



FERNANDA DUTRA SANTIAGO BASSORA

**“AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE MARCADORES
INFLAMATÓRIOS EM CÉLULAS MONONUCLEARES DE
PACIENTES COM TROMBOSE VENOSA PROFUNDA”**

**CAMPINAS
2012**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

FERNANDA DUTRA SANTIAGO BASSORA

**“AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE MARCADORES
INFLAMATÓRIOS EM CÉLULAS MONONUCLEARES DE
PACIENTES COM TROMBOSE VENOSA PROFUNDA”**

Orientadora: Profa. Dra. Joyce Maria Annichino Bizzacchi

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas para obtenção de título de Doutora em Ciências Médicas, área de concentração em Ciências Biomédicas.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE
DEFENDIDA PELA ALUNA FERNANDA DUTRA SANTIAGO
BASSORA E ORIENTADO PELO PROF. DR. JOYCE MARIA
ANNICHINO BIZZACCHI .

Assinatura da Orientadora

**CAMPINAS
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS – CRB8/8402
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

B295a Bassora, Fernanda Dutra Santiago, 1982-
Avaliação da expressão gênica de marcadores
inflamatórios em células mononucleares de pacientes
com trombose venosa profunda / Fernanda Dutra
Santiago Bassora. -- Campinas, SP : [s.n.], 2012.

Orientador : Joyce Maria Annichino Bizzacchi.
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Trombose venosa. 2. Leucócitos mononucleares.
3. Microarranjos de DNA. I. Annichino-Bizzacchi, Joyce
Maria, 1957-. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: : Evaluation of the genetic expression of inflammatory mediators in mononuclear cells from deep venous thrombosis patients.

Palavras-chave em inglês:

Venous thrombosis

DNA microarrays

Leukocytes, Mononuclear

Área de concentração: Ciências Biomédicas

Titulação: Doutora em Ciências Médicas

Banca examinadora:

Joyce Maria Annichino Bizzacchi [Orientador]

Elbio Antonio D'Amico

Patricia Severino

Erich Vinicius de Paula

Fabíola Traina

Data da defesa: 22-02-2012

Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

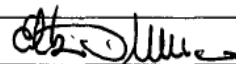
Banca examinadora de Tese de Doutorado

Fernanda Dutra Santiago Bassora

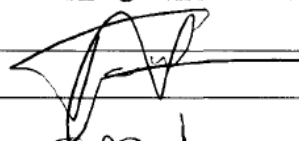
Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Joyce Maria Annichino Bizzacchi

Membros:

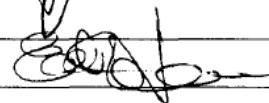
Professor (a) Doutor (a) Elbio Antonio D'Amico



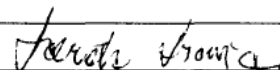
Professor (a) Doutor (a) Patricia Severino



Professor (a) Doutor (a) Erich Vinicius de Paula



Professor (a) Doutor (a) Fabíola Traina



Professor (a) Doutor (a) Joyce Maria Annichino Bizzacchi



Curso de pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 29/02/2012

Dedicatória

Aos meus queridos pais, Darci e Alcebiades, exemplos de simplicidade,
honestidade, humildade e amor.

Ao meu marido, Antonio José Bassora Junior, pelo companheirismo,
incentivo e amor.

AGRADECIMENTOS

À Deus por permitir a finalização deste trabalho.

À minha orientadora Professora Dra Joyce Maria Annichino-Bizzacchi, exemplo de ética e amor ao trabalho, obrigada pela excelente orientação, por acreditar em meu potencial e pelo seu grande estímulo na realização de todas as etapas do meu doutorado.

A Michele Rubin Servais (*in memorian*), pelo excelente trabalho técnico e intelectual.

À coordenação do Curso de Pós-graduação e a secretária do curso de pós-graduação Marcinha em Ciências Médicas área de concentração em Ciências Biomédicas/ Faculdade de Ciências Médicas (FCM)/ Unicamp, pelo apoio em todas as fases de meu doutorado.

Ao Professor Dr Erich de Paula, pelo incentivo, atenção e auxílio.

À toda a equipe do Laboratório de Hemostasia do Hemocentro, Lucia Helena (Ucha), Devanira, Cristina, Susan, Tânia, Silmara, Ricardo, Glaucia, Larissa, Vanessa e Gabriela, pelos momentos de aprendizado e principalmente pelo companherismo.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Hemostasia Aline Barnabé, Aline Urban, Mariane, Lucas, Caroline Laís, Caroline Luis Fernando, Bruna, Stephany e Kiara pelos momentos de estudo, de risos e acima de tudo pela amizade.

Ao Dr Andrey dos Santos, Dra Dulcinéia e Dra Carolina Lanaro do Laboratório de Biologia Molécula, obrigada por todo auxílio e serviços prestados.

Ao Helymar Machado do Serviço de Bioestatística da FCM/Unicamp, pela excelente consultoria em estatística.

À minha família em especial meus irmãos Anderson e Adriano, tão queridos, que me dedicou todo carinho e apoio, foram fundamentais para realização não só deste trabalho, mas, por caminhar comigo sempre.

A todos os voluntários que possibilitaram este estudo.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	14
Lista de Tabelas e Figuras.....	17
RESUMO	21
ABSTRACT	25
INTRODUÇÃO.....	29
Coagulação Sangüínea.....	30
Mecanismos reguladores da coagulação	31
Trombose Venosa Profunda (TVP)	31
Inflamação e TVP	33
Monócitos	34
Linfócitos.....	34
Associação entre a inflamação e a TVP	35
Inflamação e resolução do trombo	37
OBJETIVOS	41
CASUÍSTICA E METODOLOGIA.....	44
Casuística	45
Metodologia	46
Coleta das Amostras.....	46
Separação das Células Mononucleares	46
Extração do RNA	47
Análise da Qualidade do RNA.....	47
Purificação do RNA.....	48
Confecção do <i>Microarray</i>	48
Seleção dos Clones	48
Amplificação dos Clones.....	49

Purificação dos Produtos de PCR.....	49
Impressão e Fixação dos Clones à Lâmina.....	50
Marcação das Sondas	51
Síntese da primeira fita de cDNA	51
Síntese da segunda fita de cDNA	52
Purificação do cDNA.....	52
Transcrição in vitro.....	52
Purificação do RNAa.....	52
Marcação do RNAa.....	52
Hibridização	53
Lavagem das Lâminas	53
Processamento das Imagens.....	53
Validação dos Genes Diferencialmente Expressos	54
PCR Quantitativo em Tempo Real (qRT-PCR).....	54
Desenho dos Primers para qRT-PCR	55
Concentração de Primer	55
Eficiência de Reação	56
RESULTADOS	59
Casuística	60
<i>Microarrays</i> a partir de RNAa.....	61
Análise dos Dados	61
Validação dos Genes Diferencialmente Expressos	68
AZU1: NM_001700.3	70
CASP4: NM_001225.3.....	70
CRTAP: NM_006371.4	71
EEF1A2: NM_001958.2	71

FLT1: NM_002019.4	71
IGHM: BC_009851.2.....	72
MGST2: NM_001204366	72
POLR2J: NM_006234.4	73
SLPI: NM_003064. 2.....	73
DISCUSSÃO	84
CONCLUSÃO	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

LISTA DE ABREVIATURAS

TVP – Trombose Venosa Profunda 32349199

IL – Interleucina

TNF- α – Fator de necrose tumoral - α

RNA – Ácido ribonucléico

EST – Expressed Sequence Tag

DMSO - Dimetilsulfóxido

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

SAF – Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide

cDNA – DNA complementar

ESP – TVP Espontânea

FR – TVP com Fator de Risco

I – Induzidos

R – Reprimidos

ORESTES - Open Reading frame ESTs

qRT-PCR – PCR em Tempo Real

vs – versus

M – Mulheres

H – Homens

aRNA – RNA amplificado

cRNA – RNA complementar

TA – Temperatura ambiente

rpm – Rotações por minuto

μ L - Microlitros

mM - Milimolar

SSC – Citrato de Sódio

SDS – Dodecil Sulfato de Sódio (*Sodium Dodecyl Sulfate*)

GAPDH - Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

dNTP - Desoxirribonucleotídeo fosfatado

MgCl₂ – Cloreto de magnésio

β-actina - Beta actina

AZU1 – *Azuricidin 1*

CASP4 – Caspase 4

CRTAP – *Cartilage –associated protein*

EEF1A2 – *Elong factor 1, alpha 2*

FLT1 – *Vascular endothelial growth factor*

IGHM – *Immunoglobulin Heavy Chain Constant region mu*

MGST – *Glutathion S-transferase, microsomal 2*

POLR2J – *RNA polymerase II subunit J*

SLPI – *Secretory leukocyte peptidase inhibitor*

Lista de Tabelas e Figuras

Lista de Figuras

Figura 1. Separação dos componentes do sangue, usando a solução Ficoll-Hypaque, através da centrifugação.....	47
Figura 2. Mapa de consolidação utilizado para a localização dos clones fixados à lâmina.....	52
Figura 3. Grades de pares de <i>Microarrays</i> demonstrando a emissão de sinais pelas triplicatas de um mesmo clone.....	62
Figura 4. <i>Microarrays</i> a partir do <i>pool</i> de <i>RNAa</i> de pacientes com TVP espontânea (ESP) versus controle (CTL) (A e B) e sua respectiva inversão de marcação (C).....	63
Figura 5. <i>Microarrays</i> a partir de <i>RNAa</i> do <i>pool</i> de pacientes com TVP com presença de fator de risco (FR) versus controle (CTL) (A) e sua respectiva inversão de marcação (B).....	64
Figura 6. <i>Microarrays</i> a partir de <i>RNAa</i> do <i>pool</i> de pacientes com TVP na presença de SAF versus controle (CTL) (A) e sua respectiva inversão de marcação (B).....	66
Figura 7. Padrões de expressão similares dentre as réplicas experimentais para cada gene, em cada um dos grupos estudados.....	67
Figura 8 Gráficos comparativos da expressão do gene AZU1.....	75
Figura 9 Gráficos comparativos da expressão do gene CASP4.	76
Figura 10 Gráficos comparativos da expressão do gene CRTAP.....	77
Figura 11 Gráficos comparativos da expressão do gene EEF1A2.	78
Figura 12 Gráficos comparativos da expressão do gene FLT1.....	79
Figura 13 Gráficos comparativos da expressão do gene IGHM.....	80
Figura 14 Gráficos comparativos da expressão do gene MGST2.....	81
Figura 15 Gráficos comparativos da expressão do gene POLR2J.....	82
Figura 16 Gráficos comparativos da expressão do gene SLP1.....	83

Lista de Tabelas

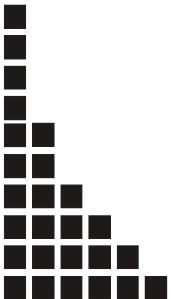
Tabela 1 Número de pacientes divididos de acordo com o gênero e a ocorrência da TVP.....	61
Tabela 2 Valores de <i>fold change</i> e relação dos genes selecionados para validação através da técnica de qRT-PCR.....	68
Tabela 3 Concentração de <i>primers</i> empregados na amplificação dos genes de estudo e eficiência da amplificação obtida.....	70

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Gráfico resultante da análise estatística (*Volcano Plot*), juntamente com o número de genes expressos com valor de corte (*Fold change*) ≥ 2 em ESP.....64

Gráfico 2. Gráfico resultante da análise estatística (*Volcano Plot*), juntamente com o número de genes expressos com valor de corte (*Fold change*) ≥ 2 em FR.....65

Gráfico 3. Gráfico resultante da análise estatística (*Volcano Plot*), juntamente com o número de genes expressos com valor de corte (*Fold change*) ≥ 2 em SAF.....66



A trombose venosa é definida como a oclusão de um vaso do sistema venoso. Três fatores básicos para a formação de um trombo no interior dos vasos são: alteração do fluxo sanguíneo, da parede vascular e/ou dos elementos sanguíneos. A trombose venosa e a embolia pulmonar, que ocorre como uma complicação subsequente representa uma causa importante de morbidade e mortalidade em pacientes hospitalizados. A frequência da trombose venosa foi estimada em aproximadamente 1/1000 na população em geral. Na maior parte dos casos existe uma tendência para trombose determinada pela presença de um fator causal herdado ou adquirida, ou pela interação desses fatores, bem como por variações genéticas que determinam alterações nos níveis das proteínas pró-coagulantes e anticoagulantes.

Dados da literatura têm sugerido a associação de mecanismos inflamatórios com a fisiopatologia da trombose venosa profunda (TVP). Os monócitos, estimulados por citocinas ou endotoxinas, expressam fator tecidual, o maior indutor da coagulação sanguínea, e que também tem a função de sinalização para a mobilidade celular e vascular. Os leucócitos apresentam receptores capazes de ligar e ativar o fator X da coagulação, servindo como via alternativa para a formação de trombina. As plaquetas podem aderir ao endotélio intacto e através da liberação de mediadores e citocinas como interleucina (IL)-1 e Fator de necrose tumoral- α (TNF- α), induzindo a expressão de moléculas de adesão e fator tecidual pela célula endotelial.

Com base nestes dados e considerando que a migração leucocitária é um dos principais eventos que caracterizam o processo inflamatório, justificamos a escolha de células mononucleares (monócitos e linfócitos) como células centrais do nosso estudo. Utilizando técnicas de separação de células mononucleares por centrifugação em gradiente de “Ficoll-Hypaque”, extração do Ácido ribonucleico (RNA) total, hibridação em Ácido desoxiribonucleico complementar (cDNA) -*Microarray*, e validação usando a reação

em cadeia da polimerase em tempo real quantitativo (qRT-PCR) avaliamos do perfil de expressão gênica de alguns mediadores inflamatórios nessas células e a possível relação com a trombose venosa. Neste trabalho, usando a tecnologia de *Microarray* encontramos 60 induzidos e 56 genes reprimidos diferencialmente expressos nos pacientes com TVP, estes genes que estavam relacionados à resposta imune, inflamação, proteólise e transcrição. Destes genes diferencialmente expressos, selecionamos nove relacionados com inflamação para validação usando a técnica de qRT-PCR. Destes, somente houve aumento de expressão do gene da caspase 4 (CASP4) nos pacientes com TVP, sendo que, esta diferença se manteve no subgrupo com TVP espontâneo. Neste mesmo subgrupo, também foi verificado o aumento da expressão no gene *Elong factor 1, alpha 2* (EEF1A2).



ABSTRACT

Venous thrombosis is defined as a vessel occlusion of the venous system. Three basic factors for the formation of a thrombus inside the vessel are: changes in blood flow, vascular wall and / or blood elements. Venous thrombosis and pulmonary embolism, which occurs as a subsequent complication is a major cause of morbidity and mortality in hospitalized patients. The frequency of venous thrombosis was estimated to be approximately 1 / 1000 in the general population. In most cases there is a tendency for thrombosis determined by the presence of a causal factor inherited or acquired, or by the interaction of these factors, as well as genetic variations that determine changes in protein levels of procoagulants and anticoagulants.

Literature data have suggested the association of inflammatory mechanisms in the pathophysiology of deep venous thrombosis (DVT). Monocytes, stimulated by cytokines or endotoxin, express tissue factor, the greater inducer of blood coagulation, and also have the function of signaling for cell motility and vascular. Leukocytes have receptors that can bind and activate coagulation factor X, serving as an alternative route for the formation of thrombin. Platelets can adhere to intact endothelium and through the release of mediators and cytokines such as interleukin (IL)-1 and Tumor necrosis factor- α (TNF- α), inducing expression of adhesion molecules and tissue factor by endothelial cells.

Based on these data and considering that leukocyte migration is one of the main events that characterize the inflammatory process, we justify the choice of mononuclear cells (monocytes and lymphocytes) as the central cells of our study. Using techniques of separation of mononuclear cells by gradient centrifugation "Ficoll-Hypaque," extraction of total RNA, cDNA-*Microarray* hybridization, and validation using real time qPCR assessed the gene expression profile of some inflammatory mediators in these cells and the possible relationship with venous thrombosis. In this work using *Microarray* technology we found 60 genes upregulated and 56 downrelated differentially expressed in patients with DVT. Genes that were related to immune response, inflammation, proteolysis and transcription.

Of these differentially expressed genes, we selected nine genes that were related with inflammation to validation using qRT-PCR technique. Just one of them, the caspase 4 (CASP4) genes was differentially increased in DVT patients, this increase kept in patients with spontaneous DVT and an increased of Elong factor 1, alpha 2 (EEF1A2) gene too.



INTRODUÇÃO

Coagulação Sangüínea

O processo da coagulação sangüínea é iniciado por substâncias ativadoras, tanto da parede vascular quanto das plaquetas, e por proteínas sangüíneas. A cascata da coagulação sangüínea humana caracteriza-se essencialmente por uma série de reações enzimáticas, aceleradas por cofatores que convertem precursores inativos, zimógenos, em suas formas ativas, culminando com a produção de trombina e fibrinogênio (Tuddenham e Cooper, 1994).

A coagulação inicia-se pela expressão do fator tecidual (FT) no endotélio vascular e em células, que ao se ligar ao fator VII forma o complexo enzimático FT/VIIa que então ativa os fatores X e IX, por proteólise. A ativação do fator X é acelerada pelo complexo tenase (fatores IXa e VIIIa). Finalmente, o fator Xa formado por ambos complexos enzimáticos liga-se ao fator Va para formar o complexo protrombinase, que converte protrombina em trombina. A trombina formada ativa o fator XI em fator XIa, o qual contribui de forma efetiva na propagação da ativação da coagulação, ativando o fator IX. Além disso, a trombina cliva o fibrinogênio, liberando 4 pequenos fibrinopeptídeos. Os monômeros de fibrina gerados, rápida e espontaneamente se polimerizam formando a rede de fibrina que compõe o coágulo. Este coágulo é relativamente instável e é convertido à sua forma estável pela ação do fator XIIIa (Butenas *et al.*, 1999).

Outras proteínas não essenciais para a coagulação, mas que desempenham um papel importante na propagação desse processo inclui o cininogênio de alto peso molecular, fator XII e pré-caliceína (Butenas *et al.*, 1999).

Mecanismos reguladores da coagulação

A regulação fisiológica da coagulação ocorre em diversos locais e em fases distintas, impedindo que um processo de ativação desencadeie um episódio de trombose.

Os fatores reguladores mais importantes da superfície endotelial incluem a prostaciclina, um inibidor da adesão e agregação plaquetária; o ativador tissular do plasminogênio e seu inibidor, ambos reguladores do sistema fibrinolítico; as moléculas tipo heparina (glicosaminoglicanos), que aumentam a inativação das serino proteases pró-coagulantes, via antitrombina; e trombomodulina e proteína S, ambas reguladoras positivas da via anticoagulante da proteína C (Esmon,1987a; Nawroth e Stern,1987; Esmon,1987b; Esmon e Esmon,1984).

A coagulação sangüínea é regulada por vários mecanismos naturais de anticoagulação, tendo como seus principais representantes a antitrombina, o inibidor do fator tecidual (TFPI), e a via da proteína C (Tuddenham e Cooper,1994).

Outros inibidores plasmáticos de proteases como cofator II da heparina, α -2 antiplasmina, inibidor do ativador do plasminogênio-1, C1 inibidor, e inibidor da proteína C ativada também têm papel significativo na regulação da coagulação sangüínea (Lee *et al.*,1997).

Trombose Venosa Profunda (TVP)

A forma fluída do sangue é mantida por um balanço das atividades coagulante, anticoagulante e fibrinolítica. Enquanto o balanço hemostático previne tanto a hemorragia quanto a coagulação inapropriada, a coagulação descontrolada pode levar à doença tromboembólica (Appleby e Olds, 1997).

A TVP é definida como a oclusão de um vaso do sistema venoso. A fisiopatologia da formação de um trombo no interior dos vasos já é conhecida desde

os trabalhos pioneiros de Virchow, que demonstrou os 3 fatores básicos envolvidos: alteração do fluxo sanguíneo, da parede vascular e/ou dos elementos sanguíneos.

A prevalência da TVP foi estimada em aproximadamente 1/1000 na população em geral. A TVP em membros inferiores e a tromboflebite superficial são os eventos primários mais comuns. A embolia pulmonar pode ocorrer subsequente, sendo uma complicação com maior risco de vida e uma causa importante de morbidade e mortalidade em pacientes hospitalizados. A TVP de membros superiores, visceral e cerebral, são menos frequentes.

Nos indivíduos com tendência hereditária a trombose, o primeiro episódio trombótico ocorre geralmente entre 15 e 40 anos de idade, embora não seja incomum em idades mais tardias. Mais de 50% dos indivíduos afetados apresentam recorrência do episódio trombótico. A história familiar de trombose é facilmente reconhecida, indicando que os fatores genéticos têm um importante papel na patogênese da doença. Fatores de risco adquiridos podem interagir com a predisposição genética, sendo responsáveis por desencadear o primeiro episódio trombótico em metade dos pacientes com trombofilia hereditária (de Stefano *et al.*, 1994).

A TVP deve ser considerada uma desordem multifatorial, decorrente de interações entre os defeitos gênicos que predispõem à trombose, bem como variações genéticas normais que interferem nos níveis das proteínas pró-coagulantes e anticoagulantes, e fatores adquiridos (Appleby e Olds, 1997).

Mutações nos genes da proteína C, proteína S e antitrombina são causas bem estabelecidas de doença tromboembólica venosa. A causa mais freqüente de trombofilia hereditária, descoberta recentemente, é a presença da mutação no gene do fator V (FV), ou FV de (Leiden), que acomete 20 a 40% da população com trombose. A segunda mutação mais freqüente é a G20210A no gene da protrombina, associada a um aumento nos níveis plasmáticos de protrombina. Outras alterações raras incluem

a disfibrinogenemia, alterações do plasminôgeno e da trombomodulina (Appleby e Olds, 1997; Lane *et al.*, 1996).

Previamente, estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa demonstraram que a prevalência de trombofilia hereditária em um grupo de pacientes brasileiros com TVP acompanhados pelo Hemocentro da Unicamp foi semelhante ao descrito em outras populações (Arruda *et al.*, 1995; Arruda *et al.*, 1997a e b; Mello *et al.*, 2010).

Quanto aos fatores de risco adquiridos já estão bem definidos a idade, cirurgias, gravidez, uso de anticoncepcional ou reposição hormonal, imobilização, neoplasia, obesidade, varizes, síndrome do anticorpo antifosfolípido e doenças mieloproliferativas. O aumento do fibrinogênio, fator VIII, e fator XI foram sugeridos como fatores de risco para TVP, mas os mecanismos responsáveis por essas alterações ainda não foram definidos (Koster *et al.*, 1994; Kamphuisen *et al.*, 1999; Meijers *et al.*, 2000). Recentemente, foi demonstrado que elevadas concentrações de fator tissular, pode ser um estar associado ao desencadeamento da embolia pulmonar, uma das principais complicações da TVP (Manly *et al.*, 2010).

Assim, apesar dos recentes avanços no reconhecimento de fatores etiológicos congênitos e adquiridos para TVP, em uma boa parcela de casos, nenhum fator é identificado. Além disso, indivíduos expostos a um mesmo fator de risco apresentam quadro clínico diverso. Portanto, a identificação de novos fatores congênitos ou adquiridos, relacionados à trombofilia torna-se interessante, contribuindo para o conhecimento da fisiopatologia da doença e orientações clínicas terapêuticas.

Inflamação e TVP

A inflamação é a reação do organismo a um agente infeccioso, a um antígeno, ou mesmo apenas a uma lesão física. Entretanto, a inflamação persistente pode contribuir para condições patológicas. O processo inflamatório compreende três eventos principais:

- Aumento do suprimento sangüíneo para a área afetada

- Aumento da permeabilidade capilar (com conseqüente escape de anticorpos, complemento, etc. para o local da lesão)

- Migração dos leucócitos do lúmen capilar para os tecidos circundantes. Na fase inicial da inflamação, os neutrófilos são particularmente prevalentes. No entanto, tardiamente, os monócitos e os linfócitos também migram para o local inflamado.

A inflamação é controlada por citocinas, por substâncias geradas por sistemas enzimáticos do plasma e por mediadores vasoativos liberados pelos leucócitos (Abba e Stites, 1992; Roitt *et al.*, 1999).

Monócitos

O grupo de células fagocitárias de maior sobrevivência compreende a linhagem fagocítica mononuclear (monoblasto → pro-monócitos → monócitos → macrófagos), cuja função é a neutralização, o englobamento e a destruição de partículas, incluindo os agentes infecciosos. Em função disso, estas células estão estrategicamente localizadas em locais onde estes elementos possam estar presentes. Estas células também são muito eficientes na função de internalizar, processar e apresentar o antígeno às células T. Os monócitos participam tanto da resposta imune inata como da adaptativa (Roitt *et al.*, 1999).

Estudos recentes em ratos demonstraram que monócitos expressam Ly6C e são recrutados dentro do tecido onde passam pela ativação de uma resposta dependente do patógeno, por uma resposta patógeno-dependente (Auffray *et al.*, 2009). A contribuição do Ly6C na formação ou resolução do trombo ainda não está clara, porém um estudo sugere uma relação com a reparação do tecido (Saha *et al.*, 2011).

Linfócitos

Os linfócitos são as células que reconhecem especificamente e respondem aos antígenos estranhos através da proliferação e diferenciação em células efetoras cuja

função é a eliminação do antígeno. A resposta imune específica é iniciada pelo reconhecimento desses antígenos estranhos por linfócitos específicos. A fase efetora da imunidade específica exige a participação de vários mecanismos de defesa, inclusive o sistema complemento, fagócitos, células inflamatórias, e citocinas, que também operam na imunidade natural. A resposta imune específica amplifica os mecanismos da imunidade natural e aumenta seu funcionamento, particularmente diante de repetidas exposições ao mesmo antígeno estranho. Os linfócitos consistem de subgrupos distintos que são bastante diferentes em suas funções e produtos protéicos (Abba e Stites 1992).

Associação entre a inflamação e a TVP

A ativação e sinalização das células da parede vascular e das células circulantes do sangue, bem como suas interações diretas de adesão, são cruciais para a regulação da homeostasia vascular em relação às respostas vasomotoras, inflamação, hemostasia e reparo de lesões.

Em condições de “stress”, inflamação ou infecção, o direcionamento dos leucócitos seguido da adesão ao endotélio vascular mediado por pares específicos de receptores, pode induzir simultaneamente sinais que resultam na expressão de agonistas protrombóticos, como o fator tecidual. Por outro lado, a ação concomitante de citocinas inflamatórias pode regular negativamente os mecanismos anticoagulantes do endotélio (May *et al.*, 1999; Wakefield *et al.*, 1993; Van der Poll *et al.*, 1990).

Dados da literatura mostram que as células inflamatórias estão implicadas na gênese de doenças vasculares trombóticas. Os monócitos, estimulados por citocinas ou endotoxinas, expressam fator tecidual, que por sua vez também tem função na motilidade vascular e celular. Os leucócitos apresentam receptores como β_2 -integrina (Mac-1) e receptor EPR-1, capazes de ligar e ativar o fator X da coagulação, servindo como via alternativa para a formação de trombina (Altieri *et al.*, 1988; Altieri *et al.*, 1995). As plaquetas, além do seu papel central no desenvolvimento da trombose,

através da adesão e agregação aos sítios de lesão vascular, induzem sinais pró-inflamatórios através da liberação de fatores como fator ativador de plaquetas (PAF) e citocinas como TNF- α e IL-1, que por sua vez induzem a expressão de moléculas procoagulantes por leucócitos e células endoteliais (Rinder *et al.*, 1991).

Um estudo utilizando um modelo experimental de TVP em babuínos jovens avaliou a efetividade do uso no período de pré-indução de uma imunoglobulina recombinante que se liga à glicoproteína P-selectina (molécula de adesão pró-inflamatória presente em plaquetas e endotélio). Os resultados mostraram uma redução significativa da trombose e da inflamação vascular, com diminuição da expressão de citocinas pela parede do vaso e indução da resolução do trombo, através da diminuição nos níveis de IL-8, fator plaquetário 4 e MCP-1 (Wakefield *et al.*, 2000).

Em outro estudo, as concentrações plasmáticas de 3 mediadores inflamatórios que interferem na comunicação entre inflamação e coagulação foram medidos em 182 pacientes com TVP recorrente e 350 indivíduos saudáveis. Observou-se níveis significativamente elevados de IL-6, IL-8 E MCP-1 nos indivíduos com TVP (Van Aken *et al.*, 2000) em comparação ao grupo controle.

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que parece influenciar o processo inflamatório da parede do vaso e a propagação do trombo durante a TVP. Esta hipótese foi avaliada em um modelo experimental de TVP, e a neutralização da IL-10 aumentou a inflamação, enquanto a suplementação com IIL-10 (IL-10 recombinante) mostrou um decréscimo dose e tempo dependente. Este estudo confirmou o importante papel da IL-10 na regulação da inflamação e da trombose e sugere que o seu potencial de utilização como um agente terapêutico no tratamento da TVP (Cavenagh *et al.*, 1998). Alguns estudos sugerem que biomarcadores de processos inflamatórios como a selectina p, d-dímero, proteína C reativa, IL-6 e 8 têm efeitos pró-trombótico (Wakefield *et al.*, 1993; Roumen-Klappe *et al.*, 2002; Ay *et al.*, 2007; Roumen-Klappe *et al.* 2009; Ramacciotti *et al.*, 2011).

Inflamação e resolução do trombo

Fibrina/Fibrinogênio e seus produtos de degradação estão presentes em abundância no trombo. Essas moléculas são capazes de estimular o recrutamento e ativação de leucócitos, induzem a produção de citocinas como TNF e IL-1 e quimiocinas como IL-8 proteína quimiotática de monócitos (Flick *et al.*, 2007). A interação dos resíduos da cadeia γ do fibrinogênio 390-396 com Mac-1 é sugerido ser uma importante via pelo qual estas moléculas influenciam a atividade dos leucócitos (Flick *et al.*, 2004).

As células mononucleares podem também interagir com o fibrinogênio para a produção de quimiocinas através de um mecanismo dependente da TLR4 (Saha *et al.*, 2011).

Recentemente, surgiram dados que proporcionaram novas percepções sobre os mecanismos de sinalização que regulam a funções dos leucócitos durante a resolução da TVP. A deleção do gene TLR9^{-/-} retardou a resolução do trombo por um período de 2 a 8 dias após sua indução, demonstrando a importância dos leucócitos durante a resolução do trombo, via TLR9. Contudo, mais estudos são necessários para definir o papel de marcadores inflamatórios na resolução do trombo (Henke *et al.*, 2011).

Síndrome do Anticorpo Antifosfolípides

A síndrome do SAF é uma doença autoimune caracterizada clinicamente pela recorrência de eventos tromboembólicos venoso e /ou arterial ou morbidade gestacional, sendo que a principal forma de risco a vida é a SAF catastrófica, caracterizada pela falha de múltiplos órgãos (Asherson *et al.*, 2003).

A persistência da presença do anticorpo antifosfolípides é um fator de risco para desenvolver esta síndrome. Embora SAF seja considerado uma doença única, as características clínicas e biológicas do envolvimento vascular são diferentes daqueles associados com os problemas obstétricos (Meroni *et al.*, 2011).

A associação entre SAF e trombose tanto arterial como venosa é relatado por vários estudos epidemiológicos, a formação do coágulo é considerado o evento chave para as manifestações vasculares (Meroni *et al.*, 2011; Shoenfeld *et al.*, 2009; Meroni e Chiglizola 2012).

O estado trombofílico é suportado pela interferência do anticorpo anti-fosfolípidos com vários tipos celulares, como em monócitos circulantes (através da expressão do fator tecidual), na ativação plaquetária e na ativação do complemento; e interfere também em componentes envolvidos na cascata da coagulação, como na Annexina V, na ativação da proteína C e inibição da fibrinólise (Meroni e Chiglizola 2012).

Análise de *Microarray*

A análise de *Microarray* ou *Microarrays* ou ainda "biochips" são compostos de fragmentos de DNA obtidos a partir de uma sequência de bases nitrogenadas que estão no Projeto Genoma do Câncer Humano. Esta tecnologia nos permite a análise de milhares de genes simultaneamente, é utilizado como ferramenta para elaborar hipótese permitindo aos pesquisadores uma investigação de expressão gênica global, de diferentes tipos celulares (Kai et al., 2005), tecidos (Chan et al., 2009) e/ou quando submetidos ou expostos a uma condição patológica. Com o surgimento desta tecnologia, temos a possibilidade de analisar a expressão gênica e identificar e quantificar os transcritos do RNA presente nas células (Guindalini e Tufik 2007; Malone e Oliver 2011).

O princípio desta tecnologia baseia-se na hibridização entre segmentos de fita única, conhecidos como sondas que são fixadas e ordenadas em uma lâmina de vidro. Em cada sonda, encontramos milhões de cópias de um segmento gênico. As amostras de cDNA ou RNAm estudadas são marcadas com fluoróscoros, lavadas e escaneada em software específico para análise de *Microarray* para a quantificação da expressão. Atualmente, existe outra forma de fazer a análise de expressão de

Microarrays, através de chips comerciais que são encontrados com praticamente todos os genes do genoma de humanos (Guindalini e Tufik, 2007; Malone e Oliver 2011).

Assim, a tecnologia da análise de *Microarray* pode ser utilizada como uma ferramenta para gerar novas hipóteses, nos auxiliando a entender como o perfil de expressão gênica pode contribuir para a pathogenese da trombose venosa, principalmente em pacientes que não tem fatores de risco adquiridos ou hereditários conhecidos.



OBJETIVOS

Poucos estudos avaliaram a associação entre TVP e inflamação; e a mesma pode contribuir durante toda a doença. A definição de novos fatores envolvidos no processo trombótico pode contribuir para o conhecimento da fisiopatologia da doença e orientações clínicas terapêuticas.

Diante disto, o objetivo desta tese foi investigar o perfil da expressão gênica de marcadores inflamatórios expressados por células mononucleares (monócitos e linfócitos), em pacientes com TVP e controles normais.



CASUÍSTICA E METODOLOGIA

Casuística

Os pacientes foram provenientes do Ambulatório de Hemostasia do Hemocentro de Campinas, e os controles foram alunos e funcionários da mesma entidade. As amostras dos pacientes foram coletadas (6 – 24 meses) após o diagnóstico da TVP.

Foram selecionados pacientes com TVP de ambos os gêneros, com idade mediana de 36 anos (20 a 50 anos), separados de acordo com o tipo de TVP: espontânea (n=5), na presença de algum fator de risco (n=5), e na presença de anticorpo antifosfolípido - Síndrome do Anticorpo Antifosfolípido (SAF) (n=5); e controles sadios (n=15). Pacientes e controles leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo).

O diagnóstico de SAF foi caracterizado pela presença do anticorpo antifosfolípido (Anticardiolipina e/ou Anticoagulante lúpico) em duas determinações com resultados positivos consecutivos em intervalo mínimo de 12 semanas.

O critério de inclusão dos pacientes foi o diagnóstico comprovado de TVP de membros inferiores por eco-doppler. Já para a exclusão fez-se uso dos seguintes critérios: diagnóstico de trombofilia hereditária, presença de neoplasia ou de doença renal, hepática ou síndromes mieloproliferativas.

Já para o grupo controle foram utilizados os seguintes parâmetros de inclusão: nenhum antecedente pessoal ou familiar de TVP; ausência de sinais e sintomas clínicos de trombose ou flebite, ou de qualquer outra doença.

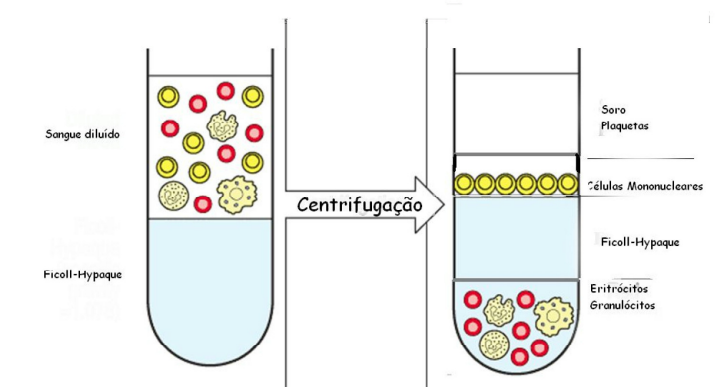
Metodologia

Coleta das Amostras

A coleta das amostras foi realizada após jejum de 8 horas e repouso de 30 minutos. Foram coletados 24mL de sangue periférico em tubo contendo EDTA (ácido etileno-diamino-tetracético, 0,1%), para a posterior extração de RNA.

Separação das Células Mononucleares

A separação e purificação das células mononucleares foram por meio de centrifugação em gradiente Ficoll-Hypaque® - Plus 1.077 (Pharmacia) (figura 1). O sangue colhido foi prontamente diluído (volume/volume) em meio RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino 10% inativado pelo calor (Cosmic Calf; Hyclone, Logan, UT). À amostra diluída foi adicionado *Ficoll*, e em seguida centrifugada a 1500 rpm, por 30 minutos em temperatura ambiente. Separou-se a fase contendo as células mononucleares, lavada por três vezes em meio RPMI 1640 por centrifugação a 1500 rpm, por 10 minutos à temperatura ambiente. Finalmente, as células foram suspensas em Trizol Reagent® e armazenadas para posterior extração do RNA.



<http://ruisoares65.pbworks.com>

Figura 1 Separação dos componentes do sangue, usando a solução Ficoll-Hypaque, através da centrifugação

Extração do RNA

A fim de preservar a integridade do RNA, o mesmo foi extraído logo após a separação das células mononucleares. Para isso, o RNA total foi obtido e purificado seguindo-se o protocolo Trizol Reagent® (Invitrogen), que usa por princípio solução monofásica de fenol/guanidino isotiocianato, rompendo as células e seus componentes e mantendo a integridade do RNA.

Após 5 minutos de incubação à temperatura ambiente, acrescentou-se clorofórmio (CHCl_3) à amostra, incubando-a novamente. Em seguida a mesma foi centrifugada a 13500 rpm, a 4 °C, por 15 minutos. Nesta etapa obteve-se uma solução bifásica, uma orgânica e outra aquosa, a qual contém o RNA. Transferiu-se esta fase para outro *ependorf* e adicionou-se isopropanol ($\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$). Incubou-se o material por 10 minutos em temperatura ambiente e realizou-se uma nova centrifugação a 13500 rpm, a 4 °C, por 10 minutos. Verteu-se o sobrenadante, mantendo o *pellet*, acrescentando-se etanol 75%. Centrifugou-se novamente, a 11500 rpm, a 4 °C, por 5 minutos, para que houvesse a sedimentação do RNA e descartou-se o sobrenadante. O material foi ressuspenso em água estéril contendo DEPC (dietilpirocarbonato), mantido em gelo (5 minutos) para entrar em solução e incubado a 65 °C por 10 minutos para inibir a ação de RNases. Armazenou-se o material a -80 °C. (Chomczynski *et al.*, 1987).

Análise da Qualidade do RNA

A quantificação do RNA foi realizada através da leitura de uma alíquota da amostra no espectrofotômetro em comprimento de onda equivalente a 260 nm, considerando-se que $1\text{DO}_{260\text{nm}}$ equivale a 40 µg/mL de RNA. A relação entre as leituras realizadas a 260 e 280 nm foi utilizada como parâmetro na estimativa do grau de contaminação do RNA por proteínas. Invariavelmente, o valor desta relação deve estar contido na faixa de 1,7 a 2,1.

A análise da qualidade do RNA extraído realizou-se por eletroforese da amostra em gel de agarose 1% com formaldeído, e visualização das bandas 28S e 18S, correspondentes ao RNA ribossomal.

