

PT53- ja LIF6- proteiinit syövänestäjinä norsuilla

Hanna Vesikukka

LuK- tutkielma

Biologian tutkinto- ohjelma, genetiikka

Oulun Yliopisto

1/ 2019

Sisällysluettelo

1. Johdanto	1
2. Syöpä ja syövän synty	2
2.1 Syöpä	2
2.2 Syövän synty	3
2.2.1 Karsinogeenit	3
2.2.2 Mutaatiot	4
3. Peto: n paradoksi	5
4. PT53- geeni	8
5. PT53- proteiini	10
5.1 PT53- proteiinin toiminta	12
6. LIF- geenit	13
6.1 LIF- interleukiinit	14
7. LIF6- geeni syövänestäjänä norsuilla	15
8. Yhteenveto	16
9. Lähdeviitteet	17

1. Johdanto

Varques J. L. M. ym. (2018) mukaan Afrikan savanninorsujen (*Loxodonta africana*) ja muiden suurikokoisten nisäkkäiden on huomattu sairastuvan harvoin syöpään. Siitä huolimatta, että suuri kokoisessa eliössä on enemmän soluja kuin pienessä, ja että norsut voivat elää jopa 70- vuotta, vankeudessa eläneiden norsujen on laskettu kuolevan syöpään noin 5% todennäköisyydellä.

Suuren koon ja/tai pitkän eliniän sekä syövän todennäköisyyden negatiivista korrelaatiota kutsutaan Peto: n paradoksiksi. Paradoksin syytä on tutkittu esimerkiksi pitkäikäisillä, pienillä nisäkkäillä, kaljuroilla, joiden eliniän odote on kokoon nähden todella suuri, jopa 30 vuotta (Rodriguez, ym. 2014). Tämän lisäksi Peto: n paradoksia on tutkittu myös maailman suurimmilla elävillä maanisäkkäillä Afrikan savanninorsuilla (*Loxodonta africana*), sekä niiden ainoilla elävillä sukulaisilla Aasiannorsuilla (*Elephas maximus*) ja metsänorsuilla (*Loxodonta cyclotis*). Suurten maaeläinten syöpäriskiä on tutkittu myös suurien kasvinsyöjädinosauroksien fossiileista, joista eniten on tutkittu *Hadrosaurus*- suvun eri lajeja. *Paenungulata*- heimoon kuuluvien norsujen (*Proboscidea*) ryhmän lähimmät elossa olevat sukulaislajit kuten sireenieläimet (*Sirenia*) ja tamaanit (*Hyracoidea*) ovat myös olleet tutkimuksen kohteena. Geeneihin kohdistuneiden tutkimusten avulla on saatu selville nisäkkäiden syövän estomekanismeja ja tarkempia vastauksia Peto: n paradoksiin.

Tutkimuksissa on havaittu, että *PT53*- geenin tuottamalla *PT53*- proteiinilla on suuri vaikutus syövän synnyn estäjänä. Ihmisillä syntyneistä syöivistä noin 50%, ja hankalasti hoidettavista syöivistä >80% johtuvat *PT53*- geenin mutaatiosta ja viallisesta *PT53*- proteiinin tuotosta. *PT53*- geeni on syövän estäjänä niin tärkeä, että sen puuttuminen johtaa jo hyvin nuorena iässä syöpään sairastumiseen. *PT53*- proteiini toimii transkriptioaktivaattorina solun elinkierron eri tarkistuspisteissä, ja DNA- vaurion seurauksena se aktivoi geenejä, joiden avulla solun jakautuminen pysähtyy, DNA- vauriot korjataan tai solu ohjataan hallittuun solukuolemaan, eli apoptoosiin. (Duffy ym., 2014).

PT53- geenin lisäksi tärkeitä syövän estogeenejä ovat *LIF*- geenit. Ne ovat norsujen kohdalla Peto: n paradoksin selittäjänä merkittävä tekijä. *LIF*- genejä on jokaisella nisäkkäällä yleensä yksi, mutta norsuilla ja niiden sukulaislajeilla geenistä on löydetty useita kopioita. *LIF*- geenistä tuotetaan immuunitoiminnan kannalta tärkeitä Leukemia Inhibitor Factor, eli *LIF*- interleukiineja, jotka toimivat immuunipuolustuksessa muun muassa valkosolujen kommunikoinnin, sekä solujen kasvun ja erilaistumisen auttajana. Norsuilla yksi näistä evoluution aikana, duplikaatiomutaation seurauksena, syntyneistä *LIF*- pseudogeneista on aktivoitunut. Tämä

LIF6- geeni koodaa LIF6- proteiinia, joka toimii norsuilla aggressiivisena syövänestäjänä. (Vazquez ym., 2018).

2. Syöpä ja syövän synty

2.1 Syöpä

Syöpä (lat. *Cancer*) on kaikkien pahanlaatuisten polygeenisten kasvainsairauksien yleisnimitys. Se on monisoluisten, useimmiten selkärankaisten eliöiden geneettinen sairaus, jossa normaalista solusta mutatoituu solunjakautumisen aikana epänormaali ja pahanlaatuinen syöpäsolu. Syöpäsolu muodostuu, kun solunjakautumisen aikana DNA:n kopioinnissa tapahtuu virhe. Muodostunut syöpäsolu jakautuu hallitsemattomasti ja nopeasti muodostaen uusia syöpäsoluja. (Khan & Pelengaris, 2013).

Syöpäsoluille ominaisia tunnuspiirteitä on niiden kyky lisääntyä jakautumalla solunjakautumisen aloittavista mitogeeneistä riippumatta. Ominaista on myös vastareagointi solun kasvua hillitseville tekijöille, kasvuinhibiittoreille. Syöpäsolulle on ominaista myös se, että ne ovat vastustuskykyisiä hallitulle solukuolemalle, eli apoptoosille. Muita tunnusomaisia piirteitä ovat rajaton kasvupotentiaali, sekä kyky hyökätä viereisiin soluihin ja tunkeutua erilaisiin kudoksiin. Syöpäsoluille tunnusomaista on myös kehon immuunijärjestelmän häirintä niin, että syöpäsolujen tuhoamien hankaloituu. Ne kykenevät myös lisäämään energian, eli ATP:n tuotantoa nopeuttamalla glykolyysiä. Tätä syöpäsolujen kykyä nopeuttaa glukoosimetaboliaa kutsutaan Warburgin efektiksi. (Locasale & Liberti, 2016; Khan & Pelengaris, 2013).

Kasvaimeksi kutsutaan hallitsemattomasti jakautuvista syöpäsoluista muodostunutta solurykelmää, jolla on syöpäsoluille tunnusomainen kyky angiogeneesiin, eli kykyyn kasvattaa ympärilleen aineenvaihdunnasta huolehtivia verisuonia (Warburg, 1956; Khan & Pelengaris 2013). Kasvaimen kykyä rekrytoida näennäisesti normaaleja soluja, edistämään kasvaimelle omaa mikroympäristöä, pidetään myös syövälle tunnusomaisena piirteenä (Hanahan & Weinberg, 2011) .

Syöpätyyppinä poikkeava on leukemia, luuytimessä esiintyvä syöpä, jossa valkosolujen esiasteet muuttuvat pahanlaatuisiksi yksittäisiksi syöpäsoluiksi. Leukemia ei esiinny silmin nähtävinä solurykelminä, vaan se todetaan verikokeilla ja luuydinnäytteellä (Duodecim & Mustajoki, 2015).

Pahanlaatuiset syöpäsolut pystyvät irrottautumaan pääkasvaimesta ja leviämään verenkierron tai imusuoniston avulla muualle elimistöön, muodostaen sinne etäpesäkkeitä, eli metastaaseja. Metastaasit ovat samanlaista syöpäsolutyyppeä kuin pääkasvain, josta ne irrottautuvat. Syöpäsolu muodostaa ensin pienen syöpäsolumuodostelman, mikrometastaasin,

josta kehkeytyy makrometastaasi eli kasvain. Viimeisintä vaihetta kutsutaan kolonisaatioksi. (Hanahan & Weinberg, 2011).

2.2. Syövän synty

Joka kerta solun jakautumisessa solun on kopioitava monta miljoona emäsparia DNA:ta. Tässä vaiheessa syntyy väistämättä mutaatioita, joita kutsutaan somaattisiksi mutaatioiksi. Jokaisen solun jakautumisen yhteydessä on mahdollista, että syöpää aiheuttava somaattinen mutaatio tapahtuu geenireitissä, joka säätelee solun kasvua, DNA:n korjausta, solukuolemaa eli apoptoosia, uusien verisolujen kasvua ja kehitystä, telomeerien lyhenemistä tai karsinogeenien normaalia etsimistä ja estämistä. Mutaatio estää geenin toimimasta, tekemällä sen joko kokonaan toimimattomaksi tai saamalla sen tuottamaan viallisia proteiineja. Geenimutaatio voi aiheuttaa myös sen, että geenin säätely ei toimi, jolloin geenin tuotetta syntyy liikaa ja syöpä saa alkunsa siitä. (Hanahan & Weinberg, 2011).

