διαίρεση του καρκινικού κυττάρου. Η διαίρεση αυτή διεγείρεται από αυξητικούς παράγοντες που εκκρίνονται από το ίδιο το κύτταρο, ενώ παράλληλα το καρκινικό κύτταρο δεν υπακούει σε σήματα αναστολής της ανάπτυξής του και διαταράσσεται η διαδικασία της γήρανσης (Aktipis et al., 2015).

Επίσης, παραβιάζεται η αρχή του ελεγχόμενου κυτταρικού θανάτου λόγω της παρατεταμένης επιβίωσης του καρκινικού κυττάρου, που αντιστέκεται στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, ενώ διαφεύγει και της δράσης του ανοσοποιητικού συστήματος (Aktipis et al., 2015).

Μια άλλη αρχή που παραβιάζεται είναι η αρχή διαμόρφωσης και διατήρησης του εξωκυττάρου περιβάλλοντος και αυτό οφείλεται στην ανάπτυξη του πρωτογενούς όγκου και των μεταστάσεων. Η ανάπτυξη ενός όγκου διαταράσσει την αρχιτεκτονική του ιστού και όταν έχει προχωρήσει αρκετά, οδηγεί στην καταστροφή της βασικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα ο ιστός να αλλοιώνεται περαιτέρω μέχρι να φτάσει στη νέκρωση (Aktipis et al., 2015). Ένας ακόμα λόγος που παραβιάζεται η βασική αυτή αρχή της πολυκυτταρικότητας είναι η συσσώρευση κυτταρικών αποβλήτων και κυρίως γαλακτικού οξέος και κυτταρικών θραυσμάτων (Aktipis et al., 2015). Η εισβολή καρκινικών κυττάρων σε άλλους ιστούς και η δημιουργία μεταστάσεων επίσης παραβιάζει αυτή την αρχή της πολυκυτταρικότητας για τους ίδιους ακριβώς λόγους που ισχύουν για την ανάπτυξη του πρωτογενούς όγκου (Aktipis et al., 2015).

Ακόμα μια βασική αρχή της πολυκυτταρικότητας που παραβιάζεται είναι η αρχή της μεταφοράς και διαμοίρασης πόρων. Κατ' αρχάς, τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από ανεξέλεγκτο μεταβολισμό με χαρακτηριστική την αυξημένη κατανάλωση γλυκόζης και την ύπαρξη μεγάλου αριθμού μιτοχονδρίων στο κύτταρο (Aktipis et al., 2015). Τα καρκινικά κύτταρα μάλιστα, συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες θρεπτικών με αποτέλεσμα να είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος από τα φυσιολογικά υγιή κύτταρα. Τέλος, για να καλυφθούν οι ανάγκες των κυττάρων ενός όγκου, σε ό,τι αφορά διάφορους πόρους, επάγεται από τα ίδια τα κύτταρα αφύσικη αγγειογένεση που οδηγεί στη δημιουργία ενός ασυνήθιστα πυκνού δικτύου τριχοειδών αγγείων (Aktipis et al., 2015).

Η τελευταία αρχή που παραβιάζεται είναι η αρχή του καταμερισμού εργασίας με αποτέλεσμα την αποδιαφοροποίηση του καρκινικού κυττάρου. Αυτή η απώλεια της εξειδίκευσης καθιστά αδύνατον για το κύτταρο να εκτελέσει τις λειτουργίες του και από χρήσιμο καταλήγει να είναι επιβλαβές για τον οργανισμό αφού οδηγεί σε ατροφία και μεταπλασία (Aktipis et al., 2015).



Εικόνα 5. Οι βασικές αρχές της πολυκυτταρικότητας και τα βασικά χαρακτηριστικά του καρκίνου που τις παραβιάζουν (Aktipis et al., 2015)

Το παράδοξο με τον καρκίνο όμως είναι ότι ενώ παραβιάζει κάθε μια από τις βασικές αρχές της πολυκυτταρικότητας, τα κύτταρα των νεοπλασμάτων καταλήγουν να τις

εφαρμόζουν όλες ειδικά σε προχωρημένα στάδια της νόσου (Aktipis et al., 2015). Αυτό συμβαίνει γιατί πέρα από ανταγωνισμό, έχει παρατηρηθεί και συνεργασία των καρκινικών κυττάρων στα νεοπλάσματα (Cleary, et al., 2014; Marusyk et al., 2014), η οποία μάλιστα μοιάζει με τη συνεργασία μεταξύ κυττάρων ενός πολυκύτταρου οργανισμού. Αυτή η συνεργασία βέβαια, δεν είναι προς όφελος του ξενιστή, αλλά του καρκινικού κυττάρου.

Ένα παράδειγμα της συνεργασίας αυτής είναι το γεγονός ότι οι μεταστάσεις οφείλονται με συσσωματώματα κυττάρων και όχι σε μεμονωμένα κύτταρα (Aceto et al., 2014). Ένα άλλο παράδειγμα είναι ο έλεγχος του πληθυσμού των κυττάρων και πιο συγκεκριμένα το γεγονός ότι μικροί όγκοι, που αποτελούν μεταστάσεις, παρουσιάζουν αδράνεια για μεγάλα χρονικά διαστήματα (Sosa et al., 2014). Αυτό επιτυγχάνεται είτε μέσω αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, είτε μέσω ρύθμισης του κυτταρικού θανάτου.

Σε προχωρημένα στάδια καρκίνου, οι όγκοι έχουν την ικανότητα να επάγουν την ανάπτυξη δικτύου αγγείων, για να προμηθεύεται ο όγκος οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά καθώς και για την απομάκρυνση αποβλήτων, χρησιμοποιώντας τα ίδια αγγειογόνα σήματα που χρησιμοποιούν τα υγιή κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού προκειμένου να αναπτυχθεί το αγγειακό σύστημα (Papetti and Herman, 2002). Αυτές οι ενέργειες αφορούν ουσιαστικά τη μεταφορά πόρων καθώς και τη διαμόρφωση και διατήρηση του εξωκυττάρου περιβάλλοντος.

Τέλος, σε ό,τι αφορά τον καταμερισμό εργασίας, υπάρχουν ενδείξεις για ύπαρξη κυττάρων σε καρκινικούς όγκους που έχουν ιδιαίτερες λειτουργίες. Πιο συγκεκριμένα, κάποια κύτταρα του όγκου έχουν χαρακτηριστεί ως "καρκινικά βλαστικά κύτταρα" (cancer stem cells) και έχουν την ικανότητα αναγέννησης του όγκου, ενώ τα άλλα κύτταρα του όγκου συμπεριφέρονται ως "σωματικά" περιορίζοντας τον πολλαπλασιασμό τους για να μπορέσουν να ενισχυθούν τα βλαστικά (Sprouffske et al., 2013).

Σε προχωρημένα στάδια της νόσου λοιπόν, φαίνεται ότι οι βασικές αρχές της πολυκυτταρικότητας, που παραβιάστηκαν προκειμένου να αναπτυχθεί ο καρκίνος,

επανέρχονται στο προσκήνιο και εφαρμόζονται από τα καρκινικά κύτταρα προς όφελος αυτή τη φορά του νεοπλασματος και εις βάρος του οργανισμού.

Ο Καρκίνος στο Δέντρο της Ζωής

Ο καρκίνος αντιπροσωπεύει την παραβίαση των αρχών που διέπουν την οργάνωση που χαρακτηρίζει τους πολυκύτταρους οργανισμούς. Όσο πολυπλοκότερη είναι η δομή ενός οργανισμού, τόσο περισσότερα κύτταρα τον απαρτίζουν και χρειάζονται πολυάριθμοι και πολύπλοκοι ρυθμιστικοί μηχανισμοί για να εξασφαλιστεί η εύρυθμη λειτουργία του. Αν το φαινόμενο του καρκίνου εξεταστεί ευρέως στους πολυκύτταρους οργανισμούς και όχι αυστηρά ανθρωποκεντρικά, φαινόμενα καρκινογένεσης και φαινόμενα που ομοιάζουν με καρκίνο μπορούν να εντοπιστούν σε όλους τους κλάδους του Δέντρου της Ζωής που περιλαμβάνουν πολυκύτταρους οργανισμούς (Aktipis et al., 2015). Το κριτήριο για την κατάταξη ενός φαινοτύπου σε αυτές τις κατηγορίες φαινομένων είναι η ανάπτυξη νεοπλασμάτων που χαρακτηρίζονται από αφύσικο ρυθμό πολλαπλασιασμού και διαφοροποίηση των κυττάρων (Aktipis et al., 2015).

Πιο συγκεκριμένα, έχουν παρατηρηθεί τα εξής:

1) Μετάζωα:

Δευτεροστόμια

i) Χορδωτά

Υπάρχουν αναφορές για την ύπαρξη όγκων και στα τρία υπόφυλα των Χορδωτών.

Τα μοναδικά είδη που δεν έχουν εμφανίσει κακοήθεις όγκους είναι τα naked mole rat και blind mole rat (Buffenstein, 2005; Delaney et al., 2013) αν και υπήρχαν ενδείξεις για όγκους στο κατώφλι της κακοήθειας (Delaney et al., 2013). Μάλιστα παρά τις πολύχρονες μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε αυτά τα είδη, δεν έχει

παρατηρηθεί αυθόρμητη ανάπτυξη όγκων (Gorbunova et al., 2012; Manon et al., 2013).

ii) Εχινόδερμα

Έχουν αναφερθεί περιστατικά ανάπτυξης όγκων στα Εχινόδερμα (Harshbarger, 1972; Smith et al., 1973). Δεν υπάρχουν όμως πρόσφατες αναφορές, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι στα Εχινόδερμα η καρκινογένεση είναι σπάνιο φαινόμενο (Jangoux , 1987; Robert, 2010; Vogt, 2012). Δεδομένου ότι πολλά είδη έχουν την ικανότητα αναγέννησης μελών (Dobson et al., 1991) και οργάνων (Mashanov et al., 2005) και κάποια ζουν περισσότερο από 100 χρόνια (Ebert and Southon, 2003), θεωρείται ότι το θέμα χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

iii) Ημιχορδωτά

Πρόκειται για οργανισμούς που έχουν την ικανότητα αναγέννησης ιστών συμπεριλαμβανόμενου του νευρικού ιστού (Rychel and Swalla, 2008). Δεν υπάρχουν όμως ενδείξεις καρκινογένεσης σε αυτούς τους οργανισμούς αν και αξίζει να αναφερθεί ότι διαθέτουν γονίδια που σχετίζονται με την καταστολή του καρκίνου, όπως τρία ομόλογα του *p53* (Momand et al., 2001).

Πρωτοστόμια

Όγκοι που ομοιάζουν με καρκίνο, τόσοσ καλοήθεις όσο και κακοήθεις έχουν αναφερθεί στα περισσότερα είδη της ταξινομικής βαθμίδας (Aktipis et al., 2015).

Κνιδόζωα

Φαινόμενα καρκινογένεσης έχουν παρατηρηθεί σε διάφορα είδη κοραλλιών καθώς και στον οργανισμό Ύδρα (Aktipis et al., 2015). Οι παρατηρήσεις αυτές οδηγούν στο

συμπέρασμα ότι η καρκινογένεση αποτελούσε πρόβλημα ακόμα και για τα πρώτα Μετάζωα που εμφανίστηκαν.

Πλακόζωα

Το συγκεκριμένο φύλο περιλαμβάνει έναν μόνο χαρακτηρισμένο οργανισμό, το *Trichoplax adhaerens* που θεωρείται ότι μοιάζει πολύ με τις πρώτες μορφές Μεταζώων (Edgecombe et al., 2011). Στο συγκεκριμένο είδος δεν έχουν εντοπιστεί φαινόμενα καρκινογένεσης ή φαινόμενα που να ομοιάζουν με καρκινογένεση (Schierwater et al., 2011).

Ποροφόρα (Σπόγγοι)

Πρόκειται για οργανισμούς που δεν διαθέτουν διαφοροποιημένους ιστούς και όργανα, αλλά χρησιμοποιούν εξειδικευμένες δομές για να επιτελέσουν τις λειτουργίες τους. Διαθέτουν ανοσοποιητικό σύστημα το οποίο τους είναι χρήσιμο καθώς διαβιούν συμβιωτικά με μικροοργανισμούς (Hentschel et al., 2006; Webster and Taylor, 2012). Στους σπόγγους δεν υπάρχουν γνωστά φαινόμενα καρκινογένεσης, παρά τη μεγάλη χρονική διάρκεια της ζωής τους αν και αυτό μπορεί να οφείλεται σε έλλειψη μελετών (Leys and Lauzon, 1998; McMurray et al., 2008).

Κτενοφόρα

Αποτελούν αδελφή ταξινομική μονάδα (taxon) όλων των εξαφανισμένων Μεταζώων (Ryan et al., 2013; Shostak, 2014). Αν και αποτελούνται από πολλούς κυτταρικούς τύπους, δε διαθέτουν πολλά από τα γονίδια που σχετίζονται με μονοπάτια σχετιζόμενα με τον καρκίνο (TGF- β , Wnt, Notch pathways, Hedgehog κ.α.) (Ryan et al., 2013). Μελέτες σε αυτά τα είδη δεν έχουν εντοπίσει όγκους (Sparks, 1986; Lauckner, 1985).

2) Χοανομαστιγωτά

Πρόκειται για μονοκύτταρους οργανισμούς που ανήκουν στο βασίλειο των Ζώων και αποτελούν τους κοντινότερους μονοκύτταρους συγγενείς των Μεταζώων (King et al., 2008). Συχνά δημιουργούν αποικίες, αλλά φαινόμενα καρκινογένεσης δεν έχουν μέχρι σήμερα παρατηρηθεί αν και οι οργανισμοί αυτοί δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς (Aktipis et al., 2015).

3) Μύκητες

Ασκομύκητες

Αυτή η ταξινομική ομάδα περιλαμβάνει τόσο μονοκύτταρους, όσο και απλούς και σύνθετους πολυκύτταρους οργανισμούς. Σε αυτούς τους οργανισμούς έχουν παρατηρηθεί φαινόμενα με χαρακτηριστικά καρκίνου και πιο συγκεκριμένα, ταχέως αναπτυσσόμενα, αδιαφοροποίητα και επιθετικά κύτταρα που δεν ανταποκρίνονται σε σήματα ανάπτυξης (Navarro-Bordonaba and Adams, 1994).

Βασιδιομύκητες

Αυτή η ταξινομική ομάδα περιλαμβάνει απλούς και σύνθετους πολυκύτταρους οργανισμούς. Σε αυτούς τους οργανισμούς έχουν παρατηρηθεί φαινόμενα που ομοιάζουν με καρκίνο και πιο συγκεκριμένα καλοήγη νεοπλάσματα ή δυσμορφίες, αλλά δεν έχουν εντοπιστεί εισβλητικές μορφές καρκίνου (Aktipis et al., 2015).

4) Αμοιβόζωα

Πρόκειται για οργανισμούς που συναθροίζονται δημιουργώντας ένα χιμαιρικό πολυκύτταρο «σώμα» αποτελούμενο από κύτταρα διαφορετικής προέλευσης, σε αντίθεση

με οργανισμούς που προέρχονται από ένα αρχικό κύτταρο. Σε περίπτωση που κάποιο κύτταρο δεν δρα βάση του συλλογικού συμφέροντος, δημιουργούνται φαινόμενα που ομοιάζουν με καρκίνο αν και το κύτταρο παραβάτης θεωρείται πιο πολύ παράσιτο παρά καρκινικό. Έχει επίσης παρατηρηθεί μετακίνηση ομάδων κυττάρων από μια συνάθροιση σε μια άλλη (Aktipis et al., 2015).

5) Πράσινα Φύκη

Εμβρυόφυτα

Τα Φυτά εμφανίζουν νεοπλάσματα που μπορεί να προκληθούν λόγω της παρουσίας και της δραστηριότητας εντόμων και βακτηρίων, λόγω πρόκλησης τραύματος σε αναπτυσσόμενους ή πληγωμένους ιστούς ή λόγω αυθόρμητων μεταλλάξεων (Braun, 1978). Ιδιαίτερη σημασία έχει όμως η αρχιτεκτονική και η διαδικασία ανάπτυξης του φυτικού ιστού καθώς διαφέρουν από αυτές των Μεταζώων με τέτοιο τρόπο που φαίνεται να είναι σημαντικός στην καταστολή του καρκίνου. Αν και θεωρείται ότι το κυτταρικό τοίχωμα περιορίζει τα καρκινικά κύτταρα και τα εμποδίζει απ' το να κινηθούν ελεύθερα και να εισβάλλουν σε ξένους ιστούς (Dooman and Sablowski, 2010), έχουν υπάρξει αναφορές για την ύπαρξη όγκων που έχουν προέλθει από μεταστάσεις (Agiros, 2005). Σε κάθε περίπτωση, η καρκινογένεση στα Φυτά, είναι ένα θέμα που χρήζει περαιτέρω μελέτης.

Χλωροφύκη

Σε αυτή την ομάδα οργανισμών ανήκει το γένος Volvox στο οποίο ανήκουν μονοκύτταροι οργανισμοί, που όμως δημιουργούν πολυκύτταρες αποικίες αποτελούμενες από πολλές χιλιάδες κύτταρα τα οποία διαφοροποιούνται σε σωματικά και αναπαραγωγικά. Στα Χλωρόφυτα έχουν παρατηρηθεί φαινόμενα που μοιάζουν με

καρκίνο, τα οποία οφείλονται σε μεταλλάξεις και θεωρείται ότι αντιπροσωπεύουν έναν προγονικό φαινότυπο (Nedelcu and Michod, 2004).

6) Ροδοφύκη

Πρόκειται για τους πρώτους ευκαρυωτικούς οργανισμούς που δημιούργησαν σύνθετες πολυκύτταρες μορφές 1,2 δισεκατομμύρια χρόνια πριν (Carroll, 2001). Σε αυτούς τους οργανισμούς έχουν παρατηρηθεί φαινόμενα καρκινογένεσης και πιο συγκεκριμένα οζίδια ποικίλων σχημάτων που μοιάζουν με όγκους, αλλά διατηρούν τη δομή του ιστού σε ένα βαθμό. Η εμφάνισή τους οφείλεται σε απορρύθμιση των σημάτων κυτταρικής ανάπτυξης (Gusev et al., 1987; Yokoya, 2000), σε έκθεση σε ρύπους (Andrews, 1976), στη μόλυνση από βακτήρια (Andrews, 1976), μύκητες (Andrews, 1976) και ιούς (Tripodis and Beth, 1976). Έχουν επίσης αναφερθεί μεταστάσεις κυρίως από όγκους που έχουν αναπτυχθεί λόγω μόλυνσης από βακτήρια (Aktipis et al., 2015).

7) Ετερόκοντα

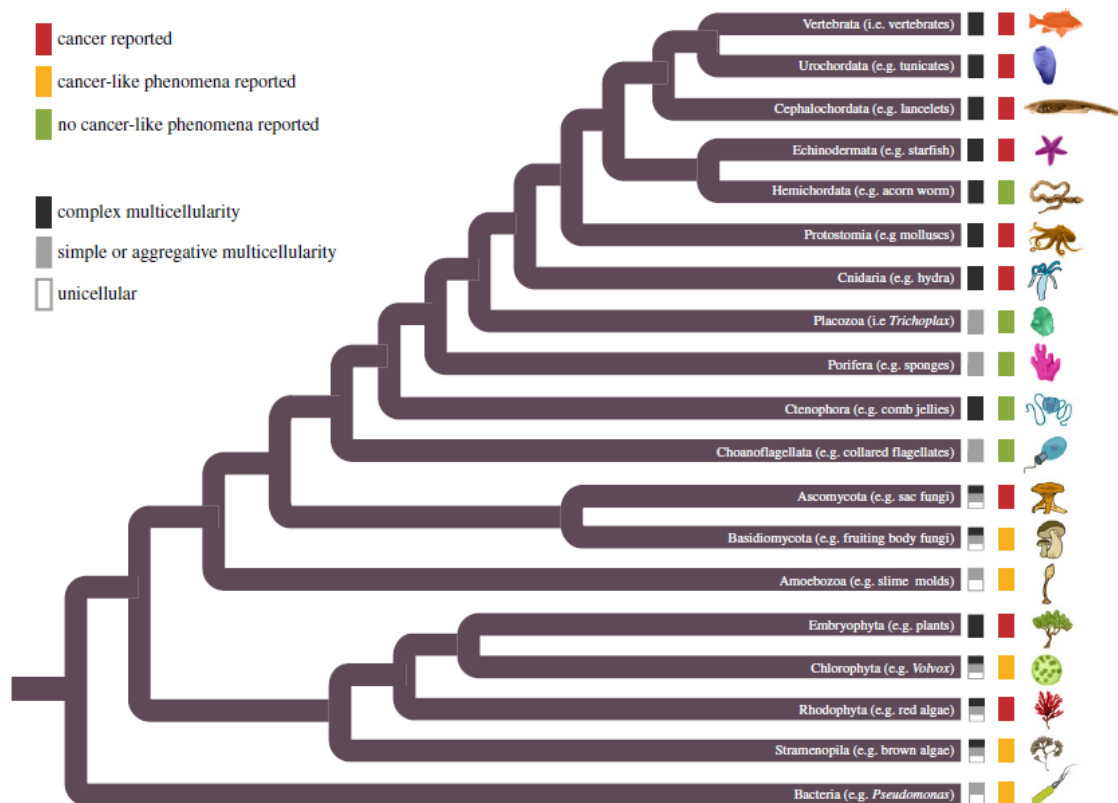
Πρόκειται για μονοφυλετική ομάδα του βασιλείου των Πρωτίστων που περιλαμβάνει μονοκύτταρες, αποικιακές, νηματοειδείς μορφές καθώς και σύνθετους πολυκύτταρους οργανισμούς (Adl et al., 2012; Niklas and Newman, 2013) με το μέγεθός τους να διαφέρει σημαντικά από είδος σε είδος. Πολλά είδη εμφανίζουν οζίδια που ομοιάζουν με όγκους (Apt, 1988), αλλά δεν γνωρίζουμε αν οφείλονται σε μεταλλάξεις.

8) Βακτήρια

Πολλά βακτήρια συναθροίζονται δημιουργώντας πολυκύτταρες δομές, όπως τα βιοφίλμ, ενώ σε κάποια είδη (π.χ. Cyanobacteria και Streptomyces) έχει παρατηρηθεί ότι τα θυγατρικά κύτταρα παραμένουν προσκολλημένα μετά τη διαίρεσή τους, οπότε πρόκειται

για κλωνική πολυκυτταρικότητα (Aktipis et al., 2015). Γενικά, τα βακτήρια που συγκροτούν αυτές τις πολυκύτταρες δομές εμφανίζουν εφαρμογή όλων των αρχών της πολυκυτταρικότητας. Η αναστολή της ανάπτυξης, που εξαρτάται από την επαφή των κυττάρων και αποτελεί ένα κοινό μηχανισμό καταστολής του καρκίνου στους πολυκύτταρους ιστούς, έχει εντοπιστεί και στα βιοφίλμ αν και δεν είναι ξεκάθαρο αν έχει επιλεχθεί ως ατομικά ή συλλογικά ευεργετικός φαινότυπος. Κύτταρα έχουν επίσης παρατηρηθεί να μετακινούνται από και προς τα βιοφίλμ, ενώ έχει παρατηρηθεί και υπερβολική ανάπτυξη κάποιων κυττάρων που οδηγεί σε κατάρρευση του πληθυσμού (Aktipis et al., 2015).

Συμπερασματικά, οργανισμοί που συναθροίζονται προς σχηματισμό πολυκύτταρων δομών, εμφανίζουν τόσο τις αρχές της πολυκυτταρικότητας όσο και φαινόμενα παραβίασής τους.



Εικόνα 6. Ο καρκίνος στο δέντρο της ζωής. Το φυλογενετικό δέντρο παρουσιάζει τις φυλογενετικές σχέσεις των ειδών καθώς και φαινόμενα καρκινογένεσης και φαινόμενα που ομοιάζουν με καρκίνο όπως έχουν παρατηρηθεί σε όλες τις γενεαλογίες που εμφανίζουν κάποια μορφή πολυκυτταρικότητας (Aktipis et al., 2015).

Γενετική Βάση του Καρκίνου

Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης προκύπτουν καινούρια γονίδια. Κάποια από αυτά προέρχονται από διπλασιασμό ήδη υπάρχοντων γονιδίων ή από ανακατάταξη των δομικά ή λειτουργικά αυτοτελών περιοχών προϋπαρχόντων γονιδίων. Κάποια γονίδια όμως, αποτελούν εξελικτικές καινοτομίες καθώς κωδικοποιούν νέες λειτουργικές πρωτεΐνες που δεν αντιπροσωπεύονταν μέχρι τότε στο γονιδίωμα ή τουλάχιστον δεν ήταν λειτουργικές (Domazet-
Loso and Tautz, 2010).

Η δημιουργία νέων γονιδίων είναι επιτακτικής σημασίας για την επιβίωση και την εξέλιξη των οργανισμών. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα στρατηγικής προσαρμογής για τα κύτταρα είναι η αύξηση του ρυθμού μεταλλαξογένεσης με σκοπό να αυξηθεί η πιθανότητα ανακάλυψης μια λύσης που θα εξασφαλίσει την επιβίωση του κυττάρου σε δύσκολες συνθήκες (Cisneros et al., 2017). Σε αυτές τις περιπτώσεις αξιοποιούνται μηχανισμοί που δημιουργούν μεταλλαγές κι οποίοι είναι το γλίστρημα ενός κλώνου DNA ή της πολυμεράσης κατά την αντιγραφή με αποτέλεσμα τη δημιουργία αζευγάρωτων βάσεων, ο διπλασιασμός γονιδίων, η απορρύθμιση των μηχανισμών επιδιόρθωσης και ο μη ομόλογος ανασυνδυασμός (Galhardo et al., 2007; Tenaillon et al., 2004). Αυτές οι αλλαγές στο γονιδίωμα μπορούν να προκαλέσουν φαινοτυπική ετερογένεια και ειδικά υπό την επίδραση συνθηκών που αυξάνουν το κυτταρικό στρες, μπορούν να οδηγήσουν σε εξελικτικές καινοτομίες καθιστώντας τα κύτταρα που τις φέρουν καλύτερα προσαρμοσμένα και ικανά να ανταπεξέλθουν σε δύσκολες συνθήκες.

Ενώ οι μηχανισμοί αυτοί είναι απαραίτητοι για την επιβίωση των μονοκύτταρων οργανισμών όταν βρίσκονται σε συνθήκες κυτταρικού στρες, τα σωματικά κύτταρα των πολυκύτταρων οργανισμών διατηρούν σταθερή ομοιόσταση με αποτέλεσμα να προστατεύονται από τέτοιες έντονες περιβαλλοντικές αλλαγές, οπότε δεν απαιτείται και η προσαρμογή τους (Cisneros et al., 2017).

Ως απάντηση στο κυτταρικό στρες όμως, ένα καρκινικό κύτταρο αξιοποιεί τις ίδιες στρατηγικές επιβίωσης που αξιοποιούσαν αρχαία προκαρυωτικά κύτταρα, δηλαδή την επαγόμενη από το στρες μεταλλαξογένεση που βασίζεται στην χαμηλής πιστότητας αντιγραφή, κατόπιν θραύσης των κλώνων DNA σε μια προσπάθεια να βρει τη λύση που θα του εξασφαλίσει την επιβίωση και την προσαρμογή του στο στρεσογόνο περιβάλλον (Cisneros et al., 2017). Με την ενεργοποίηση τέτοιων μηχανισμών όμως, αυξάνονται οι πιθανότητες δημιουργίας μετάλλαξης και σε περιοχές του γονιδιώματος που εμφανίζουν ιδιαίτερα χαμηλούς ρυθμούς μεταλλαξογένεσης λόγω εξελικτικών περιορισμών. Αυτές είναι οι περιοχές του γονιδιώματος στις οποίες εδράζονται πολλά γονίδια που εμπλέκονται στην ογκογένεση (Cisneros et al., 2017).

Ο καρκίνος, πιο συγκεκριμένα, αποτελεί μια πολυγονιδιακή ασθένεια που προκύπτει από κληρονομούμενες ή/και επίκτητες μεταλλάξεις σε συγκεκριμένα γονίδια. Οι ομάδες γονιδίων που παίζουν κομβικό ρόλο στην διαδικασία της καρκινογένεσης είναι τα γονίδια που διατηρούν την ακεραιότητα του γονιδιώματος, τα πρωτο-ογκογονίδια/ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια.

Τα γονίδια που διατηρούν την ακεραιότητα του γονιδιώματος δρουν κατά τη G2 φάση του κυτταρικού κύκλου και είναι υπεύθυνα για την επιδιόρθωση λαθών που πιθανόν έχουν προκύψει κατά τον αναδιπλασιασμό του DNA, εξασφαλίζοντας έτσι την πιστή αντιγραφή του.

Τα πρωτο-ογκογονίδια, ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους, υποδιαιρούνται σε πολλές ομάδες που καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα από διαμεμβρανικές πρωτεΐνες ως μεταγραφικούς παράγοντες και ευθύνονται για τη φυσιολογική ανάπτυξη των κυττάρων, τον πολλαπλασιασμό και την αποτροπή της απόπτωσης (Lewin, 2004). Η δράση τους εντοπίζεται κυρίως στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου κατά την οποία προωθούν την ανάπτυξη του κυττάρου. Η μετατροπή ενός πρωτο-ογκογονιδίου σε ογκογονίδιο γίνεται μέσω ενεργοποίησής του (gain of function), όταν φυσιολογικά θα ήταν ανενεργό και επιτυγχάνεται κυρίως μέσω μεταλλάξεων

(Lewin, 2004). Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις μετασχηματιστικών ιών που φέρουν ογκογονίδια τα οποία ενσωματώνονται στα κύτταρα του ξενιστή και οδηγούν στον μετασχηματισμό των κυττάρων και την καρκινογένεση (Lewin, 2004), όπως ο Ιός Ανθρώπινων Θηλωμάτων HPV (Human Papillomavirus). Οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα ογκογονίδια αποτελούν συχνά στόχο αντικαρκινικών φαρμάκων (Croche, 2008).

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια από την άλλη, ρυθμίζουν τις κυτταρικές λειτουργίες κατά την κυτταρική διαίρεση επιβάλλοντας περιορισμούς στην κυτταρική αύξηση και τον πολλαπλασιασμό (Lewin, 2004). Πιο συγκεκριμένα, τα γονίδια αυτά συμμετέχουν σε μονοπάτια που καθιστούν το κύτταρο ικανό να λαμβάνει και να επεξεργάζεται μηνύματα αναστολής της ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού του. Ουσιαστικά, τα γονίδια αυτά σηματοδοτούν την ολοκλήρωση της ανάπτυξης του κυττάρου ακριβώς πριν αυτό μπει στη φάση S του κυτταρικού κύκλου, όπου λαμβάνει χώρα ο διπλασιασμός του DNA. Η απενεργοποίησή τους (loss of function) αίρει αυτούς τους περιορισμούς, με αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη δημιουργία όγκου (Lewin, 2004).

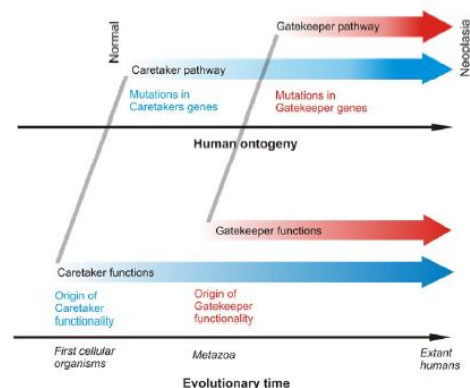
Στα ογκοκατασταλτικά γονίδια, σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με τα ογκογονίδια, χρειάζεται αλλοίωση και των δύο αλληλομόρφων προκειμένου να επαχθεί η καρκινογένεση (Knudson, 1971), δηλαδή εάν ένα από τα αλληλόμορφα υποστεί βλάβη, το άλλο αλληλόμορφο είναι ικανό να παράγει επαρκή ποσότητα της σωστής πρωτεΐνης και να διατηρήσει τη λειτουργία του. Επομένως, όταν προκύψει μετάλλαξη σε ένα αλληλόμορφο ογκοκατασταλτικού γονιδίου, το νέο μεταλλαγμένο γονίδιο είναι υπολειπόμενο, ενώ μια αντίστοιχη μετάλλαξη σε αλληλόμορφο ογκογονιδίου καθιστά το νέο μεταλλαγμένο γονίδιο επικρατές σε σχέση με το υγιές αλληλόμορφό του.

Ειδικά τα ογκοκατασταλτικά γονίδια διαχωρίζονται περαιτέρω στα γονίδια "Φύλακες" (Gatekeepers) και τα γονίδια "Φροντιστές" (Caretakers) (Kinzler and Vogelstein, 1997; Michor et al., 2004). Τα πρώτα ελέγχουν άμεσα τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και σχετίζονται

με την προαγωγή του κυτταρικού θανάτου (van Heemst et al., 2007). Ο ρόλος των "Φυλάκων" είναι να δρουν ως ελεγκτές σε συγκεκριμένα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, δρώντας ουσιαστικά ως αρνητικοί ρυθμιστές της καρκινογένεσης. Τα γονίδια "Φροντιστές" από την άλλη, είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της γενετικής σταθερότητας των κυττάρων και την ακεραιότητα του γονιδιώματος και γι' αυτό σε αυτή την κατηγορία κατατάσσονται γονίδια που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του DNA. Ανεπαρκής λειτουργία των γονιδίων αυτών οδηγεί σε συσσώρευση μεταλλάξεων και κατά συνέπεια χρωμοσωμική αστάθεια που με τη σειρά της οδηγεί στην ανάπτυξη του καρκίνου (Kinzler and Vogelstein, 1997).

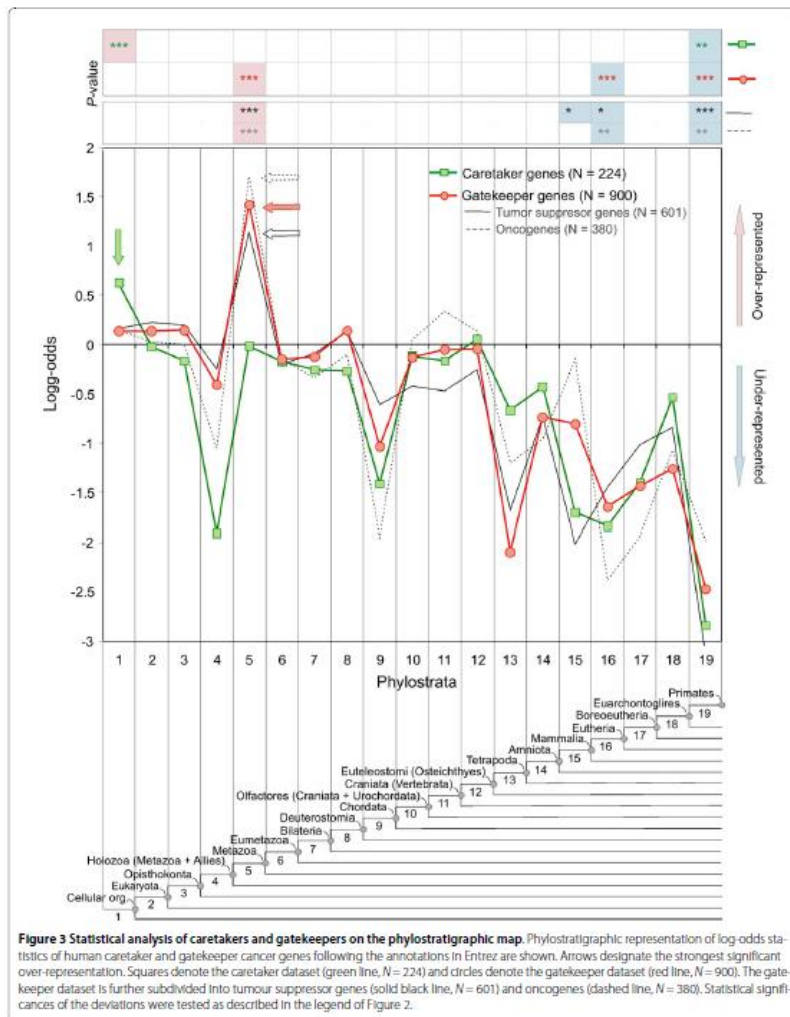
Μεταλλάξεις που συμβαίνουν στους "Φροντιστές" προάγουν εμμέσως την εξέλιξη της νόσου διότι αυξάνονται τα ποσοστά μεταλλάξεων και η γενωμική αστάθεια, με συνέπεια να υπάρχει αυξημένη πιθανότητα επόμενες μεταλλάξεις να πλήξουν "Φύλακες" (Domazet-Loso and Tautz, 2010). Από την άλλη, μεταλλάξεις που συμβαίνουν σε "Φύλακες" προάγουν άμεσα την εξέλιξη της νόσου καθώς επηρεάζουν την κυτταρική διαφοροποίηση, την ανάπτυξη και τα ποσοστά θανάτου (Domazet-Loso and Tautz, 2010). Πράγματι, κατά την καρκινογένεση και την πορεία εξέλιξης του καρκίνου, οι μεταλλάξεις σε "Φροντιστές" φαίνεται να προηγούνται των μεταλλάξεων σε "Φύλακες" (Abdel-Rahman, 2008; Rajagopalan et al., 2003) και μπορεί μάλιστα να τις διευκολύνουν κιόλας αν και αυτή η θεωρία είναι ακόμα υπό αμφισβήτηση (Sieber et al., 2003).

Η εμφάνιση των γονιδίων που ανήκουν στην κατηγορία των "Φροντιστών" έχει συνδεθεί με την εμφάνιση των πρώτων κυττάρων, ενώ η εμφάνιση των γονιδίων που ανήκουν στην κατηγορία "Φυλάκων" έχει συνδεθεί με την εμφάνιση των Μεταζώων. Επομένως, οι "Φροντιστές" προηγούνται εξελικτικά των "Φυλάκων", καθώς η σταθερότητα



Εικόνα 7. Συσχέτιση της εξελικτικής ηλικίας "Φροντιστών" και "Φυλάκων" με τον ρόλο τους στην πορεία της ογκογένεσης (Domazet-Loso and Tautz, 2010).

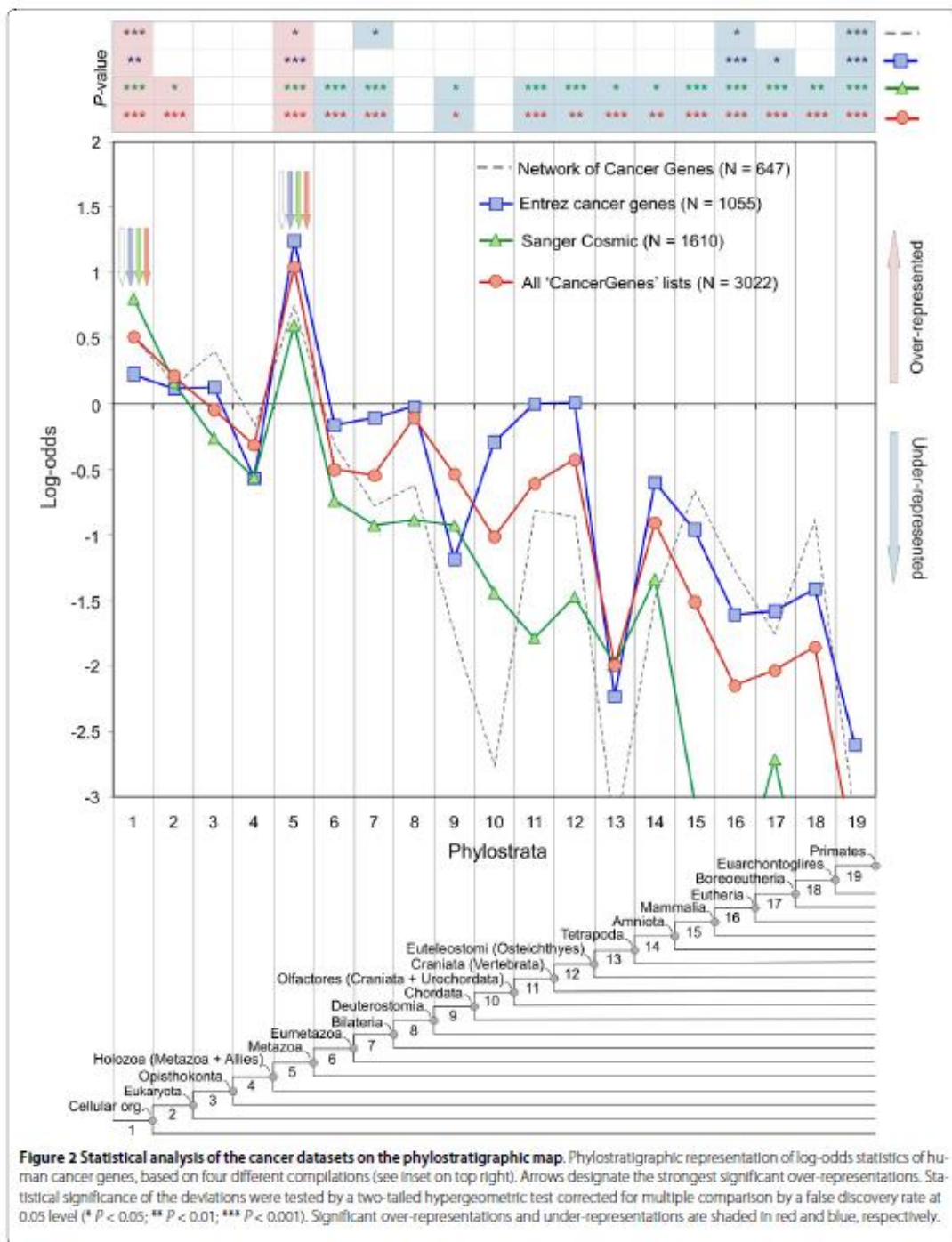
του γονιδιώματος είναι σημαντική για κάθε είδους κύτταρο και δεν σχετίζεται απαραίτητα με το αν το κύτταρο αυτό αποτελεί τμήμα ενός πολυκύτταρου οργανισμού. Από την άλλη, οι "Φυλάκες" σχετίζονται με διεργασίες που αφορούν τη συνεργασία μεταξύ κυττάρων ή τον περιορισμό κυττάρων-παραβατών και κατά συνέπεια αυτά τα γονίδια είναι απαραίτητα στους πολυκύτταρους οργανισμούς (Okasha, 2007; Rainey, 2007) οπότε και προέκυψαν αργότερα στην εξέλιξη. Συνεπώς, υπήρχε το υπόβαθρο και είχαν εδραιωθεί οι κυτταρικές διεργασίες που είναι απαραίτητες για την εξασφάλιση της σταθερότητας του γονιδιώματος, ειδικά σε ό,τι σχετίζεται με τον καρκίνο, πολύ πριν την εμφάνιση των πρώτων πολυκύτταρων ζωικών οργανισμών.



Εικόνα 8. Φυλοστρατιγραφικά προφίλ γονιδίων που ανήκουν στις κατηγορίες των "Φυλάκων" και των "Φροντιστών" υποδεικνύουν ότι η απαρχή των "Φυλάκων" συνδέεται με την εμφάνιση των Μεταζώων (ps5), ενώ η εμφάνιση των "Φροντιστών" με την εμφάνιση των πρώτων κυτταρικών μορφών ζωής (ps1) (Domazet-Loaso and Tautz, 2010).

Ειδικά για τον άνθρωπο, περίπου το 60% των γονιδίων του συνδέονται με δυο κομβικά σημεία της εξέλιξης, την εμφάνιση των αυτοαναπαραγόμενων κυτταρικών μορφών ζωής και την εμφάνιση απλών πολυκύτταρων οργανισμών (Domazet-Loso and Tautz, 2010; Wu et al., 2015). Μια άλλη εξελικτική καινοτομία από την οποία προέκυψαν πολλά γονίδια του ανθρώπου είναι η εμφάνιση των ευκαρυωτικών κυττάρων (Domazet-Loso and Tautz, 2010). Τα γονίδια αυτά εμπλέκονται σε βασικές κυτταρικές διεργασίες και μόλις το 13% των γονιδίων που απαντώνται στον σύγχρονο άνθρωπο εμφανίστηκε από την ανάπτυξη των Θηλαστικών και μετά (Domazet-Loso and Tautz, 2008). Γενικά, τα γονίδια που έχουν προκύψει πολύ νωρίς στην εξέλιξη εμφανίζουν πολύ χαμηλούς ρυθμούς μεταλλαξογένεσης και κωδικοποιούν λειτουργικές πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για την επιτέλεση βασικών διεργασιών του κυττάρου (He et al., 2009; He and Deem, 2010).

Ειδικά τα γονίδια που σχετίζονται με ασθένειες, έχουν γενικά μεγάλη εξελικτική ηλικία, ενώ γονίδια που εμφανίστηκαν πιο πρόσφατα σπάνια σχετίζονται με ασθένειες. Μάλιστα, το 90% των γονιδίων που σχετίζονται με ασθένειες στον άνθρωπο, εμφανίστηκε πριν την εμφάνιση των Αμφιπλεύρων (Domazet-Loso and Tautz, 2008) με αποτέλεσμα πολλά γονίδια που έχουν συσχετιστεί με ασθένειες στον άνθρωπο να έχουν ομόλογα γονίδια σε οργανισμούς που απέχουν εξελικτικά πολύ από αυτόν (Rubin et al, 2000). Αυτά τα γονίδια όμως δεν έχουν εξαλειφθεί, διότι εδράζονται σε περιοχές του γονιδιώματος, που λόγω εξελικτικών περιορισμών είναι ιδιαίτερα προστατευμένες και κατά συνέπεια εμφανίζουν πολύ χαμηλούς ρυθμούς μεταλλαξογένεσης, σε αντίθεση με άλλες περιοχές που εμφανίζουν υψηλούς ρυθμούς εξέλιξης λόγω αυξημένου αριθμού μεταλλάξεων (Cisneros et al., 2017).



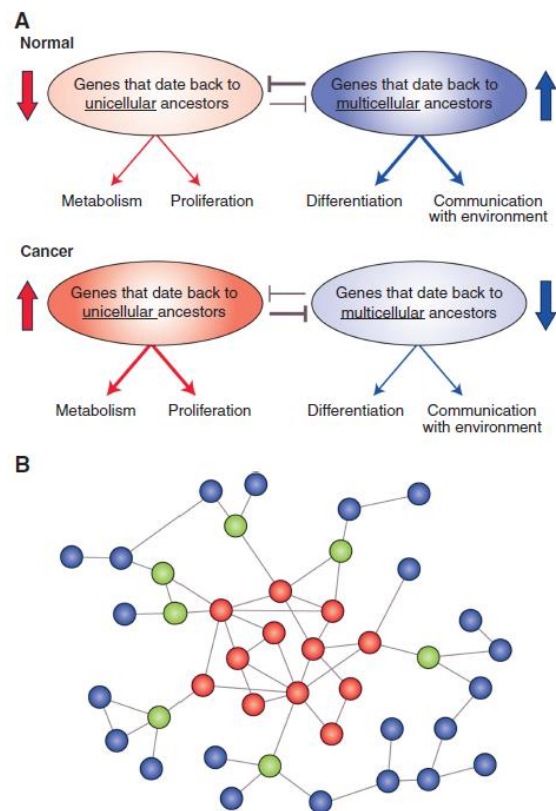
Εικόνα 9. Φυλοστρατιγραφικά προφίλ γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο (από τέσσερα διαφορετικά σύνολα δεδομένων) υποδεικνύουν ότι τα γονίδια αυτά προέκυψαν κατά τη διάρκεια δύο βασικών εξελικτικών καινοτομιών, την εμφάνιση των πρώτων κυττάρων (ps1) και την εμφάνιση των Μεταζώων (ps5). Ένα ακόμα σημαντικό γεγονός, δευτερεύουσας όμως σημασίας, είναι η εμφάνιση των ευκαρυωτικών οργανισμών (ps2) (Domazet-Lošo and Tautz, 2010).

Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης λοιπόν, μέσω της προσθήκης νέων γονιδίων και της κατάλληλης αξιοποίησης ήδη υπαρχόντων, η εξέλιξη των Μεταζώων οδήγησε στην προοδευτική δόμηση ενός πολύπλοκου δικτύου που αποτελείται από πολλά επίπεδα (Arenas-Mena, 2017; Chen et al., 2014; Schmitz et al., 2016) και διασφαλίζει την ύπαρξη του πολύπλοκου φαινοτύπου που απαιτείται για τη διατήρηση της πολυκυτταρικότητας (Trigos et al., 2019). Οι αλληλεπιδράσεις των γονιδίων και των κυτταρικών διεργασιών στις οποίες συμμετέχουν, αντικατοπτρίζουν κομβικά σημεία της εξελικτικής ιστορίας στα οποία εμφανίστηκαν σημαντικές προσαρμογές (Trigos et al., 2018). Στα κύτταρα των πολυκύτταρων οργανισμών, αυτό το πολύπλοκο δίκτυο συγκροτείται από δύο βασικά υποδίκτυα, το ένα μονοκυτταρικής και το άλλο πολυκυτταρικής προέλευσης, τα οποία συνδέονται σε ορισμένα κομβικά σημεία στα οποία εντοπίζονται γονίδια που διαμεσολαβούν και ρυθμίζουν την επικοινωνία μεταξύ γονιδίων που ανήκουν στα δύο διαφορετικά υποδίκτυα. Η μεγαλύτερη διασύνδεση παρουσιάζεται μεταξύ διεργασιών μονοκυτταρικής προέλευσης, μεσαία διασύνδεση υπάρχει μεταξύ των διεργασιών πολυκυτταρικής προέλευσης και η χαμηλότερη διασύνδεση εμφανίζεται μεταξύ διεργασιών μονοκυτταρικής και πολυκυτταρικής προέλευσης που συνεκφράζονται στο κύτταρο (Trigos et al., 2017). Στα κομβικά σημεία του δικτύου, δηλαδή στα όρια μεταξύ μονοκυτταρικότητας και πολυκυτταρικότητας, συναθροίζονται γονίδια που εμφανίστηκαν στις αρχές της εξέλιξης της πολυκυτταρικότητας και σχετίζονται με τον καρκίνο (Domazet-Loso and Tautz, 2010) διότι παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διασύνδεση και το συντονισμό των γονιδίων των δύο υποδικτύων. Όταν αυτή η ευαίσθητη ισορροπία διαταράσσεται, το αποτέλεσμα είναι η ανάπτυξη καρκίνου (Trigos et al., 2019).

Πιο συγκεκριμένα, η διαταραχή γονιδίων και λειτουργιών που εμφανίστηκαν για να εξυπηρετήσουν τη διακυτταρική επικοινωνία των πρώτων πολυκύτταρων οργανισμών, σχετίζεται με την εμφάνιση και την πρόοδο του καρκίνου, όπως υποδεικνύει η παρουσία καρκίνου και φαινομένων που ομοιάζουν με καρκίνο στο Δέντρο της Ζωής (Aktipis et al.,

2015; Domazet-Lošo et al., 2014) και η απορρύθμιση μονοπατιών που ευθύνονται για τη διατήρηση της λειτουργικής πολυκυτταρικότητας (Engler et al., 2009; Ruiz-Trillo and Nedelcu, 2015). Διαταραχές που αφορούν γονίδια που σχετίζονται με την πολυκυτταρικότητα προσδίδουν πλεονέκτημα σε κακοήθεις όγκους (Chen et al., 2015), η έκφραση πολύ συντηρημένων γονιδίων είναι χαρακτηριστικό καρκινικών κυττάρων που εμφανίζουν ανθεκτικότητα στα φάρμακα (Wu et al., 2015) και η ενεργοποίηση μεταγραφικών προγραμμάτων που σχετίζονται με την αποδιαφοροποίηση κυττάρων έχει παρατηρηθεί καθολικά σε καρκινικούς όγκους (Chen et al., 2015; Chen and He, 2016).

Στα υγιή κύτταρα, η έκφραση γονιδίων που προέρχονται από μονοκύτταρους προγόνους και προάγουν την διεκπεραίωση πρωτόγονων κυτταρικών διεργασιών, όπως ο πολλαπλασιασμός και ο μεταβολισμός, περιορίζεται από γονίδια που εμφανίστηκαν πιο πρόσφατα και εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα έκφρασης καθώς προάγουν τη διαφοροποίηση και την εξειδίκευση του κυττάρου και την επικοινωνία του με το εξωκυττάριο περιβάλλον (Trigos et al., 2018). Στον καρκίνο, συμβαίνει το αντίστροφο και η δραστηριότητα πιο πρωτόγονων γονιδίων καταστέλλει τη δραστηριότητα γονιδίων πολυκυτταρικής προέλευσης (Trigos et al., 2018).

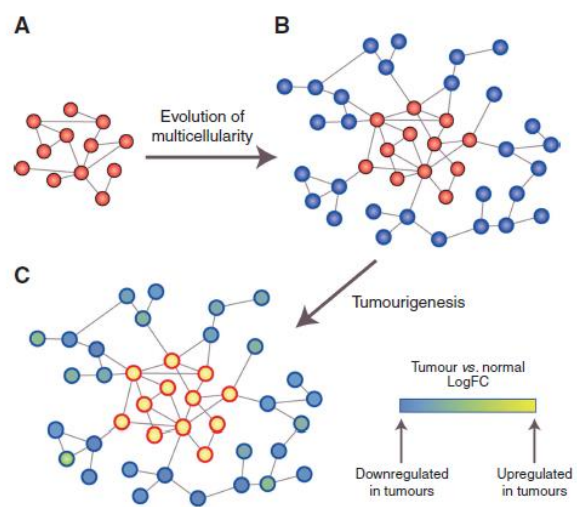


Εικόνα 10. Α) Έκφραση γονιδίων μονοκυτταρικής και πολυκυτταρικής προέλευσης σε υγιή και καρκινικά κύτταρα. Β) Τα γονίδια που συνδέουν (πράσινοι κόμβοι) το δίκτυο γονιδίων μονοκυτταρικής προέλευσης (κόκκινοι κόμβοι) με το δίκτυο γονιδίων πολυκυτταρικής προέλευσης (μπλε κόμβοι) αποτελούν σημεία ευαισθησίας (Trigos et al., 2018).

Στα μεταγραφώματα καρκινικών κυττάρων λοιπόν, παρατηρείται αυξημένη έκφραση των παλαιών και συντηρημένων γονιδίων που πρωτοεμφανίστηκαν σε έναν πρωτόγονο μονοκύτταρο πρόγονο και ορθόλογα των οποίων εντοπίζονται σε Βακτήρια, Μύκητες και Πρωτόζωα (Trigos et al., 2017). Αντιθέτως, στα καρκινικά κύτταρα παρατηρείται μειωμένη έκφραση ακόμα και ευρεία απενεργοποίηση των πιο πρόσφατα εξελιγμένων γονιδίων και κυρίως αυτών που εμφανίστηκαν στην εποχή μεταξύ της εμφάνισης των Μεταζώων και της εμφάνισης των Ευθηρίων (Trigos et al., 2017). Με άλλα λόγια, πρόκειται για καθολική απενεργοποίηση κυτταρικών διεργασιών

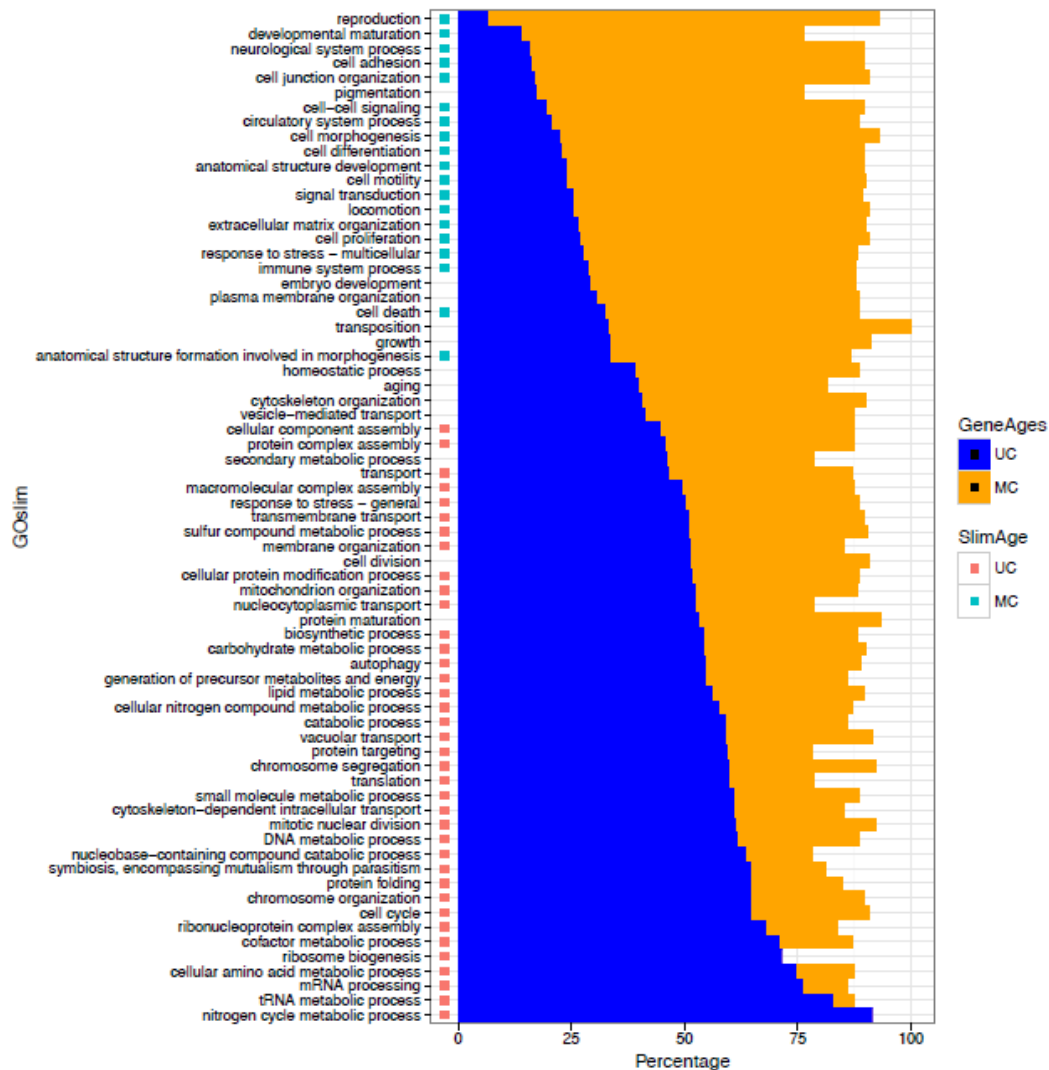
που συνδέονται με την πολυκυτταρικότητα και πλήρης επαναπρογραμματισμός των ενδοκυττάρων δικτύων επικοινωνίας και σηματοδότησης που χαρακτηρίζουν την ογκογένεση. Ταυτόχρονα, αυξάνεται η διεκπεραίωση κυτταρικών διεργασιών που συνδέονται με τη μονοκυτταρικότητα, όπως η διατήρηση του σήματος πολλαπλασιασμού, η αποφυγή του κυτταρικού θανάτου και η γενωμική αστάθεια που τελικά οδηγούν στην

καρκινογένεση (Trigos et al., 2017). Το ποιες κυτταρικές διεργασίες, που συνδέονται με τη μονοκυτταρικότητα, θα ενεργοποιηθούν εξαρτάται από το ρόλο που έχουν καθώς έχει παρατηρηθεί ότι μεταβολικές πορείες που εμπλέκουν πολύπλοκα μόρια και είναι μονοκυτταρικής προέλευσης, παρεμποδίζονται ως μέρος του συνολικού μεταβολικού επαναπρογραμματισμού του καρκινικού κυττάρου (Trigos et al., 2017). Μάλιστα, η αυξημένη έκφραση των γονιδίων μονοκυτταρικής προέλευσης παίζει μεγαλύτερο ρόλο στην αύξηση της



Εικόνα 11.
 A) Το δίκτυο γονιδίων μονοκυτταρικής προέλευσης.
 B) Το δίκτυο γονιδίων όπως διαμορφώνεται με την εξέλιξη της πολυκυτταρικότητας.
 C) Προφίλ έκφρασης των γονιδίων του δικτύου ενός κυττάρου πολυκύτταρου οργανισμού κατά την ογκογένεση (Trigos et al., 2018).

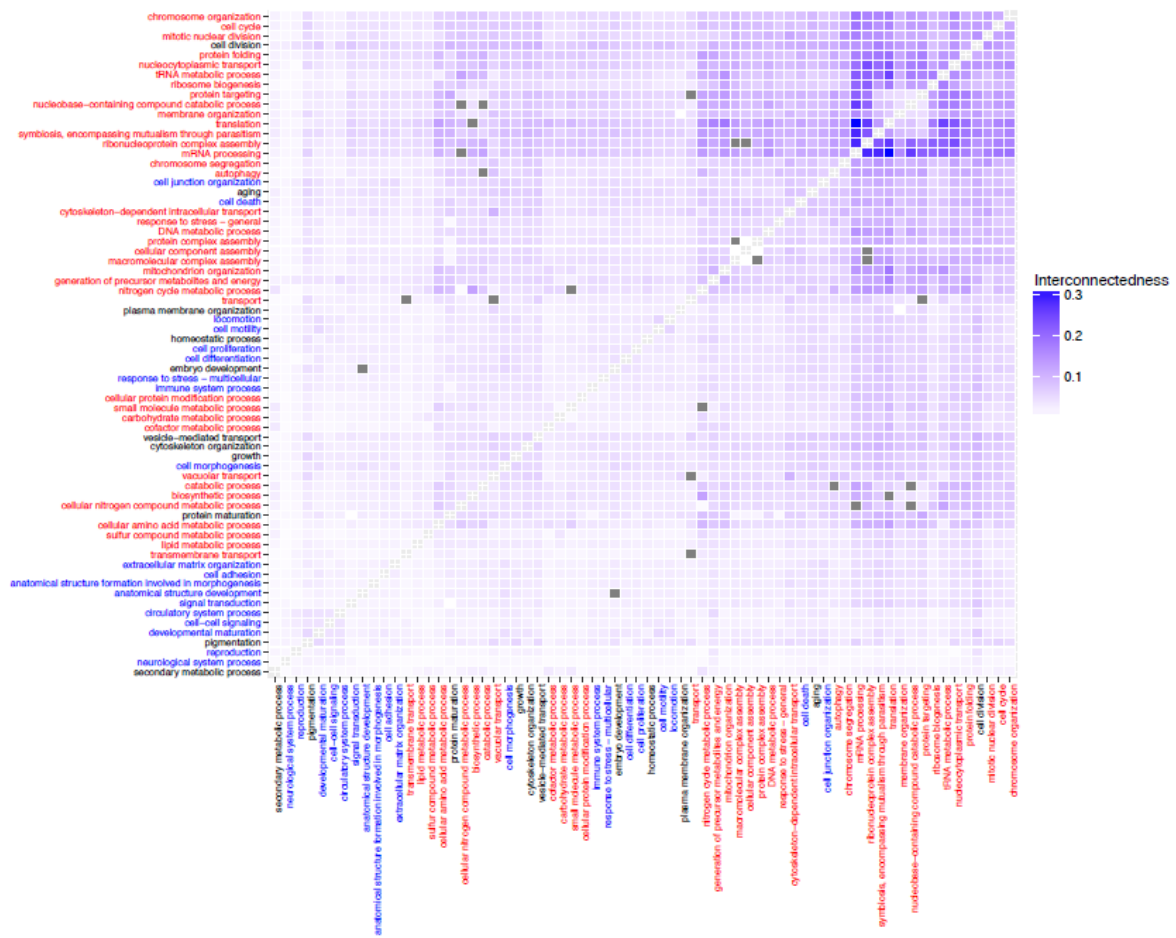
διεκπεραίωσης κυτταρικών διεργασιών απ' ότι η σίγηση γονιδίων πολυκυτταρικής προέλευσης. Αντιθέτως, η απενεργοποίηση κυτταρικών διεργασιών συνδέεται κυρίως με τη σίγηση γονιδίων πολυκυτταρικής προέλευσης (Trigos et al., 2017).



Εικόνα 12. Ποσοστό γονιδίων μονοκυτταρικής και πολυκυτταρικής προέλευσης που συμμετέχουν σε κάθε κυτταρική διεργασία καθώς και οι ηλικίες των γονιδίων αυτών σύμφωνα με το GOslims (Trigos et al., 2017).

Η καρκινογένεση λοιπόν, προάγει την ανεξάρτητη δράση γονιδίων μονοκυτταρικής προέλευσης, ενώ ταυτόχρονα διαχωρίζει μεταξύ τους τα δύο υποδίκτυα που συγκροτούν το δίκτυο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης στο κύτταρο, οδηγεί δηλαδή στον αμοιβαίο

αποκλεισμό. Μάλιστα, μόνο ένας μικρός αριθμός μεταλλάξεων φαίνεται να οδηγεί ένα κύτταρο να μετατραπεί από υγιές σε κακοήθες καρκινικό (Martincorena et al., 2017; Schinzel, 2008; Stratton et al., 2009). Επομένως μεμονωμένες μεταλλάξεις σε γονίδια του δικτύου που εμφανίζουν υψηλή διασύνδεση (hubness), μπορεί να επιφέρουν σημαντικές αλλαγές στο φαινότυπο του κυττάρου (Trigos et al., 2019). Ο καρκίνος λοιπόν, μπορεί να θεωρηθεί ως η χαλάρωση των περιορισμών που επιβάλλονται στο γονιδίωμα προκειμένου να διατηρείται η πολύπλοκη πολυκύτταρη δομή, με αποτέλεσμα τη χαλάρωση των περιορισμών που έχουν επιβληθεί στην εξέλιξη αυτών των σωματικών κυττάρων (Chen et al., 2015; Davies and Lineweaver, 2011).



Εικόνα 13. Heatmap της διασύνδεσης που εμφανίζουν μεταξύ τους γονίδια διεργασιών μονοκυτταρικής (κόκκινο) και πολυκυτταρικής προέλευσης (μπλε). Όσο πιο σκούρο είναι το χρώμα του τετραγώνου, τόσο πιο πολύ διασυνδέονται οι δύο κυτταρικές διεργασίες του GOslims (Trigos et al., 2017).

Μοντέλα Καρκίνου

Υπόθεση του Εγωιστικού Κυττάρου και Υπόθεση Εσωτερικού Δαρβινισμού

Μια υπόθεση που είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη, θεωρεί τον καρκίνο ως ένα σύνολο αφηνιασμένων και εγωιστικών κυττάρων (rogue cell hypothesis) των οποίων η συμπεριφορά εμφανίζει χαρακτηριστικά μονοκυτταρικής διαβίωσης (Merlo et al., 2006). Πράγματι, αν εξετάσουμε τον φαινότυπο των καρκινικών κυττάρων, βρίσκουμε πολλές ομοιότητες με μονοκύτταρους οργανισμούς, όπως τα βακτήρια και οι ζύμες, που συμπεριλαμβάνουν την ανταγωνιστική ανάπτυξη αντί της συνεργατικής, την εξάρτηση από τη ζύμωση, που χρησιμοποιείται από μονοκύτταρους οργανισμούς (φαινόμενο Warburg) (Vander Heiden et al., 2009), την αυξημένη γενωμική αστάθεια, που εντοπίζεται στους μονοκύτταρους οργανισμούς κυρίως όταν διαβιούν κάτω από αντίξοες συνθήκες (Yona et al., 2012) και την μεταλλαξογένεση, ως απόκριση στο κυτταρικό στρες, βάση αρχαίων μηχανισμών επιδιόρθωσης DNA που πρωτοεμφανίστηκαν σε μονοκύτταρους οργανισμούς (Cinseros et al., 2017). Η ουσία όμως είναι ότι οι μονοκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί έχουν μία επιτακτική ανάγκη, την αναπαραγωγή.

