UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológica (Biologia/Genética)

CAROLINA MANCINI VALL BASTOS

Análise da expressão gênica diferencial das glândulas de veneno de *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae).

Analysis of differential gene expression of the venom gland of *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae)

> São Paulo 2011

CAROLINA MANCINI VALL BASTOS

Análise da expressão gênica diferencial das glândulas de veneno de *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae).

Analysis of differential gene expression of the venom gland of *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae).

> Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Doutor em Ciências Biológicas (Biologia/Genética), na Área de Biologia (Genética).

Orientador(a): Dr. Inácio de Loiola Meirelles Junqueira de Azevedo

Bastos, Carolina Mancini Vall Análise da expressão gênica diferencial das glândulas de veneno de *Bothrops jararaca* (Serpentes: Viperidae). 157p

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva

 Bothrops jararaca 2. Glândula de veneno
 RNA-seq I. Universidade de São Paulo.
 Instituto de Biociências. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a). Orientador(a)

With a little help from my friends....

Em memória do meu avô, Paulo Mancini.

You gain strength, courage and confidence by every experience in which you really stop to look fear in the face. You are able to say to yourself, 'I have lived through this horror. I can take the next thing that comes along.' You must do the thing you think you cannot do.

Eleanor Roosevelt US diplomat & reformer (1884 - 1962)

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao meu orientador, Dr. Inácio, pela confiança, paciência, apoio e pela oportunidade de trabalhar nesse projeto que exigiu muito de mim e me mostrou que ciência se faz com trabalho duro, muito estudo e um pouco de teimosia;

Ao Dr. Paulo Lee Ho que me recebeu em seu laboratório e sempre foi muito participativo, dando sugestões, broncas e muito incentivo;

À Dra. Norma Yamanouye, colaboradora e uma das idealizadoras desse projeto, que me ajudou com as serpentes e contribuiu com valiosas discussões;

Ao Dr. Marcelo Laia, que me ajudou muito nas análises de bioinformática, me recebeu em Jaboticabal, com quem troquei dúzias de e-mails e que sempre foi muito atencioso, solícito, interessado e sem ele, com certeza, esse trabalho teria sido muito mais difícil;

À Dra Maria Leonor de Oliveira e à Dra. Eliane Miyaji pelas conversas, muitas vezes informais mas que me fizeram aprender muito sobre ciência e sobre o meio acadêmico, e por me inspirarem a ser uma profissional melhor;

À todos os meus colegas do laboratório de biotecnologia molecular I pela companhia diária, troca de idéias e apoio nos momentos difíceis;

À todo pessoal do CAT que me recebeu muito bem e fez com que me sentisse em casa desde o primeiro dia, e principalmente, aos meus colegas de laboratório, ao Ivan e a Mari que em pouco tempo conquistaram meu respeito, admiração e ganharam minha amizade;

Aos amigos do laboratório de biotecnologia molecular IV pela atenção e disponibilidade sempre que precisei usar algum equipamento deles e pela companhia sempre bem vinda na *happy hour* pós expediente;

Aos queridíssimos Luciane Schons e o Henrique Rofatto, pelas ótimas discussões sobre RT-PCR que foram muito proveitosas para o meu trabalho; As amigas, Adriana, Luciane, Liliane, Vivian, Fernanda, Patrícia, Regiane e Swiany, por acreditarem em mim quando nem eu acreditava mais, pela parceria, e por serem responsáveis pelas melhores lembranças que vou guardar desses anos;

Aos meus pais por toda dedicação, por estarem sempre ao meu lado apoiando minhas escolhas e decisões;

Às minhas irmãs, Catarina e Camila, pela paciência, pelo apoio e por tornarem tudo mais leve, me mostrarando o que realmente importa;

Às minhas melhores amigas Mariana e Marcella por serem minhas melhores amigas, mesmo com toda distância, a falta de tempo, e as obrigações que temos, ainda conseguimos manter nossa amizade e no fim das contas só isso importa;

Ao Patrick, que há 3 anos me fez criar coragem e sair pelo mundo, graças a ele fui mais longe do que imaginei ir em toda minha vida, e nos últimos meses ele foi meu melhor e mais paciente amigo, mesmo a 12.000km de distância;

Ao meu assessor(a) FAPESP e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, (processo 2006/07029-0) pela concessão da bolsa de Doutorado Direto.

Índice

1.	Introduçã	ο	01
	1.1. Serper	ites	01
	1.2. Venen	o e Envenenamento	04
	1.3. Glându	ıla de veneno	09
	1.4. Análise	e transcriptômica e biologia de sistemas	14
2.	Objetivos		21
3.	Justificati	va	21
4.	Desenho	experimental	22
5.	Materiais	e Métodos	24
	5.1. Proced	limentos básicos	24
	5.1.1.	Animais	24
	5.1.2.	Extração da glândula de veneno	24
	5.1.3.	Obtenção do RNA	25
	5.1.4.	Extração de DNA plasmidial (miniprep de placa)	26
	5.1.5.	Sequenciamento dos clones	26
	5.2. Constr	ução da biblioteca de cDNA para confecção das membranas de	
	macroa	arranjo	27
	5.2.1.	Construção da biblioteca de cDNA	27
	5.2.2.	Transformação e eletroporação da biblioteca em <i>E.coli</i>	29
	5.2.3.	Validação da biblioteca	30
	5.2.4.	Seleção de clones para construção dos macroarranjos	30
	5.3. Constr	ução das membranas de macroarranjo	31
	5.3.1.	Transferência das colônias bacterianas para a membrana de	
	ná	iilon	
	5.3.2.	Crescimento das colônias bacterianas na membrana	33
	5.3.3.	Processamento da membrana após o crescimento das colônias	
	ba	acterianas	33
	5.4. Análise	e temporal da expressão gênica na glândula de veneno de Bothr	ops
	jararad	ca	34
	5.4.1.	Síntese do cDNA	34
	5.4.2.	Marcação das sondas de cDNA	35
	5.4.3.	Hibridização da membrana com a sonda de cDNA	35
	5.4.4.	Pós-Hibridização e revelação das membranas	36
	5.4.5.	Captura e análise das imagens	
	5.4.6.	Análises estatísticas	

	5.4.7. Análise temporal do perfil de expressão gênica	37
	5.4.8. Análise das sequências	. 38
	5.4.9. Anotação dos clones	38
	5.5. Análise da expressão gênica diferencial em resposta a tratamentos	
	farmacológicos	39
	5.5.1. Tratamentos e extração da glândula de veneno	. 39
	5.5.2. Identificação e anotação funcional dos clones diferencialmente	
	expressos	. 39
	5.6. Análise da expressão gênica por PCR quantitativo em tempo real	
	(qPCR)	. 40
	5.6.1. Escolha do gene de referência para análise da expressão gênica na	
	glândula de veneno	. 40
	5.6.2. Escolha e construção dos oligonucleotídeos iniciadores dos genes de	
	estudo	. 41
	5.6.3. Preparo das amostras de cDNA	. 44
	5.6.4. Padronização da reação de qPCR	. 45
	5.6.5. A reação de qPCR	. 45
	5.6.6. Análises estatísticas	. 46
	5.7. Sequenciamento de nova geração (RNA-seq)	. 46
	5.7.1. Obtenção e preparo do RNA	. 46
	5.7.2. Construção da biblioteca de cDNA	. 47
	5.7.3. Amplificação clonal baseada em emulsão (<i>em</i> PCR)	48
	5.7.4. Sequenciamento	48
	5.7.5. Análises dos dados de sequenciamento	49
6.	Resultados	51
	6.1. Construção da biblioteca de cDNA para confecção das membranas de	
	macroarranjo	. 51
	6.1.1. Obtenção e análise do RNA	. 51
	6.1.2. Avaliação da biblioteca de cDNA	52
	6.2. Análise temporal da expressão gênica	. 54
	6.2.1. Membranas	. 54
	6.2.2. Obtenção do RNA para a sonda	. 56
	6.2.3. Hibridização das membranas	. 57
	6.2.4. Análises estatísticas para determinar os clones diferencialme	ente
	expressos	. 57
	6.2.5. Análise temporal do perfil de expressão gênica	. 61
	6.2.6. Identificação e anotação funcional dos clones diferencialme	ente
	expressos	. 68

6.3. Análise da expressão gênica diferencial em resposta aos tratamentos
farmacológicos74
6.3.1. Hibridização das membranas e obtenção das imagens
6.3.2. Normalização dos dados75
6.3.3. Identificação dos transcritos diferencialmente expressos na glândula de
veneno sob diferentes tratamentos76
6.4. Análise da expressão gênica por PCR quantitativo em tempo real (qPCR) 85
6.4.1. Escolha do gene de referência para análise da expressão gênica por
qPCR na glândula de veneno de Bothrops jararaca
6.4.2. Análise da expressão de toxinas na glândula de veneno tratada com
reserpina
6.4.3. Análise da expressão gênica na glândula de veneno tratada com
reserpina
6.5. Sequenciamento de nova geração (RNA-seq)
7. Discussão 109
7.1. Análise Temporal da Expressão Gênica 109
7.2. Análise da Expressão Gênica na Glândula de Veneno de 4 dias tratada com
reserpina111
7.3. Algumas considerações sobre o método de RNA-seq
8. Conclusões130
9. Resumo 131
10. Abstract 133
11. Referências Bibliográficas135
12. Apêndice 157

Figura 1: Esquema das dentições das serpentes.

Figura 2: Bothrops jararaca.

Figura 3: Diagrama esquemático dos mecanismos moleculares que geram variabilidade de toxinas.

Figura 4: Diagrama esquemático dos domínios das metaloproteinases.

Figura 5: Desenho esquemático da glândula de veneno de viperídeos.

Figura 6: Macrofotografia de corte sagital da glândula de veneno de viperídeo.

Figura 7: Corte longitudinal da glândula de veneno de viperídeo.

Figura 8: Esquema ilustrando as mudanças morfológicas ocorridas nas células secretoras da glândula de veneno de serpentes da família Viperidae durante o ciclo de produção de veneno.

Figura 9: Desenho esquemático representando os receptores acoplados a proteína G da subfamília Rhodopsina.

Figura 10: Desenho esquemático da obtenção de dados pelo método de Microarray.

Figura 11: Desenho esquemático da obtenção de dados pelo método de RNA-seq usando plataforma *Illumina Genome Analyzer*.

Figura 12: Foto da dissecção da glândula de veneno de Bothrops jararaca.

Figura 13: Esquema ilustrando o mapa do vetor pSPORT1.

Figura 14: Desenho esquemático dos macroarranjos.

Figura 15: Esquema da posição dos clones na membrana.

Figuras 16a e 16b: Géis de agarose 1% contendo amostra do RNA total de glândula de veneno de macho e da glândula de veneno da fêmea de *B. jararaca*.

Figura 17: Gel de agarose 1% mostrando os produtos da digestão com as enzimas de restrição Sal I e Not I.

Figura 18: Membrana marcada com a sonda β -lactamase.

Figura 19: Membrana após lavagem para limpar a marcação.

Figura 20: Gel de agarose 1% contendo RNA total de glândula de veneno de macho de *B. jararaca*.

Figura 21: Membrana marcada com sonda de cDNA 15 dias – animal 2 (15d2).

Figura 22: Diagrama de caixas (bloxplots) dos dados da análise temporal da expressão gênica antes de serem normalizados.

Figura 23: Diagrama de caixas (bloxplots) dos dados da análise temporal da expressão gênica após de serem normalizados com o método *loess*.

Figura 24: Gráfico da distribuição normal dos dados da análise temporal da expressão gênica após normalização pelo método *loess*.

Figura 25: Perfis de expressão gênica dos clones da glândula de veneno entre 0 e 15 dias.

Figura 26: Perfis de expressão gênica significativos dos clones diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 27: Perfis de expressão gênica dos transcritos celulares entre 0 e 15 dias.

Figura 28: Perfil de expressão 42 dos transcritos celulares diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 29: Perfil de expressão 47 dos transcritos celulares diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 30: Perfil de expressão 40 dos transcritos celulares diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 31: Perfil de expressão 38 dos transcritos celulares diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 32: Perfis de expressão gênica das toxinas entre 0 e 15 dias.

Figura 33: Perfil de expressão 42 das toxinas diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 34: Perfil de expressão 40 das toxinas diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 35: Perfil de expressão 47 das toxinas diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 36: Perfil de expressão 38 das toxinas diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 37: Gráfico da porcentagem de categorias funcionais dos transcritos diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica.

Figura 38: Gráfico de porcentagem das classes de toxinas diferencialmente expressas na análise temporal da expressão gênica.

Figura 39: Representação gráfica das categorias "função molecular" e "processos biológicos" do GO e vias de sinalização do KEGG enriquecidas nos transcritos diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica na glândula de veneno de *Bothrops jararaca*.

Figura 40: Membrana marcada com sonda de cDNA de glândula de 4 dias tratado com reserpina – animal 3.

Figura 41: Diagrama de caixas (bloxplots) dos dados da análise da expressão gênica da glândula sob tratamento farmacológico antes de serem normalizados.

Figura 42: Diagrama de caixas (bloxplots) dos dados da análise da expressão gênica da glândula sob tratamento farmacológico após de serem normalizados com o método *vsn*.

Figura 43: Gráfico representando o número de transcritos celulares e toxinas *upregulated* na glândula de 4 dias tratada com reserpina (4dR) e na glândula de 4 dias tratada com reserpina e agonistas dos adrenocpetores α e β (4dA).

Figura 44: Gráfico representando as classes de toxinas com expressão aumentada em glândulas de 4 dias tratadas com reserpina (4dR).

Figura 45: Gráfico representando as classes de toxinas com expressão diminuída em glândulas de 4 dias tratadas com reserpina (4dR).

Figura 46: Eletroforese de DNA em gel de agarose 1.2% da reação de PCR da β -actina.

Figura 47: Eletroforese de DNA em gel de agarose 1.2% da reação de PCR de GAPDH, Ubiquitina C e YWHAZ.

Figura 48: Quantificação relativa da expressão de toxinas na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo.

Figura 49: Quantificação relativa da expressão de PKA (proteína quinase dependente de cAMP) e PKC (proteína quinase C) na glândula de veneno de 4 dias (4d), na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo.

Figura 50: Quantificação relativa da expressão de eIF4E (*eukaryotic translation initiation factor 4E*), EEF1A1 (*eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1*), CPSF1 (*cleavage and polyadenylation specific factor 1*) e GTF2F2 (*general transcription factor IIF, polypeptide 2*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo.

Figura 51: Quantificação relativa da expressão de Sar1b (*SAR1 homolog B*) e Sec23a (*Sec23 homolog A*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR).

Figura 52: Quantificação relativa da expressão de SPCS1 (*signal peptidase complex subunit 1 homolog*), SPCS2 (*signal peptidase complex subunit 2 homolog*), SPCS3 (*signal peptidase complex subunit 3 homolog*) e Sec11c (*SEC11 homolog C*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR).

Figura 53: Quantificação relativa da expressão de Sec61A1 (*Sec61 alpha 1 subunit*), Sec61b (*Sec61 beta subunit*), TRAP (*translocon-associated protein delta*) e TRAM1(*translocation associated membrane protein 1*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR).

Figura 54: Quantificação relativa da expressão de calg (calglandulina), KDELR (KDEL (*Lys-Asp-Glu-Leu*) endoplasmic reticulum protein retention receptor), dctn1 (*dynactin 1*) e PSMD3 (*proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 3*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR).

Figura 55: Quantificação relativa da expressão de PDI (*protein disulfide isomerase*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR).

Figura 56: Quantificação relativa da expressão de CBP (*CREB binding protein*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR).

Figura 57: Dados do transcriptoma de glândula de veneno de 4 dias (4d) e glândula de veneno de 4 dias reserpinada (4dR).

Figura 58: Classes de toxinas encontradas na análise transcriptômica da glândula de veneno de 4 dias (4d) e glândula de veneno de 4 dias reserpinada (4dR).

Figura 59: Categorias do GO enriquecidas entre os genes cuja expressão está aumentada na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR). Representação gráfica dos 10 termos com menor p-value nas categorias "Função Molecular" e "Processos Biológicos".

Figura 60: Categorias do GO enriquecidas entre os genes cuja expressão está reduzida na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR). Representação gráfica dos 10 termos com menor p-value nas categorias "Função Molecular" e "Processos Biológicos".

Figura 61: Categorias do GO enriquecidas entre os genes expressos somente na glândula de veneno de 4 dias (4d). Representação gráfica dos 10 termos com menor p-value nas categorias "Função Molecular" e "Processos Biológicos".

Figura 62: Categorias do GO enriquecidas entre os genes expressos somente na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR). Representação gráfica dos 10 termos com menor p-value nas categorias "Função Molecular" e "Processos Biológicos".

Figura 63: Modelo para o mecanismo de secreção de amilase dependente de cAMP e Ca^{2+} em células acinares de parótida de rato.

Figura 64: Desenho esquemático do mecanismo de regulação da secreção proposto para a glândula de veneno de Bothrops jararaca.

Tabela 1: Sequências de oligonucleotídeos iniciadores dos genes candidatos a gene de referência.

Tabela 2: Sequências de oligonucleotídeos iniciadores para análise da expressão gênica porPCR quantitativo em tempo real de representantes das principais classes de toxinas do venenode *Bothrops jararaca*.

Tabela 3: Sequências de oligonucleotídeos iniciadores construídos a partir de sequências identificadas nas bibliotecas de *B.insularis* (BINS), *P. olfersii* (POLF) e *B. jararaca* (BJAL) para análise da expressão gênica por PCR quantitativo em tempo real.

Tabela 4: Resultado das análises das ESTs da biblioteca de glândula de veneno de macho de

 B.jararaca.

Tabela 5: Transcritos identificados como sendo da mesma classe de toxinas (n° de clones), porcentagem desses transcritos em relação ao total de ESTs (% do total) e em relação ao total de ESTs identificadas (% dos identificados).

Tabela 6: Transcritos celulares agrupados em uma mesma função celular (n° de clones), porcentagem desses transcritos em relação ao total de transcritos (% do total) e em relação ao total de transcritos identificados (% dos identificados).

Tabela 7: Análise pareada da variação de expressão gênica entre os diferentes grupos experimentais.

Tabela 8: Anotação funcional dos transcritos celulares diferencialmente expressos na análisetemporal da expressão gênica da glândula de veneno de *Bothrops jararaca*, utilizando aferramenta DAVID.

Tabela 9: Categorias funcionais dos transcritos que apresentaram aumento na expressão na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina. Cada transcrito pode ser classificado em mais de uma categoria funcional. Os valores em porcentagem se referem ao total de transcritos da categoria/total de transcritos celulares.

Tabela 10: Categorias funcionais dos transcritos que apresentaram diminuição na expressão na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina. Cada transcrito pode ser classificado em mais de uma categoria funcional. Os valores em porcentagem se referem ao total de transcritos da categoria/total de transcritos celulares.

Tabela 11: Categorias funcionais dos transcritos que apresentaram aumento na expressão na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina e agonistas dos adrenoceptores $\alpha \in \beta$. Cada transcrito pode ser classificado em mais de uma categoria funcional. Os valores em porcentagem se referem ao total de transcritos da categoria/total de transcritos celulares.

Tabela 12: Categorias funcionais dos transcritos que apresentaram diminuição na expressão na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina e agonistas dos adrenoceptores α e β . Cada transcrito pode ser classificado em mais de uma categoria funcional. Os valores em porcentagem se referem ao total de transcritos da categoria/total de transcritos celulares.

Tabela 13: Determinação de gene candidato a controle da reação de qPCR para amostras de glândula de veneno extraídas no tempo 0, 1, 2, 4 e 15 dias após a extração manual do veneno. Análise realizada através da ferramenta NormFinder.

- ACE enzima conversora de angiotensina;
- ACTB beta-actina;
- ANXA annexin A;
- AP1- activator protein 1;
- AP2 proteína adaptadora complexo 2;
- AQP5 aquoporina 5;
- Arf ADP-ribosylation factor;
- ARs receptores adrenérgicos;
- ATF4 cAMP response element-binding transcription factor;
- ATF6 activating transcription factor 6;
- ATP adenosina trifosfato;
- BPP peptídeos potenciadores de bradicinina;
- CALM clathrin assembly protein;
- cAMP adenosina monofosfato cíclico;
- CBP CREB binding protein;
- cDNA DNA complementar;
- CK2 caseína quinase 2;
- COBEA Colégio Brasileiro de Experimentação Animal;
- COP coat protein;
- CPSF1 cleavage and polyadenylation specific factor 1;
- CRE elemento responsivo a ATF/cAMP;
- CREB cAMP-response element binding protein;
- DAG diacilglicerol;
- dctn1 dinactina 1;
- ddNTPs dideoxinuleotídeos;
- EDEM1 ER degradation-enhancing alpha-mannosidase-like protein 1;
- EEF1A1 eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1;
- eIF2 α fator de iniciação de tradução eucariótico 2 α ;
- eIF4E eukaryotic translation initiation factor 4E;
- ERAD Endoplasmic-reticulum-associated protein degradation;

ERK - extracellular-signal-regulated kinases;

Erp18 - thioredoxin domain containing 12 - endoplasmic reticulum;

Erp29 - endoplasmic reticulum protein 29;

ERSE - elemento responsivo a estresse de RE;

ESTs - Expressed Sequenced Tags;

FBR - furin (cargo)-binding region;

FIP - Family of Interacting Protein;

GAP – GTPase activating proteins;

GAPDH - gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase;

GBF1 - golgi brefeldin A resistant guanine nucleotide exchange factor 1;

GDI - inibidor da dissociação do nucleotídeo guanina;

GEF - guanine nucleotide exchange factor;

GGA - Golgi-localized γ -ear-containing, Arf-binding protein;

Glândula 4d – glândula de veneno retirada 4 dias após a extração do veneno;

Glândula 4dA – glândula de veneno tratada com reserpina e agonistas dos

adrenoceptores α e β e retirada 4 dias após a extração do veneno;

Glândula 4dR – glândula de veneno tratada com reserpina e retirada 4 dias após a extração do veneno;

GO – Gene Ontology;

GPCRs - de receptores acoplados à proteína G;

GTF2F2 - general transcription factor IIF, polypeptide 2;

GTP – guanina trifosfato;

HSP70 - 70 kilodalton heat shock proteins;

IP3 - inositol (1,4,5) trifosfato;

IP3R's - receptores de IP3;

IRE1 - inositol requiring kinase 1;

IRES - sequência interna de entrada de ribossomo;

KDELR - KDEL-(Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor;

KEGG - Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes;

MHF3 - metaloprotease HF3;

mRNA – RNA mensageiro;

Myo – miosina tipo V;

NADH - nicotinamida adenina dinucleótido hidreto;

NCBI- National Center for Biotechnology Information;

NGS - next generation sequencing;

ORFs - open reading frames;

PACS1 - phosphofurin acidic cluster sorting protein 1;

PACSIN3 - protein kinase C and casein kinase substrate in neurons 3);

PACSIN3 - protein kinase C and casein kinase substrate in neurons 3;

PCR – polymerase chain reaction;

PDI – proteína dissulfeto isomerase;

PERK - double-stranded RNA-activated protein kinase (PKR)-like endoplasmic

reticulum kinase;

PI4K - phosphatidylinositol 4-kinase;

PICALM - phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein;

PICALM - phosphatidylinositol clathrin assembly protein;

PIP2 - fosfoinositol (4,5) bisfosfato;

PKA – proteína quinase dependente de cAMP;

PKC – proteína quinase C;

PLC - fosfolipase C;

PLPA2 – fosfolipase A2;

PSMD3 - proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 3;

PtdIns(3,4,5)P3 - fosfatidil-inositol 3,4,5-trifosfato;

PtdIns(4,5)P2 - fosfatidil-inositol 4,5-bisfosfato;

PtdIns-3-P - fosfatidil-inositol 3-fosfato;

PTEN - fosfatidil-inositol-3,4,5-trifosfato 3-fosfatase;

qPCR – PCR quantitativo em tempo real;

Rab - Ras-associated binding proteins;

Rabgap1 - rab gtpase activating protein 1;

RE - retículo endoplasmático;

RPKM - reads per kilobase per million mappead reads;

SDS – sodium dodecyl sulfate;

Slp - synaptotagmin-like protein;

SNARE - soluble NSF attachment receptor;

SNF - N-ethylmaleimide-sensitive factor;

SPCS - signal peptidase complex subunit;

STEM - Short Time-series Expression Miner;

TGN – Trans-Golgi network;

TRAM - translocation associated membrane protein;

TRAP - translocon-associated protein delta;

tRNA - RNA transportador;

t-SNARES - target SNARE;

UBC - Ubiquitina C;

UPR - unfolded protein response;

VAMP - Vesicle-associated membrane protein;

Vps - vacuolar protein sorting;

vSNARE - vesicle SNARE;

vVEGF - fator de crescimento vascular endotelial de veneno;

XBP1 – X-box binding protein 1;

YWHAZ - tirosina 3-monooxigenase/triptofano 5-monooxigenase proteína de ativação,

polipeptídeo zeta;

α-SNAP - N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein, alpha;

1. Introdução

1.1. Serpentes.

As serpentes estão entre os grupos de répteis mais bem sucedidos, com cerca de 3070 espécies. Elas estão divididas em dois grandes grupos, Scolecophidia (aprox. 370 sp.) e Alethinophidia, ou cobras típicas (aprox. 2700 sp.).

