

Ricardo Resende

**Estudo comparativo e diferencial dos genes Mob: os
interactuantes proteicos e expressão transcricional em
contextos de normalidade e tumorais**



**UNIVERSIDADE DO ALGARVE
MESTRADO ONCOBIOLOGIA
FARO
2019**

Ricardo Resende

**Estudo comparativo e diferencial dos genes Mob: os
interactuantes proteicos e expressão transcricional em
contextos de normalidade e tumorais**

MESTRADO ONCOBIOLOGIA, 2º ANO.

Dissertação para obtenção do título de mestre em
Oncobiologia – Mecanismos moleculares do Cancro
Cell Cycle and Cancer Biology Group, CBMR,
Departamento de Ciências Biomédicas e Medicina,
UALG.

Trabalho efetuado sob a orientação de:

Orientador: Professor Álvaro Tavares.

Co-orientadora: Doutora Cláudia Florindo.



UNIVERSIDADE DO ALGARVE
MESTRADO ONCOBIOLOGIA
FARO
2019

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS E MEDICINA
2019/2020

TÍTULO:

Estudo comparativo e diferencial dos genes Mob: os interactuantes proteicos e expressão transcricional em contextos de normalidade e tumorais

DECLARAÇÃO

Eu, Ricardo Jerónimo Assenhas Sutil Resende, proclamo que esta dissertação é exclusiva e fruto da minha originalidade onde o trabalho e o tempo despendido como investigador foram gastos para a obtenção do grau de mestre apenas e unicamente na Universidade do Algarve do Departamento de Ciências Biomédicas e Medicina onde lhe é concebida o direito vitalício de arquivar e publicitar esta dissertação em impressos em formato de papel ou digital, divulgação científica e cópias para fins distributivos, de estudos e de investigações futurísticos e não comerciais com a obrigatoriedade de dar o merecido crédito ao autor e editor. Admito que as citações dos trabalhos, que recorri, de autores conceituados estão listadas na secção **10. BIBLIOGRAFIA, subtema 10.1. Referências**, e pronunciados ao longo deste trabalho.

Copyright Ricardo Resende

Faro, 28 de outubro de 2019

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho a muitas pessoas que possibilitaram dar o ânimo, a coragem e a oportunidade de realizar esta pesquisa que se focou no estudo dos Mob que são proteínas essenciais na vida de uma célula e em casos oncológicos.

Primeiramente, agradeço ao diretor do curso do mestrado, Professor Dr. Álvaro Tavares por aceitar em ser o meu mentor, tendo sempre a intuição e a disponibilidade de orientar os meus primeiros passos na investigação científica, adaptando as minhas dificuldades aos desafios, tendo assim proferido conselhos de qualidade que beneficiaram os meus momentos de introspeção e de espírito crítico.

Aos colegas de laboratório pela amabilidade que norteou a um ambiente de trabalho de qualidade nos curtos tempos que estive presente.

À Universidade do Algarve pela minha formação em Biologia e por providenciar um mestrado em oncologia, espaço laboratorial e material necessário para a realização da dissertação.

Aos meus pais pelo apoio necessitado e ao esforço incondicional de não desistir face às dificuldades.

Por último aos futuros leitores deste trabalho que consigam chegar a uma conclusão plausível de todo o conteúdo que consegui analisar das bases de dados, esperando que tenha utilidade para muitos estudos que possam vir a decorrer no âmbito destas proteínas.

Ricardo Resende

Faro, 2019

ÍNDICE

DECLARAÇÃO	I
AGRADECIMENTOS	II
LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE TABELAS	VI
ABREVIATURAS, SIGLAS E DEFINIÇÕES	VII
1. RESUMO	1
2. ABSTRACT	3
3. INTRODUÇÃO	5
3.1. A família mob	5
3.1.1. Subfamília MOB1A/1B	8
3.1.2. Subfamília MOB3A/3B/3C	14
3.1.3. Subfamília MOB2	15
3.1.4. Subfamília MOB4	17
3.2. Filogenia da família mob	18
3.3. Vias celulares que incluem os mob	22
3.4. Divisão celular. Revisão de conceitos	32
3.5. Nomenclaturas adotadas	34
4. OBJETIVOS DO ESTUDO	35
5. HIPÓTESES ABORDADAS PARA O HPA E <i>STRING v10.5</i>	35
6. MATERIAL E MÉTODOS	40
6.1. Percentagens de identidade dos sete mobs de humanos nos diferentes organismos	40
6.2. HPA. Análise transcricional relativa dos sete genes mob	40
6.3. <i>STRING v10.5</i> e tabulação dos interagentes dos sete mobs	44
7. RESULTADOS	46
7.1. Proteínas mob. Percentagens de identidade das sequências de a.a	46
7.1.1. Em diferentes organismos	46
7.1.2. Entre humanos	48
7.2. Fidelidade da expressão transcricional entre o HPA, GTEx e FANTOM5	50
7.3. Expressão transcricional relativa	58
7.3.1. Base de dados HPA	58
7.3.2. Base de dados GTEx	66

7.3.3. Base de dados FANTOM5.....	74
7.3.4. Base de dados TCGA.....	82
7.4. Interatuantes dos sete mobs.....	101
7.4.1. Número total de interatuantes de cada mob.....	109
7.4.2. Número de interatuantes em comum aos sete mobs.....	110
7.4.3. Número de interatuantes partilhados entre os sete mobs.....	111
8. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES.....	113
8.1. Quanto à expressão transcricional relativa dos sete mobs.....	114
8.2. Quanto aos interatuantes dos sete mobs.....	120
8.3. Limitações dos estudos.....	122
9. PERSPETIVAS FUTURAS.....	123
10. BIBLIOGRAFIA	125
10.1. Referências.....	125
10.2. Páginas web.....	137
11. ANEXOS.....	141

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	7
Figura 2	9
Figura 3	11
Figura 4	13
Figura 5	17
Figura 6	21
Figura 7	23
Figura 8	25
Figura 9	27
Figura 10	28
Figura 11	29
Figura 12	30
Figura 13	31
Figura 14	14
Figura 15	35
Figura 16	36
Figura 17	38
Figura 18	39
Figura 19	41
Figura 20	43
Figura 21	44
Figura 22	45
Figura 23	46
Figura 24	58
Figura 25	61
Figura 26	66
Figura 27	69
Figura 28	74
Figura 29	77
Figura 30	82
Figura 31	85
Figura 32	88

Figura 33	92
Figura 34	95
Figura 35	97
Figura 36	100
Figura 37	109
Figura 38	111
Figura 39	112

LISTA DE TABELAS

Tabela I	34
Tabela II	48
Tabela III	49
Tabela IV	51
Tabela V	52
Tabela VI	53
Tabela VII	54
Tabela VIII	55
Tabela IX	56
Tabela X	57
Tabela XI	86
Tabela XII	93
Tabela XIII	96
Tabela XIV	101
Tabela XV	102

ABREVIATURAS, SIGLAS E DEFINIÇÕES

- Mob** - do inglês “Mps One Binder protein”;
- hMob** – do inglês “Human Mps One Binder protein” / Proteína Mob de Humanos;
- Dmob** – do inglês “Drosophila Mob” / Proteína Mob de Drosófila;
- SPB** - do inglês “Spindle Pole Body” / Corpos nucleares do fuso mitótico da *S. cerevisiae* e da *S. Pombe*;
- mRNA** - do inglês “Messenger RNA” / RNA Mensageiro (RNAm);
- a.a.** – do inglês “aminoacids” / aminoácidos;
- cDNA** – do inglês “Complementary” DNA / DNA Complementar (DNAc);
- T-DBG** - do inglês “Transcriptome De Bruijn Graph” / Gráfico transcriptômico De Bruijn;
- PMI** – do inglês “Pos-Mortem Interval” / Intervalo post mortem;
- STRIPAK** - do inglês “Striatin-interacting phosphatases and kinases” / Fosfatases e quinases que interagem com estriatina;
- RAM** - do inglês “Regulation Ace2p Morphogenesis” / Regulação da morfogênese com Ace2p;
- MOR** - do inglês “Morphogenesis Regulation Network” / Rede de regulação da morfogênese;
- HIPPO** - do inglês “Salvador-Warts-Hippo pathway” / Via Hippo (Hpo) em *Drosófila Melanogaster* ou MST1/2 em humanos;
- MEN** – do inglês “Mitotic Exit Network” / Rede fosforilativa para saída de mitose da *S. cerevisiae*;
- SIN** - do inglês “Septum Initiation Network” / Rede fosforilativa para formação do septo da *S. Pombe*;
- SCI** - do inglês “Spinal Cord Injury” / Injúria espinhal em ratinhos irreversível;
- RT-PCR** - do inglês” Real Time Polymerization Chain Reaction” / Reação em cadeia de polimerização em tempo real;
- FAK/PTK2** - do inglês” Focal Adhesion Kinase” / Cinase de adesão focal;
- Paxillin** – Paxilina (fator de adesão focal);
- PLK1** – do inglês “polo kinase 1” / Cinase polo 1;
- APC** – do inglês “Anaphase Promoting Complex” / Complexo promovedor de anafase;
- GSK3 β** - do inglês “Glycogen synthase kinase 3 beta” / Glicogênio sintase cinase 3 beta;

Bases de dados

HPA – do inglês “Human Protein Atlas” / Atlas da Proteína Humana;

GTE_x – do inglês “Genomic Tissue Expression” / Expressão Genómica Tecidual;

FANTOM5 – do inglês “Functional Annotation of Mammalian Genomes 5” / Anotação funcional de genomas de mamíferos 5;

TCGA – do inglês “The Cancer Genome Atlas” / Atlas do Genoma do Cancro;

STRING – do inglês “Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins” / Ferramenta de busca para a recuperação de genes e proteínas interativas;

Unidades

TPM – do inglês “**Transcripts** per Million/ Transcritos por Milhão (unidade do **HPA**);

RPKM – do inglês “**Reads** per Kilobase per Million” / Segmentos por Kilobase por Milhão (unidade do **GTE_x** para **single end RNA-seq**);

TagsPM – do inglês “**Tags** per Million” / Tags por Milhão (unidade do **FANTOM5**);

FPKM – do inglês “**Fragments** per Kilobase per Million” / Fragmentos por Kilobase por milhão (unidade do **TCGA** para **paired end RNA-seq**);

Designações

Mitotic Rounding – processo que prepara a morfologia celular para uma forma esférica e simétrica para facilitar os primeiros passos da divisão de uma célula;

Osmotic Swelling - processo que designa a entrada de água para a célula por osmose e que mantém a forma esférica da mesma;

ESCRTIII – Complexo de proteínas citosólicas: ESCRT-0, ESCRT-I, II, III. Envolvido na remodelação de membrana (fusão de vesículas e abscisão) juntamente com o complexo

Centralspindlin;

Centralspindlin – Complexo motor envolvido na citocinese e na ingressão da membrana constituído por duas subunidades: KIF23 (kinesina-6), RACGAP1 (enzima com um domínio Rho GTPase);

Transcripts/ Transcritos – designação dada aos produtos da transcrição de um determinado gene que podem ser contabilizados por **Reads**, **K-mers** (No **HPA** esses mesmos são provenientes dos **Reads** e que são contabilizados como transcritos com a

técnica do **Kallisto**), **Tags** ou **Fragments**, porém, com a junção **PM**, ficando **TPM**, adquire um novo significado que retrata um estágio de normalização matemática dos mesmos por milhão;

Reads – pequenas sequências de nucleótidos que no seu conjunto formam um **cDNA** derivado de um sequenciamento e que são mapeados para um genoma ou para os exões de um transcriptoma de referência;

Fragments – trata-se dos fragmentos emparelhados por dois **Reads** de **cDNA** distanciados intergenicamente em duas extremidades que são mapeados para um genoma ou para os exões de um transcriptoma de referência;

Single end RNA-seq – tipo de sequenciamento para apenas um read de **cDNA** não emparelhado derivado de cada RNAm de um transcrito (menor especificidade);

Paired end RNA-seq – tipo de sequenciamento para dois reads do mesmo **cDNA** emparelhados (formando um fragmento) derivados de um RNAm de um transcrito (maior especificidade);

Tags – nome referente aos **cDNAs** contabilizados dos RNAm anteriormente detetados pelos seus **Caps** na técnica do **CAGE**;

Cap – nome que designa a extremidade líder do RNAm retratada como **Tag** quando é detetada por **CAGE** e sequenciada posteriormente;

CAGE – do inglês “**Cap** Analysis of Gene Expression” é uma técnica experimental formulada por **Takahashi et al, 2012**⁽²⁵⁾ e adotada pelo **FANTOM5** para a detecção de RNAm maduros pela extremidade **cap** dos mesmos que serão posteriormente sequenciados;

Score – pontuação matemática calculada por matrizes e atribuída a uma determinada associação derivada de uma ou várias evidências e metodologias do **STRING**;

Combined Score – traduzido por “**Score** combinado” é uma pontuação geral derivada de um processo matemático cumulativo e penalizador dos diferentes scores de diferentes canais de evidência e metodológicos da base de dados do **STRING** (ver um deles ilustrado no **ANEXO 27**);

Kallisto – técnica bioinformática formulada por **Bray et al, 2016**⁽⁴⁾ e usufruída pela base de dados HPA recorrendo a um **T-DBG** para a contabilização dos **K-mers** em **transcritos** (ver **ANEXOS 25 e 26**);

K-mers - sequências que constituem um **read**, isto é, são os produtos de um read segmentado que são usados no **Kallisto** com o **T-DBG** e contabilizados como **transcritos** (ver **ANEXO 25**);

COG Mode – modo que o **STRING** tem de juntar os ortólogos dos diferentes organismos (**ANEXO 27**) agrupando os mesmos em um grupo (COGx) ao atribuir-lhes um grau de equivalência funcional apenas se cada um partilhar a mesma ortologia, isto é, que foram originadas da especiação de um gene ancestral em comum (homólogos) e supor que os mesmos realizam funções semelhantes tendo assim o mesmo grau de igualdade (**interólogos**) formando então um grupo que é comparado com outros grupos (COGy, COGz, ...);

Interólogos - pares de ortólogos num organismo que interagem numa via celular e que têm homólogos que interagem da mesma forma num outro organismo diferente na mesma via celular tendo então um grau de conservação interativo;

Passos matemáticos de cada métrica

RPKM: 1º - Contagem dos reads de cada gene em cada replicado, 2º - Somar os valores do passo 1º em cada replicado, 3º - Dividir o valor total do passo 2º por um milhão, 4º - Obterem-se o fator de escala por milhão, 5º - Dividir o fator de escala pelos totais de reads contados para cada replicado do passo 1º, 6º - Obtenção do valor em RPM, 7º - Dividir os valores do passo 6º pelo tamanho do gene em Kb, 8º - Obtenção dos valores em **RPKM**. **FPKM:** adota os mesmos passos matemáticos do RPKM, porém contrasta-se do mesmo por adotar o método de sequenciamento **Paired end RNA-seq**).

TPM: 1º - Contagem dos reads de cada gene em cada replicado, 2º - Dividir os valores do passo 1º pelo tamanho do gene em Kb, 3º - Obtenção dos valores em RPK, 4º - Somar os valores do passo 3º em cada replicado, 5º - Dividir o valor total do passo 4º por um milhão, 6º - Obtenção do fator de escala por milhão, 7º - Dividir os valores do passo 2º pelo fator de escala do passo 6º, 8º - Obtenção dos valores em **TPM**, (**Josh Starmer, 2015**^(10.2: 34)). Quanto ao TagsPM, que esteve incutida no protocolo dos autores **Takahashi et al, 2012**⁽²⁵⁾, (**ANEXO 24**), não foi mencionada por **Starmer**, e que portanto especulou-se que também seguiu-se os mesmos passos matemáticos onde, aparentemente, não incluí o passo de normalização para o tamanho do gene (Killobase).

1. RESUMO

Os mob são uma família de genes que expressam proteínas regulatórias distribuídas em quatro subfamílias: MOB1A/1B, MOB3A/3B/3C, MOB2 e MOB4, Tabela I., altamente conservadas e especializadas no mundo eucariótico. Foram descritas na literatura como parceiros de ligação de proteínas e de outras moléculas potencializando suas atividades em vias celulares bastante estudadas e com foco no ciclo celular, mitotic exit, polaridade, morfogênese, hippo e muitas outras. Afirmações estas que se devem ao acréscimo de estudos centralizados na subfamília MOB1A/1B que é a mais conhecida comparativamente com as restantes que se estão por estudar melhor como a MOB3A/3B/3C. Soube-se que entre as mesmas houve altas percentagens de identidade entre as suas sequências de a.a. o que não permitiu realizar-se um estudo diferenciativo da expressão proteica. Contudo, salientaram-se mais diferenças das mesmas neste estudo, ainda não abordado e em falta, referente à análise destes sete mobs de humanos quanto à abundância transcricional relativa em valores percentuais de contextos teciduais diferentes: normal e tumoral, e quanto ao número de interatuantes de cada subfamília. Transcricionalmente, os sete mobs variaram bastante. O MOB1A foi, por padrão, aquele que esteve sempre presente na grande maioria dos tecidos sendo também, no geral, o mais abundante. Porém, reportaram-se outros estados de dependência voltados para os restantes mobs: MOB1B, MOB3A, MOB3B (que foi o menos abundante e candidato a ser o mais estável, porém, mesmo tendo maior expressão no Caudate, apresentou níveis que não justificassem uma grande dependência ou sensibilidade noutros tecidos estudados), MOB3C, MOB2 e MOB4 em tecidos como o Adrenal Gland, Cerebral Cortex, Heart Muscle, Caudate, Hippocampus, Pancreas, Prostate cancer e muitos outros. Teve-se o caso do MOB2 que foi o mais expresso e o que mais subiu em quase todos os casos tumorais, porém, foi também o menos universal porque foi o único mob que teve uma ausência de expressão nos tecidos Thymus, Pituitary Gland e Pâncreas e que apresentou níveis muito baixos nos restantes 33 tecidos. Nestas exceções ao longo das bases de dados, suspeitou-se de uma dependência específica e especializada nestes tecidos, embora que não se pode afirmar com toda a certeza devido à variabilidade do RNAm e de outras variáveis em jogo. Do contexto normal para o tumoral, reportaram-se, no geral, descidas percentuais que envolveram todos os mobs e dualidades de subidas e descidas. Houve o caso do Pancreatic cancer que teve quase uma subida percentual de todos os mobs excetuando o MOB3C que desceu, refletindo-se um caso de sensibilidade apesar da baixa

expressão dos sete mobs no pâncreas do contexto normal. Neste caso e de outros tumores não se soube determinar se haveria algum um tipo de compensação para um determinado mob com uma descida ou uma relação de causa ou consequência do estado tumoral. Com os interatuantes, registaram-se 218 no total de diversas categorias funcionais, maioritariamente, na classe de protein binding, cinase/transferase, fosfatases, reguladores, reguladores transcricionais e de subunidades regulatórias, scaffold, gap protein, chaperonas e hidrolases inseridos, com maior frequência, na categoria da supressão tumoral. O MOB1A foi o detentor de mais parceiros de ligação juntamente com o MOB1B, devido à alta identidade que partilham, suspeitando-se de uma dualidade funcional e em segundo com o MOB2, também com a suspeita de ter também uma dualidade funcional ou algum tipo de compensação. Para o subtipo MOB3A/3B/3C viu-se, assim como entre o MOB1A e o MOB1B, que partilharam mais elementos entre si do que com outros subtipos, também se sugerindo que tivessem uma dualidade funcional ou algum tipo de compensação ainda por se descobrir. Por fim, o MOB4 foi o único dos mobs que tendo um maior número de interatuantes que o subtipo MOB3A/3B/3C compartilhou menos dos mesmos com os restantes mobs e que, portanto, teve-se a questão de o mesmo poder realizar funções diferentes no mesmo organismo, porém, não se ignoraram os números baixos de parceiros em comum tendo-se as mesmas sugestões mencionadas anteriormente.

Palavras chave: mob; *HPA*; expressão transcricional relativa; *STRING*; score combinado; tumorigénese.

2. ABSTRACT

Mob are a family of genes that express regulatory proteins distributed in four subfamilies: MOB1A/1B, MOB3A/3B/3C, MOB2 and MOB4, Table I., highly conserved and specialized in the eukaryotic world. They have been described in the literature as binding partners for proteins and other molecules enhancing their activities in well studied cell pathways with focus on cell cycle, mitotic exit, polarity, morphogenesis, hippo and many others. These statements are due to the addition of more centralized studies in the MOB1A/1B subfamily, which is better known compared to the remaining underdeveloped studies such as MOB3A/3B/3C. It was known that there were high percentages of identity between their a.a. sequences which did not allow a differential study of protein expression. However, further differences were noted in this unaddressed and missing study on the analysis of these seven human mobs for relative transcriptional abundance in percentage values of different tissue contexts: normal and tumor, and number of interactors for each subfamily. Transcriptionally, the seven mobs varied widely. MOB1A was, by default, the one that was always present in the vast majority of tissues and was also generally the most abundant. However, other states of dependence related to the remaining mobs were reported: MOB1B, MOB3A, MOB3B (which was the least abundant and candidate to be the most stable, but, even having a higher expression in Caudate, presented levels that did not justify a large dependence or sensitivity in other tissues studied), MOB3C, MOB2 and MOB4 in tissues such as Adrenal Gland, Cerebral Cortex, Heart Muscle, Caudate, Hippocampus, Pancreas, Prostate cancer and many others. There was the case of MOB2 which was the most expressed and the highest in almost all tumor cases, but it was also the least universal because it was the only mob that had an absence of expression in the Thymus, Pituitary Gland and Pancreas tissues and showed very low levels in the remaining 33 tissues. In these exceptions throughout the databases, a specific and specialized dependence on these tissues has been suspected, although this cannot be stated with certainty due to the variability of mRNA and other variables at play. From the normal context to the tumor, overall percentage declines were reported that involved all mobs and dualities of ascents and descents. There was the case of Pancreatic cancer which had almost a percentage rise of all mobs except for the downward MOB3C, reflecting a case of sensitivity despite the low expression of the seven mobs in the normal context of pancreas. In these case and other tumors, it was not known whether there would be some kind of compensation for a particular mob with a descent or a cause or

consequence relationship of the tumor state. With the interactors, there were 218 in total from several functional categories, mainly in the class of protein binding, kinase/transferase, phosphatases, regulators, transcriptional and regulatory subunit regulators, scaffold, gap protein, chaperones and hydrolases, with higher frequency in the category of tumor suppression. MOB1A was the holder of more liaison partners with MOB1B due to the high identity they share, suspecting a functional duality and secondly to MOB2 also suspected of having a functional duality or some sort of compensation. For the MOB3A/3B/3C subtype, as well as between MOB1A and MOB1B, they shared more elements with each other than with other subtypes, also suggesting that they may had a functional duality or some kind of compensation yet to be discovered. Finally, MOB4 was the only one of the mobs that even with a greater number of interactors than the MOB3A/3B/3C subtype, shared less interactors with the other mobs and therefore had the issue that it could perform different functions in the same organism, however, the low numbers of common partners were not ignored having the same suggestions mentioned above.

Keywords: mob; *HPA*; relative transcriptional expression; *STRING*; combined score; tumorigenesis.

3. INTRODUÇÃO

3.1. A família mob

Os mob, conhecidos como “Mps (Monopolar spindle) One Binder 1 kinase activators”, são, de acordo com a literatura, fosfoproteínas regulatórias e ativadoras de elementos moleculares como as cinases do tipo AGC: DBf2/20, Sid2, LATS1/2 (warts, *drosophila melanogaster*), NDR1/2 (STK38/L, Trc *drosophila melanogaster*), Cbk1, Orb6, SAX1 (sensory axon guidance-1, *caenorhabditis elegans*), COT1 (Serine/threonine-protein kinase cot-1, *neurospora crassa*)^(46, 68, 79, 100) e do tipo “mammalian sterile 20-like kinase family”: MST1/2 (stk4/3)^(48, 57, 59, 61, 63) bastante estudadas e importantes em vias como o ciclo celular, mitotic exit, polaridade, morfogénese, hippo e outras identificadas no **subtema 3.3**. Cinases essas que, tendo uma dinâmica funcional e génica muito diversa^(62, 68, 79), precisam de ser fosforiladas no segmento de ativação e no motivo hidrofóbico para orquestrar o ato fosforilativo dos seus substratos regulando a atividade e localização celular dos mesmos^(62, 68), sendo então reguladores chave das vias anteriormente mencionadas⁽⁶⁸⁾ que quando desregulados podem nortear a doenças como o cancro⁽⁶²⁾. Com estes estudos, notou-se que o ganho de atenção para os mob esteve, indiretamente e dependentemente, associado ao estado de atividade destes parceiros com que interagem tendo os mob uma influência na integridade celular como um todo. Portanto, foi-se crescendo esta atenção desde a descoberta dos mesmos no final dos anos 90 pelos pioneiros **Luca e Winey, 1998**⁽⁹²⁾ que quando estudavam a divisão celular e a manutenção da ploidia na *saccharomyces cerevisiae* procurando por novos interatuantes⁽³⁾ identificaram o Mob1p que interage com o Mps1p (Monopolar Spindle 1^(3, 92)), uma cinase necessária para a duplicação do SPB (spindle pole body) e regulação do checkpoint mitótico⁽⁹²⁾ onde a parceria da mesma com o Mob1p demonstrou-se indispensável para ativação, estabilização e orientação da mesma para o local de ação^(29, 33), regulando a saída de mitose (mitotic exit) e modular a citocinese nestes organismos⁽¹⁸⁾, vendo-se também o caso de certos mobs como o MOB2 de não poder substituir, funcionalmente, o MOB1, estipulando-se que executam funções diferentes^(1, 3, 5) assim como para os restantes mobs embora que haja falta de conhecimentos em subfamílias como o MOB3A/3B/3C⁽³⁾. Reportou-se que também são proteínas bem conservadas ao longo da evolução^(1, 6, 63) e especializadas no mundo eucariótico^(3, 6, 29), adotando uma estrutura globular⁽⁸⁾, **Figura 3.**, que comprime um tamanho que ronda os 210 e os 240 a.a. nas formas canónicas^(29, 34)

(~25 kD nos humanos, GeneCards) embora que registaram-se isoformas que podem ter outros tamanhos^(10.2: 19. – 25.).

Apesar da quase inexistência de estudos dos mob nas plantas pelo facto das mesmas adotarem um estilo de vida mais simples⁽²⁹⁾, houve poucos que mencionaram a sua importância em plantas modelo como a *medicago sativa* (alfafa)⁽¹⁰⁵⁾ e a *arabidopsis thaliana*⁽¹⁰⁶⁾ tanto durante o seu desenvolvimento embrionário como no seu knockdown que norteou a defeitos na esporogénese, gametogénese, atrasos na apoptose, na sinalização do transporte e biossíntese de auxina e no ciclo celular, isto é, apresentaram dados consistentes e semelhantes com os de mamíferos no controlo proliferativo, porém a sua função ainda continua obscura e merecem futuras atenções^(72, 105, 106).

Reportou-se também que durante o desenvolvimento embrionário do peixe zebra (*danio rerio*), o mob (mats) demonstrou uma expressão transcricional difusa pelo embrião pelo que os autores estipularam que esteja envolvido numa apoptose controlada de células embrionárias⁽⁷⁶⁾.

Mesmo com todos estes estudos e aqueles mais adiante mencionados, houveram poucos referentes ao estudo comparativo da expressão dos sete mobs, contabilizando-se, no total, 2 estudos^(6, 63) que apresentaram diferenças transcricionais quer quantitativamente⁽⁶⁾ quer qualitativamente⁽⁶³⁾. O caso da expressão proteica dos mobs, foi ignorada porque verificou-se que os mesmos partilharam entre eles altas percentagens de identidade, **Tabela III.**, o que poderia levar a interpretações ambíguas. Voltando à expressão transcricional, mencionam-se os estudos de **Ye et al, 2009**⁽⁶⁾ que reportaram uma expressão dos genes mob de humanos especializada em diferentes tecidos e durante o desenvolvimento onde registaram membros teciduais (neonate/recém-nascido, fase infantil, juvenil e embyoid body/corpo embrionário) com uma expressão de zero TPM envolvendo os mobs hMATS2, hMOB2A/B/C e hMOB3 (dados não apresentados) e, semelhantemente com os dados deste projeto, registaram que o hMATS1 (MOB1A/1B) tiveram uma maior média de expressão questionando os autores a finalidade dos mob nos tecidos como um todo⁽⁶⁾. Qualitativamente, apresenta-se a **Figura 1.** que ilustra o estudo de **Chow et al, 2009**⁽⁶³⁾ quanto à expressão transcricional dos sete genes mob em 20 tecidos diferentes de acordo com a qualidade do sinal do RT-PCR usando como controlo a beta actina. Observaram também que houve uma expressão seletiva dos sete genes mob em determinados tecidos sugerindo o facto de que os mesmos possam exercer funções diferentes⁽⁶³⁾. Repararam que houve uma ausência de mobs em certos tecidos como o rim e fígado⁽⁶³⁾, **Figura 1.**, o que não condizera com os resultados deste projeto onde

detetou-se, quantitativamente, a presença dos sete. Observaram uma especificidade tecidual do MOB3B na traqueia supondo os mesmos que este mob possa estar a exercer uma função diferente. Registaram uma ausência do MOB1A no rim, fígado, pulmão, traqueia, útero e no cólon o que contradiz os resultados deste projeto. O MOB3A foi expresso no testis e no timus contrariamente ao MOB3B que foi expresso no fígado fetal, glândula de tiróide e traqueia. Para o MOB3C, MOB2 e MOB4, exceptuando o rim e a traqueia, tiveram uma boa qualidade no sinal de expressão na grande maioria dos tecidos e, por fim, o MOB2 detetado no rim, **Figura 1**.

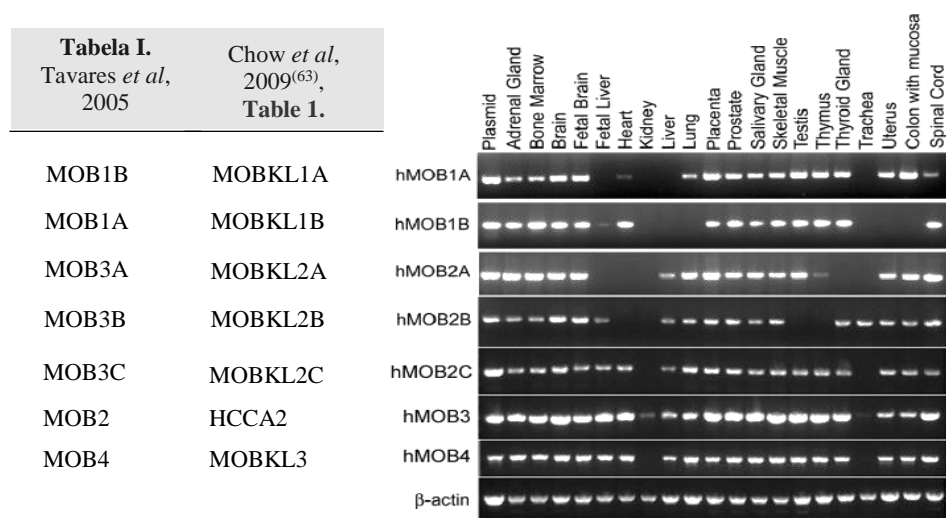


Figura 1. RT – PCR: Expressão transcricional qualitativa dos sete genes mob em 20 tecidos diferentes e designados com outras abreviações. Figura retirada de: **Chow *et al*, 2009⁽⁶³⁾**. Alterado.

Tendo-se adquirido estes resultados provindos de um menor número de estudos, ainda se demonstravam elusivos, pouco comparados com outras bases de dados e pouco atualizados quanto às diferenças dos sete genes mob na expressão transcricional. Como tal, pretendeu-se, com este trabalho, primeiramente, atualizar-se estes dados e salientarem-se melhor estas diferenças em valores percentuais com o recurso à base de dados *HPA (Human Protein Atlas)* que apresentou os valores de abundância transcricional relativa dos sete genes mob em quatro fontes de contextos diferentes: *HPA (normal)*, *GTEX (normal)*, *FANTOM5 (normal)* e *TCGA (tumoral)* e assim talvez poder-se estabelecer uma correlação dos mesmos em processos como os de proliferação celular. Um outro problema foi também a falta de trabalhos que respeitassem o número de parceiros moleculares a identificar para cada mob ou o número de partilhas existentes entre os sete. Na literacia académica, soube-se apenas que os mesmos interagem com as

cinases porque foram os parceiros mais estudados embora que possam haver muitos mais com diferentes perfis funcionais e tumorigênicos (oncogene, supressão tumoral, apoptótico ou driver). Para servir este propósito, recorreu-se ao *STRING v10.5*, uma base de dados dedicada à procura de evidências e de metodologias que suportem os networks gerados para as sete proteínas *query* de estudo, classificando cada interação por um score combinado de todas as evidências e metodologias aplicadas, **Figura 22**.

Para uma ilustração dos objetivos seguidos, consultar **4. OBJETIVOS DO ESTUDO**.

3.1.1. Subfamília MOB1A/1B

Este subtipo familiar, descrita comumente como *mob1* ou *mats* em *drosophila melanogaster*, seria aquela que está melhor caracterizada de entre as quatro subfamílias *mob*⁽⁶³⁾ não só nas vias em que estão incluídas e no patamar em que atuam (com uma função ainda pouco conhecida), **subtema 3.3.**, mas também estruturalmente, **Figura 3.** e interativamente para com as cinases MST1/2 e LATS1/2, **Figura 4.**

Nesta subfamília, as duas proteínas MOB1A e MOB1B foram as únicas que partilharam uma alta percentagem de identidade tanto entre as mesmas (~96%), **Tabela II.**, como entre outros homólogos (~79%), **Tabela III.**

Apesar de adotarem um mesmo tamanho na forma canónica (216 a.a., ~25,1 KDa., Gene Cards), registou-se que as mesmas estavam localizadas em cromossomas diferentes em sentidos diferentes com um número de isoformas não equalitário:

MOB1A (Q9H8S9): 2p13.1 – reverse strand, 5 transcritos que variam entre 5 e 2 exões e que não produzem uma proteína funcional^(10.2: 19.),

MOB1B (Q7L9L4): 4q13.3 - forward strand, 4 transcritos que variam entre 4 e 7 exões onde dois não produzem proteínas e outros dois produzem duas proteínas de tamanhos 130 e 221 a.a. sem função conhecida^(10.2: 20.).

Ambas partilharam o mesmo número de parálogos (7), porém, diferente proporção de ortólogos: MOB1A, 78 e MOB1B, 135^(10.2: 19., 20.).

Esta subfamília *mob* foi também a primeira de todas a ser reportada como um supressor tumoral na via hippo ou Salvador-Warts-Hippo pathway (SWH), **Figura 8.**, tendo sido identificada em 2005 pelos autores **Lai et al, 2005**⁽³²⁾ durante um período de descoberta cronológica dos elementos pertencentes a esta via⁽¹⁰⁾, **Figura 2.** Demonstraram os mesmos⁽³²⁾ que o *mob1* de humanos pode, funcionalmente, substituir o seu homólogo *mats* em *drosófila* salvando então os mutantes da letalidade e que a perda do mesmo

norteou a um crescimento descontrolado em moscas de mosaicismo⁽³²⁾. Mais tarde, um outro estudo⁽¹⁸⁾, também em acordo com o anterior, avaliou o MOB1A/1B como um supressor tumoral^(15, 18) porque num dos estudos observaram que alelos intactos de MOB1A ou MOB1B seriam essenciais para a embriogénese de ratinhos e que a perda de um destes alelos selvagens nestes ratinhos geneticamente modificados para um knockdown induzido por tamoxifeno, resultaria num desenvolvimento tumoral nos mesmos ou numa letalidade embrionária no caso de um knockdown dos dois mobs (Nishio, Miki *et al*, 2012⁽¹⁸⁾). Também um outro estudo, envolvendo um dos autores anteriores, demonstrou que a depleção do MOB1A/1B em ratinhos com esta construção génica para o tamoxifeno, os levou à sua morte ao fim de 10 a 12 dias reportando uma hiperproliferação em células epiteliais intestinais, defeitos na linhagem específica de secreção e perda de células estaminais intestinais⁽⁵¹⁾. Com a depleção do MOB1A/1B, também se reportaram defeitos na condrogénese (condrodysplasia) em ratinhos induzidos também por tamoxifeno⁽⁵³⁾.

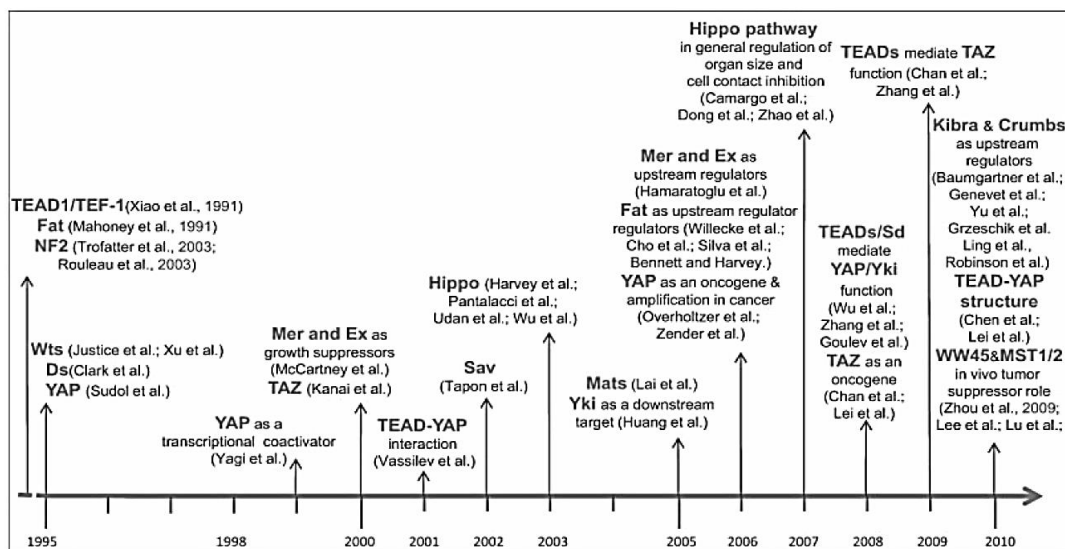


Figura 2. Cronologia dos eventos de descoberta dos elementos da via hippo incluindo a proteína mob (mats) pelos autores **Lai et al, 2005**⁽³²⁾. Figura retirada de **Chan et al, 2011**⁽¹⁰⁾. Alterado.

Com respeito a outras temáticas de estudo, compreendeu-se que o MOB1A e o MOB1B possam ter uma não redundância funcional especulando-se que tenham funções especializadas, porém ainda não muito bem definidas^(1, 2, 6). Um estudo do knockdown do MOB1A/1B com siRNA em células hela reportou uma falha na abscisão do midbody (híper-estabilização dos microtúbulos comprovado com o tratamento nocodazole), maior motilidade celular e um maior tempo de separação dos centríolos, porém, curiosamente,

uma sobreexpressão do MOB1A/1B leva a falhas na separação dos centrossomas, estipulando que as mesmas possam ter, entre elas, uma dualidade funcional ou que agem em cinases diferentes⁽²⁾. O Mob1 foi também considerado como um marcador de polaridade ao concentrar-se nos pólos posteriores da *tetrahymena thermophila* onde a sua depleção causou também uma incorreta posição do eixo de divisão, atrasos na citocinese e na ciliogénese⁽¹⁾. Também foi demonstrado que o MOB1A/1B pode complexar-se com TbPK50 da *t. brucei*, uma cinase homóloga à Orb6 da *s. pombe*. Knockdown da MOB1A/1B neste organismo fez também desregular o posicionamento do plano de clivagem e atrasos na citocinese⁽⁶⁶⁾. Quanto à expressão de ambas nos diferentes tecidos também evidenciaram uma não redundância funcional sendo o MOB1A, geralmente, mais expresso que o MOB1B⁽⁶³⁾. Houve também os estudos de **Song et al, 2018**⁽⁸⁶⁾ que propuseram a via PTEN–GSK3β–MOB1⁽⁸⁶⁾, **Figura 11.**, sugerindo que o MOB1, sob o efeito do knockdown do PTEN por silenciamento lentiviral, norteou ao crescimento de terminações em células neuronais de ratinho após o SCI (Spinal Cord Injury) e que estes efeitos foram revertidos por desregulação do MOB1⁽⁸⁶⁾. Apesar destes resultados e a descoberta da participação do MOB1 na via PTEN–GSK3β–MOB1, assumiram que ainda se desconhecem outros processos à posteriori do MOB1 para a formação dos prolongamentos neuronais⁽⁸⁶⁾. Também se reportou o envolvimento do MOB1A/1B na sinalização com o NDR1/2-MOB2 sendo o MOB2 o inibidor do complexo NDR1/2-MOB1A/1B embora que ainda seja-se muito especulativo⁽⁵⁵⁾, **Figura 8.**

Estruturalmente, a subfamília MOB1A/1B foi descrita como uma estrutura globular que compacta 9 hélices alfa (7 hélices alfa: H1 no N-terminal e H9 no C-terminal), e 2 hélices 3,10 alfa: H3, H6) e de 1 folha beta estabilizada por um átomo de zinco, que possivelmente, mantém a estrutura do MOB1, suportado por 2 Histidinas (Hist161 e Hist166) e 2 Cisteínas (Cys79 e Cys84)⁽⁸⁾. Para facilitar o processo de cristalização, estudos anteriores, **Stavridi, Elena S. et al, 2003**⁽⁸⁾, excluíram essa extremidade devido à natureza flexível da extremidade N-terminal do MOB1⁽⁸⁰⁾, porém, na **Figura 3., I.**, acrescentou-se a mesma para fins de conhecimento. Suspeitou-se que os restantes mobs também poderiam adotar esta estrutura ou similar⁽⁶⁾ embora que ainda seja um tema de estudo pouco explorado nesses mobs. Continuando, propôs-se também que o MOB1 possa adotar uma estrutura autoinibida pela sua extremidade N-terminal⁽⁶⁹⁾, **Figura 3., IV.**, envolvendo ~20 resíduos do MOB1⁽⁶⁹⁾ especulando os autores⁽⁶⁹⁾ que a fita S_N e a hélice Switch (SW) do MOB1, **Figura 3., IV.**, poderem contribuir para a autoinibição do mesmo por interação eletrostática por pontes de sal (salt bridges) entre esses resíduos e o

domínio core do MOB1 impedindo a interação com o LATS1/2 formando uma folha beta e uma cadeia S2⁽⁶⁹⁾, **Figura 3., IV.** Estipularam os mesmos⁽⁶⁹⁾ e outros autores⁽⁵⁾ que as interações entre o MOB1 e o LATS1/2 e NDR1/2 seriam plausivelmente por pontes de hidrogénio e de Van der Waals.

Nestas interações, os autores⁽⁵⁾ identificaram um conjunto de a.a. entre as hélices H2, H5 e H7 cobertos pela extremidade N-terminal do MOB1 dedicados às interações com cinases⁽⁵⁾. Esses a.a. foram, primeiramente, o D63 (Asp/ácido aspártico) na hélice H2 do MOB1 (substituído por um resíduo treonina no MOB2)⁽⁵⁾ que foi considerado o a.a. chave para a interação com o resíduo His646 (histidina) da hélice αA do domínio NTR/SMA do LATS1/2 sendo um determinante para diferenciar-se a ligação entre NDR1 (que tem, no lugar da histidina, a Phe31)-MOB1 e LATS1/2-MOB1⁽⁵⁾. No MOB1, reportaram-se também outros a.a.: E49/51 do loop H1 (não conservados no MOB2 sendo substituídos por resíduos do tipo lisina, glutamina, isoleucina e/ou valina⁽⁵⁾) e E55 da hélice H2 envolvidos nas interações com a superfície positivamente carregada do domínio NTR/SMA com os resíduos Arg656, Arg659 e Lys660 da hélice αA e Arg693 e 696 da hélice αB , respetivamente⁽⁶⁹⁾. Ao passo que as lisinas 104 e 105 (K104, K105) do MOB1, **Figura 3., I.**, estariam dedicadas à interação com o MST1/2 nas treoninas 353, 363 e 378 (Thr353, Thr363, Thr378)⁽⁵⁾ e as T12 e T15 do MOB1 consideradas como resíduos alvo de fosforilação pelo MST1/2⁽⁵⁾. Por fim, reportaram também que a K153 e R154 (arginina)⁽⁵⁾ das hélices H4 e H5⁽⁶⁹⁾, poderem fazer parte da região de interação com o praja2^(5, 67).

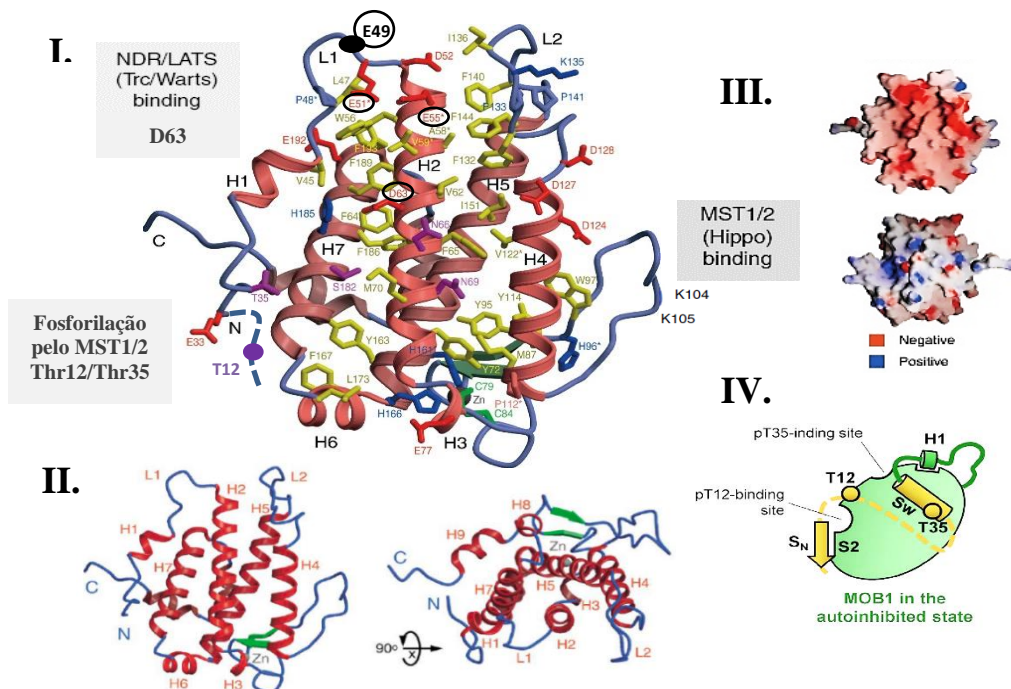


Figura 3. Estrutura tridimensional (**I.**, **II.**), superfície eletrostática (**III.**) e estado autoinibido do MOB1A/1B. (**IV.**). **LEGENDA:** **C**irculos – a.a. chave identificados para as interações com o domínio NTR/SMA; **D** - ácido aspártico; **E** – ácido glutâmico; **W** – triptofano; **F** – fenilalanina, **T** – treonina, **K** – lisina; **Sw** – Switch hélix (H1, H2, H7, H4-H5-Loop); **Sn** – Fita Sn; **S2** – cadeia (strand). *Nota.* A treonina 12 (**T12**) não estava ilustrada na estrutura, logo, acrescentou-se a extensão ao N-terminal. Figuras retiradas de: **Kulaberoglu et al 2017**⁽⁵⁾ (**II.**), **Stavridi, Elena S. et al, 2003**⁽⁸⁾ (**I.**, **III.**), **Kim et al, 2016**⁽⁶⁹⁾ (**IV.**). Alterado.

Quanto ao modo de interação da subfamília MOB1A/1B, foi proposto um modelo⁽⁸⁰⁾, **Figura 4.**, onde os autores sugeriram a hipótese de o MST2 poder autoativar-se devido à possibilidade das mesmas de homodimerizarem-se⁽⁸⁰⁾. De seguida, o complexo MST2-MST2, com a ativação do T-loop nas T180, consegue fosforilar vários resíduos de treoninas na região próxima ao domínio SARA do MST2, isto é, formando “docking sites” por um processo de dynamic scaffolding permitindo a interação entre o MOB1, **Figura 3., I.**, e dois espaços de ancoramento do MST2, denominados de p-treonina (pT) binding site e sequência hidrofóbica binding site (HS), **Figura 4., passo 1.** Especularam que seria a pT378 do conjunto T349, T356 e T364 do local pT binding que interagiria num sulco positivamente carregado do MOB1 enquanto que o M379 se inseria num sulco hidrofóbico do MOB1. Porém, houve autores que sugeriram que a interação MST1/2-MOB1 ocorreria entre as lisinas 104 e 105 do MOB1⁽⁵⁾. Depois propuseram⁽⁸⁰⁾, que estas interações permitem uma alteração conformacional da estrutura autoinibitória do MOB1, **Figura 3., IV.**, norteando-se a uma maior exposição da sua superfície de contacto carregada negativamente, dando-lhe uma maior competência de interagir com o LATS1, especificamente, na superfície de um domínio bihélico repartido por duas hélices antiparalelas αA (que ficaria num sulco hidrofóbico do MOB1 entre o H2 e o H7) e αB ⁽⁶⁹⁾, **Figura 4.**, denominado NTR (N-terminal regulatory domain ou S100B/hMob1 association – SMA, bastante conservado e com resíduos básicos⁽⁶⁸⁾) carregado positivamente⁽⁸⁰⁾. Posteriormente, o complexo MST2-MST2 fosforilaria o resíduo T1079 do domínio HM (motivo hidrofóbico/hydrophobic motif⁽⁶²⁾) do LATS1 bastante conservado e próximo à extremidade C-terminal, **Figura 4., passo 2.** Esta fosforilação apesar de não conformar muito a estrutura do LATS1 e não fazer com que o domínio HM interaja com o MOB1 em particular, faz-se necessária para a uma ativação total da cinase porque o domínio HM alostericamente permite a autofosforilação do T-loop do LATS1/2 na S909 do mesmo⁽⁸⁰⁾. Sugeriram também que o MOB1 nesta fase pode agir como um

elemento dinâmico de scaffold para aproximar, transientemente, as cinases MST2 e LATS1, promovendo a fosforilação da T1079 no HM do LATS1 pelo MST2⁽⁸⁰⁾. Por fim, com o complexo transiente MST2-LATS1-MOB1, o MOB1 seria fosforilado pelo MST2, especificamente, nas T12 e T35 localizadas na extremidade N-terminal do MOB1⁽⁸⁰⁾, **Figura 4., passo 3.**, que, conseqüentemente, libertaria o complexo LATS1-MOB1 onde o MOB1 manteria a sua conformação aberta para alostericamente, promover a fosforilação da S909 no domínio catalítico do LATS1⁽⁸⁰⁾. Em suma os mesmos autores e outros concluíram que a extremidade N-terminal do MOB1 pode agir-se como um interruptor molecular mediado por fosforilação para dictar a ligação entre o MOB1 e o LATS1/2 na via hippo^(39, 77, 80).

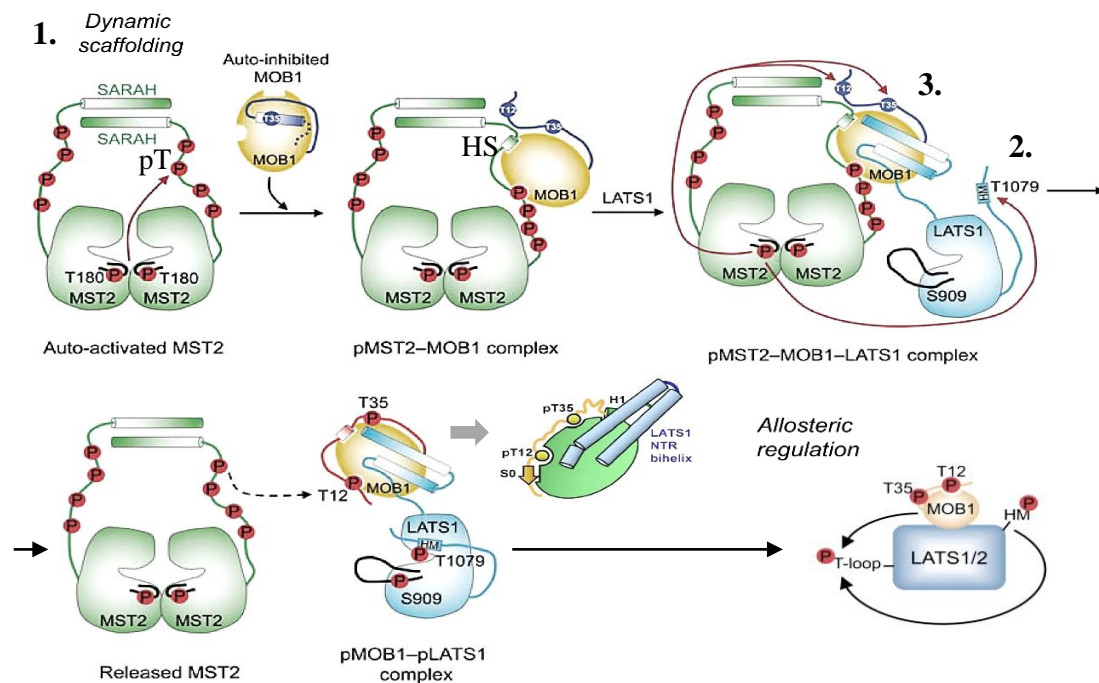


Figura 4. Cascata interativa proposta para a atividade e associação do MOB1 em duas cinases conhecidas. **LEGENDA:** 1. 2. 3. – ordem das etapas de fosforilação do MST2 para o MOB1 e LATS1; **pT** – binding site de treoninas fosforiladas; **HS** – sequência hidrofóbica do MST2. Figuras retiradas de: **Bae e Iuo, 2018⁽⁸⁰⁾**, **Kim et al, 2016⁽⁶⁹⁾**. Alterado.

Quanto às doenças, reportou-se que o MOB1A/1B estariam desregulados e em baixa expressão no colorretal e câncros do pulmão (non-small cell lung cancers)^(3, 18, 84, 88), podendo servir-se, no caso do pulmão, como um marcador de prognóstico promissor em estágios iniciais correlacionado-os com a metastase⁽¹³⁾. Outros autores afirmaram que embora que não se tenha reportado deleções cromossomais no locus 2p12., (2p13.1, **Tabela 1.**), salientam que esta região encontra-se entre os locais de deleções de muitos

casos tumorais, incluindo o linfoma de células B, Hodgkin, glioblastomas e leucemias⁽¹³⁾. Afirmaram os mesmos que também existe uma controvérsia no que toca ao significado clínico da expressão de genes envolvidos no checkpoint mitótico porque na tumorigénese, pode-se envolver vários checkpoints do ciclo celular, tornando o seu estudo ambíguo⁽¹³⁾. Houve também estudos afirmando que a deleção ou mutação génica desta subfamília na via hippo, também poderia estar associada ao melanoma^(18, 63) e cancro da mama embora que se requeiram mais pesquisas^(18, 84). Por fim, outros autores estudaram a interação do MOB1A/1B com o p53 onde os mesmos supuseram que quando o mesmo é guiado para destruição por ubiquitinação, tem-se uma atenuação da via hippo que, conseqüentemente, promove a progressão do caso do glioblastoma multiforme⁽⁶⁷⁾.

3.1.2. Subfamília MOB3A/3B/3C

Neste subtipo familiar, não se encontrou nenhum artigo que lhe englobasse numa via celular em particular, porém, soube-se de que entre os três mobs houve uma alta percentagem de identidade (82%-74%, **Tabela III.**) e entre outros homólogos (MOB3A (Q96BX8) 70,5%, MOB3B (Q86TA1) 72,5% e MOB3C (Q701A8) 68,3%, **Tabela II.**). Adotam um tamanho similar (MOB3A: 217 a.a., MOB3B: 216 a.a., MOB3C: 216 a.a. canonicamente (~25,5 KDa, Gene Cards) e sugeriu-se que estariam localizados em cromossomas diferentes com sentidos iguais e de terem um número de isoformas não equalitário:

MOB3A: 19 p13.3 – reverse strand, 8 transcritos que variam de 4 a 2 exões onde 1 não produz uma proteína e os restantes 7 produzem proteínas com os seguintes tamanhos: 217, 54, 76, 63, 38, 62 e 16 aminoácidos, 132 ortólogos e 7 parálogos^(10.2: 21.),

MOB3B: 9 p27.3 – reverse strand, 1 transcrito não codificante de proteína, 85 ortólogos e 7 parálogos^(10.2: 22.),

MOB3C: 1 p33 (ou 1p34.1, **Tabela I.**) - reverse strand, 3 transcritos: 2 codificantes de proteína (216, 268 aminoácidos) e 1 não codificante de proteína, 122 ortólogos, 7 parálogos^(10.2: 23.).

Com estas proteínas, também não se encontraram estudos que mencionassem elementos interativos e nem funções conhecidas^(3, 55, 60), porém, houve autores que estipularam que as mesmas podem não se associar com o NDR1/2 e nem com o LATS1/2^(55, 65), embora que se suspeite que interagem com o MST1/2 no caso de glioblastoma multiforme⁽⁶⁰⁾. Por se mencionar uma das doenças esta última, de acordo com o estudo de **Tang et al, 2014**⁽⁶⁰⁾

envolveu esta subfamília reportando que estaria desregulada apresentando picos opostos de expressão entre as três proteínas, isto é, enquanto que o MOB3A/3C estavam sobreexpressos (suspeitando os autores que estavam restringindo o crosstalk entre caspases e os MST1/2), o MOB3B estava subexpresso onde se preveu uma correlação significativa entre taxa de sobrevivência e altos níveis de RNAm de MOB3A/3C e o oposto no MOB3B onde uma baixa expressão correlacionou-se com uma baixa esperança média de vida⁽⁶⁰⁾. Contudo, os autores não mencionaram se estes resultados seriam uma causa ou uma consequência do estado tumoral. O MOB3B estava também associado a casos clinico-patológicos de cancro da próstata (**Kim et al, 2015**⁽⁸⁸⁾) onde novamente os seus baixos níveis de RNAm estariam correlacionados com um estágio agressivo deste caso tumoral, estipulando que o MOB3B possa ser um supressor tumoral que, possivelmente, envolva a metilação do gene MOB3B nestes tumores⁽⁸⁸⁾.

3.1.3. Subfamília MOB2

Conhecida como HCCA2, a subfamília MOB2 respeita apenas um membro com o maior tamanho registado dentro das sete na forma canonica (237 a.a., ~26,9 KDa, Gene Cards) estando localizado no cromossoma 11 p15.5, em sentido reverso (reverse strand)^(10.2: 24.). Contabilizaram-se 7 transcritos dos quais 2 produzem duas proteínas de tamanhos 268 e 234 aminoácidos e os restantes 5 que não produzem proteínas^(10.2: 24.). Totalizaram-se 134 ortólogos e 7 parálogos^(10.2: 24.). Estudos reportam que apenas cinases do tipo NDR, (não o LATS1/2)^(55, 61, 68, 79, 87, 88), é que interagem com esta proteína em particular e que compete com o MOB1 para a ligação com as mesmas onde o MOB2 pode bloquear a ativação do NDR1/2 ou estabilizar o mesmo⁽⁶⁵⁾, porém, tal afirmação é apenas especulativa^(60, 79, 90), **Figura 8**. Estipula-se também de que esteja envolvida na sinalização do checkpoint de dano no DNA para o recrutamento do Rad50 e progressão celular⁽⁹¹⁾, porém, salientaram que eram requeridos estudos futuros. Está envolvida na via RAM, **Figura 9**, e pode desempenhar um papel na morfogénese neuromuscular do olho de drosófila⁽⁵⁵⁾ onde o MOB2 esteve confinado na base do omatídeo (rhabdomere) para o desenvolvimento de fotoretores onde um knockdown por RNAi do mesmo norteou à deslocalização subcelular do recetor Crumbs e Moe refletindo-se um fenótipo severo de irregularidades no omatídeo⁽⁵⁶⁾.