Στους πολυκύτταρους οργανισμούς όμως, τα πράγματα είναι πολύ διαφορετικά καθώς ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κυττάρων ελέγχεται πολύ αυστηρά από μια πληθώρα μηχανισμών σε διαφορετικά στάδια της ανάπτυξης. Σε γενικές γραμμές, εφόσον το εκάστοτε κύτταρο λειτουργεί σύμφωνα με τις ανάγκες και τις απαιτήσεις του ιστού στον οποίο ανήκει και τόσο το κύτταρο όσο και ο ιστός υπακούν τις εντολές πολλαπλασιασμού, όπως αυτές δίνονται από το γενετικό και το επιγενετικό σύστημα, ο οργανισμός είναι απόλυτα υγιής (Davies and Lineweaver, 2011). Τα καρκινικά κύτταρα όμως, αγνοούν τα σήματα ελέγχου του πολλαπλασιασμού και απόπτωσης και ουσιαστικά μπορούν να επιβιώσουν ανεξάρτητα από τον ιστό από τον οποίο προήλθαν και στον οποίο ανήκουν. Έχουν επίσης τη δυνατότητα να

αποκτήσουν κινητικότητα, να εισβάλλουν στην εξωκυττάρια ουσία, να εισέλθουν στο εσωτερικό αγγείων του κυκλοφορικού ή του λεμφικού συστήματος, να εγκαθιδρύνονται και να δημιουργούν αποικίες σε άλλους ιστούς, μια διαδικασία γνωστή ως μετάσταση (Davies and Lineweaver, 2011).

Η υπόθεση αυτή όμως, αγνοεί πάνω από ένα δισεκατομμύριο χρόνια εξελικτικής ιστορίας που περιλαμβάνει τους πρώτους μονοκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, τα σύγχρονα Μετάζωα και όλες τις ενδιάμεσες μεταβατικές μορφές που υπήρξαν, ενώ αγνοεί πλήρως την εμφάνιση των πρώτων υποτυποδών Μεταζώων (Davies and Lineweaver, 2011). Πιο συγκεκριμένα, εγείρονται δύο βασικά ζητήματα.

Το πρώτο ζήτημα έχει να κάνει με την αδυναμία της θεωρίας αυτής να εξηγήσει το υψηλό βαθμό οργάνωσης και συνεργασίας που παρατηρείται μεταξύ των καρκινικών κυττάρων ενός όγκου (Davies and Lineweaver, 2011). Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η αγγειογένεση κατά την οποία ένας όγκος επάγει τη δημιουργία αγγείων για να εξασφαλίσει την τροφοδότηση των κυττάρων του με αίμα, εξασφαλίζοντας έτσι την συλλογική ευημερία των κυττάρων που τον απαρτίζουν (Davies and Lineweaver, 2011). Ένα πιο ιδιαίτερο παράδειγμα αφορά το γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα επικοινωνούν μεταξύ τους και με τα κύτταρα των παρακείμενων ιστών μέσω της ανταλλαγής χημικών σημάτων. Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι τα νεοπλάσματα απαρτίζονται από ετερογενή κύτταρα, με αποτέλεσμα να μοιάζουν πιο πολύ με οικοσυστήματα αποτελούμενα από ετερογενείς πληθυσμούς κυττάρων, παρά με μια ομάδα έντονα ανταγωνιστικών ανεξάρτητων κυττάρων (Davies and Lineweaver, 2011). Ουσιαστικά, υφίσταται ανταγωνισμός, αλλά σε κάποιο βαθμό, υπάρχει συνεργασία και καταμερισμός εργασίας.

Το δεύτερο βασικό πρόβλημα σχετίζεται με την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να επιστρατεύουν μια εντυπωσιακή ποικιλία μηχανισμών επιβίωσης (Davies and Lineweaver, 2011).

Η συμβατική εξήγηση για την ύπαρξη αυτού του πολυπαραγοντικού "οπλοστασίου" βασίζεται στη Δαρβίνεια εξέλιξη, όχι όμως σε επίπεδο ειδών, αλλά σε επίπεδο οργανισμού με τους υποπληθυσμούς κυττάρων ενός νεοπλάσματος να ανταγωνίζονται μεταξύ τους (Merlo et al., 2006). Η υπόθεση αυτή ονομάζεται υπόθεση εσωτερικού Δαρβινισμού (internal Darwinism hypothesis) και αποδίδει την ύπαρξη όλων αυτών των γνωρισμάτων σε μια σειρά ανεξάρτητων τυχαίων μεταλλάξεων και στη διαδικασία δοκιμής και σφάλματος που χαρακτηρίζει τη Δαρβινική εξέλιξη (Davies and Lineweaver, 2011). Η εξέλιξη αυτών των γνωρισμάτων διευκολύνεται από τον αυξημένο ρυθμό μεταλλαξογένεσης που εμφανίζουν τα καρκινικά κύτταρα, σε συνδυασμό με τις ισχυρές εξελικτικές πιέσεις που ασκούνται καθώς ο οργανισμός αντεπιτίθεται, υποβάλλεται δηλαδή σε θεραπεία. Το αποτέλεσμα είναι ότι ένας αρχικά μικρός υποπληθυσμός καρκινικών κυττάρων, που μπορεί τυχαία να εμφάνισαν κάποιο ή κάποια γνωρίσματα ανθεκτικότητας για να παρακάμψουν την επόμενη απειλή (π.χ. υποξία, δράση του ανοσοποιητικού συστήματος, χημειοθεραπεία), να εκμεταλλεύονται το εξελικτικό τους πλεονέκτημα και να πολλαπλασιάζονται (Davies and Lineweaver, 2011). Στη συνέχεια ένας υποπληθυσμός του νέου αυτού πληθυσμού, εμφανίζει τυχαία ένα νέο γνώρισμα και με αυτόν τον τρόπο, όταν τελικά το νεόπλασμα φτάσει στο σημείο να είναι κακοήθης, αποτελείται από κύτταρα που διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα γνωρισμάτων που τα βοηθούν να επιβιώσουν και είναι σχεδόν άτρωτα (Davies and Lineweaver, 2011).

Σύμφωνα με την υπόθεση του εσωτερικού Δαρβινισμού λοιπόν, η πληθώρα των γνωρισμάτων των καρκινικών κυττάρων οφείλεται σε μια σειρά τυχαίων εξελικτικών συμβάντων. Ένα βασικό αξίωμα της εξέλιξης όμως, είναι πως τυχαίες μεταλλάξεις είναι σχεδόν πάντα επιβλαβείς και εξαλείφονται πριν εξαπλωθούν στον πληθυσμό, τα καρκινικά κύτταρα όμως φαίνονται να παραβιάζουν αυτή την αρχή (Davies and Lineweaver, 2011). Ο τεράστιος αριθμός μεταλλάξεων που συσσωρεύουν τα καρκινικά κύτταρα θα έπρεπε να τα καθιστά λιγότερο προσαρμοσμένα και να τα οδηγεί σε θάνατο, όπως συμβαίνει με τα υγιή

κύτταρα. Σε κάποιες περιπτώσεις έχουν παρατηρηθεί μεγάλη κλίμακας μεταλλάξεις που οδηγούν στη δημιουργία ανώμαλων χρωμοσωμάτων και ανευλοειδών κυττάρων τα οποία είναι χαρακτηριστικά γνωρίσματα των κυττάρων σε προχωρημένα στάδια καρκίνου (Davies and Lineweaver, 2011). Αυτά τα κύτταρα συνήθως εμφανίζουν καταφανείς δομικές τροποποιήσεις, όπως έντονα παραμορφωμένο πυρήνα σε συνδυασμό με εκτενή αναδιάρθρωση χρωματίνης (Zink et al., 2004). Παρόλα αυτά, τέτοια κύτταρα καταφέρνουν όχι μόνο να επιβιώνουν με τον χαοτικό τους καρυότυπο, αλλά είναι και αξιοσημείωτα εμπροσθοβαρή (Ao et al., 2008). Φαίνεται τελικά ότι αντί να διαταράσσουν, με θανάσιμες συνέπειες, την περίτεχνη και σύνθετη κεντρική μηχανή των κυττάρων, αυτές οι δραστικές αλλαγές στο γενετικό υλικό έχουν το αντίθετο αποτέλεσμα, καθιστώντας τα κύτταρα πιο ικανά στην επιβίωση (Davies and Lineweaver, 2011). Όπως διατύπωσε και ο Weinberg, η απόκτηση επιπλέον αντιγράφων ενός χρωμοσώματος και η απώλεια ενός άλλου, μπορεί να επηρεάσει τη γενετική μηχανή του κυττάρου με τέτοιο τρόπο ώστε τελικά να ωφελεί το κύτταρο (Weinberg, 2007).

Αταβιστικό Μοντέλο του Καρκίνου

Αταβισμοί προκύπτουν γιατί γονίδια που ελέγχουν γνωρίσματα που προϋπήρχαν, συχνά διατηρούνται σε ένα γονιδίωμα αλλά απενεργοποιούνται ή υποβαθμίζονται σε ψευδογονίδια (Davies and Lineweaver, 2011). Παραδείγματα αταβιστικών δομών εντοπίζονται σε ανθρώπους που γεννιούνται με ουρά, με δάχτυλα ποδιών ηνωμένα με μεμβράνη, βράγχια, υπερτρίχωση και επιπλέον θηλές (LePage, 2007). Αντίστοιχα φαινόμενα έχουν παρατηρηθεί και σε άλλα είδη. Οι αταβισμοί είναι το αποτέλεσμα της δυσλειτουργίας πιο πρόσφατα εξελιγμένων γονιδίων που καταστέλλουν την ανάπτυξη τέτοιων προγονικών δομών (Hall, 1984; Harris et al., 2006). Συνήθως, οι αταβισμοί συσχετίζονται με μορφολογικά χαρακτηριστικά του αναπτυσσόμενου ζυγωτού, αλλά και ο καρκίνος μπορεί να θεωρηθεί ως ένας αταβισμός που σχετίζεται με προγονικές κυτταρικές λειτουργίες ρυθμιζόμενες από

γονίδια που έχουν κατασταλεί εδώ και περισσότερα από 600 εκατομμύρια χρόνια (Davies and Lineweaver, 2011).

Ο καρκίνος εμφανίζεται σχεδόν σε όλα τα Μετάζωα των οποίων τα ώριμα κύτταρα πολλαπλασιάζονται. Αυτό το φαινόμενο υποδεικνύει ότι οι μηχανισμοί που κατευθύνουν τον καρκίνο έχουν βαθιές ρίζες στην εξελικτική ιστορία, καθώς τα εμπλεκόμενα γονίδια που είναι αρχαία και πολύ συντηρημένα και αυτός ο βαθμός συντήρησης υποδεικνύει ότι έχουν σημαντικό ρόλο σε ζωτικής σημασίας λειτουργίες του φυσιολογικού κυττάρου (Weinberg, 1983).

Η υπόθεση του αταβιστικού μοντέλου του καρκίνου λοιπόν, υποστηρίζει ότι ο καρκίνος προκύπτει όταν οι μηχανισμοί που αξιοποιούνται από διαφοροποιημένα κύτταρα με σκοπό τον έλεγχο θεμελιωδών κυτταρικών διεργασιών αποτυγχάνουν με αποτέλεσμα την επανενεργοποίηση πρωτόγονων μεταγραφικών προγραμμάτων που πρωτοεμφανίστηκαν μαζί με τους πρώτους μονοκύτταρους οργανισμούς (Davies and Lineweaver, 2011; Trigos et al., 2018; Vincent, 2012). Μάλιστα, το επαναλαμβανόμενο μοτίβο σύμφωνα με το οποίο τα καρκινικά κύτταρα εμφανίζουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά που είναι μάλιστα κοινά, ενισχύει την άποψη ότι η εμφάνιση του καρκίνου και η πρόοδός του οφείλονται σε μια ελεγχόμενη μετάβαση από τον πολύπλοκο φαινότυπο πολυκυτταρικότητας, σε έναν πρωτόγονο φαινότυπο μονοκυτταρικότητας (Trigos et al., 2018).

Αυτή η επανενεργοποίηση θεωρείται ότι πυροδοτείται από την παρουσία δυσμενών περιβαλλοντικών παράγοντων, που ομοιάζουν με αυτούς που επικρατούσαν κατά την εξέλιξη των πρωτόγονων μονοκύτταρων οργανισμών (Trigos et al., 2018). Υπό αυτές τις συνθήκες, οι προτεραιότητες του κυττάρου αλλάζουν και αντί για την επιβίωση του οργανισμού, στόχο πλέον αποτελεί η επιβίωση του κυττάρου προωθώντας έτσι την κακοήθεια καθώς τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα (Trigos et al., 2018).

Εκεί έγκειται και η δυσκολία θεραπείας του καρκίνου, καθώς πολλές θεραπευτικές μέθοδοι μιμούνται τις αντιξοότητες που αντιμετώπισαν οι ζωντανοί οργανισμοί κατά την εξέλιξή τους (Vincent, 2011). Η ραδιοθεραπεία μοιάζει με την κοσμική ακτινοβολία που βομβάρδιζε την επιφάνεια της Γης πριν τη διαμόρφωση της στοιβάδας του όζοντος, οι αντιμεταβολίτες μοιάζουν με την κατάρρευση της τροφικής αλυσίδας και την έλλειψη θρεπτικών συστατικών (Heininger, 2001), η αλκυλίωση και η πλατινίωση προκαλούν στο DNA βλάβες παρόμοιες με αυτές που προκαλούνται από την ακτινοβολία, τα αντιβιοτικά με αντικαρκινική δράση δημιουργούν συνθήκες που προωθούν τον ενδοειδικό ανταγωνισμό και η κρυογονική εκτομή ή η εκτομή με ραδιοσυχνότητες μιμούνται ακραίες κλιματολογικές συνθήκες (Vincent, 2011). Είναι ιδιαίτερα εντυπωσιακό το γεγονός πως οι συνθήκες κάτω από τις οποίες μόνο τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να επιβιώσουν και να αναπτυχθούν και ιδιαίτερα η πολύ χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου και το pH, μοιάζουν πολύ με αυτές που επικρατούσαν στην Προκάμβρια περίοδο (Perez-Jimenez et al., 2011) και καθιστούν τα καρκινικά κύτταρα ανθεκτικά στην επίδραση της ακτινοβολίας και των αντικαρκινικών φαρμάκων. Το περιβάλλον συνέχισε να είναι ιδιαίτερα δυσμενές ακόμα και μετά την αύξηση των επιπέδων του οξυγόνου, αλλά πριν το σχηματισμό της στοιβάδας του όζοντος (Vincent, 2011).

Αυτές οι συνθήκες θεωρείται ότι οδήγησαν τα πρωτόγονα κύτταρα σε εξελικτικές καινοτομίες όπως η συγκρότηση οργανωμένου πυρηνικού φακέλου με σκοπό την προστασία του γενετικού υλικού και τη δημιουργία σχέσεων ενδοσυμβίωσης με τελικό αποτέλεσμα τη διαμόρφωση του ευακρωτικού κυττάρου που με τη σειρά της οδήγησε στην ανάπτυξη της πολυκυτταρικότητας και στη συνέχεια στην εξέλιξη των Μεταζώων στα τέλη του Προτεροζωικού Μεγααιώνα (Gross and Bhattacharya, 2010). Όλα τα γονίδια που αναπτύχθηκαν και βοήθησαν στην επιβίωση των κυττάρων σε αυτές τις δύσκολες συνθήκες, υπάρχουν ακόμα στα σύγχρονα κύτταρα σαν ένα πρόγραμμα έκτακτης ανάγκης που

εξασφαλίζει την επιβίωσή τους, όμως επειδή πλέον τα κύτταρα δεν διαβιούν ελεύθερα και ανεξάρτητα, αλλά αποτελούν τμήμα ενός πολυκύτταρου οργανισμού, η ενεργοποίηση του προγράμματος αυτού οδηγεί στην ανάπτυξη του καρκίνου (Vincent, 2011).

Επομένως, η διαδικασία της καρκινογένεσης είναι μη αντιστρέψιμη και η ύπαρξη αυτής της ασυμμετρίας οφείλεται στην ίδια τη διαδικασία της εξέλιξης (Davies and Lineweaver, 2011). Χρειάστηκαν ένα δισεκατομμύριο χρόνια για την εξέλιξη των ευκαρυωτικών γονιδίων που εντοπίζονται στα πρώτα υποτυπώδη Μετάζωα και περίπου άλλο ένα δισεκατομμύριο χρόνια για την εξέλιξη των επιπλέον σύνθετων γενετικών και επιγενετικών μηχανισμών που εντοπίζονται στα σύγχρονα Μετάζωα (Davies and Lineweaver, 2011). Η εξελικτική διαδικασία δημιούργησε διαφορετικά στρώματα γονιδίων και μονοπατιών, χτίζοντας πάνω στα ήδη υπάρχοντα.

Το μοντέλο της αντίστροφης εξέλιξης, οδηγούμενης κυρίως μέσω απώλειας λειτουργίας γονιδίων, ανατρέπει την υπόθεση ότι ο καρκίνος προχωρά χτίζοντας ένα νέο δίκτυο γονιδίων. Αντί αυτού, κατά την εξέλιξη του καρκίνου, προοδευτικά αποδομείται το υπάρχον δίκτυο που σχετίζεται με την πολυκυτταρικότητα και λόγω της ύπαρξης "γενετικής μνήμης" το κύτταρο επιστρέφει σε μονοκύτταρη κατάσταση (Chen et al., 2015; Davies and Lineweaver, 2011) και αυτό γιατί είναι πολύ πιο εύκολο να απενεργοποιηθεί ένα γονίδιο ή να καταστραφεί ένας πολύπλοκος βρόγχος αρνητικής ανατροφοδότησης από το να εξελιχθεί ένας νέος μηχανισμός (Davies and Lineweaver, 2011). Αυτή η ασυμμετρία θέτει τα υγιή κύτταρα ευάλωτα σε μεταλλάξεις που καταστρέφουν αυτή την πολύπλοκη δομή κυτταρικής συνεργασίας, επανενεργοποιώντας έτσι προϋπάρχοντα προγονικά γονίδια και μονοπάτια (Davies and Lineweaver, 2011).

Βάση αυτού, αποκτά νόημα το γεγονός ότι είναι ιδιαίτερα μικρός ο αριθμός των μεταλλάξεων για την μετατροπή ενός υγιούς κυττάρου σε καρκινικό καθώς δρουν βραχυκυκλώνοντας τους εύθραυστους ρυθμιστικούς μηχανισμούς του κυττάρου, οδηγώντας

το κύτταρο να βασιστεί στο πολύ καλά προσαρμοσμένο, εμπροσθοβαρές και αρχαίο οπλοστάσιο γονιδίων και μηχανισμών που διαθέτει κάτω από όλους αυτούς τους λεπτούς, ευαίσθητους σύγχρονους μηχανισμούς (Davies and Lineweaver, 2011). Κάποια από τα εργαλεία του κυττάρου είναι μεταγραφικοί παράγοντες (transcription factors) και γονίδια που εμπλέκονται σε αναπτυξιακές πορείες κατά την πρόιμη εμβρυογένεση (homeobox genes). Όταν αυτά ενεργοποιηθούν, κινητοποιούν και άλλους μηχανισμούς συμπεριλαμβανομένων εκείνων που επιστράτευαν αδιαφοροποίητα ή ελάχιστα διαφοροποιημένα κύτταρα όταν πρωτάρχισαν να συναθροίζονται σε αποικίες ένα δισεκατομμύριο χρόνια πριν (Davies and Lineweaver, 2011). Το γεγονός ότι αρχαία προγονικά χαρακτηριστικά που επανεμφανίζονται προσδίδουν πλεονέκτημα στα καρκινικά κύτταρα που διαβιούν στο εσωτερικό πολυκύτταρων οργανισμών, οφείλεται στο ότι η βασική βιοχημική σύσταση των κυττάρων έχει παραμείνει σε μεγάλο βαθμό αναλλοίωτη για περίπου ένα δισεκατομμύριο χρόνια (Davies and Lineweaver, 2011). Έτσι, αυτά τα προγονικά χαρακτηριστικά μπορούν ακόμα να φανούν χρήσιμα στα κύτταρα αν και έχει αλλάξει το πλαίσιο στο οποίο διαβιούν και λειτουργούν. Ουσιαστικά ένα κύτταρο που ανήκει σε ένα Μετάζωο και λειτουργεί βάση των αρχών που διέπουν την εύρυθμη λειτουργία αυτού του οργανισμού, μετατρέπεται σε κύτταρο παρόμοιο με αυτά που συγκροτούσαν τα πρώτα υποτυπώδη Μετάζωα και υπακούει άλλες αρχές (Davies and Lineweaver, 2011).

Αν για παράδειγμα εξετάσουμε τη δράση κάποιων ενζύμων, όπως το COX-2 και κάποιων microRNAs, όπως το miR-31, που ελέγχουν ένα σύνολο ογκογόνων παραγόντων, τα αξιοσημείωτα και ιδιαίτερα αποδοτικά γνωρίσματα των καρκινικών κυττάρων φαίνεται αδύνατον να προκύπτουν μόνο από κάποιες δεκαετίες εσωτερικού Δαρβινισμού (Davies and Lineweaver, 2011). Αντιθέτως, είναι πολύ πιο πιθανό, να έχουν προκύψει μέσω της εξελικτικής διαδικασίας σε βάθος χιλιετιών με τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός

μηχανισμού που λειτουργεί ως διακόπτης απενεργοποιώντας και ενεργοποιώντας την εμφάνιση προγονικών γνωρισμάτων (Davies and Lineweaver, 2011).

Επίσης, με το κλασικό μοντέλο Δαρβινικής επιλογής, καθίσταται πολύ δύσκολη η εξήγηση του φαινομένου της μετάστασης καρκινικών κυττάρων από τον αρχικό όγκο σε άλλα απομακρυσμένα όργανα του σώματος διότι ο αρχικός ιστός και ο ιστός που προσβάλλεται διαφέρουν σημαντικά (Valastyan and Weinberg, 2011). Για να εγκαθιδρυθούν λοιπόν τα καρκινικά κύτταρα σε έναν νέο ιστό, που σε σύγκριση με τον αρχικό ιστό έχει πολύ διαφορετικό περιβάλλον και πολύ διαφορετικές απαιτήσεις από το ίδιο το κύτταρο, πρέπει να σιγήσουν γονίδια που ευθύνονται για την απόκριση σε σήματα που καθορίζουν την ταυτότητα του κυττάρου, δηλαδή τον ιστό από τον οποίο προέρχεται (Chen et al., 2015).

Αυτή είναι ακριβώς η οδός αποδιαφοροποίησης που ακολουθεί το καρκινικό κύτταρο κατά την διαδικασία της αντίστροφης εξέλιξης και το οδηγεί στην υιοθέτηση του φαινοτύπου μιας μονοκυτταρικής μορφής ζωής (Chen et al., 2015). Το παράδοξο της μετάστασης λοιπόν, αποκτά νόημα υπό το φως του αταβιστικού μοντέλου καθώς η μεταστατική ικανότητα προϋπάρχει στα κύτταρα απλά δεν είναι ενεργοποιημένη και δεν προκύπτει ξαφνικά λόγω τυχαίων μεταλλάξεων (Davies and Lineweaver, 2011). Η ενεργοποίηση συμβαίνει μέσω συγκεκριμένων μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα σημεία του γονιδιώματος και μέσω επιγενετικών αλλαγών, οπότε το κύτταρο αποκτά πρόσβαση σε μια προϋπάρχουσα συμπεριφορά, τη δημιουργία αποικιών όπως ακριβώς οι μονοκύτταροι οργανισμοί (Davies and Lineweaver, 2011).

Συνεπώς, η δημιουργία μεταστάσεων σε απομακρυσμένα όργανα αντιπροσωπεύει ένα από τα τελευταία στάδια της διαδικασίας της αντίστροφης εξέλιξης που οδηγείται από τα γονίδια του ίδιου του κυττάρου μέσω της προοδευτικής αφαίρεσης των περιορισμών στην έκφρασή τους που σχετίζονται με την πολυκυτταρικότητα. Τελικά, η δημιουργία του

πρωταρχικού όγκου και η δημιουργία μεταστατικού όγκου καθοδηγούνται από την ίδια ακριβώς διαδικασία αντίστροφης εξέλιξης (Chen et al., 2015).

Συνολικά, η ανάδυση μιας προϋπάρχουσας οργάνωσης, αποκαλύπτοντας με τυχαία σειρά τα επιμέρους στοιχεία που την απαρτίζουν, φαντάζει πολύ πιο πιθανή και αποδοτική από τη δημιουργία της ίδιας οργάνωσης *ab initio* μέσω της Δαρβινικής διαδικασίας δοκιμής και σφάλματος (Davies and Lineweaver, 2011). Φυσικά, η προϋπάρχουσα αυτή οργάνωση είναι αποτέλεσμα Δαρβινικής εξέλιξης η οποία όμως δεν έλαβε χώρα στο σώμα του ξενιστή για κάποια χρόνια, αλλά στους προγόνους του και για διάστημα χιλιάδων εκατομμυρίων ετών (Davies and Lineweaver, 2011). Γίνεται λοιπόν σαφής διάκριση μεταξύ της απόκτησης γονιδίων από τους γονείς (Δαρβινική εξέλιξη – κάθετη μεταφορά γονιδίων), της απόκτησης γονιδίων από τους ομοίους (Λαμαρκιανή εξέλιξη – οριζόντια μεταφορά γονιδίων) και της επανενεργοποίησης γονιδίων που έχουν προέλθει από μακρινούς προγόνους (Αταβιστικό μοντέλο) (Davies and Lineweaver, 2011). Η αταβιστική θεωρία δεν ισχυρίζεται πως ο εσωτερικός Δαρβινισμός δεν σχετίζεται με την εξέλιξη των νεοπλασμάτων, αλλά ότι οι αταβιστικοί μετασχηματισμοί είναι ένα σχετικά σπάνιο φαινόμενο της κανονικής Δαρβινικής εξέλιξης που παίζει όμως κυρίαρχο ρόλο στην εξέλιξη του καρκίνου (Davies and Lineweaver, 2011).

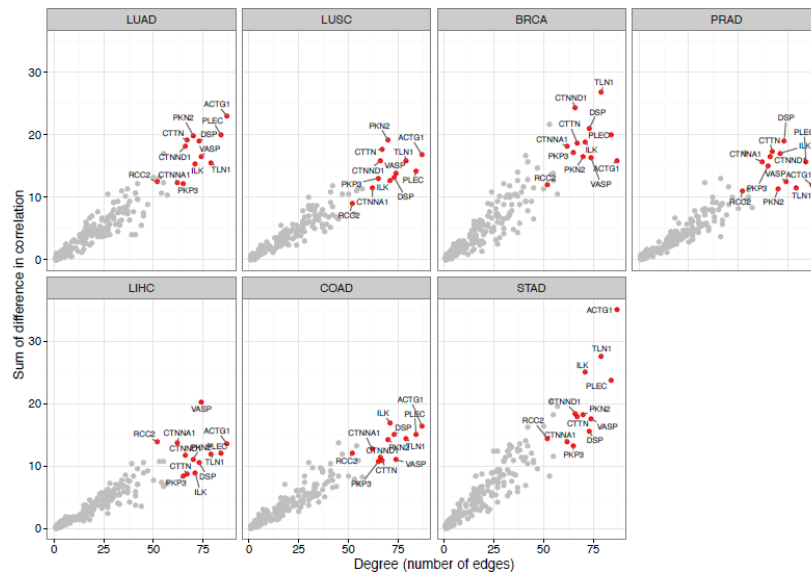
Τελικά, τα καρκινικά κύτταρα δεν είναι νεότευκτοι τύποι κυττάρων, αλλά κληρονόμοι ενός αρχαίου συνόλου γονιδίων και ενός αρχαίου τρόπου επιβίωσης βαθιά ριζωμένου στην πολυκυτταρικότητα (Davies and Lineweaver, 2011). Ένα κύτταρο φέρει πληροφορίες για μονοπάτια που χρειάστηκαν εκατομμύρια χρόνια για να εξελιχθούν. Κάποια από αυτά τα μονοπάτια είναι ακόμη ενεργά στους σημερινούς υγιείς οργανισμούς (π.χ. μονοπάτια που εμπλέκονται στην εμβρυογένεση ή την ίαση πληγών), ενώ άλλα έχουν περιπέσει σε αχρηστία, αλλά παραμένουν στο γονιδίωμα σε λανθάνουσα κατάσταση αναμένοντας την επανενεργοποίησή τους (Davies and Lineweaver, 2011).

Γνωστά Αταβιστικά Γονίδια που Σχετίζονται με Διάφορες Μορφές Καρκίνου

Με τη μεταβολή των αλληλεπιδράσεων γονιδίων που συνδέουν το υποδίκτυο μονοκυτταρικής προέλευσης και το υποδίκτυο πολυκυτταρικής προέλευσης, διαταράσσεται στο σύνολό της η συντονισμένη διεκπεραίωση διεργασιών μονοκυτταρικής και πολυκυτταρικής προέλευσης διότι διαταράσσεται η έκφραση γονιδίων που εμπλέκομαι σε αυτές (Trigos et al., 2017). Τα γονίδια που βρίσκονται λοιπόν σε κομβικές θέσεις που συνδέουν μεταξύ τους τα δύο υποδίκτυα που συγκροτούν το δίκτυο γονιδίων του ανθρώπινου κυττάρου, αποτελούν ιδιαίτερα ευάλωτα σημεία του δικτύου καθώς διατάραξή τους οδηγεί σε αποσυντονισμό και απομόνωση των δύο υποδικτύων (αμοιβαίος αποκλεισμός) με τελικό προορισμό την καρκινογένεση (Trigos et al., 2017).

Δύο πολύ σημαντικές διεργασίες για το ευκαρυωτικό κύτταρο ενός πολυκύτταρου οργανισμού είναι η οργάνωση των χρωμοσωμάτων και η οργάνωση των δομών κυτταρικών συνδέσεων. Στις δύο αυτές διεργασίες εμπλέκονται τόσο γονίδια μονοκυτταρικής όσο και γονίδια πολυκυτταρικής προέλευσης (Trigos et al., 2017). Τα γονίδια που εμπλέκονται στην πρώτη διεργασία "συνδέονται" με τα γονίδια που εμπλέκονται στη δεύτερη διεργασία με αποτέλεσμα τη συντονισμένη και αρμονική διεκπεραίωση αυτών των διεργασιών. Στους καρκινικούς όγκους όμως, αυτός ο συντονισμός χάνεται λόγω διατάραξης της λειτουργίας γονιδίων που γεφυρώνουν μεταξύ τους τα γονιδιακά δίκτυα των δύο αυτών διεργασιών (Trigos et al., 2017). Τα γονίδια που βρίσκονται σε αυτές τις θέσεις κλειδιά λοιπόν, εμφανίζουν μεγάλο αριθμό αλληλεπιδράσεων ο οποίος αλλάζει κατά την αποσύνδεση των δικτύων, δηλαδή την καρκινογένεση (Trigos et al., 2017). Αυτή η αλλαγή στην πυκνότητα των αλληλεπιδράσεων, που ονομάζεται και hubness, σε κύτταρα συμπαγών όγκων Αδενοκαρκινώματος Πνεύμονα, Καρκινώματος Πλακώδους Επιθηλίου του Πνεύμονα, Καρκίνου του Μαστού, Καρκίνου του Προστάτη, Καρκίνου του Ήπατος, Καρκίνου του Παχέος Εντέρου και Καρκίνου του

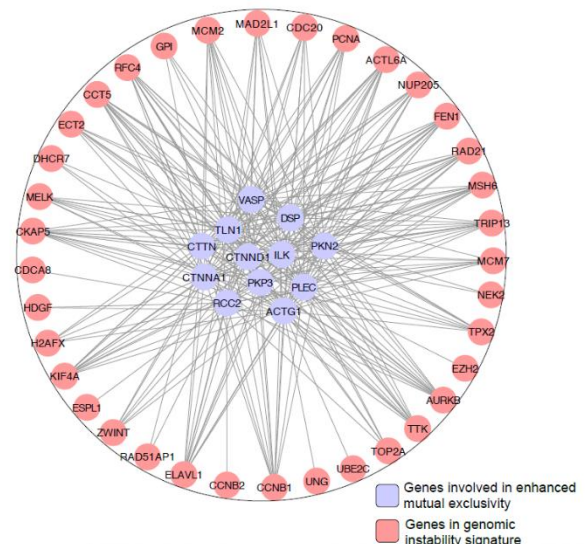
Στομάχου, οδήγησε στην ταυτοποίηση ενός συνόλου 12 γονιδίων που διαμεσολαβούν, έχοντας ρυθμιστικό ρόλο, στη συντονισμένη διεκπεραίωση των προαναφερθέντων διεργασιών (Trigos et al., 2017).



Εικόνα 14. Με κόκκινο φαίνονται τα γονίδια που εμφανίζουν τη μεγαλύτερη διαφορά στον αριθμό των αλληλεπιδράσεών τους σε κύτταρα υγιών ιστών και σε κύτταρα όγκων (προαναφερθείσες μορφές καρκίνου) (Trigos et al., 2017).

Σε αυτά τα δεδομένα, έρχεται να προστεθεί το γεγονός ότι τα 12 αυτά γονίδια αλληλοεπιδρούν με γονίδια που σχετίζονται με γενωμική αστάθεια (Carter et al, 2006) καθώς και με γονίδια που σχετίζονται με κακή πρόγνωση για την εξέλιξη του καρκίνου και με τη δημιουργία μεταστάσεων. Επομένως, τα 12 αυτά γονίδια παίζουν καίριους ρόλους σε ρυθμιστικά δίκτυα που σχετίζονται με τη γενωμική αστάθεια και τη μετάσταση και γενικά εμπλέκονται σε διαδικασίες κλειδιά για την καρκινογένεση (Trigos et al., 2017).

Επομένως, αυτά τα γονίδια μπορούν να



Εικόνα 15. Δίκτυο αλληλεπιδράσεων γονιδίων που σχετίζονται με την αποσύνδεση διεργασιών μονοκυτταρικής και πολυκυτταρικής προέλευσης με γονίδια που αποτελούν δείκτες γενωμικής αστάθειας (Trigos et al., 2017).

θεωρηθούν παν-καρκινικοί μοριακοί δείκτες ή ρυθμιστές της κακοήθειας σε ένα μεγάλο εύρος καρκινικών όγκων (Trigos et al., 2017).

Με την ταυτοποίηση και τον καθορισμό του χρόνου της εξέλιξης της κυτταρικής διαφοροποίησης και συνεργασίας, θα μπορούσαμε να απλοποιήσουμε και να κατανοήσουμε την επί του παρόντος απαγορευτικά περίπλοκη "εργαλειοθήκη" του καρκίνου (Davies and Lineweaver, 2011). Δεδομένου ότι κάθε οργανισμός διαθέτει μονοπάτια κυτταρικής διαφοροποίησης τα οποία είναι αρχικά πανομοιότυπα για όλους τους οργανισμούς και μετά διαφοροποιούνται (Sulston and Horvitz, 1977), υποθέτουμε ότι η εξέλιξη του καρκίνου σε κάθε τύπο κυττάρου θα συσχετίζεται με μια πορεία αντίστροφη αυτής με την οποία διαφοροποιήθηκε (Davies and Lineweaver, 2011). Δηλαδή, η σειρά με την οποία τα αποτελέσματα των μεταλλάξεων μπορούν να παρατηρηθούν στα κύτταρα κατά την πρόοδο του καρκίνου, θα πρέπει να αντικατοπτρίζει το αντίστροφο φυλογενετικό ιστορικό, δηλαδή μια εξελικτική πορεία αντίστροφη αυτής που ακολουθήθηκε κατά την εξέλιξη του οργανισμού (Davies and Lineweaver, 2011). Άλλωστε, σύμφωνα με τον Haeckel «η οντολογία ανακεφαλαιώνει τη φυλογένεση» κυρίως επειδή μεταλλάξεις που εισήχθησαν αργότερα σε μια αναπτυξιακή οδό κάνουν λιγότερη βλάβη από εκείνες που είχαν εισαχθεί νωρίτερα. Όταν τα γονίδια εξουδετερώνονται, οι συνέπειες ποικίλλουν. Τα αρχαία γονίδια είναι πιο πιθανό να διαδραματίσουν θεμελιώδη ρόλο παρά τα περισσότερο πρόσφατα εξελιγμένα γονίδια, έτσι οι συνέπειες της απενεργοποίησης των πρώτων τείνουν να είναι πιο δραστικές και πιο πιθανό να οδηγήσουν σε κυτταρικό θάνατο (Davies and Lineweaver, 2011). Για αυτό τον λόγο, η φυλογενετική ανάλυση γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο μπορεί να βοηθήσει στη διερεύνηση της προέλευσης των γονιδίων αυτών καθώς και στη διαλεύκανση της εξελικτικής τους πορείας με τελικό σκοπό την εύρεση της ρίζας του ίδιου του καρκίνου στο Δέντρο της Ζωής και την αποκωδικοποίησή του.

Τα εν λόγω γονίδια λοιπόν, τα οποία και επιλέξαμε να μελετήσουμε, είναι τα ακόλουθα.

RCC2 (Regulator of Chromosome Condensation 2)

Το γονίδιο *RCC2* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που ρυθμίζει τη δραστηριότητα μικρών GTPασών, όπως η RalA, λειτουργώντας ως παράγοντας ανταλλαγής γουανίνης. Τόσο η *RCC2* όσο και η RalA είναι απαραίτητες για τη σωστή λειτουργία κινητοχώρου – μικροσωληνίσκων στα αρχικά στάδια της μίτωσης (RefSeq, Oct 2016) και η *RCC2* είναι επίσης υπεύθυνη για την οργάνωση του κυτταροσκελετού μικροσωληνίσκων, κατά τη μεσόφαση (Yenjerla et al., 2013). Η πρωτεΐνη *RCC2* είναι επίσης απαραίτητη για τη διασφάλιση κατάλληλων επιπέδων των MAD2L1, AURKB και BIRC5 στα κεντρομερίδια κατά τη μίτωση και για την σωστή προσκόλληση των τελευταίων στη μιτωτική άτρακτο (Mollinari et al., 2003). Τέλος, είναι απαραίτητη για τις φυσιολογικές αποκρίσεις του κυττάρου κατά την επαφή, είτε με την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία είτε με παρακείμενα κύτταρα καθώς και την κατευθυνόμενη μετανάστευση των κυττάρων (Williamson et al., 2014).

<i>RCC2</i>
REACTOME PATHWAYS
Cell Cycle
Cell Cycle, Mitotic
M Phase
Mitotic Anaphase
Mitotic Metaphase and Anaphase
Mitotic Prometaphase
Resolution of Sister Chromatid Cohesion
RHO GTPase Effectors
RHO GTPases Activate Formins
Separation of Sister Chromatids
Signal Transduction
Signaling by Rho GTPases

Εικόνα 16. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *RCC2* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου οδηγεί σε αύξηση της κινητικότητας των κυττάρων και διευκολύνει τη μετάσταση στο Αδενοκαρκίνωμα του Πνεύμονα προκαλώντας

μετάβαση των καρκινικών κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγγυμα (Pang et al., 2017).

- Αποτελεί μοριακό δείκτη καθώς βοηθά στην ταυτοποίηση ασθενών υψηλού κινδύνου και για τους δύο βασικούς φαινοτύπους Ορθοκολικού Καρκίνου (Bruun et al., 2015).
- Αποκλίνουσα έκφραση του γονιδίου, λόγω μειωμένης έκφρασης του miR-29c του οποίου αποτελεί και στόχο, επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στον Καρκίνο του Στομάχου (Matsuo et al., 2013).
- Η έκφραση του γονιδίου ρυθμίζεται από την p53, με αποτέλεσμα να παίζει σημαντικό ρόλο στην καταστολή της μετάστασης (Song et al., 2017).
- Ρυθμίζει την απόπτωση μπλοκάροντας τη σηματοδότηση μέσω της Rac1. Τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου σε κύτταρα καρκινικών όγκων μπορούν να χρησιμεύσουν για την πρόβλεψη της απόκρισης στη χημειοθεραπεία (Wu et al., 2018).
- Διευκολύνει την πρόοδο του Καρκίνου του Μαστού μέσω ρυθμιστικού του ρόλου στο σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt προκαλώντας μετάβαση των καρκινικών κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγγυμα (Chen et al., 2019).
- Αποτελεί στόχο του MicroRNA-331-3p το οποίο αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη μετάσταση στον Καρκίνο των Ωοθηκών (Buranjiang et al., 2019). Επίσης αποτελεί πιθανό στόχο φαρμάκων σε Καρκίνο Ωοθηκών με αντοχή σε θεραπεία με cis-πλατίνη (Gong et al., 2019).
- Ευνοεί τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την αντίσταση στη ακτινοθεραπεία στο Γλοιοβλάστωμα ενεργοποιώντας την μεταγραφή του *DNMT1* (Yu et al., 2019).
- Αποτελεί μη ευνοϊκό μοριακό δείκτη για τον Καρκίνο του Ήπατος, τον Καρκίνο των Νεφρών και το Μελάνωμα και ευνοϊκό μοριακό δείκτη για τον Καρκίνο του Τραχήλου της Μήτρας (Uhlen et al., 2017).

- Αποτελεί στόχο του miR-1247 που δρα καταστέλλοντας την ογκογένεση στον Καρκίνο του Παγκρέατος (Yi et al., 2017).

TLN1 (Talin 1)

Το γονίδιο *TLN1* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη του κυτταροσκελετού η οποία συνδέει δομές του κυτταροσκελετού με την πλασματική μεμβράνη. Η Ταλίνη 1 εντοπίζεται σε μεγάλη συγκέντρωση στις περιοχές σύνδεσης κυττάρου-κυττάρου και κυττάρου-υποστρώματος. Παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην οργάνωση των ινιδίων ακτίνης καθώς και στη μετακίνηση και μετανάστευση διάφορων τύπων κυττάρων όπως οι ινοβλάστες και οι οστεοκλάστες. Μαζί με τις ιντεγκρίνες, κατανέμεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και συμβάλλουν στην προσκόλληση κυττάρων σε εξωκυττάρια δομές καθώς και στην προσκόλληση των λεμφοκυττάρων σε άλλα κύτταρα (RefSeq, Feb 2009).

<i>TLN1</i>
REACTOME PATHWAYS
ARMS-mediated activation
Axon guidance
Cytokine Signaling in Immune system
DAP12 interactions
DAP12 signaling
Developmental Biology
Disease
Diseases of signal transduction
Downstream signal transduction
Fc epsilon receptor (FCERI) signaling
FCERI mediated MAPK activation
Frs2-mediated activation
Gastrin-CREB signalling pathway via PKC and MAPK
GRB2 events in EGFR signaling
GRB2-SOS provides linkage to MAPK signaling for Integrins
Hemostasis
IGF1R signaling cascade
Immune System
Innate Immune System

Insulin receptor signalling cascade
Integrin alphaIIb beta3 signaling
Interleukin receptor SHC signaling
Interleukin-2 signaling
Interleukin-3, 5 and GM-CSF signaling
IRE1alpha activates chaperones
IRS-mediated signalling
IRS-related events triggered by IGF1R
MAP2K and MAPK activation
MAPK family signaling cascades
MAPK1/MAPK3 signaling
Metabolism of proteins
Muscle contraction
NCAM signaling for neurite out-growth
NGF signalling via TRKA from the plasma membrane
Oncogenic MAPK signaling
p130Cas linkage to MAPK signaling for integrins
Paradoxical activation of RAF signaling by kinase inactive BRAF
Platelet activation, signaling and aggregation
Platelet Aggregation (Plug Formation)
Platelet degranulation
Prolonged ERK activation events
RAF/MAP kinase cascade
Response to elevated platelet cytosolic Ca ²⁺
RET signaling
SEMA3A-Plexin repulsion signaling by inhibiting Integrin adhesion
Semaphorin interactions
SHC1 events in EGFR signaling
Signal Transduction
Signaling by BRAF and RAF fusions
Signaling by EGFR
Signaling by GPCR
Signaling by high-kinase activity BRAF mutants
Signaling by Insulin receptor
Signaling by Interleukins
Signaling by Leptin
Signaling by moderate kinase activity BRAF mutants
Signaling by PDGF
Signaling by RAS mutants
Signaling by SCF-KIT
Signaling by Type 1 Insulin-like Growth Factor 1 Receptor (IGF1R)
Signaling by VEGF
Signalling by NGF
Signalling to ERKs
Signalling to p38 via RIT and RIN
Signalling to RAS
Smooth Muscle Contraction
SOS-mediated signalling

Unfolded Protein Response (UPR)
VEGFA-VEGFR2 Pathway
VEGFR2 mediated cell proliferation
XBP1(S) activates chaperone genes
KEGG PATHWAYS
Focal adhesion
Human T-cell leukemia virus 1 infection
Platelet activation
Rap1 signaling pathway
Shigellosis

Εικόνα 17. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *TLN1* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020) και τη βάση KEGG Pathways (Kanehisa and Goto, 2000; Kanehisa, 2019).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Μειωμένη έκφρασή του προωθεί την ανάπτυξη του Ηπατοκυτταρικού Καρκινώματος μέσω ενεργοποίησης του μονοπατιού ERK1/2 (Chen et al., 2017). Επίσης προωθεί τη δημιουργία μεταστάσεων και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης για αυτή τη μορφή καρκίνου (Chen et al., 2017b).
- Αποτελεί στόχο του miR-429 το οποίο μειώνει την έκφραση του γονιδίου και αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη μετάσταση στο Ρινοφαρυγγικό Καρκίνωμα (Wang et al., 2019).
- Ρυθμίζει την ευαισθησία σε χημειοθεραπεία με δοσεταξέλη στο τριπλά αρνητικό Καρκίνο του Μαστού, πράγμα που το καθιστά πιθανό μοριακό δείκτη ευαισθησίας στη χημειοθεραπεία (Singel et al., 2013).
- Αυξημένη έκφραση σχετίζεται με την παθογένεια και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης πρόγνωσης για πιθανή μετάσταση στους λεμφαδένες και επανεμφάνιση του Καρκίνου του Προστάτη (Xu et al., 2016) ή δημιουργία μεταστάσεων στα οστά (Jin et al., 2014).
- Αυξημένη έκφραση είναι ενδεικτική υψηλού ρίσκου για επιθετικό Καρκίνωμα Πλακώδους Επιθηλίου του Στόματος και προωθεί τη μετάσταση (Lai et al., 2011).

- Αποτελεί μη ευνοϊκό μοριακό δείκτη για τον Ορθοκολικό Καρκίνο και τον Καρκίνο των Νεφρών (Uhlen et al., 2017).
- Σχετίζεται με την εισβλητικότητα κυττάρων Γλοιοβλαστώματος (Kang et al., 2015).
- Αποτελεί στόχο του miR-9 που καταστέλλει την ογκογένεση μειώνοντας την έκφραση του γονιδίου στον Καρκίνο των Ωοθηκών (Tang et al., 2013).
- Αυξημένη έκφραση συνδέεται με τη δημιουργία μεταστάσεων στον Καρκίνο Θυρεοειδούς (Luo et al., 2018).
- Αυξημένη έκφραση, λόγω του ότι αποτελεί στόχο του EVI1, έχει αναφερθεί στη Χρόνια Μυελοειδή Λευχαιμία (Halder et al., 2017).
- Μεταλλάξεις στο γονίδιο έχουν συνδεθεί με Σαρκώματα (MFH, FS, EFT) (Sarhadi et al., 2014).

VASP (Vasodilator Stimulated Phosphoprotein)

Το γονίδιο *VASP* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια Ena – VASP. Η *VASP* εντοπίζεται στις εστιακές προσκολλήσεις και εμπλέκεται σε διάφορες διεργασίες που σχετίζονται με τον κυτταροσκελετό, όπως τον πολυμερισμό της ακτίνης και την επιμήκυνση των ινιδίων της καθώς και τη ρύθμιση της πολικότητας του κυττάρου. Εμπλέκεται επίσης στην προσκόλληση των κυττάρων αλλά και στην κινητικότητά τους μέσω της δημιουργίας ψευδοποδίων και άλλων δομών με τον ρόλο της να είναι καθοριστικός στην ενεργοποίηση και στη συνάθροιση των αιμοπεταλίων. Τέλος, εμπλέκεται στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων μέσω σηματοδοτικών μονοπατιών που ρυθμίζουν τις αλληλεπιδράσεις ιντεγκρίνης-εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (RefSeq, Jul 2008).

VASP
REACTOME PATHWAYS
Adaptive Immune System
Axon guidance
Cell junction organization
Cell-Cell communication
Cell-extracellular matrix interactions
Developmental Biology
Generation of second messenger molecules
Immune System
Signaling by Robo receptor
TCR signaling
KEGG PATHWAYS
cGMP-PKG signaling pathway
Fc gamma R-mediated phagocytosis
Focal adhesion
Leukocyte transendothelial migration
Platelet activation
Rap1 signaling pathway
Tight junction

Εικόνα 18. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *VASP* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020) και τη βάση KEGG Pathways (Kanehisa and Goto, 2000; Kanehisa, 2019).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Αυξημένη έκφρασή του λόγω υποξίας προωθεί τη δημιουργία μεταστάσεων στο Ηπατοκυτταρικό Καρκίνωμα (Liu et al., 2018).
- Προωθεί τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη δημιουργία μεταστάσεων στον Καρκίνο του Μαστού (Tian et al., 2018).
- Προωθεί τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη δημιουργία μεταστάσεων στον Καρκίνο του Στομάχου λόγω ενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού PI3/AKT (Chen et al., 2018).
- Αποτελεί μοριακό δείκτη που σχετίζεται με τη δημιουργία μεταστάσεων στον Ορθοκολικό Καρκίνο (Pitari et al., 2018).

- Φωσφορυλίωσή του προάγει τη μετάσταση στον Καρκίνο των Νεφρών (Zhao et al., 2019).
- Σχετίζεται με τη δημιουργία μεταστάσεων στο Οστεοσάρκωμα (Yu, 2011).
- Αυξημένη έκφρασή του στο Αδενοκαρκίνωμα του Πνεύμονα σχετίζεται με το στάδιο της νόσου (Dertsiz, 2005).
- Σχετίζεται με την ανάπτυξη του Μελανώματος και τη δημιουργία μεταστάσεων (Tokuo et al., 2018).
- Αποτελεί στόχο του imatinib το οποίο αποκαθιστά τη φυσιολογική του έκφραση και τις αλληλεπιδράσεις του προϊόντος του γονιδίου στα BCR-ABL κύτταρα Λευχαιμίας (Bernusso et al., 2015).

ACTG1 (Actin Gamma 1)

Το γονίδιο *ACTG1* κωδικοποιεί την Ακτίνη Γάμμα 1. Οι Ακτίνες αποτελούν μια ομάδα πολύ συντηρημένων πρωτεϊνών που εμπλέκονται σε διάφορους τύπους κυτταρικής κινητικότητας και στη συντήρηση του κυτταροσκελετού. Υπάρχουν τρεις βασικές κατηγορίες ισομορφών Ακτινών που εντοπίζονται στα σπονδυλωτά και αυτές είναι οι Άλφα, Βήτα και Γάμμα. Οι Ακτίνες Άλφα (ACTA1 – actin alpha 1, skeletal muscle και ACTA2 – actin alpha 2, smooth muscle και ACTC1 – actin alpha cardiac muscle 1) εντοπίζονται στους μυϊκούς ιστούς και αποτελούν σημαντικές συστατικές πρωτεΐνες. Οι Ακτίνες Βήτα (ACTB – actin beta, cytoplasmic 1) και Γάμμα (ACTG1 – actin gamma 1, cytoplasmic 2 και ACTG2 – actin gamma 2, enteric smooth muscle) συνυπάρχουν στους περισσότερους κυτταρικούς τύπους ως συστατικά του κυτταροσκελετού και ως μεσολαβητές της κινητικότητας στο εσωτερικό του κυττάρου.

Η Ακτίνη Γάμμα 1 είναι κυτταροπλασματική ακτίνη και εντοπίζεται σε όλους τους κυτταρικούς τύπους (RefSeq, Jul 2017).

<i>ACTG1</i>
REACTOME PATHWAYS
Axon guidance
Developmental Biology
EPHB-mediated forward signaling
EPH-Ephrin signaling
Fcγ receptor (FCGR) dependent phagocytosis
Immune System
Innate Immune System
Regulation of actin dynamics for phagocytic cup formation
RHO GTPase Effectors
RHO GTPases Activate Formins
RHO GTPases Activate WASPs and WAVES
Signal Transduction
Signaling by Rho GTPases
KEGG PATHWAYS
Adherens junction
Apoptosis
Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)
Bacterial invasion of epithelial cells
Dilated cardiomyopathy (DCM)
Fluid shear stress and atherosclerosis
Focal adhesion
Hepatocellular carcinoma
Hippo signaling pathway
Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)
Influenza A
Leukocyte transendothelial migration
Oxytocin signaling pathway
Pathogenic Escherichia coli infection
Phagosome
Platelet activation
Proteoglycans in cancer
Rap1 signaling pathway
Regulation of actin cytoskeleton
Salmonella infection
Shigellosis
Thermogenesis
Thyroid hormone signaling pathway
Tight junction
Vibrio cholerae infection

Viral myocarditis
Yersinia infection

Εικόνα 19. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *ACTG1* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020) και τη βάση KEGG Pathways (Kanehisa and Goto, 2000; Kanehisa, 2019).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Αποτελεί μη ευνοϊκό δείκτη για τον σχετιζόμενο με το αλκοόλ Ηπατοκυτταρικό Καρκίνο (Gao et al., 2018) και μείωση της έκφρασής του, λόγω πρόσδεσης της πρωτεΐνης RRAD, αναστέλλει το φαινόμενο Warburg και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων αυξάνοντας την απόπτωσή τους (Yan et al., 2019).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου στον Καρκίνο του Δέρματος ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη μετανάστευσή τους μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού ROCK (Dong et al., 2017) και αποτελεί μη ευνοϊκό δείκτη για το Μελάνωμα.
- Επιγενετικές τροποποιήσεις (μεθυλίωση) στο γονίδιο το καθιστούν ευνοϊκό δείκτη πρόγνωσης της κακοήθειας στον Καρκίνο του Τραχήλου της Μήτρας (Wang et al., 2019a).
- Αποτελεί στόχο του miR-10a που ρυθμίζει τη μετάβαση κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα αποτρέποντας τη δημιουργία μεταστάσεων στον Ορθοκολικό Καρκίνο (Liu et al., 2017).
- Αποτελεί στόχο του miR-145-5p, το οποίο σχετίζεται με τη δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες στον Μη-μικροκυτταρικό Καρκίνο του Πνεύμονα πράγμα που επηρεάζει την πρόγνωση και τη θεραπευτική αγωγή (Gan et al., 2017)
- Η ύπαρξη συγκεκριμένων μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (single nucleotide polymorphisms-SNP) επηρεάζει την απόκριση των ασθενών στη θεραπεία με

vincristine στην Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία που παρουσιάζεται σε παιδιά (Cerri et al., 2014).

- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου στο Οστεοσάρκωμα, σε σύγκριση με καλοήθεις όγκους στα οστά, σχετίζεται με τη δημιουργία μεταστάσεων και κατά συνέπεια με την πρόγνωση και τη θεραπευτική αγωγή (Li et al., 2010).
- Το miR-888 προκαλεί μείωση της έκφρασης του γονιδίου και σχετίζεται στενά με τον επιθετικό φαινότυπο των κυττάρων MCF-7 στον Καρκίνο του Μαστού (Huang et al., 2014).
- Αποτελεί μη ευνοϊκό δείκτη για τον Καρκίνο των Νεφρών (Uhlen et al., 2017).

PLEC (Plectin 1)

Το γονίδιο *PLEC* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που αποτελεί σημαντικό μέλος της οικογένειας των πλακινών οι οποίες έχουν ζωτικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας των κυττάρων και των ιστών, στην ρύθμιση των δυναμικών αλλαγών της αρχιτεκτονικής του κυττάρου και του σχήματός του καθώς και στη δημιουργία δομών που λειτουργούν ως ικρίωμα για τη συναρμολόγηση, τοποθέτηση και ρύθμιση σηματοδοτικών συμπλεγμάτων (Leung et al., 2002; Sonnenberg and Liem, 2007). Πιο συγκεκριμένα, η Πλεκτίνη διασυνδέει ενδιάμεσα ινίδια με μικροσωληνίσκους και μικροϊνίδια και αγκυροβολεί τα ενδιάμεσα ινίδια σε δεσμοσώματα ή σε ημιδεσμοσώματα (Koster, 2002). Από αυτό το ένα γονίδιο, προκύπτουν πολλές ισομορφές, οι οποίες εντοπίζονται σε ένα μεγάλο εύρος κυτταρικών τύπων και ιστών (Liu et al., 1996). Μάλιστα, διαφορετικές ισομορφές φέρουν σήματα που οδηγούν στον εντοπισμό τους σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα (Rezniczek, 2003). Επίσης, η έκφραση συγκεκριμένων ισομορφών βρέθηκε να συνδέεται από τον τύπο του κυττάρου και στο αναπτυξιακό στάδιο (Andrä et al., 2003; Fuchs et al., 1999; Rezniczek et al., 2007), με αποτέλεσμα κάθε κυτταρικός τύπος να περιέχει ένα συγκεκριμένο και μοναδικό συνδυασμό

(αναλογία και σύσταση) ισομορφών Πλεκτίνης οι οποίες εξυπηρετούν μοναδικά τις ανάγκες του κάθε κυτταρικού τύπου, ανάλογα με τη λειτουργία του (Andrä et al., 2003; Rezniczek, 2003; Winter et al., 2008).

<i>PLEC</i>	
REACTOME PATHWAYS	
Apoptosis	
Apoptotic cleavage of cellular proteins	
Apoptotic execution phase	
Assembly of collagen fibrils and other multimeric structures	
Caspase-mediated cleavage of cytoskeletal proteins	
Cell junction organization	
Cell-Cell communication	
Collagen formation	
Extracellular matrix organization	
Programmed Cell Death	
Type I hemidesmosome assembly	

Εικόνα 20. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *PLEC* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Αυξημένα επίπεδα έκφρασης σχετίζονται με την καρκινογένεση κυττάρων του πλακώδους επιθηλίου σε Νεοπλάσματα Παραρινικών Κόλπων (Yang et al., 2019).
- Μειωμένα επίπεδα στον Καρκίνο του Ήπατος προάγουν τη δημιουργία μεταστάσεων αλλά παρέχουν και ευαισθησία σε θεραπεία με sorafenib (Cheng et al., 2017).
- Χαμηλά επίπεδα έκφρασης είναι ενδεικτικά για την καλή πρόγνωση της πορείας της νόσου σε ασθενείς με μη μεταστατικό Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Στόματος (Rikardsen et al., 2015).
- Ρυθμίζει την εισβλητικότητα κυττάρων στον Καρκίνο του Παχέος Εντέρου (μη ευνοϊκός δείκτης) (McInroy and Määttä, 2011).
- Αποτελεί δείκτη για το διαχωρισμό πρωταρχικών και μεταστατικών όγκων στο Αδενοκαρκίνωμα Παγκρέατος (Bausch et al., 2010).

- Στο Μελάνωμα, εισβλητικά κύτταρα με τάση για δημιουργία μεταστάσεων φέρουν αυξημένο αριθμό αντιγράφων του γονιδίου (Koroknai et al., 2016).
- Αποτελεί δείκτη ευαισθησίας για τον Καρκίνο των Όρχεων (Paumard-Hernández et al., 2018).
- Αποτελεί μη ευνοϊκό προγνωστικό δείκτη για τον Καρκίνο των Νεφρών και τον Καρκίνο του Πνεύμονα (Uhlen et al., 2017).

CTTN (Cortactin)

Το γονίδιο *CTTN* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα καθώς και στις περιοχές σύνδεσης κυττάρου-υποστρώματος. Η Κορτακτίνη έχει δύο βασικές λειτουργίες. Αρχικά, ευθύνεται για την οργάνωση του κυτταροσκελετού ακτίνης, με αποτέλεσμα να εμπλέκεται στη διαμόρφωση του σχήματος του κυττάρου και την κινητικότητα του μέσω του σχηματισμού δομών όπως στα ψευδοπόδια. Κατά συνέπεια, εμπλέκεται στην κινητικότητα των κυττάρων, την μετανάστευσή τους, την εισβλητικότητά τους και τη δημιουργία μεταστάσεων. Δεύτερον, αποτελεί μια πρωτεΐνη προσκόλλησης συμβάλλοντας στη σύνδεση κυττάρων μεταξύ τους αλλά και κυττάρων με εξωκυττάρια δομές στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία (RefSeq, May 2010).

<i>CTTN</i>
REACTOME PATHWAYS
Clathrin-mediated endocytosis
Membrane Trafficking
RHO GTPase Effectors
RHO GTPases activate PAKs
Signal Transduction
Signaling by Rho GTPases
Vesicle-mediated transport
KEGG PATHWAYS
Bacterial invasion of epithelial cells

Pathogenic Escherichia coli infection
Proteoglycans in cancer
Shigellosis
Tight junction

Εικόνα 21. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *CTTN* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020) και τη βάση KEGG Pathways (Kanehisa and Goto, 2000; Kanehisa, 2019).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Αποτελεί στόχο του miR-448 που μειώνει την έκφραση του γονιδίου με αποτέλεσμα την αναστολή πολλαπλασιασμού των κυττάρων και την προαγωγή της απόπτωσης στο Γλοίωμα (Su et al., 2018).
- Αποτελεί στόχο του miR-182 που μειώνει την έκφρασή του μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την κινητικότητα των κυττάρων και αναστέλλει τη δημιουργία μεταστάσεων στον Μη-μικροκυτταρικό Καρκίνο του Πνεύμονα (Li et al., 2018).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου προωθεί τη δημιουργία μεταστάσεων, ευνοώντας τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και αποτρέποντας την απόπτωση, στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Οισοφάγου (Luo et al., 2006).
- Τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου μπορούν να βοηθήσουν στην πρόγνωση της εξέλιξης της νόσου στον Καρκίνο Κεφαλής και Τραχήλου (Ramos-García et al., 2018) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον σχεδιασμό εξατομικευμένης θεραπείας (Hermida-Prado et al., 2018).
- Αποτελεί στόχο του παράγοντα *MTSS1* που οδηγεί στην καταστολή της μετανάστευσης και της εισβλητικότητας των κυττάρων στο Γλοιβλάστωμα (Zhang and Qi, 2014).
- Ουβικιτίνωση της πρωτεΐνης, λόγω ενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt/ β -κατενίνης που προκαλείται από τη μειωμένη έκφραση του *RNF128*, προωθεί τη

μετάβαση των κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα στο Μελάνωμα (Wei et al., 2019).

- Συνδέεται με το κίνδυνο επανεμφάνισης της νόσου στον Καρκίνο του Λάρυγγα (Vilaronga et al., 2018). Επίσης σε συνδυασμό με την κινάση FAK αποτελούν δείκτη πρόγνωσης για την πορεία όγκων που βρίσκονται στο κατώφλι της κακοήθειας στη συγκεκριμένη μορφή καρκίνου (Rodrigo et al., 2011).
- Ο πολυμορφισμός g.-9101C>T έχει συνδεθεί με την ανάπτυξη προχωρημένων μορφών Καρκίνου του Στομάχου (Kim et al., 2015).
- Λόγω αλληλεπίδρασης της παραγόμενης από το γονίδιο πρωτεΐνης με την πρωτεΐνη HBx του ιού της Ηπατίτιδας Β, προωθείται ο πολλαπλασιασμός και η μετανάστευση των κυττάρων στο Ηπατοκυτταρικό Καρκίνωμα (Li et al., 2019). Επίσης, υπερέκφραση του γονιδίου συνδέεται με υψηλή εισβλητικότητα των κυττάρων, δυσμενή πρόγνωση για την πορεία της νόσου και την επιβίωση σε αυτή τη μορφή καρκίνου (Gang et al., 2013).
- Φωσφορυλίωση της παραγόμενης πρωτεΐνης συνδέεται με την επανεμφάνιση τη νόσου στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Δέρματος (Zhu et al., 2019).
- Αποτελεί στόχο του miR-542-3p που ρυθμίζει την έκφραση του και αναστέλλει την κυτταρική ανάπτυξη και την εισβλητικότητα των κυττάρων στον Ορθοκολικό Καρκίνο (Long et al., 2016). Επίσης προωθεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ενεργοποιώντας το μονοπάτι EGFR-MAPK (Zhang et al. 2016).
- Φωσφορυλίωση της παραγόμενης πρωτεΐνης, λόγω της πρωτεϊνικής κινάσης ATM, προωθεί την μετανάστευση και εισβολή των κυττάρων στον Καρκίνο του Μαστού (Lang et al., 2018).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου προωθεί τη δημιουργία μεταστάσεων, ευνοώντας τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και αποτρέποντας την απόπτωση, στο Καρκίνωμα του

Πλακώδους Επιθηλίου του Οισοφάγου (Luo et al., 2006). Μπορεί μάλιστα να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης και στόχος φαρμάκων για αυτή τη μορφή καρκίνου (Lu et al., 2014).

- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου συνδέεται με την καρκινογένεση, προχωρημένα στάδια της νόσου και μειωμένη πιθανότητα επιβίωσης στο Οστεοσάρκωμα (Folio et al., 2012).
- Συνδέεται με τη δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Στόματος και αποτελεί πιθανό στόχο φαρμάκων (Ramos-García et al., 2018b). Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται και με δυσμενή πρόγνωση για την πορεία της νόσου και επιβίωση χωρίς επανεμφάνιση (Horn et al., 2018).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με τη μετανάστευση και εισβλητικότητα των κυττάρων DU145 και κατά συνέπεια τη δημιουργία μεταστάσεων στον Καρκίνο του Προστάτη (Nakane et al., 2011).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου στην Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία Β Κυττάρων προωθεί τη μετανάστευση των κυττάρων μεταξύ επιθηλίων και την επανεμφάνιση της νόσου με υποτροπή του μυελού των οστών, με αποτέλεσμα να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης και ειδικά σε περιπτώσεις που εμφανίζεται αντίσταση στη θεραπευτική αγωγή (Velázquez-Avila et al., 2018).
- Προωθεί τη δημιουργία μεταστάσεων στον Καρκίνο των Νεφρών (Shen et al., 2014).
- Λόγω του ότι ευθύνεται για την κινητικότητα των κυττάρων, διευκολύνει την εξαγείωση των καρκινικών κυττάρων και κατά συνέπεια τη δημιουργία μεταστάσεων στον Καρκίνο της Ουροδόχου Κύστης (Tokui et al., 2014).

- Αυξημένη έκφραση της σε αποδιαφοροποιημένα κύτταρα συνδέεται με υψηλή κινητικότητα και δυσμενή πρόγνωση της νόσου στον Καρκίνο των Ωοθηκών (Li et al., 2015).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου συνδέεται με την μετανάστευση και εισβλητικότητα κυττάρων στον Καρκίνο του Θυρεοειδούς και τη δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες, ειδικά λόγω της αλληλεπίδρασης με το προϊόν του πρωτο-ογκογονιδίου *PBF* (Watkins et al., 2016).