O grupo Alethinophidea apresenta grande diversidade ecológica, entre seus representantes encontram-se as boas, pítons e as serpentes "avançadas" (Caenophidea).

Todas as serpentes venenosas fazem parte da divisão Caenophidea, que inclui a maioria das serpentes existentes (aprox. 2500 sp.). Dentro da divisão Caenophidea incluem-se a superfamília Acrochordoidea (serpentes aquáticas) e a superfamília Colubroidea (VIDAL & HEDGES, 2009).

A superfamília Colubroidea é a mais diversificada entre todas as serpentes e é composta por diversas famílias como, Atractaspididae, Elapidae, Viperidae e algumas outras comumente denominadas colubrídeos (um conjunto parafilético).

Foi nos Colubroidea que surgiu a capacidade de injetar peçonha, os representantes venenosos dos Colubroidea são responsáveis por aproximadamente 20.000 a 94.000 acidentes ofídicos por ano (KASTURIRATNE *et al.*, 2008).

Os aparelhos inoculadores de veneno são classificados conforme o tipo de dentição:

- Áglifa: não há dentes especializados na inoculação da saliva tóxica ou do veneno. A glândula supralabial presente produz uma secreção destinada a lubrificar o alimento. Alguns colubrídeos;
- Opistóglifa: presença de um ou mais dentes modificados na parte posterior da maxila. Estas presas possuem sulcos longitudinais dos quais, por capilaridade, escorre o produto de uma glândula especializada na secreção de substâncias ativas (glândula de Duvernoy). Alguns colubrídeos;

- Proteróglifa: dente inoculador anterior, geralmente com canal de veneno não completamente fechado, conectadas com a glândula de veneno. Elapídeos;
- Solenóglifa: dente inoculador localizado na região anterior do maxilar, extremamente grande, conectado com a glândula de veneno, possui canal interno por onde o veneno é secretado. É o aparelho inoculador de veneno mais eficiente. Viperídeos e atractaspídeos (figura 1).



Figura 1: Esquema das dentições das serpentes: A) opistóglifa, dente inoculador de veneno na região posterior do maxilar; B) áglifa, sem dente inoculador de veneno; C) solenóglifa, dente inoculador de veneno muito desenvolvido, na região anterior do maxilar; D) proteróglifa, dente inoculador de veneno pouco desenvolvido na região anterior do maxilar (Reproduzido de CARDOSO *et al.*, 2003).

A família Viperidae, possui cerca de 250 espécies distribuídas pelo mundo e são responsáveis pela maioria e os mais graves acidentes ofídicos registrados, não só no Brasil, mas também em outros países americanos.

A fauna do Brasil inclui cinco gêneros que somam cerca de 30 espécies. São eles: *Bothriopsis, Bothrocophias, Bothrops, Crotalus* e *Lachesis* (CARDOSO *et al.,* 2003).

Entre as espécies do gênero *Bothrops* algumas são raras e/ou endêmicas a uma única região, como é o caso da *Bothrops insularis*, *Bothrops alcatraz*, *Bothrops itapetiningae*, entre outras.

As espécies mais significativas para a saúde pública, ao contrário das já citadas, são abundantes e com ampla distribuição geográfica, são elas: *Bothrops alternatus* (urutu-cruzeiro), *Bothrops atrox* (jararaca-do-norte), *Bothrops erythromelas* (jararaca-da-seca), *Bothrops jararaca* (jararaca), *Bothrops jararacusu* (jararacuçu), *Bothrops leucurus* (jararaca), *Bothrops moojeni* (caiçaca), *Bothrops neuwiedi* (jararaca-pintada).

Os gêneros *Bothrops*, *Bothriopsis* e *Bothrocophias* foram recentemente reclassificados com base em evidências morfológicas e moleculares (FENWICK *et al.*, 2009). Nessa nova classificação, algumas serpentes que pertenciam ao gênero *Bothrops* foram incluídas em um novo gênero, o *Bothropoides*, porém para esse trabalho optamos por manter a nomenclatura tradicional e amplamente aceita entre a comunidade científica.

A espécie *Bothrops jararaca*, conhecida como jararaca (figura 2), é a espécie mais comum da região Sudeste, habitando desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, apresenta hábito terrícola, sendo a principal causadora de acidentes no Estado de São Paulo (RIBEIRO & JORGE, 1997).



Figura 2: Bothrops jararaca.

1.2. Veneno e Envenenamento.

Os acidentes ofídicos são um problema de saúde pública, afetando principalmente áreas rurais da África, Ásia, Oceania e América Latina. Estima-se que, anualmente, ocorram cerca de 2,5 milhões de envenenamentos por serpentes no mundo todo, resultando em 250 mil pacientes com sequelas e 100 mil mortes, em abril de 2009 a Organização Mundial da Saúde incluiu acidentes ofídicos na lista de doenças negligenciadas.

Segundo o Ministério da Saúde, acidente ofídico é o "envenenamento causado pela inoculação de toxinas, através das presas de serpentes (aparelho inoculador), podendo determinar alterações locais (na região da picada) e sistêmicas". No Brasil, quatro tipos de acidentes são considerados de interesse em saúde: botrópico, crotálico, laquético e elapídico.

O gênero *Bothrops* representa o grupo mais importante de serpentes peçonhentas, são encontradas em todo território nacional, sendo responsáveis por 73,5% dos acidentes ofídicos notificados em 2008.

O veneno de *Bothrops jararaca* apresenta três atividades principais: proteolítica, com edema inflamatório no local da picada; hemorrágica, com dano no endotélio e sangramento sistêmico; e procoagulante, provocando a depleção dos fatores coagulantes e quebrando o equilíbrio da coagulação sanguínea (CARDOSO *et al.*, 2003).

Os acidentes podem ser classificados como: leve (50,7%), quadro local discreto, sangramento em pele ou mucosas, podendo haver distúrbio de coagulação; moderados (36,1%), edema e equimose evidentes, sangramento sem comprometimento do estado geral, podendo haver distúrbio de coagulação; e graves (6,8%), alterações locais intensas, hemorragia grave, hipotensão, anúria. A letalidade é relativamente baixa (0,4%), porém a frequência de sequelas, relacionadas a complicações locais, é bem mais elevada, situada em 10% dos acidentes bothropicos.

As peçonhas de serpentes são, provavelmente, os mais complexos de todos os venenos. Contém uma mistura poderosa de proteínas e peptídeos que se ligam a receptores, canais iônicos ou enzimas, além de carboidratos, nucleotídeos, aminas biogênicas, aminoácidos livres, lipídeos, e íons metálicos cuja função não é totalmente conhecida. Essas substâncias interagem com uma variedade de proteínas de mamíferos e

podem alterar o sistema nervoso central e periférico, a cascata de coagulação, os sistemas cardiovascular e neuromuscular, e a homeostase geral do organismo. Os componentes proteicos do veneno agem com precisão, pois diferentes toxinas reconhecem diferentes subtipos de determinados receptores com apenas algumas diferenças, e apresentam alta atividade biológica (CARDOSO *et al.*, 2003; VONK *et al.*, 2011).

A composição do veneno está relacionada a dieta e varia ao nível de espécie e até mesmo entre indivíduos. Além da dieta, outras variáveis como filogenia, biogeografia e ontogenia podem agir sobre a divergência evolutiva das proteínas de veneno (WILLIAMS *et al.*, 1988; DALTRY *et al.*, 1996; ALAPE-GIRON *et al.*, 2009; VONK *et al.*, 2011). O veneno de neonatos pode ser significativamente diferente do veneno de adultos, uma vez que a diferença ontogenética na composição do veneno, é na maioria das vezes, explicada por mudanças ontogenéticas na dieta (FURTADO *et al.*, 1991; ANTUNES *et al.*, 2010; ZELANIS *et al.*, 2007; ZELANIS *et al.*, 2011).

Os genes de toxinas do veneno são resultado da duplicação gênica, mutação e um processo rápido de evolução molecular (NAKASHIMA *et al.*, 1995; FRY *et al.*, 2008). Há diversos modos pelos quais a diversidade de toxinas do veneno é gerada (figura 3). O *splicing* alternativo permite que diversas proteínas funcionais sejam geradas a partir dos mesmos exons (FUJIMI *et al.*, 2003; VONK *et al*, 2011). Exons podem ser inseridos no meio de genes existentes. Parte de um íntron pode ser retido no mRNA devido a um erro de *splicing*. Outro mecanismo, recentemente descoberto, é chamado de *accelerated segment switch in exons to alter targeting* (ASSET). Durante o ASSET, certas partes dos exons são modificadas através da troca acelerada de segmentos (DOLEY *et al.*, 2009; VONK *et al.*, 2011).

Modificações pós-traducionais, como pontes dissulfeto desempenham um papel importante nas modificações estruturais e aquisição de novos sítios funcionais. Complexos protéicos formados através de ligações covalentes ou não-covalentes podem apresentar atividade farmacológica muito maior do que os componentes individuais (DOLEY & KINI, 2009).



Figura 3: Alguns mecanismos moleculares que geram variabilidade de toxinas: A: Splicing normal e alternativo. B: Inserção de um exon. C: Retenção de um íntron devido a erro de splicing. D: troca acelerada de segmentos de exons (ASSET). Sequências curtas de exons são modificados para sequências não correlacionadas e afetam aspectos funcionais e de enovelamento protéico. Segmentos coloridos (vermelho, roxo, rosa e amarelo) representam as trocas de segmentos (Reproduzido de VONK *et al.*, 2011).

A análise transcriptômica da glândula de veneno de *Bothrops jararaca* (CIDADE *et al*, 2006), revelou que os transcritos de toxinas mais frequentes são, metaloproteinases (52,6%), serinoproteases (28,5%), lectinas tipo C (8,3%) e peptídeos potenciadores de bradicinina (BPPs) (6,2%).

As metaloproteinases estão entre as toxinas mais abundantes nos venenos de Viperídeos, sendo as principais responsáveis pela hemorragia local e sistêmica causadas pelo envenenamento. As metaloproteinases agem degradando componentes da membrana basal da parede dos vasos sanguíneos. Algumas metaloproteinases não possuem atividade hemorrágica, mas agem através de diferentes mecanismos como, alteração da homeostase através efeitos pró e anticoagulantes, inibição da agregação

Introdução

plaquetária, atividade apoptótica e inflamatória (CIDADE *et al.*, 2006; TAKEDA *et al.*, 2011).

As metaloproteinases são divididas em três classes (P-I a P-III) de acordo com seus domínios funcionais (figura 4). As metaloproteinases da classe P-I possuem apenas o domínio metaloproteinase (M), as da classe P-II possuem o domínio metaloproteinase seguido do domínio disintegrina (D), e as metaloproteinases da classe P-III possuem os domínios M, disintegrina-*like* (D), e rico em cisteína (C). A classe P-III é dividida em subclasses de acordo com as modificações pós-traducionais sofridas pelas metaloproteinases, como homo-dimerização (P-IIIc) ou proteólise entre os domínios M e D (P-IIIb), as metaloproteinases da subclasse P-IIId, apresentam, além dos domínios M, D e C, um domínio lectina tipo C-*like* (FOX & SERRANO, 2005; FOX & SERRANO, 2008b; FOX & SERRANO, 2009; TAKEDA *et al.*, 2011).

As serinoproteases são expressas no veneno de diversas famílias de serpentes. Apresentam massa molecular entre 26 e 67 kDa, dependendo do grau de glicosilação, e grande homologia com outras serinoproteases como a tripsina. Essas enzimas possuem um mecanismo catalítico comum que inclui um resíduo de serina altamemente reativo que forma um sítio ativo com os resíduos de histina e ácido aspártico (tríade catalítica). (SAGUCHI *et al.*, 2005; MAROUN & SERRANO, 2004).

As serinoproteases atuam em uma variedade de componentes da cascata de coagulação afetando o sistema hemostático da presa, sua ação pró-coagulante ativa o sistema de coagulação levando a depleção dos fatores de coagulação (CIDADE *et al.*, 2006).



Figura 4: Diagrama esquemático dos domínios das metaloproteinases. Cada domínio ou subdomínio é representado por uma cor diferente. M, domínio metaloproteinase; D, domínio disintegrina (ou disintegrina-*like*); C, domínio rico em cisteína; C_w, subdomínio rico em cisteína (pulso); C_h, subdomínio rico em cisteína (mão); Snaclec, domínio lectina tipo C-*like*. Representantes de cada classe que tiveram sua estrutura cristalizada estão indicados em vermelho. A classe P-III das metaloproteinases está dividida em subclasses (IIIa-IIId) de acordo com suas modificações pós-traducionais (reproduzido de TAKEDA *et al.*, 2011).

Existem duas classes principais de lectinas tipo C presentes nos venenos ofídicos: as verdadeiras lectinas, geralmente homodiméricas e se ligam a carboidratos e as lectinas tipo C-*like*, geralmente heterodiméricas e que se ligam preferencialmente a proteínas (XU *et al.*, 1999; WEI *et al.*, 2002). Estas proteínas agem, principalmente, nos receptores plaquetários e/ou em fatores da cascata de coagulação sanguínea (XU *et al.*, 1999; ZINGALI *et al.*, 2001; CIDADE *et al.*, 2006).

Os BPPs (peptídeos potenciadores de bradicinina) são oligopepetídeos ricos em prolina que possuem de 5 a 14 aminoácidos. Eles geralmente possuem um resíduo de piroglutamil na região N-terminal e a sequência Ile-Pro-Pro (IPP) na região C-terminal. Os BPPs são conhecidos por inibir a enzima conversora de angiotensina (ACE),

responsável pela hidrolise da angiotensina I produzindo a angiotensina II, um potente vasoconstritor (IANZER et al., 2004; HAYASHI & CAMARGO, 2005), tendo sido isolados do veneno de *Bothrops jararaca* (FERREIRA *et al.*, 1970). Os BPPs estão envolvidos na hipotensão observada nas vítimas de envenenamento por *Bothrops jararaca* (MURAYAMA *et al.*, 1997).

1.3. Glândula de veneno.

Os viperídeos possuem um sistema veninífero altamente especializado formado pela glândula de veneno, músculos compressores da glândula e dentes inoculadores.

A glândula de veneno provavelmente evoluiu a partir de glândulas salivares de ancestrais não venenosos. Esse processo certamente foi independente para Elapidae e Viperidae. Nos viperídeos as glândulas de veneno localizam-se a cada lado da cabeça, logo atrás dos olhos, na região temporal, diretamente abaixo da pele. Têm uma forma longa e triangular, com a parte mais alongada voltada para a região anterior, formando o ducto excretor (figura 5).



Figura 5: Desenho esquemático da glândula de veneno (**gv**) de viperídeos. (Reproduzido de CARDOSO et al., 2003).

A glândula possui uma complexa estrutura tubular que pode ser dividida em diversos lóbulos e em quatro regiões bem definidas: a glândula principal, que constitui a parte secretora e ocupa toda a porção posterior; o ducto primário, que conecta a

glândula principal à glândula acessória; a glândula acessória, de estrutura aproximadamente oval, formada por duas porções que contribuem secretando um muco durante a passagem do veneno e na porção final da glândula há o ducto secundário, que se abre por dois poros na bainha, na base da presa (figura 6). A glândula principal é formada por túbulos muito ramificados, compostos pelo epitélio que produz o veneno (CARDOSO et al, 2003; FRY et al., 2009).

Na glândula principal encontram-se quatro tipos celulares: células secretoras, cerca de 80% do total de células; células horizontais, cerca de 10% do total; células escuras, aproximadamente 9% do total; e células ricas em mitocôndrias, cerca de 1 a 2% do total (KOCHVA, 1978; MACKESSY, 1991).



Figura 6: Macrofotografía de corte sagital da glândula de veneno de viperídeo (*Lachesis muta rhombeata*), corada por hematoxilina-eosina. Glândula principal (**gp**), ducto primário (**dp**), glândula acessória (**ga**), ducto secundário (**ds**), e músculo compressor (**mcg**). (Reproduzido de CARDOSO *et al.*, 2003).

A glândula de veneno dos viperídeos possui um lúmen central que possibilita que grandes quantidades de veneno sejam estocadas (figura 7), diferindo de glândulas exócrinas de mamíferos, nas quais o produto é estocado em vesículas secretoras (JAMIESON & PALADE, 1967a; JAMIESON & PALADE, 1967b; AMSTERDAM *et al.*, 1969.; KOCHVA, 1978; KOCHVA *et al.*, 1980; MACKESSY, 1991; GOPALAKRISHNAKONE & KOCHVA, 1993).



Figura 7: Corte longitudinal da glândula de veneno de viperídeo. Glândula principal (**vg**), lúmen (**lu**), ducto primário (**d**), glândula acessória (**ag**). (Reproduzido de KOCHVA, 1978).

A produção de veneno está vinculada a redução do conteúdo estocado no lúmen, a extração manual do veneno pode levar ao início do ciclo de produção de veneno.

O início do ciclo é marcado por mudanças morfológicas e bioquímicas das células secretoras. As células passam do formato cubóide para colunar, ocorre a expansão das cisternas do retículo endoplasmático rugoso e ativação do Golgi (Figura 8) (CARNEIRO *et al.*, 1991; DE LUCCA *et al.*, 1974).



Figura 8: Esquema ilustrando as mudanças morfológicas ocorridas nas células secretoras da glândula de veneno de serpentes da família Viperidae durante o ciclo de produção de veneno. Lúmen (**lu**). (Reproduzido de KOCHVA, 1987).

Trabalhos utilizando nucleotídeos (ROTENBERG *et al.*, 1971; DE LUCCA & IMAIZUMI, 1972) e aminoácidos radioativos (DE LUCCA *et al.*, 1974; WARSHAWSKY *et al.*, 1973) mostraram que às mudanças morfológicas sofridas pelas células secretoras, acompanham a síntese de mRNA, e a síntese protéica.

O processo de transcrição se inicia logo após a extração manual do veneno, a maior taxa de síntese de mRNA ocorre entre o 1° e o 4° dia do ciclo, enquanto que o pico da atividade de tradução ocorre no 4° dia do ciclo. A glândula atinge o máximo da capacidade de síntese de toxinas entre o 8° e o 16° dia do ciclo, quando aumenta o volume do lúmen com o acúmulo de veneno. Após esse período as células secretoras voltam ao estágio quiescente, o ciclo completo pode durar de 30 a 50 dias.

Os mecanismos envolvidos na regulação da síntese e secreção de toxinas pela glândula de veneno são pouco conhecidos.

Sabe-se que a inervação noradrenérgica possui um papel essencial no ciclo de produção de veneno, como foi demonstrado por YAMANOUYE e col. (1997). Em glândulas salivares de mamíferos o processo de secreção do fluido salivar é mediado pelo sistema parassimpático, através dos receptores muscarínicos, enquanto que, a síntese e a secreção de proteínas salivares, como amilase e mucina, é controlada pelo sistema noradrenérgico (ANN & LIN, 1998; YAMADA *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2006).

Na glândula salivar de mamíferos, a noradrenalina liberada dos nervos simpáticos estimula a secreção salivar através dos adrenoceptores α_1 e β_1 . O adrenoceptor α_1 se acopla a proteína G_{q/11}, ativando a fosfolipase C (PLC), gerando inositol (1,4,5) trifosfato (IP₃) e diacilglicerol (DAG). A interação entre IP₃ e receptores de IP₃ (IP₃R's) do retículo endoplasmático causa a liberação do cálcio armazenado levando a secreção de fluído, processo semelhante à via regulada pelos receptores muscarínicos, M1 e M3. O adrenoceptor β_1 se acopla a proteína G_s, ativando a adenilato ciclase, levando ao aumento dos níveis de cAMP, e consequentemente, à ativação de PKA, a fosforilação de proteínas endógenas leva a exocitose dos grânulos de estoque de proteínas e secreção de proteínas salivares (PROCTOR & CARPENTER, 2007). Ambos, adrenoceptores α_1 e β estão envolvidos no ciclo de produção de veneno.

Os receptores adrenérgicos (ARs) pertencem à subfamília Rhodopsina da grande família de receptores acoplados à proteína G (GPCRs). Estes receptores possuem sete domínios transmembranas de estrutura α-hélice, conectados por três alças intracelulares

(IL-1 a IL-3) e três alças extracelulares (EL-1 a EL-3), a região C-terminal esta localizada na porção intracelular e a região N-terminal na porção extracelular. Na 2° e na 3° alças do domínio intracelular e na parte proximal da região C-terminal, ocorre o acoplamento da proteína G (figura 9) (GETHER, 2000). A proteína G é um heterodímero que possui três subunidades (G α , G β e G γ) que se dissociam em resposta a ativação do receptor, estas subunidades desencadeiam diversas respostas ativando ou inativando várias moléculas, a maioria enzimas (JALINK & MOOLENAAR, 2010).



Figura 9: Desenho esquemático representando os receptores acoplados a proteína G da subfamília Rhodopsina. Esses receptores possuem uma série de resíduos altamente conservados (letras pretas nos círculos brancos). Na maior parte dos membros dessa família uma ponte dissulfeto conecta a 2° (EL-2) e a 3° alça (EL-3) extracelular (letras brancas nos círculos pretos), além disso, a maioria dos receptores possui um palmitado ligado a um resíduo de cisteína na região C-terminal causando a formação de uma quarta alça. (Representado de GETHER, 2000).

Os adrenoceptores α_1 e β de serpentes diferem dos adrenoceptores de mamíferos por sua sensibilidade aos ligantes clássicos. Após o estímulo, esses receptores sofrem dessensibilização por um longo período. A sensibilidade do adrenoceptor α permanece baixa por no mínimo, 15 dias (YAMANOUYE *et al.*,2000; KERCHOVE *et al.*, 2004).

Serpentes da espécie *Bothrops jararaca* tratadas com reserpina, um potente bloqueador da atividade simpática, não acumulam veneno no lúmen, não sendo possível extrair veneno desses animais. A análise morfológica das células secretoras da glândula de veneno desses animais, no 4° dia do ciclo revelou que apesar da forma colunar, o retículo endoplasmático não se encontra desenvolvido e não se encontram vesículas de

secreção na região do Golgi e na região apical do citoplasma, fortes indicativos de ausência de capacidade secretora. O tratamento com fenilefrina (agonista do adrenoreceptor α) e isoprenalina (agonista do adrenoreceptor β) tem capacidade de reverter a ação da reserpina (YAMANOUYE *et al.*, 1997).

O estímulo do adrenoceptor α_1 nas células secretoras quiescentes provoca aumento do inositol fosfato, mobiliza cálcio das reservas intracelulares e ativa PKC e ERK (KERCHOVE *et al.*, 2008), e o estímulo do adrenoceptor β nas células secretoras quiescentes aumenta seletivamente a produção do cAMP e a concentração de cálcio citossólico ativando canais de Ca²⁺ voltagem-dependente e ligante-dependente (YAMANOUYE *et al.*, 2000; ZABLITH, 2007).

A saída do veneno ou a noradrenalina podem ativar os fatores de transcrição NF $\kappa\beta$ e AP1. A ativação de NF $\kappa\beta$ é estimulada tanto pelo agonista do adrenoceptor α_1 , como pelo agonista do adrenoceptor β . A ativação de AP1 parece ser majoritariamente dependente do adrenoceptor β (LUNA *et al.*, 2009).

1.4. Análise transcriptômica e biologia de sistemas.

Biologia de Sistemas pode ser definida, como uma abordagem da pesquisa biomédica que, conscientemente combina redução e integração da informação através de múltiplas escalas espaciais a fim de identificar e caracterizar partes e explorar os modos pelo qual essas partes interagem uma com as outras e com o ambiente resultando na manutenção de todo sistema (KOHL *et al.*, 2010).

Nos últimos dez anos, Biologia de Sistemas, evoluiu de apenas uma idéia, ou um conjunto de idéias envolvendo métodos de análises de dados em larga escala, para se tornar foco principal de pesquisas e receber prioridade de investimentos. Institutos, departamentos e centros envolvendo vários aspectos de Biologia de Sistemas têm surgido em todo mundo. Uma busca simples por "*Systems Biology*" no pubmed retorna mais de 4.000 trabalhos contendo o termo no título ou no *abstract*.

O maior motivo para o grande aumento de interesse por essa abordagem está no progresso da biologia molecular, os métodos de análise em larga escala (OMICS) estão

14
gerando quantidades gigantescas de dados que permitem identificar grandes redes regulatórias.