2.2.1. Karsinogeenit

Blackadar (2016) mukaan elävälle solulle syöpää aiheuttavia ulkoisia tekijöitä kutsutaan karsinogeneiksi. Karsinogeenit voivat olla mitä tahansa keinotekoisia tai orgaanisia aineita, radionuklideja tai säteilyä, jotka saavat aikaan muutoksia solun DNA:ssa, eli aiheuttavat karsinogeneesiä. Esimerkiksi radioaktiivinen- ja ultraviolettisäteily, raskasmetallit, jotkin lääkkeet ja ruokien lisäaineet aiheuttavat syöpää. Orgaanisia karsinogenejä ovat muun muassa tupakka, prosessoitu liha, puupöly ja hormonit. Karsinogeenit voivat olla myös viruksia, bakteereita tai sieniä, kuten esimerkiksi hepatiitti B- ja C- virukset, papilloma- virus ja Helikobakteeri (*Helicobacter pylori*). Syöpää aiheuttavat karsinogeenit ovat kansainvälisen syövän tutkimuslaitoksen luokittelussa luokassa 1, mikä tarkoittaa sitä, että ne aiheuttavat ihmiselle syöpää.

Karsinogeenit aiheuttavat syöpää aiheuttamalla muutoksia eliön geeneihin. Tutkimalla eliön syöpäsoluja ja normaaleja soluja geenien kytkentäanalyysin avulla, on pystytty todistamaan, että tiettyjen geenien mutaatiot altistavat toisia geenejä enemmän syövälle. (Dragani ym., 1996). Nämä tietyn luokan geenit ovat niin sanottuja esisyöpägenejä, eli proto- onkogeneja. Proto- onkogeenit vaikuttavat normaalisti solun perustoimintoihin, yleisimmin johonkin solun jakautumisvaiheeseen. Mutaatio näissä geeneissä johtaa syövän syntyyn. (Cooper, 2000).

Mutageenit ovat myös syöpää aiheuttavia aineita, radionuklideja tai säteilyä, mutta karsinogeneistä poiketen ne aiheuttavat DNA:han pysyviä mutaatioita, mutta eivät välttämättä

johda syöpään. Nämä mutageenien aiheuttamat geenimutaatiot periytyvät seuraavalle sukupolvelle. Karsinogeenit sen sijaan johtavat karsinogeneesiin ja syöpään. Noin 90% karsinogeeneistä on mutageenejä. (Bruce A., Lee F., Durston W. 1973).

2.2.2. Mutaatiot

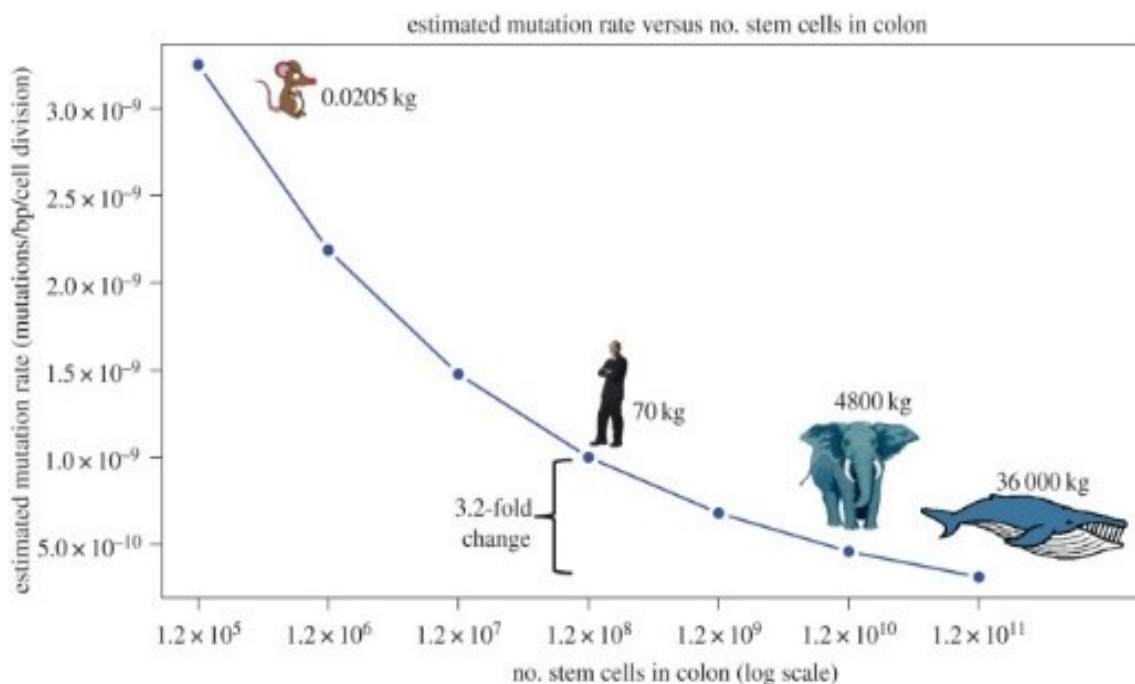
Mutaatiot ovat DNA- sekvenssissä tapahtuvia muutoksia, jotka johtavat siitä syntyvän geenin muutoksiin. Mutaatioita voi tapahtua missä tahansa DNA:n kohdassa ja muuttaa mitä tahansa geeniä. Kun mutaatio osuu proto- onkogeeniin ja solun korjausmekanismi pettää, seurauksena on syöpää aiheuttava onkogeeni, eli syöpägeeni. (Griffiths ym., 2000).

Lodish, H. ym. (2000) mukaan mutaatioita on erilaisia ja ne voivat olla hyödyllisiä, neutraaleja tai haitallisia. Syöpää aiheuttavat mutaatiot ovat luonnollisesti eliölle haitallisia. Mutaatioita voi esiintyä DNA- ketjussa pistemutaationa eli muutaman emäksen muutoksena. Emäkset voivat vaihtaa paikkaa puriinista pyrimidiiniksi, jolloin sitä kutsutaan transversiksi. Puriini-puriini ja pyrimidiini- pyrimidiini emästen vaihtumista kutsutaan transitioksi. Deaminaatioksi kutsutaan sitä, kun emäksestä lähtee amiiniryhmä, jolloin alkuperäinen emäs korvautuu.

Geenimutaatioita ovat inversio, jossa geeni kääntyy toisin päin, deleetio, jossa geeni tai sen osa häviää, ja translokaatio, jossa kaksi erilaista geeniä vaihtavat paikkaa. Tasapainoisessa translokaatiossa geeni vaihtaa paikkaa toisen saman mittaisen geenin kanssa. Insertiossa kromosomiin liittyy jokin sinne kuulumaton pätkä DNA:ta. Duplikaatiossa taas samaan kromosomiin tulee sama geeni tai geenin osa toisesta kromosomista. Missense- mutaatio johtaa proteiinin aminohapon korvaamiseen jollakin toisella aminohapolla, kun sitä koodaavassa kolmen emäksen kodonissa on tapahtunut pistemutaatio. Tämä aiheuttaa muutoksen aminohapon lukukehyksessä. Nonsense- mutaatioissa aminohappoa koodaava kolmen emäsparin kolmikko, eli kodoni korvautuu translaation lopettavalla kodonilla. Tämä aiheuttaa translaation ennenaikaisen lopettamisen. Lukukehyksen mutaatio tapahtuu deleetion tai insertion seurauksena, jolloin aminohappojen kodonien kolmen emäksen järjestys, eli lukukehys muuttuu. Mutaatiot aiheuttavat sen, että kun pätkä geeniä lähtee pois tai lisätään, geeni ei ole enää samalla tavalla jaollinen kuin alun perin. Tämä aiheuttaa erilaisia kodoneja, jotka saavat aikaan erilaisia aminohappoja kuin alkuperäisessä geenissä.

3. Peto: n paradoksi

Syöpä syntyy monisoluisen eliön solunjakautumisen aikana tapahtuvasta mutaatiosta. Mitä suurempi ja pitkäikäisempi eliö, sitä enemmän solun jakautumista tapahtuu eliön elämän aikana (Nunney, 1999). Suurikokoisten organismien solut eivät ole suurempia, vaan niillä on kehossa enemmän samankokoisia soluja kuin muilla eliöillä. Solun jakautumisessa tapahtuvien mutaatioiden todennäköisyyden olettaisi tällöin olevan suurikokoisilla eliöillä korkeampi kuin pieni- tai keskikokoisilla eliöillä, koska jakautuvia soluja on enemmän. Kehon koon ja kasvavan syöpäriskin olettaisi korreloivan positiivisesti. (Lodish & Lodish, 2000).