DSP (Desmoplakin)

Το γονίδιο *DSP* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη των δεσμοσωμάτων. Η Δεσμοπλακίνη ευθύνεται για την οργάνωση των συμπλόκων καδερίνης-πλακωσφαιρίνης προς σχηματισμό διακριτών δομών στην πλασματική μεμβράνη και αγκυροβολεί τα ενδιάμεσα ινίδια σε δεσμοσωμικές πλάκες. Γενικά, η πρωτεΐνη αποτελεί απαραίτητο συστατικό για τον σχηματισμό λειτουργικών δεσμοσωμάτων (RefSeq, Jan 2016).

<i>DSP</i>
REACTOME PATHWAYS
Apoptosis
Apoptotic cleavage of cell adhesion proteins
Apoptotic cleavage of cellular proteins
Apoptotic execution phase
Developmental Biology
Formation of the cornified envelope
Immune System
Innate Immune System
Keratinization
Neutrophil degranulation
Programmed Cell Death
KEGG PATHWAYS

Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)

Εικόνα 22. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *DSP* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020) και τη βάση KEGG Pathways (Kanehisa and Goto, 2000; Kanehisa, 2019).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Μειωμένη έκφραση παίζει ρόλο στην εξέλιξη του Καρκίνου του Μαστού όταν τα κύτταρα μετασχηματίζονται από φυσιολογικά και διαφοροποιημένα σε αποδιαφοροποιημένα που σχηματίζουν όγκους καθώς και τη δημιουργία μεταστάσεων (Davies et al., 1999).
- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου συνδέεται με την εισβλητικότητα κυττάρων και τη δημιουργία μεταστάσεων στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Στόματος (Hiraki et al., 1996).
- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου αποτελεί δείκτη για την εκτίμηση της πιθανότητας δημιουργίας απομακρυσμένων μεταστάσεων στο Καρκίνωμα Πλακώδους Επιθηλίου του Οισοφάγου. Επίσης, η ισομορφή *DSP II* εντοπίστηκε μόνο σε όγκους με δυσμενή πρόγνωση, πράγμα που υποδεικνύει το ρόλο της στην καρκινογένεση (Papagerakis et al., 2009).
- Θεωρείται γονίδιο-οδηγός της πορείας της νόσου στο στάδιο III στον Ορθοκολικό Καρκίνο και πιθανόν να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της πορείας της νόσου και στόχος φαρμάκων (Palaniappan et al., 2016).
- Αποτελεί στόχο του miR4435-2HG που αναστέλλει τη δράση της και οδηγεί στην ενεργοποίηση του μονοπατιού Wnt/ β -κατενίνης που σηματοδοτεί τη μετάβαση κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα στο Καρκίνο του Στομάχου (Wang et al., 2019).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου έχει παρατηρηθεί στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Πνεύμονα σε σχέση με τα επίπεδα που έχουν καταγραφεί στο

Αδενοκαρκίνωμα Πνεύμονα και το Αδενοσκοπωματικό Καρκίνωμα του Πνεύμονα, σε αυτές τις δυο μορφές όμως η πρωτεΐνη εντοπίστηκε στη μεμβράνη και στο κυτταρόπλασμα. Επομένως για τις τρεις αυτές μορφές Καρκίνου του Πνεύμονα υπάρχουν διαφορετικά προφίλ έκφρασης και τοποθέτησης της πρωτεΐνης στο κύτταρο (Young et al., 2002).

- Αποτελεί δείκτη που σχετίζεται με την αδυναμία T-κυτταροτοξικών κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος να ταυτοποιήσουν καρκινικά κύτταρα, γεγονός που συνδέεται με υψηλή θνησιμότητα. Δύο μορφές καρκίνου στις οποίες έχει μελετηθεί αυτό το φαινόμενο είναι οι μεταστάσεις του Μελανώματος και ο Καρκίνος των Ωοθηκών (Salerno et al., 2016).
- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου συνδέεται με τη δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες στο Ηπατοκυτταρικό Καρκίνωμα (Lee et al., 2009).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου συνδέεται με τον κλινικό υπότυπο I και τον διαχωρίζει από τον υπότυπο II στον Καρκίνο των Ωοθηκών. Οι δύο αυτοί κλινικοί υπότυποι έχουν διαφορετική πρόγνωση και πιθανότητα επιβίωσης (Xie et al., 2019).
- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου που οφείλεται σε μεθυλίωση του DNA στην περιοχή του γονιδίου και οδηγεί σε σίγησή του, έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της λειτουργίας του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt/β-κατενίνης, δρώντας έτσι ως ογκοκατασταλτικός παράγοντας. Επίσης ευθύνεται για την απόκτηση ευαισθησίας σε αντικαρκινικά φάρμακα που προκαλούν απόπτωση στον Μη-μικροκυτταρικό Καρκίνο του Πνεύμονα (Yang et al., 2012).
- Αποτελεί ευνοϊκό προγνωστικό δείκτη για τον Καρκίνο των Νεφρών (Uhlen et al., 2017).

ILK (Integrin Linked Kinase)

Το γονίδιο *ILK* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που συνδέει την πλασματική μεμβράνη με την κυτταροπλασματική περιοχή των β-ιντεγκρινών όπου ρυθμίζει την διαμεσολαβούμενη από την ιντεγκρίνη μεταγωγή σήματος. Η δραστηριότητά της είναι σημαντική για τη μετάβαση των κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα και η υπερέκφραση του γονιδίου έχει συσχετιστεί με την ογκογένεση και τη μετάσταση (RefSeq, Jun 2013).

<i>ILK</i>
REACTOME PATHWAYS
Cell junction organization
Cell-Cell communication
Cell-extracellular matrix interactions
Localization of the PINCH-ILK-PARVIN complex to focal adhesions
KEGG PATHWAYS
Axon guidance
Bacterial invasion of epithelial cells
Endometrial cancer
Focal adhesion
PPAR signaling pathway
Shigellosis

Εικόνα 23. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *ILK* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020) και τη βάση KEGG Pathways (Kanehisa and Goto, 2000; Kanehisa, 2019).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Λόγω του εντοπισμού της πρωτεΐνης στα σημεία προσκόλλησης μεταξύ των κυττάρων, παίζει ρόλο στη σηματοδότηση μέσω αυξητικών παραγόντων και ιντεγκρινών. Όταν η λεπτή αυτή ισορροπία διαταράσσεται, έχουμε δηλαδή αυξημένη έκφραση του γονιδίου, παρατηρείται μετάβαση των κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα, εισβλητικότητα και γενικότερα πιο επιθετικές μορφές καρκίνου (Canel et al., 2013).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με τη μετάβαση των καρκινικών κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα, την αποδιαφοροποίησή τους καθώς και την αντίσταση

στη χημειοθεραπεία, που συνδέεται με αυτά τα δύο χαρακτηριστικά και τη γενικότερη πορεία εξέλιξης του όγκου στον Καρκίνο του Παχέος Εντέρου (Tsoumas et al., 2018).

- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου έχει συσχετιστεί με τον αυξημένο πολλαπλασιασμό, την μετανάστευση και την εισβλητικότητα των καρκινικών κυττάρων στον Καρκίνο των Ωοθηκών και μάλιστα θεραπεία με emodin περιορίζει τους προαναφερθέντες φαινοτύπους μειώνοντας την έκφραση της ILK (Lu et al., 2017). Επίσης, αυξημένη έκφραση του γονιδίου, καθώς και των ιντεγκρινών, οδηγεί σε αυξημένη εισβλητικότητα, καθώς ρυθμίζει τις αλληλεπιδράσεις των κυττάρων με το εξωκυττάριο περιβάλλον και σχετίζεται με την επιθετικότητα της νόσου στον Καρκίνο των Ωοθηκών (Choi et al., 2012).
- Μέσω της εμπλοκής του στο σηματοδοτικό μονοπάτι Twist-ITGB1-FAK/ILK συνεισφέρει στη μετάβαση κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγγυμα στον Καρκίνο του Μαστού (Yang et al., 2016). Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με την ανάπτυξη του όγκου, τη μετάβαση από το επιθήλιο στο μεσέγγυμα και μάλιστα όσο πιο αυξημένη είναι η έκφραση, τόσο σε πιο προχωρημένο στάδιο βρίσκεται η νόσος (Akrida et al., 2018). Επίσης, σχετίζεται με τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων ενεργοποιώντας το μονοπάτι PI3K/Akt πράγμα που την καθιστά πιθανό στόχο θεραπειών για τον Καρκίνο του Μαστού (Qu et al., 2017).
- Ευνοεί την μετανάστευση των κυττάρων μέσω ενεργοποίησης της μετάβασης των κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγγυμα και γενικότερα σχετίζεται με κακοήθη φαινότυπο και εισβλητικότητα στον Μη-μικροκυτταρικό Καρκίνο του Πνεύμονα (Chen et al., 2013).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με το επιθετικό Αδενοκαρκίνωμα των Παγκρεατικών Πόρων και μάλιστα συνδέεται με το τρίτο και τέταρτο στάδιο της νόσου

και τη δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες και κατά συνέπεια αποτελεί δείκτη δυσμενούς πρόγνωσης (Zhang et al., 2016).

- Το μονοπάτι LIMS1/ILK έχει συσχετιστεί με την προώθηση της ανάπτυξης του όγκου και αποτελεί πιθανό στόχο θεραπείας στο Νευροβλάστωμα (Saeki et al., 2018).
- Εμπλέκεται στον Καρκίνωμα της Ουροδόχου Κύστης επειδή συμμετέχει στο σηματοδοτικό μονοπάτι ILK/PI3K/Akt το οποίο ελέγχει τη μετάβαση των κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα και αποτελεί πιθανό διαγνωστικό δείκτη και στόχο θεραπειών για αυτή τη μορφή καρκίνου (Zhuang et al., 2016).
- Σχετίζεται με την αντίσταση στην ακτινοθεραπεία δρώντας ως διαμεσολαβητής στη σηματοδότηση της ILKAP και επομένως αποτελεί πιθανό στόχο θεραπείας, μαζί με άλλες πρωτεΐνες εστιακής προσκόλλησης των κυττάρων, στο Πολύμορφο Γλοιοβλάστωμα (Hausmann et al., 2015).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με το Ηπατοκυτταρικό Καρκίνωμα και την Κίρρωση καθώς συνδέεται με την ενεργοποίηση της Akt (Peroukides et al., 1994).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με το μεγάλο μέγεθος του όγκου, το προχωρημένο στάδιο της νόσου, την εισβλητικότητα, τη δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες, τη δυνατότητα θεραπείας μέσω χειρουργικής επέμβασης και τη γενικότερη επιβίωση στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου/Αδενοσκοπωματικό και το Αδενοκαρκίνωμα της Χοληδόχου Κύστης και λόγω αυτού αποτελεί δείκτη πρόγνωσης για αυτή τη μορφή καρκίνου (Li et al., 2012).
- Διαταραχές στην έκφραση του γονιδίου συνδέονται με τον επιθετικό Καρκίνο του Θυρεοειδούς και αποτελεί πιθανό στόχο θεραπειών (Shirley et al., 2016).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου συνδέεται με το Θηλώδες Κυσταδενοκαρκίνωμα των Σιελογόνων Αδένων και κυρίως τη δημιουργία μεταστάσεων πράγμα που το καθιστά πιθανό δείκτη πρόγνωσης για αυτή τη μορφή καρκίνου (Chen et al., 2012).

- Απορρύθμιση του σηματοδοτικού μονοπατιού στο οποίο συμμετέχει σχετίζεται με τον μεταστατικό Καρκίνο των Νεφρών (Khan et al., 2016).
- Μειωμένη φωσφορυλίωση του προϊόντος του γονιδίου και του στόχου του *Akt-S473* επηρεάζουν τη δράση των ιντεγκρινών και επομένως την αγκυροβόληση των κυττάρων και τις αλληλεπιδράσεις τους με τον εξωκυττάριο χώρο. Επίσης, η πρόοδος της ανάπτυξης του όγκου και η αντίσταση στη φαρμακευτική αγωγή εξαρτώνται κατά πολύ από αυτές τις αλληλεπιδράσεις με αποτέλεσμα να υπάρχει συσχέτιση με τον επιθετικό και εισβλητικό φαινότυπο των κυττάρων του Μελανώματος (Kharbili et al., 2017).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τη μετανάστευση και την εισβλητικότητα στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Λάρυγγα και κατά συνέπεια αποτελεί πιθανό στόχο-δείκτη για αυτή τη μορφή καρκίνου (Wu et al., 2018).
- Ο ρυθμιστικός βρόχος ανατροφοδότησης KRAS-ILK επιτρέπει στα καρκινικά κύτταρα να ρυθμίζουν την έκφραση του KRAS και να αλληλοεπιδρούν με το μικροπεριβάλλον του όγκου ευνοώντας έναν επιθετικό φαινότυπο που περιλαμβάνει και μετάβαση των κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα. Η ανατροφοδοτική ρύθμιση μέσω KRAS-ILK είναι συγκεκριμένη για τον Καρκίνο του Παγκρέατος και λόγω αυτού θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως στόχος θεραπείας που θα καταστέλλει την ογκογόνο σηματοδότηση KRAS στοχεύοντας την ILK στη συγκεκριμένη μορφή καρκίνου (Chu et al., 2016).
- Προωθεί τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τα οποία βασίζονται σε αυτή για την ανάπτυξή τους, στην Οξεία και τη Χρόνια Μυελοειδή Λευχαιμία πράγμα που την καθιστά πιθανό στόχο για θεραπεία (de la Puente et al., 2015).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με την πρόοδο της νόσου του Καρκινώματος του Πλακώδους Επιθηλίου του Οισοφάγου και μάλιστα πιθανόν έχει

αξία στην πρόβλεψη της έκβασης της χημειοθεραπείας και της ακτινοθεραπείας (Ma et al., 2019).

- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου συνδέεται με ιδιαίτερα κακοήθη φαινότυπο και πιο συγκεκριμένα με χαμηλή διαφοροποίηση των κυττάρων του όγκου, προχωρημένα στάδια της νόσου, εισβλητικότητα, δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες και μικρότερη επιβίωση γενικότερα στον Καρκίνο του Στομάχου με αποτέλεσμα να αποτελεί έναν πιθανό δείκτη πρόγνωσης για αυτή τη μορφή καρκίνου (Gu et al., 2014).
- Παίζει ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και την επιβίωση που εξαρτάται από την PTEN με αποτέλεσμα η αναστολή της δράσης της να αποτελεί πιθανή μέθοδο θεραπείας στον Καρκίνο του Προστάτη (Persad et al., 2000).

PKN2 (Protein Kinase N2)

Το γονίδιο *PKN2* κωδικοποιεί μια PKC-σχετιζόμενη Πρωτεϊνική Κινάση Σερίνης/Θρεονίνης που εμπλέκεται σε συγκεκριμένες κυτταρικές διεργασίες μεταγωγής σήματος και απόκρισης. Η πρωτεΐνη παίζει ρόλο στην ρύθμιση της προόδου του κυτταρικού κύκλου, την οργάνωση του κυτταροσκελετού ακτίνης (φωσφορυλιώνει την CTTN εμποδίζοντας την να αλληλεπιδράσει με τα ινίδια ακτίνης στα αστροκύτταρα), τη μετανάστευση και την εισβλητικότητα των κυττάρων, την προσκόλληση των κυττάρων και την ενεργοποίηση της μεταγραφής ως απόκριση σε σήμα. Ειδικά σε ό,τι αφορά τον κυτταρικό κύκλο, η πρωτεΐνη είναι απαραίτητη για τη μετάβαση από τη φάση G2 στη φάση M και την αποκοπή κατά την κυττοκίνηση με ECT2-εξαρτώμενο τρόπο (Guen et al., 2016).

<i>PKN2</i>
REACTOME PATHWAYS
RHO GTPase Effectors
RHO GTPases activate PKNs
Signal Transduction

Signaling by Rho GTPases
KEGG PATHWAYS
NOD-like receptor signaling pathway
PI3K-Akt signaling pathway
Yersinia infection

Εικόνα 24. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *PKN2* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020) και τη βάση KEGG Pathways (Kanehisa and Goto, 2000; Kanehisa, 2019).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου εμφανίζεται στα κύτταρα του Τριπλά Αρνητικού Καρκίνου του Μαστού και αποτελεί πιθανό στόχο φαρμάκων (Lin et al., 2017). Επίσης έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο στον Καρκίνο του Μαστού γενικότερα (Morais-Rodrigues et al., 2020).
- Έχει συσχετιστεί με τον Καρκίνο των Νεφρών (Hopkins et al., 2016).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου και υπερ-φωσφορυλίωση της παραγόμενης πρωτεΐνης προκύπτει όταν κύτταρα εκτίθενται στον καπνό καθώς και σε κύτταρα του Καρκίνου της Κεφαλής και του Τραχήλου καθιστώντας σημαντική την συνεισφορά της *PKN2* στην ογκογένεση. Σίγηση του γονιδίου είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της δημιουργίας αποικιών καθώς και τη μείωση της μετανάστευσης και της εισβλητικότητας. Κατά συνέπεια, η *PKN2* μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πιθανός στόχος θεραπείας στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου της Κεφαλής και του Τραχήλου, ειδικά για ασθενείς που είναι καπνιστές (Rajagopalan et al., 2018).
- Μέσω κυτταρικού μοντέλου, έχει δειχθεί ότι η σχετικά αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με τη μετανάστευση των κυττάρων και την εισβλητικότητα στον Καρκίνο του Προστάτη (Lachmann et al., 2011). Επίσης, σχετίζεται με μονοπάτια που κατευθύνουν την κινητικότητα των κυττάρων και ενώ δεν εμφανίζει αυξημένη έκφραση σε πρωτογενείς όγκους στον Καρκίνο του Προστάτη, εμφανίζει αυξημένη

έκφραση σε μεταστάσεις και κατά συνέπεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης προσδιορισμού της διαφοροποίησης των κυττάρων του όγκου (Yang et al., 2017).

- Η έκφραση του γονιδίου σε κύτταρα του Καρκίνου του Παχέος Εντέρου συνδέεται με ευνοϊκή πρόγνωση της πορείας της νόσου καθώς σχετίζεται με χαμηλή παρουσία M2 μακροφάγων στου καρκινικούς ιστούς, μέσω του ρυθμιστικού μονοπατιού DUSP6-Erk1/2, ενώ φαίνεται και να περιορίζει την ανάπτυξη των όγκων με συνέπεια να αποτελεί πιθανό θεραπευτικό στόχο (Cheng et al., 2018). Μειωμένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με προχωρημένα στάδια της νόσου και δυσμενή πρόγνωση, καθιστώντας το γονίδιο και την παραγόμενη πρωτεΐνη ογκοκατασταλτικούς παράγοντες (Cheng et al., 2018).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου συνδέεται με τη μετανάστευση και την εισβλητικότητα των κυττάρων στον Καρκίνο της Ουροδόχου Κύστης (Lachmann et al., 2011).

CTNNA1 (Catenin Alpha 1)

Το γονίδιο *CTNNA1* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια των κατενινών οι οποίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σύνδεση των κυττάρων συνδέοντας τις N- και E-καδερίνες, που εντοπίζονται στην πλασματική μεμβράνη, με τα ινίδια ακτίνης που εντοπίζονται στο εσωτερικό του κυττάρου. Η Κατενίνη Άλφα 1 έχει την ιδιότητα να υφίσταται μεταβολές στη διαμόρφωσή της ως απόκριση στην κυτταροσκελετική τάση, προκαλώντας έτσι αναδιάταξη των συνδέσεων ινιδίων ακτίνης και καδερίνης. Κατά συνέπεια, η πρωτεΐνη αυτή θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των κυττάρων (RefSeq, May 2016).

CTNNA1

REACTOME PATHWAYS

Adherens junctions interactions
CDO in myogenesis
Cell junction organization
Cell-Cell communication
Cell-cell junction organization
Developmental Biology
Myogenesis
RHO GTPase Effectors
RHO GTPases activate IQGAPs
Signal Transduction
Signaling by Rho GTPases
Signaling by VEGF
VEGFA-VEGFR2 Pathway
KEGG PATHWAYS
Adherens junction
Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)
Bacterial invasion of epithelial cells
Endometrial cancer
Gastric cancer
Hippo signaling pathway
Leukocyte transendothelial migration
Pathways in cancer
Adherens junction
Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)

Εικόνα 25. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *CTNNA1* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020) και τη βάση KEGG Pathways (Kanehisa and Goto, 2000; Kanehisa, 2019).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου καθώς και άλλων γονιδίων των οποίων τα προϊόντα σχετίζονται με τη συνοχή των κυττάρων, ευνοεί την ογκογένεση στον Καρκίνο του Μαστού (Hu et al., 2019). Επίσης δρα ως ογκοκατασταλτικός παράγοντας στον Τριπλά Αρνητικό Καρκίνο του Μαστού διότι αναστέλλει τη σηματοδότηση μέσω NF-κB (Piao et al., 2014).
- Το ψευδογονίδιο *CTNNAPI* εμφανίζει διαταραχή της έκφρασης του στον Ορθοκολικό Καρκίνο και μάλιστα η έκταση της διαταραχής σχετίζεται με προχωρημένα στάδια της νόσου και τη δημιουργία μεταστάσεων. Έχει δειχτεί ότι το ψευδογονίδιο παίζει ρυθμιστικό ρόλο στην έκφραση του φυσιολογικού γονιδίου *CTNNA1*. Αυξημένη

έκφραση και των δύο αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την ανάπτυξη του όγκου σταματώντας τον κυτταρικό κύκλο στη μετάβαση από το στάδιο G0 στο G1. Επομένως, και τα δύο αποτελούν πιθανούς διαγνωστικούς και προγνωστικούς δείκτες για αυτή τη μορφή καρκίνου (Chen et al., 2016). Επίσης, μειωμένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με μειωμένη διαφοροποίηση των κυττάρων, μεγαλύτερη πιθανότητα δημιουργίας μεταστάσεων και γενικά μη ευνοϊκή πρόγνωση για την πορεία της νόσου στον Ορθοκολικό Καρκίνο καθιστώντας το έναν δείκτη πρόγνωσης και γενικότερης πιθανότητας επιβίωσης για αυτή τη μορφή καρκίνου (Raftopoulos et al., 1998).

- Εκτομή του γονιδίου καθώς και κάποιες μεταλλάξεις του έχουν συσχετιστεί με την προδιάθεση ανάπτυξης Καρκίνου του Στομάχου (Weren et al., 2018).
- Απώλεια τμήματος ή ολόκληρου του μεγάλου βραχίονα του χρωμοσώματος 5 (del(5q)) είναι μια χρωμοσωμική ανωμαλία συχνή σε άτομα που εμφανίζουν Μυελοδυσπλαστικό Σύνδρομο, το οποίο αποτελεί προλευχαιμική διαταραχή και οδηγεί στην ανάπτυξη Οξείας Μυελοειδούς Λευχαιμίας. Στην χρωμοσωμική αυτή περιοχή εδράζεται και το ογκοκατασταλτικό αυτό γονίδιο και απώλειά του ή μειωμένη έκφρασή του συνεισφέρει στην ανάπτυξη της Λευχαιμίας. Πολλές φορές μάλιστα, το εναπομείναν αλληλόμορφο υφίσταται σίγηση μέσω μεθιλίωσης του υποκινητή του και αποακετυλίωση των ιστονών. Το τελικό αποτέλεσμα είναι ο αυξημένος πολλαπλασιασμός των κυττάρων και η αποφυγή της απόπτωσης και τελικά η μετατροπή των φυσιολογικών αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων σε καρκινικά (Liu et al., 2006).
- Απενεργοποίηση του γονιδίου καθώς και η και ανώμαλη έκφραση του σχετίζονται με την ογκογένεση, τον αυξημένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες ή στο ήπαρ στον Καρκίνο του Παγκρέατος (Li et al.,

2003). Επίσης, μειωμένη επιγενετική ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου, μέσω μεθυλίωσης, που οφείλεται σε μετάλλαξη ή μειωμένη έκφραση του γονιδίου *Setd2*, σχετίζεται με τη μετάβαση καρκινικών κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα και γενικά μη ευνοϊκή πρόγνωση για ασθενείς με Αδενοκαρκίνωμα των Πόρων του Παγκρέατος (Niu et al., 2019).

- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου έχει συσχετιστεί με αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και μειωμένη διαφοροποίηση των κυττάρων στον Μη-μικροκυτταρικό Καρκίνο του Πνεύμονα (Pirinen et al., 2001). Επίσης, η παραγόμενη πρωτεΐνη αποτελεί ρυθμιστή του HIF που προκαλεί καρκινογένεση σε συνθήκες υποξίας και εμφανίζει μειωμένα επίπεδα στον Καρκίνο του Πνεύμονα με αποτέλεσμα να θεωρείται δείκτης διάγνωσης και πρόγνωσης της πορείας της νόσου (Strivastava et al., 2012). Μάλιστα, όσο η νόσος εξελίσσεται, τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου μειώνονται, καθώς σε μικρούς όγκους αρχικού σταδίου που δεν έχουν αναπτύξει ακόμα αγγειακό σύστημα, τα επίπεδα είναι ακόμα υψηλά και αποτελούν ευνοϊκό δείκτη πρόγνωσης. (Lee et al., 2002).
- Η παραγόμενη πρωτεΐνη εμπλέκεται σε μονοπάτια που σχετίζονται με την ογκογένεση, την κινητικότητα των κυττάρων, τη μεταξύ τους διασύνδεση και τη δημιουργία μεταστάσεων στον Καρκίνο της Ουροδόχου Κύστης (Kumari et al., 2015).
- Επιγενετικές τροποποιήσεις και συγκεκριμένα αυξημένη μεθυλίωση του γονιδίου σχετίζονται με κακή πρόγνωση της πορείας της νόσου και μειωμένα ποσοστά επιβίωσης στον Καρκίνο των Ωοθηκών (Chang et al., 2017).
- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με το Μελάνωμα, ενώ σίγηση του γονιδίου ευνοεί την εισβλητικότητα των κυττάρων και τη δημιουργία μεταστάσεων σε αυτή τη μορφή καρκίνου (Zhang and Hersey, 1999).

- Τα μοτίβα έκφρασης του γονιδίου σχετίζονται με τους ιστολογικούς υποτύπους Θυμωμάτων περισσότερο απ' ό τι με τη βιολογική τους συμπεριφορά (Vodicka et al., 2020).
- Μειωμένη συγκέντρωση της παραγόμενης πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα σχετίζεται με την ανάπτυξη όγκων στους λεμφαδένες, ενώ μειωμένη συγκέντρωση της παραγόμενης πρωτεΐνης στη μεμβράνη σχετίζεται με μικρή πιθανότητα επιβίωσης χωρίς επανεμφάνιση της νόσου στον Καρκίνο των Νεφρών (Aaltomaa et al., 2004).
- Σημαντικά αυξημένα επίπεδα έκφρασης έχουν παρατηρηθεί σε Γλοιβλαστώματα και Αστροκυττώματα (Shinoura et al., 1995).
- Σε πρωτογενή καρκινώματα, εμφανίζεται μειωμένη έκφραση του γονιδίου και συγκέντρωση της παραγόμενης πρωτεΐνης τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στη μεμβράνη, ενώ σε εισβλητικά και με μικρή διαφοροποίηση καρκινώματα η συγκέντρωση της πρωτεΐνης στη μεμβράνη είναι πολύ μειωμένη ή απουσιάζει πλήρως στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Στόματος (Williams et al., 2007).
- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου συνδέεται με εισβλητικό φαινότυπο, που οδηγεί στη δημιουργία μεταστάσεων γενικά και ειδικά τη δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες στον Καρκίνο του Οισοφάγου (Kadowaki et al., 1994).
- Αλλαγές στην έκφραση του γονιδίου είναι συχνές στα Αδενώματα και στα Πρωτογενή Καρκινώματα του Ήπατος και μάλιστα έχουν προγνωστική αξία (Kozyraki et al., 1996).
- Μειωμένη έκφραση σχετίζεται με όγκους προχωρημένου σταδίου της νόσου, αλλά δεν σχετίζεται με την αγγειογένεση και τη μετάσταση στο Χολλαγγειοκαρκίνωμα (Ashida et al., 1998).
- Απουσία του παραγόμενου RNA και της παραγόμενης πρωτεΐνης έχουν παρατηρηθεί σε πολλές περιπτώσεις στον Καρκίνο του Προστάτη. Πιο συγκεκριμένα, αυτό οδηγεί

σε μεταβολές στον μηχανισμό προσκόλλησης κυττάρου-κυττάρου, στον οποίο εμπλέκονται η E-καδερίνη και η α-κατενίνη και τελικά αυτές οι αλλαγές είναι κρίσιμης σημασίας για την απόκτηση του μεταστατικού δυναμικού φαινοτύπου των επιθετικών κυττάρων της μορφής αυτής καρκίνου (Isaacs et al., 1994).

CTNND1 (Catenin Delta 1)

Το γονίδιο *CTNND1* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια πρωτεϊνών Armadillo οι οποίες εμπλέκονται στη σύνδεση των κυττάρων λόγω αλληλεπίδρασής τους με τις N-, E- και C-καδερίνες. Η Κατενίνη Δέλτα 1 συμβάλλει επίσης στον μετασχηματισμό των κυττάρων, που οφείλεται στη δράση του γονιδίου *SRC* και συμμετέχει στις οδούς μεταγωγής σήματος που λειτουργούν λόγω της εμπλοκής των υποδοχέων EGF, PDGF, CSF-1 και ERBB2 (RefSeq, Dec 2010).

<i>CTNND1</i>
REACTOME PATHWAYS
Adherens junctions interactions
Cell junction organization
Cell-Cell communication
Cell-cell junction organization
Disease
Infectious disease
InlA-mediated entry of <i>Listeria monocytogenes</i> into host cells
<i>Listeria monocytogenes</i> entry into host cells
Signal Transduction
Signaling by VEGF
VEGFA-VEGFR2 Pathway
VEGFR2 mediated vascular permeability
KEGG PATHWAYS
Adherens junction
Leukocyte transendothelial migration
Rap1 signaling pathway

Εικόνα 26. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *CTNND1* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020) και τη βάση KEGG Pathways (Kanehisa and Goto, 2000; Kanehisa, 2019).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Μετατόπιση της παραγόμενης πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα έχει ογκογόνο δράση. Αντιθέτως, απουσία της οδηγεί σε αδρανοποίηση των ζωνών πρόσφυσης και κατά συνέπεια ογκογένεση, άρα δρα και ως ογκοκατασταλτικός παράγοντας. (Schackmann et al., 2013). Πράγματι, μετατόπιση της πρωτεΐνης στο κυτοσόλιο, μειωμένη έκφραση ή σίγηση του γονιδίου έχουν συσχετιστεί με την εξέλιξη πολλών μορφών καρκίνου (Peglion and Etienne-Manneville, 2013).
- Η φωσφορυλίωση της παραγόμενης πρωτεΐνης ελέγχει τη μετάβαση των καρκινικών κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα στο Αστροκύττωμα (Yang et al., 2016).
- Αποτελεί στόχο του miR-96-5p το οποίο προκαλεί μείωση της έκφρασης του γονιδίου και μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt/β-κατενίνης οδηγεί σε μείωση του πολλαπλασιασμού, της εισβλητικότητας και της μετανάστευσης των κυττάρων στον Καρκίνο του Μαστού (Gao et al., 2020). Επίσης, η παραγωγή διαφορετικών ισομορφών της πρωτεΐνης σχετίζονται με διαφορετικούς κλινικούς υποτύπους για αυτή τη μορφή της νόσου (Zhao et al., 2016). Τέλος, μετατόπιση της παραγόμενης πρωτεΐνης στην πλασματική μεμβράνη μειώνει τη μετανάστευση και εισβλητικότητα των κυττάρων στον ορμονοάντοχο Τριπλά Αρνητικό Καρκίνο του Μαστού (Pham et al., 2017).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου συνεισφέρει στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στη μετανάστευση καθώς και την εισβλητικότητα των κυττάρων στον Ορθοκολικό Καρκίνο και σίγησή του από το miR-143-3p καταστέλλει αυτόν τον φαινότυπο (Ding et al., 2019).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου έχει παρατηρηθεί στον Καρκίνο του Πνεύμονα (Castillo et al., 2010).

- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου ευνοεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την ογκογένεση, τη μετανάστευση και την εισβλητικότητα των κυττάρων και τελικά τη δημιουργία μεταστάσεων, εν μέρει μέσω ενίσχυσης της Wnt/ β -catenin σηματοδότησης, στο Ηπατοκυτταρικό Καρκίνωμα πράγμα που το καθιστά ως ένα ογκογονίδιο και πιθανό στόχο θεραπείας για αυτή τη μορφή καρκίνου (Tang et al., 2016).
- Μείωση της έκφρασης του γονιδίου αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τη μετανάστευση και την εισβλητικότητα, σταματά τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G1 και οδηγεί σε απόπτωση στο Ηπατοκυτταρικό Καρκίνωμα. Παρόμοια αποτελέσματα επιφέρει η αυξημένη έκφραση του miR-298 του οποίου το γονίδιο *CTNND1* αποτελεί στόχο. Αυτά έχουν παρατηρηθεί λόγω της συμμετοχής της CTNND1 στο σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/ β -κατενίνης (Cao et al., 2018).
- Ο εντοπισμός της παραγόμενης πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα και όχι τα αυξημένα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου, είναι ενδεικτικός προχωρημένου σταδίου της νόσου, ύπαρξης μεταστάσεων στους λεμφαδένες και γενικότερα δυσμενή πρόγνωση στον Καρκίνο του Στομάχου. Η πρωτεΐνη ευνοεί τη μετανάστευση και την εισβλητικότητα, αλλά έχει μικρή επίδραση στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και στην απόπτωση. Επομένως, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ανεξάρτητος δείκτης πρόγνωσης για αυτή τη μορφή καρκίνου (Xing et al., 2015).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου ευνοεί το κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και τη μετάβαση των κυττάρων από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα και έχει συσχετιστεί με την πρόοδο της νόσου στο Γλοιβλάστωμα (Han et al., 2019).
- Απώλεια της δράσης του γονιδίου οδηγεί σε ανάπτυξη νεοπλασιών υψηλού σταδίου, εμφάνιση χρόνιας φλεγμονής και εμπλέκεται στα αρχικά στάδια της διαδικασίας

δημιουργίας μεταστάσεων, ενισχύοντας έτσι την πρόοδο του καρκίνου ρυθμίζοντας την εισβλητικότητα των επιθηλιακών κυττάρων (Hendley et al., 2016).

- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου, λόγω αλληλεπίδρασης με την MMP1, ευνοεί την εισβλητικότητα των κυττάρων και τη δημιουργία μεταστάσεων στον Καρκίνο του Πλακώδους Επιθηλίου της Κεφαλής και του Τραχήλου (Kidacki et al., 2017).
- Αποτελεί στόχο των mirR-29 που μειώνοντας την έκφρασή του αναστέλλουν την εισβλητικότητα των κυττάρων στον Καρκίνο του Στομάχου (Wang et al., 2015).
- Αποτελεί στόχο του miR-409-3p που μειώνει την έκφραση του *CTNND1* τόσο σε επίπεδο mRNA όσο και σε επίπεδο πρωτεΐνης και με αυτόν τον τρόπο αναστέλλεται η μετανάστευση των κυττάρων και η μετάσταση στο Οστεοσάρκωμα (Wu et al., 2016).
- Αλλαγές στην έκφραση του γονιδίου συνδέεται με τη δημιουργία μεταστάσεων στους πνευμονικούς λεμφαδένες στα αρχικά στάδια του Καρκίνου του Τραχήλου της Μήτρας (Noordhuis et al., 2011).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου, όπως και άλλων πρωτεϊνών που σχετίζονται με τη σύνδεση των κυττάρων, συνδέεται με επιθετικό φαινότυπο στην Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (Juric et al., 2007).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου και παραγωγή μεγάλης ποσότητας της ισομορφής 1, ειδικά αν συνδυάζεται με την παρουσία και άλλων ισομορφών, αποτελεί δείκτη πρόγνωσης για τη δημιουργία μικρομεταστάσεων στον Καρκίνο των Νεφρών και συστηματική πρόοδο της νόσου μετά από νεφρεκτομή. Η αυξημένη αυτή έκφραση προωθεί την εισβλητικότητα κατά την ανάπτυξη του όγκου και το αμινοτελικό άκρο της πρωτεΐνης αποτελεί πιθανό στόχο φαρμάκων (Yanagisawa et al., 2008).
- Διαταραχές στην έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με τη δημιουργία μεταστάσεων στους λεμφαδένες στο Καρκίνο του Πλακώδους Επιθηλίου και στο Αδενοκαρκίνωμα του Πνεύμονα. Μειωμένη έκφραση συνδέεται με την αύξηση του

πολλαπλασιασμού των κυττάρων, την εισβλητικότητα και τη δημιουργία μεταστάσεων σε αυτή τη μορφή της νόσου (Liu et al., 2009). Μειωμένη έκφραση του γονιδίου, λόγω της αυξημένης έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα FOXC2, σχετίζεται με τον Μη-Μικροκυτταρικό Καρκίνο του Πνεύμονα (Mortazavi et al., 2010).

- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου και εντοπισμός της πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα σχετίζεται με την ανάπτυξη και πρόοδο της νόσου στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Δέρματος (Ishizaki et al., 2004). Επίσης, μειωμένη έκφραση του γονιδίου προκαλεί αλλαγές κατά τη μίτωση και επάγει τη χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση τα οποία συμβάλλουν στη γενετική αστάθεια και τελικά συνεισφέρουν στην ανάπτυξη αυτής της μορφής καρκίνου (Perez-Moreno et al., 2008).
- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου και μη εντοπισμός της παραγόμενης πρωτεΐνης στην πλασματική μεμβράνη σχετίζεται με προχωρημένα στάδια της νόσου και μικρή πιθανότητα επιβίωσης στον Καρκίνο της Ουροδόχου Κύστης. Μάλιστα το σύμπλοκο CTNND1-E-cadherin αποτελεί πιθανό δείκτη πρόγνωσης για αυτή τη μορφή καρκίνου (Syrigos et al., 1998).
- Αποτελεί στόχο του miR-126 το οποίο προκαλεί μείωση της έκφρασής του και οδηγεί σε επιθετικές μορφές εισβλητικού Αδενοκαρκινώματος του Παγκρέατος, με συνέπεια τα δύο προαναφερθέντα μόρια να αποτελούν πιθανούς στόχους θεραπειών για αυτή τη μορφή καρκίνου (Hamada et al., 2013).
- Αποδόμηση της παραγόμενης πρωτεΐνης από την calpain-1 έχει παρατηρηθεί ως απόκριση στο στρες στα κύτταρα του Νευροβλαστώματος και επηρεάζει την ακεραιότητα του επιθηλίου (Ohno et al., 2007).

PKP3 (Plakophilin 3)

Το γονίδιο *PKP3* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που ανήκει στις πρωτεΐνες Armadillo και συγκεκριμένα στην οικογένεια των πλακοφιλινών. Η Πλακοφιλίνη 3 εντοπίζεται στα δεσμοσώματα και στον πυρήνα και συμμετέχει στη σύνδεση των καδερινών με ενδιάμεσα ινίδια του κυτταροσκελετού. Επομένως, αυτή η πρωτεΐνη σχετίζεται με τη σύνδεση των κυττάρων μέσω των δεσμοσωμάτων καθώς και με σηματοδοτικά μονοπάτια (RefSeq, Dec 2014).

<i>PKP3</i>
REACTOME PATHWAYS
Developmental Biology
Formation of the cornified envelope
Keratinization

Εικόνα 27. Μονοπάτια στα οποία εμπλέκεται το γονίδιο *PKP3* σύμφωνα με τη βάση Reactome Pathways (Jassal et al., 2020).

Το εν λόγω γονίδιο έχει συσχετιστεί με τις ακόλουθες μορφές καρκίνου.

- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου οδηγεί στην αποσύνδεση των κυττάρων, προωθεί τη μετάβαση από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα (Aigner et al., 2007) και τελικά τη δημιουργία μεταστάσεων (Kundu et al., 2008).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου και εμπλοκή της παραγόμενης πρωτεΐνης στο μονοπάτι MAPK-JNK-ERK1/2-mTOR ρυθμίζει την αυτοφαγία, αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την εισβλητικότητα στον Καρκίνο των Ωοθηκών και λόγω αυτού θεωρείται ότι είναι ένα ογκογονίδιο που πιθανόν μπορεί να αποτελεί και στόχο θεραπείας (Lim et al., 2019). Επίσης, συνδέεται με τη γενικότερη πορεία της νόσου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης πρόγνωσης (Qian et al., 2019).
- Απώλεια του *PKP3* οδηγεί σε μετατόπιση του p38β MAPK στον πυρήνα που οδηγεί σε αυξημένη έκφραση του *LCN2* και λόγω αυτού παρατηρείται αυξημένη

εισβλητικότητα, προωθείται η ανάπτυξη του όγκου και η δημιουργία μεταστάσεων (Basu et al., 2018).

- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου έχει καθοριστικό ρόλο στην προώθηση της ογκογένεσης και της περαιτέρω ανάπτυξης του όγκου και σχετίζεται με χαρακτηριστικά επιθετικό φαινότυπο στον Καρκίνο του Μαστού (Demirag et al., 2011).
- Μειωμένη έκφραση του γονιδίου αποτελεί έναν δείκτη πρόγνωσης στα αρχικά στάδια της νόσου, καθώς σχετίζεται με το στάδιο της νόσου, ενώ παύση της έκφρασης υποδεικνύει αυξημένη εισβλητικότητα στο Αδενοκαρκίνωμα του Στομάχου (Demirag et al., 2011).
- Η ανοσοαντιδραστικότητα της πρωτεΐνης σχετίζεται με το στάδιο του όγκου και παρατηρήθηκε μόνο στους πρωτογενείς όγκους, ενώ στις μεταστάσεις και στις επανεμφανίσεις ήταν μειωμένη ή ακόμα και απύσα, επομένως αποτελεί δείκτη της διαφοροποίησης, της ανάπτυξης του όγκου, της πρόγνωσης και της επιβίωσης στο Καρκίνωμα του Πλακώδους Επιθηλίου του Στοματοφάρυγγα (Papagerakis et al., 2003).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου ευνοεί την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων καθώς και την κινητικότητά τους και συνδέεται με το στάδιο της νόσου και με δυσμενή πρόγνωση για επιβίωση στο Αδενοκαρκίνωμα του Πνεύμονα και κατά συνέπεια μπορεί να αποτελέσει προγνωστικό δείκτη για την εξέλιξη της νόσου και πιθανό στόχο θεραπειών (Furukawa et al., 2005).
- Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σχετίζεται με την εισβλητικότητα, αλλά όχι τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στον Καρκίνο της Ουροδόχου Κύστης. Επίσης, η συσσώρευση της παραγόμενης πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα, αντί για την

πλασματική μεμβράνη, σχετίζεται με την ικανότητα των κυττάρων του όγκου να δημιουργούν μεταστάσεις (Takahashi et al., 2012).

- Παίζει ρόλο στην εξέλιξη της νόσου στον Καρκίνο του Προστάτη και κυρίως λόγω της αλληλεπίδρασης της παραγόμενης πρωτεΐνης με πρωτεΐνες που προσδένουν RNA (RNA-binding proteins ή RBPs) και σχετίζονται με τη δημιουργία μεταστάσεων (Yang et al., 2013).
- Έχει συσχετιστεί, μέσω ανάλυσης δικτύων συνέκφρασης γονιδίων, με την απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος και την ογκογένεση με αποτέλεσμα να αποτελεί πιθανό δείκτη διάγνωσης και πρόγνωσης καθώς και πιθανό στόχο θεραπείας για το μεταστατικό Μελάνωμα (Wang, Li and Chen, 2018).
- Αυξημένα επίπεδα mRNA του γονιδίου έχουν εντοπιστεί στο αίμα ασθενών με Γαστρεντερικό Καρκίνο και μάλιστα συνδέεται με προχωρημένα στάδια της νόσου (3^ο και 4^ο), τη δημιουργία μεταστάσεων και τον κίνδυνο της περαιτέρω προόδου της νόσου και τον θάνατο (Valladares-Ayerbes et al., 2010).
- Αλλαγές στη μεθυλίωση του γονιδίου συνδέονται με την ανάπτυξη Καρκινοσαρκώματος της Μήτρας (Li et al., 2017).
- Αποτελεί στόχο του καρκινογόνου παράγοντα DNP που μειώνει την έκφραση του γονιδίου άμεσα αλλά και έμμεσα, ευνοώντας την υπερέκφραση του miR-149 που μειώνει την έκφραση του *PKP3* και οδηγεί στη δημιουργία μεταστάσεων στο Ρινοφαρυγγικό Καρκίνωμα (Li et al., 2018).
- Αυξημένα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου σχετίζονται με επιθετικές και εισβλητικές μορφές όγκων στα Κακοήθη Μεσοθηλιώματα (Masic et al., 2018).
- Σχετίζεται με τη δημιουργία μεταστάσεων στον Μη-μικροκυτταρικό Καρκίνο του Πνεύμονα διότι διαταράσσεται η έκφραση του λόγω της σίγησης του γονιδίου *Med1*

το οποίο ρυθμίζει την έκφραση και άλλων γονιδίων που σχετίζονται με τη μετάσταση (Kim et al., 2012).

- Τόσο η αυξημένη έκφραση του γονιδίου, που συνδέεται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, όσο και η μειωμένη έκφρασή του, που συνδέεται με τη μειωμένη σύνδεση των κυττάρων μέσω των δεσμοσωμάτων, σχετίζονται με επιθετικό φαινότυπο στον Καρκίνο του Προστάτη (Breuninger et al., 2010).
- Αποτελεί δείκτη που σχετίζεται με την αδυναμία T-κυτταροτοξικών κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος να ταυτοποιήσουν καρκινικά κύτταρα, γεγονός που συνδέεται με υψηλή θνησιμότητα. Δύο μορφές καρκίνου στις οποίες έχει μελετηθεί αυτό το φαινόμενο είναι οι μεταστάσεις του Μελανώματος και ο Καρκίνος των Ωοθηκών (Salerno et al., 2016).

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η διαδικασία της φυλογενετικής ανάλυσης σε επίπεδο βιομορίων αποτελείται από πέντε διακριτά βήματα. Τα βήματα αυτά είναι τα εξής:

1. Αποκομιδή αλληλουχιών

Αφορά την συλλογή πρωτογενών δεδομένων βάση των οποίων θα πραγματοποιηθεί η ανάλυση. Το βήμα αυτό περιλαμβάνει τη συλλογή αλληλουχιών που θα συγκριθούν και οι οποίες μπορεί να προέρχονται είτε από βάσεις δεδομένων είτε από αδημοσίευτα πειραματικά δεδομένα.

2. Στοιχίση αλληλουχιών

Αφορά τη στοιχίση αλληλουχιών με τη χρήση διαφορετικών μεθόδων και προγραμμάτων. Αποτελεί το πρώτο υπολογιστικό στάδιο της ανάλυσης και αποτελεί το σημείο εκκίνησης μιας φυλογενετικής ανάλυσης καθώς από αυτήν προκύπτει το φυλογενετικό σύνολο δεδομένων.

3. Καθορισμός του μοντέλου αντικατάστασης

Αφορά την εύρεση του μοντέλου αντικατάστασης που περιγράφει καλύτερα την εξελικτική πορεία από την οποία προέκυψε το σύνολο δεδομένων, δηλαδή η πολλαπλή στοιχίση.

4. Κατασκευή φυλογενετικών δέντρων

Η ανασύσταση των εξελικτικών σχέσεων των αλληλουχιών συμβαίνει με τη δημιουργία ειδικών γράφων που ονομάζονται φυλογενετικά δέντρα. Πρόκειται για πολύπλοκες μαθηματικές κατασκευές και για την δημιουργία τους μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές μέθοδοι ανάλογα με την περίπτωση.

5. Αξιολόγηση των φυλογενετικών δέντρων

Αποτελεί το τελευταίο στάδιο της φυλογενετικής ανάλυσης και αφορά την στατιστική εκτίμηση των αποτελεσμάτων. Εφόσον το αποτέλεσμα της ανάλυσης

είναι ένα φυλογενετικό δέντρο με συγκεκριμένη τοπολογία, η στατιστική ανάλυση επικεντρώνεται στην εκτίμηση της σημασίας της τοπολογίας αυτής.

Αποκομιδή Αλληλουχιών

Επιλογή Είδους Αλληλουχιών

Στη συγκεκριμένη μελέτη επιλέξαμε να εργαστούμε χρησιμοποιώντας αμινοξικές ακολουθίες, όπως γίνεται και σε πολλές άλλες μελέτες ειδικά όταν επικεντρώνονται στη διερεύνηση μακρινών εξελικτικών σχέσεων, διότι οι αλληλουχίες των πρωτεϊνών είναι πολύ πιο συντηρημένες από τις αντίστοιχες νουκλεοτιδικές. Το DNA περιέχει μεν όλη την απαραίτητη πληροφορία για τη σύνθεση των πρωτεϊνών και των RNA, αλλά οι πρωτεΐνες είναι ο θεμέλιος λίθος της ζωής, αφού όλες οι χημικές αντιδράσεις του κυττάρου εξαρτώνται από αυτές και σε αυτές ασκείται κατά κόρον η φυσική επιλογή (Salemi et al., 2009). Αυτό επιτεύχθηκε χάρη σε μηχανισμούς που δημιουργήθηκαν και επικράτησαν κατά την εξέλιξη της ζωής για να εξασφαλιστεί ότι οι πρωτεΐνες, ως καταλυτικά μόρια, θα διατηρήσουν τη δομή τους για να μπορέσουν κατ' επέκταση να διατηρήσουν τη λειτουργία τους και να εξασφαλιστεί η επιβίωση του κυττάρου. Αυτό που έχει παρατηρηθεί λοιπόν, είναι πως το DNA και οι πρωτεΐνες εμφανίζουν διαφορετικούς ρυθμούς μεταλλαξογένεσης και κατά συνέπεια έχουν διαφορετικούς εξελικτικούς ρυθμούς (Salemi et al., 2009).

Ορθόλογες αλληλουχίες γονιδίων που προέρχονται από δύο είδη που είχαν κοινό πρόγονο, αλλά έχουν αποκλίνει μεταξύ τους, θα τείνουν να ενσωματώνουν τυχαία μεταλλάξεις (απαλοιφές, προσθήκες και αντικαταστάσεις σε ένα ή περισσότερα νουκλεοτίδια), με συνέπεια να διαφέρουν προοδευτικά όλο και περισσότερο. Αν η απόκλιση προέκυψε πρόσφατα, ο αριθμός αυτών των διαφορών θα είναι μικρός και θα αυξάνεται με το πέρασμα του χρόνου και τη συσσώρευση μεταλλάξεων. Καθώς οι αλληλουχίες των νουκλεϊκών οξέων λοιπόν

υφίστανται σταδιακή αλλαγή με το πέρασμα του εξελικτικού χρόνου, η οποία προκαλείται από μεταλλάξεις, τα κωδικοποιούμενα προϊόντα τους αναπόφευκτα υφίστανται τις ανάλογες αλλαγές (Salemi et al., 2009). Παρ' όλα αυτά, δεν προκαλούν όλες οι μεταλλαγές των γονιδίων, αλλαγές και στις πρωτεΐνες.

Χωρίς καν να λάβουμε υπόψη μας μεταλλαγές που μπορεί να συμβούν σε μη κωδικές περιοχές του γονιδιώματος, από τις οποίες δεν προκαλείται καμία αλλαγή και μεταλλάξεις που μπορεί να συμβούν σε ρυθμιστικά στοιχεία γονιδίων (π.χ. υποκινητής, ενισχυτής) οι οποίες προκαλούν αποκλειστικά ποσοτικές και όχι ποιοτικές αλλαγές αλλάζοντας το προφίλ έκφρασης ενός γονιδίου, υπάρχουν οι σιωπηλές μεταλλάξεις (συνώνυμοι πολυμορφισμοί) που συμβαίνουν στο DNA και δεν αντικατοπτρίζονται στην κωδικοποιούμενη πρωτεΐνη. Ειδικά σε ό,τι αφορά τις σιωπηλές μεταλλάξεις, που χαρακτηρίζονται και ως ουδέτερες διότι δεν έχουν καμία ουσιαστική συνέπεια για τον οργανισμό και επομένως δεν υφίστανται ούτε θετική, ούτε αρνητική επιλογή, πολλές φορές μπορεί να συσσωρευτούν και να εξαπλωθούν στον πληθυσμό λόγω του φαινομένου της γενετικής παρέκκλισης (μεταβολές στις συχνότητες εμφάνισης αλληλομόρφων στον πληθυσμό λόγω τυχαίων συμβάντων) (Campbell et al., 2014; Masel, 2011). Επίσης, οι μεταλλαγές που έχουν θετική επίδραση στον οργανισμό, υπόκεινται σε θετική επιλογή και εγκαθιδρύονται ταχέως και με επιτυχία στον πληθυσμό. Γενικά, μη συνώνυμες και μη ευνοϊκές μεταλλάξεις έχουν πολύ μικρότερη πιθανότητα να εξαπλωθούν στον πληθυσμό σε σχέση με τις συνώνυμες, οπότε ακόμα και αν συμβούν θα εξαλειφθούν από τον πληθυσμό (purifying selection) (Williamson and Orive, 2002) και δεν μπορούν να παρατηρηθούν (Dayhoff et al., 1978).

Στο DNA όμως, δεν εμφανίζουν όλες οι θέσεις τον ίδιο ρυθμό μεταλλαξογένεσης. Ακόμα όμως και στις θέσεις που εμφανίζουν υψηλό ρυθμό μεταλλαξογένεσης, το "αλφάβητο" είναι περιορισμένο (4 νουκλεοτίδια). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, αφού έχει προηγηθεί μια αντικατάσταση βάσης του DNA που έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή του κωδικονίου, να

παρατηρείται μια νέα αντικατάσταση που επαναφέρει το κωδικόνιο στην αρχική του κατάσταση, αποκρύπτοντας έτσι μια προηγούμενη μετάλλαξη ή ακόμα και αναιρώντας την απόλυτα επαναφέροντας την αλληλουχία στην αρχική της σύνθεση (Salemi et al., 2009).

Ένα ακόμα χαρακτηριστικό παράδειγμα του διαφορετικού ρυθμού μεταλλαξογένεσης των θέσεων του DNA είναι το γεγονός ότι στις κωδικές περιοχές νουκλεοτιδικών ακολουθιών, η πρώτη και η δεύτερη θέση κάθε τριπλέτας, που αποτελεί ένα κωδικόνιο, είναι λιγότερο επιρρεπείς σε νουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις διότι μια τέτοια αλλαγή θα οδηγήσει, με σχεδόν απόλυτη βεβαιότητα, σε αλλαγή του αμινοξέος που κωδικοποιείται από το κωδικόνιο. Αντιθέτως, η τρίτη θέση του κωδικονίου είναι πολύ πιο επιρρεπής στις αλλαγές (wobble position) και μπορεί να υφίσταται συχνές αντικαταστάσεις χωρίς να επηρεάζεται το κωδικοποιούμενο αμινοξύ και αυτό χάρη στον εκφυλισμό του γενετικού κώδικα (Hartwell, 2011). Όταν λοιπόν, συγκρίνουμε DNA αλληλουχίες που κωδικοποιούν πρωτεΐνες και έχουν αποκλίνει εδώ και χιλιάδες, πιθανώς και εκατομμύρια χρόνια, είναι πολύ πιθανόν να βρούμε πολλές αλλαγές στις τρίτες νουκλεοτιδικές βάσεις των κωδικονίων, ενώ αν συγκρίνουμε τα αμινοξικά κατάλοιπα στην αντίστοιχη αλληλουχία της κωδικοποιούμενης πρωτεΐνης οι διαφορές θα είναι πολύ λιγότερες. Σε βάθος χρόνου λοιπόν, ο αριθμός των αλλαγών που συσσωρεύονται σε ένα γονίδιο αυξάνεται, χωρίς όμως να παρατηρείται απαραίτητα αλλαγή στην αλληλουχία της παραγόμενης πρωτεΐνης. Συνεπώς, συχνά υποτιμάται ο αριθμός των μεταλλαγών που έχουν πραγματοποιηθεί σε δύο αλληλουχίες από την στιγμή που ξεκίνησε η μεταξύ τους απόκλιση και ειδικά αν έχει μεσολαβήσει μεγάλο χρονικό διάστημα από την απόκλιση αυτή μέχρι την παρατήρηση.

Όταν όμως εξετάζουμε οργανισμούς με μακρινή συγγένεια, πρέπει επίσης να λάβουμε υπ' όψη ότι ο γενετικός κώδικας είναι σχεδόν καθολικός. Για παράδειγμα, τα κωδικόνια TAA και TGA αποτελούν κωδικόνια λήξης στα Πρώτιστα και δεν κωδικοποιούν τη γλουταμίνη όπως συμβαίνει σε άλλους οργανισμούς (Sammet et al., 2010), αλλά και μέσα στο ίδιο κύτταρο

έχουμε αποκλίσεις καθώς στα μιτοχόνδρια το κωδικόνιο TGA κωδικοποιεί το αμινοξύ τρυπτοφάνη και δεν λειτουργεί ως κωδικόνιο λήξης (Barrell et al., 1979).

Τελικά, με πολλαπλά κωδικόνια να αντιστοιχούν στο ίδιο αμινοξύ, σε κάποιες περιπτώσεις να έχουν και διαφορετική "έννοια" σε διαφορετικούς οργανισμούς και με τα διάφορα κωδικόνια να χρησιμοποιούνται με διαφορετική συχνότητα ανάλογα με τον οργανισμό, τη φύση του γονιδίου και τα επίπεδα έκφρασης του (codon bias) (Athey et al., 2017), μπορεί να προκύψουν δύο πανομοιότυπες πρωτεϊνικές αλληλουχίες σε δύο διαφορετικούς οργανισμούς των οποίων οι αντίστοιχες αλληλουχίες γονιδίων διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Διαφορετικός ρυθμός εξέλιξης παρατηρείται όμως και μεταξύ πρωτεϊνών (Fay and Wu, 2003). Κάποιες house keeping πρωτεΐνες εξελίσσονται πολύ αργά, διότι καταλύουν ουσιώδεις διεργασίες των κυττάρων και εμφανίζουν πολύ μεγάλη ομοιότητα μεταξύ ειδών. Αντιθέτως, πρωτεΐνες που δεν είναι εξίσου απαραίτητες, εξελίσσονται πολύ πιο γρήγορα και πολλές φορές, λόγω γενετικής παρέκκλισης, μπορεί γρήγορα να εξαλειφθεί η ομοιότητα μεταξύ των αλληλουχιών τους ακόμα και αν έχουν ταυτόσημη λειτουργία και μοιράζονται κάποιον κοινό πρόγονο. Αν και κάθε πρωτεΐνη έχει τον δικό της ρυθμό όμως, αυτός ο ρυθμός παραμένει σταθερός μεταξύ γενεαλογιών (π.χ. ο ρυθμός εξέλιξης της αιμοσφαιρίνης είναι διαφορετικός από αυτό του κυτοχρώματος c, αλλά ο ρυθμός της κάθε μίας είναι συγκρίσιμος στο ποντίκι, τον άνθρωπο κλπ.) (Fay and Wu, 2003). Σε επόμενο επίπεδο, ακόμα και μέσα στο ίδιο το πρωτεϊνικό μόριο έχει παρατηρηθεί ότι δεν έχουν όλες οι θέσεις τον ίδιο ρυθμό μεταλλαγόμενης, (Zuckerandl and Pauling, 1965) καθώς υπάρχουν θέσεις που έχουν πολύ χαμηλό ρυθμό εξέλιξης διότι παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση της δομής και της λειτουργίας του μορίου (π.χ. θέσεις που αντιστοιχούν σε αμινοξικά κατάλοιπα που εντοπίζονται στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου), ενώ άλλες θέσεις υφίσταται χαμηλή εξελικτική πίεση και σε αυτές εμφανίζονται συχνότερα μεταλλάξεις (κυρίως αμινοξικά κατάλοιπα που

εντοπίζονται σε στροφές) (Le and Gascuel, 2008). Γενικά, συνήθως έχουμε αντικατάσταση ενός αμινοξικού καταλοίπου από ένα άλλο το οποίο όμως έχει παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες (Dayhoff et al., 1978; Fay and Wu, 2003). Τελικά, τα επίπεδα πολυμορφισμού στις πρωτεΐνες μοιάζουν να είναι αρκετά σταθερά, δηλαδή διαφορετικά είδη εμφανίζουν παρόμοια επίπεδα πρωτεϊνικών πολυμορφισμών (Akashi et al., 2012).

Τελικά, λόγω όλων των προαναφερθέντων, οι αλληλουχίες των πρωτεϊνών είναι πιο χρήσιμες όταν θέλουμε να διερευνήσουμε μακρινές εξελικτικές σχέσεις, αφού "χάνουν πληροφορία" πολύ πιο δύσκολα και πολύ πιο αργά σε σχέση με το DNA.

Συλλογή Αλληλουχιών

Για να πραγματοποιηθεί η φυλογενετική ανάλυση, συλλέξαμε αλληλουχίες από μια μεγάλη γκάμα οργανισμών. Για να επιλέξουμε τους κατάλληλους οργανισμούς, ξεκινήσαμε από τον άνθρωπο και ακολουθήσαμε τη γενεαλογία του ψάχνοντας αλληλουχίες πρωτεϊνών που ανήκουν σε προγονικούς οργανισμούς. Ιδιαίτερα σημαντικό ήταν να επιλέξουμε οργανισμούς οι οποίοι ήταν καλά μελετημένοι, οπότε οι αλληλουχίες των πρωτεϊνών τους να είναι διαθέσιμες και καλά χαρακτηρισμένες.

Αρχικά, μεταβήκαμε στον ιστότοπο της δημόσιας βάσης δεδομένων HGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee) (www.genenames.org) που αποτελεί μια αξιόπιστη πηγή πληροφοριών για το ανθρώπινο γονιδίωμα (Bruford et al. 2008; Eyre et al., 2006). Στην εν λόγω βάση, τα γονίδια ομαδοποιούνται σε οικογένειες στις καταγραφές των οποίων περιλαμβάνεται η πλήρης λίστα των γονιδίων που ανήκουν σε αυτή την ομάδα καθώς και η επίσημη ονοματολογία και το σύμβολο έκαστου γονιδίου. Για κάθε γονίδιο της οικογένειας, είναι διαθέσιμη ξεχωριστή καταχώρηση στην οποία περιλαμβάνονται σύνδεσμοι (hyperlinks) που μας παραπέμπουν στην ανάλογη καταχώρηση της RefSeq (Oleary et al., 2016), της

UniprotKB (Uniprot Knowledgebase, www.uniprot.org) (The Uniprot Consortium, 2018) καθώς και άλλων βάσεων δεδομένων που αντιστοιχούν στο συγκεκριμένο γονίδιο.

Στη συνέχεια, μεταβήκαμε στην ανάλογη καταγραφή της δημόσιας βάσης δεδομένων RefSeq (O'Leary et al., 2016) που ανήκει στο NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Η καταγραφή αυτή αφορά το γονίδιο του ανθρώπου και τις πρωτεϊνικές αλληλουχίες που προκύπτουν από αυτό.

Κατά την επιλογή της αλληλουχίας της πρωτεΐνης που αντιστοιχεί σε ένα γονίδιο, χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή λόγω της ύπαρξης ισομορφών. Τα πρωτεϊνικά προϊόντα ενός γονιδίου ενός συγκεκριμένου είδους μπορεί να είναι περισσότερα από ένα και αποτελούν το σύνολο των ισομορφών οι οποίες μπορεί να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους τόσο στη δομή όσο και στη σύσταση (Adreadis et al., 1987; Breitbart et al., 1987). Αυτή η διαδικασία ρυθμίζεται από το εναλλακτικό μάτισμα του mRNA αν και δεν είναι ξεκάθαρο σε ποιο βαθμό αυτή η διαδικασία ευθύνεται για την ποικιλότητα του ανθρώπινου πρωτεώματος διότι η αφθονία των ισομορφών mRNA δεν σχετίζεται απόλυτα με την αφθονία πρωτεϊνικών ισομορφών (Liu et al., 2016). Οι ισομορφές προκύπτουν, εκτός από την εναλλακτική συρραφή των εξωνίων, μέσω χρήσης εναλλακτικού υποκινητή του γονιδίου, επιλογή εναλλακτικού σημείου έναρξης της μετάφρασης καθώς και λόγω μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (The Uniprot Consortium, 2018). Η ειδικότητα της κάθε πρωτεϊνικής ισομορφής καθορίζεται από τη σχέση δομής-λειτουργίας του μορίου καθώς και τον κυτταρικό τύπο και το αναπτυξιακό στάδιο κατά το οποίο παράγεται (Adreadis et al., 1987; Breitbart et al., 1987). Από όλο αυτό το σύνολο πρωτεϊνικών αλληλουχιών λοιπόν, πρέπει να επιλέξουμε την αλληλουχία που αποτελεί τον κανόνα (canonical sequence) και αυτό γίνεται βάση κάποιων κριτηρίων.

Σύμφωνα με τη δημόσια βάση δεδομένων UniProt (The Uniprot Consortium, 2018) η αλληλουχία που αποτελεί τον κανόνα είναι αυτή που:

- απαντάται συχνότερα από όλες τις ισομορφές

- παρουσιάζει μεγαλύτερη ομοιότητα με ορθόλογες αλληλουχίες που εντοπίζονται σε άλλα είδη
- λόγω μήκους ή αμινοξικής σύστασης επιτρέπει τη σαφέστερη περιγραφή δομικά και λειτουργικά αυτοτελών περιοχών (domains), ισομορφών, πολυμορφισμών, μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων κλπ.

Συνήθως πρόκειται για την αλληλουχία που έχει το μεγαλύτερο μήκος, εκτός αν κάποιος πολυμορφισμός είναι πιο διαδεδομένος στον πληθυσμό (canonical transcript).

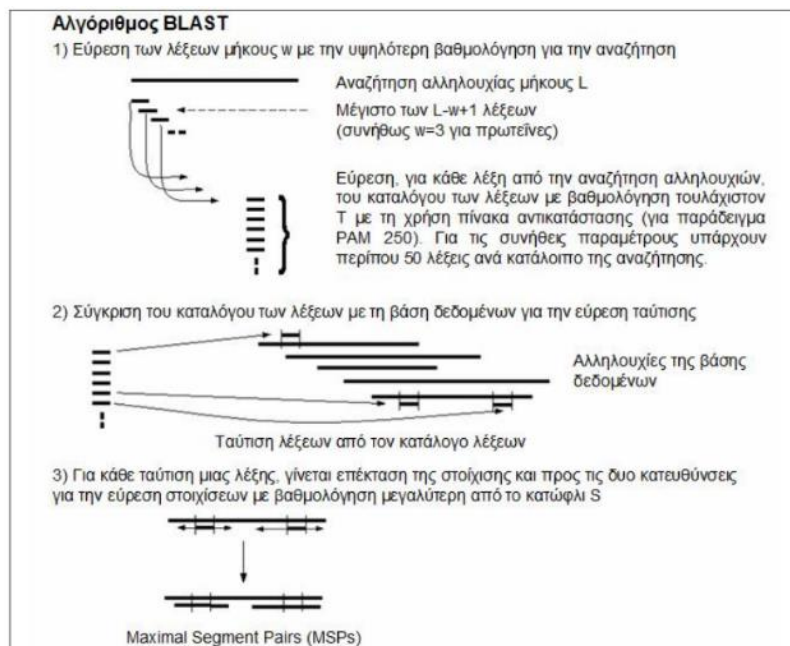
Για να επιλέξουμε λοιπόν την κατάλληλη αλληλουχία, τόσο για τον άνθρωπο όσο και για τα άλλα είδη οργανισμών, συμβουλευτήκαμε τις καταγραφές της RefSeq (O'Leary et al., 2016) και της SwissProt (η οποία ανήκει στη UniProt) (The Uniprot Consortium, 2018) για μια συγκεκριμένη αλληλουχία καθώς και οι δύο αυτές δημόσιες βάσεις δεδομένων διαθέτουν καταγραφές ελεγμένες από ομάδα επιστημόνων (manually curated).