A abordagem de Biologia de Sistemas envolve uma mudança na pergunta a ser feita, enquanto entender o funcionamento dos genes e proteínas continua sendo importante, o foco está em compreender a estrutura do sistema estudado e sua dinâmica. Um sistema não é apenas um conjunto de genes e proteínas, e suas propriedades não podem ser completamente compreendidas apenas desenhando um diagrama com suas interconexões, apesar desse diagrama ser um bom começo para se entender o funcionamento do sistema. Para estudar um sistema é necessário conhecer como suas partes, genes e proteínas, se relacionam de um modo dinâmico durante a situação estudada, como cada parte se comporta nessa determinada situação e como a resposta de cada parte interfere na outra parte, assim no final espera-se ter um diagrama dinâmico que explique como o sistema se comporta (KITANO, 2002).

O primeiro passo para entender como determinado sistema funciona sob determinada condição está em identificar as partes desse sistema, as técnicas de análise em larga escala permitem identificar sequências de mRNA, genes diferencialmente expressos, proteínas numa escala incomparavelmente maior que as técnicas tradicionais de isolamento e identificação de biomoléculas. O segundo passo é associar a essas significado biológico, atualmente existem dezenas partes de ferramentas bioinformáticas que permitem correlacionar determinado gene, transcrito ou proteína a funções celulares, vias de sinalização, encontrar relação funcional entre listas de genes e proteínas diferencialmente expressos. Um bom exemplo do aumento no número de ferramentas envolvendo análise e compreensão de dados em larga escala é o projeto Bioconductor (http://bioconductor.org/) que agrupa mais de 400 pacotes desenvolvidos em linguagem de programação estatística R que são fornecidos gratuitamente.

Apesar da maior parte dos trabalhos em Biologia de Sistemas envolver organismos modelo, tem aumentado o número de trabalhos com organismos não modelo (ROWAN *et al.*, 2011; WILLIAMS *et al.*, 2011).

O transcriptoma, conjunto total de transcritos de uma espécie, representa a conexão chave entre a informação codificada no DNA e o fenótipo, entender a relação entre o genoma é o fenótipo é entender o sistema biológico (KOHL *et al.*, 2010).

15

A quantificação rápida e em larga escala do transcriptoma se tornou possível somente com o desenvolvimento da tecnologia de *micorarray* para análise da expressão gênica (SCHENA *et al.*, 1995) e mais recentemente ganhou novo fôlego com o desenvolvimento das plataformas de sequenciamento em larga escala (NGS, *nex generation sequencing*) como, 454 Roche, Solexa da Illumina, o SOLiD da Applied Biosystems, e mais recentemente, a plataforma Helicos HeliScope como alternativa ao clássico método Sanger de sequenciamento de DNA para análises transcriptômicas (LINNARSSON, 2010; MOROZOVA, 2009; MARDIS, 2008).

Atualmente um *microarray* típico consiste de sequências curtas de oligonucleotídeos imobilizados em um substrato sólido, esses oligonucleotídeos são geralmente baseados na sequência do genoma ou em ORFs (*open reading frames*) conhecidas ou preditas, geralmente são desenhados múltiplos oligos para cada gene estudado. Os transcritos cuja presença está sendo investigada são extraídos de amostras de tecidos ou células, marcados com corantes fluorescentes (de uma ou duas cores), hibridizados nos *arrays*, em seguida lava-se o suporte para retirada das marcações inespecíficas e a imagem é obtida através de scanners. Os transcritos marcados com o fluoróforo hibridizam com seu oligo complementar localizado no *array*, a intensidade de fluorescência emitida por cada hibridização entre transcrito – oligo é usada para medir a expressão do gene (figura 10).

A análise da expressão gênica por *microarray* é uma técnica muito bem sucedida, uma busca no PubMed pelo termo "*microarray*" no título ou no *abstract* gera mais de 42.000 resultados. Essa grande quantidade de trabalhos gerou uma grande quantidade de estratégias para análise dos dados e desenho experimental, aumentado a qualidade e a confiabilidade dos resultados obtidos.

Uma das principais vantagens do método de *microarray* é o baixo custo comparado ao sequenciamento de nova geração, não restringindo o número de réplicas experimentais e biológicas.

A tecnologia de sequenciamento em larga escala para análises transcriptômicas é chamada de RNA-seq. Ao invés de usar o método de hibridização molecular para "capturar" os transcritos de interesse, no RNA-seq os transcritos presentes no material de interesse são diretamente sequenciados.

Em geral, uma população de mRNAs é convertida em uma biblioteca de fragmentos de cDNA com adaptadores presos em cada uma ou em ambas as pontas dos fragmentos. Cada molécula, com ou sem amplificação é, então, sequenciada em larga escala. As sequências (*reads*) possuem, geralmente, de 30 a 400pb, dependendo da tecnologia de sequenciamento utilizada (figura 11).

Após o sequenciamento as *reads* produzidas são alinhadas a um genoma ou transcriptoma de referência ou agrupadas *de novo*, o número de *reads* mapeadas são contadas para determinar o nível de expressão gênica (MALONE & OLIVER, 2011; WANG *et al.*, 2009).



Raw: Image files (a few megabytes in size) with fluorescent intensities Processed: Text files with intensities of gene expression

Figura 10: Obtenção de dados pelo método de Microarray. O RNA extraído da amostra de tecido ou células é convertido a cDNA, marcado com fluoróforos, e hibridizará com os oligonucleotídeos correspondentes presentes no suporte, quanto mais expresso o gene, maior a intensidade de fluorescência. A intensidade de fluorescência é convertida em valores numéricos após a análise da imagem scanneada e os dados numéricos são submetidos a análises estatísticas apropriadas para determinação do nível de expressão de cada gene analisado. Reproduzido de MALONE e OLIVER (2011).

Como o RNA-seq fornece acesso direto a sequência essa técnica pode ser usada em espécies cujo genoma não está disponível, além disso, regiões expressas do genoma que correspondem a genes ainda não identificados podem ser facilmente identificadas por sequenciamento, enquanto que no microarray é necessário o prévio conhecimento da sequência dos genes estudados, limitando seu uso.

Apesar das diferenças, quando usados para responder a mesma pergunta, *microarrays* e RNA-seq costumam fornecer o mesmo resultado (MALONE e OLIVER, 2011).



Figura 11: Obtenção de dados pelo método de RNA-seq usando plataforma *Illumina Genome Analyzer*. O mRNA é fragmentado, convertido a cDNA, ligam-se adaptadores aos fragmentos de cDNA, é feita seleção de tamanho, as bibliotecas para sequenciamento são preparadas por agrupamento em "célula de fluxo" com 8 canalículos e é feito o sequenciamento por síntese que gera milhões de sequências por amostra e pode ser mapeado no genoma. O número de *reads* mapeadas em uma região do genoma é índice do valor de expressão do gene. Reproduzido de MALONE e OLIVER (2011).

Nos últimos dez anos têm se utilizado constantemente técnicas de análise em larga escala em estudos de toxinologia, utilizando a metodologia de análise transcriptômica por meio de *Expressed Sequenced Tags* (ESTs) (ADAMS *et al.*, 1991) JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO e HO (2002) realizaram o primeiro estudo da diversidade de transcritos da glândula de veneno da espécie *Bothrops insularis*. Desde então, diversos trabalhos de transcriptoma de glândulas de veneno de serpentes foram publicado, ao todo 23 espécies tiveram o transcriptoma de suas glândulas de veneno revelados por esse método. Em geral mais da metade das ESTs identificadas nesses trabalhos são de toxinas, e grande parte das ESTs restantes são de genes relacionados à transcrição e tradução, regulação celular e metabolismo (ROKYTA *et al.*, 2011).

Recentemente foram publicados dois trabalhos de transcriptoma de glândula de veneno utilizando a tecnologia de sequenciamento em larga escala (DURBAN *et al.*, 2011; ROKYTA *et al.*, 2011).

Apenas um trabalho de análise de expressão gênica de glândula de veneno de serpentes utilizando a técnica de *microarrays* foi publicado até hoje (ST PIERRE *et al.*, 2005).

Todos os trabalhos publicados, até o presente momento, utilizando ferramentas de análise em larga escala para estudo da diversidade de moléculas presentes na glândula de veneno de serpentes tiveram como foco principal os constituintes do veneno (FOX & SERRANO, 2008a; ZELANIS *et al.*, 2011; ST PIERRE *et al.*, 2005; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO & HO, 2002; ROKYTA *et al.*, 2011; DURBAN *et al.*, 2011).

2. Objetivos

O objetivo geral deste projeto foi avaliar as modificações na expressão gênica durante o ciclo de produção de veneno na glândula de veneno de *Bothrops jararaca*. Para tanto, os seguintes objetivos específicos foram propostos:

- Determinar o perfil de expressão gênica ao longo do ciclo de produção de veneno utilizando *array* de cDNA em membrana de náilon (macroarranjo).
- Determinar, utilizando macroarranjo, o padrão de expressão gênica da glândula em resposta aos tratamentos com inibidor do sistema simpático e agonistas dos adrenoceptores α e β;
- Determinar, utizando RNA-seq, o padrão de expressão gênica da glândula em resposta ao tratamento com inibidor do sistema simpático.

3. Justificativa

Apesar do crescente conhecimento sobre o funcionamento da glândula de veneno de serpentes, pouco se sabe a respeito dos processos envolvendo a produção de toxinas. Sabe-se que o processo é altamente controlado e que os adrenoceptores α_1 e β possuem um papel central nesse processo, porém não está claro o modo como a ativação do sistema simpático leva a produção e secreção das toxinas.

Desse modo, metodologias de análise transcriptômica em larga escala, como *microarray* e RNA-seq, podem fornecer informações importantes a respeito dos mecanismos moleculares e celulares por detrás desse processo.

4. Desenho Experimental.

A estratégia experimental adotada nesse trabalho utilizou duas abordagens, a primeira consistiu na análise temporal da expressão gênica, a segunda na análise da expressão gênica da glândula de veneno sob tratamentos farmacológicos que afetam a atividade simpática, o primeiro passo, porém foi a construção de duas bibliotecas de cDNA a partir das glândulas de veneno de um macho e uma fêmea adultos de *Bothrops jararaca*, os clones obtidos nessa biblioteca foram utilizados na construção dos *arrays* em membrana de náilon. Os arranjos prontos puderam ser estudados conforme a seguir:

Análise Temporal da Expressão gênica.

Extração das glândulas de veneno 0, 1, 2, 4, e 15 dias após a extração manual do veneno, para cada tempo foi utilizados três machos adultos de *Bothrops jararaca*.



Análise da expressão gênica da glândula de veneno sob tratamentos farmacológicos.

Tratamento dos animais com reserpina 24 horas antes da extração do veneno.

↓

O veneno é extraído manualmente em seguida um grupo é tratado com reserpina e outro grupo é tratado com isoprenalina (agonista do adrenoceptor β), fenilefrina (agonista do adrenoceptor α) e reserpina.

\downarrow

Durante 4 dias os animais dos dois grupos são tratados somente com reserpina.

\downarrow

No 4° dia ocorre a extração das glândulas de veneno.

\downarrow

Extração do RNA total. → RNA-seq → Análises bioinformáticas. ↓
Síntese do cDNA. → PCR quantitativo em tempo real → Análises estatísticas. ↓
Marcação das sondas e hibridização das membranas. ↓
Análise das imagens e extração dos dados. ↓

Análises bioinformáticas.

5. Materiais e Métodos

5.1. Procedimentos básicos.

5.1.1. Animais

Para a esse trabalho foram utilizados, ao todo, uma fêmea e 24 machos adultos (100 – 200g) de *Bothrops jararaca*. As serpentes foram recebidas da natureza, todas da mesma região e classificadas no Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan, foram tratadas segundo BRENO e col., 1990 e mantidas em sala com condições ambientais controladas: fotoperíodo de 12 horas, temperatura entre 21°C e 27°C e umidade relativa de aproximadamente 65%. Todos os procedimentos estão de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e de acordo com o parecer do Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Butantan (N°157/04 e N°514/08).

5.1.2. Extração da glândula de veneno.

As glândulas de veneno foram retiradas conforme o desenho experimental de cada etapa do projeto. Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (30mg/kg, s.c.) e sacrificados por decapitação para a então retirada das glândulas de veneno (figura 12).

Todos os tecidos foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e estocados no freezer -80°C.

A extração do veneno e o sacrifício dos animais foram realizados no laboratório da Dra. Norma Yamanouye do Laboratório de Farmacologia do Instituto Butantan,

Materiais e Métodos

nossa colaboradora nesse projeto, segundo procedimentos já estabelecidos (YAMANOUYE et al., 1997).



Figura 12: Dissecção da glândula de veneno de *Bothrops jararaca*. (a) glândula de veneno (VG) localizada na região temporal da cabeça; (b) pinça mostra o músculo compressor da glândula (M); (c, d) pinça mostra tecido conjuntivo (CT). Barras: 1,0cm. Reproduzido de YAMANOUYE e col. (2006).

5.1.3. Obtenção do RNA.

Para a extração do RNA foi utilizado o método do reagente TRIZOL[®] (Invitrogen). Trata-se de uma modificação do método descrito por CHOMEZYNSKI e SACCHI (1987) baseado no uso de iso-tiocianato de guanidina, um potente inibidor enzimático usado para eliminar a atividade das RNAses presentes no tecido. O TRIZOL[®] dispensa algumas soluções originalmente usadas e permite que através de uma extração fenol/clorofórmio, seguida de uma precipitação alcoólica com isopropanol, o RNA total seja obtido com alto grau de integridade. Os RNAs poli A⁺ foram obtidos por técnicas convencionais de purificação usando oligo dT – celulose, descrito em SAMBROOK e col., 2001 e AUSBELL e col., 1994.

5.1.4. Extração de DNA plasmidial (miniprep de placa).

Para o isolamento dos plasmídeos, foi realizado a inoculação de clones individuais em placas de 96 poços em meio líquido *Circle Grow* amp (contendo ampicilina 100µg/100ml) e crescidos durante 22 horas a 37°C sob agitação. Em paralelo a esse procedimento, foi realizado o inóculo desses mesmos clones em 150 µl de meio LB amp por 18 horas para sua estocagem em glicerol 15% a -80°C.

Após esse período, as células foram coletadas por centrifugação e a ressuspensão das mesmas foi efetuada com solução de GTE (glicose 20%, Tris 1,0M, EDTA 0,5M) contendo RNAse (ribonuclease A tipo I-A obtida do pâncreas bovino, Sigma – Aldrich). As células ressuspendidas foram lisadas com uma solução de NaOH 10M por 10 minutos e, em seguida, a reação foi neutralizada com solução de acetato de potássio 3,0M. Todo conteúdo foi filtrado em placas MAGVN2250 (Millipore) de 96 poços, precipitado com isopropanol 75% e lavado com etanol 70%. O precipitado foi incubado a 37°C, em estufa, para a evaporação total do líquido e então ressuspendido em água deionizada autoclavada.

Amostras de clones da preparação foram analisadas em gel de agarose 1% para observar o rendimento da extração de DNA plasmidial.

5.1.5. Sequenciamento dos clones.

O sequenciamento foi realizado pelo método de terminação de cadeia por dideoxinuleotídeos (ddNTPs) (SANGER *et al.*, 1977), marcados com diferentes fluoróforos.

Na reação de sequenciamento foram adicionados 4,0 µl de DNA de cada clone, 1,0 µl (3,2 pmols) de oligonucleotídeo iniciador M13-*reverse* (Invitrogen), 6,0 µl do tampão *Save Money* (Tris 1,0M, MgCl₂ 1,0M e água deionizada) e 2,0 µl do reagente *Big Die* v 3.1 (Applied BioSystems) que contém a enzima de amplificação. A marcação das amostras foi feita no termociclador utilizando uma temperatura de desnaturação de 96°C seguidos de 40 ciclos de 96°C (desnaturação), 52°C (anelamento), 60°C (extensão) e mantidos a 4°C.

As amostras foram precipitadas com isopropanol 75%, lavadas com etanol 70% e ressuspendidas em formamida *HiDi* (Applied BioSystems). Para a leitura da sequência nucleotídica foi utilizado o sequenciador automático por eletroforese capilar modelo ABI3100 (Applied BioSystems).

5.2. Construção da biblioteca de cDNA para a confecção das membranas de macroarranjo.

5.2.1. Construção da biblioteca de cDNA.

O RNA total foi extraído das glândulas de veneno de um macho e uma fêmea de *Bothrops jararaca*. As glândulas foram extraídas 4 dias após a extração manual do veneno.

O RNA total obtido foi quantificado por sua absorbância no comprimento de onda de 260nm e sua pureza avaliada calculando-se a relação entre a absorbância neste comprimento e no comprimento de onda de 280nm. Para a quantificação deve-se assumir que 1U (unidade de absorbância a 260nm) equivale a 40µg/ml de RNA total. Estima-se que o mRNA corresponde a 1% do RNA total.

Foi realizada uma eletroforese em gel de agarose desnaturante (contendo formaldeído) com uma alíquota da amostra obtida, seguindo a metodologia descrita por AUSBELL e col., 1994. Este procedimento verificou o estado de degradação do RNA, através da qualidade de discriminação de bandas correspondentes às frações 18S e 28S do RNA total.

O RNA mensageiro (mRNA) foi quantificado pela medição da fluorescência emitida, utilizando-se um espectrofluorímetro. Foi construída uma curva com

concentrações conhecidas de RNA diluídas em tampão TE (Tris-HCL 10 mM, pH 8,0; EDTA 1 mM) e 1µl de SYBR (Invitrogen). As amostras de mRNA purificados foram diluídas no mesmo tampão (1µl de mRNA em 500 µl de tampão).

Foi construída uma curva de emissão de fluorescência por concentração de RNA e a partir dela calculou-se a concentração de mRNA obtido.

Para a construção da biblioteca de cDNAs foi utilizado o protocolo descrito abaixo utilizando um kit da Invitrogen: $SuperScript^{TM}$ Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloning.

- Inicialmente, a primeira fita do cDNA é sintetizada pela transcriptase reversa *SuperScript II*, a partir do mRNA isolado das glândulas de veneno da serpente. Para isso, é usado como um oligonucleotídeo iniciador poli-T com sítio de clivagem para a endonuclease Not I.
- É feita então a reação "*one tube*" (D'ALESSIO *et al.*, 1987), que permite a complementação da síntese da segunda fita do cDNA através do uso da RNAse H, da Polimerase I de *E.coli* e da ligase também de *E. coli*.
- As extremidades dos cDNAs obtidos são aparadas com a enzima T4 DNA polimerase.
- 4. É feita uma seleção de tamanho dos cDNAs em gel de agarose (de 800 a 6000pb "biblioteca de alto peso" e de 500 a 800pb "biblioteca de baixo peso").
- 5. São ligados adaptadores contendo sítios de clivagem para a enzima Sal I por meio da enzima T4 DNA ligase. Os adaptadores são fosforilados em apenas uma de suas pontas para prevenir sua concatemerização.
- 6. Em seguida os cDNAs são digeridos com a enzima Not I, de forma que os insertos irão possuir extremidades livres para os sítios Not I e Sal I.
- É feita outra separação em gel de agarose para eliminar o excesso de adaptadores.
- Os cDNAs são então clonados unidirecionalmente por uma ligase, no plasmídeo pSPORT1 (Invitrogen) digerido com as mesmas enzimas (pSPORT1, Not I-Sal I-cut – Figura 13). Foram utilizados 50 ng de vetor.

9.

A mistura de ligação é eletroporada em bactérias competentes que possuam um alto título de transformação.



Figura 13: Esquema ilustrando o mapa do vetor pSPORT1 (Invitrogen) contendo seus sítios de restrição e seu sítio múltiplo de clonagem. Ele é fornecido clivado entre os sítios de Sal I e Not I (seta azul).

5.2.2. Transformação e eletroporação da biblioteca em *E.coli*.

Foi utilizado 1,0 μ l de ligação que foi eletroporada em bactérias competentes *E.coli* DH5 α , preparadas em nosso laboratório, com alto título de transformação. Para isso foi necessário precipitar o material ligado, seguindo as instruções do fabricante (Invitrogen), onde foi utilizado tRNA de levedura, acetato de amônio 7,5M (ambos da Invitrogen) e etanol absoluto. Utilizou-se o aparelho *Gene Pulser* (BioRad) e a bactéria foi eletroporada a 2,5 V. Completando a construção, realizou-se uma seleção em meio contendo o antibiótico apropriado, no caso, ampicilina. Cerca de 290 μ l do material eletroporado foi congelado em glicerol 15% e mantido no freezer -80°C para ser posteriormente utilizado na construção das membranas de macroarranjos.

5.2.3. Validação da biblioteca.

Os plasmídeos foram, então, isolados e sequenciados conforme descrito nas seções 5.1.4 e 5.1.5.

As sequências foram "tratadas" eletronicamente para a eliminação de sequências do vetor e das regiões de baixa qualidade. Para isso, utilizou-se o programa *Vector NTI AdvanceTM 10* (Invitrogen). Em seguida, foi realizada uma rápida comparação das mesmas com os bancos de dados, por Blastx (nucleotídeos *versus* aminoácidos) e Blastn (nucleotídeos *versus* nucleotídeos), para a identificação das ESTs.

Os dados obtidos dessa análise parcial foram compilados em uma planilha de MS Excel (Microsoft, Redmond, WA).

5.2.4. Seleção de clones para a construção dos macroarranjos.

Para a construção dos macroarranjos foi utilizado o material eletroporado e congelado em glicerol 15% das 4 bibliotecas construídas (macho "alto peso", macho "baixo peso", fêmea "alto peso" e fêmea "baixo peso").

Foram montadas 12 placas com 384 clones cada, provenientes das 4 bibliotecas (3 placas para cada biblioteca).

Ao todo foram selecionados 4608 clones para serem transferidos para a membrana de náilon.

5.3. Construção das membranas de macroarranjo.

Toda a metodologia para construção dos *arrays* em membrana de náilon foi retirada do trabalho de Barsalobres-Cavallari e col. (2006).

5.3.1. Transferência das colônias bacterianas para membrana de náilon.

Os clones (colônias bacterianas) foram crescidos por 16-18 horas a 37°C em meio líquido *Circle Grow* suplementado com 1% (p/v) de ampicilina e 8% (p/v) de glicerol.

Previamente à transferência das colônias bacterianas os filtros de náilon foram umedecidos em meio líquido *Circle Grow* suplementado com 0,5% (p/v) de ampicilina e foram colocados sobre papel Whatman 3M também umedecidos nesse meio. Bolhas de ar ou excesso de meio líquido no papel filtro ou na membrana podem prejudicar o crescimento bacteriano na membrana e, portanto, foram evitados.

No processo de transferência, o robô Q-Bot (GENETIX) imergiu sua cabeça de 384 pinos (0,4mm cada) por 3 segundos na placa contendo colônias bacterianas e, em seguida, imprimiu na membrana, fazendo uma leve pressão por 10 milisegundos, depositando cerca de 20nl de solução contendo bactérias viáveis. Cada clone foi impresso a uma distância de 900 mícrons em relação aos outros. A seguir, a placa com as colônias bacterianas foi trocada, e a cabeça do robô foi lavada automaticamente em uma solução de água sanitária, seguida de lavagem em água Milli-Q, e por fim em etanol absoluto. Uma vez concluída a lavagem, os pinos foram secos com um jato de ar por 6 segundos. Após esse processo de esterilização, o robô esperou mais 6 segundos para iniciar a transferência das colônias bacterianas da placa seguinte. O processo de limpeza e secagem foi repetido a cada troca de placa.

A partir de um filtro de náilon de alta densidade (PerForma II – GENETIX) foram construídas 12 membranas idênticas, com dimensões 8 X 12 cm². Cada membrana é dividida em 384 quadrantes e corresponde a um campo do filtro (figura 14). A posição do quadrante, por sua vez, indica a posição do clone em sua placa original. Desta forma, cada colônia bacteriana na membrana pode ser identificada quanto a sua posição de origem. Em cada quadrante (figura 15) foram depositadas 12 colônias bacterianas em duplicata (arranjo 5 X 5). O quinto quadrante superior a direita foi deixado vazio.

Todas as membranas contendo arranjos de colônias bacterianas foram confeccionadas pelo BCCCenter (Centro Brasileiro de Estocagem de Clones – Unesp – Jaboticabal).



Figura 14: Desenho esquemático dos macroarranjos. Cada quadrante, como o primeiro destacado em amarelo (posição A1), contém 12 colônias bacterianas em duplicata (arranjo 5x5). Todas as colônias contidas nesse quadrante são oriundas da posição A1 de suas respectivas placas de origem (Reproduzido de BARSALOBRES, 2004).

5	10	3	8	vazio
4	9	2	7	12
3	8	1	6	11
2	7	12	5	10
1	6	11	4	9

Figura 15: Esquema da posição dos clones em cada quadrante da membrana, cada número corresponde ao número da placa de origem do clone.