Purificação do RNA

Para evitar que possíveis contaminantes pudessem alterar os resultados, os RNAs receberam o tratamento de purificação pelo método fenol-clorofórmio e uso de colunas Microcon YM-30 (Millipore), que consistiu na adição de H₂O e fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1), seguida de centrifugações.

Confecção do Microarray

Seleção dos Clones

A seleção dos clones realizou-se no Laboratório de Genômica e Expressão (LGE) da Universidade Estadual de Campinas, sob a coordenação do Prof. Dr. Gonçalo Amarante Guimarães Pereira, em 1526 placas, as quais contêm aproximadamente 82.000 clones. Através de buscas por palavras-chave no NCBI foram selecionadas seqüências do genoma humano (nucleotídeos) relacionadas a genes de interesse. Estas seqüências foram submetidas a um Blastn (Basic Local Alignment Search Tool nucleotide versus nucleotide – NCBI) contra o banco de seqüências do contidos no LGE para garantir a qualidade e similaridade das mesmas, gerando assim, 768 clones para a confecção do *Microarray*.

Os fragmentos selecionados foram rearranjados e inoculados em microplacas de 96 poços, em meio nutritivo, e crescidos em estufa a 37 °C, *overnight*, para posterior reação de polimerização em cadeia (PCR).

Amplificação dos Clones

Os clones selecionados foram submetidos a PCR, gerando-se cópias das seqüências específicas requeridas. Para amplificação dos insertos de cDNA, foram utilizadas seqüências flanqueadoras (*primers*) conhecidas ao vetor pUC 23.

Seqüência M13F/pUC23F	5' – CCC AGT CAC GAC GTT GTA AAA CG – 3'
Seqüência M13R/pUC23R	5' – AGC GGA TAA CAA TTT CAC ACA GG – 3'

Seguiu-se a seguinte reação: água destilada, tampão de PCR (10x), dNTP (solução dinucleotídio trifosfato - dATP, dTTP, dCTP, dGTP - 1,25 mM), cloreto de magnésio ($MgCl_2$ – 50 mM), *primer* M13F e M13R (5 pmol/ μ L) e taq DNA polimerase (5 U/ μ L).

Fez-se uso da seguinte programação em termociclador para que, através de variações de temperatura, ocorresse a clonagem do DNA: 95 °C / 20 segundos (desnaturação do DNA genômico); 52 °C / 30 segundos (anelamento *dos primers*); 60 °C / 1 minuto (síntese da seqüência alvo); 35 ciclos.

O produto amplificado foi visualizado por eletroforese em gel de agarose 1%.

Purificação dos Produtos de PCR

Após a amplificação, os produtos de PCR dos clones selecionados foram submetidos a uma purificação em placas MultiScreen® (Millipore) e Sephadex G50® (Sigma-Aldrich), para a exclusão de oligonucleotídeos da solução, e eliminação dos resíduos dos reagentes da reação de PCR, segundo o protocolo descrito a seguir.

As placas de filtro foram preenchidas com Sephadex G50 e adicionou-se água destilada às mesmas. Após incubação em temperatura ambiente por um período de 3 horas, as mesmas foram centrifugadas a 910 x g, por 5 minutos, para que houvesse o “empacotamento” das colunas. Adicionou-se o volume total das PCRs dos clones, e centrifugou-se novamente para que se obtivesse um filtrado contendo o DNA purificado. Acrescentou-se acetato de sódio (3M, pH = 5,2) e isopropanol, incubando-

se em seguida a 4 °C, por 1 hora. Em seguida, realizou-se uma nova centrifugação a 2000 x g, a 4 °C, por 30 minutos. Descartou-se o sobrenadante, e acrescentou-se etanol 70% para a lavagem do *pellet* obtido. Incubou-se em temperatura ambiente, por 5 minutos, procedeu-se nova centrifugação a 2000 x g, por 15 minutos para que em seguida fosse realizada a secagem deste *pellet* de DNA.

Impressão e Fixação dos Clones à Lâmina

Para a estampagem dos genes nas lâminas foram utilizados 5 µL de cada um dos produtos de PCR purificados, ressuspendidos em DMSO 50% e consolidados em microplacas de 384 poços, disposição esta que permite a correlação da localização de cada clone nas placas utilizadas, de acordo a um mapa de consolidação, além de atender aos requisitos do equipamento utilizado – Flexys Robot[®] (Perkin Elmer). Fez-se uso de lâminas de vidro tratadas com gama aminopropilsilano (Corning[®], Lifesciences), que serve como agente de acoplagem, para a retenção das moléculas de DNA depositadas.

O equipamento executou automaticamente a transferência do material às lâminas, em ambiente com controle de temperatura (23 °C) e umidade do ar (40%).

Após a estampagem, as lâminas foram incubadas por 2 horas a 80 °C, para aumentar a fixação do DNA à superfície da lâmina, e então, armazenadas.

O mapa de consolidação utilizado foi desenhado para atender ao número de clones a serem estampados, no caso, 768 em triplicata, perfazendo um total de 2304 pontos impressos, além dos controles positivos de β-actina e negativos de DMSO 50%, esquematizados em grades 9 x 9 , em um total de 32 grades que compõem a lâmina inteira (figura 2).

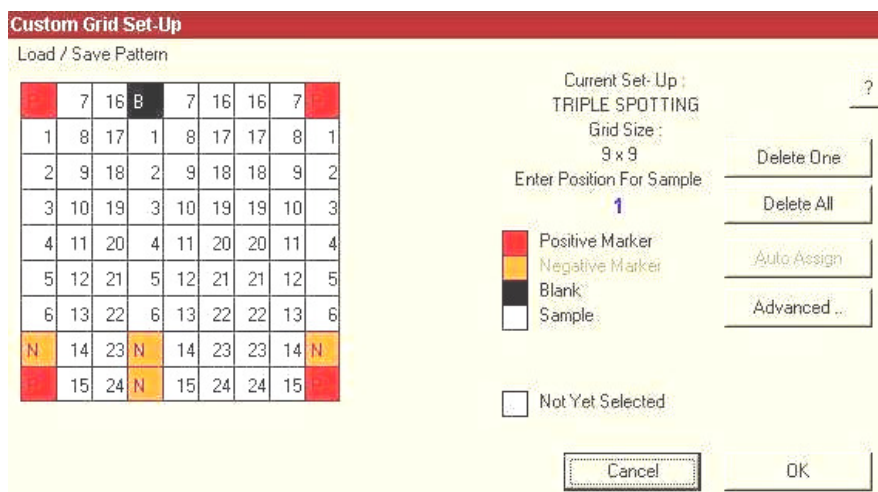


Figura 2. Mapa de consolidação utilizado para a localização dos clones fixados à lâmina. Em vermelho tem-se os controles positivos; em laranja, os negativos; em preto, ponto sem deposição de amostra, e em branco as amostras ordenadas em triplicata dentro de cada grade da lâmina .

Marcação das Sondas

Para a produção das sondas, procedeu-se com o kit de marcação indireta *Superscript cDNA Indirect Labelling System*[®] (Invitrogen), segundo orientação do fabricante.

Síntese da primeira fita de cDNA

Iniciou-se com a síntese da primeira fita de cDNA, partindo-se de 20 µg de RNAt e adição de oligo dT – 100 pmoles, e incubação a 70 °C, 10 minutos (para pareamento com a cauda poli A do mRNA).

Posteriormente, adicionou-se os seguintes reagentes: *SuperScript II RNase H-Reverse Transcriptase First Strand Buffer* (Invitrogen) (1x), DTT (10 mM), dNTP mix contendo nucleotídeos amino-modificados (0,5 mM), RNaseOUT (2 U/µl), *Superscript Reverse Transcriptase* (400 U), incubados a 42 °C, por 2 horas.

Síntese da segunda fita de cDNA

À reação da síntese da primeira fita de cDNA, adicionou-se os seguintes reagentes (kit- Clontech): H₂O, *Advantage PCR buffer*, dNTP mix (10 mM), RNase H (2 U) e *Advantage Polymerase*, seguido de incubação a 65 °C. Acrescentou-se NaOH (0,1 N), para a degradação do RNA molde e consequente interrupção da reação.

Purificação do cDNA

Para a purificação do cDNA obtido, adicionou-se à reação H₂O e fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1) e, em seguida, foi centrifugada a 13.000 rpm, por 5 minutos, em TA. Recuperou-se a fase aquosa, que foi prontamente lavada em coluna Microcon YM-30 (Millipore), centrifugada a 13000 rpm, 9 minutos em TA, por 3 vezes.

Transcrição in vitro

Fez-se uso do kit RiboMAX Large Scale RNA Production System – T7 (Promega), que contém os seguintes reagentes que foram misturados ao cDNA: reaction Buffer(5x), rNTP (25 mM), mix de enzimas (Rnase *inhibitor* e T7 *phage polymerase*); e incubou-se a 37 °C, 5 horas.

Purificação do RNAa

Utilizou-se colunas RNeasy Mini Kit (QIAGEN), prosseguindo conforme orientações do fabricante, fazendo uso de Buffer RLT com β-mercaptoetanol e RPE, e centrifugações seguidas. A concentração da solução foi estimada através de leitura em espectrofotômetro.

Marcação do RNAa

Precipitou-se o RNAa em etanol e ressuspendeu-se o mesmo em Coupling Buffer (kit - Invitrogen). Em seguida, acrescentou-se o fluoróforo - *Alexa Fluor 647 ou 555 Reactive Dye Decapack[®]* (Amersham Biosciences). Incubou-se a reação em

temperatura ambiente por 1 hora, e fez-se uso novamente da *S.N.A.P. Column Purification*[®]. Ao fim desta etapa, recuperou-se a sonda a ser utilizada na hibridização.

Hibridização

Para que ocorresse a hibridização, acrescentou-se à sonda a seguinte solução: SSC (5x); Denhardt's (4,2X); DNA de esperma de salmão (0,21 mg/ml); SDS (0,42%), formamida (42%), incubando-a a 94 °C, por 5 minutos para que houvesse a desnaturação da amostra.

Esta solução foi aplicada à lâmina já acondicionada à estação de hibridização (Gene TAC HybStation, Gennomic Solutions). A hibridização foi realizada a 42 °C por 16 horas.

Lavagem das Lâminas

Esta etapa é de fundamental importância, pois elimina a sonda não incorporada, evitando-se assim, o aparecimento de sinais inespecíficos (*background*).

A lavagem foi realizada e repetida a 37 °C por 10 minutos, em cada uma das soluções: SSC (2X); SSC (0,1X) e SDS (0,1%); SSC (0,1X). Após a lavagem, as lâminas foram centrifugadas a 700 x g, 7 minutos, a fim de garantir a completa secagem das mesmas.

Processamento das Imagens

Para a digitalização das imagens, foi utilizado o *scanner GeneTAC[™] Microarray Analyzer[®]* (Perkin Elmer). O mesmo permite que as condições marcadas pelos fluoróforos sejam armazenadas em canais de imagem distintos, uma vez que estes operam em comprimentos de ondas diferentes, sendo que Cy3 absorve energia em 550 nm e emite a 570 nm e Cy5 absorve energia em 640 nm e emite a 670 nm. Desta forma, o programa utilizado - *GeneTAC Biochip Analyzer* (Perkin Elmer) - processa as imagens e quantifica a expressão gênica de acordo com a emissão da intensidade de sinal de cada fluoróforo. Para a marcação das sondas, foram utilizados os fluoróforos

Alexa 555 e Alexa 647 (Amersham Biosciences) que operam similarmente ao Cy3 e Cy5, respectivamente.

Validação dos Genes Diferencialmente Expressos

PCR Quantitativo em Tempo Real (qRT-PCR)

A qRT-PCR é uma técnica utilizada para a avaliação da expressão gênica conforme relatado anteriormente por Lanaro, 2007. A expressão é dita relativa porque leva em consideração também a expressão de controles endógenos como β -actina e GAPDH. A técnica consiste no monitoramento óptico da fluorescência emitida durante a reação de PCR (Higuchi *et al.*, 1993), através da ligação de uma sonda específica ou um corante, na fita recém sintetizada.

As amostras de cDNA utilizadas na reação de qRT-PCR foram quantificadas em espectrofotômetro (NanoDrop Technologies, Inc., Rockland, DE).

As reações foram feitas em duplicata utilizando como sistema de detecção o reagente SYBRTM Green PCR Master Mix[®] (Applied Biosystems, USA), que além de conter todos os reagentes necessários para PCR (dNTP's, MgCl₂, tampão, Taq Ampli-Gold), contém o corante SYBR Green; uma molécula que emite maior quantidade de sinal fluorescente ao intercalar com DNA dupla fita. Para cada gene analisado foram utilizados *primers* específicos.

A detecção da amplificação em tempo real foi realizada no aparelho 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems, USA), em gráficos de fluorescência *versus* número de ciclos. Quanto maior a expressão de um determinado gene, isto é, quanto mais cópias existirem dele no início da reação, mais precocemente ocorrerá a amplificação e conseqüentemente, menor será o ciclo de *threshold* (Ct).

Todas as amostras foram ensaiadas em 12 μ l de volume final; sendo 6 μ l do reagente SYBR Green PCR Master Mix[®], 3 μ l de amostra de cDNA (na concentração de 10 ng/dL) e 3 μ l dos primers na concentração ótima determinada. Em todas as placas foram pipetados controles negativos (NTC), ou seja, para cada *primer* avaliado

foram feitos poços contendo água estéril em substituição à amostra. As reações foram realizadas em placas de 96 poços (Sorenson, BioScience Inc) com tampas plásticas que permitem a passagem da luz. O programa foi iniciado a 95 °C/10 minutos, seguido de 45 ciclos: 95 °C/15 segundos e 60 °C/1 minuto. Ao final de uma amplificação normal adiciona-se um passo de 20 minutos, no qual a temperatura aumenta gradualmente de 60° para 88 °C. À medida que os produtos gerados por PCR desnaturam com o aumento de temperatura, diminui o sinal fluorescente do SYBR Green. O gráfico resultante permite verificar se há um ou mais produtos de PCR presentes em cada reação, devido a diferenças de T_m (temperatura de *melting*) entre os produtos de PCR causadas pelo número e composição de bases de cada produto.

Desenho dos Primers para qRT-PCR

Os *primers* utilizados nas reações de qRT-PCR foram desenhados com o uso do *software Primer Express* (Applied Biosystems, USA). Os fragmentos escolhidos foram submetidos ao programa *Blast* (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) para confirmar homologia com o gene de interesse. A formação de estruturas como *hairpins* e *dimers* também foram avaliadas através do programa *Gene Runner, Version 3.05* (Hastings Software, Inc).

Concentração de Primer

Em PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR) a concentração ideal de *primer* a ser utilizada, deve ser a mínima suficiente para permitir a duplicação de todas as cópias do material a cada ciclo de reação. Para isso, utilizando a mesma quantidade de amostra, foram feitas reações contendo cada um dos *primers* (sense e anti-sense) nas concentrações finais de 70 nM, 150 nM e 300 nM. A melhor concentração foi a que o gene de interesse obteve o menor valor de Ct, ou seja, a concentração em que o gene foi amplificado mais precocemente.

Eficiência de Reação

A reação de qRT-PCR precisa ser confiável e reprodutiva. Para isso são necessárias condições ótimas de reação, onde as amplificações apresentem 100% de eficiência a cada ciclo da reação de PCR. A eficiência de amplificação é obtida através da fórmula $10^{(-1/slope)}$, onde *slope* é derivado da inclinação da curva, e esse valor quando aplicado a fórmula de eficiência, tem que ser próximo de 2, o que significa que a cada ciclo de amplificação o material genômico está sendo duplicado, com 100% de eficiência (Meijerink *et al.*, 2001).

Análise dos Dados do qRT-PCR

A expressão dos genes de interesse foi determinada de forma relativa, ou seja, os valores de expressão são normalizados em relação a genes chamados de “controles endógenos”. Neste trabalho foi utilizado o gene da β -actina e GAPDH, que são genes cuja expressão é dita constitutiva, ou seja, apresentam pouca variação entre diversas condições. No entanto, alguns trabalhos vêm demonstrando que a expressão desses genes pode variar consideravelmente (Vandesompele, *et al.*, 2002; Schmittgen, *et al.*, 2000).

Os valores de Ct de cada gene foram obtidos em duplicata, dessa forma, foram calculadas as médias aritméticas destas, para cada amostra que teve um determinado gene estudado. Em seguida foi obtido o valor de delta Ct (ΔCt), que consistiu na subtração do menor Ct de um gene de uma determinada amostra com os demais Cts desse mesmo gene de outras amostras estudadas. O próximo cálculo foi o de “Q” valor, que corresponde a $2^{\Delta Ct}$. Os valores de Q dos genes Beta actina e GAPDH de cada amostra analisada foram submetidos ao programa geNorm (Vandesompele, *et al.*, 2002), que calculou a média geométrica entre eles, valor este denominado de Fator de Normalização da amostra. A expressão normalizada de um dado gene de interesse em uma determinada amostra foi dada pela razão entre o valor de Q do gene

de interesse da amostra pelo fator de normalização da amostra. O valor obtido foi expresso em unidades arbitrárias (UA) ou valor absoluto de expressão.



RESULTADOS

Casuística

No período de maio de 2005 a julho de 2006 foram selecionados 15 pacientes e 5 controles de ambos os gêneros, e de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Foram constituídos 3 grupos de pacientes: 5 com TVP espontânea (ESP), 5 com TVP e fator de risco (FR) e 5 com SAF (SAF). Na tabela 1 estão as características clínicas dos participantes deste estudo, separados pelos subgrupos.

Tabela 1. Caracterização dos pacientes de acordo com o gênero e o sítio da TVP.

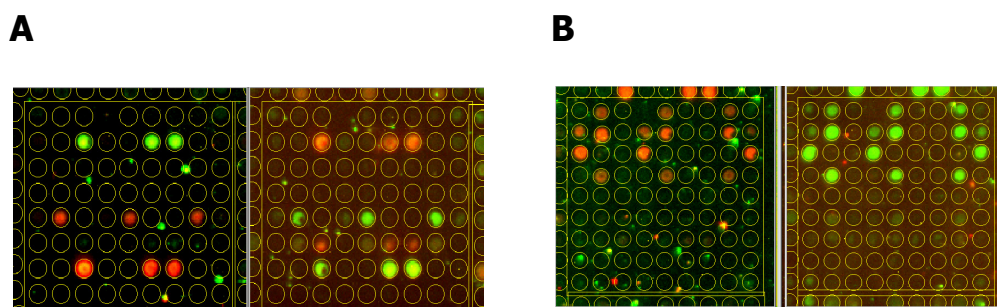
TVP	Paciente	Idade	Gênero	Etnia	Sítio da TVP
FR	EC	62	F	C	Mie
	MIM	51	F	C	Mie
	MSMS	36	F	C	Mid
	VLBB	35	F	C	Mid
	ZRR	34	F	A	Mid
ESP	CAC	44	M	C	Mie
	LB	36	F	A	Mie
	MLSM	49	F	C	Mie
	PRF	35	M	C	Mid
	RFL	32	F	C	Mie
SAF	ALCS	23	F	C	Mie
	JFO	68	F	C	Mie
	MCM	55	F		Mie
	RB	18	M	C	Mie
	SAM	45	F	C	Mid

C= caucasóide, a= afrodescendente, Mie= membro inferior esquerdo, Mid= membro inferior direito

Microarrays a partir de RNAa

Análise dos Dados

Foi realizada a confecção de um *Microarray* no qual à sonda incorporou-se o fluoróforo *Alexa Fluor 647* correspondente a cianina Cy5 (fluorescência vermelha) com um *pool* de RNAa de pacientes (para cada grupo de pacientes) e com *Alexa Fluor 555*, correspondente a cianina Cy3 (fluorescência verde) para o *pool* de RNAa dos controles, além de um *Microarray* com a marcação invertida, para determinar a eficiência de marcação das sondas pelos fluoróforos e para comprovação dos resultados (Figuras 4, 5 e 6). As figuras 3A e 3B apresentam os sinais emitidos pelas triplicatas presentes em pares de *Microarrays* produzidos, para ilustrar a reprodutibilidade dos sinais emitidos pelas mesmas, além da eficiência da inversão de marcação.



Figuras 3A e 3B. Grades de pares de *Microarrays* demonstrando a emissão de sinais pelas triplicatas de um mesmo clone.

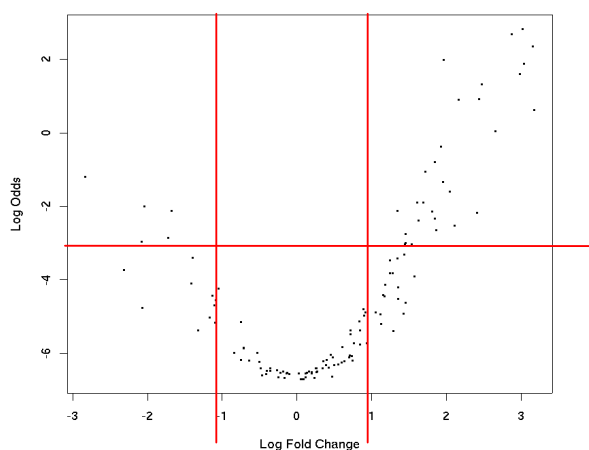


Gráfico1. Gráfico resultante da análise estatística (*Volcano Plot*), juntamente com o número de genes expressos com valor de corte (*Fold change*) ≥ 2 em ESP

Para as lâminas de TVP por fator de risco, conduzimos as análises com a área (I/R) de 0,005.

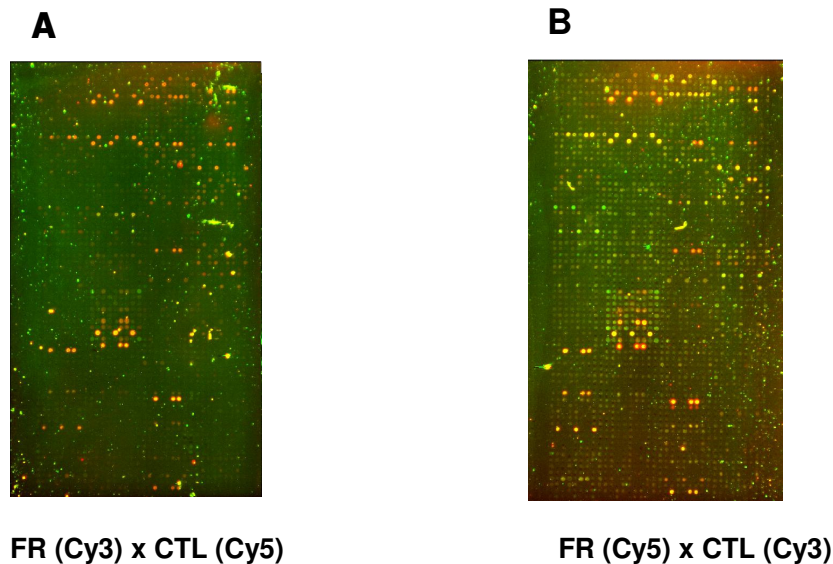


Figura 5. *Microarrays* a partir de *RNAa* do *pool* de pacientes com TVP com presença de fator de risco (FR) versus controle (CTL) (A) e sua respectiva inversão de marcação (B).

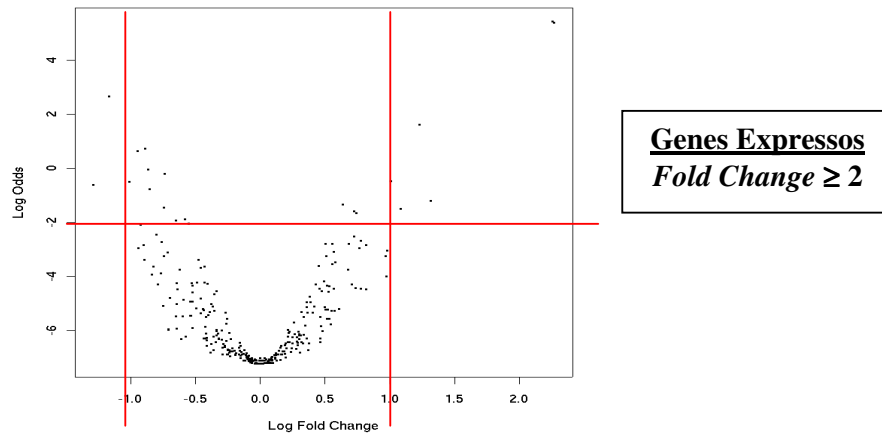
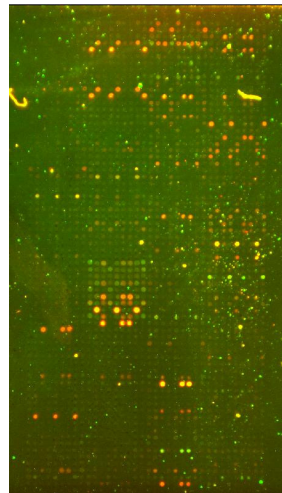


Gráfico 2. Gráfico resultante da análise estatística (*Volcano Plot*), juntamente com o número de genes expressos com valor de corte (*Fold change*) ≥ 2 em FR.

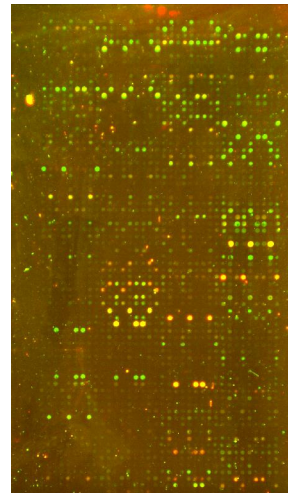
A análise estatística no grupo FR, considerando-se *fold change* ≥ 2 , revelou a presença de 5 genes induzidos e 11 genes reprimidos.

A



SAF (Cy3) x CTL (Cy5)

B



SAF (Cy5) x CTL (Cy3)

Figura 6. *Microarrays* a partir de *RNAa* do *pool* de pacientes com TVP na presença de SAF versus controle (CTL) (A) e sua respectiva inversão de marcação (B).

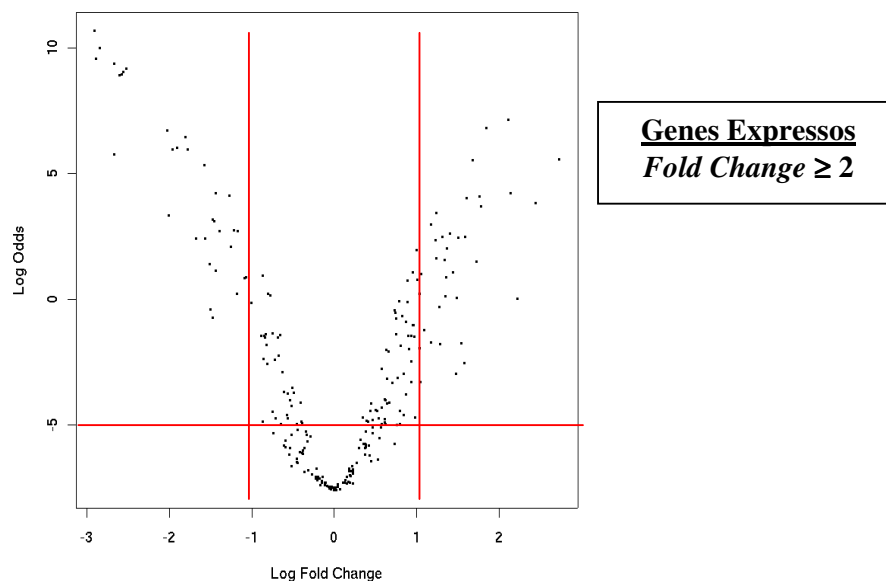


Gráfico 3. Gráfico resultante da análise estatística (*Volcano Plot*), juntamente com o número de genes expressos com valor de corte (*Fold change*) ≥ 2 em SAF.

A análise estatística, considerando-se *fold change* ≥ 2 revelou que 35 genes estavam induzidos e 30 genes reprimidos.

A figura 7 apresenta a análise funcional e agrupamento hierárquico dos genes juntamente com suas funções básicas.

Análise Funcional - Agrupamento Hierárquico

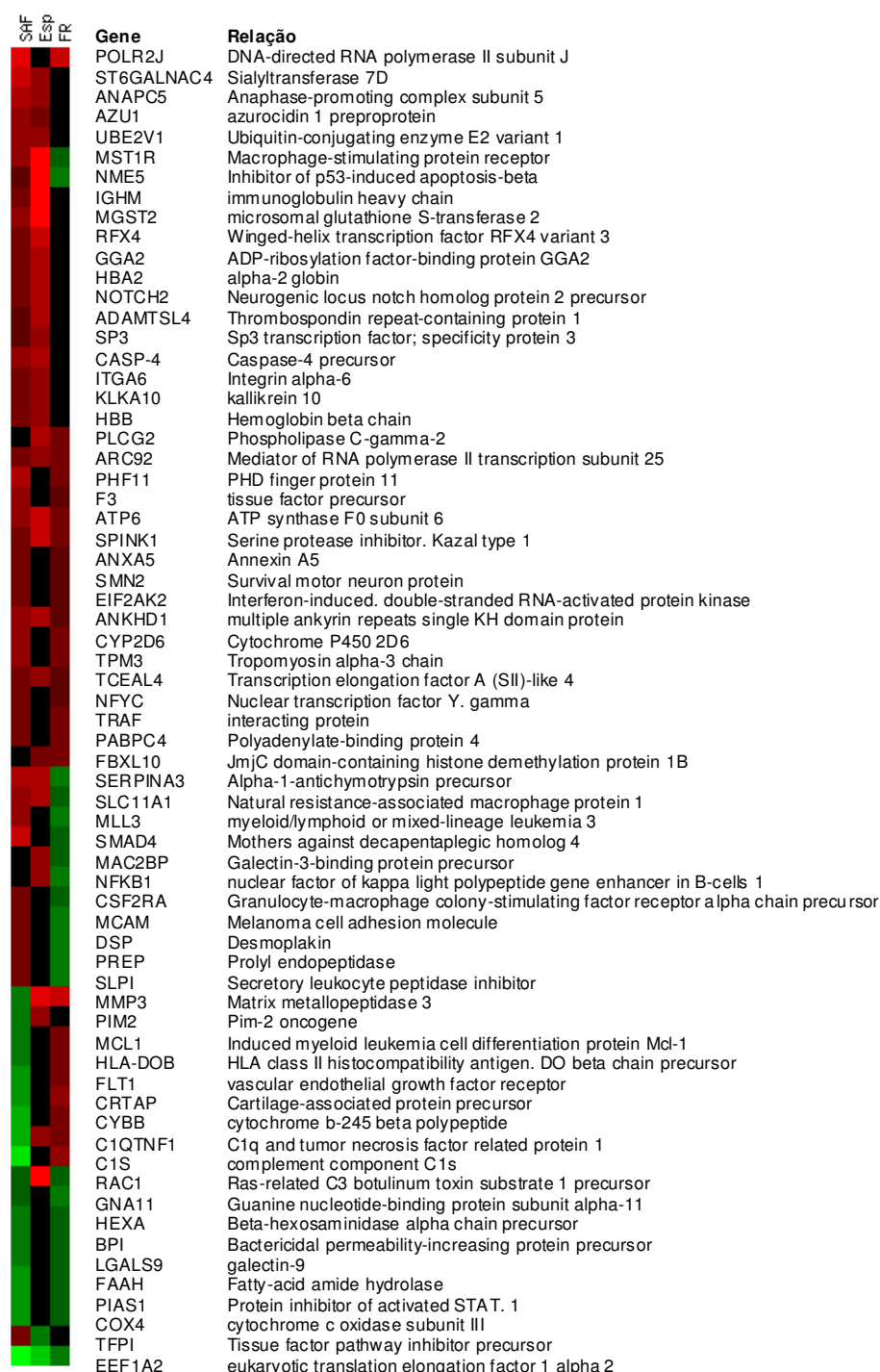


Figura 7. Padrões de expressão similares dentre as réplicas experimentais para cada gene, em cada um dos grupos estudados. Acrescentamos a identificação e função básica dos mesmos.

Pode-se notar que um mesmo gene (por exemplo: Rac), relacionado à adesão focal, está reprimido nas condições SAF e FR e induzido na condição ESP. Genes considerados não avaliados foram assim designados por estarem fora dos limites de *fold change* e p-value assumidos para a condução das análises. A tabela 2 mostra os valores *fold change* dos genes selecionados para validação através da técnica de qRT-PCR

Tabela 2. Valores de *fold change* e relação dos genes selecionados para validação através da técnica de qRT-PCR

Gene	SAF 0,01	ESP 0,01	FR 0,005
ADAMTSL4 - Thrombospondin repeat-containing protein 1	1,3	3,3	NA
ANAPC5 - Anaphase-promoting complex subunit 5	3,6	2,7	NA
ANKHD1- multiple ankyrin repeats single KH domain protein	2,3	3,6	1,4
ANXA5 - Annexin A5	1,7	NA	1,4
ARC92- Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 25	1,9	2,5	1,5
ATP6- ATP synthase F0 subunit 6	2,4	5,6	1,5
AZU1- azurocidin 1 preproprotein	2,7	2,3	NA
BPI- Bactericidal permeability-increasing protein precursor	-1,7	NA	-1,4
C1QTNF1- C1q and tumor necrosis factor related protein 1	-3,9	2,4	1,8
C1S- complement component C1s	-5,9	NA	2,5
CASP-4- Caspase-4 precursor	3,0	3,8	NA
COX4- cytochrome c oxidase subunit III	-2,9	NA	-1,3
CRTAP- Cartilage-associated protein precursor	-3,0	NA	2,4
CSF2RA - Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor alpha chain precursor	1,7	NA	-1,4
CYBB - cytochrome b-245 beta polypeptide	-3,8	NA	1,8
CYP2D6- Cytochrome P450 2D6	2,4	NA	1,5
DSP- Desmoplakin	2,0	NA	-1,8
EEF1A2 - eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 2	-7,4	-5,0	-1,7
EIF2AK2 - Interferon-induced. double-stranded RNA-activated protein kinase	1,5	NA	1,3
F3- tissue factor precursor	3,0	NA	1,4
FAAH- Fatty-acid amide hydrolase	-2,3	NA	-1,4
FBXL10- JmjC domain-containing histone demethylation protein 1B	NA	1,9	1,7
FLT1 - vascular endothelial growth factor receptor	-2,3	NA	1,5
GGA2 - ADP-ribosylation factor-binding protein GGA2	1,8	4,1	NA
GNA11 - Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-11	-1,4	NA	-1,6
HBA2- alpha-2 globin	1,6	3,6	NA
HBB- Hemoglobin beta chain	1,9	3,0	NA
HEXA- Beta-hexosaminidase alpha chain precursor	-1,8	NA	-1,3
HLA-DOB- HLA class II histocompatibility antigen. DO beta chain precursor	-1,8	NA	1,6
IGHM- immunoglobulin heavy chain	1,5	7,9	NA
ITGA6- Integrin alpha-6	2,1	2,7	NA
KLKA10- kallikrein 10	2,0	2,7	NA
LGALS9- galectin-9	-1,8	NA	-1,4

MAC2BP- Galectin-3-binding protein precursor	NA	2,4	-1,4
MCAM - Melanoma cell adhesion molecule	1,5	NA	-1,6
MCL1- Induced myeloid leukemia cell differentiation protein Mcl-1	-1,7	NA	1,7
MGST2 - microsomal glutathione S-transferase 2	2,5	7,3	NA
MLL3- myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 3	2,8	NA	-1,7
MMP3- Matrix metalloproteinase 3	-1,6	6,3	4,8
MST1R- Macrophage-stimulating protein receptor	3,0	8,2	-1,4
NFKB1- nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	NA	2,3	-1,5
NFYC- Nuclear transcription factor Y. gamma	2,0	NA	1,4
NME5- Inhibitor of p53-induced apoptosis-beta	1,4	8,1	-1,6
NOTCH2- Neurogenic locus notch homolog protein 2 precursor	1,7	4,3	NA
PABPC4 - Polyadenylate-binding protein 4	2,1	NA	2,0
PHF11- PHD finger protein 11	3,4	NA	2,0
PIAS1 - Protein inhibitor of activated STAT. 1	-2,4	NA	-1,3
PIM2- Pim-2 oncogene	-1,6	2,7	NA
PLCG2- Phospholipase C-gamma-2	NA	3,6	1,6
POLR2J- DNA-directed RNA polymerase II subunit J	6,6	NA	4,8
PREP - Prolyl endopeptidase	1,8	NA	-1,7
RAC1- R�s-related C3 botulinum toxin substrate 1 precursor	-1,3	9,0	-1,4
RFX4- Winged-helix transcription factor RFX4 variant 3	1,6	5,3	NA
SERPINA3 - Alpha-1-antichymotrypsin precursor	3,4	3,9	-1,5
SLC11A1- Natural resistance-associated macrophage protein 1	2,8	3,5	-1,3
SLPI - Secretory leukocyte peptidase inhibitor	1,7	NA	-1,9
SMAD4 - Mothers against decapentaplegic homolog 4	4,7	NA	-1,2
SMN2- Survival motor neuron protein	1,6	NA	1,4
SP3- Sp3 transcription factor; specificity protein 3	1,3	3,2	NA
SPINK1 - Serine protease inhibitor. Kazal type 1	2,0	5,4	1,5
ST6GALNAC4 - Sialyltransferase 7D	5,4	3,0	NA
TCEAL4- Transcription elongation factor A (SII)-like 4	1,7	2,9	1,3
TFPI- Tissue factor pathway inhibitor precursor	1,7	-2,1	NA
TPM3- Tropomyosin alpha-3 chain	2,6	NA	1,7
TRAF- interacting protein	1,9	NA	1,5
UBE2V1- Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1	3,2	2,2	NA

NA= Não avaliado

Validação dos Genes Diferencialmente Expressos

Utilizando os maiores valores de *fold change*, nós selecionamos os genes *Elong factor 1, alpha 2* (EEF1A2), *Immunoglobulin Heavy Chain Constant region um* (IGHM), *Glutathione S-transferase, microsomal 2* (MSGT2) e *RNA polymerase II subunit J* (POLR2J) para validação, alguns *primers* como o *Azuricidin 1* (AZU1), *Caspase 4* (CASP4), *Cartilage –associated protein* (CRTAP) *Vascular endothelial growth factor* (FLT1) e *Secretory leukocyte peptidase inhibitor* (SLPI) foram previamente desenhados por outro estudo em nosso laboratório e foram incorporados a este

estudo, o desenho dos primers está apresentado na tabela 1 em anexos. As concentrações usadas em cada reação estão apresentadas na tabela 3. Os demais *primers* serão desenhados e analisados posteriormente. Assim, descrição e a análise comparativa dos genes estão listadas abaixo:

Tabela 3 Concentração de *primers* empregados na amplificação dos genes de estudo e eficiência da amplificação obtida. As concentrações foram definidas pela eficiência de amplificação gerada nas condições testadas.

Primer	Concentração utilizada	Eficiência do <i>primer</i>
AZU1	70 Nm	99,7%
CASP4	150 nM	88,5%
CRTAP	150 nM	98,2%
EEF1A2	150 nM	105,7%
FLT1	150 nM	97,8%
IGHM	70 nM	77,2%
MGST2	70 nM	99,7%
POLR2J	300 nM	98,1%
SLPI	150 nM	98,4%

AZU1= *Azuricidin 1*, CASP4 = *Caspase 4*, CRTAP = *Cartilage –associated protein*, EEF1A2= *Elong factor 1alpha 2*, FLT1= *Vascular endothelial growth factor*, IGHM= *Immunoglobulin Heavy Chain Constant region um*, MSGT2= *Glutathion S-transferase, microsomal 2*, POLR2J= *RNA polymerase II subunit J* e SLPI= *Secretory leukocyte peptidase inhibitor*.