Στη συνέχεια, για την αναζήτηση ομοιότητας σε βάσεις δεδομένων χρησιμοποιούμε τον ευριστικό αλγόριθμο του BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Altschul, et al., 1990; Altschul, et al., 1997) ο οποίος πραγματοποιεί τοπικές στοιχίσεις. Το εργαλείο BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/), είναι ιδιαίτερα γρήγορο καθώς οι περισσότερες παράμετροι είναι προϋπολογισμένες και αποφεύγει να στοιχίσει αλληλουχίες της βάσης δεδομένων που ο αλγόριθμος κρίνει ότι δεν έχουν σημαντικότητα.

Η διαδικασία ξεκινά με την κατασκευή μιας "λίστας" με όλες τις "λέξεις" που θα ταίριαζαν με κάποια λέξη της αλληλουχίας επερώτησης (query sequence) και ξεπερνούν την προκαθορισμένη τιμή του κατωφλιού που είναι $T=13$ για πρωτεϊνικές αλληλουχίες. Στη συνέχεια ο αλγόριθμος αναζητά αυτές τις "λέξεις" στις αλληλουχίες της βάσης δεδομένων και κάθε φορά που καταφέρνει να εντοπίσει μία, ξεκινά μια διαδικασία επέκτασής της και προς τις δύο κατευθύνσεις η οποία και συνεχίζεται για όσο η βαθμολογία συνεχίζει να αυξάνεται. Οι περιοχές με τη μέγιστη βαθμολογία, που εντοπίζονται σε αυτό το στάδιο, είναι υποψήφιες

περιοχές ομοιότητας (HSPs-High Scoring Pairs). Τα HSPs φιλτράρονται ξανά, αυτή τη φορά με κατώφλι $S=145$ και τελικά επιλέγονται μόνο εκείνες οι τοπικές ομοιότητες που εμφανίζουν υψηλή στατιστική σημαντικότητα βάσει του θεωρήματος Karlin και Altschul (Altschul, et al., 1990; Altschul, et al., 1997).

Όταν ολοκληρωθεί η διαδικασία, τα αποτελέσματα εμφανίζονται με τη σειρά ξεκινώντας από αυτά που εμφανίζουν την μεγαλύτερη ομοιότητα με την αλληλουχία επερώτησης. Το πόσο καλό είναι ένα αποτέλεσμα φαίνεται από το σκορ και την στατιστική σημαντικότητά του. Προσοχή όμως χρειάζεται διότι το σκορ επηρεάζεται πολύ από τις παραμέτρους της στοίχισης (π.χ. substitution matrix, gap penalty), οπότε πρέπει να προκύψει μια αντικειμενική τιμή ως σκορ. Αυτό επιτυγχάνεται κανονικοποιώντας (μετασχηματισμός \log_2) το σκορ με βάση το bit (Altschul, et al., 1990; Altschul, et al., 1997), οπότε προκύπτει το bit-score το οποίο εμφανίζεται ως "Max score" στα αποτελέσματα του BLAST. Όσο υψηλότερο είναι λοιπόν το Max score, τόσο μεγαλύτερη η ομοιότητα μεταξύ των αλληλουχιών και η ποιότητα της στοίχισης. Τέλος, η στατιστική σημαντικότητα του αποτελέσματος φαίνεται από το E-value το οποίο αντιπροσωπεύει τον αριθμό των αναμενόμενων αποτελεσμάτων με σκορ παρόμοιο με αυτό που εμφάνισε το αποτέλεσμά μας, που μπορούν να βρεθούν κατά τύχη.



Εικόνα 28. Διαγραμματική απεικόνιση του αλγορίθμου BLAST (Μπάγκος, 2015)

Όσο μικρότερο είναι το E-value τόσο αυξάνεται και στατιστική σημαντικότητα του αποτελέσματός μας. Ένα καλό αποτέλεσμα λοιπόν, για να θεωρήσουμε ότι υπάρχει πραγματική ομολογία μεταξύ των πρωτεϊνών και δεν πρόκειται για τυχαίο εύρημα, πρέπει να έχει υψηλό Max score και χαμηλό E-value.

Εφόσον εργαστήκαμε με πρωτεϊνικές αλληλουχίες, χρησιμοποιήσαμε την έκδοση του BLAST που εξειδικεύεται στην εύρεση πρωτεϊνικών αλληλουχιών χρησιμοποιώντας ως αλληλουχία επερώτησης επίσης πρωτεϊνική αλληλουχία. Η έκδοση αυτή είναι το BLASTp (protein – protein blast).

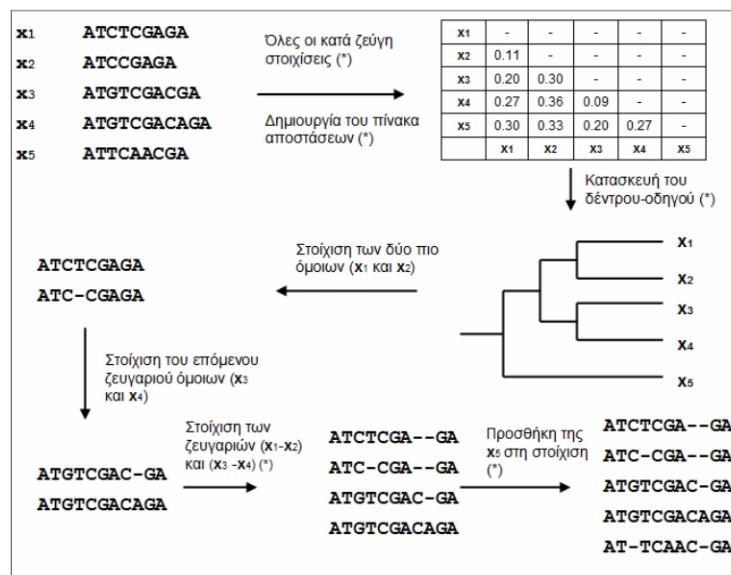
Στην παρούσα μελέτη λοιπόν, χρησιμοποιήσαμε τις αλληλουχίες των πρωτεϊνών του ανθρώπου (query sequences) και κάναμε αναζητήσεις στοχευμένες στο κάθε είδος (species specific) στη βάση RefSeq προκειμένου να βρούμε τις αλληλουχίες που αντιστοιχούν στην ίδια πρωτεΐνη σε άλλα είδη. Πιο συγκεκριμένα, τα ήδη από τα οποία προέρχονται οι αλληλουχίες είναι τα: *Homo sapiens* (taxid:9606), *Pan troglodytes* (taxid:9598), *Macaca mulatta* (taxid:9544), *Callithrix jacchus* (taxid:9483), *Mus musculus* (taxid:10090), *Rattus norvegicus* (taxid:10116), *Canis lupus familiaris* (taxid:9615), *Equus caballus* (taxid:9796), *Sus scrofa* (taxid:9823), *Bos taurus* (taxid:9913), *Tursiops truncatus* (taxid:9739), *Pteropus vampyrus* (taxid:132908), *Monodelphis domestica* (taxid:13616), *Ornithorhynchus anatinus* (taxid:9258), *Gallus gallus* (taxid:9031), *Xenopus laevis* (taxid:8355), *Latimeria chalumnae* (taxid:7897), *Danio rerio* (taxid:7955), *Callorhynchus milii* (taxid:7868), *Petromyzon marinus* (taxid:7757), *Ciona intestinalis* (taxid:7719), *Strongylocentrotus purpuratus* (taxid:7668), *Amphimedon queenslandica* (taxid:400682), *Saccharomyces cerevisiae* (taxid:4932), *Schizosaccharomyces pombe* (taxid:4896), *Actinobacteria* (taxid:201174), *Chlamydiae* (taxid:204428), *Cyanobacteria* (taxid:1117), *Proteobacteria* (taxid:1224), *Firmicutes* (taxid:1239), *Bacteroidetes* (taxid:976), *Archaea* (taxid:2157).

Επίσης, προκειμένου να εξασφαλίσουμε αξιόπιστα ευρήματά, για κάθε είδος πέραν των πολύ συγγενικών με τον άνθρωπο, χρησιμοποιήσαμε την αλληλουχία της ανθρώπινης πρωτεΐνης και της πρωτεΐνης του κοντινότερου συγγενή του είδους που μας ενδιέφερε. Μάλιστα μετά τη εύρεση της κατάλληλης αλληλουχίας, για να επαληθευτεί η ομολογία, πραγματοποιήθηκε αντίστροφη αναζήτηση χρησιμοποιώντας τη νέα αλληλουχία που βρέθηκε για να εντοπιστεί η ομόλογη αλληλουχία του ανθρώπου και του κοντινότερου συγγενικού είδους, με σκοπό να πάρουμε ως αποτέλεσμα τις δύο αλληλουχίες που χρησιμοποιήσαμε για την εύρεση της. Τέλος, οι εξωομάδες κατασκευάστηκαν με αλληλουχίες που ανήκουν σε αντιπροσωπευτικά είδη του βασιλείου των Ζώων. Για να βρεθούν αλληλουχίες με το κατάλληλο βαθμό συγγένειας, όπως θα αναλυθεί παρακάτω, χρησιμοποιήθηκε ως αλληλουχία επερώτησης η αλληλουχία που αντιστοιχεί στον άνθρωπο και πραγματοποιήθηκε species specific αναζήτηση για αλληλουχίες του ανθρώπου. Οι αλληλουχίες των υπόλοιπων ειδών που συγκροτούν την εξωομάδα ευρέθησαν με τον τρόπο που προαναφέρθηκε. Στην περίπτωση που δεν μπορούσε να εντοπιστεί η κατάλληλη αλληλουχία στη RefSeq, η αναζήτηση διευρύνθηκε στη nr (non-redundant protein sequence) οπότε βρίσκαμε την αλληλουχία που μας ενδιέφερε, αν υπήρχε, στην GenBank (Clark et al., 2015).

Με τον τρόπο αυτόν συλλέχθηκαν συνολικά 609 αλληλουχίες για όλα τα γονίδια και όλους τους οργανισμούς και αποθηκεύτηκαν σε multifasta αρχεία. Για κάθε πρωτεϊνική αλληλουχία κρατήθηκε το όνομα του οργανισμού από τον οποίο προήλθε (διωνυμική ονομασία κατά Λινναίο (Species Name) και κοινή ονομασία (Common Name)), το όνομα του γονιδίου (Gene Name), ο κωδικός της πρωτεϊνικής αλληλουχίας στη RefSeq (NCBI Reference Sequence (Protein)), ο κωδικός του γονιδίου στη Gene (Gene ID) και ο κωδικός της αλληλουχίας του γονιδίου στη RefSeq (NCBI Reference Sequence (Nucleotide)). Ο πίνακας με τα προαναφερθέντα στοιχεία βρίσκεται στο κεφάλαιο Σύνολο Δεδομένων.

Στοιχίση Αλληλουχιών

Η στοιχίση αλληλουχιών είναι η διευθέτηση αμινοξικών καταλοίπων (ή νουκλεοτιδίων) δύο ή περισσότερων αλληλουχιών σε γραμμές κάθετες, συμπεριλαμβάνοντας ελλείψεις και προσθήκες όπου είναι απαραίτητο έτσι ώστε όλες οι θέσεις να θεωρούνται ομόλογες. Στοιχεία της ίδιας σειράς προέρχονται από το ίδιο βιολογικό μαρκομόριο, ενώ στοιχεία της ίδιας στήλης είναι είτε δομικά ισοδύναμα είτε εξελικτικά ισοδύναμα (ομόλογα).



Εικόνα 29. Σχηματική απεικόνιση της προοδευτικής πολλαπλής στοιχίσης (Μπάγκος, 2015)

Η πιο γνωστή ευριστική μέθοδος (heuristic method) που χρησιμοποιείται για πολλαπλή στοιχίση αλληλουχιών είναι η Προοδευτική Πολλαπλή Στοιχίση Αλληλουχιών (Progressive Multiple Sequence Alignment Method). Στη μέθοδο αυτή, η στοιχίση των αλληλουχιών γίνεται προοδευτικά ξεκινώντας από δύο αλληλουχίες (συνήθως αυτές με τη μεγαλύτερη ομοιότητα) και σταδιακά προστίθενται στη στοιχίση μία-μία οι υπόλοιπες αλληλουχίες (Μπάγκος, 2015).

Τα βασικά βήματα της διαδικασίας είναι τα εξής:

- Πραγματοποίηση όλων των δυνατών κατά ζεύγη στοιχίσεων όλων των ακολουθιών
- Με βάση αυτές τις στοιχίσεις κατασκευάζεται τριγωνικός πίνακας αποστάσεων και δέντρο οδηγός (συνήθως με μεθόδους clustering)

- Προοδευτική στοίχιση των πιο όμοιων ακολουθιών μεταξύ τους μέχρι τέλους.

Γενικά, το δέντρο οδηγός της προοδευτικής πολλαπλής στοίχισης έχει πολλά κοινά με τα φυλογενετικά δέντρα, αλλά δεν ταυτίζονται με την αυστηρή έννοια του όρου. Σκοπός, σε αυτή την περίπτωση, είναι η παραγωγή μιας γρήγορης ομαδοποίησης που θα κατευθύνει τη στοίχιση και όχι να βρεθεί κοινός πρόγονος των ακολουθιών και ο χρόνος απόκλισης της κάθε μιας (Μπάγκος, 2015).

Η προσέγγιση βασίζεται στην πεποίθηση ότι οι περισσότερο όμοιες αλληλουχίες θα στοιχίζονται με όμοιο τρόπο στην τελική πολλαπλή στοίχιση. Έτσι δίνεται μια ιδιαίτερη βαρύτητα σε αυτές και στην ουσία οι κατά ζεύγη στοιχίσεις των πιο όμοιων αλληλουχιών αποτελούν το ικρίωμα στο οποίο θα χτιστεί η τελική πολλαπλή στοίχιση (Μπάγκος, 2015).

Το πρόγραμμα με το οποίο πραγματοποιήθηκε η πολλαπλή στοίχιση ήταν το MAFFT (Kato et al. 2002). Το συγκεκριμένο πρόγραμμα υλοποιεί έναν αλγόριθμο που πραγματοποιεί προοδευτική πολλαπλή στοίχιση στην οποία οι αλληλουχίες ομαδοποιούνται με τη βοήθεια Ταχύ Μετασχηματισμού Fourier (Fast Fourier Transformation-FFT) (Heideman et al., 1984). Το συγκεκριμένο πρόγραμμα χρησιμοποιείται ευρέως για φυλογενετικές αναλύσεις και επιλέχθηκε διότι διαθέτει μεγάλη ποικιλία αναλύσεων, μοντέλων και γενικά εργαλείων που μας επιτρέπουν να πραγματοποιήσουμε τις αναλύσεις γρήγορα και εύκολα.

Αφού εισάγαμε το multifasta αρχείο στο πρόγραμμα, επιλέξαμε η στοίχιση να γίνει με τη μέθοδο G-INS-1. Πρόκειται για μια αργή προοδευτική μέθοδο στοίχισης που συνοδεύεται από αυστηρή κατασκευή αντιπροσωπευτικού δέντρου-οδηγού και είναι σημαντικά πιο ακριβής σε σύγκριση με τις υπόλοιπες επιλογές (Yamada et al., 2016). Ακριβώς επειδή επιλέξαμε αυτή τη στρατηγική στοίχισης, στο πεδίο "Align unrelated segments" επιλέγουμε το Unalignlevel να ισούται με 0,8 (τη μέγιστη δυνατή επιλογή). Αυτή η επιλογή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη όταν έχουμε δεδομένα τα οποία εμφανίζουν υψηλό βαθμό συντήρησης στο μεγαλύτερο μέρος τους, αλλά εμφανίζουν διαφορές μεταξύ τους σε λίγες και συγκεκριμένες

περιοχές. Το μοναδικό μειονέκτημα που εμφανίζει αυτή η στρατηγική είναι ότι έχει μεγάλο υπολογιστικό κόστος όταν εφαρμόζεται σε σύνολο δεδομένων που περιλαμβάνει πάνω από 50000 αλληλουχίες (Nakamura et al., 2018). Στο τέλος της στοίχισης, πήραμε ένα αρχείο κειμένου τύπου .fasta το οποίο περιέχει όλες τις στοιχισμένες αλληλουχίες.

Καθορισμός Μοντέλου Αντικατάστασης

Τα εξελικτικά μοντέλα αντικατάστασης περιγράφουν τη διαδικασία της γενετικής διακύμανσης μέσω σταθερών μεταλλάξεων και συνιστούν τη βάση της εξελικτικής ανάλυσης σε μοριακό επίπεδο (Arenas, 2015). Η εκάστοτε φυλογενετική ανάλυση βασίζεται σε ένα συγκεκριμένο και καλά ορισμένο μοντέλο που περιλαμβάνει μια "κωδικοποίηση" της υπόθεσης σχετικά με τους ρυθμούς μεταλλαξογένεσης που παρατηρούνται σε διαφορετικές θέσεις της υπό μελέτη αλληλουχίας και ουσιαστικά προσπαθεί να μιμηθεί τη διαδικασία της εξέλιξης (Arenas, 2015). Στην πραγματικότητα, τα μοντέλα αυτά αναθέτουν ένα σύνολο βαρών σε κάθε πιθανή αλλαγή κατάστασης που αντιπροσωπεύεται στην αλληλουχία. Συνεπώς, η επιλογή του κατάλληλου μοντέλου είναι κριτικής σημασίας για τη φυλογενετική ανάλυση διότι ένα μοντέλο, που διαθέτει και εξετάζει υπερβολικά πολλές παραμέτρους, αυξάνει πολύ το υπολογιστικό κόστος της ανάλυσης και συχνά οδηγείται σε υπερπροσαρμογή, ενώ αντίθετα, ένα μοντέλο που δεν εξετάζει αρκετές παραμέτρους, περιορίζει την ανάλυση και δίνει αποτελέσματα που αποκλίνουν πολύ από την πραγματικότητα (Sullivan and Joyce, 2005). Ο αριθμός των παραμέτρων που εξετάζεται σε ένα σύνολο δεδομένων είναι και η βασική διαφορά μεταξύ των μοντέλων.

Τα μοντέλα που χρησιμοποιούνται στις φυλογενετικές αναλύσεις και χρησιμοποιούν αμινοξέα είναι συνήθως Εμπειρικά Μοντέλα (Empirical Models). Ένα εμπειρικό μοντέλο αποτελείται από έναν πίνακα 20x20 με ποσοστά αντικατάστασης του κάθε αμινοξικού καταλοίπου από κάθε άλλο κατάλοιπο καθώς και 20 συχνότητες, μία για κάθε είδος αμινοξικού

καταλοίπου (Arenas, 2015). Τα εμπειρικά μοντέλα δημιουργούνται συνεκτιμώντας πολλές παραμέτρους (τυπικά όλες τις θέσεις του πίνακα δεικτών και τις συχνότητες των χαρακτήρων) από μεγάλα σύνολα δεδομένων. Αυτές οι παράμετροι, στη συνέχεια γίνονται σταθερές και χρησιμοποιούνται για κάθε σύνολο δεδομένων. Το βασικό πλεονέκτημα των μεθόδων αυτών είναι ότι αυτές οι παράμετροι μπορούν να υπολογιστούν με μεγάλη ακρίβεια. Από την άλλη, οι δυσκολίες που δημιουργούνται οφείλονται στο γεγονός ότι δεν είναι δυνατόν να εκτιμηθούν όλες οι καταχωρήσεις του πίνακα από το τρέχον σύνολο δεδομένων μόνο. Επίσης, λόγω μικρού αριθμού δεδομένων, μπορεί οι παράμετροι να είναι λίγες και πολύ γενικές, οπότε δεν μπορούν να περιγράψουν καλά ένα σύνολο δεδομένων.

Στις μέρες μας, χάρη στην ύπαρξη μεγάλων συνόλων δεδομένων, που έχουν προκύψει από αλληλούχιση, υπάρχουν και είναι διαθέσιμα αρκετά δεδομένα για να δημιουργηθούν εμπειρικά μοντέλα με οποιονδήποτε αριθμό παραμέτρων.

Το πρώτο εμπειρικό μοντέλο που χρησιμοποιεί αμινοξικά κατάλοιπα είναι το μοντέλο Dayhoff το οποίο αναπτύχθηκε υπολογίζοντας τα ποσοστά αντικατάστασης για κάθε αμινοξικό κατάλοιπο από στοιχίσεις πρωτεϊνικών αλληλουχιών με τουλάχιστον 85% ομοιότητα, πράγμα που ελαχιστοποιεί την πιθανότητα παρατήρησης πολλαπλών υποκαταστάσεων σε μία μόνο θέση (Dayhoff et al., 1978). Από τον εκτιμώμενο πίνακα δεικτών, προκύπτει στη συνέχεια μια σειρά πινάκων πιθανοτήτων αντικαταστάσεων (π.χ. PAM 250). Με την ίδια ακριβώς λογική, αναλύοντας όμως μεγαλύτερο όγκο αλληλουχιών, δημιουργήθηκε το μοντέλο JTT (Jones et al., 1992). Το μόνο αρνητικό που εμφανίζουν τα μοντέλα Dayhoff και JTT είναι ότι επιτρέπουν τη χρήση μόνο στενά συγγενικών αλληλουχιών, διότι λόγω του υψηλού κατωφλιού συγγένειας (ομοιότητα αλληλουχιών μεγαλύτερη του 85%) κάποια ζεύγη αλληλουχιών χάνονται από την ανάλυση (Le and Gascuel, 2008).

Το επόμενο μοντέλο που αναπτύχθηκε ήταν το WAG για τη δημιουργία του οποίου αξιοποιήθηκαν μέθοδοι μέγιστης πιθανοφάνειας (ML) (Whelan and Goldman, 2001). Το

συγκεκριμένο μοντέλο αναπτύχθηκε αξιοποιώντας αλληλουχίες πρωτεϊνών που ανήκαν σε διάφορες οικογένειες, διότι ανάλογα με τα στοιχεία της δευτεροταγούς δομής, τη λειτουργία και το κυτταρικό διαμέρισμα στο οποίο εντοπίζονται οι διάφορες πρωτεΐνες, αλλάζει και η αμινοξική τους σύσταση. Ενώ λοιπόν, το μοντέλο Dayhoff αποδίδει κυρίως για σφαιρικές υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες και το μοντέλο JTT ενδείκνυται κυρίως για μεμβρανικές πρωτεΐνες, το μοντέλο WAG εμφανίζει μια σταθερά υψηλή απόδοση για όλες τις πρωτεϊνικές οικογένειες (Whelan and Goldman, 2001).

Η επόμενη βελτίωση ήρθε με την ανάπτυξη του μοντέλου LG (Le and Gascuel, 2008). Πρόκειται ουσιαστικά για ένα βελτιωμένο μοντέλο WAG που εκπαιδεύτηκε με έναν πολύ μεγάλο όγκο αλληλουχιών που προήλθαν από την Pfam και στοιχίστηκαν χρησιμοποιώντας την ML μέθοδο εκτίμησης. Το μοντέλο LG ραφινάει το μοντέλο WAG ενσωματώνοντας την μεταβλητότητα του ρυθμού εξέλιξης διαφορετικών θέσεων (Le et al., 2008).

Όλα αυτά τα μοντέλα χρησιμοποιούν την υπόθεση ότι όλες οι θέσεις των αμινοξικών καταλοίπων εξελίσσονται ανεξάρτητα και σύμφωνα με την ίδια Μαρκοβιανή διαδικασία η οποία θεωρείται στατική και ομοιογενής. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι συχνότητες των αμινοξικών καταλοίπων και το μοντέλο της εξέλιξης να θεωρούνται σταθερά και συνεχή στο πέρασμα του χρόνου για όλες τις θέσεις σε μια στοίχιση. Επιπροσθέτως, η Μαρκοβιανή διαδικασία θεωρείται αντιστρέψιμη, δηλαδή σε έναν "παρατηρητή" θα φαινόταν το ίδιο αν κινούνταν είτε προς τα εμπρός είτε προς τα πίσω στο χρόνο (Whelan and Goldman, 2001).

Αυτή η ποικιλία του ρυθμού εξέλιξης μεταξύ διαφορετικών θέσεων μοντελοποιείται από τη χρήση G κατανομής (Yang, 1994). Στατιστικές αναλύσεις δείχνουν ότι η κατανομή του αριθμού των αντικαταστάσεων σε διαφορετικές θέσεις ποικίλει σύμφωνα με τη γάμμα κατανομή (Irwin et al., 1991; Tamura and Nei, 1993; Uzzell and Corbin, 1971; Wakeley, 1993). Σε αυτήν την περίπτωση, στο όνομα του μοντέλου προστίθεται η ένδειξη +G. Επίσης, κάποιες φορές σε μια στοίχιση εντοπίζεται ένα ποσοστό σταθερών θέσεων, δηλαδή θέσεων που δεν

παρουσιάζουν διακύμανση (proportion of invariable sites), οπότε στο όνομα του μοντέλου προστίθεται η ένδειξη +I. Στην περίπτωση που συνδυάζονται και τα δύο, προστίθεται στο όνομα του μοντέλου η ένδειξη +I+G (Gu et al., 1995).

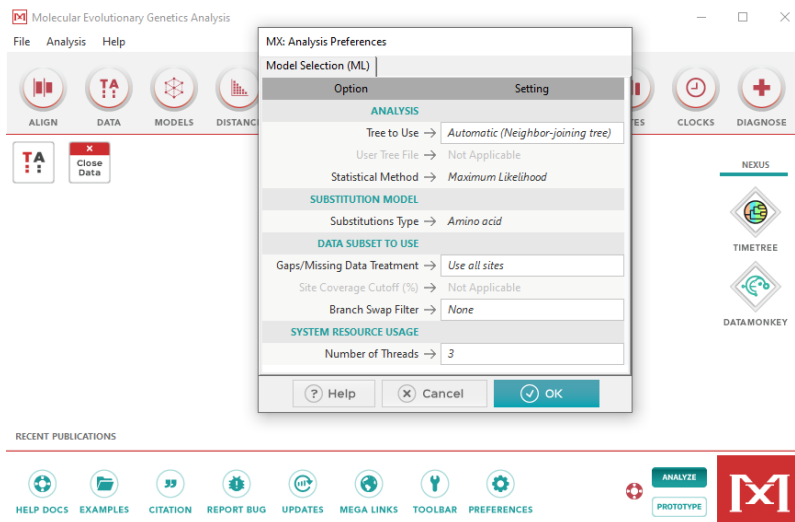
Όπως προαναφέραμε, στα εμπειρικά μοντέλα οι συχνότητες των αμινοξικών καταλοίπων δεν τίθενται απλά όλες ίσες με 1/20, αλλά αποκτούν τιμές που αντιστοιχούν στο ποσοστό εμφάνισης κάθε καταλοίπου σε ένα μεγάλο σύνολο δεδομένων (frequency F) (Cao et al., 1994). Όταν οι συχνότητες προκύπτουν από τα δεδομένα με τέτοιο τρόπο, στα ονόματα των μοντέλων προστίθεται η ένδειξη +F (π.χ. JTT+F) και αντιπροσωπεύει την ύπαρξη εμπειρικών τιμών για τις συχνότητες των αμινοξικών καταλοίπων που έχουν προκύψει από τα δεδομένα.

Χάρη στις προαναφερθείσες αναλύσεις, τα μοντέλα γίνονται ακόμα πιο ακριβή και επιτρέπουν την κατασκευή φυλογενετικών δέντρων με ακόμα μεγαλύτερη ακρίβεια.

Όλα τα προαναφερθέντα μοντέλα δημιουργούν γενικούς πίνακες που βασίζονται σε μεγάλης κλίμακας πειράματα όπου οι συχνότητες των αμινοξέων και οι δείκτες αντικαταστάσεων έχουν υπολογιστεί βάση στοίχισης χιλιάδων πρωτεϊνικών αλληλουχιών, οπότε οι παράμετροι έχουν ήδη υπολογιστεί με λεπτομέρεια. Οι γενικοί αυτοί πίνακες χρησιμοποιούνται ευρέως καθώς είναι αξιόπιστοι και λειτουργούν καλά στις περισσότερες περιπτώσεις. Σε ορισμένες εξειδικευμένες αναλύσεις (π.χ. mtDNA) χρησιμοποιούνται αντίστοιχοι εξειδικευμένοι πίνακες και μοντέλα (Le and Gascuel, 2008).

Για να βρεθεί το κατάλληλο μοντέλο αντικατάστασης, χρησιμοποιήσαμε το πρόγραμμα MEGA X (Kumar et al., 2018) (www.megasoftware.net) το οποίο κατεβάσαμε τοπικά. Η εισαγωγή του αρχείου που προέκυψε από τη στοίχιση των αλληλουχιών γίνεται μέσω της επιλογής DATA → Open File/Session. Για την εύρεση του μοντέλου επιλέξαμε MODELS → Find Best DNA/Proteins Model (ML) που καθορίζει το μοντέλο χρησιμοποιώντας την στατιστική μέθοδο της μέγιστης πιθανοφάνειας. Στο παράθυρο που

εμφανίστηκε, αφήσαμε τις default ρυθμίσεις καθώς δίνουν τα καλύτερα και ακριβέστερα αποτελέσματα για ένα μεγάλο εύρος δεδομένων. Αφού ολοκληρωθεί η ανάλυση, τα αποτελέσματα εμφανίζονται σε νέο παράθυρο που περιλαμβάνει 56 διαφορετικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται για αμινοξικές ακολουθίες.



Εικόνα 30. Παράθυρο επιλογής παραμέτρων για τον καθορισμό μοντέλου αντικατάστασης στο MEGA X

Στα αποτελέσματα παρουσιάζεται το BIC score (Bayesian Information Criterion), η τιμή του AICc (Akaike Information Criterion, corrected), η τιμή της μέγιστης πιθανοφάνειας lnL, ο αριθμός των παραμέτρων (#Param), συμπεριλαμβανομένων των μηκών των κλάδων, όπου είναι δυνατόν εκτιμάται η γάμμα παράμετρος (Gamma) και/ή το ποσοστό αμετάβλητων θέσεων (Invariant), οι συχνότητες των αμινοξικών καταλοίπων (Freq) και ο ρυθμός των αντικαταστάσεων για κάθε ζεύγος αμινοξικών καταλοίπων (r). Το μοντέλο που χαρακτηρίζει καλύτερα το μοτίβο των αντικαταστάσεων που παρατηρείται στο σύνολο δεδομένων, είναι αυτό με το χαμηλότερο BIC score (Nei and Kumar, 2005).

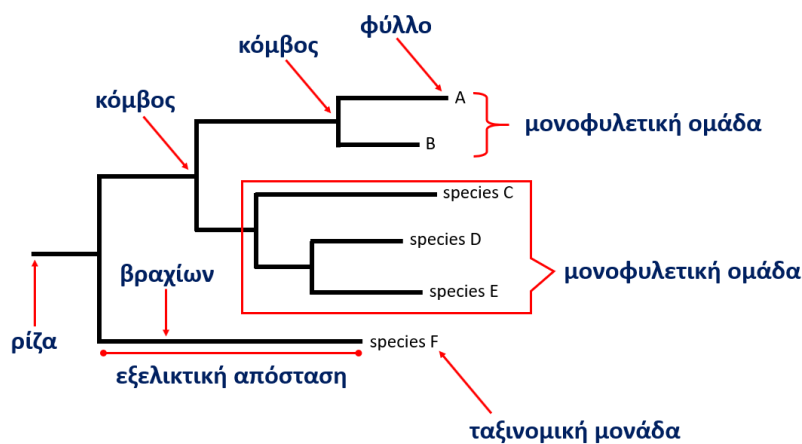
Κατασκευή Φυλογενετικών Δέντρων

Φυλογενετικά Δέντρα

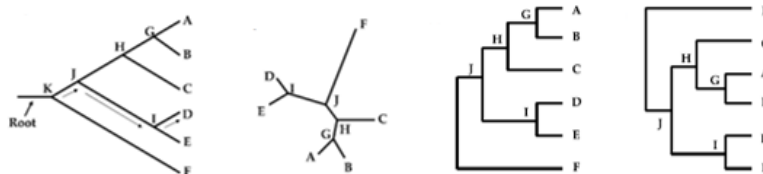
Το φυλογενετικό δέντρο αποτελεί μια αναπαράσταση της εξελικτικής διαδικασίας. Μπορούμε από την τοπολογία του να διακρίνουμε με ποια σειρά εξελίχθηκαν οι αλληλουχίες και πως συνδέονται μεταξύ τους, έτσι ώστε γυρνώντας πίσω στον χρόνο να μπορούμε να εντοπίσουμε τον κοινό τους πρόγονο. Τα φύλλα του αντιπροσωπεύουν τις ταξινομικές μονάδες-βαθμίδες (taxa) που συγκρίνονται, ενώ οι κόμβοι αντιπροσωπεύουν τα σημεία διακλάδωσης, δηλαδή τον κοινό πρόγονο και τη χρονική στιγμή ύπαρξης του. Τα μήκη των βραχιόνων-ακμών που συνδέουν τους εσωτερικούς κόμβους με τα φύλλα και τους κόμβους μεταξύ τους, αντιπροσωπεύουν τον χρόνο που έχει περάσει. Ένας κόμβος, με όλους τους βραχίονες που ξεκινάνε από αυτόν και τα φύλλα με τα οποία συνδέεται αποτελούν μια μονοφυλετική ομάδα η οποία ουσιαστικά περιλαμβάνει όλους τους οργανισμούς (ή τις αλληλουχίες) που προέρχονται από ένα κοινό πρόγονο, χωρίς να περιέχει άλλους οργανισμούς που δεν κατάγονται από αυτόν τον κοινό πρόγονο.

Στα φυλογενετικά δέντρα, γίνονται ιδιαίτερα εμφανείς οι βασικές αρχές της φυλογενετικής ανάλυσης οι οποίες στηρίζονται σε μερικές απλές παραδοχές (Baxevanis, 2001). Αρχικά, οποιαδήποτε ομάδα οργανισμών (ή αλληλουχιών) προέρχεται από κάποιον κοινό πρόγονο μέσω της διαδικασίας της εξέλιξης. Αν οι οργανισμοί (ή οι αλληλουχίες) εμφανίζουν μεγάλες διαφορές μεταξύ τους, ο κοινός πρόγονος δεν παύει να υπάρχει, αλλά βρίσκεται πολύ πίσω στον εξελικτικό χρόνο. Επίσης, η εξέλιξη ακολουθεί διχαλωτό πρότυπο, η διαδικασία της εξέλιξης δηλαδή οδηγεί πάντα στη διχοτόμηση ενός taxon έτσι ώστε να δημιουργούνται δύο βραχίονες που ξεκινούν από έναν κόμβο. Τέλος, η διαδικασία της εξέλιξης είναι πολύ αργή και οι αλλαγές στα χαρακτηριστικά των οργανισμών μπορούν να παρατηρηθούν σε βάθος πολλών γενεών.

Σε ό,τι αφορά τη δομή των δέντρων, αυτά μπορεί είτε να έχουν ρίζα (rooted) είτε να μην έχουν (unrooted). Στα δέντρα που φέρουν ρίζα, έχουμε ξεκάθαρη κατεύθυνση του χρόνου και έτσι μπορούμε να προσδιορίσουμε τον αρχαίο κοινό πρόγονο. Αν έχουμε δέντρο χωρίς ρίζα, δε μπορούμε να προσδιορίσουμε την κατεύθυνση κατά την οποία έχει συντελεστεί η εξελικτική διαδικασία. Το αν το δέντρο θα έχει ή δεν θα έχει ρίζα εξαρτάται από τη μέθοδο που θα χρησιμοποιήσουμε για την κατασκευή του. Σε κάθε περίπτωση, μπορούμε να προσθέσουμε ρίζα εκ των υστέρων και μάλιστα το επιδιώκουμε και αυτό επιτυγχάνεται με την προσθήκη της εξωομάδας (Μπάγκος, 2015). Η εξωομάδα (outgroup) αποτελείται από αλληλουχίες που εμφανίζουν έναν βαθμό συγγένειας με τις υπό εξέταση αλληλουχίες. Αυτή η συγγένεια πρέπει να είναι αρκετά μακρινή ώστε η εξωομάδα να βρίσκεται κοντά στη ρίζα του δέντρου και να ξεχωρίζει από τις άλλες αλληλουχίες, αλλά όχι τόσο ώστε να προσθέτει "θόρυβο" στην ανάλυση (Gascuel and Steel, 2006).



Εικόνα 31. Δομή φυλογενετικού δέντρου



Εικόνα 32. Οι τέσσερις εικόνες αντιπροσωπεύουν το ίδιο δέντρο αλλά με διαφορετικό τρόπο αναπαράστασης (Salemi et al., 2009)

Μέθοδοι Κατασκευής Φυλογενετικών Δέντρων

Υπάρχουν δύο βασικές προσεγγίσεις που έχουν αναπτυχθεί για τη φυλογενετική ανακατασκευή. Η πρώτη προσέγγιση είναι η Φαινετική (Phenetic Approach) και η δεύτερη είναι η Κλαδιστική (Cladistic Approach).

Μέθοδοι Γενετικών Αποστάσεων

Στη Φαινετική ανήκουν οι Μέθοδοι Γενετικών Αποστάσεων (Distance-matrix Methods). Οι αλγόριθμοι που χρησιμοποιούν αυτές οι μέθοδοι βασίζονται σε έναν πίνακα αποστάσεων μεταξύ ταξινομικών μονάδων. Η ανάλυση ξεκινάει από μια πολλαπλή στοίχιση, υπολογίζουν με κάποιον τρόπο ένα πίνακα αποστάσεων για όλα τα ζευγάρια αλληλουχιών και μετά με βάση αυτόν τον πίνακα κατασκευάζουν το φυλογενετικό δέντρο (Durbin et al., 1998). Η μεγαλύτερη ομάδα από τις προαναφερόμενες μεθόδους, είναι στην ουσία κλασικές τεχνικές της στατιστικής ομαδοποίησης (clustering), και συγκεκριμένα, αυτές οι μέθοδοι που ονομάζονται "ιεραρχικές", οι οποίες παράγουν ένα είδους δέντρο το οποίο δηλώνει την ομαδοποίηση των δεδομένων (Μπάγκος, 2015). Σκοπός των μεθόδων αυτών είναι η κατασκευή ενός μόνο δέντρου του οποίου η τοπολογία και τα μήκη των κλάδων θα συμφωνούν όσο το δυνατόν περισσότερο με τις πραγματικές-παρατηρούμενες αποστάσεις. Το βασικότερο πλεονέκτημα των μεθόδων αυτών είναι η ταχύτητά τους (Kuhner and Felsenstein, 1994), οπότε μπορούν να αξιοποιηθούν στη δημιουργία μεγάλων φυλογενετικών δέντρων που απαιτούν την ταυτόχρονη ανάλυση δεκάδων αλληλουχιών. Χαρακτηριστικοί αλγόριθμοι της κατηγορίας αυτής είναι ο αλγόριθμος Μη-σταθμισμένης Ζευγαρωτής Μεθόδου Αριθμητικών Μέσων (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) και ο αλγόριθμος Σύνδεσης Γειτόνων (Neighbor-Joining).

Μέθοδοι Διακριτών Χαρακτηριστικών

Στην Κλαδιστική ανήκουν οι Μέθοδοι Διακριτών Χαρακτηριστικών οι οποίες χρησιμοποιούν τους χαρακτήρες ως κριτήριο βελτιστοποίησης (Character-based Methods). Σε αντίθεση με τις μεθόδους αποστάσεων, δεν μετασχηματίζουν τις αλληλουχίες, αλλά τις χρησιμοποιούν σε όλη τη διαδικασία της εκτίμησης, αντιμετωπίζοντάς τες όπως ακριβώς είναι, δηλαδή ως ακολουθίες διακριτών συμβόλων από ένα πεπερασμένο αλφάβητο (Durbin et al., 1998). Πρόκειται για εκλεπτυσμένες μεθόδους που βασίζονται στην προσπάθεια εύρεσης μιας βέλτιστης λύσης σε ένα πρόβλημα ελαχιστοποίησης. Οι αλγόριθμοι αυτού του τύπου βασίζονται σε ένα εξελικτικό μοντέλο το οποίο χρησιμοποιούν για να κατασκευάσουν ένα τελικό φυλογενετικό δέντρο που αναπαριστά βέλτιστα τις εξελικτικές σχέσεις των αλληλουχιών. Με τις συγκεκριμένες μεθόδους κατασκευάζονται πολλαπλά δέντρα που ουσιαστικά αντιστοιχούν σε εναλλακτικά εξελικτικά μονοπάτια και επιλέγεται το βέλτιστο εξ αυτών με ένα εκ των δύο βασικών κριτηρίων. Τα κριτήρια αυτά έχουν δώσει και το όνομα τους στην αντίστοιχη μέθοδο και είναι η Μέγιστη Φειδωλότητα (Maximum Parsimony) και η Μέγιστη Πιθανοφάνεια (Maximum Likelihood). Οι μέθοδοι αυτές είναι εξαιρετικά απαιτητικές υπολογιστικά διότι εξετάζουν πολλά πιθανά δέντρα (Chor and Tuller, 2005) και γι' αυτό η χρήση τους συνήθως περιορίζεται σε μικρά δέντρα, όμως τα κριτήρια που χρησιμοποιούν είναι ορθότερα από βιολογικής άποψης και γι' αυτό θεωρούνται καλύτερη επιλογή για πιο ακριβή δέντρα ειδικά όταν εξετάζονται αλληλουχίες με μακρινή συγγένεια.

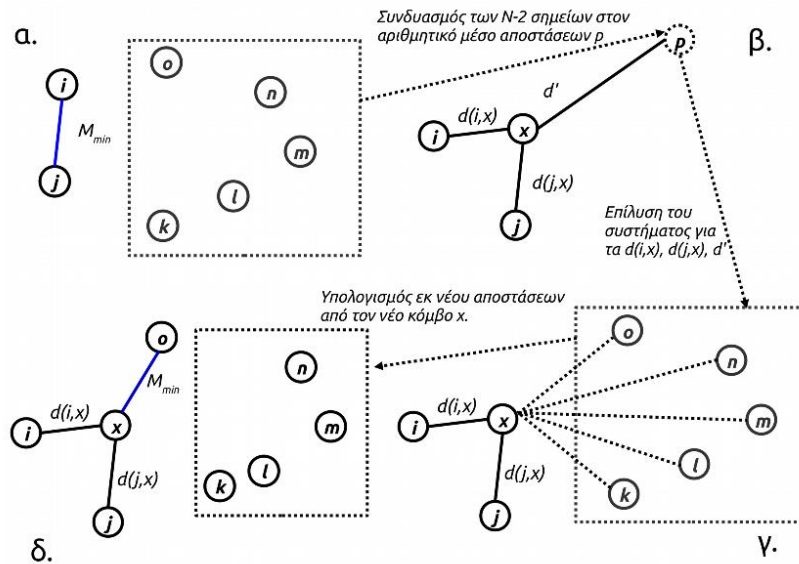
Επιλογή Μεθόδων Κατασκευής Φυλογενετικών Δέντρων

Στην παρούσα μελέτη επιλέξαμε να χρησιμοποιήσουμε μία μέθοδο από την κάθε κατηγορία και πιο συγκεκριμένα τα μέθοδο Neighbor Joining (NJ) και τη μέθοδο Maximum Likelihood (ML). Η μέθοδος NJ επιλέχθηκε γιατί είναι ιδιαίτερα ακριβής διότι δεν απαιτεί την ύπαρξη μοριακού ρολογιού (Zuckerandl and Pauling, 1962) για να δώσει σωστά

αποτελέσματα και επίσης, οι αποστάσεις ακολουθούν ή προσεγγίζουν την προσθετική ιδιότητα (σύμφωνα με την αρχή της προσθετικότητας η απόσταση μεταξύ δύο οποιωνδήποτε φύλλων του δέντρου θα είναι πάντοτε ίση με το άθροισμα των κλάδων που τα συνδέουν) οπότε το δέντρο που ανακατασκευάζεται θα είναι πάντα σωστό (Μπάγκος, 2015). Η μέθοδος ML επιλέχθηκε διότι διαθέτει πληθώρα λεπτομερών πιθανοθεωρητικών μοντέλων και έχει ένα ιδιαίτερα στέρεο μαθηματικό υπόβαθρο (Μπάγκος, 2015). Συνέπεια αυτών, είναι να αποτελεί ένα πανίσχυρο εργαλείο όχι μόνο στην απλή ανακατασκευή φυλογενετικών δέντρων, αλλά και στη διερεύνηση των ίδιων των μηχανισμών της εξελικτικής διαδικασίας (Μπάγκος, 2015).

Η μέθοδος Neighbor Joining (NJ) (Saitou and Nei, 1987), ξεκινάει με N ταξινομικές μονάδες ενωμένες σε έναν και μοναδικό κόμβο, δηλαδή δημιουργεί ένα δέντρο χωρίς ρίζα. Επίσης, δημιουργείται ένας πίνακας μεγέθους $N \times N$ που φέρει την απόσταση κάθε πιθανού ζεύγους αλληλουχιών (Robinson, 2010). Το πρώτο βήμα κατά την εκτέλεση είναι ο μετασχηματισμός αυτών των αποστάσεων σε νέες ποσότητες που είναι χαρακτηριστικές της μεταξύ τους γειτνίασης. Στη νέα λοιπόν μήτρα που δημιουργείται, επιλέγεται το ζεύγος των ταξινομικών μονάδων (έστω στοιχεία i και j αντίστοιχα) που εμφανίζει τη μικρότερη μεταξύ τους απόσταση, έχουν δηλαδή τη μεγαλύτερη γειτνίαση απ' ό,τι οποιοδήποτε άλλο ζεύγος ταξινομικών μονάδων στο σύνολο δεδομένων. Οι ταξινομικές αυτές μονάδες καθώς και οι κλάδοι τους αποχωρίζονται από το δέντρο και δημιουργείται ένας νέος κοινός προγονικός κόμβος (έστω στοιχείο x) με τον οποίο συνδέονται και δημιουργούν ένα νέο υποδέντρο. Στη συνέχεια, υπολογίζεται η απόσταση της κάθε ταξινομικής μονάδας, από το ζεύγος που εξετάζουμε, από τον προγονικό κόμβο. Τα μήκη των κλάδων που προκύπτουν δεν είναι απαραίτητα ίσα. Στο επόμενο βήμα λοιπόν, τα στοιχεία i και j απομακρύνονται από τον πίνακα στον οποίον προστίθεται το στοιχείο x ως νέο στοιχείο, οπότε ο πίνακας μικραίνει κατά ένα στοιχείο. Στη συνέχεια, υπολογίζεται η απόσταση όλων των ταξινομικών μονάδων οι οποίες πλέον είναι $N-2$, από το νέο στοιχείο x , οπότε όλες οι τιμές του πίνακα αποστάσεων

επαναυπολογίζονται. Η διαδικασία ξεκινάει από την αρχή αναζητώντας το επόμενο ζεύγος ταξινομικών μονάδων με την ελάχιστη απόσταση. Τα δέντρα που παράγονται με αυτή τη μέθοδο δεν έχουν ρίζα και για την εύρεση αυτής συνήθως είναι απαραίτητη η προσθήκη εξωομάδας.



Εικόνα 33. Διαγραμματική απεικόνιση της μεθόδου Neighbor Joining για την κατασκευή φυλογενετικών δέντρων (Νικολάου και Χουβαρδάς, 2015)

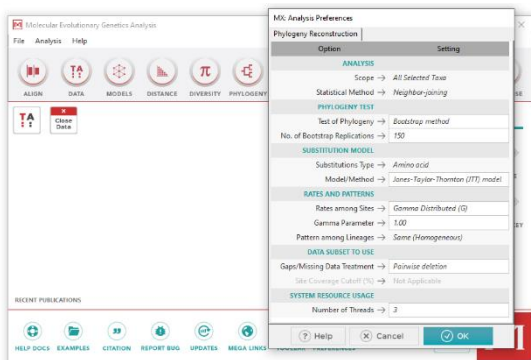
Η μέθοδος Maximum Likelihood (ML) είναι μια πιθανοτική μέθοδος που βασίζεται σε συγκεκριμένα μοντέλα εξέλιξης αλληλουχιών. Το κριτήριο ελαχιστοποίησης είναι η διαφορά των παρατηρούμενων αντικαταστάσεων με τις αναμενόμενες βάση του μοντέλου, η μέθοδος δηλαδή προχωρά μέσω της σταδιακής δημιουργίας ενός δέντρου που είναι όσο το δυνατόν πιο πιθανό με βάση το αναμενόμενο από το μοντέλο (Falsestein, 1981; Kishiro and Hasegawa, 1989). Έτσι λοιπόν, ο αλγόριθμος εντοπίζει ένα πιθανό δέντρο, με δεδομένη τοπολογία και για ένα δεδομένο μοντέλο αντικαταστάσεων και προχωρά υπολογίζοντας την πιθανοφάνεια για κάθε κόμβο του δέντρου, δεδομένων των θυγατρικών του φύλλων/κόμβων. Τελικά υπολογίζεται το συνολικό γινόμενο πιθανοτήτων (πιθανοφάνειας) για όλο το δέντρο περνώντας από κόμβο σε κόμβο μέσω μιας επαναληπτικής διαδικασίας. Ο υπολογισμός της

πιθανοφάνειας αυτής, γίνεται με κάποιον αλγόριθμο που αθροίζει τις συνεισφορές για όλα τα πιθανά δέντρα και επιλέγεται τελικά το δέντρο που δίνει τη μέγιστη πιθανοφάνεια. Ο πιο γνωστός αλγόριθμος που έχει προταθεί για αυτόν το σκοπό είναι αυτός του Felsenstein (pruning algorithm) (Felsenstein, 1981) και είναι πολύ κοντά στον δυναμικό προγραμματισμό (Penny, 2004).

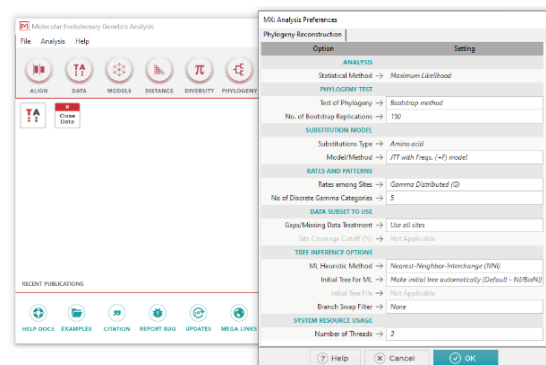
Οι υπολογιστικές απαιτήσεις της μεθόδου καθορίζονται από το πρόβλημα ανάλυσης μεγάλου αριθμού δέντρων. Ακόμα και για τον υπολογισμό της πιθανοφάνειας ενός δεδομένου δέντρου είναι εξαιρετικά απαιτητικοί και ουσιαστικά απαγορευτικοί αν πρέπει να γίνουν για όλα τα δέντρα. Ένας τρόπος να αποκλειστεί ένας μεγάλος αριθμός πιθανών δέντρων, ώστε η ανάλυση να περιοριστεί σε έναν αριθμό δέντρων που είναι διαχειρίσιμος είναι αλγόριθμοι όπως ο "branch and bound" (Hendy and Penny, 1982), και ο "divide and conquer" (Liu et al. 2009; Price et al., 2010).

Για να κατασκευάσουμε τα φυλογενετικά δέντρα, χρησιμοποιήσαμε το πρόγραμμα MEGA X (Kumar et al., 2018) (www.megasoftware.net). Για την κατασκευή του δέντρου με τη μέθοδο Neighbor Joining διαλέξαμε την επιλογή PHYLOGENY → Construct/Test Neighbor Joining Tree και στο νέο παράθυρο που εμφανίστηκε ρυθμίσαμε κατάλληλα τις παραμέτρους. Επιλέξαμε το κατάλληλο μοντέλο, όπως προέκυψε νωρίτερα στην ανάλυση, ενεργοποιήσαμε τον έλεγχο bootstrap και θέσαμε τις επαναλήψεις στις 150 και στην παράμετρο Gaps/Missing Data Treatment επιλέξαμε Pairwise Deletion. Η επιλογή μας αυτή βασίστηκε στο γεγονός ότι αναλύσαμε αλληλουχίες με μακρινή συγγένεια και είναι προτιμότερο να αφαιρούνται από την ανάλυση κενά, που προέκυψαν από τη στοίχιση, καθώς προχωράει η ανάλυση και αν κρίνεται σκόπιμο και όχι από την αρχή όπως προσφέρει η άλλη επιλογή που είναι διαθέσιμη και ονομάζεται Complete Deletion. Για την κατασκευή του δέντρου με τη μέθοδο Maximum Likelihood διαλέξαμε την επιλογή PHYLOGENY → Construct/Test Maximum Likelihood Tree και στο νέο παράθυρο που εμφανίζεται ρυθμίσαμε τις παραμέτρους όπως παραπάνω. Στο

τέλος της κάθε ανάλυσης προκύπτει ένα φυλογενετικό δέντρο στο οποίο επιλέξαμε να τοποθετήσουμε τη ρίζα στον βραχίονα της εξωομάδας.



Εικόνα 34. Παράθυρο ρύθμισης παραμέτρων για την κατασκευή φυλογενετικού δέντρου με τη μέθοδο Neighbor Joining στο MEGA X



Εικόνα 35. Παράθυρο ρύθμισης παραμέτρων για την κατασκευή φυλογενετικού δέντρου με τη μέθοδο Maximum Likelihood στο MEGA X

Αξιολόγηση Φυλογενετικών Δέντρων

Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη και ισχυρή μέθοδος αξιολόγησης φυλογενετικών δέντρων είναι η δοκιμασία bootstrap (Felsenstein, 1985). Είναι μια γνωστή μέθοδος στη στατιστική και χρησιμοποιείται για ελέγχους σημαντικότητας σε δύσκολες περιπτώσεις (Efron and Tibshirani, 1993) και βρίσκει εφαρμογή σε πολλά επιστημονικά πεδία καθώς βασίζεται σε μια απλή αλλά στατιστικά ισχυρή τεχνική επαναλαμβανόμενης δειγματοληψίας (resampling).

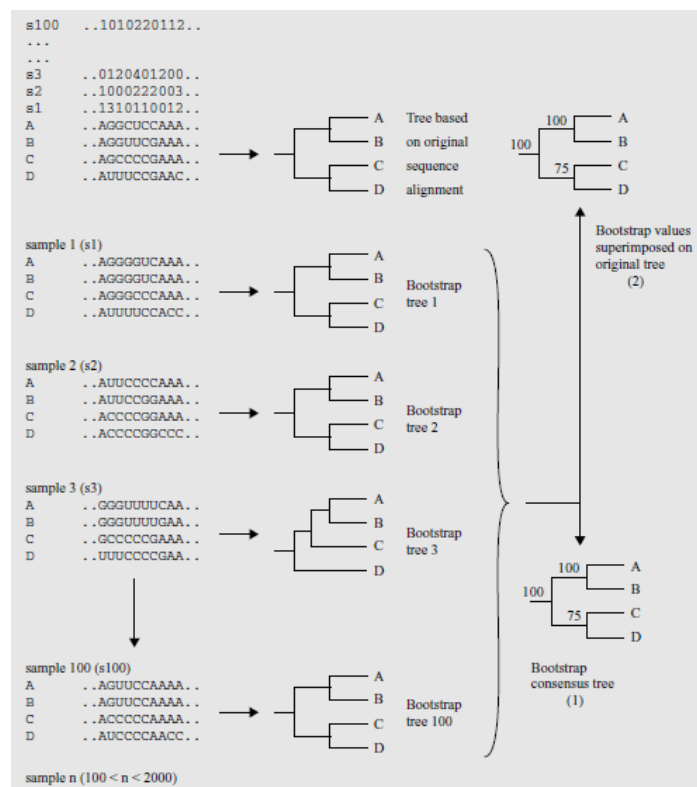
Η μέθοδος λειτουργεί σε δύο βασικά βήματα. Πρώτα δημιουργεί πολλά "τεχνητά" σύνολα δεδομένων κάνοντας δειγματοληψία με επανάθεση από τις παρατηρήσεις (δηλαδή τις στήλες της στοίχισης) του αρχικού συνόλου δεδομένων και μετά επαναλαμβάνει την ανάλυση για κάθε ένα από τα νέα αυτά σύνολα δεδομένων (Μπάγκος, 2015). Πιο αναλυτικά, με σημείο εκκίνησης μια πολλαπλή στοίχιση και το συναγόμενο δέντρο, η μέθοδος προχωράει ως εξής:

- Τυχαία ανακατάταξη των θέσεων της στοίχισης χωρίς όμως να αλλάζουν στο σύνολό τους τα κατάλοιπα που αποδίδονται σε κάθε αλληλουχία.

- Για κάθε ανακαταταγμένη στοίχιση, δημιουργείται ένα δέντρο με την ίδια μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την κατασκευή του αρχικού δέντρου.
- Στο δέντρο που προκύπτει από κάθε ανακατάταξη καταμετρώνται οι κόμβοι που βρίσκονται στην ίδια θέση με το αρχικό δέντρο. Αν ένας κόμβος ενώνει τα δύο φύλλα (ή τον ίδιο συνδυασμό κόμβων), η τιμή bootstrap του αυξάνεται κατά 1.
- Η διαδικασία των παραπάνω βημάτων επαναλαμβάνεται για έναν μεγάλο αριθμό φορών (συνήθως 100). Στο τέλος των επαναλήψεων, αποδίδεται σε κάθε κόμβο η τιμή bootstrap που έχει υπολογιστεί ως ποσοστό με βάση τον αριθμό των επαναλήψεων.

Στην περίπτωση των φυλογενετικών δέντρων (Hillis and Bull, 1993; Solitis and Solitis, 2003), μεγάλες τιμές bootstrap υποδηλώνουν πως ο κόμβος είναι στατιστικά σημαντικός και ότι κατά συνέπεια η συναγόμενη τοπολογία στη συγκεκριμένη θέση είναι βιολογικά σημαντική. Μεγάλες τιμές bootstrap για όλους τους κόμβους του δέντρου είναι δηλωτικές μιας γενικότερης αξιοπιστίας.

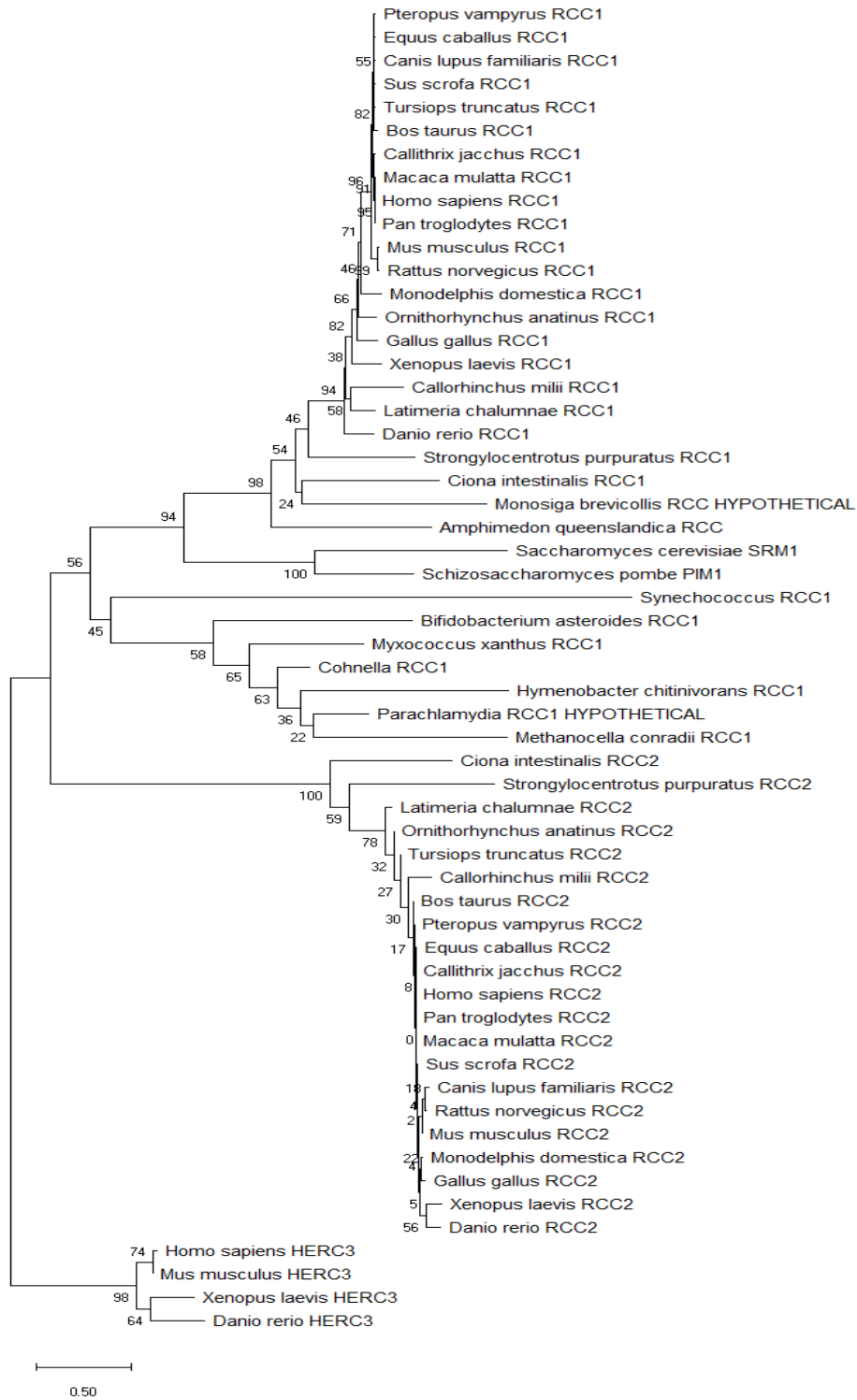
Στη συγκεκριμένη μελέτη επιλέξαμε να πραγματοποιήσουμε 150 επαναλήψεις bootstrap, αντί για 90-100 που επιλέγονται συνήθως, για να εξασφαλιστεί η αξιοπιστία και η ορθότητα των αποτελεσμάτων. Η δοκιμασία bootstrap εφαρμόζεται κατά την κατασκευή του εκάστοτε φυλογενετικού δέντρου.



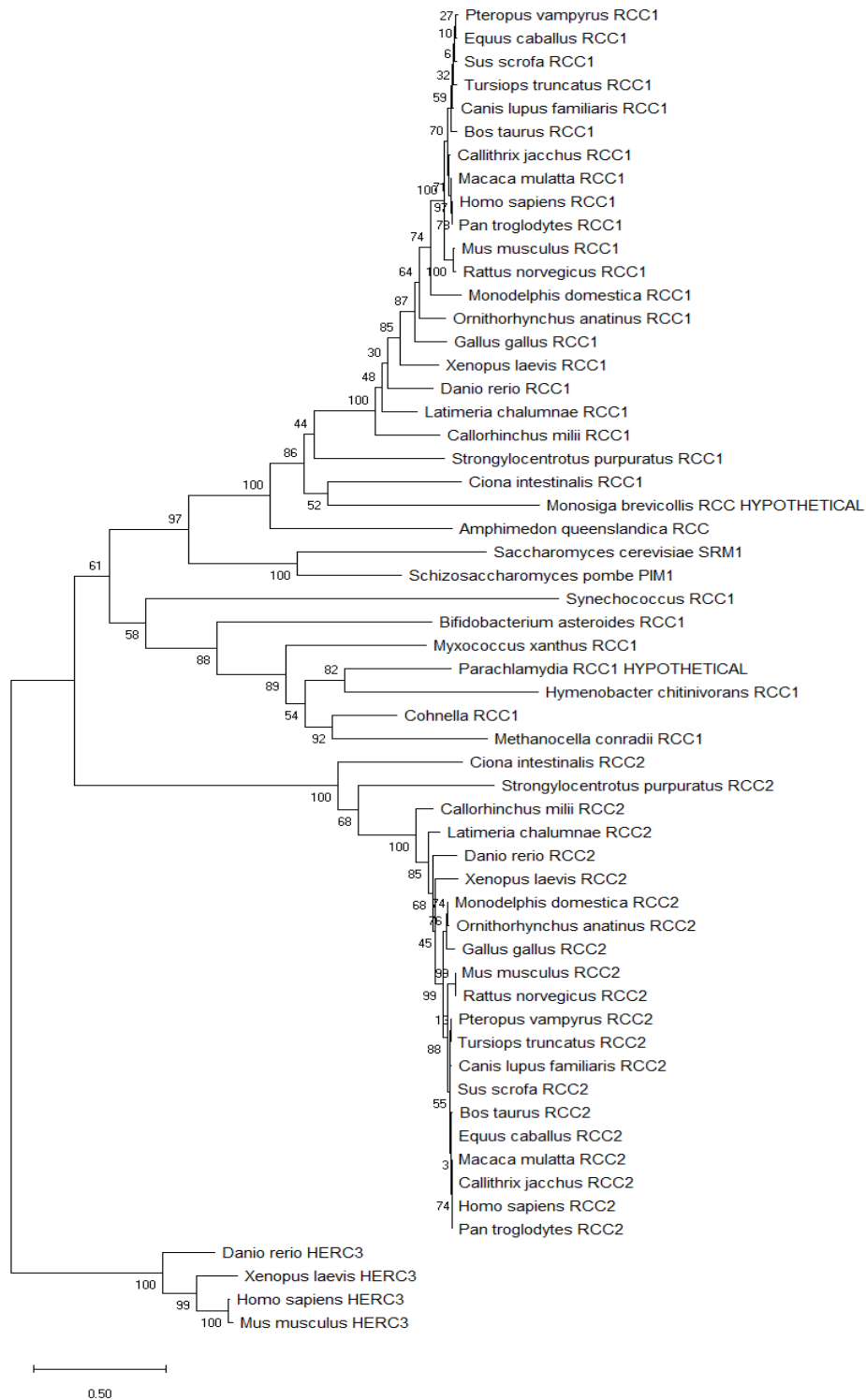
Εικόνα 36. Ανάλυση Bootstrap (Felsenstein, 1985)

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

RCC2



Εικόνα 37. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *RCC2*.