5.3.2. Crescimento das colônias bacterianas na membrana.

Após a transferência das colônias bacterianas para o filtro de náilon, este foi colocado em uma placa (QTray - GENETIX) contendo meio *Circle Grow* semi-sólido suplementado com ampicilina. As membranas foram invertidas e incubadas a 37°C por 6 horas para crescimento das colônias bacterianas.

5.3.3. Processamento da membrana após o crescimento das colônias bacterianas.

Após o crescimento das colônias bacterianas os filtros foram colocados sobre papel Whatman 3M umedecido em solução desnaturante (1,5M NaCl e 0,5M NaOH), onde permaneceram por 4 minutos em temperatura ambiente. A seguir, os filtros foram colocados sobre outro papel Whatman 3M umedecido em solução desnaturante, onde permaneceram por 4 minutos em uma placa de vidro em banho-maria com água fervente. Após esse procedimento os filtros foram transferidos para outro papel Whatman 3M umedecido desta vez em solução neutralizante [1,5 M NaCl, 1M Trizma (SIGMA) pH 7,0], onde foram deixados 4 minutos em temperatura ambiente. Em seguida os filtros foram colocados sobre papel Whatman 3M seco e ali deixados por 4 minutos.

Os filtros foram, então, transferidos para uma solução de proteinase K (5,0M NaCl, 1,0M Tris e HCL pH 8,0, 10X Sarcosil (Sodium Lauryl Sarcosinate – SIGMA), 1,5% (p/v) de Proteinase K). A proteinase K foi adicionada à solução momentos antes de seu uso. Os filtros foram invertidos nesta solução, de modo que o lado onde estavam as colônias ficasse totalmente submerso. Os filtros foram então incubados por 1 hora a 37°C em agitador orbital a 50rpm. Após a incubação o excesso de solução foi retirado com o auxílio de um papel filtro em cada um de seus lados. A seguir, o material genético das colônias bacterianas foi fixado nos filtros utilizando-se o aparelho *Ultraviolet Crosslinker* (CL-508), através de exposição a 120.000 microjoules por cm² por 30 segundos.

5.4. Análise temporal da expressão gênica na glândula de veneno de *Bothrops jararaca*.

5.4.1. Síntese do cDNA.

Para a construção das sondas de cDNA foram utilizados 15 exemplares adultos (100 – 200g) das serpentes *Bothrops jararaca*, todos machos. Esses animais foram tratados como descrito na seção 5.1

As glândulas de veneno foram retiradas sem a extração prévia do veneno (0 dias) e 1, 2, 4 e 15 dias após a extração manual do veneno. Foram utilizados três animais para cada tempo.

Além das glândulas foi retirado também o fígado de cada animal.

O RNA total obtido foi quantificado e sua pureza avaliada utilizando o NanoDrop 1000 Spectophotometer v3.7 (Thermo Scientific).

Também foi realizada uma eletroforese em gel de agarose desnaturante para verificar a qualidade do RNA total.

A síntese de cDNA foi feita a partir de 4µg de RNA total utilizando-se a enzima SuperScript TM III First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen).

O cDNA foi purificado por extração direto da reação enzimática utilizando-se o kit *GFXTM PCR and gel band purification kit* (GE Healthcare) e quantificado utilizando-se o *NanoDrop 1000 Spectophotometer v3.7* (Thermo Scientific).

5.4.2. Marcação das sondas de cDNA.

Para marcar as sondas foi utilizado o kit *AlkPhos Direct Labelling and Detection System with CDP-Star* (GE Healthcare).

1. Inicialmente o cDNA é diluído na concentração de $10ng/\mu l$ e desnaturado por aquecimento no banho a 98°C.

 Ao cDNA desnaturado adiciona-se o tampão da reação e a enzima fosfatase alcalina. O formaldeído é adicionado para ligar covalentemente a enzima ao cDNA.

3. A reação é incubada por 30min a 37°C.

4. A sonda marcada é mantida no gelo até o momento do uso (máximo de 2 horas).

5.4.3. Hibridização da membrana com as sondas de cDNA.

As membranas foram hibridizadas de acordo com o protocolo do kit *AlkPhos Direct Labelling and Detection System with CDP-Star* (GE Healthcare).

Antes de iniciar a pré-hibridização as membranas foram incubadas em solução de SDS 0,1% em ebulição durante 5 minutos, com intuito de reduzir o sinal de fundo (*background*).

1. Colocar a membrana no tampão de hibridização *Alkphos direct* préaquecido a 55°C, e pré-hibridizar por 15 minutos a 55°C.

2. Adicionar a sonda de cDNA ao tampão usado para a pré-hibridização.

3. Hibridizar a 55°C por 18 horas.

5.4.4. Pós-Hibridização e revelação das membranas.

O procedimento a seguir também está de acordo com o protocolo do kit *AlkPhos Direct Labelling and Detection System with CDP-Star* (GE Healthcare).

1. Transferir as membranas para o tampão de lavagem primária préaquecido a 55°C. Manter sob leve agitação por 10 minutos.

2. Repetir a lavagem com o tampão primário fresco por 10 minutos a 55°C.

3. Colocar a membrana em um recipiente limpo e adicionar excesso de tampão de lavagem secundário. Lavar sob leve agitação, por 5 minutos a temperatura ambiente.

4. Repetir lavagem anterior com tampão fresco.

 Retirar excesso de tampão de lavagem secundário da membrana. Coloque as membranas sob uma superfície limpa e não-absorvente. Não deixar a membrana secar.

6. Pipetar o reagente de detecção sob a membrana $(30-40\mu l/cm^2)$ e deixe por 2 – 5 min.

7. Retire o excesso de reagente, envolva a membrana em filme plástico. Posicione o filme (*Hyperfilm^M* ECL) sobre a membrana. Feche o cassete e exponha.

O tempo de exposição para as membranas variou entre 1e 2 horas.

5.4.5. Captura e análise das imagens.

Todas as imagens foram captadas com auxílio do *scanner*, em escala de cinza e salvas em extensão TIFF.

Os sinais obtidos das imagens foram quantificados usando-se o software BZscan (LOPEZ *et al.*, 2004) (http://tagc.univ-mrs.fr/ComputationalBiology/bzscan/). Para as análises foram utilizados as emissões brutas dos pontos sem subtrair o valor do sinal de fundo local (*background*). Os dados relativos à emissão bruta dos pontos foram exportados para uma planilha do programa MS Excel (Microsoft, Redmond, WA).

5.4.6. Análises estatísticas.

Os dados da planilha Excel foram exportados para um arquivo texto delimitados por tabulação, o qual foi importado para o programa estatístico R (IHAKA & GENTLEMAN, 1996) e procedido às análises utilizando pacotes desenvolvidos para projeto Bioconductor (GENTLEMAN *et al.*, 2004).

A normalização dos dados e a análise estatística para determinação dos clones diferencialmente expressos foram feitas utilizando o pacote Limma (SMYTH *et al.*, 2004) desenvolvido em linguagem R, o qual é oferecido sem qualquer custo no sítio do projeto Bioconductor (http://www.bioconductor.org). O pacote utiliza modelos de regressão linear para calcular os dados de expressão de cada gene. A idéia é utilizar métodos estatísticos reducionistas, como o método empírico de Bayes, tornando as análises mais estáveis mesmo para um pequeno número de arranjos.

Para determinar os genes diferencialmente expressos foi usado o teste-t moderado, que é calculado para cada amostra e cada contraste.

Foram considerados diferencialmente expressos clones induzidos e reprimidos com *Fold Change* > 2 em pelo menos um dos tempos analisados.

5.4.7. Análise temporal do perfil da expressão gênica.

Com o objetivo de identificar possíveis padrões na expressão dos clones selecionados, todos foram submetidos à análise pelo programa STEM (ERNST & BAR-JOSEPH, 2006) (http://www.cs.cmu.edu/~jernst/stem/).

Todos os clones que apresentaram perfis de expressão semelhantes foram sequenciados.

5.4.8. Análise das sequências.

Os clones foram retirados das placas de 384, de acordo com sua posição na membrana, e inoculados em placas de 96 poços em meio *Circle Grow* amp (contendo ampicilina 100µg/100ml) seguiu-se, então, processo semelhante ao descrito na seção 5.1.4. Os clones foram sequenciados conforme descrito na seção 5.1.5.

Para eliminar as sequências do vetor e regiões de baixa qualidade das ESTs utilizou-se o programa *Vector NTI Advance*TM 10 (Invitrogen).

A identificação dos clones foi feita através do programa Blast2go (CONESA et al., 2005) (http://www.blast2go.org/start blast2go). As sequências foram submetidas à comparação automática com bando de dados não redundante (nr- Non redundant) disponível no National Center for Biotechnology Information (NCBI) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/), com os algorítimos BlastX (nucleotídeos x aminoácidos) e BlastN (nucleotídeos x nucleotídeos) (ALTSCHUL et al., 1997). Para a identificação putativa foi adotado um valor mínimo de confiabilidade (e-value) de 10⁻⁵ sobre pelo menos 50 posições.

5.4.9. Anotação dos clones.

A fim de identificar uma possível relação funcional entre os transcritos celulares (não toxinas) que apresentaram perfil de expressão semelhante foi utilizada a ferramenta da *web* DAVID (DENNIS *et al.*, 2003) (http://david.abcc.ncifcrf.gov/home.jsp).

Também foi feita a anotação manual dos transcritos celulares utilizando os bancos de dados *Gene Ontology* (http://www.geneontology.org/) e KEGG (http://www.genome.jp/kegg/).

5.5. Análise da expressão gênica diferencial em resposta a tratamentos farmacológicos.

5.5.1. Tratamentos e extração da glândula de veneno.

Foram utilizados 9 machos adultos (100 – 200g) das serpentes *Bothrops jararaca*. Esses animais foram tratados conforme descrito na seção 5.1.1.

Os animais foram divididos em 3 grupos com 3 animais cada, um grupo controle, um grupo que recebeu o tratamento com reserpina e um grupo que recebeu o tratamento com reserpina e com os agonistas dos adrenoceptores.

Todos os animais (exceto grupo controle), foram tratados com reserpina (20mg/Kg) e 24 horas depois, foram anestesiados com pentobarbital sódico (20mg/Kg) para extração manual do veneno, imediatamente um grupo foi tratado com fenilefrina (agonista do adrenoceptor α) e isoprenalina (agonista do adrenoceptor β) na dose de 100mg/Kg e também com reserpina (5mg/Kg). Outro grupo foi tratado somente com a reserpina. Durante os 4 dias seguintes a extração manual do veneno os animais de ambos os grupos foram tratados com reserpina (5mg/Kg) até serem sacrificados por decapitação no 4°dia, sob anestesia de pentobarbital (30mg/Kg).

5.5.2. Identificação e anotação funcional dos clones diferencialmente expressos.

Os procedimentos que se seguiram à extração das glândulas até as análises estatísticas foram os mesmos já descritos na seção 5.4

Foram considerados diferencialmente expressos clones com p-value < 0,001 (0,1%).

Todos os clones considerados diferencialmente expressos foram sequenciados.

Todo procedimento de extração do DNA plasmidial, sequenciamento dos clones e análise das sequências foi feito conforme descrito nas seções 5.1.4, 5.1.5 e 5.4.8

Foi feita a anotação manual dos transcritos celulares utilizando os bancos de dados *Gene Ontology* (http://www.geneontology.org/) e KEGG (http://www.genome.jp/kegg/).

5.6. Análise da expressão gênica por PCR quantitativo em tempo real (qPCR).

5.6.1. Escolha do gene de referência para análise da expressão gênica na glândula de veneno.

Foram construídos oligonucleotídeos iniciadores para 4 genes amplamente utilizados como genes de referência em eucariotos, são eles, gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH), tirosina 3-monooxigenase/triptofano 5-monooxigenase proteína de ativação, polipeptídeo zeta (YWHAZ), Ubiquitina C (UBC) e beta-actina (ACTB).

As sequências escolhidas para a construção dos oligos foram retiradas do *genebank* (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) e apresentaram alta similaridade aos 4 genes escolhidos.

 Tabela 1: Sequências de oligonucleotídeos iniciadores dos genes candidatos a gene de referência.

Produto	n° de acesso do <i>genebank</i>	oligonucleotídeo iniciador senso 5'→ 3'	oligonucleotídeo iniciador anti-senso 5'→ 3'
ACTB	DY403299.1	CAGCACTGGCTCCCAGCACA	CAGAGTATTTGCGCTCAGGAGGAGC
GAPDH	DW713269.1	TGGCCCCTCTGGGAAGCTGT	TGGCTGCACCTGTGGATGCTG
YWHAZ	DW712942.1	GGGTCTAGCGCTTACTTTTCGGTGT	TCTTGGCCAATGTGCAGGCCA
UBC	DW713811.1	CTGCACCCCGTGCTGTGAA	GCGCAGGTTGTTGGTGTGGC

A construção dos oligos foi feita utilizando a ferramenta *Primer-Blast* do NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/). O tamanho do *amplicon* deveria estar entre 60 e 100pb, a temperatura de anelamento entre 58°C e 60°C e foi selecionada a opção para comparar as sequências dos oligos a todas as sequências de *Bothrops jararaca* depositadas no *genebank*, garantindo assim, a especificidade do oligo ao gene analisado. Todos os outros parâmetros não foram alterados. Foi escolhido, preferencialmente, o par de oligos com menor diferença entre as temperaturas de *melting* (T_M).

A especificidade dos oligos foi testada com uma reação de PCR seguindo protocolo da enzima *Taq DNA Polymerase, Recombinant* (Invitrogen).

Reação de PCR: 94°C por 3 minutos. 35 ciclos de: 94°C por 45 segundos (desnaturação); 58°C por 30 segundos (anelamento); 72°C por 1 minuto e 30 segundos (extensão); E para finalizar a reação 72°C por 10 minutos.

A escolha do gene de referência foi feita com o auxílio das ferramentas geNorm (VANDESOMPELE *et al.*, 2002) e NormFinder (ANDERSEN *et al.*, 2004).

5.6.2. Escolha e construção dos oligonucleotídeos iniciadores dos genes de estudo.

Foram selecionados representantes das principais classes de toxinas identificados na biblioteca de cDNA construída no início do projeto (tabela 2), genes que poderiam ser regulados através da sinalização por noradrenalina e haviam sido identificados nas bibliotecas previamente construídas no laboratório (tabela 3) (JUNQUEIRA DE AZEVEDO *et al.*, 2002 ; CHING *et al.*, 2006) e genes selecionados através da análise dos macroarranjos (tabela 4).

A construção dos oligonucleotídeos iniciadores seguiu o mesmo critério descrito na seção anterior.

Tabela 2: Sequências de oligonucleotídeos iniciadores para análise da expressão gênica porPCR quantitativo em tempo real de representantes das principais classes de toxinas do veneno

de Bothrops jararaca.

Produto	n° de acesso do <i>genebank</i>	oligonucleotídeo iniciador senso 5'→ 3'	oligonucleotídeo iniciador anti-senso $5' \rightarrow 3'$
Bothrops jararaca hemorrhagic metalloproteinase HF3 mRNA, complete cds	AF149788.5	TGGAACCTGGAGAGGGACAGTCT	TGGCCGTGAGTAACTGAGCGT
Bothrops jararaca vascular endothelial growth factor precursor, mRNA, complete cds	AY033152.1	TGCCAGCCCAGAGAGACGCT	CGCAACGCGGTGACACAGGA
Bothrops insularis cluster BITP01A phospholipase A2 precursor, mRNA, complete cds	AF490535.1	CAGCGGAGGCGATTAACGGGG	TCGACGCCCACCAGCAACAC
Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete	AY962524.1	AGTGCGGCTCTCCCACCTGT	ACCAGCAAGCCGAAGCTCACG
Bothrops jararacussu metalloprotease BOJUMET III mRNA, partial cds	AY258153	GGCGCTCCTGAAAATCCGTGC	TCCTTCTGCACACTGCGCCC

Tabela 3: Sequências de oligonucleotídeos iniciadores construídos a partir de sequências identificadas nas bibliotecas de *B.insularis* (BINS), *P. olfersii* (POLF) e *B. jararaca* (BJAL) para análise da expressão gênica por PCR quantitativo em tempo real.

cluster	Produto	oligonucleotídeo iniciador senso 5'→3'	oligonucleotideo iniciador anti-senso 5'→3'
BINS0097C	EEF1A1 mRNA for eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1, complete cds	ACGCCTGCCACTTCAGGATGTC	CACACGACCGACTGGAACGGT
BINS0203S	Bothrops insularis calglandulin EF-hand protein mRNA, complete cds	TGTGGCCATGATGACGGGCG	CAGGCAGGAGAGACGACCGGA
BINS0540S	protein kinase C, alpha	GGCTCGAGCGAAGTCGAGGG	GCCCGAGCGAAACCCCCTTT
BINS0884S	eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E)-like	AAACGGGGAGGGAGATGGCT	GCAGTGTCTCTAGCCAGAAGCG
BJAL01b03	Oxyuranus scutellatus scutellatus PDI mRNA, complete cds	TTCGCTCCGGCGCTGTGTTT	TCAGCACCAGCACGCCTTCC
POLF0207S	protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type II, alpha	GGCAGTTTTGGGGAACTCGCCT	AAGGGCTCCTTCTGTGGTGGCA
BINS0271S	SAR1 homolog B (S. cerevisiae)	GTCCCCACATTACATCCCACTTCGG	AACCCTGCGAGCTTGAGCATGT
BINS0677S	Microsomal signal peptidase 12 kDa subunit (SPase 12 kDa subunit) (SPC12) (HSPC033)	GGCGACTTTTTCCAGCCGCC	GCCGTCAGCGCTTTCCGAGA
BINS0763S	Microsomal signal peptidase 25 kDa subunit (SPase 25 kDa subunit) (SPC25)	GCCTCTTCGCCATCGTGGCTT	ATCACGCAGACAGCCAGCACC
BINS0898S	Microsomal signal peptidase 23 kDa subunit (SPase 22 kDa subunit) (SPC22/23)	GAGAGGAGATAGCCCAAAGCTGCT	TTCCTGTTGCCCTTGAGGCCA
BINS0471S	Microsomal signal peptidase 21 kDa subunit (SPase 21 kDa subunit)	ACCAGCCTTCCATAGAGGAGACC	TGAAAACGACTATTTCTCCGGCCC
BINS0620S	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 3 [Mus musculus]	TCTGCTGTGAGAGAGTTCTTCACCT	TGCTGCTCCTCCTCTTTGTCAGC
BINS0234S	SEC61A1 protein	CCATGCTGCCAACTTCACTCTGC	GGGGCAATAGGATCGGGCACA
BINS0625S	SEC23-related protein A; protein transport protein SEC23A; transport protein Sec23 isoform A; Sec23 (S. cerevisiae) homolog A [Homo sapiens]	ATGGGGGTAGTCAAGCCCGT	GTGCTCCAGATTCCTGTCCCCA
BINS0294S	Translocating chain-associated membrane protein [Gallus gallus]	CCATTGAGCAGGGGCCGAGG	CATGGCTGAGCACGGGAGGG
BINS0170C	transport protein Sec61 beta subunit [Lapemis hardwickii]	GCCACCTTTGCTATGCCGGGT	CGCACGTGGGGCTACTGCTT

Tabela 4: Sequências de oligonucleotídeos inciadores construídos para análise da expressãogênica por PCR quantitativo em tempo real dos clones considerados diferencialmente expressosna análise temporal da expressão gênica por macroarranjos.

clone	Produto	oligonucleotídeo iniciador senso 5'→3'	oligonucleotídeo iniciador anti-senso 5'→3'
04:G-1	heat shock 70kDa protein 5 (glucose- regulated protein), isoform CRA_b [Rattus norvegicus]	GAGAGCCACCAGGAGGCCGA	GCCCCGCCGTACAACTTCCC
14:B-7	cleavage and polyadenylation specificity factor subunit 1	CGGTCACTGCCCTCTGCCAC	GCCATGCCGGTCAGGTCGTT
07:L-6	homo sapiens creb binding protein transcript variant mrna	GTACGCGGTGCATGCGACG	GGTTGGGTAACGCCAGGGGTTT
07:O-8	dynactin subunit 1	TTCGGCACCTTCCCCTCCGT	GCCGATGTAGACGGCGCTGT
11:I-7	proteasome (macropain) 26s non- 3	TTCTGCATGTTGGGGGCGGT	TGGGGCCGTGTCTTCTTCCTGT
18:E-8	Oxyuranus scutellatus translocon- associated protein-like protein mRNA, complete cds	CGCAAGGCTCAGCGCAACAA	GGTCCATTCCAGGCACCCACG

5.6.3. Preparo das amostras de cDNA.

As amostras de RNA utilizadas para a reação de PCR quantitativo em tempo real foram as mesmas utilizadas para hibridizar as membranas de macroarranjo (seção 3.4.2), assim foram usadas amostras de 9 animais, 3 animais do grupo controle (4 dias), 3 animais do grupo tratado somente com reserpina (4 dias + reserpina) e 3 animais tratados com reserpina, fenilefrina e isoprenalina (4 dias + agonistas).

O RNA total foi tratado com *DNase I, Amplication Grade* (Invitrogen), seguindo protocolo do fabricante.

Uma alíquota do RNA total tratado com DNase foi armazenado para ser usado como amostra controle, o restante foi usado para síntese de cDNA.

A síntese de cDNA foi realizada com a enzima *SuperScript*TM III First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen) e o cDNA foi purificado por extração direto da reação enzimática utilizando-se o kit *GFX*TM PCR and gel band purification kit (GE Healthcare).

5.6.4. Padronização da reação de qPCR.

Foi realizada uma reação-teste com as amostras de cDNA sem diluir e diluídas 100x. A eficiência dos oligonucleotídeos iniciadores foi calculada através do programa LinRegPCR (http://www.gene-quantification.de/download.html#new-linregpcr).

5.6.5. A reação de qPCR.

A reação de PCR quantitativo em tempo real foi realizada utilizando-se o *Platinum[®] SYBR[®] Green qPCR SuperMix-UDG* (Invitrogen) e o *SYBR[®] Green PCR Master Mix* (Applied Biosystems), o volume final de cada reação foi de 12μL.

Todas as reações foram feitas em duplicatas e depositadas em placas *Fast 96-Well Reaction Plate (0.1mL)* (Applied Biosystems) seladas com adesivos ópticos *MicroAmpTM Optical Adhesive Film* (Applied Biosystems). A princípio foram utilizadas triplicatas das reações, porém como o número de genes a serem estudados era grande e as triplicatas se mostraram bastante homogêneas (variação do C_T menor que um ciclo) optou-se pelo uso das duplicatas.

Além das reações contendo cDNA e oligonucleotídeos iniciadores, também estavam presentes na placa os controles negativos, contendo água e oligonucleotídeos iniciadores. O controle negativo tem a finalidade de identificar qualquer amplificação que ocorra como resultado de contaminação da reação ou formação de dímeros entre os oligos. Foi desconsiderada qualquer amplificação inespecífica acima do 36° ciclo nos controles negativos.

Para cada réplica biológica (três animais para cada condição estudada) foram feitas três réplicas experimentais.

As reações foram realizadas no aparelho *StepOnePlusTM* (Applied Biosystems).

5.6.6. Análises estatísticas.

As triplicatas experimentais foram analisadas em conjunto utilizando-se o método 2 ${}^{-\Delta\Delta C}_{T}$ (LIVAK & SCHMITTGEN, 2001). O GAPDH foi usado como gene de referência e a amostra de cDNA de 4 dias sem tratamento foi a amostra controle.

Os valores de expressão gênica relativa das réplicas biológicas sofreram uma série de correções a fim de reduzir o peso da variação individual nas análises estatísticas (WILLEMS *et al.*, 2008).

Todas as análises foram realizadas em planilha de MS Excel (Microsoft, Redmond, WA).

Todos os testes estatísticos foram realizados no programa GraphPad Prism[®] version 5.00 (GraphPad Software Inc.).

5.7. Sequenciamento de nova geração (RNA-seq).

5.7.1. Obtenção e preparo do RNA.

Para a análise transcriptômica utilizou-se RNA total de 3 glândulas de veneno extraídas 4 dias após a extração manual do veneno, e RNA total de 3 glândulas de veneno de animais tratados com reserpina extraídas 4 dias após a extração manual de veneno.

O RNA total foi tratado com *DNase I, Amplication Grade* (Invitrogen), seguindo protocolo do fabricante.

O RNA total foi precipitado com isopropanol e em seguida foi feita a purificação do RNA mensageiro utilizando o *Micro-FastTrack*TM 2.0 *Kit* (Invitrogen).

Para quantificar o mRNA, avaliar seu grau de integridade e pureza foi usado o *RNA 6000 Pico Chip* no *Agilent 2100 Bioanalyzer*.

5.7.2. Construção da biblioteca de cDNA.

Todos os procedimentos desde a construção da biblioteca até o sequenciamento foram realizados pela "Unidade de Genômica Computacional Darcy Fontoura de Almeida, Laboratorio de Bioinformática do LNCC (Laboratório Nacional de Computação Científica".