Descrição dos genes selecionados para a validação através da técnica qRT-PCR

AZU1: NM_001700.3

Azurocidin, é um dos principais componentes das vesículas secretoras, é fortemente carregado com carga positiva, podendo assim se acumular na superfície de células endoteliais carregadas negativamente. Assim, azurocidin pode se imobilizar sobre o endotélio e está exposto a células do fluxo sanguíneo. Curiosamente, azurocidin é depositado somente pela aderência, mas, não por rolamento de células polimorfonucleares, indicando que a ativação de células polimorfonucleares via integrinas β_2 é um sinal importante para o descarregamento das vesículas secretoras. Recentemente, tem sido demonstrado que azurocidin liga-se preferencialmente a monócitos e que os mesmos reconhecem azurocidin presente na superfície endotelial (Soehnlein e Lindbom 2009). A figura 8 apresenta os valores absolutos de expressão do gene AZU1 nos grupos estudados, demonstrando que não houve diferença estatisticamente significativa.

Localização: 19p13.13

CASP4: NM_001225.3

Caspase – 4, este gene codifica uma proteína que é um membro da família das caspases. A ativação seqüencial das caspases desempenha um papel central na apoptose celular. Caspases existem como proenzimas inativas, compostas por um pro-domínio e por uma subunidade de uma pequena e uma grande protease. Relatos na literatura sugerem que a caspase 4 está implicada na apoptose induzida pelo estress no retículo endoplasmático (Hitomi *et al.*, 2004). Em um recente estudo, foi descrito que a caspase 4 tem uma função na ativação da inflamatória caspase 1 em diferentes tipos celulares (Solberg *et al.*, 2012). Quando superexpresso, este gene induz a apoptose celular. A figura 9 apresenta os valores absolutos de expressão do gene CASP 4 nos grupos estudados. Os resultados demonstram um aumento estatisticamente significativo de expressão do gene CASP 4 nos pacientes com TVP , grupo total ou espontâneo em relação aos controles.

Localização: 11q22.3

CRTAP: NM_006371.4

Cartilage-associated protein, é uma proteína cuja função molecular em processos biológicos ainda são desconhecidas Usando hibridização *in situ* de RNA, Morello *et al.*, (2006) mostraram que CRTAP é altamente expressa nos condrócitos de ratos e nas células da junção condro-óssea. A maior parte da proteína CRTAP está localizada nas células, embora também tenha sido detectada na matriz extracelular. A figura 10 apresenta os valores absolutos de expressão do gene CRTAP nos grupos estudados, demonstrando que não houve diferença estatisticamente significativa.

Localização: 3p22.3.

EEF1A2: NM_001958.2

Elongation factor 1, alpha 2, é um membro da família das proteínas G e uma das quatro subunidades que constituem o *Elongation factor 1*. É a segunda proteína mais abundante depois de actina, de 1-3% para o total de proteína em células normais. EEF1A2 é expresso em células como neurônios, cardiomiócitos e miócitos e tem sido sugerido que eEF1A2 pode estar envolvido em vias de proteína preferencialmente para a síntese células não proliferativas. EEF1A2 também tem funções apoptóticas, que está possivelmente associada ao seu possível papel na tumorigênese. (Lee e Surh, 2009). A figura 11 apresenta os valores absolutos de expressão do gene EEF1A2 nos grupos estudados.

Localização:20q13.33

FLT1: NM_002019.4

Vascular endothelial growth factor, este gene codifica um membro da família de receptores do fator de crescimento vascular endotelial (VEGFR) (Kendall e Thomaz

1993). Membros da família VEGFR são receptores tirosina quinase (RTKs) que se ligam a VEGFR-A, VEGFR-B e fator de crescimento placentário desempenhando um papel importante na angiogênese e vasculogênese. A expressão deste receptor é encontrada em células endoteliais vasculares, células da placenta e monócitos do sangue periférico (Wull *et al.*, 2001). A figura 12 apresenta os valores absolutos de expressão do gene FLT1 nos grupos estudados, demonstrando que não houve diferença estatisticamente significativa.

Localização: 13q12.2

IGHM: BC_009851.2

Immunoglobulin Heavy Chain constant region mu.

As imunoglobulinas (Ig) são as moléculas de antígeno de reconhecimento de células B. Uma molécula de Ig é composta de 2 cadeias pesadas e 2 cadeias leves idênticas unidas por pontes dissulfeto. Cada cadeia pesada de Ig tem uma variável (V) na região N-terminal contendo o local de ligação ao antígeno e um C-terminal (C) constante, codificada por um gene individual região C, o que determina o isotipo de anticorpo que fornece um sinalizador das funções. A cadeia pesada região V é codificada por um de 3 tipos de genes. Os genes da região C são agrupados *downstream* dos genes da região V dentro do locus de cadeia pesada no cromossomo 14. O gene IGHM codifica a região C da cadeia mu pesada, que define o isotipo IgM. (Janeway *et al.*, 2005). A figura 13 apresenta os valores absolutos de expressão do gene IGHM nos grupos estudados, demonstrando que não houve diferença estatisticamente significativa.

Localização: 14q32.33

MGST2: NM_001204366

Glutathione s-transferase, microsomal, 2, Membro da família de proteínas associadas à membrana em Eicosanóides e metabolismo de glutathione (MAPEG), no

qual consiste em 6 proteínas humanas, alguns estão envolvidos na produção de leucotrienos e prostaglandinas E, é um importante mediador da inflamação. Este gene codifica a proteína que catalisa a conjugação do leucotrieno A4 e reduzida glutathione pela produção do leucotrieno C4 (Sijostrom *et al.*, 2001). A figura 14 apresenta os valores absolutos de expressão do gene POLR2J nos grupos estudados, demonstrando que não houve diferença estatisticamente significativa.

Localização: 4q28.3

POLR2J: NM_006234.4

RNA polymerase II Subunit J, este gene codifica uma subunidade da RNA polimerase II, a polimerase responsável pela síntese de RNA mensageiro em células eucariotóticas. O produto deste gene é um heterodímero com outra subunidade da polimerase; e juntos eles formam um núcleo da unidade subconjunto de polimerase (Michelis *et al.*, 2009). A figura 15 apresenta os valores absolutos de expressão do gene POLR2J nos grupos estudados, demonstrando que não houve diferença estatisticamente significativa.

Localização: 7q22.1

SLPI: NM_003064. 2

Secretory leukocyte peptidase inhibitor tem como principal função proteger o tecido local contra as consequências prejudiciais da inflamação, sendo liberado por leucócitos que são estimulados durante a inflamação. SLPI protege os tecidos, inibindo as proteases, como a cathepsina G, elastase e tripsina (Doumas *et al.*, 2005). A figura 16 apresenta os valores absolutos de expressão do gene SLPI nos grupos estudados, demonstrando que não houve diferença estatisticamente significativa.

Localização: 20q12

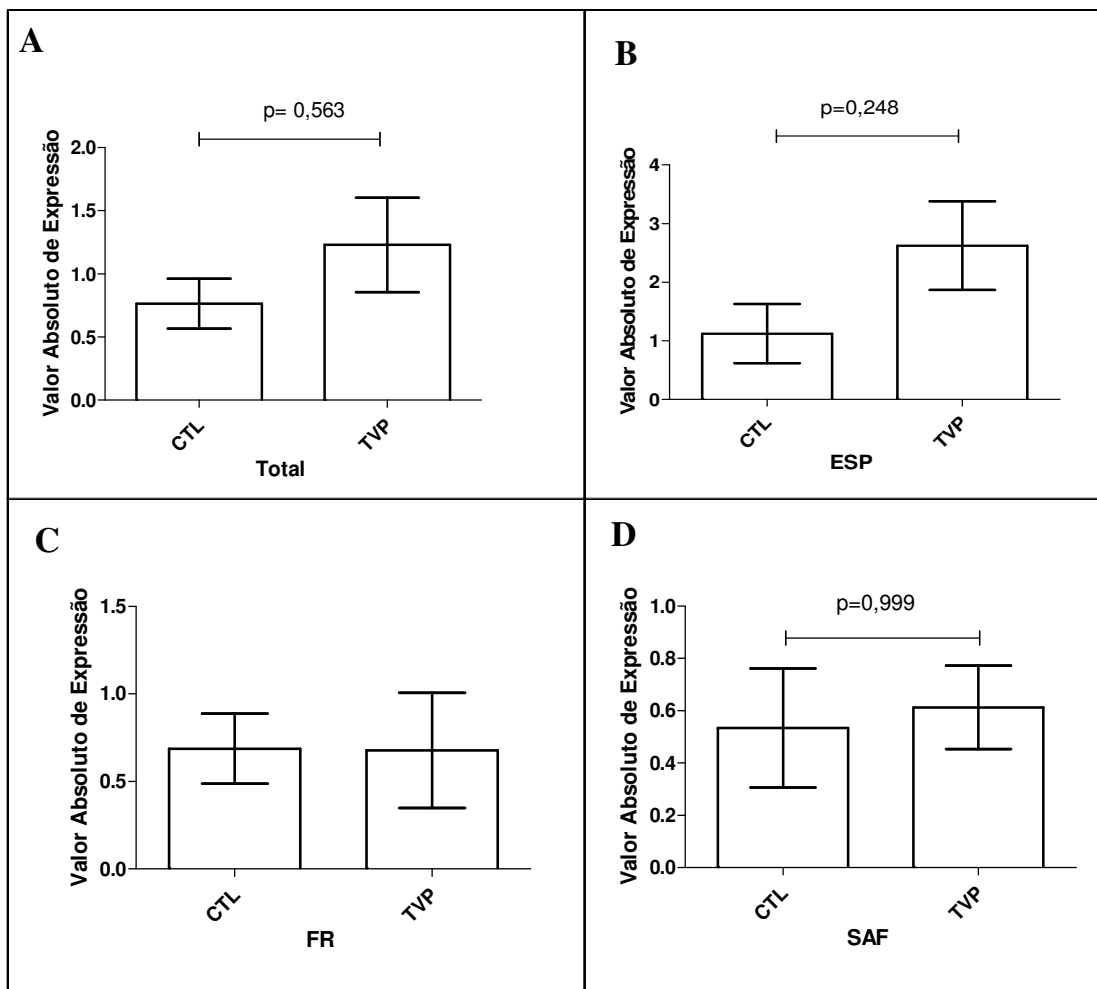


Figura 8. Gráficos comparativos da expressão do gene AZU1. (A) Comparação entre grupo CTL (n=9) e TVP (n=10). (B) Comparação entre grupo CTL (n=3) e TVP espontânea (n=3). (C) Descrição do grupo com a presença de fator de risco (n=2). (D) Comparação entre grupo CTL (n=4) e TVP (n=5) com presença de SAF. Valor de p calculados utilizando o teste de Mann-Whitney.

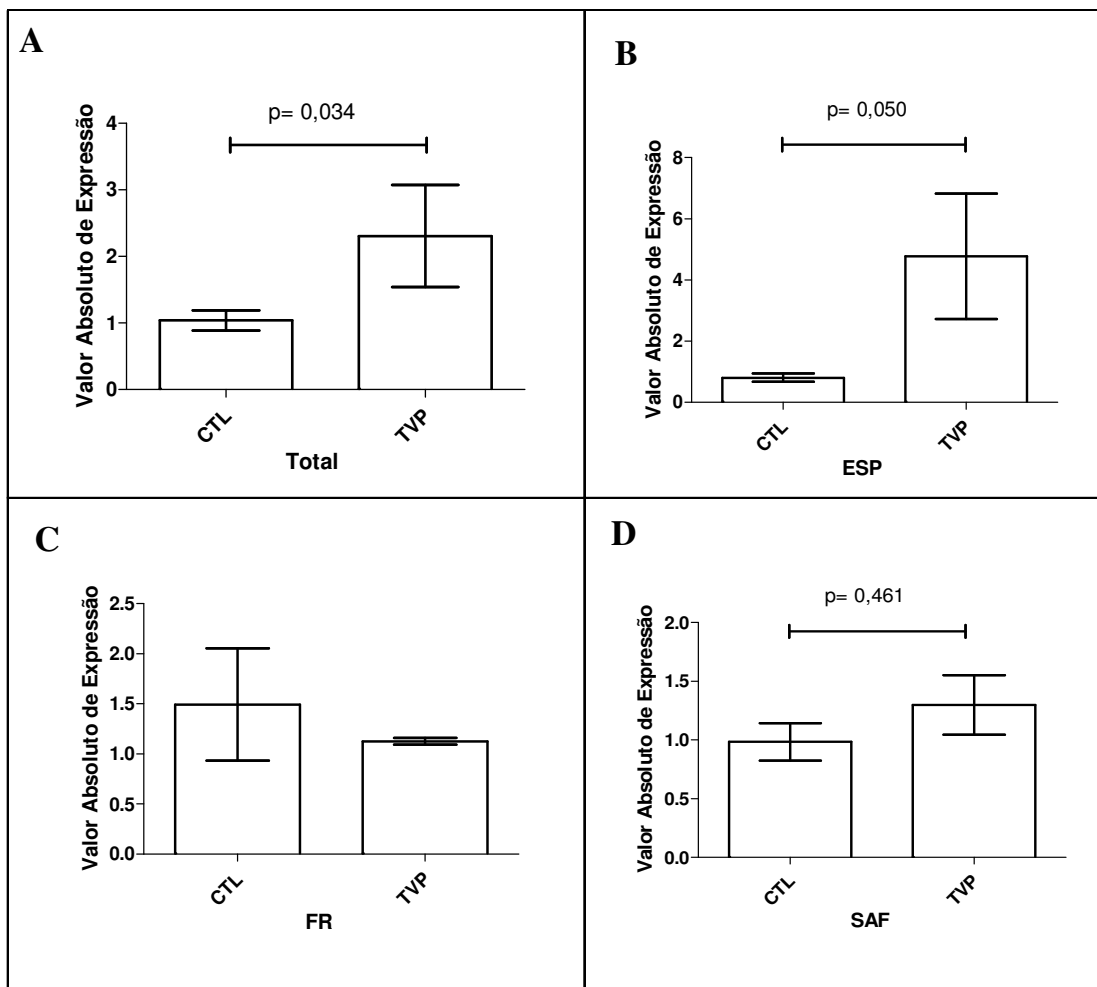


Figura 9. Gráficos comparativos da expressão do gene CASP4(A) Comparação entre grupo CTL (n=9) e TVP total (n=10). (B) Comparação entre grupo CTL (n=3) e TVP espontânea (n=3). (C) Descrição do grupo com a presença de fator de risco (n=2). (D) Comparação entre grupo CTL (n=4) e TVP (n=5) com presença de SAF. Valor de p calculado utilizando o teste de Mann-Whitney.

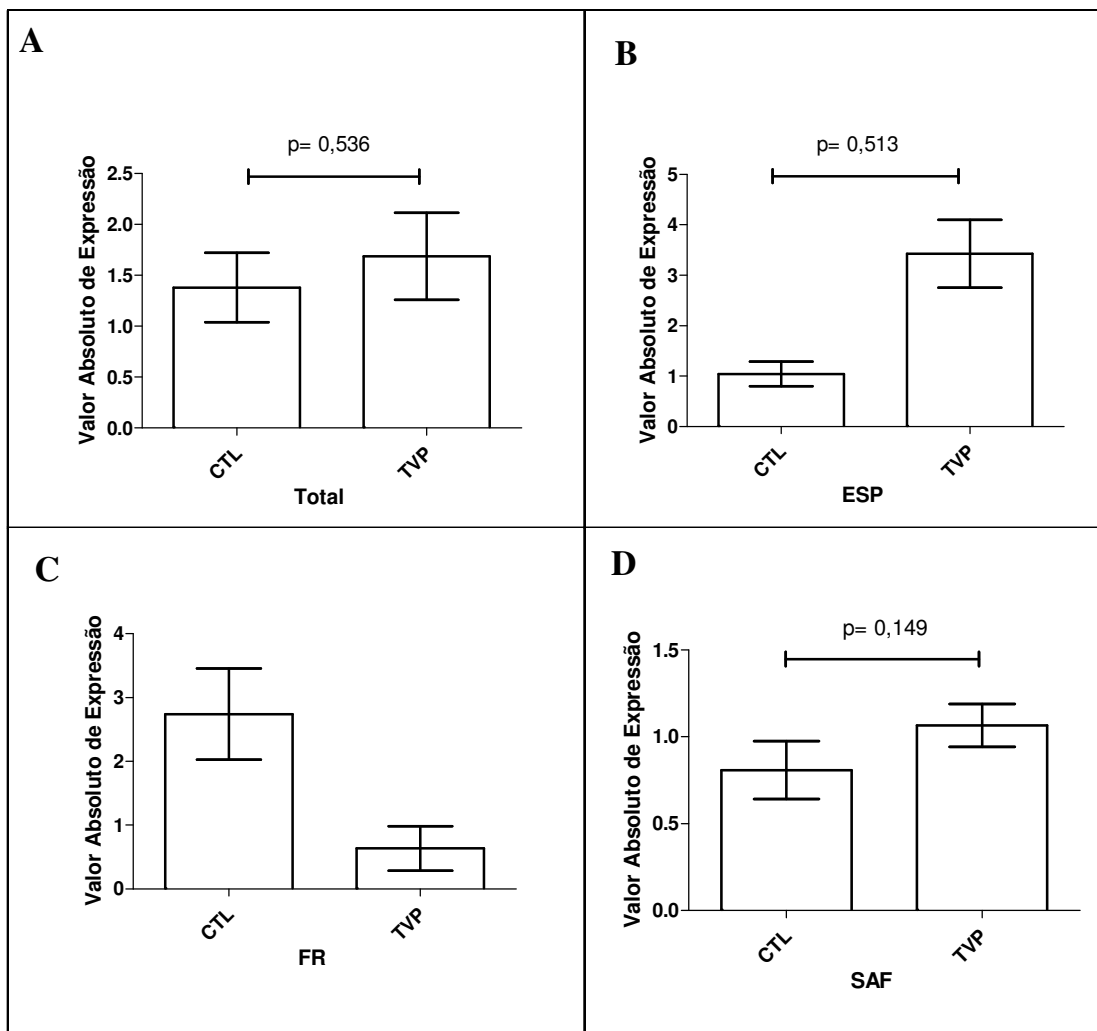


Figura 10. Gráficos comparativos da expressão do gene CRTAP. (A) Comparação entre grupo CTL (n=9) e TVP total (n=10). (B) Comparação entre grupo CTL (n=3) e TVP espontânea (n=3). (C) Descrição do grupo com a presença de fator de risco (n=2). (D) Comparação entre grupo CTL (n=4) e TVP (n=5) com presença de SAF. Valor de p calculados utilizando o teste de Mann-Whitney.

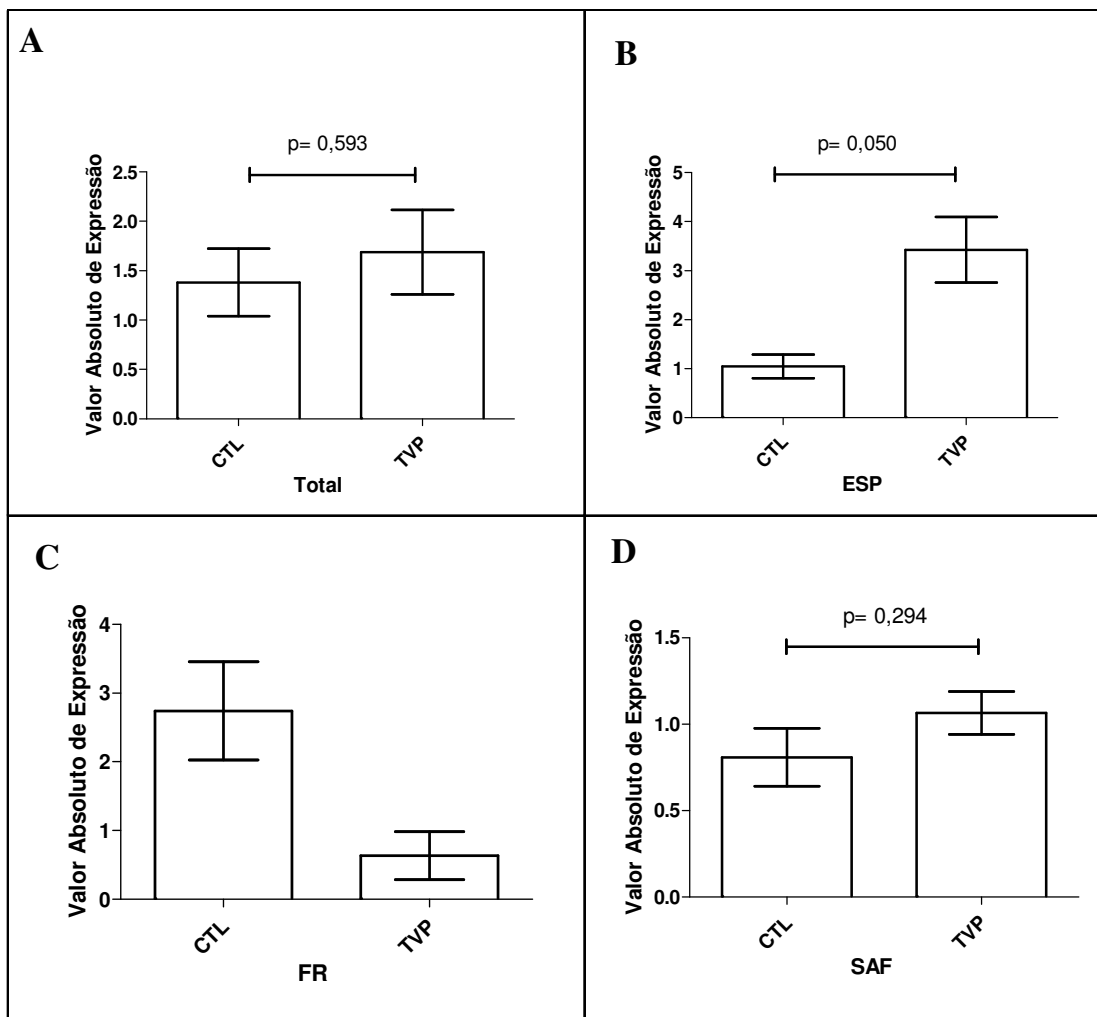


Figura 11. Gráficos comparativos da expressão do gene EEF1A2. (A) Comparação entre grupo CTL (n=9) e TVP total (n=10). (B) Comparação entre grupo CTL (n=3) e TVP espontânea (n=3). (C) Descrição do grupo com a presença de fator de risco (n=2). (D) Comparação entre grupo CTL (n=4) e TVP (n=5) com presença de SAF. Valor de p calculados utilizando o teste de Mann-Whitney.

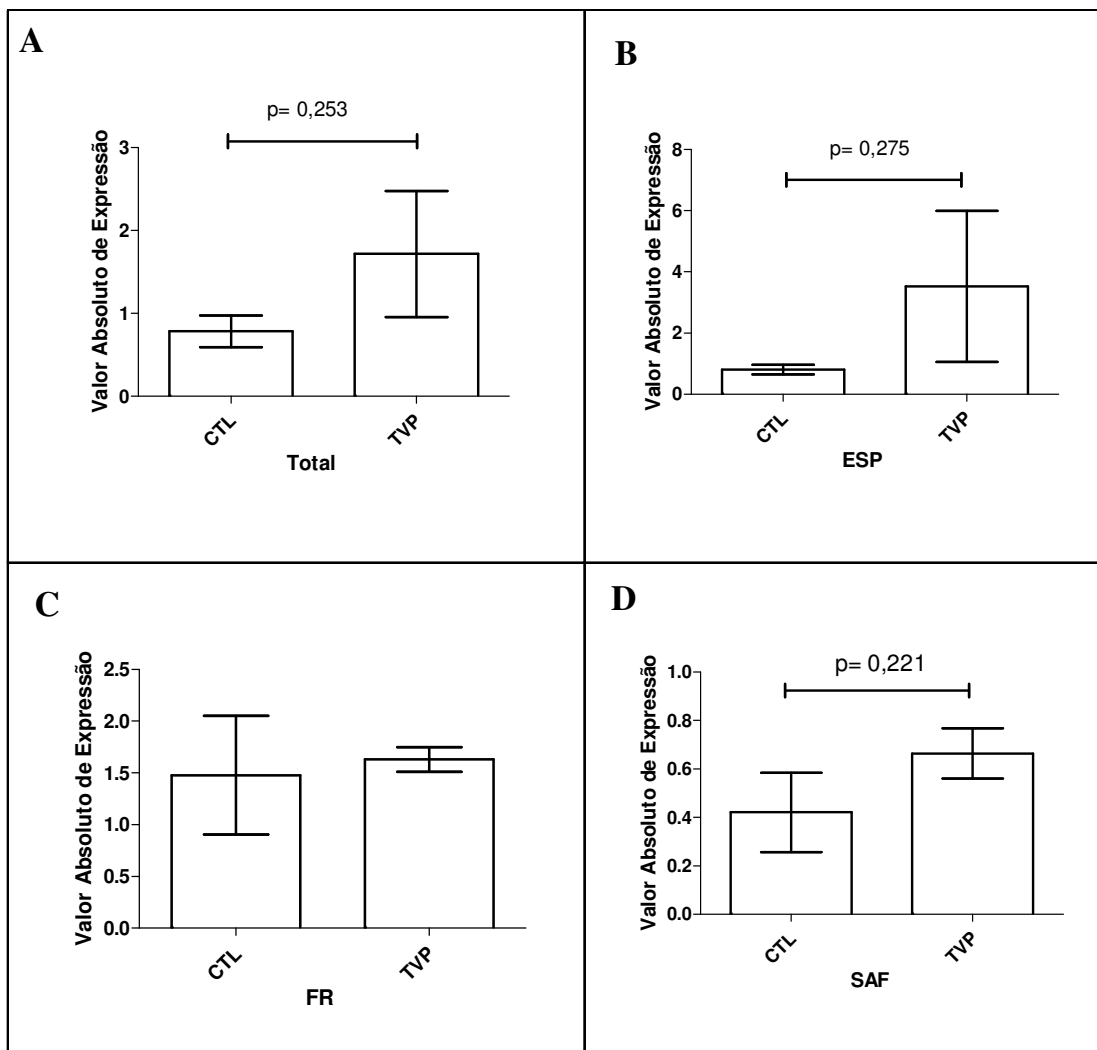


Figura 12. Gráficos comparativos da expressão do gene FLT1. (A) Comparação entre grupo CTL (n=9) e TVP total (n=10). (B) Comparação entre grupo CTL (n=3) e TVP espontânea (n=3). (C) Descrição do grupo com a presença de fator de risco (n=2). (D) Comparação entre grupo CTL (n=4) e TVP (n=5) com presença de SAF. Valor de p calculados utilizando o teste de Mann-Whitney.

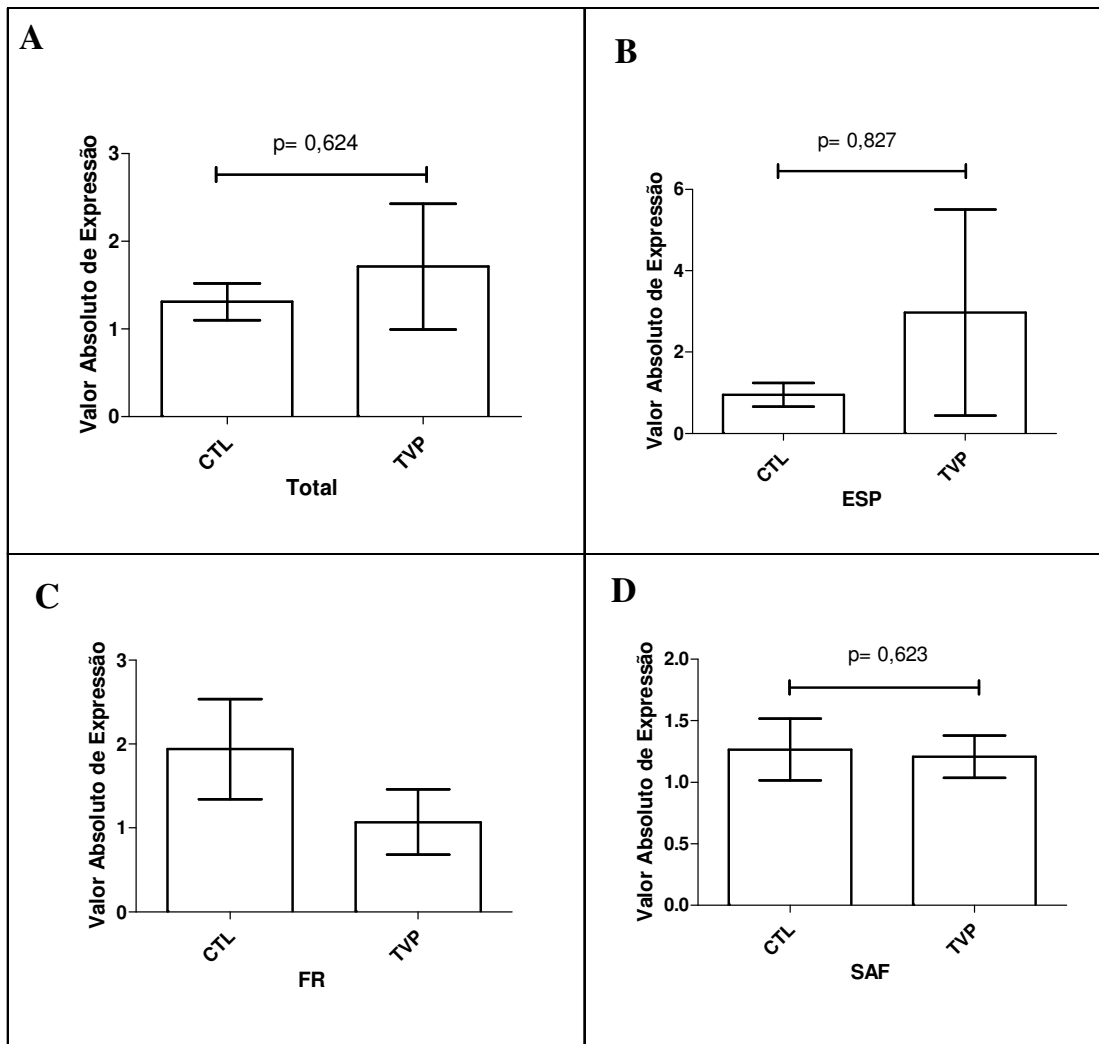


Figura 13 Gráficos comparativos da expressão do gene IGDM. (A) Comparação entre grupo CTL (n=9) e TVP total (n=10). (B) Comparação entre grupo CTL (n=3) e TVP espontânea (n=3). (C) Descrição do grupo com a presença de fator de risco (n=2). (D) Comparação entre grupo CTL (n=4) e TVP (n=5) com presença de SAF. Valor de p calculados utilizando o teste de Mann-Whitney.

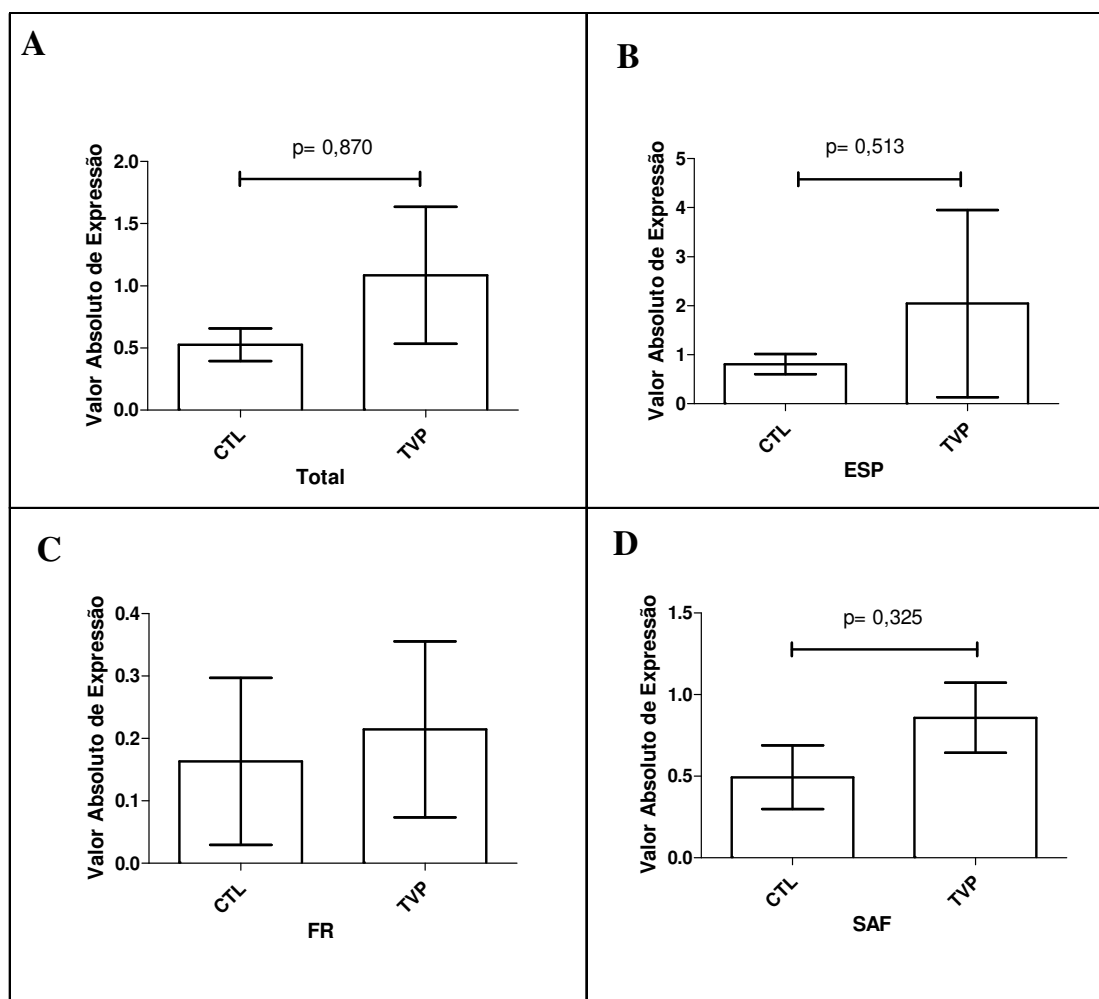


Figura 14. Gráficos comparativos da expressão do gene MGST2. (A) Comparação entre grupo CTL (n=9) e TVP total (n=10). (B) Comparação entre grupo CTL (n=3) e TVP espontânea (n=3). (C) Descrição do grupo com a presença de fator de risco (n=2). (D) Comparação entre grupo CTL (n=4) e TVP (n=5) com presença de SAF. Valor de p calculados utilizando o teste de Mann-Whitney.

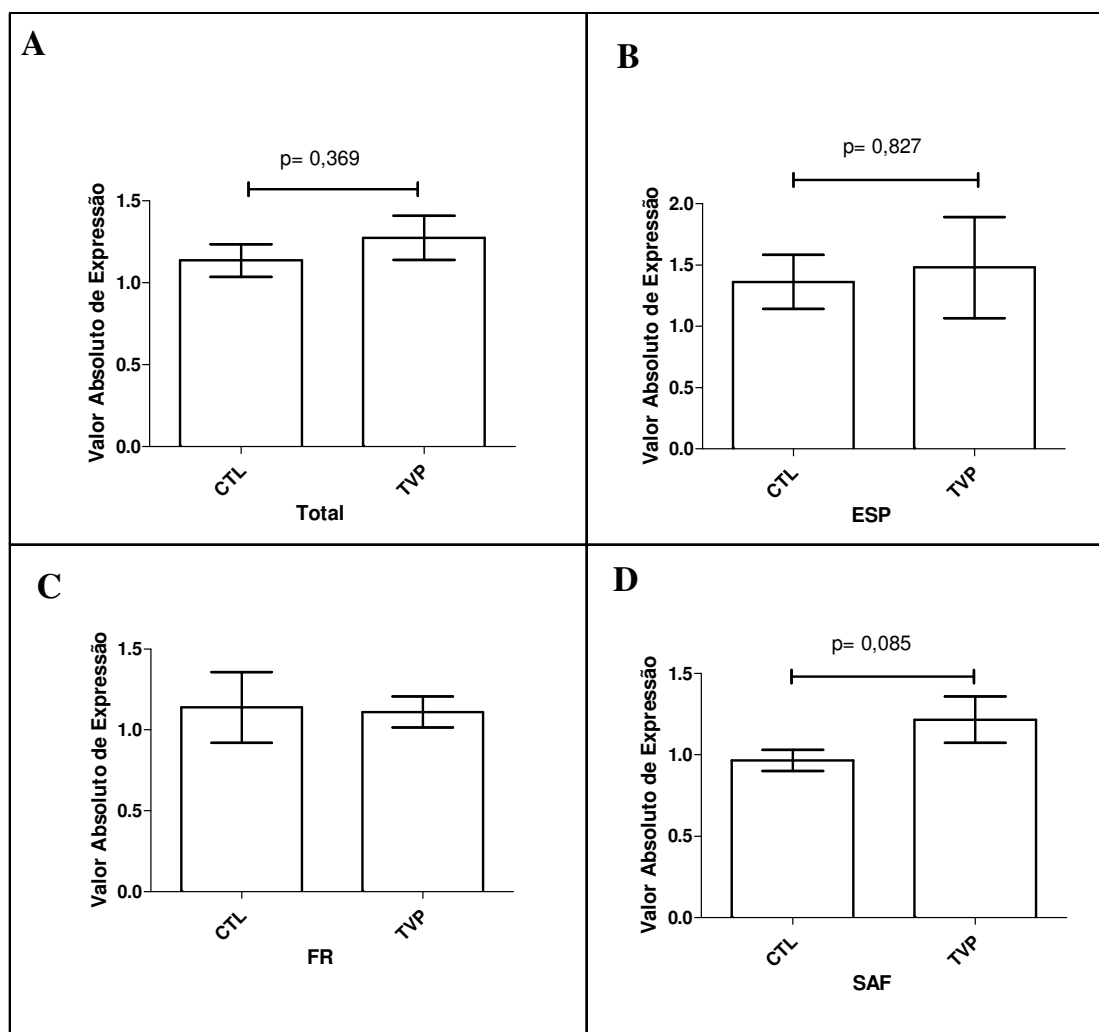


Figura 15. Gráficos comparativos da expressão do gene POLR2J. (A) Comparação entre grupo CTL (n=9) e TVP total (n=10). (B) Comparação entre grupo CTL (n=3) e TVP espontânea (n=3). (C) Descrição do grupo com a presença de fator de risco (n=2). (D) Comparação entre grupo CTL (n=4) e TVP (n=5) com presença de SAF. Valor de p calculados utilizando o teste de Mann-Whitney.