Quanto ao modo de interação com o Cbk1 e MOB2, os autores **Gógl et al, 2015**⁽¹¹⁰⁾, descreveram a estrutura cristalina Cbk1-MOB2 no organismo *s. cerevisiae*, estipulando

que se assemelha muito com a interação entre o MOB1 e o LATS1/2 onde a associação com a proteína MOB2, à priori fosforilada pelo MST1/2, permitir remodelar a estrutura da Cbk1 pelo N-terminal da mesma (constituída por uma hélice α Mob e por uma região N-linker altamente conservada e rica em argininas) que interage com a superfície do MOB2 formada pelas hélices H2, H7 e pelo loop H4-H5, **Figura 5**. Consequentemente, mencionam que esta interação melhora o mecanismo alostérico do motivo hidrofóbico (HM) da cinase fazendo a mesma expor o seu domínio catalítico α C e assim conseguir interagir com os seus substratos⁽¹¹⁰⁾. Portanto, no contexto da descoberta dos autores, os mesmos sugeriram que as cinases NDR/LATS desenvolveram um domínio mecânico que requer a interação do mob, fazendo com que as mesmas comportem-se como interruptores de vias celulares⁽¹¹⁰⁾. Quanto às doenças que envolvam o MOB2, salientam-se os estudos de O'Neill *et al*, 2018⁽⁹⁸⁾ mostrando que uma insuficiência de MOB2 pode interromper a migração neuronal no córtex em desenvolvimento refletindo-se uma condição de heterotopia nodular periventricular (incapacidade de neurónios de ocuparem regiões no córtex) onde os mesmos acrescentam que possa haver um frameshift no gene MOB2 com um codão stop ou uma mutação missense norteando a LOF (Loss of function) considerando o gene suscetível a efeitos deletérios. Estipularam que tem uma função na ciliogénese porque sugeriram que o MOB2 regula negativamente o NDR1/2 impedindo que o mesmo impeça o MEKK1-4 de impedir a fosforilação da filamina A para a mesma poder reordenar o citoesqueleto⁽⁹⁸⁾. Reportou-se também que o MOB2 tenha um LOH em mais de 50% em cancros da bexiga, cervical e carcinomas ováricos, tendo um perfil de supressor tumoral ao promover a via do checkpoint do dano de DNA⁽⁹¹⁾, contudo, requerem-se mais investigações. Um outro⁽⁸⁷⁾, menciona que o knockout de MOB2 por CRISPR/Cas9 norteou a uma migração e invasão de células hepatocelulares cancerígenas sugerindo os autores que o MOB2 tenha um papel regulatório positivo na ativação da via hippo ao destabilizar o NDR1/2-MOB1 e promover uma maior concentração de LATS1/2-MOB1 fosforilado e impedir a translocação do YAP1/TAZ para o núcleo⁽⁸⁷⁾.

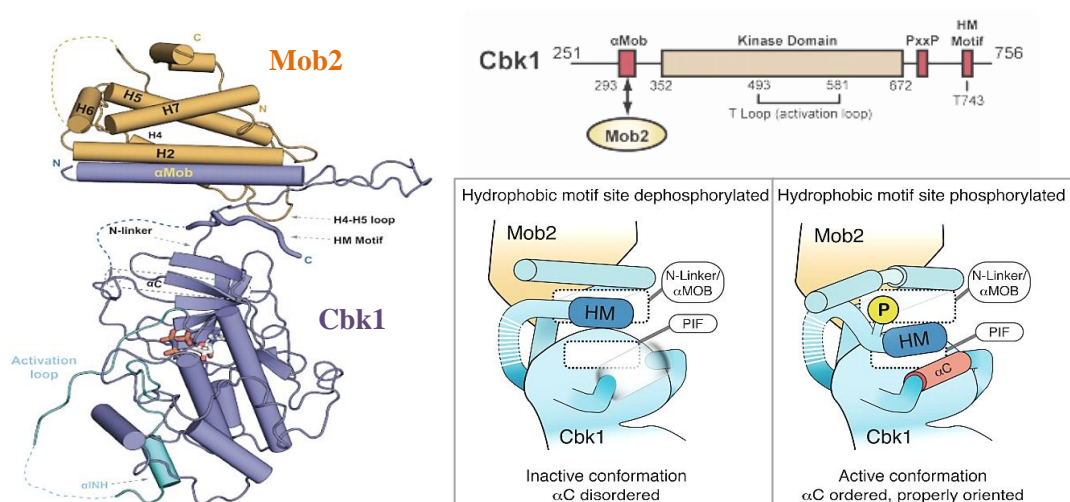


Figura 5. Interação Cbk1-MOB2 que se faz necessária para a exposição do domínio catalítico da cinase Cbk1. **LEGENDA:** PIF pocket – sulco no Cbk1; PxxP - motivo SH3 rico em prolínas, HM – motivo hidrofóbico. Figuras retiradas de: Gógl *et al*, 2015⁽¹¹⁰⁾. Alterado.

3.1.4. Subfamília MOB4

Por fim, menciona-se a subfamília MOB4 (Q9Y3A3) conhecida como Phocein ou Mob3, **Tabela I.**, também pouco caracterizada funcionalmente⁽⁴⁴⁾ com um tamanho de 225 a.a. na forma canónica (~26KDa, Gene Cards) e com um locus no braço 2 q33.1, em sentido forward^(10.2: 25.).

Apresentou 7 transcritos que variam entre 5 e 8 exões. Dentro dos mesmos 7, tiveram-se 6 que produziam isoformas com os tamanhos 204, 193, 193, 126, 51 e 45 a.a. e 1 não codificante de proteína^(10.2: 25.). Totalizam-se 151 ortólogos e 7 parálogos^(10.2: 25.).

Estudos indicaram que este subtipo de proteína mob estaria associado ao STRIPAK, um complexo multifuncional que ancora o MOB4 no domínio WD triptofano e aspartato (tryptophan–aspartate (WD)-repeat domain) na estriatina podendo estar envolvido na modulação do citoesqueleto, no tráfego vesicular⁽⁸¹⁾ e no desenvolvimento sexual de fungos filamentosos⁽⁸³⁾, **Figura 12.** Um outro estudo, Trammell *et al*, 2008⁽⁴⁴⁾, mencionou que a depleção do MOB4 em células S de drosófila por RNAi norteou a uma falha no foco dos microtúbulos aos centrossomas observando-se uma difusão dos mesmos concluindo os autores que o MOB4 tem uma função na orientação dos microtúbulos. Ora como o faz ainda se está no desconhecimento⁽⁴⁴⁾. Ainda no mesmo organismo modelo, Schulte *et al*, 2010⁽⁹⁰⁾ sugeriram que o MOB4 estando em maiores concentrações em

dendrites de células de Purkinje, poderia ter um papel proeminente na regulação do transporte axonal de vesículas e de microtúbulos (consistente com **Trammell et al, 2008**⁽⁴⁴⁾) e na regulação de ramificações neuronais⁽⁹⁰⁾, porque reportaram que o knockdown de MOB4 resultou em um crescimento excessivo de terminações axonais⁽⁹⁰⁾, isto é, um suposto contraste com os resultados da **Figura 11**, onde recorda-se a sugestão dos autores **Song et al, 2018**⁽⁸⁶⁾ que o MOB1, sob o efeito do knockdown do PTEN, norteou ao crescimento destas terminações em células neuronais de ratinho após o SCI (Spinal Cord Injury)⁽⁸⁶⁾. Portanto, nestes casos, não se soube evidenciar a hipótese de haver um crosstalk do MOB4 com o MOB1.

Na **Figura 8, direita**, teve-se o esquema sugestivo dos autores **Chen et al, 2018**⁽⁷⁸⁾ em casos de cancro pancreático que envolveram o MOB4 e o MST4 na desregulação da via MST1-MOB1-LATS1/2 que sequestram o MST1 e o MOB1, respetivamente e, conseqüentemente, ter-se a translocação do YAP1/TAZ para o núcleo, exercendo-se então uma função oncogénica. Conclusão essa porque os mesmos autores mencionaram que a alta expressão de mRNA do MST4 e do MOB4 correlacionaram-se com o crescimento e migração de células PANC-1 fazendo-as associar a um prognóstico de baixa sobrevivência⁽⁷⁸⁾. Porém, os autores não souberam se esta desregulação envolveria para além do cancro pancreático outros tipos tumorais sendo então temas de estudo para se abordarem.

3.2. Filogenia da família mob

Com os estudos de **Lai et al, 2005**⁽³²⁾ terem demonstrando que os mobs de humanos poderem, funcionalmente, substituir os mobs de drosófila e de ter então salvado os mutantes da letalidade fez questionar-se o estado de conservação e a evolução da família mob, supondo-se que os mesmos teriam de ter um significado biológico importante e comum entre organismos. Como tal, quis-se rever o percurso evolutivo dos mobs com o auxílio de vários autores como **Ye et al, 2009**⁽⁶⁾ que mencionaram a existência de um número considerável de genes mob identificados em eucariontes que rondaram ~270, isto é, ~38,6 vezes mais genes mob que os 7 originalmente propostos neste projeto em humanos. Contudo, não incluíram a filogenia de todos eles excluindo os organismos pouco relevantes como os procariontes, que, à priori, não exibiram a existência destas proteínas sugerindo-se que os mob se inovaram muito mais nos organismos eucariontes onde nem todos eles partilharam uma mesma proporção das mesmas. E as plantas que,

sendo eucariontes, adotaram um estilo de vida mais simples e que se correlacionaram com um menor número de genes mob ainda não muito bem categorizados demonstrando-se que evoluíram separadamente dos restantes organismos formando um grupo monofilético, (Vitulo *et al*, 2007⁽²⁹⁾). E, como tal, concordaram que a evolução não atingiu por igual todos os organismos^(6, 29). Portanto, supuseram^(6, 29) que houve, desde cedo, uma expansão progressiva dos mob no decorrer da unicelularidade à multicelularidade nos vertebrados com detenção de mais mobs, do que nos invertebrados, associando então os mob a uma maior complexidade celular^(6, 29).

Para tal se concluir, realizou-se um estudo filogenético onde os autores⁽⁶⁾ selecionaram 16 organismos eucariontes (*giardia lambia*, *entamoeba*, *drosophila melanogaster* (fly), galinha (chicken), rã (*frog/xenopus laevis*), minhoca (worm), *saccharomyces cerevisiae* (*budding yeast Mob1/Mob2*), human (humano), rat (ratazana), mouse (ratinho), *zebrafish*, fugu, *trypanosoma*, slime mold, *neurospora*, nematode)⁽⁶⁾ que apesar de terem ganho características diferenciadas ao longo da evolução contiveram pelo menos 1 membro da família mob⁽⁶⁾, porém, em diferentes números: mamíferos (3 organismos): **7 mobs**, peixes (2 organismos): **6 mobs**, anfíbios (1 organismo): **6 mobs**, aves (1 organismo): **5 mobs**, artrópodes (1 organismo): **4 mobs**, protistas, fungos e os de vida mais simples (8 organismos): **[1; 3] mobs**, **Figura 6**. Também com a árvore obtida, os autores⁽⁶⁾ preveram uma evolução divergente progredida por vários eventos de duplicação (principalmente, em três pontos decisivos, **circulos Figura 6**.) e de especiação, que separaram os mobs em quatro grupos familiares⁽⁶⁾, (**Figura 6, Grupos I-IV**). Primeiramente, os autores⁽⁶⁾ mencionaram o **Grupo I** que englobaria a subfamília MOB1A/1B, subdividida em MATS1 e MATS2, respetivamente, onde reportaram que os mobs dos vertebrados divergiram-se, por especiação, dos invertebrados como a drodófila (fly) com apenas 1 Mob nesta categoria⁽⁶⁾. Ainda neste grupo, suspeitaram-se que houve um ancestral MOB1B que originou o subtipo MATS1 (MOB1A), isto é, ter-se-ia ocorrido um evento de duplicação após a separação entre vertebrados e invertebrados⁽⁶⁾. Eventos esses suportados por nós internos na árvore que apontaram para uma confiabilidade de 52% e de 57%, **Figura 6**. Mencionam⁽⁶⁾ que não encontraram nenhum gene MATS nos nemátodes sugerindo os mesmos que houve uma perda específica nesta linhagem de organismos. Caso quase igual ao da galinha (chicken) que foi a única que teve apenas a proteína MOB1B e não o MOB1A e o MOB3A (**Figura 6., Grupo II, A**) interpretando os mesmos⁽⁶⁾ que houve uma perda e, talvez, uma especialização do MOB1B nesta linhagem das aves⁽⁶⁾, porém, não souberam afirmar ao certo se esta perda e, possível,

especialização incluiria todas as linhagens de aves. Junto ao **Grupo I**, observou-se o bolor limoso (slime mold) com uma pseudogenização, **Figura 6, traço vertical**, isto é, um processo de variação na sequência gênica relativamente à parental que possibilita a inatividade do mesmo, porém, saber-se se ficou inativo não mencionaram⁽⁶⁾. De seguida, tem-se o **Grupo II** que é o menos conhecido em termos de interatividade e vias celulares em que participam consistindo-se em três subgrupos mob: **MOB3A (A)**, **MOB3B (B)** e **MOB3C (C)** que novamente se afastaram dos invertebrados como o *trypanosoma*, minhoca (worm) e *drosophila melanogaster* (fly). Para além da perda do MOB3A na galinha (chicken), mencionada anteriormente, houve também a ausência do **MOB3B** na linhagem de dois peixes: *zebrafish*, *fugu* e nos anfíbios (frog), isto é, uma perda específica de linhagem para este gene mob e, talvez, uma maior especialização do MOB3A e do MOB3C⁽⁶⁾.

Posteriormente, mencionam⁽⁶⁾ o **Grupo III** que respeitou o **MOB2** e que apresentou uma divergência dos vertebrados ao clado dos invertebrados (fly e *nematode*). Destacaram-se os casos como o da rã (frog/*xenopus laevis*) e do *fugu* com uma duplicação gênica específica de linhagem, sugerindo os autores⁽⁶⁾, novamente um caso de pseudogenização suportada pelo comprimento dos ramos da árvore assim como o caso do *entamoeba*, **Figura 6. Grupo III, traços verticais**. Por fim, o **Grupo IV**, que correspondeu ao **MOB4** onde teve mais eventos de duplicação nos vertebrados do que nos invertebrados (worm, *drosophila melanogaster* (fly), *neurospora*) e estando mais próximo do outgroup⁽⁶⁾.

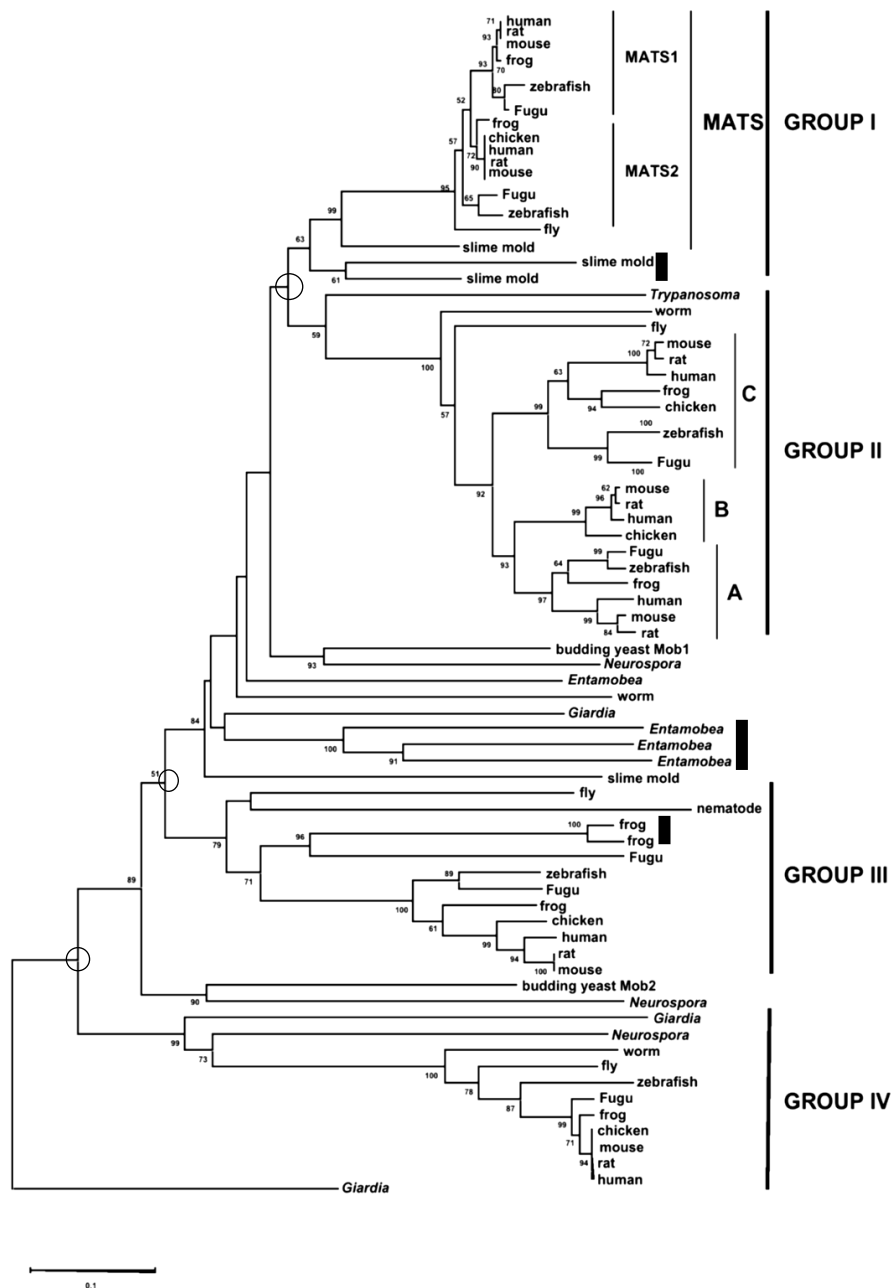


Figura 6. Filogenia dos mob em 16 organismos diferentes agrupando-os em 4 grupos evolutivos: **Group I** MATS1/2 – MOB1A/1B, respetivamente; **Group II** (A/B/C) – MOB3A/3B/3C, respetivamente; **Group III** - MOB2 e **Group IV** - MOB4. Enraizada em *Giardia lambia*, a mesma seguiu o princípio de parcimónia com o método de neighbor joining (NJ)⁽⁶⁾. O comprimento dos ramos proporcionaram-se à quantidade de mudanças infringidas numa sequência de 144 a.a. de um domínio mob que ocupa ~80% do comprimento da proteína⁽⁶⁾. Confiabilidade da árvore foi testada em 1000 reamostragens por bootstrapping, apresentando os valores percentuais de suporte abaixo de cada nó interno superiores a 50⁽⁶⁾. **LEGENDA:** [MATS1] MOB1A, [MATS2] MOB1B, [A] MOB3A, [B] MOB3B, [C] MOB3C, [III] MOB2, [IV] MOB4, **círculos:** principais eventos de duplicação, **traço vertical grosso:** pseudogenização. Figura retirada de *Ye et al, 2009*⁽⁶⁾. Alterado.

3.3. Vias celulares que incluem os mob

Com os estudos contabilizaram-se 11 vias celulares que incluíram os mobs: **MEN**, **SIN**, **hippo**, **RAM**, **MOR**, via da **regulação da morfologia das hifas de fungos**, **migração de células T reguladoras**, **PTEN–GSK3 β –MOB1**, **STRIPAK (transporte vesicular, reprodução) e ciclo celular**.

Primeiramente, mencionam-se as vias **MEN** (Mitotic Exit Network/saída de mitose) e **SIN** (Septation Initiation Network/septação) que são complexos fosforilativos num ponto de transição que permitem uma saída coordenada de uma célula filha em estado mitótico para um retorno ao estado G₁, sendo então análogas e, obrigatoriamente, bem coordenadas na divisão celular das leveduras de gemulação (*saccharomyces cerevisiae*) e de fissão (*s. pombe*), respetivamente, partilhando um certo grau de ortologia^(16, 24, 29, 40) englobando a participação do subtipo familiar MOB1A/1B (**Mob1, Figura 7.**) com uma parceria com as cinases de serina/treonina Dbf2/20 e Sid2 que são homólogas entre si^(16, 24, 29, 40) e que embora, especulativamente, realizam interações com o Mob1 similares, executam funções aparentemente conduzidas de maneiras diferentes nas duas vias: saída de mitose e septação, **Figura 7.** E que nestes casos, saber-se qual dos mobs em específico que interage mais com estas cinases permanece-se ainda uma incógnita.

Com os estudos realizados, descreveu-se que estes dois processos atingem os picos de atividade em anafase tardia decaindo-se até aos fins de telofase para procedência da citocinese^(16, 24, 29, 109). Também, outros autores discutiram a possibilidade de poder haver uma atividade pouco detetável destes processos em inícios de mitose ou mesmo em interfase, especialmente, na via melhor caracterizada que é o MEN que em possível conjugação com a via FEAR (Cdc5, Esp1, Slk19 e Spo12)⁽⁸⁹⁾, despoletam um certo nível de translocação da fosfatase Cdc14 para o citoplasma pela sua disassociação do complexo RENT no núcleo (Net1 e Sir2) em menores concentrações e poder desfosforilar inibidores de CDKs ativando-os e destruindo ciclinas ao longo das fases anteriores à anafase^(16, 24, 29, 40, 89). Apesar desta suposta atividade vestigial dos mesmos, reportou-se que o início destes processos seria mais decisivo com o balanço de elementos como o Lte1/Etd1 (GEF)^(75, 109) que estimulam a GTPase denominada Tem1 ou Spg1 a libertar o GDP e ter uma maior afinidade ao GTP quando em anafase, ativando-as juntamente com a ajuda do Cdc5/Plo1 que inibem a atividade dos complexos moleculares inibidores como o Bub2-Bfa1 (ativado por Kin4)/ Cdc16-Byr4 (GAPs) que estimulam as GTPases para um estado de inativação (GDP) quando a célula se encontra em prometáfase e a reordenar o fuso

com a fosforilação do fator de posicionamento Kar9 pelo complexo Dbf2-MOB1 que se encontra distribuído assimetricamente e que deve mediar a reorganização dos microtúbulos astrais entre as células mãe e filha⁽²⁴⁾, **Figura 7**. Portanto, aquando do correto posicionamento do plano de divisão graças ao gradiente dos elementos mencionados anteriormente⁽²⁴⁾, tem-se a ativação da GTPase em anafase e, conseqüentemente, o recrutamento dos elementos da cascata fosforilativa para o SPB de cada pólo, **Figura 7**. Posteriormente, cinases como a Cdc15/Cdc7 e Sid1-Cdc14 ativariam o complexo Dbf2-Mob1/Sid2-Mob1 que seria translocado para o núcleo e fosforilaria o Net1 do complexo RENT que sequestra a fosfatase Cdc14^(16, 24). Com esta fosforilação, tem-se a libertação da fosfatase que iria para o citoplasma ativar inibidores CDKs e promover a destruição de ciclinas permitindo a transição anafase-telofase e início da citocinese^(16, 24). Nesta fase, o Dbf2-Mob1/Sid2-Mob1 também iria colocalizar-se com o Hof1 que tendo sido fosforilado à priori pelo Cdc5/Plo1, seria novamente fosforilado desta vez pelo Dbf2-Mob1 libertando a proteína do anel de septina e permitir a sua interação com o anel de acto-miosina^(38, 89), promovendo-se a contração e a ingressão da membrana celular.

No caso do SIN, houve autores^(16, 95) que sugeriram a probabilidade de ter-se os mesmos eventos de fosforilação e de colocalização dos homólogos para a atividade do anel de constrição de actina e miosina e formação do septo reportando que desencadeia um efeito ativador para a fosfatase Flp1p/Clp1p que, assim como o Cdc14, promove o fim da mitose na *s. pombe*⁽¹⁶⁾, **Figura 7**. Saber-se como o Dbf2/Sid2-Mob1 seria recrutado nestes processos como o do anel de acto-miosina ainda não é bem percebido, embora que os autores estipulam que o complexo possa ser guiado por microtúbulos astrais⁽¹⁶⁾.

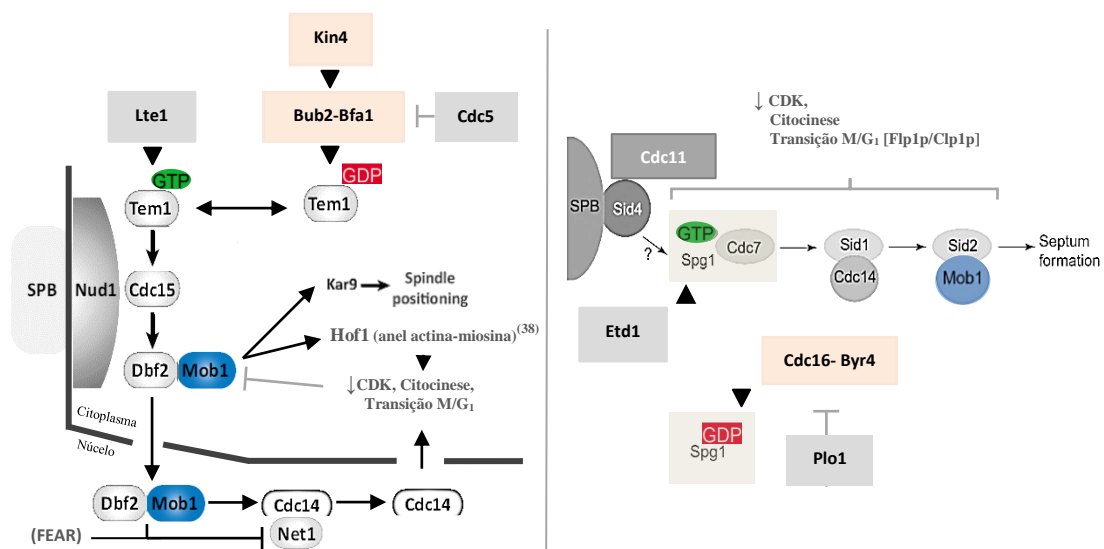


Figura 7. Vias MEN na *s. cerevisiae* (esquerda) e SIN na *s. pombe* (direita), que incluem a proteína Mob1 acoplada a duas cinases homólogas: Dbf2 e Sid2. Figuras retiradas de: **Hotz e Barral, 2014**⁽²⁴⁾ (esquerda) e **McCollum et al, 2001**⁽¹⁶⁾ (direita). Alterado.

Seguidamente, reportou-se uma via conservada e importante em contextos oncológicos que foi caracterizada em *drosophila melanogaster*^(62, 79) que é a **via hippo** ou **Salvador-Warts-Hippo pathway (SWH), Figura 8.**, que inclui a parceria de três subfamílias mob: MOB1A/1B, retratada como Mats em *drosophila melanogaster* e identificada como um supressor tumoral porque, como mencionado anteriormente, a perda desta subfamília norteou a um crescimento descontrolado em moscas de mosaicismo^(32, 76), MOB2 que, especulativamente, impede a formação do complexo NDR1/2-MOB1 sendo considerado um competidor do MOB1 e um parceiro do NDR1/2 (STK38/L) que não se associa com o LATS1/2^(3, 55) e a suspeita de participar na sinalização MRN-ATM (dano no DNA), especificamente, no recrutamento do Rad50^(55, 91). E, por fim, a MOB4 envolvida, possivelmente, em casos de cancro pancreático por destabilizar a fosforilação do MOB1 pelo MST1 assim como a interação com o LATS1/2 comportando-se como um oncogene⁽⁷⁸⁾. Ora tais estudos de carácter especulativo merecem mais aprofundamentos^(3, 55, 78, 91) assim como o desconhecimento do papel do subtipo MOB3 na via hippo tanto nos humanos como em drosófila⁽³⁾.

A via hippo, de acordo com os autores, insere-se na supressão tumoral controlando a proliferação celular, a apoptose e a integridade tecidual^(30, 79). Depende de um compêndio diversificado de sinais a upstream provindos, por exemplo, dos recetores de membrana GPCRs⁽⁹⁵⁾, Fat1-4, Crumbs, Notch e de outras variáveis extracelulares como a pressão mecânica, o contacto célula-célula, o estado da matriz extracelular, hormonas, etc^(30, 31, 92, 97). A integração destes sinais permite uma organização intracelular entre complexos como o NF2/Merlin-Kibra-Expanded (FRMD6), **Figura 8.**, que se encontram associados à membrana⁽³¹⁾ e a participação de muitos outros elementos como os MAP4Ks e o MST1/2-Sav1 recrutados pelos mesmos e que ativam o complexo LATS1/2-MOB1^(30, 31). Porém, em casos de desativação deste complexo, demonstrou-se que pode ser efetuado por regulação do MOB1 porque reportou-se que o mesmo pode interagir com a E3 ubiquitina-ligase (praja2), **Figura 8.**, que promove a sua destruição e que, consequentemente, tem-se a inatividade o LATS1/2 permitindo a progressão de casos de glioblastoma multiforme⁽⁶⁷⁾.

Como todos estes passos, tem-se a coordenação de uma cascata fosforilativa dedicada ao sequestro do proto-oncogene YAP que é um regulador transcricional e um substrato do complexo LATS1/2-MOB1 (1A ou 1B, não se soube)^(30, 31, 79), **Figura 8**. Quando fosforilado por este complexo, o YAP segue uma de duas vias: retém-se no citoplasma devido ao sequestro por proteínas 14-3-3^(30, 31, 67, 97) ou compromete-se à sua destruição por ubiquitinação no citoplasma^(30, 31), **Figura 8**. Caso haja uma falha ou uma inatividade desta via, o YAP associa-se ao TAZ formando o complexo YAP/TAZ^(30, 31, 79) que transloca-se para o núcleo associando-se aos TEADs controlados pelo VGLL4, um cofator transcricional dos mesmos⁽³⁰⁾, promovendo-se a expressão de genes associados ao crescimento tecidual e proliferativo (ciclina), inibidores de apoptose (diap1) e muitos outros^(30, 31).

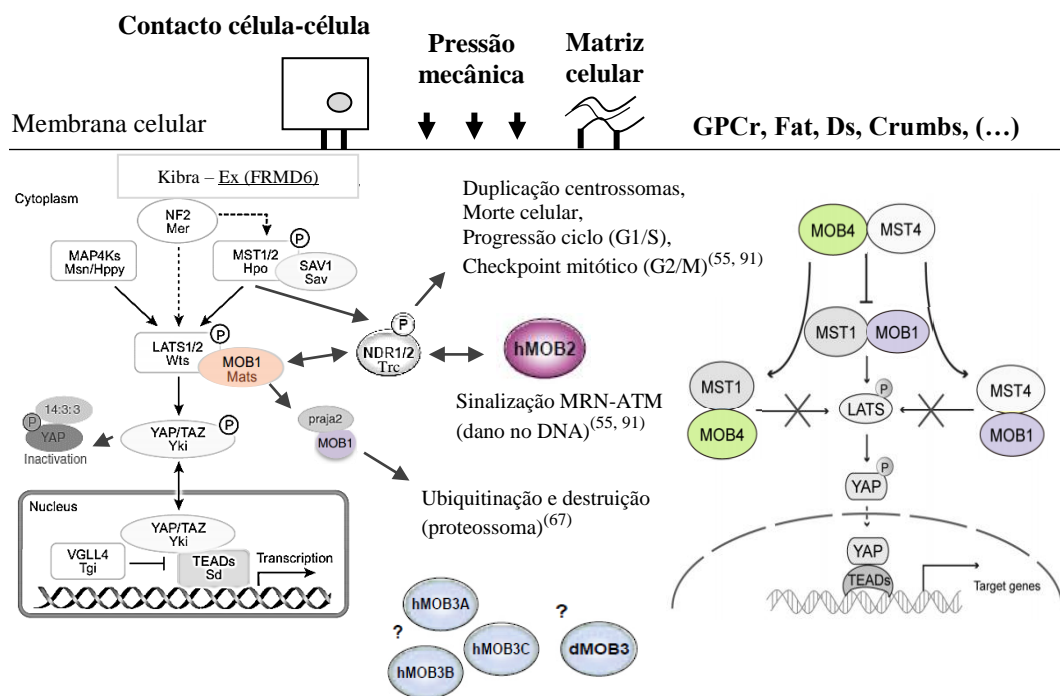


Figura 8. Via hippo em humanos resumida de dois modos por dois artigos. À direita retrata-se, especulativamente, um modo de ação da subfamília MOB4 em casos de cancro pancreático. *Nota.* Os nomes abaixo referem-se aos nomes dos homólogos em *drosophila melanogaster*. Figuras retiradas de: **Wang Yu et al, 2017**⁽³⁰⁾ (esquerda); **Hergovich et al, 2012**⁽³⁾ (meio); **Lignitto et al, 2013**⁽⁶⁷⁾ (esquerda); **Chen et al, 2018**⁽⁷⁸⁾ (direita). Alterado.

Continuando, reportaram-se mais três vias celulares que incluíram a ilustração de apenas de uma subfamília mob com apenas um elemento que é o MOB2 que fez parceria com três cinases: Cbk1, Orb6 e COT-1, respetivamente, nas vias **RAM** (regulation Ace2p

morphogenesis da *s. cerevisiae*) e **MOR** (morphogenesis network da *s. pombe*), que se focam na regulação da morfologia celular, polaridade, e transcrição de genes específicos^(29, 100), e, por fim, na via da regulação da morfologia das hifas do fungo *neurospora crassa*⁽⁸²⁾, **Figura 9**.

A primeira via celular, **RAM**, reportada para o MOB2, **esquerda, Figura 9**, consiste na fosforilação da cinase Cbk1 no domínio hidrofóbico no resíduo T743 pelo Kic1 que está colocalizado graças ao complexo de ancoragem Sog2, Hym1 e Tao3p (não representado) para assim ser ativado pelo MOB2 formando-se o complexo Cbk1-MOB2⁽²⁹⁾. Depois, o mesmo fosforila outros elementos ainda desconhecidos⁽²⁹⁾ norteando à morfologia, crescimento polarizado e ao seu translocamento para o núcleo da célula filha fosforilando vários resíduos de serina de uma sequência de exportação nuclear presente no fator de transcrição Ace2p prevenindo o seu deslocamento para o citoplasma⁽²⁹⁾. Como tal, aumenta-se a [Ace2p] no núcleo da célula filha e ajuda na expressão de genes associados à formação da parede celular e citocinese^(29, 100).

De seguida na via **MOR**, (que é a menos conhecida, porém, análoga ao RAM), reportaram os homólogos: **Nak1/Kic1**, **Orb6/Cbk1**, **Mor2/Sog2-Hym1-Tao3p** e o **Pmo25**, o único sem um conhecido e que ativa o Nak1, **meio, Figura 9**. Sem o mencionamento de um fator de transcrição como o Ace2⁽¹⁰⁰⁾ temos, semelhantemente ao RAM, a formação do complexo Orb6-MOB2 que fosforila elementos responsáveis pela manutenção da polaridade e reordenação da f-actina nos pólos de crescimento⁽¹⁰⁰⁾.

Por fim, temos uma outra via destinada ao crescimento das hifas do fungo *neurospora crassa* tendo o COT-1 como a cinase NDR principal⁽⁸²⁾ com, novamente, o parceiro de ligação MOB2. Reportaram⁽⁸²⁾ que esta cinase tem uma tendência transiente a formar homodímeros inativos, **direita, Figura 9**, com a extensão N-Terminal das mesmas que é o mesmo domínio de interação do MOB2⁽⁸²⁾. Na conformação ativa, isto é, em cinases não associadas às mesmas, apresentam uma atividade basal graças à autofosforilação no segmento de ativação pelo MOB2 na S417 tornando-se num heterodímero competente⁽⁸²⁾, **direita, Figura 9**. Por fim, os autores⁽⁸²⁾ verificaram que com a fosforilação da Thr589 no motivo hidrofóbico do COT-1 pela cinase POD6, completa-se a ativação do COT-1⁽⁸²⁾ onde, finalmente, o complexo COT-1- MOB2 pode co-localizar-se não só em toda a extensão membranar da hifa mas também na sua extremidade apical que é especificamente, restringida pelo MOB2 promovendo-se um crescimento polarizado da mesma⁽⁸²⁾.

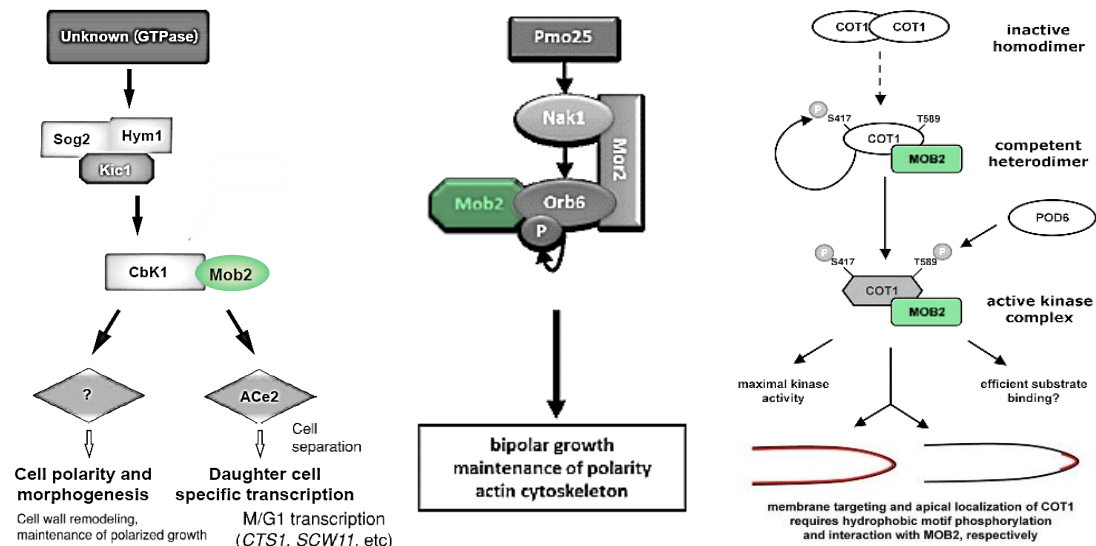


Figura 9. Três vias celulares: RAM (esquerda), MOR (meio) e via da regulação da morfologia das hifas do fungo *neurospora crassa* (direita) com as respectivas cinases Cbk1, Orb6 e COT-1 associadas ao MOB2. Figuras retiradas de: Vitulo *et al*, 2007⁽²⁹⁾ (esquerda), Weiss *et al.* (2002)⁽⁴²⁾ (esquerda), Sabine März, 2009⁽¹⁰⁰⁾ (meio) e Maerz *et al*, 2012⁽⁸²⁾ (direita). Alterado.

De seguida, ilustra-se a subfamília MOB1A/1B, retratada como Mob1, a interagir com GEFs do tipo DOCK6-8 envolvidas na migração de células T reguladoras⁽⁵²⁾ sendo, especificamente, responsáveis pela remodelação do citoesqueleto (actina) por estimularem as GTPases Rac1 associadas a *cdc42*⁽⁶¹⁾, **Figura 10.**

Primeiramente, reportam que o MST1/2, um componente da via hippo e altamente expresso em tecidos linfóides, fosforila a subfamília MOB1A/1B^(52, 61), porém, qual dos mobs em específico não se soube. Posteriormente, esta fosforilação faz com que se forme o complexo DOCK8-Mob1 promovendo, ao mesmo tempo, a ativação e localização do mesmo na membrana celular com a finalidade de estimular a atividade da GTPase Rac1 para um estado GTP e nortear-se à polimerização da actina e reorganização do citoesqueleto para a migração destas células imunes.

Apesar destas afirmações, os mesmos autores reportaram que a interação do Mob1 com os outros DOCKs foi muito transiente^(52, 61) sugerindo também a possibilidade de haver mais interações Mob1 com outros GEFs tornando-se questões que envolvem mais estudos.

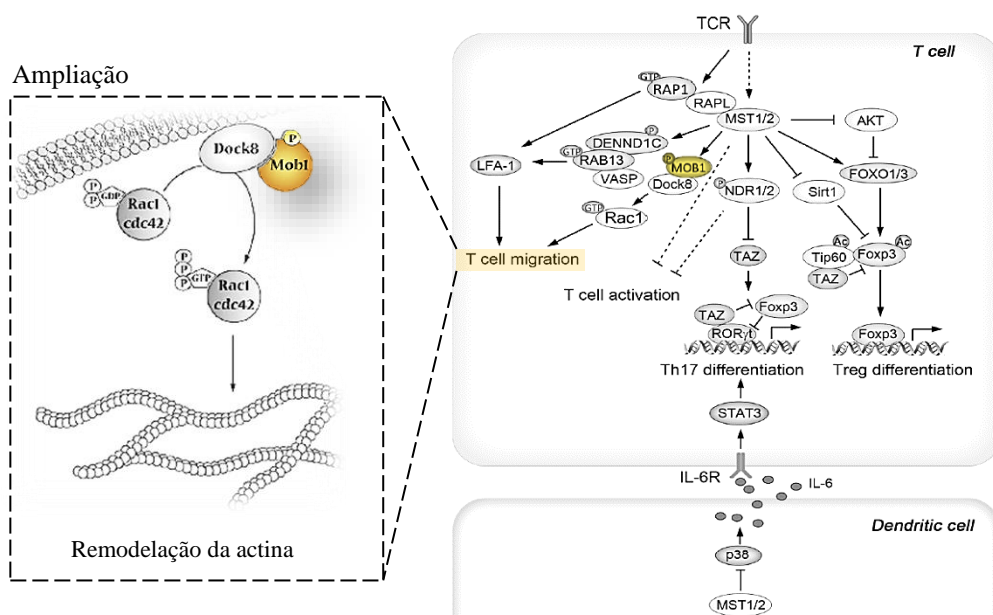


Figura 10. Imunidade adaptativa. Mob1 na migração de células T reguladoras envolvido então na remodelação do citoesqueleto (actina) ao associar-se aos DOCK6-8 que são GEFs para a GTPase Rac1. Figuras retiradas de: **Arvuch et al, 2012**⁽⁶¹⁾ (esquerda); **Hong et al, 2018**⁽⁵²⁾ (direita). Alterado.

Depois, destacou-se uma via modelo proposta por **Song et al, 2018**⁽⁸⁶⁾: **PTEN–GSK3β–MOB1**, responsável pelo crescimento de ramificações neuronais em ratinhos após a indução de danos na corda espinhal (SCI - spinal cord injury, um tipo de dano que provoca danos irreversíveis)⁽⁸⁶⁾, **Figura 11.**, que, novamente, incluiria a subfamília MOB1A/1B, embora que não especificaram o tipo de mob envolvido.

Os autores⁽⁸⁶⁾, concluíram que a via proposta controla o crescimento das ramificações neuronais após os danos na corda espinhal de ratinhos pelo MOB1 porque quando suprimiram o PTEN por shRNA em células neuronais de ratinho após SCI, deteram um aumento de proteína MOB1 por westernblot que correlacionou-se com um aumento no crescimento de terminações neuronais (axónios e dendrites)⁽⁸⁶⁾ sugerindo a possibilidade de desenvolver terapias que aumentariam a taxa de reparo de neurónios comprometidos após SCI⁽⁸⁶⁾. Para tais conclusões, propuseram uma via, **Figura 11.**, que tem início com o PTEN, uma fosfatase de supressão tumoral que impede a formação do PIP3 na membrana celular impedindo o recrutamento e a fosforilação do Akt (PKB) e a atividade de supressão do mesmo na cinase GSK3β (cinase serina/treonina envolvida no desenvolvimento neuronal e glicogénese) que regula o MOB1 ao fosforilá-lo na S146 conduzindo-o para ubiquitinação pela E3 ubiquitina ligase e destruição proteossomal⁽⁸⁶⁾. Sem o PTEN devido ao silenciamento lentiviral, tem-se o recrutamento do Akt que

reprime a ação da enzima GSK3 β permitindo uma difusão do MOB1 que atua em processos de recuperação neuronal pouco estabelecidos, **Figura 11**.

Apesar de não clarificarem a ação do MOB1, afirmaram que tal descoberta abriu novas asas à investigação no crescimento das terminações neuronais com a possibilidade do MOB1 ser um candidato terapêutico para o SCI e ser um novo substrato caracterizado para a GSK3 β ⁽⁸⁶⁾.

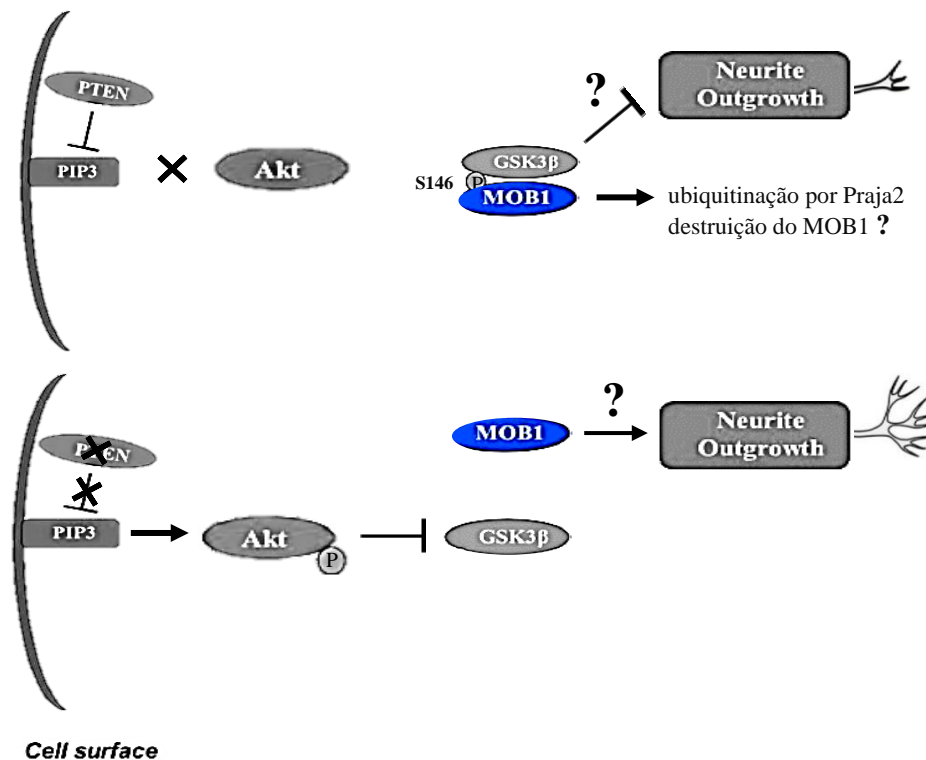


Figura 11. Via PTEN–GSK3 β -MOB1 proposta pelos autores que controla o crescimento das ramificações neuronais após danos na corda espinhal de ratinhos (SCI). *Nota.* O P indica fosforilação. Figura retirada de: **Song et al, 2018**⁽⁸⁶⁾. Alterado.

Penultimamente, ilustra-se a subfamília MOB4, denominada Mob3, como um elemento do STRIPAK. Um complexo envolvido em diferentes vias celulares com funções desconhecidas em processos como os de diferenciação celular⁽⁸³⁾ e que é constituído por estriatinas sem atividade catalítica funcionando como proteínas de ancoramento (STRN4, SG2NA, Zinedina) que permitem reunir para além da fosfatase PP2A, diversos elementos (Caveolinas, Cam, Ccm3, etc) dedicadas, por exemplo, ao importe de cálcio, modelação das junções ceulares, migração celular, controlo do MST1/2, endocitose e outros^(45, 81, 83), **Figura 12**. No caso do MOB4, reportou-se que o mesmo possa ser controlado pelo PP2A⁽⁴⁵⁾ e que pode interagir com o domínio repetido em triptofano e

aspartato (tryptophan–aspartate (WD)-repeat domain) da estriatina⁽⁸¹⁾ onde, possivelmente, ancora-se e desempenha funções na endocitose de vesículas dependentes de clatrina (Eps15), na associação com a dinamina-1 (GTPase do tráfego vesicular) e no NDK (Nucleoside-Diphosphate Kinase)^(81, 83, 92).

Para os fungos filamentosos, *s. macrospora* e *neurospora crassa*, o MOB4 como um dos elementos do complexo STRIPAK que interage apenas com PRO11 e não com a subunidade do PP2A (PP2AA) e nem com PRO22⁽⁸³⁾, **Figura 12.**, demonstrou-se crítico para os eventos de fusão celular e no desenvolvimento sexual destes fungos⁽⁸³⁾ porque os autores⁽⁸³⁾ mencionaram que os defeitos observados na fertilidade e na fusão celular com os truncamentos infringidos nos domínios WD do PRO11 (homólogo da estriatina) impediram a interação do MOB4.

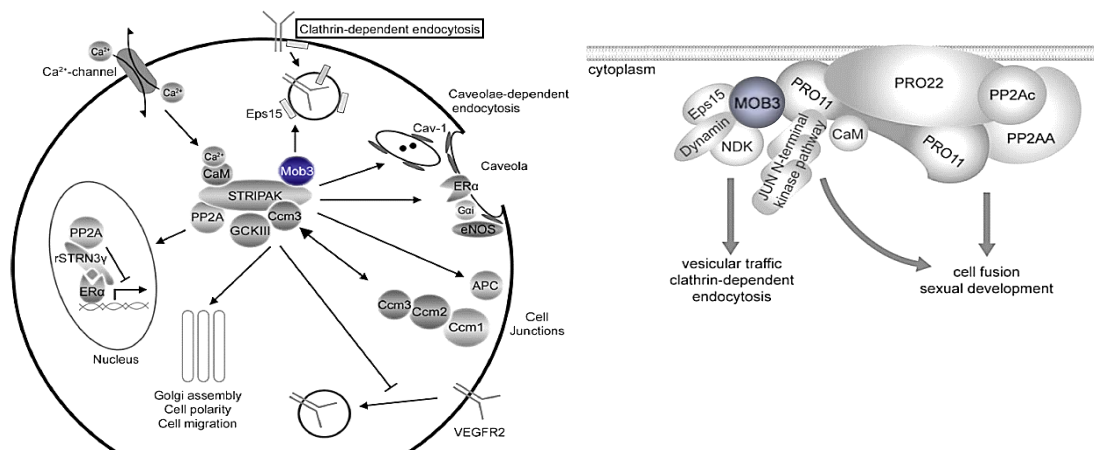


Figura 12. Complexo STRIPAK-MOB4 e seu envolvimento em diferentes vias celulares em células de mamíferos (esquerda) e de fungos filamentosos (direita). Figuras retiradas de: **Hwang e Pallas, 2014⁽⁸¹⁾** (esquerda), **Bloemendal et al, 2012⁽⁸³⁾** (direita). Alterado.

Por fim, mencionaram-se a participação das subfamílias MOB1A/1B e MOB2 no ciclo celular de células de mamíferos, **Figura 13.**, ilustrando-se a atuação das mesmas em diferentes etapas como a fase S, alinhamento cromossomas mitóticos, checkpoints e saída de mitose^(24, 29, 93). Dito isso porque reveu-se que a localização destas subfamílias mob estava associada aos tipos de cinases e complexos com que interagem e que co-localizaram-se em estruturas celulares associadas à divisão celular como os microtúbulos, centrossomas e em locais celulares como o midbody e apico-basais^(2, 93).

Uma das revisões, sugeriu que o MOB1 seria o parceiro do NDR1 quando o mesmo fosse fosforilado no motivo hidrofóbico, especificamente, no T444 pelo MST1 na fase S para,

posteriormente, co-localizar-se com o Plk4 (Polo Kinase) nos centrossomas para o processo de duplicação dos centríolos, **Figura 13**. Ora como foi o complexo NDR1-MOB1 recrutado e qual foi o modo de acção do mesmo neste processo não se soube ao certo⁽⁹³⁾.

Já na mitose, reportou-se a subfamília MOB2 associada ao complexo Furry (proteína de ancoramento que, sinergicamente, ativa o NDR1)-NDR1⁽⁹³⁾ numa fase de transição (prometáfase e metafase) co-localizando-se com os microtúbulos tendo uma finalidade no alinhamento dos cromossomas⁽⁹³⁾, **Figura 13**. No fim de mitose, reportou-se também a interação da subfamília MOB1 (1A ou 1B, não se soube) com o LATS1/2⁽²⁹⁾ numa via que, possivelmente, seja análoga ao MEN, isto é, altamente reminescente ao observado em leveduras⁽⁵⁴⁾, onde o MST2 seria, supostamente, ativado por uma GTPase ainda desconhecida nas células de mamíferos e posteriormente, estimularia o complexo LATS1/2-MOB1 que promoveria a translocação de fosfatases humanas (hCdc14A/B) para o citoplasma que terminariam o ciclo mitótico promovendo a citocinese⁽²⁹⁾. Outros estudos apontaram que o complexo LATS1/2-MOB1 também pode participar em outros processos do ciclo celular como o do checkpoint mitótico (fosforilação do Aurora B nos cinetocoros)⁽⁹³⁾, checkpoint de tetraploidia (M-G₁: via do p53)⁽⁹³⁾ e muitos outros ainda por se caracterizarem melhor^(54, 93). Terminada a mitose, reportou-se que o mesmo complexo poderia atenuar o ciclo celular facilitando a transição G₁-G₀ pela via hippo impedindo a translocação do YAP/TAZ⁽⁹³⁾.

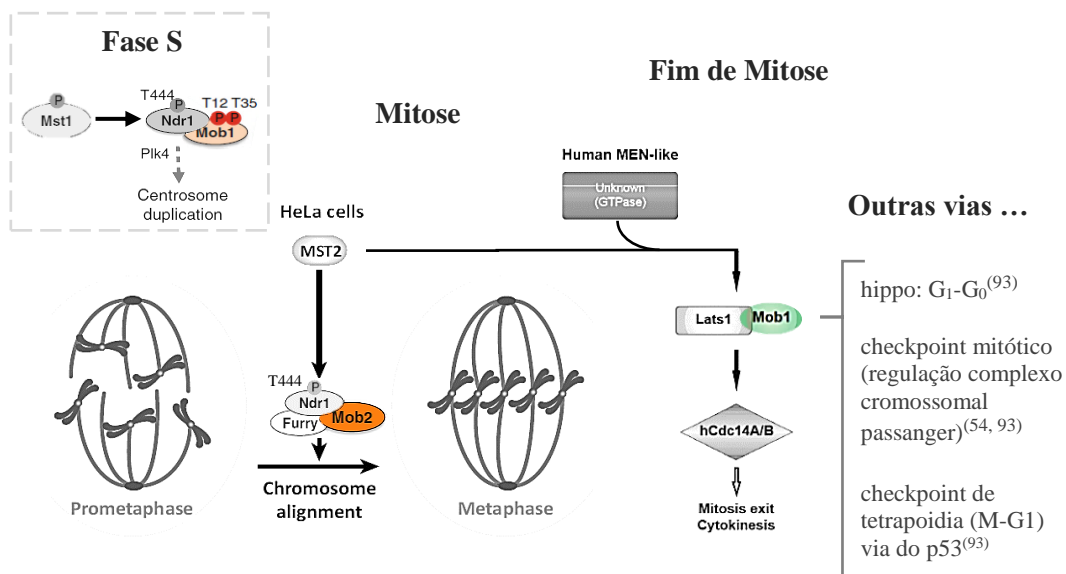


Figura 13. Ilustrações combinadas que figuram alguns dos mobs a atuarem em diferentes fases do ciclo celular de células de mamíferos. Figuras retiradas de: **Hotz e Barral, 2014⁽²⁴⁾**; **Yabuta e Nojima, 2013⁽⁹³⁾**; **Vitulo et al, 2007⁽²⁹⁾**. Alterado.

3.4. Divisão celular. Revisão de conceitos

Revisto o papel especulativo de alguns mobs no ciclo celular, esse mesmo, no caso das células animais, é unidirecional e coordenado no tempo e no espaço por três checkpoints: **ponto de restrição G₁, G₂ e metafásico**, **Figura 14. i., ii., iii.**, respectivamente, e subdividido em 9 fases: Interfase (preparação do DNA): **G₁, S, G₂**; Mitose (divisão do núcleo): **profase, prometafase, metafase, anafase e telofase**; **citocinese** (divisão do citoplasma), **Figura 14.** Fases essas que requerem mudanças dramáticas na forma, mecânica e polaridade da célula, (**Ramkumar et al, 2016**)⁽⁷⁾. Uma dessas mudanças começa pela adoção de uma morfologia simetricamente esférica da célula logo no primeiro passo da mitose⁽⁷⁾. Forma essa que é derivada de um processo denominado de “mitotic rounding” ainda desconhecido em muitos sistemas vivos que é assegurado com a entrada de água por osmose (osmotic swelling)⁽⁷⁾. Também, ao mesmo tempo, tem-se a remodelação dos fatores de adesão ao substrato que facilitam os dois processos anteriores pela atividade do complexo CDK1/ciclina B que fosforila diretamente vários componentes de adesão: integrinas, FAKs e paxilinas⁽⁷⁾.

Em interfase, tem-se dois pontos de restrição, **Figura 14., i.** ponto de restrição G₁, **ii.** ponto de restrição G₂, que verificam a compatibilidade das condições morfológicas, e intercelulares da célula ([] de moléculas mitóticas, etc) para a continuidade da divisão celular com entrada em mitose⁽⁷⁾.

Agora em mitose, a arquitetura interna da célula continua a remodelar-se em **profase e prometafase**, **Figura 14. I – III**, com a desintegração do envelope nuclear, aumento progressivo dos níveis de CDK1/ciclina B fazendo com que a célula adote rapidamente a forma esférica mencionada anteriormente graças ao feedback das proteínas mitóticas Aurora A, B e PLK1, que culminam um pico de atividade de outras cinases⁽⁷⁾, e a separação dos centrossomas que nucleam os microtúbulos para que os do tipo astrais possam capturar e alinhar os cromossomas mitóticos em **metafase**, **Figura 14., IV**, onde tem-se novamente um terceiro ponto de restrição, **Figura 14., iii.**, que desta vez analisa o correto alinhamento dos mesmos⁽⁷⁾. No fim desta fase, as mudanças morfológicas revertem-se aos poucos ficando cada vez mais notórias até ao fim de mitose devido à queda gradual dos níveis de ciclina B disponíveis para a CDK1. Porém até lá temos, primeiramente, a **anafase** onde ocorre a clivagem da coesina pela separase ativada pelo APC permitindo a migração dos cromatídeos para os pólos opostos⁽⁷⁾, **Figura 14., V – VI**. Já no fim da fase de alongamento, **Figura 14., VII**, as células se encontram em

telofase onde já se disponibiliza um espaço intercelular suficiente para o posicionamento e atividade do anel contrátil de actomiosina⁽⁷⁾ que sinaliza o final da mitose juntamente com o pico de revertência dos três passos anteriormente mencionados restaurando-se a morfologia celular interfásica (mitotic exit) com a ajuda do complexo ARP2/3 e, finalmente, cisar-se o citoplasma graças à interação dos complexos ESCRTIII e de centralspindlin⁽⁷⁾ (proteínas motoras KIF23 e RACGAP1) no corpo médio (midbody)⁽⁷⁾, (**Figura 14., citocinese, VIII**) gerando-se então, no final, duas células filhas por ciclo onde cada uma tem uma herança genética quantitativamente justa entre elas⁽⁷⁾.