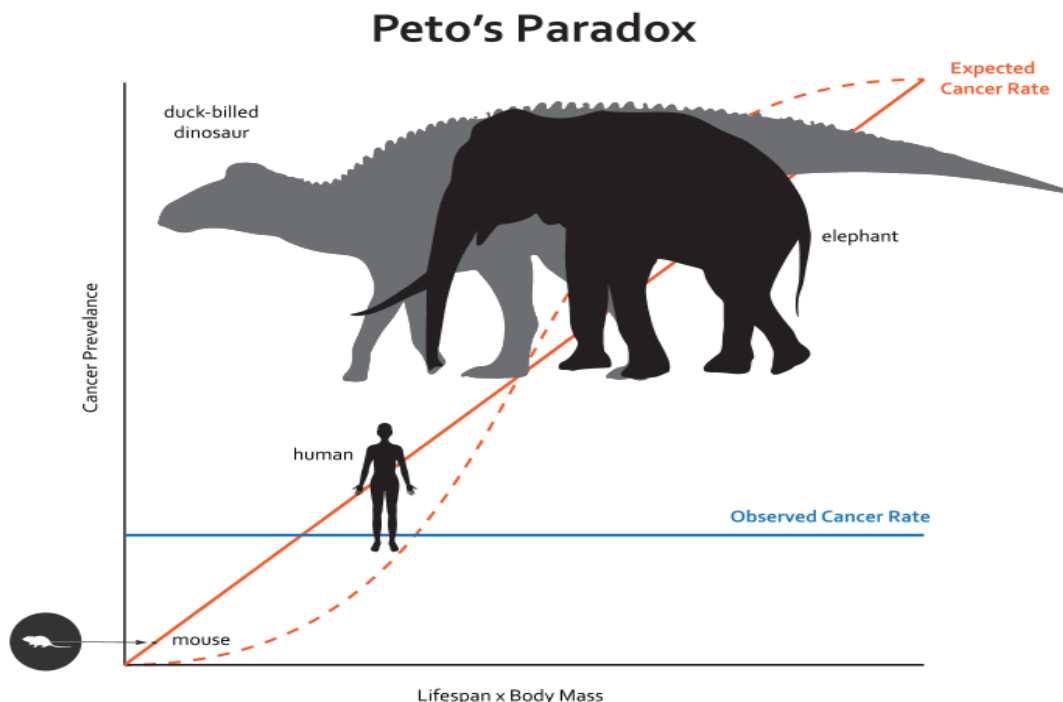


Kuva 1. Somaattisten mutaatioiden syntytaajuus (mutaatio/emäspari/solun jakautuminen) suhteutettuna kantasolujen määrään. Kuvaajassa ilmoitettu 3,2- kertainen muutos mutaatiotaajuudessa saa aikaan sen, että ihmistä 1000 kertaa isommalla eliöllä, on koostaan huolimatta sama todennäköisyys sairastua syöpään kuin ihmisellä. Kuvaajassa ihmisen mutaatiotaajuus kantasoluihin (1.2×10^8) nähden on 1.0×10^{-9} . Tämä on laskettu käyttäen Calabresen- Shibata algebrakaavaa. Kuva: Caulin ym., 2015, Solutions to Peto's paradox revealed by mathematical modelling and cross-species cancer gene analysis 370 *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*.

Epidemiologi Richard Peto päätteli hiirillä suorittamistaan kokeista, että syövän syntymisen todennäköisyys korreloi positiivisesti ajan kulun kanssa. Mitä pitempään hän altisti hiiriä karsinogeenille (bentsopyreeni), sitä todennäköisemmin niille muodostui syöpä. (Tollis ym., 2017).

Yhtälöstä tekee paradoksin se, että vaikka suurikokoisilla eliöillä on huomattavasti enemmän jakautuvia soluja, jolloin somaattisen mutaation riskin tulisi olla suurempi, teoreettisesta kasvaneesta syöpäriskistä huolimatta isokokoiset ja pitkäikäiset eliöt kuolevat epätodennäköisemmin syöpään kuin lyhytikäiset ja pienikokoiset eliöt. (Abegglen ym., 2015). Eliön mutaatiotaajuus suhteessa eliön kantasolujen määrään pysyy suurin piirtein samana, vaikka eliön koko, ja myös kantasolujen määrä, kasvaisi tuhat kertaisesti (Kuva 1.).

Peto: n paradoksia selittää evoluutio. Röntgenkuvauksen fluoroskopia- menetelmällä kuvattiin 10 000 dinosauruksen fossiilinäytettä 700:lta eri yksilöltä, joka puolelta dinosaurusten fylogeneettistä puuta. Hadrosauridae - heimon fossiileista löytyi todisteita hemangioomasta, metastasisesta syövästä, desmoplastisesta fibroomasta, sekä osteoblastoomasta. Hadrosauridae - heimon lajeista tutkitumuksessa mukana olleet fossiilit kuuluivat Hadrosaurus- suvun eri lajien yksilöille. Hadrosaurus- suvun lajit olivat noin nykyisen Afrikannorsun (*Loxodonta africana*) kokoisia kasvissyöjädinosauruksia, jotka elivät n. 70 miljoona vuotta sitten. (Rothschild ym., 2003). Hadrosaurus- suvun eri lajeista tutkimuksessa oli mukana 97 yksilöä ja 2837 fossiilinäytettä. Näistä näytteistä 29:stä löydettiin merkkejä kasvaimista. Tilastollisesti löydökset olivat määrältään niin merkittäviä, että sen perusteella voitiin tehdä laskelmia syövän yleisyydestä tämän suvun dinosauruksilla. (Rothschild ym., 2003; Tollis ym., 2017). Hadrosaurus- suvun lajit siis noudattavat syöpäriskin ja eliön koon kasvun lineaarista kasvukäyrää, eikä Peto: n paradoksi päde niihin (Kuva 2.).



Kuva 2. Kuva Peto: n paradoksista. Mitä enemmän solun jakautumisia tapahtuu eliön eliniän aikana, sitä suurempi on sen mahdollisuus sairastua syöpään. Solun jakaumista tapahtuu enemmän, mitä

suurempi ja/ tai pitkäikäisempi eliö on kyseessä. Kuvaajan X- askelilla on keskimääräinen elinikä kerrottuna eliön keskimääräisellä painolla. Y- askelilla kuvataan syövän todennäköisyyttä. Kuvaajassa yhtenäinen punainen lineaarinen viiva kuvaa teoriassa syövän esiintyvyyttä suhteessa eliniän ja painon kertomaan. Punainen katkoviiva kuvaa kolorektaalisen syövän esiintymisen todennäköisyyttä sen jälkeen, kun yksilö on käynyt läpi tietyn lukumäärän solun jakautumisia. Sininen viiva kuvastaa sitä, etteivät syövän esiintyvyys ja eliön ikä kerrottuna painolla, korreloisi keskenään. Ihmisen syöpäriski on 11- 25%, eikä se juuri eroa hiiren tai hadrosaurus- suvun lajien syöpäriskin todennäköisyydestä. Näiden syöpäriskin todennäköisyys kulkee siis punaisen lineaarisen viivan mukaisesti. Norsujen syöpään sairastumisen riski on noin 5%, mikä noudattaa punaista katkoviivaa. Kuva: Tollis ym., 2017, *BMC Biology* (2017) 15:60.

Suuri koko on osoittautunut populaatiossa hyödylliseksi. Se mahdollistaa paremmin resurssien käytön, kasvattaa pariumismahdollisuutta parin valintakilpailussa ja ehkäisee paremmin saaliiksi joutumisen. Kun suuri koko antaa paremmin suojaa pedoilta ja parantaa resurssien käyttöä, se myös mahdollistaa pidemmän iän, joka taas mahdollistaa pidemmän lisääntymisajan. Suuri koko on siis kannattavampi, vaikka se kasvattaisikin syöpäriskiä. (Tollis ym., 2017). Tätä suureen kokoon pyrkivää populaatiolinjausta kutsutaan Cope:n laiksi (Kingsolver & Pfennig, 2004). Suureen kokoon pyrkivää evoluutiota on havaittu jo dinosauruksilla, joiden fossiileja tutkimalla on todennettu, että myöhemmin eläneet lajit olivat keskimäärin 25% pidempiä kuin aikaisemmin sukupuuttoon kuolleet sukulaislajit (Hone ym., 2005) .

Suurikokoiset ja/tai pitkäikäiset lajit ovat olleet syöpäriskin valintapaineen alla, ja evoluution myötä ne ovat kehittäneet erilaisia syövän syntymisen estäviä mekanismeja (Tollis ym., 2017). Suurikokoiset eliöt ovat kehittyneet suuremmiksi riippumatta toisistaan, jolloin niiden syövän estomekanismit ovat kehittyneet itsenäisesti ja poikkeavat toisistaan. Syövän estomekanismien takana ovat silti aina geenit. Erilaiset syöpää ehkäisevät geenivariaatiot ja säätelymekanismit ovat kehittyneet evoluution myötä. (Baker ym., 2015).