Para a construção da biblioteca são necessários pelo menos 200ng de mRNA. A construção da biblioteca seguiu o protocolo do *cDNA Rapid Library Preparation* (Roche).

Primeiro o mRNA sofre fragmentação por Cloreto de Zinco. Os tamanhos dos fragmentos formados são analisados no *RNA 6000 Pico Chip* no *Agilent 2100 Bioanalyzer*.

Ao mRNA fragmentado adiciona-se *Roche Primer "random"*, a síntese da primeira fita de cDNA é realizada pela enzima *AMV RT* (Roche).

A síntese da segunda fita de cDNA é feita pelas enzimas 2^{nd} strand enzime e T4 DNA Polymerase (Roche).

O cDNA dupla fita é purificado utilizando-se as *AMPure beads* (Roche) e um Concentrador de Partículas Magnéticas.

As moléculas de cDNA se ligam às *beads* e permanecem ligados a elas enquanto ocorrem as lavagens para eliminar os restos das reações enzimáticas, o concentrador de partículas magnéticas mantêm as *beads* unidas à parede do tubo enquanto ocorrem essas lavagens, no fim do processo adiciona-se solução de Tris-HCl para recuperar o cDNA purificado.

O cDNA purificado é tratado com o *End repair mix* (Roche) para adição de um grupo fosfato na extremidade 5' e então ocorre a ligação do adaptador *RL Adaptor* (Roche).

Os fragmentos muito pequenos são removidos utilizando as *AMPure beads* tratadas previamente com *Sizing Solution* (Roche).

A biblioteca é quantificada através de emissão de fluorescência do adaptador ligado ao cDNA.

A qualidade da biblioteca é avaliada no Agilent Bioanalyzer High Sensitivity DNA chip.

Uma alíquota da biblioteca é diluída em tampão TE na concentração de 1×10^7 moléculas.µl⁻¹. Essa solução é então aliquotada e armazenada entre -15°C e -25°C por até dois meses.

5.7.3. Amplificação clonal baseada em emulsão (*em*PCR).

O processo de amplificação *emPCR* foi feito de acordo com o protocolo descrito em *GS FLX Titanium emPCR Method Manual* (Roche).

O número de moléculas de cDNA necessárias para que ocorra a amplificação ótima é determinado por titulação.

O cDNA é então desnaturado, ligado às microesferas e emulsionado em uma mistura de água e óleo com reagentes de PCR para amplificação clonal do fragmento.

Na PCR em emulsão, o óleo em solução aquosa forma micelas, nas quais as microesferas são capturadas. Cada micela funcionará como um microrreator, produzindo muitas cópias idênticas de um mesmo fragmento isoladamente em um microssuporte.

Após a reação de PCR as microesferas sofrem uma série de lavagens e são recuperadas para então serem submetidas ao processo de enriquecimento, a fim de aumentar a porcentagem de microesferas contendo cDNA marcado.

As microesferas enriquecidas são então preparadas para a reação de sequenciamento.

5.7.4. Sequenciamento.

O sequenciamento das amostras foi realizado no *Genome Sequencer FLX Instrument and System* (454 Life Science Corporation – Roche), conforme especificações do fabricante.

5.7.5. Análises dos dados do sequenciamento.

As sequências foram tratadas com o software *CLC Genomics Workbench* (http://www.clcbio.com/genomics/) para eliminação da sequência do adaptador e das regiões da baixa qualidade, além da eliminação das sequências de rRNA.

As sequências provenientes de um sequenciamento prévio de pâncreas e glândula de veneno de Bothrops jararaca foram agrupadas com o programa GS De Novo Assembler (Roche) formando contigs de pâncreas e glândula de veneno, depois esses *contigs* foram transportados para o programa CLC e os *contigs* em comum entre os dois tecidos foram agrupados em um só, assim foi construído um banco de referência de transcritos. Foi aplicado um filtro contra genes ribossomais a fim de identificar sequências que não foram retiradas na primeira "limpeza". As sequências (reads) provenientes do sequenciamento das glândulas de veneno normal e tratada com reserpina foram mapeadas usando o banco de referência de transcritos previamente construído. Os *clusters* formados foram submetidos ao programa Blast2go (CONESA et al., 2005), primeiro foi realizado a busca por BlastX contra um banco de toxinas compilado pelo nosso laboratório, depois BlastN contra esse mesmo banco, para identificar primeiro as toxinas. Em seguida foi realizado a busca por BlastX contra o banco de transcritos do genebank e em seguida busca por BlastN para aquelas sequências que não foram identificadas por BlastX. Para a identificação putativa foi adotado um valor mínimo de confiabilidade (e-value) de 10^{-3} .

Os transcritos foram funcionalmente anotados e classificados usando termos do *Gene Ontology* (ASHBURNER *et al.*, 2000).

Para determinar os valores de expressão dos *contigs* e identificar os genes diferencialmente expressos foi utilizado o software *CLC Genomics Workbench – RNA-seq module*. O valor expressão de um gene é representado por RPKM (*reads per kilobase per million mappead reads*) (MORTAZAVI *et al.*, 2008), segundo a fórmula:

$$RPKM = \frac{total exon reads}{mapped reads(millions) \times exonlenght(KB)}$$

Total exon reads é o número de *reads* que foram mapeadas na região na qual um exon está anotado para um gene, ou nos limites de dois exons ou um intron e um exon para um transcrito anotado de um gene.

Exon lenght é calculado como a soma dos tamanhos de todos os exons anotados para o gene. Cada exon é incluído somente uma vez nessa soma, mesmo se ele estiver presente em mais transcritos anotados do gene. Exons parcialmente sobrepostos terão seu tamanho total contado, mesmo se eles compartilharem a mesma região.

Mapped reads é a soma do total de reads que foram mapeadas na região do gene por amostra.

Para as análises estatísticas foi realizado o *tests on proportions* seguido do *Z-test* (KAL *et al.*, 1999).

Foram considerados diferencialmente expressos genes com p-value < 0,05, e genes cujo valor de expressão foi zero para uma das duas amostras sequenciadas foram considerados exclusivos da outra amostra.

Os genes diferencialmente expressos e exclusivos foram submetidos à análise de enriquecimento de termos do GO (*Fisher's exact test*) no programa Blast2go. Foram consideradas enriquecidas categorias com p-value menor que 5% (p-value < 0,05).
6. Resultados

6.1. Construção da biblioteca de cDNA para confecção das membranas de macroarranjo.

6.1.1. Obtenção e análise do RNA.

Através da eletroforese em gel de agarose 1% realizada em condição desnaturante, pode-se verificar o estado de integridade do RNA discriminando-se as bandas dos RNAs ribossômicos.

As figuras 16a e 16b mostram, respectivamente, a purificação do RNA total extraído das glândulas do macho de *B. jararaca* e das glândulas da fêmea de *B. jararaca* sendo possível, nos dois casos, discriminar as frações 28S e 18S correspondentes, respectivamente, as subunidades, maior e menor do ribossomo.



Figura 16: Géis de agarose 1% contendo (a) uma amostra do RNA total de glândula de veneno de macho de *B. jararaca* (2,0 μ l), setas indicando as frações 28S e 18S do rRNA. (b) amostra de RNA total de glândula de veneno de fêmea de *B.jararaca*.(2,0 μ l).

Os RNAs totais foram quantificados por espectrofotometria com absorbância no comprimento de onda de 260nm. Obteve-se 300µg de RNA total para o macho e 188µg de RNA total para a fêmea.

Após a extração do RNA total, o RNA mensageiro das glândulas foi purificado e também quantificado e obteve-se 1,19µg de mRNA para a fêmea e 3,29µg de mRNA para o macho.

6.1.2. Avaliação da biblioteca de cDNA.

Como resultado da digestão de dez colônias individuais escolhidas para o *screening* da placa eletrotransformada da ligação do cDNA de alto peso molecular do macho, na figura 17 pode-se visualizar os fragmentos liberados em quase todas as colônias.

A validação desses clones foi feita também por sequenciamento, sendo que a análise dos dez produtos por busca rápida em banco de dados já resultou na identificação de algumas toxinas conhecidas de serpentes (dados não mostrados).



Figura 17. Gel de agarose 1% mostrando os produtos da digestão com as enzimas de restrição Sal I e Not I de 10 colônias individuais da placa eletrotransformada da biblioteca de alto peso molecular.de macho.

Os clones foram crescidos em placas de 96 poços, isolados e sequenciados.

Ao todo foram obtidas 384 sequencias de clones individuais. Todas as sequências foram submetidas aos tratamentos bioinformáticos.

Após os tratamentos restaram 297 sequências de boa qualidade que foram submetidas ao alinhamento local feito pela ferramenta BlastX. As sequências que não foram identificadas através do BlastX foram submetidas ao BlastN, que realiza alinhamento entre sequências nucleotídicas.

Segundo a tabela 4, cerca de 70% do total de ESTs identificadas pertencem a classe das toxinas.

Tabela 4:	Resultado	das	análises	das	ESTs	da	biblioteca	de	glândula	de	veneno	de
macho de E	B.jararaca.											

Categoria	N° de	Representação no total de	Representação nos clones
	clones	clones (%)	identificados (%)
Sem identificação	34	11,45	-
Sequências	263	88,55	100
identificadas			
Toxinas	186	62,63	70,72
Celulares (não	77	25,93	29,28
toxinas)			

Tabela 5: Transcritos identificados como sendo da mesma classe de toxinas (n° de clones), porcentagem desses transcritos em relação ao total de ESTs (% do total) e em relação ao total de ESTs identificadas (% dos identificados).

Toxinas	N° de clones	% do total	% dos identificados
Metaloproteases	27	9.09	10.27
Fosfolipases A2	21	7.07	7.98
Serino proteases	32	10.77	12.17
Lectinas tipo-C	63	21.21	23.95
BPPs	28	9.43	10.65
Proteínas ricas em cisteína	1	0.34	0.38
svVGEF	4	1.35	1.52
L-aminoacido oxidase	7	2.36	2.66
NGF	1	0.34	0.38

As ESTs identificadas como não toxinas (transcritos celulares), foram classificadas e agrupadas de acordo com suas principais funções celulares.

Tabela 6: Transcritos celulares agrupados em uma mesma função celular (n° de clones), porcentagem desses transcritos em relação ao total de transcritos (% do total) e em relação ao total de transcritos identificados (% dos identificados).

Funções celulares	N° de clones	% do total	% dos identificados
Metabolismo	13	4.38	4.94
Transcrição e Tradução	27	9.09	10.27
Processamento	14	4.71	5.32
Degradação	1	0.34	0.38
Funções estruturais	3	1.01	1.14
Regulação celular/outros	9	3.03	3.42
Elementos de retrotransposon	1	0.34	0.38
Proteínas hipotéticas (função	9	3.03	3.42
desconhecida)			

Os dados obtidos foram comparados com os dados da análise transcriptômica da glândula de veneno de *Bothrops jararaca* (CIDADE *et al.*,2006) e *Bothrops insularis* (JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO & HO, 2002), e apesar das diferenças quantitativas, todas as classes de toxinas identificadas nos dois trabalhos foram identificadas por essa análise. Os dados referentes aos transcritos celulares estão de acordo com os dados publicados nos dois transcriptomas.

A análise da biblioteca de cDNA mostrou que esta biblioteca era adequada para uso como substrato da avaliação da expressão gênica comparativa por macroarranjos.

6.2. Análise temporal da expressão gênica.

6.2.1. Membranas.

Foram construídas membranas com 4608 clones aleatórios da biblioteca avaliada. As membranas foram inicialmente hibridizadas com um fragmento do gene β -lactamase, como esse gene está presente no plasmídeo usado na construção da biblioteca era esperado que todos os clones presentes na membrana fossem marcados.



Figura 18: Membrana marcada com a sonda β-lactamase. Tempo de exposição 2 min.

Pode-se verificar na figura 18 que a marcação foi homogênea, com pouca ou nenhuma variação na intensidade dos pontos, indicando que a quantidade de plasmídeo depositado em cada posição da membrana é bastante similar, o que é importante quando a comparação a ser feita é baseada na intensidade de sinal de cada ponto, além disso, pode-se verificar que o método de marcação da sonda, bem como de hibridização e revelação da membrana se mostrou bastante eficaz.

Outro detalhe muito importante na figura 18 são os pontos em branco, que podem ser encontrados de forma ordenada no canto direito de cada quadrante, esse espaço foi deixado vazio de propósito para ser usado como controle negativo de hibridizações inespecíficas, assim pode-se verificar que o método de hibridização é específico.

As membranas podem ser usadas para até dez hibridizações sem perda significativa de sinal (BARSALOBRES, comunicação pessoal), desde que lavada apropriadamente. Como mostra a figura 19, a lavagem se mostrou eficiente para eliminar qualquer resquício de hibridização, indicando que a membrana pode ser usada repetidas vezes.



Figura 19: Membrana após lavagem para limpar a marcação. Tempo de exposição 1h30min.

A lavagem se mostrou eficiente para eliminar qualquer resquício de hibridização, indicando que a membrana pode ser usada repetidas vezes.

6.2.2. Obtenção do RNA para sonda.

Através da eletroforese em gel de agarose 1% realizada em condição desnaturante, pode-se verificar o estado de integridade do RNA discriminando-se as bandas dos RNAs ribossômicos.

A figura 20 mostra a purificação do RNA total extraído das glândulas de *B*. *Jararaca* macho.



Figura 20: Gel de agarose 1% contendo RNA total de glândula de veneno de macho de *B. jararaca* (4,0 μ l). 4d2 (4 dias animal 2), 4d3 (4 dias animal 3), 15d1 (15dias animal 1), 15d2 (15dias animal 2), 15d3 (15 dias animal 3). As setas vermelhas indicam as frações 18s e 28s do RNA ribossômico.

O RNA total foi quantificado e imediatamente convertido em cDNA.

6.2.3. Hibridização das membranas.

Foram feitas 15 hibridizações, contemplando todos os grupos experimentais. As imagens obtidas são muito próximas a da figura 21.

Apesar dos protocolos para hibridização e revelação da membrana terem sido bem estabelecidos, a reprodutibilidade foi bastante difícil. Problemas como emissão de fundo (*background*), manchas, sinal fraco, surgiram diversas vezes durante o processo.



Figura 21: Membrana marcada com sonda de cDNA 15 dias – animal 2 (15d2). Tempo de exposição de 1h30min.

6.2.4. Análises estatísticas para determinar os clones diferencialmente expressos.

As imagens obtidas foram analisadas através do software BZscan (http://tagc.univ-mrs.fr/ComputationalBiology/bzscan/).

O BZscan é um software de uso livre, desenvolvido para ler *arrays* em membranas de nylon com detecção radioativa, sua metodologia de extração de dados é baseada no modelo matemático de emissão radioativa, reduz a variabilidade devido a saturação, efeitos de vizinhança (quando a intensidade de um *spot* extrapola para a vizinhança) e quantidade de sonda variável (LOPEZ *et al.*, 2004).

Para tornar possível a comparação entre os *arrays*, a normalização foi aplicada aos dados (figuras 22 e 23), optou-se pelo método *loess*, que é um método de normalização por regressão linear baseado no método *lowess* e oferecido pelo pacote Limma (SMYTH, 2005).

Nesta etapa, é feito o ajuste das intensidades de cada hibridização individualmente, para que comparações posteriores possam ser feitas. Existem várias razões pelas quais a normalização precisa ser feita como, por exemplo, quantidades diferentes de cDNA inicial nas membranas e erros sistemáticos ao medir os níveis de expressão.



Figura 22: Diagrama de caixas (bloxplots) dos dados antes de serem normalizados.



Figura 23: Diagrama de caixas (bloxplots) dos dados após de serem normalizados com o método *loess*.

Na figura 24 é possível observar que os dados apresentaram-se dentro de uma distribuição normal depois de normalizados.



density.default(x = todos.norm)

Figura 24: Gráfico da distribuição normal dos dados após normalização pelo método loess.

O pacote Limma/R permite comparar a variação da expressão gênica entre dois tempos, tratamentos ou situações fisiológicas distintas, como foram analisados cinco tempos distintos foi feita a análise pareada dos dados como se segue na tabela 7:

Tabela 7: Análise pareada da variação de expressão gênica entre os diferentes grupos experimentais.

Tempo (dias)	Tempo (dias)
1	0
2	0
4	0
15	0
2	1
4	1
15	1
4	2
15	2
15	4

Esse método de análise pareada não é a melhor forma de analisar os dados quando o objetivo é identificar genes que apresentam expressão diferencial ao longo de uma série temporal, porém os pacotes mais adequados para esse tipo de análise, o MaSigPro (CONESA *et al.*, 2006) e o Timecourse (TAI *et al.*, 2006), não apresentaram resultados satisfatórios, desse modo optou-se por utilizar os resultados obtidos pela análise com o Limma/R para selecionar os clones que apresentaram variação significativa da expressão e assim submeter esses dados a uma nova análise utilizando a ferramenta STEM.

6.2.5. Análise temporal do perfil de expressão gênica.

A ferramenta STEM (*short time-series expression miner*) (ERNST & BAR-JOSEPH, 2006) é um programa em Java para agrupar, comparar e visualizar dados de expressão gênica em séries temporais curtas (8 ou menos pontos de análise).

O STEM agrupa genes que apresentam perfis de expressão gênica semelhantes e determina a significância estatística (p-value) de cada perfil, assim é possível comparar o comportamento de diferentes grupos de genes através de diversas condições além de permitir traçar correlações entre os perfis de expressão e seu significado biológico.

Foram selecionados 1987 clones que apresentaram *Fold Change* >2 em pelo menos uma das análises pareadas e em seguida foi feito cálculo de correlação de Pearson entre os valores de intensidade bruta (não normalizados) das replicatas desses clones, sendo que 85% dos clones selecionados apresentaram correlação ≥ 0.8 .

O cálculo de correlação permite identificar se o comportamento das replicatas nas membranas é o mesmo em todas as marcações. Ou seja, independente do efeito do *background*, da variação na quantidade de sonda usada na hibridização ou mesmo que um experimento apresente valores de intensidade muito maiores ou muito menores que outro, as replicatas devem se comportar de forma igual em cada experimento, o que indica que a marcação é específica.

Todos os clones selecionados foram submetidos à análise pelo STEM o que resultou em cinco perfis de expressão gênica significativos (figuras 25 e 26).



Figura 25: Perfis de expressão gênica dos clones da glândula de veneno entre 0 e 15 dias. O número na esquerda e no alto de cada quadrado é a identificação do perfil, o número na esquerda embaixo é o p-value de cada perfil. Os perfis estatisticamente significativos são os coloridos.



Figura 26: Perfis de expressão gênica significativos. Cada linha colorida representa a variação na expressão gênica de um clone durante o período de 0 a 15 dias.

Ao todo 1216 clones foram agrupados nos 5 perfis de expressão gênica. Esses clones foram sequenciados, identificados e separados em transcritos celulares e toxinas.

Após as identificações, foi feita uma nova análise em separado dos perfis de expressão dos transcritos celulares e das toxinas. Essa nova análise é extremamente importante, pois além de permitir observar o que ocorre em cada categoria, permite agrupar valores de expressão de um mesmo transcrito que pode aparecer diversas vezes entre os clones da membrana. A partir do momento que esses transcritos estão identificados o programa utiliza a média dos valores de intensidade dos transcritos

iguais para realizar as análises. Assim o perfil de expressão obtido demonstra o comportamento dos transcritos e não de clones individuais.

A análise dos transcritos celulares apontou quatro perfis de expressão muito semelhante aos perfis gerados quando se analisou todos os clones juntos (figura 27).



Figura 27: Perfís de expressão gênica dos transcritos celulares entre 0 e 15 dias. O número na esquerda e no alto de cada quadrado é a identificação do perfíl, o número na esquerda embaixo é o p-value de cada perfíl. Os perfís estatisticamente significativos são os coloridos.

As figuras de 28 a 31 mostram os perfis de expressão estatisticamente significativos dos transcritos celulares. Pode-se notar que os perfis apresentam pouca diferença entre si, com aumento na expressão até o 2° dia seguido de uma queda na expressão entre o 2° e o 4° dia e entre o 4° e 15° dia, a expressão, em geral, mantém-se constante.



Figura 28: Perfil de expressão 42. Cada linha colorida representa a variação na expressão gênica de um transcrito durante o período de 0 a 15 dias.



Figura 29: Perfil de expressão 47. Cada linha colorida representa a variação na expressão gênica de um transcrito durante o período de 0 a 15 dias.



Figura 30: Perfil de expressão 40. Cada linha colorida representa a variação na expressão gênica de um transcrito durante o período de 0 a 15 dias.



Figura 31: Perfil de expressão 38. Cada linha colorida representa a variação na expressão gênica de um transcrito durante o período de 0 a 15 dias.

A análise das toxinas revelou um padrão bem semelhante ao dos transcritos celulares, como se pode verificar nas figuras 32 a 36.



Figura 32: Perfis de expressão gênica das toxinas entre 0 e 15 dias. O número na esquerda e no alto de cada quadrado é a identificação do perfil, o número na esquerda embaixo é o p-value de cada perfil. Os perfis estatisticamente significativos são os coloridos.



Figura 33: Perfil de expressão 42. Cada linha colorida representa a variação na expressão gênica de um transcrito durante o período de 0 a 15 dias.



Figura 34: Perfil de expressão 40. Cada linha colorida representa a variação na expressão gênica de um transcrito durante o período de 0 a 15 dias.



Figura 35: Perfil de expressão 47. Cada linha colorida representa a variação na expressão gênica de um transcrito durante o período de 0 a 15 dias.



Figura 36: Perfil de expressão 38. Cada linha colorida representa a variação na expressão gênica de um transcrito durante o período de 0 a 15 dias.

Do mesmo modo o expressão gênica tem um aumento entre 0 e 2 dias, sofre uma queda entre 2 e 4 dias e tende a permanecer constante entre 4 e 15 dias.

6.2.6. Identificação e anotação funcional dos clones diferencialmente expressos.

Os 1216 clones identificados como diferencialmente expressos e alocados nos padrões de variação da expressão gênica foram sequenciados e em seguida anotados utilizando a ferramenta blast2go. O blast2go (CONESA *et al.*, 2006) permite identificar sequências de DNA utilizando a ferramenta BLAST do NCBI, fazer anotação funcional pelo *gene ontology* (GO) e identificar vias de sinalização pelo KEGG.

Após tratamento das sequências com eliminação de trechos do vetor e sequências de baixa qualidade, restaram 1116 clones, dos quais, 572 foram identificados como toxinas, 296 como clones celulares e 248 não apresentaram similaridade por nenhuma sequência do banco de dados (*no hits*).



Figura 37: Gráfico da porcentagem de cada categoria considerando o total de clones identificados.

Pode-se verificar na figura 37 que as porcentagens relativas são semelhantes às encontradas na análise inicial da biblioteca.

Os clones que se encontram na membrana são provenientes da biblioteca de cDNA, assim espera-se que a membrana apresente as mesmas porcentagens relativas de clones celulares (25,93%), bem como de clones de toxinas (62,63%) encontrados na biblioteca. Porém a porcentagem de transcritos que não possuem sequências similares no banco de dados é quase o dobro entre os transcritos diferencialmente expressos (22%) do que nos transcritos encontrados na análise da biblioteca (11%). Considerando a baixa quantidade de sequências de não toxinas (celulares) de serpentes nos bancos de dados em contraste com o grande número de sequências de toxinas depositadas, há uma grande chance desses transcritos desconhecidos pertencerem ao grupo dos celulares.

Os clones de toxinas foram agrupados em classes (figura 38) e comparando com os dados (tabela 5) obtidos quando foi construída a biblioteca nota-se algumas diferenças na participação de cada classe de toxinas no total de transcritos.





As metaloproteases que apareciam em 4° lugar na biblioteca de cDNA do 4°dia, aparecem como a 2° classe mais representativa entre os transcritos de toxinas diferencialmente expressos entre 0 e 15 dias, as serino-proteases que apareciam em 2° na biblioteca aparecem em 3° lugar entre os diferencialmente expressos, as fofoslipases que apareciam em 5° lugar na biblioteca, aparecem em 4° entre os diferencialmente expressos, já as lectinas do tipo C continuam como a classe de toxinas mais abundantes.

Para confirmar o papel biológico dos transcritos celulares diferencialmente expressos foi feita a anotação funcional dos mesmos.

A ferramenta da web DAVID (*The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery*) (DENNIS *et al.*,2003) consiste de bancos de dados integrados e ferramentas de análises que permitem extrair o significado biológico de grandes listas de genes ou proteínas.

Como os perfis de expressão dos transcritos celulares não apresentaram substanciais diferenças a análise funcional desses transcritos foi feita em conjunto.

A ferramenta DAVID utiliza banco de dados como gene ontology(http://www.geneontology.org/),Genbank(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/GenbankSearch.html),Refseq(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq/)eKEGG

(http://www.genome.jp/kegg/pathway.html) para identificar os genes e depois os agrupa de acordo com sua função biológica.