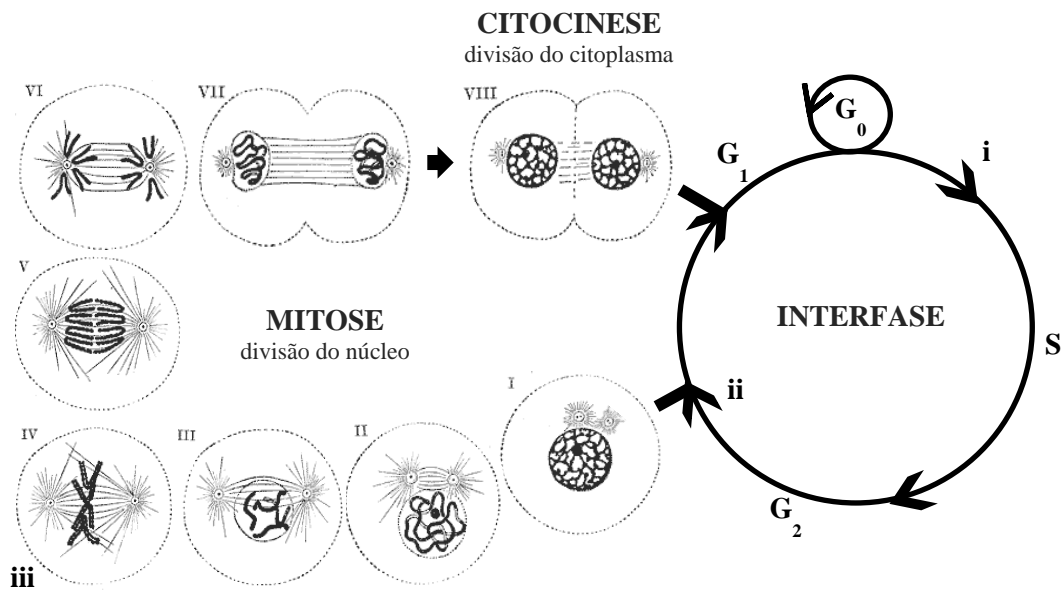


Figura 14. Ciclo celular de células animais compartimentalizada em 9 fases: Interfase (G₁, S, G₂) e Mitose [I - VIII] subdividida em **profase [I]**, **prometáfase [II - III]**, **metáfase [IV]**, **anafase [V - VI]**, **telofase [VII]** e, por fim, a **citocinese [VIII]** que marca o fim da unidirecionalidade do ciclo que será sempre controlado por três pontos de restrição (i.; ii.; iii.) indispensáveis ao mesmo. **LEGENDA:** (G₀) - gap 0; (G₁) - Gap 1; (i) - ponto de restrição G₁; (S) - fase S; (G₂) - gap 2; (ii) - ponto de restrição G₂; (iii) - ponto de restrição metafásico. Figura retirada de: **10. BIBLIOGRAFIA, 10.2. Páginas web, ponto 26.** Alterado.

Apesar da especulação do papel dos mobs no processo de divisão celular já abordado e em outras vias mencionadas no subtema 3.3. houve, ao longo dos estudos, uma profunda necessidade na escolha de uma nomenclatura para classificar os mobs. Como tal, adotaram-se as nomenclaturas tabeladas no subtema 3.5.

3.5. Nomenclaturas adotadas

Tendo-se uma ideia da decorrência dos estudos que envolveram os mobs que se refletiram numa falta de unanimidade na classificação dos mesmos⁽³⁾ e olhando-se para o bem dos objetivos seguidos neste trabalho, teve-se a necessidade de adotar uma nomenclatura para melhor diferenciar os sete propostos para este projeto. Para tal e graças à orientação guiada, recorreu-se à **Tabela I.** que não foi apenas um dos exemplos nomenclaturiais sugeridos para os mob, mas também uma escolha preferida para a atribuição dos nomes de cada mob.

Tabela I. Tabela exemplar de nomenclaturas que identificam e distinguem as proteínas mob em dois organismos diferentes: drosófila (Dmob) e humanos (hMob).

Drosophila (nós)	Dmob1 CG3403	Dmob2 CG11711	Dmob3 CG4946			Dmob4 CG13852	
Drosophila		Dmob2 ¹²	Mob3 ¹⁰			Mats	
Human (nós)	hMob1	hMob2	hMob3A	hMob3B	hMob3C	hMob4A	hMob4B
Human *	MOB4 * (MOB family member 4, phocein) 2q33.1 Previous Symbols: PREI3, MOBK13 MOB3, DKFZP564M 112, CGI-95, 2C4D, PHOCN	MOB2 * (MOB kinase activator 2) 11p15.5 Previous Symbols: hsMob2 (AJ580639) HCCA2 ¹¹	MOB3A * (MOB kinase activator 3A) 19p13.3 Previous Symbols: hsMob3A MOBK12A, MOB1C, MOB-LAK, moblak	MOB3B * (MOB kinase activator 3B) 9p21.1 Previous Symbols: MOBK12B, MOB1D, FLJ13204	MOB3C * (MOB kinase activator 3C) 1p34.1 Previous Symbols: MOBK12C, MOB1E	MOB1B * (MOB kinase activator 1B) 4q13.3 Previous Symbols: MOBK11A, MOB4A	MOB1A * (MOB kinase activator 1A) 2p13.1 Previous Symbols: C2orf6, MOBK1B, MOBK11B, FLJ10788, MOB1, FLJ11595, Mob4B, Mats1

Nota. O asterisco referencia a nomenclatura escolhida para este trabalho. O termo entre parênteses (**nós**) refere-se aos nomes que o autor da tabela pretendeu adotar e dar distinção nos seus trabalhos. Tabela criada por: **A. Tavares et al, 2015.**

Após a escolha dos nomes que as classificaram, mais seguramente seguiram-se os dois objetivos fulcrais propostos e figurados no capítulo 4.

4. OBJETIVOS DO ESTUDO

Para além de revisar-se conteúdos dos mob na filogenia, estrutura, percentagens de identidade e vias celulares em que participam, fulcralmente, pretendeu-se comparar dados bioinformáticos que distinguiram os sete mobs de humanos mediante de uma abordagem investigativa em duas bases de dados que enquadraram novos resultados da expressão transcricional dos mesmos (*HPA*), e do número de interatuantes com que interagem favoravelmente (*STRING v10.5*), **Figura 15**.

Objetivos	Bases de dados	Cálculos
	<i>HPA</i>	
Abundância transcricional relativa	Normal	Tumoral
	HPA GTEx FANTOM5	TCGA
Número de interatuantes	<i>STRING v10.5</i>	Score combinado das associações

Figura 15. Os dois objetivos fulcrais deste trabalho que fizeram recorrer às respetivas bases de dados juntamente com as metodologias de cálculo aplicadas em cada caso. **Nota.** O asterístico indica um cálculo formulado pelo autor do trabalho (ver **6. MATERIAL E MÉTODOS, 6.2.**).

Por consequência dos objetivos deste projeto aprimorou-se, para os sete mobs de humanos, os resultados diferenciativos das duas bases de dados, abordando-se uma série de hipóteses mencionadas no capítulo 5.

5. HIPÓTESES ABORDADAS PARA O *HPA* E *STRING v10.5*

As hipóteses mencionadas nesta secção destinaram-se aos estudos realizados nas duas bases de dados *HPA* e *STRING v10.5* quanto à expressão transcricional dos sete genes mob nos diferentes tecidos do corpo humano em dois contextos (normal e tumoral) e ao número e tipo de parceiros interativos com que interagem, respetivamente.

Primeiramente, antes de ter-se abordado os valores transcisionais da base de dados do *HPA*, na mesma, também se disponibilizaram os níveis de expressão proteica dos sete mobs humanos na secção da patologia. Mas antes de os ter recorrido, compararam-se as percentagens de identidade no mesmo organismo modelo (*Homo sapiens*) onde a tomada de decisão estaria dividida em duas hipóteses, isto é, ter-se-iam altos valores de identidade e/ou baixos. Ora tendo-se manifestado neste trabalho valores de identidade altos no

mesmo subtipo familiar, tomou-se a decisão de descartar os valores de expressão proteica e optarem-se pelos valores transcricionais dos sete mobs de humanos devido ao estado de ambiguidade, (**Figura 16., T2**) porém, mesmo ter-se tido em alguns casos comparativos valores baixos de identidade, nos fazendo então reconsiderar, não foram subestimados porque em uma comparação de uma sequência mob com uma de outra de um outro subtipo em que se verificou um valor de identidade baixo, uma delas poderia apresentar uma identidade alta para uma outra sequência mob e que assim sendo incutir-se-ia muitas mais dúvidas.

Por consequência deste estudo, também se estudaram as percentagens de identidade dos sete mobs de humanos em 20 organismos modelo diferentes, **Figura 16., T1**. Após o tratamento dos dados ter-se-ia então duas hipóteses quanto à identidade das sete sequências mob humanas ao longo dos organismos modelo onde uma maior identidade concluir-se-ia, especulativamente, de uma evolução convergente onde todas as sequências teriam sido expostas a uma igual força evolutiva e consequentemente realizarem uma mesma função e assim não haver uma especialização específica em nenhum dos organismos ou vestigial se as diferenças fossem ligeiras. Porém, em casos contrários, ter-se-ia especulado de uma evolução divergente com a grande probabilidade de realizarem funções diferentes sendo então especializados para os organismos de estudo, **Figura 16., T1**.

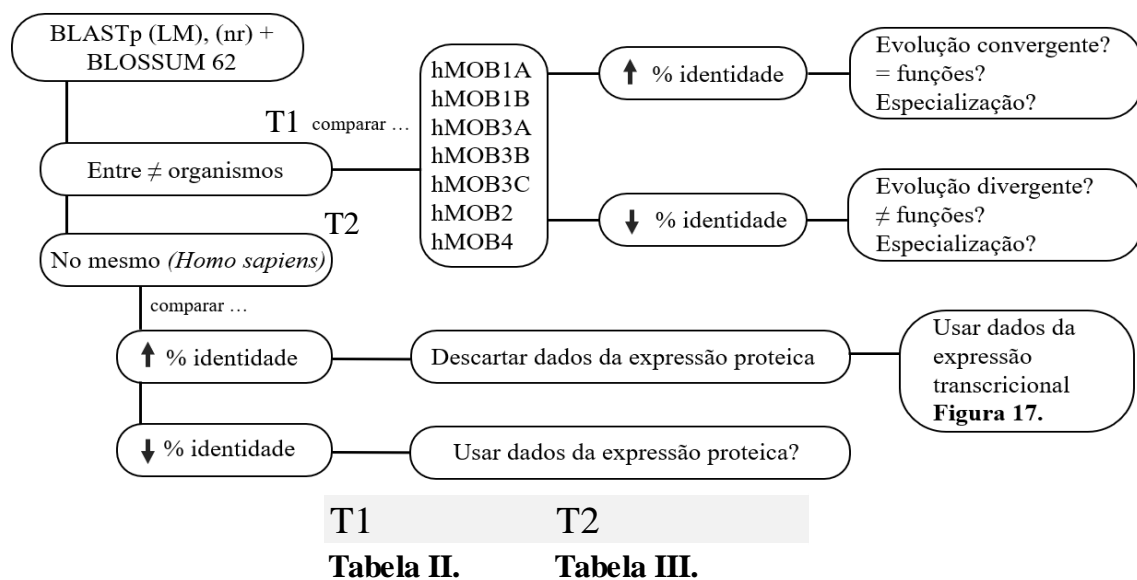
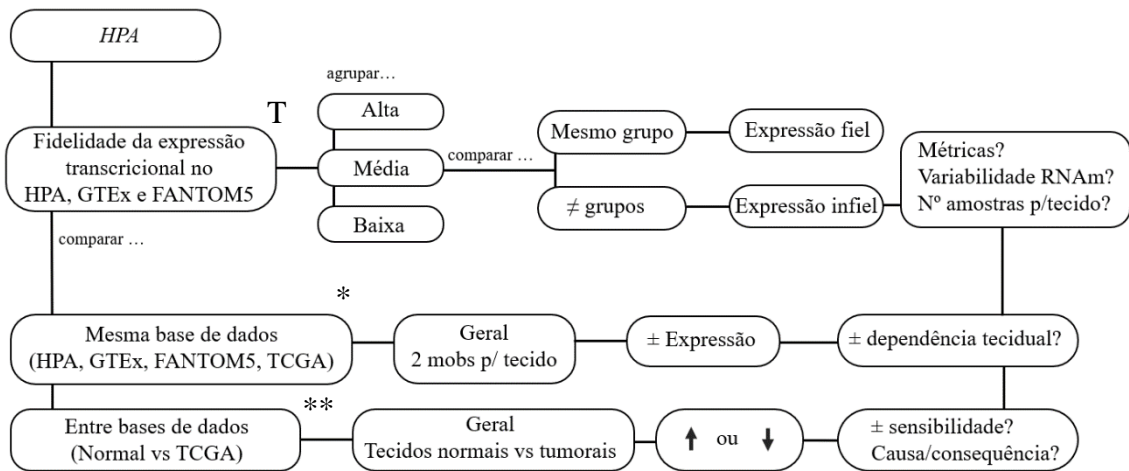


Figura 16. Resumo esquemático das opções abordadas para o ato comparativo das sequências de a.a. dos sete mobs no mesmo e em diferentes organismos juntamente com a legenda de uma letra que identifica as tabelas interpretadas para cada caso. **LEGENDA:** LM – LANDMARK; nr – não redundante.

A tomada de decisão de ignorar-se os valores de expressão proteica, norteou ao estudo da expressão transcricional dos sete mobs de humanos na mesma base de dados onde os níveis transcricionais dos sete mobs apresentaram-se em três bases de dados do contexto normal: HPA, GTE_x e FANTOM5 com unidades de medidas diferentes (TPM, RPKM e TagsPM, respetivamente). Portanto, houve a hipótese de testar a fidelidade da expressão transcricional dos diferentes tecidos de cada base de dados para então salientar-se as diferenças de expressão dos mob nos diferentes tecidos entre cada uma das três fontes, **Figura 17., T**, agrupando os tecidos em grupos de alta, média e baixa expressão. Se grande maioria dos tecidos das três bases de dados estivessem dentro destes grupos, concluir-se-ia que houve uma expressão fiel onde o peso das variáveis não foi muito significativo. Caso contrário, isto é, tecidos das três bases de dados em diferentes grupos de expressão (discrepantes), concluir-se-ia que a expressão seria infiel e questionar-se-ia o peso das variáveis em jogo, porém, saber qual delas é que teria uma influência maior ficaria-se por saber, **Figura 17., T**.

Após compararem-se as fidelidades de expressão de cada base de dados, teve-se a opção de comparar a expressão transcricional dos sete genes mob de humanos dos diferentes tecidos na mesma base de dados, incluindo os dados da expressão transcricional do contexto tumoral (TCGA), **Figura 17. ***, calculando-se as variabilidades percentuais do contexto geral e, especificamente, de 21 comparações duais em cada tecido onde as hipóteses de termos uma maior ou uma menor expressão transcricional de um mob num determinado tecido concluir-se-ia, especulativamente, de um grau maior ou menor de dependência tecidual respetivamente, apesar das supostas variáveis e de outras questões inculcidas, **Figura 17.**

Já a opção de comparar-se entre duas bases de dados, isto é, uma do contexto normal (HPA, GTE_x, FANTOM5) com a do contexto tumoral (TCGA) em valores percentuais gerais e específicos (tecidos presentes em cada base de dados e correspondidos com os tecidos tumorais), **Figura 17. ****, ter-se-ia a hipótese de termos uma ideia dos aumentos ou descidas de cada caso normal para o tumoral onde, especulativamente, dizer-se-ia que teria havido uma alta ou uma baixa sensibilidade tecidual dependentemente da percentagem de diferença de subida ou de descida de cada mob. O facto destas diferenças percentuais terem-se derivado de uma causa ou consequência do estado tumoral ficar-se-ia por debater incluindo as outras variáveis mencionadas na **Figura 17.**



T	*	**
Tabela IV.	Geral	Específico
Tabela V.	HPA: Figura 24.	Figura 25.
Tabela VI.	GTEX: Figura 26.	Figura 27.
Tabela VII.	FANTOM5: Figura 28.	Figura 29.
Tabela VIII.	TCGA: Figura 30.	Figura 31.
Tabela IX.		
Tabela X.		

Figura 17. Resumo esquemático das opções abordadas para a base de dados do HPA juntamente com a legenda de uma letra e de cada asterisco que identificam as figuras e tabelas interpretadas para cada caso.

No estudo dos interatuantes dos sete mobs de humanos, abordaram-se as hipóteses esquematizadas na **Figura 18.**

Na base de dados do *STRING v10.5* teve-se a oportunidade de tratar-se dos dados e organizar-se a **Tabela XV.** que permitiu hipotetizar-se duas situações, **Figura 18., T**, em que o score combinado de todas as evidências e metodologias de uma determinada associação com um mob em particular poder partilhar um valor de score superior ou igual a 0.5 de favorabilidade ou inferior a este. Portanto, para aqueles com um score superior ou igual ao valor de 0.5, concluir-se-ia que entre as proteínas haveria uma associação legítima e importante nas vias celulares em que o interatuante se insere, classificada então como significativa. Caso contrário, questionar-se-ia desta associação que mereceria futuras considerações de cada evidência e metodologia calculada na base de dados.

Também com a **Tabela XV.** permitiram-se as comparações entre os sete mobs de humanos quanto ao número de moléculas com que interagem, **Figura 18., ***, e ao número de partilhas com a mesma molécula, **Figura 18., **, ***.**

A hipótese de que um mob humano tivesse um maior número de interatuantes, **Figura 18., ***, implicaria que fosse multifuncional nas vias em que os mesmos actuassem podendo

então partilhar os mesmos de um outro mob, questionando-se então o facto de poder haver uma dualidade funcional no mesmo interatuante, **Figura 18.** ***. Sendo mesmo multifuncional também pode diferenciar-se dos restantes mobs ao ter associações significativas com outros interatuantes que não sejam em comum com outros mobs, especulando-se que esse mob em particular possa adotar funções diferentes, **Figura 18.** ***.

Seguidamente, para os mobs em que se registaram um menor número de interatuantes, **Figura 18.** *, sugeriam-se que os mesmos fossem menos multifuncionais apesar de poder haver-se uma falta de conhecimentos para estes mobs em particular, **Figura 18.** **. Porém, estes mesmos apesar de poucos, podem partilhar os mesmos interatuantes com outros mobs, **Figura 18.** ***, levantando-se a questão da dualidade funcional mencionada anteriormente. Outra hipótese sugerida seria que estes mobs poderiam também partilhar diferentes interatuantes dos restantes mobs, **Figura 18.** ***, questionando-se as funções dos mesmos nestes interatuantes em particular.

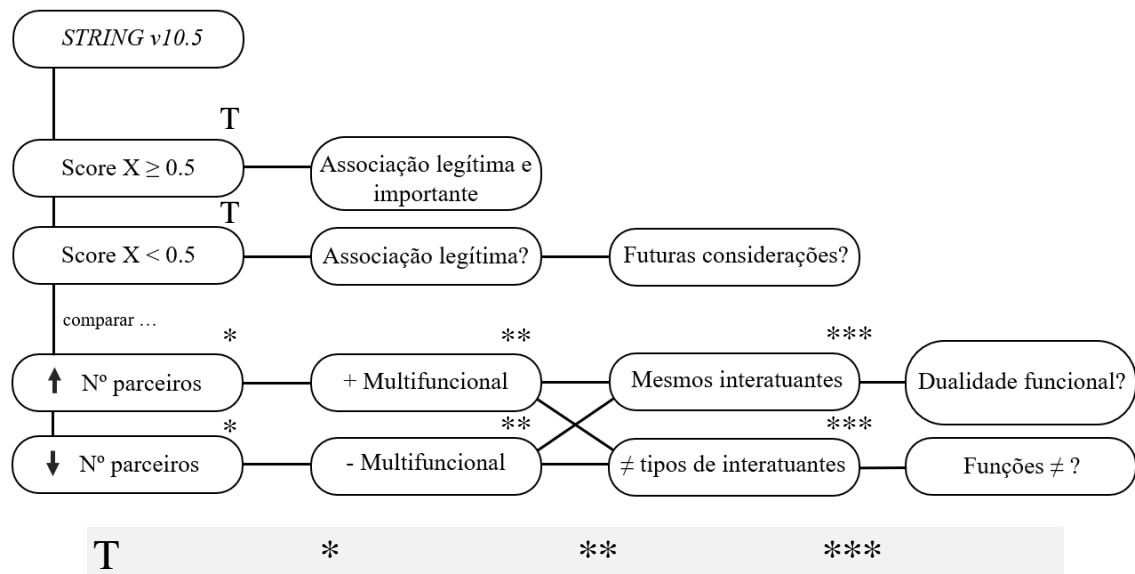


Figura 18. Resumo esquemático das opções abordadas para a base de dados do *STRING v10.5* juntamente com a legenda de uma letra e de cada asterisco que identificam as figuras e tabelas interpretadas para cada caso.

6. MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção dos valores percentuais de identidade com os seus respectivos e-values de diferentes e do mesmo organismo modelo (*Homo sapiens*), recorreu-se ao programa *BLASTp alignment* com uma matriz BLOSSUM62 em que as sequências de a.a. dos mobs dos diferentes organismos modelo foram provenientes de duas bases de dados denominadas de LANDMARK (LM) e não redundante (nr). Posteriormente, realizaram-se os tratamentos e as análises destes dados bioinformáticos com o programa acessório *Excel do Microsoft Office Professional Plus 2016*.

Obtiveram-se os valores transcricionais dos sete genes mob assim como os scores combinados de todas as associações de duas bases de dados: *HPA* e *STRING v10.5*, respetivamente. Por fim, os mesmos tratamentos e análises dos valores bioinformáticos realizaram-se com o mesmo programa anteriormente mencionado.

6.1. Percentagens de identidade dos sete mobs de humanos nos diferentes organismos

Primeiramente, para a comparação das sete sequências mob humanas entre diferentes organismos, selecionaram-se 20 organismos modelo (5 mamíferos: *mus musculus* – *pan troglodytes*, 2 peixes: *danio rerio* e *takifugu rubripes*, 1 ave: *gallus gallus*, 1 anfíbio: *xenopus laevis*, 1 réptil: *carolina anole*, 2 plantas: *arabidopsis thaliana* e *zea mays*, 1 insecto: *drosophila melanogaster*, 2 leveduras: *s. pombe* e *s. cerevisiae*, 1 fungo: *candida albicans*, 3 protistas: *giardia lamblia*, *trypanosoma brucei* e *dictyostelium discoideum* AX4 e 1 nematode: *caenorhabditis elegans*). Dentro destes, 8 (*mus musculus*; *danio rerio*; *arabidopsis thaliana*; *drosophila melanogaster*; *schizosaccharomyces pombe*; *saccharomyces cerevisiae* S288C; *dictyostelium discoideum* AX4; *caenorhabditis elegans*) foram provenientes da base de dados LANDMARK. E os restantes 12 (*rattus norvegicus*; *heterocephalus glaber*; *pan paniscus*; *pan troglodytes*; *takifugu rubripes*; *gallus gallus*; *xenopus laevis*; *carolina anole*; *zea mays*; *candida albicans*; *giardia lamblia* ATCC 50803; *trypanosoma brucei*) numa base de dados não redundante, **Tabela II.**

6.2. HPA. Análise transcricional relativa dos sete genes mob

Para descartar os valores de expressão proteica da base de dados do HPA, compararam-se as sete proteínas mob humanas de diferentes subtipos familiares selecionando aquelas com as seguintes referências: MOB1A (Q9H8S9); MOB1B (Q7L9L4); MOB3A (Q96BX8); MOB3B (Q86TA1); MOB3C (Q70IA8); MOB2 (Q70IA6); MOB4 (Q9Y3A3) totalizando-se um total de 21 comparações possíveis, **Tabela III**.

Já realizadas as comparações, posteriormente, revisaram-se os valores transcricionais dos mobs de cada tecido nas três bases de dados pelo menos 2x por semana para detetarem-se atualizações dos mesmos nas três fontes (ver **8. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES** para melhor detalhe das atualizações ocorridas). Posteriormente, para confirmar-se a fidelidade das expressões teciduais, elaboraram-se sete tabelas para cada mob humano (**Tabela IV. – X.**) e compararam-se as autenticidades das expressões teciduais de cada mob entre as três bases de dados (HPA, GTE_x e FANTOM5) agrupando os tecidos em três grupos de expressão por ordem decrescente (verde - high/alta: máximo de 5 tecidos; amarelo - medium/média: entre 21 e 27 tecidos; vermelho - low/baixa: máximo de 5 tecidos) onde a cor verde indicou os tecidos do mesmo grupo de alta expressão presentes, no mínimo, em duas bases de dados. O amarelo os tecidos do mesmo grupo de média expressão presentes, no mínimo, em duas bases de dados. O vermelho os tecidos do mesmo grupo de baixa expressão presentes, no mínimo, em duas bases de dados. Penultimamente, a cor rosa que destacaram os tecidos discrepantes nos grupos de expressão, no mínimo, em duas bases de dados. Por fim, o branco que foram os tecidos exclusivos de uma base de dados em particular e que não permitiram a sua comparação nas restantes duas. Após este procedimento, registaram-se estes valores transcricionais de cada mob provindos de diferentes proporções de amostras recolhidas para cada tecido de cada base de dados já traduzidos em unidades TPM, RPKM, TagsPM e FPKM, **Figura 19**.

Bases de dados	Nº de tecidos	Estado das amostras	Nº a/t	Unidades
HPA	37	frescas	[1; 13]	TPM
GTE _x	31	post mortem	[6; 607]	RPKM
FANTOM5	36	frescas	[1; 2]	TagsPM
TCGA	17	frescas	[102; 1075]	FPKM

Figura 19. As quatro bases de dados presentes no *HPA* pesquisadas para os sete genes mob de humanos com os respetivos totais de tecidos recorridos, o estado das amostras recolhidas, os intervalos de amostras requeridos para cada tecido e métricas aplicadas. **LEGENDA:** Nº a/t – número de amostras por tecido.

De seguida, calcularam-se as médias e desvios padrões gerais das expressões transcricionais de todos os tecidos de cada base de dados para cada um dos sete mobs de humanos, **Figuras 24., 26., 28.** para então verificar-se quais destas sete proteínas que os tecidos dependem mais e compararem-se as diferenças percentuais de 21 pares de proteínas mob possíveis do contexto geral com o cálculo da variabilidade percentual entre dois níveis de expressão partindo daquele com um maior número de transcritos com a seguinte equação:

$$\frac{M - m}{M} \times 100 (\%)$$

onde:

M: maior valor transcricional registado para um mob no mesmo tecido.

m: menor valor transcricional registado para um mob no mesmo tecido.

Nota. Diferenças percentuais de 0% indicaram uma igual representatividade entre dois níveis de expressão transcricional de dois mobs.

Calculou-se também a variabilidade percentual da expressão transcricional dos 21 pares possíveis no contexto de cada tecido (específico) com o recurso à equação anterior, **Figuras 25., 27., 29.**

Com a base de dados do TCGA aplicou-se também o raciocínio e a equação anterior tanto para o contexto geral, **Figura 30.,** como para o contexto em específico dos 17 casos tumorais, **Figura 31.**

Para a comparação do contexto normal com o tumoral (HPA/GTEx/FANTOM5 vs TCGA), selecionaram-se os tecidos presentes de cada contexto normal que pertencem e que são correspondidos com os 17 casos tumorais. Portanto, dos 37 tecidos do HPA, selecionaram-se no total 20 tecidos para equiparar com os 17 casos tumorais. Seguidamente, dos 31 tecidos do GTEx, selecionaram-se no total 22 tecidos para equiparar com os mesmos. E por fim, dos 36 tecidos do FANTOM5, selecionaram-se no total 20 tecidos para equiparar com apenas 15 casos tumorais excluindo o cancro do estômago (Stomach) e melanoma (Melanoma) devido à ausência dos dados do estômago e da pele nesta base de dados em particular, **Figuras 20., 21.** Em grande maioria dos casos teve-se pelo menos um tecido correspondido, porém, houve quatro casos tumorais (**Cancro da Tiroide (Thyroid Cancer), Glioma (Glioma), Cancro Coloretal (Colorectal Cancer) e Cancro Cabeça e Pescoço (Head and Neck Cancer)**) que se teve

de calcular as médias de 2 e de 6 tecidos selecionados da expressão normal para então poder-se equipar com cada um dos quatro tumores onde:

Cancro da Tiroide (Thyroid Cancer) = [Glândula Tiroide (Thyroid Gland)^{*/ **/ ***} + Glândula Paratiroide (Parathyroid Gland)^{*}] /N;

Glioma (Glioma) = [Glândula Pituitária (Pituitary Gland)^{*/ **/ ***} + Hipocampo (Hippocampus)^{*/ **/ ***} + Hipotálamo (Hypothalamus)^{**} + Cerebelo (Cerebellum)^{*/ **/ ***} + (Caudate)^{*/ **/ ***} + Córtex Cerebral (Cerebral Cortex)^{*/ **} = Cérebro (Brain)^{***}] /N;

Cancro Coloretal (Colorectal Cancer) = [Cólon (Colon)^{*/ **/ ***} + Reto (Rectum)^{*}] /N;

Cancro Cabeça e Pescoço (Head and Neck Cancer) = [Glândula Salivar (Salivary Gland)^{*/ **/ ***} + Amígdalas (Tonsil)^{*/ ***}] /N.

O valor de **N**, corresponde ao número total de elementos que podem variar de acordo com a presença dos tecidos de cada base de dados do contexto normal.

Os números de asteriscos indicam a presença dos tecidos nas bases de dados HPA (*), GTEX (**) e FANTOM5 (***) e considerou-se que o cérebro (Brain) corresponde-se aos dados do córtex cerebral (Cerebral Cortex), logo, Cerebral Cortex (HPA, GTEX) = Brain (FANTOM5).

HPA (37)	GTEX (31)	FANTOM5 (36)	TCGA (17)
1	6	5	Glioma
2	1	1	Thyroid
1	1	1	Lung
1	1	1	Liver
1	1	1	Pancreatic
2	1	2	Head and Neck
1	1	0	Stomach
2	1	1	Colorectal
1	1	1	Urothelial
1	1	1	Renal
1	1	1	Prostate
1	1	1	Testis
1	1	1	Breast
1	1	1	Cervical
1	1	1	Ovarian
1	1	1	Endometrial
1	1	0	Melanoma
20	22	20	

Figura 20. Número de tecidos selecionados de cada base de dados do contexto normal para comparar com cada caso tumoral. *Notas.* Números entre parênteses indicam o total de tecidos de cada base de dados. Abaixo estão os totais dos tecidos selecionados de cada fonte. Os valores da pele e estômago estavam ausentes no FANTOM5 (ver **Figura 21.**).

HPA	GTEEx	FANTOM5
Brain	Lymph Node	Skin*
Thymus	Thymus	Stomach*
Retina	Appendix	Bone Marrow
Pituitary Gland	Tonsil	Fallopian Tube
Vagina	Smooth Muscle	Parathyroid Gland
Hippocampus	Bone marrow	Duodenum
Caudate	Retina	Adrenal Gland
Hypothalamus	Gallbladder	Cerebral Cortex
Cerebellum	Placenta	Hypothalamus
	Rectum	Rectum
	Parathyroid Gland	
	Duodenum	
	Seminal Vesicle	
	Epididymis	
	Brain	

Figura 21. Listagem dos tecidos ausentes de cada base de dados do contexto normal. **Notas.** O tecido do Cérebro (Brain) suspeitou-se que apenas inclui os dados do Córtex Cerebral (Cerebral Córtex). Os asteriscos (*) indicam os tecidos que para além de ausentes, eram necessitados para os cálculos das variabilidades percentuais.

Posteriormente, partiu-se do contexto geral e novamente calcularam-se as médias e os desvios padrões dos tecidos selecionados dos dois contextos normais: HPA e GTEEx para compararem-se com as médias e desvios padrões dos 17 casos tumorais do TCGA anteriormente calculadas para a Figura 30., **Figura 32.** e novamente calcular-se a variabilidade percentual geral entre uma das bases de dados do contexto normal com o contexto geral do TCGA e, especificamente, destacar os aumentos e descidas do contexto normal (HPA, GTEEx) para o tumoral (TCGA), **Figuras 33., 34.**

Como consequência da ausência dos dados da pele e do estômago na base de dados do FANTOM5, teve-se de calcular, à parte, as médias e os desvios padrões gerais de 15 tecidos do contexto tumoral (excluindo o Stomach e Melanoma) para então de seguida calcularem-se as médias e os desvios padrões dos tecidos selecionados do FANTOM5 para então possibilitar-se o cálculo da variabilidade percentual geral entre os mesmos com os 15 casos tumorais, **Figura 35.** e novamente especificarem-se os aumentos e descidas do contexto normal (FANTOM5) para o tumoral (TCGA), **Figura 36.**

6.3. *STRING v10.5* e tabulação dos interagentes dos sete mobs

Para o registo dos parceiros interativos dos sete mobs de humanos, recorreu-se à base de dados do *STRING v10.5* onde retratou-se cada uma como query e pesquisou-se uma por uma no organismo modelo *Homo sapiens* no campo de seleção do site da base de dados, **Figura 22.** Seguidamente, submeteram-se estes requisitos que foram aceites com um

clique em “Search”. Posteriormente, apresentaram-se não só os vários scores de cada estudo para cada associação, mas também um score cumulativo (**combined score**), isto é, uma pontuação que combinou todos os outros anteriormente calculados de cada uma das 8 evidências e das 16 metodologias presentes na base de dados do *STRING v10.5*,

Figura 22.

Query	Organismo modelo	Referências (10. BIBLIOGRAFIA; 10.2 Páginas web)
MOB1A	<i>Homo sapiens</i>	https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=P3QnVUisNJ3X
MOB1B	<i>Homo sapiens</i>	https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=isAppHby4mQP
MOB3A	<i>Homo sapiens</i>	https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=KxJgtfCwPqks
MOB3B	<i>Homo sapiens</i>	https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=qksF2765px3A
MOB3C	<i>Homo sapiens</i>	https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=AzIUBldnMaFn
MOB2	<i>Homo sapiens</i>	https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=xbFXTYKUESy6
MOB4	<i>Homo sapiens</i>	https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=NWKEsU0JCJjo

Evidências (8): Textmining; Experiments; Databases; Co-Expression; Neighborhood; Gene Fusion; Co-Occurrence; Homology.

Metodologias (16): Two Hybrid; Proximity-Dependent Biotin Identification; Affinity Chromatography Technology ; Anti Tag Coimmunoprecipitation; Pull Down Assay; Enzymatic Study; Protein Kinase Assay; Imaging Technique Assay; Genetic Interference; Confocal Microscopy; BioID Assay; Anti Bait Coimmunoprecipitation; Tandem Affinity Purification; In Vivo Assay; In Vitro Assay; BioChemical Assay.

Figura 22. Resumo geral da pesquisa no *STRING v10.5* para as sete proteínas mob de humanos referenciadas. Cada uma foi pesquisada no organismo modelo *Homo sapiens* obtendo-se os scores individuais e combinados das associações de 8 evidências e de 16 metodologias.

A conclusão de todas as pesquisas, permitiram obter um total de 218 interatuantes com scores combinados significativos ($X \geq 0.5$) e com scores combinados pouco significativos ($X < 0.5$) de cada mob e de cada comparação entre dois mobs, **Figura 18.** e **Tabela XV.**, onde as legitimidades dos valores destes scores combinados das associações de cada par assim como os tipos de elementos com que as proteínas mob interagiram terem sido verificados pelo menos 1x por semana. E após a confirmação dos interatuantes, aproximaram-se os scores combinados de cada par associativo na ordem das décimas para uma melhor simplificação.

O conhecimento da categoria funcional de cada interatuante e das vias celulares em que participam obtiveram-se das bases de dados do *GeneCards*, do *Uniprot* e do *NCBI*.

A categorização de um interatuante numa categoria tumoral (oncogene, supressor tumoral, driver e apoptótico) fora pesquisada e avaliada por quatro bases de dados: *Tumor Suppressor Gene Database (TSGene)*^(10.2: 15.); *Tumor Associated Gene (TAG)*^(10.2: 16.); *ONGENE (Liu et al, 2016)*^(10.2: 17.) e o *CancerMine (Jake Lever et al, 2018)*^(10.2: 18.).

Por fim, com a **Tabela XV**, possibilitaram-se os cálculos da soma total de interatuantes de cada proteína mob humana, **Figura 37.**, do número total de interatuantes em comum aos sete mobs, **Figura 38.**, e do total de interatuantes em comum derivados dos 21 pares comparativos possíveis, **Figura 39.**

	(X ≥ 0.5)	(X < 0.5)	Totais
MOB1A	64	25	89
MOB1B	60	9	69
MOB3A	5	44	49
MOB3B	2	28	30
MOB3C	4	44	48
MOB2	39	16	55
MOB4	50	4	54
Alvos em comum			
1A/1B	56	11	67
1A/3A	3	10	13
1A/3B	2	7	9
1A/3C	2	12	14
1A/2	25	15	40
1A/4	9	3	12
1B/3A	3	10	13
1B/3B	2	7	9
1B/3C	2	11	13
1B/2	25	9	34
1B/4	9	3	12
3A/3B	2	14	16
3A/3C	3	15	18
3A/2	4	8	12
3A/4	2	5	7
3B/3C	2	15	17
3B/2	2	8	10
3B/4	1	6	7
3C/2	3	9	12
3C/4	1	8	9
2/4	8	3	11

Figura 23. Contagens totais dos alvos significativos ($X \geq 0.5$) e pouco significativos ($X < 0.5$) de cada mob e daqueles em comum às 21 comparações possíveis de acordo com a **Tabela XV**.

7. RESULTADOS

7.1. Proteínas mob. Percentagens de identidade das sequências de a.a.

Descrevem-se nestes dois subtemas (7.1.1., 7.1.2.) os resultados de identidade percentual dos sete mobs de humanos nos diferentes organismos modelo e no mesmo (*Homo sapiens*).

7.1.1. Em diferentes organismos

Em média, os valores intervalaram-se entre 80% e 60% de identidade estipulando-se que há um certo nível de conservação e de conhecimento em todos os 20 organismos uni e

multicelulares selecionados embora que, especificamente, tivesse havido casos que adotaram valores baixos de identidade de até 21 % no mínimo (MOB4, *Candida albicans*). As sequências dos sete mobs de humanos igualaram-se, obviamente, mais aos de mamíferos, porém, observaram-se percentagens de identidade entre 87% e 98%, suspeitando-se da ocorrência de uma evolução muito especializada para esses determinados organismos, enquanto que naqueles que apresentaram menores percentagens de identidade estariam, possivelmente, associados a funções diferentes dos de humanos.

O mob humano mais aparente dos 20 organismos modelo selecionados foi o subtipo MOB1A/1B (~79,2% e ~79,05%, respetivamente) partilhando uma média muito aproximada entre eles devido à alta semelhança que ambos têm e possivelmente ser pelo facto de estarem bem caracterizados, isto é, conhecerem-se os homólogos deste subtipo, a estrutura tridimensional e as vias em que estão incluídos. Em segundo, temos surpreendentemente o MOB3A/3B/3C (~70,5%, ~72,5% e ~68,3%, respetivamente) porque são os menos conhecidos dentro dos sete e que, portanto, talvez possam ter tido uma evolução semelhante ao do subtipo MOB1A/1B apesar de um grau de identidade a rodar os 50% com o MOB1A/1B (ver **Tabela III.**). Em terceiro temos o MOB4 (~66,9%) que indica um certo nível de conhecimento e apresentar certas percentagens a rondar os 20% sugerindo-se que a mesma exerça funções diferentes em outros organismos. Por último temos o MOB2 que foi aquele que, em média, teve uma menor percentagem de identidade (~62,3%) indicando, assim como o MOB4, a possibilidade de exercer funções diferentes ou respeitar uma falta de conhecimentos do mesmo, **Tabela II.**

Neste caso de estudo, **Tabela II.**, concluí-se que as percentagens de identidade das sete proteínas mob ao longo dos 20 organismos modelo escolhidos, seguem uma ordem decrescente do tipo:

MOB1A/1B (79,2%, 79,05%)> MOB3B/3A/3C (70,5%, 72,5%, 68,3%)> MOB4 (66,9%)> MOB2 (62,3%)

Tabela II. Valores percentuais de identidade (%) e respectivos e-values das proteínas Mob de 20 organismos modelo diferentes obtidos quando comparados com os mob de humanos referenciados.

Organismos modelo (20):	MOB1A Q9H8S9	MOB1B Q7L9L4	MOB3A Q96BX8	MOB3B Q86TA1	MOB3C Q70IA8	MOB2 Q70IA6	MOB4 Q9Y3A3
<i>Mus musculus</i> (taxid:10090)*	100% 2e-165	100% 2e-165	94% 3e-159	98% 5e-163	97% 1e-161	91% 4e-167	100% 2e-173
<i>Rattus norvegicus</i> (taxid:10116) ^{nr}	100% 1e-165	100% 3e-165	94% 2e-159	98% 1e-164	97% 5e-153	91% 5e-168	100% 3e-174
<i>Heterocephalus glaber</i> (taxid:10181) ^{nr}	100% 1e-165	100% 2e-165	91% 2e-155	100% 6e-166	96% 7e-159	87% 1e-151	100% 3e-174
<i>Pan paniscus</i> (taxid:9597) ^{nr}	100% 3e-161	100% 1e-165	100% 3e-167	100% 3e-166	100% 4e-165	98% 3e-176	100% 2e-174
<i>Pan troglodytes</i> (taxid:9598) ^{nr}	100% 2e-165	100% 4e-165	100% 8e-167	100% 9e-166	100% 8e-165	100% 5e-177	100% 5e-174
<i>Danio rerio</i> (taxid:7955)*	95% 1e-157	97% 2e-161	84% 2e-141	85% 1e-142	80% 2e-135	69% 8e-121	93% 3e-165
<i>Takifugu rubripes</i> (taxid:31033) ^{nr}	99% 4e-164	94% 1e-157	86% 7e-147	85% 9e-143	80% 5e-138	76% 1e-133	96% 3e-168
<i>Gallus gallus</i> (taxid:9031) ^{nr}	99% 2e-164	95% 2e-159	91% 7e-151	93% 8e-159	70% 5e-124	83% 2e-147	99% 8e-173
<i>Xenopus laevis</i> (taxid:8355) ^{nr}	98% 2e-163	97% 1e-161	88% 3e-148	90% 1e-152	82% 3e-141	77% 3e-143	97% 8e-171
<i>Carolina anole</i> (taxid:28377) ^{nr}	95% 2e-159	100% 1e-165	83% 4e-138	95% 8e-161	84% 4e-146	81% 8e-148	99% 2e-173
<i>Arabidopsis thaliana</i> (taxid:3702)*	67% 8e-112	68% 2e-111	54% 3e-81	51% 3e-79	50% 4e-78	41% 2e-47	24% 8e-09
<i>Zea mays</i> (taxid:4577) ^{nr}	67% 2e-111	69% 3e-111	55% 5e-84	53% 1e-80	52% 3e-84	40% 2e-47	23% 3e-08
<i>Drosophila melanogaster</i> (taxid:7227)*	86% 2e-143	88% 1e-145	66% 2e-109	68% 2e-110	66% 1e-107	48% 9e-63	80% 2e-136
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (taxid:4896)*	57% 6e-91	55% 2e-88	46% 8e-71	47% 5e-71	44% 3e-69	39% 3e-48	42% 0,31
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S288C (taxid:559292)*	50% 4e-65	50% 1e-63	39% 1e-48	40% 1e-46	39% 1e-44	35% 8e-38	24% 2e-09
<i>Candida albicans</i> (taxid:5476) ^{nr}	50% 1e-68	48% 3e-66	36% 4e-53	41% 2e-56	34% 1e-51	38% 2e-38	21% 1e-09
<i>Giardia lamblia</i> ATCC 50803 (taxid:184922) ^{nr}	44% 4e-52	44% 3e-51	44% 3e-52	43% 2e-47	38% 1e-52	40% 9e-30	24% 3e-08
<i>Trypanosoma brucei</i> (taxid:5691) ^{nr}	52% 7e-81	50% 5e-79	47% 1e-75	49% 2e-75	46% 7e-71	34% 1e-32	24% 3e-06
<i>Dictyostelium discoideum</i> AX4 (taxid:352472)*	75% 2e-122	75% 2e-120	50% 3e-82	52% 2e-83	50% 2e-83	43% 1e-53	23% 2e-08
<i>Caenorhabditis elegans</i> (taxid:6239)*	50% 3e-76	51% 3e-76	63% 5e-102	67% 4e-105	62% 3e-100	36% 1e-34	70% 5e-113

LEGENDA: Negrito - Percentagem de identidade; (*) – organismos modelo pesquisados na base de dados LANDMARK; (nr) – organismos modelo pesquisados de uma base de dados não redundante.

7.1.2. Entre humanos

Já entre humanos temos o destaque de percentagens de identidade bastantes altas e significativas ao comparar-se com os do mesmo subtipo (MOB1A vs MOB1B ~96%; MOB3A vs MOB3B ~82%; MOB3A vs MOB3C ~74%; MOB3B vs MOB3C ~72%) sugerindo-se que estes dois subgrupos possam ter partilhado uma evolução semelhante entre os seus membros e, conseqüentemente, poderem exercer um mesmo cargo funcional em cada subtipo. O mesmo raciocínio também se aplicaria a aqueles com menores identidades, porém, vice-versa.

Estes dados percentuais também levaram a crer que os valores da expressão proteica para estes subtipos na base de dados do *HPA* possam ser, com fortes certezas, bastante ambíguos e, portanto, ignorados e cambiados pelos valores da expressão transcricional de cada mob humano nos diferentes tecidos também presentes no *HPA*.

Porém, houve casos entre diferentes subgrupos em que a identidade assumiu valores abaixo de ~55% inclusive até ~ aos 19%, **Tabela III.**, o que fez-se reconsiderar o uso dos

valores de expressão proteica, porém, neste trabalho não foram subestimados e, conseqüentemente, não utilizados.

Tabela III. Percentagens de identidade (%) e seus e-values de 21 comparações polipeptídicas entre proteínas mob humanas referenciadas.

	MOB1B (Q7L9L4)	MOB3A (Q96BX8)	MOB3B (Q86TA1)	MOB3C (Q70IA8)	MOB2 (Q70IA6)	MOB4 (Q9Y3A3)
MOB1A (Q9H8S9) E-value	96% 2e-164	53% 4e-91	54% 3e-91	52% 5e-91	42% 1e-55	25% 9e-13
MOB1B (Q7L9L4) E-value	---	55% 6e-93	55% 2e-91	50% 2e-88	41% 3e-56	25% 4e-13
MOB3A (Q96BX8) E-value	---	---	82% 3e-141	74% 8e-133	39% 1e-42	19% 3e-10
MOB3B (Q86TA1) E-value	---	---	---	72% 1e-130	37% 4e-40	22% 5e-13
MOB3C (Q70IA8) E-value	---	---	---	---	36% 7e-44	20% 7e-11
MOB2 (Q70IA6) E-value	---	---	---	---	---	21% 6e-06

LEGENDA: [---] - comparações entre o mesmo subtipo familiar; (-) - comparações repetidas ou entre os mesmos mobs.

7.2. Fidelidade da expressão transcricional entre o HPA, GTEx e FANTOM5

Dos sete genes mob, aquele que manteve uma expressão tecidual mais autêntica com mais tecidos nas três bases de dados foi o **MOB3B** com um total de 32 tecidos com expressão autêntica nas três bases de dados (Hight: 4; Medium: 25; Low: 3) com um menor número de tecidos com expressão mais variável (Discrepantes: 6), **Tabela VII**. O gene mob com menos autenticidade de expressão tecidual foi o **MOB4** com um total de 18 tecidos com expressão autêntica (Hight: 1; Medium: 15; Low: 2) com um grande número de tecidos com uma expressão mais variável (Discrepantes: 20), **Tabela X**. Os restantes genes mob tiveram os seguintes valores: **MOB1A**: Hight: 4; Medium: 21; Low: 2 (n = 27); Discrepantes: 11, **Tabela IV**.; **MOB1B**: Hight: 2; Medium: 22; Low: 2 (n = 26); Discrepantes: 12, **Tabela V**.; **MOB3A**: Hight: 4; Medium: 21; Low: 2 (n = 27); Discrepantes: 11, **Tabela VI**.; **MOB3C**: Hight: 0; Medium: 19; Low: 1 (n = 20); Discrepantes: 18, **Tabela VIII**.; **MOB2**: Hight: 3; Medium: 19; Low: 2 (n = 24); Discrepantes: 14, **Tabela IX**.

Com as **Tabelas IV. – X.**, observou-se que houve um total de sete tecidos exclusivos de uma base de dados em particular e que não permitiram comparar as suas autenticidades de acordo com as expressões transcricionais dos mobs: **HPA**: Bone marrow; Rectum; Parathyroid Gland; Duodenum; **GTEx**: Hypothalamus; **FANTOM5**: Thymus; Retina. Portanto, excluindo estes sete tecidos, concluiu-se que as sete tabelas previram uma ordem decrescente de autenticidade tecidual do tipo:

MOB3B> [MOB1A = MOB3A]> MOB1B> MOB2> MOB3C> MOB4

Tabela IV. Fidelidade dos níveis de expressão transcricional do MOB1A nas três bases de dados.

MOB1A			
Grupo de expressão	HPA	GTEx	FANTOM5
High	Lymph node	Spleen	Thymus
	Appendix	Endometrium	Appendix
	Tonsil	Small Intestine	Lymph node
	Spleen	Fallopina Tube	Spleen
	Smooth Muscle	Cervix Uterine	Tonsil
Medium	Endometrium	Lung	Small Intestine
	Lung	Urinary Bladder	Kidney
	Bone marrow	Vagina	Lung
	Gallblader	Esophagus	Cervix Uterine
	Thyroid Gland	Adipose Tissue	Adipose Tissue
	Cervix Utrine	Colon	Thyroid Gland
	Fallopina Tube	Ovary	Ovary
	Urinary Bladder	Skin	Smooth Muscle
	Placenta	Breast	Breast
	Kidney	Prostate	Urinary Bladder
	Prostate	Thyroid Gland	Testis
	Rectum	Kidney	Esophagus
	Skin	Salivary Gland	Colon
	Small Intestine	Stomach	Pituitary Gland
	Esophagus	Adrenal Gland	Endometrium
	Parathyroid Gland	Testis	Prostate
	Duodenum	Heart Muscle	Vagina
	Adipose Tissue	Cerebellum	Epididymis
	Seminal Vesicle	Pituitary Gland	Seminal Vesicle
	Colon	Caudate	Gallbladder
	Ovary	Hypothalamus	Placenta
	Breast		Heart Muscle
	Testis		Retina
	Adrenal Gland		Hippocampus
	Stomach		Liver
	Epididymis		Caudate
	Cerebral Cortex		
Low	Heart Muscle	Liver	Cerebellum
	Liver	Pancreas	Brain
	Salivary Gland	Hippocampus	Pancreas
	Skeletal Muscle	Cerebal cortex	Skeletal Muscle
	Pancreas	Skeletal Muscle	Salivary Gland

LEGENDA: **verde:** tecidos do mesmo grupo de alta expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **amarelo:** tecidos do mesmo grupo de média expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **vermelho:** tecidos do mesmo grupo de baixa expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **rosa:** tecidos que demonstraram discrepâncias nos grupos de expressão, no mínimo, em duas bases de dados; **branco:** tecidos que só estão presentes em uma das bases de dados.

Tabela V. Fidelidade dos níveis de expressão transcricional do MOB1B nas três bases de dados.

MOB1B				
Grupo de expressão	HPA	GTEX	FANTOM5	
High	Kidney	Lung	Thymus	
	Parathyroid Gland	Kidney	Hippocampus	
	Thyroid Gland	Hippocampus	Appendix	
	Cerebral Cortex	Ovary	Pituitary Gland	
	Bone Marrow	Thyroid Gland	Kidney	
Medium	Prostate	Endometrium	Endometrium	
	Lung	Cervix Uterine	Lung	
	Fallopina Tube	Urinary Bladder	Caudate	
	Lymph Node	Prostate	Cerebellum	
	Endometrium	Fallopian Tube	Brain	
	Appendix	Salivary Gland	Thyroid Gland	
	Placenta	Breast	Smooth Muscle	
	Spleen	Skin	Cervix Uterine	
	Cervix Uterine	Vagina	Tonsil	
	Smooth Muscle	Cerebral Cortex	Ovary	
	Testis	Colon	Retina	
	Gallblader	Spleen	Urinary Bladder	
	Skin	Adipose Tissue	Testis	
	Breast	Cerebellum	Seminal Vesicle	
	Adrenal Gland	Adrenal Gland	Epididymis	
	Ovary	Pituitary Gland	Adipose Tissue	
	Tonsil	Small Intestine	Spleen	
	Esophagus	Stomach	Salivary Gland	
	Adipose Tissue	Hypothalamus	Gallbladder	
	Seminal Vesicle	Caudate	Lymph Node	
	Stomach	Esophagus	Prostate	
	Urinary Bladder		Vagina	
	Rectum		Breast	
	Epididymis		Colon	
	Small Intestine		Esophagus	
	Colon		Skeletal Muscle	
	Heart Muscle			
	Low	Duodenum	Testis	Heart Muscle
		Salivary Gland	Heart Muscle	Liver
		Liver	Skeletal Muscle	Small Intestine
Skeletal Muscle		Pancreas	Placenta	
Pancreas		Liver	Pancreas	

LEGENDA: **verde:** tecidos do mesmo grupo de alta expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **amarelo:** tecidos do mesmo grupo de média expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **vermelho:** tecidos do mesmo grupo de baixa expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **rosa:** tecidos que demonstraram discrepâncias nos grupos de expressão, no mínimo, em duas bases de dados; **branco:** tecidos que só estão presentes em uma das bases de dados.

Tabela VI. Fidelidade dos níveis de expressão transcricional do MOB3A nas três bases de dados.

MOB3A			
Grupo de expressão	HPA	GTE _x	FANTOM5
Hight	Lymph Node	Spleen	Tonsil
	Appendix	Fallopina Tube	Thymus
	Spleen	Endometrium	Appendix
	Tonsil	Small Intestine	Spleen
Medium	Smooth Muscle	Colon	Lymph Node
	Bone Marrow	Cervix Uterine	Cervix Uterine
	Lung	Prostate	Endometrium
	Adipose Tissue	Lung	Adipose Tissue
	Seminal Vesicle	Urinary Bladder	Retina
	Fallopina Tube	Vagina	Urinary Bladder
	Endometrium	Adipose Tissue	Prostate
	Urinary Bladder	Breast	Small Intestine
	Gallbladder	Ovary	Ovary
	Prostate	Skin	Salivary Gland
	Cervix Uterine	Esophagus	Placenta
	Placenta	Stomach	Lung
	Skin	Thyroid Gland	Gallbladder
	Esophagus	Kidney	Thyroid Gland
	Ovary	Salivary Gland	Esophagus
	Colon	Adrenal Gland	Cerebellum
	Cerebral Cortex	Testis	Colon
	Small Intestine	Cerebellum	Caudate
	Parathyroid Gland	Pituitary Gland	Vagina
	Rectum	Hypothalamus	Testis
	Thyroid Gland	Pancreas	Hippocampus
	Stomach	Caudate	Kidney
	Adrenal Gland		Smooth Muscle
	Testis		Pituitary Gland
	Duodenum		Epididymis
	Breast		Seminal Vesicle
	Epididymis		Heart Muscle
	Kidney		
Low	Salivary Gland	Cerebral Cortex	Breast
	Heart Muscle	Heart Muscle	Brain
	Skeletal Muscle	Hippocampus	Skeletal Muscle
	Liver	Skeletal Muscle	Liver
	Pancreas	Liver	Pancreas

LEGENDA: **verde:** tecidos do mesmo grupo de alta expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **amarelo:** tecidos do mesmo grupo de média expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **vermelho:** tecidos do mesmo grupo de baixa expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **rosa:** tecidos que demonstraram discrepâncias nos grupos de expressão, no mínimo, em duas bases de dados; **branco:** tecidos que só estão presentes em uma das bases de dados.

Tabela VII. Fidelidade dos níveis de expressão transcricional do MOB3B nas três bases de dados.

MOB3B			
Grupo de expressão	HPA	GTEx	FANTOM5
High	Ovary	Ovary	Caudate
	Cerebral Cortex	Caudate	Small Intestine
	Duodenum	Small Intestine	Endometrium
	Small Intestine	Cervix Uterine	Ovary
	Endometrium	Endometrium	Placenta
Medium	Rectum	Breast	Colon
	Fallopian Tube	Fallopina Tube	Cervix Uterine
	Colon	Hippocampus	Brain
	Spleen	Colon	Thyroid Gland
	Lung	Spleen	Retina
	Cervix Uterine	Thyroid Gland	Cerebellum
	Smooth Muscle	Skin	Hippocampus
	Thyroid Gland	Vagina	Skeletal Muscle
	Kidney	Lung	Gallbladder
	Gallbladder	Adipose Tissue	Appendix
	Breast	Hypothalamus	Spleen
	Skin	Stomach	Testis
	Placenta	Cerebellum	Breast
	Epididymis	Urinary Bladder	Pancreas
	Adipose tissue	Salivary Gland	Tonsil
	Testis	Testis	Lung
	Appendix	Cerebral Cortex	Adipose Tissue
	Stomach	Kidney	Kidney
	Tonsil	Skeletal Muscle	Seminal Vesicle
	Lymph Node	Prostate	Epididymis
	Seminal Vesicle	Esophagus	Vagina
	Esophagus		Lymph Node
	Urinary Bladder		Urinary Bladder
	Prostate		Prostate
	Adrenal Gland		Smooth Muscle
	Salivary Gland		Esophagus
	Skeletal Muscle		
Low	Parathyroid Gland	Pancreas	Pituitary Gland
	Liver	Adrenal Gland	Salivary Gland
	Pancreas	Pituitary Gland	Thymus
	Heart Muscle	Heart Muscle	Heart Muscle
	Bone Marrow	Liver	Liver

LEGENDA: **verde:** tecidos do mesmo grupo de alta expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **amarelo:** tecidos do mesmo grupo de média expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **vermelho:** tecidos do mesmo grupo de baixa expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **rosa:** tecidos que demonstraram discrepâncias nos grupos de expressão, no mínimo, em duas bases de dados; **branco:** tecidos que só estão presentes em uma das bases de dados.

Tabela VIII. Fidelidade dos níveis de expressão transcricional do MOB3C nas três bases de dados.