Caulin Maley (2011) mukaan Peto: n paradoksia edustavilla suurilla ja/tai pitkäikäisillä eliöillä on alhaisempi somaattisten mutaatioiden riski, runsaasti syövästäjägeenejä ja niiden proto- onkogeeneit ovat polygeenisiiä. Niillä on myös lisääntynyt herkkyys solujen tiheyden muutoksille. Jos solujen normaali tiheys laskee, eivätkä solut ole enää kosketuksissa toisiinsa, niiden välinen kommunikointi keskenään heikkenee. Tämän seurauksena solujen jakautuminen hidastuu.

Zhiyuan Yang ym. (2013) tekemissä tutkimuksissa on löytynyt pitäviä viitteitä siihen, että Peto: n paradoksi pitää paikkansa myös pelkän iän osalta. Olettamus, että pitkä ikä kasvattaa syöpään sairastumisen todennäköisyyttä, ei aina pidä paikkansa. Kaljurotta (*Heterocephalus glaber*)

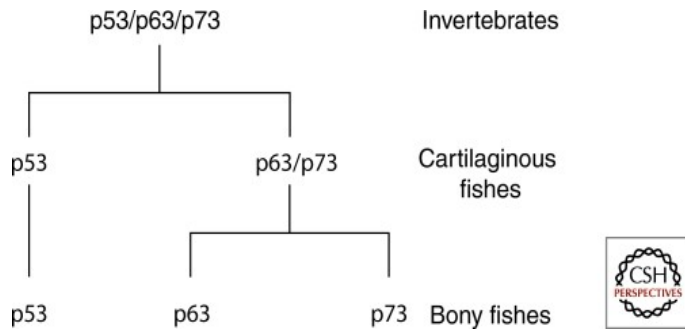
on Etelä- Afrikassa, maan alla yhdyskunnissa elävä, pienikokoinen ja karvaton jyrsijä, jonka eliniänodote on jopa 30 vuotta. Tutkimuksissa on havaittu, että kaljurotalla on erilaisia fysiologisia ja patologisia ominaisuuksia, jotka ennaltaehkäisevät synnynnäisen ja laboratoriossa kokeellisesti tuotetun syövän syntymisen. Kaljurotalta puuttuu runsaasti sellaisia geenejä, joissa tapahtuvien mutaatioiden on todistettu olevan syöpään johtavia, ja joita sen sukulaislajilla rotalla (*Rattus norvegicus*) on. Esimerkiksi kaljurotalle ja rotalle yhteisestä Kadherin- molekyyliä kopioivasta geeniperheestä kaljurotalta puuttuu 38 geeniä kaikkiaan 50:stä yhteisestä geenistä. Kadherinmolekyylit ovat solukalvon pintaproteiineja, joiden geenimutaatiot aiheuttavat nisäkkäillä tutkimusten mukaan rintasyöpää. Kaljurotalta puuttuu myös vomerosanaalireseptoreita muodostavasta geeniperheestä 559 geeniä 852 rotan kanssa yhteisestä geenistä. Vomerosanaalireseptorit kuuluvat olfaktori-, eli hajureseptoreihin, jotka sijaitsevat hajuepiteelissä. (Rodriguez ym., 2014). Olfaktorireseptorigeeni on syöpää aiheuttava, jos se on aktiivinen muualla kuin hajuepiteelisoluisissa. Ihmisillä olfaktori-reseptori- geenin on havaittu aiheuttavan virtsarakkosyöpää (Weber ym., 2018). Kaljurotalla on myös lukuisia syöpää estäviä geenejä, joita rotalla ei ole. Esimerkiksi HSP70- ja HSP90- proteiineja kopioivissa geeniperheissä kaljurotalla on 31 sellaista geeniä, joita rotalla ei ole lainkaan. HSP- proteiinit ovat kaperoniproteiineja, jotka ehkäisevät muiden proteiinien denaturoitumisen lämpötilan noustessa. Kaljurotan on tutkimuksien perusteella todettu olevan vastustuskykyinen syöville ja kasvaimille (Rodriguez ym., 2014).

4. PT53- geeni

PT53- geeni, eli *P53* syövän estogeneeni sijaitsee ihmisellä 17. kromosomissa paikalla 17p13.1. Se on tärkeä syövän estäjä, josta tuotettu proteiini rajoittaa solun kasvua. (Hientz ym., 2017). *P53*- geenin tunnistivat Arnold Levine, David Lane ja Willian Old vuonna 1979, jotka työskentelivät Princetonin ja Dundeen yliopistoissa, sekä Sloan- Kettering Memorial sairaalassa. Se määriteltiin aluksi onkogeeniksi, mutta vuonna 1989 se määriteltiin syövän estogeneeniksi. (Belyi ym., 2010).

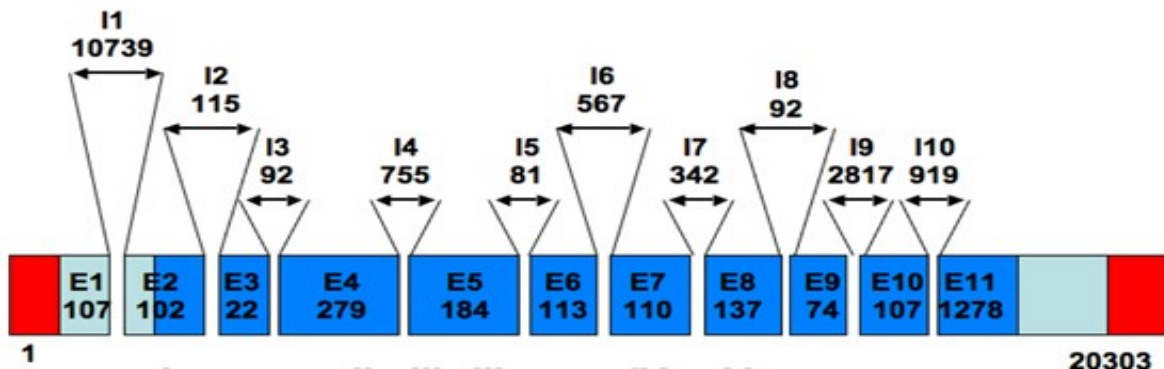
P53- geenin tärkeyden voi päätellä fylogeneettisistä tutkimuksista, joissa on huomattu, että se on kulkenut evoluutiossa yksisoluisista eukaryoteista, selkärangattomista merivuokoista, luu- ja rustokaloihin ja nisäkkäisiin asti (Kuva 3). *P53*- geeni kuuluu samaan geeniperheeseen *P63*- ja *P73*- geenien kanssa (Kuva 3.). Yli miljoona vuotta kestäneen evolutiivisen historian aikana ne ovat jakautuneet yhteisestä kantageenistä niin, että nisäkkäille periytyi *P53*- geeni, ja rusto- ja luukaloille jakautuivat *P63*- ja *P73*- geenit (Kuva 3). Rakenteeltaan ja

toiminnaltaan ne ovat jakautumisesta huolimatta pysyneet syövän estogeneineinä ja reagoivat solun stressitilaan ja DNA:n mutaatioihin. (Belyi ym., 2010).



Kuva 3. Kuvassa ylimpänä alkeellisilta selkärangattomilta löytyvät *P53/ P63/ P73*- geeni, joka jakautui kahtia: nisäkkäille *P53*, ja rustokaloille *P63/ P73*. Rustokaloilta tämä *P63/ P73* jakautui luukaloille. Luukaloilta löytyvät kaikki kolme geeniperheen geeniä. Kuva: Belyi ym., 2010, *Cold spring harbor Perspectives in Biology*. 2010 Jun; 2(6): a001198.

Belyi ym. (2010) mukaan vanhimmat vahingoittunutta DNA:ta korjaavat geenit olivat lähimpänä *P63*- ja *P73*- geenien yhdistelmää. Ne korjasivat sukusoluissa tapahtuneita DNA vaurioita. Myöhemmin ne kehittyivät somaattisten solujen syövän estogeneiksi. *P63*- ja *P73*- geenien toiminta on evoluution myötä kehittynyt ja kasvanut. *P63*- geeni toimii pääasiassa ihon ja elinten solujen transkription säätelijänä. *P73*- geeni toimii transkription säätelijänä pääasiassa immuunijärjestelmän ja hermoston osien muodostumisessa. Ne reagoivat silti edelleen myös sukusolujen stressitilaan ja DNA:n muutoksiin. Pääasiallisena syövän estogeeninä ihmisellä toimii *P53*- geeni.