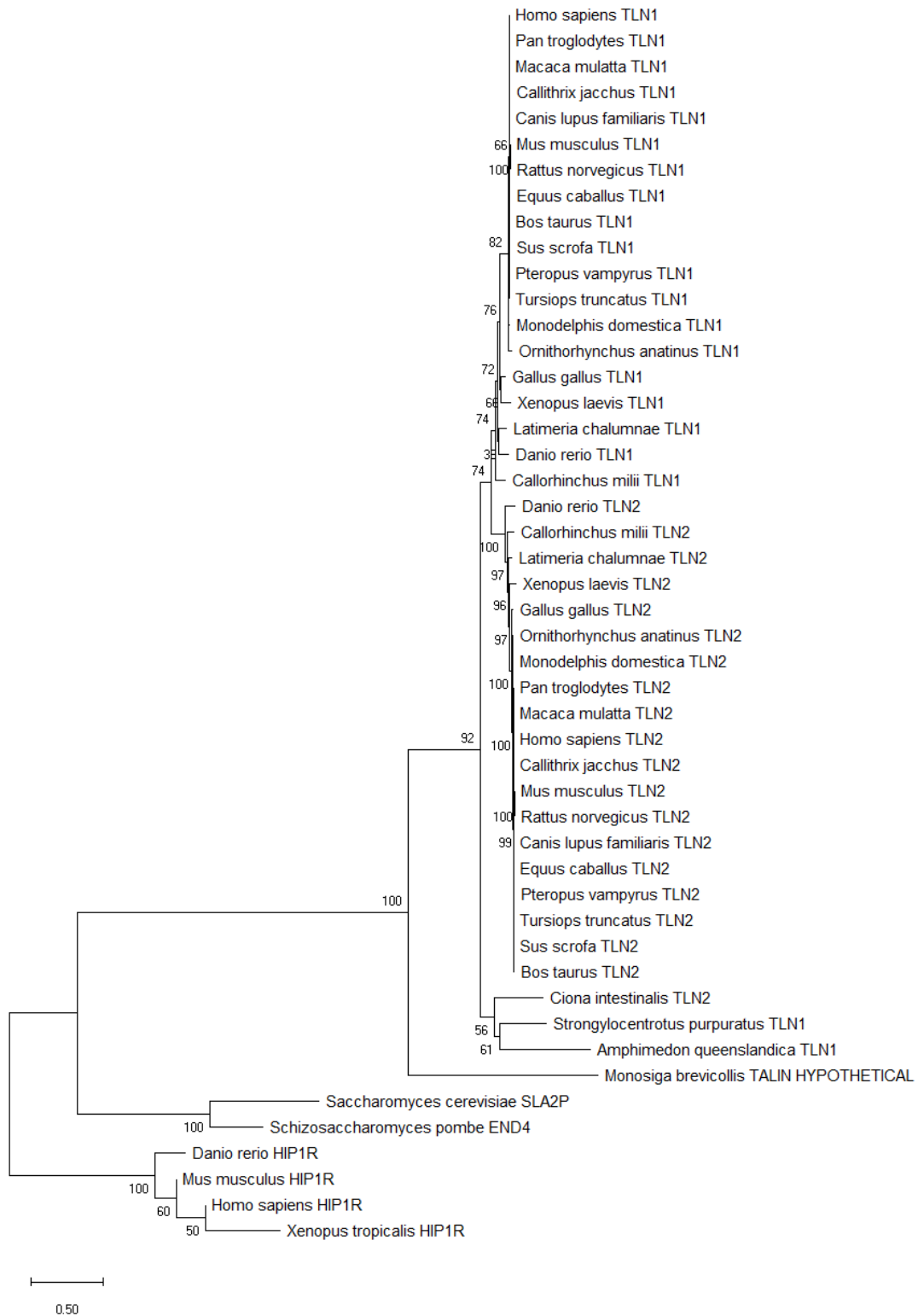
Εικόνα 38. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *RCC2*.

Τα γονίδια *RCC2* και *RCC1* είναι παράλογα, δηλαδή σε κάποιο στάδιο της εξέλιξης υπήρξε φαινόμενο διπλασιασμού και ακολούθησε διαφοροποίηση των γονιδίων λόγω

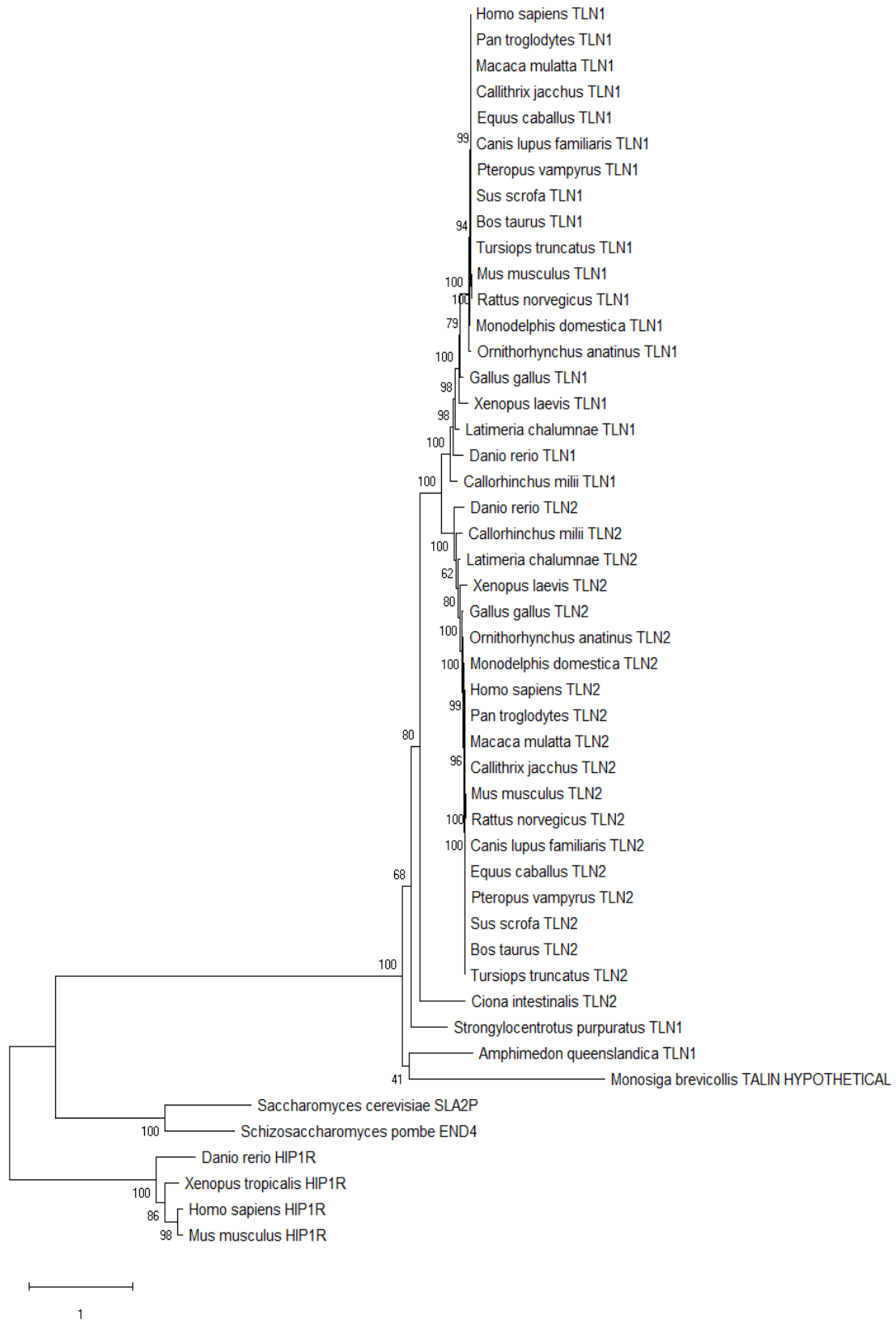
συσσώρευσης αλλαγών, χωρίς όμως να χάνεται η μεταξύ τους ομοιότητα. Το *RCC1* είναι το αρχαιότερο των δύο γονιδίων καθώς εντοπίζεται στα Μετάζωα, στα Βακτήρια (*Bifidobacterium asteroides* (Actinobacteria), *Parachlamydia* sp. C2 (Chlamydiae), *Synechococcus* sp. WH 8103 (Cyanobacteria), *Myxococcus xanthus* (Proteobacteria), *Cohnella* sp. CAU 1483 (Firmicutes), *Hymenobacter chitinivorans* (Bacteroidetes)) και στα Αρχαία (*Methanocella conradii* (Archaea)). Ομόλογα γονίδια εντοπίστηκαν και τους Μύκητες (*SRM1* στον οργανισμό *Saccharomyces cerevisiae* και *PIMI* στον οργανισμό *Schizosaccharomyces pombe*, πράγμα που επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία) (Clark et al., 1991; Kirkpatrick and Solomon, 1994). Επίσης, αν και το αντίστοιχο γονίδιο στους οργανισμούς *Monosiga brevicollis* και *Amphimedon queenslandica* ονομάζεται *RCC*, εμφανίζει μεγάλη ομοιότητα με το γονίδιο *RCC1*. Επομένως το γονίδιο *RCC1* πρωτοεμφανίστηκε σε κάποιο κοινό πρόγονο των Ευκαρυωτών, των Βακτηρίων και των Αρχαίων. Το γονίδιο *RCC2* από την άλλη εντοπίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Strongylocentrotus purpuratus*, άρα πρωτοεμφανίστηκε σε κάποιο πρόγονο των Εχινόδερμων που έζησε μετά τη διαφοροποίηση της ομάδας των Ποροφόρων, εφόσον δεν εντοπίζεται στον οργανισμό *Amphimedon queenslandica*. Επομένως, αν και το γονίδιο *RCC2* εντοπίζεται στα Μετάζωα, έχει πολύ βαθιές εξελικτικές ρίζες εντοπίζονται σε κάποιο αρχαίο μονοκύτταρο οργανισμό που αποτελεί τον κοινό πρόγονο Ευκαρυωτικών οργανισμών, Βακτηρίων και Αρχαίων.

Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές Bootstrap. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

TLN1



Εικόνα 39. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *TLN1*.

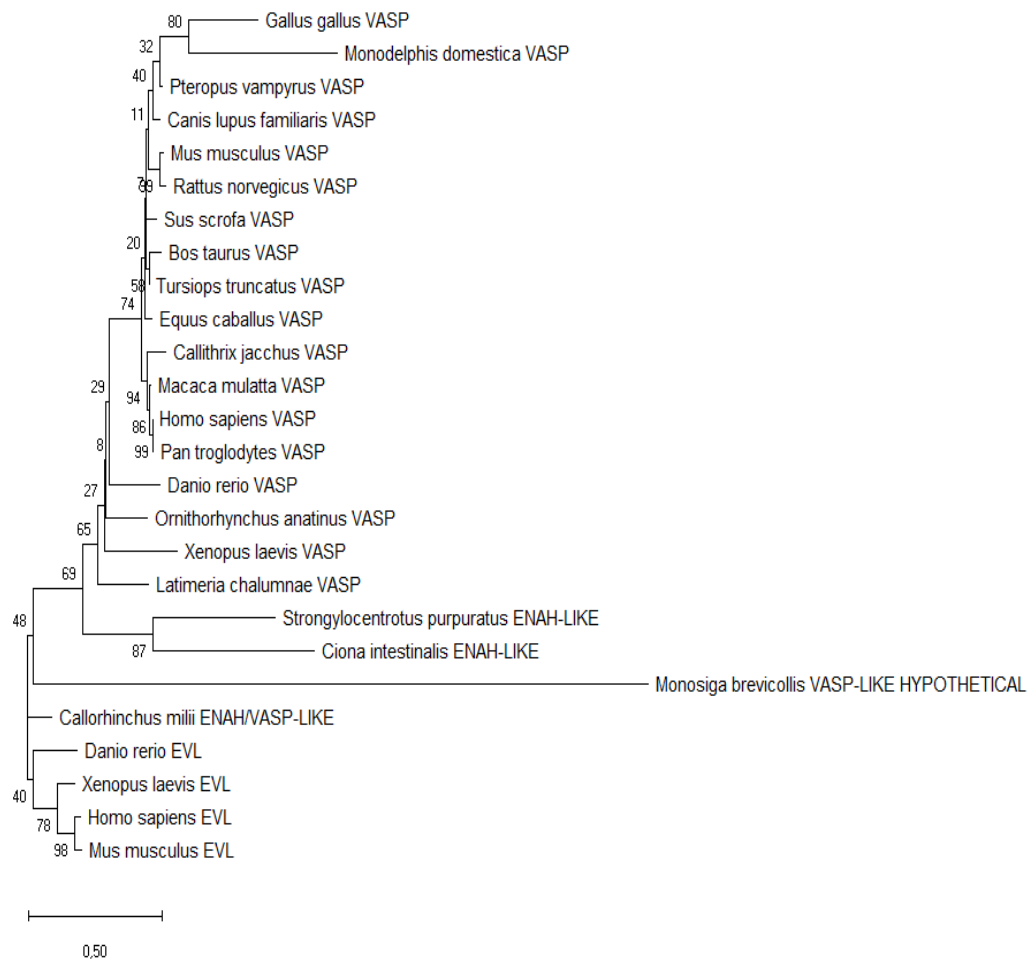


Εικόνα 40. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *TLN1*.

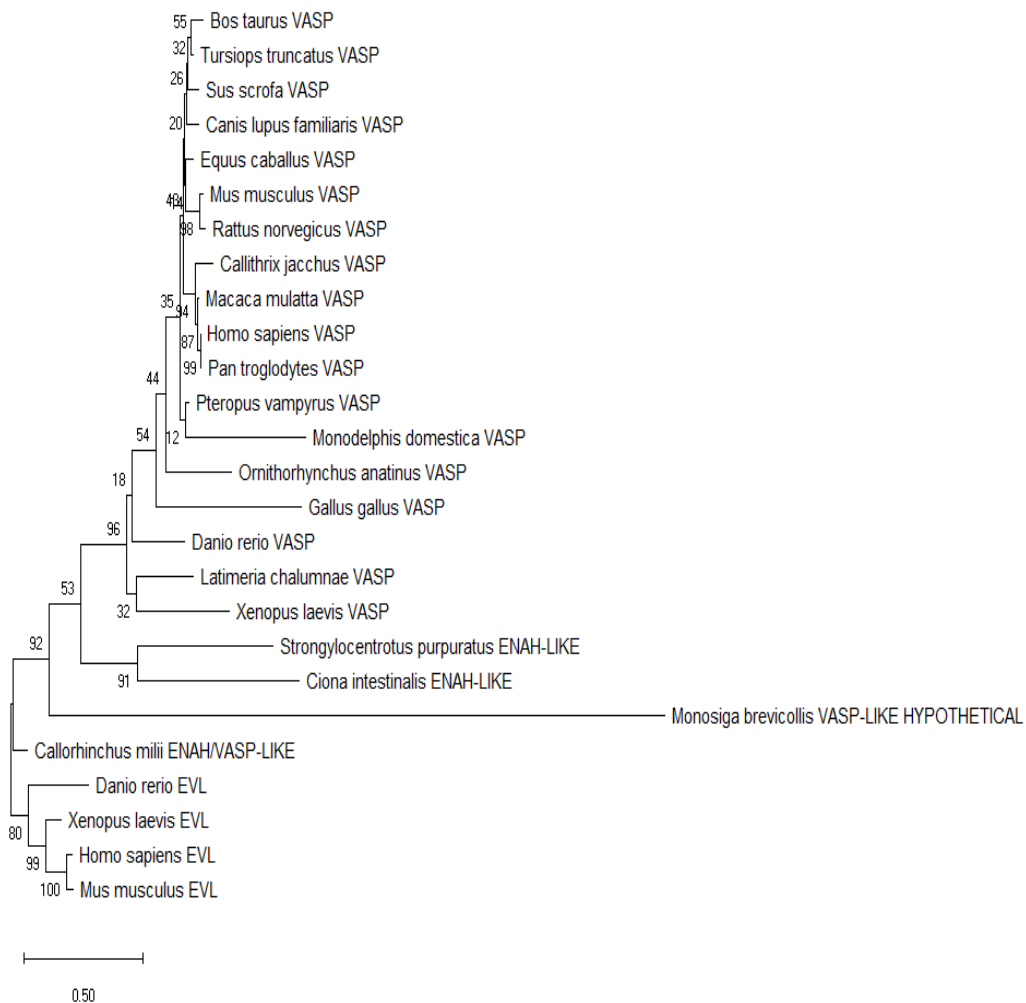
Τα γονίδια *TLN1* και *TLN2* είναι παράλογα, δηλαδή σε κάποιο στάδιο της εξέλιξης υπήρξε φαινόμενο διπλασιασμού και ακολούθησε διαφοροποίηση των γονιδίων λόγω συσσώρευσης αλλαγών, χωρίς όμως να χάνεται η μεταξύ τους ομοιότητα. Το *TLN1* είναι το αρχαιότερο των δύο γονιδίων καθώς πρωτοεμφανίζεται στον οργανισμό *Amphimedon queenslandica*. Επίσης, αν και το αντίστοιχο γονίδιο στον οργανισμό *Monosiga brevicollis* ονομάζεται *TALIN* και στον οργανισμό *Ciona intestinalis* ονομάζεται *TLN2*, εμφανίζουν και τα δύο μεγάλη ομοιότητα με το γονίδιο *TLN1*. Επιπροσθέτως, τον οργανισμό *Ciona intestinalis* δεν εντοπίζεται γονίδιο *TLN1*, επομένως ο χαρακτηρισμός του γονιδίου ως *TLN2* πιθανότατα να είναι λανθασμένος. Ομόλογα γονίδια της Ταλίνης εντοπίζονται και στους Μύκητες (*SLA2P* στον οργανισμό *Saccharomyces cerevisiae* και *END4* στον οργανισμό *Schizosaccharomyces pombe*, πράγμα που επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία) (Baggett et al., 2003; Wesp et al., 1997). Επομένως, το γονίδιο της Ταλίνης πρωτοεμφανίστηκε σε κάποιο μονοκύτταρο ευκαρυωτικό κοινό πρόγονο των Ζώων και των Μυκήτων. Το γονίδιο *TLN2* από την άλλη εντοπίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Callorhinchus milli*, άρα πρωτοεμφανίστηκε σε κάποιο πρόγονο των Χονδριχθύων που έζησε μετά τη διαφοροποίηση της ομάδας των Ουροχορδωτών, εφόσον το γονίδιο *TLN2* του οργανισμού *Ciona intestinalis* εμφανίζει μεγαλύτερη ομοιότητα με το γονίδιο *TLN1*. Επομένως, αν και το γονίδιο *TLN1* εντοπίζεται στα Μετάζωα, έχει πολύ βαθιές εξελικτικές ρίζες καθώς οι απαρχές του εντοπίζονται σε κάποιο αρχαίο μονοκύτταρο ευκαρυωτικό οργανισμό που αποτελεί κοινό πρόγονο των Ζώων και των Μυκήτων.

Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές Bootstrap. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

VASP



Εικόνα 41. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *VASP*.



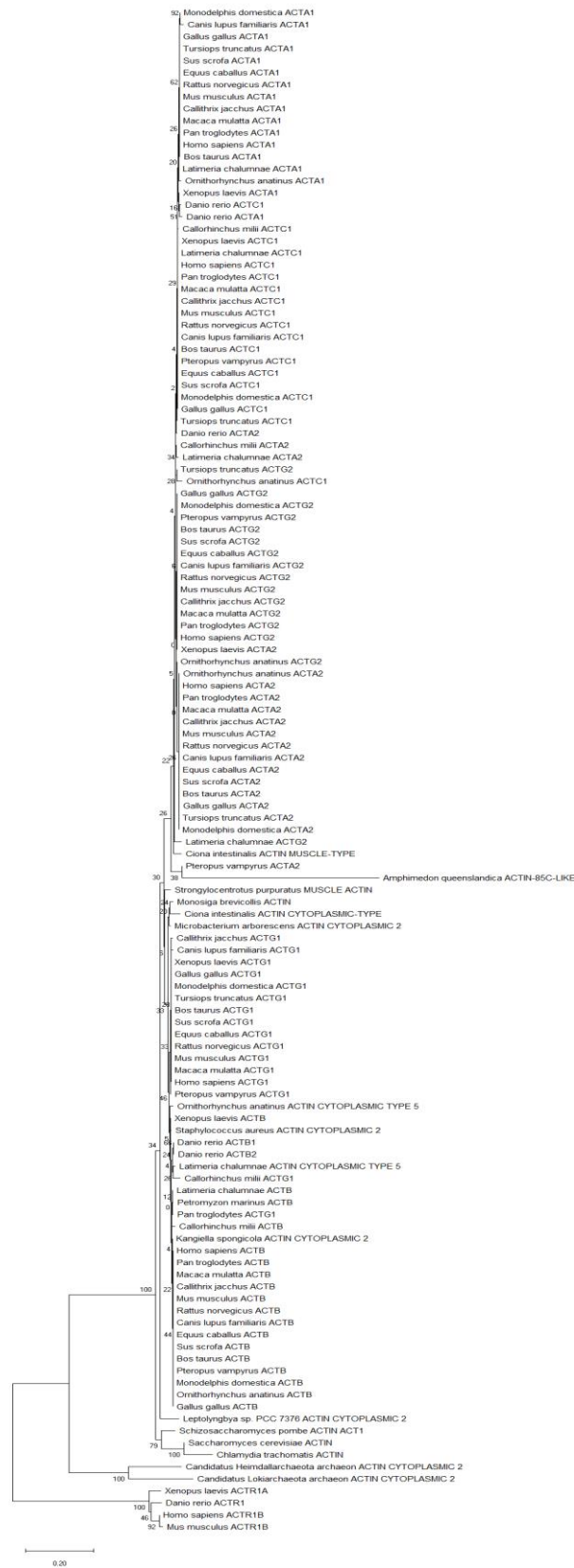
Εικόνα 42. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *VASP*.

Το γονίδιο *VASP* καθώς και τα παράλογά του (*Enah Vasp Like*) εντοπίζονται αποκλειστικά στα Ζώα. Επομένως το γονίδιο πρωτοεμφανίστηκε σε έναν ευκαρυωτικό μονοκύτταρο πρόγονο των σύγχρονων Ζώων. Σε οργανισμούς κατώτερων εξελικτικών βαθμίδων (*Monosiga brevicollis*, *Strongylocentrotus purpuratus*, *Ciona intestinalis* και *Callorhinchus milii*) εντοπίζονται γονίδια που ονομάζονται *VASP-like* αλλά ξεκάθαρα εμφανίζουν ομολογία με τα γονίδια *VASP* των ανώτερων Μεταζώων. Ο χαρακτηριστικά μεγάλος κλάδος που καταλήγει στο φύλλο που αντιστοιχεί στον οργανισμό *Monosiga*

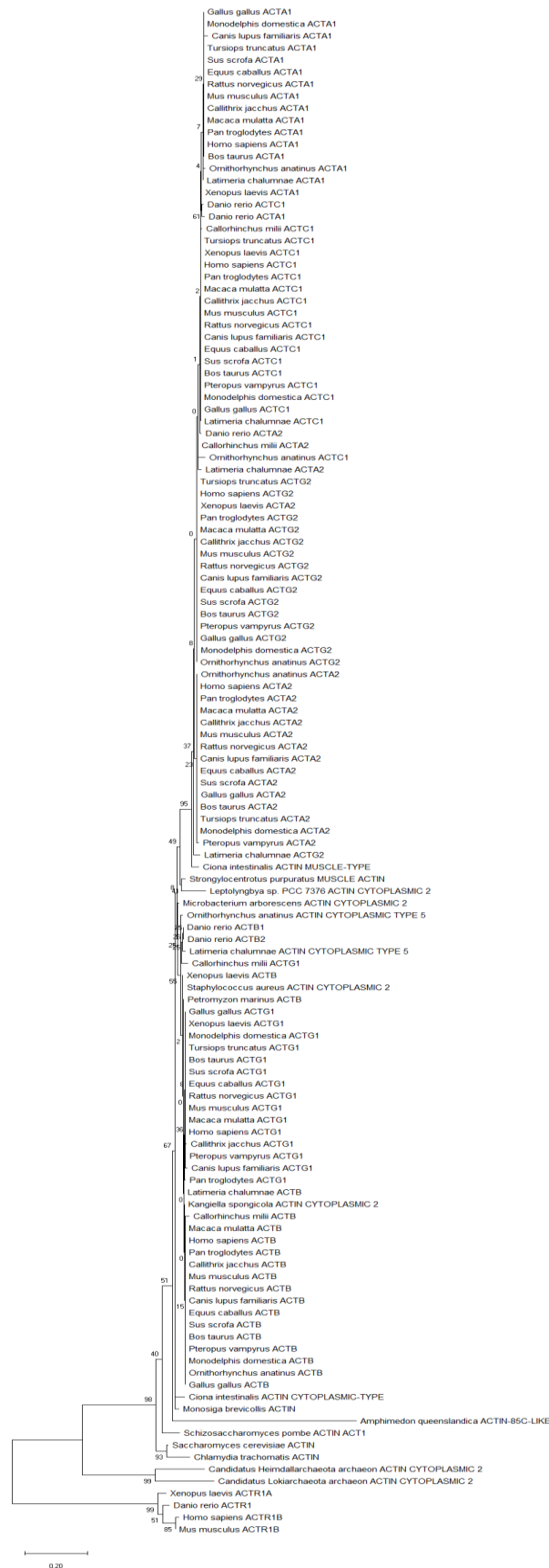
brevicollis οφείλεται στην εξελικτική πορεία του οργανισμού, καθώς εξελίχθηκε για πολλά εκατομμύρια χρόνια ξεχωριστά από τα υπόλοιπα Μετάζωα.

Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές Bootstrap. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

ACTG1



Εικόνα 43. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *ACTG1*.



Εικόνα 44. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *ACTG1*.

Τα γονίδια *ACTG1*, *ACTG2*, *ACTA1*, *ACTA2*, *ACTB*, *ACTC1* είναι παράλογα, δηλαδή σε κάποια στάδια της εξέλιξης υπήρξαν φαινόμενα διπλασιασμού και ακολούθησε διαφοροποίηση των γονιδίων λόγω συσσώρευσης αλλαγών, χωρίς όμως να χάνεται η μεταξύ τους ομοιότητα. Το φυλογενετικό δέντρο χωρίζεται σε δύο βασικά υποδέντρα, το ένα περιλαμβάνει τα γονίδια που κωδικοποιούν διαφορετικούς τύπους Κυτταροπλασματικής Ακτίνης και το άλλο περιλαμβάνει γονίδια που κωδικοποιούν διαφορετικούς τύπους Μυϊκής Ακτίνης.

Στο υποδέντρο που περιλαμβάνει τα γονίδια που κωδικοποιούν διαφορετικούς τύπους Κυτταροπλασματικής Ακτίνης εντοπίζεται το γονίδιο *ACTG1*, που ονομάζεται και *Actin cytoplasmic 2*, εντοπίζεται στα Ζώα, στα Βακτήρια (*Microbacterium arborescens* (Actinobacteria), *Chlamydia trachomatis* (Chlamydiae), *Leptolyngbya sp. PCC 7376* (Cyanobacteria), *Kangiella spongicola* (Proteobacteria), *Staphylococcus aureus* (Firmicutes)) καθώς και στα Αρχαία (*Candidatus Heimdallarchaeota* (Archaea), *Candidatus Lokiarchaeota* (Archaea)). Μάλιστα, τα γονίδια αυτά στα Βακτήρια επειδή εμφανίζουν μεγάλη ομοιότητα με τα αντίστοιχα γονίδια που κωδικοποιούν τους δύο τύπους Κυτταροπλασματικής Ακτίνης στα Μετάζωα, βρίσκονται διεσπαρμένα μεταξύ αυτών στο φυλογενετικό δέντρο, πράγμα ενδεικτικό του πόσο πολύ συντηρημένα είναι. Επίσης, τα γονίδια Ακτίνης που εντοπίζονται στους Μύκητες (*Saccharomyces cerevisiae* και *Schizosaccharomyces pombe*) εμφανίζουν τη μεγαλύτερη ομοιότητα με τα γονίδια Ακτίνης που εντοπίζονται στα Αρχαία, τα οποία κωδικοποιούν Κυτταροπλασματική Ακτίνη 2. Από την άλλη, το γονίδιο *ACTB* που ονομάζεται και *Actin cytoplasmic 1* εντοπίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Petromyzon marinus*. Επίσης στον οργανισμό *Ciona intestinalis*, εντοπίζεται ένα γονίδιο Κυτταροπλασματικής Ακτίνης και ένα γονίδιο Μυϊκής Ακτίνης και μάλιστα το γονίδιο που κωδικοποιεί την Κυτταροπλασματική Ακτίνη εμφανίζει μεγάλη ομοιότητα με το μοναδικό γονίδιο Ακτίνης που φέρει ο οργανισμός *Monosiga brevicollis*. Επίσης, μεγάλη ομοιότητα με τις

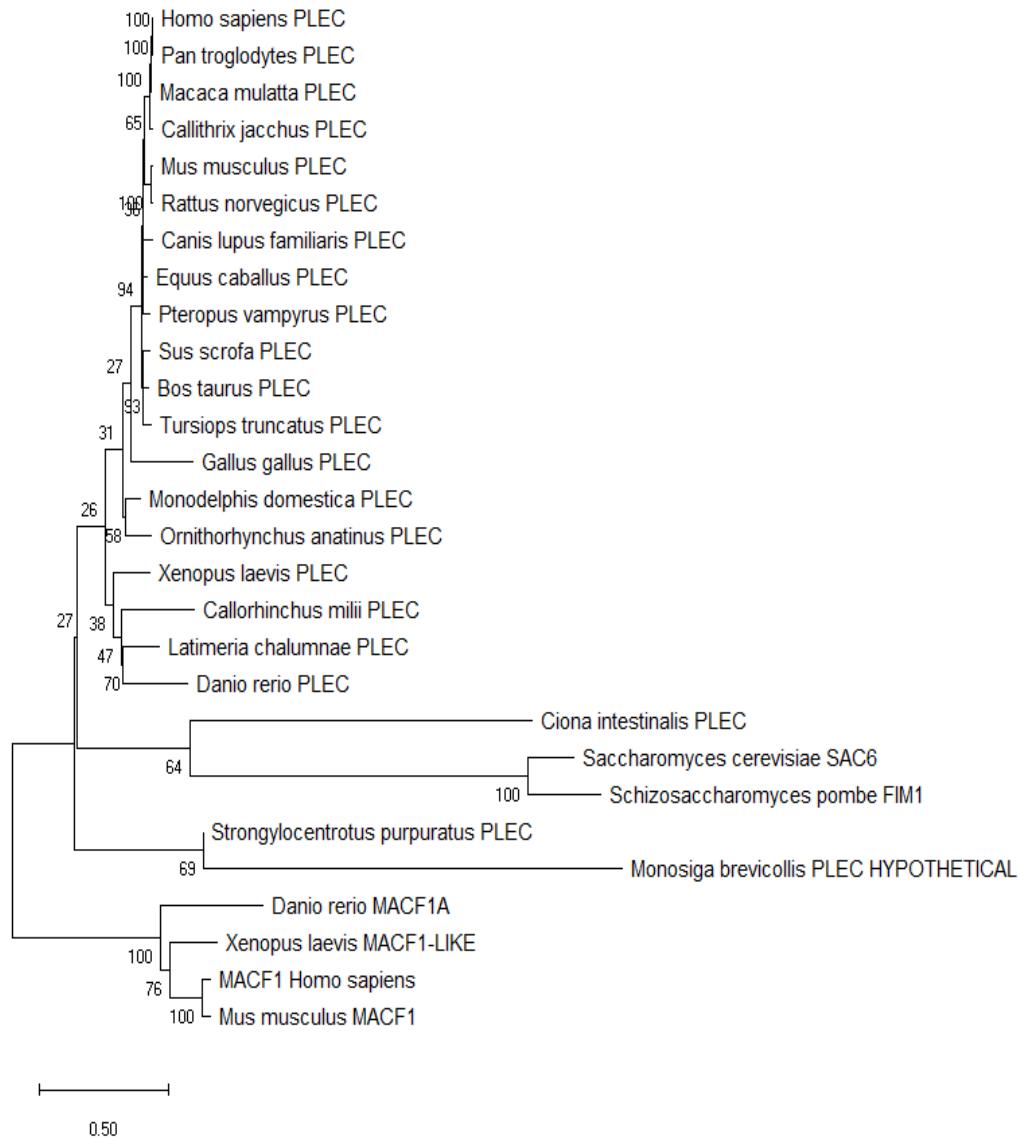
Κυτταροπλασματικές Ακτίνες εμφανίζει το γονίδιο *Actin-85C-Like* που εντοπίζεται στον οργανισμό *Amphimedon queenslandica*. Επομένως, τα γονίδια που κωδικοποιούν τους τύπους Κυτταροπλασματικής Ακτίνης είναι παλαιότερα αυτών που κωδικοποιούν τύπους Μυϊκής Ακτίνης και πιο συγκεκριμένα, αρχαιότερο είναι το γονίδιο *ACTG1* που κωδικοποιεί την Κυτταροπλασματική Ακτίνη 2 και προέκυψε σε κάποιο κοινό πρόγονο των Ευκαρυωτών, των Βακτηρίων και των Αρχαίων.

Στο υποδέντρο που περιλαμβάνει τα γονίδια που κωδικοποιούν διαφορετικούς τύπους Μυϊκής Ακτίνης εντοπίζονται τα γονίδια *ACTA1* (actin alpha 1, skeletal muscle), *ACTA2* (actin alpha 2, smooth muscle), *ACTC1* (actin alpha cardiac muscle 1) και *ACTG2* (actin gamma 2, enteric smooth muscle). Γονίδια Μυϊκής Ακτίνης. εντοπίζονται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Strongylocentrotus purpuratus* και στον οργανισμό *Ciona intestinalis*, επομένως το γονίδιο πρωτοεμφανίστηκε σε κάποιο κοινό πρόγονο των Εχινόδερμων και των Ουροχορδωτών που έζησε μετά τη διαφοροποίηση των Ποροφόρων, εφόσον δεν εντοπίζεται στον οργανισμό *Amphimedon queenslandica*. Τα γονίδια *ACTA2* και *ACTC1* πρωτοεμφανίζονται στον οργανισμό *Callorhinchus milli*, το γονίδιο *ACTA1* εμφανίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Danio rerio* και το γονίδιο *ACTG2* εμφανίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Latimeria chalumnae*. Θα περιμέναμε να εντοπίσουμε τα γονίδια *ACTA1* και *ACTG2* στον *Callorhinchus milli* καθώς αποτελεί τον πρώτο οργανισμό σε αυτή τη μελέτη που διαθέτει διαφοροποιημένα όργανα παρόμοια με τα Μετάζωα, αλλά οι αλληλουχίες δεν ήταν διαθέσιμες. Σε κάθε περίπτωση, θεωρούμε πως τα γονίδια αυτά πρωτοεμφανίστηκαν σε κάποιο πρόγονο των Χονδριχθύων που έζησε μετά την διαφοροποίηση των Ουροχορδωτών και των Εχινόδερμων.

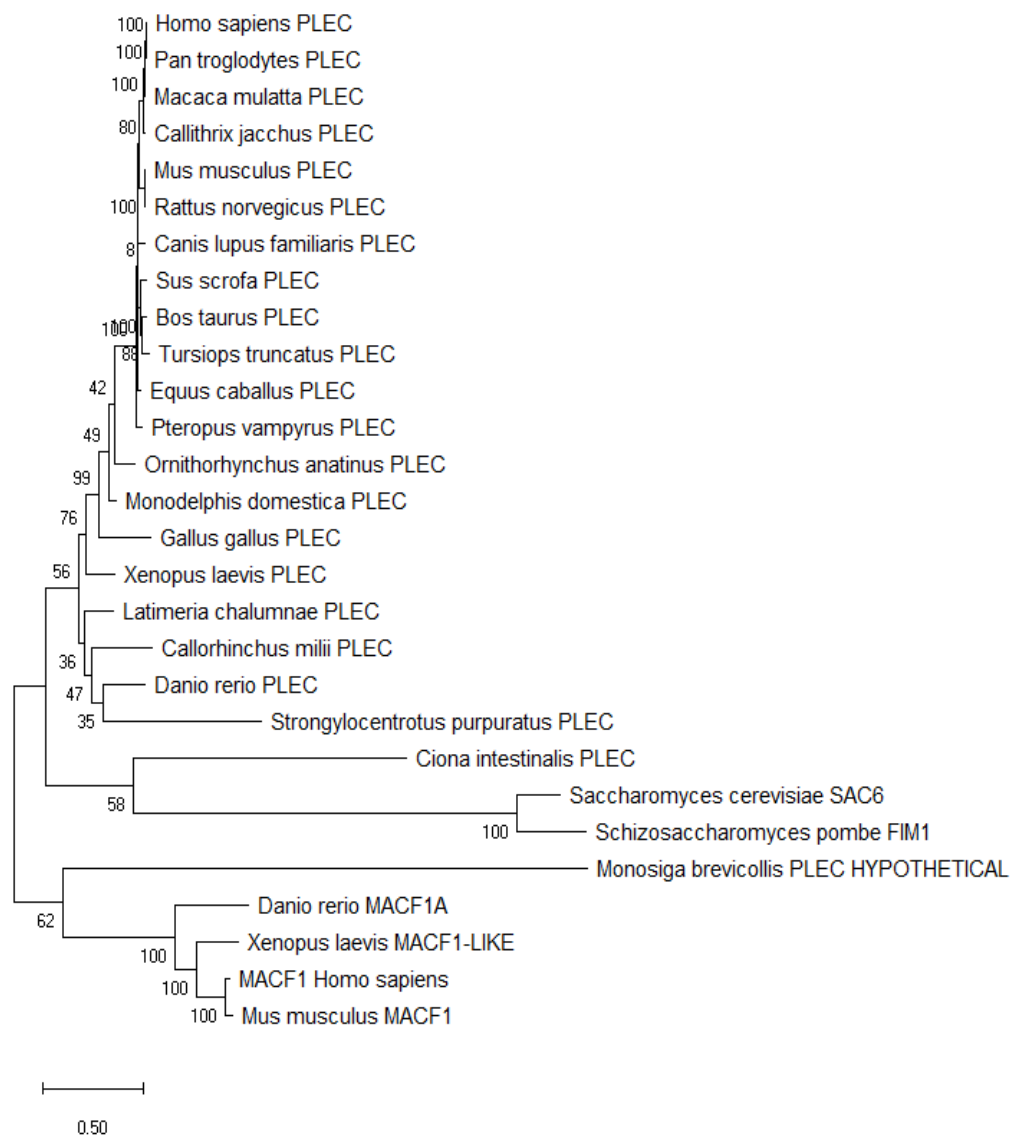
Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές

Bootstrap. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

PLEC



Εικόνα 45. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *PLEC*.



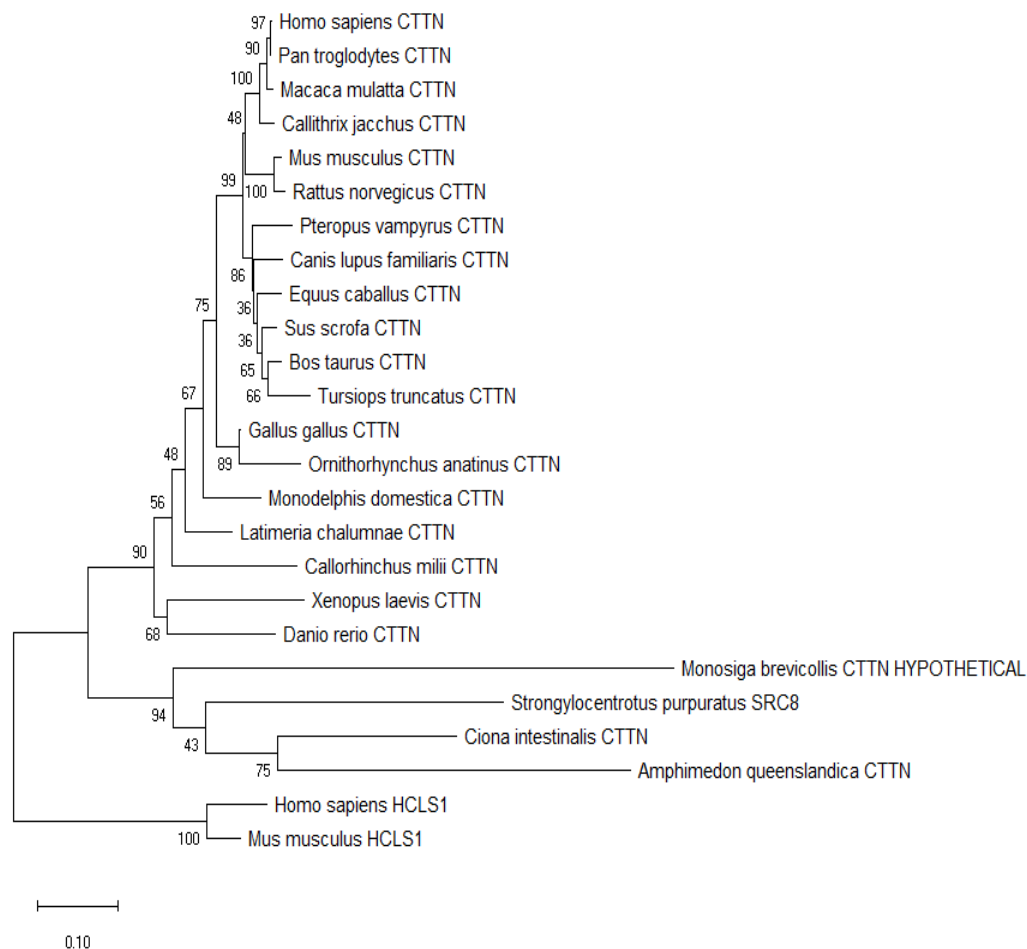
Εικόνα 46. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *PLEC*.

Το γονίδιο *PLEC* εντοπίζεται στα Ζώα και ομόλογά του εντοπίζονται στους Μύκητες (*SAC6* στον οργανισμό *Saccharomyces cerevisiae* και *FIM1* στον οργανισμό *Schizosaccharomyces pombe*). Ο χαρακτηριστικά μεγάλος κλάδος που καταλήγει στο φύλλο που αντιστοιχεί στον οργανισμό *Monosiga brevicollis* οφείλεται στην εξελικτική πορεία του οργανισμού, καθώς εξελίχθηκε για πολλά εκατομμύρια χρόνια ξεχωριστά από τα υπόλοιπα Μετάζωα.

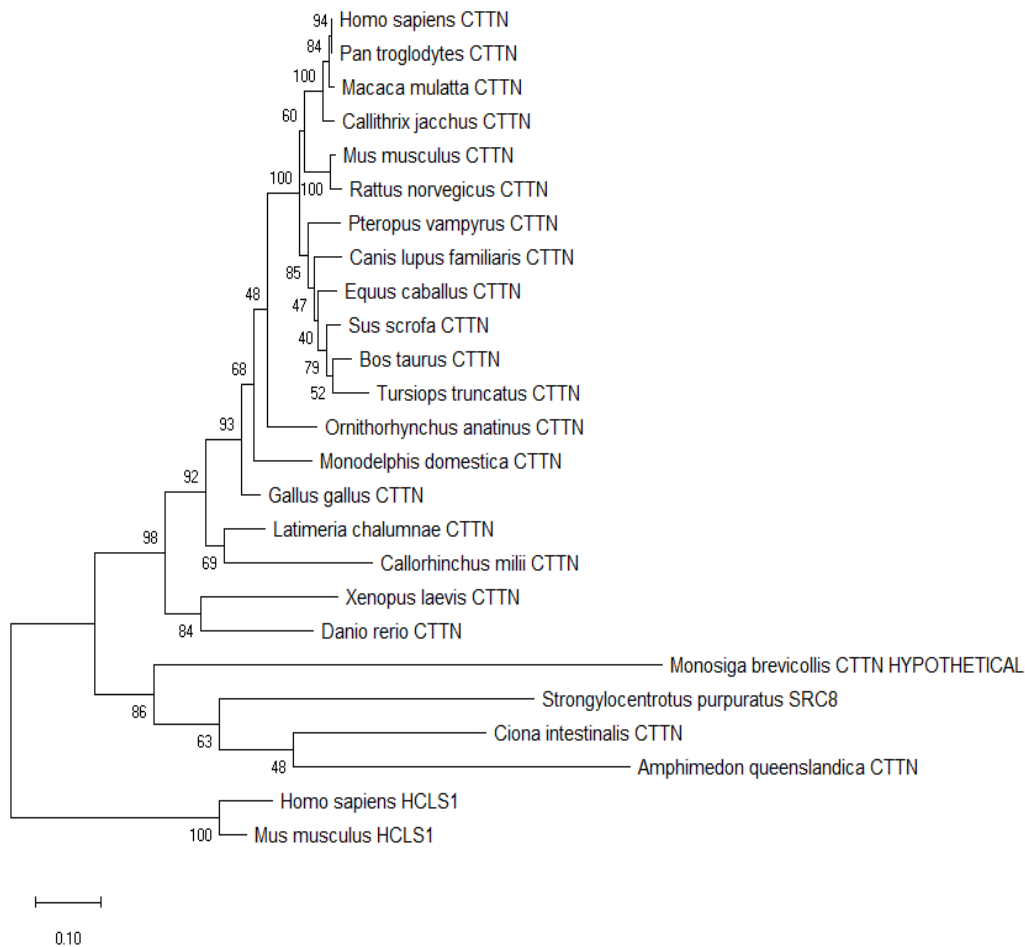
Επομένως το γονίδιο πρωτοεμφανίστηκε σε έναν ευκαρυωτικό μονοκυτταρικό οργανισμό που αποτελούσε κοινό πρόγονο των σύγχρονων Ζώων και των Μυκήτων.

Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές Bootstrap. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

CTTN



Εικόνα 47. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *CTTN*.



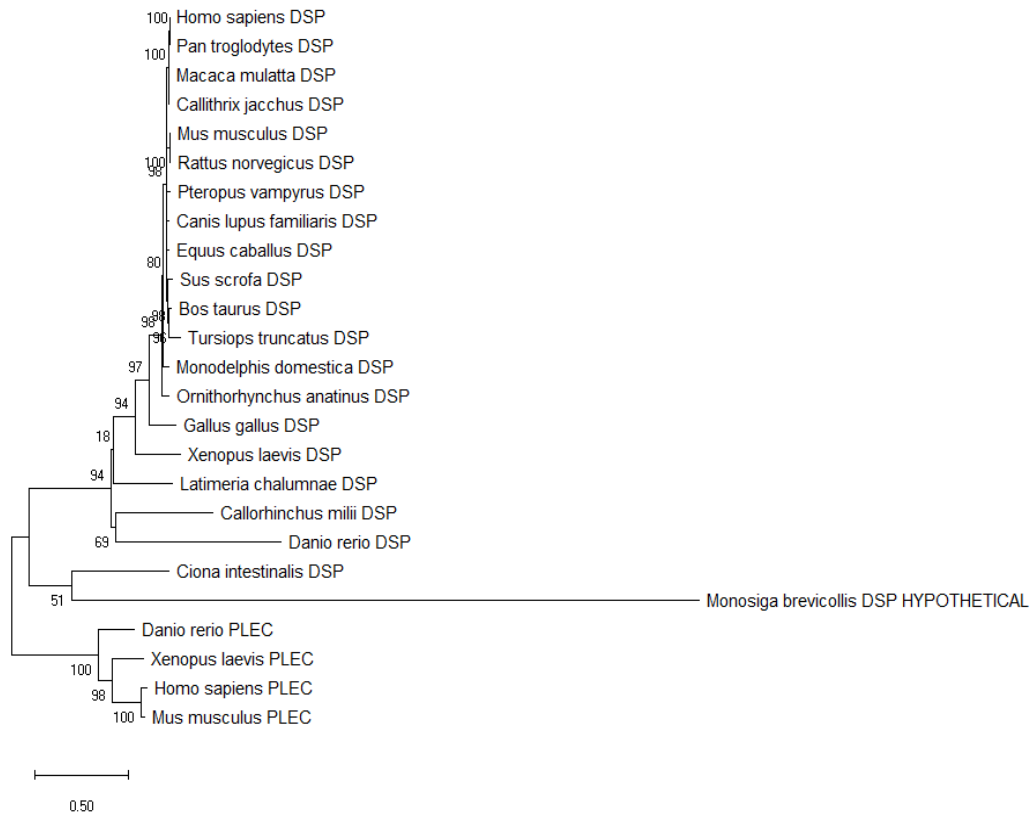
Εικόνα 48. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *CTTN*.

Το γονίδιο *CTTN* εντοπίζεται αποκλειστικά στα Ζώα. Ο χαρακτηριστικά μεγάλος κλάδος που καταλήγει στο φύλλο που αντιστοιχεί στον οργανισμό *Monosiga brevicollis* οφείλεται στην εξελικτική πορεία του οργανισμού, καθώς εξελίχθηκε για πολλά εκατομμύρια χρόνια ξεχωριστά από τα υπόλοιπα Μετάζωα. Επομένως το γονίδιο πρωτοεμφανίστηκε σε έναν ευκαρυωτικό μονοκυτταρικό οργανισμό που αποτελούσε πρόγονο των σύγχρονων Ζώων.

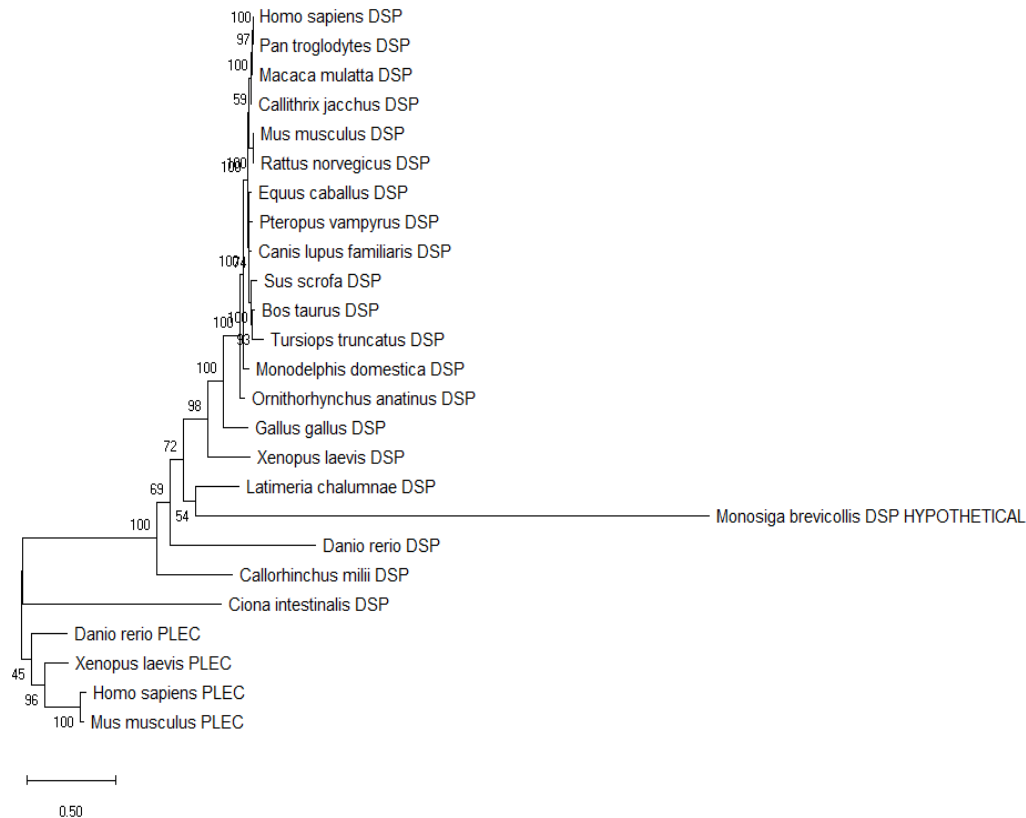
Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές

Bootstrap. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

DSP



Εικόνα 49. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *DSP*.



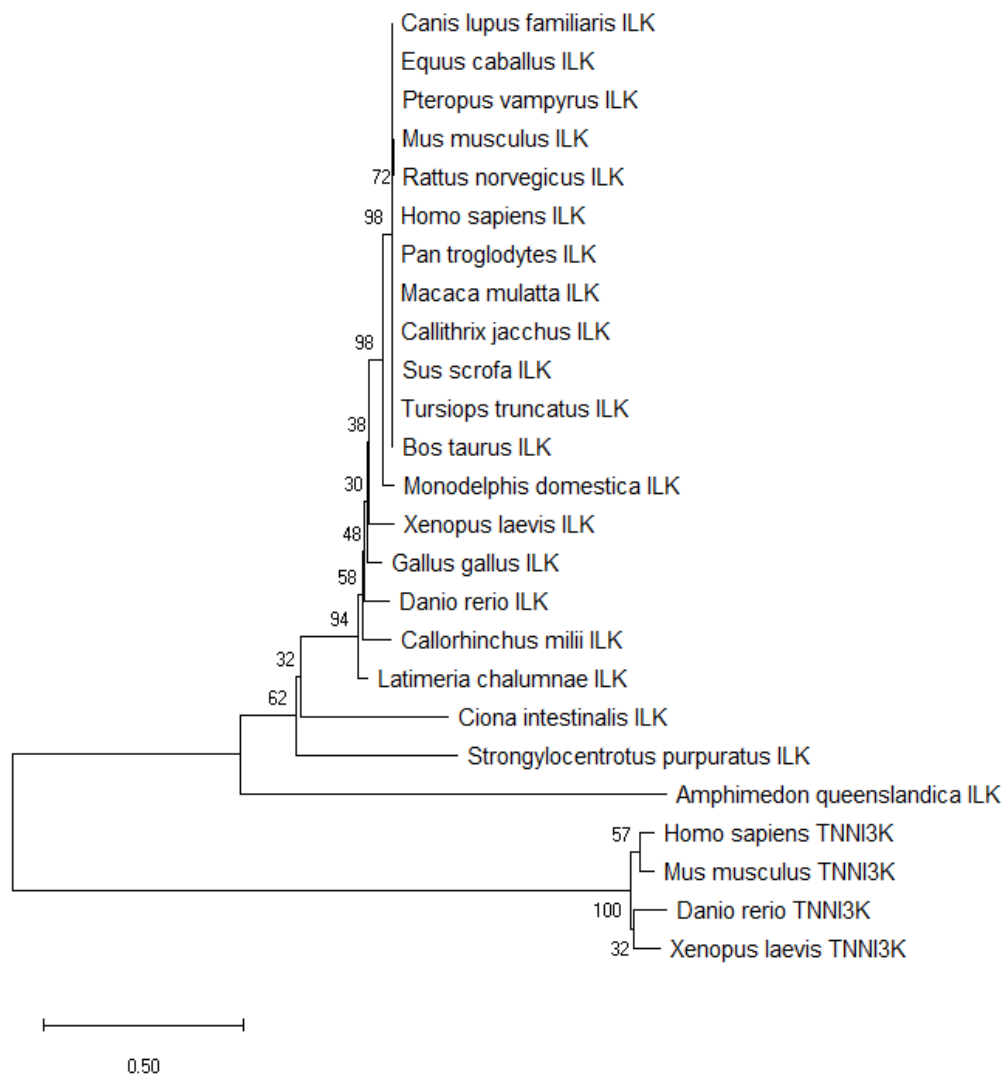
Εικόνα 50. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *DSP*.

Το γονίδιο *DSP* εντοπίζεται αποκλειστικά στα Ζώα. Ο χαρακτηριστικά μεγάλος κλάδος που καταλήγει στο φύλλο που αντιστοιχεί στον οργανισμό *Monosiga brevicollis* οφείλεται στην εξελικτική πορεία του οργανισμού, καθώς εξελίχθηκε για πολλά εκατομμύρια χρόνια ξεχωριστά από τα υπόλοιπα Μετάζωα. Επομένως το γονίδιο πρωτοεμφανίστηκε σε έναν ευκαρυωτικό μονοκυτταρικό οργανισμό που αποτελούσε πρόγονο των σύγχρονων Ζώων.

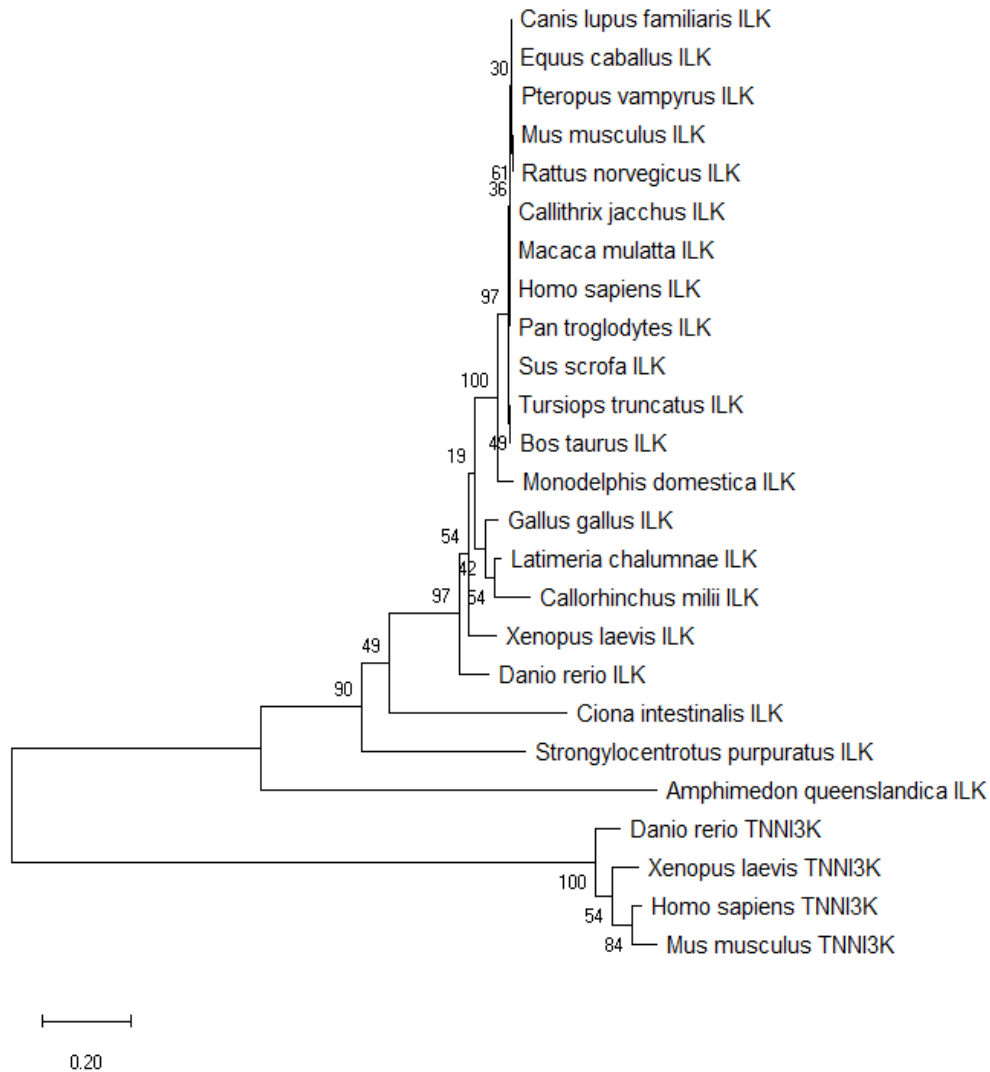
Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Αν και πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές Bootstrap, το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Neighbor Joining εμφανίζει πιο σωστά την εξελικτική σχέση των οργανισμών *Monosiga brevicollis*, *Ciona intestinalis*,

Callorhynchus milli και *Danio rerio*. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

ILK



Εικόνα 51. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *ILK*.



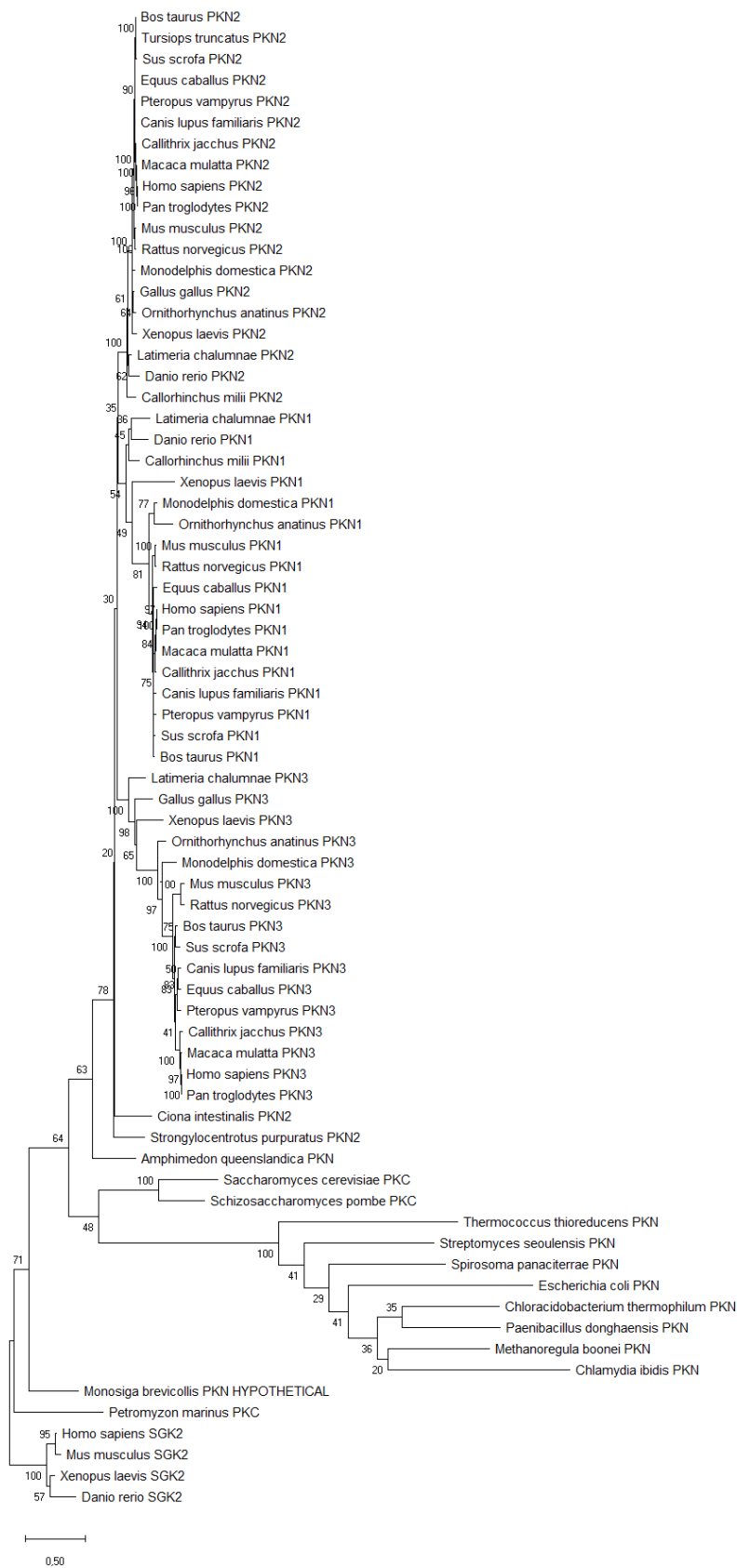
Εικόνα 52. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *ILK*.

Το γονίδιο *ILK* εντοπίζεται αποκλειστικά στα Μετάζωα. Επομένως το γονίδιο πρωτοεμφανίστηκε σε έναν ευκαρυωτικό πολυκύτταρο οργανισμό που αποτελούσε πρόγονο των σύγχρονων Μεταζώων.

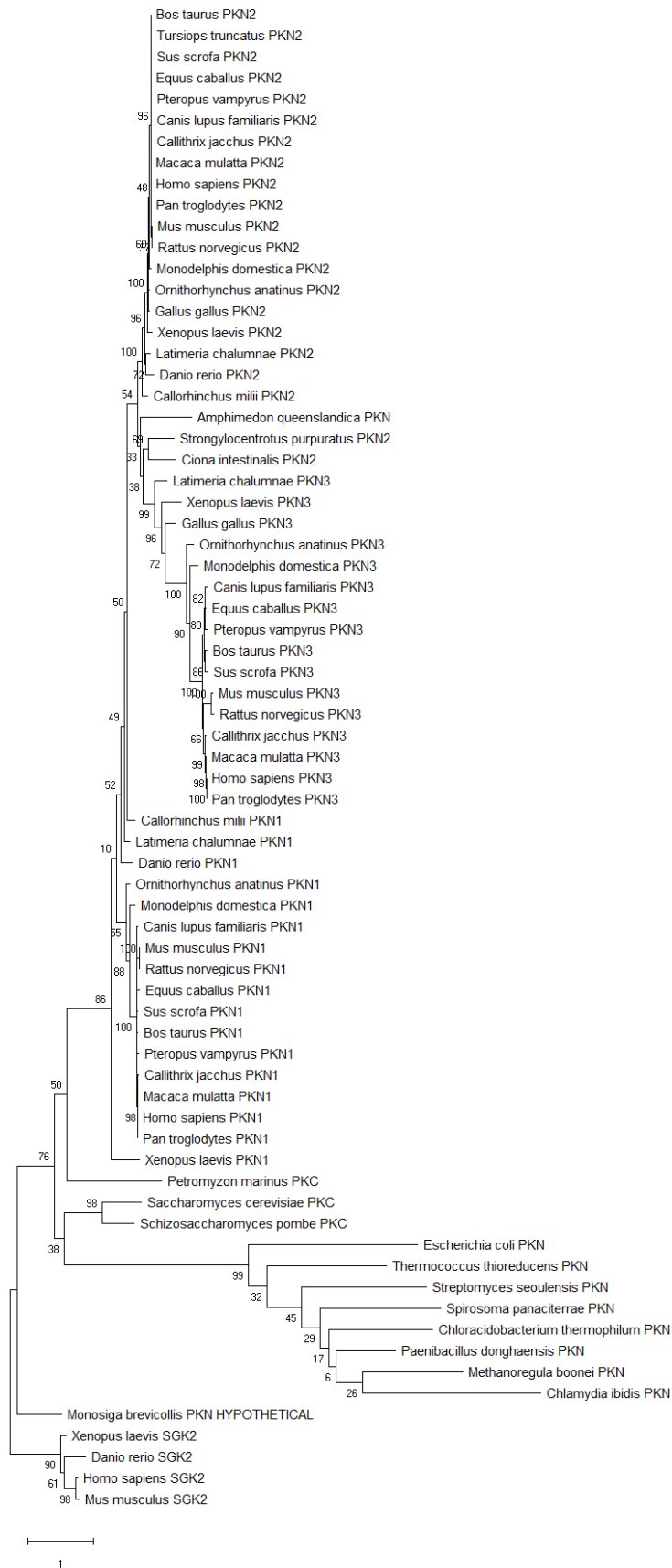
Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές

Bootstrap. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

PKN2



Εικόνα 53. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *PKN2*.



Εικόνα 54. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *PKN2*.

Τα γονίδια *PKN1*, *PKN2* και *PKN3* είναι παράλογα, δηλαδή σε κάποιο στάδιο της εξέλιξης υπήρξαν φαινόμενα διπλασιασμού και ακολούθησε διαφοροποίηση των γονιδίων λόγω συσσώρευσης αλλαγών, χωρίς όμως να χάνεται η μεταξύ τους ομοιότητα.