MOB3C			
Grupo de expressão	HPA	GTE _x	FANTOM5
Hight	Adipose Tissue	Pancreas	Pancreas
	Placenta	Spleen	Cerebellum
	Lung	Prostate	Small Intestine
	Seminal Vesicle	Lung	Adipose Tissue
	Parathyroid Gland	Ovary	Pituitary Gland
Medium	Spleen	Adipose Tissue	Vagina
	Gallbladder	Pituitary Gland	Skeletal Muscle
	Prostate	Vagina	Tonsil
	Cervix Uterine	Thyroid Gland	Epididymis
	Fallopian Tube	Cerebellum	Lung
	Ovary	Urinary Bladder	Caudate
	Smooth Muscle	Fallopian Tube	Colon
	Endometrium	Breast	Thyroid Gland
	Breast	Esophagus	Hippocampus
	Urinary Bladder	Colon	Salivary Gland
	Epididymis	Small Intestine	Retina
	Adrenal Gland	Cervix Uterine	Prostate
	Appendix	Stomach	Placenta
	Thyroid Gland	Salivary Gland	Cervix Uterine
	Esophagus	Skeletal Muscle	Spleen
	Lymph Node	Endometrium	Gallbladder
	Rectum	Kidney	Endometrium
	Small Intestine	Adrenal Gland	Appendix
	Duodenum	Heart Muscle	Ovary
	Colon	Testis	Urinary Bladder
	Stomach	Skin	Esophagus
	Kidney		Breast
	Tonsil		Seminal Vesicle
	Skin		Smooth Muscle
	Testis		Kidney
	Pancreas		Brain
	Skeletal Muscle		
	Low	Cerebral Cortex	Caudate
Heart Muscle		Hypothalamus	Heart Muscle
Salivary Gland		Liver	Lymph Node
Liver		Hippocampus	Liver
Bone Marrow		Cerebral Cortex	Thymus

LEGENDA: **verde:** tecidos do mesmo grupo de alta expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **amarelo:** tecidos do mesmo grupo de média expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **vermelho:** tecidos do mesmo grupo de baixa expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **rosa:** tecidos que demonstraram discrepâncias nos grupos de expressão, no mínimo, em duas bases de dados; **branco:** tecidos que só estão presentes em uma das bases de dados.

Tabela IX. Fidelidade dos níveis de expressão transcricional do MOB2 nas três bases de dados.

MOB2				
Grupo de expressão	HPA	GTEX	FANTOM5	
High	Smooth Muscle	Colon	Smooth Muscle	
	Seminal Vesicle	Skin	Urinary Bladder	
	Skin	Urinary Bladder	Gallbladder	
	Esophagus	Fallopian Tube	Prostate	
	Fallopian Tube	Vagina	Appendix	
Medium	Parathyroid Gland	Cervix Uterine	Seminal Vesicle	
	Prostate	Prostate	Vagina	
	Endometrium	Endometrium	Cervix Uterine	
	Urinary Bladder	Breast	Colon	
	Epididymis	Adipose Tissue	Esophagus	
	Gallbladder	Lung	Salivary Gland	
	Thyroid Gland	Small Intestine	Endometrium	
	Rectum	Spleen	Breast	
	Cervix Uterine	Esophagus	Epididymis	
	Colon	Stomach	Small Intestine	
	Placenta	Cerebellum	Ovary	
	Lung	Ovary	Lymph Node	
	Ovary	Thyroid Gland	Skeletal Muscle	
	Spleen	Salivary Gland	Adipose Tissue	
	Adipose Tissue	Skeletal Muscle	Retina	
	Cerebral Cortex	Testis	Testis	
	Breast	Cerebral Cortex	Lung	
	Lymph Node	Pituitary Gland	Tonsil	
	Heart Muscle	Heart Muscle	Heart Muscle	
	Small Intestine	Kidney	Thyroid Gland	
	Testis	Adrenal Gland	Kidney	
	Adrenal Gland		Spleen	
	Tonsil		Hippocampus	
	Appendix		Liver	
	Kidney		Cerebellum	
	Duodenum		Placenta	
	Low	Stomach		
		Salivary Gland	Pancreas	Caudate
Skeletal Muscle		Hypothalamus	Brain	
Bone Marrow		Caudate	Pituitary Gland	
Liver		Hippocampus	Thymus	
Pancreas		Liver	Pancreas	

LEGENDA: **verde:** tecidos do mesmo grupo de alta expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **amarelo:** tecidos do mesmo grupo de média expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **vermelho:** tecidos do mesmo grupo de baixa expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **rosa:** tecidos que demonstraram discrepâncias nos grupos de expressão, no mínimo, em duas bases de dados; **branco:** tecidos que só estão presentes em uma das bases de dados.

Tabela X. Fidelidade dos níveis de expressão transcricional do MOB4 nas três bases de dados.

MOB4				
Grupo de expressão	HPA	GTE _x	FANTOM5	
High	Adrenal Gland	Adrenal Gland	Pituitary Gland	
	Esophagus	Esophagus	Cerebellum	
	Smooth Muscle	Fallopian Tube	Brain	
	Placenta	Endometrium	Hippocampus	
Medium	Prostate	Vagina	Small Intestine	
	Endometrium	Urinary Bladder	Endometrium	
	Bone Marrow	Cervix Uterine	Placenta	
	Parathyroid Gland	Colon	Tonsil	
	Thyroid Gland	Breast	Caudate	
	Cerebral Cortex	Skeletal Muscle	Cervix Uterine	
	Breast	Adipose Tissue	Skeletal Muscle	
	Gallbladder	Salivary Gland	Esophagus	
	Cervix Uterine	Cerebral Cortex	Thyroid Gland	
	Urinary Bladder	Prostate	Smooth Muscle	
	Seminal Vesicle	Skin	Heart Muscle	
	Fallopina Tube	Ovary	Thymus	
	Epididymis	Thyroid Gland	Salivary Gland	
	Lung	Hypothalamus	Urinary Bladder	
	Ovary	Cerebellum	Testis	
	Rectum	Small Intestine	Epididymis	
	Lymph Node	Spleen	Appendix	
	Heart Muscle	Lung	Prostate	
	Spleen	Heart Muscle	Retina	
	Tonsil	Stomach	Kidney	
	Skin	Pituitary Gland	Ovary	
	Adipose Tissue	Hippocampus	Adipose Tissue	
	Colon		Spleen	
	Appendix		Colon	
	Kidney		Gallbladder	
	Small Intestine		Lung	
	Testis		Seminal Vesicle	
	Duodenum			
	Low	Stomach	Caudate	Lymph Node
		Skeletal Muscle	Testis	Liver
		Liver	Kidney	Pancreas
		Salivary Gland	Pancreas	Breast
Pancreas		Liver	Vagina	

LEGENDA: **verde:** tecidos do mesmo grupo de alta expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **amarelo:** tecidos do mesmo grupo de média expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **vermelho:** tecidos do mesmo grupo de baixa expressão e que estão presentes, no mínimo, em duas bases de dados; **rosa:** tecidos que demonstraram discrepâncias nos grupos de expressão, no mínimo, em duas bases de dados; **branco:** tecidos que só estão presentes em uma das bases de dados.

7.3. Expressão transcricional relativa

Nesta secção, descrevem-se os valores da expressão transcricional dos sete mobs de humanos nas três bases de dados do contexto normal (HPA, GTEx, FANTOM5) e do contexto tumoral (TCGA) em termos gerais e específicos com o cálculo das diferenças percentuais assim como as descidas e subidas de cada contexto normal para o contexto tumoral com a aplicabilidade do mesmo cálculo.

7.3.1. Base de dados HPA

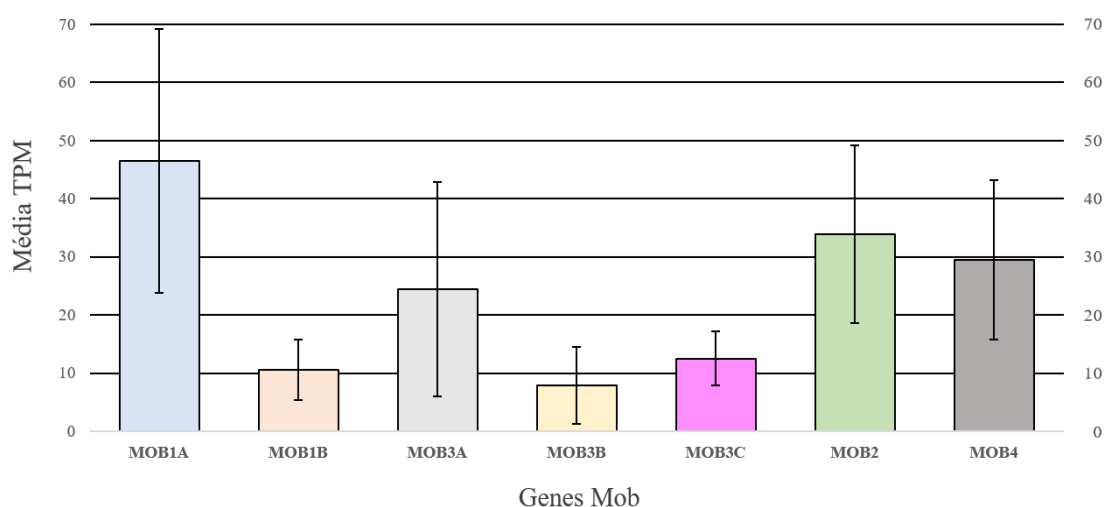


Figura 24. Médias e desvios padrões gerais da expressão transcricional dos sete genes mob de humanos nos 37 tecidos de um contexto normal (HPA). *Nota.* Aquele com o maior desvio padrão foi o MOB1A e aquele com o menor de todos foi o MOB3C. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Com a **Figura 24.**, descreve-se, no geral, uma alta variabilidade transcricional dos sete genes mob, principalmente para com o MOB1A que teve o maior desvio padrão e a maior média transcricional sugerindo então que houve uma grande demanda deste mob em particular para a grande maioria dos tecidos e pouca para com o MOB3B.

O MOB1A também apresentou um intervalo de desvio padrão significativo para com os mobs 1B, 3B e 3C onde este último foi aquele com o menor desvio padrão. Como tal, sugeriu-se que estes quatro mobs são demandados de maneiras diferentes nos diferentes tecidos. Contrariamente, temos os mobs 3A (que não foi significativo para com nenhum dos mobs devido a uma sobreposição do seu desvio padrão com os restantes), o 2 (que se

demonstrou significativo para com os mobs 1B, 3B e 3C) e o 4 (que se demonstrou significativo também para com os mobs 1B, 3B e com o 3C apesar de pouco).

As comparações que apresentaram sobreposições entre desvios padrões sugeriram-se que tivessem demandas transcricionais, plausivelmente, mais igualitárias dependentemente do tipo de comparação entre mobs e do tecido em questão.

Portanto, com a **Figura 24.**, previu-se uma ordem de expressão geral para o HPA do tipo:

MOB1A> MOB2> MOB4> MOB3A> MOB3C> MOB1B> MOB3B

onde no geral, comparando os dois:

1A/1B (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~77,4%

1A/3A (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~47,5%

1A/3B (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~83,1%

1A/3C (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~73,1%

1A/ 2 (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~27%

1A/ 4 (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~36,7%

1B/3A (HPA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~56,9%

1B/3B (HPA)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~25,2%

1B/3C (HPA)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~15,9%

1B/ 2 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~69%

1B/ 4 (HPA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~64,3%

3A/3B (HPA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~67,8%

3A/3C (HPA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~48,8%

3A/ 2 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~28%

3A/ 4 (HPA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~17%

3B/3C (HPA)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~37,1%

3B/ 2 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~76,8%

3B/ 4 (HPA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~73,3%

3C/ 2 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~63,2%

3C/ 4 (HPA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~57,5%

2/ 4 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~13,2%

Já especificamente, apenas 4 tecidos (**Gallblader, Cervix Uterine, Urinary Bladder e Stomach, Figura 25.**) é que seguiram a ordem de expressão geral acima estipulada e para os restantes 33 tecidos verificaram-se 18 flutuações que envolveram todos os Mob dependentemente do tipo de comparação, (ver **ANEXO 18**).

Ao longo dos tecidos, houve 3 de 21 comparações: **1A/1B, 1A/3A e 1A/3B** que respeitaram a mesma ordem de expressão geral.

O tecido que teve uma diferença percentual mais discrepante foi na comparação **1A/3B: Bone Marrow (99,3%)** em contraste com aquela que teve um tecido com uma diferença percentual menos discrepante que foi a **1A/ 4: Esophagus (0,4%)**.

Apesar da alta expressão do MOB1A, os desvios padrões também demonstraram que, no geral, certos mobs podem superá-lo (MOB2 e o MOB4) comprovando-se com a **Figura 25.** e que, especificamente, ter havido uma maior expressão de mobs menos expressos em certos tecidos (MOB3C - Pancreas, Skeletal Muscle).

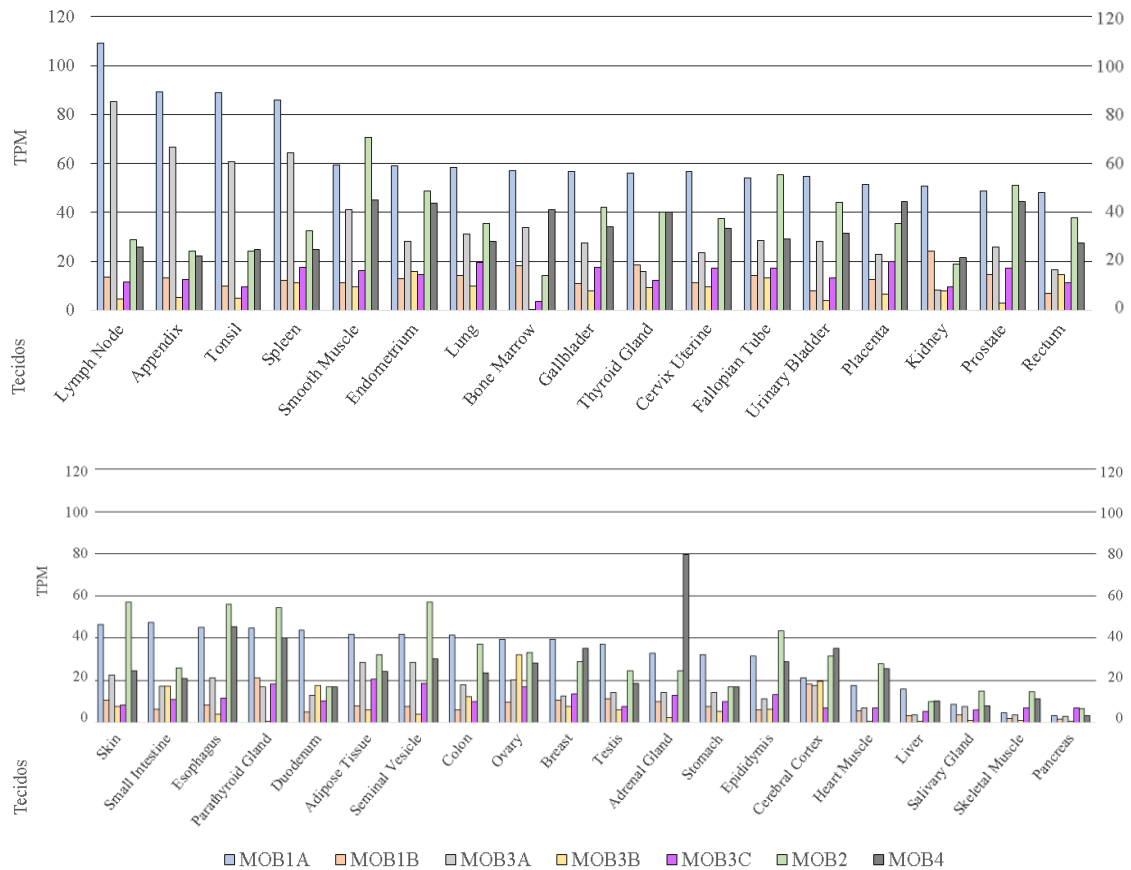


Figura 25. Expressão transcricional de cada gene mob nos 37 tecidos em específico da base de dados do HPA. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Abaixo apresentam-se os cálculos das diferenças percentuais de 21 comparações possíveis de todos os tecidos da **Figura 25**, onde, especificamente:

1A/1B (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 73,7 % nos 37 tecidos. O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Duodenum (89 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cerebral Cortex (14,1 %).

1A/3A (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 48,2 % nos 37 tecidos. O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Kidney (83,5 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Salivary Gland (11,6 %).

1A/3B (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 80,9 % nos 37 tecidos. O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Bone

Marrow (99,3 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cerebral Cortex (7,5 %).

1A/3C (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 70,3 % em 35 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 43,2 % em 2 tecidos (Pancreas, Skeletal Muscle). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Bone Marrow (93,8 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Salivary Gland (30,2 %).

1A/ 2 (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 40,1 % em 24 tecidos. O MOB2 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 30,4 % em 13 tecidos (Smooth Muscle, Seminal Vesicle, Skin, Esophagus, Fallopian Tube, Parathyroid Gland, Prostate, Epididymis, Cerebral Cortex, Heart Muscle, Salivary Gland, Skeletal Muscle, Pancreas). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Bone Marrow (75,1 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Fallopian Tube (2,2 %).

1A/ 4 (HPA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 39,1 % em 31 tecidos. O MOB4 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 38,1 % em apenas 5 tecidos (Adrenal Gland, Esophagus, Cerebral Cortex, Heart Muscle, Skeletal Muscle). Houve um tecido que teve uma diferença percentual de 0 % porque não houve diferenças na expressão de ambos (Pancreas). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Lymph Node (76,2 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Esophagus (0,4 %).

1B/3A (HPA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 53,5 % em 33 tecidos. O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 25,8 % em apenas 4 tecidos (Cerebral Cortex, Parathyroid Gland, Thyroid Gland, Kidney). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Lymph Node (84,2 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cerebral Cortex (4,9 %).

1B/3B (HPA)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 49,8 % em 29 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual

de aproximadamente 42,2 % em apenas 8 tecidos (Ovary, Cerebral Cortex, Duodenum, Small Intestine, Endometrium, Rectum, Colon, Epididymis). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Bone Marrow (97,8 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Epididymis (1,6 %).

1B/3C (HPA)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 37,7 % em 27 tecidos. O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 32,7 % em 10 tecidos (Parathyroid Gland, Appendix, Thyroid Gland, Lymph Node, Tonsil, Kidney, Skin, Testis, Cerebral Cortex, Bone Marrow). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Bone Marrow (80,7 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Tonsil (3,1 %).

1B/ 2 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 69,9 % em 35 tecidos. O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 21,4 % em apenas 2 tecidos (Kidney, Bone Marrow). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Skeletal Muscle (86,9 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Kidney (21,2 %).

1B/ 4 (HPA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 63,9 % em 36 tecidos. O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 10,4 % em apenas 1 tecido (Kidney). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Adrenal Gland (87,7 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Kidney (10,4 %).

3A/3B (HPA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 68,8 % em 33 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 19,2 % em 4 tecidos (Ovary, Cerebral Cortex, Duodenum, Small Intestine). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Bone Marrow (98,8 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Small Intestine (1,2 %).

3A/3C (HPA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 45,5 % em 30 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 25,98 % em 7 tecidos (Parathyroid Gland, Breast, Epididymis, Kidney, Pancreas, Skeletal Muscle, Liver). O tecido que teve uma maior diferença

percentual foi o Bone Marrow (89,7 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Heart Muscle (2,9 %).

3A/ 2 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 47,1 % em 32 tecidos. O MOB3A foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 59,6 % em apenas 5 tecidos (Spleen, Lymph Node, Appendix, Tonsil, Bone Marrow). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Skeletal Muscle (75,3 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Adipose Tissue (10,9 %).

3A/ 4 (HPA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 36,1 % em 31 tecidos. O MOB3A foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 46,9 % em 6 tecidos (Lung, Lymph Node, Tonsil, Spleen, Adipose tissue, Appendix). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Adrenal Gland (82 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Fallopian Tube (2,4 %).

3B/3C (HPA)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 58,9 % em 30 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 34,2 % em 7 tecidos (Ovary, Endometrium, Rectum, Small Intestine, Duodenum, Colon, Cerebral Cortex). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Parathyroid Gland (96,1 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Endometrium (7,6 %).

3B/ 2 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 77,2 % em 36 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 3,9 % em apenas um tecido (Duodenum). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Parathyroid Gland (98,7 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Ovary (3,6 %).

3B/ 4 (HPA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 74,9 % em 35 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 8,1 % em apenas 2 tecidos (Ovary, Duodenum). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Bone Marrow (99 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Duodenum (3,9 %).

3C/ 2 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 60,6 % em 36 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 7 % em apenas 1 tecido (Pancreas). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Skin (85,2 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Pancreas (7 %).

3C/ 4 (HPA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 53,8 % em 36 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 52,1 % em apenas 1 tecido (Pancreas). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Bone Marrow (91,5 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Adipose Tissue (14,1 %).

2/ 4 (HPA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 25,3 % em 27 tecidos. O MOB4 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 25 % em 8 tecidos (Adrenal Gland, Placenta, Bone Marrow, Cerebral Cortex, Breast, Tonsil, Kidney, Liver). Houve 2 tecidos em que a diferença foi de 0% porque não houve diferenças na expressão de ambos (Thyroid Gland, Duodenum).

Com estes resultados, dificilmente nos indicam se são uma consequência do estado tecidular ou do método de recolha das amostras.

7.3.2. Base de dados GTEx

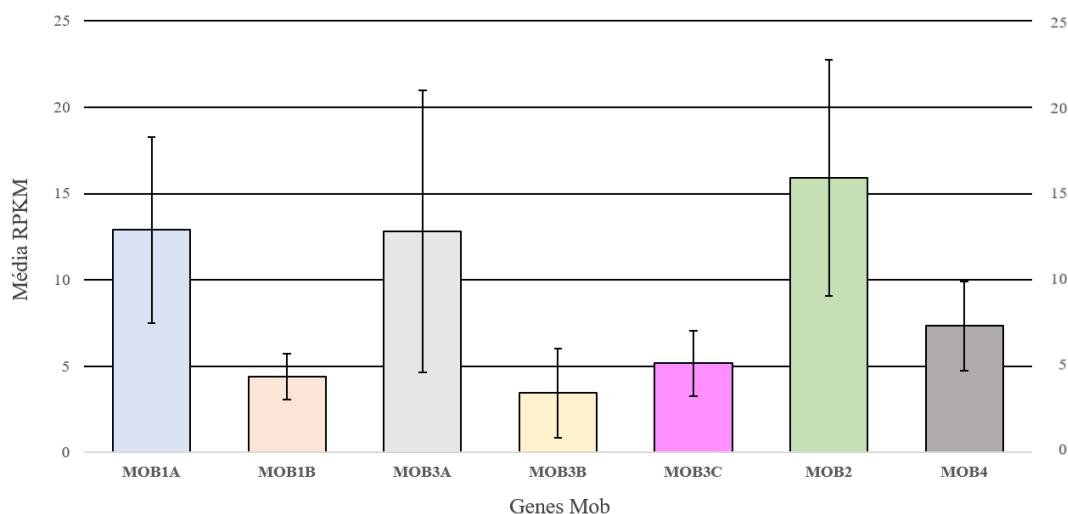


Figura 26. Médias e desvios padrões gerais da expressão transcricional dos sete genes mob de humanos nos 31 tecidos de um contexto dito “normal” de amostras pós morte (GTEx). *Nota.* Aquele com o maior desvio padrão foi o MOB3A e aquele com o menor de todos foi o MOB1B. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Com a **Figura 26.**, descreve-se, no geral, também uma alta variabilidade transcricional dos sete genes mob onde desta vez foi o MOB2 que teve a maior média de expressão transcricional de todos os mobs sugerindo-se então que houve uma grande demanda deste mob em particular para a grande maioria dos tecidos e novamente pouca para com o MOB3B neste contexto dito “normal”.

O MOB2 também apresentou um intervalo de desvio padrão significativo para com um maior número de mobs: 1B (que teve o menor desvio padrão), 3B, 3C e com o 4 apesar de pouco). O MOB1A também se apresentou significativo para com os mesmo três mobs e pouco com o 4. Como tal, sugeriu-se novamente que estes mobs são demandados de maneiras diferentes nos diferentes tecidos. Contrariamente, temos os mobs 3A que foi aquele com o maior desvio padrão e que novamente não foi significativo para com nenhum dos mobs assim como o MOB4.

As comparações que novamente apresentaram sobreposições entre desvios padrões sugeriram-se que tivessem demandas transcricionais, plausivelmente, mais igualitárias dependentemente do tipo de comparação entre mobs e do tecido em questão.

Devido à alta expressão transcricional do MOB2, especula-se que o mesmo possa estar mais associado a um estado celular exclusivo como o de morte celular já que o GTEx

recorre a amostras pós-morte, porém, se é para fins apoptóticos ou anti-apoptóticos seja-se ainda debatível.

Portanto, com a **Figura 26.**, previu-se uma ordem de expressão geral para o GTE_x do tipo:

MOB2> MOB1A> MOB3A> MOB4> MOB3C> MOB1B> MOB3B

onde no geral:

1A/1B (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~65,9%

1A/3A (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~0,7%

1A/3B (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~73,3%

1A/3C (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~59,9%

1A/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~18,9%

1A/ 4 (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~43,2%

1B/3A (GTE_x)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~65,6%

1B/3B (GTE_x)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~21,8%

1B/3C (GTE_x)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~14,9%

1B/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~72,3%

1B/ 4 (GTE_x)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~39,9%

3A/3B (GTE_x)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~73,1%

3A/3C (GTE_x)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~59,6%

3A/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~19,5%

3A/ 4 (GTE_x)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~42,7%

3B/3C (GTE_x)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~33,5%

3B/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~78,4%

3B/ 4 (GTE_x)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~53,1%

3C/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~67,5%

3C/ 4 (GTE_x)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~29,5%

2/ 4 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~53,9%

Já especificamente, apenas 7 tecidos (**Urinary Bladder, Vagina, Adipose tissue, Thyroid Gland, Salivary Gland, Stomach e Testis, Figura 27.**) é que seguiram a ordem de expressão geral acima estipulada e para os restantes 24 tecidos verificaram-se 20 flutuações que envolveram todos os mob dependentemente do tipo de comparação, (ver **ANEXO 19**).

Ao longo dos tecidos, houve apenas 1 comparação de 21: **1B/ 2** que seguiu a mesma ordem de expressão do caso geral.

Num total de 21 comparações, aquela que teve um tecido com uma diferença percentual mais discrepante foi a comparação **3B/4: Adrenal Gland (95,4%)** em contraste com aquela que teve um tecido com uma diferença percentual menos discrepante que foi a **1A/ 2: Esophagus (0,6%)**.

Apesar da alta expressão do MOB2, os desvios padrões também demonstraram que, no geral, certos mobs podem superá-lo (MOB1A, MOB3A e o MOB4) comprovando-se com a **Figura 27.** e que, especificamente, ter havido uma maior expressão de mobs menos expressos em certos tecidos (MOB3C – Pancreas, por exemplo).

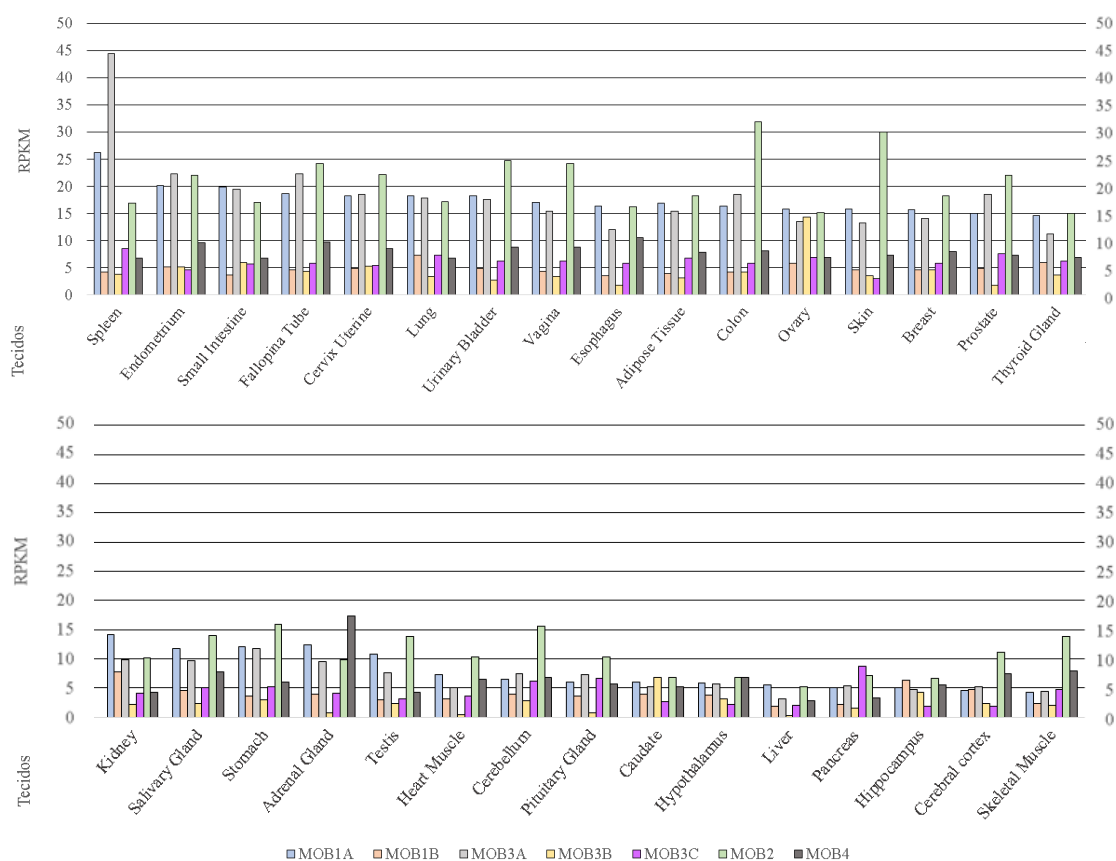


Figura 27. Expressão transcricional de cada gene mob nos 31 tecidos em específico da base de dados do GTE_x. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Abaixo apresentam-se os cálculos das diferenças percentuais de 21 comparações possíveis de todos os tecidos da **Figura 27**, onde, especificamente:

1A/1B (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 63,4 % em 29 tecidos, O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 11,8 % em apenas 2 tecidos (Hipocampus, Cerebral Cortex). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Spleen (83,9 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cerebral Cortex (2,1 %).

1A/3A (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 15,5 % em 20 tecidos. O MOB3A foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 13,7 % em 11 tecidos (Spleen, Fallopian Tube, Endometrium, Colon, Prostate, Cervix Uterine, Cerebellum, Pituitary Gland, Pancreas, Cerebral Cortex,

Skeletal Muscle). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Liver (41,8 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cervix Uterine (1,2 %).

1A/3B (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 72,2 % em 30 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 13 % em apenas 1 tecido (Caudate). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Liver (94,5 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Caudate (13 %).

1A/3C (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 61,3 % em 28 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 20,2 % em apenas 3 tecidos (Pancreas, Pituitary Gland, Skeletal Muscle). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Skin (81 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cerebellum (4,6 %).

1A/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 29,3 % em 28 tecidos. O MOB1A foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 14,5 % em 8 tecidos (Lung, Small Intestine, Spleen, Esophagus, Ovary, Kidney, Adrenal Gland, Liver). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Skeletal Muscle (68,8 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Esophagus (0,6 %).

1A/ 4 (GTE_x)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 47,3 % em 25 tecidos. O MOB4 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 24,1 % em 6 tecidos (Adrenal Gland, Skeletal Muscle, Cerebral Cortex, Hypothalamus, Cerebellum, Hippocampus). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Kidney (70,4 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cerebellum (5,8 %).

1B/3A (GTE_x)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 56,8 % em 30 tecidos. O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 25 % em apenas 1 tecido (Hippocampus). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Spleen (90,5 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cerebral Cortex (11,3 %).

1B/3B (GTE_x)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 41,5 % em 24 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 30,1 % em 5 tecidos (Ovary, Caudate, Small Intestine, Cervix Uterine, Breast). Houve 2 tecidos com uma diferença percentual de 0% porque não houve diferenças na expressão de ambos (Endometrium, Colon). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Heart Muscle (84,4 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Breast (2,1 %).

1B/3C (GTE_x)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 26,4 % em 24 tecidos. O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 42,4 % em 7 tecidos (Endometrium, Kidney, Skin, Caudate, Hypothalamus, Cerebral Cortex, Hippocampus). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Pancreas (74,5 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Lung (1,4 %).

1B/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 67,4 % nos 31 tecidos. O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Colon (86,8 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Hippocampus (4,5 %).

1B/ 4 (GTE_x)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 42,6 % em 28 tecidos. O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 22,4 % em apenas 3 tecidos (Lung, Hippocampus, Kidney). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Adrenal Gland (77,6 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Lung (6,8 %).

3A/3B (GTE_x)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 73,5 % em 29 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 14,8 % em 2 tecidos (Ovary, Caudate). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Adrenal Gland (91,6 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Ovary (6,3 %).

3A/3C (GTE_x)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 55,9 % em 29 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual

de aproximadamente 23,1 % em 2 tecidos (Pancreas, Skeletal Muscle). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Spleen (80,9 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Skeletal Muscle (8,3 %).

3A/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 29,5 % em 27 tecidos. O MOB3A foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 19,6 % em apenas 4 tecidos (Endometrium, Lung, Small Intestine, Spleen). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Skeletal Muscle (68,1 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Endometrium (0,9 %).

3A/ 4 (GTE_x)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 44,6 % em 24 tecidos. O MOB4 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 28,8 % em 6 tecidos (Adrenal Gland, Skeletal Muscle, Cerebral Cortex, Hypothalamus, Heart Muscle, Hippocampus). Houve um tecido que teve uma diferença percentual de 0 % porque o nível de expressão de ambos não variou (Caudate). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Small Intestine (65,1 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cerebellum (8 %).

3B/3C (GTE_x)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 53,1 % em 24 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 33,5 % em 7 tecidos (Ovary, Small Intestine, Skin, Caudate, Hypothalamus, Cerebral Cortex, Hippocampus). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Pituitary Gland (89,4 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Cervix Uterine (1,9 %).

3B/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 78 % em 30 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 1,4 % em apenas 1 tecido (Caudate). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Heart Muscle (95,1 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Caudate (1,4 %).

3B/ 4 (GTE_x)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 58,4 % em 29 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 37,3 % em apenas 2 tecidos (Ovary, Caudate). O tecido que teve

uma maior diferença percentual foi o Adrenal Gland (95,4 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Small Intestine (11,8 %).

3C/ 2 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 66,4 % em 30 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 17,2 % em apenas 1 tecido (Pancreas). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Skin (90 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Pancreas (17,2 %).

3C/ 4 (GTE_x)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 35,4 % em 26 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 21,5 % em apenas 5 tecidos (Prostate, Spleen, Lung, Pituitary Gland, Pancreas). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Adrenal Gland (76,4 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Ovary (1,4 %).

2/ 4 (GTE_x)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 53,2 % em 29 tecidos. O MOB4 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 43,7 % em apenas 1 tecido (Adrenal Gland). O tecido que teve uma igual abundância, isto é, de 0 % de diferença percentual foi o Hypothalamus. O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Skin (75,6 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Hippocampus (17,9 %).

Com estes resultados, dificilmente nos indicam se são uma consequência do estado tecidular ou do método de recolha das amostras.

7.3.3. Base de dados FANTOM5

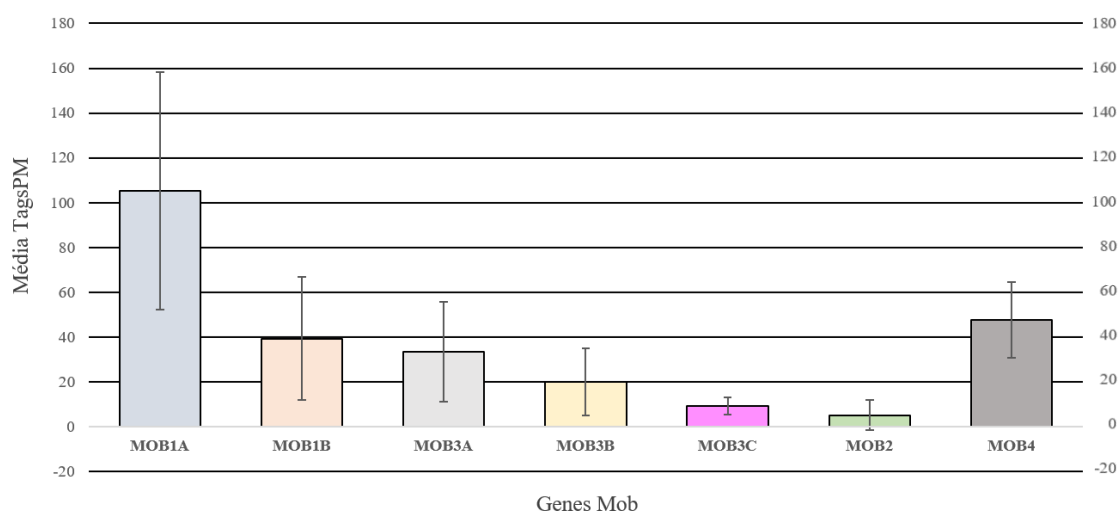


Figura 28. Médias e desvios padrões gerais da expressão transcricional dos sete genes mob de humanos nos 36 tecidos de um contexto normal (FANTOM5). *Nota.* Aquele com o maior desvio padrão foi o MOB1A e aquele com o menor de todos foi o MOB3C. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Com a **Figura 28.**, descreveu-se novamente que desta vez em poucas amostras por tecido, no geral, houve uma expressão transcricional escalonada também com uma certa variabilidade transcricional dos sete genes mob, principalmente para com o MOB1A que teve o maior desvio padrão e a maior média transcricional sugerindo-se então que houve uma grande demanda deste mob em particular para a grande maioria dos tecidos e pouca para com o MOB2.

O MOB1A também apresentou um intervalo de desvio padrão significativo para com os mobs 3B, 3C (que teve o menor desvio padrão de todos), 2 e para com o 4 apesar de pouco.

O MOB1B demonstrou-se significativo para com os mobs 3C e 2.

O MOB2 demonstrou-se significativo para com os mobs 1B e 3A.

O MOB4 demonstrou-se significativo para com os mobs 3B (apesar de pouco), 3C e 2.

Como tal, sugeriu-se que estes mobs nestas comparações seriam demandados de maneiras diferentes nos diferentes tecidos.

As restantes comparações que apresentaram pouca significância nos intervalos de desvio padrão sugeriram-se que tivessem demandas transcricionais, plausivelmente, mais igualitárias dependentemente do tipo comparativo e do tecido em questão.

Portanto, com a **Figura 28.**, previu-se uma ordem de expressão geral para o FANTOM5 do tipo:

MOB1A> MOB4> MOB1B> MOB3A> MOB3B> MOB3C> MOB2

onde no geral:

1A/1B (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~62,6%

1A/3A (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~68,2%

1A/3B (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~81,1%

1A/3C (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~91,1%

1A/ 2 (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~95,1%

1A/ 4 (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~54,7%

1B/3A (FANTOM5)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~14,9%

1B/3B (FANTOM5)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~49,4%

1B/3C (FANTOM5)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~76,2%

1B/ 2 (FANTOM5)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~86,8%

1B/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~17,5%

3A/3B (FANTOM5)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~40,5%

3A/3C (FANTOM5)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~72,1%

3A/ 2 (FANTOM5)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~84,5%

3A/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~29,7%

3B/3C (FANTOM5)

O MOB3B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~53,1%

3B/ 2 (FANTOM5)

O MOB3B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~73,9%

3B/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~58,2%

3C/ 2 (FANTOM5)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~44,4%

3C/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~80,4%

2/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~89,1%

Já especificamente, apenas 2 tecidos (**Thyroid Gland** e **Testis**, **Figura 29.**) é que seguiram a ordem de expressão geral acima estipulada e para os restantes 34 tecidos verificaram-se 15 flutuações que envolveram todos os mob dependentemente do tipo de comparação, (ver **ANEXO 20**).

Ao longo dos tecidos, houve 6 comparações: **1A/3A**, **1A/3C**, **1A/2**, **1B/ 2**, **3C/ 4** e **2/ 4** que seguiram a mesma ordem de expressão do caso geral.

Num total de 21 comparações, aquelas que tiveram tecidos com uma diferença percentual mais discrepante foram as seguintes: **1A/2**, **1B/ 2**, **3A/ 2**, **3B/2**, **3C/ 2** e **2/ 4** envolvendo os tecidos **Pituitary Gland**, **Thymus** e **Pancreas (100%)** em contraste com aquela que teve um tecido com uma diferença percentual menos discrepante que foi a **3C/ 2: Esophagus (1,2%)**.

Reparou-se também que para um número de amostras a variar de 1 a 2 por tecido, houve uma individualidade variacional de cada tecido para cada expressão transcricional mob, onde, por exemplo e particularmente, os níveis do gene MOB2 em três tecidos (Pituitary Gland, Thymus, Pancreas) terem chegado ao valor de 0 TagPM, questionando-se o facto da sua necessidade numa célula.

Os desvios padrões também demonstraram que, no geral, certos mobs podem superar o MOB1A (MOB1B, MOB3A e o MOB4) comprovando-se com a **Figura 29.** e que,

especificamente, ter havido uma maior expressão de mobs menos expressos em certos tecidos (MOB3B – Caudate, por exemplo).

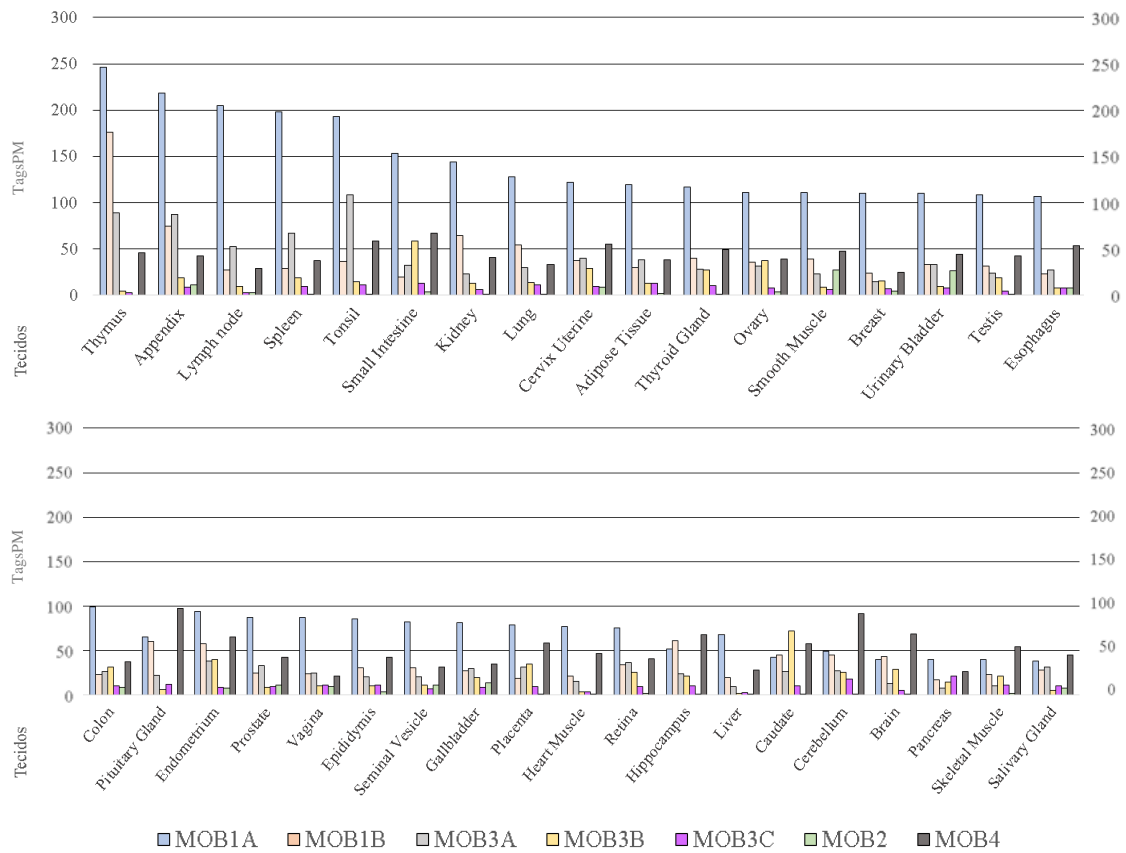


Figura 29. Expressão transcricional de cada gene mob nos 36 tecidos em específico da base de dados do FANTOM5. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Abaixo apresentam-se os cálculos das diferenças percentuais de 21 comparações possíveis de todos os tecidos da **Figura 29**. onde, especificamente:

1A/1B (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 62,3% em 33 tecidos. O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 9,2 % em apenas 3 tecidos (Hipocampus, Caudate, Brain). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Small Intestine (87,3 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Caudate (5,7 %).

1A/3A (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 67,1 % nos 36 tecidos. O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Breast (86,9 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Salivary Gland (18 %).

1A/3B (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 78,6 % em 35 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 41% em apenas 1 tecido (Caudate). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Thymus (98,1 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Brain (28,9 %).

1A/3C (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 87,8 % nos 36 tecidos. O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Thymus (98,9 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Pancreas (46,5 %).

1A/ 2 (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 94,5 % nos 36 tecidos. Os que tiveram uma maior diferença percentual foram os tecidos Pituitary Gland, o Thymus e o Pancreas (100 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Smooth Muscle (75,4 %).

1A/ 4 (FANTOM5)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 59,9 % em 29 tecidos. O MOB4 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 30,3 % em 7 tecidos (Pituitary Gland, Cerebellum, Brain, Hippocampus, Caudate, Skeletal Muscle, Salivary Gland). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Lymph Node (85,7 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Salivary Gland (15,1 %).

1B/3A (FANTOM5)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 42,9 % em 20 tecidos. O MOB3A foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 24,1 % em 16 tecidos (Tonsil, Appendix, Spleen, Lymph Node, Cervix Uterine, Adipose Tissue, Retina, Urinary Bladder, Prostate, Small Intestine, Salivary Gland, Placenta, Gallbladder, Esophagus, Colon, Vagina). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Brain (69,9 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Urinary Bladder (1,5 %).

1B/3B (FANTOM5)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 55,6 % em 31 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 36,3 % em apenas 5 tecidos (Caudate, Small Intestine, Ovary, Placenta, Colon). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Thymus (97,3 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Ovary (4,8 %).

1B/3C (FANTOM5)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 72 % em 35 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 21,8 % em apenas 1 tecido (Pancreas). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Thymus (98,5 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Pancreas (21,8 %).

1B/ 2 (FANTOM5)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 83,4 % nos 36 tecidos. Os que tiveram uma maior diferença percentual foram os tecidos Pituitary Gland, Thymus, Pancreas (100 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Urinary Bladder (19,9 %).

1B/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 31,2 % em 30 tecidos. O MOB1B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 40,5 % em apenas 6 tecidos (Thymus, Appendix, Prostate, Kidney, Lung, Vagina). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Thymus (73,9 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Breast (2,8 %).

3A/3B (FANTOM5)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 55,8 % em 26 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 31% em 10 tecidos (Caudate, Small Intestine, Endometrium, Ovary, Placenta, Colon, Brain, Skeletal Muscle, Breast, Pancreas). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Thymus (94,7 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Thyroid Gland (3,8 %).

3A/3C (FANTOM5)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 68,6 % em 34 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 35,3 % em apenas 2 tecidos (Pancreas, Skeletal Muscle). O tecido

que teve uma maior diferença percentual foi o Thymus (97,1 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Skeletal Muscle (9,5 %).

3A/ 2 (FANTOM5)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 84,5 % em 35 tecidos. O MOB2 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 15% em apenas 1 tecido (Smooth Muscle). Os que tiveram uma maior diferença percentual foram os tecidos Pituitary Gland, Thymus, Pancreas (100 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Smooth Muscle (15 %).

3A/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 43,7 % em 30 tecidos. O MOB3A foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 40,8 % em apenas 6 tecidos (Tonsil, Thymus, Appendix, Spleen, Lymph Node, Vagina). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Brain (81,2 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Adipose Tissue (1,3 %).

3B/3C (FANTOM5)

O MOB3B foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 52,9 % em 27 tecidos. O MOB3C foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 21,8 % em 9 tecidos (Pancreas, Pituitary Gland, Vagina, Epididymis, Salivary Gland, Prostate, Esophagus, Heart Muscle, Liver). O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Caudate (85,5 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Esophagus (3,7 %).

3B/ 2 (FANTOM5)

O MOB3B foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 79,6 % em 31 tecidos. O MOB2 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 38,8 % em apenas 5 tecidos (Smooth Muscle, Urinary Bladder, Prostate, Salivary Gland, Esophagus). Houve um tecido com uma diferença percentual de 0 % porque não houve variação dos níveis de transcritos de ambas as proteínas (Seminal Vesicle). Os que tiveram uma maior diferença percentual foram os tecidos Pituitary Gland, Thymus, Pancreas (100 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Esophagus (2,5 %).

3B/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 59,7 % em 35 tecidos. O MOB3B foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 19,6% em apenas 1 tecido (Caudate). O tecido que teve uma maior

diferença percentual foi o Pituitary Gland (93,1 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Ovary (5,8 %).

3C/ 2 (FANTOM5)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 67,7 % em 30 tecidos. O MOB2 foi o menos abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 42,3 % em apenas 6 tecidos (Smooth Muscle, Urinary Bladder, Gallbladder, Prostate, Appendix, Seminal Vesicle). Os que tiveram uma maior diferença percentual foram os tecidos Pituitary Gland, Thymus, Pancreas (100 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Esophagus (1,2 %).

3C/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 78,3 % nos 36 tecidos. O tecido que teve uma maior diferença percentual foi o Thymus (94,3 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Pancreas (17,9 %).

2/ 4 (FANTOM5)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de aproximadamente 87,2 % nos 36 tecidos. Os que tiveram uma maior diferença percentual foram os tecidos Pituitary Gland, Thymus, Pancreas (100 %) e aquele que teve uma menor diferença percentual foi o Urinary Bladder (40,6 %).

Com estes resultados, dificilmente nos indicam se são uma consequência do estado tecidular ou do método de recolha das amostras.

7.3.4. Base de dados TCGA

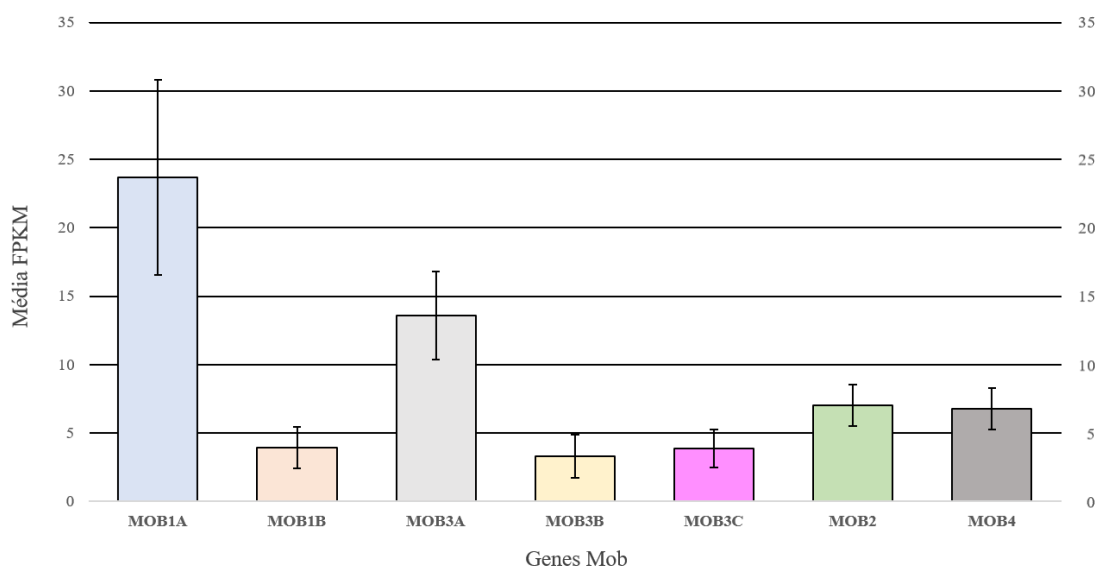


Figura 30. Médias e desvios padrões gerais da expressão transcricional dos sete genes mob de humanos nos 17 tecidos do contexto tumoral (TCGA). **Nota.** Aquele com o maior desvio padrão foi o MOB1A e aquele com o menor de todos foi o MOB3C. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Com a **Figura 30.**, descreveu-se no geral que no contexto tumoral de 17 casos, houve também uma certa variabilidade transcricional dos sete genes mob onde teve-se uma maior expressão transcricional para com o MOB1A que teve o maior desvio padrão sugerindo-se que houvesse uma grande demanda deste mob em particular para a grande maioria dos tecidos tumorais e pouca para com o MOB3B.

O MOB1A também apresentou um intervalo de desvio padrão significativo para com mais mobs 1B, 3A, 3B, 3C (que teve o menor desvio padrão de todos), 2 e com o 4.

O MOB1B demonstrou-se significativo para com os mobs 3A, 2 e 4.

O MOB2 demonstrou-se significativo para com os mobs 3A, 3B e 3C.

O MOB3A demonstrou-se significativo para com os mobs 3B, 3C e 4.

O MOB4 demonstrou-se significativo para com os mobs 3B e 3C.

Como tal, sugeriu-se que estes mobs nestas comparações seriam demandados de maneiras diferentes nos diferentes tecidos.

As restantes comparações que apresentaram pouca significância nos intervalos de desvio padrão (MOB1B vs MOB3B vs MOB3C) sugeriram-se novamente, assim como os do contexto normal, que tivessem demandas transcricionais, plausivelmente, mais igualitárias dependentemente do tipo de tecido tumoral em questão.

Portanto, com a **Figura 30.**, previu-se uma ordem de expressão geral para o TCGA do tipo:

MOB1A> MOB3A> MOB2> MOB4> MOB1B> MOB3C> MOB3B

onde no geral:

1A/1B (TCGA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~83,3%

1A/3A (TCGA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~42,6%

1A/3B (TCGA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~86%

1A/3C (TCGA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~83,7%

1A/ 2 (TCGA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~70,3%

1A/ 4 (TCGA)

O MOB1A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~71,3%

1B/3A (TCGA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~70,9%

1B/3B (TCGA)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~16,4%

1B/3C (TCGA)

O MOB1B foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~2,3%

1B/ 2 (TCGA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~43,7%

1B/ 4 (TCGA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~41,7%

3A/3B (TCGA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~75,6%

3A/3C (TCGA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~71,5%

3A/ 2 (TCGA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~48,2%

3A/ 4 (TCGA)

O MOB3A foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~50,1%

3B/3C (TCGA)

O MOB3C foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~14,5%

3B/ 2 (TCGA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~52,9%

3B/ 4 (TCGA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~51,2%

3C/ 2 (TCGA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~45%

3C/ 4 (TCGA)

O MOB4 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~43%

2/ 4 (TCGA)

O MOB2 foi o mais abundante com uma diferença percentual de ~3,5%

Já especificamente, apenas 1 tecido tumoral (**Thyroid Cancer, Figura 31.**) é que seguiu a mesma ordem de expressão geral acima estipulada e para os restantes 16 casos tumorais verificaram-se 11 flutuações que envolveram todos os mob dependentemente do tipo de comparação, (ver **ANEXO 21**).

O tecido tumoral que teve uma média de discrepâncias mais acentuada foi o **Breast (60,2 %)** em contraste com o **Renal (45,2%), Tabela XI.**

Ao longo dos tecidos, houve 10 comparações: **1A/1B; 1A/3B; 1A/3C; 1A/ 2; 1A/4; 1B/3A; 3A/3B; 3A/ 4; 3C/ 2 e 3C/ 4** que seguiram a mesma ordem de expressão do caso geral.

Num total de 21 comparações, aquela que teve um tecido tumoral com uma diferença percentual mais discrepante foi a **3A/ 3B (95,4%)** no tecido **Prostate** em contraste com aquela que teve um tecido com uma diferença percentual menos discrepante que foi a **1A/ 3A (1,9%)** no **Prostate, Tabela XI.**

Houve também 5 comparações de 21 que apresentaram uma diferença percentual de **0%** (**3A/ 2 - Liver; 1B/ 3C - Pancreatic; 2/ 4 - Coloretal; 1B/ 2 - Testis; 3B/ 3C - Endometrial**), **Tabela XI.**, suspeitando-se de que houvesse uma necessidade de igual atenção e atendida em proporção de transcritos, porém, nestes casos e de outros

anteriormente mencionados e figurados saber-se se estes níveis são o reflexo de uma causa ou consequência dos estados tumorais ainda permanecer-se uma incógnita.

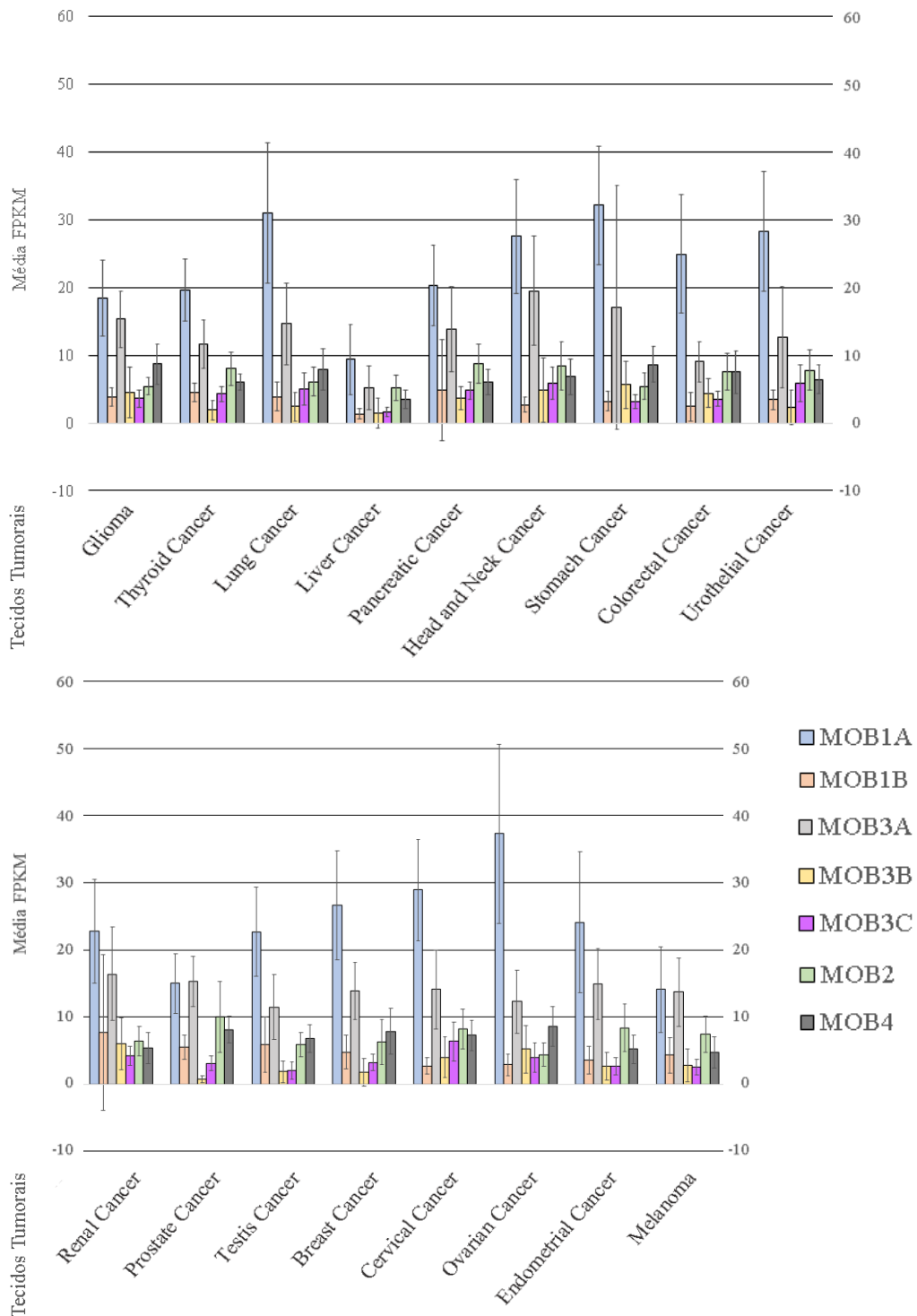


Figura 31. Médias e desvios padrões da expressão transcricional de cada gene mob nos 17 tecidos em específico da base de dados do TCGA. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Abaixo apresentam-se os cálculos das diferenças percentuais de 21 comparações possíveis de cada caso tumoral da **Figura 31**, tabelados na **Tabela XI**.