Kuva 4. Kuvassa *P53*- geeni ja sen järjestys. *P53*- geeni on 22 000 emäsparia pitkä. Kuvassa geenin yläpuolella olevat I1- I10 tarkoittavat intronijaksoja, eli ei koodaavia DNA- alueita. Luvut kuvaavat intronin kokoa emäspareina. Punaiset pätkät geenin molemmissa päässä ovat aloitus- ja lopetusalueet. Sinisellä näkyvät E1- E11 tarkoittavat eksonijaksoja, eli koodaavia DNA- jaksoja, joiden koko on ilmoitettu emäspareina. Eksonit ovat DNA:n koodaavaa aluetta, josta muodostetaan translaatiossa lähetti- RNA. (San & Rezvani, 2017). Kuva muokattu lähteen Soussi, 2017, 'Organization of human *p53*- gene' kuvan pohjalta.

22 000 emäsparin mittainen *P53*- geeni sisältää 11 eksonijaksoa (Kuva 5., E1- E11), eli koodaavaa DNA- aluetta, joista muodostuu 2,2Kb: n kokoinen lähetti-RNA. Lähetti- RNA:n translaatio alkaa eksonista 2. Intronijaksoja, eli eksonien välissä olevia, ei koodaavia DNA- jaksoja geenissä on 10 (Kuva 5., I1- I10). *P53*- geeni koodaa kaikkia *P53*- proteiinin neljää proteiiniyksikköä, ja ainakin 15: sta erilaista *P53*- proteiinin isomuotoa. (Sane & Rezvani, 2017).

Mutaatiot *P53*- geenissä on yksi yleisimmistä syövän aiheuttajista. Mutaation vakavuudesta riippuen geenistä tuotetaan joko viallista proteiinia, tai sitä ei tuoteta lainkaan. Mutatoitunut *P53*- geeni löytyy monista eri syöpätyyppien soluista. Se on suuressa roolissa säätelijänä monimutkaisessa, syöpää ennaltaehkäisevässä, verkostossa. Yleisin mutaatio *P53*- geenissä on sellaisella proteiinia koodaavalla alueella, joka saa *P53*- proteiinin sitoutumaan DNA:han. (Joerger & Fersht, 2010).

Kun toisella vanhemmista on mutatoitunut *P53*- geenin muoto, periytyy jälkeläiselle sukusoluissa vain yksi toimiva *P53*- geeni. Tämä johtaa hyvin suurella todennäköisyydellä jälkeläisen syöpään sairastumiseen, ja aiheuttaa erilaisia kasvaimia eri kudoksiin jo nuorena aikuisiässä. Tätä harvinaista *P53*- geenin vajaavaisuutta kutsutaan Li- Fraumenin syndroomaksi (LF-syndrooma). (Achatz ym., 2007).

5. PT53- proteiini

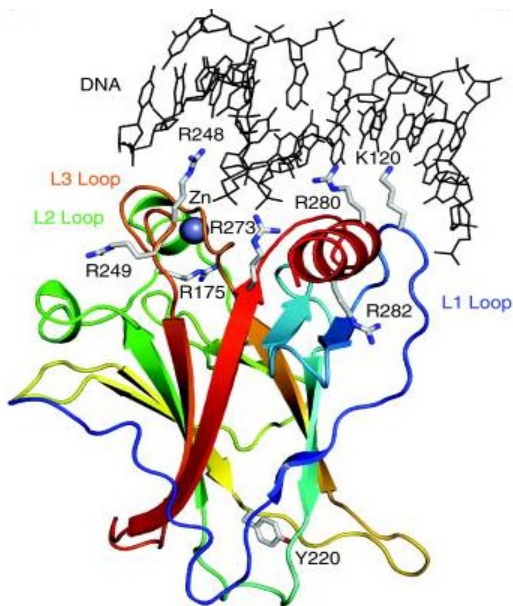
PT53- proteiini, eli *P53*- proteiini, on ihmisen eniten tutkittu, transkription säätelyproteiini, jota valmistuu *PT53*- geenistä jatkuvasti. *P53*- proteiini on 53 kilodaltonin kokoinen fosfoproteiini, joka koostuu neljästä 393 aminohapon kokoisesta proteiiniyksiköstä, eli domeenista, sekä sinkkiatomista. (Joerger, A., & Fersht, A., 2010).

Proteiineista ensimmäinen on N-terminaalinen transkriptio -aktivaattori domeeni, eli TAD- proteiini, joka nimensä mukaisesti aktivoi transkriptiofaktoreita. Se voidaan jakaa kahteen aladomeeniin, jotka koodataan geenin kohdista 1- 61 aminohappoina Kuva 5., TAD1/2). Pienempi näistä on erikoistunut säätelemään useita esi- apoptoosi- geenejä. (Venot C., ym., 1998).

Lee ym. (2010) sekä Joerger & Fersht (2010) mukaan TAD1:sta seuraa transkriptio aktivaattori domeeni 2, eli TAD2, (Kuva 6., TAD1/2) joka on tärkeä vaikuttaja apoptoosin aktiivisuudessa. Tätä seuraa proliinia runsaasti sisältävä domeeni, PRR (Kuva 6., PRR), joka on myös tärkeä apoptoosin aktivoinnissa.

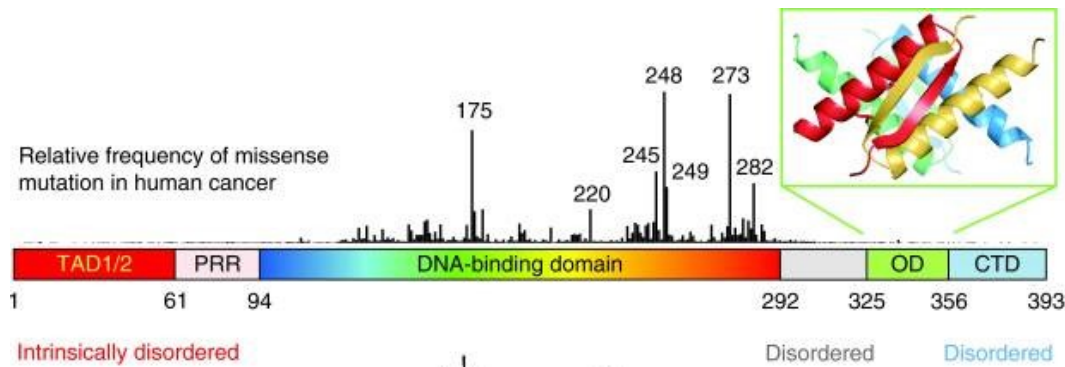
DNA:ta sitova ydindomeeni, DBD, (Kuva 6., DNA- binding domain) koostuu β -levytukirakenteesta ja rakenteista, jotka muodostavat DNA:ta sitovan pinnan. DNA:ta sitovalla pinnalla tarkoitetaan silmukalla olevaa levyn muotoista heliksiä ja kahta isompaa silmukkaa, L2 ja L3 (Kuva 5., L2 Loop ja L3 Loop), jotka sitoutuvat DNA:han. L2 ja L3:en rakennetta stabiloi sinkki-atomi (Kuva 5., Zn). Rakenne sisältää paljon arginiinia, joka auttaa DNA:n sitoutumisessa. Yleisimmät syöpäsoluista löytyvät mutaatiot sijoittuvat L3:sta tai L2:sta koodaaviin geeneihin (Kuva 6., 175 ja 248).

Ihmisen P53- proteiinissa ydindomeenilla on alhainen termodynaaminen stabiilisuus, joten se pystyy nopeasti avautumaan laskoksestaan normaalissa ruumiinlämmössä. Homo- oligomerisaatio domeeni, OD, (Kuva 6., OD) sitoo yhteen neljä samanlaista proteiinia, muodostaen kvaternaarirakenteisen ja toimivan P53- proteiinin. Tämän jälkeen on C-terminaalinen karboksyylidomeeni, eli CTD- domeeni, (Kuva 6., CTD) joka päättää proteiinin ja on osallisena DNA:n sitoutumisessa keskimmäiseen ydindomeeniin.



Kuva 5. Kuvassa P53- proteiini kiinnittyneenä mustana näkyvään kaksijuosteiseen DNA:han. Silmukat L2 ja L3 ovat kuvassa vasemmalla (L3 Loop ja L2 Loop) DNA:han kiinnittyneinä. Eri värit kuvaavat eri proteiineja, ja kuvasta 6 nähdään niiden rakentuminen P53-geenistä. Ydindomeeni on vihreän, sinisen, keltaisen, oranssin ja punaisen värinen β -levytukirakenne, joista muodostuu silmukoita ja α -heliksejä. Kuva muokattu lähteen Joerger& Fersht, 2010, *Cold Spring*

Harb Perspect Biol. 2010 Jun;2(6):a000919 Figure 1:stä.