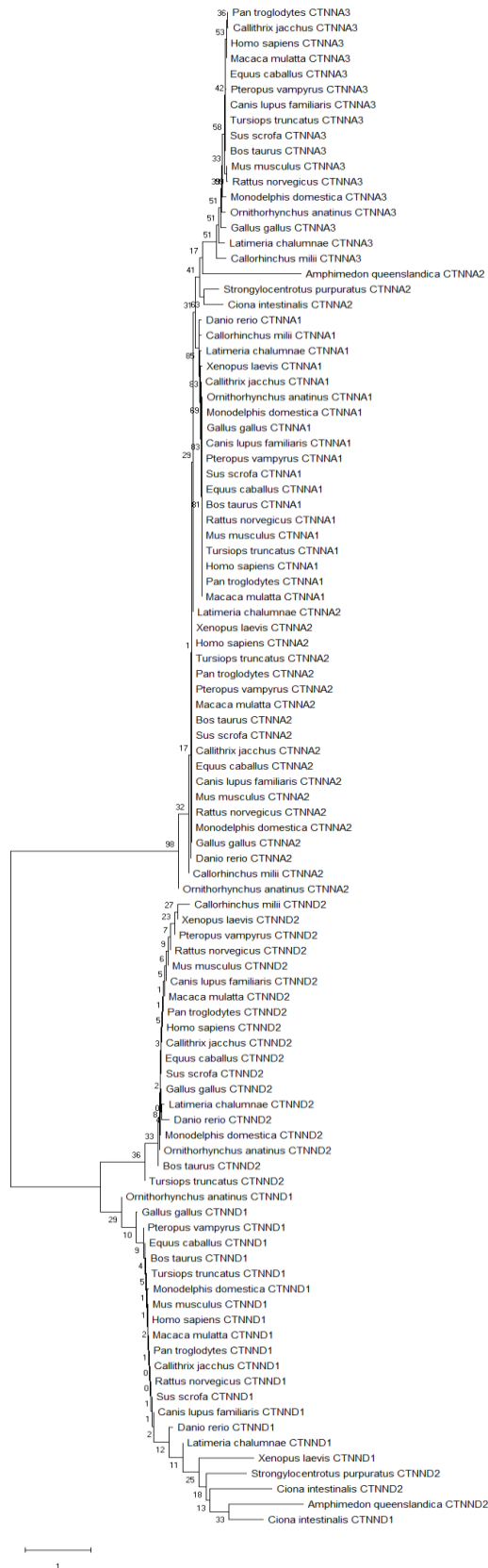
Στον οργανισμό *Amphimedon queenslandica*, στο μονοκύτταρο Ζώο *Monosiga brevicollis*, στα Βακτήρια (*Streptomyces seoulensis* (Actinobacteria), *Chlamydia ibidis* (Chlamydiae), *Chloracidobacterium thermophilum* (Cyanobacteria), *Escherichia coli* (Proteobacteria), *Paenibacillus donghaensis* (Firmicutes), *Spirosoma panaciterrae* (Bacteroidetes)) και στα Αρχαία (*Methanoregula boonei* και *Thermococcus thioeducens*) εντοπίζεται το γονίδιο *PKN* που πιθανόν αποτελεί πρόδρομο των διαφοροποιημένων γονιδίων *PKN1*, *PKN2* και *PKN3*. Επίσης, στον οργανισμό *Petromyzon marinus* καθώς και στους Μύκητες (*Saccharomyces cerevisiae* και *Schizosaccharomyces pombe*) εντοπίζεται το γονίδιο *PKC* που σχετίζεται με τα γονίδια *PKN1*, *PKN2* και *PKN3*.

Σε ό,τι αφορά τα διαφοροποιημένα γονίδια, το *PKN2* είναι το αρχαιότερο καθώς πρωτοεμφανίζεται στους οργανισμούς *Ciona intestinalis* και *Strongylocentrotus purpuratus*, άρα πρωτοεμφανίστηκε σε κάποιο κοινό πρόγονο των Ουροχορδωτών και των Εχινόδερμων που έζησε μετά τη διαφοροποίηση των Χοανομαστιγωτών, εφόσον δεν εντοπίζεται στον οργανισμό *Monosiga brevicollis*. Το γονίδιο *PKN1* είναι το επόμενο που προέκυψε κατά τη διάρκεια της εξέλιξης καθώς εντοπίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Callorhinchus milli*, άρα πρωτοεμφανίστηκε σε κάποιο πρόγονο των Χονδριχθύων που έζησε μετά τη διαφοροποίηση των Ουροχορδωτών, εφόσον δεν εντοπίζεται στον οργανισμό *Ciona intestinalis* και τελευταίο προέκυψε το γονίδιο *PKN3* καθώς εντοπίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Latimeria chalumnae*, άρα πρωτοεμφανίστηκε σε κάποιο πρόγονο των Ακτινιστίων που έζησε μετά τη διαφοροποίηση των Οστεϊχθύων, εφόσον δεν εντοπίζεται στον οργανισμό *Danio rerio*.

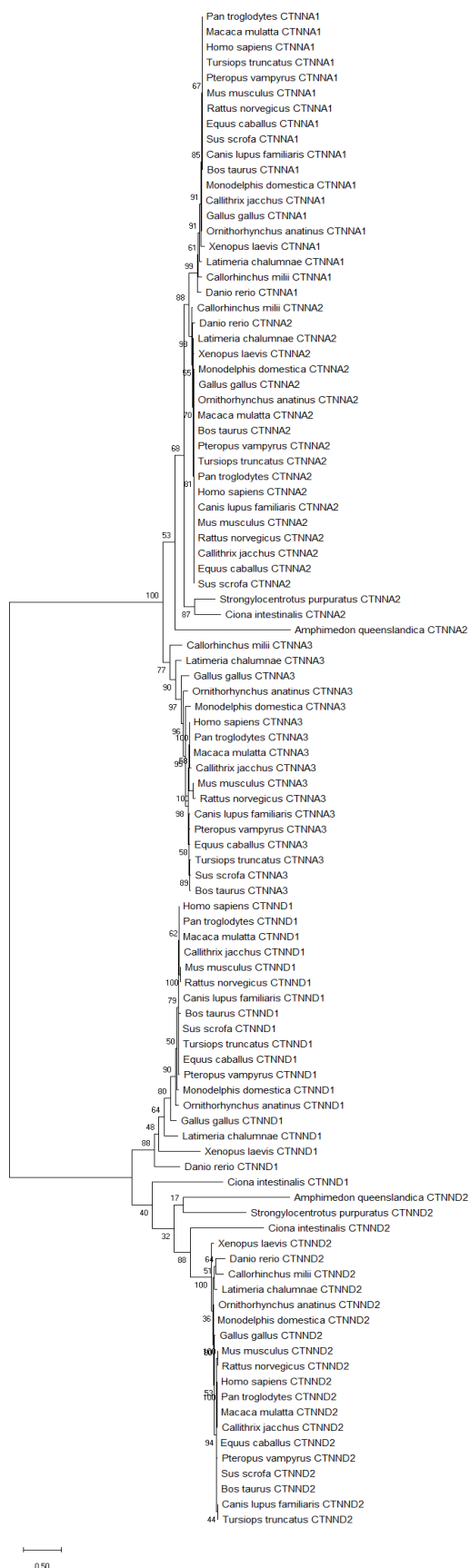
Επομένως, αν και το γονίδιο *PKN2* εντοπίζεται σε πολυκύτταρα Μετάζωα, έχει πολύ βαθιές εξελικτικές ρίζες καθώς οι απαρχές του εντοπίζονται σε κάποιο αρχαίο μονοκύτταρο οργανισμό που αποτελεί κοινό πρόγονο των Ζώων, των Βακτηρίων και των Αρχαίων.

Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές Bootstrap στους σημαντικότερους κόμβους. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

CTNNA1 & CTNND1



Εικόνα 55. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για τις πρωτεΐνες που κωδικοποιούν τα γονίδια *CTNNA1* και *CTNND1*.



Εικόνα 56. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για τις πρωτεΐνες που κωδικοποιούν τα γονίδια *CTNNA1* και *CTNND1*.

Οι Κατενίνες Α και οι Κατενίνες Δ αποτελούν μέλη της υπεροικογένειας των Κατενινών και γι' αυτό ομαδοποιήθηκαν σε ένα φυλογενετικό δέντρο. Τα γονίδια *CTNNA1*, *CTNNA2* και *CTNN3* είναι παράλογα μεταξύ τους και το ίδιο ισχύει για τα γονίδια *CTNND1* και *CTNND2*. Επομένως σε κάποιο στάδιο της εξέλιξης υπήρξαν φαινόμενα διπλασιασμού και ακολούθησε διαφοροποίηση των γονιδίων λόγω συσσώρευσης αλλαγών, χωρίς όμως να χάνεται η μεταξύ τους ομοιότητα. Το φυλογενετικό δέντρο χωρίζεται σε δύο υποδέντρα με το ένα να αντιστοιχεί στις Κατενίνες Α και το άλλο να αντιστοιχεί στις Κατενίνες Δ.

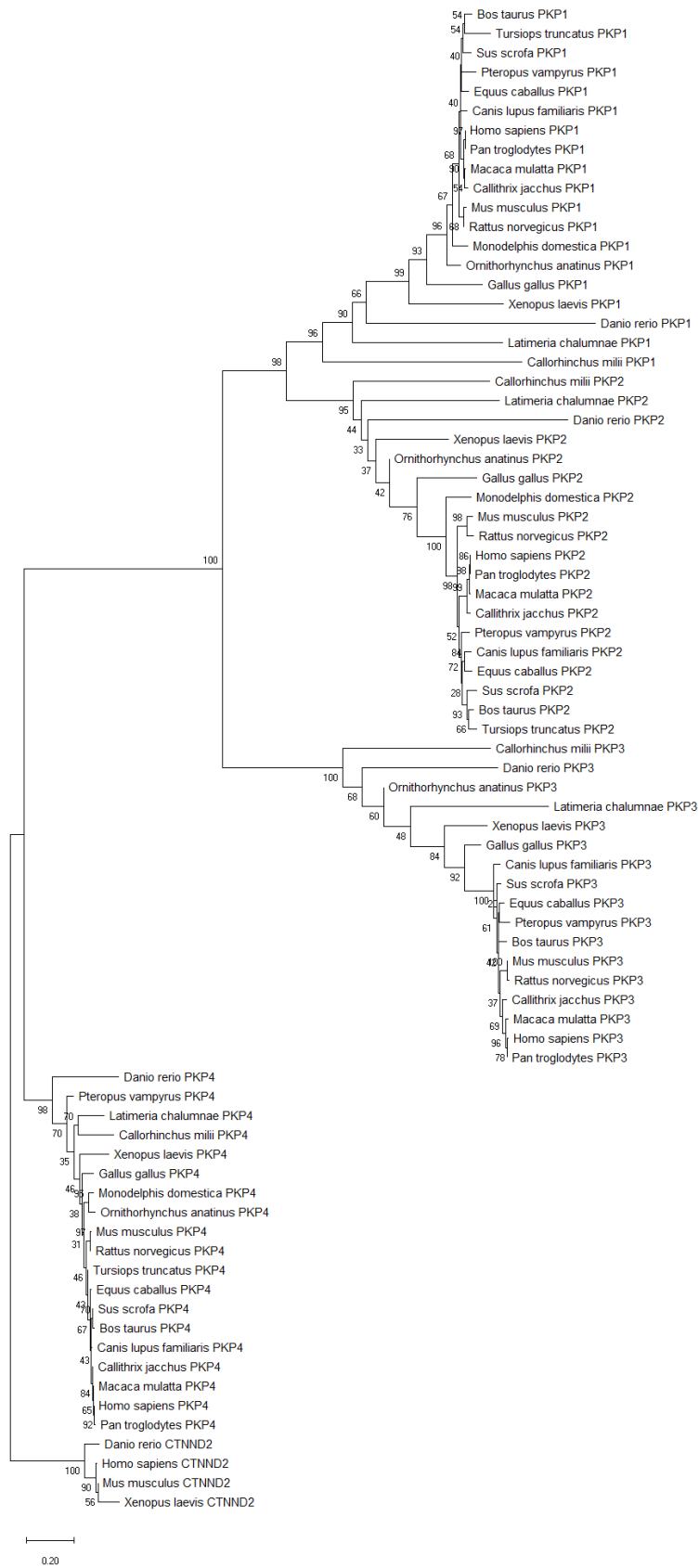
Σε ό,τι αφορά τις Κατενίνες Α, το αρχαιότερο γονίδιο είναι το *CTNNA2* καθώς εντοπίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Amphimedon queenslandica*, ενώ τα γονίδια *CTNNA1* και *CTNN3* εμφανίζονται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Callorhinchus milli*. Τα γονίδια *CTNNA1* και *CTNNA3* προέκυψαν λοιπόν σε ένα πρόγονο των Χονδριχθύων που έζησε μετά τη διαφοροποίηση των Ουροχορδωτών, εφόσον δεν εντοπίζονται στον οργανισμό *Ciona intestinalis* και μάλιστα εμφανίζουν μεγάλη ομοιότητα μεταξύ τους. Το γονίδιο *CTNNA2* από την άλλη, προέκυψε σε κάποιο πρόγονο των Ποροφόρων που έζησε μετά τη διαφοροποίηση των Χοανομαστιγωτών, εφόσον δεν εντοπίζεται στον οργανισμό *Monosiga brevicollis*.

Σε ό,τι αφορά τις Κατενίνες Δ, το αρχαιότερο γονίδιο είναι το *CTNND2* καθώς εντοπίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Amphimedon queenslandica*, ενώ το γονίδιο *CTNND1* εμφανίζεται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Ciona intestinalis*. Επομένως, το γονίδιο *CTNND1* προέκυψε σε ένα πρόγονο των Ουροχορδωτών που έζησε μετά τη διαφοροποίηση των Εχινόδερμων, εφόσον δεν εντοπίζονται στον οργανισμό *Strongylocentrotus purpuratus*. Το γονίδιο *CTNND2* από την άλλη, προέκυψε σε κάποιο πρόγονο των Ποροφόρων που έζησε μετά τη διαφοροποίηση των Χοανομαστιγωτών, εφόσον δεν εντοπίζεται στον οργανισμό *Monosiga brevicollis*.

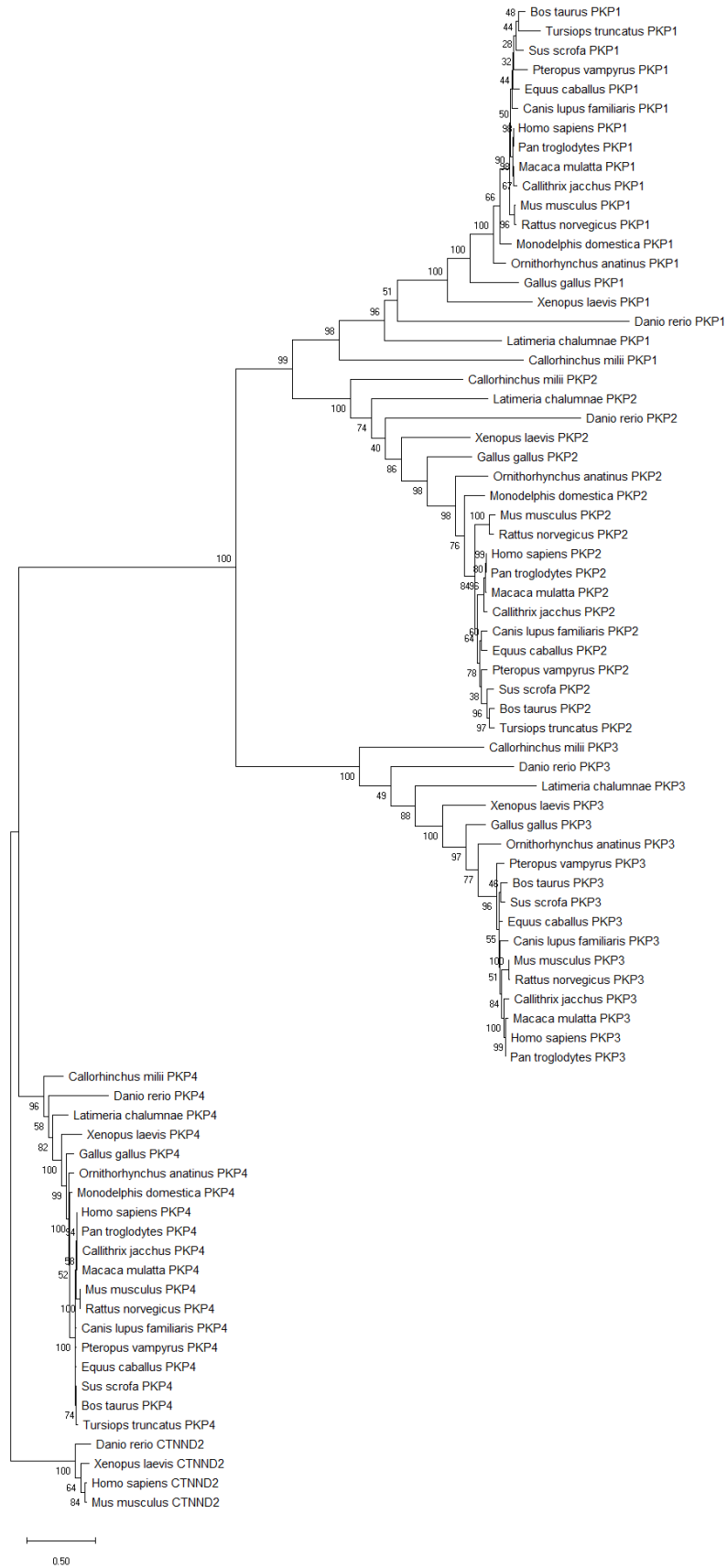
Επομένως, τα γονίδια των Κατενινών Α και Δ εντοπίζονται αποκλειστικά στα Μετάζωα. Ειδικά για τα γονίδια *CTNNA2* και *CTNND2* πρωτοεμφανίστηκαν σε έναν ευκαρυωτικό πολυκύτταρο οργανισμό που αποτελούσε πρόγονο των σύγχρονων Μεταζώων.

Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Δυσκολία υπήρξε κατά τη δημιουργία της εξωομάδας καθώς οι αλληλουχίες διατάρασσαν σε μεγάλο βαθμό την τοπολογία του δέντρου. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές Bootstrap. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

PKP3



Εικόνα 57. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Neighbor Joining για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *PKP3*.



Εικόνα 58. Φυλογενετικό δέντρο κατασκευασμένο με τη μέθοδο Μεγίστης Πιθανοφάνειας για την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *PKP3*.

Τα γονίδια *PKP1*, *PKP2*, *PKP3* και *PKP4* είναι παράλογα μεταξύ άρα σε κάποιο στάδιο της εξέλιξης υπήρξαν φαινόμενα διπλασιασμού και ακολούθησε διαφοροποίηση των γονιδίων λόγω συσσώρευσης αλλαγών, χωρίς όμως να χάνεται η μεταξύ τους ομοιότητα.

Τα γονίδια αυτά εντοπίζονται αποκλειστικά στα Μετάζωα και μάλιστα όλα εμφανίζονται για πρώτη φορά στον οργανισμό *Callorhinchus milli* επομένως προέκυψε σε κάποιο πρόγονο των Χονδριχθών που έζησε μετά τη διαφοροποίηση των Ουροχορδωτών, εφόσον δεν εντοπίζονται στον οργανισμό *Ciona intestinalis*. Με βάση το φυλογενετικό δέντρο όμως, τα γονίδια *PKP1* και *PKP2* εμφανίζουν τη μεγαλύτερη ομοιότητα μεταξύ τους, ενώ ακολουθεί το γονίδιο *PKP3* και τη λιγότερη ομοιότητα με τα προαναφερθέντα εμφανίζει το γονίδιο *PKP4*. Θα περιμέναμε λοιπόν, το γονίδιο *PKP4* να είναι το αρχαιότερο, με το *PKP3* να είναι το αμέσως επόμενο εξελικτικά και τα γονίδια *PKP1* και *PKP2* να έχουν προκύψει πιο πρόσφατα και να μην έχουν προλάβει να συσσωρεύσουν μεγάλο αριθμό αλλαγών. Αυτό όμως δεν κατέστη δυνατό λόγω των αλληλουχιών που ήταν διαθέσιμες.

Σε ό,τι αφορά την τοπολογία, υπάρχει συμφωνία μεταξύ των φυλογενετικών δέντρων που προέκυψαν από τις δύο μεθόδους. Πιο ακριβές και αξιόπιστο θεωρείται το δέντρο που κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Maximum Likelihood καθώς εμφανίζει τις υψηλότερες τιμές Bootstrap. Οι τιμές αυτές υποδεικνύουν ότι οι κόμβοι είναι στατιστικά σημαντικοί και η συναγόμενη τοπολογία είναι βιολογικά σημαντική.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Συμπεράσματα

Ο καρκίνος αποτελεί το αποτέλεσμα της άρσης της καταστολής επί ενός προϋπάρχοντος προγράμματος επιβίωσης όλων των κυττάρων. Εξετάζοντας λοιπόν τα γονίδια, που εμπλέκονται σε δύο σημαντικές διεργασίες του φυσιολογικού κυττάρου και παίζουν μείζονα ρόλο στην καρκινογένεση, την οργάνωση των χρωμοσωμάτων και την οργάνωση των δομών κυτταρικών συνδέσεων και που επιπροσθέτως αποτελούν κομβικά σημεία του δικτύου γονιδίων του ανθρώπου διασυνδέοντας μεταξύ τους τα γονίδια μονοκυτταρικής και τα γονίδια πολυκυτταρικής προέλευσης που εμπλέκονται σε αυτές τις διεργασίες, παρατηρήσαμε ότι το κάθε γονίδιο εμπλέκεται με πολλές και ποικίλες μορφές καρκίνου. Πιο συγκεκριμένα, για τα γονίδια ταυτοποιήθηκαν τόσο διαταραχές στην έκφραση, δηλαδή ποσοτικές αλλαγές στην έκφραση του γονιδίου καθώς όσο και μεταλλάξεις, δηλαδή ποιοτικές αλλαγές στην αλληλουχία των γονιδίων που σχετίζονται με την ανάπτυξη και την πρόοδο διαφορετικών μορφών καρκίνου σε διαφορετικούς ιστούς. Τα γονίδια αυτά καθώς και τα προϊόντα τους μπορεί να αποτελούν πιθανούς πανκαρκινικούς δείκτες για ένα μεγάλο εύρος μορφών καρκίνου. Μάλιστα, όλα τα γονίδια έχουν συνδεθεί με την πιο επικίνδυνη ιδιότητα των καρκινικών κυττάρων, τη δημιουργία μεταστάσεων σε μια πληθώρα μορφών καρκίνου το κάθε ένα. Επίσης, όλα τα γονίδια είτε ήδη αποτελούν μοριακούς δείκτες, δείκτες πρόγνωσης και στόχους φαρμακευτικής αγωγής για διάφορες μορφές καρκίνου είτε αποτελούν νέους υποψήφιους δείκτες και στόχους φαρμάκων. Επομένως, η διατάραξη αυτών γονιδίων που αποτελούν κομβικά σημεία του ανθρώπινου δικτύου γονιδίων ρυθμίζοντας τον συντονισμό γονιδίων τόσο μονοκυτταρικής όσο και πολυκυτταρικής προέλευσης, επιφέρει απορρύθμιση τέτοιας έκτασης που οδηγεί ή συνεισφέρει στην κακοήθεια των καρκινικών κυττάρων.

Μια ακόμα ένδειξη της μεγάλης σημασίας του ρόλου των γονιδίων αυτών, αποτελεί το γεγονός ότι όλα εμπλέκονται σε μονοπάτια και διεργασίες που έχουν συσχετιστεί με την καρκινογένεση και μάλιστα τα περισσότερα γονίδια και τα προϊόντα τους εμπλέκονται σε περισσότερα του ενός μονοπάτια και διεργασίες. Πιο αναλυτικά, αυτά τα σηματοδοτικά μονοπάτια είναι το μονοπάτι Wnt (*RCC2*, *DSP*, *CTNND1*), το μονοπάτι MAPK (*TLN1*, *CTTN*, *PKP3*), το μονοπάτι VEGF (*TLN1*, *CTNNA1*, *CTNND1*), το μονοπάτι PI3K-Akt (*VASP*, *ILK*, *PKN2*), το μονοπάτι Hippo (*ACTG1*), το μονοπάτι PPAR (*ILK*) και το μονοπάτι Rap1 (*VASP*, *CTNND1*, *ACTG1*, *TLN1*). Επίσης, ιδιαίτερα σημαντικές διεργασίες του κυττάρου, που παίζουν ρόλο και στην καρκινογένεση είναι η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και της μίτωσης (*RCC2*, *ILK*, *CTNNA1*, *CTNND1*), η απόπτωση (*ACTG1*, *PLEC*, *DSP*, *CTTN*, *CTNND1*), οι διεργασίες του ανοσοποιητικού συστήματος (*TLN1*, *VASP*, *ACTG1*, *DSP*, *PKP3*) και η αλληλεπίδραση με τις πρωτεογλυκάνες στον καρκίνο (*ACTG1*, *CTTN*). Τέλος, ειδικά για τη διαδικασία της μετάστασης, καθοριστικό ρόλο παίζουν οι πρωτεΐνες που εντοπίζονται στις συνδέσεις προσκόλλησης (adherence junctions) (*ACTG1*, *CTNNA1*, *CTNND1*) και συνεισφέρουν στην εστιακή προσκόλληση των κυττάρων (focal adhesion) (*VASP*, *TLN1*, *ACTG1*). Επομένως, η σημαντικότητα του ρόλου των εξεταζόμενων γονιδίων ενισχύεται από την εμπλοκή τους σε μονοπάτια που σχετίζονται με την καρκινογένεση και την πρόοδο της πορείας της νόσου σε διάφορες μορφές καρκίνου.

Ιδιαίτερη όμως σημασία έχει και η εξελικτική ιστορία των εν λόγω γονιδίων και πιο συγκεκριμένα σε ποιο στάδιο της εξέλιξης του ανθρώπου εντοπίζονται για πρώτη φορά. Αναλυτικά λοιπόν, τα γονίδια *ILK*, *CTNNA1*, *CTNND1* και *PKP3* εντοπίζονται αποκλειστικά στα Μετάζωα, πράγμα που τα καθιστά γονίδια πολυκυτταρικής προέλευσης τα οποία συνδέονται με την εξέλιξη της πολυκυτταρικότητας στο Βασίλειο των Ζώων, δηλαδή την εξέλιξη των Μεταζώων. Τα γονίδια *VASP* και *DSP* εντοπίζονται σε οργανισμούς που ανήκουν στο Βασίλειο των Ζώων, τόσο μονοκύτταρους όσο και πολυκύτταρους, γεγονός που τα

καθιστά γονίδια μονοκυτταρικής προέλευσης. Επίσης, τα γονίδια *PLEC*, *TLN1* και *CTTN* εντοπίζονται σε μονοκύτταρους και πολυκύτταρους οργανισμούς του Βασιλείου των Ζώων καθώς και σε μονοκύτταρους οργανισμούς του Βασιλείου των Μυκήτων, επομένως πρόκειται για γονίδια μονοκυτταρικής προέλευσης τα οποία συνδέονται με την εμφάνιση των ευκαρυωτικών κυττάρων. Τέλος, τα γονίδια *ACTG1*, *RCC2* και *PKN2* εμφανίζονται, ή έχουν τις ρίζες τους σε έναν καθολικό κοινό πρόγονο καθώς εντοπίζονται σε όλες τις Επικράτειες της Ζώης, δηλαδή στους Ευκαρυώτες (Βασίλειο των Ζώων και Βασίλειο των Μυκήτων) και τους Προκαρυώτες (Βασίλειο Ευβακτηρίων και Βασίλειο Αρχαίων), επομένως πρόκειται για υψηλά συντηρημένα γονίδια μονοκυτταρικής προέλευσης τα οποία μάλιστα συνδέονται με την εμφάνιση των πρώτων κυτταρικών μορφών ζωής. Συνεπώς, όλα τα γονίδια, είτε έχουν μια εξελικτική πορεία 4 δισεκατομμυρίων ετών η οποία ξεκινά με τα πρώτα κύτταρα που εμφανίστηκαν στον πλανήτη, είτε έχουν μια εξελικτική πορεία μικρότερη των 665 εκατομμυρίων ετών που ξεκινά λίγο μετά την εμφάνιση των Μεταζώων, αποτελούν αρχαία γονίδια και όχι γονίδια που προέκυψαν και εξελίχθηκαν στον άνθρωπο και στα συγγενικά του είδη. Επομένως, σε συμφωνία με το αταβιστικό μοντέλο του καρκίνου, φαίνεται πως τα γονίδια που παίζουν καίριο ρόλο στην ανάπτυξη και την πρόοδο του καρκίνου είναι αρχαιότατα και προϋπήρχαν πολύ πριν την εμφάνιση και την εξέλιξη του ανθρώπου.

Ενδεικτικό της μακράς εξελικτικής πορείας αυτών των γονιδίων είναι το γεγονός ότι "επιβίωσαν" σε βάθος εξελικτικού χρόνου, πράγμα δύσκολο καθώς πολλά γονίδια αποτυγχάνουν να εδραιωθούν στον πληθυσμό ακόμα και αν προσδίδουν ευνοϊκά γνωρίσματα στον οργανισμό στον οποίο εμφανίστηκαν, ενώ συνήθως εξαφανίζονται γρήγορα, μαζί με τον οργανισμό στον οποίο προέκυψαν αν έχουν αρνητική επίδραση σε αυτόν. Ο λόγος που πολλά είδη, πόσο μάλλον γονίδια είναι σήμερα εξαφανισμένα είναι οι μαζικές εξαφανίσεις. Οι μαζικές εξαφανίσεις αποτελούν περιοδικό φαινόμενο και έλαβαν χώρα κατά τον Αρχαιοζωικό και τον Προτεροζωικό Μεγαίωνα, αλλά οι πιο καλά μελετημένες μαζικές εξαφανίσεις είναι

αυτές που έλαβαν χώρα στον Φανεροζωικό Μεγααιώνα λόγω της εμφάνισης οστών και οστράκων στο αρχείο των απολιθωμάτων. Μετά από την έκρηξη του Καμβρίου λοιπόν, έλαβαν χώρα πέντε μαζικές εξαφανίσεις, η Ορδοβίσια-Σιλούρια, η Ύστερη Δεβόνια, η Πέρμια-Τριασική, η Τριασική-Ιουρασική και η Κρητιδική-Παλαιογενής. Επίσης, δεδομένου ότι το μεγαλύτερο ποσοστό της βιοποικιλότητας και της βιομάζας του πλανήτη είναι μικροβιακό, είναι ακόμα πιο δύσκολο να υπολογιστεί ο αριθμός των ειδών που έχουν εξαφανιστεί. Σύμφωνα όμως με εκτιμήσεις, περισσότερο από το 99% των ειδών, δηλαδή πάνω από 5 δισεκατομμύρια είδη, που έχουν ζήσει στον πλανήτη (Kunin and Gaston, 1997), έχει εξαφανιστεί (Newman, 1997; Peterson Stearns and Stearns, 2000). Επομένως, είναι εξαιρετικά δύσκολο ένα γονίδιο να μην εξαφανιστεί, ακόμα και αν είναι άκρως απαραίτητο για την επιβίωση του οργανισμού.

Όπως τα γονίδια που σχετίζονται με αυτόν, έτσι και ο ίδιος ο καρκίνος έχει βαθύτατες εξελικτικές ρίζες. Απόδειξη αποτελεί το γεγονός ότι φαινόμενα καρκινογένεσης και φαινόμενα που ομοιάζουν με καρκίνο να εντοπίζονται σε ένα μεγάλο εύρος οργανισμών στο Δέντρο της Ζωής, τόσο σε πολυκύτταρους οργανισμούς που εμφανίζουν κλωνική πολυκυτταρικότητα, όσο και σε μονοκύτταρους οργανισμούς που εμφανίζουν συναθροιστική πολυκυτταρικότητα. Τελικά, ο καρκίνος δεν αποτελεί ένα φαινόμενο που απαντάται χαρακτηριστικά στα Μετάζωα, αλλά ένα φαινόμενο στενά συνυφασμένο με την ίδια την πολυκυτταρικότητα.

Κατά συνέπεια, το καρκινικό κύτταρο θα μπορούσε να θεωρηθεί ως μια μορφή ζωής συντηρημένη στο βάθος του εξελικτικού χρόνου παρά μια σειρά από τυχαίες νοσογόνες μεταλλάξεις, καθώς ο καρκίνος αποτελεί κύτταρο προερχόμενο από τον ξενιστή του, αλλά συμπεριφέρεται ως μια τελείως διαφορετική μορφή ζωής από αυτόν, διότι στον καρκίνο η επιβίωση του κυττάρου αποκόβεται από την ταυτότητα του μέσω αλλαγών στο γενετικό υλικό. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το καρκινικό κύτταρο ακολουθεί μια πορεία αποδιαφοροποίησης αντίστροφη της εξελικτικής πορείας που οδήγησε στην διαφοροποίησή

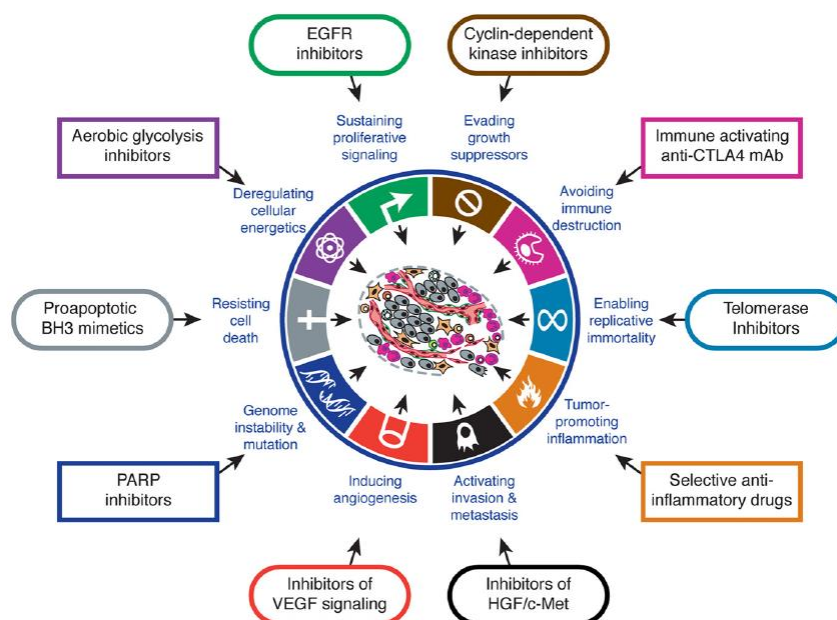
του, αποδεικνύοντας έτσι πως το μονοπάτι που ενώνει την μονοκυτταρική με την πολυκυτταρική είναι αμφίδρομο. Σε αντίθετη περίπτωση, το γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα, ανεξάρτητα από τη μορφή καρκίνου στην οποία ανήκουν, εμφανίζουν ένα σύνολο ιδιαίτερων κοινών χαρακτηριστικών, δεν έχει νόημα. Όλες αυτές οι αρχές και τα χαρακτηριστικά υπηρετούν ένα και μόνο σκοπό, την επιβίωση του κυττάρου με οποιοδήποτε κόστος, ακόμα και εις βάρος του οργανισμού στον οποίο ανήκει. Μάλιστα, το καρκινικό κύτταρο δεν εφευρίσκει νέες οδούς, αλλά αξιοποιεί προϋπάρχουσες, καθώς η δημιουργία ενός δικτύου γονιδίου που θα εξυπηρετεί τις ανάγκες του καρκινικού κυττάρου θα ήταν πολύ επίπονη, δύσκολη και χρονοβόρα διαδικασία και όπως διδάσκει η ίδια η εξέλιξη θα οδηγούσε σε περισσότερες αποτυχίες και θανάτους των καρκινικών κυττάρων, απ' ότι σε επιτυχίες. Τα καρκινικά κύτταρα λοιπόν, αξιοποιούν ό,τι διαθέτουν στο οπλοστάσιό τους, αποδομώντας το δίκτυο γονιδίων που έφεραν ως υγιή κύτταρα γρήγορα και εύκολα με τη διατάραξη λίγων κομβικών σημείων.

Τελικά, το καρκινικό κύτταρο δεν μοιάζει με μολυσμένο κύτταρο ή με μια νέα μορφή ζωής, αλλά αποτελεί ένα είδος οργανισμού που μοιάζει περισσότερο με έναν μονοκύτταρο οργανισμό του οποίου οι εξειδικευμένες λειτουργίες και κατ' επέκτασιν η ταυτότητά του έχουν θυσιαστεί προκειμένου να εξασφαλιστεί η απρόσκοπτη επιβίωσή του. Αυτός ο στοιχειώδης οργανισμός αποτελεί ένα ζωντανό απολίθωμα, απομεινάρια δισεκατομμυρίων ετών εξέλιξης που υπάρχει σε λανθάνουσα μορφή μέσα σε κάθε φυσιολογικό κύτταρο και χρειάζεται μόνο ένα έναυσμα για να έρθει στην επιφάνεια. Υπό το φως του αταβιστικού μοντέλου λοιπόν, ο καρκίνος δεν αποτελεί μια σειρά ατυχών γεγονότων, αλλά μια μάχη μεταξύ ενός επιθετικού και ρωμαλέου πρωτόγονου μονοκύτταρου οργανισμού που προέκυψε στην Προκάμβρια εποχή και ενός φυσιολογικού φαινοτύπου που αντιστοιχεί στα σύγχρονα Μετάζωα (Vincent, 2012).

Εξελικτικές Προσεγγίσεις για τη Θεραπεία του Καρκίνου

Υπάρχουν διάφορες πιθανές εξελικτικές προσεγγίσεις για τη θεραπεία και την πρόληψη του καρκίνου που έχουν προταθεί κυρίως για την επίλυση του προβλήματος της μεγάλης ανθεκτικότητας των καρκινικών κυττάρων. Δεδομένης της ανθεκτικότητας και της ποικιλομορφίας των διάφορων μορφών καρκίνου, το κλειδί είναι τα κοινά χαρακτηριστικά που εμφανίζουν όλα τα καρκινικά κύτταρα ανεξάρτητα από το είδος του νεοπλασματος στο οποίο ανήκουν. Αυτά τα χαρακτηριστικά δεν είναι άπειρα, αντιθέτως είναι λίγα και συγκεκριμένα. Επομένως, υπό το φως της αταβιστικής θεωρίας, αναδεικνύονται νέες προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση της νόσου.

Τα κοινά χαρακτηριστικά που εμφανίζουν τα καρκινικά κύτταρα, ανεξαρτήτως του τύπου του καρκίνου στον οποίο ανήκουν, μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη νέων φαρμάκων και κυρίως μιας νέας κατηγορίας θεραπευτικών πρωτοκόλλων τα οποία θα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πανκαρκινικές θεραπείες ενάντια σε κάθε μορφή καρκίνου. Πιο



Εικόνα 59. Παραδείγματα φαρμάκων που βρίσκονται στο στάδιο των κλινικών δοκιμών ή χορηγούνται ήδη σε ασθενείς με καρκίνο και στοχεύουν ένα από τα κοινά χαρακτηριστικά που εμφανίζουν τα καρκινικά κύτταρα ανεξάρτητα από τη μορφή καρκίνου στην οποία ανήκουν (Hanahan and Weinberg, 2011).

συγκεκριμένα, το είδος της αλλαγής που επέρχεται από την παραβίαση μιας αρχής της πολυκυτταρικότητας καθώς και τα μονοπάτια και τα γονίδια που εμπλέκονται σε αυτά μπορούν να οδηγήσουν στο σχεδιασμό φαρμάκων που στοχεύουν εκλεκτικά τα καρκινικά κύτταρα και είναι αποτελεσματικά έναντι οποιουδήποτε καρκινικού κυττάρου οδηγώντας, σε επόμενο στάδιο σε συνδυαστικές θεραπείες που θα είναι πιο αποδοτικές για την καταπολέμηση διάφορων μορφών της νόσου (Hanahan and Weinberg, 2011).

Μια ακόμα πολλά υποσχόμενη προσέγγιση αφορά την οικολογία των νεοπλασμάτων και πιο συγκεκριμένα έχουν προταθεί θεραπείες που περιλαμβάνουν συνδυασμό φαρμάκων (Chabner and Roberts, 2005), θεραπείες που μεταβάλλουν τον ανταγωνισμό μεταξύ καρκινικών και υγιών κυττάρων βελτιώνοντας την προσαρμοστικότητα των δεύτερων (Maley et al., 2004), θεραπείες που ευνοούν την επιλογή των κυττάρων που εμφανίζουν ευαισθησία στη χημειοθεραπεία (Maley et al., 2004), θεραπείες που ευνοούν την επιλογή των κυττάρων που εμφανίζουν γενετική σταθερότητα (Komarova and Wodarz, 2003) και κυρίως θεραπείες που στοχεύουν στην αποφυγή επιβίωσης των ανθεκτικών κυττάρων που οδηγούν σε επανεμφάνιση της νόσου μετά τη θεραπεία (Merlo et al., 2006). Από τις προαναφερθείσες προτάσεις, μόνο οι θεραπείες που περιλαμβάνουν μια ποικιλία φαρμάκων έχουν ερευνηθεί πειραματικά και/ή κλινικά (Chabner and Roberts, 2005).

Πέρα όμως από το είδος της θεραπείας, ιδιαίτερη σημασία έχει και ο τρόπος εφαρμογής της καθώς αυτός μπορεί να επηρεάσει την εξελικτική δυναμική των κυττάρων του νεοπλάσματος (Merlo et al., 2006). Για την ακρίβεια, εξελικτικά πειράματα έχουν δείξει ότι η εφαρμογή πιέσεων που αναγκάζουν τα κύτταρα να βελτιώσουν την προσαρμοστικότητά τους, δηλαδή θεραπεία κατά του καρκίνου, επιφέρει διαφορετικά αποτελέσματα στον ανταγωνισμό των κυττάρων αν εφαρμοστεί σε μεγάλες ξεχωριστές δόσεις απ' ότι αν εφαρμοστεί με έναν συνεχή τρόπο (Suiter et al., 2003). Λόγω της εξελικτικής ιστορίας του καρκίνου και των χαρακτηριστικών του, πιστεύεται ότι χημειοθεραπεία με μικρότερες συνεχείς δόσεις σε

συνδυασμό με θεραπεία που αποτρέπει την αγγειογένεση (Kim and Tannock, 2005), μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική από την παραδοσιακή χημειοθεραπεία που αποτελείται από λίγες και μεγάλες δόσεις (Merlo et al., 2006). Αυτό συμβαίνει διότι τα καρκινικά κύτταρα που θα επιβιώσουν από μια μεγάλη δόση χημειοθεραπείας θα είναι πολύ πιο καλά προσαρμοσμένα και ανθεκτικά και κατά συνέπεια οι απόγονοί τους θα είναι ιδιαίτερα δύσκολο να εξαλειφθούν (Merlo et al., 2006). Αντιθέτως, με χημειοθεραπεία που αποτελείται από μικρές συνεχείς δόσεις μειώνεται η πιθανότητα παραγωγής ανθεκτικών κλώνων στον πληθυσμό του νεοπλάσματος καθώς η ανθεκτικότητα ενός καρκινικού κυττάρου ισούται με τον μέσο όρο της προσαρμοστικότητάς του κατά τη διάρκεια της θεραπείας και της προσαρμοστικότητάς του μεταξύ δόσεων ανάλογα και με τα μεσοδιαστήματα μεταξύ θεραπειών (Merlo et al., 2006).

Μια νέα διάσταση στη διερεύνηση πιθανών θεραπειών και την ανάδειξη νέων δίνει η διερεύνηση γονιδίων, όχι μεμονωμένα αλλά ως στοιχεία του ευρύτερου δικτύου γονιδίων του ανθρώπου. Πιο συγκεκριμένα, η εξέλιξη ευνόησε κύτταρα που έθεταν ως βασική προτεραιότητα την επιβίωση τους, πράγμα το οποίο επιτυγχάνουν ενισχύοντας την πλαστικότητα και την αποδοτικότητα βασικών κυτταρικών διεργασιών (Trigos et al., 2018). Κάτι αντίστοιχο ισχύει για τα καρκινικά κύτταρα τα οποία βασίζονται για την επιβίωσή τους σε μονοκυτταρικής προέλευσης διεργασίες οι οποίες εκτελούνται και ελέγχονται από το υποδίκτυο γονιδίων που είναι μονοκυτταρικής προέλευσης (Trigos et al., 2018). Το γεγονός αυτό επιτρέπει την ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών που βασίζονται στην εξέλιξη και την ανάλυση του δικτύου γονιδίων. Η πρώτη βασική στρατηγική αφορά τη στόχευση κυτταρικών διεργασιών συγκεκριμένης ηλικίας και εξελικτικής προέλευσης, με σκοπό τη μείωση της διεκπεραίωσής τους (Trigos et al., 2018). Τα γονίδια που εμπλέκονται σε αυτές τις διεργασίες, οι οποίες είναι μονοκυτταρικής προέλευσης, συγκροτούν ένα εμπροσθοβαρές υποδίκτυο γονιδίων στο οποίο πιθανά σημεία χαμηλής πλαστικότητας και ανθεκτικότητας μπορούν να αποτελέσουν στόχους φαρμάκων (Trigos et al., 2018). Η δεύτερη στρατηγική βασίζεται στη

διαμόρφωση του ίδιου του δικτύου γονιδίων του ανθρώπου και συγκεκριμένα τον αμοιβαίο αποκλεισμό διεργασιών και αντίστοιχα γονιδίων μονοκυτταρικής και πολυκυτταρικής προέλευσης κατά την ανάπτυξη του καρκίνου (Trigos et al., 2018). Στόχος της στρατηγικής αυτής είναι η διέγερση γονιδίων που ανήκουν στο υποδίκτυο πολυκυτταρικής προέλευσης και η προαγωγή των διεργασιών που αυτά επιτελούν. Με αυτή τη στρατηγική μπορεί να αποφευχθεί η δημιουργία ανθεκτικών καρκινικών κυττάρων με ανοχή στη θεραπεία διότι το υποδίκτυο γονιδίων πολυκυτταρικής προέλευσης, λόγω της σχετικά σύντομης εξελικτικής τους πορείας και της έλλειψης σοβαρών εξελικτικών πιέσεων, δεν χαρακτηρίζεται από την πλαστικότητα, την εφευρετικότητα και τη στιβαρότητα που παρουσιάζει το υποδίκτυο μονοκυτταρικής προέλευσης (Trigos et al., 2018). Η τρίτη στρατηγική αφορά την εύρεση ευάλωτων κόμβων σε σημεία διασύνδεσης των υποδικτύων μονοκυτταρικής και πολυκυτταρικής προέλευσης (Trigos et al., 2018). Τέτοιους κόμβους αποτελούν και τα γονίδια που μελετήθηκαν στα πλαίσια αυτής της εργασίας τα οποία μπορούν να αποτελέσουν στόχους φαρμάκων για την αποφυγή του αμοιβαίου αποκλεισμού μεταξύ των δύο υποδικτύων ή και την αναίρεση αυτού.

Γενικά, η ενσωμάτωση, στην έρευνα για τον καρκίνο, της μελέτης της εξελικτικής ιστορίας των γονιδίων και των αλληλεπιδράσεών τους ως ένα σύστημα, μπορεί να οδηγήσει στην ανάδειξη τρωτών σημείων των καρκινικών κυττάρων, στη διαλεύκανση του επαναπρογραμματισμού των κυττάρων κατά την καρκινογένεση και στην κατανόηση των κοινών χαρακτηριστικών των διαφορετικών μορφών καρκίνου με απώτερο στόχο την κατανόηση της χαρακτηριστικής ετερογένειας της νόσου σε διαφορετικούς ασθενείς (Trigos et al., 2018). Αυτή η προσέγγιση μπορεί να βοηθήσει στο σχεδιασμό θεραπευτικών στρατηγικών που θα μπορούν να εφαρμοστούν σε ένα μεγάλο εύρος μορφών της νόσου.

Ανάπτυξη και εφαρμογή αυτών των προσεγγίσεων θα επέτρεπε τον επαναπρογραμματισμό των κυττάρων και την αποκατάσταση της ισορροπίας και του

συντονισμού των μονοκυτταρικής και πολυκυτταρικής προέλευσης περιοχών του δικτύου γονιδίων του ανθρώπου, οδηγώντας είτε στην επαναφορά των καρκινικών κυττάρων στον αρχικό υγίη φαινότυπο, αν το καρκινικό κύτταρο εντοπιστεί στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης, είτε στη μείωση της προσαρμοστικότητας των καρκινικών κυττάρων καθιστώντας έτσι εύκολη της εξάλειψή τους (Trigos et al., 2018).

Μελλοντικές Μελέτες

Παρόλο που η ιδέα ότι ο καρκίνος αποτελεί ένα εξελικτικό πρόβλημα δεν είναι καινούρια (Nowell, 1976), δεν είχε δοθεί ιδιαίτερη βαρύτητα στη μελέτη της ανάπτυξης των νεοπλασμάτων με μεθόδους εξελικτικής βιολογίας. Επίσης, αν και εννοιολογικά, η υπόθεση του αταβιστικού μοντέλου ξεκινά πριν από έναν αιώνα (Roberts, 1926; Snow, 1893) η μελέτη του καρκίνου υπό το φως της εξέλιξης αποτελεί ένα σύγχρονο εγχείρημα με πολλές δημοσιεύσεις ερευνητών, διοργάνωση συνεδρίων ακόμα και την ίδρυση κέντρων για τη μελέτη του καρκίνου με άξονα την εξέλιξη, το Center for Evolution and Cancer στο University of California, το Centre for Ecological and Evolutionary Cancer Research στο University of Montpellier, το Centre for Evolution and Cancer στο The Institute of Cancer Research και το Arizona Cancer and Evolution Center.

Με την συγκριτική ογκολογία να αποτελεί ένα νέο και πολλά υποσχόμενο κλάδο μελέτης του καρκίνου, κρίνεται απαραίτητη η διεύρυνση της έρευνας ώστε να συμπεριλάβει μια μεγάλη πληθώρα οργανισμών, σε αντίθεση με τον ανθρωποκεντρικό χαρακτήρα που έχει σήμερα. Εφόσον τα γονίδια και τα μονοπάτια που εμπλέκονται στην καρκινογένεση και την πρόοδο του καρκίνου είναι αρχαία και με βαθιές εξελικτικές ρίζες, η λεπτομερής μελέτη μονοπατιών, η αλληλούχιση οργανισμών, ακόμα και με μεγάλη εξελικτική απόσταση από τον άνθρωπο, η αποσαφήνιση των φυλογενετικών σχέσεων των οργανισμών και της εξελικτικής τους πορείας μπορούν να οδηγήσουν στην ανακάλυψη νέων μοριακών δεικτών και να

προσφέρουν νέες εναλλακτικές για την κλινική αντιμετώπιση και θεραπεία των νεοπλασμάτων.

Εν κατακλείδι, η σφαιρική κατανόηση του καρκίνου ως ένα φαινόμενο άρρηκτα συνδεδεμένο με την πολυκυτταρικότητα και όχι μόνο με έναν οργανισμό ή μια ομάδα οργανισμών, μπορεί όχι απλά να εμπλουτίσει τη γνώση της επιστημονικής κοινότητας, αλλά και να προσφέρει νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση ίσως της αρχαιότερης ασθένειας στη Γη.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Aaltomaa, S., Lipponen, P., Kärjä, V., Lundstedt, S., Lappi, J. and Kosma, V.M. (2004). The expression and prognostic value of alpha-, beta- and gamma-catenins in renal cell carcinoma. *Anticancer Res.*, 24(4), pp.2407–2413.
- 2) Abdel-Rahman, W. (2008). Genomic Instability and Carcinogenesis: An Update. *Current Genomics*, 9(8), pp.535–541.
- 3) Aceto, N., Bardia, A., Miyamoto, D.T., Donaldson, M.C., Wittner, B.S., Spencer, J.A., Yu, M., Pely, A., Engstrom, A., Zhu, H., Brannigan, B.W., Kapur, R., Stott, S.L., Shioda, T., Ramaswamy, S., Ting, D.T., Lin, C.P., Toner, M., Haber, D.A. and Maheswaran, S. (2014). Circulating Tumor Cell Clusters Are Oligoclonal Precursors of Breast Cancer Metastasis. *Cell*, 158(5), pp.1110–1122.
- 4) Adams, J.C. (2013). Evolution of the Metazoan Extracellular Matrix. *eLS*, 196, pp.671–679.
- 5) Adl, S.M., Simpson, A.G.B., Lane, C.E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S.S., Brown, M.W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., le Gall, L., Lynn, D.H., McManus, H., Mitchell, E.A.D., Mozley-Stanridge, S.E., Parfrey, L.W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C.L., Smirnov, A. and Spiegel, F.W. (2012). The Revised Classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(5), pp.429–514.
- 6) Agrios, G.N. (2004). *Plant pathology*. Burlington: Elsevier
- 7) Aigner, K., Descovich, L., Mikula, M., Sultan, A., Dampier, B., Bonné, S., van Roy, F., Mikulits, W., Schreiber, M., Brabletz, T., Sommergruber, W., Schweifer, N., Wernitznig, A., Beug, H., Foisner, R. and Eger, A. (2007). The transcription factor ZEB1 (δ EF1) represses Plakophilin 3 during human cancer progression. *FEBS Letters*, 581(8), pp.1617–1624.
- 8) Akashi, H., Osada, N. and Ohta, T. (2012). Weak Selection and Protein Evolution. *Genetics*, 192(1), pp.15–31.
- 9) Aktipis, C.A. and Nesse, R.M. (2013). Evolutionary foundations for cancer biology. *Evolutionary Applications*, 6(1), pp.144–159.
- 10) Aktipis, C.A., Boddy, A.M., Gatenby, R.A., Brown, J.S. and Maley, C.C. (2013). Life history trade-offs in cancer evolution. *Nature Reviews Cancer*, 13(12), pp.883–892.

- 11) Aktipis, C.A., Boddy, A.M., Jansen, G., Hibner, U., Hochberg, M.E., Maley, C.C. and Wilkinson, G.S. (2015). Cancer across the tree of life: cooperation and cheating in multicellularity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1673), p.20140219.
- 12) Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M. and Roberts, K. (2002). *Molecular biology of the cell*, 4th edn. New York, NY: Garland Science.
- 13) Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. and Lipman, D.J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), pp.403–410.
- 14) Andrä, K., Kornacker, I., Jörgl, A., Zörer, M., Spazierer, D., Fuchs, P., Fischer, I. and Wiche, G. (2003). Plectin-Isoform-Specific Rescue of Hemidesmosomal Defects in Plectin (–/–) Keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology*, 120(2), pp.189–197.
- 15) Andreadis, A., Gallego, M.E. and Nadal-Ginard, B. (1987). Generation of Protein Isoform Diversity by Alternative Splicing: Mechanistic and Biological Implications. *Annual Review of Cell Biology*, 3(1), pp.207–242.
- 16) Andrews, J.H. (1976). The pathology of marine algae. *Biological Reviews*, 51(2), pp.211–252.
- 17) Ao, P., Galas, D., Hood, L. and Zhu, X. (2008). Cancer as robust intrinsic state of endogenous molecular-cellular network shaped by evolution. *Medical Hypotheses*, 70(3), pp.678–684.
- 18) Apt, K. (1988). Galls and tumor-like growths on marine macroalgae. *Diseases of Aquatic Organisms*, 4, pp.211–217.
- 19) Arenas, M. (2015). Trends in substitution models of molecular evolution. *Frontiers in Genetics*, 6, p.319.
- 20) Arenas-Mena, C. (2017). The origins of developmental gene regulation. *Evolution & Development*, 19(2), pp.96–107.
- 21) Ashida, K., Terada, T., Kitamura, Y. and Kaibara, N. (1998). Expression of e-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and CD44 (standard and variant isoforms) in human cholangiocarcinoma: An immunohistochemical study. *Hepatology*, 27(4), pp.974–982.
- 22) Athey, J., Alexaki, A., Osipova, E., Rostovtsev, A., Santana-Quintero, L.V., Katneni, U., Simonyan, V. and Kimchi-Sarfaty, C. (2017). A new and updated resource for codon usage tables. *BMC Bioinformatics*, 18(1), pp.391.
- 23) Baggett, J.J., D'Aquino, K.E. and Wendland, B. (2003). The Sla2p talin domain plays a

- role in endocytosis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 165(4), pp.1661-1674.
- 24) Barrell, B.G., Bankier, A.T. and Drouin, J. (1979). A different genetic code in human mitochondria. *Nature*, 282(5735), pp.189–194.
 - 25) Barton, N.H. (2007). *Evolution*. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press
 - 26) Basu, S., Chaudhary, N., Shah, S., Braggs, C., Sawant, A., Vaz, S., Thorat, R., Gupta, S. and Dalal, S.N. (2018). Plakophilin3 loss leads to an increase in lipocalin2 expression, which is required for tumour formation. *Experimental Cell Research*, 369(2), pp.251–265.
 - 27) Bausch, D., Thomas, S., Mino-Kenudson, M., Fernandez-del, C.C., Bauer, T.W., Williams, M., Warshaw, A.L., Thayer, S.P. and Kelly, K.A. (2010). Plectin-1 as a Novel Biomarker for Pancreatic Cancer. *Clinical Cancer Research*, 17(2), pp.302–309.
 - 28) Baxevanis, A.D. (2001). *Bioinformatics a practical guide to the analysis of genes and proteins*. New York: Wiley Intersciences.
 - 29) Beaumont, N.J. (2009). Modelling the Transport of Nutrients in Early Animals. *Evolutionary Biology*, 36(2), pp.256–266.
 - 30) Bernusso, V.A., Machado-Neto, J.A., Pericole, F.V., Vieira, K.P., Duarte, A.S.S., Traina, F., Hansen, M.D., Olalla Saad, S.T. and Barcellos, K.S.A. (2015). Imatinib restores VASP activity and its interaction with Zyxin in BCR–ABL leukemic cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1853(2), pp.388–395.
 - 31) Bobrovskiy, I., Hope, J.M., Ivantsov, A., Nettersheim, B.J., Hallmann, C. and Brocks, J.J. (2018). Ancient steroids establish the Ediacaran fossil Dickinsonia as one of the earliest animals. *Science*, 361(6408), pp.1246–1249.
 - 32) Braun, A. (1978). Plant tumors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 516(2), pp.167–191.
 - 33) Breitbart, R.E., Andreadis, A. and Nadal-Ginard, B. (1987). Alternative Splicing: A Ubiquitous Mechanism for the Generation of Multiple Protein Isoforms from Single Genes. *Annual Review of Biochemistry*, 56(1), pp.467–495.
 - 34) Breuninger, S., Reidenbach, S., Georg Sauer, C., Ströbel, P., Pfitzenmaier, J., Trojan, L. and Hofmann, I. (2010). Desmosomal Plakophilins in the Prostate and Prostatic Adenocarcinomas. *The American Journal of Pathology*, 176(5), pp.2509–2519.
 - 35) Bruford, E.A., Lush, M.J., Wright, M.W., Sneddon, T.P., Povey, S. and Birney, E. (2007). The HGNC Database in 2008: a resource for the human genome. *Nucleic Acids*

- Research*, 36(Database issue), pp.D445–D448.
- 36) Bruun, J., Kolberg, M., Ahlquist, T.C., Royrvik, E.C., Nome, T., Leithe, E., Lind, G.E., Merok, M.A., Rognum, T.O., Bjorkoy, G., Johansen, T., Lindblom, A., Sun, X.-F., Svindland, A., Liestol, K., Nesbakken, A., Skotheim, R.I. and Lothe, R.A. (2015). Regulator of Chromosome Condensation 2 Identifies High-Risk Patients within Both Major Phenotypes of Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research*, 21(16), pp.3759–3770.
 - 37) Buffenstein, R. (2005). The Naked Mole-Rat: A New Long-Living Model for Human Aging Research. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 60(11), pp.1369–1377.
 - 38) Buranjiang, G., Kuerban, R., Abuduwanke, A., Li, X. and Kuerban, G. (2019). MicroRNA-331-3p inhibits proliferation and metastasis of ovarian cancer by targeting RCC2. *Archives of Medical Science*, 15(6), pp.1520–1529.
 - 39) Campbell, N.A. (2018). *Biology: a global approach*. New York Pearson.
 - 40) Canel, M., Serrels, A., Frame, M.C. and Brunton, V.G. (2013). E-cadherin-integrin crosstalk in cancer invasion and metastasis. *Journal of Cell Science*, 126(2), pp.393–401.
 - 41) Cao, N., Mu, L., Yang, W., Liu, L., Liang, L. and Zhang, H. (2018). MicroRNA-298 represses hepatocellular carcinoma progression by inhibiting CTNND1-mediated Wnt/ β -catenin signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, pp.483–490.
 - 42) Cao, Y., Adachi, J., Janke, A., Paabo, S. and Hasegawa, M. (1994). Phylogenetic relationships among eutherian orders estimated from inferred sequences of mitochondrial proteins: Instability of a tree based on a single gene. *Journal of Molecular Evolution*, 39(5), pp. 519-527.
 - 43) Carroll, S.B. (2001). Chance and necessity: the evolution of morphological complexity and diversity. *Nature*, 409(6823), pp.1102–1109.
 - 44) Carter, S.L., Eklund, A.C., Kohane, I.S., Harris, L.N. and Szallasi, Z. (2006). A signature of chromosomal instability inferred from gene expression profiles predicts clinical outcome in multiple human cancers. *Nat Genet* 38(9), pp.1043-1048.
 - 45) Castillo, S.D., Angulo, B., Suarez-Gauthier, A., Melchor, L., Medina, P.P., Sanchez-Verde, L., Torres-Lanzas, J., Pita, G., Benitez, J. and Sanchez-Cespedes, M. (2010). Gene amplification of the transcription factor DP1 and CTNND1 in human lung cancer. *The Journal of Pathology*, 222(1), pp.89-98.
 - 46) Ceppi, F., Langlois-Pelletier, C., Gagné, V., Rousseau, J., Ciolino, C., Lorenzo, S.D.,

- Kevin, K.M., Cijov, D., Sallan, S.E., Silverman, L.B., Neuberg, D., Kutok, J.L., Sinnett, D., Laverdière, C. and Krajinovic, M. (2014). Polymorphisms of the vincristine pathway and response to treatment in children with childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics*, 15(8), pp.1105–1116.
- 47) Chabner, B.A. and Roberts, T.G. (2005). Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nature reviews. Cancer*, 5(1), pp.65–72.
- 48) Chang, P.-Y., Liao, Y.-P., Wang, H.-C., Chen, Y.-C., Huang, R.-L., Wang, Y.-C., Yuan, C.-C. and Lai, H.-C. (2017). An epigenetic signature of adhesion molecules predicts poor prognosis of ovarian cancer patients. *Oncotarget*, 8(32), pp.53432-53449.
- 49) Chen, C.-Y., Ho, A., Huang, H.-Y., Juan, H.-F. and Huang, H.-C. (2014). Dissecting the Human Protein-Protein Interaction Network via Phylogenetic Decomposition. *Scientific Reports*, 4(1), pp.7153.
- 50) Chen, D., Zhang, B., Kang, J., Ma, X., Lu, Y. and Gong, L. (2012). Expression and clinical significance of FAK, ILK, and PTEN in salivary adenoid cystic carcinoma. *Acta Oto-Laryngologica*, 133(2), pp.203–208.
- 51) Chen, D., Zhang, Y., Zhang, X., Li, J., Han, B., Liu, S., Wang, L., Ling, Y., Mao, S. and Wang, X. (2013). Overexpression of integrin-linked kinase correlates with malignant phenotype in non-small cell lung cancer and promotes lung cancer cell invasion and migration via regulating epithelial–mesenchymal transition (EMT)-related genes. *Acta Histochemica*, 115(2), pp.128–136.
- 52) Chen, H. and He, X. (2015). The Convergent Cancer Evolution toward a Single Cellular Destination. *Molecular Biology and Evolution*, 33(1), pp.4–12.
- 53) Chen, H., Dai, G., Cai, Y., Gong, Q., Wu, W., Gao, M. and Fei, Z. (2018). Vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP), a novel target of miR-4455, promotes gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion, through activating the PI3K/AKT signaling pathway. *Cancer Cell International*, 18(1), pp.97.
- 54) Chen, H., Lin, F., Xing, K. and He, X. (2015). The reverse evolution from multicellularity to unicellularity during carcinogenesis. *Nature Communications*, 6(1), pp.6367.
- 55) Chen, P., Lei, L., Wang, J., Zou, X., Zhang, D., Deng, L. and Wu, D. (2017a). Downregulation of Talin1 promotes hepatocellular carcinoma progression through activation of the ERK1/2 pathway. *Cancer Science*, 108(6), pp.1157–1168.
- 56) Chen, P., Zheng, X., Zhou, Y., Xu, Y., Zhu, L. and Qian, Y. (2017b). Talin-1 interaction

- network promotes hepatocellular carcinoma progression. *Oncotarget*, 8(8), pp.13003-13014.
- 57) Chen, X., Zhu, H., Wu, X., Xie, X., Huang, G., Xu, X., Li, S. and Xing, C. (2016). Downregulated pseudogene *CTNNAP1* promote tumor growth in human cancer by downregulating its cognate gene *CTNNA1* expression. *Oncotarget*, 7(34), pp.55518-55528.
 - 58) Chen, Z., Wu, W., Huang, Y., Xie, L., Li, Y., Chen, H., Li, W., Yin, D. and Hu, K. (2019). RCC2 promotes breast cancer progression through regulation of Wnt signaling and inducing EMT. *Journal of Cancer*, 10(27), pp.6837–6847.
 - 59) Cheng, C.-C., Chao, W.-T., Liao, C.-C., Tseng, Y.-H., Lai, Y.-C.C., Lai, Y.-S., Hsu, Y.-H. and Liu, Y.-H. (2017). Plectin deficiency in liver cancer cells promotes cell migration and sensitivity to sorafenib treatment. *Cell Adhesion & Migration*, 12(1), pp.19–27.
 - 60) Cheng, Y., Zhu, Y., Xu, J., Yang, M., Chen, P., Xu, W., Zhao, J., Geng, L. and Gong, S. (2018). PKN2 in colon cancer cells inhibits M2 phenotype polarization of tumor-associated macrophages via regulating DUSP6-Erk1/2 pathway. *Molecular Cancer*, 17(1), pp.13.
 - 61) Choi, Y.P., Kim, B.G., Gao, M.-Q., Kang, S. and Cho, N.H. (2012). Targeting ILK and $\beta 4$ integrin abrogates the invasive potential of ovarian cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 427(3), pp.642–648.
 - 62) Chor, B. and Tuller, T. (2005). Maximum likelihood of evolutionary trees: hardness and approximation. *Bioinformatics*, 21(Suppl 1), pp.97–106.
 - 63) Chu, P.-C., Kulp, S.K., Bekaii-Saab, T. and Chen, C.-S. (2016). Targeting integrin-linked kinase to suppress oncogenic KRAS signaling in pancreatic cancer. *Small GTPases*, 9(6), pp.452–456.
 - 64) Cisneros, L., Bussey, K.J., Orr, A.J., Miočević, M., Lineweaver, C.H. and Davies, P. (2017). Ancient genes establish stress-induced mutation as a hallmark of cancer. *PLOS ONE*, 12(4), p.0176258.
 - 65) Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J. and Sayers, E.W. (2016). GenBank. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), pp.D67–D72.
 - 66) Clark, K.L., Ohtsubo, M., Nishimoto, T., Goebel, M. and Sprague, G.F. (1991). The yeast SRM1 protein and human RCC1 protein share analogous functions. *Cell Regulation*, 2(10), pp.781–792.
 - 67) Cleary, A.S., Leonard, T.L., Gestl, S.A. and Gunther, E.J. (2014). Tumour cell

- heterogeneity maintained by cooperating subclones in Wnt-driven mammary cancers. *Nature*, 508(7494), pp.113–117.
- 68) Correia, A.L. and Bissell, M.J. (2012). The tumor microenvironment is a dominant force in multidrug resistance. *Drug Resistance Updates*, 15(1–2), pp.39–49.
- 69) Croce, C.M. (2008). Oncogenes and Cancer. *New England Journal of Medicine*, 358(5), pp.502–511.
- 70) Davies, E., Gee, J.M., Cochrane, R., Jiang, W., Sharma, A., Nicholson, R. and Mansel, R. (1999). The immunohistochemical expression of desmoplakin and its role in vivo in the progression and metastasis of breast cancer. *European Journal of Cancer*, 35(6), pp.902–907.
- 71) Davies, P.C.W. and Lineweaver, C.H. (2011). Cancer tumors as Metazoa 1.0: tapping genes of ancient ancestors. *Physical Biology*, 8(1), p.015001.
- 72) Dayhoff, M.O., Schwartz, R.M. and Orcutt, B.C. (1978) A model of evolutionary change in proteins, in Dayhoff, M.O. *Edition, Atlas of Protein Sequence and Structure*. Natl. Biomed. Res. Found., Washington DC, 5(3), pp.345- 352.
- 73) de la Puente, P., Weisberg, E., Muz, B., Nonami, A., Luderer, M., Stone, R.M., Melo, J.V., Griffin, J.D. and Azab, A.K. (2015). Identification of ILK as a novel therapeutic target for acute and chronic myeloid leukemia. *Leukemia Research*, 39(11), pp.1299–1308.
- 74) Delaney, M.A., Nagy, L., Kinsel, M.J. and Treuting, P.M. (2013). Spontaneous Histologic Lesions of the Adult Naked Mole Rat (*Heterocephalus glaber*). *Veterinary Pathology*, 50(4), pp.607–621.
- 75) Delbridge, A.R.D., Valente, L.J. and Strasser, A. (2012). The Role of the Apoptotic Machinery in Tumor Suppression. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(11), pp.008789–008789.
- 76) Demirag, G.G., Sullu, Y. and Yucel, I. (2011). Expression of Plakophilins (PKP1, PKP2, and PKP3) in breast cancers. *Medical Oncology*, 29(3), pp.1518–1522.
- 77) Demirag, G.G., Sullu, Y., Gurgenyatagi, D., Okumus, N.O. and Yucel, I. (2011). Expression of Plakophilins (PKP1, PKP2, and PKP3) in Gastric Cancers. *Diagnostic Pathology*, 6(1), p.p.1.
- 78) Dertsiz, L. (2005). Differential expression of VASP in normal lung tissue and lung adenocarcinomas. *Thorax*, 60(7), pp.576–581.
- 79) DeSalle, R. and Schierwater, B. (2007). Key transitions in animal evolution. *Integrative*

- and Comparative Biology*, 47(5), pp.667–669.
- 80) Ding, X., Du, J., Mao, K., Wang, X., Ding, Y. and Wang, F. (2019). <p>MicroRNA-143-3p suppresses tumorigenesis by targeting catenin- δ 1 in colorectal cancer</p>. *OncoTargets and Therapy*, Volume 12, pp.3255–3265.
 - 81) Dobson, W.E., Stancyk, S.E., Clements, L.A. and Showman, R.M. (1991). Nutrient Translocation during Early Disc Regeneration in the Brittlestar *Micropholis gracillima* (Stimpson) (Echinodermata: Ophiuroidea). *The Biological Bulletin*, 180(1), pp.167–184.
 - 82) Domazet-Lošo, T. and Tautz, D. (2008). An Ancient Evolutionary Origin of Genes Associated with Human Genetic Diseases. *Molecular Biology and Evolution*, 25(12), pp.2699–2707.
 - 83) Domazet-Lošo, T. and Tautz, D. (2010). Phylostratigraphic tracking of cancer genes suggests a link to the emergence of multicellularity in metazoa. *BMC Biology*, 8(1), pp.66.
 - 84) Domazet-Lošo, T., Klimovich, A., Anokhin, B., Anton-Erxleben, F., Hamm, M.J., Lange, C. and Bosch, T.C.G. (2014). Naturally occurring tumours in the basal metazoan *Hydra*. *Nature Communications*, 5(1), pp.4222.
 - 85) Dong, X., Han, Y., Sun, Z. and Xu, J. (2017). Actin Gamma 1, a new skin cancer pathogenic gene, identified by the biological feature-based classification. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(2), pp.1406–1419.
 - 86) Doonan, J.H. and Sablowski, R. (2010). Walls around tumours — why plants do not develop cancer. *Nature Reviews Cancer*, 10(11), pp.794–802.
 - 87) Durand, P.M., Rashidi, A. and Michod, R.E. (2011). How an Organism Dies Affects the Fitness of Its Neighbors. *The American Naturalist*, 177(2), pp.224–232.
 - 88) Durbin, R. (2010). *Biological sequence analysis: probabilistic models of proteins and nucleic acids*. Cambridge Cambridge Univ. Press.
 - 89) Ebert, T.A. and Russell, M.P. (1993). Growth and mortality of subtidal red sea urchins (*Strongylocentrotus franciscanus*) at San Nicolas Island, California, USA: problems with models. *Marine Biology*, 117(1), pp.79–89.
 - 90) Edgecombe, G.D., Giribet, G., Dunn, C.W., Hejnol, A., Kristensen, R.M., Neves, R.C., Rouse, G.W., Worsaae, K. and Sørensen, M.V. (2011). Higher-level metazoan relationships: recent progress and remaining questions. *Organisms Diversity & Evolution*, 11(2), pp.151–172.