Tabela XI. Diferentes representatividades percentuais dos genes mob em 21 comparações possíveis para cada um dos 17 tecidos tumorais da base de dados do TCGA repartida em três secções.

Tumores	Glioma		Thyroid		Lung		Liver		Pancreatic		Head and Neck	
Comparaçào	1A	79,3 %	1A	77 %	1A	87,4 %	1A	86,2 %	1A	76,4 %	1A	90,2 %
1A/3A	1A	16,8 %	1A	40,8 %	1A	85,2 %	1A	44,7 %	1A	32 %	1A	29,1 %
1A/3B	1A	75,5 %	1A	90,3 %	1A	92,3 %	1A	84 %	1A	82,3 %	1A	82,2 %
1A/3C	1A	80,4 %	1A	78,1 %	1A	83,9 %	1A	82,9 %	1A	76,4 %	1A	78,5 %
1A/2	1A	70,7 %	1A	59,2 %	1A	80,3 %	1A	44,7 %	1A	57,1 %	1A	69,5 %
1A/4	1A	52,7 %	1A	69,4 %	1A	74,5 %	1A	62,8 %	1A	70,4 %	1A	75,3 %
1B/3A	3A	75,2 %	3A	61,2 %	3A	73,3 %	3A	75 %	3A	65,2 %	3A	86,2 %
1B/3B	3B	15,6 %	1B	57,8 %	1B	38,5 %	3B	13,3 %	1B	25 %	3B	44,9 %
1B/3C	1B	5,3 %	1B	4,4 %	3C	22 %	3C	18,8 %		0%	3C	54,2 %
1B/2	2	29,6 %	2	43,8 %	2	36,1 %	2	75 %	2	44,8 %	2	67,9 %
1B/4	4	56,3 %	4	25 %	4	50,6 %	4	62,9 %	4	20 %	4	60,3 %
3A/3B	3A	70,6 %	3A	83,6 %	3A	83,6 %	3A	71,2 %	3A	73,9 %	3A	74,9 %
3A/3C	3A	76,5 %	3A	62,9 %	3A	65,8 %	3A	69,2 %	3A	65,2 %	3A	69,7 %
3A/2	3A	64,7 %	3A	31 %	3A	58,2 %		0%	3A	36,9 %	3A	56,9 %
3A/4	3A	43,1 %	3A	48,3 %	3A	45,9 %	3A	32,7 %	3A	56,5 %	3A	65,1 %
3B/3C	3B	20 %	3C	55,8 %	3C	52 %	3C	6,3 %	3C	25 %	3C	16,9 %
3B/2	2	16,7 %	2	76,3 %	2	60,7 %	2	71,2 %	2	58,6 %	2	41,7 %
3B/4	4	48,7 %	4	68,3 %	4	69,6 %	4	57,1 %	4	40 %	4	27,9 %
3C/2	2	33,3 %	2	46,3 %	2	18 %	2	69,2 %	2	44,8 %	2	29,8 %
3C/4	4	58,6 %	4	28,3 %	4	36,7 %	4	54,3 %	4	20 %	4	13,2 %
2 vs 4	4	37,9 %	2	25 %	4	22,8 %	2	32,7 %	2	31 %	2	19 %
MÉDIA DP		48,9%		53,9%		58,9%		53,1%		47,7%		54,9%

CONTINUAÇÃO

Tumores	Stomach		Colorectal		Urothelial		Renal		Prostate		Testis	
Comparaçào	1A	90 %	1A	90,4 %	1A	87,9 %	1A	66,2 %	1A	63,3 %	1A	74 %
1A/3A	1A	46,7 %	1A	63,9 %	1A	55,3 %	1A	28,1 %	3A	1,9 %	1A	49,3 %
1A/3B	1A	82,6 %	1A	82,3 %	1A	91,8 %	1A	73,7 %	1A	95,3 %	1A	91,6 %
1A/3C	1A	90,3 %	1A	85,9 %	1A	79,1 %	1A	81,6 %	1A	79,3 %	1A	91,2 %
1A/2	1A	83,2 %	1A	69,9 %	1A	72,3 %	1A	71,9 %	1A	33,3 %	1A	74 %
1A/4	1A	73,2 %	1A	69,9 %	1A	77,3 %	1A	76,3 %	1A	46 %	1A	70 %
1B/3A	3A	81,3 %	3A	73,3 %	3A	73 %	3A	53 %	3A	64,1 %	3A	48,7 %
1B/3B	3B	42,8 %	3B	45,5 %	1B	32,4 %	1B	22,1 %	1B	87,3 %	1B	67,8 %
1B/3C	1B	3,2 %	3C	31,4 %	3C	42,4 %	1B	45,5 %	1B	43,6 %	1B	66,1 %
1B/2	2	40,7 %	2	68 %	2	56,4 %	1B	16,9 %	2	45 %		0%
1B/4	4	62,8 %	4	68 %	4	46,9 %	1B	29,9 %	4	32,1 %	4	13,2 %
3A/3B	3A	67,3 %	3A	51,1 %	3A	81,7 %	3A	63,4 %	3A	95,4 %	3A	83,5 %
3A/3C	3A	81,9 %	3A	61,1 %	3A	53,2 %	3A	74,4 %	3A	79,7 %	3A	82,6 %
3A/2	3A	68,4 %	3A	16,7 %	3A	38,1 %	3A	60,9 %	3A	34,6 %	3A	48,7 %
3A/4	3A	49,7 %	3A	16,7 %	3A	49,2 %	3A	67,1 %	3A	47,1 %	3A	40,9 %
3B/3C	3B	44,6 %	3B	20,5 %	3C	61 %	3B	30 %	3C	77,4 %	3C	5 %
3B/2	3B	3,6 %	2	41,3 %	2	70,5 %	2	6,3 %	2	93 %	2	67,8 %
3B/4	3B	34,9 %	4	41,3 %	4	64,1 %	3B	10 %	4	91,4 %	4	72,1 %
3C/2	2	42,6 %	2	53,3 %	2	24,4 %	2	34,4 %	2	69 %	2	66,1 %
3C/4	4	63,9 %	4	53,3 %	4	7,8 %	4	22,2 %	4	61,7 %	4	70,8 %
2 vs 4	4	37,2 %		0%	2	17,9 %	2	15,6 %	2	19 %	4	13,2 %
MÉDIA DP		56,7%		52,6%		56,3%		45,2%		59,9%		56,9%

FIM

Comparaç�o	Tumores	Breast	Cervical	Ovarian	Endometrial	Melanoma				
1A/1B	1A	81,9 %	1A	90,7 %	1A	92,2 %	1A	85,1 %	1A	69,5 %
1A/3A	1A	47,7 %	1A	51,2 %	1A	67 %	1A	38,2 %	1A	2,8 %
1A/3B	1A	93,2 %	1A	86,2 %	1A	86,1 %	1A	88,8 %	1A	80,1 %
1A/3C	1A	87,9 %	1A	77,9 %	1A	89,3 %	1A	88,8 %	1A	82,3 %
1A/2	1A	76,3 %	1A	71,6 %	1A	88,2 %	1A	65,1 %	1A	46,8 %
1A/4	1A	70,3 %	1A	74,7 %	1A	76,7 %	1A	78,4 %	1A	66,7 %
1B/3A	3A	65,5 %	3A	80,9 %	3A	76,4 %	3A	75,8 %	3A	68,6 %
1B/3B	1B	62,5 %	3B	32,5 %	3B	44,2 %	1B	25 %	1B	34,9 %
1B/3C	1B	33,3 %	3C	57,8 %	3C	27,5 %	3C	25 %	1B	41,9 %
1B/2	2	23,8 %	2	67,1 %	2	34,1 %	2	57,1 %	2	42,7 %
1B/4	4	39,2 %	4	63 %	4	66,7 %	4	30,8 %	4	8,5 %
3A/3B	3A	87,1 %	3A	71,6 %	3A	57,7 %	3A	81,9 %	3A	79,6 %
3A/3C	3A	76,9 %	3A	54,6 %	3C	67,5 %	3A	81,9 %	3A	81,8 %
3A/2	3A	54,7 %	3A	41,8 %	3A	64,2 %	3A	43,6 %	3A	45,3 %
3A/4	3A	43,2 %	3A	48,2 %	3A	29,3 %	3A	65,1 %	3A	65,7 %
3B/3C	3C	43,8 %	3C	37,5 %	3B	23,1 %	0%		3B	10,7 %
3B/2	2	71,4 %	2	51,2 %	3B	15,4 %	2	67,9 %	2	62,7 %
3B/4	4	77,2 %	4	45,2 %	4	40,2 %	4	92,6 %	4	40,4 %
3C/2	2	49,2 %	2	21,9 %	2	9,1 %	2	67,9 %	2	66,7 %
3C/4	4	59,5 %	4	12,3 %	4	54 %	4	48,1 %	4	46,8 %
2 vs 4	4	20,3 %	2	10,9 %	4	49,4 %	2	38,1 %	2	37,3 %
MÉDIA DP		60,2%		54,7%		55,2%		59,3%		51,5%

LEGENDA: Negrito – Gene mob com a maior abundância transcricional dentro de uma comparação juntamente com o seu valor de diferenç a percentual calculado com respeito ao mob com um maior valor. **Média DP** – média das diferenç as percentuais de cada tecido tumoral. **Nota.** Valores de 0 % indicam uma igual abundância.

De seguida, apresentam-se as descidas e subidas dos níveis de expressão dos mobs nos tecidos em específico das bases de dados do HPA, GTEx e do FANTOM5 para cada caso tumoral (TCGA) figurados com as **Figuras 32. – 36.** e com as **Tabelas XII. – XIV.** que compilam os valores percentuais de cada caso.

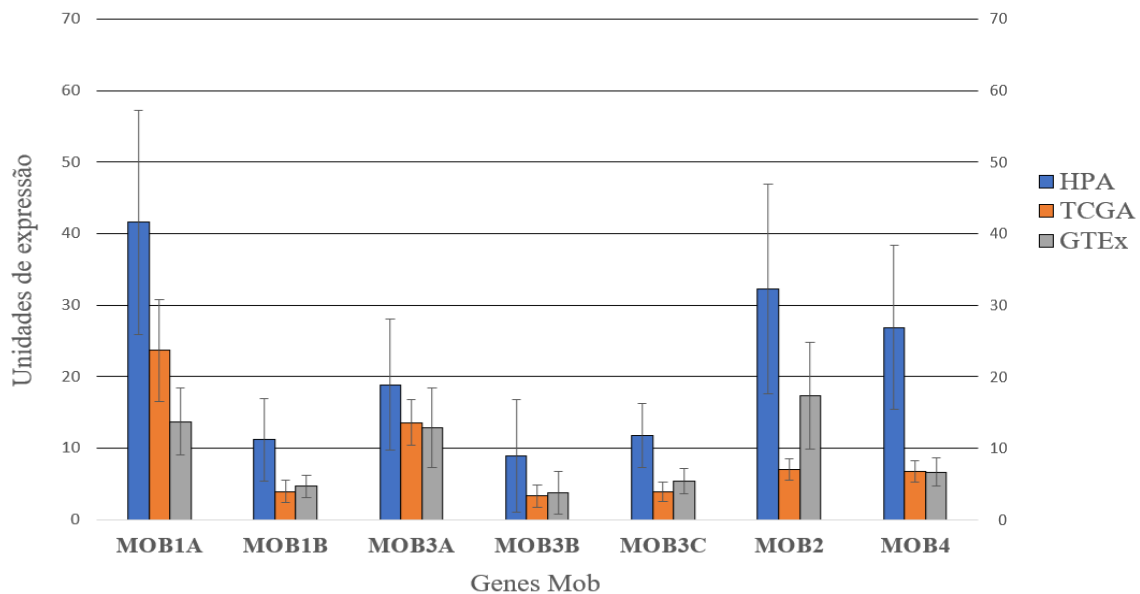


Figura 32. Médias e desvios padrões gerais da expressão transcricional dos sete genes mob de humanos nos 20 e 22 tecidos selecionados especificamente dos contextos normais HPA e GTEx respetivamente para equiparar com os valores das médias e desvios padrões dos 17 tecidos tumorais do TCGA. **Nota.** Aquele com o maior desvio padrão foi o MOB1A (HPA) e aquele com o menor de todos foi o MOB3C (TCGA). **LEGENDA:** azul – HPA; laranja – TCGA; cinzento claro – GTEx.

Com a **Figura 32.**, verificou-se no geral que no contexto tumoral de 17 casos, houve também uma certa variabilidade transcricional dos sete genes mob onde teve-se uma maior expressão transcricional para com o MOB1A que foi aquele que teve o maior desvio padrão de todos sugerindo-se de que houvesse uma grande demanda deste mob em particular para a grande maioria dos tecidos tumorais e pouca para com o MOB3B. Na comparação HPA vs TCGA houve uma descida geral dos níveis de expressão transcricional dos sete genes mob com os 20 tecidos em específico onde as descidas mais significativas envolveram o MOB1B, MOB3C, MOB2 e o MOB4 especulando-se de uma maior sensibilidade dos tecidos para com estes mobs em particular. As menos significativas o MOB1A (apesar de pouco), MOB3A e o MOB3B devido à sobreposição dos seus desvios padrões com o do caso tumoral interpretando-se então de que houvesse um balanço de pouca a baixa sensibilidade para com estes mobs nos tecidos, dando a crer-se que têm uma maior estabilidade num contexto adverso comparativamente com os outros mobs.

Com o caso GTEx vs TCGA, registaram-se contrastes, isto é, níveis de expressão tumorais mais altos do que os do contexto pós-mortem, particularmente com os genes MOB1A (que teve uma subida significativa), MOB3A e o MOB4 contrariamente aos

casos do MOB1B, MOB3B, MOB3C e o MOB2 (que teve a descida mais significativa), **Figura 32.**

Para os três mobs primeiramente mencionados no GTEX vs TCGA, suspeita-se de que houve uma necessidade celular muito característica para com os mesmos em casos tumorais comparativamente com o contexto post mortem onde este mesmo que tentasse refletir condições de um caso normal, permitiu-nos cautelar para a distinção do pós-mortem com os casos de amostras frescas (HPA).

Houve também flutuações em certos mobs que se tentaram igualar ao caso tumoral: MOB1B, MOB3A, MOB3B, MOB3C e MOB4, demonstrando-se de que foram demandados em proporções semelhantes com desvios padrões pouco significativos ao sobreporem-se em dois contextos diferentes podendo-se estipular com fracas certezas de que possam ter uma correlação funcional em dois contextos diferentes apesar de não se saber quais os mecanismos biológicos envolvidos e se de facto serão os mesmos que estão interligados nestes dois contextos diferentes que são excluídos do estado dito normal.

Portanto, com a **Figura 32.**, previram-se descidas e subidas da expressão geral para o TCGA do tipo:

HPA: ↓ MOB1A ↓ MOB1B ↓ MOB3A ↓ MOB3B ↓ MOB3C ↓ MOB2 ↓ MOB4
GTEX: ↑ MOB1A ↓ MOB1B ↑ MOB3A ↓ MOB3B ↓ MOB3C ↓ MOB2 ↑ MOB4

onde:

(↑) - Subida percentual geral;

(↓) - Descida percentual geral;

e que percentualmente obtiveram-se os seguintes valores:

1A (HPA/ GTEX vs TCGA)

HPA: O MOB1A desceu com uma diferença percentual de ~43%

GTEX: O MOB1A subiu com uma diferença percentual de ~42,2%

1B (HPA/ GTEX vs TCGA)

HPA: O MOB1B desceu com uma diferença percentual de ~64,6%

GTEX: O MOB1B desceu com uma diferença percentual de ~15,7%

3A (HPA/ GTEX vs TCGA)

HPA: O MOB3A desceu com uma diferença percentual de ~28%

GTEX: O MOB3A subiu com uma diferença percentual de ~5,6%

3B (HPA/ GTE_x vs TCGA)

HPA: O MOB3B desceu com uma diferença percentual de ~62,7%

GTE_x: O MOB3B desceu com uma diferença percentual de ~11,9%

3C (HPA/ GTE_x vs TCGA)

HPA: O MOB3C desceu com uma diferença percentual de ~67,2%

GTE_x: O MOB3C desceu com uma diferença percentual de ~27,6%

2 (HPA/ GTE_x vs TCGA)

HPA: O MOB2 desceu com uma diferença percentual de ~78,2%

GTE_x: O MOB2 desceu com uma diferença percentual de ~59,3%

4 (HPA/ GTE_x vs TCGA)

HPA: O MOB4 desceu com uma diferença percentual de ~74,7%

GTE_x: O MOB4 subiu com uma diferença percentual de ~1,9%

Já especificamente, houve um total de 11 casos tumorais: **Glioma, Thyroid, Lung, Colorectal, Urothelial, Prostate, Testis, Cervical, Ovarian, Endometrial e Melanoma (Figura 33., Tabela XII.)**, que seguiram o padrão de descida e subida geral acima estipulado para o HPA vs TCGA onde os restantes 6 tumores verificaram-se diferenças percentuais nos seguintes casos: **Liver, Pancreatic, Head and Neck, Stomach, Renal e Breast**, que não só desceram mas que também **subiram**: Liver: **MOB3A (32,7%), MOB3B (53,3%)**; Pancreatic: todos subiram **exceto** o MOB3C (descida: 32,4%); Head ad Neck: **MOB3B (36,7%)**; Stomach: **MOB1A (0,3%), MOB3A (15,8%), MOB3B (7,1%)**; Renal: **MOB3A (48,8%)**; Breast: **MOB3A (10,1%)**.

O tecido tumoral que teve mais descidas das diferenças percentuais foi o **Endometrial Cancer (73,4%)** e aquele que teve mais subidas das diferenças percentuais foi surpreendentemente o **Pancreatic Cancer (62,3%)** com a exceção para o MOB3C que desceu 32,4 % nesse mesmo tecido.

Nos 17 tecidos tumorais, registou-se que dentro dos 7 genes mob, houve apenas 1 que desceu em todos os tecidos: **MOB3C (64,1%)**. E os restantes 6 que não só desceram: MOB1A (45,2 %), MOB1B (64,8%), **MOB3A (39%)**, MOB3B (66%), **MOB2 (76,2%)**, MOB4 (73,1%), mas que também **subiram** para os seguintes tecidos: MOB1A (41,8%) – **Stomach, Pancreatic**. MOB1B (62,5%) – **Pancreatic**. MOB3A (37,4 %) - **Liver, Pancreatic, Stomach, Renal, Breast**. MOB3B (44,4%) – **Liver, Pancreatic, Head and Neck, Stomach**. MOB2 (24,1%) – **Pancreatic**. MOB4 (43,3%) – **Pancreatic**. O gene

mob que teve uma descida mais acentuada foi o **MOB2 (76,2%)**. Já o **MOB3A (39%)** foi aquele que desceu menos e que subiu com uma diferença percentual de 37,4% em um maior número de tecidos tumorais. O **MOB1B (62,5%)** foi aquele que subiu mais, contudo, foi apenas num tecido: **Pancreatic**.

Com estes resultados, difícilmente nos indicam se são uma causa ou consequência do estado tumoral em questão.

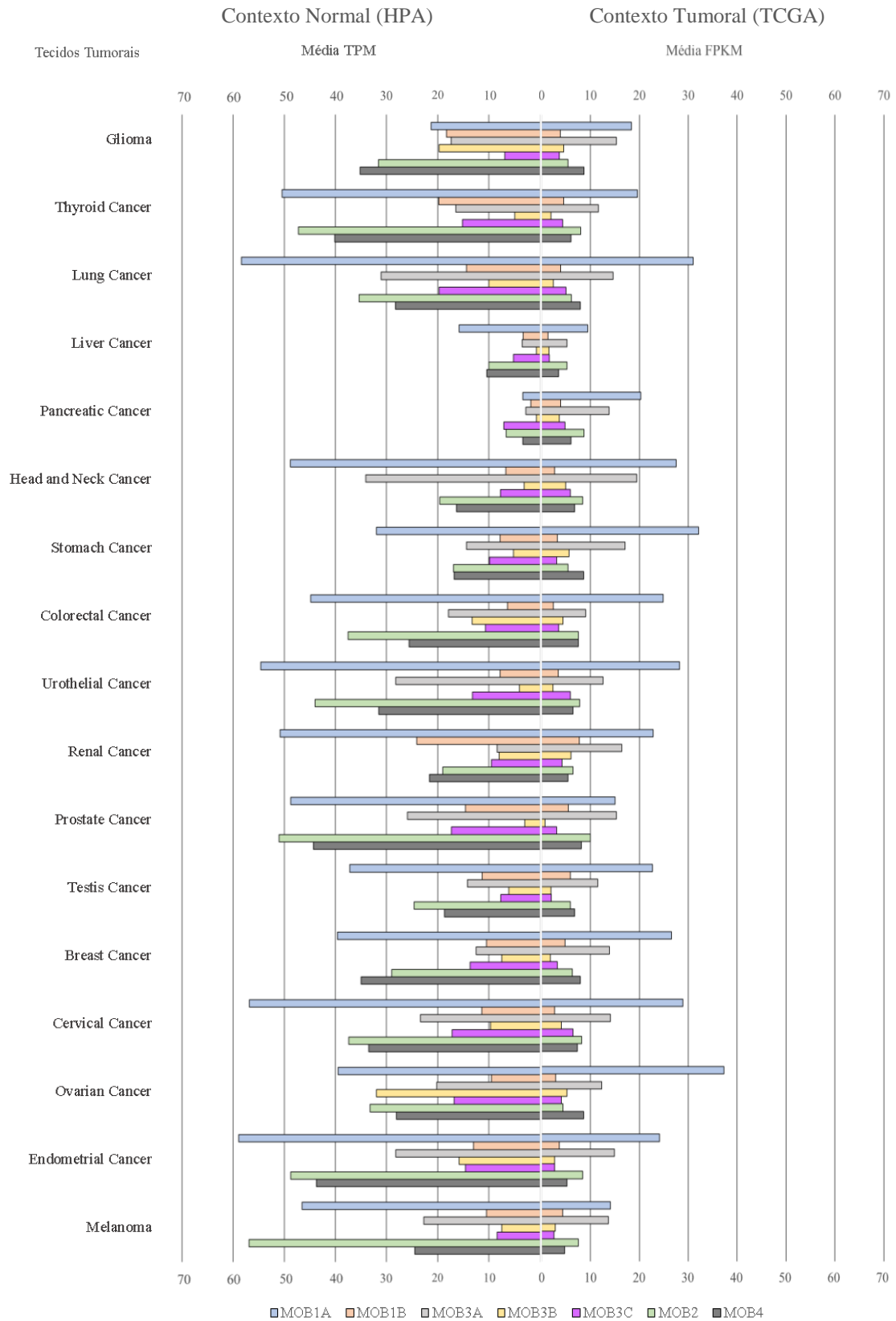


Figura 33. Expressão transcricional de cada gene mob nos 20 tecidos em específico da base de dados do HPA para os 17 tecidos tumorais do TCGA. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Abaixo apresentam-se os cálculos das diferenças percentuais dos sete mobs de cada caso normal para o tumoral da **Figura 33**, tabelados na **Tabela XII**.

Tabela XII. Variabilidade percentual de subida e descida dos valores maiores com respeito à comparação do contexto normal (HPA) dos tecidos em específico para cada um dos 17 tecidos do contexto tumoral (TCGA).

Tumores	Glioma	Thyroid	Lung	Liver	Pancreatic	Head and Neck	Stomach	Colorectal
MOB1A	↓ 13,6 %	↓ 61,1 %	↓ 46,9 %	↓ 40,5 %	↑ 83,3 %	↓ 43,6 %	↑ 0,3 %	↓ 44,4 %
MOB1B	↓ 79,2 %	↓ 77,3 %	↓ 72,9 %	↓ 60,6 %	↑ 62,5 %	↓ 59,7 %	↓ 58,9 %	↓ 62,5 %
MOB3A	↓ 12,1 %	↓ 29,5 %	↓ 53,1 %	↑ 32,7 %	↑ 79,7 %	↓ 42,8 %	↑ 15,8 %	↓ 49,7 %
MOB3B	↓ 77,2 %	↓ 61,1 %	↓ 76 %	↑ 53,3 %	↑ 80,6 %	↑ 36,7 %	↑ 7,1 %	↓ 66,9 %
MOB3C	↓ 47,8 %	↓ 71,7 %	↓ 74,6 %	↓ 69,2 %	↓ 32,4 %	↓ 23,9 %	↓ 68,7 %	↓ 67,1 %
MOB2	↓ 82,9 %	↓ 83,1 %	↓ 82,8 %	↓ 48 %	↑ 24,1 %	↓ 57,1 %	↓ 68 %	↓ 80 %
MOB4	↓ 75,3 %	↓ 85 %	↓ 72,1 %	↓ 66,3 %	↑ 43,3 %	↓ 58,4 %	↓ 48,8 %	↓ 70,7 %

Tumores	Urothelial	Renal	Prostate	Testis	Breast	Cervical	Ovarian	Endometrial	Melanoma
MOB1A	↓ 48,4 %	↓ 55,1 %	↓ 69,2 %	↓ 38,9 %	↓ 32,8 %	↓ 49,1 %	↓ 5,6 %	↓ 59,1 %	↓ 69,7 %
MOB1B	↓ 56,4 %	↓ 68 %	↓ 62,3 %	↓ 47,8 %	↓ 54,3 %	↓ 76,3 %	↓ 69,5 %	↓ 72,3 %	↓ 59 %
MOB3A	↓ 55,3 %	↑ 48,8 %	↓ 40,9 %	↓ 19 %	↑ 10,1 %	↓ 39,7 %	↓ 39,1 %	↓ 47,2 %	↓ 39,6 %
MOB3B	↓ 42,5 %	↓ 25 %	↓ 76,7 %	↓ 68,9 %	↓ 76 %	↓ 58,8 %	↓ 83,8 %	↓ 82,9 %	↓ 62,7 %
MOB3C	↓ 55,3 %	↓ 55,8 %	↓ 82,1 %	↓ 74 %	↓ 76,6 %	↓ 62,8 %	↓ 76,2 %	↓ 81,5 %	↓ 70,2 %
MOB2	↓ 82,3 %	↓ 66,3 %	↓ 80,4 %	↓ 76 %	↓ 78,3 %	↓ 78,1 %	↓ 86,7 %	↓ 82,8 %	↓ 86,8 %
MOB4	↓ 79,7 %	↓ 75 %	↓ 81,7 %	↓ 63,6 %	↓ 77,4 %	↓ 78,2 %	↓ 69 %	↓ 88,1 %	↓ 80,8 %

LEGENDA: (↑) Subida percentual específica; (↓) Descida percentual específica.

No contexto GTEX vs TCGA, resume-se que, especificamente, não houve nenhum caso tumoral que seguiu-se o padrão de descida e subida geral estipulado anteriormente (**Figura 32., Tabela XIII.**) tendo os 17 tumores na base de dados do GTEX mais variações de subidas e descidas comparativamente com as outras bases de dados do contexto normal (HPA e FANTOM5 - **ANEXO 22**), onde todos os tecidos tumorais tiveram pelo menos uma diferença percentual de descida e de subida para um determinado gene mob, isto é, registaram-se que todos tanto apresentaram **descidas**: MOB1A: 10,8%; MOB1B: 28,7%; MOB3A: 22,8%; MOB3B: 38,9%; MOB3C: 35,1%; MOB2: 59,7 % (que desceu mais); MOB4: 19,9%. Como **subidas**: MOB1A: 45,6%; MOB1B: 29,6%; MOB3A: 36,4%; MOB3B: 47% (que subiu mais); MOB3C: 8,1%; MOB2: 17,2% (Pancreatic); MOB4: 24,7% postulando-se então diferentes sensibilidades tumorais para com cada mob onde uma maior diferença percentual, condiziu-se a uma maior sensibilidade para com este mob em particular.

Também se observou uma inalteração de valores de expressão transcricional entre estes dois contextos, isto é, uma diferença percentual de 0% indicando uma igual representatividade em 2 tecidos envolvendo 2 genes mob: **Liver: MOB2** e **Prostate: MOB1A, Tabela XIII**. estipulando-se que apresentassem uma igual sensibilidade e possivelmente uma correlação funcional numa determinada via celular em questão.

O tecido tumoral que teve descidas percentuais mais acentuadas foi o **Prostate Cancer (47,4%)** e aquele com descidas menos acentuadas foi o **Renal (19,3%)** apenas incluindo os genes MOB1B e MOB2, porém, aquele com uma descida menos acentuada que englobou mais a totalidade dos 7 genes Mob foi o **Urothelial (29,1%)**.

O tecido que teve subidas percentuais mais acentuadas foi o **Pancreatic Cancer (51,8%)** nos 6 genes mob excluindo o MOB3C com uma descida de 44,8 %.

Aquele que teve diferenças percentuais menos acentuadas na subida foi o **Melanoma (MOB3A: 2,9%)**.

O **MOB1A** foi aquele que desceu menos estando apenas evidente em 1 tecido (**Melanoma: 10,8%**), porém, com uma maior diferença percentual de subida envolvendo todos os tecidos tumorais (**45,6%**). Em contraste, teve-se o **MOB3C** que foi o gene em que se registou a menor diferença percentual de subida (**8,1%**), em 4 tecidos: Glioma, Head and Neck; Renal; Cervical.

Com estes resultados, dificilmente nos indicam se são uma causa ou consequência do estado tumoral ou do post mortem.



Figura 34. Expressão transcricional de cada gene mob nos 22 tecidos em específico da base de dados do GTEx para os 17 tecidos tumorais do TCGA. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Abaixo apresentam-se os cálculos das diferenças percentuais dos sete mobs de cada caso normal para o tumoral da **Figura 34.** tabelados na **Tabela XIII.**

Tabela XIII. Variabilidade percentual de subida e descida dos valores maiores com respeito à comparação do contexto pós-mortem (GTEX) dos tecidos em específico para cada um dos 17 tecidos do contexto tumoral (TCGA).

Tumores	Glioma	Thyroid	Lung	Liver	Pancreatic	Head and Neck	Stomach	Colorectal
MOB's								
MOB1A	↑ 69,6 %	↑ 25,5 %	↑ 40,9 %	↑ 41,5 %	↑ 75,4 %	↑ 57,5 %	↑ 62,3 %	↑ 34,1 %
MOB1B	↓ 13,6 %	↓ 25 %	↓ 46,6 %	↓ 27,8 %	↑ 54,2 %	↓ 41,3 %	↓ 11,1 %	↓ 42,9 %
MOB3A	↑ 66,5 %	↑ 3,4 %	↓ 17,9 %	↑ 38,5 %	↑ 60,9 %	↑ 50,3 %	↑ 30,9 %	↓ 51,6 %
MOB3B	↑ 25,6 %	↓ 48,6 %	↓ 29,4 %	↑ 80 %	↑ 58,3 %	↑ 51 %	↑ 46,4 %	↑ 4,5 %
MOB3C	↑ 0,6 %	↓ 30,6 %	↓ 32,4 %	↓ 23,8 %	↓ 44,8 %	↑ 13,6 %	↓ 40,4 %	↓ 39,7 %
MOB2	↓ 43,6 %	↓ 46,7 %	↓ 64,5 %	0%	↑ 17,2 %	↓ 40 %	↓ 66,3 %	↓ 76,5 %
MOB4	↑ 27,6 %	↓ 14,3 %	↑ 13,9 %	↑ 17,1 %	↑ 45 %	↓ 12,8 %	↑ 30,2 %	↓ 7,4 %

Tumores	Urothelial	Renal	Prostate	Testis	Breast	Cervical	Ovarian	Endometrial	Melanoma
MOB's									
MOB1A	↑ 35,5 %	↑ 37,7 %	0%	↑ 52,4 %	↑ 40,9 %	↑ 36,7 %	↑ 57,4 %	↑ 16,2 %	↓ 10,8 %
MOB1B	↓ 30,6 %	↓ 1,3 %	↑ 10,9 %	↑ 49,2 %	↑ 4,2 %	↓ 44,9 %	↓ 50,8 %	↓ 30,8 %	↓ 6,5 %
MOB3A	↓ 28,4 %	↑ 40,2 %	↓ 17,3 %	↑ 33,9 %	↓ 1,4 %	↓ 23,8 %	↓ 8,9 %	↓ 33,2 %	↑ 2,9 %
MOB3B	↓ 14,8 %	↑ 63,3 %	↓ 61,1 %	↓ 17,4 %	↓ 61,7 %	↓ 24,5 %	↓ 63,9 %	↓ 48,1 %	↓ 20 %
MOB3C	↓ 5,1 %	↑ 2,4 %	↓ 56,2 %	↓ 37,5 %	↓ 45,8 %	↑ 15,6 %	↓ 42 %	↓ 41,3 %	↓ 16,7 %
MOB2	↓ 68,5 %	↓ 37,3 %	↓ 54,8 %	↓ 57,2 %	↓ 65,6 %	↓ 63,1 %	↓ 70,9 %	↓ 61,9 %	↓ 75 %
MOB4	↓ 27,3 %	↑ 22,2 %	↑ 9,9 %	↑ 36,8 %	↓ 1,3 %	↓ 14,1 %	↑ 19,5 %	↓ 46,4 %	↓ 35,6 %

LEGENDA: (↑) Subida percentual específica; (↓) Descida percentual específica.
Nota. Uma diferença percentual de 0% indica uma inexistência de uma subida ou de uma descida do contexto pós-mortem para o contexto tumoral.

Para o caso FANTOM5 vs TCGA, **Figura 35.**, teve-se, no geral, uma certa variabilidade transcricional dos sete genes mob onde registaram-se descidas significativas dos níveis de transcritos dos mesmos para o contexto tumoral em seis casos de sete (MOB1A, 1B, 3A (moderada), 3B, 3C (moderada), MOB4) e, unicamente, o MOB2 teve uma subida com uma significância moderada a alta, estipulando-se de que foi uma característica muito particular do contexto normal para os 15 tecidos do contexto tumoral quando verificados numa situação de 1 a 2 amostras por tecido (FANTOM5) versus 102 a 1075 amostras por tecido (TCGA), **Figura 19.**, questionando-se não só a utilidade dos restantes mobs mas, particularmente, a do MOB2 que aparenta-se ter uma função especial para um certo número baixo de amostras de um determinado tecido, **Figura 36.**

Conclui-se também que, comparativamente com o HPA que recorreu a mais amostras por tecido, **Figura 19.**, o número de amostras recolhidas para cada tecido seja uma variável importante a ter-se em consideração, **Figura 17.** onde conduziu-nos para a possibilidade

de uma heterogeneidade amostral em que cada amostra teve uma necessidade específica para cada mob mesmo sendo provindas de um mesmo tecido.

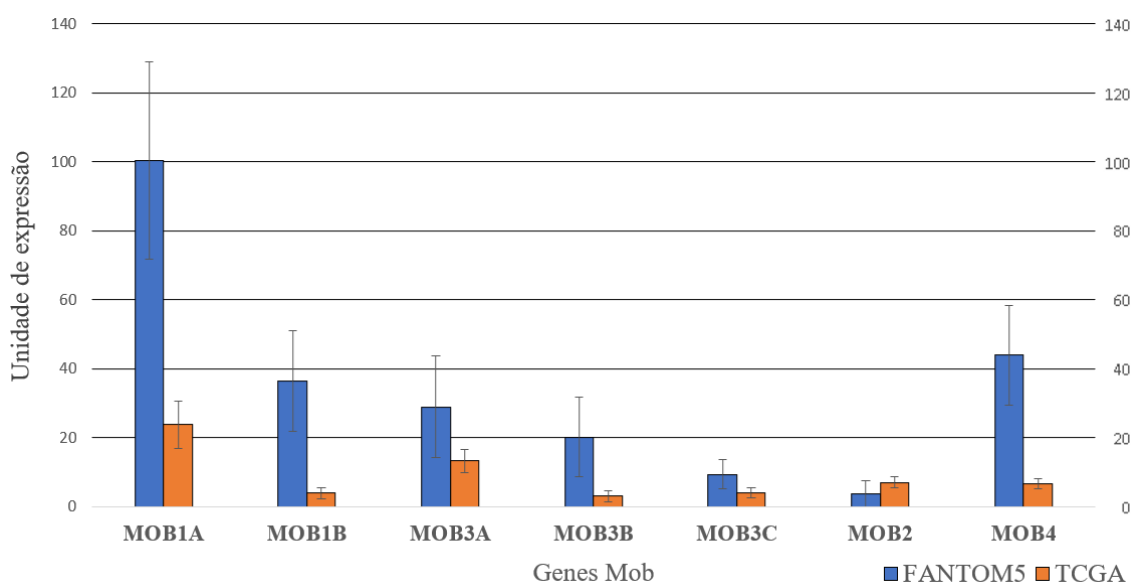


Figura 35. Médias e desvios padrões gerais da expressão transcricional dos sete genes mob de humanos nos 20 tecidos selecionados especificamente do contexto normal do FANTOM5 para equiparar com os valores das médias e desvios padrões dos 15 tecidos tumorais (exclusão do Stomach e Melanoma) do TCGA. *Nota.* Aquele com o maior desvio padrão foi o MOB1A (FANTOM5) e aquele com o menor de todos foi o MOB3C (TCGA). **LEGENDA:** azul – FANTOM5; laranja – TCGA.

Portanto, com a **Figura 35.**, previram-se descidas e subidas da expressão geral para o TCGA do tipo:

FANTOM5: ↓ MOB1A ↓ MOB1B ↓ MOB3A ↓ MOB3B ↓ MOB3C ↑ MOB2
 ↓ MOB4

onde:

(↑) - Subida percentual geral;

(↓) - Descida percentual geral;

e que percentualmente obtiveram-se os seguintes valores:

1A (FANTOM5 vs TCGA)

O MOB1A desceu com uma diferença percentual de ~76,3%

1B (FANTOM5 vs TCGA)

O MOB1B desceu com uma diferença percentual de ~80%

3A (FANTOM5 vs TCGA)

O MOB3A desceu com uma diferença percentual de ~54%

3B (FANTOM5 vs TCGA)

O MOB3B desceu com uma diferença percentual de ~84,2%

3C (FANTOM5 vs TCGA)

O MOB3C desceu com uma diferença percentual de ~57,5%

2 (FANTOM5 vs TCGA)

O MOB2 subiu com uma diferença percentual de ~45,9%

4 (FANTOM5 vs TCGA)

O MOB4 desceu com uma diferença percentual de ~84,5%

Já especificamente, houve 10 tecidos tumorais (**Glioma, Thyroid, Lung, Liver, Head and Neck, Renal, Testis, Breast, Ovarian e Endometrial, Figura 36., Tabela XIV.**) que seguiram o mesmo padrão de descida e subida geral acima estipulada para cada mob e para os restantes 5 tecidos em dois mobs em particular (**Pancreatic: MOB3A, Coloretal: MOB2, Urothelial: MOB2, Prostate: MOB2, Cervical: MOB2**) verificaram-se subidas nestes dois comparativamente com o padrão geral, **Tabela XIV.** Dos 5 tecidos mencionados anteriormente, 4 destes apenas desceram, não havendo diferenças percentuais de subidas (**Coloretal**, que em média teve a descida menos predominante (**60,1%**), **Urothelial** que em média teve a descida mais acentuada (**69,4%**), **Prostate** (**66,8%**) e **Cervical** (**64,5%**)). Porém, dos 15 tecidos tumorais, foi o **Endometrial** (**80,7%**) que teve a descida percentual mais proeminente, contudo, teve a subida percentual menos acentuada dos restantes tecidos onde foi unicamente o MOB2 que teve essa diferença percentual (**7,1%**).

Quanto às subidas percentuais foi o **Glioma** que teve, em média, a subida mais proeminente (**96,7%**) dando esse destaque unicamente ao MOB2, apesar do mesmo ter tido uma diferença percentual mais acentuada no **Pancreatic** (**100%**), **Tabela XIV.**

O MOB2 foi, maioritariamente, o que marcou mais diferenças percentuais de subidas, especialmente em 11 tecidos: **Glioma, Thyroid, Lung, Liver, Pancreatic, Head and Neck, Renal, Testis, Breast, Ovarian, Endometrial**, com a exclusão de 4 tecidos (**Coloretal, Urothelial, Prostate, Cervical**) porque, em média, o mesmo desceu (**27,4%**) como os outros 6 genes.

O MOB3A (**39,1%**) teve uma subida percentual apenas no tecido **Pancreatic** juntamente com o MOB2 (**100%**), **Tabela XIV.**

Resumindo, para cada gene mob nos 15 tecidos, registou-se, em média, uma descida dos mesmos em todos os tecidos (**MOB1A: 74,9%**; **MOB1B: 87,7%** (que desceu mais); **MOB3A: 51,2%**; **MOB3B: 78,1%**; **MOB3C: 54%**; **MOB2: 27,4%** (que desceu menos); **MOB4: 83,12%**) e uma subida apenas do **MOB2 (65,35% nos 11 tecidos)** e do **MOB3A (39,1% no Pancreatic)**.

Esta subida acentuada do MOB2 na grande maioria dos tecidos indicou-nos à possibilidade de que talvez possa haver algum tipo de compensação com respeito à menor expressão dos outros 6 genes mob embora que se seja ainda questionável.

Com estes resultados, dificilmente nos indicam se são uma causa ou consequência do estado tumoral em questão.

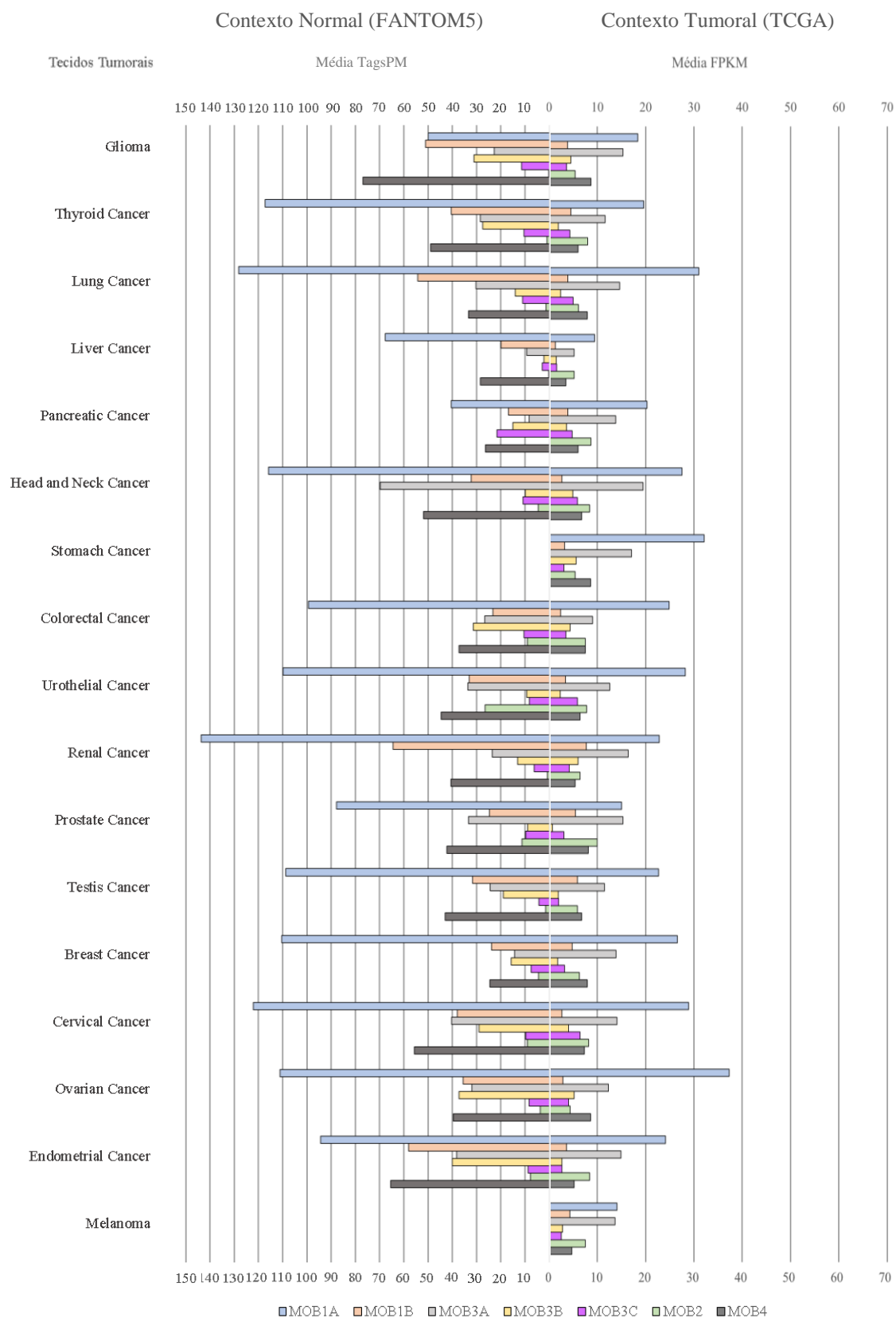


Figura 36. Expressão transcricional de cada gene mob nos 20 tecidos em específico da base de dados do FANTOM5 para os 15 tecidos tumorais do TCGA. **LEGENDA:** azul – MOB1A; laranja – MOB1B; cinzento claro – MOB3A; amarelo – MOB3B; rosa – MOB3C; verde – MOB2; cinzento escuro – MOB4.

Abaixo apresentam-se os cálculos das diferenças percentuais dos sete mobs de cada caso normal para o tumoral da **Figura 36**, tabelados na **Tabela XIV**.

Tabela XIV. Variabilidade percentual de subida e descida dos valores maiores com respeito à comparação do contexto normal (FANTOM5) dos tecidos em específico para cada um dos 15 tecidos do contexto tumoral (TCGA).

Tumores	Glioma	Thyroid	Lung	Liver	Pancreatic	Head and Neck	Colorectal	Urothelial
MOB's								
MOB1A	↓ 63,2 %	↓ 83,3 %	↓ 75,8 %	↓ 86,1 %	↓ 49,8 %	↓ 76,3 %	↓ 74,9 %	↓ 74,3 %
MOB1B	↓ 92,6 %	↓ 88,9 %	↓ 92,8 %	↓ 93,5 %	↓ 71,6 %	↓ 91,6 %	↓ 89,7 %	↓ 89,7 %
MOB3A	↓ 32,8 %	↓ 59,3 %	↓ 51,7 %	↓ 44,1 %	↑ 39,1 %	↓ 72,1 %	↓ 66,3 %	↓ 62,5 %
MOB3B	↓ 85,5 %	↓ 93,1 %	↓ 82,9 %	↓ 31,8 %	↓ 76 %	↓ 50,3 %	↓ 85,9 %	↓ 75,3 %
MOB3C	↓ 68,5 %	↓ 58,7 %	↓ 54,5 %	↓ 44,8 %	↓ 77,8 %	↓ 45,6 %	↓ 66,3 %	↓ 28 %
MOB2	↑ 96,7%	↑ 87,5 %	↑ 78,7 %	↑ 94,2 %	↑ 100 %	↑ 46,4 %	↓ 17,6 %	↓ 70,6 %
MOB4	↓ 88,7 %	↓ 87,8 %	↓ 76,3 %	↓ 87,7 %	↓ 77,2 %	↓ 86,9 %	↓ 79,9 %	↓ 85,7 %

Tumores	Renal	Prostate	Testis	Breast	Cervical	Ovarian	Endometrial
MOB's							
MOB1A	↓ 84,1 %	↓ 82,9 %	↓ 79,1 %	↓ 75,9 %	↓ 76,4 %	↓ 66,4 %	↓ 74,5 %
MOB1B	↓ 88,1 %	↓ 77,7 %	↓ 81,4 %	↓ 79,9 %	↓ 92,9 %	↓ 91,8 %	↓ 93,8 %
MOB3A	↓ 30,2 %	↓ 54,1 %	↓ 52,9 %	↓ 3,5 %	↓ 65 %	↓ 61,4 %	↓ 60,9 %
MOB3B	↓ 54,2 %	↓ 92,1 %	↓ 89,9 %	↓ 88,5 %	↓ 86,2 %	↓ 86,1 %	↓ 93,3 %
MOB3C	↓ 32,3 %	↓ 68,4 %	↓ 53,5 %	↓ 57,3 %	↓ 34 %	↓ 51,8 %	↓ 69,3 %
MOB2	↑ 87,5 %	↓ 11,5 %	↑ 74,6 %	↑ 30,2 %	↓ 9,9 %	↑ 15,9 %	↑ 7,1 %
MOB4	↓ 86,7 %	↓ 80,9 %	↓ 84,1 %	↓ 67,9 %	↓ 86,9 %	↓ 78 %	↓ 92,1 %

LEGENDA: (↑) Subida percentual específica; (↓) Descida percentual específica.

7.4. Interatuantes dos sete mobs

Com a base de dados do *STRING v10.5*, registou-se um total de 218 interatuantes tanto significativos ($X \geq 0.5$: MOB1A: 64; MOB1B: 60; MOB3A: 5; MOB3B: 2; MOB3C: 4; MOB2: 39; MOB4: 50) sendo assim associações legítimas, **Figura 18.**, como pouco significativos ($X < 0.5$: MOB1A: 25; MOB1B: 9; MOB3A: 44; MOB3B: 28; MOB3C: 44; MOB2: 16; MOB4: 4), **Figura 23.** com scores de favorabilidade interativa aproximados à unidade das décimas para os diferentes interatuantes dos mob de humanos com participação em várias vias celulares do metabolismo, imunidade, transporte vesicular, ciclo celular e muitos outros. Também se verificou que pertencem a diversas categorias funcionais, maioritariamente na classe de protein binding, cinase/transferase, fosfatases, reguladores, reguladores transcricionais e de subunidades regulatórias, ancoramento (scaffold), gap protein, chaperonas e hidrolases, **Tabela XV.**

Dos 218 interatuantes, houve 107 sem uma classificação tumoral atribuída e os restantes 111 que se totalizam dos 33 interatuantes que têm mais de uma classificação atribuída e dos 78 interatuantes com apenas uma atribuição.

Também com as contagens, registaram-se um total de 67 na supressão tumoral, 47 oncogénicos, 21 apoptóticos e 12 drivers para os sete mobs de humanos verificando-se, ao mesmo tempo, que os parceiros podem adotar ou ter a suspeita (, **Tabela XV.**) de exercer funções que estão vinculadas a mais categorias tumorais tendo-se tido uma subestimativa (que esclarece um caso de interatuantes que não tiveram uma classificação atribuída dentro das 4 categorias tumorais) ou sobrestimativa (os mesmos interatuantes que foram ao mesmo tempo oncogénicos, supressores tumorais, drivers ou apoptóticos) dos somatórios realizados anteriormente e figurados nas **Figuras 37.** e **39.** E que, consequentemente, duvidou-se do verdadeiro significado funcional dos sete mobs de humanos como supressores tumorais, isto é, a finalidade da interação mob quando viram-se os casos interativos com outros de diferentes categorias tumorais (oncogenes, apoptóticos, drivers), especialmente com os oncogenes onde não se conseguiu discernir duas possibilidades, isto é, o caso de haver mesmo uma repressão da atividade do mesmo pela proteína mob em questão ou ter-se um efeito de potencialização do oncogene num estado celular já comprometido. Portanto, para estes tipos de casos e semelhantes, espera-se que tenham uma maior atenção num estudo futuro.

Tabela XV. Número de interatuantes contados para os sete mobs de humanos apoiados por um score combinado calculado pelo *STRING v10.5* de todas as evidências e metodologias aplicadas.