Kuva 6. Kuvassa proteiinien domeenien paikat *P53*- geenissä. Numerointi kuvaa aminohappoja. Geeniä luetaan vasemmalta oikealle, eli N- terminaalista C- terminaaliin päin. Kuvasta 5 voidaan nähdä *P53*- proteiinin kolmiulotteinen rakenne värien mukaisesti rakentuneena. Sateenkaariväritys kuvaa DNA binding domain, eli DBD: n, rakennetta N- terminaalista (sininen) C- terminaaliin (punainen). Yläpuolella kuvatut pystyviivat kuvaavat missense- mutaatioiden määrää *P53*- geenissä ihmisen syöpäsoluissa. Kuvasta nähdään, että huomattavin määrä mutaatioista tapahtuu DBD: n aminohappojen alueilla 175, 248 ja 273, joista kopioidaan L2 ja L3 silmukoita. Mutaatiot DBD: n alueella aiheuttavat sen, ettei *P53*- proteiini kykene sitoutumaan DNA:han. Kuva muokattu lähteen Joerger & Fersht, 2010, *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010 Jun;2(6):a000919 Figure 1:stä.

5.1. *PT53*- proteiinin toiminta

PT53-, eli *P53*- proteiini toimii transkription säätelijänä, joka kykenee sitoutumaan DNA:ssa monen eri geenin säätelykohtaan ja käynnistämään kyseisen geenin transkription. Terveessä solussa *P53*- proteiinin määrä on matala, ja se nousee, kun solun stressisignaalit nousevat tai DNA:ssa tapahtuu mutaatio. *P53*- proteiinin päätehtävänä on aktivoida geenien transkriptio. Sen aktivoimat geenit saavat solun kasvun pysähtymään, korjaavat vaurioituneen DNA:n, tai viimeisenä vaihtoehtona käynnistävät solun apoptoosin. (Joerger, A., & Fersht, A., 2010). *P53*- proteiinin on huomattu kontrolloivan solusyklin aikana jakautumisen välivaiheessa, eli interfaasissa, G1- ja G2- vaiheiden lopussa tapahtuvia tarkistuspisteitä, säätelemällä tarkistuspisteillä tarvittavien proteiinien geenejä (Kleinsmith, L. J. 2014. s. 36-41).

P53- proteiini sitoutuu kaksijuosteiseen DNA:han sekvenssispesifisesti. Sitoutumisalue koostuu yleisimmin yhdistelmästä RRRCWWGYYY, jossa R tarkoittaa adeniinia tai guaniinia, W tarkoittaa adeniinia tai tyymiinia ja Y tarkoittaa sytosiinia tai tyymiinia (Joerger, A. C., & Fersht, A. R. 2010).

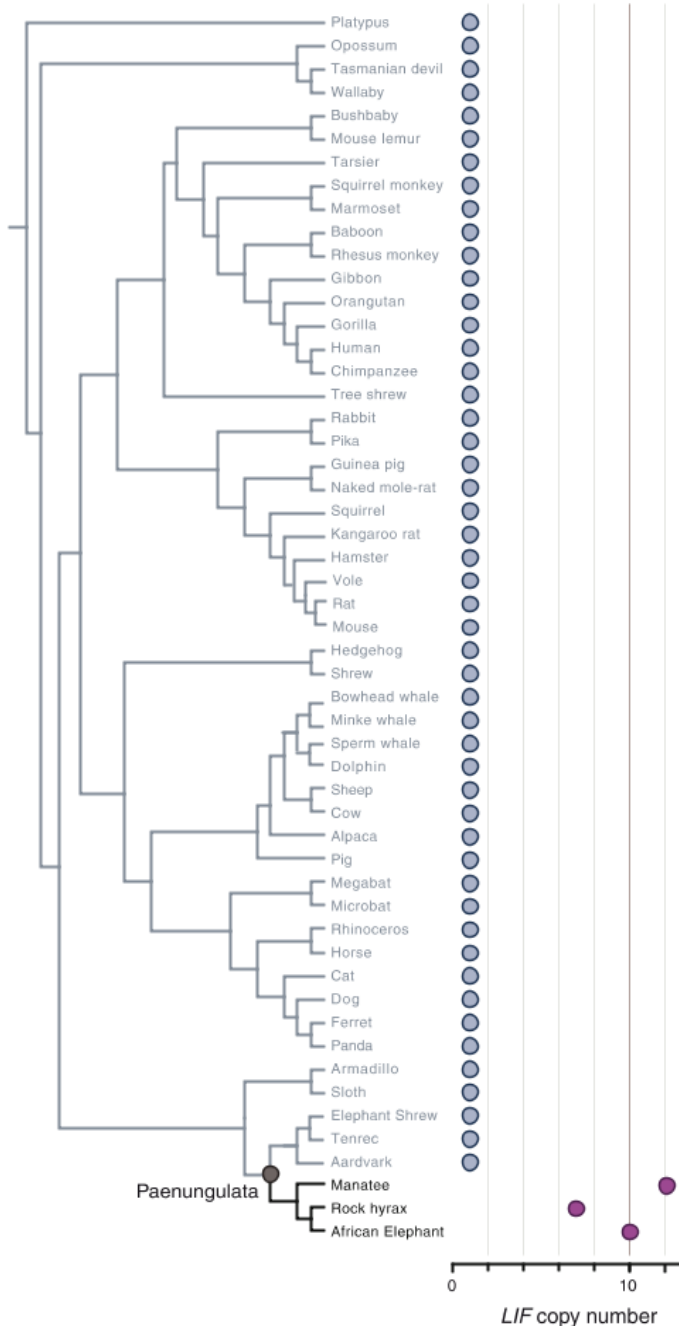
P53- proteiinin DNA:han sitoutuvassa domeenissa, DBD:ssä oleva heliksi- rakenne ja ensimmäinen silmukka sitoutuvat DNA:n suurempaan uraan. L3:en Arginiini248 sitoutuu pienemmän uran vesimolekyyleihin ja L2 auttaa L3:en oikeanlaiseen asentoon DNA:han nähden. Se mihin geeniin P53- proteiini sitoutuu, riippuu solun stressitilasta. (Joerger, A., & Fersht, A., 2010).

P53- proteiini ei ole solussa pitkäikäinen, koska sen taso pidetään P53- proteiinin oman kohdegeenin MDM2:n tuottaman MDM2- proteiinin, ja sen homologisen proteiinin MDMX:n, toimesta matalana. Proteiinit kontrolloivat P53- proteiinia kiinnittymällä syntyneeseen P53- proteiinin TAD- osaan, jolloin se estää P53- proteiinin transkriptioaktiivisuuden. MDM2- proteiini myös liittyy pieniä säätelyproteiineja, ubikitiinejä P53- proteiiniin, jotka ohjaavat proteiinin proteosomiin hajotettavaksi. (Katz ym., 2018). MDM2- ja MDMX – proteiinit toimivat negatiivisina säätelijöinä P53- proteiinille, ja saadessaan signaalin DNA:n vahingoittumisesta tai muusta syystä johtuvasta solun stressitilasta, ne eivät enää inhiboi P53- proteiinia. (Shadfan ym., 2012) .

P53- proteiinit aktivoituvat ja käynnistävät sellaisten geenien transkription, jotka ratkaisevat solun stressitilan. Stressitilasta riippuen solun proteiinit muuttavat eri tavalla rakennettaan, ja P53- proteiini reagoi näihin rakennemuutoksiin valitsemalla tilanteeseen sopivaan geenin transkription aloittamisen. P53- proteiini toimii transkriptiosäätelijänä sellaisille geneille, jotka liittyvät DNA- vaurioiden korjaamiseen, solusyklin pysäyttämiseen ja apoptoosiin. (Honda ym., 1997; Joerger & Fersht, 2010).

6. LIF- geenit

LIF- geenit ovat nisäkkäillä tavattavia geenejä, jotka koodaavat Leukemia Inhibitor Factor-, eli LIF- interleukiineja, jotka kuuluvat immuunipuolustuksesta huolehtivien sytokiniinien alatyyppeihin. *LIF*- geeni on ihmisellä mitaltaan 4605bp ja sijaitsee 22. kromosomissa paikalla 22q12.2. (National Center for Biotechnology Information, 2018). *LIF*- geenien määrä vaihtelee nisäkkäillä lajista riippuen. Ihmisillä, kuten suurimmalla osalla muistakin nisäkkäistä, toimivia *LIF*- geenejä on vain yksi (Kuva 7.). *Paenungulata*- ryhmän nisäkkäiltä, joka pitää sisällään muun muassa norsueläimet (*Proboscidea*), tamaanit (*Hyracoidea*), sireneläimet (*Sirenea*), tanrekit (*Tenrecidae*), hyppypäästäiset (*Macroscelididae*) ja maasiat (*Orycteropus afer*), *LIF*- geenistä löytyy useita kopioita (Kuva 7., *Paenungulata*). Manaatilta (*Trichechus manatus*) on löydetty *LIF*- geenistä jopa kaksitoista kopioita. (Vazquez ym., 2018).