- 91) Efron, B. and Tibshirani, R. (1998). *An introduction to the bootstrap*. Boca Raton, Fla Chapman & Hall/Crc.
- 92) Engler, A.J., Humbert, P.O., Wehrle-Haller, B. and Weaver, V.M. (2009). Multiscale Modeling of Form and Function. *Science*, 324(5924), pp.208–212.
- 93) Evan, G.I. and Vousden, K.H. (2001). Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*, 411(6835), pp.342–348.
- 94) Eyre, T.A. (2006). The HUGO Gene Nomenclature Database, 2006 updates. *Nucleic Acids Research*, 34(90001), pp.319–321.
- 95) Fay, J.C. and Wu, C.-I. (2003). Sequence divergence, functional constraint and selection in protein evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 4(1), pp.213–235.
- 96) Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17(6), pp.368–376.
- 97) Felsenstein, J. (1985). Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, 39(4), pp.783–791.
- 98) Folio, C., Zalacain, M., Zanduetta, C., Ormazábal, C., Sierrasesúмага, L., Julián, M.S., de las Rivas, J., Toledo, G., Lecanda, F. and Patiño-García, A. (2012). Cortactin (CTTN) overexpression in osteosarcoma correlates with advanced stage and reduced survival. *Cancer Biomarkers*, 10(1), pp.35–41.
- 99) Frank, S.A. (1998). *Foundations of social evolution*. Princeton, Nj: Princeton University Press.
- 100) Fuchs, P., Zorer, M., Rezniczek, G.A., Spazierer, D., Oehler, S., Castanon, M.J., Hauptmann, R. and Wiche, G. (1999). Unusual 5' Transcript Complexity of Plectin Isoforms: Novel Tissue-Specific Exons Modulate Actin Binding Activity. *Human Molecular Genetics*, 8(13), pp.2461–2472.
- 101) Fuchs, Y. and Steller, H. (2011). Programmed Cell Death in Animal Development and Disease. *Cell*, 147(4), pp.742–758.
- 102) Furukawa, C., Daigo, Y., Ishikawa, N., Kato, T., Ito, T., Tsuchiya, E., Sone, S. and Nakamura, Y. (2005). Plakophilin 3 Oncogene as Prognostic Marker and Therapeutic Target for Lung Cancer. *Cancer Research*, 65(16), pp.7102–7110.
- 103) Galhardo, R.S., Hastings, P.J. and Rosenberg, S.M. (2007). Mutation as a Stress Response and the Regulation of Evolvability. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 42(5), pp.399–435.

- 104) Gan, T., Xie, Z., Tang, R., Zhang, T., Li, D., Li, Z. and Chen, G. (2017). Clinical value of miR-145-5p in NSCLC and potential molecular mechanism exploration: A retrospective study based on GEO, qRT-PCR, and TCGA data. *Tumor Biology*, 39(3), p.101042831769168.
- 105) Gang, Z., Ya-Lin, K., Dong-Qing, W., Yu, L., Li, R. and Hong-Yi, Z. (2013). Combining Cortactin and CTTN Detection with Clinicopathologic Features Increases Effectiveness of Survival Predictions for Patients with Resectable Hepatocellular Carcinoma. *Clinical Laboratory*, 59(11-12), pp.1343-1352.
- 106) Gao, B., Li, S., Tan, Z., Ma, L. and Liu, J. (2018). ACTG1 and TLR3 are biomarkers for alcohol-associated hepatocellular carcinoma. *Oncology Letters*. 17(2), pp.1714-1722.
- 107) Gao, X., Zhang, Y., Zhang, Z., Guo, S., Chen, X. and Guo, Y. (2020). MicroRNA-96-5p represses breast cancer proliferation and invasion through Wnt/ β -catenin signaling via targeting CTNND1. *Scientific Reports*, 10(1), pp.44.
- 108) Gascuel, O. (2006). Neighbor-Joining Revealed. *Molecular Biology and Evolution*, 23(11), pp.1997–2000.
- 109) Gatenby, R.A., Gillies, R.J. and Brown, J.S. (2010). The evolutionary dynamics of cancer prevention. *Nature Reviews Cancer*, 10(8), pp.526–527.
- 110) Glucksmann, A. (1951). Cell deaths in normal vertebrate ontogeny. *Biological Reviews*, 26(1), pp.59–86.
- 111) Gong, S., Chen, Y., Meng, F., Zhang, Y., Wu, H., Li, C. and Zhang, G. (2019). RCC2, a regulator of the RalA signaling pathway, is identified as a novel therapeutic target in cisplatin-resistant ovarian cancer. *The FASEB Journal*, 33(4), pp.5350–5365.
- 112) Gorbunova, V., Hine, C., Tian, X., Ablueva, J., Gudkov, A.V., Nevo, E. and Seluanov, A. (2012). Cancer resistance in the blind mole rat is mediated by concerted necrotic cell death mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(47), pp.19392–19396.
- 113) Grosberg, R.K. and Strathmann, R.R. (2007). The Evolution of Multicellularity: A Minor Major Transition? *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38(1), pp.621–654.
- 114) Gross, J. and Bhattacharya, D. (2010). Uniting sex and eukaryote origins in an emerging oxygenic world. *Biology Direct*, 5(1), p.53.
- 115) Gu, X., Fu, Y.X. and Li, W.H. (1995). Maximum likelihood estimation of the heterogeneity of substitution rate among nucleotide sites. *Molecular Biology and*

Evolution, 12(4), pp.546–557.

- 116) Gu, X., Xing, X., Yang, W., Hu, J. and Dai, D. (2014). High expression of integrin-linked kinase predicts aggressiveness and poor prognosis in patients with gastric cancer. *Acta Histochemica*, 116(5), pp.758–762.
- 117) Guen, V.J., Gamble, C., Perez, D.E., Bourassa, S., Zappel, H., Gärtner, J., Lees, J.A. and Colas, P. (2016). STAR syndrome-associated CDK10/Cyclin M regulates actin network architecture and ciliogenesis. *Cell Cycle*, 15(5), pp.678–688.
- 118) Guo, S. and DiPietro, L.A. (2010). Factors Affecting Wound Healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), pp.219–229.
- 119) Gusev, M.V., Tambiev, A.H., Kirikova, N.N., Shelyastina, N.N. and Aslanyan, R.R. (1987). Callus formation in seven species of agarophyte marine algae. *Marine Biology*, 95(4), pp.593–597.
- 120) Halder, A., Nayak, K.B. and Chakraborty, S. (2017). Ecotopic viral integration site 1 (EVI1) transcriptionally targets talin1 (TLN1) and upregulates its expression in chronic myeloid leukemia. *Leukemia & Lymphoma*, 59(8), pp.2008–2010.
- 121) Hall, B.K. (1984). Developmental mechanisms underlying the formation of atavisms. *Biological Reviews*, 59(1), pp.89–122.
- 122) Hamada, S., Satoh, K., Miura, S., Hirota, M., Kanno, A., Masamune, A., Kikuta, K., Kume, K., Unno, J., Egawa, S., Motoi, F., Unno, M. and Shimosegawa, T. (2013). miR-197 induces epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells by targeting p120 catenin. *J Cell Physiol*. 228(6), pp.1255-1263.
- 123) Han, L., Li, Z., Jiang, Y., Jiang, Z. and Tang, L. (2019). SNHG29 regulates miR
- 124) Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100(1), pp.57–70.
- 125) Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), pp.646–674.
- 126) Harris, M.P., Hasso, S.M., Ferguson, M.W.J. and Fallon, J.F. (2006). The Development of Archosaurian First-Generation Teeth in a Chicken Mutant. *Current Biology*, 16(4), pp.371–377.
- 127) Hartwell, L. (2011). *Genetics: from genes to genomes*. New York: Mcgraw-Hill.
- 128) Hausmann, C., Temme, A., Cordes, N. and Eke, I. (2015). ILKAP, ILK and PINCH1 control cell survival of p53-wildtype glioblastoma cells after irradiation. *Oncotarget*, 6(33), pp. 34592-34605.

- 129) He, J. and Deem, M.W. (2010). Hierarchical evolution of animal body plans. *Developmental Biology*, 337(1), pp.157–161.
- 130) He, J., Sun, J. and Deem, M.W. (2009). Spontaneous emergence of modularity in a model of evolving individuals and in real networks. *Physical Review E*, 79(3 Pt 1), 031907.
- 131) Heideman, M., Johnson, D. and Burrus, C. (1984). Gauss and the history of the fast fourier transform. *IEEE ASSP Magazine*, 1(4), pp.14–21.
- 132) Heininger, K. (2001). The Deprivation Syndrome is the Driving Force of Phylogeny, Ontogeny and Oncogeny. *Reviews in the Neurosciences*, 12(3), pp. 217-287.
- 133) Hendley, A.M., Wang, Y.J., Polireddy, K., Alsina, J., Ahmed, I., Lafaro, K.J., Zhang, H., Roy, N., Savidge, S.G., Cao, Y., Hebrok, M., Maitra, A., Reynolds, A.B., Goggins, M., Younes, M., Jacobuzio-Donahue, C.A., Leach, S.D. and Bailey, J.M. (2016). p120 Catenin Suppresses Basal Epithelial Cell Extrusion in Invasive Pancreatic Neoplasia. *Cancer Research*, 76(11), pp.3351–3363.
- 134) Hendy, M.D. and Penny, D. (1982). Branch and bound algorithms to determine minimal evolutionary trees. *Mathematical Biosciences*, 59(2), pp.277–290.
- 135) Hentschel, U., Usher, K.M. and Taylor, M.W. (2006). Marine sponges as microbial fermenters. *FEMS Microbiology Ecology*, 55(2), pp.167–177.
- 136) Hermida-Prado, F., Menéndez, S., Albornoz-Afanasyev, P., Granda-Díaz, R., Álvarez-Teijeiro, S., Villaronga, M., Allonca, E., Alonso-Durán, L., León, X., Alemany, L., Mena, M., del-Río-Ibisate, N., Astudillo, A., Rodríguez, R., Rodrigo, J. and García-Pedrero, J. (2018). Distinctive Expression and Amplification of Genes at 11q13 in Relation to HPV Status with Impact on Survival in Head and Neck Cancer Patients. *Journal of Clinical Medicine*, 7(12), p.501.
- 137) Herron, M.D. and Michod, R.E. (2008). Evolution of complexity in the volvocine algae: transitions in individuality through Darwin’s eye. *Evolution*, 62(2), pp.436–451.
- 138) Hillis, D.M. and Bull, J.J. (1993). An Empirical Test of Bootstrapping as a Method for Assessing Confidence in Phylogenetic Analysis. *Systematic Biology*, 42(2), pp.182–192.
- 139) Hiraki, A., Shinohara, M., Ikebe, T., Nakamura, S., Kurahara, S. and Garrod, D. (1996). Immunohistochemical staining of desmosomal components in oral squamous cell carcinomas and its association with tumour behaviour. *British Journal of Cancer*, 73(12), pp.1491–1497.
- 140) Hofman, P. and Vouret-Craviari, V. (2012). Microbes-induced EMT at the crossroad of inflammation and cancer. *Gut Microbes*, 3(3), pp.176–185.

- 141) Hopkins, S.R., McGregor, G.A., Murray, J.M., Downs, J.A. and Savic, V. (2016). Novel synthetic lethality screening method identifies TIP60-dependent radiation sensitivity in the absence of BAF180. *DNA Repair*, 46, pp.47–54.
- 142) Horn, D., Gross, M., Dyckhoff, G., Fuchs, J., Grabe, N., Weichert, W., Herpel, E., Herold-Mende, C., Lichter, P., Hoffmann, J., Hess, J. and Freier, K. (2018). Cortactin expression: Association with disease progression and survival in oral squamous cell carcinoma. *Head & Neck*, 40(12), pp.2685–2694.
- 143) Hotchkiss, R.S., Strasser, A., McDunn, J.E. and Swanson, P.E. (2009). Cell Death. *New England Journal of Medicine*, 361(16), pp.1570–1583.
- 144) Hu, X., Xiang, D., Xie, Y., Tao, L., Zhang, Y., Jin, Y., Pinello, L., Wan, Y., Yuan, G.-C. and Li, Z. (2019). LSD1 suppresses invasion, migration and metastasis of luminal breast cancer cells via activation of GATA3 and repression of TRIM37 expression. *Oncogene*, 38(44), pp.7017–7034.
- 145) Huang, S., Cai, M., Zheng, Y., Zhou, L., Wang, Q. and Chen, L. (2014). miR-888 in MCF-7 Side Population Sphere Cells Directly Targets E-cadherin. *Journal of Genetics and Genomics*, 41(1), pp.35–42.
- 146) Hynes, R.O. (2012). The evolution of metazoan extracellular matrix. *The Journal of Cell Biology*, 196(6), pp.671–679.
- 147) Iñaki Ruiz-Trillo and Nedelcu, A.M. (2015). *Evolutionary Transitions to Multicellular Life: Principles and mechanisms*. Dordrecht: Springer Netherlands.
- 148) Irwin, D.M., Kocher, T.D. and Wilson, A.C. (1991). Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 32(2), pp.128–144.
- 149) Isaacs, W.B., Bova, G.S., Morton, R.A., Bussemakers, M.J.G., Brooks, J.D. and Ewing, C.M. (1994). Genetic Alterations in Prostate Cancer. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 59(0), pp.653–659.
- 150) Ishizaki, Y., Omori, Y., Momiyama, M., Nishikawa, Y., Tokairin, T., Manabe, M. and Enomoto, K. (2004). Reduced expression and aberrant localization of p120catenin in human squamous cell carcinoma of the skin. *Journal of Dermatological Science*, 34(2), pp.99–108.
- 151) Ispolatov, I., Ackermann, M. and Doebeli, M. (2011). Division of labour and the evolution of multicellularity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1734), pp.1768–1776.
- 152) Jacobson, M.D., Weil, M. and Raff, M.C. (1997). Programmed Cell Death in Animal

- Development. *Cell*, 88(3), pp.347–354.
- 153) Jangoux, M. (1987). Diseases of Echinodermata. IV Structural abnormalities and general considerations on biotic diseases. *Diseases of Aquatic Organisms*, 3, pp.221–229.
- 154) Jassal, B., Matthews, L., Viteri, G., Gong, C., Lorente, P., Fabregat, A., Sidiropoulos, K., Cook, J., Gillespie, M., Haw, R., Loney, F., May, B., Milacic, M., Rothfels, K., Sevilla, C., Shamovsky, V., Shorsler, S., Varusai, T., Weiser, J., Wu, G., Stein, L., Hermjakob, H. and D'Eustachio, P. (2019). The reactome pathway knowledgebase. *Nucleic Acids Research*. 48(D1), pp.498-503.
- 155) Jin, J.K., Tien, P.C., Cheng, C.J., Song, J.H., Huang, C., Lin, S.-H. and Gallick, G.E. (2014). Talin1 phosphorylation activates $\beta 1$ integrins: a novel mechanism to promote prostate cancer bone metastasis. *Oncogene*, 34(14), pp.1811–1821.
- 156) Johnston, L.A. (2009). Competitive Interactions Between Cells: Death, Growth, and Geography. *Science*, 324(5935), pp.1679–1682.
- 157) Jones, D.T., Taylor, W.R. and Thornton, J.M. (1992). The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Bioinformatics*, 8(3), pp.275–282.
- 158) Juric, D., Lacayo, N.J., Ramsey, M.C., Racevskis, J., Wiernik, P.H., Rowe, J.M., Goldstone, A.H., O'Dwyer, P.J., Paietta, E. and Sikic, B.I. (2007). Differential Gene Expression Patterns and Interaction Networks in BCR-ABL–Positive and –Negative Adult Acute Lymphoblastic Leukemias. *Journal of Clinical Oncology*, 25(11), pp.1341–1349.
- 159) Kadowaki, T., Shiozaki, H., Inoue, M., et al. (1994). E-cadherin and alpha-catenin expression in human esophageal cancer. *Cancer Res.*, 54(1), pp.291–296.
- 160) Kanehisa, M. (2019). Toward understanding the origin and evolution of cellular organisms. *Protein Science*, 28(11). pp.1947-1951.
- 161) Kanehisa, M. and Goto, S. (2000). KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, 28(1), pp.27–30.
- 162) Kang, W., Kim, S.H., Cho, H.J., Jin, J., Lee, J., Joo, K.M. and Nam, D.-H. (2015). Talin1 targeting potentiates anti-angiogenic therapy by attenuating invasion and stem-like features of glioblastoma multiforme. *Oncotarget*, 6(29), pp.27239-27251.
- 163) Katoh, K. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 30(14), pp.3059–3066.
- 164) Khan, M.I., Dębski, K.J., Dabrowski, M., Czarnecka, A.M. and Szczylik, C. (2016). Gene set enrichment analysis and ingenuity pathway analysis of metastatic clear cell

- renal cell carcinoma cell line. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 311(2), pp.F424–F436.
- 165) Kharbili, M.E., Robert, C., Witkowski, T., Danty-Berger, E., Barbolat-Boutrand, L., Masse, I., Gadot, N., de la Fouchardiere, A., McDonald, P.C., Dedhar, S., Le Naour, F., Degoul, F. and Berthier-Vergnes, O. (2017). Tetraspanin 8 is a novel regulator of ILK-driven β 1 integrin adhesion and signaling in invasive melanoma cells. *Oncotarget*, 8(10), pp. 17140–17155.
- 166) Kidacki, M., Lehman, H.L., Green, M.V., Warrick, J.I. and Stairs, D.B. (2017). p120-Catenin Downregulation and PIK3CA Mutations Cooperate to Induce Invasion through MMP1 in HNSCC. *Molecular Cancer Research*, 15(10), pp.1398–1409.
- 167) Kim, D.Y., Lee, J.H., Kim, K.Y., Kang, D.B., Park, W.C., Chae, S.C. and Lee, J.K. (2015). Association between genetic polymorphisms in cortactin and susceptibility to gastric cancer. *Annals of Surgical Treatment and Research*, 89(2), p.74.
- 168) Kim, H.-J., Roh, M.S., Son, C.H., Kim, A.J., Jee, H.J., Song, N., Kim, M., Seo, S.-Y., Yoo, Y.H. and Yun, J. (2012). Loss of Med1/TRAP220 promotes the invasion and metastasis of human non-small-cell lung cancer cells by modulating the expression of metastasis-related genes. *Cancer Letters*, 321(2), pp.195–202.
- 169) Kim, J.J. and Tannock, I.F. (2005). Repopulation of cancer cells during therapy: an important cause of treatment failure. *Nature Reviews Cancer*, 5(7), pp.516–525.
- 170) King, N., Westbrook, M.J., Young, S.L., Kuo, A., Abedin, M., Chapman, J., Fairclough, S., Hellsten, U., Isogai, Y., Letunic, I., Marr, M., Pincus, D., Putnam, N., Rokas, A., Wright, K.J., Zuzow, R., Dirks, W., Good, M., Goodstein, D., Lemons, D., Li, W., Lyons, J.B., Morris, A., Nichols, S., Richter, D.J., Salamov, A., Sequencing, J., Bork, P., Lim, W.A., Manning, G., Miller, W.T., McGinnis, W., Shapiro, H., Tjian, R., Grigoriev, I.V. and Rokhsar, D. (2008). The genome of the choanoflagellate *Monosiga brevicollis* and the origin of metazoans. *Nature*, 451(7180), pp.783–788.
- 171) Kinzler, K.W. and Vogelstein, B. (1997). Gatekeepers and caretakers. *Nature*, 386(6627), pp.761–763.
- 172) Kirkpatrick, D. and Solomon, F. (1994). Overexpression of yeast homologs of the mammalian checkpoint gene *RCC1* suppresses the class of alpha-tubulin mutations that arrest with excess microtubules. *Genetics*. 137(2), pp.381-392.
- 173) Kishino, H. and Hasegawa, M. (1989). Evaluation of the maximum likelihood estimate of the evolutionary tree topologies from DNA sequence data, and the branching order in

- hominoidea. *Journal of Molecular Evolution*, 29(2), pp.170–179.
- 174) Knoll, A.H. (2011). The Multiple Origins of Complex Multicellularity. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 39(1), pp.217–239.
- 175) Knoll, A.H. and Hewitt, D. (2011). The major transitions in evolution revisited. Cambridge, MA: MIT Press.
- 176) Knudson, A.G. (1971). Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(4), pp.820–823.
- 177) Komarova, N. L., & Wodarz, D. (2003). Evolutionary dynamics of mutator phenotypes in cancer: implications for chemotherapy. *Cancer research*, 63(20), pp.6635–6642.
- 178) Koroknai, V., Ecsedi, S., Vízkeleti, L., Kiss, T., Szász, I., Lukács, A., Papp, O., Ádány, R. and Balázs, M. (2016). Genomic profiling of invasive melanoma cell lines by array comparative genomic hybridization. *Melanoma Research*, 26(2), pp.100–107.
- 179) Koster, J. (2002). Analysis of the interactions between BP180, BP230, plectin and the integrin alpha6beta4 important for hemidesmosome assembly. *Journal of Cell Science*, 116(2), pp.387–399.
- 180) Kozyraki, R., Scoazec, J., Flejou, J., D’Errico, A., Bedossa, P., Terris, B., Fiorentino, M., Bringuier, A., Grigioni, W. and Feldmann, G. (1996). Expression of cadherins and alpha-catenin in primary epithelial tumors of the liver. *Gastroenterology*, 110(4), pp.1137–1149.
- 181) Kuhner, M.K. and Felsenstein, J. (1994). A simulation comparison of phylogeny algorithms under equal and unequal evolutionary rates. *Molecular Biology and Evolution*, 11(3), pp.459–468.
- 182) Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), pp.1547–1549.
- 183) Kumari, N., Saxena, S. and Agrawal, U. (2015). Exosomal protein interactors as emerging therapeutic targets in urothelial bladder cancer. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 27(2), pp.51–58.
- 184) Kundu, S.T., Gosavi, P., Khapare, N., Patel, R., Hosing, A.S., Maru, G.B., Ingle, A., DeCaprio, J.A. and Dalal, S.N. (2008). Plakophilin3 downregulation leads to a decrease in cell adhesion and promotes metastasis. *International Journal of Cancer*, 123(10), pp.2303–2314.
- 185) Kunin, W.E. and Gaston, K.J. (1997). The biology of rarity: causes and consequences of

rare-common differences. *London: Chapman & Hall.*

- 186) Lachmann, S., Jevons, A., De Rycker, M., Casamassima, A., Radtke, S., Collazos, A. and Parker, P.J. (2011). Regulatory Domain Selectivity in the Cell-Type Specific PKN-Dependence of Cell Migration. *PLoS ONE*, 6(7), p.e21732.
- 187) Lai, M.-T., Hua, C.-H., Tsai, M.-H., Wan, L., Lin, Y.-J., Chen, C.-M., Chiu, I.-W., Chan, C., Tsai, F.-J. and Jinn-Chyuan Sheu, J. (2011). Talin-1 overexpression defines high risk for aggressive oral squamous cell carcinoma and promotes cancer metastasis. *The Journal of Pathology*, 224(3), pp.367–376.
- 188) Lang, L., Hou, Y., Chen, Y., Tu, G., Tao, J., Yang, D., Xi, L., Fu, L., Sun, K., Yin, J., Chen, R., Peng, M., Liu, S. and Liu, M. (2018). ATM-Mediated Phosphorylation of Cortactin Involved in Actin Polymerization Promotes Breast Cancer Cells Migration and Invasion. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 51(6), pp.2972–2988.
- 189) Lauckner, G. (1980). Diseases of Ctenophora. In *Diseases of marine animals* (ed. O Kinne), pp. 239–253. *New York, NY: John Wiley and Sons.*
- 190) Le Page, M. (2007). The ancestor within. *New Scientist*, 193(2586), pp.28–33.
- 191) Le, S.Q. and Gascuel, O. (2008). An Improved General Amino Acid Replacement Matrix. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), pp.1307–1320.
- 192) Le, S.Q., Lartillot, N. and Gascuel, O. (2008). Phylogenetic mixture models for proteins. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1512), pp.3965–3976.
- 193) Lee, A.J.X. and Swanton, C. (2012). Tumour heterogeneity and drug resistance: Personalising cancer medicine through functional genomics. *Biochemical Pharmacology*, 83(8), pp.1013–1020.
- 194) Lee, C.-F., Ling, Z.-Q., Zhao, T., Fang, S.-H., Chang, W.-C., Lee, S.-C. and Lee, K.-R. (2009). Genomic-wide analysis of lymphatic metastasis-associated genes in human hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 15(3), p.356.
- 195) Lee, Y.-C., Wu, C.-T., Chen, C.-S., Hsu, H.-H. and Chang, Y.-L. (2002). The significance of E-cadherin and α -, β -, and γ -catenin expression in surgically treated non-small cell lung cancers of 3 cm or less in size. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 123(3), pp.502–507.
- 196) Lemey, P., Salemi, M. and Anne-Mieke Vandamme (2009). *The Phylogenetic Handbook A Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypothesis Testing*. Cambridge Cambridge University Press.

- 197) Leung, C.L., Green, K.J. and Liem, R.K.H. (2002). Plakins: a family of versatile cytolinker proteins. *Trends in Cell Biology*, 12(1), pp.37–45.
- 198) Lewin, B. (2004). *Genes*. Upper Saddle River, Nj: Pearson Prentice Hall.
- 199) Leys, S.P. and Lauzon, N.R. (1998). Hexactinellid sponge ecology: growth rates and seasonality in deep water sponges. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 230(1), pp.111–129.
- 200) Li, A., Zhang, L., Zhang, X., Jin, W. and Ren, Y. (2015). Expression and clinical significance of cortactin protein in ovarian neoplasms. *Clinical and Translational Oncology*, 18(2), pp.220–227.
- 201) Li, J., Xing, X., Li, D., Zhang, B., Mutch, D.G., Hagemann, I.S. and Wang, T. (2017). Whole-Genome DNA Methylation Profiling Identifies Epigenetic Signatures of Uterine Carcinosarcoma. *Neoplasia*, 19(2), pp.100–111.
- 202) Li, J., Yang, Z., Ren, X., Zou, Q., Yuan, Y., Liang, L., Chen, M. and Chen, S. (2012). ILK and PRDX1 are prognostic markers in squamous cell/adenosquamous carcinomas and adenocarcinoma of gallbladder. *Tumor Biology*, 34(1), pp.359–368.
- 203) Li, Y., Fu, Y., Hu, X., Sun, L., Tang, D., Li, N., Peng, F. and Fan, X. (2019). The HBx–CTTN interaction promotes cell proliferation and migration of hepatocellular carcinoma via CREB1. *Cell Death & Disease*, 10(6), p.405.
- 204) Li, Y., Ju, K., Wang, W., Liu, Z., Xie, H., Jiang, Y., Jiang, G., Lu, J., Dong, Z. and Tang, F. (2018). Dinitrosopiperazine-decreased PKP3 through upregulating miR-149 participates in nasopharyngeal carcinoma metastasis. *Molecular Carcinogenesis*, 57(12), pp.1763–1779.
- 205) Li, Y., Liang, Q., Wen, Y., Chen, L., Wang, L., Liu, Y., Luo, C., Liang, H., Li, M. and Li, Z. (2010). Comparative proteomics analysis of human osteosarcomas and benign tumor of bone. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 198(2), pp.97–106.
- 206) Li, Y., Zhang, H., Gong, H., Yuan, Y., Li, Y., Wang, C., Li, W., Zhang, Z., Liu, M., Liu, H. and Chen, J. (2018). miR-182 suppresses invadopodia formation and metastasis in non-small cell lung cancer by targeting cortactin gene. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 37(1), p.141.
- 207) Li, Y.J., Meng, Y.X. and Ji, X.R. (2003). Relationship between expressions of E-cadherin and alpha-catenin and biological behaviors of human pancreatic cancer. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.*, 2(3), pp.471–477.
- 208) Lim, V., Zhu, H., Diao, S., Hu, L. and Hu, J. (2019). PKP3 interactions with MAPK-

- JNK-ERK1/2-mTOR pathway regulates autophagy and invasion in ovarian cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 508(2), pp.646–653.
- 209) Lin, W., Huang, J., Yuan, Z., Feng, S., Xie, Y. and Ma, W. (2017). Protein kinase C inhibitor chelerythrine selectively inhibits proliferation of triple-negative breast cancer cells. *Scientific Reports*, 7(1), p.2022.
- 210) Liu, C.G., Maercker, C., Castanon, M.J., Hauptmann, R. and Wiche, G. (1996). Human plectin: organization of the gene, sequence analysis, and chromosome localization (8q24). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(9), pp.4278–4283.
- 211) Liu, K., Raghavan, S., Nelesen, S., Linder, C.R. and Warnow, T. (2009). Rapid and Accurate Large-Scale Coestimation of Sequence Alignments and Phylogenetic Trees. *Science*, 324(5934), pp.1561–1564.
- 212) Liu, T.X., Becker, M.W., Jelinek, J., Wu, W.-S., Deng, M., Mikhalkevich, N., Hsu, K., Bloomfield, C.D., Stone, R.M., DeAngelo, D.J., Galinsky, I.A., Issa, J.-P., Clarke, M.F. and Look, A.T. (2006). Chromosome 5q deletion and epigenetic suppression of the gene encoding α -catenin (CTNNA1) in myeloid cell transformation. *Nature Medicine*, 13(1), pp.78–83.
- 213) Liu, Y., Beyer, A. and Aebersold, R. (2016). On the Dependency of Cellular Protein Levels on mRNA Abundance. *Cell*, 165(3), pp.535–550.
- 214) Liu, Y., Li, Q.-C., Miao, Y., Xu, H.-T., Dai, S.-D., Wei, Q., Dong, Q.-Z., Dong, X.-J., Zhao, Y., Zhao, C. and Wang, E.-H. (2009). Ablation of p120-catenin enhances invasion and metastasis of human lung cancer cells. *Cancer Science*, 100(3), pp.441–448.
- 215) Liu, Y., Zhang, Y., Wu, H., Li, Y., Zhang, Y., Liu, M., Li, X. and Tang, H. (2017). miR-10a suppresses colorectal cancer metastasis by modulating the epithelial-to-mesenchymal transition and anoikis. *Cell Death & Disease*, 8(4), pp.e2739–e2739.
- 216) Liu, Z., Wang, Y., Dou, C., Xu, M., Sun, L., Wang, L., Yao, B., Li, Q., Yang, W., Tu, K. and Liu, Q. (2018). Hypoxia-induced up-regulation of VASP promotes invasiveness and metastasis of hepatocellular carcinoma. *Theranostics*, 8(17), pp.4649–4663.
- 217) Long, H.-C., Gao, X., Lei, C.-J., Zhu, B., Li, L., Zeng, C., Huang, J.-B. and Feng, J.-R. (2016). miR-542-3p inhibits the growth and invasion of colorectal cancer cells through targeted regulation of cortactin. *International Journal of Molecular Medicine*, 37(4), pp.1112–1118.
- 218) Lu, J., Xu, Y., Zhao, Z., Ke, X., Wei, X., Kang, J., Zong, X., Mao, H. and Liu, P. (2017). Emodin suppresses proliferation, migration and invasion in ovarian cancer cells by down

- regulating ILK in vitro and in vivo. *OncoTargets and Therapy*, Volume 10, pp.3579–3589.
- 219) Lu, P., Qiao, J., He, W., Wang, J., Jia, Y., Sun, Y., Tang, S., Fu, L. and Qin, Y. (2014). Genome-Wide Gene Expression Profile Analyses Identify CTTN as a Potential Prognostic Marker in Esophageal Cancer. *PLoS ONE*, 9(2), p.e88918.
- 220) Luo, D., Zhan, S., Xia, W., Huang, L., Ge, W. and Wang, T. (2018). Proteomics study of serum exosomes from papillary thyroid cancer patients. *Endocrine-Related Cancer*, 25(10), pp.879–891.
- 221) Luo, M.-L., Shen, X.-M., Zhang, Y., Wei, F., Xu, X., Cai, Y., Zhang, X., Sun, Y.-T., Zhan, Q.-M., Wu, M. and Wang, M.-R. (2006). Amplification and Overexpression of CTTN (EMS1) Contribute to the Metastasis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma by Promoting Cell Migration and Anoikis Resistance. *Cancer Research*, 66(24), pp.11690–11699.
- 222) Lyons, N.A. and Kolter, R. (2015). On the evolution of bacterial multicellularity. *Current Opinion in Microbiology*, 24, pp.21–28.
- 223) Li, Y.J. (2003). Relationship between expression of E-cadherin-catenin complex and clinicopathologic characteristics of pancreatic cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 9(2), p.368.
- 224) Ma, X., Yao, H., Wang, X., Wei, Y., Cao, L., Zhang, Q. and Zhang, L. (2019). ILK predicts the efficacy of chemoradiotherapy and the prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology Letters*. 18(4), pp.4114-4125.
- 225) Maley, C. C., Reid, B. J., & Forrest, S. (2004). Cancer prevention strategies that address the evolutionary dynamics of neoplastic cells: simulating benign cell boosters and selection for chemosensitivity. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 13(8), pp.1375–1384.
- 226) Maloof, A.C., Rose, C.V., Beach, R., Samuels, B.M., Calmet, C.C., Erwin, D.H., Poirier, G.R., Yao, N. and Simons, F.J. (2010). Possible animal-body fossils in pre-Marinoan limestones from South Australia. *Nature Geoscience*, 3(9), pp.653–659.
- 227) Manov, I., Hirsh, M., Iancu, T.C., Malik, A., Sotnichenko, N., Band, M., Avivi, A. and Shams, I. (2013). Pronounced cancer resistance in a subterranean rodent, the blind mole-rat, Spalax: in vivo and in vitro evidence. *BMC Biology*, 11(1), p.91.

- 228) Martincorena, I., Raine, K.M., Gerstung, M., Dawson, K.J., Haase, K., Van Loo, P., Davies, H., Stratton, M.R. and Campbell, P.J. (2017). Universal Patterns of Selection in Cancer and Somatic Tissues. *Cell*, 171(5), pp.1029-1041.
- 229) Marusyk, A., Tabassum, D.P., Altrock, P.M., Almendro, V., Michor, F. and Polyak, K. (2014). Non-cell-autonomous driving of tumour growth supports sub-clonal heterogeneity. *Nature*, 514(7520), pp.54–58.
- 230) Masel, J. (2011). Genetic drift. *Current Biology*, 21(20), pp.837–838.
- 231) Mashanov, V.S., Dolmatov, I.Y. and Heinzeller, T. (2005). Transdifferentiation in Holothurian Gut Regeneration. *The Biological Bulletin*, 209(3), pp.184–193.
- 232) Matsuo, M., Nakada, C., Tsukamoto, Y., Noguchi, T., Uchida, T., Hijiya, N., Matsuura, K. and Moriyama, M. (2013). MiR-29c is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell proliferation by targeting RCC2. *Molecular Cancer*, 12(1), p.15.
- 233) Maynard Smith, J. and Szathmáry E. (2010). *The major transitions in evolution*. Oxford Univ. Press.
- 234) McInroy, L. and Määttä, A. (2011). Plectin regulates invasiveness of SW480 colon carcinoma cells and is targeted to podosome-like adhesions in an isoform-specific manner. *Experimental Cell Research*, 317(17), pp.2468–2478.
- 235) McMurray, S.E., Blum, J.E. and Pawlik, J.R. (2008). Redwood of the reef: growth and age of the giant barrel sponge *Xestospongia muta* in the Florida Keys. *Marine Biology*, 155(2), pp.159–171.
- 236) Merlo, L.M.F., Pepper, J.W., Reid, B.J. and Maley, C.C. (2006). Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nature Reviews Cancer*, 6(12), pp.924–935.
- 237) Michod, R.E. (2007). Evolution of individuality during the transition from unicellular to multicellular life. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(Supplement 1), pp.8613–8618.
- 238) Michod, R.E. and Roze, D. (2001). Cooperation and conflict in the evolution of multicellularity. *Heredity*, 86(1), pp.1–7.
- 239) Michor, F., Iwasa, Y. and Nowak, M.A. (2004). Dynamics of cancer progression. *Nature Reviews Cancer*, 4(3), pp.197–205.
- 240) Mollinari, C., Reynaud, C., Martineau-Thuillier, S., Monier, S., Kieffer, S., Garin, J., Andreassen, P.R., Boulet, A., Goud, B., Kleman, J.-P. and Margolis, R.L. (2003). The Mammalian Passenger Protein TD-60 Is an RCC1 Family Member with an Essential Role in Prometaphase to Metaphase Progression. *Developmental Cell*, 5(2), pp.295–307.

- 241) Momand, J., Villegas, A. and Belyi, V.A. (2011). The evolution of MDM2 family genes. *Gene*, 486(1–2), pp.23–30.
- 242) Morais-Rodrigues, F., Silvério-Machado, R., Kato, R.B., Rodrigues, D.L.N., Valdez-Baez, J., Fonseca, V., San, E.J., Gomes, L.G.R., dos Santos, R.G., Vinicius Canário Viana, M., da Cruz Ferraz Dutra, J., Teixeira Dornelles Parise, M., Parise, D., Campos, F.F., de Souza, S.J., Ortega, J.M., Barh, D., Ghosh, P., Azevedo, V.A.C. and dos Santos, M.A. (2020). Analysis of the microarray gene expression for breast cancer progression after the application modified logistic regression. *Gene*, 726, p.144168.
- 243) Mortazavi, F., An, J., Dubinett, S. and Rettig, M. (2010). p120-Catenin is Transcriptionally Downregulated by FOXC2 in Non–Small Cell Lung Cancer Cells. *Molecular Cancer Research*, 8(5), pp.762–774.
- 244) Nakamura, T., Yamada, K.D., Tomii, K. and Katoh, K. (2018). Parallelization of MAFFT for large-scale multiple sequence alignments. *Bioinformatics*, 34(14), pp.2490–2492.
- 245) Nakane, K., Fujita, Y., Terazawa, R., Atsumi, Y., Kato, T., Nozawa, Y., Deguchi, T. and Ito, M. (2011). Inhibition of cortactin and SIRT1 expression attenuates migration and invasion of prostate cancer DU145 cells. *International Journal of Urology*, 19(1), pp.71–79.
- 246) Nakasone, E.S., Askautrud, H.A., Kees, T., Park, J.-H., Plaks, V., Ewald, A.J., Fein, M., Rasch, M.G., Tan, Y.-X., Qiu, J., Park, J., Sinha, P., Bissell, M.J., Frenge, E., Werb, Z. and Egeblad, M. (2012). Imaging Tumor-Stroma Interactions during Chemotherapy Reveals Contributions of the Microenvironment to Resistance. *Cancer Cell*, 21(4), pp.488–503.
- 247) Navarro-Bordonaba J., Adams T.H. (1994) Development of Conidia and Fruiting Bodies in Ascomycetes. In: Wessels J.G.H., Meinhardt F. (eds) Growth, Differentiation and Sexuality. The Mycota (A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research), vol 1. Springer, Berlin, Heidelberg
- 248) Nedelcu, A.M. (2009). Environmentally induced responses co-opted for reproductive altruism. *Biology Letters*, 5(6), pp.805–808.
- 249) Nedelcu, A.M. and Michod, R.E., (2004). *Evolvability, modularity, and individuality during the transition to multicellularity in volvocalean green algae*. In *Modularity in development and evolution* (eds G Schlosser, GP Wagner), pp. 466–489. Chicago, IL: University of Chicago Press.

- 250) Nedelcu, A.M., Driscoll, W.W., Durand, P.M., Herron, M.D. and Rashidi, A. (2010). On the paradigm of altruistic suicide in the unicellular works. *Evolution*, 65(1), pp.3–20.
- 251) Nei, M., Kumar, S. and Oxford University Press (2005). Molecular evolution and phylogenetics. *Oxford Etc.: Oxford University Press*.
- 252) Newman, M.E.J. (1997). A Model of Mass Extinction. *Journal of Theoretical Biology*, 189(3), pp.235–252.
- 253) Niklas, K.J. and Newman, S.A. (2013). The origins of multicellular organisms. *Evolution & Development*, 15(1), pp.41–52.
- 254) Niu, N., Lu, P., Yang, Y., He, R., Zhang, L., Shi, J., Wu, J., Yang, M., Zhang, Z.-G., Wang, L.-W., Gao, W.-Q., Habtezion, A., Xiao, G.G., Sun, Y., Li, L. and Xue, J. (2019). Loss of Setd2 promotes Kras-induced acinar-to-ductal metaplasia and epithelia–mesenchymal transition during pancreatic carcinogenesis. *Gut*, 69(4), pp.715–726.
- 255) Noordhuis, M.G., Fehrmann, R.S.N., Wisman, G.B.A., Nijhuis, E.R., van Zanden, J.J., Moerland, P.D., Ver Loren van Themaat, E., Volders, H.H., Kok, M., ten Hoor, K.A., Hollema, H., de Vries, E.G.E., de Bock, G.H., van der Zee, A.G.J. and Schuurin, E. (2011). Involvement of the TGF- β and β -Catenin Pathways in Pelvic Lymph Node Metastasis in Early-Stage Cervical Cancer. *Clinical Cancer Research*, 17(6), pp.1317–1330.
- 256) Nowak, M.A. (2006). Five Rules for the Evolution of Cooperation. *Science*, 314(5805), pp.1560–1563.
- 257) Nowell, P. C. (1976). The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 194, pp.23–28.
- 258) Nunney, L. (2012). The real war on cancer: the evolutionary dynamics of cancer suppression. *Evolutionary Applications*, 6(1), pp.11–19.
- 259) Ohno, H., Uemura, K., Shintani-Ishida, K., Nakamura, M., Inomata, M. and Yoshida, K. (2007). Ischemia promotes calpain-mediated degradation of p120-catenin in SH-SY5Y cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 353(3), pp.547–552.
- 260) Okasha, S. (2008). *Evolution and the levels of selection*. Oxford: Clarendon Press; Oxford; New York.
- 261) O'Leary, N.A., Wright, M.W., Brister, J.R., Ciufu, S., Haddad, D., McVeigh, R., Rajput, B., Robbertse, B., Smith-White, B., Ako-Adjei, D., Astashyn, A., Badretdin, A., Bao, Y., Blinkova, O., Brover, V., Chetvernin, V., Choi, J., Cox, E., Ermolaeva, O., Farrell, C.M., Goldfarb, T., Gupta, T., Haft, D., Hatcher, E., Hlavina, W., Joardar, V.S., Kodali,

- V.K., Li, W., Maglott, D., Masterson, P., McGarvey, K.M., Murphy, M.R., O'Neill, K., Pujar, S., Rangwala, S.H., Rausch, D., Riddick, L.D., Schoch, C., Shkeda, A., Storz, S.S., Sun, H., Thibaud-Nissen, F., Tolstoy, I., Tully, R.E., Vatsan, A.R., Wallin, C., Webb, D., Wu, W., Landrum, M.J., Kimchi, A., Tatusova, T., DiCuccio, M., Kitts, P., Murphy, T.D., Pruitt, K.D. (2016) Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Res.*, 44(D1), p.D733-45
- 262) Palaniappan, A., Ramar, K. and Ramalingam, S. (2016). Computational Identification of Novel Stage-Specific Biomarkers in Colorectal Cancer Progression. *PLOS ONE*, 11(5), p.0156665.
- 263) Pang, B., Wu, N., Guan, R., Pang, L., Li, X., Li, S., Tang, L., Guo, Y., Chen, J., Sun, D., Sun, H., Dai, J., Bai, J., Ji, G., Liu, P., Liu, A., Wang, Q., Xiao, S., Fu, S. and Jin, Y. (2017). Overexpression of RCC2 Enhances Cell Motility and Promotes Tumor Metastasis in Lung Adenocarcinoma by Inducing Epithelial–Mesenchymal Transition. *Clinical Cancer Research*, 23(18), pp.5598–5610.
- 264) Papagerakis, S., Shabana, A., Depondt, J., Gehanno, P. and Forest, N. (2003). Immunohistochemical localization of plakophilins (PKP1, PKP2, PKP3, and p0071) in primary oropharyngeal tumors: correlation with clinical parameters. *Human Pathology*, 34(6), pp.565–572.
- 265) Papagerakis, S., Shabana, A.-H., Pollock, B.H., Papagerakis, P., Depondt, J. and Berdal, A. (2009). Altered desmoplakin expression at transcriptional and protein levels provides prognostic information in human oropharyngeal cancer. *Human Pathology*, 40(9), pp.1320–1329.
- 266) Papetti, M. and Herman, I.M. (2002). Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 282(5), pp.947–970.
- 267) Parfrey, L.W. and Lahr, D.J.G. (2013). Multicellularity arose several times in the evolution of eukaryotes (Response to DOI 10.1002/bies.201100187). *BioEssays*, 35(4), pp.339–347.
- 268) Paumard-Hernández, B., Calvete, O., Inglada Pérez, L., Tejero, H., Al-Shahrour, F., Pita, G., Barroso, A., Carlos Triviño, J., Urioste, M., Valverde, C., González Billalabeitia, E., Quiroga, V., Francisco Rodríguez Moreno, J., Fernández Aramburo, A., López, C., Maroto, P., Sastre, J., José Juan Fita, M., Duran, I., Lorenzo-Lorenzo, I., Iranzo, P., García del Muro, X., Ros, S., Zambrana, F., María Autran, A. and Benítez, J. (2018).

- Whole exome sequencing identifies PLEC, EXO5 and DNAH7 as novel susceptibility genes in testicular cancer. *International Journal of Cancer*, 143(8), pp.1954–1962.
- 269) Peglion, F. and Etienne-Manneville, S. (2013). p120catenin alteration in cancer and its role in tumour invasion. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1629), p.20130015.
- 270) Pennisi, E. (2018). The momentous transition to multicellular life may not have been so hard after all. *Science*.
- 271) Penny, D. (2004). Inferring Phylogenies-Joseph Felsenstein. 2003. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. *Systematic Biology*, 53(4), pp.669–670.
- 272) Perez-Jimenez, R., Inglés-Prieto, A., Zhao, Z.-M., Sanchez-Romero, I., Alegre-Cebollada, J., Kosuri, P., Garcia-Manyes, S., Kappock, T.J., Tanokura, M., Holmgren, A., Sanchez-Ruiz, J.M., Gaucher, E.A. and Fernandez, J.M. (2011). Single-molecule paleoenzymology probes the chemistry of resurrected enzymes. *Nature Structural & Molecular Biology*, 18(5), pp.592–596.
- 273) Perez-Moreno, M., Song, W., Pasolli, H.A., Williams, S.E. and Fuchs, E. (2008). Loss of p120 catenin and links to mitotic alterations, inflammation, and skin cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(40), pp.15399–15404.
- 274) Peroukides S, Bravou V, Varakis J, Alexopoulos A, Kalofonos H, Papadaki H. (1994). ILK overexpression in human hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis correlates with activation of Akt. *Oncology Report*, 2008(20), pp.1337–1344.
- 275) Peterson Stearns. B. and Stearns, S.C. (2000). Watching, from the edge of extinction. New Haven; London: Yale University Press.
- 276) Pfeiffer, T. and Bonhoeffer, S. (2003). An evolutionary scenario for the transition to undifferentiated multicellularity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(3), pp.1095–1098.
- 277) Pfeiffer, T., Schuster, S. and Bonhoeffer, S. (2001). Cooperation and Competition in the Evolution of ATP-Producing Pathways. *Science*, 292(5516), pp.504–507.
- 278) Pham, T.N.D., Perez White, B.E., Zhao, H., Mortazavi, F. and Tonetti, D.A. (2017). Protein kinase C α enhances migration of breast cancer cells through FOXC2-mediated repression of p120-catenin. *BMC Cancer*, 17(1), p.832.
- 279) Piao, H., Yuan, Y., Wang, M., Sun, Y., Liang, H. and Ma, L. (2014). α -catenin acts as a tumour suppressor in E-cadherin-negative basal-like breast cancer by inhibiting NF- κ B signalling. *Nature Cell Biology*, 16(3), pp.245–254.

- 280) Pirinen, R.T., Hirvikoski, P., Johansson, R.T., Hollmen, S. and Kosma, V.M. (2001). Reduced expression of alpha-catenin, beta-catenin, and gamma-catenin is associated with high cell proliferative activity and poor differentiation in non-small cell lung cancer. *Journal of Clinical Pathology*, 54(5), pp.391–395.
- 281) Pitari, G.M., Cotzia, P., Ali, M., Birbe, R., Rizzo, W., Bombonati, A., Palazzo, J., Solomides, C., Shuber, A.P., Sinicrope, F.A. and Zuzga, D.S. (2018). Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein Biomarkers Are Associated with Invasion and Metastasis in Colorectal Cancer. *Biomarkers in Cancer*, 10, p.1179299X1877455.
- 282) Pontiggia, O., Sampayo, R., Raffo, D., Motter, A., Xu, R., Bissell, M.J., de Kier Joffé, E.B. and Simian, M. (2011). The tumor microenvironment modulates tamoxifen resistance in breast cancer: a role for soluble stromal factors and fibronectin through β 1 integrin. *Breast Cancer Research and Treatment*, 133(2), pp.459–471.
- 283) Price, M.N., Dehal, P.S. and Arkin, A.P. (2010). FastTree 2 – Approximately Maximum-Likelihood Trees for Large Alignments. *PLoS ONE*, 5(3), p.9490.
- 284) Qian, H., Yuan, D., Bao, J., Liu, F., Zhang, W., Yang, X., Han, G., Huang, J., Sheng, H. and Yu, H. (2019). Increased expression of plakophilin 3 is associated with poor prognosis in ovarian cancer. *Medicine*, 98(10), p.14608.
- 285) Qu, Y., Hao, C., Xu, J., Cheng, Z., Wang, W. and Liu, H. (2017). ILK promotes cell proliferation in breast cancer cells by activating the PI3K/Akt pathway. *Molecular Medicine Reports*, 16(4), pp.5036–5042.
- 286) Raff, M.C. (1992). Social controls on cell survival and cell death. *Nature*, 356(6368), pp.397–400.
- 287) Raftopoulos, I., Davaris, P., Karatzas, G., Karayannacos, P. and Kouraklis, G. (1998). Level of alpha-catenin expression in colorectal cancer correlates with invasiveness, metastatic potential, and survival. *J Surg Oncol.* 68(2), pp.92–99.
- 288) Rainey, P.B. (2007). Unity from conflict. *Nature*, 446(7136), pp.616–616.
- 289) Rajagopalan, H., Nowak, M.A., Vogelstein, B. and Lengauer, C. (2003). The significance of unstable chromosomes in colorectal cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3(9), pp.695–701.
- 290) Rajagopalan, P., Nanjappa, V., Patel, K., Jain, A.P., Mangalparthi, K.K., Patil, A.H., Nair, B., Mathur, P.P., Keshava Prasad, T.S., Califano, J.A., Sidransky, D., Gowda, H. and Chatterjee, A. (2018). Role of protein kinase N2 (PKN2) in cigarette smoke-mediated oncogenic transformation of oral cells. *Journal of Cell Communication and*

Signaling, 12(4), pp.709–721.

- 291) Ramos-García, P., González-Moles, M.Á., Ayén, Á., González-Ruiz, L., Ruiz-Ávila, I. and Gil-Montoya, J.A. (2018a). Prognostic and clinicopathological significance of CTTN/cortactin alterations in head and neck squamous cell carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *Head & Neck*, 41(6), pp.1963–1978.
- 292) Ramos-García, P., González-Moles, M.Á., González-Ruiz, L., Ayén, Á., Ruiz-Ávila, I., Navarro-Triviño, F.J. and Gil-Montoya, J.A. (2018b). An update of knowledge on cortactin as a metastatic driver and potential therapeutic target in oral squamous cell carcinoma. *Oral Diseases*, 25(4), pp.949–971.
- 293) Rezniczek, G.A. (2003). Plectin 5'-transcript diversity: short alternative sequences determine stability of gene products, initiation of translation and subcellular localization of isoforms. *Human Molecular Genetics*, 12(23), pp.3181–3194.
- 294) Rezniczek, G.A., Konieczny, P., Nikolic, B., Reipert, S., Schneller, D., Abrahamsberg, C., Davies, K.E., Winder, S.J. and Wiche, G. (2007). Plectin 1f scaffolding at the sarcolemma of dystrophic (mdx) muscle fibers through multiple interactions with β -dystroglycan. *Journal of Cell Biology*, 176(7), pp.965–977.
- 295) Rikardsen, O.G., Magnussen, S.N., Svineng, G., Hadler-Olsen, E., Uhlin-Hansen, L. and Steigen, S.E. (2015). Plectin as a prognostic marker in non-metastatic oral squamous cell carcinoma. *BMC Oral Health*, 15(1), p.98.
- 296) Robert, J. (2010). Comparative study of tumorigenesis and tumor immunity in invertebrates and nonmammalian vertebrates. *Developmental & Comparative Immunology*, 34(9), pp.915–925.
- 297) Roberts, M. (1926). *Malignancy and Evolution*. London: Grayson and I Grayson Publishers.
- 298) Robinson, D.A., Falush, D. and Feil, E.J. (2010). *Bacterial population genetics in infectious disease*. Hoboken, N.J.: J. Wiley.
- 299) Rodrigo, J.P., Alvarez-Alija, G., Menendez, S.T., Mancebo, G., Allonca, E., Garcia-Carracedo, D., Fresno, M.F., Suarez, C. and Garcia-Pedrero, J.M. (2011). Cortactin and Focal Adhesion Kinase as Predictors of Cancer Risk in Patients with Laryngeal Premalignancy. *Cancer Prevention Research*, 4(8), pp.1333–1341.
- 300) Rubin, G.M. et al. (2000). Comparative Genomics of the Eukaryotes. *Science*, 287(5461), pp.2204–2215.
- 301) Ryan, J.F., Pang, K., Schnitzler, C.E., Nguyen, A.-D., Moreland, R.T., Simmons, D.K.,

- Koch, B.J., Francis, W.R., Havlak, P., Smith, S.A., Putnam, N.H., Haddock, S.H.D., Dunn, C.W., Wolfsberg, T.G., Mullikin, J.C., Martindale, M.Q. and Baxevanis, A.D. (2013). The Genome of the Ctenophore *Mnemiopsis leidyi* and Its Implications for Cell Type Evolution. *Science*, 342(6164), pp.1242592–1242592.
- 302) Rychel, A.L. and Swalla, B.J. (2008). Anterior regeneration in the hemichordate *Ptychodera flava*. *Developmental Dynamics*, 237(11), pp.3222–3232.
- 303) Saeki, N., Saito, A., Sugaya, Y., Amemiya, M., Ono, H., Komatsuzaki, R., Yanagihara, K. and Sasaki, H. (2018). Chromatin Immunoprecipitation and DNA Sequencing Identified a LIMS1/ILK Pathway Regulated by LMO1 in Neuroblastoma. *Cancer Genomics & Proteomics*, 15(3), pp. 165-174.
- 304) Saitou, N. and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), pp.406–425.
- 305) Salerno, E.P., Bedognetti, D., Mauldin, I.S., Deacon, D.H., Shea, S.M., Pinczewski, J., Obeid, J.M., Coukos, G., Wang, E., Gajewski, T.F., Marincola, F.M. and Slingluff, C.L. (2016). Human melanomas and ovarian cancers overexpressing mechanical barrier molecule genes lack immune signatures and have increased patient mortality risk. *OncoImmunology*, 5(12), p.e1240857.
- 306) Sammet, S.G., Bastolla, U. and Porto, M. (2010). Comparison of translation loads for standard and alternative genetic codes. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1), p.178.
- 307) Sarhadi, V.K., Lahti, L., Scheinin, I., Ellonen, P., Kettunen, E., Serra, M., Scotlandi, K., Picci, P. and Knuutila, S. (2014). Copy number alterations and neoplasia-specific mutations in MELK, PDCD1LG2, TLN1, and PAX5at 9p in different neoplasias. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 53(7), pp.579–588.
- 308) Schackmann, R.C.J., Tenhagen, M., van de Ven, R.A.H. and Derksen, P.W.B. (2013). p120-catenin in cancer - mechanisms, models and opportunities for intervention. *Journal of Cell Science*, 126(16), pp.3515–3525.
- 309) Schierwater, B., de Jong, D. and DeSalle, R. (2009). Placozoa and the evolution of Metazoa and intrasomatic cell differentiation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41(2), pp.370–379.
- 310) Schinzel, A., C. (2008). Oncogenic transformation and experimental models of human cancer. *Frontiers in Bioscience*, 13(13), p.71.
- 311) Schmitz, J.F., Zimmer, F. and Bornberg-Bauer, E. (2016). Mechanisms of transcription factor evolution in Metazoa. *Nucleic Acids Research*, 44(13), pp.6287–6297.

- 312) Shen, H.-L., Liu, Q.-J., Yang, P.-Q. and Tian, Y. (2014). Protein interactions of cortactin in relation to invadopodia formation in metastatic renal clear cell carcinoma. *Tumor Biology*, 36(5), pp.3417–3422.
- 313) Shinoura, N., Paradies, N., Warnick, R., Chen, H., Larson, J., Tew, J., Simon, M., Lynch, R., Kanai, Y., Hirohashi, S., Hemperly, J., Menon, A. and Brackenbury, R. (1995). Expression of N-cadherin and α -catenin in astrocytomas and glioblastomas. *British Journal of Cancer*, 72(3), pp.627–633.
- 314) Shirley, L.A., McCarty, S., Yang, M.-C., Saji, M., Zhang, X., Phay, J., Ringel, M.D. and Chen, C.-S. (2016). Integrin-linked kinase affects signaling pathways and migration in thyroid cancer cells and is a potential therapeutic target. *Surgery*, 159(1), pp.163–171.
- 315) Shostak, S. (2015). Symbiogeny and the Evolution of Tissues: The Hypothesis. *Biological Systems: Open Access*, 04(01).
- 316) Sieber, O.M., Heinimann, K. and Tomlinson, I.P.M. (2003). Genomic instability — the engine of tumorigenesis? *Nature Reviews Cancer*, 3(9), pp.701–708.
- 317) Singel, S.M., Cornelius, C., Batten, K., Fasciani, G., Wright, W.E., Lum, L. and Shay, J.W. (2013). A Targeted RNAi Screen of the Breast Cancer Genome Identifies KIF14 and TLN1 as Genes That Modulate Docetaxel Chemosensitivity in Triple-Negative Breast Cancer. *Clinical Cancer Research*, 19(8), pp.2061–2070.
- 318) Smith, A.C., Taylor, R.L., Chun-Akana, H. and Ramos, F. (1973). Intestinal tumor in the sea cucumber, *Holothuria leucospilata*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 22(2), pp.305–307.
- 319) Snow, H. (1893). *Cancers and the Cancer Process*. London: J & A Churchill Publishers.
- 320) Soltis, D.E. and Soltis, P.S. (2003). Applying the Bootstrap in Phylogeny Reconstruction. *Statistical Science*, 18(2), pp.256–267.
- 321) Song, C., Liang, L., Jin, Y., Li, Y., Liu, Y., Guo, L., Wu, C., Yun, C.-H. and Yin, Y. (2017). RCC2 is a novel p53 target in suppressing metastasis. *Oncogene*, 37(1), pp.8–17.
- 322) Sonnenberg, A. and Liem, R.K.H. (2007). Plakins in development and disease. *Experimental Cell Research*, 313(10), pp.2189–2203.
- 323) Sosa, M.S., Bragado, P. and Aguirre-Ghiso, J.A. (2014). Mechanisms of disseminated cancer cell dormancy: an awakening field. *Nature Reviews Cancer*, 14(9), pp.611–622.

- 324) Sparks, A.K. (1972). *Invertebrate pathology: noncommunicable diseases*. New York, NY: Academic Press.
- 325) Sparks, A.K. (1985). *Synopsis of invertebrate pathology: exclusive of insects*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; New York.
- 326) Sprouffske, K., Athena Aktipis, C., Radich, J.P., Carroll, M., Nedelcu, A.M. and Maley, C.C. (2012). An evolutionary explanation for the presence of cancer nonstem cells in neoplasms. *Evolutionary Applications*, 6(1), pp.92–101.
- 327) Srivastava, M., Khurana, P. and Sugadev, R. (2012). Lung Cancer Signature Biomarkers: tissue specific semantic similarity-based clustering of Digital Differential Display (DDD) data. *BMC Research Notes*, 5(1), p.617.
- 328) Stephens, P.J., Greenman, C.D., Fu, B., Yang, F., Bignell, G.R., Mudie, L.J., Pleasance, E.D., Lau, K.W., Beare, D., Stebbings, L.A., McLaren, S., Lin, M.-L., McBride, D.J., Varela, I., Nik-Zainal, S., Leroy, C., Jia, M., Menzies, A., Butler, A.P., Teague, J.W., Quail, M.A., Burton, J., Swerdlow, H., Carter, N.P., Morsberger, L.A., Iacobuzio-Donahue, C., Follows, G.A., Green, A.R., Flanagan, A.M., Stratton, M.R., Futreal, P.A. and Campbell, P.J. (2011). Massive Genomic Rearrangement Acquired in a Single Catastrophic Event during Cancer Development. *Cell*, 144(1), pp.27–40.
- 329) Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G. and Costerton, J.W. (2002). Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annual Review of Microbiology*, 56(1), pp.187–209.
- 330) Strasser, A., O'Connor, L. and Dixit, V.M. (2000). Apoptosis Signaling. *Annual Review of Biochemistry*, 69(1), pp.217–245.
- 331) Stratton, M.R., Campbell, P.J. and Futreal, P.A. (2009). The cancer genome. *Nature*, 458(7239), pp.719–724.
- 332) Su HY, Lin ZY, Peng WC, et al. MiR-448 downregulates CTTN to inhibit cell proliferation and promote apoptosis in glioma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 22(12), pp.3847–3854.
- 333) Suiter, A.M., Banziger, O. and Dean, A.M. (2003). Fitness consequences of a regulatory polymorphism in a seasonal environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(22), pp.12782–12786.
- 334) Sullivan, J. and Joyce, P. (2005). Model Selection in Phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36(1), pp.445–466.
- 335) Sulston, J.E. and Horvitz, H.R. (1977). Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology*, 56(1), pp.110–156.