Interatantes	MOB's	MOBIA	MOBIB	MOB3A	MOB3B	MOB3C	MOB2	MOB4	Categoria Funcional	Vias/Cellular(es) do interatante	Categoria Tumoral
LATS1	0,9 ^(1;2;3;4) III; IV	0,9 ^(1;2;3;4) III; IV; V	0,7 ^(1;2;4) V	0,6 ^(1;2;4) V	0,6 ^(1;2;4) V	0,6 ^(1;2;4) V	0,9 ^(1;2;4) II	0,5 ^(1;2;4) V	Cinase/Transferase	Hippo/ Wnt / Hedgehog / Notch/ p53	ST
LATS2	0,9 ^(1;2;3;4) III; IV; V	0,9 ^(1;2;3;4) III; IV; V	0,7 ^(1;2;4) V	0,6 ^(1;2;4) V	0,6 ^(1;2;4) V	0,6 ^(1;2;4) V	0,9 ^(1;2;4) II	0,4 ^(1;2;4) V	Cinase/Transferase	Hippo/ Co-regulação do receptor androgênico	ST
SAVI	0,9 ^(1;2;3;4) IV	0,9 ^(1;2;3;4) IV	0,2 ⁽¹⁾	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)		Scaffold Regulator	Hippo/ Wnt/ Hedgehog / Notch	ST; A
STK3	0,9 ^(1;2;3;4) IV	0,9 ^(1;2;3;4) III; IV; V; VI	0,3 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,7 ^(1;2;4) II; VI; IX	0,7 ^(1;2;4) II; IV	Cinase/Transferase	Citosqueleto/ Apoptose/ Autofagia	ST; A
STK4	0,9 ^(1;2;3;4) IV	0,9 ^(1;2;3;4) III; IV; V; VI; VII	0,3 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,7 ^(1;2;4) II; VI; IX	0,6 ^(2;4) II; IV	Transferase e Homodimerização	Citosqueleto/ FoxOs	ST
YAP1	0,9 ^(1;3;4)	0,9 ^(1;3;4)	0,3 ^(1;4)	0,3 ^(1;4)	0,3 ^(1;4)	0,3 ^(1;4)	0,9 ^(1;2;4) II; III; IV; VIII		Regulador Transcricional	Hippo/ Akt/ TGFβ/ Polaridade	ONC
STK38L	0,9 ^(1;2;4) IV	0,9 ^(1;2;4) III; IV; V; VIII	0,4 ^(1;4)	0,3 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,9 ^(1;2;4) III; IV; VIII		Cinase/Transferase	Sinalização dependente Ca ²⁺ / Citosqueleto/ Diferenciação Celular	ST (?)
STK38	0,9 ^(1;2;3;4;8) IV	0,9 ^(1;2;3;4;8) IV	0,2 ⁽¹⁾	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,9 ^(1;2;4) IV; VI; IX	0,5 ^(1;4)	Cinase/Transferase	Citosqueleto/ MAP3K1/2/ Ciclo Celular	ONC (?)
MOBIA (Q9H8S9)									Regulador Cinases	Hippo/ Wnt / Hedgehog / Notch; MTOC	ST
MOBIB (Q7L9L4)									Regulador Cinases	Hippo/ Wnt / Hedgehog / Notch; MTOC	ST
WWTR1	0,9 ^(1;3)	0,9 ^(1;2;3;4;8) IV	0,2 ⁽¹⁾						Regulador Transcricional	Hippo/NKX2-1/TTF1/ Adipogênese	ST; A
AMOTL1	0,9 ^(1;3)	0,9 ^(1;3)							Protein Binding	Hippo/Wnt/Polaridade Celular/ Sinalização GPCR	ONC (?)
AMOTL2	0,9 ^(1;3)	0,9 ^(1;3)							Protein Binding	Hippo/Wnt/Polaridade Celular/ Sinalização GPCR	ONC (?)
YWHAB	0,9 ^(3;4)	0,9 ^(3;4)							Adaptador e Modulador	Hippo/ Akt/ Tráfego Proteico/Apoptose	ST; A
YWHAE	0,9 ^(3;4)	0,9 ^(3;4)							Adaptador e Modulador	Hippo/ Akt/ Tráfego Proteico/Apoptose	ST; A
RASSF2	0,7 ^(1;2;4) IV	0,7 ^(1;2;4) IV							Cinase	Hippo/Via Kras/Ciclo Celular/Apoptose/RAS	ST; A
CDC14B	0,8 ^(1;2;4) IV; VI; IX	0,8 ^(1;2;4) IV; VI; IX					0,7 ^(1;2;4) IV; VI; IX		Fosfatase	Reparo DNA/Ciclo Celular/ Fosforilação mediada por CDK/ Remoção Cdc6	ST
CDC14A	0,8 ^(1;2;4) IV; VI; IX	0,8 ^(1;2;4) IV; VI; IX	0,2 ⁽¹⁾	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,2 ^(1;4)	0,8 ^(1;2;4) IV; VI; IX		Fosfatase	Ciclo Celular (Citocinese; Separação Centrosomas, Sáfia Mfiose)/ Regulação p53(?)	ONC; ST
DVL2	0,9 ^(1;3;4)	0,9 ⁽³⁾					0,4 ⁽¹⁾		Protein Binding	Wnt/ Notch/ Intiçãõ-HTLV-1	ST (?)
SGMS1	0,9 ^(1;4)	0,9 ⁽¹⁾							Cinase/Transferase	Metabolismo Estrogênio/linh/ Resgate Ceramida/Sobrevivência Celular	ONC (?)
LRCHI	0,7 ^(1;2;4) II; IV	0,7 ^(1;2;4) II; IV	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,7 ^(1;2;4) VI; IX	0,8 ^(1;2;4) IV	Regulador	Migração Células T CD4 ⁺ / GTPase CDC42/ Resposta a Quimocinas	ST (?)
STK24	0,7 ^(1;2;4) VI; IX	0,7 ^(1;2;4) VI; IX	0,5 ^(1;4)				0,7 ^(1;2;4) VI; IX		Cinase	MAPK/ Citosqueleto/ Apoptose/ Migração Celular	A
DUSP23	0,7 ^(1;2;4) VI; IX	0,7 ^(1;2;4) VI; IX					0,7 ^(1;2;4) VI; IX		Fosfatase	Ciclo Celular/ Imunidade Inata/ Tráfego no Golgi/ Metabolismo Proteínas	Driver
PPP6C	0,6 ^(2;4) IV	0,6 ^(2;4) IV					0,6 ^(1;2;4) I; IV; X		Fosfatase	Transporte ao Golgi/ Metabolismo Proteínas	
PPP6R3	0,6 ^(2;4) IV	0,6 ^(2;4) IV					0,6 ^(2;4) IV		Fosfatase	Reconhecer substratos fosforilados (Vias associadas ao PP6)	
ANKRD52	0,6 ^(1;2) II	0,6 ^(1;2) II					0,6 ^(1;2) VIII; IX		Subunidade Regulatória	Reconhecer substratos fosforilados (Vias associadas ao PP6)	
ANKRD44	0,6 ^(2;4) II	0,6 ^(2;4) II					0,6 ^(1;2) VIII; IX		Subunidade Regulatória	Reconhecer substratos fosforilados (Vias associadas ao PP6)	
MAP3K8	0,6 ^(1;2;4) VI; IX	0,6 ^(1;2;4) VI; IX					0,7 ^(1;2;4) VI; IX		Transferase	MAPK/ERK/ JNK/ Via Receptor Células T/ Via TLR4/ Ciclo Celular	ONC
MAP4K3	0,4 ^(1;2;4) VI; IX	0,4 ^(1;2;4) VI; IX					0,6 ^(1;2;4) VI; IX		Transferase	JNK/ TGF-beta/ Via C-Jun	ST (?)
MAP3K2	0,3 ⁽¹⁾	0,3 ⁽¹⁾					0,4 ^(1;2;4) VI; IX		Cinase/Transferase	MAPK/EGF/EGFR/ 4- IBB/ JNK/ NF-kappa B	ONC (?)
MAP3K3	0,3 ⁽¹⁾	0,3 ⁽¹⁾					0,5 ^(1;2) VI; VIII; IX		Cinase/Transferase	EGF/EGFR/ 4- IBB/ SAPK/ ERK	ONC (?)
CAB39	0,6 ^(1;2;4) VIII; IX	0,6 ^(1;2) VIII; IX					0,6 ^(1;2) VIII; IX		Protein Binding	LKB1/ AMPK	ST
CAB39L	0,4 ⁽¹⁾	0,6 ^(1;2) VIII; IX					0,6 ^(1;2) VIII; IX		Protein Binding	RET/ AMPK	ST
MST4	0,7 ^(1;2;4) VI; IX	0,7 ^(1;2;4) VI; IX	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,7 ^(1;2;4) VI; IX	0,8 ^(1;2;4) IV; XII; XIII	Transferase e Homodimerização	Apoptose/ Reorientação Golgi/ LKB1/ Citosqueleto	A
STK25	0,6 ^(1;2;4) VI; IX	0,6 ^(1;2;4) VI; IX	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,4 ^(1;4)	0,6 ^(1;2;4) VI; IX	0,8 ^(1;2;4) IV; XIII	Cinase e Homodimerização	Sweet Taste/ Transporte Proteínas/ Migração Celular e Adesão	A
DOCK7	0,6 ^(1;2) IV	0,6 ^(1;2) IV					0,6 ^(1;2) IV		Guanine Exchange Factor	MET/ Polarização Neuronal/ Citosqueleto/ Crescimento Microtubulos	Driver (?)
LRCH3	0,7 ^(1;2;4) II; IV	0,6 ^(1;2;4) II; VIII; VI; IX					0,6 ^(1;2;4) II; VIII; VI; IX		Transdutor sinal	Possivelmente as mesmas vias que o LRCHI	
DOCK8	0,7 ^(1;2;4) II; IV	0,6 ^(1;2;4) II					0,6 ^(1;2;4) II		Guanine Exchange Factor	Migração Células Imunes T-Cd4 ⁺ / Ativação CDC42/ MTOC/ Citotoxicidade	

Interatantes	MOB's	MOB1A	MOB1B	MOB3A	MOB3B	MOB3C	MOB2	MOB4	Categoria Funcional	Via(s) Celular(es) do intratante	Categoria Tumoral
	Q9HSS9	Q7L9L4	Q96BX8	Q86TA1	Q70IA8	Q70IA6	Q9Y3A3				
DOCK6	0,6 ^(1;2) ; II, IV	0,6 ^(1;2) ; II, IV	0,6 ^(1;2) ; II, IV						Guanine Exchange Factor	Regulação CDC42/ Resposta a aumentos Ca ²⁺	
LRC2	0,6 ^(1;2) ; II, IV	0,6 ^(1;2) ; II, IV	0,6 ^(1;2) ; II, IV						Transductor sinal	Proteína Scaffolding no Citoesqueleto (?)	
PTPN14	0,6 ^(1;2) ; II	0,6 ^(1;2) ; II	0,6 ^(1;2) ; II						Fosfatase	Wnt/ Hedgehog/ Notch/ Angiogênese/ Transição EMT	ST (?)
CRF3	0,6 ^(1;2;4) ; IV	0,6 ^(2;4) ; IV	0,6 ^(2;4) ; IV						Protein Binding	Ciclo Celular/ Morfologia Neuronal/ Biogênese vesículas sinápticas	
PTPDC1	0,7 ^(1;2;4) ; IV; VI; IX	0,7 ^(1;2;4) ; IV; VI; IX	0,7 ^(1;2;4) ; IV; VI; IX						Fosfatase	PAK/ Manutenção e/ou formação cilios(?)	A
PPP2R2B	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX						Fosfatase	ERK/ Akt (associado ao PP2A)	ST (?)
CDKN3	0,7 ^(1;2;4) ; IV; VI; IX	0,7 ^(1;2;4) ; IV; VI; IX	0,7 ^(1;2;4) ; IV; VI; IX						Fosfatase	Ciclo Celular/ Desfosforilação dependente de ciclina do CDK2	ONC (?)
AMOT	0,7 ^(1;2) ; II	0,2 ⁽¹⁾	0,2 ⁽¹⁾						Protein Binding	Citoesqueleto/ Tight junction	Driver
CDK2	0,6 ^(1;2;4) ; VI; VII; IX	0,6 ^(1;2;4) ; VI; VII; IX	0,6 ^(1;2;4) ; VI; VII; IX						Cinase/Transfense	Ciclo Celular	ONC (?)
CDK1	0,6 ^(1;2;4) ; VI; VII; IX	0,6 ^(1;2;4) ; VI; VII; IX	0,6 ^(1;2;4) ; VI; VII; IX						Cinase/Transfense	Ciclo Celular/ Ciclo Centrosomal	ONC; ST
RASSF3	0,7 ^(1;2;4) ; XI	0,6 ^(1;2;4) ; XI	0,6 ^(1;2;4) ; XI		0,2 ^(1;4)				Protein Binding	RAS/ Apoptose (?)	ST (?)
YWHAH	0,6 ^(2;4) ; IV	0,6 ^(2;4) ; IV	0,6 ^(2;4) ; IV						Adaptador e Modulador	Akt/ Ciclo celular/ Metabolismo/ Tráfego Proteínas	ST (?)
RASSF5	0,7 ^(1;2) ; II	0,7 ^(1;2) ; II	0,7 ^(1;2) ; II						Protein Binding	RAS/ Via Receptor Células B/ Crescimento Microtúbulos/ Apoptose	ST; A
CDK3	0,6 ^(1;2;4) ; IV	0,6 ^(1;2;4) ; IV	0,6 ^(1;2;4) ; IV						Cinase e Transfense	Ciclo Celular/ Controle da replicação cromossomal/ GADD45	ST (?)
PPP2R2A	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX						Fosfatase	ERK/ Akt/ Ciclo Celular	ST (?)
PPP2R2D	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX						Fosfatase	Ciclo Celular/ AMPK	ST
PPP2R2C	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX	0,7 ^(1;2;4) ; I; III; IX						Fosfatase	ERK/ Akt/ Ciclo Celular	ST (?)
ANKRD33	0,6 ⁽²⁾ ; XI	0,6 ⁽²⁾ ; XI	0,6 ⁽²⁾ ; XI						Regulador Transcritacional	Via regulatória do fotoreceptor ativado por CRX	
ANKRD28	0,6 ⁽²⁾ ; II; IV	0,6 ⁽²⁾ ; II; IV	0,6 ⁽²⁾ ; II; IV						Subunidade Regulatória	Reconhecer substratos fosforilados (Vias associadas ao PP6)	
PPP6R2	0,6 ⁽²⁾ ; II; IV	0,6 ⁽²⁾ ; II; IV	0,6 ⁽²⁾ ; II; IV						Subunidade Fosfatase	(Vias Associadas ao PP6)/ Fuso mitótico/ Alinhamento Cromossomas	
PPP6R1	0,6 ⁽²⁾ ; II	0,6 ⁽²⁾ ; II; IV; X	0,6 ⁽²⁾ ; II; IV; X						Subunidade Fosfatase	(Vias Associadas ao PP6)/ Transporte ao Golgi/ Metabolismo Proteínas	Driver; ST (?)
MST1	0,6 ⁽²⁾ ; III; XI; XIV	0,6 ⁽²⁾ ; III; XI; XII	0,6 ⁽²⁾ ; III; XI; XII						Endopeptidase(?)	Via associada à cinase de tirosina RON/ Via Hepatocyte growth factor	ONC (?)
NRD1	0,4 ^(2;4) ; III								Endopeptidase	Migração Celular/ Proliferação/ Via Hepatoma-ECF like growth factor	ONC
TEAD1	0,4 ⁽¹⁾	0,5 ⁽¹⁾	0,2 ⁽¹⁾						Regulador Transcritacional	Hippo/ ERK/ Transição EMT/ Migração Celular	Driver; ST (?)
FRY	0,5 ^(1;2;4) ; IV; IX; XIII	0,5 ^(1;2;4) ; IV; IX; XIII	0,5 ^(1;2;4) ; IV; IX; XIII						Protein Binding	Ciclo Celular/ Integridade Centrosomal/ Promove PLK1	ONC
FRYL	0,5 ^(1;2;4) ; IV; IX; XIII	0,5 ^(1;2;4) ; IV; IX; XIII	0,5 ^(1;2;4) ; IV; IX; XIII						Regulador Transcritacional (?)	Morfogênese Celular/ Citoesqueleto/ Polaridade das extensões celulares	Driver; ST (?)
LRRK2									Transferase	Autofagia (CaMKK/AMPK)/ Reciclagem Proteínas/ Tráfego vesículas sinápticas	ST
MOB2 (Q70IA6)									Regulador Cnases	Hippo(?) / Wnt(?) / Citoesqueleto	ST
MOB4 (Q9Y3A3)									Protein Kinase Binding	Tráfego Membranar(?) / Maturação oocito e preimplantação do zigoto	ST
STRN3	0,4 ^(1;2) ; XIV								Protein Binding	Interação com calmodulina dependentemente de Ca ²⁺	
SLMAP									Protein Binding	Regulação transporte sódio entre membranas/ Sinetização/ Migração Celular	
SEPT3	0,2 ⁽²⁾ ; I								Atividade GTPase (?)	Citocinese/ Citoesqueleto	ST
MAFI	0,5 ⁽¹⁾								Regulador RNA Polimerase III	mTORC1/ Inibição do TFIIB no DNA	ST
PLK1	0,5 ⁽¹⁾								Cinase/Transfense	Ciclo Celular (Montagem Fuso Mitótico e dos Centrosomas)	ONC; ST
EHBP1									Protein Binding	Tráfego endocítico e de proteínas/ Citoesqueleto/ Reciclagem SLC2A4/GLUT4	
PRAMEF8									Receptor Binding	Proliferação Celular(?) / Apoptose(?) / Diferenciação Celular (?)	
SERTM1									Transmembrane Protein		
PRKRIP1									RNA and Kinase Binding	Interatibilidade com RNA de cadeia dupla/ Inibe a atividade do EIF2AK2	

Interatantes	MOB's	MOB1A Q9HSS9	MOB1B Q7L9L4	MOB3A Q96BX8	MOB3B Q86TA1	MOB3C Q70IAS	MOB2 Q70IA6	MOB4 Q9Y3A3	Categoria Funcional	Via(s) Celular(es) do interagente	Categoria Tumoral
ZSCAN21	0,5 ⁽¹⁾								Regulador Transcricional	Regulação da Transcrição	
PLK3	0,5 ⁽¹⁾		0,5 ⁽¹⁾				0,2 ^(1;2;4) IX		Cinase/Transferase	Ciclo Celular/ Montagem Golgi/ Apoptose/ Resposta ao dano DNA	A; ST (?)
MKN1	0,4 ^(1;4)		0,4 ^(1;4)						Mediador Intracelular	Citosequeleto (resposta ao THBS1 da matriz extracelular)	ST (?)
PLK2	0,5 ⁽¹⁾		0,5 ⁽¹⁾				0,5 ^(1;2;4) IX		Cinase/Transferase	Ciclo Celular(duplicação centríolos)/ RAS e RAP/ Plasticidade sináptica	ST
FRMD1	0,4 ⁽¹⁾		0,5 ⁽¹⁾						Protein Binding Complex	Hippo/ Citosequeleto(?) / Faz complexo com Kibra e Merlin	
EHBP1L1	0,4 ⁽¹⁾		0,4 ⁽¹⁾						Protein Binding	Trafego Vesicular e efitor do Rab	
PLK5	0,4 ⁽¹⁾		0,4 ⁽¹⁾				0,5 ^(1;2;4) IX		Cinase/Transferase	Ciclo celular/ Diferenciação Neuronal	ST (?)
PLK4	0,4 ⁽¹⁾		0,4 ⁽¹⁾				0,5 ^(1;2;4) IX		Cinase	Ciclo Celular(duplicação centríolos)	ST (?)
TBCK	0,4 ^(1;4)		0,4 ^(1;4)	0,4 ⁽¹⁾	0,4 ^(1;4)		0,4 ^(1;4)		Cinase/Transferase	mTOR/ Citosequeleto	
PNPLA7	0,3 ⁽¹⁾								Lisofosfolipase	Diferenciação adipócitos/ Metabolismo Lipídios	
TEAD4	0,3 ⁽¹⁾								Regulador Transcricional	Hippo/ ERK/ Proliferação e Migração Celular/ Transição EMT	ONC; ST (?)
CDK17	0,3 ⁽¹⁾								Cinase/Transferase	Fosforilação Histona H1	
PNPLA6	0,3 ⁽¹⁾								Fosfolipase	Metabolismo Lipídios/ Estabilidade membrana	
TEAD3	0,3 ⁽¹⁾								Regulador Transcricional	Hippo/ Proliferação e Migração Celular/ Transição EMT	
ESPL1	0,3 ⁽¹⁾								Peptidase	Ciclo Celular (separação dos cromátídeos)	ONC (?)
MAP3K19	0,3 ⁽¹⁾								Cinase/Transferase	Regulação mitótica/ Possivelmente participa nas vias do MAP3K1	
WWC1	0,5 ⁽¹⁾						0,5 ^(1;2;4) V; VI; VIII; IX		Regulador Transcricional	Hippo/ Wnt / Hedgehog / Notch/ ERK/MAPK/ Migração Podócitos	ST (?)
SLX4IP				0,3 ⁽¹⁾	0,3 ⁽¹⁾				Scatfold	Reparo DNA(SLX4/PTBD12, interação com endonucleases)	
RNGTT				0,3 ⁽¹⁾	0,3 ⁽¹⁾				Fosfatase e Transferase	Splicing RNAm/ Via do HIV	
PSMB4				0,3 ⁽¹⁾	0,3 ⁽¹⁾				Endopeptidase	Ciclo Celular/ RET	
KBTBD2				0,5 ⁽¹⁾					Erzina E3(?)	Ubiquitinação(?) (vias possivelmente associadas ao KBTBD8)	
WDR67				0,3 ⁽¹⁾	0,3 ^(1;4)				Regulador (?)	Possivelmente participa nas vias associadas ao TBC1D1	
RPL22				0,3 ⁽¹⁾	0,3 ⁽¹⁾				RNA Binding	Via de Virulência do Epstein-Barr (Transcrição; Tradução; Replicação)	Driver; ST (?)
TYK2				0,3 ⁽¹⁾	0,3 ⁽¹⁾				Cinase/Transferase	Vias Interferão Tipo I e III/ Desenvolvimento do receptor IGF-1/ IL2	Driver; ONC (?)
RBI				0,3 ⁽¹⁾	0,3 ⁽¹⁾				DNA/Protein Binding	Ciclo Celular/ Manutenção Cromatina/ Diferenciação Celular	ST; A
SIPA1				0,2 ⁽⁴⁾					GAP Protein	Ciclo Celular/ Rap1	Driver (?)
TMUB2				0,2 ⁽¹⁾					Regulatória e Moduladora	Possivelmente participa nas vias associadas ao TMUB1	
TLN1				0,2 ⁽⁴⁾					Protein Binding	Citosequeleto/ Adesão Focal/ Migração Celular	ONC; ST (?)
DENN3				0,2 ⁽¹⁾					Guanine Exchange Factor	Via RAB (GEFs exchange GTP for GDP)/ Trafego Vesicular/ Autofagia	
CUL4A				0,2 ^(1;4)					Scatfold	Ubiquitinação/ TC-NER	ONC; ST (?)
MCPHI				0,2 ⁽¹⁾					Protein Binding	Ciclo Celular/ Neurogênese/ Reparo DNA	ST (?)
PCNP				0,2 ⁽¹⁾					Protein Binding	Ciclo Celular	
ARL5A				0,2 ^(1;4)					GTP Binding	Trafego vesicular/ Citosequeleto	
FAM53C				0,2 ⁽⁴⁾					Protein Binding	Proliferação Celular/ Desenvolvimento tubo neuronal	
GNAI2				0,2 ^(1;4)					Guanine GTP Binding	Akt/ Sinalização Proteína G e Proteína G alpha- γ Divisão Celular	ONC (?)
POLE3				0,2 ⁽¹⁾					DNA Binding	Ciclo Celular/ Síntese da fita-C lag no Telómero	
RHOG				0,2 ⁽⁴⁾					GTPase Binding	Citosequeleto/ ERK/ Apoptose/ Mobilidade Celular/ Transporte Vesicular	ONC; ST (?)
TMEM126B				0,2 ⁽¹⁾					Chaperona	Cadeia transportadora de electrões/ Montagem complexo I Mitocndrial	

Interatantes	MOB's	MOB1A Q9HSS9	MOB1B Q7L9L4	MOB3A Q96BX8	MOB3B Q86TAL	MOB3C Q70IA8	MOB2 Q70IA6	MOB4 Q9Y3A3	Categoria Funcional	Via(s) Celular(es) do intratante	Categoria Tumoral
PRR14		0,2 ⁽⁴⁾							Protein Binding(?)	Ciclo Celular/ Regulação PBK-Akt-mTOR/ Adedir heterocromatina à Lâmina Nuclear	ONC
ACTR1A		0,2 ⁽⁴⁾							ATP Binding	Ciclo Celular/ Manutenção organelos/ Montilidade vesicular com Microtubulos	ONC (?)
TGFI		0,2 ⁽²⁾¹							DNA Binding Corepressor	TGF- β / Via Receptor X Retinóico	ST (?)
RNF13		0,2 ⁽¹⁾							Enzima E3	Ubiquinação	ONC (?)
ING1		0,2 ⁽¹⁾							Binding Modulador	Ciclo Celular/ Apoptose/Via do p53/	ONC (?)
INCEP		0,2 ⁽¹⁾		0,2 ⁽¹⁾					Scaffold Regulador	Ciclo Celular/altrafamento cromossomas; estabilidade microtubulos; montagem fiso)	ONC (?)
RAC2		0,2 ⁽⁴⁾							GTPase Binding	ERK/ Adesão Focal/ Polaridade/ Fagocitose corpos apoptóticos	
PAPDS		0,2 ^(1;4)							Adeniltransferase	Deadenilação dependente da degradação do RNAm	
FAM65A		0,2 ⁽⁴⁾							Adaptador	Ativação Rho/ Migração Celular/ Polaridade/ Reorientação Golgi	
PREX2		0,2 ⁽¹⁾							GEF Protein	Ativação Rac/ Via Receptor Acoplado a proteínas G	Driver (?)
UTP3		0,2 ⁽¹⁾							Subunidade Regulatória	Silenciamento genes/ Processamento rRNA no núcleo e no citosol	
MRGBPRE		0,4 ^{(2)III}							Atividade acoplada a Proteínas G	Associado aos Noceceptors (Vias sensação e modulação de dor)	
NT5C2		0,4 ⁽²⁾¹		0,2 ^{(2;4)1}					Hidrolase	Metabolismo Purinas- Pirimidinas e do NAD	Driver:ONC (?)
IFNK		0,4 ^(1;4)							Receptor Binding	Jak-STAT/ Indução mediada por RIG-I /MDA5 das vias IFN- α e beta	
CNKSR2		0,4 ^{(2)XII}							Scaffold Adaptador	MAPK/ RET/ Ras/ Inibe Apoptose/ remodelação citoesqueleto	
FAM47B		0,2 ⁽¹⁾									
RPUSD4		0,2 ⁽¹⁾									
ZNF229		0,2 ⁽¹⁾									
ZNF534		0,2 ⁽¹⁾									
C1orf114 (CCDC181)		0,2 ⁽¹⁾									
CKAP2		0,2 ⁽¹⁾							Sintetase	Conversão uridinas em pseudo-uridinas em substratos de RNAs Mitocôndriais	
LRR37B		0,2 ⁽¹⁾							Regulador Transcricional	Regulação transcricional	
DUS3L		0,2 ^(1;4)							Regulador Transcricional	Regulação transcricional	
PTCHD4		0,2 ⁽¹⁾							Protein Binding	Ligação aos microtubulos em espermátidos	
ZNF280A		0,2 ⁽¹⁾							Protein Binding	Estabilização Microtubulos/ Regulação Aneuploidia/ Apoptose (p53/TP53)	ONC (?)
DHX33		0,2 ⁽¹⁾							Protein Modification(?)	Possivelmente associado às vias do LRR	
CPNE2		0,2 ⁽¹⁾							Sintetase	Catalisa a síntese de dihidrouridina encontrada na grande maioria dos rRNAs	
TMEM220		0,2 ⁽¹⁾							Repressor	Hedgehog-SMO	
CLK4		0,2 ⁽¹⁾							Fator Transcrição	Possivelmente associado às vias do ZNF280B	
WHAMM		0,3 ⁽¹⁾							Helicase	Toll-like Receptor/ MAPK/ Síntese Proteica/ Organização nuclear/ Imunidade	
NLRC5		0,3 ⁽¹⁾							Protein Binding	Processos intracelulares dependentes de Ca ²⁺	
DPH5		0,2 ⁽¹⁾							Chaperona (?)	Possivelmente associado às vias do TMEM126B	
VRK3		0,2 ^(1;4)							Cinase/Transferase	Splicing alternativo RNAm	
RMND5A		0,2 ^(1;4)							Protein Binding	Nucleação da Actina/ Tight junction/ Transporte ao Golgi/Migração e Adesão Celular	
PRAP1		0,2 ⁽¹⁾							Regulador	Imunidade Antiviral Inata/ Indução mediada por RIG-1/MDA5 do IFN- α /beta	
USMG5		0,2 ⁽¹⁾							Metiltransferase	Metabolismo Proteínas (Síntese Dipirfamide)	
CDK13		0,2 ^(1;4)							Cinase/Transferase	ERK/ Simulação TLR4/ Eventos Nucleares (Ativação Fatores Transcrição e Cinases	
MXRA8		0,2 ⁽¹⁾							Hidrolase (?)	Ubiquinação (?)	
									DNA Binding (?)	Autofagia/ Homeostase em células epiteliais	
									Subunidade (?)	Cadeia transportadora de e- / Regulação população de ATP sintetases na mitocôndria	
									Cinase	Ciclo Celular/ Splicing RNAm/ Imunidade Inata/ Regulação Hematopoiese (?)	
									Protein Modification (?)	Manutenção da Barreira Hematoencefálica	

Interactantes	MOB's	MOB1A Q9H859	MOB1B Q7L9L4	MOB3A Q96B88	MOB3B Q86TA1	MOB3C Q701A8	MOB2 Q701A6	MOB4 Q9Y3A3	Categoria Funcional	Via(s) Celular(es) do Interactante	Categoria Tumoral
IRG1						0,2 ⁽¹⁾			Decarboxilase	Metabolismo Glucose/ Imunidade Inata (Toll-like receptors)/ Resposta inflamatória	ONC (?)
VIPAS39						0,2 ⁽¹⁾			Protein Interaction	Maturação Endossomal/ Polaridade/ Tráfego Lisossomal/ Regulação E-caderina	
SREK1						0,2 ⁽¹⁾			RNA Binding e Modulador	Splicing Alternativo RNAm	
BTNZAI						0,2 ⁽⁴⁾			Binding (?)	Metabolismo Lipídios; Ácidos Gordos; Esterol/ Sistema Imune Inato	ONC (?), ST, A
GMS2						0,2 ⁽¹⁾			Regulador	Metabolismo Lipídios e sua regulação por PPARalpha/ Apoptose	
NAAP20						0,2 ^{(1), (4)}			Acetiltransferase	Manutenção das fibras de actomiosina/ Migração Celular	
GIMAP6						0,2 ⁽⁴⁾			GTPase Protein	Regulação da Sobrevida Celular	
CMTM3						0,2 ^{(2), 1}			Atividade Citocina	Controlo Sobrevida, Crescimento, Diferenciação, Função Efectora tecidos/células	ST (?)
WWP2						0,2 ⁽⁴⁾			Enzima E3	SMAD/ Proteólise mediada por Ubiquitina (ligase-transferase)	ONC (?), ST (?)
ARAP1						0,2 ⁽⁴⁾			Regulador GTPases e Modulador	Sinalização mediada por receptor, NTR p75 e por GTPases Rho/ Citoesqueleto	
INTS3						0,2 ⁽¹⁾			Subunidade Integradora	Complexo INT - Resposta Dano DNA/ Estabilidade Genoma/ Ciclo Celular	ONC (?)
RBL2						0,2 ^{(1), (4)}			Corepressor	Ciclo Celular/ Formação Heterocromatina	ST
MAP4K2						0,3 ^{(2), 1}			Cinase/ Transferase	TNFR1/ MAPK/ SAP- JNK/ Regulação e/ou Fissão vesículas	ONC (?)
TBC1D30									GAP Protein	RAB22A/RAB27A/RAB35	
GRTP1									GAP Protein	Ativação Proteínas Rab	
TBC1D2									GAP Protein	TBC/RABGAPs/ Transporte mediado por vesículas	ST (?)
TBC1D2B									GAP Protein	Posivelmente tenha mesmas vias que o TBC1D2	
MAP4K1									Cinase/ Transferase	EGF/EGFR/ JNK- TCR CD4 ⁺	ST (?)
MAP4K5									Cinase/ Transferase	JNK/ TGf-beta/ Resposta ao Stress Extracelular	
PPP2CA									Fosfatase	mTOR/ ERK/ Regulação Proteínas Associadas a Microtúbulos	ST, A
PPP2CB									Fosfatase	mTOR/ ERK	ST (?), A
RAD50									Nuclease	Reparo DNA (DSB)/ Manutenção Telomerase e Meiose	ST (?), ONC (?)
ACE2									Metalo-peptidase	Sistema Renina-Angiotensina	
SCAND3									Nucleic Acid Binding		
MAGOH									Subunidade Regulatória	Splicing RNAm/ Tradução RNAm viral	
EIF4A3									Helicase	Splicing RNAm/ Controlo Translacional/ Crescimento Celular	ONC
NDRG2									Helicase	Apoptose/ Autofagia/ Angiogénese/ Wnt/ Diferenciação Celular/ Neurogénese	ST, A
STRN									Protein Binding	Sinalização: Receptor estrogénio/ Dendrítica Ca ²⁺	
PDCCD10									Protein Binding	Apoptose/ ERK/ Montagem Golgi/ Migração celular/ KDR/ VEGFR2	ONC
STRN4									Scatfold	Via Calcitonina dependente Ca ²⁺	
STRIP1									Subunidade Integradora	Complexo STRIP - Morfologia Celular/ Citoesqueleto/ Migração/ Localização Golgi	
TRAF3IP3									Adaptador e Modulador	Ativação do TRAF3 mediado por JNK	ONC (?)
CTTNBP2NL									Protein Binding	Transporte transmembrana/ Citoesqueleto (associado ao PP2A)	ONC (?)
FGFR1OP2									Protein Binding	Via VEGF (circunzação)/ Ciclo vida HIV	ONC (?)
ANKHDI1									Scatfold	Via Caspases (anti-apoptótico)	Driver: ONC (?)
SIKE1									Protein Binding	Vias virulência (IFN-alfa / beta)/ Sistema imune inato	
STRIP2									Subunidade Integradora	Complexo STRIP - Morfologia Celular/ Migração/ Citoesqueleto	
DYNLL1									Motor Protein Binding	Ciclo Celular/ Transporte e Manutenção de Organelas/ Apoptose (BCL2L11)	ONC (?)

Interatuentes	MOB's	MOB1A Q9H8S9	MOB1B Q7L9L4	MOB3A Q96BX8	MOB3B Q86TA1	MOB3C Q70A8	MOB2 Q70IA6	MOB4 Q9Y3A3	Categoria Funcional	Via(s) Celular(es) do interatante	Categoria Tumoral
PPP2R1A								0,8 ^(1,2,4) IV, XII, XIII	Scaffold	Ciclo Celular/ ERK/ Segregação Cromossômica/ Apoptose	ONC (?), ST, A
PPM1B								0,7 ^(1,2,4) III	Fosfatase	Ciclo Celular/ Vias Virais	ST(?)
CC22								0,7 ^(2,4) IV, XIII	Chaperona	Folding Proteínas dependente de ATP incluindo actina e tubulina	
CC16A								0,7 ^(2,4) IV, XIII	Chaperona	Folding Proteínas dependente de ATP incluindo actina e tubulina	ONC (?)
TCP1								0,7 ^(1,2,4) IV, XIII	Chaperona	Folding Proteínas dependente de ATP incluindo actina e tubulina	ST, A (?)
PPP2R1B								0,7 ^(1,2,4) IV, XIII	Scaffold	Morfologia Celular/ Ciclo Celular/ ERK/ Apoptose(?)	
WDFY2								0,7 ^(1,2,4) III	Adaptador	Diferenciação Celular adipocitos/ Akt	
CC18								0,7 ^(1,2,4) IV, XIII	Chaperona	Folding Proteínas dependente de ATP incluindo actina e tubulina	ONC (?)
CTTNBP2								0,7 ^(1,2) II, IV, XII, XIII	Protein Binding	Citosqueleto/ Neurogênese dendrítica e manutenção	ONC (?)
CC16B								0,7 ^(2,4) IV, XIII	Chaperona	Folding Proteínas dependente de ATP incluindo actina e tubulina	
CC13								0,7 ^(2,4) III, IV, XIII	Chaperona	Folding Proteínas dependente de ATP incluindo actina e tubulina	
CC17								0,7 ^(2,4) IV, XIII	Chaperona	Folding Proteínas dependente de ATP incluindo actina e tubulina	
CC15								0,7 ^(2,4) IV, XIII	Chaperona	Folding Proteínas dependente de ATP incluindo actina e tubulina	
RAB3C								0,7 ⁽²⁾ III	GTPase Protein Binding	Reciclagem MHC classe I/ Tráfego Vesicular	ONC (?)
PPP2R4								0,7 ⁽¹⁾	Fosfatase	Ciclo Celular/ ERK/ Akt/ (Vias Associadas ao PP2A)	ST (?)
MOB3A (Q96BX8)								0,6 ⁽¹⁾	Regulador Cinasas	Duplicação fuso Mitótico(?) Regulação Checkpoint Mitótico(?)	ST
MOB3C (Q70IA8)								0,6 ⁽¹⁾	Regulador Cinasas		ST
AGA								0,6 ⁽¹⁾	Hidrolase	Metabolismo Glicoceno/ Sistema Imune Inato	ONC (?)
FAM183A								0,6 ⁽¹⁾			
LSM12								0,5 ⁽¹⁾	Protein Binding (?)		
FBXO30								0,5 ⁽¹⁾	Transferase	Ubiquitinação/ Processamento antigênico Classe MHC1	ST (?)
ZRANB1								0,5 ⁽²⁾ IV	Hidrolase	Ubiquitinação/ Metabolismo Proteínas/ Wnt/ Morfologia Celular/ Citosqueleto	
SF3B1								0,5 ^(2,4) XVI	Subunidade Regulatória	Splicing RNAm/ Via Receptor Androgênico pelo PKNI regulado por KLIK23	Driver-ONC (?)
PSMC6								0,5 ⁽⁴⁾	Hidrolase	Ciclo Celular/ RET/ Apoptose/ Reparo DNA	
TIMM13								0,4 ⁽²⁾ XII	Chaperona Mitocôndrial	Importe Proteínas para Mitocôndria/ Metabolismo proteínicas	ONC (?), ST
FABP3								0,3 ⁽¹⁾	Fatty Acid Binding	Metabolismo ácidos gordos(transporte)	ST (?)
TSSC1								0,5 ^(1,2,4) I, XV	Regulador (?)	Ubiquitinação(?) Reciclagem endocítica	ONC (?)
EPS15									Protein/Ion Binding	EGFR/ Tráfego wtCFTR e delta508-CRTR/ Maturação vesicular com Clatrina	ONC (?)

LEGENDA: Evidências: Textmining (1); Experiments (2); Databases (3); Co-Expression (4); Neighborhood (5); Gene Fusion (6); Co-Occurrence (7); Homology (8).

Metodologias: Two Hybrid - I; Proximity-Dependent Biotin Identification - II; Affinity Chromatography Technology - III; Anti Tag Coimmunoprecipitation - IV; Pull Down Assay - V; Enzymatic Study - VI; Protein Kinase Assay - VII; Imaging Technique Assay - VIII; Genetic Interference - IX; Confocal Microscopy - X; BioID Assay - XI; Anti Bait Coimmunoprecipitation - XII; Tandem Affinity Purification - XIII; *In Vivo* Assay - XIV; *In Vitro* Assay - XV; BioChemical Assay - XVI. **Categorias Tumorais:** Suppressor Tumoral - ST; Oncogene - ONC; Driver - Driver; Apoptose - A; Suspeita ou Associado - (?). **Outros:** Transição Epitélio-Mesenquimal - EMT; Centro Organizador de Microtúbulos - MTOC. *Nota.* No retângulo () estão selecionados os interatantes mais significativos, isto é, aqueles com um nível de score $X \geq 0,5$.

7.4.1. Número total de interatuantes de cada mob

Com os dados da **Tabela XV.**, formulou-se a **Figura 37.** que figurou uma distribuição hierárquica dos 218 interatuantes pelos sete mobs de humanos não discriminando o grau de favorabilidade associado a cada parceria, isto é, incluindo os muito e pouco significativos.

Em primeiro destaque teve-se o **MOB1A** com um total máximo de 89 parceiros interativos, **Figura 37.**, sugerindo-se que tenha o maior grau de promiscuidade e de multifuncionalidade, **Figura 18.**, em um maior número de vias celulares comparativamente com os restantes mobs onde o **MOB3B** foi aquele com o menor número de parceiros registados (30) implicando-se de que tenha um perfil interativo mais restrito, porém, não se implicou que o mesmo tivesse um baixo grau de atividade porque tal dependeria do tipo de via celular e do grau de comprometimento do tecido em questão. Todos os mob de humanos tiveram uma maior frequência interativa para com supressores tumorais, **Figura 37.**, onde novamente salientou-se a tendência dos mesmos e de outros que para além de interagirem com as proteínas mob, adotarem outras categorias tumorais (oncogénicos, drivers; apoptóticos). Com tudo isto, o gráfico da **Figura 37.** prevê uma ordem decrescente de elementos associados a cada mob da seguinte forma:

MOB1A > MOB1B > MOB2 > MOB4 > MOB3A > MOB3C > MOB3B

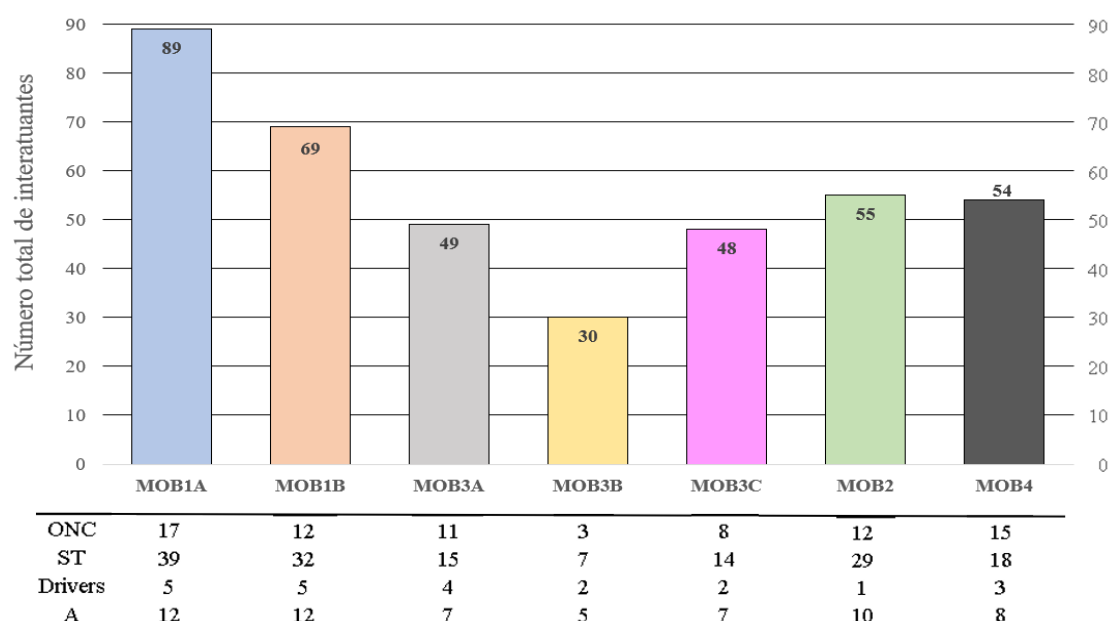


Figura 37. Dados da **Tabela XV.** Soma total de interatuantes muito e pouco significativos de cada mob avaliados em 4 categorias tumorais. **LEGENDA:** **ONC** – Oncogene; **ST** – Supressor Tumoral, **Drivers**, **A** – Apoptose.

A atribuição de uma possível correlação funcional entre dois ou mais mobs ou para saber-se um pouco mais em termos quantitativos do número total de alvos que foram compartilhados entre os sete mobs estudados apenas visualizando a **Figura 37.** e a **Tabela XV.** foi muito indireta e que, portanto, tiveram de ser complementadas pelas **Figuras 38.** e **39.**

7.4.2. Número de interatuantes em comum aos sete mobs

Sendo os sete mobs humanos da mesma família, porém, de subtipos diferentes, teve-se o interesse de analisar-se quantitativamente o número total de interatuantes que foram compartilhados entre os mesmos.

Cumulativamente, obtiveram-se os totais de parceiros compartilhados de todos os mob de 21 combinações comparativas possíveis, **Figura 38.**, destacando-se novamente o **MOB1A** que para além de ter uma favorabilidade interativa com muitos elementos proteicos em vias relevantes, é aquele que também partilhou mais elementos em comum com outras proteínas mob, comprovando-se a sua promiscuidade e multifuncionalidade com grande dinamismo interativo tendo-se então mais dualidades funcionais para com outros mobs, **Figura 18.** Também, comprovou-se de que o mesmo teve uma forte correlação funcional com o MOB1B já que foi esse mesmo que teve um valor de interatuantes em comum próximo ao do MOB1A, **Figura 38.** e que derivou mais da partilha de elementos entre ambos do que com outros mobs, (**1A/1B, Figura 39.**).

O **MOB2** também teve um número de parceiros em comum bastante considerativo derivado maioritariamente das comparações **1A/2** e **1B/2, Figura 39.** suspeitando-se de alguma dualidade funcional com o subtipo MOB1A/1B embora que não se soube ao certo, **Figura 18.**

Com o subtipo familiar **MOB3A/3B/3C,** também se sugeriu de que houvesse uma correlação funcional vestigial no mesmo subtipo por partilharem uma proporção de interatuantes em comum quase igual (**3A/3B, 3A/3C, 3B/3C, Figura 39.**), porém, baixos quando comparados com outros mobs.

O **MOB4** mesmo sendo a proteína com mais elementos interativos do que o MOB3A, MOB3B e o MOB3C, **Figura 37.,** foi aquela dos sete que partilhou menos parceiros em comum, **Figura 38.,** onde sugeriu-se que talvez exerça funções diferentes dos restantes mobs, **Figura 18.**

Resumidamente, o gráfico da **Figura 38.** previu uma ordem decrescente do número de elementos compartilhados entre cada mob da seguinte forma:

MOB1A > MOB1B > MOB2 > MOB3C > MOB3A > MOB3B > MOB4

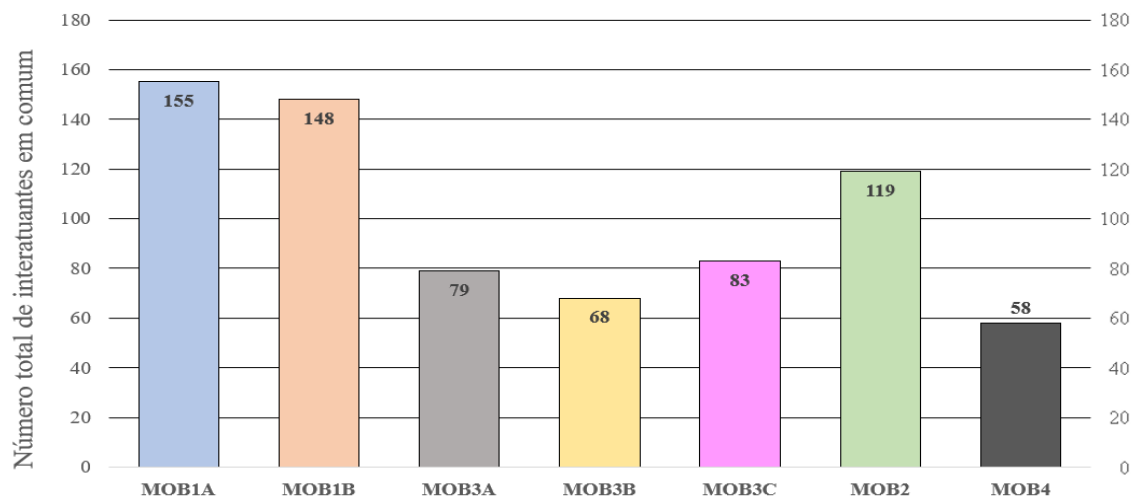


Figura 38. Dados da **Figura 39.** Soma total de interatuantes muito e pouco significativos que foram comuns nas 21 comparações entre dois mobs.

Para as conclusões ilustradas na **Figura 38.**, a mesma teve-se de providenciar-se das contagens e somatórios derivados da **Figura 39.**

7.4.3. Número de interatuantes partilhados entre os sete mobs

Para as conclusões da **Figura 38.**, realizaram-se, à priori, as contagens ilustradas na **Figura 23.** e figuradas na **Figura 39.** onde os somatórios dos alvos em comum de cada par comparativo entre dois mobs, permitiram-se correlacionar com as interpretações mencionadas anteriormente para cada mob.

Como salientado anteriormente o resultado de ter-se tido um total de interatuantes gerais do **MOB1A** muito aproximado com a proporção geral contada para o **MOB1B** e, conseqüentemente, interpretar-se de que derivaram mais da comparação entre os mesmos, **Figura 38.**, demonstrou-se correspondido sendo então o total mais proeminente de todas as 21 comparações possíveis, **1A/1B, Figura 39.**, estipulando-se de que os mesmos são bastante correlativos funcionalmente, **Figura 18.**, com um total voltado, maioritariamente, para os supressores tumorais o que não foi muito diferente das restantes comparações.

Entre estas duas proteínas, a proporção de alvos em outras comparações foi também semelhante entre elas rondando-se, no máximo, entre os 9 e os 14 elementos em 8

comparações realizadas (1A/3A, 1A/3B, 1A/3C, 1A/4, 1B/3A, 1B/3B, 1B/3C, 1B/4), excluindo dois casos, 1A/2 (40) e 1B/2 (34), **Figura 39.** onde os mesmos partilharam com o **MOB2** um número de parceiros considerável com uma maioria na supressão tumoral, discutindo-se a possibilidade de haver uma dualidade funcional que possa intersectar-se com o MOB1A/1B, **Figura 39.**, porém, não se ignoram os números de interagentes entre os mobs 3A, 3B, 3C e 4 a rondar os 10 e os 12 elementos no máximo em outras comparações em que possam evidenciar algum tipo de compensação ainda desconhecido.

O subtipo familiar **MOB3A/3B/3C** partilharam, assim como o subtipo familiar MOB1A/1B, totais aproximados entre si rondado os 68 e os 83 elementos, **Figura 38.**, comprovados pela deriva mais dos mesmos elementos entre si que variaram de 16 a 18 elementos por comparação (3A/3B, 3A/3C, 3B/3C, **Figura 39.**) do que com outros subtipos familiares (entre 7 e 14 elementos). Adicionalmente, com a **Tabela XV.** registou-se que o número de interagentes em comum aos três mobs ao mesmo tempo (3A/3B/3C) totalizaram-se em 15, havendo assim um peso funcional correlativo aparentemente vestigial comparativamente com a proporção vista para o caso do 1A/1B. Por fim, teve-se o **MOB4** que apesar de ter tido um total de parceiros que superou os totais gerais contados para o subtipo familiar 3A/3B/3C, **Figura 37.**, apresentou uma partilha de elementos interativos em comum baixa, **Figura 38.**, comprovada pelas comparações que compartilharam menos elementos rondando entre os 7 e os 12 elementos no máximo (1A/4, 1B/4, 3A/4, 3B/4, 3C/4, 2 vs 4, **Figura 39.**) concluindo-se de que o mesmo deva exercer funções diferentes, **Figura 18.**

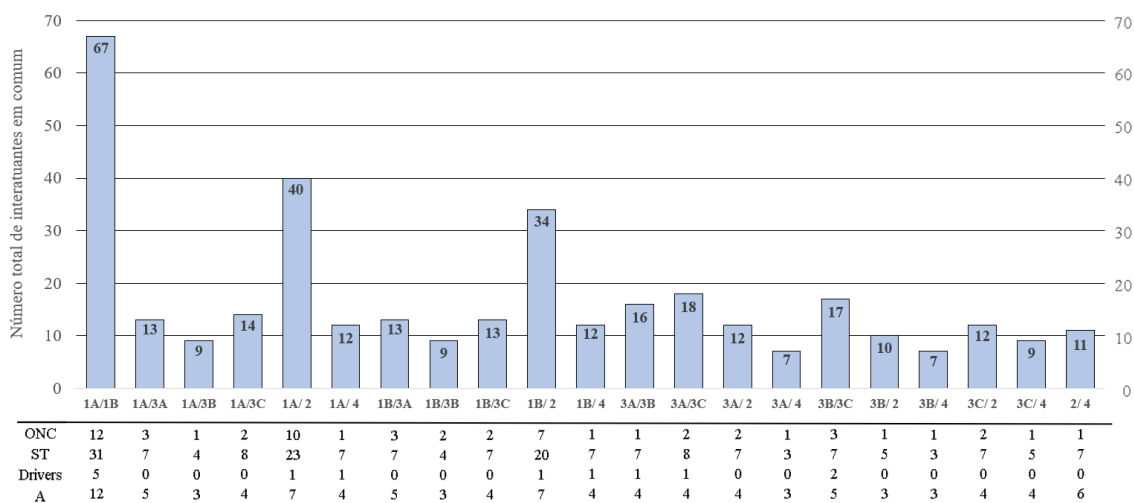


Figura 39. Dados da **Tabela XV.** Número total de interagentes muito e pouco significativos em comum de cada comparação em específico. **LEGENDA:** **ONC** – Oncogene; **ST** – Supressor Tumoral, **Drivers**, **A** – Apoptose.

8. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Com este projeto estudaram-se, fulcralmente, as diferenças dos sete mobs de humanos na expressão transcricional dos mesmos nos diferentes tecidos do corpo humano e o número de interatuantes totais que foram compartilhados entre as subfamílias mob. Dados esses que foram gerados, respetivamente, por fontes bioinformáticas como o *HPA* e o *STRING v10.5* e compilados com outros conhecimentos provindos de estudos já realizados nas temáticas da sinalização celular, filogenia, estrutura e percentagens de identidade.

Sumariza-se que a família mob constitui um grupo de proteínas regulatórias que exercem uma parceria com muitos elementos tendo uma função que embora não muito bem entendida, especulou-se que contribui para a estabilidade da função do elemento com que interagem e de muitos outros de diferentes categorias funcionais, **Tabela XV**.

Ilustrou-se que adotam, possivelmente, uma estrutura globular para os casos da subfamília MOB1A/1B e MOB2. Porém, não se soube para as restantes subfamílias embora que se sugira que também a tenham.

Mencionou-se que evoluíram divergentemente por um mecanismo de duplicação⁽⁶⁾, com um alto estado de conservação e especialização em organismos multicelulares, partilhando percentagens de identidade razoavelmente altas no mesmo organismo modelo [*Homo sapiens*], servindo-se como justificativa para ignorar e não subestimando os dados da expressão proteica], **Tabela III**., e em diferentes organismos, **Tabela II**., onde os mob de humanos foram, em média, bem aparentados [~80% - 60%] especulando-se de uma conservação importante com a possibilidade de partilharem funções em comum em certos organismos, porém, com ligeiras diferenças de identidade que se refletiram como especializações em organismos mais sofisticados e no mesmo grupo taxonómico (mamíferos, **Tabela II**.). Também, observaram-se um outro tipo de especializações que sugerem uma divergência devido a valores de identidade a rondar os 20% suspeitando-se da possibilidade da execução de funções diferentes em certos organismos. Salienta-se também que ter-se tido resultados de identidade de todas as proteínas mob em cada organismo face às 7 sequências em humanos, não implicar que os organismos tivessem o mesmo número de proteínas mob de humanos. Apenas concluiu-se o quão aparentes foram as proteínas mob dos 20 organismos modelo face às sequências do meu estudo. E, caso não tivesse observado um resultado de identidade num dos organismos implicaria que essa proteína mob num organismo em particular não estaria sequenciada e caracterizada em nenhuma das bases de dados presentes no *BLASTp alignment*.

Desde os anos da descoberta dos mobs e atenções acrescidas para os mesmos não apenas na oncologia adotaram-se, até aos dias de hoje, diferentes nomenclaturas com uma grande falta de unanimidade por parte dos autores, continuando-se a dificultar as designações e aumentando os desentendimentos triviais que se esperou que fossem rapidamente resolvidos.

Na temática da sinalização, estudou-se que participam em pelo menos 11 vias celulares: **MEN, SIN, hippo, RAM, MOR**, via da **regulação da morfologia das hifas de fungos, migração de células T reguladoras, PTEN–GSK3 β –MOB1, STRIPAK (transporte vesicular, reprodução) e ciclo celular**, embora que, provavelmente, estejam em muitas outras, **Tabela XV**. Teve-se também a tentação de se especular para todas as cinases, no geral, que os mobs podem adotar a mesma forma e ordem sequencial de interação para com as mesmas assim como ilustrado na **Figura 4**.

Quanto aos resultados dos dois estudos deste projeto, estes apontaram para diferenças que distinguiram as quatro subfamílias que incluem sete mobs de humanos na expressão transcricional do contexto de normalidade nos diferentes tecidos contrastando com os dados tumorais onde se hesitou em apostar numa casualidade ou numa consequência que, intuitivamente, pensou-se que derivou da autenticidade de um estado tumoral, assim como no caso da importância dada ao valor do score combinado atribuído a cada associação de elementos com uma categoria tumoral multifacetada. Iremos por partes.

8.1. Quanto à expressão transcricional relativa dos sete mobs

Qualitativamente, a expressão transcricional dos mobs foi estudada por **Chow et al, 2009⁽⁶³⁾**, onde revelaram uma ausência de transcritos de certos mobs em alguns tecidos como por exemplo no rim, fígado, pulmão e no cólon, **Figura 1.**, (não foi possível comparar-se alguns tecidos como o fetal liver, fetal brain, trachea e spinal cord porque não estavam presentes na base de dados do HPA, GTEx e FANTOM5), o que não condizera com os dados obtidos para o RNAm das três bases de dados onde detetaram-se, quantitativamente, a presença dos sete nesses tecidos, **Figuras 25., 27., 29.** Porém, houve um caso semelhante que foi atribuído ao MOB2 no FANTOM5 que se demonstrou ausente neste caso em três tecidos (Pituitary Gland, Thymus, Pancreas), **Figura 29.**, sugerindo-se de que houve uma heterogeneidade amostral, isto é, as amostras foram independentes entre si mesmo que tenham sido provindas do mesmo tecido não permitindo-se distinguir o peso das variáveis em jogo ilustradas na **Figura 17**.

Para complementar estes resultados foram também os estudos de **Ye et al, 2009**⁽⁶⁾, onde não só atestaram a filogenia que está apresentada neste trabalho, **Figura 6.**, mas também a expressão quantitativa em outros tipos de tecidos. No geral, verificou-se um ponto em comum entre o estudo dos autores e os dados deste trabalho que foi uma maior expressão transcricional de hMATS1 (MOB1A) em relação aos outros mobs nos tecidos sugerindo-se que existe uma preferência seletiva na expressão transcricional de todos os mobs em determinados tecidos não só em fases neonatais (dados não apresentados), mas também naqueles em fases adultas, contrastando-se, ao mesmo tempo, com os resultados deste projeto ao registarem, por exemplo, zero níveis de expressão no intestino e testis para o caso do hMATS2 (MOB1B) enquanto que neste trabalho registou-se a sua expressão nas três bases de dados: HPA, GTEX, FANTOM5, **Figuras 25., 27., 29.**, respetivamente. Como tal, o objetivo de diferenciar os sete mobs de humanos transcricionalmente não só neste trabalho, mas também de outros autores demonstrou-se relativo mesmo com pontos em comum. Portanto, precisavam de ser averiguados. Ora esse traço de relatividade foi também observado sutilmente quando se revisaram os valores transcricionais dos mesmos em cada tecido nas três bases de dados onde confirmou-se alterações inoportunas na mesma fonte que se refletiram em permutações posicionais, isto é, situações onde tecidos que distaram-se muito pouco e que tiveram o mesmo valor de expressão, trocaram de posições de expressão na ordem decrescente (exemplo: $A > A1$, atualizado para a ordem: $A1 > A$, ($A \Leftrightarrow A1$)). Este caso foi com o gráfico do HPA, MOB1B (**ANEXO 5**), onde o tecido mamário (Breast) que estava à priori da pele (Skin) e com iguais valores de expressão (10,5 TPM), foi superado pela pele por razões desconhecidas com o valor TPM inalterado. Portanto suspeitou-se que a fonte tivesse realizado uma aproximação entre as centésimas e milésimas já que os valores apresentados da unidade e das dezenas de ambos eram iguais tornando-se impercetível as ligeiras mudanças que nortearam a uma permutação. Portanto, alerta-se para esta inconveniência onde configurar-se o HPA e este mesmo ordenar os gráficos por ordem de expressão ou até mesmo por ordem alfabética, as expressões podem não seguir estes requerimentos para aqueles com um igual valor de expressão. Mesmo com estas relatividades no tratamento dos dados e com a natureza típica da variabilidade do RNAm, conseguiu-se deduzir que todos os mobs, no geral, variaram bastante. Universalmente, observou-se que o MOB1A não foi apenas o mais expresso dos restantes mobs tanto no contexto normal como tumoral, mas também como aquele que esteve sempre presente em todos os casos teciduais, **Figuras 25., 27., 29., 31.**, sugerindo-se de que haja uma maior preferência e uma maior dependência padrão do

mesmo por parte dos tecidos. Porém, houve exceções. No HPA, teve-se o MOB4 com uma maior abundância no Adrenal Gland, Cerebral Cortex e no Heart Muscle. O MOB2 com maior abundância num total de 13 tecidos: Skin, Smooth Muscle, Fallopian Tube, Prostate, Seminal Vesicle, Parathyroid Gland, Esophagus, Epididymis, Cerebral Cortex, Heart muscle, Salivary Gland, e Skeletal Muscle. E, por fim, o MOB3C com mais abundância transcricional no Skeletal Muscle e no Pâncreas, **Figura 25**. A base de dados GTEx foi aquela que apresentou o MOB2 como o mais expresso que o MOB1A (~29,3%) no máximo de 28 tecidos. O MOB4 com mais abundância no Adrenal Gland, Cerebral Cortex e Hippocampus. MOB3B (que foi, no geral, o menos abundante e candidato a ser o mais estável) no Caudate e o MOB3A e 3C no Pâncreas, **Figura 27**. No FANTOM5, o MOB1B com mais abundância no Hippocampus, Caudate e Brain. O MOB3B no Caudate. E, o MOB4 mais expresso no Hippocampus, Caudate, Brain, Pituitary Gland, Cerebellum, Skeletal Muscle e Salivary Gland, **Figura 29**. Por fim, no TCGA, o MOB3A com mais abundância no tecido tumoral Prostate (~1,9%), **Figura 31**. Nestas exceções ao longo das bases de dados, suspeitou-se numa dependência específica e especializada nestes tecidos, embora que não se pode afirmar com toda a certeza, tendo-se o MOB1A sempre presente transcricionalmente.

A observação de um mob menos universal foi melhor na base de dados do FANTOM5, **Figura 29**., porque a mesma usufruiu-se de menos amostras por tecido e, conseqüentemente, interpretou-se melhor o peso da variável do número de amostras teciduais que influenciaram os valores transcricionais de cada mob concluindo-se que as amostras entre si foram independentes (heterogeneidade amostral) em comparação não só na mesma base de dados mas também com as restantes (HPA, GTEx). Portanto dentro desta temática, especulou-se que fosse o MOB2 o menos universal e o menos expresso em um menor número de tecidos porque foi o único mob que apresentou uma ausência transcricional no Thymus, Pituitary Gland e Pâncreas e níveis muito baixos nos restantes 33 tecidos, **Figura 29**. Nas restantes bases de dados o mesmo esteve sempre expresso, porém, teve-se a atenção de que a expressão transcricional não necessariamente equivaleria à expressão proteica.

Nos 17 casos tumorais registou-se a expressão do MOB1A que, novamente, dominou a expressão transcricional dos restantes mobs, **Figura 31**. Porém, houve a exceção mencionada anteriormente para o caso do MOB3A que o superou no tecido tumoral Prostate (~1,9%), **Figura 31**., suspeitando-se novamente de uma sensibilidade padrão para o MOB1A em todos os tecidos tumorais e uma especializada no tecido Prostate

envolvendo o MOB3A, embora que não se soube se estes dados foram uma causa ou uma consequência do estado tumoral. Em níveis de expressão mais baixos, teve-se o MOB3B que mesmo sendo de uma subfamília mob pouco conhecida, apresentou níveis que não justificassem uma grande dependência ou sensibilidade tanto para os tecidos do contexto normal como para os 17 tumores, **Figura 31**. Também não se soube estipular se houve realmente uma atividade compensatória para o mesmo e entre aqueles com diferenças percentuais de 0%: 3A/ 2 - Liver; 1B/ 3C - Pancreatic; 2/ 4 - Colorectal; 1B/ 2 - Testis; 3B/ 3C – Endometrial), **Tabela XI**.

Seguindo-se para os casos comparativos do tipo: HPA/GTEx/FANTOM5 vs TCGA, **Figuras 33., 34., 36.**, teve-se, no geral, descidas do caso HPA para TCGA, **ANEXO 22**. Porém, houveram exceções onde se observaram subidas percentuais nos tecidos tumoriais Liver, Pancreatic, Head and Neck, Stomach, Renal e Breast, **Tabela XII**. O pâncreas mesmo ter sido o tecido com a menor expressão dos sete mobs no contexto normal, apresentou mais subidas percentuais para o caso tumoral Pancreatic envolvendo quase todos os mobs excetuando o MOB3C que, no contexto normal, era o mais expresso, **Figura 33**. No caso GTEx vs TCGA, registou-se, no geral, uma maior dualidade no número de subidas e descidas para os sete mobs, **ANEXO 22.**, e dois casos de igual abundância transcricional Liver (MOB2) e Prostate (MOB1A). Novamente, foi o tecido Pancreatic que teve subidas percentuais mais acentuadas, excluindo novamente o MOB3C que desceu, **Tabela XIII**. E, por fim, o caso FANTOM5 vs TCGA, que apresentou descidas para a maioria dos mobs, contudo, houve a exceção do MOB2 que foi aquele que, no geral, teve mais subidas percentuais, porém, também apresentou descidas no Colorectal, Urothelial, Prostate e Cervical. Sumariando todos estes casos, não se soube determinar se haveria algum um tipo de compensação para um determinado mob com uma descida ou uma relação de causa ou consequência do estado tumoral.