Kuva 7. *LIF*- geenien määrä eri lajeilla fylogeneettisen puun avulla tarkasteltuna. Fylogeneettisen haaran päässä on kerrottu lajin nimi ja pystyviivat edustavat *LIF*- geenien määrää. Pallot kertovat lajin *LIF*- geenien määrän. Suurimmalla osalla tutkituista nisäkkäistä *LIF*- geenejä on vain yksi (harmaat pallot), mutta *Paenungulata*-ryhmän lajeilla *LIF*- geenistä löytyy useita kopioita (violetit pallot). *Paenungulata*-ryhmän nisäkkäihin kuuluvat norsueläimet (*Proboscidea*), tamaanit (*Hyracoidea*) sireenieläimet (*Sirenia*), maasiat (*Orycteropodidae*), tenrekit (*Tenrecidae*) sekä hyppypäästäiset (*Macroscelididae*). Maasioilla, tenrikeillä ja hyppypäästäisillä *LIF*- geenejä on vain yksi, mutta muilta ryhmän lajeilta geenistä löytyy useita kopioita. Afrikannorsulta *LIF*- geenistä on löytynyt kymmenen kopiota, kalliotamaanilta seitsemän ja manaatilta (*Trichechus manatus*) kaksitoista. Geenikopiot ovat joko geenejä tai pseudogeenejä.

Kuva on muokattu lähteen Vazquez ym, 2018, *Cell reports*, 24(7), 1765- 1776 kuvan 1 pohjalta.

6.1. *LIF*- interleukiinit

LIF- geenien koodaamat interleukiinit ovat tärkeitä immuunivasteen proteiineja ja peptidejä, jotka auttavat valkosoluja kommunikoimaan ja lisäävät T- ja B-solujen kasvua. Interleukiineja tuottavat pääasiassa T-solut, monosyytit, magrofaagit ja endoteelisolut. Solun pinnalla on reseptoreja interleukiini molekyyleille.

LIF- interleukiinin isomuoto määräytyy *LIF*- geenin silmukoinnin mukaan. *LIF*- geenin kopiointissa toinen ja kolmas eksoni ovat kaikille LIF- molekyylien isomuodoille samoja, mutta ensimmäinen eksoni vaihtelee. Vaihtoehtoisessa silmukoinnissa ensimmäiselle eksonille on kolme eri vaihtoehtoa: LIF- D, -M ja -T. LIF-D- eksoni alkuisesta geenistä koodataan solun ulkopuolelle eritettävää, LIF- reseptoreihin sopivaa signaaliproteiinia. LIF- D:llä ei ole AUG- aloituskodonia lukukehyksessään. LIF- M eksonilla alkavasta geenistä tuotetaan sekä solun sisällä, että ulkopuolella toimivia proteiineja. Sillä ei myöskään ole AUG- aloituskodonia lukukehyksessään. LIF- T- eksoni on ainoa, jolla on AUG- aloituskodoni, ja sillä alkavasta geenistä kopioidaan solunsisäisiä, leusiinia sisältäviä proteiineja, jotka ovat mahdollisia transkriptiotekijöitä. (Hisaka ym., 2004).

LIF- geenin koodaamat LIF- interleukiinit on ryhmän 6 interleukiineja (National Center for Biotechnology Information, 2018). LIF- interleukiinit vaikuttavat nimensä mukaisesti solun kasvuun, kun ne indusoivat valkosolujen terminaalivaiheen erilaistumista. Ne indusoivat myös hematopoietisiin erilaistumista normaaleissa ja myeloideissa valkosoluissa. Niiden tehtäviin kuuluu tämän lisäksi hermosolujen erilaistumisen käynnistäminen ja hepatosyyttien, eli maksasolujen, synteessin stimulointi. LIF- interleukiinit ovat tärkeitä alkion kantasolujen uudistamiskyvyn ja pluripotenssin ylläpitäjiä. (Ali ym., 2017; Kuphal ym., 2013).

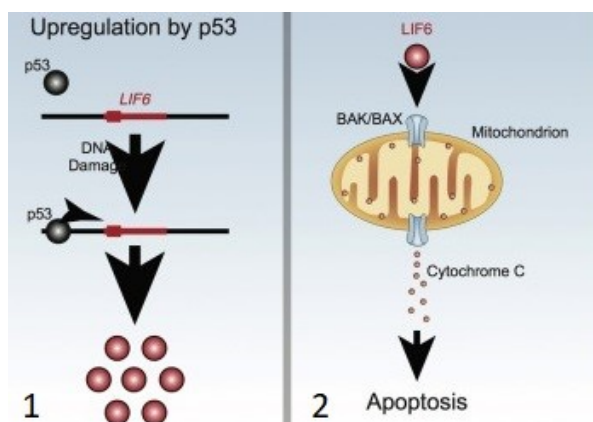
7. LIF6- geeni syövänestäjänä norsuilla

Vazquez ym. (2018) mukaan Afrikannorsuilla (*Loxodonta Africana*) *LIF*- geenistä on löydetty 10 eri kopiota tai pseudogeeniä. *LIF*- geenin kopiot ovat todennäköisesti seurausta evoluution aikana tapahtuneista yksittäisistä duplikaatiomutaatioista. Hypoteesia vahvistaa se, että myös muilta norsueläinten (*Proboscidea*) lahkoon elossa olevilta, ja sukupuuttoon kuolleilta, lajeilta löytyy samoja duplikoituneita *LIF*- geenejä ja pseudogeeniä.

Yksi näistä *LIF*- geeneistä on ainoastaan norsuilta löytyvä *LIF6*- geeni. Se on todennäköisesti ollut pseudogeeni, ja on mutaation seurauksena aktivoitunut toimivaksi geeniksi. Mutaatio on saanut aikaan sen, että *LIF6*- geeni reagoi P53- proteiiniin transkriptioaktivaattorina. Se reagoi DNA- vaurioihin ja solun stressitilaan P53- proteiinin säätelemänä (Kuva 8., 1). *LIF6*- geeni koodaa rakenteeltaan LIF-T:n kaltaista proteiinia, joka yliekspressoituneena indusoi apoptoosia. DNA:n vaurioituessa *LIF6*- geenin ekspressoituminen vaaditaan Afrikannorsujen soluille spesifiin ketjureaktiomaiseen solukuolemaan.

P53- proteiinin aktivoituessa solussa DNA- vaurion takia, se käynnistää *LIF6*- geenin transkription (Kuva 8., 1). *LIF6*- geenistä kopioidaan *LIF6*- proteiinia, joka avaa solun

mitokondrioiden uloimman solukalvon huokokset, samalla tavoin kuin apoptoosiin normaalisti osallistuvat Bcl- ryhmän Bax/ Bak- proteiinit, jotka indusoivat apoptoosia. Norsuilla Bax/ Bak- proteiinien taso ei nouse solussa ennen apoptoosia, mikä viittaa siihen, että LIF6- proteiini toimii mitokondrioiden pinnalla itsenäisesti. Tämä aiheuttaa sytokromi C:n pääsemisen ulos mitokondrioiden pintaan syntyneiden huokosten kautta (Kuva 8., 2). Sytokromi C on pieni hemiproteiini, joka osallistuu mitokondrion sisällä soluhengitykseen. Mitokondrion ulkopuolelle päästessään se aiheuttaa kaspasi kaskaadin, joka johtaa solun apoptoosiin. P53- proteiinin aktivoimana *LIF6*- geeni tuottaa aggressiivisesti käyttäytyvän LIF6- proteiinin, joka ei anna lainkaan mahdollisuutta korjata vaurioitunutta DNA:ta, vaan se saa aikaan apoptoosin johtavan ketjureaktion.



Kuva 8. Ensimmäisessä kuvassa "Upregulation by p53" on kuvattu punaisella näkyvän *LIF6*-geenin aktivoituminen P53- proteiinin toimesta DNA:n vaurioitumisen jälkeen. P53- proteiini saa aikaan LIF6- proteiinien tuoton, jotka on kuvattu punaisina palloina tapahtumaketjun lopussa. Kuvassa 2. punaisena pallona kuvattu LIF6- proteiini vaikuttaa mitokondrion huokosiin päästään sytokromi C:n ulos mitokondriosta. Sytokromi C käynnistää solussa kaspasi kaskaadin, ja saa aikaan solun apoptoosin. Kuva on muokattu lähteen

Vazquez ym, 2018, *Cell reports*, 24(7), 1765- 1776 'Graphical abstract' pohjalta.

8. Yhteenveto

Tämä P53- proteiinin aktivoima ja LIF6- proteiinin aikaan saama apoptoosiin johtava ketjureaktio on ainutlaatuinen, eikä sitä tavata muilla kuin norsuilla. P53- ja LIF6- proteiinien aggressiivinen reagointi solun DNA- vaurioihin pois sulkee kokonaan syövän synty mahdollisuuden vioittuneessa solussa. Suuri kokoisella norsulla jakautuvia soluja on enemmän, ja pitkän iän takia solun jakautumista tapahtuu pidemmän aikaa. P53- ja LIF6- proteiinien suoraviivainen reaktio DNA vaurioihin on näin ollen osoittautunut norsuille hyödylliseksi, koska se poistaa syövän syntyriskin, tappamalla kokonaan vaurioituneen solun. Se tekee norsueläimistä syöväälle vastustuskykyisempiä, mikä antaisi selityksen Peto: n paradoksille. Fylogeneettisten analyysien avulla on pystytty päättämään, että tämä P53- proteiinin aktivoima elementti on syntynyt samoihin aikoihin, kun norsueläinten lahkossa koko on alkanut kasvaa ja ikä pidentyä (Vazquez, ym., 2018). Tämä vahvistaa teoriaa siitä, että *LIF6*- geeni on norsuilla yksi syöpää ehkäisevä tekijä.