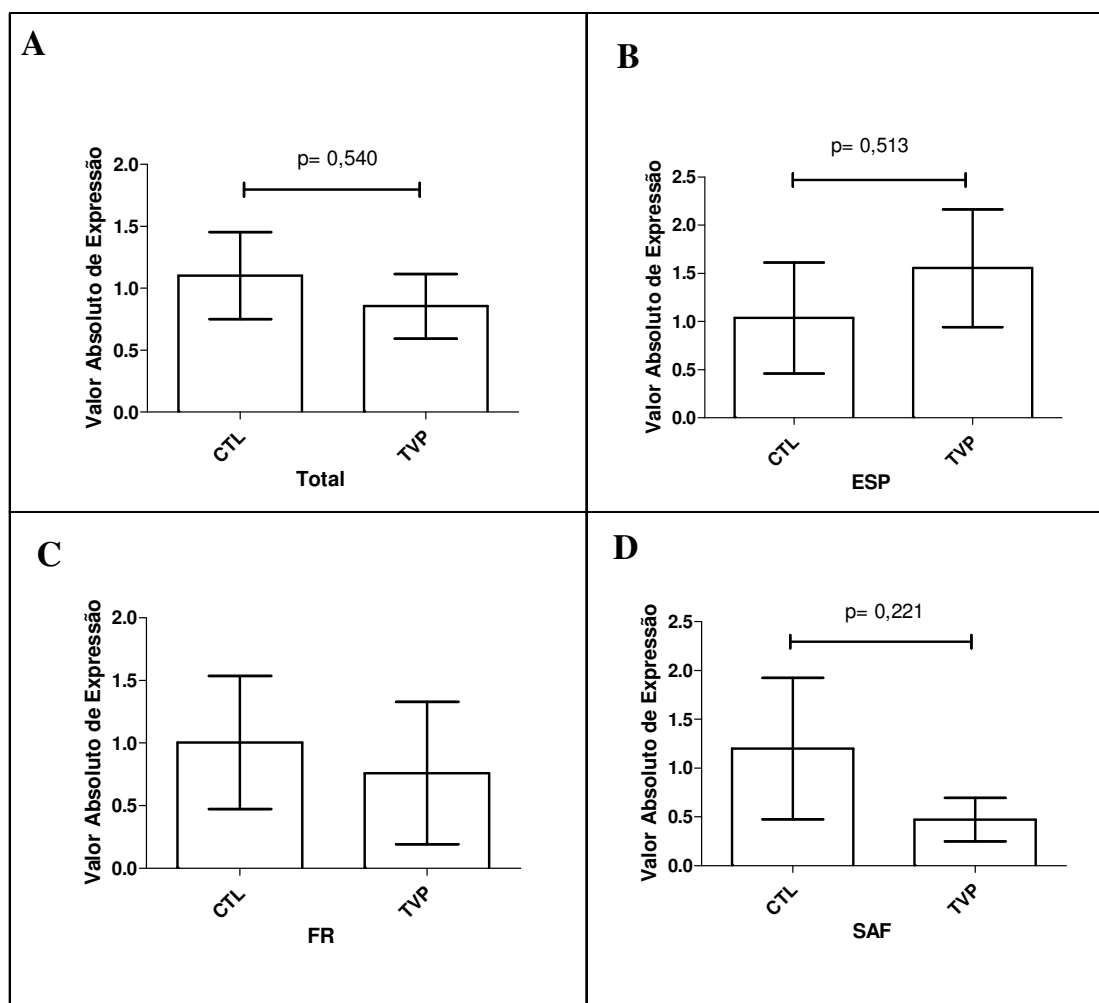


Figura 16. Gráficos comparativos da expressão do gene SLPI. (A) Comparação entre grupo CTL (n=9) e TVP total (n=10). (B) Comparação entre grupo CTL (n=3) e TVP espontânea (n=3). (C) Descrição do grupo com a presença de fator de risco (n=2). (D) Comparação entre grupo CTL (n=4) e TVP (n=5) com presença de SAF. Valor de p calculados utilizando o teste de Mann-Whitney.



DISCUSSÃO

O propósito deste estudo foi identificar genes diferencialmente expressos em pacientes com TVP em comparação a indivíduos normais, contribuindo para a melhor compreensão dos mecanismos dessa doença. A identificação de novos genes pode ser posteriormente utilizada para propostas de novas estratégias para o diagnóstico, tratamento e seguimento da doença.

Para isto, selecionamos três grupos de pacientes sendo eles: TVP espontânea, TVP na presença de algum fator de risco e TVP associada a SAF. Nosso grupo controle constitui-se de voluntários sem sinais clínicos e/ou antecedente de TVP, ou sob uso de medicação. Em nosso estudo, o grupo controle foi pareado por idade (desvio de 5 anos para mais ou para menos), gênero e etnia. Pacientes e controles foram provenientes da mesma região geográfica. Utilizando um programa voltado para o tratamento de dados de *Microarrays* (*Bioconductor Repository*), obtivemos um percentual esperado (2 a 4% em lâminas contendo todo o genoma humano) de genes diferencialmente expressos nos pacientes com TVP. Além disso, adicionamos como critério de corte somente os genes que foram considerados de intensidade *Good* (um dos critérios de avaliação das condições da lâmina), diminuindo consideravelmente o número de genes diferenciais a serem avaliados, mas garantindo que estamos trabalhando com resultados de qualidade e confiáveis. De acordo com o fabricante, espera-se que 30% dos genes apresentem uma expressão abaixo dos controles negativos, considerados de intensidade *Low*, que pode significar que seja pouco expresso ou até “silenciado” pela condição clínica.

Considerando estes procedimentos para a condução das análises, obtivemos o seguinte número de genes diferencialmente expressos: 60 genes induzidos e 50 genes reprimidos.

Após a análise da categoria funcional dos genes diferencialmente expressos, baseando-se nos processos biológicos em que estes genes podem estar envolvidos, identificamos 11 categorias funcionais (descritas em resultados) relacionadas à função biológica desempenhada pelas proteínas codificadas por esses genes.

Desconsiderando os genes que ainda não tiveram seus processos biológicos caracterizados, no grupo de pacientes com TVP espontânea ou na presença de fator de risco, observou-se que alguns genes estavam relacionados à transcrição, ao transporte de íons, elétrons e proteínas. Assim, as proteínas codificadas por esses genes diferencialmente expressos podem contribuir para aumento ou redução de outras proteínas, interferir com o metabolismo através de ações enzimáticas e desencadeamento de vias de sinalização.

No grupo de pacientes com SAF, a categoria funcional dos genes diferencialmente expressos foi mais restrita, e relacionada ao ciclo celular, à resposta inflamatória, e resposta imune.

Apesar de mecanismos auto-imunes adquiridos estarem presentes em pacientes com anticorpos antifosfolípidios, pelo fato da TVP se tratar de uma doença multifatorial poderíamos ter observado uma maior concordância de genes diferencialmente expressos nos pacientes estudados, dentro do número de 689 genes analisados. Assim, por esse método, apenas 25 genes diferencialmente expressos foram concordantes no grupo total de pacientes.

Nossos resultados somente podem ser considerados como associados a doença em estudo, se houver validação por um outro método. Assim, optou-se pela validação através da técnica de qRT-PCR, por se tratar da análise mais potente e sensível das técnicas disponíveis para avaliar expressão gênica.

Assim, inicialmente foram selecionados os 5 genes que apresentavam maior diferença de expressão (fold change ≥ 5). Também foram incluídos mais 4 genes, analisados em um outro estudo do nosso laboratório.

Nossos resultados mostraram que somente a expressão do gene da caspase 4 estava aumentado nos pacientes em comparação aos controles, isto é, no grupo TVP total quando comparados ao grupo CTL, e no subgrupo de pacientes com TVP espontânea em relação aos controles. A caspase 4 é uma proteína envolvida na resposta inflamatória, na migração celular e também na apoptose. O aumento de sua

expressão sugere que em pacientes com TVP, principalmente naqueles com TVP espontânea, esses processos podem estar mais exacerbados. Em um recente estudo (Sollberg *et al.*, 2012) foi demonstrado que a caspase 4 age diretamente ou indiretamente na ativação da caspase 1, sendo um fator iniciante na apoptose via caspase (Obeng e Boise 2005).

A caspase 4 participa da conversão da proIL-1 β e proIL-18 em IL-1 β e IL-18, e esta última pode induzir a adesão de células T, ampliar a resposta imune via células natural *killer*, aumentar a produção de interferon- γ , e induzir a quimiotaxia e ativação de monócitos (Volin e Koch, 2011). Assim, o aumento da expressão de caspase 4 nos pacientes com TVP pode refletir que esses mecanismos podem ser deflagrados nesses pacientes. Trabalhos recentes sugerem uma ligação entre TVP e processos inflamatórios (Colucci e Semeraro 2012; Davalos e Akassol 2012). A inflamação parece exercer um papel fundamental no processo de gênese e também na resolução do trombo venoso. Estudos têm mostrado que as células inflamatórias se acumulam dentro do trombo (Saha *et al.*, 2011).

Em relação aos resultados discrepantes em relação ao gene *EEF1A2*, consideramos que os observados no qRT-PCR devem ser considerados como confiáveis. Vários estudos tentaram determinar os fatores que podem contribuir para a variação existente entre os resultados obtidos no *Microarray* e os resultados encontrados no qRT-PCR. Etienne *et al.*, (2004), mostraram que o aumento da distância entre a localização dos *primers* do qRT-PCR e as sondas de *Microarray* de um determinado gene diminui a correlação entre os resultados dos dois métodos. Beckman *et al.*, (2004) investigaram os efeitos da intensidade dos *spots* dos *arrays* e sua correlação com o qRT-PCR e encontraram correlações negativas com a intensidade *low* (intensidade menor que os controles negativos), baixa e alta (para as 2 cores do array). Assim, como em nossos experimentos não foram avaliados os arrays com intensidade *low*, acreditamos que o resultado discrepante do gene *EEF1A2*, pode ser devido a preparação da amostra, e a qualidade de dados no

contexto da plataforma que foi usada neste estudo, como foi relatado por Morey *et al.*, (2006).

A não validação dos outros genes que foram diferencialmente expressos no *Microarray*, também pode ser explicada pelos mesmos motivos descritos anteriormente.

Uma limitação dos nossos resultados é o fato de termos feito *pool* de amostras de pacientes e não uma avaliação individual pode ter prejudicado a identificação de variação inter-individual das amostras. Contudo, o custo é um fator relevante nesses estudos. Além disso, quando esse estudo foi iniciado, não havia, como ainda não há, um consenso sobre o uso de pool ou de amostras individuais.

Um dos problemas que tivemos na realização deste estudo, foi a disponibilidade das mesmas amostras de todos os pacientes que foram incluídos no *Microarray*, para validação pelo qRT-PCR.

Neste estudo avaliamos a expressão de genes de marcadores de células inflamatórias e encontramos diferentes expressões de alguns genes. Estudos futuros são necessários para o melhor entendimento desta doença, que em aproximadamente 50% dos casos apresentam síndrome pós trombótica e pode levar a morte através do tromboembolismo pulmonar, portanto trata-se de uma doença potencialmente fatal.



CONCLUSÃO

Através da avaliação de expressão gênica em monócitos de pacientes com TVP através da técnica de *Microarray*, pudemos identificar um grande numero de genes induzidos e reprimidos. Em uma primeira seleção, de 9 genes diferencialmente expressos pelo *Microarray*, apenas a caspase 4 pode ser validade como estando diferencialmente expressa em pacientes com TVP, particularmente, TVP espontânea. A replicação desses achados em outros pacientes com TVP e em estudos utilizando modelo animal poderão confirmar o envolvimento da caspase na fisiopatologia da TVP.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abba IT, Stites DP. *Imunologia Básica*. USA: WB Saunders Company. 1992; 102-8: 109-18.

Altieri DC. Xa receptor EPR-1. *FASEB J*. 1995; 9:860-65.

Altieri DC, Morrissey JH, Edgington TS. Adhesive receptor Mac-1 coordinates the activation of factor X on stimulated cells of monocytic and myeloid differentiation: An alternative initiation of the coagulation protease cascade. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988; 85: 7462-66.

Appleby RD & Olds RJ. The inherited basis of venous thrombosis. *Pathology* 1997; 29: 341-47.

Arruda VR, Pieneman WC, Reitsma PH, Deutz-Terlouw PP, Annichino-Bizzacchi JM, Briët E *et al*. Eleven novel mutations in the factor VIII gene from Brazilian hemophilia A patients. *Blood*. 1995; 86(8): 3015-20.

Arruda VR, Annichino-Bizzacchi JM, Gonçalves MS, Costa FF. Prevalence of the prothrombin gene variant (nt20210A) in venous thrombosis and arterial disease. *Thromb Haemost*. 1997; 78(6):1430-3.

Arruda VR, von Zuben PM, Soares MC, Menezes R, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF. Very low incidence of Arg506-->Gln mutation in the factor V gene among the Amazonian Indians and the Brazilian black population. *Thromb Haemost*. 1996; 75(5): 860-1.

Asherson RA, Cervera R. The antiphospholipid syndrome: multiple faces beyond the classical presentation. *Autoimmun Rev*. 2003; 2(3):140-51.

Auffray C, Sieweke MH, Geissmann F. Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2009; 27:669–692.

Ay C, Jungbauer LV, Sailer T, Tengler T, Koder S, Kaider A *et al.* High concentrations of soluble P-selectin are associated with risk of venous thromboembolism and the P-selectin Thr715 variant. *Clin Chem.* 2007; 53(7):1235-43.

Beckman KB, Lee KY, Golden T, Melov S. Gene expression profiling in mitochondrial disease: assessment of *Microarray* accuracy by highthroughput Q-PCR. *Mitochondrion* 2004; 4:453.

Butenas S, Van't Veer C, Mann KG. "Normal" thrombin generation. *Blood* 1999; 94(7): 2169-78.

Cavenagh JD, Cahill MR, Kelsey SM. Adhesion molecules in clinical medicine. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1998; 35(5): 415-59.

Chan ET, Quon GT, Chua G, Babak T, Trocheset M, Zirngibl RA, *et al.* Conservation of core gene expression in vertebrate tissues. *J Biol* 2009; 8:33.

Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162:156-9.

Colucci M, Semeraro N. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor: At the nexus of fibrinolysis and inflammation. *Thromb Res.* 2012; 129(3):314-9.

De Stefano V, Leone G, Mastrangelo S, Tripodi A, Rodeghiero F, Castaman G. Clinical manifestations and management of inherited thrombophilia: retrospective analysis and follow-up after diagnosis of 238 patients with congenital deficiency of antithrombin III, protein C, protein S. *Thromb. Haemost.* 1994; 72: 352-8.

Doumas S, Kolokotronis A, Stefanopoulos P. Anti-inflammatory and antimicrobial roles of secretory leukocyte protease inhibitor. *Infect Immun.* 2005; 73(3):1271-4.

Etienne W, Meyer MH, Peppers J, Meyer RA Jr. Comparison of mRNA gene expression by RT-PCR and DNA *Microarray*. *BioTechniques* 2004; 36:618-621.

Esmon CT & Esmon NL. Protein C Activation. *Semin Thromb. Hemost.* 1984; 10:122-30.

Esmon CT. The regulation of natural anticoagulant pathways. *Science* 1987a.; 235:1348-52.

Esmon CT. Thrombomodulin. *Semin. Thrombo. Hemost.* 1987b; 13:454-63.

Flick MJ, LaJeunesse CM, Talmage KE, Witte DP, Palumbo JS, Pinkerton MD, *et al.* Fibrin(ogen) exacerbates inflammatory joint disease through a mechanism linked to the integrin $\alpha_5\beta_1$ binding motif. *J Clin Invest.* 2007;117: 3224 –3235.

Flick MJ, Du X, Degen JL. Fibrin(ogen)- $\alpha_5\beta_1$ interactions regulate leukocyte function and innate immunity in vivo. *Exp Biol Med (Maywood).* 2004; 229: 1105–1110.

Guindalini C, Tufi S. Uso de *Microarrays* na busca de perfis de expressão gênica - aplicação no estudo de fenótipos complexos. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2007; 29 (4) 370-4.

Janeway Jr CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease.* New York: Garland Science Publishing (6th ed.) 2005; 103-106, 135-139.

Henke PK, Debrunye LA, Strieter RM, Bromberg JS, Prince M, Kadell AM, *et al.* Viral IL-10 gene transfer decreases inflammation and cell adhesion molecule expression in a rat model of venous thrombosis. *J Immunol* 2000; 164(4): 2131-41.

Henke PK, Mitsuya M, Luke CE, Elffline MA, Baldwin JF, Deatrick KB, *et al.* Toll-like receptor 9 signaling is critical for early experimental deep vein thrombosis resolution. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31(1):43-9.

Kai T, Williams D, Spradling AC: The expression profile of purified *Drosophila* germline stem cells. *Dev Biol* 2005; 283:486-502.

Kamphuisen PW, Eikenboom JC, Vos HL, Pablo R, Sturk A, Bertina RM, Rosendaal FR. Increased levels of factor VIII and fibrinogen in patients with venous

thrombosis are not caused by acute phase reactions. *Thromb Haemost.* 1999; 81(5): 680-3.

Kendall, R. L., Thomas, K. A. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1993; 90: 10705-10709.

Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Velden PA, Briët E, Vandenbroucke JP. Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. A case-control study of plasma levels and DNA polymorphisms--the Leiden Thrombophilia Study (LETS). *Thromb Haemost.* 1994; 71(6): 719-22.

Lanaro C. Análise dos nucleotídeos cíclicos e sua associação com a produção de hemoglobina fetal na eritropoese *in vitro* de células cd34+ de pacientes com anemia falciforme [Tese de doutorado]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2007.

Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, *et al.* Inherited thrombophilia: part I. *Thromb. Haemost.* 1996; 76:651-62.

Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. Blood Coagulation. *Wintrob's Clinical Hematology.* 1997; 9: 566-615.

Lee MH, Surh YJ. eEF1A2 as a putative oncogene. *Ann N Y Acad Sci.* 2009; 1171: 87-93.

Londy FJ, Kadell AM, Wroblewski SK, Prince MR, Strieter RM, Wakefield TW. Detection of perivenous inflammation in a rat model of venous thrombosis using MRV. *J Invest Surg.* 1999; 12(3):151-6.

Malone J e Oliver B. *Microarrays*, deep sequencing and the true measure of the transcriptome. *BMC Biology* 2011, 9:34.

Manly DA, Boles J, Mackman N. Role of tissue factor in venous thrombosis. *Annu Rev Physiol.* 2011; 73: 515-25.

May AE, Neumann FJ, Preissner KT. The relevance of blood cell-vessel wall adhesive interactions for vascular thrombotic disease. *Thromb. Haemost.* 1999; 82(2): 962-70.

Meijers JC, Tekelenburg WL, Bouma BN, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. *New England Journal of Medicine.* 2000; 342(10): 696-701.

Mello TB, Machado TF, Montavão AS, Ozelo MC, de Paula EV, Annichino-Bizzacchi JM. Long-term prospective study of recurrent venous thromboembolism in a Hispanic population. *Thromb Res.* 2010; 121: 625-9.

Meroni PL, Borghi MO, Raschi E, Tedesco F. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies. *Nat Rev Rheumatol.* 2011; 7(6):330-9.

Meroni PL, Chiglizola P. Pathophysiology of the antiphospholipid syndrome (APS). *Rev Med Interne.* 2012 article in press.

Michiels S, Laplanche A, Boulet T, Dessen P, Guillonnet B, Méjean A, *et al.* Genetic polymorphisms in 85 DNA repair genes and bladder cancer risk. *Carcinogenesis.* 2009; 30(5):763-8.

Mocellin S, Rossi CR. Principles of gene *Microarray* data analysis. *Adv Exp Med Biol.* 2007;593:19-30.

Morello R, Rauch F. Role of cartilage-associated protein in skeletal development. *Curr Osteoporos Rep.* 2010; 8(2):77-83.

Morello R, Bertin TK, Chen Y, Hicks J, Tonachini L, Monticone M, *et al.* CRTAP is required for prolyl 3-hydroxylation and mutations cause recessive osteogenesis imperfecta. *Cell* 2006; 127: 291-304.

Nawroth, P.P. & Stern, D.M. Endothelial cell procoagulant properties and the host response. *Semin. Thromb.Hemost.* 1987; 13:391-7.

Obeng EA, Boise LH. Caspase-12 and caspase-4 are not required for caspase-dependent endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *J Biol Chem.* 2005; 280(33): 29578-87.

Ramacciotti E, Blackburn S, Hawley AE, Vandy F, Ballard-Lipka N, Stabler C, *et al.* Evaluation of soluble P-selectin as a marker for the diagnosis of deep venous thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2011; 17(4):425-31.

Rinder HM, Bonan JL, Rinder CS, Ault KA, Smith BR. Dynamics of leukocyte-platelet adhesion in whole blood. *Blood* 1991; 78: 1730-37.

Roitt I, Brostoff J, Male D. Células envolvidas nas respostas imunes. *Imunologia.* 5^a ed.,1999; 13-30; 61-9; 121-53.

Roumen-Kappe EM, den Heijer M, van Uum SH, van der Ven-Jongekrijg J, van der Graaf F, Wollersheim H. Inflammatory response in the acute phase of deep vein thrombosis. *J Vasc Surg* 2002; 35(4):701-6.

Roumen-Klappe EM, Janssen MC, Van Rossum J, Holewijn S, Van Bokhoven MM, Kaasjager K, *et al.* Inflammation in deep vein thrombosis and the development of post-thrombotic syndrome: a prospective study. *J Thromb Haemost* 2009; 7(4):582-7.

Saha P, Humphries J, Modarai B, Mattock K, Waltham M, Evans CE *et al.* Leukocytes and the Natural History of Deep Vein Thrombosis Current Concepts and Future Directions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31:506-512.

Sjostrom M, Jakobsson PJ, Heimbürger M, Palmblad J, Haeggstrom JZ. Human umbilical vein endothelial cells generate leukotriene C4 via microsomal glutathione S-transferase type 2 and express the CysLT1 receptor. *Europ. J. Biochem.* 2001; 268: 2578-2586.

Soehnlein O, Lindbom L. Neutrophil-derived azurocidin alarms the immune system. *J Leukoc Biol.* 2009; 85(3):344-51.

Shoenfeld Y, Meroni PL, Toubi E. Antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus: are they separate entities or just clinical presentations on the same scale? *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21: 495–500.

Tuddenham EGD & Cooper DN. Introduction. The molecular genetics of haemostasis and its inherited disorders. 1^a ed. Oxford University Press INC.-New York. 1994; 1-18.

Tuddenham EGD & Cooper DN. Tissue factor pathway inhibitor. The molecular genetics of haemostasis and its inherited disorders. 1^a ed. Oxford University Press INC.-New York. 1994; 204-11.

Van Aken BE, Den Heijer M, Bos GM, Van Deventer SJ, Reitsma PH. Recurrent venous thrombosis and markers of inflammation. *Thromb Haemost.* 2000; 83(4):536-9.

Van Der Poll T, Buller HR, Ten Cate H. et al. Activation of coagulation after administration of tumor necrosis factor to normal subjects. *N Engl J Med.* 1990; 322:1622-7.

Volin MV e Koch AE. Interleukin-18: A mediator of inflammation and angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Journal Interferon Cytokine Res.* 2011; 31(10):745-51.

Wakefield TW, Greenfield LJ, Rolfe MW, DeLucia A 3rd, Strieter RM, Abrams GD, *et al.* Inflammatory and procoagulant mediator interactions in an experimental baboon model of venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 1993; 69:164-72.

Wakefield TW, Strieter RM, Schaub R, Myers DD, Prince MR, Wroblewski SK *et al.* Venous thrombosis prophylaxis by inflammatory inhibition without anticoagulation therapy. *J Vasc Surg.* 2000; 31(2):309-24.

Wulff C, Wilson H, Rudge JS, Wiegand SJ, Lunn SF, Fraser HM. Luteal angiogenesis: prevention and intervention by treatment with vascular endothelial growth factor trapA40. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2001; 86: 3377-3386.



ANEXOS

Participações em outros projetos

- Avaliação da trombose venosa profunda induzida pelo modelo de estase em ratos resistentes a insulina, obesos e/ou hipertensos.
- Análise da expressão gênica de células mononucleares de pacientes de trombose venosa profunda com e sem a presença de síndrome pós-trombótica utilizando a técnica de PCR array.
- Avaliação das propriedades adesivas de eritrócitos, neutrófilos e plaquetas de pacientes com tromboembolismo venoso.

Participações em congressos

Santiago-Bassora FD, Barnabé A, dos Santos A, Carazzolle MF, Pereira GAG, Orsi FLA, De Paula EV, Annichino-Bizzacchi JM. Increased expression of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in mononucleic cells from deep venous thrombosis patients. Apresentação em poster- ASH 2011 – San Diego –CA (EUA) dez/2011.

Santiago-Bassora FD, Barnabé A, dos Santos A, Carazzolle MF, Pereira GAG, Orsi FLA, De Paula EV, Annichino-Bizzacchi JM. Increased expression of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in mononucleic cells from deep venous thrombosis patients. Apresentação em poster- Hemo 2011 – São Paulo nov/2011.

Bassora FDS, Barnabé A, Prado LB, Paixão DS e Annichino-Bizzacchi JM Laboratório de Hemostasia - Hemocentro Unicamp. Avaliação da trombose venosa profunda induzida em ratos wistar obesos submetidos a uma dieta hiperlipídica. Apresentação em poster- Hemo 2011 – São Paulo nov/2011.

Barnabé A, Santiago-Bassora FD, Santos A, Carazzolle MF, Pereira GAG, De Paula EV, Höehr NF, Annichino-Bizzacchi JM. Gene expression analysis of inflammatory mediators from patients with spontaneous and recurrent deep venous thrombosis. Apresentação em poster- Hemo 2011 – São Paulo nov/2011.

Zapponi KCS, Bittar LF, Mazetto BM, Conran N, Santiago-Bassora FDS, Orsi FLA, de Paula, EV, Annichino-Bizzacchi JM. Increased neutrophil adhesive Properties in patients with Venous Thromboembolism and residual vein thrombosis and high D-dimer levels. Apresentação em poster- ASH 2011 – San Diego – CA (EUA) dez/2011.

Zapponi KCS, Bittar LF, Mazetto BM, Conran N, Santiago-Bassora FDS, Orsi FLA, de Paula, EV, Annichino-Bizzacchi JM. Increased neutrophil adhesive Properties in patients with Venous Thromboembolism and residual vein thrombosis and high D-dimer levels. Apresentação em poster- Hemo 2011 – São Paulo nov/2011.

Tabela 1 – Sequência e tamanho dos fragmentos amplificados de cada *primer* empregado na amplificação dos genes usando a técnica de qRT-PCR.

Gene	Sequência <i>Primer</i>	Tamanho do fragmento (pb)
AZU1 – F	5'- CGA GAA TGG CTA CGA CCC C -3'	106
AZU1 – R	5'- CAG AGG CAG TGG CAG TAT CG -3'	
CASP4 – F	5'- GAG GTG CAA ACC GTG GGG -3'	60
CASP4 – R	5'- AGG CCA CTT CCA AGG ATG CT -3'	
CRTAP – F	5'- TTC TAC CTT TCC ATA GCA GAT CAT T -3'	59
CRTAP – R	5'- TCA CAC TGT ATT TTG CAT TCC AGA -3'	
EEF1A2 – F	5'- AAA GGA CCA TTG AGA AGT TCG A -3'	67
EEF1A2 – R	5'- CAG GCA TAC TTG AAG GAT CCC -3'	
FLT1 – F	5'- ATC ACT CAG CGC ATG GCA A -3'	71
FLT1 – R	5'- CTA GAG TCA GCC ACA ACC AAG GT -3'	
IGHM – F	5'- ACC GAG AGG ACC GTG GAC A -3'	66
IGHM – R	5'- GTT CTC AAA GCC CTC CTC GTC -3'	
MGST2 – F	5'- GAT GGC TGG GTG GTA TTT CAA C -3'	114
MGST2 – R	5'- GTG ATC CGT TTT TTA GCA GCT TC -3'	
POLR2J – F	5'- CTT CGA GTC GTT CTT GCT CTT C -3'	72
POLR2J – R	5'- GGC ATT GGG TAC CTT GGT GT -3'	
SLPI – F	5'- GCA CCT TGG GCT GTG GAA -3'	71
SLPI – R	5'- TGG GCA GAT TTC TTA GGA GGA C -3'	

Increased expression of caspase 4 gene in mononuclear cells from patients with deep venous thrombosis

Fernanda D. Santiago-Bassora¹, Aline Barnabé¹, Andrey dos Santos², Ana C. Deckmann³, Marcelo F. Carazzolle³, Gonçalo A.G. Pereira³, Fernanda L.A. Orsi², Erich V. De Paula^{1,2}, Joyce M. Annichino-Bizzacchi²

¹Clinical Pathology Department, UNICAMP, Campinas, Brazil

²Hematology-Hemotherapy Center, UNICAMP, Campinas, Brazil

³Laboratory of Genomic and Expression, UNICAMP, Campinas, Brazil

Abstract

Deep venous thrombosis (DVT) is a common and potentially fatal condition affecting 1% to 2% of the population worldwide, with an annual incidence of 1 in 500. While hereditary or acquired risk factors are identified in most patients with DVT, about 40% of patients present yet unknown risk factors. In this study, we performed a comparative analysis of gene expression from mRNA extracted from leukocytes of 15 patients with previous DVT of the lower limbs. Patients were divided in subgroups: (1) spontaneous DVT (SPONT) without any known hereditary thrombophilia; (2) risk factor-associated DVT (either acquired or hereditary thrombophilias); and (3) patients with antiphospholipid syndrome (APS)-associated DVT. Using bioarray technology, 60 upregulated and 56 downregulated genes were identified in DVT patients when compared to healthy volunteers. Of the seven genes selected for validation with quantitative real-time PCR (qRT-PCR), we observed an increased expression of Caspase 4 (CASP4) in DVT patients without any known risk factors compared to controls ($p=0.050$). CASP4 is a protein involved in the inflammatory response, cell migration and also in apoptosis. Increased CASP4 expression suggests that these processes could be involved in the pathogenesis of DVT in these patients.

Keywords: Venous thrombosis, Antiphospholipid Syndrome, Mononuclear cells, Inflammation, *Microarray*, Caspase 4.

Abbreviations: DVT, Deep venous thrombosis; SPONT, spontaneous DVT; APS, antiphospholipid syndrome; qRT-PCR, quantitative real-time PCR; CASP4, Caspase 4; AZU1, azurocidin 1; CRATP, Cartilage-associated protein precursor; FLT1, Vascular endothelial growth factor; IGHM, Immunoglobulin Heavy Chain Constant region mu; MGST2, Glutathion S-transferase, microsomal 2; POLR2J, RNA polymerase II subunit.

Introduction

Deep venous thrombosis (DVT) is a common and potentially fatal condition, with an annual incidence of one to three individuals per 1000 per year [1]. Despite major advances in the acknowledgment of genetic and acquired factors for DVT, only about 60% of cases present an identified risk factor. In the past, the study of patients without known risk factor allowed major breakthroughs in the understanding of the pathogenesis of DVT [2].

So, new studies targeting the population of patients with spontaneous DVT (SPONT) are necessary to identify new genetic disease-associated variants or differential protein expression. Recently, a study including 10 Italian patients with idiopathic DVT, with the approach of next-generation DNA analyzed 186 genes related to hemostasis/pro-inflammatory process. The results showed an excess of rare mutations in coagulation factor and anticoagulant genes, and an association for a missense polymorphism of FGA [3].

Microarray analysis have been performed to evaluate the gene expression disease-associated; pulmonary embolism patients had different gene expression of immune or inflammatory, metabolism and apoptosis from peripheral blood [4]; genes related with inflammation were upregulated in adipocytes of obese subject [5] and type 2 diabetes mellitus patients expressed differentially 1320 genes involved in several biological process in mononuclear cells [6].

Thus, the investigation of gene expression in different types of cells is important to better understand pathophysiology of diseases. Monocytes express tissue factor [7] an initiator of coagulation that have been associated with DVT [8] and [9], but is involved in other pathways.

In the present study, we evaluated the gene expression profile from mononuclear cells of patients with previous DVT, in whom no acquired or hereditary risk factors were identified.

Patient and methods

Patients. The study was approved by the Ethical Committee of University of Campinas School of Medicine. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and all patients provided written informed consent. Clinical data were obtained from the medical records and from a structured questionnaire. Fifteen patients from the Outpatient Hemostasis Clinic of University of Campinas, Campinas, SP, Brazil were included. All patients had a previous diagnosis of lower limb DVT confirmed by Doppler ultrasound in the past 6-24 months, and comprised 3 distinct study groups with 5 patients each: (1) SPONT patients, and without any known

hereditary thrombophilia; (2) patients with risk factor-associated DVT, which includes the presence of acquired or hereditary thrombophilias (RF); and (3) patients with antiphospholipid syndrome (APS). The rationale for the selection of these groups was to compare patients without any known risk factor for DVT, with patients with well-established conditions associated with DVT. In addition, a group composed of 5 healthy individual, without personal or family history of DVT, matched by age and gender was included.

Samples and RNA isolation. Whole blood (8 ml) was collected in EDTA tubes. Mononuclear cells were separated by the Ficoll-Hypaque (GE Healthcare, USA) technique. Total RNA was isolated using Trizol reagent (Invitrogen, USA) and RNA integrity was determined by gel electrophoresis and spectrophotometry.

Microarray analysis. Prior *Microarrays* production, 768 ORESTES (Open Reading Frame Expressed Sequence Tags) were isolated from cDNA libraries generated by FAPESP/LICR-HCGP Human Cancer Genome Project (<http://www.compbio.ludwig.org.br/ORESTES/>). The ORESTES were amplified by PCR, purified by Sephadex G50 (Amersham Biosciences, USA) and resuspended in DMSO 50%. These material were then arrayed in triplicates on aminosalinized slides (Corning, USA) using Flexys[®] Robot arrayer (Perkin Elmer, USA), following a 9x9 format. All ORESTES were spotted in triplicates, in addition with positive (β -actin) and negative (DMSO 50%) controls. After printing, slides were dried at 80°C for DNA fixation and stored at room temperature.

Prior to probe preparation, RNA samples from each study group were pooled. Total RNA samples were then amplified using Advantage[®] GC 2 Polymerase Mix and PCR Kit (Clontech, USA). The amplified cRNA was used for probe preparation according to Superscript cDNA Indirect Labeling System protocol (Invitrogen, USA), using Alexa Fluor 647 and/or 555 Reactive Dye Decapack fluorescent dyes (Amersham Biosciences, USA). In order to generate “dye-swap” experiments, all samples were separately labeled with each fluorescent dye. The *Microarrays* were hybridized during 16 hours in a light-protected humid hybridization chamber.

Data analysis. *Microarrays* were scanned by GeneTAC *Microarray* Analyzer (Perkin Elmer, USA) and the images processed using GeneTAC Biochip Analyzer software (Perkin Elmer, USA). Data analysis was performed by Aroma and Limma package of Bioconductor repository (<http://www.bioconductor.org/>). These softwares determine spot areas (Intensity vs Background) and proceed with intra-slide normalization (Lowess or median), inter-slide normalization (Quantile) and statistical

identification of differentially expressed genes by an adjusted t-test for *Microarrays*. A cut-off criterion was $p\text{-value} \leq 0.05$ for the false discovery rate and fold change ≥ 2.0 or ≤ -2.0 in DVT patients versus healthy volunteers.

Validation of expressed genes. Differentially expressed genes (fold change ≥ 2.0 or ≤ -2.0 in DVT patients versus healthy volunteers) with higher magnitudes of fold-change, as well as those with known association with inflammation, were validated using real-time PCR (qRT-PCR). The same RNA samples were used for the *Microarray* and qRT-PCR. Samples from 10 healthy individuals were used as controls. The RNA samples were reverse transcribed using SuperScript III reverse transcriptase (Invitrogen, USA). The primers used for these validations are presented in the supplementary material. The qRT-PCR was performed using 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems, USA). Housekeeping gene β -actin and GAPDH were used to normalize control and DVT samples.

Statistical analysis. Data are expressed as means $\pm$ SD or medians and ranges. Differences between means were compared using the Mann-Whitney test. A p value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Fifteen patients, aged 17-49 years-old, female:male ratio 4:1 were included in the study. Median ages (range) for each experimental group were: 36 (32-49), 36 (34-62) and 45 (18-68) for the SPONT, RF and APS, respectively.

Using the bioarray technology, 60 upregulated (UR) and 56 downregulated (DR) genes were observed in DVT patients compared with healthy volunteers, in a global analysis. Fifty-two genes related to transcription, ions, electrons and proteins transport were differentially expressed in SPONT and RF patients. The proteins encoded by these genes can contribute to an increase or decrease of other proteins, interfere with the metabolism by enzymatic actions and triggering signaling pathways (supplementary material).

Seven genes were selected for validation with qRT-PCR according to the previous mentioned criteria. Table 1 shows the fold change values of genes selected to validation using qRT-PCR. These included: azurocidin 1 (AZU1), Caspase (4) CASP4, Cartilage-associated protein precursor (CRATP), Vascular endothelial growth factor (FLT1), Immunoglobulin Heavy Chain Constant region mu (IGHM), Glutathion S-transferase, microsomal 2 (MGST2) and RNA polymerase II subunit (POLR2J) genes. Of these, only CASP4 presented an increased expression in DVT patients without known risk factors (SPONT) compared to healthy individuals (table 2 and figure 1). No

statistical significant differences were observed between the other experimental groups.

Discussion

The purpose of this study was to identify genes that are differentially expressed in mononuclear cells of patients with DVT with and without known risk factors compared to healthy individuals, contributing to a better understanding of the mechanisms of this disease. Identification of novel genes can be used to new strategies for diagnosis, treatment and monitoring of disease.

Leukocytes participate on the process of venous thrombosis and were detected in the thrombus [10] expressing tissue factor [11] and [12]. In this study we investigated mononuclear cell expression in patients with previous DVT. These cells were selected because recently, it was demonstrated that neutrophils and monocytes were the main leukocytes during DVT initiation [9], showing the importance of these cells in this disease. We hypothesized that even in the chronic period these cells could maintain a different pattern of expression of proteins involved in coagulation and inflammation.

We selected three groups of patients which potentially represent populations of DVT patients with different pathophysiology. The selection of patients with spontaneous DVT without any known risk factor is regarded by us as strength of our study since it provides the opportunity to depict unknown mechanisms associated with the pathogenesis of DVT.

Validation by qRT-PCR was used because it is the most powerful and sensitive analysis method available to assess gene expression. The selection of the 8 genes included in our study was based on the magnitude of fold-change difference and on a subjective evaluation of gene function (genes that were potentially associated with mechanisms involved in inflammation).

Our results showed that only the gene expression of CASP4 was increased in patients with spontaneous DVT compared to controls. No significant differences in CASP4 expression was observed between patients with DVT in the presence of risk factor or APS-associated. CASP4 is a protein involved in the inflammatory response, cell migration and also in apoptosis. Increased expression suggests that in patients with DVT, especially those with spontaneous DVT, these processes can be exacerbated.

Recently, CASP 4 induce NF- κ B activity [13] and acts in the activation of Caspase 1 [14] which participates in the conversion of proIL1 β and proIL-18 to IL1- β and IL-18. In addition, IL-18 may induce the adhesion of T cells, increase the immune response of natural killer cells, enhance production of interferon- γ and induce

chemotaxis and activation of monocytes [15]. Thus, increased expression of CASP4 in patients with DVT could result in increased activation of these mechanisms, in accordance with several lines of evidence linking DVT with inflammation [16], [17] and [18].

Our study is an exploratory study aiming to generate new hypothesis for the pathogenesis of DVT in patients without known acquired or hereditary risk factors. In our study, *Microarray* technology was used as a hypothesis-generating tool for further validation by qRT-PCR, in a small number of patients. The large variations in expression data between *Microarray* and qRT-PCR have been describe by others [19], [20] and [21] in our opinion adds further strength for the positive association of CASP4 describer herein. Further studies are warranted to confirm this hypothesis.

Conclusions

The increased expression of CASP4 in patients with spontaneous DVT in our exploratory study warrants further investigations in larger cohorts of DVT patients, to investigate whether CASP4-related mechanisms, namely those that involve inflammation, might be associated with the pathogenesis of DVT.

Conflict of interest statement

The authors state that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

This work form part of the PhD of Fernanda Dutra Santiago Bassora and supported by grants from the National Institute of Science and Technology of Blood, Brazil (INCT do Sangue –CNPq/MCT/FAPESP) and CAPES. We thank Michele Servais Rubin (*in memorian*) for the excellent work.