Juntando estes dados transcricionais e do que se sabe dos mobs para a correlação com a proliferação celular, soube-se que como um todo estão correlacionados, porém, se apenas referindo-se ao tema de estudo da abundância transcricional seria bastante dúvida porque devido às questões mencionadas anteriormente que surgiram durante este estudo em particular, dificilmente, conseguiria-se criar um elo que estabelece-se os níveis de RNAm dos sete mobs com os processos de divisão celular porque os níveis de RNAm nem sempre se equiparam aos níveis da expressão proteica. Como exemplo, houve o estudo de **Song et al, 2018⁽⁸⁶⁾** que para além da ilustração da **Figura 11.**, mencionaram que mesmo com o knockdown do PTEN ter permitido o aumento da expressão proteica de

MOB1, não houve efeitos nos níveis de RNAm do mesmo. Portanto, em casos como estes, sugere-se que é sempre necessário acoplar os dados de RNAm com outros experimentos que o comprovem em diversas temáticas para além da proliferação celular.

Para os tecidos que seguiram a mesma ordem da expressão geral estipulada para as quatro fontes (HPA: Gallbladder, Cervix Uterine, Urinary Bladder e Stomach, **Figura 25.**, GTEx: Urinary Bladder, Vagina, Adipose tissue, Thyroid Gland, Salivary Gland, Stomach e Testis, **Figura 27.**, FANTOM5: Thyroid Gland e Testis, **Figura 29.**, TCGA: Thyroid Cancer, **Figura 31.**) e para aqueles salientados nos casos contextual normal versus tumoral (HPA vs TCGA: Glioma, Thyroid, Lung, Coloretal, Urothelial, Prostate, Testis, Cervical, Ovarian, Endometrial e Melanoma, **Figura 33.**, GTEx vs TCGA: nenhum, **Figura 34.**, FANTOM5 vs TCGA: Glioma, Thyroid, Lung, Liver, Head and Neck, Renal, Testis, Breast, Ovarian e Endometrial, **Figura 36.**), sugeriu-se que tiveram o potencial de serem, em média, os de maior peso estatístico e estáveis por padrão comparativamente com os restantes tecidos, que apresentaram flutuações entre as 21 comparações, e, dentro dos parâmetros contextuais, porém, não se pôde afirmar-se ao certo por causa da instabilidade do RNAm que com outros estudos posteriores pode indicar outros tecidos. A dependência celular e a sensibilidade tumoral para um determinado mob apesar de ter demonstrado, no geral, uma certa evidência de tal na expressão transcricional dos mesmos, dão a ideia de ser provisórios e imprevisíveis onde apenas supõe-se e não se assume. Casos de tecidos como, por exemplo, o pâncreas que mesmo em baixa expressão no contexto normal, ter apresentado uma subida dos sete mobs no caso tumoral (pancreatic cancer, HPA e GTEx vs TCGA). O gene MOB2 que apresentou, nos contextos tumorais FANTOM5 vs TCGA, no geral, uma subida em quase todos os 17 casos e, no GTEx, ter tido a maior expressão transcricional geral em grande maioria dos tecidos mesmo ter-se suposto que fosse novamente o MOB1A. Continuando com o GTEx que recorre a amostras post mortem e pondo em standby a variabilidade do RNAm, os dados da alta expressão do MOB2 em grande maioria dos tecidos terem realmente refletido uma consequência deste estado tecidual, podendo-se estipular que possa ser um gene que produza transcritos com características peculiares conferindo-lhes uma maior prioridade, estabilidade e então associado a um PMI? Tal questão é debatível. **Zhu et al, 2017⁽²⁷⁾** postularam de que existe um grande background genético onde, indiretamente, sugeriram que para além da inclusão dos genes mobs, particularmente do MOB2, outros mais que poderiam influenciar o estado post mortem. Ora tais mecanismos ainda se encontram inexplicáveis incluindo aquele da degradação do RNAm que não foi considerado uma via

totalmente normal e nem randômica que muito provavelmente dependa não só do tipo de tecido em questão⁽²⁷⁾ mas também de outros fatores já conhecidos que comprometem a qualidade do RNAm. Ora esses foram referidos por **Stan et al, 2006**⁽²⁶⁾ que mencionaram que as coletas de tecidos humanos são colhidas naturalisticamente e sujeitas a duas condições intituladas de pré e post morte que foram, desde sempre, afetadas não só por um atraso devido à imposição de burocracias éticas e legais que alargam o tempo de óbito do indivíduo comprometendo a qualidade dos tecidos no momento da recolha e, conseqüentemente, os resultados da expressão gênica, mas também por outros fatores como hipoxia, coma, pH, histórico de saúde do indivíduo, polimorfismo do mesmo e hiperpirexia no tempo da morte que têm sido temas de estudo como marcadores de qualidade nos tecidos⁽²⁶⁾. Em suma, apostou-se que os resultados deste projeto apontaram para uma expressão transcricional contextual única de cada gene mob, particularmente do MOB2, ao logo dos tecidos do que uma projeção dos fatores mencionados anteriormente que degradam o estado post morte.

As quatro bases de dados, HPA, GTEx, FANTOM5 e TCGA, tiveram o propósito de apresentar dados da expressão transcricional atualizados de amostras frescas (HPA, FANTOM5, TCGA) e post morte (GTEx) usufruindo-se de quatro unidades designadas por TPM, RPKM, TagsPM e FPKM, **Figura 19.**, que se distinguem por trocas nos passos matemáticos de normalização, **Josh Starmer, 2015**^(10.2: 34), prometendo-se, entre elas, uma melhor otimização contabilística dos transcritos (ver **ABREVIATURAS, SIGLAS E DEFINIÇÕES, Designações**). Porém, apesar destas otimizações, teve-se a curiosidade de saber se estas unidades das três bases de dados do contexto normal (HPA, GTEx, FANTOM5) expressariam entre elas o mesmo padrão de expressão transcricional dos sete mobs nos diferentes tecidos para facilitar não só a escolha como também sugerir-se aquela com os melhores arredondamentos. Apesar de ter-se ficado sem resposta a esta questão pelo facto de outras variáveis ilustradas na **Figura 17.**, conseguiu-se ter uma ideia da autenticidade das posições dos tecidos nas suas categorias de maior, média e baixa expressão, **Tabelas IV. – X.**, concluindo-se que o MOB3B foi o mob com uma expressão transcricional mais autêntica entre as três bases de dados do contexto normal e o MOB4 o mais discrepante. Ora voltando-se ao tema da questão não respondida e saber-se do impacto das unidades em termos de linguagem matemática versus biológica encontra-se debatível até aos dias de hoje e, portanto, estiveram ilustradas como uma variável na **Figura 17.** Autores como **Lior Pachter, 2013**^(10.2: 35) discutiram o risco de muitos trabalhos publicados de RNA-seq terem recorrido a estas unidades assim como neste

projeto devido às trocas dos passos matemáticos mencionados anteriormente e à inexistência de controles para os algoritmos que executam estes passos. Portanto, uma solução para minimizar-se um pouco estes riscos, as bases de dados e experiências de RNA-seq poderiam pelo menos chegar a uma unanimidade na escolha de apenas uma unidade para os dados, permitindo-se uma uniformidade métrica na comparação do contexto normal com o tumoral apesar de não se eliminar outras variáveis intrínsecas de uma escolhida como o da concreta proveniência de determinados reads. Contudo, cabe-se mais aos matemáticos da biologia computacional melhorar as existentes ou formular novas funções.

O número de amostras por tecido foi também uma variável a se considerar quando se comparou a expressão dos mobs dentro de um tecido da mesma base de dados. Uma solução para possivelmente melhor compreender-se o peso da mesma, poder-se-ia ter selecionado o mesmo número de amostras em todos os tecidos, calcular-se as médias do número de amostras selecionadas para cada tecido, calcular-se as médias gerais da expressão de cada mob nos diferentes tecidos e, finalmente, calcular-se as diferenças percentuais de cada comparação mesmo havendo o senão da variabilidade do RNAm.

Embora a descrição dos resultados, resume-se que houve sempre dúvidas na dependência, sensibilidade celular, nas variáveis mencionadas anteriormente e nas escolhas seletivas de determinados mobs em tecidos particulares onde a variabilidade do RNAm demonstrou-se ser o principal “Gatekeeper” das interpretações com bastante relatividade e com uma certa pouca utilidade entre as quatro bases de dados que infelizmente não puderam ser corroboradas com os dados da expressão proteica.

8.2. Quanto aos interatuantes dos sete mobs

Com o *STRING v10.5*, realçaram-se os networks dos sete mobs de humanos compilando todos os dados representados por scores de cada um dos 8 canais de evidências [(**Textmining**: o quão frequente uma determinada proteína ou gene é citada(o) em vários artigos; de **Experimentos**: afinidade, two-hybrid, pull-down (o quão frequente duas proteínas estão juntas versus o quão frequente são detetadas sozinhas no experimento), **Mering et al, 2005**⁽²²⁾, de **Co expressão**: expressão similar dos parceiros no mesmo ou em organismos diferentes irão receber um score de associação alto; de **Coocorrência filogenética**: presença do gene query e dos genes alvo em vários organismos; de **Neighborhood**: distância intergênica entre os genes query e o alvo; de **Gene Fusion**:

proximidade entre o meu gene query e o gene alvo com a probabilidade de produzir um polipéptido combinado; de **Homologia**: semelhança entre duas sequências polipeptídicas; e de outras bases de dados (**Databases**): KEGG; eggNOG; SwissProt, etc)]^(21, 22) e de cada um das 16 metodologias, **Figura 22.**, resumindo-os cumulativamente num score combinado. Ora essa pontuação final pode ter proveniência de um dos cálculos aplicados pelo STRING em que um deles se encontram esquematizados no **ANEXO 27**, (**Mering et al, 2005**⁽²²⁾, **Franceschini et al, 2013**⁽²¹⁾).

Devido a questões mencionadas por **Szklarczyk et al. (2016)**⁽²³⁾ de que os networks se configuram constantemente com atualizações da base de dados e sobrecarga de informações interligadas e provindas de muitos estudos realizados, a revisão dos dados tornou-se semanal, isto é, uma vez por semana. Dado-se o tempo necessário para que tais alterações fossem realizadas, observaram-se os pares que foram classificados como significativos (mais favoráveis) e pouco significativos (menos favoráveis) como forma de distinguir as legitimidades factuais e importantes daquelas que merecem considerações, **Figura 18.** e, ao mesmo tempo, interpretar-se que os mobs para além de terem uma maior apetência interativa para aqueles, tipicamente, na classe de protein binding, cinase/transferase, fosfatases, reguladores, reguladores transcricionais e de subunidades regulatórias, ancoramento (scaffold), gap protein, chaperonas e hidrolases, maioritariamente, na categoria da supressão tumoral, viu-se também que o MOB1A foi, no geral, o gene com a maior proporção de parceiros associativos sendo então o mais multifuncional e requisitado em mais vias celulares partilhando grande maioria dos mesmos com o MOB1B e em segundo com o MOB2, suspeitando-se de uma dualidade funcional ou algum tipo de compensação. Também saber se de facto o MOB1A tem estas características por ser o mais conhecido de todos os mobs ainda se encontra debatível porque existem outros da família que merecem também atenção e cuidados.

Observou-se também a possibilidade de uma associação entre mobs como o MOB1A - MOB1B onde com o método de *Anti Tag Coimmunoprecipitation* postularam que formariam um complexo, **Tabela XV.**, porém, saber-se ao certo de como interagiram as estruturas tridimensionalmente e quais foram os domínios envolvidos não se mencionou e muito menos se especificou, portanto, necessitar-se-á de mais estudos.

Para o subtipo MOB3A/3B/3C viu-se, assim como entre o MOB1A e o MOB1B, que partilharam mais elementos entre si do que com outros subtipos também se sugerindo que tivessem uma dualidade funcional ou algum tipo de compensação ainda por se descobrir.

Por fim, o MOB4 foi o único dos mobs, que apesar de ter apresentado mais elementos associativos que o subtipo MOB3A/3B/3C, compartilhou menos parceiros interativos com os mobs em geral e que, portanto, discute-se a questão de o mesmo poder realizar funções diferentes no mesmo organismo, porém, não se ignoraram os números baixos de alvos em comum, suspeitando-se também de alguma compensação.

8.3. Limitações dos estudos

Com os objetivos propostos, houve, obviamente, limitações práticas a se considerar quanto à natureza das bases de dados, ao tempo, às variáveis em jogo e às incertezas interpretativas dos valores obtidos. Primeiramente, olhar-se apenas para as percentagens de identidade não nos permitiu saber, quantitativamente e em concreto, o valor da diferença percentual de viragem que nos indicasse se estávamos perante uma especialização numa determinada comparação na mesma ou em diferentes grupos taxonómicos. Seguidamente, na expressão transcricional, não se teve acesso às contagens realizadas dos reads/fragments/tags contabilizados e dos arredondamentos para as quatro métricas usadas. Continuando, os dados do RNAm obtidos não puderam ser corroborados com os valores de expressão proteica dos sete genes mob de humanos devido ao alto grau de identidade das sequências de a.a. entre os mesmos tendo-se a necessidade de encontrar-se a.a. mais representativos nos domínios de cada proteína mob para melhor distingui-los por anticorpos. No mesmo tema, o facto de não saber-se destacar uma dependência ou uma sensibilidade tecidual em concreto nos contextos normais e tumorais devido à natureza da variabilidade do RNAm assim como a autenticidade da expressão transcricional dos sete mobs nas três bases de dados não nos indicar, em concreto, a variável em jogo com maior peso, **Figura 17.**, embora que se especulou que foram todas que interferiram nos resultados.

No *STRING v10.5*, para além da especulação de pares formados entre os mesmos mobs e o da importância dada ao valor do score combinado atribuído a cada associação de elementos que aparenta ter-se uma relatividade matemática, teve-se também o problema de existirem elementos interativos que adotaram diversas categorias tumorais (oncogenes, drivers, apoptóticos) duvidando-se do significado funcional dos mob como supressores tumorais, isto é, a finalidade da interação mob quando viram-se os casos como um todo, especialmente com os oncogenes onde não se discerniu duas possibilidades: haver-se mesmo uma repressão da atividade do mesmo pela proteína mob em questão ou ter-se um

efeito de potencialização do oncogene num estado celular já comprometido. Apela-se então a uma análise detalhada destas parcerias listadas na **Tabela XV**. Por fim, o tempo para atualizar-se os dados das duas fontes (*HPA* e *STRING v10.5*) não ter sido suficiente para estar-se a par de novos resultados, porém, compreendeu-se e justificou-se para o tempo do projeto, logo, para os que seguirem os objetivos deste trabalho, necessitam-se de mais dados atualizados porque também se especulou que as bases de dados vão-se aprimorando a um bom ritmo ao longo do tempo.

9. PERSPETIVAS FUTURAS

Os objetivos triviais e lembrados, no capítulo **8. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES**, claramente iriam englobar a ideia de procurar mais diferenças a delinear entre os sete mobs por outras fontes e experimentos que requerem sempre um tempo de investigação. Como tal teve-se, desde o início, questões pendentes que foram do conhecimento e unânimes na equipa de trabalho que compareci. Primeiramente, uma delas seria, obviamente, a procura de mais artigos e de outras fontes didáticas que respeitariam os sete mobs deste estudo pelo *PubMed* ou por outro motor de pesquisa académico. Seguidamente e proferida pelos meus superiores, as diferenças na morfologia celular e tempos de resposta das mesmas de diferentes linhagens celulares (por exemplo: células Hela vs estirpes transformadas de células ganglionares da retina) quando se manipulam os mobs como forma de poder-se corroborar com os níveis transcricionais e/ou proteicos dos mesmos nestas células modelo e na procura de especificidades funcionais. Terceiramente, a mais desejada, as diferenças em número e em igualdade dos fatores transcricionais perto da região promotora de cada mob pela técnica do Chip-Seq. Aplicabilidade de uma outra técnica que é a CRISPr/Cas9 para com outros genes mob para se reportarem outras diferenças fenotípicas distinguíveis de MOB1A e de MOB1B. Monitorização dos diferentes tráfegos celulares por GFP de outras proteínas mob. A procura de domínios proteicos mais representativos de cada Mob para melhor distingui-los na expressão proteica. E, pesquisar-se doenças de carácter hereditário que incluem as proteínas mob (mendelianas ou poligénicas) na base de dados OMIM. Agora as questões consequentes deste estudo, seguem-se no ato de fazer-se uma atualização da expressão transcricional e dos parceiros interativos dos mobs no mesmo organismo pesquisando-se melhor a possibilidade do *STRING* apresentar associações de dímeros homo e hétero

entre os sete mobs pesquisados, **Tabela XV.**, assim como identificarem-se novos alvos associativos em outros organismos modelo e melhorar-se a categorização das proteínas mob na tumorigênese quando na interatividade com outros alvos. Verificarem-se os Kaplan-Meyers dos sete mobs de humanos no *HPA* para atestar a taxa de sobrevivência nos dois sexos nos 17 contextos tumorais aí apresentados. E encerrando, este subcapítulo, com o ato de comparar-se a identidade dos mobs dos organismos modelo entre o mesmo grupo taxonómico eucarionte (Artrópodes, Plantae, Fungi, Protista) como forma de identificar-se uma evolução convergente ou divergente dentro desse mesmo grupo.

10. BIBLIOGRAFIA

10.1. Referências

1. Tavares *et al.* (2011). “Mob1 : defining cell polarity for proper cell division.” *Journal Of Cell Science* 125: 516–527.
2. Florindo *et al.* (2012). “Human Mob1 proteins are required for cytokinesis by controlling microtubule stability.” *Journal of Cell Science* 125: 3085–3090.
3. Hergovich. (2012). “MOB Control: Reviewing a Conserved Family of Kinase Regulators”. *UKPMC Funders Group UKPMC Funders Group Author Manuscript* 23(9): 1433–1440.
4. Bray, Nicolas L, Harold Pimentel, Páll Melsted e Lior Pachter. (2016). “Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification”. *Brief Communications*. 34(5): 4–8.
5. Kulaberoglu, Yavuz *et al.* (2017). “Stable MOB1 Interaction with Hippo/MST Is Not Essential for Development and Tissue Growth Control.” *Nature Communications* 8: 695 |DOI: 10.1038/s41467-017-00795-y.
6. Ye, Nikolaidis, Nei e Lai. (2009). “Evolution of the Mob Gene Family.” *The Open Cell Signalling Journal* 1(814): 1–11.
7. Ramkumar, Nitya, e Buzz Baum. (2016). “Coupling Changes in Cell Shape to Chromosome Segregation.” *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 17(8): 511–521.
8. Stavridi, Elena S. *et al.* (2003). “Crystal Structure of a Human Mob1 Protein: Toward Understanding Mob-Regulated Cell Cycle Pathways.” *Structure* 11(9): 1163–1170.
9. Francis C. Luca *et al.* (2001). “Saccharomyces Cerevisiae Mob1p Is Required for Cytokinesis and Mitotic Exit.” *Molecular and Cellular Biology* 21: 6972–6983.

10. Chan *et al.* (2011). “The Hippo Pathway in Biological Control and Cancer Development.” *Journal of Cellular Physiology* 226(4): 928–939.
11. Salimova, E, M Sohrman, N Fournier, e V Simanis. (2000). “The *S. Pombe* Orthologue of the *S. Cerevisiae* Mob1 Gene Is Essential and Functions in Signaling the Onset of Septum Formation.” *J. of Cell Science* 113: 1695–1704.
12. Frenz, L M, S E Lee, D Fesquet, e L H Johnston. (2000). “The Budding Yeast Dbf2 Protein Kinase Localises to the Centrosome and Moves to the Bud Neck in Late Mitosis.” *J Cell Sci* 113 Pt 19: 3399–3408.
13. Sasaki, Hidefumi *et al.* (2007). “Human MOB1 Expression in Non-Small-Cell Lung Cancer.” *Clinical Lung Cancer* 8(4): 273–276.
14. Zeng, Qi e Wanjin Hong. (2008). “The Emerging Role of the Hippo Pathway in Cell Contact Inhibition, Organ Size Control, and Cancer Development in Mammals.” *Cancer Cell* 13(3): 188–192.
15. Nishio, Miki *et al.* (2016). “Dysregulated YAP1/TAZ and TGF- β Signaling Mediate Hepatocarcinogenesis in *Mob1a/1b* -Deficient Mice.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113(1): E71–80.
16. McCollum, Dannel e Kathleen L. Gould. (2001). “Timing Is Everything: Regulation of Mitotic Exit and Cytokinesis by the MEN and SIN.” *Trends in Cell Biology* 11(2): 89–95.
17. Otsubo, K. *et al.* (2017). “MOB1-YAP1/TAZ-NKX2.1 axis controls bronchioalveolar cell differentiation, adhesion and tumour formation.” *Oncogene* 36(29): 4201–4211.
18. Nishio, Miki *et al.* (2012). “Cancer Susceptibility and Embryonic Lethality in *Mob1a / 1b* Double-Mutant Mice.” *The Journal of Clinical Investigation* 122: 4505–4518.

19. Ho, Li Lun, Xiaomu Wei, Takeshi Shimizu e Zhi Chun Lai. (2010). “Mob as Tumor Suppressor Is Activated at the Cell Membrane to Control Tissue Growth and Organ Size in *Drosophila*.” *Developmental Biology* 337(2): 274–283.
20. Baro, Bàrbara, Ethel Queralt e Fernando Monje-Casas. (2017). “The Mitotic Exit Network, Methods and Protocols”. *Methods in Molecular Biology* 1505. ISBN 978-1-4939-6500-7. DOI 10.1007/978-1-4939-6502-1.
21. Franceschini *et al.* (2013). “STRING v9.1: Protein-Protein Interaction Networks, with Increased Coverage and Integration.” *Nucleic Acids Research* 41(D1): 808–815.
22. Mering *et al.* (2005). “STRING: Known and Predicted Protein-Protein Associations, Integrated and Transferred across Organisms.” *Nucleic Acids Research* 33 (DATABASE ISSUE): 433–437.
23. Szklarczyk *et al.* (2016). “The STRING database in 2017: quality-controlled protein–protein association networks, made broadly accessible.” *Nucleic Acids Research* 45 (DATABASE ISSUE.): D362–D368.
24. Hotz, Manuel e Yves Barral. (2014). “The Mitotic Exit Network: New Turns on Old Pathways.” *Trends in Cell Biology* 24(3): 145–152.
25. Takahashi *et al.* (2012). “5′ end–centered expression profiling using cap-analysis gene expression and next-generation sequencing.” *Nature Protocols* 7(3): 543.
26. Stan *et al.* (2006). “Human Postmortem Tissue: What Quality Markers Matter?” *Brain Research* 1123(1): 1–11.
27. Zhu *et al.* (2017). “Systematic analysis of gene expression patterns associated with postmortem interval in human tissues”. *Scientific Reports* 7: 5435 | DOI:10.1038/s41598-017-05882-0.

28. Szklarczyk *et al.* (2014). “STRING v10: protein-protein interaction networks integrated over the tree of life”. *Nucleic Acids Research* 43: D447-D452 | DOI: 10.1093/nar/gku1003.
29. Vitulo *et al.* (2007). “Characterization and Evolution of the Cell Cycle Associated Mob Domain-Containing Proteins in Eukaryotes”. *Evolutionary Bioinformatics* 2007: 3 121–158.
30. Wang, Yu e Yu. (2017). “The Hippo pathway in tissue homeostasis and regeneration”. *Protein Cell* 2017, 8(5):349-359. DOI 10.1007/s13238-017-0371-0.
31. Zygulska *et al.* (2017). “HIPPO PATHWAY – BRIEF OVERVIEW OF ITS RELEVANCE IN CANCER”. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2017, 68, 3, 311-335.
32. Lai *et al.* (2005). “Control of Cell Proliferation and Apoptosis by Mob as Tumor Suppressor, Mats”. *Cell*, Vol. 120, 675-685. DOI 10.1016/.cell.2004.12.036.
33. Hergovich *et al.* (2006). “The human tumor suppressor LATS1 is activated by human MOB1 at the membrane.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 345 (2006) 50-58.
34. Mrkobrada *et al.* (2006). “Structural and Functional Analysis of *Saccharomyces cerevisiae* Mob1”. *Journal of Molecular Biology* (2006) 362, 430-440.
35. Yang *et al.* (2008). “Both upstream and downstream intergenic regions are critical for the *mob as tumor suppressor* gene activity in *Drosophila*”. *FEBS Letters* 582, 1766-1770.
36. Hergovich *et al.* (2009). “The MST1 and hMOB1 Tumor Suppressors Control human Centrosome Duplication by Regulating NDR Kinase Phosphorylation”. *Current Biology* 19, 1692-1702. |DOI 10.1016/j.cub.2009.09.020.

37. Lee *et al.* (2001). "Order of function of the budding-yeast mitotic exit-network proteins Tem1, Cdc15, Mob1, Dbf2, and Cdc5". *Current Biology* 11:784-788.
38. Meitinger *et al.* (2010). "Phosphorylation-dependent regulation of the F-Bar protein Holf1 during cytokinesis". *GENES & DEVELOPMENT* 25: 875-888.
39. Ni *et al.* (2015). "Structural basis for Mob1-dependent activation of the core Mst-Lats Kinase cascade in Hippo signaling". *GENES & DEVELOPMENT* 29: 1416-1431.
40. Yoshida e Toh-e. (2001). "Regulation of the localization of Dbf2 and Mob1 during cell division of *Saccharomyces cerevisiae*". *Genes Genet. Syst.* 76: 141-147.
41. Bao *et al.* (2009). "Roles of mammalian sterile 20-like kinase 2-dependent phosphorylation's of Mps onde binder 1B in the activation of nuclear Dbf2-related kinases". *Genes to Cells* 14: 1369-1381.
42. Weiss *et al.* (2002). "The *Saccharomyces cerevisiae* Mob2p-Cdk1p kinase complex promotes polarized growth and acts with the mitotic exit network to facilitate daughter cell-specific localization of Ace2p transcription factor". *The Journal of Cell Biolology*, Vol 158 (5): 885-900.
43. Mohl *et al.* (2009). "Dbf2-Mob1 drives relocalization of protein phosphatase Cdc14 to the cytoplasm during exit from mitosis". *The Journal of Cell Biology* Vol 184 (4): 527-539.
44. Trammell *et al.* (2008). "Mob4 plays a role in spindle focusing in *Drosophila* S2 cells". *Journal of Cell Science* 121, 1284-1292. |DOI: 10.1242/jcs.017210.
45. Moreno *et al.* (2001). "A Mammalian Homologo f Yeast MOB1 Is Both a Member and a Putative Substrate of Striatin Family-Protein Phosphatase 2A Complexes". *The Journal of Biological Chemistry* Vol. 276(26): 24253-24260.

46. Bichsel *et al.* (2004). "Mechanism of Activation of NDR (nuclear Dbf2-related) Protein Kinase by the hMOB1 Protein". *The Journal of Biological Chemistry* Vol. 279(34): 35228-35235.
47. Yabuta *et al.* (2007). "Lats2 Is an Essential Mitotic Regulator Required for the Coordination of Cell Division". *The Journal of Biological Chemistry* Vol. 282(26): 19259-19271.
48. Liu *et al.* (2012). "Regulators of mammalian Hippo pathway in cancer". *Biochimica et Biophysica Acta* 1826, 357-364.
49. Mah *et al.* (2005). "Substrate specificity analysis of protein Kinase complex Dbf2-Mob1 by peptide library and proteome array screening". *BMC Biochemistry* 6: 22.
50. Bothos *et al.* (2005). "Human LATS1 Is a Mitotic Exit Network kinase". *Cancer Research* 65: (15) | DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0862.
51. Bae *et al.* (2018). "Depletion of MOB1A/B causes intestinal epithelial degeneration by suppressing Wnt activity and activating BMP/TGF- β signaling". *Cell Death and Disease* 9: 1083 | DOI 10.1038/s41419-018-1138-0.
52. Hong *et al.* (2018). "Role of Hippo signaling in regulating immunity". *Cellular & Molecular Immunology* | DOI:10.1038/s41423-018-0007-1.
53. Goto *et al.* (2018). "Loss of Mob1a/b in mice results in chondrodysplasia due to YAP1/TAZ-TEAD-dependent repression of SOX9". *The Company of Biologists* 145, dev159244 | DOI:10.1242/dev.159244.
54. Wilmeth *et al.* (2010). "Mutual Dependence of Mob1 and the Chromosomal Passenger Complex for Localization during Mitosis". *Molecular Biology of the Cell* Vol. 21, 380–392 | DOI: 10.1091/mbc.e09-06-0471.
55. Gundogdu e Hergovich. (2017). "The Possible Crosstalk of MOB2 With NDR1/2 Kinases in Cell Cycle and DNA Damage Signaling". *Journal of Cell Signal* 6; 1:125.

56. Liu *et al.* (2009). “Function of *Drosophila* mob2 in photoreceptor morphogenesis”. *Cell Tissue Res* 338: 377-389. | DOI 10.1007/s00441-009-0878-7.
57. Vichalkovski *et al.* (2008). “NDR Kinase Is Activated by RASSF1A/MST1 in Response to Fas Receptor Stimulation and Promotes Apoptosis.” *Current Biology* Vol 18 (23): 1889-1895.
58. Colombani *et al.* (2006). “Dmp53 Activates the hippo pathway to promote Cell death in Response to DNA Damage”. *Current Biology* Vol 16: 1453-1458.
59. Praskova *et al.* (2008). “MOBKL1A/MOBKL1B Phosphorylation by MST1 and MST2 Inhibits Cell Proliferation”. *Current Biology* Vol 18: 311-321.
60. Tang *et al.* (2014). “hMOB3 modulates MST1 apoptotic signaling and supports tumor growth in glioblastoma multiforme”. *Cancer Res* 74(14): 3779–3789 | DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3430.
61. Avruch *et al.* (2012). “Protein kinases of the Hippo pathway: Regulation and substrates”. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 23, 770–784.
62. Sharif e Hergovich. (2017). “The NDR/LATS protein kinases in immunology and cancer biology”. *Seminars in Cancer Biology*, 48, 104-114 | DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.04.010.
63. Chow, Hao e Yang. (2009). “Molecular characterization of human homologs of yeast MOB1”. *International Journal of Cancer* 126, 2079–2089. | DOI: 10.1002/ijc.24878.
64. Couzens *et al.* (2017). “MOB1 Mediated Phospho-recognition in the Core Mammalian Hippo Pathway”. *Molecular & Cellular Proteomics* 16(6): 1098–1110.

65. Kohler *et al.* (2010). “Differential NDR/LATS Interactions with the Human MOB Family Reveal a Negative Role for Human MOB2 in the Regulation of Human NDR Kinases“. *Molecular and Cellular Biology* 30 (18), 4507–4520.
66. Hammarton *et al.* (2005). “Trypanosoma brucei MOB1 is required for accurate and efficient cytokinesis but not for exit from mitosis”. *Molecular Microbiology* 56(1): 104–116. | DOI:10.1111/j.1365-2958.2005.04542.x.
67. Lignitto *et al.* (2013). “Proteolysis of MOB1 by the ubiquitin ligase praja2 attenuates Hippo signalling and supports glioblastoma growth”. *Nature Communications* 4: 1822. | DOI: 10.1038/ncomms2791.
68. Hergovich *et al.* (2006). “NDR kinases regulate essential cell processes from yeast to humans”. *Nature Reviews (Molecular Cell Biology)*, Vol 7: 253-264.
69. Kim *et al.* (2016). “Structural basis for autoinhibition and its relief of MOB1 in the Hippo pathway”. *Scientific Reports* 6:28488. | DOI: 10.1038/srep28488.
70. Fang e Adler. (2010). “Regulation of cell shape, wing hair initiation and the actin cytoskeleton by Trc/Fry and Wts/Mats complexes”. *Development Biology* 341(2): 360–374. | DOI: 10.1016/j.ydbio.2010.02.029.
71. Hirabayashi *et al.* (2008). “Threonine 74 of MOB1 is a putative key phosphorylation site by MST2 to form the scaffold to activate nuclear Dbf2-related kinase 1”. *Oncogene* 27, 4281–4292.
72. Cui *et al.* (2016). “NCP1/AtMOB1A Plays Key Roles in Auxin-Mediated Arabidopsis Development”. *PLOS Genetics* 12(3): e1005923. | DOI: 10.1371/journal.pgen.1005923.
73. Zheng *et al.* (2017). “Homeostatic Control of Hpo/MST Kinase Activity through Autophosphorylation-Dependent Recruitment of the STRIPAK PP2A Phosphatase Complex”. *Cell Reports* 21, 3612–3623.

74. Shimizu *et al.* (2008). “The mob as tumor suppressor Gene Is Essential for Early Development and Regulates Tissue Growth in *Drosophila*”. *Genetics* 178: 957–965. | DOI: 10.1534/genetics.107.081570.
75. Lahoz *et al.* (2010). “Antagonistic Roles of PP2A-Pab1 and Etd1 in the Control of Cytokinesis in Fission Yeast”. *Genetics* 186: 1261–1270. | DOI: 10.1534/genetics.110.121368.
76. Yuan *et al.* (2009). “The mob as tumor suppressor (mats1) gene is required for growth control in developing zebrafish embryos”. *The International Journal of Developmental Biology* 53: 525-533. | DOI: 10.1387/ijdb.082720yy.
77. Xiong *et al.* (2017). “Regulation of protein interactions by MOB1 phosphorylation”. *Molecular & Cellular Proteomics* 16 (6) 1111-1125. | DOI: 10.1074/mcp.M117.068130.
78. Chen *et al.* (2018). “The MST4–MOB4 complex disrupts the MST1–MOB1 complex in the Hippo–YAP pathway and plays a pro-oncogenic role in pancreatic cancer”. *Journal of Biological Chemistry*, 293, 14455-14469. | DOI: 10.1074/jbc.RA118.003279.
79. Cornils *et al.* (2011). “Downstream of human NDR kinases Impacting c-myc and p21 protein stability to control cell cycle progression”. *Cell Cycle* 10:12, 1897-1904. | DOI: 10.4161/cc.10.12.15826.
80. Bae e Luo. (2018). “Activation mechanisms of the Hippo kinase signaling cascade”. *Bioscience Reports* 38 (4). | DOI: 10.1042/BSR20171469.
81. Hwang e Pallas. (2014). “STRIPAK complexes: Structure, biological function, and involvement in human diseases”. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 47 (2014) 118– 148.

82. Maerz *et al.* (2012). “Hydrophobic Motif Phosphorylation Coordinates Activity and Polar Localization of the *Neurospora crassa* Nuclear Dbf2-Related Kinase COT1”. *Molecular and Cellular Biology* 32 (11) 2083–2098.
83. Bloemendal *et al.* (2012). “A homologue of the human STRIPAK complex controls sexual development in fungi”. *Molecular Microbiology* 84 (2), 310–323.
84. Fa-Xing Yu, Bin Zhao e Kun-Liang Guan. (2015). “Hippo Pathway in Organ Size Control, Tissue Homeostasis, and Cancer”. *The Journal of Cell* 163 issue 4, 811-828.
85. Ilaria Scarfone e Simonetta Piatti. (2015). “Coupling spindle position with mitotic exit in budding yeast: The multifaceted role of the small GTPase Tem1”. *Small GTPases* 6 (4), 196–201.
86. Song *et al.* (2018). “PTEN–GSK3 β –MOB1 axis controls neurite outgrowth in vitro and in vivo.” *Cellular and Molecular Life Sciences* Vol 75, Issue 23, pp 4445-4464.
87. Zhang *et al.* (2018) “Monopolar spindle-one-binder protein 2 regulates the activity of large tumor suppressor/yes-associated protein to inhibit the motility of SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cells.” *Oncology Letters* 15: 5375-5383.
88. Kim *et al.* (2015). “Lower Levels of Human MOB3B Are Associated with Prostate Cancer Susceptibility and Aggressive Clinicopathological Characteristics” *J Korean Med Sci* 30: 937-942.
89. Kaiser *et al.* (2002). “Disruption of Centrosome Structure, Chromosome Segregation, and Cytokinesis by Misexpression of Human Cdc14A Phosphatase”. *Molecular Biology of the Cell* 13 2289–2300.
90. Schulte *et al.* (2010). “DMob4/Phocein regulates synapse formation, axonal transport, and microtubule organization”. *J Neurosci* 30 (15) 5189-5203.

91. Gomez *et al.* (2015). “Regulation of DNA damage responses and cell cycle progression by hMOB2”. *Cellular Signalling* 27: 326–339.
92. Luca e Winey. (1998). “MOB1, an essential yeast gene required for completion of mitosis and maintenance of ploidy”. *Molecular Biology of the Cell* 9: 29–46.
93. Yabuta N. e Nojima H. (2013). “Hippo in Cell Cycle and Mitosis”. In: Oren M., Aylon Y. (eds) *The Hippo Signaling Pathway and Cancer* (Cap. 10, pp. 199-221). New York: *Springer*.
94. He *et al.* (2005). “Drosophila Mob Family Proteins Interact with the Related Tricornered (Trc) and Warts (Wts) Kinases”. *Molecular Biology of the Cell* Vol. 16, 4139–4152.
95. Yu *et al.* (2012). “Regulation of the Hippo-YAP Pathway by G-Protein-Coupled Receptor Signaling”. *Cell* Vol. 150: 780–791.
96. Kim *et al.* (2013). “cAMP/PKA signalling reinforces the LATS–YAP pathway to fully suppress YAP in response to actin cytoskeletal changes”. *The EMBO Journal* Vol. 32, 1543–1555.
97. Reddy e Irvine. (2013). “Regulation of Hippo Signaling by EGFR-MAPK Signaling through Ajuba Family Proteins”. *Developmental Cell* 24: 459–471.
98. O’Neill *et al.* (2018). “Mob2 Insufficiency Disrupts Neuronal Migration in the Developing Cortex”. *Front. Cell. Neurosci.* Vol. 12: 57.
99. Esteves. (2009). “Regulation of mitotic exit in higher eukaryotes: Drosophila mob genes”. Tese de mestrado, Biologia (Biologia Evolutiva e do Desenvolvimento), Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências. Portugal.
100. Sabine März. (2009). “Regulation of fungal polar tip extension through NDR kinase signalling”. Tese de Doutorado, Universidade de Gotinga, Faculdade de Matemática e Ciências Naturais. Alemanha.

101. Komarnitsky *et al.* (1998). “DBF2 Protein Kinase Binds to and Acts through the Cell Cycle-Regulated MOB1 Protein”. *Molecular and Cellular Biology* Vol. 18 (4): 2100–2107.
102. Goudreault *et al.* (2008). “A PP2A Phosphatase High Density Interaction Network Identifies a Novel Striatin-interacting Phosphatase and Kinase Complex Linked to the Cerebral Cavernous Malformation 3 (CCM3) Protein”. *Molecular & Cellular Proteomics* 8 (1): 157-171.
103. Devroe *et al.* (2004). “Human Mob Proteins Regulate the NDR1 and NDR2 Serine-Threonine Kinases”. *The Journal of Biological Chemistry* Vol. 279, (23): 24444–24451.
104. Ponchon *et al.* (2004). “NMR Solution Structure of Mob1, a Mitotic Exit Network Protein and its Interaction with an NDR Kinase Peptide”. *J. Mol. Biol.* 337, 167–182.
105. Citterio *et al.* (2006). “Alfalfa Mob1-like proteins are involved in cell proliferation and are localized in the cell division plane during cytokinesis”. *Experimental Cell Research* Vol. 312: 1050-1064.
106. Galla *et al.* (2011). “Sporophytic and gametophytic functions of the cell cycle-associated Mob1 gene in *Arabidopsis thaliana* L.”. *Gene* 484: 1-12.
107. Ma *et al.* (2010). “Nuclear DBF-2-related Kinases Are Essential Regulators of Cytokinesis in Bloodstream Stage *Trypanosoma brucei*”. *The Journal Of Biological Chemistry* Vol. 285 (20): 15356–15368.
108. König, Maekawa e Schiebel. (2010). “Mutual regulation of cyclin-dependent kinase and the mitotic exit network”. *Journal Of Cell Biology* Vol. 188 (3): 351-368.
109. Cortés e McCollum. (2009). “Proper timing of cytokinesis is regulated by *Schizosaccharomyces pombe* Etd1”. *Journal of Cell Biology* Vol. 218 (4): 739-753.

110. Gógl *et al.* (2015). “The Structure of an NDR/LATS Kinase–Mob Complex Reveals a Novel Kinase–Coactivator System and Substrate Docking Mechanism”. *PLOS Biology* 13(5): 1-32.

10.2. Páginas web

HPA

1. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000114978-MOB1A/tissue> [Accesado a 16/11/2017; 10:12];
2. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000173542-MOB1B/tissue> [Accesado a 16/11/2017; 10:18];
3. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000172081-MOB3A/tissue> [Accesado a 16/11/2017; 10:22];
4. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000120162-MOB3B/tissue> [Accesado a 16/11/2017; 10:34];
5. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000142961-MOB3C/tissue> [Accesado a 16/11/2017; 10:47];
6. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000182208-MOB2/tissue> [Accesado a 16/11/2017; 11:02];
7. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000115540-MOB4/tissue> [Accesado a 16/11/2017; 11:19];

STRING v10.5

8. <https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=P3QnVUiSNJ3X> [Accesado a 18/11/2017; 14:23];

9. <https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=isAppHby4mQP>
[Acessado a 18/11/2017; 14:41];
10. <https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=KxJgtfCwPqks>
[Acessado a 18/11/2017; 15:06];
11. <https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=qksF2765px3A>
[Acessado a 18/11/2017; 15:27];
12. <https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=AzIUBldnMaFn>
[Acessado a 18/11/2017; 15:50];
13. <https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=xbFXTYKUESy6>
[Acessado a 18/11/2017; 16:24];
14. <https://version-10-5.string-db.org/cgi/network.pl?networkId=NWKESU0JCJjo>
[Acessado a 18/11/2017; 16:43];

Bases de dados do contexto tumoral

15. <https://bioinfo.uth.edu/TSGene/> [Acessado a 12/6/2018; 9:02];
16. <http://www.binfo.ncku.edu.tw/TAG/GeneFinder.php> [Acessado a 20/6/2018; 13:47];
17. <http://ongene.bioinfo-minzhao.org/search.html> [Acessado a 21/6/2018; 12:03];
18. <http://bionlp.bcgsc.ca/cancermine/#tab-8293-1> [Acessado a 21/6/2018; 12:03];

Ensembl

19. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000114978;r=2:74152528-74178898 [Acessado a 17/11/2017; 10:38];

20.

https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000173542;r=4:70902326-71022449 [Acessado a 17/11/2017; 10:43];

21.

https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000172081;r=19:2071036-2096673 [Acessado a 17/11/2017; 10:57];

22.

https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000120162;r=9:27325209-27529814 [Acessado a 17/11/2017; 11:20];

23.

https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000142961;r=1:46607715-46616891 [Acessado a 17/11/2017; 11:26];

24.

https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000182208;r=11:1469457-1501247 [Acessado a 17/11/2017; 11:31];

25.

https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000115540;r=2:197515571-197553699 [Acessado a 17/11/2017; 11:43];

Imagens

26. <https://www.bartleby.com/107/illus2.html> [Acessado a 6/6/2018; 12:47];

Diversos/miscellaneous

27. <https://www.biostars.org/p/273537/> [Acessado a 6/6/2018; 11:23];

28. http://cyberbridge.mcb.harvard.edu/mitosis_4.html [Acessado a 6/6/2018; 12:34];

29. http://molbiol4masters.masters.grkraj.org/html/Cell_Cycle_And_Its_Regulation.htm [Acessado a 8/6/2018; 9:46];
30. https://galaxyproject.org/tutorials/rb_rnaseq/ [Acessado a 10/6/2018; 12:35];
31. <https://www.researchgate.net/> [Acessado a 6/6/2018; 11:28];
32. <https://www.youtube.com/watch?v=94wphB3GKBM> [Acessado a 10/6/2018; 14:23];
33. https://www.youtube.com/watch?v=O4bBZ_UOcK8 [Acessado a 19/6/2018; 11:12];
34. <https://www.youtube.com/watch?v=TTUrtCY2k-w> [Acessado a 19/6/2018; 14:23];
35. <https://www.youtube.com/watch?v=5NiFibnbE8o> [Acessado a 23/6/2018; 8:21].

11. ANEXOS

ANEXO 1. HPA. Posição dos tecidos em ordem decrescente de expressão e agrupados em grupos de alta, média e baixa expressão para os 7 genes mob.

HPA									
Grupos de Expressão	Posição do tecido	MOB1A	MOB1B	MOB3A	MOB3B	MOB3C	MOB2	MOB4	
High	1°	Lymph node	Kidney	Lymph Node	Ovary	Adipose Tissue	Smooth Muscle	Adrenal Gland	
	2°	Appendix	Parathyroid Gland	Appendix	Cerebral Cortex	Placenta	Seminal Vesicle	Esophagus	
	3°	Tonsil	Thyroid Gland	Spleen	Duodenum	Lung	Skin	Smooth Muscle	
	4°	Spleen	Cerebral Cortex	Tonsil	Small intestine	Seminal Vesicle	Esophagus	Placenta	
	5°	Smooth Muscle	Bone Marrow	Smooth Muscle	Endometrium	Parathyroid Gland	Fallopian Tube	Prostate	
Medium	6°	Endometrium	Prostate	Bone Marrow	Rectum	Spleen	Parathyroid Gland	Endometrium	
	7°	Lung	Lung	Lung	Fallopian Tube	Gallbladder	Prostate	Bone Marrow	
	8°	Bone marrow	Fallopian Tube	Adipose Tissue	Colon	Prostate	Endometrium	Parathyroid Gland	
	9°	Gallbladder	Lymph Node	Seminal Vesicle	Spleen	Cervix Uterine	Urinary Bladder	Thyroid Gland	
	10°	Thyroid Gland	Endometrium	Fallopian Tube	Lung	Fallopian Tube	Epididymis	Cerebral Cortex	
	11°	Cervix Uterine	Appendix	Endometrium	Cervix Uterine	Ovary	Gallbladder	Breast	
	12°	Fallopian Tube	Placenta	Urinary Bladder	Smooth Muscle	Smooth Muscle	Thyroid Gland	Gallbladder	
	13°	Urinary Bladder	Spleen	Gallbladder	Thyroid Gland	Endometrium	Rectum	Cervix Uterine	
	14°	Placenta	Cervix Uterine	Prostate	Kidney	Breast	Cervix Uterine	Urinary Bladder	
	15°	Kidney	Smooth Muscle	Cervix Uterine	Gallbladder	Urinary Bladder	Colon	Seminal Vesicle	
	16°	Prostate	Testis	Placenta	Breast	Epididymis	Placenta	Fallopian Tube	
	17°	Rectum	Gallbladder	Skin	Skin	Adrenal Gland	Lung	Epididymis	
	18°	Skin	Skin	Esophagus	Placenta	Appendix	Ovary	Lung	
	19°	Small intestine	Breast	Ovary	Epididymis	Thyroid Gland	Spleen	Ovary	
	20°	Esophagus	Adrenal Gland	Colon	Adipose tissue	Esophagus	Esophagus	Rectum	
	21°	Parathyroid Gland	Ovary	Cerebral Cortex	Testis	Lymph Node	Cerebral Cortex	Lymph Node	
	22°	Duodenum	Tonsil	Small Intestine	Appendix	Rectum	Breast	Heart Muscle	
	23°	Adipose Tissue	Esophagus	Parathyroid Gland	Stomach	Small Intestine	Lymph Node	Spleen	
	24°	Seminal Vesicle	Adipose Tissue	Rectum	Rectum	Duodenum	Heart Muscle	Tonsil	
	25°	Colon	Seminal Vesicle	Thyroid Gland	Lymph Node	Colon	Small Intestine	Skin	
	26°	Ovary	Stomach	Stomach	Stomach	Seminal Vesicle	Stomach	Adipose Tissue	
	27°	Breast	Urinary Bladder	Adrenal Gland	Esophagus	Kidney	Adrenal Gland	Colon	
	28°	Testis	Rectum	Testis	Urinary Bladder	Tonsil	Appendix	Appendix	
	29°	Adrenal Gland	Epididymis	Duodenum	Prostate	Skin	Kidney	Kidney	
	30°	Stomach	Small intestine	Breast	Adrenal Gland	Testis	Kidney	Small Intestine	
	31°	Epididymis	Colon	Epididymis	Salivary Gland	Pancreas	Duodenum	Testis	
	32°	Cerebral Cortex	Heart Muscle	Kidney	Skeletal Muscle	Skeletal Muscle	Stomach	Duodenum	
Low	33°	Heart Muscle	Duodenum	Salivary Gland	Parathyroid Gland	Cerebral Cortex	Salivary Gland	Stomach	
	34°	Liver	Salivary Gland	Heart Muscle	Liver	Heart Muscle	Skeletal Muscle	Skeletal Muscle	
	35°	Salivary Gland	Liver	Skeletal Muscle	Pancreas	Salivary Gland	Bone Marrow	Liver	
	36°	Skeletal Muscle	Skeletal Muscle	Liver	Heart Muscle	Liver	Liver	Salivary Gland	
	37°	Pancreas	Pancreas	Pancreas	Bone Marrow	Bone Marrow	Pancreas	Pancreas	

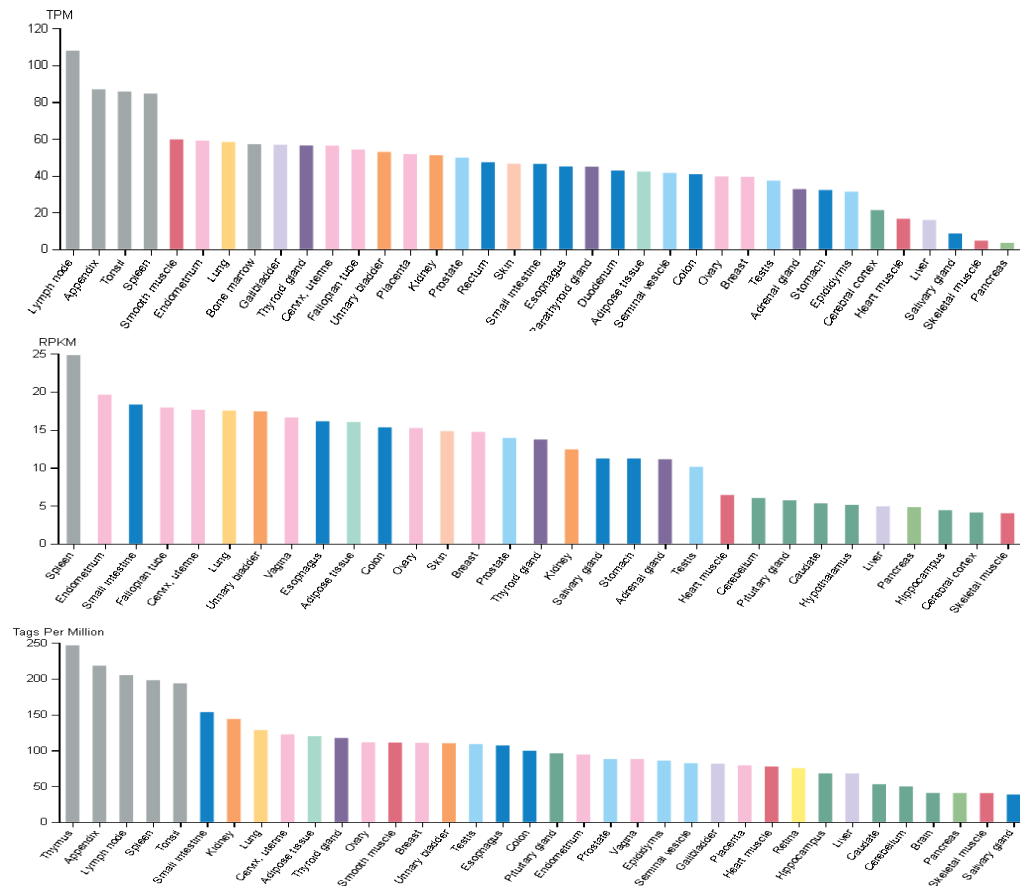
ANEXO 2. GTEx. Posição dos tecidos em ordem decrescente de expressão e agrupados em grupos de alta, média e baixa expressão para os 7 genes mob.

GTEx								
Grupos de Expressão	Posição do tecido	MOB1A	MOB1B	MOB3A	MOB3B	MOB3C	MOB2	MOB4
High	1°	Spleen	Lung	Spleen	Ovary	Pancreas	Colon	Adrenal Gland
	2°	Endometrium	Kidney	Fallopian Tube	Caudate	Spleen	Skin	Esophagus
	3°	Small Intestine	Hippocampus	Endometrium	Small Intestine	Prostate	Urinary Bladder	Fallopian Tube
	4°	Fallopian Tube	Ovary	Small Intestine	Cervix Uterine	Lung	Fallopian Tube	Endometrium
	5°	Cervix Uterine	Thyroid Gland	Colon	Endometrium	Ovary	Vagina	Vagina
Medium	6°	Lung	Endometrium	Cervix Uterine	Breast	Adipose Tissue	Cervix Uterine	Urinary Bladder
	7°	Urinary Bladder	Cervix Uterine	Prostate	Fallopian Tube	Pituitary Gland	Prostate	Cervix Uterine
	8°	Vagina	Urinary Bladder	Lung	Hippocampus	Vagina	Endometrium	Colon
	9°	Esophagus	Prostate	Urinary Bladder	Colon	Thyroid Gland	Breast	Breast
	10°	Adipose Tissue	Fallopian Tube	Vagina	Spleen	Cerebellum	Adipose Tissue	Skeletal Muscle
	11°	Colon	Salivary Gland	Adipose Tissue	Thyroid Gland	Urinary Bladder	Lung	Adipose Tissue
	12°	Ovary	Breast	Breast	Skin	Fallopian Tube	Small Intestine	Salivary Gland
	13°	Skin	Skin	Ovary	Vagina	Breast	Spleen	Cerebral Cortex
	14°	Breast	Vagina	Skin	Lung	Esophagus	Esophagus	Prostate
	15°	Prostate	Cerebral Cortex	Esophagus	Adipose Tissue	Colon	Stomach	Skin
	16°	Thyroid Gland	Colon	Stomach	Hypothalamus	Small Intestine	Cerebellum	Ovary
	17°	Kidney	Spleen	Thyroid Gland	Stomach	Cervix Uterine	Ovary	Thyroid Gland
	18°	Salivary Gland	Adipose Tissue	Kidney	Cerebellum	Stomach	Thyroid Gland	Hypothalamus
	19°	Stomach	Cerebellum	Salivary Gland	Urinary Bladder	Salivary Gland	Salivary Gland	Cerebellum
	20°	Adrenal Gland	Adrenal Gland	Adrenal Gland	Salivary Gland	Skeletal Muscle	Skeletal Muscle	Small Intestine
	21°	Testis	Pituitary Gland	Testis	Endometrium	Testis	Testis	Spleen
	22°	Heart Muscle	Small Intestine	Cerebellum	Cerebral Cortex	Kidney	Cerebral Cortex	Lung
	23°	Cerebellum	Stomach	Pituitary Gland	Kidney	Adrenal Gland	Pituitary Gland	Heart Muscle
	24°	Pituitary Gland	Hypothalamus	Hypothalamus	Skeletal Muscle	Heart Muscle	Heart Muscle	Stomach
	25°	Caudate	Caudate	Pancreas	Prostate	Testis	Kidney	Pituitary Gland
	26°	Hypothalamus	Esophagus	Caudate	Esophagus	Skin	Adrenal Gland	Hippocampus
Low	27°	Liver	Testis	Cerebral Cortex	Pancreas	Caudate	Pancreas	Caudate
	28°	Pancreas	Heart Muscle	Heart Muscle	Adrenal Gland	Hypothalamus	Hypothalamus	Testis
	29°	Hippocampus	Skeletal Muscle	Hippocampus	Pituitary Gland	Liver	Caudate	Kidney
	30°	Cerebral cortex	Pancreas	Skeletal Muscle	Heart Muscle	Hippocampus	Hippocampus	Pancreas
	31°	Skeletal Muscle	Liver	Liver	Liver	Cerebral Cortex	Liver	Liver

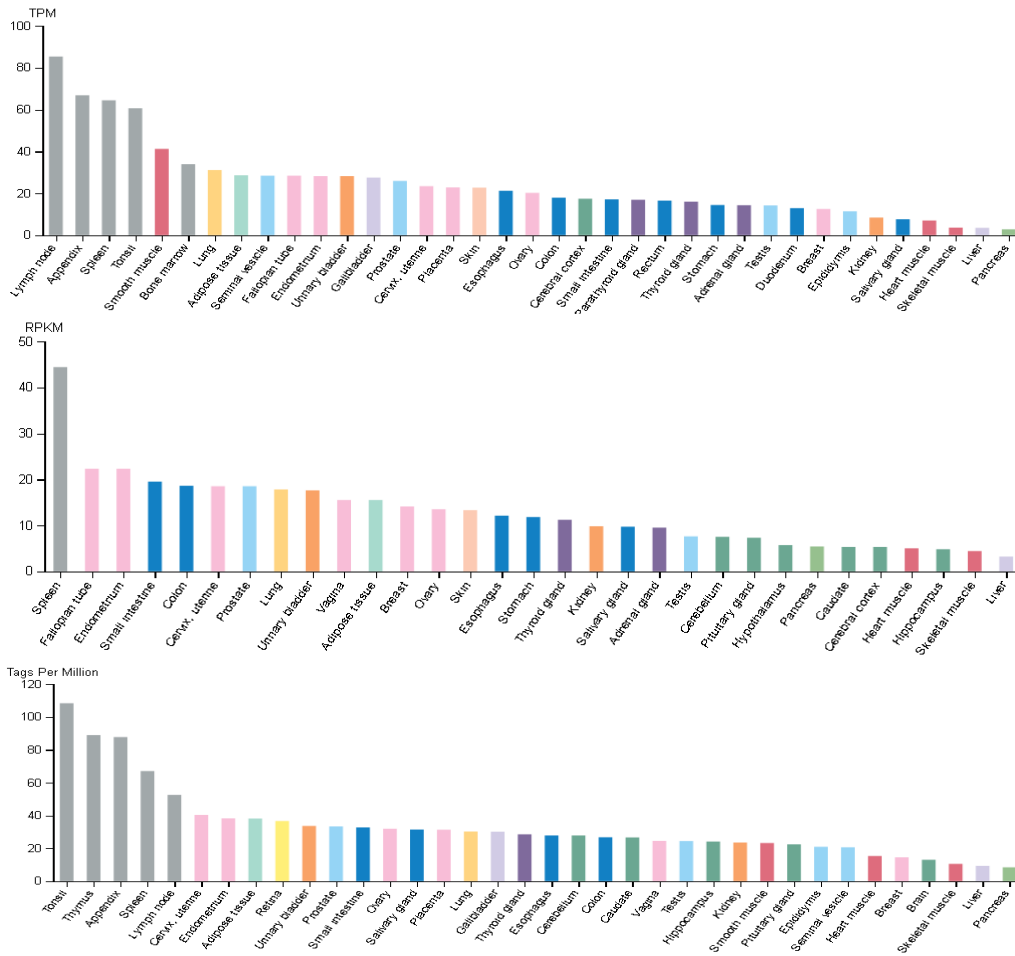
ANEXO 3. FANTOM5. Posição dos tecidos em ordem decrescente de expressão e agrupados em grupos de alta, média e baixa expressão para os 7 genes mob.