Além de realizar a anotação funcional dos transcritos, a ferramenta analisa o enriquecimento funcional dos mesmos. Essa análise consiste em comparar a lista de genes que o pesquisador submeteu ao programa com uma lista *background* que pode ser um genoma, um banco de dados ou uma lista mais geral como o conjunto de genes presentes na lâmina de *microarray*, por exemplo. Assim o programa realiza análises estatísticas apropriadas que permitem determinar se a presença de genes envolvidos com uma determinada função ou via estão ali por acaso ou se indicam uma alteração significativa dessa função.

Os transcritos anotados são agrupados por similaridade de função biológica. Quanto menor o p-value de uma determinada classificação funcional, e maior o *score* de um determinado agrupamento, maior a probabilidade de que a função em questão esteja realmente alterada. O *score* é calculado como a média geométrica dos valores de pvalues de cada termo que faz parte do agrupamento.

Como não existe uma lista *background* para serpentes, não se tem um banco de dados grande o suficiente para ser usado como referência para a análise de enriquecimento, então optou-se por usar o genoma de *Gallus gallus*. A escolha desse organismo se deu principalmente pela grande quantidade de transcritos celulares identificados que apresentam similaridade com transcritos e proteínas desse organismo. Porém, optou-se em não utilizar os dados provenientes das análises estatísticas, já que essas foram feitas baseadas no genoma de outro organismo que não o estudado. Assim, utilizaram-se os dados da anotação pelo GO e pelo KEGG, como pode ser verificado na tabela 8 e na figura 39.



Figura 39: Representação gráfica das categorias "função molecular" e "processos biológicos" do GO e vias de sinalização do KEGG enriquecidas nos transcritos diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica na glândula de veneno de *Bothrops jararaca*. A anotação e análise de enriquecimento foi feita pela ferramenta DAVID.

Tabela 8: Anotação funcional dos transcritos celulares diferencialmente expressos na análise temporal da expressão gênica da glândula de veneno de *Bothrops jararaca*, utilizando a ferramenta DAVID.

ID	Processos Biológicos (GO)	N° de
		transcritos
GO:0006414	Elongação (tradução)	48 (16,5%)
GO:0006396	Processamento do RNA	20 (6,9%)
GO:0046907	Transporte intracelular	19 (6,5%)
GO:0015031	Transporte de proteínas	15 (5,15%)
GO:0042254	Biogêneses de ribossomos	13 (4,5%)
GO:0016071	Processos metabólicos do mRNA	10 (3,4%)
	Via do KEGG	
ko03010	Ribossomo	44 (15,1%)
ko04120	Proteólise mediada por ubiquitina	4 (1,3%)
ko03050	Proteassomo	3 (1,0%)
	Função Molecular (GO)	
GO:0003735	Constituinte estrutural do ribossomo	43 (14,8%)
GO:0005198	Molécula de atividade estrutural	49 (16,8%)
GO:0003723	Ligação ao RNA	39 (13,4%)
GO:0030528	Regulação da atividade de transcrição	12 (4,1%)
GO:0008092	Proteína ligante de citoesqueleto	8 (2,8%)
GO:0003924	Atividade de GTPase	4 (1,3%)
GO:0004842	Atividade de ligação proteína-ubiquitina	3 (1,0%)

Pode se verificar que grande parte dos transcritos estão envolvidos no processo de tradução (16,5%), processamento de RNA (6,9%) e biogênese de ribossomos (4,5%), o que está coerente com o papel que a célula está exercendo durante o período analisado que é o de produzir toxinas, os processos de transporte intracelular (6,5%) e transporte de proteínas (5,15%) estão diretamente relacionados com o processo de secreção celular.

Entre as vias predominantes estão a de biossíntese de ribossomos (15,1%), proteólise mediada por ubiquitina (1,3%) e do proteassomo (1,0%), essas duas últimas revelam a importância do controle de qualidade que ocorre durante a produção das toxinas.

Transcritos envolvidos na regulação da atividade de transcrição representam 4,1% do total, porém considerando as outras categorias é mais provável que esses transcritos estejam agindo de forma indireta no processo de transcrição.

6.3. Análise da expressão gênica diferencial em resposta aos tratamentos farmacológicos.

6.3.1. Hibridização das membranas e obtenção das imagens.

Foram feitas 9 hibridizações, contemplando todos os grupos experimentais. Houve uma melhora na qualidade das imagens obtidas quando a revelação padrão em câmara escura foi substituída pelo uso do *gel logic 2200 imaging system*, aparelho capaz de captar a emissão de fluorescência (figura 40).



Figura 40: Membrana marcada com sonda de cDNA 4 dias tratado com reserpina – animal 3. Tempo de exposição 1h30min.

6.3.2. Normalização dos dados.

Para normalizar os dados utilizou-se o método vsn (HUBER et al., 2002) que também faz parte do pacote Limma/R (Figuras 41 e 42).



Figura 41: Diagrama de caixas (bloxplots) dos dados antes de serem normalizados.



Figura 42: Diagrama de caixas (bloxplots) dos dados após de serem normalizados com o método *vsn*.

6.3.3. Identificação dos transcritos diferencialmente expressos na glândula de veneno sob diferentes tratamentos.

Comparou-se a expressão da condição controle, 4 dias sem tratamento (4d), com as condições tratadas, 4 dias tratado com reserpina (4dR) e 4 dias tratado com reserpina e agonistas dos adrenoceptores α e β (4dA).

Na comparação da glândula controle (4d), com a glândula tratada com reserpina e agonistas dos adrenoceptores α e β (4dA) foram encontrados 140 clones diferencialmente expressos (p-value < 0,001), sendo que, 93 clones apresentaram sua expressão aumentada na glândula tratada com reserpina e agonistas dos adrenoceptores α e β (4dA) e 47 clones apresentaram sua expressão reduzida na glândula 4dA.

Todos os clones foram sequenciados e após tratamento com *Vector NTI* $Advance^{TM}$ 10 (Invitrogen) restaram 127 sequências que foram submetidas ao programa Blast2go. Dessas sequências, 104 foram identificadas e 23 não apresentaram similaridade com nenhuma outra sequência do banco de dados (*no hits*).

Entre os transcritos identificados, 28 são transcritos celulares e 76 são toxinas, entre os transcritos com expressão reduzida na glândula 4dA, têm-se que, 10 são transcritos celulares e 27 são toxinas, entre os transcritos com expressão aumentada na glândula 4dA têm-se que, 18 são transcritos celulares e 49 são toxinas.

Na análise da expressão gênica diferencial em glândula de veneno tratada com reserpina (4dR) foram encontrados 99 clones diferencialmente expressos, 53 clones apresentaram expressão aumentada na glândula tratada com reserpina e 46 clones apresentaram expressão diminuída. Todos os clones foram sequenciados e após tratamento das sequências restaram 94 sequências que foram identificadas através da ferramenta BlastX/BlastN.

Entre os transcritos mais expressos em glândula tratada com reserpina (4dR), 15 são transcritos celulares e 27 são transcritos de toxinas, entre os transcritos menos expressos em glândula 4dR, 12 são transcritos celulares e 22 são transcritos de toxinas.



Figura 43: Gráfico representando o número de transcritos celulares e toxinas *upregulated* na glândula de 4 dias tratada com reserpina (4dR) e na glândula de 4 dias tratada com reserpina e agonistas dos adrenocpetores α e β (4dA).

Na figura 43 estão representados os transcritos celulares e toxinas com expressão aumentada na glândula 4dA e na glândula 4dR. Pode-se verificar que o número de transcritos celulares é quase o mesmo nas duas condições, porém o número de toxinas é quase o dobro na glândula 4dA, a reserpina foi descrita como um potente inibidor da produção de veneno na glândula de veneno de *Bothrops jararaca* (YAMANOUYE *et al.*, 1997), assim, esperava-se que essa inibição fosse total e nenhum traço de toxina fosse encontrado na glândula.

Comparando o perfil de expressão de toxinas entre os transcritos mais expressos em glândula 4dR (figura 44) e entre os transcritos menos expressos (figura 45) encontram-se poucas diferenças.



Figura 44: Gráfico representando as classes de toxinas com expressão aumentada em glândulas de 4 dias tratadas com reserpina (4dR). Classe de toxinas/Total de toxinas.



Figura 45: Gráfico representando as classes de toxinas com expressão diminuída em glândulas de 4 dias tratadas com reserpina (4dR). Classe de toxinas/Total de toxinas.

Nos dois conjuntos de dados a classe de lectinas do tipo C é a mais abundante correspondendo a 31% e 27%, respectivamente, do total de toxinas, seguida das metaloproteases com 19% e 23%, respectivamente. As fosfolipases correspondem a 19% dos transcritos de toxinas mais expressos na glândula 4dR enquanto representam apenas 5% dos transcritos menos expressos, situação semelhante é a das serino-proteases que correspondem a 23% dos transcritos de toxinas mais expressos. Diferença menor apresentam as BPPs,

correspondendo a 15% dos transcritos de toxinas mais expressos e 9% dos transcritos de toxinas menos expressos, VEGF não foi encontrada entre os mais expressos e representa 5% dos transcritos de toxinas menos expressos.

A princípio pode-se afirmar que nenhuma classe de toxina é totalmente inibida na condição tratada com reserpina (4dR), mesmo o VEGF que não aparece entre os transcritos mais expressos, possui apenas um transcrito entre os menos expressos, sendo difícil fazer qualquer afirmação a respeito da sua produção ou não na glândula tratada com reserpina.

Os transcritos celulares foram anotados manualmente usando a ferramenta QuickGO (http://www.ebi.ac.uk/QuickGO/), os transcritos que pertenciam a uma mesma categoria do GO foram agrupados. Para determinar o perfil funcional da glândula foram consideradas apenas as categorias com dois ou mais transcritos (tabela 9). **Tabela 9:** Categorias funcionais dos transcritos que apresentaram aumento na expressão na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina. Cada transcrito pode ser classificado em mais de uma categoria funcional. Os valores em porcentagem se referem ao total de transcritos da categoria/total de transcritos celulares.

ID	Componente Celular	n° de transcritos
GO:0005840	Ribossomo	4 (26,7%)
GO:0016020	Membrana	4 (26,7%)
GO:0005737	Citoplasma	3 (20,0%)
GO:0005622	Intracelular	3 (20,0%)
GO:0030529	Complexo ribonucléico	3 (20,0%)
GO:0016021	Integral da membrana	2 (13,3%)
GO:0005886	Membrana plasmática	2 (13,3%)
	Função Molecular	
GO:0009055	Atividade de transportador de elétrons	4 (26,7%)
GO:0016491	Atividade de oxidorredutase	4 (26,7%)
GO:0003735	Constituinte estrutural do ribossomo	4 (26,7%)
GO:0046872	Ligação a íon metálico	3 (20,0%)
GO:0051539	4 iron, 4 sulfur cluster binding	2 (13,3%)
GO:0005524	Ligação a ATP	2 (13,3%)
GO:0016787	Atividade de hidrolase	2 (13,3%)
GO:0051536	iron-sulfur cluster binding	2 (13,3%)
GO:0016853	Atividade de isomerase	2 (13,3%)
GO:0008137	Atividade de NADH desidrogenase (ubiquinona)	2 (13,3%)
GO:0000166	Ligação a nucleotídeo	2 (13,3%)
GO:0005515	Ligação a proteína	2 (13,3%)
GO:0015035	Atividade de oxidorredutase de proteína dissulfeto	2 (13,3%)
	Processo Biológico	
GO:0006412	Tradução	3 (20,0%)
GO:0042773	Transporte de elétron acoplado a síntese de ATP	2 (13,3%)
GO:0045454	Homeostase redox celular	2 (13,3%)
GO:0055114	Processo de redução oxidativa	2 (13,3%)

Na tabela 9 pode-se verificar que a maior parte dos transcritos que apresentaram aumento na expressão na glândula 4dR estão relacionados ao processo de tradução (ribossomo -26,7%; complexo ribonucléico -20,0%; constituinte estrutural do ribossomo -26,7%; tradução -20,0%), ao processo de metabolismo energético

Resultados

(atividade de transportador de elétrons – 26,7%; atividade de oxidorredutase – 26,7%; ligação a íon metálico - 20,0%; atividade de NADH desidrogenase (ubiquinona) -13,3%; transporte de elétron acoplado a síntese de ATP - 13,3%; processo de redução oxidativa - 13,3%) e em menor escala ao processamento de proteínas no retículo endoplasmático (atividade de isomerase - 13,3%; atividade oxidorredutase de proteína dissulfeto -13,3%; homeostase redox celular -13,3%).

Tabela 10: Categorias funcionais dos transcritos que apresentaram diminuição na expressão na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina. Cada transcrito pode ser classificado em mais de uma categoria funcional. Os valores em porcentagem se referem ao total de transcritos da categoria/total de transcritos celulares.

ID	Componente Celular	n° de transcritos
GQ:0005737	Citoplasma	4 (33.3%)
GO:0005783	Retículo endoplasmático	3 (25.0%)
GO:0005622	Intracelular	2 (16.7%)
GO:0005634	Núcleo	2 (16,7%)
GO:0030529	Complexo ribonucléico	2 (16,7%)
GO:0005840	Ribossomo	2 (16,7%)
	Funções Moleculares	
GO:0009055	Atividade de transportador de elétrons	3 (25,0%)
GO:0016853	Atividade de isomerase	3 (25,0%)
GO:0003729	Ligação ao mRNA	3 (25,0%)
GO:0015035	Atividade de oxidorredutase de proteína dissulfeto	3 (25,0%)
GO:0005509	Ligação a íon cálcio	2 (16,7%)
GO:0003677	Ligação ao DNA	2 (16,7%)
GO:0016491	Atividade de oxidorredutase	2 (16,7%)
GO:0005515	Ligação a proteína	2 (16,7%)
GO:0003723	Ligação ao RNA	2 (16,7%)
GO: 0043565	Ligação a sequência específica do DNA	2 (16,7%)
GO:0003735	Constituinte estrutural do ribossomo	2 (16,7%)
	Processos biológicos	
GO:0045454	Homeostase redox celular	3 (25,0%)
GO:0017148	Regulação negativa da tradução	2 (16,7%)
GO:0006355	Regulação da transcrição DNA dependente	2 (16,7%)
GO:0006412	Tradução	2 (16,7%)

As categorias anotadas do GO dos transcritos menos expressos na glândula 4dR estão representados na tabela 10. Pode-se perceber que são predominantes as categorias relacionadas ao processamento pós-traducional (retículo endoplasmático – 25,0%; atividade de isomerase – 25,0%; atividade de oxidorredutase de proteína dissulfeto – 25,0%; ligação a proteína – 16,7%; ligação a íon cálcio – 16,7%; homeostase celular redox – 25,0%, regulação negativa da tradução – 16,7%), transcrição (ligação ao DNA – 16,7%; ligação a sequência específica do DNA – 16,7%; regulação da transcrição DNA dependente – 16,7%) e tradução (complexo ribonucléico - 16,7%; ribossomo – 16,7%; ligação ao RNA – 16,7%; constituinte estrutural do ribossomo – 16,7%; tradução – 16,7%).

Esses resultados sugerem que o processo de tradução não é afetado pelo bloqueio da atividade simpática.

Foi feita a análise dos transcritos celulares diferencialmente expressos na glândula de veneno tratada com reserpina e com os agonistas do adrenoceptores α e β , a fim de identificar quais funções celulares se destacam quando há o estímulo direto da atividade simpática.

Tabela 11: Categorias funcionais dos transcritos que apresentaram aumento na expressão na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina e agonistas dos adrenoceptores $\alpha \in \beta$. Cada transcrito pode ser classificado em mais de uma categoria funcional. Os valores em porcentagem se referem ao total de transcritos da categoria/total de transcritos celulares.

ID	Componente Celular	N° de transcritos
GO:0005783	Retículo endoplasmático	5 (27,8%)
GO:0005737	Citoplasma	3 (16,7%)
GO:0005789	Membrana do retículo endoplasmático	2 (11,1%)
GO:0005886	Membrana plasmática	2 (11,1%)
GO:0030529	Complexo ribonucleoprotéico	2 (11,1%)
GO:0005840	Ribossomo	2 (11,1%)
	Função Molecular	
GO:0000166	Ligação a nucleotídeo	5 (27,8%)
GO:0016853	Atividade de isomerase	4 (22,2%)
GO:0003723	Ligação a RNA	4 (22,2%)
GO:0005524	Ligação a ATP	3 (16,7%)
GO:0009055	Atividade de carregador de elétron	3 (16,7%)
GO:0015035	Atividade de oxidorredutase de proteína dissulfeto	3 (16,7%)
GO:0003735	Constituinte estrutural do ribossomo	3 (16,7%)
GO:0046872	Ligação a íon metálico	2 (11,1%)
	Processo Biológico	
GO:0045454	Homeostase redox celular	4 (22,2%)
GO:0006662	Processo metabólico de éter de glicerol	3 (16,7%)
GO:0006457	Enovelamento de proteínas	2 (11,1%)
GO:0006412	Tradução	2 (11,1%)

 homeostase redox celular – 22,2%), ao processo de tradução (ligação a nucleotídeo – 27,8%; ligação a RNA – 22,2%; constituinte estrutural do ribossomo – 16,7%) e a tradução (tradução – 11,1%).

Tabela 12: Categorias funcionais dos transcritos que apresentaram diminuição na expressão na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina e agonistas dos adrenoceptores α e β . Cada transcrito pode ser classificado em mais de uma categoria funcional. Os valores em porcentagem se referem ao total de transcritos da categoria/total de transcritos celulares.

ID	Componente Celular	n° de transcritos
GO:0005634	núcleo	3 (30,0%)
GO:0005737	citoplasma	2 (20,0%)
GO:0005743	membrana interna da mitocondria	2 (20,0%)
	Função Molecular	
GO:0046872	ligação a íon metálico	3 (30,0%)
GO:0005515	ligação a proteína	3 (30,0%)
GO:0003677	ligação ao DNA	2 (20,0%)
GO:0004450	atividade isocitrato desidrogenase (NADP+)	2 (20,0%)
GO:0000287	ligação a magnésio iônico	2 (20,0%)
GO:0051287	ligação a NAD	2 (20,0%)
GO:0016491	atividade de oxidorredução	2 (20,0%)
GO:0008270	ligação a zinco iônico	2 (20,0%)
	Processo biológico	
GO:0006102	processo metabólico de isocitrato	2 (20,0%)
GO:0055114	redução oxidativa	2 (20,0%)
GO:0006355	regulação da transcrição, DNA dependente	2 (20,0%)
GO:0006351	transcrição, DNA dependente	2 (20,0%)
GO:0006099	ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs)	2 (20,0%)

A maior parte dos transcritos com expressão diminuída na glândula 4dA, participa de processos relacionados ao metabolismo energético (processo metabólico de isocitrato -20,0%; redução oxidativa -20,0%; ciclo de Krebs -20,0%), bem como o processo de transcrição (regulação da transcrição, DNA dependente -20,0%).

Na glândula 4dA a diferença entre os transcritos com expressão aumentada e os transcritos com expressão reduzida é bem clara, funções como tradução e enovelamento protéico são predominantes no primeiro grupo, enquanto transcrição e metabolismo energético são predominantes entre os menos expressos.

A glândula 4dA apresenta um padrão diferente do encontrado na glândula 4dR, enquanto a primeira apresenta uma clara diferença entre os transcritos mais expressos e os menos expressos, a segunda apresenta sobreposições de funções, entre os transcritos mais expressos e os transcritos menos expressos, que impedem qualquer conclusão a respeito dos processos celulares afetados. Porém fica claro que as toxinas estão sendo transcritas, assim para determinar o que impede que essas toxinas sejam secretadas foi feita a análise de expressão gênica de proteínas envolvidas nos processos de transcrição, tradução, enovelamento protéico e secreção por PCR em tempo real.

6.4. Análise da expressão gênica por PCR quantitativo em tempo real (qPCR).

6.4.1. Escolha do gene de referência para análise da expressão gênica por qPCR na glândula de veneno de Bothrops jararaca.

Poucos trabalhos utilizam o PCR quantitativo em tempo real para a análise de expressão gênica de glândula de veneno de serpentes, portanto foi necessário determinar experimentalmente qual gene poderia ser usado como controle nos experimentos de qPCR, os candidatos foram escolhidos entre os genes mais usados em trabalhos de qPCR em células de mamíferos (beta actina, beta-2-microglobulina, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, hidroximetilbilano sintase, hipoxantina fosforibosil transferase I, proteína ribossomal L13a, succinato desidrogenase subunidade A, proteína de ligação ao TATA box, Ubiquitina C, tirosina 3-monooxigenase/triptofano 5-monooxigenase proteína de ativação, polipeptídeo zeta). Foi feita uma busca no banco de dados de ESTs do laboratório e do NCBI por ESTs de *Bothrops jararaca* que apresentassem alta similaridade aos genes candidatos.

Foram encontradas sequências depositadas pelo grupo que publicou o transcriptoma da *B.jararaca* (CIDADE *et al.*,2006) que apresentaram alta similariade ao gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH), n° acesso no *genbank* DW713269.1, à tirosina 3-monooxigenase/triptofano 5-monooxigenase proteína de ativação, polipeptídeo zeta (YWHAZ), n° de acesso no *genbank* DW712942.1 e à Ubiquitina C (UBC), n° de acesso no *genbank* DW713811.1, também foi encontrada uma sequência de *Lachesis muta* similar a beta-actina (ACTB), n° acesso no *genbank* DY403299.1. Como o gênero *Lachesis* pertence a mesma família do gênero *Bothrops* e a beta-actina é um gene muito conservado mesmo entre espécies distantes, decidiu-se utilizar a sequência encontrada como base para construção dos oligonucleotídeos iniciadores.

Para a construção dos oligos utilizou-se a ferramenta *Primer-Blast* do NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/). Essa ferramenta permite construir oligos específicos, pois compara as sequências sugeridas às sequências depositadas em seu banco de dados, diminuindo assim a chance de amplificações inespecíficas.

Para confirmar se o oligo estava amplificando de forma específica foi realizada uma reação de PCR simples.

Nas figuras 46 e 47 pode-se verificar que a reação de PCR gerou um único *amplicon* e do tamanho esperado.



Figura 46: Eletroforese de DNA em gel de agarose 1.2% da reação de PCR da β -actina. Marcador de 100pb (Invitrogen) (a). fragmento de 63pb de β -actina (b) e (c) . oligos (d).


Figura 47: Eletroforese de DNA em gel de agarose 1.2% da reação de PCR de GAPDH, Ubiquitina C e YWHAZ. Marcador de 25 pb (Invitrogen) (a). Fragmento de 77pb de GAPDH (b). Fragmento de 60pb de Ubiquitina C (c). Fragmento de 76pb de YWHAZ (d). oligos (e).

Para definir o gene controle mais apropriado, foram utilizadas as ferramentas geNorm (VANDESOMPELE *et al.*, 2002) e NormFinder (ANDERSEN *et al.*, 2004).

A ferramenta geNorm se baseia no princípio que a razão da expressão de dois genes controles ideais é idêntica em todas as amostras, independentemente da condição experimental e do tipo celular. A variação na razão de dois genes constitutivos reais reflete o fato de que um (ou ambos) os genes é (são) expressos de forma não constante, com o aumento da variação na razão correspondendo a redução na estabilidade de expressão.

Assim, o geNorm utiliza os dados relativos a expressão gênica obtidos por PCR quantitativo em tempo real (Δ ct) e calcula de forma pareada a razão de cada gene controle com todos os outros controles, o desvio padrão entre essas razões é transformado logaríticamente e esse é definido como variação pareada padrão, ou medida M. Genes com os menores valores de M (M<1,5) possuem a expressão mais estável.

Partindo de 4 genes candidatos (ubiquitina, GAPDH, YWHAZ e actina) foi feita a primeira análise com o geNorm e a Ubiquitina apresentou o maior valor de M (3,731). Retirando esse gene da análise a ferramenta recalcula os valores de M com os genes restantes e assim por diante. Nessa primeira análise restou o YWHAZ e a actina, porém os dois apresentavam valor de M maior que 1,5 (1,573). O problema com o gene YWHAZ foi a baixa eficiência do oligo durante a reação de qPCR. O experimento de qPCR foi refeito, bem como a análise com o geNorm e novamente não encontrou-se um par de genes que possuíssem valor de M

o YWHAZ, a actina e o GAPDH, verificou-se que a actina apresenta valores de Cts muito baixos o que indica alta expressão desse gene, como há aumento do tamanho celular da glândula durante o ciclo de produção de veneno (YAMANOUYE *et al.*, 1997) provavelmente ocorre síntese de actina durante o ciclo, o que descarta esse gene como controle para reação de qPCR. Assim, restaram como candidatos os YWHAZ e o GAPDH, devido a baixa eficiência de reação dos oligos do YWHAZ, a melhor solução seria trabalhar apenas com o GAPDH, porém antes as análises foram refeitas utilizando a ferramenta NormFinder.