References

- [1] Naess IA, Christiansen SC, Romundstad P, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Hammerstrøm J. Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study. *J Thromb Haemost*. 2007; 5(4):692-9.
- [2] Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, *et al*. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*. 1994; 369(6475):64-7.
- [3] Lotta LA, Wang M, Yu J, Martinelli I, Yu F, Passamonti SM, *et al*. Identification of genetic risk variants for deep vein thrombosis by multiplexed next-generation sequencing of 186 hemostatic/pro-inflammatory genes. *BMC Med Genomics*. 2012; 21; 5-7.
- [4] Cheng KB, Wang LM, Gao HJ, Hu Y. An study on screening the gene clusters associated with pulmonary embolism-deep venous thrombosis by oligo *Microarray* *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2007;87(34):2420-2.
- [5] Lee YH, Nair S, Rousseau E, Allison DB, Page GP, Tataranni PA, *et al*. *Microarray* profiling of isolated abdominal subcutaneous adipocytes from obese vs non-obese Pima Indians: increased expression of inflammation-related genes. *Diabetologia*. 2005;48(9):1776-83.
- [6] Manoel-Caetano FS, Xavier DJ, Evangelista AF, Takahashi P, Collares CV, Puthier D, *et al*. Gene expression profiles displayed by peripheral blood mononuclear cells from patients with type 2 diabetes mellitus focusing on biological processes implicated on the pathogenesis of the disease. *Gene*. In press 2012.
- [7] Osterud B, Flaegstad T. Increased tissue thromboplastin activity in monocytes of patients with meningococcal infection: related to an unfavourable prognosis. *Thromb Haemost*. 1983; 49(1):5-7.
- [8] von Brühl ML, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, *et al*. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med*. 2012; 209(4):819-35.

- [9] Day SM, Reeve JL, Pedersen B, Farris DM, Myers DD, Im M, *et al.* Macrovascular thrombosis is driven by tissue factor derived primarily from the blood vessel wall. *Blood* 2005;105:192–198.
- [10] Wakefield TW, Greenfield LJ, Rolfe MW, DeLucia A 3rd, Strieter RM, Abrams GD, *et al.* Inflammatory and procoagulant mediator interactions in an experimental baboon model of venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1993; 69(2):164-72.
- [11] Furie B, Furie BC. In vivo thrombus formation. *J Thromb Haemost* 2007; 5:12–17.
- [12] Obeng EA, Boise LH. Caspase-12 and caspase-4 are not required for caspase-dependent endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *J Biol Chem.* 2005; 280(33): 29578-87.
- [13] Nickles D, Falschlehner C, Metzigg M, Boutros M. A genome-wide RNA interference screen identifies caspase 4 as a factor required for tumor necrosis factor alpha signaling. *Mol Cell Biol.* 2012; 32(17):3372-81.
- [14] Manly DA, Boles J, Mackman N. Role of tissue factor in venous thrombosis. *Annu Rev Physiol* 2011; 73:515–525.
- [15] Volin MV, Koch AE. Interleukin-18: A mediator of inflammation and angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Journal Interferon Cytokine Res.* 2011; 31(10):745-51.
- [16] Colucci M, Semeraro N. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor: At the nexus of fibrinolysis and inflammation. *Thromb Res.* 2012; 129(3):314-9.
- [17] Davalos D, Akassol K. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Semin Immunopathol.* 2012; 34(1):43-62.
- [18] Saha P, Humphries J, Modarai B, Mattock K, Waltham M, Evans CE *et al.* Leukocytes and the Natural History of Deep Vein Thrombosis Current Concepts and Future Directions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31:506-512.
- [19] Etienne W, Meyer MH, Peppers J, Meyer RA Jr. Comparison of mRNA gene expression by RT-PCR and DNA *Microarray*. *BioTechniques* 2004; 36:618-621.

- [20] Beckman KB, Lee KY, Golden T, Melov S. Gene expression profiling in mitochondrial disease: assessment of *Microarray* accuracy by highthroughput Q-PCR. *Mitochondrion* 2004; 4:453.
- [21] Morey JS, Ryan JC, Van Dolah FM. *Microarray* validation: factors influencing correlation between oligonucleotide *Microarrays* and real-time PCR. *Biol. Proced. Online* 2006; 8(1): 175-193.

Table 1. Differentially expressed genes selected to validation according to fold change values

Gene	SPONT	RF	APS
AZU1	2.3	WE	2.7
CASP4	3.8	WE	3.0
CRTAP	WE	WE	-3.0
FLT1	WE	1.5	-2.3
IGHM	7.9	WE	1.5
MGST2	7.3	WE	2.5
POLR2J	WE	4.8	6.6

Data are expressed as fold change. WE= without expression detected. The p values ≤ 0.050 calculated by t-test for *Microarrays*. SPONT = patients with spontaneous DVT and without any known hereditary thrombophilia; RF= patients with risk factor-associated DVT, includes the presence of acquired or hereditary thrombophilias; APS= patients with anti-phospholipid syndrome; AZU1= Azurocidin 1; CASP4= Caspase 4; CRATP= Cartilage-associated protein precursor; FLT1= Vascular endothelial growth factor; IGHM= Immunoglobulin Heavy Chain Constant region mu; MGST2= Glutathion S-transferase, microsomal 2; POLR2J= RNA polymerase II subunit.

Table 2. Comparative analysis of expressed genes selected to validation according to qRT-PCR

	SPONT (n=5)	HI (n=10)	p Value
AZU1	2.625 ± 1.312	0.944 ± 1.18	0.127
CASP4	4.773±2.901	1.161 ± 2.42	0.050
CRTAP	3.677 ± 3.421	1.032 ± 1.353	0.513
FLT1	3.531 ± 3.489	0.928 ± 2.408	0.275
IGHM	2.962 ± 3.592	1.000 ± 2.268	0.827
MGST2	2.043 ± 2.698	0.4031 ± 1.743	0.513
POLR2J	1.480 ± 0.582	1.095 ± 0.427	0.814

Data are expressed are mean ± standard deviation. The p value calculated using the Mann-Whitney test. SPONT = patients with spontaneous DVT and without any known hereditary thrombophilia; HI = Healthy individuals; AZU1= Azurocidin 1; CASP4= Caspase 4; CRATP= Cartilage-associated protein precursor; FLT1= Vascular endothelial growth factor; IGHM= Immunoglobulin Heavy Chain Constant region mu; MGST2= Glutathion S-transferase, microsomal 2; POLR2J= RNA polymerase II subunit.

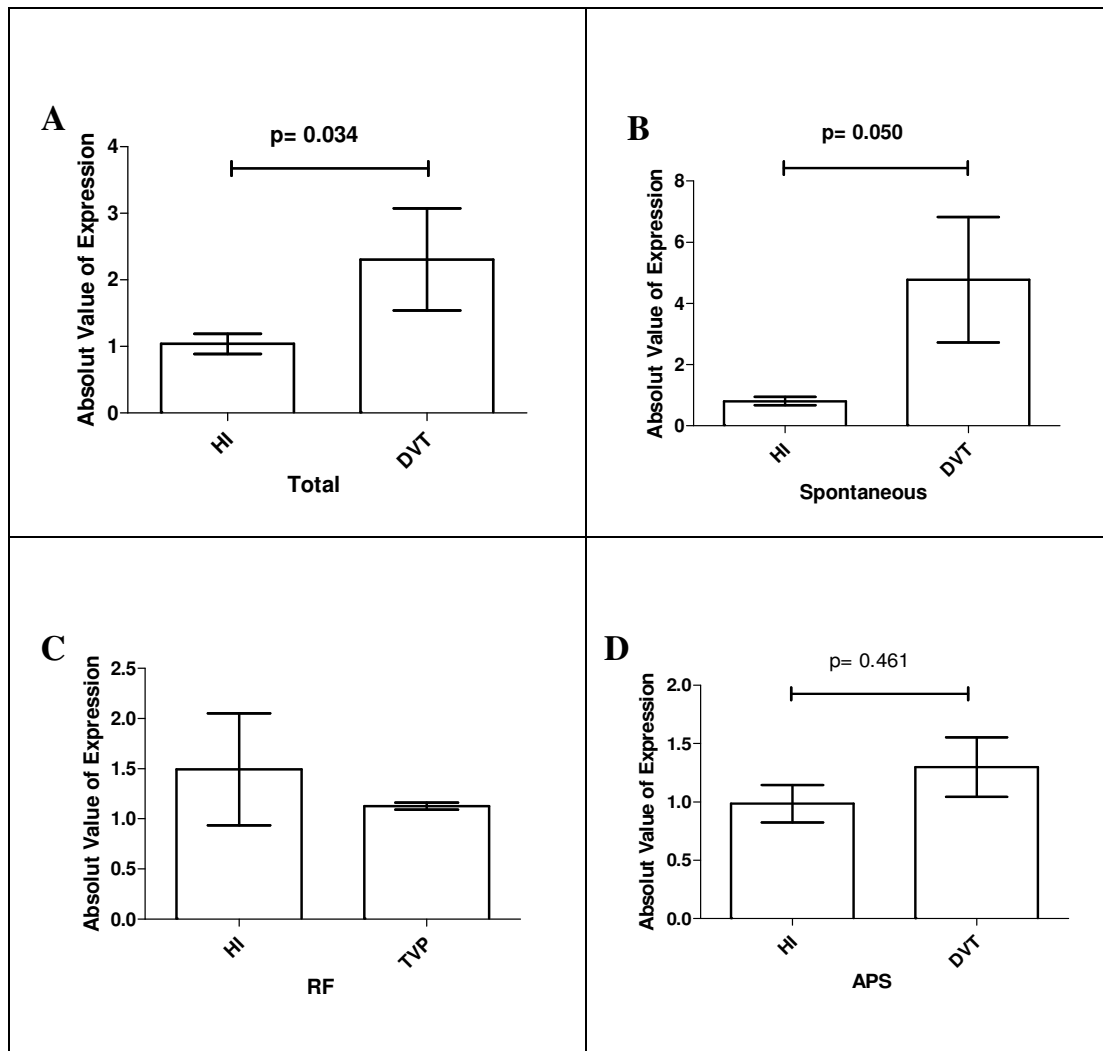


Figure 1. Comparative analysis of gene expression of Caspase 4 (CASP4) by qRT-PCR. (A) Global comparative analysis between Healthy individual (HI) (n = 9) and DVT total (n = 10). (B) Comparison between spontaneous DVT (SPONT) (n = 3) and HI (n = 3). (C) Description analysis of the group with the presence of risk factors (RF) (n = 2). (D) Comparison between HI (n = 4) and DVT with the presence of antiphospholipid syndrome (APS) (n = 5). The p value was calculated using the Mann-Whitney test.

Lista dos Clones Selecionados à Confeção do *Microarray*

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU00-26-XXX-640-C09-HB.F	CM4-HB0026-211200-640-c09	gi 6274552 ref NP_009330.1 signal transducer and activator of transcription 1 isoform alpha [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-520-H07-ET.F	CM2-ET0126-181100-520-h07	gi 12643538 sp O14497 SMF1_HUMAN SWI/SNF-related, matrix-associated, actin-dependent regulator of chromatin subfamily F member 1 (SWI-SNF complex protein p270) (B120)
QU00-25-XXX-697-H02-HB.F	CM4-HB0025-220101-697-h02	gi 2388555 gb AAB69977.1 alpha2(I) collagen [Homo sapiens]
QU11-52-XXX-639-B01-HT.F	CM4-HT1152-191200-639-b01	gi 34304590 gb AAQ63401.1 heat shock 90kDa protein 1 beta [Homo sapiens]
DO00-31-XXX-629-E10-KT.F	CM2-KT0031-181200-629-e10	gi 51094547 gb EAL23801.1 insulin-like growth factor binding protein 3 [Homo sapiens]
DO01-23-XXX-304-A10-FT.F	CM2-FT0123-280700-304-A10	gi 13124875 ref NP_074035.1 smooth muscle myosin heavy chain 11 isoform SM2 [Homo sapiens]
QU03-62-XXX-620-A08-GN.F	CM4-GN0362-161200-620-a08	gi 4826684 ref NP_004929.1 death-associated protein kinase 1 [Homo sapiens]
DO01-91-XXX-591-H11-MT.F	CM2-MT0191-131200-591-h11	gi 119641 sp P14921 ETS1_HUMAN C-ets-1 protein (p54)
DO01-93-XXX-568-D06-NT.F	CM2-NT0193-090101-568-d06	gi 15277503 gb AAH12854.1 ACTB protein [Homo sapiens]
QU00-57-XXX-292-D04-GN.F	CM4-GN0057-260900-292-d04	gi 19743571 ref NP_597841.1 TRAF interacting protein TANK isoform b [Homo sapiens]
QU02-48-XXX-817-G04-MT.F	CM4-MT0248-190101-817-g04	gi 455997 gb AAA16334.1 beta-globin [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-831-D05-NT.F	CM4-NT0286-310101-831-d05	gi 548384 sp P35658 N214_HUMAN Nuclear pore complex protein Nup214 (Nucleoporin Nup214) (214 kDa nucleoporin) (CAN protein)
QU03-61-XXX-658-A02-GN.F	CM4-GN0361-020101-658-a02	gi 4557593 ref NP_000131.1 ferrochelatase [Homo sapiens]
DO01-12-XXX-608-E03-UT.F	CM2-UT0112-141200-608-e03	gi 21619052 gb AAH32350.1 Major histocompatibility complex, class II, DR alpha [Homo sapiens]
QU00-61-XXX-301-F02-TN.F	CM4-TN0061-090900-301-f02	gi 30582257 gb AAP35355.1 stromal cell-derived factor 2 [Homo sapiens]
QU02-13-XXX-482-A09-NT.F	CM4-NT0213-051200-482-a09	gi 13346498 ref NP_056287.1 transcriptional co-activator with PDZ-binding motif (TAZ) [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-842-G03-MT.F	CM4-MT0289-010201-842-g03	gi 2822120 sp P17213 BPI_HUMAN Bactericidal permeability-increasing protein precursor (BPI) (CAP 57)
QU03-66-XXX-650-B06-GN.F	CM4-GN0366-160101-650-b06	gi 17391477 gb AAH18671.1 Annexin 5 [Homo sapiens]
DO00-84-XXX-398-E12-UT.F	CM2-UT0084-270900-398-e12	gi 4502107 ref NP_001145.1 annexin 5 [Homo sapiens]
DO02-47-XXX-588-A10-NN.F	CM2-NN0247-061200-588-a10	gi 33286428 ref NP_036376.2 solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+system), member 8 isoform a [Homo sapiens]
DO07-42-XXX-147-H08-BT.F	CM2-BT0742-100400-147-h08	gi 4507499 ref NP_003243.1 TIA1 cytotoxic granule-associated RNA-binding protein-like 1 isoform 1 [Homo sapiens]
TR02-77-XXX-024-E02-CT.F	CM3-CT0277-221099-024-e02	gi 40317626 ref NP_003237.2 thrombospondin 1 precursor [Homo sapiens]
TR02-72-XXX-048-E10-ST.F	CM3-ST0272-301199-048-e10	gi 47125326 gb AAH70494.1 FTH1 protein [Homo sapiens]
TR00-39-XXX-001-E03-CT.F	CM3-CT0039-260799-001-e03	gi 9082289 gb AAF82792.1 chaperone protein HSP90 beta [Homo sapiens]
TR02-24-XXX-034-C01-ST.F	CM3-ST0224-111199-034-c01	gi 4261689 gb AAD13989.1 complement factor B [Homo sapiens]
QU09-20-XXX-299-B11-HT.F	CM4-HT0920-090900-299-b11	gi 10442822 ref NP_057336.1 baculoviral IAP repeat-containing 6 [Homo sapiens]
QU11-51-XXX-625-D11-HT.F	CM4-HT1151-161200-625-d11	gi 30585239 gb AAP36892.1 Homo sapiens follicular lymphoma variant translocation 1
QU11-52-XXX-627-F07-HT.F	CM4-HT1152-161200-627-f07	gi 1070642 pir TSHUP4 thrombospondin 4 precursor – human

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU06-62-XXX-754-D12-CT.F	CM4-CT0662-160201-754-d12	gi 40807469 ref NP_005870.2 TRAF interacting protein [Homo sapiens]
QU06-29-XXX-700-G08-CT.F	CM4-CT0629-220101-700-g08	gi 28200581 gb AAO30127.1 nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1p105 [Homo sapiens]
QU06-29-XXX-687-C04-CT.F	CM4-CT0629-160101-687-c04	gi 40786791 gb AAR89906.1 complement component 3 [Homo sapiens]
QU05-72-XXX-427-B11-CT.F	CM4-CT0572-071100-427-b11	gi 12054054 emb CAC20448.1 interleukin-4 receptor alfa chain [Homo sapiens]
QU05-74-XXX-409-E12-CT.F	CM4-CT0574-041100-409-e12	gi 4503611 ref NP_001978.1 ets variant gene 6; TEL1 oncogene [Homo sapiens]
QU05-14-XXX-350-G05-CT.F	CM4-CT0514-021000-350-g05	gi 53734502 gb AAH83511.1 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Homo sapiens]
QU05-15-XXX-323-B07-CT.F	CM4-CT0515-190900-323-b07	gi 4502559 ref NP_001736.1 calcium modulating ligand [Homo sapiens]
QU03-61-XXX-735-B05-MT.F	CM4-MT0361-060201-735-b05	gi 2981649 pdb 1A01 D Chain D, Hemoglobin (Val Beta1 Met, Trp Beta37 Ala) Mutant
QU03-62-XXX-620-A07-GN.F	CM4-GN0362-161200-620-a07	gi 4505811 ref NP_002639.1 pim-1 oncogene; Oncogene PIM1 [Homo sapiens]
QU03-61-XXX-648-H04-GN.F	CM4-GN0361-150101-648-h04	gi 86984 pir A24571 protein-tyrosine kinase (EC 2.7.1.112) erbB2 precursor – human
QU03-61-XXX-647-B02-GN.F	CM4-GN0361-150101-647-b02	gi 33469976 ref NP_001666.2 activating transcription factor 4 [Homo sapiens]
QU00-35-XXX-603-D12-KT.F	CM4-KT0035-151200-603-d12	gi 20147693 gb AAM12614.1 guanine nucleotide binding protein alpha 11 [Homo sapiens]
QU03-61-XXX-617-B06-GN.F	CM4-GN0361-151200-617-b06	gi 12229555 sp O15123 AGP2_HUMAN Angiopoietin-2 precursor (ANG-2)
QU03-10-XXX-114-G01-CT.F	CM4-CT0310-170300-114-g01	gi 4755085 gb AAB94054.2 pro alpha 1(I) collagen [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-842-F06-MT.F	CM4-MT0289-010201-842-f06	gi 731165 sp Q02040 XE7_HUMAN B-lymphocyte antigen precursor (B-lymphocyte surface antigen)(721P) (Protein XE7)
QU02-86-XXX-838-H08-MT.F	CM4-MT0286-010201-838-h08	gi 10835256 ref NP_037390.2 PYD and CARD domain containing isoform a [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-841-C09-MT.F	CM4-MT0289-010201-841-c09	gi 33636768 ref NP_891847.1 myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 5 [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-837-H09-MT.F	CM4-MT0286-010201-837-h09	gi 39812055 ref NP_945355.1 arrestin beta 2 isoform 2 [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-835-D08-MT.F	CM4-MT0286-080201-835-d08	gi 55959449 emb CAI12102.1 ADP-ribosyltransferase (NAD+; poly (ADP-ribose) polymerase) [Homo sapiens]
DO02-95-XXX-656-G03-GN.F	CM2-GN0295-020101-656-g03	gi 13543542 gb AAH05929.1 Proteoglycan 2, preproprotein [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-738-G04-MT.F	CM4-MT0286-060201-738-g04	gi 6996021 ref NP_000388.2 cytochrome b-245, beta polypeptide (chronic granulomatous disease)[Homo sapiens]
QU02-85-XXX-033-E01-HT.F	CM4-HT0285-281099-033-e01	gi 5031857 ref NP_005557.1 lactate dehydrogenase A [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-729-C03-MT.F	CM4-MT0286-160201-729-c03	gi 129747 sp P16284 PEC1_HUMAN Platelet endothelial cell adhesion molecule precursor (PECAM-1)(CD31 antigen) (EndoCAM) (GPIIA')
QU02-48-XXX-819-F07-MT.F	CM4-MT0248-190101-819-f07	gi 1346733 sp P13796 PLSL_HUMAN L-plastin (Lymphocyte cytosolic protein 1)(LCP-1)(LC64P)
QU02-48-XXX-818-D04-MT.F	CM4-MT0248-190101-818-d04	gi 18641364 ref NP_563579.1 protein tyrosine phosphatase, receptor type, C isoform 3 precursor[Homo sapiens]
QU02-47-XXX-815-F10-MT.F	CM4-MT0247-190101-815-f10	gi 21040336 ref NP_620309.1 B-cell lymphoma 6 protein [Homo sapiens]
DO02-89-XXX-685-B06-GN.F	CM2-GN0289-100101-685-b06	gi 4507907 ref NP_000543.1 von Willebrand factor precursor [Homo sapiens]
QU03-32-XXX-643-H06-GN.F	CM4-GN0332-211200-643-h06	gi 1335064 emb CAA45118.1 fibrillin [Homo sapiens]
QU02-47-XXX-814-H09-MT.F	CM4-MT0247-190101-814-h09	gi 129825 sp P05164 PERM_HUMAN Myeloperoxidase precursor (MPO)
QU02-46-XXX-811-H04-MT.F	CM4-MT0246-190101-811-h04	gi 20379122 gb AAM21121.1 small GTP binding protein RhoG [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU02-47-XXX-812-C02-MT.F	CM4-MT0247-190101-812-c02	gi 4504223 ref NP_000172.1 glucuronidase, beta [Homo sapiens]
QU02-47-XXX-812-D01-MT.F	CM4-MT0247-190101-812-d01	gi 7689256 gb AAF67726.1 transcription specificity factor Sp1 [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-811-D02-MT.F	CM4-MT0246-190101-811-d02	gi 29611783 sp Q9NRY4 GRLF_HUMAN Glucocorticoid receptor DNA binding factor 1 (Glucocorticoid receptor repression factor 1) (GRF-1) (Rho GAP p190A) (p190-A)
QU02-46-XXX-810-B12-MT.F	CM4-MT0246-190101-810-b12	gi 4503493 ref NP_001955.1 early growth response 1 [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-811-A03-MT.F	CM4-MT0246-190101-811-a03	gi 27437042 ref NP_724780.2 colony stimulating factor 3 receptor isoform b precursor [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-808-H04-MT.F	CM4-MT0246-180101-808-h04	gi 4505227 ref NP_002423.1 myeloid cell nuclear differentiation antigen [Homo sapiens]
QU02-37-XXX-807-D07-MT.F	CM4-MT0237-180101-807-d07	gi 6518635 dbj BAA87921.1 cellular oncogene c-fos [Homo sapiens]
QU02-37-XXX-804-G11-MT.F	CM4-MT0237-180101-804-g11	gi 54696386 gb AAV38565.1 jun B proto-oncogene [Homo sapiens]
QU02-36-XXX-802-B11-MT.F	CM4-MT0236-180101-801-a12	gi 23238208 ref NP_055154.3 interleukin 17 receptor precursor [Homo sapiens]
QU02-21-XXX-196-G01-BN.F	CM4-BN0221-100600-196-g01	gi 20141171 sp P01028 CO4_HUMAN Complement C4 precursor [Contains: C4a anaphylatoxin; C4b]
QU00-91-XXX-739-C09-CN.F	CM4-CN0091-060201-739-c09	gi 15559271 gb AAH13992.1 Mitogen-activated protein kinase 3 [Homo sapiens]
QU00-91-XXX-725-G04-CN.F	CM4-CN0091-130201-725-g04	gi 32879985 gb AAP88823.1 diaphorase (NADH) (cytochrome b-5 reductase) [Homo sapiens]
QU00-91-XXX-739-A07-CN.F	CM4-CN0091-060201-739-a07	gi 15624094 gb AAL03994.1 MHC class I antigen heavy chain [Homo sapiens]
QU00-90-XXX-722-A08-CN.F	CM4-CN0090-130201-722-a08	gi 4502549 ref NP_001734.1 calmodulin 2 [Homo sapiens]
QU00-89-XXX-847-B11-CN.F	CM4-CN0089-050201-847-b11	gi 28277071 gb AAH45640.1 Karyopherin beta 3 [Homo sapiens]
QU00-83-XXX-329-A02-GN.F	CM4-GN0083-230900-329-a02	gi 38373693 ref NP_003102.1 Sp3 transcription factor; specificity protein 3 [Homo sapiens]
QU00-61-XXX-531-G06-LT.F	CM4-LT0061-150600-531-g06	gi 47606000 sp Q15276 RAP1_HUMAN Rab GTPase binding effector protein 1 (Rabaptin-5)(Rabaptin-5alpha) (Rabaptin-4)
QU00-45-XXX-494-F11-IT.F	CM4-IT0045-080101-494-f11	gi 10880979 ref NP_002330.1 lymphocyte-specific protein 1 [Homo sapiens]
QU00-42-XXX-611-C12-IT.F	CM4-IT0042-131200-611-c12	gi 4505683 ref NP_002600.1 platelet-derived growth factor receptor beta precursor [Homo sapiens]
TR02-72-XXX-048-C06-ST.F	CM3-ST0272-301199-048-c06	gi 47125326 gb AAH70494.1 FTH1 protein [Homo sapiens]
QU00-42-XXX-479-D04-IT.F	CM4-IT0042-051200-479-d04	gi 54696564 gb AAV38654.1 CD37 antigen [Homo sapiens]
QU00-26-XXX-623-C03-HB.F	CM4-HB0026-161200-623-c03	gi 55663658 emb CAH70565.1 ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 7 [Homo sapiens]
QU00-22-XXX-472-B09-HN.F	CM4-HN0022-051200-472-b09	gi 107631 pir A35041 ryanodine receptor type 1, skeletal muscle - human
QU00-25-XXX-674-G05-HB.F	CM4-HB0025-120101-674-g05	gi 4885087 ref NP_005169.1 B-cell CLL/lymphoma 3 [Homo sapiens]
QU00-20-XXX-451-B01-HN.F	CM4-HN0020-221100-451-b01	gi 33346923 gb AAQ15273.1 complement component 2 [Homo sapiens]
DO50-03-XXX-408-G04-CT.F	CM2-CT5003-051000-408-g04	gi 32528299 ref NP_001158.2 baculoviral IAP repeat-containing protein 4 [Homo sapiens]
DO50-01-XXX-403-B04-CT.F	CM2-CT5001-270900-403-b04	gi 21902512 gb AAM78554.1 Mdm2, transformed 3T3 cell double minute 2, p53 binding protein[Homo sapiens]
DO11-88-XXX-450-D04-NN.F	CM2-NN1188-271000-450-d04	gi 30585099 gb AAP36822.1 Homo sapiens hematopoietic cell-specific Lyn substrate 1
QU02-98-XXX-496-G04-GN.F	CM4-GN0298-061200-496-g04	gi 67611 pir C2HU complement C2 precursor [validated] - human
DO11-52-XXX-455-E04-NN.F	CM2-NN1152-311000-455-e04	gi 10863873 ref NP_000651.1 transforming growth factor, beta 1 [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO11-53-XXX-457-A05-NN.F	CM2-NN1153-311000-457-a05	gi 38505165 ref NP_942126.1 ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 isoform Rac1c; rho family, small GTP binding protein Rac1
DO09-46-XXX-363-B08-HT.F	CM2-HT0946-070900-363-b08	gi 34616 emb CAA23830.1 beta-2 microglobulin [Homo sapiens]
QU00-91-XXX-739-B03-CN.F	CM4-CN0091-060201-739-b03	gi 4506153 ref NP_002764.1 prostasin preproprotein [Homo sapiens]
DO06-31-XXX-126-B10-HT.F	CM2-HT0631-220300-126-b10	gi 33519458 ref NP_877495.1 myeloid cell leukemia sequence 1 isoform 2; induced myeloid leukemia cell differentiation protein Mcl-1 [Homo sapiens]
DO06-06-XXX-646-G04-CT.F	CM2-CT0606-100101-646-g04	gi 20428652 ref NP_005347.2 lymphocyte-specific protein tyrosine kinase [Homo sapiens]
DO06-06-XXX-644-A05-CT.F	CM2-CT0606-211200-644-a05	gi 4502549 ref NP_001734.1 calmodulin 2 [Homo sapiens]
DO02-95-XXX-656-A09-GN.F	CM2-GN0295-020101-656-a09	gi 30584545 gb AAP36525.1 Homo sapiens nuclear factor of kappa ...
DO03-03-XXX-266-D04-BN.F	CM2-BN0303-110700-266-d04	gi 38044112 ref NP_937883.1 restin isoform b; cytoplasmic linker 1; Reed-Steinberg cell-expressed intermediate filament-associated protein [Homo sapiens]
DO02-94-XXX-677-F04-GN.F	CM2-GN0294-030101-677-f04	gi 4507171 ref NP_003109.1 secreted protein, acidic, cysteine-rich (osteonectin)
DO02-94-XXX-678-E12-GN.F	CM2-GN0294-020101-678-e12	gi 4504151 ref NP_002078.1 granulins [Homo sapiens]
DO02-94-XXX-677-D09-GN.F	CM2-GN0294-030101-677-d09	gi 4557555 ref NP_000109.1 endoglin precursor [Homo sapiens]
DO02-88-XXX-667-A07-GN.F	CM2-GN0288-020101-667-a07	gi 125978 sp P10586 PTPF_HUMAN LAR protein precursor (Leukocyte antigen related)
DO02-88-XXX-669-G08-GN.F	CM2-GN0288-020101-669-g08	gi 4501895 ref NP_001096.1 activin A type I receptor precursor [Homo sapiens]
DO02-89-XXX-685-C09-GN.F	CM2-GN0289-100101-685-c09	gi 27894307 ref NP_775184.1 interleukin 1 family, member 10 [Homo sapiens]
DO02-47-XXX-582-A07-NN.F	CM2-NN0247-151200-582-a07	gi 514268 gb AAB60393.1 proto-oncogene tyrosine-protein kinase [Homo sapiens]
DO02-84-XXX-046-A08-ST.F	CM2-ST0284-061299-046-a08	gi 4586395 dbj BAA76374.1 interleukin-18 binding protein [Homo sapiens]
DO02-20-XXX-543-G06-GN.F	CM2-GN0220-221100-543-g06	gi 4507751 ref NP_001062.1 thymidylate synthetase; Thymidylate synthase; TYMS protein [Homosapiens]
DO02-10-XXX-626-H11-NT.F	CM2-NT0210-211200-626-h11	gi 23428950 gb AAM52484.1 winged-helix transcription factor RFX4 variant 3 [Homo sapiens]
DO02-10-XXX-444-D10-NN.F	CM2-NN0210-281000-444-d10	gi 15451916 ref NP_001195.2 bone morphogenetic protein receptor, type II isoform 1 precursor;serine/threonine kinase; type II activin receptor-like kinase [Homo sapiens]
DO01-94-XXX-576-D11-NT.F	CM2-NT0194-301100-576-d11	gi 4321116 gb AAC51331.2 CREB-binding protein [Homo sapiens]
DO01-93-XXX-653-B08-ET.F	CM2-ET0193-261200-653-b08	gi 6005902 ref NP_009043.1 thrombospondin 3 precursor [Homo sapiens]
QU05-42-XXX-072-D12-BT.F	CM4-BT0542-110100-072-d12	gi 113960 sp P08758 ANX5_HUMAN Annexin A5 (Annexin V) (Lipocortin V) (Endonexin II) (Calphobindin I) (CBP-I) (Placental anticoagulant protein I) (PAP-I)(PP4) (Thromboplastin inhibitor) (Vascular anticoagulant-alpha) (VAC-alpha) (Anchorin CII)
DO01-93-XXX-652-B11-ET.F	CM2-ET0193-211200-652-b11	gi 6274524 gb AAC12728.2 ETS related protein-growth factor receptor tyrosine kinase fusion proteins[Homo sapiens]
DO01-93-XXX-562-A11-NT.F	CM2-NT0193-301100-562-a11	gi 16924233 gb AAH17387.1 SPP1 protein [Homo sapiens]
DO01-92-XXX-581-G06-NT.F	CM2-NT0192-131200-581-g06	gi 4885457 ref NP_005350.1 MAD, mothers against decapentaplegic homolog 4 [Homo sapiens]
DO01-92-XXX-620-A12-MT.F	CM2-MT0192-191200-620-a12	gi 4337105 gb AAD18081.1 casein kinase II beta subunit [Homo sapiens]
DO01-92-XXX-581-E04-NT.F	CM2-NT0192-131200-581-e04	gi 2136297 pir A53771 transcription factor LSF-ID - human

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO01-92-XXX-581-B02-NT.F	CM2-NT0192-131200-581-b02	gi 16876992 gb AAH16768.1 Nucleophosmin 1 [Homo sapiens]
DO01-85-XXX-585-B08-NT.F	CM2-NT0185-061200-585-b08	gi 15080309 gb AAH11913.1 Purinergic receptor P2X7, isoform a [Homo sapiens]
DO01-85-XXX-585-D06-NT.F	CM2-NT0185-061200-585-d06	gi 2506872 sp P02751 FINC_HUMAN Fibronectin precursor (FN) (Cold-insoluble globulin) (CIG)
DO01-91-XXX-590-B09-MT.F	CM2-MT0191-141200-590-b09	gi 4503249 ref NP_003463.1 DEK oncogene (DNA binding); DEK gene [Homo sapiens]
DO01-80-XXX-539-E11-CI.F	CM2-CI0180-201100-539-e11	gi 4885225 ref NP_005234.1 Ewing sarcoma breakpoint region 1 isoform EWS [Homo sapiens]
DO01-66-XXX-495-A02-GN.F	CM2-GN0166-101100-495-a02	gi 5454132 ref NP_006281.1 tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3 [Homo sapiens]
DO01-79-XXX-528-F12-CI.F	CM2-CI0179-181100-528-f12	gi 51894580 gb AAU13048.1 ATP synthase F0 subunit 6 [Homo sapiens]
DO01-66-XXX-488-C09-GN.F	CM2-GN0166-021100-488-c09	gi 15217079 gb AAK92491.1 pigment epithelium-derived factor [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-683-E10-CN.F	CM4-CN0095-150101-683-e10	gi 40353740 ref NP_954658.1 c-Mpl binding protein isoform b [Homo sapiens]
DO01-57-XXX-547-G10-MT.F	CM2-MT0157-271100-547-g10	gi 4507065 ref NP_003055.1 secretory leukocyte protease inhibitor precursor [Homo sapiens]
DO01-57-XXX-547-G04-MT.F	CM2-MT0157-271100-547-g04	gi 7108367 ref NP_005419.2 vav 1 oncogene [Homo sapiens]
DO01-35-XXX-484-B11-CI.F	CM2-CI0135-101100-484-b11	gi 29165820 gb AAH49195.1 Elongation factor RNA polymerase II [Homo sapiens]
DO01-40-XXX-375-G02-TN.F	CM2-TN0140-140900-375-g02	gi 5729945 ref NP_006590.1 nuclear factor of activated T-cells 5 isoform c [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-520-D04-ET.F	CM2-ET0126-181100-520-d04	gi 4758594 ref NP_004503.1 interleukin 11 receptor, alpha isoform 1 precursor [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-519-G06-ET.F	CM2-ET0126-181100-519-g06	gi 4502951 ref NP_000081.1 alpha 1 type III collagen [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-520-D03-ET.F	CM2-ET0126-181100-520-d03	gi 4557749 ref NP_000237.1 MHC class II transactivator [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-517-G08-ET.F	CM2-ET0126-201100-517-g08	gi 4557882 ref NP_000197.1 interleukin 2 receptor, gamma precursor [Homo sapiens]
DO01-23-XXX-303-G09-FT.F	CM2-FT0123-280700-303-G09	gi 24797067 ref NP_002107.3 major histocompatibility complex, class I, A precursor [Homo sapiens]
DO00-99-XXX-287-G12-MT.F	CM2-MT0099-190700-287-g12	gi 4502647 ref NP_001756.1 CD1C antigen, c polypeptide; Thymocyte antigen CD1C [Homo sapiens]
DO00-84-XXX-400-G10-UT.F	CM2-UT0084-270900-400-g10	gi 4996099 dbj BAA32101.1 BCAP [Homo sapiens]
DO00-84-XXX-398-G11-UT.F	CM2-UT0084-270900-398-g11	gi 24586653 ref NP_733751.1 myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 3 [Homo sapiens]
DO00-30-XXX-615-F08-KT.F	CM2-KT0030-141200-615-f08	gi 5689767 emb CAA80524.2 p65 subunit of transcription factor NF-kappaB [Homo sapiens]
DO00-09-XXX-605-E02-RT.F	CM2-RT0009-091200-605-e02	gi 38372925 ref NP_940991.1 basigin isoform 2; OK blood group; collagenase stimulatory factor;M6 antigen; extracellular matrix metalloproteinase inducer [Homo sapiens]
DO00-09-XXX-604-G07-RT.F	CM2-RT0009-071200-604-g07	gi 4505197 ref NP_003473.1 myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 2; ALL1-related gene [Homo sapiens]
DO00-09-XXX-602-E02-RT.F	CM2-RT0009-071200-602-e02	gi 19913410 ref NP_059447.2 major vault protein [Homo sapiens]
DO00-02-XXX-216-B09-NT.F	CM2-NT0002-010600-216-b09	gi 38049097 gb AAR10356.1 tumor suppressor p53 [Homo sapiens]
UM02-82-XXX-045-B03-HT.F	CM1-HT0282-181199-045-b03	gi 28274638 gb AAO34406.1 tissue plasminogen activator; TPA [Homo sapiens]
DO00-30-XXX-618-B08-KT.F	CM2-KT0030-141200-618-b08	gi 2144887 pir C1HUQC complement subcomponent C1q chain C precursor - human
QU02-47-XXX-815-E11-MT.F	CM4-MT0247-190101-815-e11	gi 29725624 ref NP_775736.2 collagen, type XXIII, alpha 1 [Homo sapiens]
DO00-09-XXX-604-F07-RT.F	CM2-RT0009-071200-604-f07	gi 4557617 ref NP_000811.1 growth arrest-specific 6 [Homo sapiens]
DO00-30-XXX-618-G07-KT.F	CM2-KT0030-141200-618-g07	gi 20138948 sp Q04721 NTC2_HUMAN Neurogenic locus notch homolog protein 2 precursor (Notch 2) (hN2)