9. Lähdeviitteet

- Abegglen, L., Caulin, A. F., Chan, A., BS, Lee, K., Robinson, R., . . . San Francisco (Maley). (2015). *Potential Mechanisms for Cancer Resistance in Elephants and Comparative Cellular Response to DNA Damage in Humans* doi:10.1001/jama.2015.13134
- Achatz, M. I. W., Olivier, M., Le Calvez, F., Martel-Planche, G., Lopes, A., Rossi, B. M., . . . Hainaut, P. (2007). The TP53 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families. *Cancer Letters*, 245(1-2), 96-102. doi:10.1016/j.canlet.2005.12.039
- Ames, B. N., Durston, W. E., Yamasaki, E., & Lee, F. D. (1973). Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70(8), 2281-5. URL: www.ncbi.nlm.nih.gov
- Ali, S. A., Kaur, G., Kaushik, J. K., Malakar, D., Mohanty, A. K., & Kumar, S. (2017). Examination of pathways involved in leukemia inhibitory factor (LIF)-induced cell growth arrest using label-free proteomics approach. *Journal of Proteomics*, 168, 37-52. doi:10.1016/j.jprot.2017.07.014
- Baker, J., Meade, A., Pagel, M., & Venditti, C. (2015). Adaptive evolution toward larger size in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(16), 5093-5098. doi:10.1073/pnas.1419823112
- Belyi, V. A., Ak, P., Markert, E., Wang, H., Hu, W., Puzio-Kuter, A., & Levine, A. J. (2010). The Origins and Evolution of the p53 Family of Genes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology Collection* (ss. 1-17). United States: Cold Spring Harbor Laboratory Press. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20516129>

- Caulin, A. F., Graham, T. A., Wang, L., & Maley, C. C. (2015). Solutions to Peto's paradox revealed by mathematical modelling and cross-species cancer gene analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1673) doi:10.1098/rstb.2014.0222
- Cooper, G. M. (2000). Oncogenes. *The Cell: A Molecular Approach. 2nd Edition*, URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9840/>
- Dragani, T. A., Canzian, F., & Pierotti, M. A. (1996). A polygenic model of inherited predisposition to cancer. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 10(8), 865-870.
- Duffy, M. J., Synnott, N. C., McGowan, P. M., Crown, J., O'Connor, D., & Gallagher, W. M. (2014). doi://doi.org/10.1016/j.ctrv.2014.10.004
- Duodecim, K. O., & Mustajoki, P. (2015). Leukemia (verisyöpä). URL: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00040
- Griffiths, A. J., Miller, J. H., & Suzuki, D. T. (2000). Mutation and cancer. *An Introduction to Genetic Analysis. 7th Edition*, URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21809/>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674. URL: <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hientz, K., Mohr, A., Bhakta-Guha, D., & Efferth, T. (2017). The role of p53 in cancer drug resistance and targeted chemotherapy. *Oncotarget*, 8(5), 8921. doi:10.18632/oncotarget.13475
- Hisaka, T., Desmoulière, A., Taupin, J., Daburon, S., Neaud, V., Senant, N., . . . Rosenbaum, J. (2004). Expression of leukemia inhibitory factor (LIF) and its receptor gp190 in human liver and in cultured human liver myofibroblasts. Cloning of new isoforms of LIF mRNA. *Comparative Hepatology*, 3(1), 10. doi:10.1186/1476-5926-3-10

- Honda, R., Tanaka, H., & Yasuda, H. (1997). Oncoprotein MDM2 is a ubiquitin ligase E3 for tumor suppressor p53. *FEBS Letters*, 420(1), 25-27.
- Hone, D. W. E., Keeseey, T. M., Pisani, D., & Purvis, A. (2005). Macroevolutionary trends in the Dinosauria: Cope's rule. *Journal of Evolutionary Biology*, 18(3), 587-595. doi:10.1111/j.1420-9101.2004.00870.x
- Joerger, A. C., & Fersht, A. R. (2010a). The Tumor Suppressor p53: From Structures to Drug Discovery. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology Collection* (ss. 19-38). United States: Cold Spring Harbor Laboratory Press. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20516128>
- Katz, C., Low-Calle, A. M., Choe, J., Laptenko, O., Tong, D., Joseph-Chowdhury, J., Prives, C. (2018). Wild-type and cancer-related p53 proteins are preferentially degraded by MDM2 as dimers rather than tetramers. *Genes & Development*, 32(5-6), 430-447. doi:10.1101/gad.304071.117
- Khan, M., & Pelengaris, S. (2013). *The Molecular Biology of Cancer: A Bridge From Bench to Bedside*. New York: Wiley-Blackwell. URL: <http://pc124152.oulu.fi:8080/login?url=>
- Kingsolver, J. G., & Pfennig, D. W. (2004). Individual-level selection as a cause of Cope's rule of phyletic size increase. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 58(7), 1608-1612.
- Kuphal, S., Wallner, S., & Bosserhoff, A. K. (2013). Impact of LIF (leukemia inhibitory factor) expression in malignant melanoma. *Experimental and Molecular Pathology*, 95(2), 156-165. doi:10.1016/j.yexmp.2013.06.012
- Locasale, J. W., & Liberti, M. V. (2016). The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends in Biochemical Sciences*, 41(3), 211-218. doi:10.1016/j.tibs.2015.12.001
- Lodish, H., & Lodish, H. (2000). *Molecular cell biology* (4th ed pp.). New York (NY): W. H. Freeman. URL: <https://oula.finna.fi/Record/oula.846204>

- National Center for Biotechnology Information. (2018). LIF LIF, interleukin 6 family cytokine [Homo sapiens (human)]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3976>
- Nunney, L. (1999). Lineage selection and the evolution of multistage carcinogenesis. *266*(1418), 494-495. URL: <https://www-ncbi-nlm-nih-gov.pc124152.oulu.fi:9443/pmc/articles/PMC1689794/>
- Rodriguez, K. A., Osmulski, P. A., Pierce, A., Weintraub, S., Gaczynska, M., & Buffenstein, R. (2014). A cytosolic protein factor from the naked mole-rat activates proteasomes of other species and protects these from inhibition. *Biochimica Et Biophysica Acta*, *1842*(11), 2060-2072. doi:10.1016/j.bbadis.2014.07.005
- Rothschild, B. M., Tanke, D. H., Helbling, M., & Martin, L. D. (2003). Epidemiologic study of tumors in dinosaurs. *Die Naturwissenschaften*, *90*(11), 495-500. doi:10.1007/s00114-003-0473-9
- Sane, S., & Rezvani, K. (2017). Essential Roles of E3 Ubiquitin Ligases in p53 Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(2), 442. doi:10.3390/ijms18020442
- Shadfan, M., Lopez-Pajares, V., & Yuan, Z. (2012). MDM2 and MDMX: Alone and together in regulation of p53. *Translational Cancer Research*, *1*(2), 88. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23002429>
- Soussi, T. (2017). p53gene. URL: http://p53.free.fr/p53_info/p53_gene.html
- Tollis, M., Boddy, A. M., & Maley, C. C. (2017). Peto's Paradox: how has evolution solved the problem of cancer prevention? *BMC Biology*, *15*(1), 1-5. doi:10.1186/s12915-017-0401-7
- Vazquez, J. M., Sulak, M., Chigurupati, S., & Lynch, V. J. (2018). A Zombie LIF Gene in Elephants Is Upregulated by TP53 to Induce Apoptosis in Response to DNA Damage. *Cell Reports*, *24*(7), 1765-1776. doi:10.1016/j.celrep.2018.07.042

Warburg, O. (1956). On the Origin of Cancer Cells. *Science*, 123(3191), s. 309-314. doi:10.1126/science.123.3191.309

Weber L, Schulz WA, Philippou S, et al. Characterization of the Olfactory Receptor OR10H1 in Human Urinary Bladder Cancer. *Front Physiol.* 2018;9:456. Published 2018 May 16. doi:10.3389/fphys.2018.00456

Venot, C., Maratrat, M., Dureuil, C., Conseiller, E., Bracco, L., & Debussche, L. (1998). The requirement for the p53 proline-rich functional domain for mediation of apoptosis is correlated with specific PIG3 gene transactivation and with transcriptional repression. *The EMBO journal*, 17(16), 4668-79.