FANTOM5								
Grupos de Expressão	Posição do tecido	MOB1A	MOB1B	MOB3A	MOB3B	MOB3C	MOB2	MOB4
High	1°	Thymus	Thymus	Tonsil	Caudate	Pancreas	Smooth Muscle	Pituitary Gland
	2°	Appendix	Hippocampus	Thymus	Small Intestine	Cerebellum	Urinary Bladder	Cerebellum
	3°	Lymph node	Appendix	Appendix	Endometrium	Small Intestine	Gallbladder	Brain
	4°	Spleen	Pituitary Gland	Spleen	Ovary	Adipose Tissue	Prostate	Hippocampus
	5°	Tonsil	Kidney	Lymph Node	Placenta	Pituitary Gland	Appendix	Small Intestine
Medium	6°	Small Intestine	Endometrium	Cervix Uterine	Colon	Vagina	Seminal Vesicle	Endometrium
	7°	Kidney	Lung	Endometrium	Cervix Uterine	Skeletal Muscle	Vagina	Placenta
	8°	Lung	Caudate	Adipose Tissue	Brain	Tonsil	Cervix Uterine	Tonsil
	9°	Cervix Uterine	Cerebellum	Retina	Thyroid Gland	Epididymis	Colon	Caudate
	10°	Adipose Tissue	Brain	Urinary Bladder	Retina	Lung	Esophagus	Cervix Uterine
	11°	Thyroid Gland	Thyroid Gland	Prostate	Cerebellum	Caudate	Salivary Gland	Skeletal Muscle
	12°	Ovary	Smooth Muscle	Small Intestine	Hippocampus	Colon	Endometrium	Esophagus
	13°	Smooth Muscle	Cervix Uterine	Ovary	Skeletal Muscle	Thyroid Gland	Breast	Thyroid Gland
	14°	Breast	Tonsil	Salivary Gland	Gallbladder	Hippocampus	Epididymis	Smooth Muscle
	15°	Urinary Bladder	Ovary	Placenta	Appendix	Salivary Gland	Small Intestine	Heart Muscle
	16°	Testis	Retina	Lung	Spleen	Retina	Ovary	Thymus
	17°	Esophagus	Urinary Bladder	Gallbladder	Testis	Prostate	Lymph Node	Salivary Gland
	18°	Colon	Testis	Thyroid Gland	Breast	Placenta	Skeletal Muscle	Urinary Bladder
	19°	Pituitary Gland	Seminal Vesicle	Esophagus	Pancreas	Cervix Uterine	Adipose Tissue	Testis
	20°	Endometrium	Epididymis	Cerebellum	Tonsil	Spleen	Retina	Epididymis
	21°	Prostate	Adipose Tissue	Colon	Lung	Gallbladder	Testis	Appendix
	22°	Vagina	Spleen	Caudate	Adipose Tissue	Endometrium	Lung	Prostate
	23°	Epididymis	Salivary Gland	Vagina	Kidney	Appendix	Tonsil	Retina
	24°	Seminal Vesicle	Gallbladder	Testis	Seminal Vesicle	Ovary	Heart Muscle	Kidney
	25°	Gallbladder	Lymph Node	Hippocampus	Epididymis	Urinary Bladder	Thyroid Gland	Ovary
	26°	Placenta	Prostate	Kidney	Vagina	Esophagus	Kidney	Adipose Tissue
	27°	Heart Muscle	Vagina	Smooth Muscle	Lymph Node	Breast	Spleen	Spleen
	28°	Retina	Breast	Pituitary Gland	Urinary Bladder	Seminal Vesicle	Hippocampus	Colon
	29°	Hippocampus	Colon	Epididymis	Prostate	Smooth Muscle	Liver	Gallbladder
	30°	Liver	Esophagus	Seminal Vesicle	Smooth Muscle	Kidney	Cerebellum	Lung
	31°	Caudate	Skeletal Muscle	Heart Muscle	Esophagus	Brain	Placenta	Seminal Vesicle
Low	32°	Cerebellum	Heart Muscle	Breast	Pituitary Gland	Testis	Caudate	Lymph Node
	33°	Brain	Liver	Brain	Salivary Gland	Heart Muscle	Brain	Liver
	34°	Pancreas	Small Intestine	Skeletal Muscle	Thymus	Lymph Node	Pituitary Gland	Pancreas
	35°	Skeletal Muscle	Placenta	Liver	Heart Muscle	Liver	Thymus	Breast
	36°	Salivary Gland	Pancreas	Pancreas	Liver	Thymus	Pancreas	Vagina

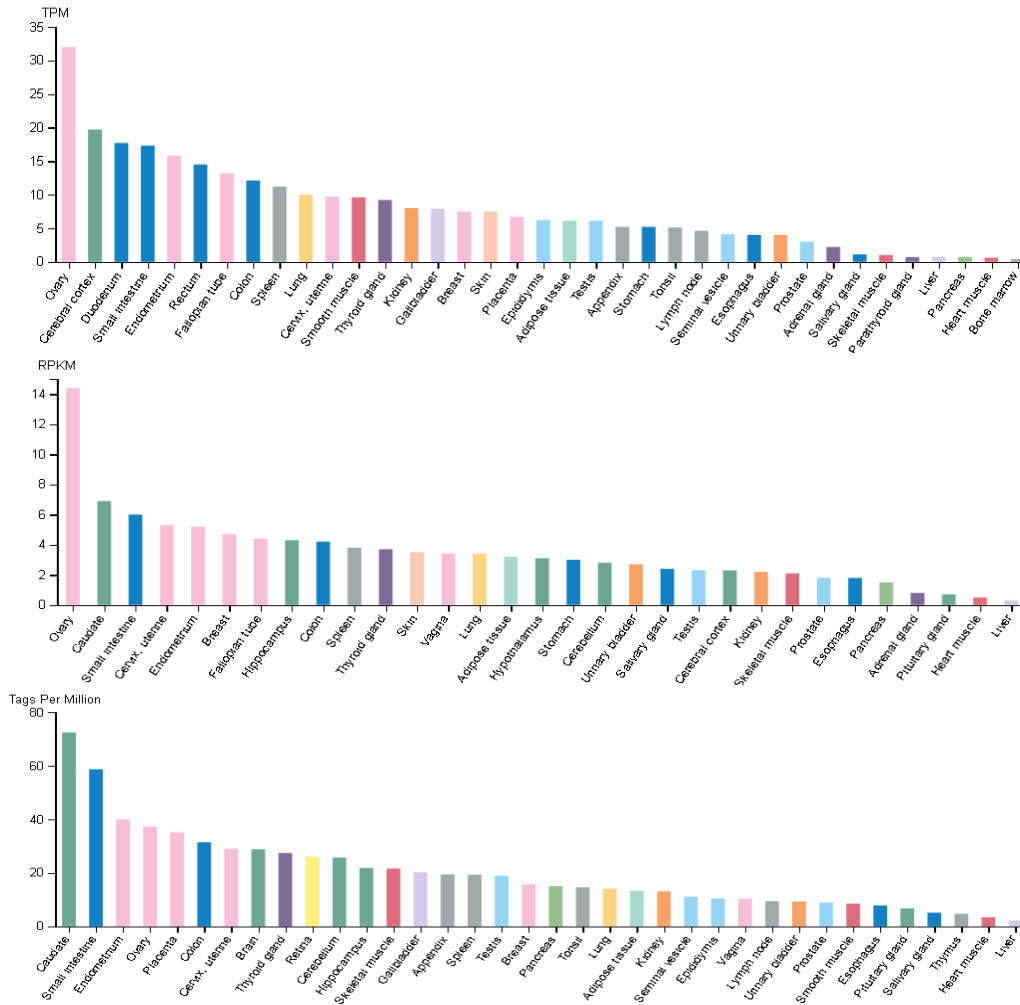
ANEXO 4. MOB1A. Dados do HPA, GTEx e do FANTOM5, respetivamente.



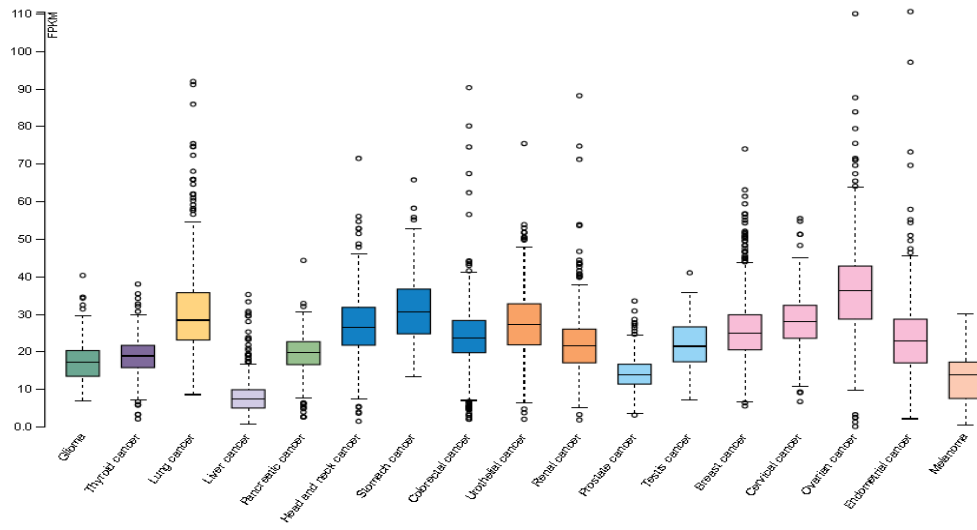
ANEXO 6. MOB3A. Dados do HPA, GTEx e do FANTOM5, respetivamente.



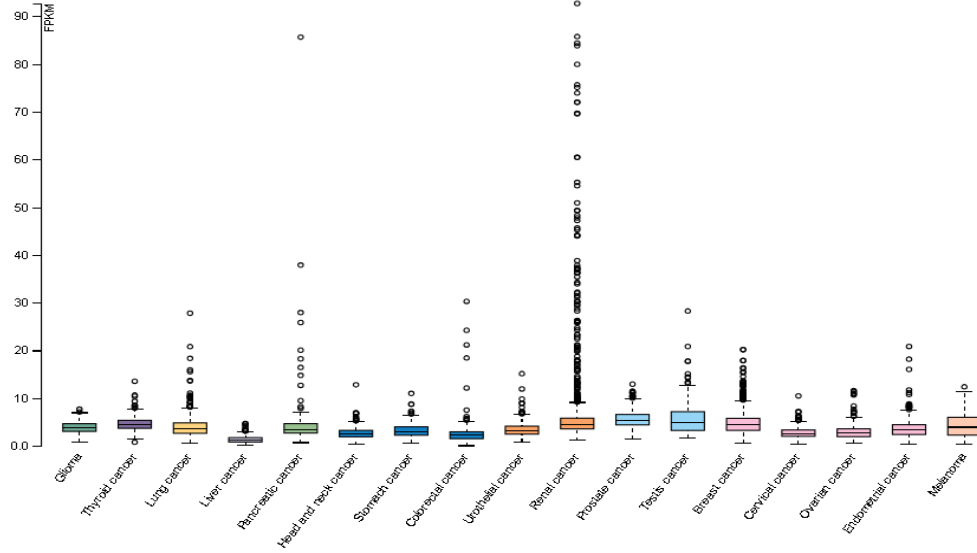
ANEXO 7. MOB3B. Dados do HPA, GTEx e do FANTOM5, respetivamente.



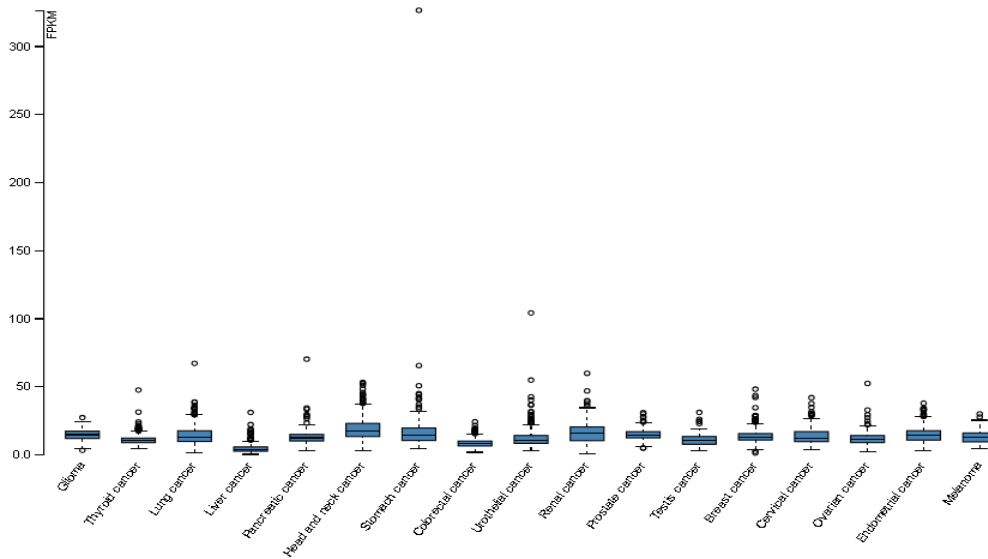
ANEXO 11. MOB1A. Dados do TCGA para os 17 tumores.



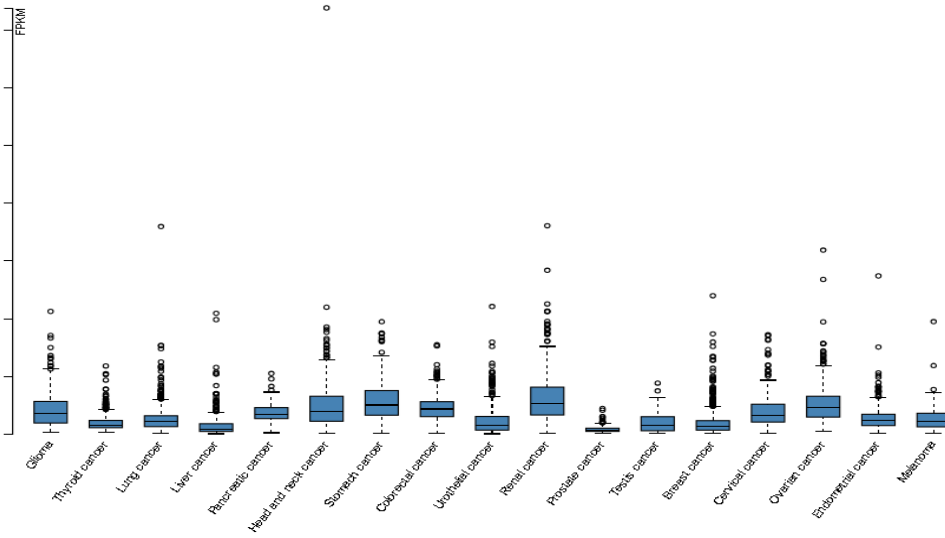
ANEXO 12. MOB1B. Dados do TCGA para os 17 tumores.



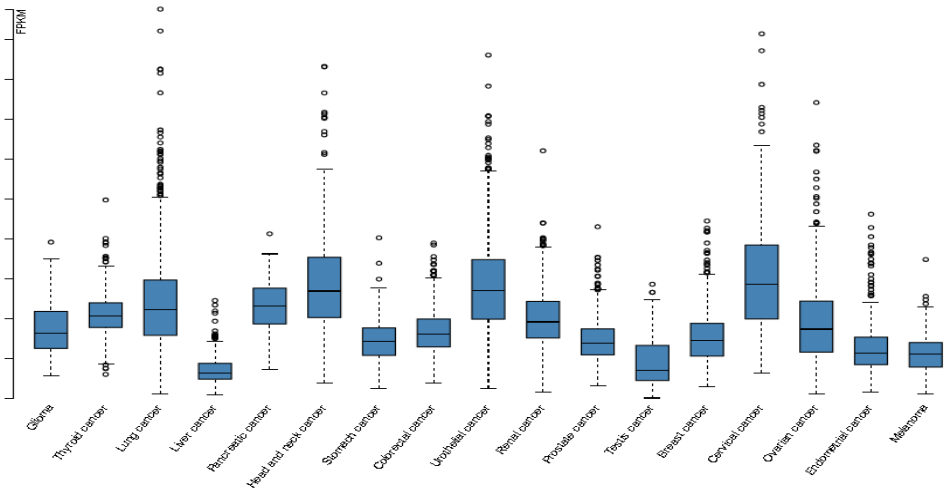
ANEXO 13. MOB3A. Dados do TCGA para os 17 tumores.



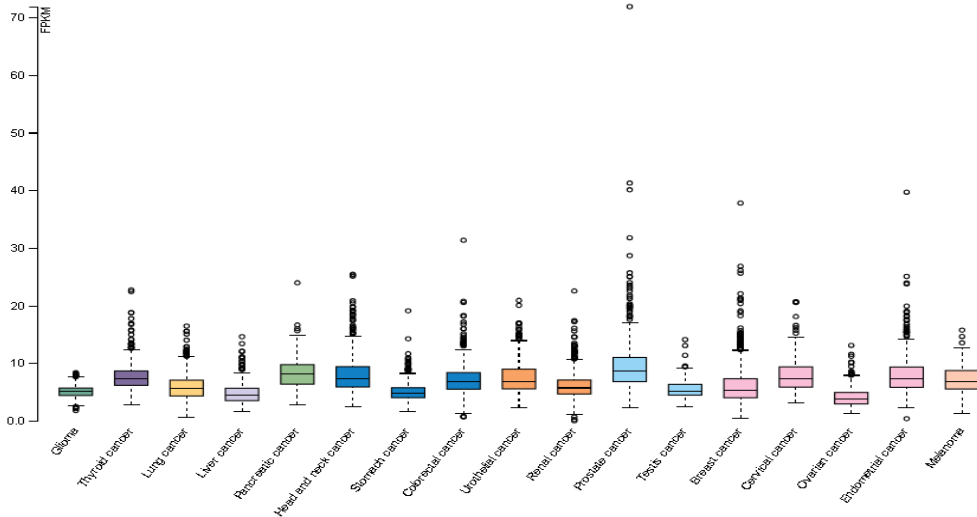
ANEXO 14. MOB3B. Dados do TCGA para os 17 tumores.



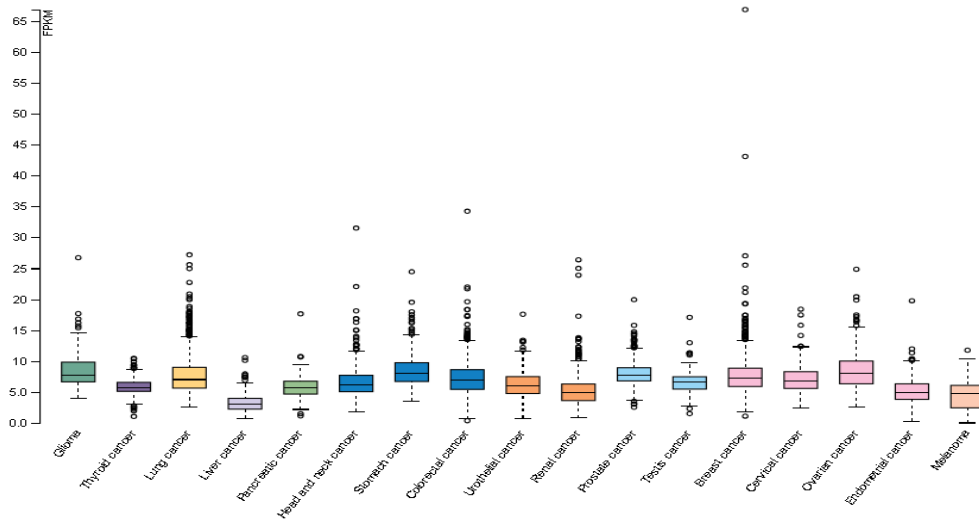
ANEXO 15. MOB3C. Dados do TCGA para os 17 tumores.



ANEXO 16. MOB2. Dados do TCGA para os 17 tumores.

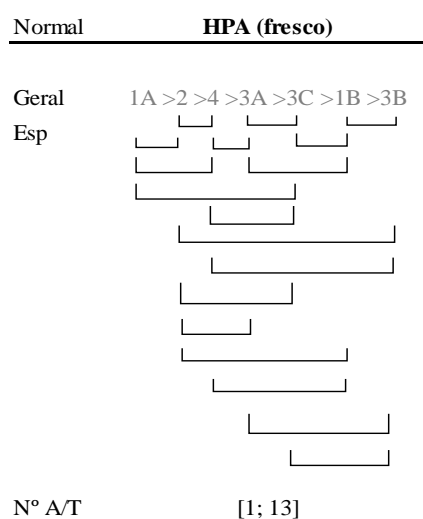


ANEXO 17. MOB4. Dados do TCGA para os 17 tumores.



ANEXO 18. Resumo geral das flutuações previstas das expressões em específico do contexto normal da base de dados do HPA. Com a **Figura 25.**, detetaram-se flutuações na ordem de expressão dos sete genes mob envolvendo no máximo 18 comparações que figuram acima por chavetas onde: **2/4:** O 4 supera o 2 com uma diferença percentual de 25 % em 8 tecidos: Adrenal Gland, Placenta, Bone Marrow, Cerebral Cortex, Breast, Tonsil, Kidney, Liver. Houve 2 tecidos com igual representatividade: Thyroid Gland, Duodenum (0 %); **3A/3C:** O 3C supera o 3A com uma diferença percentual de 25,98 % em 7 tecidos: Parathyroid Gland, Breast, Epididymis, Kidney, Pancreas, Skeletal Muscle, Liver; **1B/3B:** O 3B supera o 1B com uma diferença percentual de 42,2 % em 8 tecidos: Ovary, Cerebral Cortex, Duodenum, Small Intestine, Endometrium, Rectum, Colon, Epididymis; **1A/2:** O 2 supera o 1A com uma diferença percentual de 30,4 % em 13 tecidos: Smooth Muscle, Seminal Vesicle, Skin, Esophagus, Fallopian Tube, Parathyroid Gland, Prostate, Epididymis, Cerebral Cortex, Heart Muscle, Salivary Gland, Skeletal Muscle, Pancreas; **4/3A:** O 3A supera o 4 com uma diferença percentual de 46,9 % em 6 tecidos: Lung, Lymph Node, Tonsil, Spleen, Adipose tissue, Appendix; **3C/1B:** O 1B supera o 3C com uma diferença percentual de 32,7 % em 10 tecidos: Parathyroid Gland, Appendix, Thyroid Gland, Lymph Node, Tonsil, Kidney, Skin, Testis, Cerebral Cortex, Bone Marrow; **1A/4:** O 4 supera o 1A com uma diferença percentual de 38,1 % em 5 tecidos: Adrenal Gland, Esophagus, Cerebral Cortex, Heart Muscle, Skeletal Muscle. Houve 1 tecido que teve igual representatividade: Pancreas (0 %); **3A/1B:** O 1B supera o 3A com uma diferença percentual de 25,8 % em 4 tecidos: Cerebral Cortex, Parathyroid Gland, Thyroid Gland, Kidney; **1A/3C:** O 3C supera o 1A com uma diferença percentual de 43,2 % em 2 tecidos: Pancreas, Skeletal Muscle; **4/3C:** O 3C supera o 4 com uma diferença percentual de 52,1 % em 1 tecido: Pancreas; **2/3B:** O 3B supera o 2 com uma diferença percentual de 3,9 % em 1 tecido: Duodenum; **4/3B:** O 3B supera o 4 com uma diferença percentual de 8,1 % em 2 tecidos: Ovary, Duodenum; **2/3C:** O 3C supera o 2 com uma diferença percentual de 7 % em 1 tecido: Pancreas; **2/3A:** O 3A supera o 2 com uma diferença percentual de 59,6 % em 5 tecidos: Spleen, Lymph Node, Appendix, Tonsil, Bone Marrow; **2/1B:** O 1B supera o 2 com uma diferença percentual de 21,4 % em 2 tecidos: Kidney, Bone Marrow; **4/1B:** O 1B supera o 4 com uma diferença percentual de 10,4 % em 1 tecido: Kidney; **3A/3B:** O 3B supera o 3A com uma diferença percentual de 19,2 % em 4 tecidos: Ovary, Cerebral Cortex, Duodenum, Small Intestine; **3C/3B:** O 3B supera o 3C com uma diferença percentual de 34,2 % em 7 tecidos: Ovary, Endometrium,

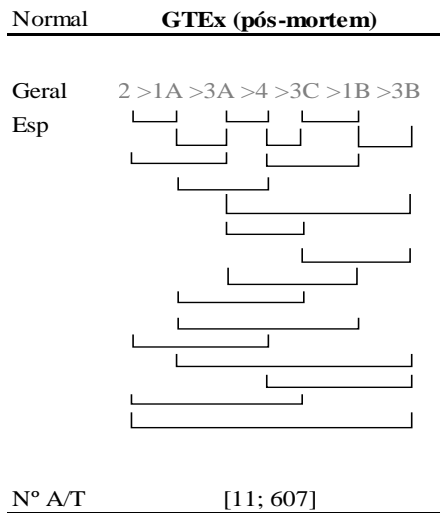
Rectum, Small Intestine, Duodenum, Colon, Cerebral Cortex. **Nota.** Os tecidos Gallbladder, Cervix Uterine, Urinary Bladder, Stomach não estiveram envolvidos nestas flutuações e que assim foram os únicos 4 tecidos que respeitaram a ordem de expressão geral dos sete genes mob.



LEGENDA: Esp – Especificamente; A/T – Amostras por Tecido

ANEXO 19. Resumo geral das flutuações previstas das expressões em específico de acordo com as comparações da base de dados do GTEx. Com a **Figura 27.**, detetaram-se flutuações envolvidas em 20 de 21 comparações onde: **2/1A:** O 1A supera o 2 com uma diferença percentual de 14,5 % em 8 tecidos: Lung, Small Intestine, Spleen, Esophagus, Ovary, Kidney, Adrenal Gland, Liver; **3A/4:** O 4 supera o 3A com uma diferença percentual de 28,8 % em 6 tecidos: Adrenal Gland, Skeletal Muscle, Cerebral Cortex, Hypothalamus, Heart Muscle, Hippocampus. Houve 1 tecido com igual representatividade: Caudate (0 %); **3C/1B:** O 1B supera o 3C com uma diferença percentual de 42,4 % em 7 tecidos: Endometrium, Kidney, Skin, Caudate, Hypothalamus, Cerebral Cortex, Hippocampus; **1A/3A:** O 3A supera o 1A com uma diferença percentual de 13,7 % em 11 tecidos: Spleen, Fallopian Tube, Endometrium, Colon, Prostate, Cervix Uterine, Cerebellum, Pituitary Gland, Pancreas, Cerebral Cortex, Skeletal Muscle; **4/3C:** O 3C supera o 4 com uma diferença percentual de 21,5 % em apenas 5 tecidos: Prostate, Spleen, Lung, Pituitary Gland, Pancreas; **1B/3B:** O 3B supera o 1B com uma diferença percentual de 30,1 % em 5 tecidos: Ovary, Caudate, Small Intestine, Cervix Uterine, Breast. Houve 2 tecidos com igual representatividade: Endometrium, Colon; **2/3A:** O 3A supera o 2 com uma diferença percentual de 19,6 % em 4 tecidos: Endometrium, Lung, Small Intestine, Spleen; **4/1B:** O 1B supera o 4 com uma diferença percentual de 22,4 % em 3 tecidos: Lung, Hippocampus, Kidney; **1A/4:** O 4 supera o 1A com uma diferença percentual de 24,1 % em 6 tecidos: Adrenal Gland, Skeletal Muscle, Cerebral Cortex, Hypothalamus, Cerebellum, Hippocampus; **3A/3B:** O 3B supera o 3A com uma diferença percentual de 14,8 % em 2 tecidos: Ovary, Caudate; **3A/3C:** O 3C supera o 3A com uma diferença percentual de 23,1 % em 2 tecidos: Pancreas, Skeletal Muscle; **3C/3B:** O 3B supera o 3C com uma diferença percentual de 33,5 % em 7 tecidos: Ovary, Small Intestine, Skin, Caudate, Hypothalamus, Cerebral Cortex, Hippocampus; **3A/1B:** O 1B supera o 3A com uma diferença percentual de 25 % em 1 tecido: Hippocampus; **1A/3C:** O 3C supera o 1A com uma diferença percentual de 20,2 % em 3 tecidos: Pancreas, Pituitary Gland, Skeletal Muscle; **1A/1B:** O 1B supera o 1A com uma diferença percentual de 11,8 % em 2 tecidos: Hipocampus, Cerebral Cortex; **2/4:** O 4 supera o 2 com uma diferença percentual de 43,7 % em 1 tecido: Adrenal Gland. Houve 1 tecido com igual

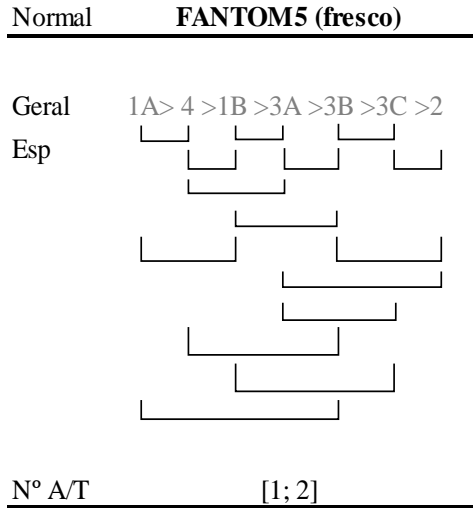
representatividade: Hypothalamus; **1A/3B**: O 3B supera o 1A com uma diferença percentual de 13 % em 1 tecido: Caudate; **4/3B**: O 3B supera o 4 com uma diferença percentual de 37,3 % em 2 tecidos: Ovary, Caudate; **2/3C**: O 3C supera o 2 com uma diferença percentual de 17,2 % em 1 tecido: Pancreas; **2/3B**: O 3B supera o 2 com uma diferença percentual de 1,4 % em 1 tecido: Caudate. *Nota.* Os tecidos Urinary Bladder, Vagina, Adipose Tissue, Thyroid Gland, Salivary Gland, Stomach, Testis não estiveram envolvidos nestas flutuações e que assim foram os únicos que respeitaram a ordem de expressão geral dos sete genes mob.



LEGENDA: Esp – Especificamente; A/T - Amostras por Tecido

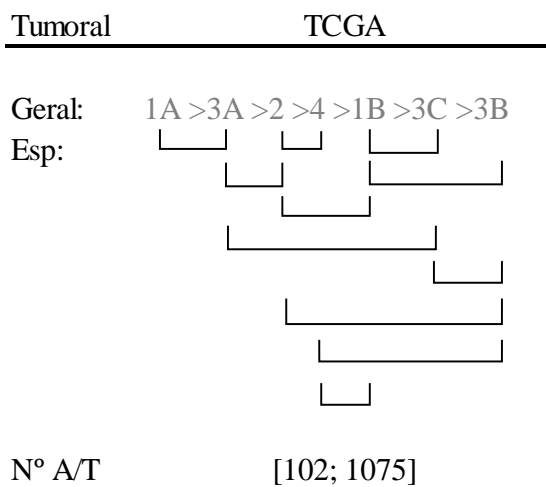
ANEXO 20. Resumo geral das flutuações previstas das expressões em específico de acordo com as comparações da base de dados do FANTOM5. Com a **Figura 29.**, detetaram-se 15 flutuações onde: **1A/4**: O 4 supera o 1A com uma diferença percentual de 30,3 % em 7 tecidos: Pituitary Gland, Cerebellum, Brain, Hippocampus, Caudate, Skeletal Muscle, Salivary Gland; **1B/3A**: O 3A supera o 1B com uma diferença percentual de 24,1 % em 16 tecidos: Tonsil, Appendix, Spleen, Lymph Node, Cervix Uterine, Adipose Tissue, Retina, Urinary Bladder, Prostate, Small Intestine, Salivary Gland, Placenta, Gallbladder, Esophagus, Colon, Vagina; **3B/3C**: O 3C supera o 3B com uma diferença percentual de 21,8 % em 9 tecidos: Pancreas, Pituitary Gland, Vagina, Epididymis, Salivary Gland, Prostate, Esophagus, Heart Muscle, Liver; **4/1B**: O 1B supera o 4 com uma diferença percentual de 40,5 % em 6 tecidos: Thymus, Appendix, Prostate, Kidney, Lung, Vagina; **3A/3B**: O 3B supera o 3A com uma diferença percentual de 31% em 10 tecidos: Caudate, Small Intestine, Endometrium, Ovary, Placenta, Colon, Brain, Skeletal Muscle, Breast, Pancreas; **3C/2**: O 2 supera o 3C com uma diferença percentual de 42,3 % em 6 tecidos: Smooth Muscle, Urinary Bladder, Gallbladder, Prostate, Appendix, Seminal Vesicle; **4/3A**: O 3A supera o 4 com uma diferença percentual de 40,8 % em 6 tecidos: Tonsil, Thymus, Appendix, Spleen, Lymph Node, Vagina; **1B/3B**: O 3B supera o 1B com uma diferença percentual de aproximadamente 36,3 % em 5 tecidos: Caudate, Small Intestine, Ovary, Placenta, Colon; **1A/1B**: O 1B supera o 1A com uma diferença percentual de 9,2 % em 3 tecidos: Hipocampus, Caudate, Brain; **3B/2**: O 2 supera o 3B com uma diferença percentual de 38,8 % em 5 tecidos: Smooth Muscle, Urinary Bladder, Prostate, Salivary Gland, Esophagus. Houve 1 tecido com uma diferença percentual de 0 %: Seminal Vesicle; **3A/2**: O 2 supera o 3A com uma diferença percentual de 15% em 1 tecido: Smooth Muscle; **3A/3C**: O 3C supera o 3A com uma diferença percentual de 35,3 % em 2 tecidos: Pancreas, Skeletal Muscle; **4/3B**: O 3B

supera o 4 com uma diferença percentual de 19,6% em 1 tecido: Caudate; **1B/3C**: O 3C supera o 1B com uma diferença percentual de 21,8 % em 1 tecido: Pancreas; **1A/3B**: O 3B supera o 1A com uma diferença percentual de 41% em 1 tecido: Caudate. **Nota.** Os tecidos Thyroid Gland e Testis não estiveram envolvidos nestas flutuações e que sendo assim foram os únicos que respeitaram a ordem de expressão geral dos sete genes mob.



LEGENDA: Esp – Especificamente; A/T – Amostras por Tecido

ANEXO 21. Resumo geral das flutuações previstas das expressões em específico para determinados tecidos tumorais. De acordo com a **Figura 31.**, detetaram-se flutuações em 11 comparações de 21 onde: **1A/3A**: O 3A supera o 1A apenas em 1 de 17 casos tumorais: Prostate. **3A/2**: O 2 iguala-se ao 3A num caso: Liver. **2/4**: O 4 iguala-se ao 2 num caso: Coloretal, e supera o mesmo em 6 de 17 casos tumorais: Glioma, Lung, Stomach, Testis, Breast, Ovarian. **1B/3C**: O 3C iguala-se ao 1B num caso: Pancreatic, e supera o mesmo em 8 de 17 casos tumorais: Lung, Liver, Head and Neck, Stomach, Urothelial, Cervical, Ovarian, Endometrial. **1B/3B**: O 3B supera o 1B em 7 de 17 casos tumorais: Glioma, Liver, Head and Neck, Stomach, Coloretal, Cervical, Ovarian. **2/1B**: O 1B iguala-se ao 2 em 1 caso: Testis, e supera o 2 em 1 de 17 casos tumorais: Renal. **3A/3C**: O 3C supera o 3A em 1 de 17 casos tumorais: Ovarian. **3C/3B**: O 3B iguala-se ao 3C em 1 de 17 casos tumorais: Endometrial, e supera o 3C em 6 de 17 casos tumorais: Glioma, Stomach, Coloretal, Renal, Ovarian, Melanoma. **2/3B**: O 3B supera o 2 em 2 de 17 casos tumorais: Stomach, Ovarian. **4/3B**: O 3B supera o 4 em 2 de 17 casos tumorais: Stomach, Renal.



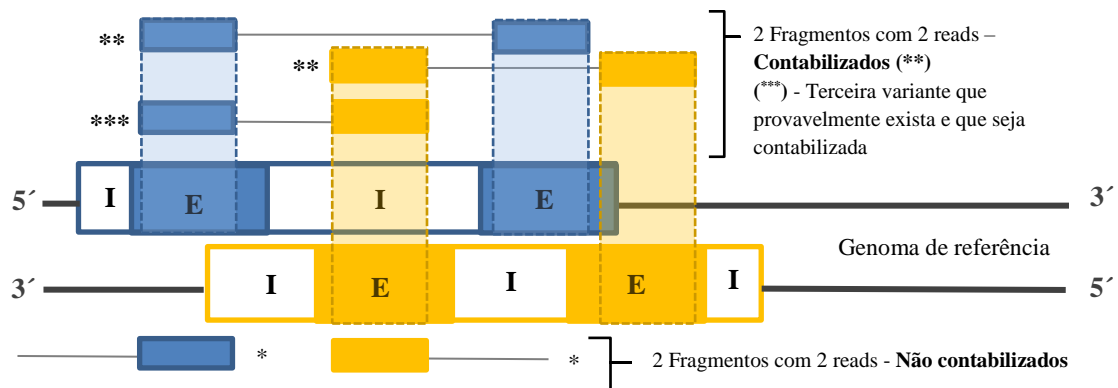
4/1B: O 1B supera o 4 em 1 de 17 casos tumorais: Renal. **Nota.** O tecido tumoral Thyroid foi o único que não esteve envolvido nestas flutuações e que seguiu a mesma ordem de expressão geral para os sete genes mob.

LEGENDA: Esp – Especificamente; A/T – Amostras por Tecido

ANEXO 22. Ilustração geral e conclusiva das **Figuras 32.** e **35.** com respeito às subidas e descidas dos tecidos em específico do contexto normal (HPA, GTEX, FANTOM5) para o contexto tumoral (TCGA). O GTEX foi a base de dados que apresentou mais dualidades de respostas de subida e descida para cada expressão dos 7 genes do que com as restantes duas bases de dados ao comparar com o TCGA. Conclui-se também que comparativamente com as três bases de dados, houve certos genes mob nos diferentes contextos (fresco, pós-mortem, tumoral) em diferentes proporções amostrais por tecido que apresentaram dualidades de resposta (subida, descida) muito frequentes: MOB1A, MOB3A, MOB4 ao passo que o MOB1B, MOB3B e MOB3C desceram nas três bases de dados. Os genes MOB1A, MOB3A, MOB2 e MOB4 foram os que tiveram uma resposta de subida em apenas uma base de dados (GTEX) e assim discordantes com as restantes duas. Ainda não é ao certo afirmar se estas flutuações são causais ou consequentes do contexto celular em questão, apesar do outcome sugerir demandas teciduais diferentes em diferentes estados celulares.

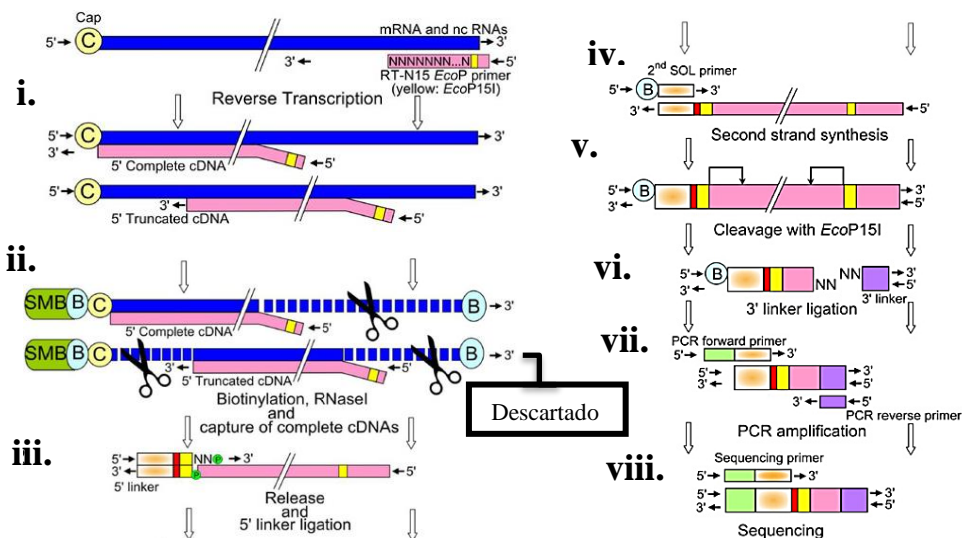
MOB's	HPA	GTEX	FANTOM5	LEGENDA: (↑) Subida geral; (↓) Descida geral.
1A	↓	↑	↓	
1B	↓	↓	↓	
3A	↓	↑	↓	
3B	↓	↓	↓	
3C	↓	↓	↓	
2	↓	↓	↑	
4	↓	↑	↓	

ANEXO 23. Alinhamento hipotético dos reads a um genoma ou a um transcrito de referência. Na fase de sequenciamento poderão gerar-se fragmentos de cDNA que são sequenciados em uma das extremidades tendo uma qualidade de alinhamento para um exão (*), porém, a unidade FPKM apenas contabiliza os fragmentos com dois reads (**), que têm maior especificidade e não os anteriores evitando que haja uma contagem duplicada. Há também a possibilidade de uma terceira variante, isto é, um fragmento com dois reads de cada gene (***) que provavelmente seja contabilizada.

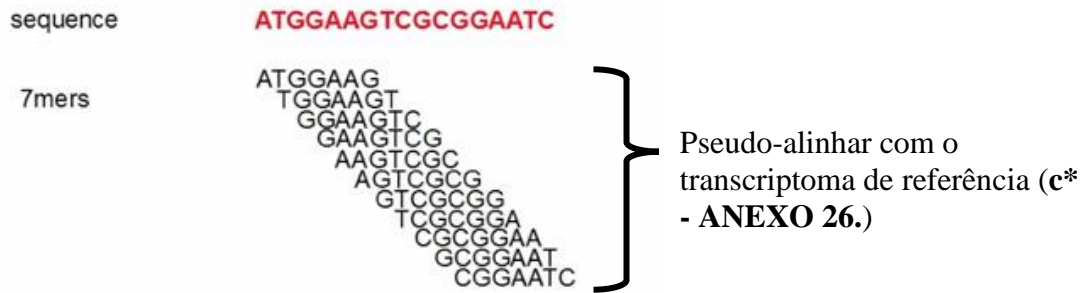


LEGENDA: I – Intrão; E – Exão

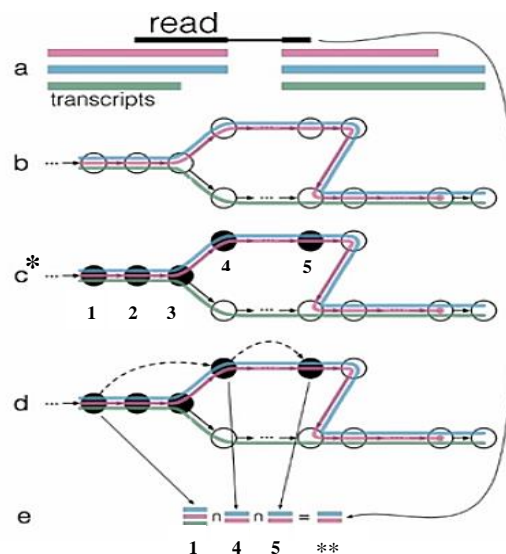
ANEXO 24. Esquema do CAGE adotado pelo FANTOM5 para a preparação da biblioteca de cDNA e posterior sequenciação com o Illumina. i. Transcrição reversa de mRNAs poliadenilados e de RNAs não poliadenilados por uma transcriptase reversa geneticamente modificada com o primer RT-N15-EcoP com uma sequência de reconhecimento para a enzima de restrição EcoP15I (amarelo) e com uma complementaridade aleatória que minimiza a possibilidade de obter sínteses truncadas e que são descartadas (ver secção ANEXOS, para analisar o processo aplicado para a exclusão de transcritos non-coding (ncRNAs)). ii. Oxidação e Biotinilação das extremidades 5' e 3', digestão de sequências ssmRNA que não se complementaram ao cDNA recentemente sintetizado (tesouras), Captura das extremidades cap com biotina com as esferas magnéticas de estreptavidina. iii. Desnaturação: libertação da cadeia de cDNA recentemente capturada e hidrólise das cadeias simples do mRNA. Ligação dos adaptadores ds5' com um código de referência/bar code (vermelho) e com uma sequência de reconhecimento da enzima de restrição EcoP15I (amarelo). iv. Desnaturação: libertação dos adaptadores ficando ss5' - cDNA. Annealing com o Primer SOL para a síntese de uma segunda cadeia de cDNA. v. Síntese de uma segunda cadeia de cDNA e posterior clivagem de vinte e sete (27) nucleótidos do dscDNA a jusante da sequência de reconhecimento nas extremidades 5' cap e 3', formando as "sticky ends" para a ligação do adaptador 3' (roxo).vi. Ligação do adaptador 3' já com o primer da sequência reversa para o Illumina (roxo) na extremidade 3' do dscDNA. vii. Amplificação dos tags por PCR com os primers das cadeias forward (verde) e reverse (roxo). viii. Sequenciamento dos tags pelo Illumina. LEGENDA: C: extremidade 5' cap; B: Biotina; SMB: do inglês "Streptavidin-coated magnetic beads". Figura retirada de: Takahashi *et al*, 2012⁽²⁵⁾.



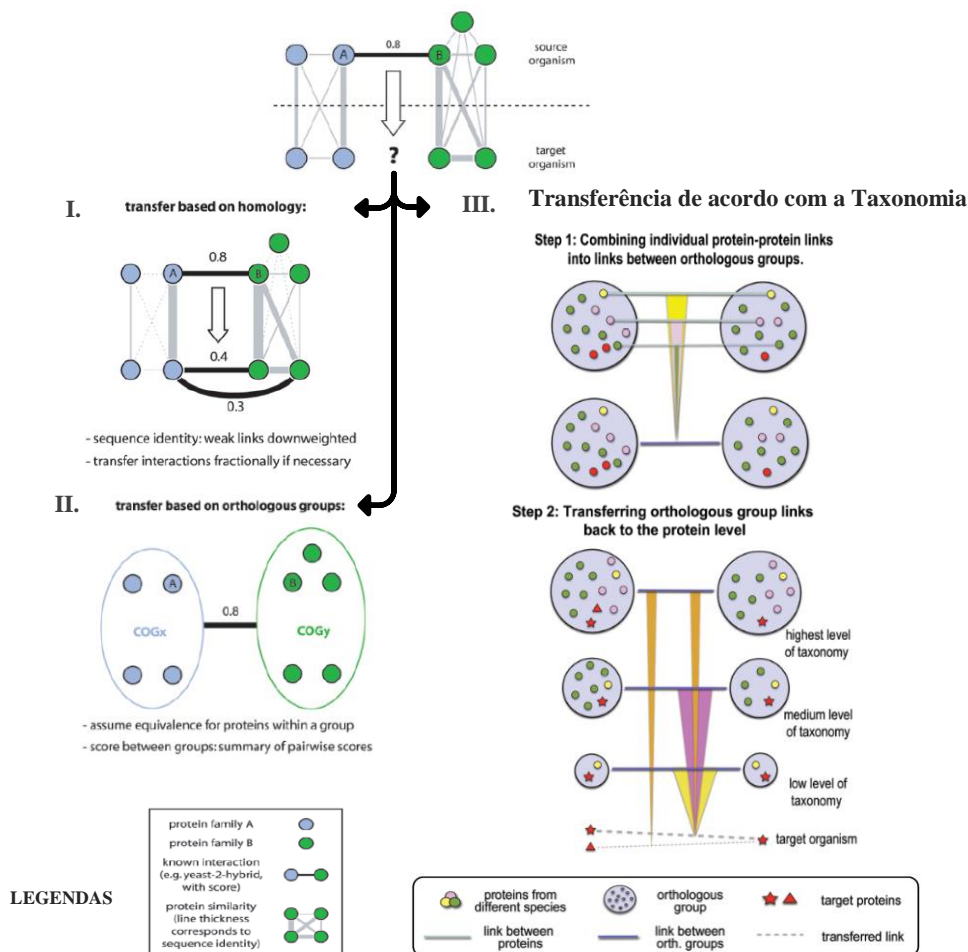
ANEXO 25. Sequência hipotética de um read forward ou reverse traduzido em cDNA (vermelho) onde esse mesmo é repartido em 11 sequências de k-mers com 7 bases azotadas cada um (7mers) para fins de procura de compatibilidade com os exões do transcrito de referência (c*) que está explícito no ANEXO 26. LEGENDA: k-mer: k - número de bases azotadas de um segmento mer. Imagem retirada de: Michael Chimenti, 2016^(10.2: 32).



ANEXO 26. Esquema do método de Kallisto que consiste na construção de um gráfico De Bruijn transcriptômico (T-DBG) para um dado read que será repartido em k-mers para o mapeamento dos mesmos num transcriptoma de referência. (a*) Ilustração geral do input que consiste no read com um espaçamento intrónico e o conjunto de transcritos com regiões exónicas que servirão de referência. (b) Construção do T-DBG de acordo com os três transcritos simbolizados por cores diferentes e dos grupos de compatibilidade (nós) que irão incluir cada k-mer. (c) Após o ato de repartir o read, cada k-mer formado é mapeado e agrupado em cada nó de compatibilidade do T-DBG, (neste caso, nos nós 1, 2, 3, 4 e 5). Hipoteticamente, houve k-mers do read que não foram mapeados com o transcrito verde, logo, o programa seguiu a rota dos transcritos a azul e rosa onde estão os nós 4 e 5. (d) Caso hajam nós com o mesmo grau de compatibilidade (2 e 3) para um transcrito e que já foi adquirido anteriormente num outro nó (1), o método ignora a informação repetida e “salta” de nó em nó até encontrar uma compatibilidade com um transcrito diferente no T-DBG aumentando assim a rapidez do método que se rege numa hash table. (e) Produto das interseções dos nós. Como houve certos k-mers que demonstraram uma compatibilidade redundante para o transcrito verde, o processo concluí que o read provavelmente deriva dos transcritos azul e rosa (**). Nota. Posteriormente, a contabilização recorre à contagem das classes de equivalência do read em unidades TPM. **LEGENDA:** T-DBG do inglês “Transcriptome De Bruijn Graph; Círculos brancos – nós de compatibilidade sem os k-mers; Círculos pretos – nós de compatibilidade já com os k-mers mapeados; setas a tracejado – “salto” de grupo em grupo se houver repetição de compatibilidades. Imagem retirada de: Michael Chimenti, 2016^(10,2: 32).



ANEXO 27. Imagem introdutória a três métodos heurísticos que o STRING pode recorrer para atestar ao cálculo combinatório de um score final. No ponto I. Homologia, temos uma ponderação das associações podendo haver um fracionamento comparativo. Aquele par de proteínas com uma maior similaridade de a.a. tem o maior peso do score final. O ponto II. Ortologia agrupa as proteínas em grupos ortólogos dando-lhes o mesmo grau de igualdade (COG mode) de acordo com a informação importada da base de dados do COG. O registo de um par com o maior score de equivalência, assume que os restantes pares partilharão esse mesmo score final. Por fim, temos o ponto III. Taxonomia que consiste em dois passos: compilar e ponderar as associações de similaridade, da mais forte para a mais fraca, entre proteínas de dois grupos ortólogos de acordo com a proximidade taxonómica dos organismos modelo em uma única associação com o recurso à base de dados do eggNOG. Depois, essa mesma associação é transferida de volta aos pares de proteínas para o cálculo do score final já com as penalizações (representado por cones de cores) mencionadas no texto e pelo maior número de proteínas correspondentes a cada espécie. Imagens retiradas de: (esquerda) Mering *et al*, 2005⁽²²⁾, (direita) Franceschini *et al*, 2013⁽²¹⁾.



ANEXO 28. Descrição tabelada dos 17 tipos de tecidos tumorais transcritas do TCGA com uma correspondência em número de amostras recolhidas de cada caso e que na qual está incluída na base de dados do HPA, secção Assays and Annotation.

HPA cancer type	TCGA cancer	No. of samples in TCGA
Breast cancer	Breast Invasive Carcinoma (BRCA)	1075
Cervical cancer	Cervical Squamous Cell Carcinoma and Endocervical Adenocarcinoma (CESC)	291
Colorectal cancer	Colon Adenocarcinoma (COAD)	438
	Rectum Adenocarcinoma (READ)	159
Endometrial cancer	Uterine Corpus Endometrial Carcinoma (UCEC)	541
Glioma	Glioblastoma Multiforme (GBM)	153
Head and neck cancer	Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSC)	499
Liver cancer	Liver Hepatocellular Carcinoma (LIHC)	365
Lung cancer	Lung Adenocarcinoma (LUAD)	500
	Lung Squamous Cell Carcinoma (LUSC)	494
Melanoma	Skin Cutaneous Melanoma (SKCM)	102
Ovarian cancer	Ovary Serous Cystadenocarcinoma (OV)	373
Pancreatic cancer	Pancreatic Adenocarcinoma (PAAD)	176
Prostate cancer	Prostate Adenocarcinoma (PRAD)	494
Renal cancer	Kidney Chromophobe (KICH)	64
	Kidney Renal Clear Cell Carcinoma (KIRC)	528
	Kidney Renal Papillary Cell Carcinoma (KIRP)	285
Stomach cancer	Stomach Adenocarcinoma (STAD)	354
Testis cancer	Testicular Germ Cell Tumor (TGCT)	134
Thyroid cancer	Thyroid Carcinoma (THCA)	501
Urothelial cancer	Bladder Urothelial Carcinoma (BLCA)	406

ANEXO 29. Descrição tabelada dos 31 tecidos da base de dados GTEx com uma correspondência em número de amostras recolhidas de cada caso e que está incluída na base de dados do HPA na secção Assays and Annotation.

Tissue	GTEx tissue	Number of samples	Tissue	GTEx tissue	Number of samples
Adipose tissue	Adipose - Subcutaneous	350	Pituitary gland	Pituitary	103
	Adipose - Visceral (Omentum)	227	Prostate	Prostate	106
Adrenal gland	Adrenal Gland	145	Salivary gland	Minor Salivary Gland	57
Breast	Breast - Mammary Tissue	214	Skeletal muscle	Muscle - Skeletal	430
Caudate	Brain - Caudate (basal ganglia)	117	Skin	Skin - Not Sun Exposed (Suprapubic)	250
Cerebellum	Brain - Cerebellar Hemisphere	105		Skin - Sun Exposed (Lower leg)	357
	Brain - Cerebellum	125	Small intestine	Small Intestine - Terminal Ileum	88
Cerebral cortex	Brain - Cortex	114	Spleen	Spleen	104
	Brain - Frontal Cortex (BA9)	108	Stomach	Stomach	193
Cervix, uterine	Cervix - Ectocervix	6	Testis	Testis	172
	Cervix - Endocervix	5	Thyroid gland	Thyroid	323
Colon	Colon - Sigmoid	149	Urinary bladder	Bladder	11
	Colon - Transverse	196	Vagina	Vagina	96
Endometrium	Uterus - Endometrium	14			
Esophagus	Esophagus - Mucosa	286			
Fallopian tube	Fallopian Tube	6			
Heart muscle	Heart - Atrial Appendage	194			
	Heart - Left Ventricle	218			
Hippocampus	Brain - Hippocampus	94			
Hypothalamus	Brain - Hypothalamus	96			
Kidney	Kidney - Cortex	32			
Liver	Liver	119			
Lung	Lung	320			
Ovary	Ovary	97			
Pancreas	Pancreas	171			

ANEXO 30. Descrição tabelada dos 37 tecidos do FANTOM5 com os IDs das amostras que está enunciada na TCGA e que na qual está incluída na base de dados do HPA na secção Assays and Annotation.

Tissue	FANTOM5 tissue	Sample description	FANTOM5 sample id
Adipose tissue	Adipose tissue	65,65,76 years, mixed	FF:10010-101C1
Appendix	Appendix	29 years, male	FF:10189-103D9
Brain	Brain	77,79,81 years, mixed	FF:10012-101C3
Breast	Breast	77 years, female	FF:10080-102A8
Caudate	Caudate nucleus	76 years, female	FF:10164-103B2
Cerebellum	Cerebellum	22-68 years, mixed	FF:10083-102B2
Cerebellum	Cerebellum	76 years, female	FF:10166-103B4
Cervix, uterine	Cervix	40,46,57,65 years, female	FF:10013-101C4
Colon	Colon	62,83,84 years, mixed	FF:10014-101C5
Endometrium	Uterus	23-63 years, female	FF:10100-102D1
Epididymis	Epididymis	24 years, male	FF:10197-103E8
Esophagus	Esophagus	68,74,75 years, mixed	FF:10015-101C6
Gallbladder	Gall bladder	57 years, male	FF:10198-103E9
Heart muscle	Heart	70,73,74 years, mixed	FF:10016-101C7
	Left ventricle	73 years, female	FF:10078-102A6
Hippocampus	Hippocampus	76 years, female	FF:10153-102I9
Hippocampus	Hippocampus	60 years, female	FF:10169-103B7
Kidney	Kidney	60,62,63 years, female	FF:10017-101C8
Liver	Liver	64,69,70 years, mixed	FF:10018-101C9
Lung	Lung	46,65,94 years, mixed	FF:10019-101D1
	Lung - right lower lobe	29 years, male	FF:10075-102A3
Lymph node	Lymph node	30 years, male	FF:10077-102A5
Ovary	Ovary	47,75,84 years, female	FF:10020-101D2
Pancreas	Pancreas	52 years, male	FF:10049-101G4
Pituitary gland	Pituitary gland	76 years, female	FF:10162-103A9
Placenta	Placenta	female	FF:10021-101D3
Prostate	Prostate	73,79,93 years, male	FF:10022-101D4
Retina	Retina	24-65 years, mixed	FF:10030-101E3
Salivary gland	Salivary gland	16-60 years, mixed	FF:10093-102C3
Seminal vesicle	Seminal vesicle	24 years, male	FF:10201-103F3
Skeletal muscle	Skeletal muscle	55,79,79 years, mixed	FF:10023-101D5
	Skeletal muscle - soleus muscle	male	FF:10282-104F3
Small intestine	Small intestine	15,40,85 years, mixed	FF:10024-101D6
Smooth muscle	Smooth muscle	20-68 years, male	FF:10048-101G3
Spleen	Spleen	39,50,70 years, male	FF:10025-101D7
Testis	Testis	34,53,86 years, male	FF:10026-101D8
	Testis	14-64 years, male	FF:10096-102C6
Thymus	Thymus	0.5,0.5,0.83 years old infant years, male	FF:10027-101D9
Thyroid gland	Thyroid	67,68,78 years, mixed	FF:10028-101E1
Tonsil	Tonsil	22-61 years, mixed	FF:10047-101G2
Urinary bladder	Bladder	55,58,79 years, mixed	FF:10011-101C2
Vagina	Vagina	68 years, female	FF:10204-103F6