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO02-88-XXX-668-B03-GN.F	CM2-GN0288-020101-668-b03	gi 627438 pir A54105 fibrillin-2 precursor - human
QU03-29-XXX-834-H04-GN.F	CM4-GN0329-010201-834-h04	gi 1155011 emb CAA57709.1 nidogen [Homo sapiens]
QU00-23-XXX-455-E10-HN.F	CM4-HN0023-221100-455-e10	gi 37790802 gb AAR03503.1 angiotensin II receptor, type 1 [Homo sapiens]
DO01-16-XXX-257-A05-NN.F	CM2-NN0116-100700-257-a05	gi 6912236 ref NP_036230.1 angiopoietin-like 2 precursor; angiopoietin-related protein 2 [Homo sapiens]
DO00-98-XXX-284-H06-MT.F	CM2-MT0098-190700-284-H06	gi 338669 gb AAA60612.1 angiotensin converting enzyme (EC 3.4.15.1)
DO01-91-XXX-591-G04-MT.F	CM2-MT0191-131200-591-g04	gi 2114410 gb AAB58261.1 interleukin-16 [Homo sapiens]
DO02-20-XXX-542-B09-GN.F	CM2-GN0220-231100-542-b09	gi 13111859 gb AAH03097.1 Intercellular adhesion molecule 2, precursor [Homo sapiens]
DO00-63-XXX-662-B12-CN.F	CM2-CN0063-030101-662-b12	gi 5453932 ref NP_006225.1 DNA directed RNA polymerase II polypeptide J [Homo sapiens]
DO01-22-XXX-302-D12-FT.F	CM2-FT0122-270700-302-D12	gi 2239119 emb CAB04787.1 GlcNAc-1-P transferase [Homo sapiens]
DO01-69-XXX-533-C04-NT.F	CM2-NT0169-201100-533-c04	gi 16756125 gb AAK63127.1 UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 7 [Homo sapiens]
DO01-79-XXX-528-C06-CI.F	CM2-CI0179-181100-528-c06	gi 21264332 ref NP_060884.1 GalNAc alpha-2, 6-sialyltransferase I [Homo sapiens]
DO01-80-XXX-539-B11-CI.F	CM2-CI0180-201100-539-b11	gi 5031953 ref NP_005778.1 asparagine-linked glycosylation 3 homolog (yeast,alpha-1,3-mannosyltransferase); Not56-like protein [Homo sapiens]
DO01-93-XXX-652-F08-ET.F	CM2-ET0193-211200-652-f08	gi 28373094 ref NP_778205.1 sialyltransferase 7D isoform b [Homo sapiens]
DO02-88-XXX-669-G11-GN.F	CM2-GN0288-020101-669-g11	gi 30583047 gb AAP35768.1 CD59 antigen p18-20 (antigen identified by monoclonal antibodies 16.3A5, EJ16, EJ30, EL32 and G344) [Homo sapiens]
DO02-94-XXX-675-G08-GN.F	CM2-GN0294-020101-675-g08	gi 15292613 gb AAK93790.1 alpha 2,3-sialyltransferase IV type B+18 [Homo sapiens]
DO02-94-XXX-675-H05-GN.F	CM2-GN0294-020101-675-h05	gi 21914412 gb AAM81378.1 alpha-2,3-sialyltransferase IV type A1+18 [Homo sapiens]
DO06-55-XXX-157-A03-HT.F	CM2-HT0655-170400-157-a03	gi 51234111 gb AAT97978.1 epidermal growth factor receptor; mENA [Homo sapiens]
QU00-03-XXX-133-C12-UM.F	CM4-UM0003-050400-133-c12	gi 4507109 ref NP_000336.1 alpha-synuclein isoform NACP140 [Homo sapiens]
QU00-83-XXX-352-E11-GN.F	CM4-GN0083-021000-352-e11	gi 4502787 ref NP_000726.1 glycoprotein hormones, alpha polypeptide precursor [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-690-G01-CN.F	CM4-CN0095-160101-690-g01	gi 4504371 ref NP_000511.1 hexosaminidase A preproprotein [Homo sapiens]
QU02-47-XXX-812-D09-MT.F	CM4-MT0247-190101-812-d09	gi 4506951 ref NP_003024.1 sialyltransferase 4A [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-738-D09-MT.F	CM4-MT0286-060201-738-d09	gi 42476166 ref NP_002854.2 glycogen phosphorylase, liver [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-733-E10-MT.F	CM4-MT0289-130201-733-e10	gi 15277711 gb AAK93966.1 translation elongation factor 1 alpha 1-like 14 [Homo sapiens]
TR03-15-XXX-045-C05-CT.F	CM3-CT0315-271199-045-c05	gi 22203765 ref NP_078918.2 UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 12 (GalNAc-T12) [Homo sapiens]
TR03-01-XXX-035-B08-BT.F	CM3-BT0301-171199-035-b08	gi 12056468 ref NP_068831.1 junction plakoglobin [Homo sapiens]
QU02-47-XXX-815-H06-MT.F	CM4-MT0247-190101-815-h06	gi 37928146 pdb 1R1Y D Chain D, Crystal Structure Of Deoxy-Human Hemoglobin Bassett At 1.8 Angstrom
QU00-57-XXX-284-H09-GN.F	CM4-GN0057-180900-284-h09	gi 11932152 emb CAC19193.1 cell surface receptor FDFACT2 [Homo sapiens]
DO01-90-XXX-596-H11-MT.F	CM2-MT0190-151200-596-h11	gi 22671717 gb AAN04486.1 hemoglobin alpha-2 [Homo sapiens]
DO01-90-XXX-595-G01-MT.F	CM2-MT0190-091200-595-g01	gi 28549 emb CAA23749.1 alpha globin [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO01-58-XXX-572-C04-MT.F	CM2-MT0158-301100-572-c04	gi 4826762 ref NP_005134.1 haptoglobin [Homo sapiens]
DO06-06-XXX-643-E01-CT.F	CM2-CT0606-191200-643-e01	gi 4507241 ref NP_003137.1 structure specific recognition protein 1 [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-491-D12-NT.F	CM4-NT0246-051200-491-d12	gi 51094763 gb EAL24010.1 ubiquitin-conjugating enzyme HBUCE1 [Homo sapiens]
QU04-14-XXX-103-C07-BT.F	CM4-BT0414-280200-103-c07	gi 54673819 gb AAH33349.1 Ubiquitin-conjugating enzyme E2D 2 (UBC4/5 homolog, yeast) [Homo sapiens]
TR01-93-XXX-030-B02-HT.F	CM3-HT0193-031199-030-b02	gi 5454146 ref NP_006348.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2E 3 [Homo sapiens]
QU00-01-XXX-532-E07-NN.F	CM4-NN0001-110800-532-E07	gi 54112399 ref NP_112492.1 Cdk5 and Abl enzyme substrate 2 [Homo sapiens]
UM02-82-XXX-045-D08-HT.F	CM1-HT0282-181199-045-d08	gi 8922179 ref NP_060893.1 protein kinase STYK1 [Homo sapiens]
QU02-91-XXX-663-D08-NT.F	CM4-NT0291-150101-663-d08	gi 37999491 sp Q07912 ACK1_HUMAN Activated CDC42 kinase 1 (ACK-1)
QU01-80-XXX-741-C10-OT.F	CM4-OT0180-060201-741-c10	gi 1197210 emb CAA26130.1 adenosine deaminase [Homo sapiens]
DO06-70-XXX-178-A12-HT.F	CM2-HT0670-020500-178-a12	gi 7021541 gb AAF35394.1 gamma-adaptin related protein, GGA2 [Homo sapiens]
DO07-50-XXX-250-B10-HT.F	CM2-HT0750-040700-250-b10	gi 2765190 emb CAA72902.1 gamma-adaptin [Homo sapiens]
QU02-47-XXX-815-B04-MT.F	CM4-MT0247-190101-815-b04	gi 9558729 ref NP_037497.1 golgi associated, gamma adaptin ear containing, ARF binding protein 1 isoform 1 [Homo sapiens]
QU06-31-XXX-822-B08-CT.F	CM4-CT0631-220101-822-b08	gi 15963476 gb AAL11039.1 alpha-adaptin A related protein [Homo sapiens]
UM02-82-XXX-045-G06-HT.F	CM1-HT0282-181199-045-g06	gi 4557469 ref NP_001273.1 adaptor-related protein complex 2, beta 1 subunit [Homo sapiens]
DO02-12-XXX-436-C10-NN.F	CM2-NN0212-121000-436-c10	gi 21361545 ref NP_057562.2 nuclear interacting partner of anaplastic lymphoma kinase (ALK)[Homo sapiens]
UM02-82-XXX-045-H02-HT.F	CM1-HT0282-181199-045-h02	gi 4557575 ref NP_001432.1 fatty acid amide hydrolase [Homo sapiens]
QU00-19-XXX-459-F11-HN.F	CM4-HN0019-271100-459-f11	gi 41327752 ref NP_659431.5 diabetes related ankyrin repeat protein [Homo sapiens]
DO06-06-XXX-643-E07-CT.F	CM2-CT0606-191200-643-e07	gi 31317212 ref NP_057460.2 ankyrin repeat and FYVE domain containing 1 isoform 1 [Homo sapiens]
DO01-94-XXX-576-B05-NT.F	CM2-NT0194-301100-576-b05	gi 34222186 ref NP_660278.2 fibronectin type 3 and ankyrin repeat domains 1 [Homo sapiens]
DO00-70-XXX-248-F04-FT.F	CM2-FT0070-220600-248-f04	gi 46519147 ref NP_060217.1 multiple ankyrin repeats, single KH-domain protein isoform 1;multiple ankyrin repeats, single KH-domain homolog [Homo sapiens]
QU00-96-XXX-400-F08-ET.F	CM4-ET0096-011100-400-f08	gi 14424019 sp O15084 AN28_HUMAN Ankyrin repeat domain protein 28
QU11-57-XXX-407-H09-NN.F	CM4-NN1157-011100-407-h09	gi 55664979 emb CAH73039.1 ankyrin repeat domain 10 [Homo sapiens]
QU03-32-XXX-616-D05-GN.F	CM4-GN0332-151200-616-d05	gi 51493001 ref XP_377955.2 PREDICTED: ankyrin repeat and IBR domain containing 1 [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-832-C05-NT.F	CM4-NT0286-310101-832-c05	gi 16418371 ref NP_443102.1 sorting nexin associated golgi protein 1 [Homo sapiens]
QU00-11-XXX-272-D12-UT.F	CM4-UT0011-190800-272-d12	gi 51468548 ref XP_374779.2 PREDICTED: ankyrin repeat domain 26 [Homo sapiens]
QU00-19-XXX-459-B03-HN.F	CM4-HN0019-271100-459-b03	gi 38327522 ref NP_055206.2 cardiac ankyrin repeat protein [Homo sapiens]
DO01-67-XXX-497-D03-GN.F	CM2-GN0167-141100-497-d03	gi 27451489 gb AAO14943.1 multiple ankyrin repeats single KH domain protein isoform 1 [Homo sapiens]
DO01-27-XXX-524-A06-ET.F	CM2-ET0127-291100-524-a06	gi 20521940 dbj BAB13387.2 KIAA1561 protein [Homo sapiens]
DO01-12-XXX-600-B09-UT.F	CM2-UT0112-141200-600-b09	gi 15625586 gb AAL04173.1 centaurin gamma3 [Homo sapiens]
DO00-61-XXX-674-H07-RT.F	CM2-RT0061-030101-674-h07	gi 38173790 gb AAH60800.1 Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, zeta, isoform a [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
UM00-29-XXX-001-G08-ST.F	CM1-ST0029-200799-001-g08	gi 22208964 ref NP_665879.1 ankyrin repeat and SOCS box-containing protein 4 isoform b [Homo sapiens]
QU03-33-XXX-630-G03-GN.F	CM4-GN0333-161200-630-g03	gi 40556372 ref NP_056023.2 ankyrin repeat domain 12 [Homo sapiens]
QU03-28-XXX-827-H02-GN.F	CM4-GN0328-300101-827-h02	gi 21245100 ref NP_116110.2 T-cell activation NFkB-like protein [Homo sapiens]
QU01-03-XXX-211-G07-FT.F	CM4-FT0103-230600-211-g07	gi 32967599 ref NP_001140.2 ankyrin 3 isoform 2 [Homo sapiens]
DO01-67-XXX-497-B07-GN.F	CM2-GN0167-141100-497-b07	gi 38683816 ref NP_942592.1 ankyrin repeat domain protein 17 isoform b; serologically defined breast cancer antigen NY-BR-16; gene trap ankyrin repeat [Homo sapiens]
DO01-65-XXX-493-G02-GN.F	CM2-GN0165-101100-493-g02	gi 40789039 dbj BAA83026.2 KIAA1074 protein [Homo sapiens]
QU05-15-XXX-323-D03-CT.F	CM4-CT0515-190900-323-d03	gi 21389371 ref NP_653191.1 ankyrin repeat domain 22 [Homo sapiens]
UM02-82-XXX-045-D04-HT.F	CM1-HT0282-181199-045-d04	gi 21759000 sp Q12955 ANK3_HUMAN Ankyrin 3 (ANK-3) (Ankyrin G)
DO01-79-XXX-650-A09-CI.F	CM2-CI0179-211200-650-a09	gi 18105012 ref NP_057169.2 apoptosis related protein 3 isoform a; p18 protein; apoptosis related protein APR-3 [Homo sapiens]
DO01-91-XXX-592-B03-MT.F	CM2-MT0191-071200-592-b03	gi 46852388 ref NP_060707.2 cell-cycle and apoptosis regulatory protein 1 [Homo sapiens]
DO01-94-XXX-566-B03-NT.F	CM2-NT0194-051200-566-b03	gi 13540602 ref NP_110436.1 TGF-beta induced apoptosis protein 12 [Homo sapiens]
DO02-10-XXX-624-E12-NT.F	CM2-NT0210-141200-624-e12	gi 29029559 ref NP_001307.2 CSE1 chromosome segregation 1-like protein isoform a [Homo sapiens]
DO02-10-XXX-625-C04-NT.F	DO02-10-XXX-625-C04-NT.F	gi 11277470 ref NP_068355.1 CD27-binding (Siva) protein isoform 2 [Homo sapiens]
DO08-70-XXX-335-F05-HT.F	CM2-HT0870-220800-335-f05	gi 22202631 ref NP_665812.1 programmed cell death 8 isoform 3 [Homo sapiens]
QU00-11-XXX-306-C12-UT.F	CM4-UT0011-080900-306-c12	gi 7657013 ref NP_036270.1 apoptosis antagonizing transcription factor [Homo sapiens]
QU00-44-XXX-310-D07-UT.F	CM4-UT0044-230900-310-d07	gi 5174547 ref NP_005914.1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5 [Homo sapiens]
QU00-91-XXX-849-E05-CN.F	CM4-CN0091-070201-849-e05	gi 18699720 ref NP_056131.1 protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 13B [Homo sapiens]
QU02-48-XXX-818-H05-MT.F	CM4-MT0248-190101-818-h05	gi 30582341 gb AAP35397.1 CASP8 and FADD-like apoptosis regulator [Homo sapiens]
QU09-20-XXX-384-C07-HT.F	CM4-HT0920-301000-384-c07	gi 23506642 gb AAN37907.1 cell death-inducing DFFA-like effector b [Homo sapiens]
QU00-84-XXX-552-B05-NN.F	CM4-NN0084-110800-552-b05	gi 17380404 sp P15336 ATF2_HUMAN Cyclic-AMP-dependent transcription factor ATF-2 (Activating transcription factor 2) (cAMP response element binding protein CRE-BP1) (HB16)
QU05-72-XXX-416-C08-CT.F	CM4-CT0572-041100-416-c08	gi 4557359 ref NP_000614.1 bradykinin receptor B2 [Homo sapiens]
DO03-43-XXX-049-E08-CT.F	CM2-CT0343-071299-049-e08	gi 34192875 gb AAH38244.2 IBTK protein [Homo sapiens]
DO00-63-XXX-659-B04-CN.F	CM2-CN0063-030101-659-b04	gi 21104410 dbj BAB93475.1 catenin beta 1 [Homo sapiens]
DO01-79-XXX-537-H05-CI.F	CM2-CI0179-201100-537-h05	gi 11128041 ref NP_061736.1 protocadherin gamma subfamily A, 10 isoform 1 precursor [Homo sapiens]
DO08-71-XXX-324-C01-HT.F	CM2-HT0871-090800-324-c01	gi 23396490 sp O94985 CLS1_HUMAN Calsyntenin-1 precursor
QU00-89-XXX-746-G10-CN.F	CM4-CN0089-070201-746-g10	gi 16507960 ref NP_004054.2 cadherin 17 precursor [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-645-A11-CN.F	CM4-CN0095-161200-645-a11	gi 1617084 emb CAA84586.1 E-cadherin [Homo sapiens]
QU01-62-XXX-540-F01-BN.F	CM4-BN0162-290800-540-F01	gi 3152843 gb AAC39817.1 p120 catenin isoform 3B [Homo sapiens]
QU02-90-XXX-661-G04-NT.F	CM4-NT0290-090101-661-g04	gi 2253589 gb AAB96357.1 delta-catenin [Homo sapiens]
QU06-97-XXX-740-H08-CT.F	CM4-CT0697-060201-740-h08	gi 8928104 sp Q14517 FATH_HUMAN Cadherin-related tumor suppressor homolog precursor (Fat protein homolog)

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU00-11-XXX-272-E01-UT.F	CM4-UT0011-190800-272-e01	gi 51094487 gb EAL23743.1 receptor (calcitonin) activity modifying protein 3 [Homo sapiens]
DO00-03-XXX-665-B08-HB.F	CM2-HB0003-020101-665-b08	gi 17372894 sp O75718 CASP_HUMAN Cartilage-associated protein precursor
QU11-51-XXX-625-A12-HT.F	CM4-HT1151-161200-625-a12	gi 51105869 gb EAL24453.1 caspase recruitment domain family, member 4 [Homo sapiens]
QU02-48-XXX-817-D07-MT.F	CM4-MT0248-190101-817-d07	gi 19401524 gb AAL87630.1 procaspase-8 [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-759-B04-MT.F	CM4-MT0289-160201-759-b04	gi 10198209 gb AAG15254.1 caspase recruitment domain protein 7 [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-810-C08-MT.F	CM4-MT0246-190101-810-c08	gi 38349532 gb AAR18247.1 separase [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-413-D05-ET.F	CM4-ET0095-041100-413-d05	gi 17372894 sp O75718 CASP_HUMAN Cartilage-associated protein precursor
QU00-35-XXX-476-B04-KT.F	CM4-KT0035-051200-476-b04	gi 6912286 ref NP_036246.1 caspase 14 precursor [Homo sapiens]
DO02-20-XXX-543-E07-GN.F	CM2-GN0220-221100-543-e07	gi 39995062 ref NM_032984.2 Homo sapiens caspase 2, apoptosis-related cysteine protease (neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 2) (CASP2), transcript variant 4, mRNA
DO01-58-XXX-552-H12-MT.F	CM2-MT0158-271100-552-h12	gi 16554564 ref NP_115976.2 caspase recruitment domain family, member 6 [Homo sapiens]
DO03-01-XXX-040-B01-BT.F	CM2-BT0301-271199-040-b01	gi 11496978 ref NP_055038.2 nuclear transcription factor Y, gamma [Homo sapiens]
DO08-56-XXX-466-A04-BT.F	CM2-BT0856-311000-466-a04	gi 3482906 gb AAC33191.1 NF11_HUMAN [Homo sapiens]
QU00-57-XXX-284-B12-GN.F	CM4-GN0057-180900-284-b12	gi 21759775 gb AAH34475.1 CCAAT/enhancer binding protein zeta [Homo sapiens]
DO09-69-XXX-509-D10-HT.F	CM2-HT0969-181100-509-d10	gi 7657385 ref NP_055330.1 CCR4-NOT transcription complex, subunit 2 [Homo sapiens]
DO02-94-XXX-676-C06-GN.F	CM2-GN0294-020101-676-c06	gi 24901261 gb AAH39654.1 TBCD protein [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-838-C11-MT.F	CM4-MT0286-010201-838-c11	gi 5162912 dbj BAA01374.2 p67 myc protein [Homo sapiens]
TR01-40-XXX-014-H01-HT.F	CM3-HT0140-200999-014-h01	gi 27502409 ref NP_758862.1 membrane cofactor protein isoform 5 precursor [Homo sapiens]
QU03-67-XXX-666-C06-GN.F	CM4-GN0367-090101-666-c06	gi 27262659 ref NP_005202.2 colony stimulating factor 1 receptor precursor [Homo sapiens]
TR01-40-XXX-014-G02-HT.F	CM3-HT0140-200999-014-g02	gi 14110387 ref NP_003709.2 cell division cycle 2-like 5 isoform 1 [Homo sapiens]
DO01-70-XXX-647-C09-NT.F	CM2-NT0170-211200-647-c09	gi 88083 pir S02392 alpha-2-macroglobulin receptor precursor - human
QU00-63-XXX-359-C01-CI.F	CM4-CI0063-181000-359-c01	gi 13325118 gb AAH04372.1 CD44 antigen, isoform 2 precursor [Homo sapiens]
QU05-72-XXX-438-B11-CT.F	CM4-CT0572-131100-438-b11	gi 4826958 ref NP_005041.1 ATP-binding cassette, sub-family D, member 4 isoform 1 [Homo sapiens]
DO02-73-XXX-220-G09-BN.F	CM2-BN0273-030600-220-g09	gi 182407 gb AAC97142.1 fibrinogen alpha subunit precursor [Homo sapiens]
DO02-09-XXX-434-F07-NN.F	CM2-NN0209-121000-434-f07	gi 33354077 dbj BAC81122.1 L1 cell adhesion molecule [Homo sapiens]
DO00-77-XXX-334-C10-AN.F	CM2-AN0077-210800-334-c10	gi 4336424 gb AAD17799.1 cell surface glycoprotein P1H12 precursor [Homo sapiens]
DO00-54-XXX-344-G02-GN.F	CM2-GN0054-230800-344-g02	gi 16357474 ref NP_006026.2 CDC42-binding protein kinase beta [Homo sapiens]
DO00-09-XXX-604-B09-RT.F	CM2-RT0009-071200-604-b09	gi 29826296 ref NP_071432.2 melanoma antigen, family F, 1; melanoma-associated antigen F1;MAGE-F1 antigen [Homo sapiens]
DO00-03-XXX-666-G10-HB.F	CM2-HB0003-020101-666-g10	gi 178685 gb AAA35536.1 lymphocyte activation antigen
DO01-08-XXX-622-A02-UT.F	CM2-UT0108-141200-622-a02	gi 45550060 gb AAS67876.1 lysosomal-associated membrane protein 2C [Homo sapiens]
QU02-47-XXX-815-G02-MT.F	CM4-MT0247-190101-815-g02	gi 55960711 emb CAI16461.1 decay accelerating factor for complement (CD55, Cromer blood group system) [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU02-48-XXX-817-A05-MT.F	CM4-MT0248-190101-817-a05	gi 1170591 sp P20701 ITAL_HUMAN Integrin alpha-L precursor (Leukocyte adhesion glycoprotein LFA-1alpha chain) (LFA-1A) (Leukocyte function associated molecule 1, alpha chain) (CD11a)
QU06-59-XXX-757-H09-CT.F	CM4-CT0659-160201-757-h09	4505053 ref NP_002340.1 lymphocyte antigen 75 [Homo sapiens]
QU06-62-XXX-754-B08-CT.F	CM4-CT0662-160201-754-b08	gi 16933565 ref NP_149091.1 protocadherin 21 precursor [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-761-C07-MT.F	CM4-MT0289-160201-761-c07	gi 32171186 ref NP_005736.3 B-cell receptor-associated protein 31 [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-835-H06-MT.F	CM4-MT0286-080201-835-h06	gi 30583341 gb AAP35915.1 butyrophilin, subfamily 3, member A3 [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-831-F10-NT.F	CM4-NT0286-310101-831-f10	gi 1082416 pir S50039 granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor alpha-S2 chain, soluble isoform - human
QU02-86-XXX-729-C07-MT.F	CM4-MT0286-160201-729-c07	gi 33149324 ref NP_871622.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2D 3 isoform 3 [Homo sapiens]
QU02-48-XXX-818-H07-MT.F	CM4-MT0248-190101-818-h07	gi 37538013 sp Q86TI0 TBC1_HUMAN TBC1 domain family member 1
QU01-60-XXX-020-E06-ST.F	CM4-ST0160-011099-020-e06	gi 16445029 ref NP_443100.1 immunoglobulin superfamily, member 8 [Homo sapiens]
QU01-04-XXX-207-B08-FT.F	CM4-FT0104-230600-207-b08	gi 19311008 ref NP_597840.1 RAC/CDC42 exchange factor isoform 2 [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-690-F09-CN.F	CM4-CN0095-160101-690-f09	gi 37999830 sp Q9Y5G0 CDGH_HUMAN Protocadherin gamma B5 precursor (PCDH-gamma-B5)
QU00-45-XXX-475-A12-IT.F	CM4-IT0045-051200-475-a12	gi 4504237 ref NP_003603.1 semaphorin 7A [Homo sapiens]
QU00-45-XXX-582-B07-IT.F	CM4-IT0045-091200-582-b07	gi 4505293 ref NP_002457.1 MYB-related protein B [Homo sapiens]
QU00-23-XXX-454-C12-HN.F	CM4-HN0023-221100-454-c12	gi 14110371 ref NP_003894.2 CDC16 homolog [Homo sapiens]
QU00-21-XXX-457-C11-HN.F	CM4-HN0021-241100-457-c11	gi 21735548 ref NP_009117.2 centrosomal protein 2 [Homo sapiens]
QU00-11-XXX-272-F05-UT.F	CM4-UT0011-190800-272-f05	gi 13638154 sp P16144 ITB4_HUMAN Integrin beta-4 precursor (GP150) (CD104 antigen)
DO11-54-XXX-460-B07-NN.F	CM2-NN1154-311000-460-b07	gi 4505123 ref NP_002376.1 myelin basic protein [Homo sapiens]
DO11-54-XXX-460-H02-NN.F	CM2-NN1154-311000-460-h02	gi 6631102 ref NP_002581.2 protocadherin 8 isoform 1 precursor [Homo sapiens]
DO09-69-XXX-509-F06-HT.F	CM2-HT0969-181100-509-f06	gi 112803 sp P08195 4F2_HUMAN 4F2 cell-surface antigen heavy chain (4F2hc) (Lymphocyte activation antigen 4F2 large subunit) (4F2 heavy chain antigen)(CD98 antigen)
DO08-57-XXX-472-H07-BT.F	CM2-BT0857-311000-472-h07	gi 19923395 ref NP_036237.2 beta-site APP-cleaving enzyme 2 isoform A preproprotein [Homo sapiens]
DO08-50-XXX-317-H07-HT.F	CM2-HT0850-020800-317-H07	gi 33469919 ref NP_005905.2 minichromosome maintenance protein 4 [Homo sapiens]
DO06-39-XXX-681-G01-CT.F	CM2-CT0639-030101-681-g01	gi 16716613 gb AAG48558.2 LPS responsive and Beige-like anchor protein LRBA [Homo sapiens]
DO02-20-XXX-542-G07-GN.F	CM2-GN0220-231100-542-g07	gi 4506449 ref NP_002889.1 RNA binding motif, single stranded interacting protein 2 [Homo sapiens]
DO02-74-XXX-051-F07-ST.F	CM2-ST0274-101299-051-f07	gi 4557880 ref NP_000407.1 interferon gamma receptor 1 [Homo sapiens]
DO02-88-XXX-667-B07-GN.F	CM2-GN0288-020101-667-b07	gi 306794 gb AAA35926.1 platelet glycoprotein IIb (GPIIb)
DO01-92-XXX-620-G10-MT.F	CM2-MT0192-191200-620-g10	263049 gb AAB24821.1 leukocyte integrin alpha chain [Homo sapiens]
DO01-91-XXX-590-C04-MT.F	CM2-MT0191-141200-590-c04	gi 17978489 ref NP_001775.2 CD97 antigen isoform 2 precursor [Homo sapiens]
DO01-90-XXX-596-H04-MT.F	CM2-MT0190-151200-596-h04	gi 4557417 ref NP_000582.1 CD14 antigen precursor [Homo sapiens]
DO01-90-XXX-595-G07-MT.F	CM2-MT0190-091200-595-g07	gi 32493365 gb AAH54500.1 Semaphorin 4D [Homo sapiens]
DO01-80-XXX-540-D12-CI.F	CM2-CI0180-221100-540-d12	gi 14196448 ref NP_114479.1 protocadherin gamma subfamily A, 10 isoform 2 precursor [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO01-80-XXX-532-E06-CI.F	CM2-CI0180-221100-532-e06	gi 12644170 sp P23229 ITA6_HUMAN Integrin alpha-6 precursor (VLA-6) (CD49f)
DO01-70-XXX-535-C09-NT.F	CM2-NT0170-201100-535-c09	gi 126213 sp P16150 LEUK_HUMAN Leukosialin precursor (Leucocyte sialoglycoprotein) (Sialophorin)(CD43 antigen) (Galactoglycoprotein) (GALGP)
DO01-93-XXX-562-D05-NT.F	CM2-NT0193-301100-562-d05	gi 14270505 ref NP_115270.1 protocadherin gamma subfamily B, 5 isoform 2 precursor [Homo sapiens]
DO01-67-XXX-498-H07-GN.F	CM2-GN0167-111100-498-h07	gi 38893021 gb AAR27795.1 mitochondrial methionine aminopeptidase 1 [Homo sapiens]
DO01-67-XXX-489-B02-GN.F	CM2-GN0167-101100-489-b02	gi 1657698 gb AAC52049.1 hyaluronan receptor [Homo sapiens]
DO01-57-XXX-546-A02-MT.F	CM2-MT0157-231100-546-a02	gi 15628185 gb AAL04402.1 insulin-like growth factor II receptor [Homo sapiens]
DO01-35-XXX-476-F07-CI.F	CM2-CI0135-021100-476-f07	gi 4505683 ref NP_002600.1 platelet-derived growth factor receptor beta precursor [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-518-E01-ET.F	CM2-ET0126-181100-518-e01	gi 20149528 ref NP_003969.2 proline-serine-threonine phosphatase interacting protein 1 [Homo sapiens]
DO01-18-XXX-270-D04-NN.F	CM2-NN0118-190700-270-d04	gi 28278199 gb AAH46114.1 MAP1B protein [Homo sapiens]
DO01-16-XXX-254-G03-NN.F	CM2-NN0116-100700-254-g03	gi 21361571 ref NP_001769.2 CD48 antigen (B-cell membrane protein) [Homo sapiens]
DO00-61-XXX-673-H11-RT.F	CM2-RT0061-030101-673-h11	gi 2290770 gb AAC51761.1 delta-adaptin [Homo sapiens]
QU02-48-XXX-819-H07-MT.F	CM4-MT0248-190101-819-h07	gi 55957713 emb CAI15645.1 protein tyrosine phosphatase, receptor type, C [Homo sapiens]
QU00-96-XXX-642-F03-CN.F	CM4-CN0096-191200-642-f03	gi 17402871 ref NP_510868.1 BRCA2 and CDKN1A-interacting protein isoform BCCIPbeta [Homo sapiens]
DO02-12-XXX-439-D03-NN.F	CM2-NN0212-301000-439-d03	gi 4758014 ref NP_004063.1 chemokine-like receptor 1 [Homo sapiens]
DO01-69-XXX-533-A06-NT.F	CM2-NT0169-201100-533-a06	gi 4885057 ref NP_005152.1 angiotensin II receptor-like 1 [Homo sapiens]
QU00-22-XXX-472-A02-HN.F	CM4-HN0022-051200-472-a02	gi 669153 emb CAA26344.1 acetylcholine receptor [Homo sapiens]
DO00-09-XXX-605-F09-RT.F	CM2-RT0009-091200-605-f09	gi 31753083 gb AAH53869.1 Chloride channel Ka [Homo sapiens]
DO00-03-XXX-665-F11-HB.F	CM2-HB0003-020101-665-f11	gi 37930492 gb AAP69841.1 acetyl-CoA carboxylase alpha [Homo sapiens]
DO00-03-XXX-664-B11-HB.F	CM2-HB0003-020101-664-b11	gi 1346031 sp P14324 FPPS_HUMAN Farnesyl pyrophosphate synthetase (FPP synthetase)
DO01-70-XXX-623-D06-NT.F	CM2-NT0170-191200-623-d06	gi 24308382 ref NP_443157.1 leukocyte receptor cluster (LRC) member 8 [Homo sapiens]
DO01-70-XXX-648-B05-NT.F	CM2-NT0170-201200-648-b05	gi 509033 dbj BAA06809.1 GARS protein [Homo sapiens]
QU02-37-XXX-805-B09-MT.F	CM4-MT0237-180101-805-b09	gi 7019343 ref NP_037362.1 CD24 antigen [Homo sapiens]
TR01-44-XXX-015-G09-HT.F	CM3-HT0144-220999-015-g09	gi 14715007 gb AAH10663.1 KIAA0602 protein [Homo sapiens]
QU08-59-XXX-421-F09-BT.F	CM4-BT0859-071100-421-f09	gi 2135573 pir I38000 Lutheran blood group glycoprotein precursor - human
QU06-97-XXX-740-G02-CT.F	CM4-CT0697-060201-740-g02	gi 13699868 ref NP_005947.2 methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 [Homo sapiens]
QU02-48-XXX-818-H11-MT.F	CM4-MT0248-190101-818-h11	gi 30315658 ref NP_842565.1 spectrin, beta, non-erythrocytic 1 isoform 2 [Homo sapiens]
QU01-60-XXX-020-A11-ST.F	CM4-ST0160-011099-020-a11	gi 15559448 gb AAH14092.1 Aconitase 2, precursor [Homo sapiens]
QU00-96-XXX-400-F10-ET.F	CM4-ET0096-011100-400-f10	gi 50960849 gb AAH75024.1 Cytochrome P450, subfamily IID, polypeptide 6 [Homo sapiens]
QU00-42-XXX-611-B08-IT.F	CM4-IT0042-131200-611-b08	gi 46255673 gb AAH09936.1 PACS1 protein [Homo sapiens]
QU00-09-XXX-279-H02-UT.F	CM4-UT0009-240800-279-h02	gi 32526576 emb CAE01471.3 Acetyl-CoA carboxylase 2 [Homo sapiens]
DO01-23-XXX-304-F05-FT.F	CM2-FT0123-280700-304-F05	gi 119538 sp P07992 ECC1_HUMAN DNA excision repair protein ERCC-1

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO01-65-XXX-487-F03-GN.F	CM2-GN0165-021100-487-f03	gi 38605718 sp P53355 DAK1_HUMAN Death-associated protein kinase 1 (DAP kinase 1)
DO01-79-XXX-635-B01-CI.F	CM2-CI0179-191200-635-b01	gi 2078518 gb AAC51287.1 neogenin [Homo sapiens]
QU00-43-XXX-309-E11-UT.F	CM4-UT0043-090900-309-e11	gi 45644494 gb AAS72997.1 ADAM15 isoform 6b [Homo sapiens]
DO00-09-XXX-605-B08-RT.F	CM2-RT0009-091200-605-b08	gi 2392592 pdb 1U9B MurineHUMAN UBIQUITIN-Conjugating Enzyme Ubc9
DO00-29-XXX-138-G10-SN.F	CM2-SN0029-010400-138-g10	gi 7717361 emb CAB90468.1 human erythroblastosis retrovirus oncogene homologue 2
DO01-27-XXX-521-A09-ET.F	CM2-ET0127-221100-521-a09	gi 38157976 ref NP_937800.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2L 3 isoform 2; ubiquitin-conjugating enzyme UBCH7; ubiquitin carrier protein;ubiquitin-protein ligase [Homo sapiens]
DO01-70-XXX-535-E12-NT.F	CM2-NT0170-201100-535-e12	gi 5902146 ref NP_008950.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2C isoform 1 [Homo sapiens]
DO06-06-XXX-645-F05-CT.F	CM2-CT0606-201200-645-f05	gi 30583603 gb AAP36046.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1 [Homo sapiens]
DO09-69-XXX-501-C09-HT.F	CM2-HT0969-300101-501-c09	gi 22713581 gb AAH37354.1 Similar to ATPase, Ca++ transporting, cardiac muscle, fast twitch 1[Homo sapiens]
QU00-62-XXX-370-C04-CI.F	CM4-CI0062-181000-370-c04	gi 30582667 gb AAP35560.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2G 2 (UBC7 homolog, yeast) [Homo sapiens]
QU00-62-XXX-380-A10-CI.F	CM4-CI0062-231000-380-a10	gi 30582981 gb AAP35734.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2B (RAD6 homolog) [Homo sapiens]
QU00-83-XXX-314-B01-GN.F	CM4-GN0083-160900-314-b01	gi 40555769 gb AAH64566.1 UEV3 protein [Homo sapiens]
QU03-10-XXX-114-F01-CT.F	CM4-CT0310-170300-114-f01	gi 4506259 ref NP_000949.1 prostaglandin E receptor 4, subtype EP4; PGE receptor, EP4 subtype;prostaglandin E2 receptor [Homo sapiens]
QU03-29-XXX-834-G06-GN.F	CM4-GN0329-010201-834-g06	gi 23097299 ref NP_064714.1 pappalysin 2 isoform 1 [Homo sapiens]
QU03-67-XXX-682-C09-GN.F	CM4-GN0367-160101-682-c09	gi 18426915 ref NP_004386.2 drebrin 1 isoform a [Homo sapiens]
TR02-24-XXX-034-D06-ST.F	CM3-ST0224-111199-034-d06	gi 33150024 gb AAP97028.1 mucin short variant SV9 [Homo sapiens]
QU00-26-XXX-636-A05-HB.F	CM4-HB0026-161200-636-a05	gi 9665253 ref NP_061489.1 EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1 isoform b [Homo sapiens]
DO08-74-XXX-336-C08-HT.F	CM2-HT0874-220800-336-c08	gi 7656967 ref NP_055061.1 cadherin EGF LAG seven-pass G-type receptor 1 [Homo sapiens]
DO11-54-XXX-463-B08-NN.F	CM2-NN1154-311000-463-b08	gi 31542543 ref NP_620711.2 delta-notch-like EGF repeat-containing transmembrane [Homo sapiens]
DO00-86-XXX-395-G07-UT.F	CM2-UT0086-270900-395-g07	gi 12643720 sp Q13506 NAB1_HUMAN NGFI-A binding protein 1 (EGR-1 binding protein 1) (Transcriptional regulatory protein p54)
QU07-44-XXX-201-H09-HT.F	CM4-HT0744-160600-201-h09	gi 4505787 ref NP_002629.1 skin-derived protease inhibitor 3 preproprotein [Homo sapiens]
QU00-75-XXX-349-B12-UT.F	CM4-UT0075-021000-349-b12	gi 266344 sp P30740 ILEU_HUMAN Leukocyte elastase inhibitor (LEI) (Monocyte/neutrophil elastase inhibitor) (M/NEI) (EI)
DO01-58-XXX-549-F06-MT.F	CM2-MT0158-221100-549-f06	gi 15990507 gb AAH15642.1 Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A (alpha-1antiproteinase, antitrypsin), member 1 [Homo sapiens]
DO01-09-XXX-268-D07-FN.F	CM2-FN0109-120700-268-d07	gi 21361380 ref NP_009172.2 EAP30 subunit of ELL complex [Homo sapiens]
DO01-70-XXX-647-C06-NT.F	DO01-70-XXX-647-C06-NT.F	gi 3059118 emb CAA76153.1 ETBR-LP-2 protein [Homo sapiens]
QU11-52-XXX-634-C04-HT.F	CM4-HT1152-161200-634-c04	gi 535182 emb CAA84548.1 endothelin-converting-enzyme 1 [Homo sapiens]
QU05-74-XXX-404-G05-CT.F	CM4-CT0574-011100-404-g05	gi 32528301 ref NP_004435.3 ephrin receptor EphB4 precursor [Homo sapiens]
QU08-59-XXX-402-C01-BT.F	CM4-BT0859-011100-402-c01	gi 41350201 ref NP_037465.2 epsin 1; EH domain-binding mitotic phosphoprotein [Homo sapiens]
QU01-95-XXX-468-C09-FN.F	CM4-FN0195-251100-468-c09	gi 7441391 pir T08796 tropomyosin - human (fragment)