A ferramenta NormFinder se baseia no uso de um modelo matemático para descrever os valores de expressão medidos pelo qPCR, análises estatísticas separadas para determinar a variação de expressão entre-grupos e intra-grupos e cálculo do "valor de estabilidade" para o gene candidato.

Na prática é necessário fornecer os dados dos Cts, o recomendado pelo grupo que criou essa ferramente é que se utilize pelo menos 8 amostras por grupo e pelo menos 3 genes candidatos, sendo que o ideal é testar de 5 a 10 genes. Como toda ferramenta estatística quanto maior o n avaliado maior a confiança nos resultados obtidos. A ferramenta analisa a variação da expressão dos genes candidatos entre réplicas experimentais (intra-grupos) e entre condições experimentais (entre-grupos) e fornece os valores de estabilidade para cada gene analisado.

Na tabela 13 encontram-se os resultados obtidos na análise do GAPDH, Ubiquitina e actina, o YWHAZ foi descartado dessa análise devido a baixa eficiência de amplificação dos oligos desenhados.

Tabela 13: Determinação de gene candidato a controle da reação de qPCR para amostras de glândula de veneno extraídas no tempo 0, 1, 2, 4 e 15 dias após a extração manual do veneno. Análise realizada através da ferramenta NormFinder.

1			
Gene name	Stability value	Best gene	GAPDH
GAPDH	0,059	Stability value	0,059
Ubiquitina	0,131		
actina	0,112	Best combination of two genes	GAPDH and Ubiquitina
		Stability value for bestcombination of two genes	0,085

Como pode-se perceber na tabela 13 o resultado da análise do NormFinder também identificou o GAPDH como o gene mais estável e portanto esse foi o escolhido para ser usado como controle em todas as reações de qPCR realizadas nesse trabalho.

6.4.2. Análise da expressão de toxinas na glândula de veneno tratada com reserpina.

Conforme descrito, a análise da expressão gênica diferencial em glândula de veneno tratada com reserpina revelou a presença de transcritos de toxinas entre os transcritos mais expressos.

A fim de confirmar os resultados obtidos foram construídos oligos para algumas das principais classes de toxinas de *Bothrops jararaca*: metaloprotease HF3 (MHF3), precursor de fator de crescimento endotelial (VEGF), fosfolipase A2 (PLPA2), botrojaracina (lectina do tipo C), Bojumet III (metaloprotease).

Como controle negativo foi utilizado em todos os experimentos uma amostra de cDNA de pâncreas de *Bothrops jararaca*.

Para todas as análises de expressão por qPCR utilizou-se as mesmas amostras de RNA utilizadas para a hibridização das membranas de macroarranjo, todos os experimentos foram repetidos pelo menos 3 vezes e os dados obtidos submetidos a normalização (WILLEMS *et al.*, 2008) antes de sofrerem análise estatística.

Apesar do objetivo da normalização ser diminuir o peso das variações individuais na análise estatística, pode-se ver pelo tamanho das barras de desvio padrão que no caso das toxinas a variação ainda se manteve muito alta. O maior problema é que valores muito altos de desvio padrão dificultam a análise de significância estatística dos dados.



Figura 48: Quantificação relativa da expressão de toxinas na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo. Significância estatística calculada por teste-t. * pvalue< 0,05 ** pvalue< 0,01.

Apesar de só dois genes terem apresentado diferença de expressão significativa (MHF3 e Bojumet III) fica claro nos resultados apresentados na figura 48 que as toxinas são expressas na glândula de 4 dias tratada com reserpina (4dR).

Enquanto fosfolipase A2, VEGF e bothrojaracina apresentam nível de expressão relativa semelhante nas duas condições, as metaloproteases parecem estar super expressas na glândula tratada com reserpina.

6.4.3. Análise da expressão gênica na glândula de veneno tratada com reserpina.

Diante do resultado inesperado, optou-se em analisar o nível de expressão de diversos genes que estivessem de alguma forma envolvidos no processo de tradução, transcrição, processamento pós-traducional e secreção na glândula de veneno. Para isso, recorreu-se ao banco de dados das análises transcriptômicas realizadas pelo grupo a fim de se identificar transcritos celulares que pudessem ser usados como base para a construção de oligos para reação de qPCR.

A especificidade de amplificação de todos os oligos foi testada em uma reação de PCR, além da análise da curva de *melting* na reação de qPCR.



Figura 49: Quantificação relativa da expressão de PKA (proteína quinase dependente de cAMP) e PKC (proteína quinase C) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo. Significância estatística calculada por teste-t.

A análise da expressão gênica da PKA (proteína quinase dependente de cAMP) e da PKC (proteína quinase C) revelou que ambas estão menos expressas na glândula tratada com reserpina.

Devido ao alto desvio padrão a diferença de expressão entre as condições 4d e 4dR não se mostrou significativa, porém o tratamento com reserpina parece reduzir a expressão de PKA e PKC (figura 49).



Figura 50: Quantificação relativa da expressão de eIF4E (*eukaryotic translation initiation factor* 4*E*), EEF1A1 (*eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1*), CPSF1 (*cleavage and polyadenylation specific factor 1*) e GTF2F2 (*general transcription factor IIF, polypeptide 2*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo. Significância estatística calculada por teste-t. . * pvalue< 0,05.

O eIF4E (*eukaryotic translation initiation factor 4E*) é um fator de iniciação da tradução que está envolvido no direcionamento dos ribossomos para a extremidade 5'dos mRNAs. Sua expressão está significativamente aumentada na glândula tratada com reserpina (figura 50). O EEF1A1 (*eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1*) é responsável pela entrega enzimática dos aminoacil-tRNA ao ribossomo. Apesar da diferença de expressão entre a glândula 4d e 4dR não ser estatísticamente significativa, pode-se afirmar que há um aumento da expressão desse gene na glândula tratada com reserpina (figura 50). Ambos resultados confirmam os dados obtidos na análise da expressão gênica, que já indicavam a regulação positiva do processo de tradução na glândula 4dR.

O CPSF1 (*cleavage and polyadenylation specific factor 1*) participa do processamento dos pré-mRNAs, reconhecendo o sinal AAUAAA no pré-mRNA e

interagindo com outras proteínas facilitando a clivagem do RNA e a síntese da cauda poli(A), segundo os resultados obtidos na análise da expressão gênica por qPCR (figura 50), sua expressão não se altera na glândula tratada com reserpina.

O fator de transcrição GTF2F2 (*general transcription factor IIF, polypeptide 2*) faz parte do complexo iniciador de transcrição que se liga ao TATA box, sua expressão aparece reduzida na glândula tratada com reserpina (figura 50), esse resultado está de acordo com os dados obtidos na análise da expressão gênica diferencial.



Figura 51: Quantificação relativa da expressão de Sar1b (*SAR1 homolog B*) e Sec23a (*Sec23 homolog A*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo. Significância estatística calculada por teste-t. . * pvalue< 0,05.

A proteína Sar1b (*SAR1 homolog B*) é uma GTPase que atua na forma de homodímero e faz parte do COPII, um complexo proteico que reveste as vesículas de transporte liberadas pelo retículo endoplasmático, Sec23a (*Sec23 homolog A*) faz parte do complexo proteico Sec23/Sec24 e também faz parte da COPII (MANCIAS & GOLDBERG, 2005). Tanto Sar1b, como Sec23a apresentam expressão aumentada na glândula tratada com reserpina (figura 51).



Figura 52: Quantificação relativa da expressão de SPCS1 (signal peptidase complex subunit 1 homolog), SPCS2 (signal peptidase complex subunit 2 homolog), SPCS3 (signal peptidase complex subunit 3 homolog) e Sec11c (SEC11 homolog C) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo. Significância estatística calculada por teste-t.

A análise da expressão gênica das subunidades do complexo da sinal peptidase revelou que não há diferença de expressão das subunidades SPCS1 (*signal peptidase complex subunit 1 homolog*) e SPCS2 (*signal peptidase complex subunit 2 homolog*) entre as condições controle (4d) e tratada com reserpina (4dR), e as subunidades SPCS3 (*signal peptidase complex subunit 3 homolog*) e Sec11c (*SEC11 homolog C*) apresentam um leve aumento de expressão na condição tratada com reserpina (4dR) (figura 52). Foi descrito que somente as subunidades SPCS3 e Sec11 são essenciais para a atividade do complexo e que mutações nesses genes são letais em leveduras (FANG *et al.*,1997).



Figura 53: Quantificação relativa da expressão de Sec61A1 (*Sec61 alpha 1 subunit*), Sec61b (*Sec61 beta subunit*), TRAP (*translocon-associated protein delta*) e TRAM1(*translocation associated membrane protein 1*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo. Significância estatística calculada por teste-t.

Também foi feita a análise da expressão de genes que codificam proteínas constituintes do complexo translocon. O translocon é composto por diversas proteínas de membrana do retículo endoplasmático que associadas formam um poro aquoso pelo qual proteínas de secreção e proteínas de membrana passam do citoplasma para o lúmen do retículo endoplasmático (JOHNSON & VAN WAES, 1999).

A subunidade do complexo Sec61, Sec61α1 (*Sec61 alpha 1 subunit*) apresentou um ligeiro aumento de expressão na condição tratada com reserpina (4dR), enquanto a subunidade Sec61β (*Sec61 beta subunit*) não apresentou diferença de expressão entre as duas condições (figura 53).

A TRAP (*translocon-associated protein delta*) é um componente integral do translocon que atua facilitando o transporte de algumas proteínas específicas para o lúmen do retículo endoplasmático (FONS *et al.*,2003), além disso, participa da via de

degradação associada ao retículo endoplasmático (ERAD), identificando proteínas desenoveladas e auxiliando seu transporte do retículo endoplasmático para o citosol (NAGASAWA *et al.*, 2007). Os níveis de expressão de TRAP na condição controle (4d) e na condição tratada com reserpina (4dR) não apresentaram diferenças (figura 53).

O nível de expressão de TRAM (*translocation associated membrane protein 1*) na condição tratada com reserpina (4dR) é substancialmente maior do que na condição controle (4d) (figura 53). A TRAM é componente do translocon e necessária para o transporte da maior parte dos substratos para o lúmen do retículo (FONS *et al.*, 2003), e possui importante papel na via de degradação associada ao retículo endoplasmático associada a proteína Derlin-1 realiza o transporte de proteínas desenoveladas do retículo endoplasmático para serem degradadas no citosol pelo proteassomo 26s (WANG *et al.*, 2008).



Figura 54: Quantificação relativa da expressão de calg (calglandulina), KDELR (KDEL (*Lys-Asp-Glu-Leu*) endoplasmic reticulum protein retention receptor), dctn1 (*dynactin 1*) e PSMD3 (*proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 3*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo. Significância estatística calculada por teste-t.

A calglandulina é uma proteína da família das *EF-hand protein*, exclusiva da glândula de veneno, que possui alta similaridade a calmodulina, o que pode indicar funções semelhantes entre as duas proteínas e que ela pode desempenhar importante papel no processo de secreção de toxinas na glândula de veneno (JUNQUEIRA DE AZEVEDO *et al.*, 2003). A expressão da calglandulina está levemente reduzida (figura 54) na glândula tratada com reserpina (4dR). Outra proteína importante no processo de secreção é a dinactina, ela se liga tanto aos microtúbulos como a proteína citoplasmática dineína, como pode se verificar na figura 54, a expressão da dinactina 1 permanece inalterada nas duas condições.

O receptor KDEL reconhece proteínas com o motivo KDEL em seus Cterminais, promovendo seus transportes retrógrados do Golgi para o retículo endoplasmático. Além disso, o KDELR desempenha um importante papel no controle de qualidade do retículo endoplasmático. Muitas das proteínas com a sequência KDEL são importante chaperonas, como calnexina, BiP e PDI (*protein disulfide isomerase*). O transporte retrógrado dessas chaperonas promove o retorno de proteínas desenoveladas ao retículo para serem corretamente enoveladas ou encaminhadas a via de degradação associada ao retículo (ERAD) e sua expressão é aumentada em resposta ao estresse de retículo endoplasmático (WANG *et al.*, 2011). Apesar de não ser estatísticamente significativa (figura 54) a expressão do receptor KDEL parece ser maior na glândula tratada com reserpina (4dR) do que na glândula controle (4d).

A expressão da PSMD3 *proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 3*) (figura 54), subunidade não-ATPásica do regulador 19s do proteassomo, está levemente aumentada na glândula tratada com reserpina (4dR).



Figura 55: Quantificação relativa da expressão de PDI (*protein disulfide isomerase*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo. Significância estatística calculada por teste-t.

Foi feita, também, a análise da expressão gênica de uma importante chaperona, a PDI (figura 55). A PDI é a principal oxidante de cisteína no retículo endoplasmático e uma das proteínas mais abundantes do retículo, seu papel de formar, quebrar e rearranjar as pontes dissulfeto é de especial importância na glândula de veneno, visto a grande quantidade de toxinas que possuem essas estruturas. Além do papel no enovelamento proteico a PDI também possui importante papel na via de degradação associada ao retículo endoplasmático (ERAD) reconhecendo proteínas irreparavelmente desenoveladas e marcando-as para que elas sejam retrotransportadas para o citosol a fim de serem poliubiquitinadas e degradadas (APPENZELLER-HERZOG & ELLGAARD, 2008). Pode-se ver na figura 55 que a expressão da PDI está consideravelmente maior na glândula tratada com reserpina (4dR).



Figura 56: Quantificação relativa da expressão de CBP (*CREB binding protein*) na glândula de veneno de 4 dias (4d) e na glândula de veneno de 4dias tratada com reserpina (4dR) através do método de $-\Delta\Delta^{CT}$ com GAPDH usado como gene constitutivo. Significância estatística calculada por teste-t.

Também foi feita a análise da expressão gênica da CBP (*CREB binding protein*) (figura 56), um co-ativador transcricional do fator de transcrição CREB (*cAMP-response element binding protein*). A fosforilação de CREB na Ser133 recruta CBP, o complexo formado por CBP e CREB ativa a transcrição de genes responsivos a cAMP, ligando-se a uma região conservada denominada elemento responsivo a cAMP (CRE) (MAYR & MONTMINY, 2001).

Sabe-se que CREB é fosforilado por PKA (MARKOU *et al.*, 2004) e que CrebA/Creb3-like regulam a expressão de genes da via secretória em glândula salivar de Drosófila (ABRAMS & ANDREW, 2005; FOX *et al.*, 2010). A fosforilação de CREB por PKA está relacionado a ativação da secreção em glândula parótida de camundongos (YAMADA *et al.*, 2006). Pode-se verificar na figura 56 que a expressão de CBP está reduzida na glândula tratada com reserpina.

6.5. Sequenciamento de nova geração (RNA-seq).

A metodologia de sequenciamento em larga escala é uma ferramenta poderosa para análise transcriptômica. A capacidade de gerar uma quantidade enorme de sequências (cerca de um milhão de *reads* na plataforma 454 Roche) associada à análise qualitativa que permite determinar os níveis de expressão de cada gene sequenciado tornam essa metodologia de extrema valia para análise de expressão gênica em

organismos sem genoma sequenciado, o caso da *B. jararaca*. Assim foi feito o sequenciamento de uma glândula de veneno de 4 dias (4d) e uma glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR) a fim de caracterizar o perfil transcriptômico de cada situação e identificar os transcritos mais e menos expressos na glândula de veneno 4dR.

O sequenciamento gerou 215.875 *reads* da glândula controle (4d) e 167.043 *reads* da glândula tratada com reserpina (4dR), as sequências foram tratadas com o software *CLC Genomics Workbench* para eliminação da sequência do adaptador e das regiões da baixa qualidade, além da eliminação das sequências de RNAr, restando 147.712 (68,42%) *reads* de glândula 4d e 104.516 (62,57%) *reads* de glândula 4dR.

As *reads* foram agrupadas em 1385 *contigs* de glândula 4d e 1667 *contigs* de glândula 4dR. A glândula normal (4d) apresentou a média de 15,4 *reads* por *contig*, enquanto a glândula reserpinada (4dR) apresentou a média de 21,1 *reads* por *contig*.

A identificação dos *contigs* foi feita pelo programa Blast2go, primeiro as toxinas foram identificadas através de BlastX e BlastN contra um banco de dados compilado pelo nosso laboratório, em seguida as não-toxinas (celulares) foram identificados por BlastX e BlastN.

Foram identificados 781 *contigs* da glândula 4d, 89 (11,4%) *contigs* de toxinas, 652 (83,5%) *contigs* de celulares e 40 (5,1%) *contigs* de retrotransposons. No transcriptoma da glândula 4dR foram identificados 916 *contigs*, 99 (10,8%) *contigs* de toxinas, 767 (83,74%) *contigs* de celulares e 50 (5,46%) de retrotransposons.

Na figura 57 estão as porcentagens relativas de cada categoria funcional do transcriptoma, essa porcentagem foi calculada levando em consideração o número do total de *reads* mapeadas em cada categoria em relação ao total de *reads* mapeadas nos *contigs* identificados. Pode-se perceber que há pouca diferença quantitativa entre os dois transcriptomas, no transcriptoma de 4dR as toxinas aparecem com representação semelhante a encontrada no transcriptoma de 4d, corroborando os dados encontrados na análise por macroarranjos.



Figura 57: Dados do transcriptoma de glândula de veneno de 4 dias (4d) e glândula de veneno de 4 dias reserpinada (4dR). Porcentagem calculada em relação ao tamanho do total de *reads* mapeadas nas categorias, *toxins*, *no hit*, *retrotransposons*, *cellular* pelo tamanho total de todas as *reads* mapeadas em todas as categorias.

Analisando as classes de toxinas presentes em cada transcriptoma (figura 58) não se encontram diferenças entre as duas condições.

Metalloproteinase	Serine proteinase	Natriuretic Peptide	C-type lectin	phospholipase A2	L-aminoacid ox.	SVVEGF	Crisp	SVNGF	phospholipase B	Aminopepdidase	Dipeptidilpeptidase						
53,54%	30,93%	0,29%	11,70%	0,26%	0,10%	0,08%	0,02%	2,33%	0,18%	0,13%	0,44%	н					



Figura 58: Classes de toxinas encontradas na análise transcriptômica da glândula de veneno de 4 dias (4d) e glândula de veneno de 4 dias reserpinada (4dR). Porcentagem calculada em relação ao tamanho do total de *reads* mapeadas nas classes pelo tamanho total de todas as *reads* mapeadas nessa categoria.

4d

Os dados da análise transcriptômica por RNA-seq estão de acordo com os dados da análise da expressão gênica por macroarranjos que mostram que não há inibição da síntese de toxinas na glândula de veneno quando a atividade simpática é inibida.

Também foi feita a análise da expressão gênica diferencial entre as duas condições.

Foram identificados quatro grupos distintos, genes que apresentaram sua expressão aumentada na glândula 4dR, genes que tiveram sua expressão reduzida em 4dR, genes cuja expressão foi detectada somente na glândula 4dR e genes cuja expressão só foi detectada na glândula 4d, esses dois últimos grupos foram denominados "exclusivos" de cada condição.

Foram selecionados como diferencialmente expressos genes cuja diferença de expressão apresentava um valor de p-value menor que 5% (p-value <0,05).

Os genes selecionados como diferencialmente expressos, bem como os genes "exclusivos" foram submetidos à análise de enriquecimento de termos do GO no programa Blast2go. Foram consideradas enriquecidas as categorias que apresentaram p-value menor a 5% (p-value<0,05).



Figura 59: Categorias do GO enriquecidas entre os genes cuja expressão está aumentada na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR). Representação gráfica dos 10 termos com menor p-value nas categorias "Função Molecular" e "Processos Biológicos".

Na figura 59 temos a representação gráfica dos 10 termos enriquecidos com maior significância estatística nas categorias "Função Molecular" e "Processos Biológicos" do GO.

É evidente a predominância de transcritos envolvidos nos processos de tradução e resposta a acúmulo de proteínas desenoveladas no lúmen do retículo (UPR - *unfolded protein response*). Um dos maiores indícios de o processo de resposta ao acúmulo de proteínas desenoveladas (UPR) pode estar ativado na glândula 4dR é a presença do transcrito do gene XBP1 (*fold change* = 2,1) entre os transcritos *up-regulated* na

glândula 4dR. O XBP1 sofre um *splicing* não convencional catalisado pela IRE1α (Ser/Thr proteína quinase e endoribonuclease) iniciando a via de sinalização mais conservada para UPR (CALFON *et al.*, 2002; HETZ *et al.*, 2011).



Figura 60: Categorias do GO enriquecidas entre os genes cuja expressão está reduzida na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR). Representação gráfica dos 10 termos com menor p-value nas categorias "Função Molecular" e "Processos Biológicos".

Na figura 60 estão representados os termos enriquecidos entre os genes com expressão reduzida em 4dR. Percebe-se claramente que transcritos envolvidos nos processos envolvendo a organização das vesículas de secreção são a maioria entre os menos expressos na glândula 4dR. Entre esses transcritos encontram-se o PTEN

(fosfatidil-inositol-3,4,5-trifosfato 3-fosfatase), uma fosfatase que atua regulando negativamente os níveis de fosfatidil-inositol 3-fosfato (PtdIns-3-P), o PICALM (*phosphatidylinositol clathrin assembly protein*), cuja proteína tem papel fundamental na formação de vesículas secretoras recrutando a clatrina e a proteína adaptadora complexo 2 (AP2), e a PACSIN3 (*protein kinase C and casein kinase substrate in neurons 3*) que participa da transporte de vesículas recrutando a actina.



Figura 61: Categorias do GO enriquecidas entre os genes expressos somente na glândula de veneno de 4 dias (4d). Representação gráfica dos 10 termos com menor p-value nas categorias "Função Molecular" e "Processos Biológicos".

Entre os genes, cujos transcritos foram encontrados somente na glândula 4d (figura 61), a análise de enriquecimento revelou que o principal processo celular é a secreção de fluído, entre os genes encontram-se a aquoporina 5 (AQP5), um canal de água que participa do processo de secreção da saliva, lágrima e secreções pulmonares. Também estão presentes genes que codificam para proteínas que participam do processo de formação de vesículas em resposta ao recrutamento pelas proteínas Rab (*Rasassociated binding proteins*), reguladores chave do processo de transporte por vesículas (SEGEV, 2011).



Figura 62: Categorias do GO enriquecidas entre os genes expressos somente na glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR). Representação gráfica dos 10 termos com menor p-value nas categorias "Função Molecular" e "Processos Biológicos".

Entre os genes, cujos transcritos foram encontrados somente na glândula 4dR (figura 62) os processos envolvendo a formação de endossomo e secreção são destaque. ANXA2 e ANXA6 são proteínas que se ligam a Rab e participam do processo de formação de vesículas de secreção, além da Rab5b, proteína encontrada na membrana do endossomo inicial (SEGEV, 2011), e do gene para Akt1 (*v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1*), uma serina-treonina quinase que atua na formação de vesículas fosforilando efetores da Rab5 (MCLAUGHLIN *et al.*, 2008).

Também encontram-se genes que codificam para chaperonas, Dnaj(Hsp40)C e Erp29 (*endoplasmic reticulum protein 29*), e genes responsivos a estresse do retículo endoplasmático, como o Erp18 (*thioredoxin domain containing 12 - endoplasmic reticulum*) (JEONG *et al.*, 2008).

Tanto a glândula 4d como a glândula 4dR expressam proteínas família das Rab GTPases, genes para as proteínas Rab1a, Rab2a e Rab5b aparecem como exclusivos na glândula 4dR, enquanto Rab11b, Rab24 e Rab7a aparecem como exclusivos da glândula 4d. Dessas, somente a isoforma Rab11b parece estar envolvida com a regulação da secreção (FUKUDA, 2008).

7. Discussão

7.1. Análise Temporal da Expressão Gênica.

A biblioteca de cDNA da glândula de veneno de macho da qual foram retirados os clones para a construção dos *arrays* apresentou 70,72% de transcritos de toxinas e 29,28% de transcritos celulares (tabela 4), dessa forma espera-se que essa porcentagem esteja mantida na membrana. Assim, foram construídos 12 *arrays* idênticos em membranas de náilon com 4608 clones de uma biblioteca de cDNA construída a partir da glândula de veneno de 4 dias (figuras 14 e 15). Cinco tempos foram analisados: o dia 0 (0d), dia 1 (1d), dia 2 (2d), dia 4 (4d) e dia 15 (15d) (seção 5.4.1).

Como o objetivo do trabalho era identificar os transcritos celulares envolvidos no processo de produção do veneno, optamos por usar um critério menos rígido para selecionar os clones diferencialmente expressos com o intuito de se obter um número maior de transcritos celulares. Dessa forma utilizamos o *fold change* como critério de seleção dos clones, que apesar de aumentar as chances de falsos positivos, permitiu que fossem selecionados em grande número de clones com alguma confiança estatística. A análise da expressão gênica diferencial identificou então 1987 clones cuja variação da expressão apresentou *fold change* >2 em pelo menos um dos dias analisados.