- 336) Syrigos, K., Karayiannakis, A., Syrigou, E., Harrington, K. and Pignatelli, M. (1998). Abnormal expression of p120 correlates with poor survival in patients with bladder cancer. *European Journal of Cancer*, 34(13), pp.2037–2040.
- 337) Takahashi, H., Nakatsuji, H., Takahashi, M., Avirmed, S., Fukawa, T., Takemura, M., Fukumori, T. and Kanayama, H. (2012). Up-regulation of Plakophilin-2 and Down-regulation of Plakophilin-3 are Correlated with Invasiveness in Bladder Cancer. *Urology*, 79(1), pp.240.e1-240.e8.
- 338) Tamura, K. and Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), pp. 512-526.
- 339) Tang, B., Tang, F., Wang, Z., Qi, G., Liang, X., Li, B., Yuan, S., Liu, J., Yu, S. and He, S. (2016). Overexpression of CTNND1 in hepatocellular carcinoma promotes carcinous characters through activation of Wnt/ β -catenin signaling. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 35(1), p.82.
- 340) Tang, H., Yao, L., Tao, X., Yu, Y., Chen, M., Zhang, R. and Xu, C. (2013). miR-9 functions as a tumor suppressor in ovarian serous carcinoma by targeting TLN1. *International Journal of Molecular Medicine*, 32(2), pp.381–388.
- 341) Tenailon, O., Denamur, E. and Matic, I. (2004). Evolutionary significance of stress-induced mutagenesis in bacteria. *Trends in Microbiology*, 12(6), pp.264–270.
- 342) The UniProt Consortium. (2018). UniProt: the universal protein knowledgebase. *Nucleic Acids Research*, 46(5), pp.2699.
- 343) Tian, Y., Xu, L., He, Y., Xu, X., Li, K., Ma, Y., Gao, Y., Wei, D. and Wei, L. (2018). Knockdown of RAC1 and VASP gene expression inhibits breast cancer cell migration. *Oncology Letters*, 16(2), pp.2151–2160.
- 344) Tokui, N., Yoneyama, M.S., Hatakeyama, S., Yamamoto, H., Koie, T., Saitoh, H., Yamaya, K., Funyu, T., Nanamura, T., Ohyama, C. and Tsuboi, S. (2014). Extravasation during bladder cancer metastasis requires cortactin-mediated invadopodia formation. *Molecular Medicine Reports*, 9(4), pp.1142–1146.
- 345) Tokuo, H., Bhawan, J. and Coluccio, L.M. (2018). Myosin X is required for efficient melanoblast migration and melanoma initiation and metastasis. *Scientific Reports*, 8(1).
- 346) Trigos, A.S., Pearson, R.B., Papenfuss, A.T. and Goode, D.L. (2017). Altered interactions between unicellular and multicellular genes drive hallmarks of transformation in a diverse range of solid tumors. *Proceedings of the National Academy*

- of Sciences*, 114(24), pp.6406–6411.
- 347) Trigos, A.S., Pearson, R.B., Papenfuss, A.T. and Goode, D.L. (2018). How the evolution of multicellularity set the stage for cancer. *British Journal of Cancer*, 118(2), pp.145–152.
- 348) Trigos, A.S., Pearson, R.B., Papenfuss, A.T. and Goode, D.L. (2019). Somatic mutations in early metazoan genes disrupt regulatory links between unicellular and multicellular genes in cancer. *eLife*, 8, e40947.
- 349) Tripodi, G. and Beth, K. (1976). Unusual cell structures in tumor-like formations of *Gracilaria* (Rhodophyta). *Archives of Microbiology*, 108(2), pp.167–174.
- 350) Tsekos, I. (1982). Tumour-like Growths Induced by Bacteria in the Thallus of a Red Alga, *Gigartina teedii* (Roth) Lamour. *Annals of Botany*, 49(1), pp.123–126.
- 351) Tsoumas, D., Nikou, S., Giannopoulou, E., Champeris-Tsaniras, S., Sirinian, C., Maroulis, I., Taraviras, S., Zolota, V., Kalofonos, H.P. and Bravou, V. (2018). ILK Expression in Colorectal Cancer Is Associated with EMT, Cancer Stem Cell Markers and Chemoresistance. *Cancer Genomics & Proteomics*, 15(2), pp. 127-141.
- 352) Twomey, C. and McCarthy, J.V. (2005). Pathways of apoptosis and importance in development. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 9(2), pp.345–359.
- 353) Uhlen, M., Zhang, C., Lee, S., Sjöstedt, E., Fagerberg, L., Bidkhori, G., Benfeitas, R., Arif, M., Liu, Z., Edfors, F., Sanli, K., von Feilitzen, K., Oksvold, P., Lundberg, E., Hober, S., Nilsson, P., Mattsson, J., Schwenk, J.M., Brunnström, H., Glimelius, B., Sjöblom, T., Edqvist, P.-H., Djureinovic, D., Micke, P., Lindskog, C., Mardinoglu, A. and Ponten, F. (2017). A pathology atlas of the human cancer transcriptome. *Science*, 357(6352), p.eaan2507. <http://www.proteinatlas.org>
- 354) Uzzell, T. and Corbin, K.W. (1971). Fitting Discrete Probability Distributions to Evolutionary Events. *Science*, 172(3988), pp.1089–1096.
- 355) Valastyan, S. and Weinberg, R.A. (2011). Tumor Metastasis: Molecular Insights and Evolving Paradigms. *Cell*, 147(2), pp.275–292.
- 356) Valladares-Ayerbes, M., Diaz-Prado, S., Reboredo, M., Medina, V., Lorenzo-Patino, M.J., Iglesias-Diaz, P., Haz, M., Pertega, S., Santamarina, I., Blanco, M., Quindos-Varela, M., Figueroa, A. and Anton-Aparicio, L.M. (2010). Evaluation of Plakophilin-3 mRNA as a Biomarker for Detection of Circulating Tumor Cells in Gastrointestinal Cancer Patients. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 19(6), pp.1432–1440.
- 357) van Heemst, D., den Reijer, P.M. and Westendorp, R.G.J. (2007). Ageing or cancer: A

- review. *European Journal of Cancer*, 43(15), pp.2144–2152.
- 358) Vander Heiden, M.G., Cantley, L.C. and Thompson, C.B. (2009). Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science*, 324(5930), pp.1029–1033.
- 359) Velázquez-Avila, M., Balandrán, J.C., Ramírez-Ramírez, D., Velázquez-Avila, M., Sandoval, A., Felipe-López, A., Nava, P., Alvarado-Moreno, J.A., Dozal, D., Prieto-Chávez, J.L., Schaks, M., Rottner, K., Dorantes-Acosta, E., López-Martínez, B., Schnoor, M. and Pelayo, R. (2018). High cortactin expression in B-cell acute lymphoblastic leukemia is associated with increased transendothelial migration and bone marrow relapse. *Leukemia*, 33(6), pp.1337–1348.
- 360) Villaronga, M.Á., Hermida-Prado, F., Granda-Díaz, R., Menéndez, S.T., Álvarez-Teijeiro, S., Quer, M., Vilaseca, I., Allonca, E., Garzón-Arango, M., Sanz-Moreno, V., Astudillo, A., Rodrigo, J.P. and García-Pedrero, J.M. (2018). Immunohistochemical Expression of Cortactin and Focal Adhesion Kinase Predicts Recurrence Risk and Laryngeal Cancer Risk Beyond Histologic Grading. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 27(7), pp.805–813.
- 361) Vincent, M. (2011). Cancer: A de-repression of a default survival program common to all cells? *BioEssays*, 34(1), pp.72–82.
- 362) Vodicka, P., Krskova, L., Odintsov, I., Krizova, L., Sedlackova, E., Schutzner, J. and Zamecnik, J. (2020). Expression of molecules of the Wnt pathway and of E-cadherin in the etiopathogenesis of human thymomas. *Oncology Letters*.19(3):2413-2421.
- 363) Vogt, G. (2011). Hidden Treasures in Stem Cells of Indeterminately Growing Bilaterian Invertebrates. *Stem Cell Reviews and Reports*, 8(2), pp.305–317.
- 364) Wakeley, J. (1993). Substitution rate variation among sites in hypervariable region 1 of human mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 37(6), pp.613-623.
- 365) Wang, H., Wu, M., Lu, Y., He, K., Cai, X., Yu, X., Lu, J. and Teng, L. (2019). LncRNA MIR4435-2HG targets desmoplakin and promotes growth and metastasis of gastric cancer by activating Wnt/ α -catenin signaling. *Aging*, 11(17), pp. 6657-6673.
- 366) Wang, J., Su, Y., Tian, Y., Ding, Y. and Wang, X. (2019a). Characterization of DNA hydroxymethylation profile in cervical cancer. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), pp.2706–2714.
- 367) Wang, L., Li, Y. and Chen, G. (2018). Network-based co-expression analysis for exploring the potential diagnostic biomarkers of metastatic melanoma. *PLOS ONE*,

- 13(1), p.e0190447.
- 368) Wang, Y., Liu, C., Luo, M., Zhang, Z., Gong, J., Li, J., You, L., Dong, L., Su, R., Lin, H., Ma, Y., Wang, F., Wang, Y., Chen, J., Zhang, J., Jia, H., Kong, Y. and Yu, J. (2015). Chemotherapy-Induced miRNA-29c/Catenin- δ Signaling Suppresses Metastasis in Gastric Cancer. *Cancer Research*, 75(7), pp.1332–1344.
- 369) Wang, Z., Zhu, Z., Lin, Z., Luo, Y., Liang, Z., Zhang, C., Chen, J. and Peng, P. (2019b). miR-429 suppresses cell proliferation, migration and invasion in nasopharyngeal carcinoma by downregulation of TLN1. *Cancer Cell International*, 19(1), p.115.
- 370) Watkins, R.J., Imruetaicharoenchoke, W., Read, M.L., Sharma, N., Poole, V.L., Gentilin, E., Bansal, S., Bosseboeuf, E., Fletcher, R., Nieto, H.R., Mallick, U., Hackshaw, A., Mehanna, H., Boelaert, K., Smith, V.E. and McCabe, C.J. (2016). Pro-invasive Effect of Proto-oncogene PBF Is Modulated by an Interaction with Cortactin. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(12), pp.4551–4563.
- 371) Watnick, P. and Kolter, R. (2000). Biofilm, City of Microbes. *Journal of Bacteriology*, [online] 182(10), pp.2675–2679.
- 372) Webster, N.S. and Taylor, M.W. (2011). Marine sponges and their microbial symbionts: love and other relationships. *Environmental Microbiology*, 14(2), pp.335–346.
- 373) Wei, C.-Y., Zhu, M.-X., Yang, Y.-W., Zhang, P.-F., Yang, X., Peng, R., Gao, C., Lu, J.-C., Wang, L., Deng, X.-Y., Lu, N.-H., Qi, F.-Z. and Gu, J.-Y. (2019). Downregulation of RNF128 activates Wnt/ β -catenin signaling to induce cellular EMT and stemness via CD44 and CTTN ubiquitination in melanoma. *Journal of Hematology & Oncology*, 12(1), p.21.
- 374) Weinberg, R.A. (1983). Oncogenes and the molecular biology of cancer. *The Journal of Cell Biology*, 97(6), pp.1661–1662.
- 375) Weinberg, R.A. (2007). *The Biology of Cancer*. Garland Science.
- 376) Weren, R.D.A., van der Post, R.S., Vogelaar, I.P., van Krieken, J.H., Spruijt, L., Lubinski, J., Jakubowska, A., Teodorczyk, U., Aalfs, C.M., van Hest, L.P., Oliveira, C., Kamping, E.J., Schackert, H.K., Ranzani, G.N., Gómez García, E.B., Hes, F.J., Holinski-Feder, E., Genuardi, M., Ausems, M.G.E.M., Sijmons, R.H., Wagner, A., van der Kolk, L.E., Cats, A., Bjørnevoll, I., Hoogerbrugge, N. and Ligtenberg, M.J.L. (2018). Role of germline aberrations affecting CTNNA1, MAP3K6 and MYD88 in gastric cancer susceptibility. *Journal of Medical Genetics*, 55(10), pp.669–674.

- 377) Wesp, A., Hicke, L., Palecek, J., Lombardi, R., Aust, T., Munn, A.L. and Riezman, H. (1997). End4p/Sla2p Interacts with Actin-associated Proteins for Endocytosis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Biology of the Cell*, 8(11), pp.2291–2306.
- 378) Whelan, S. and Goldman, N. (2001). A General Empirical Model of Protein Evolution Derived from Multiple Protein Families Using a Maximum-Likelihood Approach. *Molecular Biology and Evolution*, 18(5), pp.691–699.
- 379) Williams, H.K., Sanders, D.S.A., Jankowski, J.A.Z., Landini, G. and Brown, A.M.S. (2007). Expression of cadherins and catenins in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 27(7), pp.308–317.
- 380) Williamson, R.C., Cowell, C.A.M., Hammond, C.L., Bergen, D.J.M., Roper, J.A., Feng, Y., Rendall, T.C.S., Race, P.R. and Bass, M.D. (2014). Coronin-1C and RCC2 guide mesenchymal migration by trafficking Rac1 and controlling GEF exposure. *Journal of Cell Science*, 127(19), pp.4292–4307.
- 381) Williamson, S. and Orive, M.E. (2002). The Genealogy of a Sequence Subject to Purifying Selection at Multiple Sites. *Molecular Biology and Evolution*, 19(8), pp.1376–1384.
- 382) Winter, L., Abrahamsberg, C. and Wiche, G. (2008). Plectin isoform 1b mediates mitochondrion–intermediate filament network linkage and controls organelle shape. *Journal of Cell Biology*, 181(6), pp.903–911.
- 383) Wu, A., Zhang, Q., Lambert, G., Khin, Z., Gatenby, R.A., Kim, H.J., Pourmand, N., Bussey, K., Davies, P.C.W., Sturm, J.C. and Austin, R.H. (2015). Ancient hot and cold genes and chemotherapy resistance emergence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(33), pp.10467–10472.
- 384) Wu, N., Ren, D., Li, S., Ma, W., Hu, S., Jin, Y. and Xiao, S. (2018). RCC2 over-expression in tumor cells alters apoptosis and drug sensitivity by regulating Rac1 activation. *BMC Cancer*, 18(1), p.67.
- 385) Wu, S., Du, X., Wu, M., Du, H., Shi, X. and Zhang, T. (2016). MicroRNA-409-3p inhibits osteosarcoma cell migration and invasion by targeting catenin- $\delta 1$. *Gene*, 584(1), pp.83–89.
- 386) Xie, H., Xu, H., Hou, Y., Cai, Y., Rong, Z., Song, W., Wang, W. and Li, K. (2019). Integrative prognostic subtype discovery in high-grade serous ovarian cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(11), pp.18659–18666.
- 387) Xing, A.-Y., Wang, Y.-W., Su, Z.-X., Shi, D.-B., Wang, B. and Gao, P. (2015). Catenin-

- $\delta 1$, negatively regulated by miR-145, promotes tumour aggressiveness in gastric cancer. *The Journal of Pathology*, 236(1), pp.53–64.
- 388) Xu, N., Chen, H.-J., Chen, S.-H., Xue, X.-Y., Chen, H., Zheng, Q.-S., Wei, Y., Li, X.-D., Huang, J.-B., Cai, H. and Sun, X.-L. (2016). Upregulation of Talin-1 expression associates with advanced pathological features and predicts lymph node metastases and biochemical recurrence of prostate cancer. *Medicine*, 95(29), p.e4326.
- 389) Yamada, K.D., Tomii, K. and Katoh, K. (2016). Application of the MAFFT sequence alignment program to large data—reexamination of the usefulness of chained guide trees. *Bioinformatics*, 32(21), pp.3246–3251.
- 390) Yan, Y., Xu, H., Zhang, L., Zhou, X., Qian, X., Zhou, J., Huang, Y., Ge, W. and Wang, W. (2019). β RRAD suppresses the Warburg effect by downregulating ACTG1 in hepatocellular carcinoma. *OncoTargets and Therapy*, Volume 12, pp.1691–1703.
- 391) Yanagisawa, M., Huveltdt, D., Kreinest, P., Lohse, C.M., Chevillat, J.C., Parker, A.S., Copland, J.A. and Anastasiadis, P.Z. (2008). A p120 Catenin Isoform Switch Affects Rho Activity, Induces Tumor Cell Invasion, and Predicts Metastatic Disease. *Journal of Biological Chemistry*, 283(26), pp.18344–18354.
- 392) Yang, C., Ströbel, P., Marx, A. and Hofmann, I. (2013). Plakophilin-associated RNA-binding proteins in prostate cancer and their implications in tumor progression and metastasis. *Virchows Archiv*, 463(3), pp.379–390.
- 393) Yang, C.-S., Melhuish, T.A., Spencer, A., Ni, L., Hao, Y., Jividen, K., Harris, T.E., Snow, C., Frierson, H.F., Wotton, D. and Paschal, B.M. (2017). The protein kinase C super-family member PKN is regulated by mTOR and influences differentiation during prostate cancer progression. *The Prostate*, 77(15), pp.1452–1467.
- 394) Yang, J., Bassuk, A.G., Merl-Pham, J., Hsu, C.-W., Colgan, D.F., Li, X., Au, K.S., Zhang, L., Smemo, S., Justus, S., Nagahama, Y., Grossbach, A.J., Howard, M.A., Kawasaki, H., Feldstein, N.A., Dobyns, W.B., Northrup, H., Hauck, S.M., Ueffing, M., Mahajan, V.B. and Tsang, S.H. (2016). Catenin delta-1 (CTNND1) phosphorylation controls the mesenchymal to epithelial transition in astrocytic tumors. *Human Molecular Genetics*, 25(19), pp.4201–4210.
- 395) Yang, J., Hou, Y., Zhou, M., Wen, S., Zhou, J., Xu, L., Tang, X., Du, Y., Hu, P. and Liu, M. (2016). Twist induces epithelial-mesenchymal transition and cell motility in breast cancer via ITGB1-FAK/ILK signaling axis and its associated downstream network. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 71, pp.62–71.

- 396) Yang, L., Chen, Y., Cui, T., Knösel, T., Zhang, Q., Albring, K.F., Huber, O. and Petersen, I. (2012). Desmoplakin acts as a tumor suppressor by inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling pathway in human lung cancer. *Carcinogenesis*, 33(10), pp.1863–1870.
- 397) Yang, Z. (1994). Estimating the pattern of nucleotide substitution. *Journal of Molecular Evolution*, 39(1), pp.105-111.
- 398) Yang, Z., Zhang, Y., Wang, X., Huang, J., Guo, W., Wei, P., Li, G., Wang, Z., Huang, Z. and Zhang, L. (2019). Putative biomarkers of malignant transformation of sinonasal inverted papilloma into squamous cell carcinoma. *Journal of International Medical Research*, 47(6), pp.2371–2380.
- 399) Yenjerla, M., Panopoulos, A., Reynaud, C., Fotedar, R. and Margolis, R.L. (2013). TD-60 is required for interphase cell cycle progression. *Cell Cycle*, 12(5), pp.837–841.
- 400) Yi, J.M., Kang, E.-J., Kwon, H.-M., Bae, J.-H., Kang, K., Ahuja, N. and Yang, K. (2017). Epigenetically altered miR-1247 functions as a tumor suppressor in pancreatic cancer. *Oncotarget*, 8(16), pp.26600-26612.
- 401) Yokoya, N.S. (2000). Apical callus formation and plant regeneration controlled by plant growth regulators on axenic culture of the red alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariales, Rhodophyta). *Phycological Research*, 48(3), pp.133–142.
- 402) Yona, A.H., Manor, Y.S., Herbst, R.H., Romano, G.H., Mitchell, A., Kupiec, M., Pilpel, Y. and Dahan, O. (2012). Chromosomal duplication is a transient evolutionary solution to stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(51), pp.21010–21015.
- 403) Young, G.D., Winokur, T.S., Cerfolio, R.J., Van Tine, B.A., Chow, L.T., Okoh, V. and Garver, R.I. (2002). Differential expression and biodistribution of cytokeratin 18 and desmoplakins in non-small cell lung carcinoma subtypes. *Lung Cancer*, 36(2), pp.133–141.
- 404) Yu, A. (2011). Vasodilator-stimulated phosphoprotein regulates osteosarcoma cell migration. *Oncology Reports*, 26(6), pp.1609–1615.
- 405) Yu, H., Zhang, S., Ibrahim, A.N., Wang, J., Deng, Z. and Wang, M. (2019). RCC2 promotes proliferation and radio-resistance in glioblastoma via activating transcription of DNMT1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 516(3), pp.999–1006.
- 406) Zhang, K., Yao, H., Yang, Z., Li, D., Yang, L., Zou, Q., Yuan, Y. and Miao, X. (2016). Comparison of ILK and ERP29 expressions in benign and malignant pancreatic lesions

- and their clinicopathological significances in pancreatic ductal adenocarcinomas. *Clinical and Translational Oncology*, 18(4), pp.352–359.
- 407) Zhang, S. and Qi, Q. (2014). MTSS1 suppresses cell migration and invasion by targeting CTTN in glioblastoma. *Journal of Neuro-Oncology*, 121(3), pp.425–431.
- 408) Zhang, X., Liu, K., Zhang, T., Wang, Z., Qin, X., Jing, X., Wu, H., Ji, X., He, Y. and Zhao, R. (2016). Cortactin promotes colorectal cancer cell proliferation by activating the EGFR-MAPK pathway. *Oncotarget*, 8(1), pp.1541-1554.
- 409) Zhang, X.D. and Hersey, P. (1999). Expression of catenins and p120cas in melanocytic nevi and cutaneous melanoma: deficient α -catenin expression is associated with melanoma progression. *Pathology*, 31(3), pp.239–246.
- 410) Zhao, T., Liang, X., Chen, J., Bao, Y., Wang, A., Gan, X., Lu, X. and Wang, L. (2019). ANGPTL3 inhibits renal cell carcinoma metastasis by inhibiting VASP phosphorylation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 516(3), pp.880–887.
- 411) Zhao, W., Hoadley, K.A., Parker, J.S. and Perou, C.M. (2016). Identification of mRNA isoform switching in breast cancer. *BMC Genomics*, 17(1), p.181.
- 412) Zhu, L., Cho, E., Zhao, G., Roh, M.R. and Zheng, Z. (2019). The Pathogenic Effect of Cortactin Tyrosine Phosphorylation in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *In Vivo*, 33(2), pp.393–400.
- 413) Zhuang, X., Lv, M., Zhong, Z., Zhang, L., Jiang, R. and Chen, J. (2016). Interplay between integrin-linked kinase and ribonuclease inhibitor affects growth and metastasis of bladder cancer through signaling ILK pathways. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 35(1), p.130.
- 414) Zink, D., Fischer, A.H. and Nickerson, J.A. (2004). Nuclear structure in cancer cells. *Nature Reviews Cancer*, 4(9), pp.677–687.
- 415) Zuckerkandl, E. and Pauling, L. (1965). Molecules as documents of evolutionary history. *Journal of Theoretical Biology*, 8(2), pp.357–366.
- 416) Μπάγκος, Π., (2015). Βιοπληροφορική. Αθήνα: Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών.
- 417) Νικολάου, Χ. και Χουβαρδάς, Π., (2015). Υπολογιστική βιολογία. Αθήνα: Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών.

ΣΥΝΟΛΟ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Διαωνυμική Ονομασία Είδους κατά Λινναίο (Species Name)	Κοινή Ονομασία Είδους (Common Name)	Όνομα Γονιδίου (Gene Name)	Κωδικός Αλληλουχίας του Γονιδίου στη RefSeq (NCBI Reference Sequence-Nucleotide)	Κωδικός Γονιδίου στη Gene (Gene ID)	Κωδικός Αλληλουχίας της Προτεΐνης στη RefSeq (NCBI Reference Sequence-Protein)
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	ACTA1	NC_000001.11	58	NP_001091.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	ACTA1	NC_036879.1	100609865	XP_016796083.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	ACTA1	NC_027893.1	100426612	XP_002802173.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	ACTA1	NC_013914.1	100395910	XP_002760614.2
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	ACTA1	NC_000074.6	11459	NP_033736.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	ACTA1	NC_005118.4	29437	NP_062085.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	ACTA1	NC_006586.3	488984	XP_005618896.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	ACTA1	NC_009144.3	100065454	NP_001304187.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	ACTA1	NC_010456.5	100154254	NP_001161267.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	ACTA1	NC_037355.1	281592	NP_776650.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	ACTA1	NW_017843615.1	101316902	XP_019797173.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	-	-	-	-
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφς	ACTA1	NC_008802.1	100022118	XP_003340224.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατύπους	ACTA1	NW_001617916.1	100088994	XP_001518527.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	ACTA1	NC_006090.5	421534	NP_001026234.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	ACTA1	NC_030733.1	432314	NP_001085220.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλιάκανθος	ACTA1	NW_005819042.1	102367545	XP_005988889.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	ACTA1	NC_007124.7	407658	NP_999949.2
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	ACTA1	-	-	-
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	ACTA1	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	ACTA1	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	ACTA1	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	ACTA1	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	ACTA1	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	ACTA1	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	ACTA1	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	ACTA2	NC_000010.11	59	NP_001604.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	ACTA2	NC_036889.1	466148	XP_001141780.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	ACTA2	NC_027901.1	100427024	NP_001245001.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	ACTA2	NC_013907.1	100396597	XP_002756423.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	ACTA2	NC_000085.6	11475	NP_031418.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	ACTA2	NC_005100.4	81633	NP_112266.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	ACTA2	NC_006608.3	477587	XP_534781.2
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	ACTA2	NC_009144.3	100062175	XP_001503085.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	ACTA2	NC_010456.5	733615	NP_001158122.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	ACTA2	NC_037353.1	515610	NP_001029674.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	ACTA2	NW_017842131.1	101325134	XP_004322052.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	ACTA2	NW_011888849.1	105293137	XP_023387226.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφς	ACTA2	NC_008801.1	100012397	XP_007507897.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατύπους	ACTA2	NW_001794015.1	100074413	XP_001506759.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	ACTA2	NC_006093.5	423787	NP_001026400.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	ACTA2	NC_030736.1	431847	NP_001084806.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλιάκανθος	ACTA2	NW_005821602.1	102349699	XP_006011165.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	ACTA2	NC_007123.7	322509	NP_997785.2
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	ACTA2	NW_006890056.1	103180779	NP_001279898.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	ACTA2	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	ACTA2	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	ACTA2	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	ACTA2	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	ACTA2	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	ACTA2	-	-	-

<i>Monosiga brevicollis</i>	-	ACTA2	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	ACTB	NC_000007.14	60	NP_001092.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	ACTB	NC_036886.1	450133	NP_001009945.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	ACTB	NC_027895.1	57428	NP_001028256.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	ACTB	NC_013897.1	100406296	XP_008981959.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	ACTB	NC_000071.6	11461	NP_031419.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	ACTB	NC_005111.4	81822	NP_112406.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	ACTB	NC_006588.3	403580	NP_001182774.2
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	ACTB	NC_009156.3	100033878	NP_001075307.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	ACTB	NC_010445.4	414396	XP_003124328.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	ACTB	NC_037352.1	280979	NP_776404.2
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	ACTB	NW_011888871.1	105294565	XP_011362131.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφους	ACTB	NC_008806.1	100011351	XP_001363482.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	ACTB	NC_009095.1	100078865	XP_001512727.3
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	ACTB	NC_006101.5	396526	NP_990849.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	ACTB	NC_030740.1	398459	NP_001082422.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	ACTB	NW_005819133.1	102362654	XP_005992382.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	ACTB1	NC_007112.7	57934	NP_571106.2
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	ACTB2	NC_007114.7	57935	NP_853632.3
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	ACTB	NW_006890207.1	103186865	NP_001279672.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	ACTB	-	-	AJG41731.1 (GenBank)
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	ACTB	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	ACTB	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	ACTB	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	ACTB	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	ACTB	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	ACTB	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	ACTC1	NC_000015.10	70	NP_005150.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	ACTC1	NC_036894.1	453307	XP_510285.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	ACTC1	NC_027899.1	697367	XP_014997295.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	ACTC1	NC_013905.1	100398865	XP_002753617.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	ACTC1	NC_000068.7	11464	NP_033738.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	ACTC1	NC_005102.4	29275	NP_062056.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	ACTC1	NC_006612.3	478250	XP_535424.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	ACTC1	NC_009144.3	100057678	XP_023476338.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	ACTC1	NC_010443.5	100152267	NP_001163988.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	ACTC1	NC_037337.1	533219	NP_001029757.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	ACTC1	NW_017843193.1	101326100	XP_019790800.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	ACTC1	NW_011888800.1	105288607	XP_011353171.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφους	ACTC1	NC_008801.1	100026925	XP_001370562.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	ACTC1	NW_001603614.1	100083726	XP_001514291.3
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	ACTC1	NC_006092.5	423298	NP_001072949.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	ACTC1	NC_030738.1	379752	NP_001080060.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	ACTC1	NW_005820010.1	102352337	XP_006004123.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	ACTC1	NC_007128.7	58114	NP_571666.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	ACTC1	NW_006890062.1	103175184	NP_001279093.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	ACTC1	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	ACTC1	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	ACTC1	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	ACTC1	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	ACTC1	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	ACTC1	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	ACTC1	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	ACTG1	NC_000017.11	71	NP_001605.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	ACTG1	NC_036896.1	746570	NP_001128241.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	ACTG1	NC_027908.1	713687	XP_014976066.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	ACTG1	NC_013913.1	100406907	XP_017821891.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	ACTG1	NC_000077.6	11465	NP_033739.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	ACTG1	NC_005109.4	287876	NP_001120921.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	ACTG1	NC_006591.3	475923	NP_001003349.2
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	ACTG1	NC_009154.3	100050139	XP_023507564.1

<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	ACTG1	NC_010454.4	397653	XP_003357976.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	ACTG1	NC_037346	404122	NP_001028790.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	ACTG1	NW_017843536.1	101325526	XP_019796283.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	ACTG1	NW_011889008.1	105301152	XP_023394379.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφους	ACTG1	NC_008802.1	1000259224	XP_001370868.3
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	ACTG1	NW_001766466.1	100092493	XP_001515149.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	ACTG1	NC_006105.5	776816	NP_001295542.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	ACTG1	-	-	A2BDB0.1 (UniProtKB/Swiss-Prot)
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	ACTG1	NW_005819030.1	102366472	XP_014350129.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	ACTG1	-	-	-
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρία	ACTG1	NW_006890063.1	103175484	NP_001279247.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	ACTG1	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	ACTG1	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	ACTG1	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	ACTG1	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	ACTG1	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	ACTG1	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	ACTG1	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	ACTG2	NC_000002.12	72	NP_001606.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	ACTG2	NC_036880.1	739500	XP_001152416.2
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	ACTG2	NC_027905.1	707447	XP_014968149.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	ACTG2	NC_013909.1	100404219	XP_002757651.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	ACTG2	NC_000072.6	11468	NP_033740.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	ACTG2	NC_005103.4	25365	NP_037025.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	ACTG2	NC_006599.3	475792	XP_533002.2
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	ACTG2	NC_009158.3	100057561	XP_001487936.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	ACTG2	NC_010445.4	10052667	XP_020943030.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	ACTG2	NC_037338.1	281595	NP_001013610.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	ACTG2	NW_017843658.1	101319181	XP_019797672.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	ACTG2	NW_011888818.1	105290750	XP_011356440.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφους	ACTG2	NC_008801.1	100012779	XP_003339917.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	ACTG2	NW_001690448.1	100084990	XP_007658183.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	ACTG2	NC_006109.5	396084	NP_990503.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	ACTG2	-	-	-
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	ACTG2	NW_005820718.1	102362273	XP_006008197.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	ACTG2	-	-	-
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρία	ACTG2	-	-	-
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	ACTG2	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	ACTG2	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	ACTG2	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	ACTG2	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	ACTG2	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	ACTG2	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	ACTG2	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	Actin cytoplasmic-like	NW_004190398.2	100180835	XP_002128607.1
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	Actin muscle-type	NC_020173.2	100184134	XP_002127504.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	Muscle actin	NW_011997588.1	581500	XP_011661664.1
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	Actin-85C-like	NW_003546245.1	100634046	XP_019853827.1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	Actin	NC_001138.5	850504	NP_116614.1
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	Actin Act1	NC_003423.3	2540051	NP_595618.1
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	Actin	-	-	AAK27412.1 (GenBank)
<i>Microbacterium arborescens</i>	-	Actin cytoplasmic 2	-	-	WP_110883488.1

(Actinobacteria)					
<i>Chlamydia trachomatis</i> (Chlamydiae)	-	Actin	-	-	CQB88832.1 (GenBank)
<i>Leptolyngbya sp. PCC 7376</i> (Cyanobacteria)	-	Actin cytoplasmic 2	-	-	WP_083891087.1
<i>Kangiella spongicola</i> (Proteobacteria)	-	Actin cytoplasmic 2	-	-	WP_110201967.1
<i>Staphylococcus aureus</i> (Firmicutes)	-	Actin cytoplasmic 2	-	-	WP_113349726.1
<i>Candidatus Heimdallarchaeota archaeon</i> (Archaea)	-	Actin cytoplasmic 2	-	-	TET27505.1
<i>Candidatus Lokiarchaeota archaeon</i> (Archaea)	-	Actin cytoplasmic 2	-	-	TFG02323.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	ACTR1B	NC_000002.12	10120	NP_005726.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	ACTR1B	NC_000067.6	226977	NP_666219.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	ACTR1A	NC_030736.1	446316	NP_001086482.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	ACTR1	NC_007121.7	406681	NP_998537.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	CTNNA1	NC_000005.10	1495	NP_001894.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	CTNNA1	NC_036884.1	450165	XP_009448018.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	CTNNA1	NC_027898.1	574385	NP_001244297.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	CTNNA1	NC_013897.1	100407624	XP_008983877.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	CTNNA1	NC_000084.6	12385	NP_033948.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	CTNNA1	NC_005117.4	307505	NP_001007146.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	CTNNA1	NC_006593.3	474698	XP_003431682.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	CTNNA1	NC_009157.3	100072548	XP_023473379.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	CTNNA1	NC_010444.4	100523778	XP_003124036.3
<i>Bos taurus</i>	Βους	CTNNA1	NC_037334.1	526848	NP_001030443.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	CTNNA1	NW_017842421.1	101338281	XP_019780055.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	CTNNA1	NW_011889251.1	105306994	XP_011380632.2
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφως	CTNNA1	NC_008801.1	100020276	XP_001368302.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	CTNNA1	NW_001652951.1	100091564	XP_016081321.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	CTNNA1	NC_006100.5	416184	XP_414513.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	CTNNA1	NC_030729.1	399303	NP_001084100.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	CTNNA1	NW_005819971.1	102345773	XP_006003759.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	CTNNA1	NC_007135.7	30741	NP_571531.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	CTNNA1	NW_006890197.1	103186482	XP_007903738.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	CTNNA1	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	CTNNA1	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	CTNNA1	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	CTNNA1	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	CTNNA1	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	CTNNA1	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	CTNNA1	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	CTNNA2	NC_000002.12	1496	NP_004380.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	CTNNA2	NC_036880.1	459352	XP_016804352.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	CTNNA2	NC_027905.1	712135	NP_001253272.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	CTNNA2	NC_013909.1	100390556	XP_017819700.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	CTNNA2	NC_000072.6	12386	NP_033949.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	CTNNA2	NC_005103.4	297357	NP_001100068.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	CTNNA2	NC_006599.3	483088	XP_005630556.2
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	CTNNA2	NC_009158.3	100053393	XP_005599930.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	CTNNA2	NC_010445.4	100525337	XP_020943859.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	CTNNA2	NC_037338.1	527492	XP_005212837.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	CTNNA2	NW_017843658.1	101320518	XP_019797654.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	CTNNA2	NW_011888818.1	105290711	XP_011356375.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφως	CTNNA2	NC_008801.1	100019630	XP_001364412.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	CTNNA2	NW_001794181.1	100077885	XP_007665813.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	CTNNA2	NC_006091.5	396035	NP_990467.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	CTNNA2	NC_030724.1	444710	NP_001086281.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	CTNNA2	NW_005819447.1	102352769	XP_014345284.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	CTNNA2	NC_007112.7	567500	NP_001152844.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	CTNNA2	NW_006890112.1	103181503	XP_007896223.1

<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	CTNNA2	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	CTNNA2	NC_020168.2	100177963	XP_002131748.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	CTNNA2	NW_011993878.1	579114	XP_784341.2
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	CTNNA2	NW_003546253.1	105316409	XP_011409567.2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	CTNNA2	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	CTNNA2	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	CTNNA2	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	CTNNA3	NC_000010.11	29119	NP_037398.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	CTNNA3	NC_036889.1	746091	XP_024202533.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	CTNNA3	NC_027901.1	696040	XP_001088875.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	CTNNA3	NC_013907.1	100396596	XP_017818917.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	CTNNA3	NC_000076.6	216033	NP_808280.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	CTNNA3	NC_005119.4	361839	XP_008771166.2
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	CTNNA3	NC_006586.3	489008	XP_005618985.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	CTNNA3	NC_009144.3	100062915	XP_003363520.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	CTNNA3	NC_010456.5	100153974	XP_020930039.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	CTNNA3	NC_037355.1	780777	NP_001073106.4
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	CTNNA3	NW_017843244.1	101322709	XP_019791524.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	CTNNA3	NW_011889030.1	105301701	XP_023375881.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφους	CTNNA3	NC_008801.1	100010936	XP_016283964.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	CTNNA3	NC_009096.1	100080184	XP_016081470.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	CTNNA3	NC_006093.5	423648	NP_001186465.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	CTNNA3	-	-	-
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	CTNNA3	NW_005819914.1	102349035	XP_014348308.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	CTNNA3	-	-	-
<i>Callorhynchus milli</i>	Καργαριάς	CTNNA3	NW_006890056.1	103181072	XP_007895477.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	CTNNA3	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	CTNNA3	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	CTNNA3	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	CTNNA3	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	CTNNA3	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	CTNNA3	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	CTNNA3	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	CTNND1	NC_000011.10	1500	NP_001078927.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	CTNND1	NC_036890.1	743685	XP_001141713.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	CTNND1	NC_027906.1	704212	NP_001253445.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	CTNND1	NC_013906.1	100388734	XP_017833633.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	CTNND1	NC_000068.7	12388	NP_031641.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	CTNND1	NC_005102.4	311163	NP_001101210.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	CTNND1	NC_006600.3	483489	XP_005631252.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	CTNND1	NC_009155.3	100067065	XP_005598210.2
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	CTNND1	NC_010444.4	100519699	XP_005660946.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	CTNND1	NC_037342.1	515187	NP_001179331.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	CTNND1	NW_017844169.1	101332114	XP_019803417.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	CTNND1	NW_011889133.1	105304738	XP_023378374.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφους	CTNND1	NC_008805.1	100023012	XP_001367108.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	CTNND1	NW_001772294.1	100089625	XP_001518982.3
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	CTNND1	NC_006092.5	428852	XP_015142330.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	CTNND1	NC_030736.1	398490	NP_001082468.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	CTNND1	NW_005821551.1	102358731	XP_014353185.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	CTNND1	NC_007112.7	556726	XP_021332609.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καργαριάς	CTNND1	-	-	-
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	CTNND1	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	CTNND1	NC_020177.2	100178377	XP_002131658.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	CTNND1	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	CTNND1	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	CTNND1	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	CTNND1	-	-	-

<i>Monosiga brevicollis</i>	-	CTNND1	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	CTNND2	NC_000005.10	1501	NP_001323.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	CTNND2	NC_036884.1	461724	XP_009447074.2
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	CTNND2	NC_027898.1	716900	XP_014995228.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	CTNND2	NC_013897.1	100406541	XP_008990489.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	CTNND2	NC_000081.6	18163	NP_032755.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	CTNND2	NC_005101.4	114028	NP_001258431.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	CTNND2	NC_006616.3	488048	XP_545171.5
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	CTNND2	NC_009164.3	100070792	XP_023481609.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	CTNND2	NC_010458.4	100517978	XP_020932500.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	CTNND2	NC_037347.1	523661	XP_005221708.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	CTNND2	NW_017844355.1	101332694	XP_019806585.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	CTNND2	NW_011888875.1	105294783	XP_011362424.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφως	CTNND2	NC_008803.1	100013828	XP_001364190.2
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατύπους	CTNND2	NW_001682088.1	100089927	XP_007657914.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	CTNND2	NC_006089.5	420922	XP_015137745.2
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	CTNND2	NC_030734.1	108718510	XP_018122336.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	CTNND2	NW_005819462.1	102348499	XP_014345405.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	CTNND2	NC_007113.7	558069	XP_009296848.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	CTNND2	NW_006890066.1	103176257	XP_007887880.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	CTNND2	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	CTNND2	NC_020174.2	100181900	XP_018668730.2
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	CTNND2	NW_011996156.1	594353	XP_011683849.1
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	CTNND2	NW_003555959.1	105316198	XP_011409316.1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	CTNND2	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	CTNND2	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	CTNND2	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	CTTN	NC_000011.10	2017	NP_005222.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	CTTN	NC_036890.1	104001238	PN193234.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	CTTN	NC_027906.1	708291	NP_001253213.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	CTTN	NC_013906.1	100411333	XP_009006905.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	CTTN	NC_000073.6	13043	NP_031829.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	CTTN	NC_005100.4	60465	NP_068640.2
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	CTTN	NC_006600.3	610283	XP_851317.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	CTTN	NC_009155.3	100147634	XP_001917746.2
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	CTTN	NC_010444.4	100737993	XP_020938307.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	CTTN	NC_037356.1	506939	NP_001068755.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	CTTN	NW_017842782.1	101330308	XP_019784652.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	CTTN	NW_011889282.1	105307472	XP_023380614.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφως	CTTN	NW_001583490.1	100017081	XP_016282579.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατύπους	CTTN	NC_009096.1	100075800	XP_007657129.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	CTTN	NC_006092.5	396455	XP_015142248.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	CTTN	NC_030730.1	444298	NP_001085871.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	CTTN	NW_005819311.1	102364279	XP_014343977.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	CTTN	-	445561	NP_001004121.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	CTTN	NW_006890061.1	103175022	XP_007885936.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	CTTN	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	CTTN	NC_020167.2	100181253	XP_018673105.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	SRC8	NW_011972693.1	373471	NP_999782.1
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	CTTN	NW_003546253.1	100641834	XP_003383381.1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	CTTN	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	CTTN	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	CTTN Hypothetical protein	NW_001865054.1	5892881	XP_001747516.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	HCLS1	NC_000003.12	3059	NP_005326.3
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	HCLS1	NC_000082.6	15163	NP_032251.2
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	DSP	NC_000006.12	1832	NP_004406.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	DSP	NC_036885.1	462420	XP_018227.3
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	DSP	NC_027896.1	694860	XP_001085012.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	DSP	NC_013899.1	100397847	XP_002806728.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	DSP	NC_000079.6	109620	NP_076331.2

<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	DSP	NC_005116.4	306871	XP_225259.4
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	DSP	NC_006617.3	488207	XP_545329.3
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	DSP	NC_009163.3	100061514	XP_023480193.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	DSP	NC_010449.5	100156744	XP_003128216.2
<i>Bos taurus</i>	Βους	DSP	NC_037350.1	514360	NP_001179297.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	DSP	NW_017843875.1	101335328	XP_019800529.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	DSP	NW_011888910.1	105296755	XP_011365334.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφους	DSP	NC_008803.1	100027776	XP_001377978.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατύπους	DSP	NW_001794408.1	100083608	XP_001514169.2
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	DSP	NC_006089.5	420869	XP_418957.3
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	DSP	NC_030734.1	398354	XP_018123265.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	DSP	NW_005821087.1	102352179	XP_014352264.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	DSP	NC_007131.7	327364	XP_021324396.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρία	DSP	NW_006890161.1	103185081	XP_007901614.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	DSP	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	DSP	NC_020169.2	113474178	XP_026689896.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	DSP	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	DSP	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	DSP	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	DSP	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	DSP Hypothetical Protein	NW_001865055.1	5892930	XP_001747767.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	ILK	NC_000011.10	3611	NP_004508.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	ILK	NC_036890.1	748941	XP_001164277.2
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	ILK	NC_027906.1	709944	NP_001182642.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	ILK	NC_013906.1	100406751	XP_009005843.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	ILK	NC_000073.6	16202	NP_034692.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	ILK	NC_005100.4	170922	NP_596900.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	ILK	NC_006603.3	476836	XP_534040.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	ILK	NC_009150.3	100070066	XP_001504649.2
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	ILK	NC_010451.4	100623256	XP_003357179.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	ILK	NC_037342.1	540207	NP_001029865.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	ILK	NW_017844169.1	101324266	XP_019803489.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	ILK	NW_011889452.1	105309085	XP_011383468.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφους	ILK	NC_008804.1	100023322	XP_001363471.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατύπους	ILK	-	-	-
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	ILK	NC_006088.5	374018	NP_989525.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	ILK	NC_030727.1	446640	NP_001086805.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	ILK	NW_005821432.1	102365370	XP_014353003.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	ILK	NC_007121.7	393543	NP_956865.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρία	ILK	NW_006892920.1	103172827	XP_007883725.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	ILK	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	ILK	NW_004190785.1	100184368	XP_002119938.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	ILK	NW_011994812.1	581345	XP_786444.1
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	ILK	NW_003546419.1	100634569	XP_019853553.1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	ILK	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	ILK	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	ILK	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	TNNI3K	NC_000001.11	51086	NP_057062.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	TNNI3K	NC_000069.6	435766	NP_796040.3
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	TNNI3K	NC_030731.1	108715511	XP_018116222.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	TNNI3K	NC_007119.7	799621	NP_001191752.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	PKN1	NC_000019.10	5585	NP_002732.3
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	PKN1	NC_036898.1	455785	XP_512443.5
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	PKN1	NC_027911.1	718834	XP_014978623.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	PKN1	NC_013917.1	100401855	XP_008985662.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	PKN1	NC_000074.6	320795	NP_796236.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	PKN1	NC_005118.4	29355	NP_058871.2
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	PKN1	NC_006602.3	100856398	XP_003639827.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	PKN1	NC_009150.3	102148973	XP_023500974.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	PKN1	NC_010444.4	100515528	XP_005661290.2

<i>Bos taurus</i>	Βους	PKN1	NC_037334.1	509080	NP_001073715.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	PKN1	-	-	-
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	PKN1	NW_011889364.1	105308506	XP_011382798.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	PKN1	NC_008803.1	100026472	XP_016287634.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	PKN1	NW_001789729.1	100086875	XP_007663970.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	PKN1	-	-	-
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	PKN1	NC_030728.1	108711679	XP_018109123.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	PKN1	NW_005819292.1	102365139	XP_014343829.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	PKN1	NC_007112.7	560840	XP_689331.3
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	PKN1	NW_006890303.1	103189098	XP_007907580.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	PKN1	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	PKN1	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	PKN1	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	PKN1	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	PKN1	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	PKN1	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	PKN1	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	PKN2	NC_000001.11	5586	NP_006247.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	PKN2	NC_036879.1	456998	XP_001145367.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	PKN2	NC_027893.1	693505	XP_014999933.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	PKN2	NC_013902.1	100390164	XP_008999881.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	PKN2	NC_000069.6	109333	NP_848769.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	PKN2	NC_005101.4	207122	NP_001099225.2
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	PKN2	NC_006588.3	490174	XP_022276238.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	PKN2	NC_009148.3	100052266	XP_001495455.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	PKN2	NC_010446.5	100154766	XP_020945991.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	PKN2	NC_037320.1	519754	NP_001180171.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	PKN2	NW_017844458.1	101317335	XP_019775368.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	PKN2	NW_011888803.1	105289090	XP_011353897.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	PKN2	NC_008802.1	100027775	XP_007480431.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	PKN2	NC_009097.1	100075522	XP_016081990.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	PKN2	NC_006095.5	424519	XP_025009025.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	PKN2	NC_030731.1	108715668	XP_018116524.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	PKN2	NW_005819417.1	102346899	XP_014344940.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	PKN2	NC_007117.7	567134	NP_001277108.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	PKN2	NW_006890060.1	103174797	XP_007885539.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	PKN2	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	PKN2 (PKN)	NW_004191144.1	100175164	XP_026695539.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	PKN2 (PKN)	NW_011998032.1	582022	XP_011662085.1
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	PKN2	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	PKN2	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	PKN2	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	PKN2	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	PKN3	NC_000009.12	29941	NP_037487.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	PKN3	NC_036888.1	464773	XP_001159776.3
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	PKN3	NC_027907.1	717319	XP_014972161.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	PKN3	NC_013896.1	100409315	XP_002743404.2
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	PKN3	NC_000068.7	263803	NP_722500.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	PKN3	NC_005102.4	296619	NP_001041326.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	PKN3	NC_006591.3	491313	XP_005625334.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	PKN3	NC_009168.3	100066882	XP_023484825.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	PKN3	NC_010443.5	100519640	XP_020925385.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	PKN3	NC_037338.1	505353	NP_001192495.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	PKN3	-	-	-
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	PKN3	NW_011888876.1	105294806	XP_011362471.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	PKN3	NC_008801.1	100013311	XP_007475158.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	PKN3	NW_001622118.1	100075015	XP_007655453.2
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	PKN3	NC_006104.5	417209	XP_004945892.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	PKN3	NW_016694827.1	108704476	XP_018096534.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	PKN3	NW_005819126.1	102359212	XP_014341638.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	PKN3	-	-	-

<i>Callorhynchus milli</i>	Καργαρίας	PKN3	-	-	-
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	PKN3	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	PKN3	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	PKN3	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	PKN3	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	PKN3	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	PKN3	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	PKN3	-	-	-
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	PKC	-	-	AAM92835.1 (GenBank)
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	PKN-LIKE	NW_003546319.1	100633255	XP_019850973.1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	PKC	NC_001134.8	852169	NP_009445.2
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	PKC-LIKE	NC_003423.3	2539649	NP_595950.1
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	PKN Hypothetical protein	NW_001865040.1	5888371	XP_001743446.1
<i>Streptomyces seoulensis</i> (Actinobacteria)	-	PKN	-	-	WP_031183206.1
<i>Chlamydia ibidis</i> (Chlamydiae)	-	PKN	-	-	WP_020370757.1
<i>Chloracidobacterium thermophilum</i> (Cyanobacteria)	-	PKN	-	-	WP_082670984.1
<i>Escherichia coli</i> (Proteobacteria)	-	PKN	-	-	WP_136154427.1
<i>Paenibacillus donghaensis</i> (Firmicutes)	-	PKN	-	-	WP_087915067.1
<i>Spirosoma panaciterrae</i> (Bacteroidetes)	-	PKN	-	-	WP_083928270.1
<i>Methanoregula boonei</i> (Archaea)	-	PKN	-	-	WP_011991441.1
<i>Thermococcus thioeducens</i> (Archaea)	-	PKN	-	-	WP_055429806.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	SGK2	NC_000020.11	10110	NP_001186193.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	SGK2	NC_000068.7	27219	NP_038759.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	SGK2	NW_016694832.1	108704609	XP_018096728.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	SGK2	NC_007134.7	570956	NP_001107094.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	PKP1	NC_000001.11	5317	NP_000290.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	PKP1	NC_036879.1	457616	XP_003308733.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	PKP1	NC_027893.1	708177	XP_014975900.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	PKP1	NC_013914.1	100395425	XP_017822090.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	PKP1	NC_000067.6	18772	NP_062619.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	PKP1	NC_005112.4	304822	NP_001100651.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	PKP1	NC_006589.3	607140	NP_001274090.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	PKP1	NC_009173.3	100051894	XP_023488575.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	PKP1	NC_010452.4	100623590	XP_020920167.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	PKP1	NC_037343.1	281405	NP_776570.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	PKP1	NW_017844305.1	101316603	XP_019806536.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	PKP1	NW_011888912.1	105296901	XP_011365570.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	PKP1	NC_008802.1	100013844	XP_001368204.2
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατύπους	PKP1	NW_001794072.1	100077476	XP_001510271.2
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	PKP1	NC_006113.5	421158	XP_419240.3
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	PKP1	NC_030726.1	108708149	XP_018102029.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	PKP1	NW_005819268.1	102361088	XP_014343591.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	PKP1	NC_007117.7	797838	XP_001338299.2
<i>Callorhynchus milli</i>	Καργαρίας	PKP1	NW_006890086.1	103179099	XP_007892384.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	PKP1	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	PKP1	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	PKP1	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	PKP1	-	-	-

<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	PKP1	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	PKP1	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	PKP1	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	PKP2	NC_000012.12	5318	NP_004563.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	PKP2	NC_036891.1	465265	XP_016779152.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	PKP2	NC_027903.1	100429378	XP_015006904.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	PKP2	NC_013904.1	100389815	XP_002752424.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	PKP2	NC_000082.6	67451	NP_080439.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	PKP2	NC_005110.4	287925	NP_001093969.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	PKP2	NC_006609.3	486613	XP_543739.2
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	PKP2	NC_009149.3	100070065	XP_023499116.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	PKP2	NC_010447.5	100526169	XP_003126444.4
<i>Bos taurus</i>	Βους	PKP2	NC_037332.1	537784	NP_001077198.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	PKP2	NW_017842229.1	101315869	XP_019790925.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	PKP2	NW_011888863.1	105294097	XP_011361452.2
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	PKP2	NC_008808.1	100012832	XP_001363643.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατύπους	PKP2	NW_001775461.1	100089626	XP_001518983.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	PKP2	NC_006088.5	418130	XP_416362.5
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	PKP2	NC_030728.1	443776	NP_001085350.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλιάκανθος	PKP2	NW_005819985.1	102361364	XP_014348671.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	PKP2	NC_007115.7	568060	NP_001106904.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	PKP2	NW_006890092.1	103179890	XP_007893592.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	PKP2	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	PKP2	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	PKP2	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	PKP2	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	PKP2	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	PKP2	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	PKP2	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	PKP3	NC_000011.10	11187	NP_009114.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	PKP3	NC_036890.1	450921	XP_024202613.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	PKP3	NC_027906.1	720779	XP_002808101.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	PKP3	NC_013906.1	100412402	XP_002755747.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	PKP3	NC_000073.6	56460	NP_062736.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	PKP3	NC_005100.4	293619	NP_001099785.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	PKP3	NC_006600.3	483399	XP_005631764.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	PKP3	NC_009155.3	100147635	XP_023510616.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	PKP3	NC_010444.4	100626903	XP_013843104.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	PKP3	NC_037356.1	516247	NP_001070326.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	PKP3	-	-	-
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	PKP3	NW_011889186.1	105305927	XP_011379067.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	PKP3	-	-	-
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατύπους	PKP3	NW_001741150.1	103168023	XP_007660319.2
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	PKP3	NC_006092.5	422994	XP_015141740.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	PKP3	NC_030731.1	403375	NP_001084424.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλιάκανθος	PKP3	NW_005819304.1	102349827	XP_014343913.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	PKP3	NC_007136.7	368397	NP_001038745.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	PKP3	NW_006890183.1	103186016	XP_007903000.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	PKP3	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	PKP3	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	PKP3	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	PKP3	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	PKP3	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	PKP3	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	PKP3	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	PKP4	NC_000002.12	8502	NP_003619.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	PKP4	NC_036881.1	459676	XP_009441806.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	PKP4	NC_027904.1	698576	NP_001253379.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	PKP4	NC_013901.1	100405861	XP_017828955.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	PKP4	NC_000068.7	227937	NP_080637.1

<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	PKP4	NC_005102.4	295625	XP_003753773.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	PKP4	NC_006618.3	478759	XP_005640255.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	PKP4	NC_009161.3	100050975	XP_005601560.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	PKP4	NC_010457.5	100523287	XP_013839614.2
<i>Bos taurus</i>	Βους	PKP4	NC_037329.1	281406	NP_001178420.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	PKP4	NW_017844625.1	101339394	XP_019778126.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	PKP4	NW_011888783.1	101292139	XP_023384254.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	PKP4	NC_008804.1	100015189	XP_001366156.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	PKP4	NW_001794453.1	100077052	XP_007669333.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	PKP4	NC_006094.5	424328	NP_001006529.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	PKP4	NC_030740.1	398570	XP_018091285.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλιάκανθος	PKP4	NW_005819431.1	102346722	XP_005998016.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	PKP4	NC_007117.7	561566	XP_690071.3
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	PKP4	NW_006890067.1	103176400	XP_007888089.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	PKP4	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	PKP4	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	PKP4	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	PKP4	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	PKP4	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	PKP4	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	PKP4	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	PLEC	NC_000008.11	5339	NP_958782.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	PLEC	NC_036887.1	464454	XP_009454416.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	PLEC	NC_027900.1	699517	XP_001088212.2
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	PLEC	NC_013911.1	100405931	XP_017820802.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	PLEC	NC_000081.6	18810	NP_001157012.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	PLEC	NC_005106.4	64204	NP_071796.2
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	PLEC	NC_006595.3	482083	XP_539204.2
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	PLEC	NC_009152.3	100147640	XP_023504928.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	PLEC	NC_010446.5	110260403	XP_020946029.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	PLEC	NC_037341.1	786966	XP_024857674.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	PLEC	NW_017844304.1	101318066	XP_019806502.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	PLEC	NW_011889037	105301979	XP_011373188.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	PLEC	NC_008803.1	100014955	XP_007488773.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	PLEC	NW_001755598.1	100076841	XP_016082140.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	PLEC	NC_006089.5	112531804	XP_025003517.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	PLEC	NC_030735.1	108695482	XP_018079506.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλιάκανθος	PLEC	NW_005819678.1	102349027	XP_014346978.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	PLEC	NC_007127.7	100321011	XP_021322494.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	PLEC	NW_006890090.1	103179737	XP_007893324.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	PLEC	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	PLEC	NC_020169.2	100182850	XP_002131500.2
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	Plectin-like	NW_011983890.1	754118	XP_001177876.2
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	PLEC	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	SAC6(fimbrin)	NC_001136.10	851707	NP_010414.3
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	FIM1(fimbrin)	NC_003423.3	2539765	NP_596289.1
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	PLEC Hypothetical protein	NW_001865040.1	5888384	XP_001743442.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	MACF1	NC_000001.11	23499	NP_036222.3
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	MACF1	NC_000070.6	11426	NP_001186066.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	MACF1-LIKE	NC_030726.1	108708274	XP_018102290.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	MACF1A	NC_007130.7	562190	XP_017207777.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	RCC1	NC_000001.11	1104	NP_001260.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	RCC1	NC_036879.1	100568439	NP_001192134.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	RCC1	NC_027893.1	720265	XP_014988520.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	RCC1	NC_013902.1	100399095	NP_001192137.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	RCC1	NC_000070.6	100088	NP_598639.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	RCC1	NC_005104.4	682908	NP_001121661.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	RCC1	NC_006584.3	487332	NP_001192141.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	RCC1	NC_009145.3	100073733	NP_001192140.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	RCC1	NC_010448.4	100621543	XP_020951330.1

<i>Bos taurus</i>	Βους	RCC1	NC_037329.1	534142	NP_001098878.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	RCC1	NW_017843440.1	101331771	XP_019793872.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	RCC1	NW_011888817.1	105290534	XP_011356050.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	RCC1	NC_008804.1	100020625	NP_001192138.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	RCC1	NW_001774540.1	100093412	XP_007663051.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	RCC1	NC_006110.5	429810	XP_015153200.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	RCC1	NC_030727.1	443810	NP_001085384.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	RCC1	NW_005819094.1	102353867	XP_014341046.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	RCC1	NC_007127.7	406457	NP_998343.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	RCC1	NW_006890089.1	103179531	XP_007893058.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	RCC1	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	RCC1	NC_020172.2	100184736	NP_001192151.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	RCC1	NW_011992389.1	754700	XP_001186731.2
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	RCC1	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	RCC1	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	RCC1	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	RCC1	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	RCC2	NC_000001.11	55920	NP_061185.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	RCC2	NC_036879.1	456531	XP_016810515.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	RCC2	NC_027893.1	712305	XP_014979915.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	RCC2	NC_013902.1	100385352	XP_017829854.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	RCC2	NC_000070.6	108911	NP_776292.1
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	RCC2	NC_005104.4	298594	XP_008762546.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	RCC2	NC_006584.3	487412	XP_022270692.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	RCC2	NC_009145.3	100052965	XP_023491418.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	RCC2	NC_010448.4	100525466	XP_020951089.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	RCC2	NC_037329.1	509120	NP_001095381.2
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	RCC2	NW_017844438.1	101336938	XP_019774381.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	RCC2	NW_011888867.1	105294394	XP_011361898.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	RCC2	NC_008804.1	100028978	XP_001376745.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	RCC2	NC_009098.1	100074629	XP_001506220.2
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	RCC2	NC_006108.5	419361	XP_015152485.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	RCC2	NC_030736.1	734455	NP_001089405.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	RCC2	NW_005819314.1	102358325	XP_005996364.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	RCC2	NC_007134.7	406455	NP_998341.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	RCC2	NW_006890111.1	103181341	XP_007895944.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	RCC2	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	RCC2	NC_020166.2	100176196	XP_002126864.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	RCC2	NW_011967250.1	587000	XP_011681456.1
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	RCC2	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	RCC2	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	RCC2	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	RCC	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	RCC-like	NW_003546254.1	100641790	XP_003383542.1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	SRM1 (Ran exchange factor)	NC_001139.9	852782	NP_011418.1
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	PIM1 (Ran exchange factor)	NC_003423.3	2541059	NP_001342922.1
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	RCC Hypothetical protein	NW_001865062.1	5894033	XP_001748764.1
<i>Bifidobacterium asteroides</i> (Actinobacteria)	-	RCC1	-	-	WP_110412919.1
<i>Parachlamydia sp. C2</i> (Chlamydiae)	-	RCC1 Hypothetical protein	-	-	WP_079989422.1
<i>Synechococcus sp. WH 8103</i> (Cyanobacteria)	-	RCC1	-	-	CRY92505.1 (GenBank)

<i>Myxococcus xanthus</i> (Proteobacteria)	-	RCC1	-	-	WP_011551010.1
<i>Cohnella</i> sp. CAU 1483 (Firmicutes)	-	RCC1	-	-	WP_136777547.1
<i>Hymenobacter chitinivorans</i> (Bacteroidetes)	-	RCC1	-	-	WP_100335655.1
<i>Methanocella conradii</i> (Archaea)	-	RCC1	-	-	WP_014405347.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	HERC3	NC_000004.12	8916	NP_001305434.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	HERC3	NC_000072.6	73998	NP_082981.3
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	HERC3	NC_030724.1	444030	NP_001085604.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	HERC3	NC_007112.7	100003587	NP_001139096.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	TLN1	NC_000009.12	7094	NP_006280.3
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	TLN1	NC_036888.1	465082	XP_016816321.2
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	TLN1	NC_027907.1	696298	XP_014972952.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	TLN1	NC_013896.1	100408584	XP_003732055.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	TLN1	NC_000070.6	21894	NP_035732.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	TLN1	NC_005104.4	313494	NP_001034114.2
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	TLN1	NC_006593.3	100856393	XP_003639438.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	TLN1	NC_009168.3	100055501	XP_023485419.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	TLN1	NC_010443.5	100157220	XP_020921347.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	TLN1	NC_037335.1	783470	NP_001192357.3
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	TLN1	NW_017844198.1	101330091	XP_019804386.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	TLN1	NW_011889217.1	105306467	XP_011379809.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	TLN1	NC_008806.1	100028083	XP_003341683.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	TLN1	NW_001781517.1	100093518	XP_007663491.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	TLN1	NC_006127.5	395194	NP_989854.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	TLN1	NC_030724.1	733283	XP_018080494.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	TLN1	NW_005820090.1	102361992	XP_014349194.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	TLN1	NC_007121.7	494453	NP_001009560.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρία	TLN1	NW_006890105.1	103180996	XP_007895362.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	TLN1	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	TLN1	-	-	-
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	TLN1	NW_011988468.1	580010	XP_011673609.1
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	TLN1	NW_003546273.1	100641624	XP_019849140.1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	TLN1	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	TLN1	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	TLN1	-	-	-
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	TLN2	NC_000015.10	83660	NP_055874.2
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	TLN2	NC_036894.1	453494	XP_024205002.1
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	TLN2	NC_027899.1	705008	XP_014997892.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμोजέτα	TLN2	NC_013905.1	100392824	XP_009003244.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	TLN2	NC_000075.6	70549	NP_001074711.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	TLN2	NC_005107.4	315776	XP_008774983.1
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	TLN2	NC_006612.3	478331	XP_005638534.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	TLN2	NC_009144.3	100054133	XP_023472071.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	TLN2	NC_010443.5	100156660	XP_020949970.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	TLN2	NC_037337.1	528252	XP_024853769.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	TLN2	NW_017842395.1	101332982	XP_019803231.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	TLN2	NW_011888866.1	105294314	XP_023388347.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	TLN2	NC_008801.1	100016699	XP_001365719.1
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	TLN2	NC_009098.1	100080260	XP_007663487.1
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	TLN2	NC_006097.5	415374	XP_003641925.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	TLN2	NC_030728.1	108711290	XP_018108371.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλάκανθος	TLN2	NW_005819026.1	102363984	XP_014348098.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	TLN2	NC_007118.7	556842	NP_957487.2
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρία	TLN2	NW_006890058.1	103187905	XP_007905815.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπρανα	TLN2	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	TLN2	NC_020168.2	100176155	XP_018673452.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	TLN2	-	-	-
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	TLN2	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	TLN2	-	-	-

<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	TLN2	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	TLN2	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	SLA2P	NC_001146.8	855478	NP_014156.2
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	END4	NC_003424.3	2543336	NP_594069.2
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	TLN Hypothetical protein	NW_001865041.1	5889055	XP_001743668.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	HIP1R	NC_000012.12	9026	NP_003950.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	HIP1R	NC_000071.6	29816	NP_659507.3
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	HIP1R	NC_030677.1	100144673	NP_001116907.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	HIP1R	NC_007116.7	562138	NP_001077034.2
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	VASP	NC_000019.10	7408	NP_003361.1
<i>Pan troglodytes</i>	Χιμπατζής	VASP	NC_036898.1	107969760	XP_016791708.2
<i>Macaca mulatta</i>	Μακάκος	VASP	NC_027911.1	716022	XP_014979768.1
<i>Callithrix jacchus</i>	Μαρμιοζέτα	VASP	NC_013903.1	100407817	XP_017830879.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	VASP	NC_000073.6	22323	NP_033525.2
<i>Rattus norvegicus</i>	Αρουραίος	VASP	NC_005100.4	361517	NP_001101945.2
<i>Canis lupus familiaris</i>	Σκύλος	VASP	NC_006583.3	403936	NP_001003256.1
<i>Equus caballus</i>	Ίππος	VASP	NC_009153.3	100070851	XP_023505683.1
<i>Sus scrofa</i>	Χοίρος	VASP	NC_010448.4	110261011	XP_020950220.1
<i>Bos taurus</i>	Βους	VASP	NC_037345.1	514902	NP_001033199.1
<i>Tursiops truncatus</i>	Δελφίνι	VASP	NW_017843191.1	101321688	XP_019790544.1
<i>Pteropus vampyrus</i>	Νυχτερίδα	VASP	NW_011888919.1	105297337	XP_011366245.1
<i>Monodelphis domestica</i>	Δίδελφος	VASP	NC_008804.1	103099139	XP_007492206.2
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	Πλατόπους	VASP	NW_001772798.1	100092830	XP_007662919.2
<i>Gallus gallus</i>	Όρνιθα	VASP	NC_006119.4	107057642	XP_025000280.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	VASP	NC_030738.1	443914	NP_001085488.1
<i>Latimeria chalumnae</i>	Κοιλιάκανθος	VASP	NW_005819112.1	102351560	XP_005991651.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	VASP	NC_007129.7	550487	XP_005173737.1
<i>Callorhynchus milli</i>	Καρχαρίας	ENAH/VASP-LIKE	NW_006890062.1	103175330	XP_007886518.1
<i>Petromyzon marinus</i>	Λάμπραινα	VASP	-	-	-
<i>Ciona intestinalis</i>	Φούσκα	ENAH-LIKE	NC_020176.2	101243497	XP_009860149.1
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	Αχινός	ENAH-LIKE	NW_011992578.1	576114	XP_011677536.1
<i>Amphimedon queenslandica</i>	Σπόγγος	VASP	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	VASP	-	-	-
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	-	VASP	-	-	-
<i>Monosiga brevicollis</i>	-	VASP-LIKE Hypothetical protein	NW_001865040.1	5888270	XP_001743073.1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	EVL	NC_000014.9	51466	NP_001317150.1
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	EVL	NC_000078.6	14026	NP_001156866.1
<i>Xenopus laevis</i>	Βάτραχος	EVL	NC_030739.1	779377	NP_001090464.1
<i>Danio rerio</i>	Ψάρι Ζέβρα	EVL-like	NC_007128.7	58003	NP_955813.3