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO00-84-XXX-400-B12-UT.F	CM2-UT0084-270900-400-b12	gi 42794548 gb AAS45711.1 ferritin light polypeptide variant [Homo sapiens]
DO06-06-XXX-644-D01-CT.F	CM2-CT0606-211200-644-d01	gi 40538726 ref NP_005832.1 sprouty homolog 1, antagonist of FGF signaling [Homo sapiens]
QU00-45-XXX-494-E02-IT.F	CM4-IT0045-080101-494-e02	gi 11276087 ref NP_000595.1 fibroblast growth factor receptor 1 isoform 1 precursor [Homo sapiens]
DO01-69-XXX-611-F09-NT.F	CM2-NT0169-141200-611-f09	gi 13186259 ref NP_075261.1 fibroblast growth factor receptor 2 isoform 5 precursor [Homo sapiens]
QU02-37-XXX-710-B07-ET.F	CM4-ET0237-300101-710-b07	gi 4503715 ref NP_000500.1 fibrinogen, gamma chain isoform gamma-A precursor [Homo sapiens]
QU03-66-XXX-650-D10-GN.F	CM4-GN0366-160101-650-d10	gi 23111005 ref NP_002395.1 microfibrillar-associated protein 4 [Homo sapiens]
DO01-17-XXX-274-A03-FT.F	CM2-FT0117-190700-274-a03'	gi 21361116 ref NP_004376.2 chondroitin sulfate proteoglycan 2 (versican) [Homo sapiens]
DO01-55-XXX-147-A04-BN.F	CM2-BN0155-100400-147-a04	gi 20127553 ref NP_057321.2 anaphase-promoting complex subunit 5 [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-733-F12-MT.F	CM4-MT0289-130201-733-f12	gi 19072649 gb AAL84570.1 TPMsk3 [Homo sapiens]
QU03-33-XXX-630-E07-GN.F	CM4-GN0333-161200-630-e07	gi 4505999 ref NP_002698.1 protein phosphatase 1G [Homo sapiens]
QU06-29-XXX-700-C11-CT.F	CM4-CT0629-220101-700-c11	gi 47519616 ref NP_998839.1 tropomyosin 2 (beta) isoform 2; arthrogryposis multiplex congenital, distal, type 1 [Homo sapiens]
UM00-29-XXX-001-E11-ST.F	CM1-ST0029-200799-001-e11	gi 13274400 gb AAK17926.1 tropomyosin 4-anaplastic lymphoma kinase fusion protein [Homo sapiens]
QU03-66-XXX-618-G10-GN.F	CM4-GN0366-131200-618-g10	gi 15072400 gb AAK11491.1 EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1 [Homo sapiens]
QU03-28-XXX-827-G10-GN.F	CM4-GN0328-300101-827-g10	gi 30581038 sp P23142 FBL1_HUMAN Fibulin-1 precursor
DO02-94-XXX-677-A11-GN.F	CM2-GN0294-030101-677-a11	gi 34734062 ref NP_001987.2 fibulin 1 isoform C precursor [Homo sapiens]
QU03-61-XXX-647-G02-GN.F	CM4-GN0361-150101-647-g02	gi 3132831 gb AAC16449.1 vascular endothelial growth factor receptor [Homo sapiens]
QU00-96-XXX-400-D01-ET.F	CM4-ET0096-011100-400-d01	gi 2135120 pir S45340 FKBP-rapamycin-associated protein (FRAP) - human
DO02-48-XXX-575-G09-NN.F	CM2-NN0248-051200-575-g09	gi 31317272 ref NP_055806.2 WD repeat and FYVE domain containing 3 isoform 1 [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-519-B07-ET.F	CM2-ET0126-181100-519-b07	gi 5031707 ref NP_005503.1 glycoprotein A repetitions predominant precursor [Homo sapiens]
DO08-73-XXX-351-G01-HT.F	CM2-HT0873-300800-351-g01	gi 1405348 dbj BAA08110.1 zinc-finger DNA-binding protein [Homo sapiens]
DO01-90-XXX-597-E12-MT.F	CM2-MT0190-141200-597-e12	gi 28542874 gb AAO42516.1 hemoglobin alpha-1 chain [Homo sapiens]
DO01-90-XXX-595-H12-MT.F	CM2-MT0190-091200-595-h12	gi 27804485 gb AAO22463.1 alpha-2 globin [Homo sapiens]
DO01-58-XXX-551-A06-MT.F	CM2-MT0158-221100-551-a06	gi 21594679 gb AAH32122.1 HBA2 protein [Homo sapiens]
QU10-04-XXX-129-F07-NN.F	CM4-NN1004-010400-129-f07	gi 18860877 ref NP_003673.2 MAP-kinase activating death domain-containing protein isoform d [Homo sapiens]
DO00-09-XXX-604-D12-RT.F	CM2-RT0009-071200-604-d12	gi 49574514 ref NP_000891.2 matrix Gla protein [Homo sapiens]
DO01-93-XXX-563-F07-NT.F	CM2-NT0193-051200-563-f07	gi 481504 pir S38723 glutamate receptor GLUR1 - human
DO01-94-XXX-565-E05-NT.F	CM2-NT0194-051200-565-e05	gi 11990939 dbj BAB19817.1 metabotropic glutamate receptor type 2 [Homo sapiens]
DO02-20-XXX-564-G08-GN.F	CM2-GN0220-301100-564-g08	gi 31074981 gb AAP42074.1 myosin 5B [Homo sapiens]
QU01-82-XXX-021-D02-ST.F	CM4-ST0182-051099-021-d02	gi 19923206 ref NP_002056.2 glutamate-ammonia ligase (glutamine synthase) [Homo sapiens]
QU01-82-XXX-021-D10-ST.F	CM4-ST0182-051099-021-d10	gi 4758138 ref NP_004387.1 DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 5 [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-743-A12-MT.F	CM4-MT0289-070201-743-a12	gi 55662301 emb CAH72940.1 Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 11 [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
TR01-93-XXX-030-E06-HT.F	CM3-HT0193-031199-030-e06	gi 4504067 ref NP_002070.1 aspartate aminotransferase 1 [Homo sapiens]
UM02-82-XXX-045-F04-HT.F	CM1-HT0282-181199-045-f04	gi 4504069 ref NP_002071.1 aspartate aminotransferase 2 precursor [Homo sapiens]
QU02-37-XXX-710-H08-ET.F	CM4-ET0237-300101-710-h08	gi 182439 gb AAB59531.1 fibrinogen gamma chain [Homo sapiens]
QU05-09-XXX-533-G12-HT.F	CM4-HT0509-060600-533-g12	gi 51859376 gb AAH81561.1 H3 histone, family 3A [Homo sapiens]
DO01-16-XXX-257-H05-NN.F	CM2-NN0116-100700-257-h05	gi 31083306 ref NP_114141.1 hemicentin [Homo sapiens]
DO02-94-XXX-675-F01-GN.F	CM2-GN0294-020101-675-f01	gi 4505353 ref NP_003626.1 N-deacetylase/N-sulfotransferase (heparan glucosaminy) 2 [Homo sapiens]
DO11-88-XXX-450-D01-NN.F	CM2-NN1188-271000-450-d01	gi 40548378 ref NP_002989.2 syndecan 2 precursor [Homo sapiens]
QU00-45-XXX-475-G12-IT.F	CM4-IT0045-051200-475-g12	gi 7427517 ref NP_005520.2 heparan sulfate proteoglycan 2 [Homo sapiens]
QU11-52-XXX-638-F11-HT.F	CM4-HT1152-211200-638-f11	gi 45267824 ref NP_705840.2 heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5 [Homo sapiens]
DO00-81-XXX-204-D08-NN.F	CM2-NN0081-300500-204-d08	gi 4504421 ref NP_002117.1 hepatic leukemia factor [Homo sapiens]
QU09-20-XXX-302-C02-HT.F	CM4-HT0920-160900-302-c02	gi 10863909 ref NP_066925.1 serine protease inhibitor, Kunitz type, 2 [Homo sapiens]
QU00-09-XXX-279-H04-UT.F	CM4-UT0009-240800-279-h04	gi 4505265 ref NP_002438.1 macrophage stimulating 1 receptor (c-met-related tyrosine kinase)[Homo sapiens]
DO01-18-XXX-270-F07-NN.F	CM2-NN0118-190700-270-f07	gi 4322936 gb AAD16137.1 HPK/GCK-like kinase HGK [Homo sapiens]
DO04-82-XXX-348-A06-CT.F	CM2-CT0482-300800-348-a06	gi 42741655 ref NP_000236.2 met proto-oncogene precursor; Oncogene MET [Homo sapiens]
DO01-08-XXX-621-E03-UT.F	CM2-UT0108-211200-621-e03	gi 10863909 ref NP_066925.1 serine protease inhibitor, Kunitz type, 2 [Homo sapiens]
QU01-60-XXX-020-H11-ST.F	CM4-ST0160-011099-020-h11	gi 4758528 ref NP_004703.1 hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-517-A09-ET.F	CM2-ET0126-201100-517-a09	gi 415956 emb CAA81694.1 IG light chain variable region (VJ) [Homo sapiens]
QU05-74-XXX-430-D03-CT.F	CM4-CT0574-111100-430-d03	gi 18426879 ref NP_079532.4 HLA-B associated transcript 8 BAT8 isoform b [Homo sapiens]
DO01-08-XXX-622-D06-UT.F	CM2-UT0108-141200-622-d06	gi 601852 gb AAA57146.1 MHC class I lymphocyte antigen
QU01-80-XXX-741-F09-OT.F	CM4-OT0180-060201-741-f09	gi 2347139 gb AAB67983.1 DOM3L [Homo sapiens]
QU00-97-XXX-434-E02-ET.F	CM4-ET0097-111100-434-e02	gi 4504399 ref NP_002109.1 major histocompatibility complex, class II, DM beta precursor [Homo sapiens]
QU00-96-XXX-400-A07-ET.F	CM4-ET0096-011100-400-a07	gi 4837823 gb AAD30703.1 immunoglobulin heavy chain variable region [Homo sapiens]
QU00-91-XXX-851-A06-CN.F	CM4-CN0091-070201-851-a06	gi 2118837 pir I81231 lymphocyte antigen - human
QU00-45-XXX-475-G04-IT.F	CM4-IT0045-051200-475-g04	gi 40217808 ref NP_079033.3 euchromatic histone methyltransferase 1 [Homo sapiens]
QU00-46-XXX-287-C01-UT.F	CM4-UT0046-050900-287-c01	gi 14602923 gb AAH09956.1 HLA-DPA1 protein [Homo sapiens]
DO07-50-XXX-250-A07-HT.F	CM2-HT0750-040700-250-a07	gi 18375632 ref NP_542434.1 HLA-B associated transcript-3 isoform b [Homo sapiens]
DO01-01-XXX-293-F01-MT.F	CM2-MT0101-041000-293-F01	gi 4504403 ref NP_002111.1 major histocompatibility complex, class II, DO beta precursor [Homo sapiens]
DO01-85-XXX-586-E07-NT.F	CM2-NT0185-071200-586-e07	gi 971272 dbj BAA08139.1 template acyivating factor-I alpha [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-518-H09-ET.F	CM2-ET0126-181100-518-h09	gi 34395934 sp P01913 2B32_HUMAN HLA class II histocompatibility antigen, DRB3-2 beta chain precursor (MHC class I antigen DRB3*2)
DO01-08-XXX-621-B06-UT.F	CM2-UT0108-211200-621-b06	gi 9665232 ref NP_061823.1 major histocompatibility complex, class I, F precursor [Homo sapiens]
DO00-30-XXX-615-C08-KT.F	CM2-KT0030-141200-615-c08	gi 15042961 ref NP_149417.1 HLA-B associated transcript 4 [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU00-23-XXX-454-E05-HN.F	CM4-HN0023-221100-454-e05	gi 30009 emb CAA47061.1 Hydroxymethylglutaryl CoA Synthase [Homo sapiens]
QU00-55-XXX-376-G10-CI.F	CM4-CI0055-231000-376-g10	gi 27886557 ref NP_002440.2 msh homeo box homolog 2 [Homo sapiens]
QU00-39-XXX-002-A07-CT.F	CM4-CT0039-280799-002-a07	gi 23097236 ref NP_689952.1 homeobox protein A9 isoform a [Homo sapiens]
QU00-45-XXX-582-E09-IT.F	CM4-IT0045-091200-582-e09	gi 12804145 gb AAH02927.1 HSCARG protein [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-733-D07-MT.F	CM4-MT0289-130201-733-d07	gi 34419635 ref NP_002146.2 heat shock 70kDa protein 6 (HSP70B') [Homo sapiens]
UM02-82-XXX-045-E06-HT.F	CM1-HT0282-181199-045-e06	gi 13112003 gb AAH03175.1 N-myc downstream regulated gene 1 [Homo sapiens]
DO01-93-XXX-562-D04-NT.F	CM2-NT0193-301100-562-d04	gi 20070255 ref NP_055385.2 ADP-ribosylation factor GTPase activating protein 3 [Homo sapiens]
QU00-22-XXX-472-G10-HN.F	CM4-HN0022-051200-472-g10	gi 13259531 ref NP_075015.1 survival of motor neuron 2, centromeric isoform c [Homo sapiens]
QU00-10-XXX-271-C03-UT.F	CM4-UT0010-190800-271-c03	gi 18307485 emb CAC83948.1 Myosin-1F [Homo sapiens]
DO01-01-XXX-293-D12-MT.F	CM2-MT0101-041000-293-D12	gi 38408 emb CAA47714.1 immunoglobulin M heavy chain [Homo sapiens]
DO01-08-XXX-622-B02-UT.F	CM2-UT0108-141200-622-b02	gi 5305657 gb AAD41760.1 immunoglobulin E heavy chain [Homo sapiens]
QU01-38-XXX-715-D09-CN.F	CM4-CN0138-310101-715-d09	gi 15149944 emb CAC51026.1 immunoglobulin lambda-3 surrogate light chain [Homo sapiens]
QU02-87-XXX-826-F12-NT.F	CM4-NT0287-300101-826-f12	gi 21357327 ref NP_065840.1 immunoglobulin superfamily, member 9 [Homo sapiens]
DO08-57-XXX-472-F09-BT.F	CM2-BT0857-311000-472-f09	gi 7705757 ref NP_057080.1 SID1 transmembrane family, member 2; CGI-40 protein [Homo sapiens]
DO01-57-XXX-547-G09-MT.F	CM2-MT0157-271100-547-g09	gi 23943856 ref NP_055256.1 sialic acid binding Ig-like lectin 9 [Homo sapiens]
DO01-93-XXX-654-A11-ET.F	CM2-ET0193-261200-654-a11	gi 6649880 gb AAF21613.1 human IgG1 neutralizing heavy chain with leader [synthetic construct]
QU02-89-XXX-841-F12-MT.F	CM4-MT0289-010201-841-f12	gi 1658310 emb CAA83923.1 leukocyte surface protein [Homo sapiens]
QU04-87-XXX-574-A02-CT.F	CM4-CT0487-260900-574-A02	gi 2765425 emb CAA75032.1 immunoglobulin lambda heavy chain [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-414-A01-ET.F	CM4-ET0095-041100-414-a01	gi 41388180 gb AAS01769.1 monoclonal IgM antibody heavy chain [Homo sapiens]
QU05-72-XXX-438-A09-CT.F	CM4-CT0572-131100-438-a09	gi 21361429 ref NP_055127.2 V-set and immunoglobulin domain containing 2 [Homo sapiens]
QU00-89-XXX-726-C12-CN.F	CM4-CN0089-130201-726-c12	gi 53749225 ref NP_001005410.1 Fc fragment of IgG, low affinity IIc, receptor for (CD32) isoform 2 [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-690-D07-CN.F	CM4-CN0095-160101-690-d07	gi 47940520 gb AAH72392.1 IGLC2 protein [Homo sapiens]
QU00-03-XXX-133-B04-UM.F	CM4-UM0003-050400-133-b04	gi 22477308 gb AAH36827.1 Leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 2 [Homo sapiens]
QU00-21-XXX-466-D12-HN.F	CM4-HN0021-251100-466-d12	gi 118945 sp P01880 DTC_HUMAN Ig delta chain C region
DO01-57-XXX-547-F08-MT.F	CM2-MT0157-271100-547-f08	gi 50727000 ref NP_001763.2 CD33 antigen (gp67) [Homo sapiens]
DO01-57-XXX-547-C04-MT.F	CM2-MT0157-271100-547-c04	gi 20258604 gb AAK77223.1 sialic acid binding Ig-like lectin 5 [Homo sapiens]
DO09-68-XXX-504-D05-HT.F	CM2-HT0968-141100-504-d05	gi 20127454 ref NP_004035.2 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase; AICARFT/IMPCHASE [Homo sapiens]
DO00-77-XXX-330-B09-AN.F	CM2-AN0077-170800-330-b09	gi 6006011 ref NP_005492.1 integrin alpha 3 isoform b, precursor [Homo sapiens]
QU10-04-XXX-129-C04-NN.F	CM4-NN1004-010400-129-c04	gi 4501913 ref NP_003803.1 a disintegrin and metalloproteinase domain 23 preproprotein [Homo sapiens]
QU03-61-XXX-635-C02-GN.F	CM4-GN0361-161200-635-c02	gi 52485890 ref NP_036343.3 integrin, alpha 11 precursor [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO01-94-XXX-567-H05-NT.F	CM2-NT0194-301100-567-h05	gi 4758606 ref NP_004508.1 integrin-linked kinase [Homo sapiens]
QU03-32-XXX-616-E11-GN.F	CM4-GN0332-151200-616-e11	gi 13259518 ref NP_003465.2 a disintegrin and metalloprotease domain 12 isoform 1 preproprotein [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-405-C07-ET.F	CM4-ET0095-011100-405-c07	gi 4504753 ref NP_002197.1 integrin alpha 7 precursor [Homo sapiens]
QU00-89-XXX-726-B09-CN.F	CM4-CN0089-130201-726-b09	21536383 ref NP_057435.2 a disintegrin and metalloproteinase domain 22 isoform 3 preproprotein [Homo sapiens]
QU00-62-XXX-356-C08-CI.F	CM4-CI0062-201000-356-c08	gi 2119645 pir A36429 integrin beta-4 chain precursor - human
DO06-68-XXX-171-A10-HT.F	CM2-HT0668-280400-171-a10	gi 4504779 ref NP_002205.1 integrin, beta 8 [Homo sapiens]
DO04-78-XXX-341-B03-CT.F	CM2-CT0478-220800-341-b03	gi 49170034 ref NP_003629.1 integrin, alpha 8 [Homo sapiens]
DO03-43-XXX-049-G10-CT.F	CM2-CT0343-071299-049-g10	gi 12644170 sp P23229 ITA6_HUMAN Integrin alpha-6 precursor (VLA-6) (CD49f)
DO02-95-XXX-656-C09-GN.F	CM2-GN0295-020101-656-c09	gi 7656867 ref NP_055059.1 a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs-2 isoform 1 [Homo sapiens]
DO02-20-XXX-544-A12-GN.F	CM2-GN0220-221100-544-a12	gi 31657142 ref NP_852478.1 integrin, alpha 1 precursor [Homo sapiens]
DO01-92-XXX-581-C03-NT.F	CM2-NT0192-131200-581-c03	gi 38569398 ref NP_003628.2 integrin, alpha 10 precursor [Homo sapiens]
DO00-14-XXX-185-C03-EN.F	CM2-EN0014-110500-185-c03	gi 4504751 ref NP_002196.1 integrin alpha 5 precursor; fibronectin receptor, alpha subunit; very late [Homo sapiens]
DO11-52-XXX-453-A05-NN.F	CM2-NN1152-021100-453-a05	gi 21361822 ref NP_057049.3 cell death-regulatory protein GRIM19 [Homo sapiens]
QU00-03-XXX-133-A06-UM.F	CM4-UM0003-050400-133-a06	gi 87996 pir A28138 interferon-induced 15K protein precursor - human
QU11-51-XXX-659-C04-HT.F	CM4-HT1151-090101-659-c04	gi 55662023 emb CAH70928.1 torsin family 3, member A [Homo sapiens]
QU00-21-XXX-456-A03-HN.F	CM4-HN0021-241100-456-a03	gi 386986 gb AAB59553.1 E18 2'-5' oligoadenylate synthetase [Homo sapiens]
QU00-10-XXX-271-G03-UT.F	CM4-UT0010-190800-271-g03	gi 5174699 ref NP_006065.1 tripartite motif-containing 22 [Homo sapiens]
DO09-46-XXX-365-B08-HT.F	CM2-HT0946-150900-365-b08	gi 11342664 ref NP_002454.1 myxovirus resistance protein 2 [Homo sapiens]
DO01-70-XXX-647-H08-NT.F	CM2-NT0170-211200-647-h08	gi 4506103 ref NP_002750.1 protein kinase, interferon-inducible double stranded RNA dependent [Homo sapiens]
DO01-08-XXX-621-F04-UT.F	CM2-UT0108-211200-621-f04	gi 4504567 ref NP_002154.1 interferon consensus sequence binding protein 1 [Homo sapiens]
DO01-01-XXX-293-C03-MT.F	CM2-MT0101-041000-293-C03	gi 18255502 gb AAH21825.1 Interferon-alpha receptor 1, precursor [Homo sapiens]
QU00-22-XXX-460-F08-HN.F	CM4-HN0022-241100-460-f08	gi 38327558 ref NP_004111.2 guanylate binding protein 2, interferon-inducible [Homo sapiens]
DO01-91-XXX-590-G10-MT.F	CM2-MT0191-141200-590-g10	gi 23238208 ref NP_055154.3 interleukin 17 receptor precursor [Homo sapiens]
QU00-96-XXX-422-H09-ET.F	CM4-ET0096-071100-422-h09	gi 23397678 ref NP_003144.3 signal transducer and activator of transcription 6 [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-809-F06-MT.F	CM4-MT0246-180101-809-f06	gi 27894334 ref NP_775465.1 interleukin 1 receptor, type II precursor [Homo sapiens]
QU05-14-XXX-339-D05-CT.F	CM4-CT0514-051000-339-d05	gi 4557882 ref NP_000197.1 interleukin 2 receptor, gamma precursor [Homo sapiens]
QU02-36-XXX-803-A09-MT.F	CM4-MT0236-180101-803-a09	gi 2459624 gb AAC34133.1 Toll-like receptor 2 [Homo sapiens]
DO00-77-XXX-330-F11-AN.F	CM2-AN0077-170800-330-f11	gi 4502577 ref NP_001216.1 caspase 4 isoform alpha precursor [Homo sapiens]
DO01-80-XXX-532-A02-CI.F	CM2-CI0180-221100-532-a02	gi 20138587 sp Q12906 ILF3_HUMAN Interleukin enhancer-binding factor 3 (Nuclear factor of activatedT cells-90)
DO01-64-XXX-483-G05-GN.F	CM2-GN0164-101100-483-g05	gi 20162316 gb AAM14565.1 MLL/AF4 fusion protein [Homo sapiens]
DO01-16-XXX-260-E08-NN.F	CM2-NN0116-100700-260-e08	gi 32880071 gb AAP88866.1 interleukin 11 receptor, alpha [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO00-81-XXX-204-G12-NN.F	CM2-NN0081-300500-204-g12	gi 1388162 gb AAB02821.1 interleukin enhancer binding factor 2 [Homo sapiens]
QU06-64-XXX-641-B09-CT.F	CM4-CT0664-080201-641-b09	gi 13633980 sp Q9NRS4 TMS4_HUMAN Transmembrane protease, serine 4 (Membrane-type serine protease 2)(MT-SP2)
DO06-70-XXX-173-F12-HT.F	CM2-HT0670-290400-173-f12	gi 22208984 ref NP_665895.1 kallikrein 10 precursor [Homo sapiens]
DO09-49-XXX-374-G04-HT.F	CM2-HT0949-140900-374-g04	gi 22027480 ref NP_060012.3 pogo transposable element with KRAB domain [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-842-A11-MT.F	CM4-MT0289-010201-842-a11	gi 1085404 pir S34626 translation elongation factor eEF-1 delta chain - human
DO02-89-XXX-685-A10-GN.F	CM2-GN0289-100101-685-a10	gi 5453623 ref NP_006305.1 connector enhancer of kinase suppressor of Ras 1 [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-841-G11-MT.F	CM4-MT0289-010201-841-g11	gi 4504865 ref NP_003676.1 KH-type splicing regulatory protein (FUSE binding protein 2) [Homo sapiens]
QU00-45-XXX-294-F11-UT.F	CM4-UT0045-050900-294-f11	gi 1575607 gb AAC50892.1 FUSE binding protein 2 [Homo sapiens]
DO01-08-XXX-599-D09-UT.F	CM2-UT0108-091200-599-d09	gi 1628395 emb CAA67886.1 gamma 3 immunoglobulin constant heavy chain [Homo sapiens]
QU06-29-XXX-696-C06-CT.F	CM4-CT0629-230101-696-c06	gi 30582903 gb AAP35679.1 lectin, galactoside-binding, soluble, 4 (galectin 4) [Homo sapiens]
QU06-29-XXX-687-G05-CT.F	CM4-CT0629-160101-687-g05	gi 21708003 gb AAH33628.1 Translocase of inner mitochondrial membrane 44 homolog [Homo sapiens]
QU04-87-XXX-304-E02-CT.F	CM4-CT0487-160900-304-e02	gi 5031863 ref NP_005558.1 galectin 3 binding protein [Homo sapiens]
QU03-66-XXX-618-D04-GN.F	CM4-GN0366-131200-618-d04	gi 18641360 ref NP_569057.1 collectin sub-family member 12 isoform I [Homo sapiens]
QU02-89-XXX-842-F11-MT.F	CM4-MT0289-010201-842-f11	gi 41322914 ref NP_958785.1 plectin 1 isoform 10 [Homo sapiens]
QU02-36-XXX-803-B04-MT.F	CM4-MT0236-180101-803-b04	gi 1510127 dbj BAA12120.1 ficolin [Homo sapiens]
QU00-90-XXX-848-H08-CN.F	CM4-CN0090-050201-848-h08	gi 6806890 ref NP_033665.1 galectin 9 long isoform [Homo sapiens]
QU00-45-XXX-494-D11-IT.F	CM4-IT0045-080101-494-d11	gi 5174485 ref NP_006030.1 mannose receptor, C type 2 [Homo sapiens]
QU00-44-XXX-570-H12-UT.F	CM4-UT0044-260900-570-H12	gi 20178293 sp P08729 K2C7_HUMAN Keratin, type II cytoskeletal 7 (Cytokeatin 7)(K7)(CK 7)(Sarcolelectin)
QU00-43-XXX-293-F03-UT.F	CM4-UT0043-050900-293-f03	gi 4504981 ref NP_002296.1 beta-galactosidase binding lectin precursor [Homo sapiens]
DO03-04-XXX-272-E01-BN.F	CM2-BN0304-190700-272-e01	gi 40849936 gb AAR95680.1 plectin 6 [Homo sapiens]
DO03-04-XXX-267-H02-BN.F	CM2-BN0304-120700-267-h02	gi 4758200 ref NP_004406.1 desmoplakin; desmoplakin (DPI, DPII) [Homo sapiens]
DO03-04-XXX-267-E05-BN.F	CM2-BN0304-120700-267-e05	gi 40849944 gb AAR95684.1 plectin 11 [Homo sapiens]
DO02-20-XXX-543-G07-GN.F	CM2-GN0220-221100-543-g07	gi 41322908 ref NP_958781.1 plectin 1 isoform 3; hemidesmosomal protein 1; epidermolysis bullosa simplex 1 (Ogna); plectin 1, intermediate filament binding protein, 500kD [Homo sapiens]
DO02-20-XXX-542-E04-GN.F	CM2-GN0220-231100-542-e04	gi 40849938 gb AAR95681.1 plectin 7 [Homo sapiens]
QU00-80-XXX-160-D11-NN.F	CM4-NN0080-290400-160-d11	gi 54633312 ref NP_036333.2 golgi apparatus protein 1 [Homo sapiens]
DO01-70-XXX-647-C03-NT.F	CM2-NT0170-211200-647-c03	gi 5031863 ref NP_005558.1 galectin 3 binding protein [Homo sapiens]
DO00-86-XXX-397-G09-UT.F	CM2-UT0086-270900-397-g09	gi 12644130 sp P15924 DESP_HUMAN Desmoplakin (DP) (250/210 kDa paraneoplastic pemphigus antigen)
DO00-09-XXX-606-H05-RT.F	CM2-RT0009-091200-606-h05	gi 13489095 ref NP_075556.1 sialoadhesin precursor [Homo sapiens]
DO00-31-XXX-411-A04-CI.F	CM2-CI0031-051000-411-a04	gi 20178293 sp P08729 K2C7_HUMAN Keratin, type II cytoskeletal 7 (Cytokeatin 7)(K7)(CK 7)(Sarcolelectin)
DO01-93-XXX-562-E07-NT.F	CM2-NT0193-301100-562-e07	gi 4505181 ref NP_002404.1 microsomal glutathione S-transferase 2 [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-810-F12-MT.F	CM4-MT0246-190101-810-f12	gi 54781365 gb AAV40834.1 cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 3 [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO01-26-XXX-517-D03-ET.F	CM2-ET0126-201100-517-d03	gi 575496 gb AAA53196.1 MHC class II lymphocyte antigen beta chain
DO01-85-XXX-585-H09-NT.F	CM2-NT0185-061200-585-h09	gi 17933774 ref NP_525129.1 transcription elongation factor A (SII)-like 2 [Homo sapiens]
DO11-58-XXX-447-G01-NN.F	CM2-NN1158-271000-447-g01	gi 18677767 ref NP_570843.1 leucine rich repeat containing 15 [Homo sapiens]
QU00-42-XXX-568-E11-UT.F	CM4-UT0042-050900-568-e11	gi 12643289 sp Q04727 TLE4_HUMAN Transducin-like enhancer protein 4
QU01-94-XXX-448-H03-FN.F	CM4-FN0194-221100-448-h03	gi 17646146 gb AAL40909.1 B lymphocyte activation-related protein [Homo sapiens]
QU02-47-XXX-813-C06-MT.F	CM4-MT0247-190101-813-c06	gi 22035600 ref NP_004570.2 mitogen-activated protein kinase kinase kinase 2 [Homo sapiens]
QU04-87-XXX-304-B10-CT.F	CM4-CT0487-160900-304-b10	gi 231416 sp P30493 1B55_HUMAN HLA class I histocompatibility antigen, B-55 alpha chain precursor (MHC class I antigen B*55(Bw-55)(B-12)
QU07-51-XXX-202-C07-HT.F	CM4-HT0751-200600-202-c07	gi 44890455 gb AAH66955.1 Annexin A2 [Homo sapiens]
QU02-22-XXX-182-A04-BN.F	CM4-BN0222-020600-182-a04	gi 187271 gb AAB50019.1 Lyn B protein [Homo sapiens]
DO02-48-XXX-575-G07-NN.F	CM2-NN0248-051200-575-g07	gi 32482013 gb AAP84359.1 endothelial differentiation G-protein-coupled receptor 2 [Homo sapiens]
QU11-57-XXX-420-D04-NN.F	CM4-NN1157-041100-420-d04	gi 55959453 emb CAI15476.1 MAX interacting protein 1 [Homo sapiens]
DO01-69-XXX-526-A11-NT.F	CM2-NT0169-221100-526-a11	gi 11761692 gb AAG40145.1 bHLHZip transcription factor BIGMAX alpha [Homo sapiens]
DO01-28-XXX-005-G08-CT.F	CM2-CT0128-230899-005-g08	gi 28559069 ref NP_783328.1 DNA cytosine methyltransferase 3 alpha isoform a [Homo sapiens]
DO01-57-XXX-547-F05-MT.F	CM2-MT0157-271100-547-f05	gi 4885539 ref NP_005380.1 protein-L-isoaspartate (D-aspartate) O-methyltransferase [Homo sapiens]
DO01-91-XXX-593-H09-MT.F	CM2-MT0191-071200-593-h09	gi 2499805 sp P55345 ANM2_HUMAN Protein arginine N-methyltransferase 2
DO01-93-XXX-654-D05-ET.F	CM2-ET0193-261200-654-d05	gi 51316032 sp Q8NHM5 FXLA_HUMAN F-box/LRR-repeat protein 10 (F-box and leucine-rich repeat protein 10) (F-box protein FBL10) (JEMMA protein) (Protein containing CXXC domain 2)
DO03-04-XXX-273-D01-BN.F	CM2-BN0304-100700-273-D01	gi 7110661 ref NP_036412.1 FtsJ homolog 1 isoform a; rRNA (uridine-2'-O-)-methyltransferase;cell division protein [Homo sapiens]
DO08-73-XXX-351-F08-HT.F	CM2-HT0873-300800-351-f08	gi 2499803 sp Q99873 ANM1_HUMAN Protein arginine N-methyltransferase 1 (Interferon receptor 1-bound protein 4)
DO09-69-XXX-505-B02-HT.F	CM2-HT0969-181100-505-b02	gi 40288288 ref NP_954592.1 coactivator-associated arginine methyltransferase 1; coactivator-associated arginine methyltransferase-1;protein arginine N-methyltransferase 4 [Homo sapiens]
QU00-23-XXX-455-A10-HN.F	CM4-HN0023-221100-455-a10	gi 4501893 ref NP_001094.1 actinin, alpha 2 [Homo sapiens]
QU00-61-XXX-301-H04-TN.F	CM4-TN0061-090900-301-h04	gi 23199995 ref NP_059998.2 Williams Beuren syndrome chromosome region 22 protein [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-811-G10-MT.F	CM4-MT0246-190101-811-g10	gi 40217808 ref NP_079033.3 euchromatic histone methyltransferase 1 [Homo sapiens]
QU06-29-XXX-696-A02-CT.F	CM4-CT0629-230101-696-a02	gi 25091210 sp Q15047 SETB_HUMAN Histone-lysine N-methyltransferase, H3 lysine-9 specific 4 (Histone H3-K9 methyltransferase 4) (H3-K9-HMTase 4) (SET domain bifurcated 1) (ERG-associated protein with SET domain)(ESET)
QU02-46-XXX-810-A01-MT.F	CM4-MT0246-190101-810-a01	gi 54607051 ref NP_001005750.1 glucocerebrosidase precursor [Homo sapiens]
DO01-70-XXX-648-H10-NT.F	CM2-NT0170-201200-648-h10	gi 1352521 sp P49279 NRM1_HUMAN Natural resistance-associated macrophage protein 1 (NRAMP 1)
QU11-52-XXX-639-C07-HT.F	CM4-HT1152-191200-639-c07	gi 10835159 ref NP_000593.1 plasminogen activator inhibitor-1 [Homo sapiens]
QU10-04-XXX-534-C08-NN.F	CM4-NN1004-040500-534-c08	gi 1703467 sp P50993 A1A2_HUMAN Sodium/potassium-transporting ATPase alpha-2 chain precursor (Sodium pump 2) (Na+/K+ ATPase 2)

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU03-67-XXX-666-A12-GN.F	CM4-GN0367-090101-666-a12	gi 2506872 sp P02751 FINC_HUMAN Fibronectin precursor (FN) (Cold-insoluble globulin) (CIG)
QU00-11-XXX-272-D04-UT.F	CM4-UT0011-190800-272-d04	gi 4505185 ref NP_002406.1 macrophage migration inhibitory factor (glycosylation-inhibiting factor) [Homo sapiens]
DO01-58-XXX-572-C10-MT.F	CM2-MT0158-301100-572-c10	gi 21614544 ref NP_002955.2 S100 calcium-binding protein A8 [Homo sapiens]
DO08-26-XXX-428-F01-BT.F	CM2-BT0826-181000-428-f01	gi 23510381 ref NP_694858.1 transportin 1 [Homo sapiens]
DO01-12-XXX-598-C06-UT.F	CM2-UT0112-091200-598-c06	gi 13926047 gb AAK49519.1 putative mitochondrial solute carrier splice variant [Homo sapiens]
DO01-57-XXX-546-D06-MT.F	CM2-MT0157-231100-546-d06	gi 21361403 ref NP_036605.2 thioredoxin 2 precursor [Homo sapiens]
DO01-80-XXX-540-C07-CI.F	CM2-CI0180-221100-540-c07	gi 113017 sp P11310 ACDM_HUMAN Acyl-CoA dehydrogenase, medium-chain specific, mitochondrial precursor (MCAD)
DO02-94-XXX-675-F12-GN.F	CM2-GN0294-020101-675-f12	gi 4502981 ref NP_001852.1 cytochrome c oxidase subunit IV isoform 1 precursor [Homo sapiens]
DO04-78-XXX-346-E08-CT.F	CM2-CT0478-230800-346-e08	gi 25188179 ref NP_005653.3 voltage-dependent anion channel 3 [Homo sapiens]
DO06-39-XXX-679-C05-CT.F	CM2-CT0639-030101-679-c05	gi 4503447 ref NP_001389.1 peroxisomal enoyl-coenzyme A hydratase-like protein [Homo sapiens]
DO06-91-XXX-117-F09-BT.F	CM2-BT0691-150300-117-f09	gi 31543667 ref NP_003162.2 suppressor of var1, 3-like 1 [Homo sapiens]
DO11-46-XXX-391-C12-NN.F	CM2-NN1146-250900-391-c12	gi 1172554 sp P45880 POR2_HUMAN Voltage-dependent anion-selective channel protein 2 (VDAC-2)
DO11-88-XXX-450-F03-NN.F	CM2-NN1188-271000-450-f03	gi 31652226 ref NP_852615.1 mitochondrial ribosomal protein L21 isoform d [Homo sapiens]
QU00-61-XXX-531-B07-LT.F	CM4-LT0061-150600-531-b07	gi 1082886 pir A55877 tumor necrosis factor type 1 receptor associated protein TRAP-1 -human
QU00-90-XXX-722-G06-CN.F	CM4-CN0090-130201-722-g06	gi 2393763 gb AAB70115.1 NAD (H)-specific isocitrate dehydrogenase gamma subunit [Homo sapiens]
QU00-96-XXX-614-D05-CN.F	CM4-CN0096-131200-614-d05	gi 19743875 ref NP_000134.2 fumarate hydratase precursor [Homo sapiens]
QU01-46-XXX-381-B11-TN.F	CM4-TN0146-301000-381-b11	gi 4505145 ref NP_002387.1 malic enzyme 2, NAD(+)-dependent, mitochondrial [Homo sapiens]
QU02-37-XXX-699-B01-ET.F	CM4-ET0237-220101-699-b01	gi 46593007 ref NP_003356.2 ubiquinol-cytochrome c reductase core protein I [Homo sapiens]
QU03-13-XXX-058-C04-CT.F	CM4-CT0313-071299-058-c04	gi 26667177 ref NP_071446.2 mitochondrial ribosomal protein L46 [Homo sapiens]
QU05-09-XXX-523-B06-HT.F	CM4-HT0509-240300-523-b06	1339989 gb AAB01381.1 dihydrolipoamide dehydrogenase [Homo sapiens]
QU05-09-XXX-523-E02-HT.F	CM4-HT0509-240300-523-e02	gi 7678804 dbj BAA95147.1 mitochondrial isoleucine tRNA synthetase [Homo sapiens]
TR00-39-XXX-001-A07-CT.F	CM3-CT0039-230799-001-a07	gi 21265080 ref NP_054880.2 mitochondrial ribosomal protein L18 [Homo sapiens]
TR01-93-XXX-032-H12-HT.F	CM3-HT0193-091199-032-h12	gi 31542947 ref NP_002147.2 chaperonin; mitochondrial matrix protein P1; P60 lymphocyte protein; heat shock 60kD protein 1 (chaperonin) [Homo sapiens]
QU02-90-XXX-681-E03-NT.F	CM4-NT0290-150101-681-e03	gi 17224468 gb AAL36989.1 leukocyte immunoglobulin-like receptor-1 [Homo sapiens]
QU02-37-XXX-805-H06-MT.F	CM4-MT0237-180101-805-h06	gi 2351801 gb AAB68666.1 monocyte inhibitory receptor precursor [Homo sapiens]
QU00-93-XXX-012-A08-ST.F	CM4-ST0093-090999-012-a08	gi 16905524 ref NP_001257.3 carboxylesterase 1 (monocyte/macrophage serine esterase 1) [Homo sapiens]
QU00-61-XXX-301-E03-TN.F	CM4-TN0061-090900-301-e03	gi 21536400 ref NP_647593.1 bridging integrator 1 isoform 1 [Homo sapiens]
DO11-52-XXX-452-D08-NN.F	CM2-NN1152-311000-452-d08	gi 7662380 ref NP_055872.1 MYC binding protein 2 [Homo sapiens]
DO01-57-XXX-545-E06-MT.F	CM2-MT0157-231100-545-e06	gi 10800436 emb CAC12950.1 dJ510O21.2.2 (E74-like factor 4 (ets domain transcription factor))[Homo sapiens]
DO09-45-XXX-381-G06-HT.F	CM2-HT0945-230900-381-g06	gi 11967975 ref NP_071888.1 myeloid leukemia factor 1 [Homo sapiens]
DO11-52-XXX-452-D07-NN.F	CM2-NN1152-311000-452-d07	gi 20336311 ref NP_612563.1 B-cell CLL/lymphoma 11A isoform 5 [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU00-45-XXX-582-H11-IT.F	CM4-IT0045-091200-582-h11	54695734 gb AAV38239.1 myeloid leukemia factor 2 [Homo sapiens]
QU02-87-XXX-839-G09-NT.F	CM4-NT0287-010201-839-g09	gi 7019333 ref NP_037524.1 nuclear receptor binding protein [Homo sapiens]
QU11-57-XXX-420-H06-NN.F	CM4-NN1157-041100-420-h06	gi 7662228 ref NP_055656.1 synaptosomal-associated protein, 91kDa homolog [Homo sapiens]
QU02-13-XXX-481-H11-NT.F	CM4-NT0213-051200-481-h11	gi 45505145 ref NP_995580.1 neuromedin B isoform 2 [Homo sapiens]
QU04-14-XXX-103-C11-BT.F	CM4-BT0414-280200-103-c11	gi 2407641 gb AAC51759.1 neuropilin [Homo sapiens]
DO11-88-XXX-448-H11-NN.F	CM2-NN1188-271000-448-h11	gi 24234747 ref NP_004506.2 interleukin enhancer binding factor 2 [Homo sapiens]
TR02-72-XXX-048-D01-ST.F	CM3-ST0272-301199-048-d01	gi 20127463 ref NP_004212.3 natural killer cell transcript 4 [Homo sapiens]
QU03-29-XXX-833-A11-GN.F	CM4-GN0329-010201-833-a11	gi 21264371 ref NP_624358.1 nucleoporin 98kD isoform 4 [Homo sapiens]
QU01-82-XXX-021-B12-ST.F	CM4-ST0182-051099-021-b12	gi 51470875 ref XP_113678.3 PREDICTED: nucleoporin 160kDa [Homo sapiens]
QU00-62-XXX-356-D05-CI.F	CM4-CI0062-201000-356-d05	gi 27477134 ref NP_079199.2 nucleoporin 210 [Homo sapiens]
QU00-89-XXX-846-C03-CN.F	CM4-CN0089-050201-846-c03	gi 41199242 ref XP_371954.1 PREDICTED: nucleoporin 205kDa [Homo sapiens]
DO09-68-XXX-504-D11-HT.F	CM2-HT0968-141100-504-d11	gi 25955493 gb AAH40352.1 NUP188 protein [Homo sapiens]
QU00-25-XXX-674-E05-HB.F	CM4-HB0025-120101-674-e05	gi 13376259 ref NP_079120.1 pericentrin 1 [Homo sapiens]
QU00-25-XXX-680-E09-HB.F	CM4-HB0025-150101-680-e09	gi 41281437 ref NP_055484.2 nucleoporin 93kDa [Homo sapiens]
QU00-25-XXX-665-D02-HB.F	CM4-HB0025-090101-665-d02	gi 13376259 ref NP_079120.1 pericentrin 1 [Homo sapiens]
DO01-95-XXX-020-G06-HT.F	CM2-HT0195-081099-020-g06	gi 4758844 ref NP_004289.1 nucleoporin 155kDa isoform 2 [Homo sapiens]
QU00-21-XXX-824-E06-HB.F	CM4-HB0021-300101-824-e06	gi 24430146 ref NP_005115.2 nucleoporin 153kDa [Homo sapiens]
DO50-01-XXX-404-G10-CT.F	CM2-CT5001-270900-404-g10	gi 24497453 ref NP_002523.2 nucleoporin 88kDa [Homo sapiens]
DO08-72-XXX-332-H09-HT.F	CM2-HT0872-170800-332-h09	gi 21040478 gb AAH30592.1 HIV-1 Rev binding protein [Homo sapiens]
DO02-21-XXX-556-H09-GN.F	CM2-GN0221-291100-556-h09	gi 19923142 ref NP_002256.2 karyopherin beta 1 [Homo sapiens]
DO00-86-XXX-395-D01-UT.F	CM2-UT0086-270900-395-d01	gi 6382079 ref NP_006258.2 RAN binding protein 2 [Homo sapiens]
DO00-31-XXX-409-B05-CI.F	CM2-CI0031-051000-409-b05	gi 12230339 sp P57740 N107_HUMAN Nuclear pore complex protein Nup107 (Nucleoporin Nup107) (107 kDa nucleoporin)
DO00-50-XXX-252-A03-FT.F	CM2-FT0050-040700-252-a03	gi 4505489 ref NP_002530.1 ornithine decarboxylase 1 [Homo sapiens]
DO01-69-XXX-525-H03-NT.F	CM2-NT0169-291100-525-h03	gi 13959562 sp Q14644 RSG3_HUMAN Ras GTPase-activating protein 3 (GAP1(IP4BP)) (Ins P4-binding protein)
DO01-69-XXX-612-F06-NT.F	CM2-NT0169-161200-612-f06	gi 15131535 emb CAC48304.1 adipsin/complement factor D precursor [Homo sapiens]
DO06-06-XXX-645-C08-CT.F	CM2-CT0606-201200-645-c08	gi 42794769 ref NP_002567.3 p21-activated kinase 1; p21/Cdc42/Rac1-activated kinase 1 (yeast Ste20-related) [Homo sapiens]
QU03-62-XXX-620-D02-GN.F	CM4-GN0362-161200-620-d02	gi 15822535 gb AAG15411.1 cyclin-dependent kinase inhibitor isoform [Homo sapiens]
DO01-66-XXX-496-B07-GN.F	CM2-GN0166-101100-496-b07	gi 16950655 ref NP_444284.1 cyclin D1 [Homo sapiens]
DO08-72-XXX-332-B06-HT.F	CM2-HT0872-170800-332-b06	gi 131542 sp P12272 PTHR_HUMAN Parathyroid hormone-related protein precursor (PTH-rP) (PTHrP)[Contains: PTHrP[1-36], PTHrP[38-94], Osteostatin(PTHrP[107-139])]
QU03-03-XXX-050-A12-BT.F	CM4-BT0303-291199-050-a12	gi 45945968 gb AAH14351.2 HRPT2 protein [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO00-09-XXX-603-D04-RT.F	CM2-RT0009-071200-603-d04	gi 7019511 ref NP_037511.1 dipeptidyl peptidase 7 preproprotein [Homo sapiens]
DO00-61-XXX-673-A08-RT.F	CM2-RT0061-030101-673-a08	gi 48257293 gb AAH33103.2 PMPCA protein [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-518-D04-ET.F	CM2-ET0126-181100-518-d04	gi 21359929 ref NP_065116.2 X-prolyl aminopeptidase (aminopeptidase P) 1, soluble [Homo sapiens]
DO01-70-XXX-648-D03-NT.F	CM2-NT0170-201200-648-d03	gi 2135002 pir I54331 dipeptidyl aminopeptidase like protein - human
DO06-06-XXX-646-E06-CT.F	CM2-CT0606-100101-646-e06	gi 8923198 ref NP_060182.1 pyroglutamyl-peptidase I; pyrrolidone-carboxylate peptidase;5-oxopropyl-peptidase [Homo sapiens]
QU00-46-XXX-287-F04-UT.F	CM4-UT0046-050900-287-f04	gi 7657609 ref NP_055115.1 signal peptidase complex (18kD) [Homo sapiens]
QU00-94-XXX-424-G01-ET.F	CM4-ET0094-111100-424-g01	gi 13279182 gb AAH04305.1 Xaa-Pro dipeptidase [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-836-H03-MT.F	CM4-MT0286-050201-836-h03	gi 45505171 ref NP_848649.2 kyphoscoliosis peptidase [Homo sapiens]
TR03-43-XXX-061-G08-CT.F	CM3-CT0343-271299-061-g08	gi 17933069 gb AAL48191.1 cathepsin C [Homo sapiens]
QU00-96-XXX-702-G04-CN.F	CM4-CN0096-220101-702-g04	gi 19923333 ref NP_005678.2 phenylalanine-tRNA synthetase-like, beta subunit [Homo sapiens]
DO01-23-XXX-305-A08-FT.F	CM2-FT0123-280700-305-A08	gi 4502201 ref NP_001649.1 ADP-ribosylation factor 1 [Homo sapiens]
DO01-58-XXX-550-E12-MT.F	CM2-MT0158-231100-550-e12	gi 4502101 ref NP_000691.1 annexin I [Homo sapiens]
DO06-57-XXX-156-C11-HT.F	CM2-HT0657-150400-156-c11	gi 21735625 ref NP_663723.1 tyrosine 3/tryptophan 5 -monooxygenase activation protein, zeta polypeptide [Homo sapiens]
DO07-52-XXX-246-D12-HT.F	CM2-HT0752-220600-246-d12	gi 23503086 sp P16885 PIG2_HUMAN 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase gamma 2(Phosphoinositide phospholipase C) (PLC-gamma-2)(Phospholipase C-gamma-2) (PLC-IV)
DO09-67-XXX-515-C08-HT.F	CM2-HT0967-291100-515-c08	gi 4758638 ref NP_004896.1 peroxiredoxin 6 [Homo sapiens]
DO11-52-XXX-454-D02-NN.F	CM2-NN1152-311000-454-d02	gi 7110641 ref NP_036400.1 phospholipase D3; HindIII K4L [Homo sapiens]
QU00-22-XXX-472-B01-HN.F	CM4-HN0022-051200-472-b01	gi 4826914 ref NP_005081.1 phospholipase A2, group IVB [Homo sapiens]
QU00-63-XXX-490-G01-RT.F	CM4-RT0063-051200-490-g01	gi 9663153 emb CAC01132.1 transport-secretion protein 2.2 (TTS-2.2) [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-683-G05-CN.F	CM4-CN0095-150101-683-g05	gi 33598948 ref NP_002651.2 phospholipase C gamma 1 isoform a [Homo sapiens]
QU06-64-XXX-701-D03-CT.F	CM4-CT0664-220101-701-d03	gi 11065786 gb AAG28341.1 phospholipase C epsilon [Homo sapiens]
DO01-16-XXX-254-B07-NN.F	CM2-NN0116-100700-254-b07	gi 5453910 ref NP_006216.1 phospholipase C, delta 1 [Homo sapiens]
DO01-79-XXX-639-C01-CI.F	CM2-CI0179-211200-639-c01	gi 4758938 ref NP_004564.1 phospholipase C, beta 2 [Homo sapiens]
QU00-19-XXX-469-B01-HN.F	CM4-HN0019-090101-469-b01	gi 4758638 ref NP_004896.1 peroxiredoxin 6 [Homo sapiens]
QU05-15-XXX-340-D05-CT.F	CM4-CT0515-181000-340-d05	gi 17433757 sp Q15147 PIB4_HUMAN 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase beta 4(Phosphoinositide phospholipase C) (PLC-beta-4)(Phospholipase C-beta-4)
TR01-83-XXX-023-D05-HT.F	CM3-HT0183-181099-023-d05	gi 6005824 ref NP_009121.1 Sec23-interacting protein p125 [Homo sapiens]
DO01-24-XXX-295-B07-MT.F	CM2-MT0124-190700-295-B07	gi 6653128 gb AAF22610.1 alpha-methylacyl-CoA racemase [Homo sapiens]
DO06-54-XXX-158-F11-HT.F	CM2-HT0654-170400-158-f11	gi 2833363 sp Q33375 COX1_CANSI Cytochrome c oxidase polypeptide I
QU00-56-XXX-358-H07-CI.F	CM4-CI0056-231000-358-h07	gi 17390245 gb AAH18111.1 Pim-2 oncogene [Homo sapiens]
QU00-89-XXX-845-C10-CN.F	CM4-CN0089-020201-845-c10	gi 14579311 gb AAK69193.1 atypical PKC isotype-specific interacting protein long variant b [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO07-52-XXX-249-A06-HT.F	CM2-HT0752-270600-249-a06	gi 30582959 gb AAP35709.1 plasminogen activator, tissue [Homo sapiens]
DO06-39-XXX-681-C05-CT.F	CM2-CT0639-030101-681-c05	gi 4505587 ref NP_002564.1 platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform lb, gamma subunit 29kDa [Homo sapiens]
QU02-37-XXX-806-E08-MT.F	CM4-MT0237-180101-806-e08	gi 21707947 gb AAH34389.1 Leucine-rich alpha-2-glycoprotein 1 [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-838-C02-MT.F	CM4-MT0286-010201-838-c02	gi 11321601 ref NP_002618.1 phosphofructokinase, platelet [Homo sapiens]
QU02-87-XXX-839-B02-NT.F	CM4-NT0287-010201-839-b02	gi 1589642 prf 2211382B platelet-derived growth factor-associated protein
QU05-74-XXX-415-A02-CT.F	CM4-CT0574-041100-415-a02	gi 4504715 ref NP_003810.1 poly A binding protein, cytoplasmic 4 [Homo sapiens]
QU06-58-XXX-751-E09-CT.F	CM4-CT0658-130201-751-e09	gi 31652244 ref NP_005641.1 transcription factor 20 isoform 1 [Homo sapiens]
DO00-31-XXX-409-D03-CI.F	CM2-CI0031-051000-409-d03	gi 24497577 ref NP_697021.1 aldo-keto reductase family 1, member A1 [Homo sapiens]
DO00-39-XXX-638-F11-IT.F	CM2-IT0039-191200-638-f11	gi 4506477 ref NP_002901.1 renin binding protein [Homo sapiens]
DO00-63-XXX-659-B06-CN.F	CM2-CN0063-030101-659-b06	gi 32879893 gb AAP88777.1 calpain, small subunit 1 [Homo sapiens]
DO01-16-XXX-254-F08-NN.F	CM2-NN0116-100700-254-f08	gi 28178832 ref NP_002159.2 isocitrate dehydrogenase 2 (NADP+), mitochondrial precursor [Homo sapiens]
DO01-80-XXX-540-E02-CI.F	CM2-CI0180-221100-540-e02	gi 21040382 gb AAH30636.1 Prolyl endopeptidase [Homo sapiens]
DO04-82-XXX-350-B03-CT.F	CM2-CT0482-300800-350-b03	gi 1708967 sp P40925 MDHC_HUMAN Malate dehydrogenase, cytoplasmic
DO08-57-XXX-470-G10-BT.F	CM2-BT0857-021100-470-g10	gi 16579888 ref NP_000498.2 fructose-1,6-bisphosphatase 1 [Homo sapiens]
QU00-81-XXX-344-E09-GN.F	CM4-GN0081-021000-344-e09	gi 4103171 gb AAD01700.1 tissue factor pathway inhibitor beta [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-683-C01-CN.F	CM4-CN0095-150101-683-c01	gi 32879983 gb AAP88822.1 transforming growth factor, beta-induced, 68kDa [Homo sapiens]
DO02-10-XXX-626-B04-NT.F	CM2-NT0210-211200-626-b04	gi 20139065 sp Q96JQ0 PC16_HUMAN Protocadherin 16 precursor (Dachsous 1) (Cadherin-19) (Fibroblast cadherin 1)
DO01-70-XXX-536-C10-NT.F	CM2-NT0170-181100-536-c10	gi 51471056 ref XP_370693.2 PREDICTED: POU domain, class 6, transcription factor 1 [Homo sapiens]
DO01-35-XXX-492-A11-CI.F	CM2-CI0135-021100-492-a11	gi 42476164 ref NP_002688.2 POU domain, class 2, transcription factor 1; Octamer-binding transcription factor-1 [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-838-G02-MT.F	CM4-MT0286-010201-838-g02	gi 4503643 ref NP_000121.1 coagulation factor V precursor [Homo sapiens]
DO01-35-XXX-474-F10-CI.F	CM2-CI0135-021100-474-f10	gi 41350327 ref NP_957720.1 membrane-bound transcription factor site-1 protease isoform 2 preproprotein; site-1 protease; subtilisin/kexin isozyme-1; membrane-bound transcription factor site-1protease [Homo sapiens]
DO02-89-XXX-685-G06-GN.F	CM2-GN0289-100101-685-g06	gi 30581111 ref NP_848696.1 minor histocompatibility antigen 13 isoform 3; intramembrane protease; signal peptide peptidase; presenilin-like protein 3 [Homo sapiens]
TR02-77-XXX-024-A03-CT.F	CM3-CT0277-221099-024-a03	22538442 ref NP_001327.2 cathepsin Z preproprotein [Homo sapiens]
QU03-67-XXX-682-A01-GN.F	CM4-GN0367-160101-682-a01	gi 55961892 emb CAI16715.1 pregnancy-associated plasma protein A [Homo sapiens]
QU00-09-XXX-279-E07-UT.F	CM4-UT0009-240800-279-e07	gi 13477137 gb AAH05025.1 Metalloprotease 1 [Homo sapiens]
QU03-61-XXX-735-E05-MT.F	CM4-MT0361-060201-735-e05	gi 55961477 emb CAI18138.1 proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 8 (large multifunctional protease 7) [Homo sapiens]
QU00-95-XXX-425-C10-ET.F	CM4-ET0095-111100-425-c10	gi 15082503 gb AAH12164.1 BIRC5 protein [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU03-29-XXX-833-H08-GN.F	CM4-GN0329-010201-833-h08	gi 5174581 ref NP_005931.1 matrix metalloproteinase 11 preproprotein [Homo sapiens]
QU03-28-XXX-829-G09-GN.F	CM4-GN0328-300101-829-g09	gi 414046 emb CAA52291.1 Lon protease-like protein [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-738-B02-MT.F	CM4-MT0286-060201-738-b02	gi 5869888 emb CAB55588.1 apoptotic protease activating factor 1 [Homo sapiens]
QU02-36-XXX-802-C03-MT.F	CM4-MT0236-180101-802-c03	gi 416746 sp P20160 CAP7_HUMAN Azurocidin precursor (Cationic antimicrobial protein CAP37)(Heparin-binding protein) (HBP)
QU01-82-XXX-021-A02-ST.F	CM4-ST0182-051099-021-a02	gi 4261689 gb AAD13989.1 complement factor B [Homo sapiens]
QU01-38-XXX-715-D10-CN.F	CM4-CN0138-310101-715-d10	gi 41393602 ref NP_958850.1 complement component 1, s subcomponent [Homo sapiens]
QU00-81-XXX-326-B09-GN.F	CM4-GN0081-160900-326-b09	gi 183175 gb AAA98619.1 growth hormone variant precursor [Homo sapiens]
QU00-26-XXX-636-A03-HB.F	CM4-HB0026-161200-636-a03	gi 2842759 sp Q99538 LGMN_HUMAN Legumain precursor (Asparaginyl endopeptidase) (Protease, cysteine 1)
QU00-22-XXX-467-D10-HN.F	CM4-HN0022-251100-467-d10	gi 4506141 ref NP_002766.1 protease, serine, 11 [Homo sapiens]
QU00-21-XXX-456-A06-HN.F	CM4-HN0021-241100-456-a06	gi 41350327 ref NP_957720.1 membrane-bound transcription factor site-1 protease isoform 2 preproprotein [Homo sapiens]
QU00-11-XXX-306-G02-UT.F	CM4-UT0011-080900-306-g02	gi 4502493 ref NP_001724.1 complement component 1, r subcomponent [Homo sapiens]
DO08-71-XXX-324-B04-HT.F	CM2-HT0871-090800-324-b04	gi 45861650 gb AAS78642.1 epidermal type II transmembrane serine protease [Homo sapiens]
DO06-55-XXX-157-A07-HT.F	CM2-HT0655-170400-157-a07	gi 21361657 ref NP_005304.3 glucose regulated protein, 58kDa [Homo sapiens]
DO01-65-XXX-485-D09-GN.F	CM2-GN0165-021100-485-d09	gi 4504329 ref NP_003701.1 hepatocyte growth factor activator inhibitor 1 isoform 2 precursor [Homo sapiens]
DO01-27-XXX-523-D12-ET.F	CM2-ET0127-181100-523-d12	gi 32351094 gb AAP74973.1 thymus specific serine peptidase [Homo sapiens]
DO01-08-XXX-621-B05-UT.F	CM2-UT0108-211200-621-b05	gi 179621 gb AAB59387.1 plasma protease (C1) inhibitor precursor
DO00-31-XXX-629-G05-KT.F	CM2-KT0031-181200-629-g05	gi 4505219 ref NP_002414.1 matrix metalloproteinase 7 preproprotein [Homo sapiens]
QU00-09-XXX-279-C09-UT.F	CM4-UT0009-240800-279-c09	gi 34783055 gb AAH00664.2 C3F protein [Homo sapiens]
DO11-53-XXX-456-F04-NN.F	CM2-NN1153-311000-456-f04	gi 4506281 ref NP_002816.1 pleiotrophin; heparin affn regulatory protein; heparin-binding growth-associated molecule; heparin binding growth factor 8; neurite growth-promoting factor 1 [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-811-F11-MT.F	CM4-MT0246-190101-811-f11	gi 54696606 gb AAV38675.1 ras homolog gene family, member G (rho G) [Homo sapiens]
QU04-87-XXX-574-C06-CT.F	CM4-CT0487-260900-574-C06	gi 12653247 gb AAH00392.1 ADP-ribosylation factor interacting protein 2 (arfaptin 2) [Homo sapiens]
DO08-56-XXX-464-G06-BT.F	CM2-BT0856-311000-464-g06	gi 18088948 gb AAH21174.1 SERF1A protein [Homo sapiens]
DO09-49-XXX-374-F10-HT.F	CM2-HT0949-140900-374-f10	gi 5729945 ref NP_006590.1 nuclear factor of activated T-cells 5 isoform c [Homo sapiens]
QU03-29-XXX-833-F03-GN.F	CM4-GN0329-010201-833-f03	gi 33568 emb CAA41730.1 MHC class II regulatory factor RFX [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-809-H04-MT.F	CM4-MT0246-180101-809-h04	gi 19743884 ref NP_602304.1 regulatory factor X3 isoform b [Homo sapiens]
QU02-46-XXX-810-C07-MT.F	CM4-MT0246-190101-810-c07	gi 1350587 sp P48382 RFX5_HUMAN DNA-binding protein RFX5 (Regulatory factor X subunit 5)
DO01-58-XXX-551-F09-MT.F	CM2-MT0158-221100-551-f09	gi 21614544 ref NP_002955.2 S100 calcium-binding protein A8 [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-517-A04-ET.F	CM2-ET0126-201100-517-a04	gi 38016202 ref NP_056080.1 SATB family member 2; two cut domains-containing homeodomain protein [Homo sapiens]
DO09-68-XXX-500-F05-HT.F	CM2-HT0968-111100-500-f05	gi 10863877 ref NP_066928.1 phospholipid scramblase 1 [Homo sapiens]
DO01-85-XXX-586-A07-NT.F	CM2-NT0185-071200-586-a07	gi 37183224 gb AAQ89412.1 ghrelin [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
QU02-89-XXX-759-A01-MT.F	CM4-MT0289-160201-759-a01	gi 14495153 dbj BAB60953.1 P-selectin cytoplasmic tail-associated protein (PCAP) [Homo sapiens]
DO00-31-XXX-411-C02-CI.F	CM2-CI0031-051000-411-c02	gi 47940089 gb AAH71699.1 Selenoprotein T [Homo sapiens]
DO00-78-XXX-109-D01-BN.F	CM2-BN0078-030300-109-d01	gi 34223003 sp Q9C0D9 SELI_HUMAN Selenoprotein I
DO01-58-XXX-570-A09-MT.F	CM2-MT0158-291100-570-a09	gi 12643828 sp Q9NZV6 MSRX_HUMAN Methionine-R-sulfoxide reductase (Selenoprotein X 1) (HSPC270)
DO06-39-XXX-679-H12-CT.F	CM2-CT0639-030101-679-h12	gi 33516963 sp Q9BVL4 SELO_HUMAN Selenoprotein O
QU05-09-XXX-523-C09-HT.F	CM4-HT0509-240300-523-c09	gi 12232397 ref NP_073576.1 SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 2 [Homo sapiens]
DO02-88-XXX-670-F08-GN.F	CM2-GN0288-020101-670-f08	gi 3694664 gb AAC62434.1 similar to NEDD-4 (KIA0093); similar to P46934 (PID:g1171682) [Homo sapiens]
QU00-20-XXX-451-G10-HN.F	CM4-HN0020-221100-451-g10	gi 20178093 sp O14512 SOC7_HUMAN Suppressor of cytokine signaling 7 (SOCS-6) (Nck, Ash and phospholipase C gamma-binding protein) Nck-associated protein 4) (NAP-4)
DO09-68-XXX-504-E01-HT.F	CM2-HT0968-141100-504-e01	gi 8923881 ref NP_061109.1 WD SOCS-box protein 2 [Homo sapiens]
DO01-93-XXX-568-A12-NT.F	CM2-NT0193-090101-568-a12	gi 18677720 ref NP_056441.6 WD SOCS-box protein 1 isoform 1 [Homo sapiens]
DO11-53-XXX-459-E11-NN.F	CM2-NN1153-311000-459-e11	gi 46362557 gb AAH68974.1 Splicing factor 3b, subunit 3, 130kDa [Homo sapiens]
TR02-77-XXX-024-H06-CT.F	CM3-CT0277-221099-024-h06	gi 15214275 sp O75533 S3B1_HUMAN Splicing factor 3B subunit 1 (Spliceosome associated protein 155)(SAP 155) (SF3b155) (Pre-mRNA splicing factor SF3b 155kDa subunit)
QU11-57-XXX-420-F03-NN.F	CM4-NN1157-041100-420-f03	gi 37693993 ref NP_002504.2 nucleoside-diphosphate kinase 3 [Homo sapiens]
DO01-90-XXX-597-H11-MT.F	CM2-MT0190-141200-597-h11	gi 37181444 gb AAQ88535.1 PTOV1 [Homo sapiens]
QU11-52-XXX-638-E03-HT.F	CM4-HT1152-211200-638-e03	gi 7706387 ref NP_057218.1 plasma glutamate carboxypeptidase [Homo sapiens]
QU05-74-XXX-404-A01-CT.F	CM4-CT0574-011100-404-a01	gi 47939523 gb AAH71680.1 TBC1 domain family, member 3 [Homo sapiens]
QU05-14-XXX-339-E02-CT.F	CM4-CT0514-051000-339-e02	gi 5304899 emb Z80899.2 HSF1121Human DNA sequence from clone XX-F1121 on chromosome 6 Contains a mitochondrial cytochrome c oxidase III (MTCO3) pseudogene, ESTs, STSs and GSSs, complete sequence
QU05-09-XXX-533-A02-HT.F	CM4-HT0509-060600-533-a02	gi 4505029 ref NP_000886.1 leukotriene A4 hydrolase [Homo sapiens]
QU03-61-XXX-647-F09-GN.F	CM4-GN0361-150101-647-f09	gi 5031995 ref NP_005663.1 prostate stem cell antigen [Homo sapiens]
QU03-28-XXX-827-H06-GN.F	CM4-GN0328-300101-827-h06	gi 3462515 gb AAC33004.1 PB39 [Homo sapiens]
QU02-90-XXX-667-C05-NT.F	CM4-NT0290-090101-667-c05	gi 6912534 ref NP_036474.1 BMP and activin membrane-bound inhibitor [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-838-F05-MT.F	CM4-MT0286-010201-838-f05	gi 8923769 ref NP_060956.1 histone deacetylase 8 [Homo sapiens]
QU00-89-XXX-746-G12-CN.F	CM4-CN0089-070201-746-g12	gi 950199 gb AAC52060.1 mitotic feedback control protein Madp2 homolog [Homo sapiens]
QU00-62-XXX-380-C12-CI.F	CM4-CI0062-231000-380-c12	gi 40850935 gb AAH65297.1 ARC/mediator transcriptional coactivator subunit [Homo sapiens]
QU00-23-XXX-454-H04-HN.F	CM4-HN0023-221100-454-h04	gi 4505413 ref NP_003542.1 non-metastatic cells 5, protein expressed in(nucleoside-diphosphate kinase) [Homo sapiens]
DO11-45-XXX-384-B08-NN.F	CM2-NN1145-230900-384-b08	gi 41017788 sp Q9BQ52 RNZ2_HUMAN Zinc phosphodiesterase ELAC protein 2 (Ribonuclease Z 2) (RNase Z2) (tRNA 3 endonuclease 2) (ElaC homolog protein 2)(Heredity prostate cancer protein 2)
DO10-26-XXX-132-A10-NN.F	CM2-NN1026-290300-132-a10	gi 42740907 ref NP_976084.1 clusterin isoform 2; complement-associated protein SP-40 [Homo sapiens]
DO09-67-XXX-511-A01-HT.F	CM2-HT0967-111100-511-a01	gi 20149530 ref NP_001884.2 casein kinase 1, delta isoform 1 [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO08-26-XXX-469-F08-BT.F	CM2-BT0826-021100-469-f08	gi 4505171 ref NP_002398.1 secretoglobin, family 2A, member 1; mammaglobin 2; lipophilin C;mammaglobin B [Homo sapiens]
DO08-26-XXX-428-H06-BT.F	CM2-BT0826-181000-428-h06	gi 4503475 ref NP_001949.1 eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 2 [Homo sapiens]
DO01-94-XXX-576-C06-NT.F	CM2-NT0194-301100-576-c06	gi 32879949 gb AAP88805.1 cytochrome c oxidase subunit VIII [Homo sapiens]
DO02-48-XXX-580-D08-NN.F	CM2-NN0248-301100-580-d08	gi 8922735 ref NP_060725.1 elongator protein 2; signal transducer and activator of transcription interacting protein 1 [Homo sapiens]
DO01-94-XXX-020-A04-HT.F	CM2-HT0194-081099-020-a04	gi 41281425 ref NP_055467.2 importin 13 [Homo sapiens]
DO01-93-XXX-653-E04-ET.F	CM2-ET0193-261200-653-e04	gi 21618342 ref NP_003143.2 signal transducer and activator of transcription 5A [Homo sapiens]
DO01-85-XXX-587-A06-NT.F	CM2-NT0185-090101-587-a06	gi 4885615 ref NP_005410.1 signal transducer and activator of transcription 2; interferon alpha induced transcriptional activator [Homo sapiens]
DO01-69-XXX-525-D02-NT.F	CM2-NT0169-291100-525-d02	gi 6166601 sp Q13454 TUS3_HUMAN Tumor suppressor candidate 3 (N33 protein)
DO01-69-XXX-611-B05-NT.F	CM2-NT0169-141200-611-b05	gi 21361947 ref NP_110422.2 stathmin-like-protein RB3 [Homo sapiens]
DO01-65-XXX-487-H06-GN.F	CM2-GN0165-021100-487-h06	gi 2408232 gb AAB80725.1 lysosomal pepstatin insensitive protease [Homo sapiens]
DO01-38-XXX-369-C01-TN.F	CM2-TN0138-070900-369-c01	gi 1071996 pir A53317 collagen alpha 1(XV) chain precursor - human
DO01-16-XXX-276-H10-FT.F	CM2-FT0116-170700-276-h10	gi 1706065 sp P50675 COX2_SYNCA Cytochrome c oxidase polypeptide II
DO01-10-XXX-262-F10-FN.F	CM2-FN0110-110700-262-f10	gi 20520641 emb CAD30844.1 prostate specific antigen [Homo sapiens]
DO00-30-XXX-615-C02-KT.F	CM2-KT0030-141200-615-c02	gi 3643107 gb AAC36702.1 protein inhibitor of activated STAT protein PIAS1 [Homo sapiens]
DO01-12-XXX-608-G04-UT.F	CM2-UT0112-141200-608-g04	gi 15680254 gb AAH14482.1 Signal transducer and activator of transcription 3, isoform 1 [Homo sapiens]
DO01-84-XXX-018-G03-HT.F	CM2-HT0184-061099-018-g03	gi 7706637 ref NP_057250.1 protein inhibitor of activated STAT, 1 [Homo sapiens]
QU05-15-XXX-340-D02-CT.F	CM4-CT0515-181000-340-d02	gi 51895905 gb AAH82228.1 Stathmin 1 [Homo sapiens]
QU00-42-XXX-611-D07-IT.F	CM4-IT0042-131200-611-d07	gi 55960527 emb CAI13468.1 TAL1 (SCL) interrupting locus [Homo sapiens]
DO00-03-XXX-666-D09-HB.F	CM2-HB0003-020101-666-d09	gi 41017413 sp Q9NS15 LTB3_HUMAN Latent transforming growth factor beta binding protein 3 precursor (LTBP-3)
QU03-28-XXX-828-G06-GN.F	CM4-GN0328-300101-828-g06	gi 46249414 ref NP_996826.1 latent transforming growth factor beta binding protein 1 LTBP-1L;TGF-beta1-BP-1 [Homo sapiens]
DO08-72-XXX-325-G05-HT.F	CM2-HT0872-140800-325-g05	gi 5730075 ref NP_006673.1 fibrinogen-like 2 [Homo sapiens]
DO00-53-XXX-250-F04-FN.F	CM2-FN0053-040700-250-f04	gi 4503641 ref NP_001984.1 coagulation factor III precursor [Homo sapiens]
DO02-95-XXX-658-F10-GN.F	CM2-GN0295-020101-658-f10	gi 5031631 ref NP_005497.1 scavenger receptor class B, member 2 [Homo sapiens]
QU03-66-XXX-629-C06-GN.F	CM4-GN0366-161200-629-c06	gi 38016904 ref NP_061905.2 thrombospondin repeat containing 1 [Homo sapiens]
DO02-74-XXX-234-B12-BN.F	CM2-BN0274-130600-234-b12	gi 1070640 pir TSHUP1 thrombospondin 1 precursor - human
QU05-72-XXX-439-G07-CT.F	CM4-CT0572-111100-439-g07	gi 11342666 ref NP_004521.1 matrix metalloproteinase 2 preproprotein [Homo sapiens]
QU01-61-XXX-708-D11-OT.F	CM4-OT0161-300101-708-d11	gi 4507511 ref NP_003246.1 tissue inhibitor of metalloproteinase 2 precursor [Homo sapiens]
QU00-42-XXX-479-H11-IT.F	CM4-IT0042-051200-479-h11	gi 4507515 ref NP_003247.1 tissue inhibitor of metalloproteinase 4 precursor [Homo sapiens]
DO09-69-XXX-501-C10-HT.F	CM2-HT0969-300101-501-c10	gi 4505217 ref NP_002413.1 matrix metalloproteinase 3 preproprotein [Homo sapiens]

READ - GP	READ - NCBI	ALINHAMENTO
DO01-94-XXX-576-E07-NT.F	CM2-NT0194-301100-576-e07	gi 4507509 ref NP_003245.1 tissue inhibitor of metalloproteinase 1 precursor [Homo sapiens]
DO01-93-XXX-653-D07-ET.F	CM2-ET0193-261200-653-d07	gi 15487670 ref NP_006353.2 nuclear RNA export factor 1 [Homo sapiens]
DO09-67-XXX-515-G11-HT.F	CM2-HT0967-291100-515-g11	gi 15487670 ref NP_006353.2 nuclear RNA export factor 1 [Homo sapiens]
QU00-91-XXX-725-E02-CN.F	CM4-CN0091-130201-725-e02	gi 20988371 gb AAH30135.1 SH3 domain binding glutamic acid-rich protein like 3 [Homo sapiens]
QU00-91-XXX-850-H10-CN.F	CM4-CN0091-080201-850-h10	gi 7657039 ref NP_055267.1 tumor necrosis factor receptor superfamily, member 21 precursor [Homo sapiens]
QU03-61-XXX-648-G07-GN.F	CM4-GN0361-150101-648-g07	gi 19923626 ref NP_085146.2 apolipoprotein L4 isoform 1 [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-832-G09-NT.F	CM4-NT0286-310101-832-g09	gi 23510348 ref NP_057698.2 TRAF and TNF receptor-associated protein [Homo sapiens]
QU02-86-XXX-738-D01-MT.F	CM4-MT0286-060201-738-d01	gi 1857673 gb AAB51586.1 TNF-alpha converting enzyme [Homo sapiens]
QU00-91-XXX-851-C07-CN.F	CM4-CN0091-070201-851-c07	gi 13274526 gb AAK17964.1 complement-c1q tumor necrosis factor-related protein [Homo sapiens]
QU00-43-XXX-309-H11-UT.F	CM4-UT0043-090900-309-h11	gi 7656973 ref NP_055164.1 apolipoprotein L3 isoform 2 [Homo sapiens]
QU00-25-XXX-697-C03-HB.F	CM4-HB0025-220101-697-c03	gi 23200041 ref NP_003811.2 tumor necrosis factor receptor superfamily, member 14 precursor [Homo sapiens]
QU00-25-XXX-665-B03-HB.F	CM4-HB0025-090101-665-b03	gi 33946285 ref NP_892007.1 baculoviral IAP repeat-containing protein 3 [Homo sapiens]
DO01-91-XXX-590-B11-MT.F	CM2-MT0191-141200-590-b11	gi 4507575 ref NP_001056.1 tumor necrosis factor receptor 1 precursor [Homo sapiens]
DO01-26-XXX-520-F04-ET.F	CM2-ET0126-181100-520-f04	gi 21669305 db BAC01677.1 immunoglobulin kappa light chain VLJ region [Homo sapiens]
DO00-55-XXX-356-E12-GN.F	CM2-GN0055-060900-356-e12	gi 50345288 gb AAT74626.1 receptor (TNFRSF)-interacting serine-threonine kinase 1 [Homo sapiens]
QU00-43-XXX-293-G07-UT.F	CM4-UT0043-050900-293-g07	gi 15559297 gb AAH14008.1 TNIP1 protein [Homo sapiens]
DO06-71-XXX-214-E08-HT.F	CM2-HT0671-010600-214-e08	gi 482321 pir A41784 tumor necrosis factor-alpha-induced protein B12 - human
QU00-07-XXX-551-C10-NT.F	CM4-NT0007-130500-551-c10	gi 4557871 ref NP_001054.1 transferrin [Homo sapiens]
DO00-84-XXX-400-B07-UT.F	CM2-UT0084-270900-400-b07	gi 40787843 gb AAH64910.1 Beta-2-microglobulin, precursor [Homo sapiens]
QU00-96-XXX-678-D09-CN.F	CM4-CN0096-150101-678-d09	gi 50593093 gb AAT79353.1 transglutaminase 2 [Homo sapiens]
QU06-29-XXX-696-E12-CT.F	CM4-CT0629-230101-696-e12	gi 19343608 gb AAH25790.1 Serine protease inhibitor, Kazal type 1 [Homo sapiens]
QU02-87-XXX-840-B01-NT.F	CM4-NT0287-120201-840-b01	gi 55958531 emb CAI16363.1 inter-alpha (globulin) inhibitor H5 [Homo sapiens]
QU00-23-XXX-455-G05-HN.F	CM4-HN0023-221100-455-g05	gi 1340142 emb CAA48671.1 alpha1-antichymotrypsin [Homo sapiens]
QU03-62-XXX-620-E04-GN.F	CM4-GN0362-161200-620-e04	gi 42716354 gb AAS37680.1 tyrosine kinase 2 [Homo sapiens]
TR03-02-XXX-035-F06-BT.F	CM3-BT0302-171199-035-f06	gi 21536466 ref NP_068713.2 AXL receptor tyrosine kinase isoform 1 [Homo sapiens]
QU01-46-XXX-396-F05-TN.F	CM4-TN0146-011100-396-f05	gi 23272118 gb AAH23542.1 Sortilin 1, preproprotein [Homo sapiens]
DO11-52-XXX-452-D06-NN.F	CM2-NN1152-311000-452-d06	gi 913346 gb AAB34377.1 VAV oncogene homolog [Homo sapiens]
QU00-75-XXX-341-A04-UT.F	CM4-UT0075-021000-341-a04	gi 5030431 gb AAA61281.2 vimentin [Homo sapiens]