Os clones selecionados foram submetidos à ferramenta STEM (*short time-series expression miner*), resultando em 1216 clones agrupados em 5 perfis de expressão gênica (figuras 25 e 26), esses clones foram sequenciados, identificados e foi feita nova análise separando-se os transcritos celulares das toxinas. Observou-se que tanto os transcritos celulares como as toxinas compartilham o mesmo padrão de expressão, com o pico de expressão ocorrendo no 2° dia do ciclo (figuras 28, 29, 30, 31, 33, 34, 35 e 36). Também verificamos que as toxinas são produzidas desde o início do ciclo, sendo encontradas inclusive no tempo zero.

A identificação dos clones sequenciados revelou que grande parte dos transcritos celulares participa do processo de tradução, correspondendo principalmente à proteínas ribossomais (23% do total de transcritos celulares).

Assim, uma primeira dedução que podemos obter desta análise é que o processo iniciado com a saída de veneno do lúmen ativa não só a transcrição de toxinas como a de componentes celulares necessários para a produção dessas toxinas.

De Lucca (DE LUCCA & IMAIZUMI, 1972), demonstrou que cerca de 6h após a extração manual do veneno em serpentes da espécie *Crotalus durissus terrificus* ocorria o pico de síntese de RNA. Recentemente foi demonstrado que a ativação do fator de transcrição NFκβ ocorre cerca de 30 minutos após a extração manual do veneno em fêmeas e após 60 minutos no macho e também que a ativação do fator de transcrição AP1 ocorre cerca de 60 minutos após a extração manual do veneno tanto em machos como em fêmeas (LUNA *et al.*, 2009), indicando que o processo de transcrição se inicia cedo na glândula. Além disso, os transcritos de toxinas podem permanecer armazenados no citoplasma (SPIRIN, 1994; ANDERSON & KEDERSHA, 2009; BAYLE-SERRES *et al.*, 2009; BUCHAN & PARKER, 2009), permitindo que ocorra uma resposta rápida de produção de veneno, o que justificaria a presença de transcritos de toxinas na glândula quiescente (0 dias).

A anotação funcional dos transcritos celulares corroborou os estudos histológicos de células secretoras de glândula de veneno de *Bothrops jararaca* (YAMANOUYE *et al.*, 1997) e *Crotalus durissus terrificus* (DE LUCCA *et al.*, 1974) que apontam o 4° dia do ciclo como pico do processo de tradução e secreção de toxinas. A maior parte dos transcritos que apresentaram alteração na expressão durante o ciclo de produção de veneno participam dos processos de tradução ou secreção. É evidente a predominância de transcritos de proteínas envolvidas na biogênese dos ribossomos (15,1%) reforçando a idéia de que no 4° dia do ciclo de produção de veneno ocorre intensa atividade sintética.

Assim, temos que, o processo de transcrição dos genes de toxinas se inicia cedo na glândula (DE LUCCA & IMAIZUMI, 1972; LUNA *et al.*, 2009), atingindo seu pico de atividade no 2° dia do ciclo. O 4° dia do ciclo, comumente usado como padrão para análises transcriptômicas é caracterizado pela intensa atividade de tradução de proteínas e pelo processo de secreção do veneno.

Uma outra importante observação é que aparentemente todas as classes de toxinas são produzidas ao mesmo tempo, pois não foi identificada nenhuma classe predominante em qualquer um dos dias analisados do ciclo.

Para se determinar com mais precisão o que ocorre em cada momento do ciclo de produção de veneno é necessário um estudo detalhado do transcriptoma da glândula em diferentes dias do ciclo, permitindo que componentes com expressão transiente durante o ciclo sejam identificados. Porém para determinar se as diferentes classes de toxinas são transcritas ao mesmo tempo, o que indicaria uma regulação comum, ou se a transcrição se inicia em momentos distintos para as diferentes classes talvez seja mais adequeada uma análise das horas iniciais do ciclo de produção de veneno.

7.2. Análise da Expressão Gênica na Glândula de Veneno de 4 dias tratada com reserpina.

Sabe-se que a saída do veneno do lúmen da glândula provoca alterações morfológicas e bioquímicas na glândula, as células passam do formato cubóide para colunar, ocorre a expansão das cisternas do retículo endoplasmático rugoso e ativação do Golgi (Figura 7) (CARNEIRO *et al.*, 1991; DE LUCCA *et al.*,1974). A inervação noradrenérgica possui um papel essencial no ciclo de produção de veneno, o estímulo do adrenoceptor α_1 nas células secretoras quiescentes provoca aumento do inositol fosfato, mobiliza cálcio das reservas intracelulares e ativa PKC e ERK (KERCHOVE *et al.*, 2008). Já o estímulo do adrenoceptor β nas células secretoras quiescentes aumenta seletivamente a produção do cAMP e a concentração de cálcio citossólico ativando canais de Ca²⁺ voltagem-dependente e ligante-dependente (YAMANOUYE *et al.*, 2000; ZABLITH, 2007).

É bem estabelecido que o bloqueio da atividade simpática pela ação da reserpina provoca diversas mudanças morfológicas e fisiológicas na glândula de veneno, o retículo endoplasmático não se encontra desenvolvido e não se encontram vesículas de secreção na região do Golgi e na região apical do citoplasma. Uma importante observação é que nesta situação de bloqueio há a ausência de veneno no lúmen da glândula (YAMANOUYE *et al.*, 1997; YAMANOUYE *et al.*, 2000; KERCHOVE *et al.*, 2004). Por sua vez, o tratamento com fenilefrina (agonista do adrenoreceptor α) e isoprenalina (agonista do adrenoreceptor β) tem capacidade de reverter a ação da reserpina (YAMANOUYE et al., 1997), com consequente acúmulo de veneno no lúmen.

Dessa forma, foi proposto que o sistema simpático poderia ser o responsável por ativar a produção de toxinas na glândula, possivelmente levando à ativação de genes importantes para o processo de síntese proteica e dos próprios promotores das toxinas.

Entretanto, nossos dados da análise da expressão gênica da glândula de veneno de 4 dias tratada com reserpina (4dR) revelam que o processo de transcrição de toxinas não é inibido com o bloqueio da atividade simpática pela ação da reserpina. Tanto os dados da análise da expressão gênica diferencial por macroarranjos (figuras 43, 44 e 45), como por RNA-seq (figuras 57 e 58) e por PCR quantitativo em tempo real (figura 48) indicam que as toxinas estão sendo expressas na glândula tratada com reserpina em níveis comparáveis com a glândula controle ou em níveis maiores do que a glândula controle, como é o caso das metaloproteases MHF3 e BojumetIII (figura 48).

Na análise da expressão gênica por macroarranjos foram identificados 99 clones diferencialmente expressos na glândula tratada com reserpina (4dR). Para essa análise utilizamos um critério estatístico mais restritivo, foram selecionados clones cuja diferença nos níveis de expressão entre as condições normal (4d) e reserpinada (4dR) apresentaram um *p-value* menor que 1%. Assim, reduz-se o número de clones selecionados, porém aumenta-se a chance desses clones realmente apresentarem alteração na expressão entre as duas condições.

Entre os transcritos com expressão aumentada na glândula 4dR, 27 eram toxinas e 15 transcritos celulares, já entre os transcritos com expressão reduzida na glândula 4dR, 22 eram toxinas e 12 transcritos celulares, e ao se comparar as classes de toxinas presentes entre os transcritos mais expressos e as classes de toxinas presentes entre os transcritos mais expressos e as classes de toxinas presentes entre os transcritos mais expressos e as classes de toxinas presentes entre os transcritos mais expressos e as classes de toxinas presentes entre os transcritos menos expressos, não houve diferenças.

O mesmo ocorreu na análise transcriptômica por RNA-seq: 10,8% dos *contigs* identificados de glândula 4dR eram toxinas, valor extremamente próximo ao encontrado no transcriptoma da glândula 4d, com 11,4% dos *contigs* tendo sido identificados como toxinas. Mesmo com o cálculo normalizado levando-se em consideração não só o número de *contigs*, mas também a quantidade de *reads*, a diferença entre as duas condições não é significativa (figura 57). A análise das classes de toxinas presentes em cada transcriptoma também não revelou diferenças entre as duas condições (figura 58).

Por fim, a análise da expressão por PCR quantitativo em tempo real (figura 48) deixou bem claro que as toxinas são expressas na glândula de veneno tratada com reserpina (4dR) nos mesmo níveis que na glândula 4d ou em níveis maiores, caso das metaloproteases MHF3 e Bojumet III.

Assim, podemos afirmar que o processo de transcrição de toxinas não é controlado pelo sistema simpático.

As toxinas estão sendo transcritas normalmente, porém estão sendo traduzidas?

A anotação funcional em categorias do *gene ontology* (GO) dos transcritos celulares com expressão aumentada na glândula 4dR selecionados na análise por macroarranjos revelou que 26,7% dos transcritos eram proteínas constituintes de ribossomos e 20% dos transcritos estavam diretamente relacionados ao processo de tradução (tabela 9). Realizando a mesma análise para os transcritos celulares com expressão aumentada na glândula tratada com reserpina seguida de agonistas dos adrenoceptores α e β (4dA) obteve-se que 11,1% dos transcritos são proteínas constituintes do ribossomo e 11,1% dos transcritos estão envolvidos no processo de tradução (tabela 11).

A análise de enriquecimento de termos do GO realizado com os transcritos diferencialmente expressos da glândula 4dR selecionados da análise por RNA-seq revelou que entre os transcritos com expressão aumentada, os processos de "tradução" e "elongação da tradução" apresentam *p-value* de 0,0016 e 0,0091, respectivamente (figura 59).

E os dados de expressão por qPCR confirmaram que a glândula 4dR está expressando normalmente os componentes celulares necessários para que ocorra o processo de tradução (figura 50).

Mais pragmaticamente, dados obtidos por nossos colaboradores por meio de uma análise proteômica da glândula de veneno de *B. jararaca* confirmam a presença de toxinas em extratos celulares da glândula tratada com reserpina (YAMANOUYE, comunicação pessoal). Dessa forma deduz-se que o processo de tradução também não é controlado pelo sistema simpático.

Se as toxinas estão sendo transcritas e traduzidas porque, então, não é possível extrair veneno da serpente tratada com reserpina?

A resposta a esta questão com base em dados transcriptômicos não é tão trivial. A primeira evidência de que os processos pós-traducionais poderiam estar sofrendo os

efeitos da inibição do sistema simpático surgiu nas análises dos dados por macroarranjos. Ao se comparar os dados da anotação funcional dos transcritos *upregulated* na glândula 4dR (tabela 9) e na glândula 4dA (tabela 11), notou-se uma clara diferença entre as duas condições: enquanto na glândula 4dR os transcritos relacionados ao processo de tradução eram maioria, na glândula 4dA a maioria dos transcritos era constituintes do retículo endoplasmático (27,8%), e estavam envolvidos nos processos de enovelamento de proteínas (11,1%) e homeostase do estado redox celular (22,2%), esse último englobando os processos de enovelamento e processamento de proteínas no retículo endoplasmático.

A análise dos dados da anotação funcional dos transcritos com expressão reduzida na glândula 4dR (tabela 10) revelou que grande parte dos transcritos eram constituintes do retículo endoplasmático (25%) e participavam do processo de homesotase do estado redox celular (25%).

É pertinente ressaltar nesse ponto, que a anotação funcional dos transcritos mais e menos expressos na glândula 4dR apresentou uma sobreposição de funções, processos com "tradução" aparecem tanto entre os mais expressos, como entre os menos expressos, assim como "atividade oxidorredutase de proteína dissulfeto" e "homeostase redox celular", isso ocorreu principalmente pelo fato de proteínas ribossomais estarem entre os transcritos mais expressos e entre os menos expressos, assim como a PDI (proteína dissulfeto isomerase).

Utilizar um parâmetro mais restritivo na hora de selecionar os transcritos diferencialmente expressos na análise por macroarranjos aumentou a confiabilidade nos dados, porém poucos transcritos celulares foram identificados o que reduziu a abrangência dos dados obtidos, dificultando realizar maiores inferências a respeito dos processos celulares que poderiam estar sendo afetados na glândula tratada com reserpina (4dR).

Desse modo, optamos por utilizar o PCR quantitativo em tempo real para analisar a expressão de genes envolvidos nos processos de tradução, enovelamento protéico, transporte das proteínas para o Golgi e secreção. Muitos desses genes não haviam sido identificados na análise por macroarranjos e então os selecionamos a partir do banco de dados de transcriptomas do nosso laboratório. É importante ressaltar também que todas as análise de qPCR foram feitas antes de recebermos os dados do RNA-seq.

A maior parte dos genes analisados por qPCR são expressos na glândula tratada com reserpina (4dR) em níveis semelhantes a expressão na glândula 4d. Entre os genes que apresentaram a expressão aumentada na glândula 4dR, a maioria exerce importante papel nos processos de enovelamento e transporte de proteínas.

As subunidades do complexo COPII, Sar1b e Sec23a, bem como as subunidades SPCS3 e Sec11c do complexo sinal peptidase apresentaram aumento de expressão na glândula tratada com reserpina (4dR).

As vesículas revestidas por COPII (*coat protein complex II*) fazem o transporte das proteínas recém-sintetizadas no retículo endoplasmático para o Golgi (MANCIAS & GOLDBERG, 2005). As proteínas transportadas via COPII tem que passar pelo rigoroso controle de qualidade do retículo endoplasmático, proteínas que não estejam corretamente enoveladas não são retidas e/ou reconhecidas pelo revestimento COPII (BARLOWE, 2003), essas proteínas permanecem no retículo para serem enoveladas corretamente antes de serem exportadas para o Golgi.

O complexo sinal peptidase está associado ao translocon e é responsável por clivar o peptídeo sinal que direciona o polipeptídeo nascente para o retículo e também pode estar envolvido no processo de reconhecimento e retrotransporte de polipeptídeos desenovelados para via de degradação associada ao retículo endoplasmático (ERAD) (NORIEGA & TORTORELLA, 2008).

As proteínas, Sec61α1 (subunidade do complexo Sec61) e TRAM1, são consideradas componentes centrais do translocon (JOHNSON & VAN WAES, 1999). Tanto a TRAM1 quanto Sec61 atuam em conjunto com o complexo Derlin-1 no retrotransporte de proteínas desenoveladas para a via ERAD (WANG *et al.*, 2008). A análise de expressão gênica por qPCR mostrou que a expressão tanto de Sec61α1, como de TRAM1 está aumentada na glândula de veneno tratada com reserpina (4dR).

Duas outras proteínas que desempenham um importante papel no retículo endoplasmático e tiveram sua expressão aumentada na glândula 4dR são KDELR e PDI.

O aumento concomitante na expressão de genes que codificam proteínas envolvidas no processo de enovelamento protéico, transporte de proteínas do RE para o Golgi e que participam da via de degradação associada ao RE (ERAD) geralmente está associado a resposta a proteínas não enoveladas (*unfolded protein response –* UPR) (CHAKRABARTI *et al.*, 2011).

A análise transcriptômica através do sequenciamento em larga escala (RNA-seq) permite a identificação de um grande número de transcritos, bem como a determinação dos níveis de expressão desses transcritos e diferentemente do *microarray*, sua abrangência não se limita a transcritos já conhecidos do organismo estudado (COSTA *et al.*, 2010), o que torna essa metodologia extremamente útil para trabalhos com organismos cujo genoma não está disponível.

Foram considerados diferencialmente expressos *contigs* cuja variação de expressão possuía *p-value* menos que 5% (*p-value*<0,05). Por ser uma metodologia que apresenta alta confiabilidade, alta reprodutibilidade entre réplicas biológicas e experimentais e alta correlação com experimentos de *microarray* (MALONE & OLIVER, 2011) pode-se utilizar um critério estatístico não tão restritivo.

Os transcritos considerados diferencialmente expressos foram submetidos a análise de enriquecimento de termos do GO, utilizando como *background* a lista completa de transcritos celulares do transcriptoma usado de referência. Foram obtidos as listas de termos enriquecidos nas categorias "compartimento celular", "função molecular" e "processos biológicos", os dois últimos estão representados graficamente nas figura 59, 60, 61 e 62.

Na análise de enriquecimento dos transcritos cuja expressão estava aumentada na glândula 4dR, os processos relacionados a resposta UPR (*unfolded protein response*) são claramente predominantes. Dois transcritos para proteínas essenciais na resposta UPR estão entre os mais expressos na glândula 4dR, a XBP1 e a Grp78/BiP (HETZ *et al.*, 2011).

A resposta ao estresse de retículo endoplasmático (RE) é ativada por perturbações no funcionamento normal do retículo, como acúmulo de proteínas desenoveladas, proteínas enoveladas incorretamente ou excesso de proteína, problemas no balanço de glicolipídeos ou lipídeos do RE, ou alterações nas condições iônicas ou de redox do lúmen do RE. A fim de restaurar as condições normais da organela, a resposta ao estresse de RE atua aumentando a capacidade do RE enovelar e processar as proteínas, e aliviar o fardo da organela reduzindo a quantidade de proteínas no seu interior. Para isso, são ativadas 3 vias de resposta: I) resposta a proteínas não enoveladas (UPR), que é a indução dependente de transcrição de chaperonas do lúmen de RE e outros componentes do aparato secretório a fim de aumentar a capacidade de enovelamento protéico e processamento do RE; II) ativação da via de degradação

dependente de proteassomo associada ao retículo endoplasmático (ERAD) para remover as proteínas do RE; e III) controle do processo de tradução para modular o tráfego de polipeptídios para dentro do RE (BOYCE & YUAN, 2006).

Nos mamíferos a resposta UPR é mediada por três receptores transmembranas do RE: ATF6 (*activating transcription factor* 6), IRE1 (*inositol requiring kinase* 1), PERK (*double-stranded RNA-activated protein kinase* (PKR)–*like endoplasmic reticulum kinase*).

A chaperona BiP é um importante membro da família de chaperonas HSP70, possui um domínio ATPase no N-terminal e um domínio de ligação a peptídeo no C-terminal. Quando ligada a ATP, a BiP se liga às regiões hidrofóbicas das proteínas não enoveladas com baixa afinidade. A ligação à proteína não enovelada estimula a atividade ATPase da BiP resultando na forma ligada a ADP que possui uma afinidade muito maior aos motivos hidrofóbicos (GETHING, 1999). BiP também regula a ativação dos três transdutores de estresse de RE: PERK, ATF6, e IRE1. Normalmente, BiP está ligada a esses receptores bloqueando sua ativação e o acúmulo de proteínas não enoveladas no lúmen do RE provoca a dissociação da BiP ativando os receptores. A superexpressão de BiP reduz a ativação de IRE1 e PERK (BERTOLOTTI *et al.*, 2000).

IRE1 inicia a via de sinalização mais conservada evolutivamente da resposta UPR. IRE1 α é uma proteína transmembrana de RE do tipo 1, possui um domínio Ser/Thr quinase e um domínio de endoribonuclease. Normalmente a BiP está ligada ao N-terminal de IRE1 α , na presença de proteínas não enoveladas BiP se dissocia de IRE1 e é sequestrada por essas proteínas. (BERTOLOTTI et al., 2000; KIMATA et al., 2003). IRE1 α sofre, então, multimerização e autofosforilação, ativando seu domínio de RNase através da mudança de conformação (HETZ et al., 2011). A atividade endoribonuclease cliva um *intron* de 26 nucleotídeos do mRNA de XBP1, produzindo o XBP1s (*spliced* XBP1), um potente fator de transcrição, que regula a expressão de uma variedade de genes UPR envolvidos em diferentes processos incluindo enovelamento protéico, entrada de proteínas no RE, e ERAD. Em adição, XBP1s indiretamente regula a biogênese do RE e do Golgi aumentando a atividade de enzimas relacionadas a biossíntese de fosfolipídeos (SHAFFER *et al.*, 2004; SRIBURI *et al.*, 2007).

Diante dos resultados obtidos pela análise de expressão gênica por RNA-seq e qPCR pode-se inferir que a resposta UPR está ativada na glândula 4dR, provavelmente devido ao acúmulo de toxinas no lúmen do retículo endoplasmático.

Entre os genes cuja expressão está reduzida na glândula 4dR, os termos de GO relacionados aos processos de formação de vesículas são maioria (figura 60). Genes como PACSIN3 (protein kinase C and casein kinase substrate in neurons 3), PICALM (phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein), PACS1 (phosphofurin acidic cluster sorting protein 1), Pten (phosphatase and tensin homolog) e GBF1 (golgi brefeldin A resistant guanine nucleotide exchange factor 1) estão entre os menos expressos.

As PACSINs, também chamadas de sindapinas (proteínas associadas a dinamina sináptica), são uma família de proteínas com domínio SH3 (Src-homólogo 3). Elas pertencem ao grupo de proteínas acessórias na endocitose e interagem com a *large* GTPase dinamina, que possui papel crucial na fissão da vesícula endocítica (KESSELS & QUALMANN, 2004).

Além do papel desempenhado na formação de vesículas a partir da membrana plasmática, as sindapinas e dinaminas, na forma do complexo sindapina-dinamina, são importantes para o processo de formação de vesículas a partir da membrana do Golgi (KESSELS *et al.*, 2006). A dinamina II promove a formação de vesículas de transporte a partir do Golgi tanto *in vitro* (JONES *et al.*, 1998), como *in vivo* (CAO *et al.*, 2000; YANG *et al.*, 2001). Análises *in vitro* mostraram que o complexo sindapina-dinamina não é apenas crucial, mas suficiente para a formação de vesículas a partir do Golgi e pode representar a maquinaria mínima necessária para a formação de vesículas (KESSELS *et al.*, 2006).

PICALM, ou CALM (*clathrin assembly protein*) promove a organização da cobertura de clatrina nas vesículas endocíticase e recruta o complexo de proteína adaptadora AP-2. Vesículas com cobertura de clatrina e as proteínas adaptadoras desempenham um papel importante no processo de tráfego de membrana através das vias endocítica e secretora (TRAUB, 2005; MCNIVEN & THOMPSON, 2006). Adaptadores convencionais de clatrina, como os complexos AP-1, -2, -3 e -4, são conhecidos por sequestrar e ligar o cargo (proteínas a serem transportadas) a rede de clatrina enquanto recruta outras proteínas acessórias para formar uma cesta de clatrina (UNGEWICKELL & HINRICHSEN, 2007). Apesar de ser mais conhecida por seu papel na formação de vesículas a partir da membrana plasmática, já está bem estabelecido o papel da clatrina e do complexo AP-1 na formação de grânulos de secreção na rede trans-Golgi (LEBORGNE & HOFLACK, 1997; KLUMPERMAN *et*

al., 1998; PAULOIN *et al.*, 1999; MCNIVEN & THOMPSON, 2006; MILLER *et al.*, 2007; CHI *et al.*, 2008; BURGESS et al., 2011).

A proteína PACS1 (*phosphofurin acidic cluster sorting protein 1*) pertence a uma família multifuncional de proteínas reguladoras do tráfego de membrana. As proteínas PACS se ligam a proteínas com *acid cluster motif* auxiliando na seleção e transporte dessas proteínas entre os compartimentos celulares (YOUKER *et al.*, 2009). As proteínas PACS também interagem com componentes da cobertura das vesículas: PACS1 interage com os complexos AP-1 e AP-3 (CRUMP *et al.*, 2001) e VAMP-4 (*vesicle-associated membrane protein* 4). O complexo ternário formado entre PACS1, VAMP-4 e AP-1 é necessário para o correto transporte da VAMP-4 (HINNERS *et al.*, 2003).

O gene Pten (*phosphatase and tensin homolog*), codifica para a proteína fosfatidil-inositol 3,4,5-trifosfato 3-fosfatase, uma tirosina fosfatase que hidroliza o fosfatidil-inositol 3,4,5-trifosfato [PtdIns(3,4,5)P₃], regulando negativamente a via de sinalização. Apesar de, provavelmente não possuir papel direto no tráfego constitutivo de membrana (ROTH, 2004),um grande número de proteínas que atuam na via secretória constitutiva se ligam tanto a fosfatidil-inositol 4,5-bifosfato [PtdIns(4,5)P₂] quanto a fosfatidil-inositol 3,4,5-trifosfato [PtdIns(3,4,5)P₃]. Entre essas, muitas são fatores de troca de nucleotídeo guanina (GEFs) para proteínas Arf, a própria Arf, e a proteína α -COPI de cobertura de vesícula (RANDAZZO, 1997; KLARLUND *et al.*, 1998; VENKATESWARLU *et al.*, 1998; VENKATESWARLU *et al.*, 1998; CHAUDHARY *et al.*, 1998; ROTH, 1999). Além de um grande número de proteínas endocíticas, incluindo AP180/CALM, AP-2 e dinamina, que especificamente se ligam a PtdIns(4,5)P₂ (SCHMID *et al.*, 1998; FORD *et al.*, 2001; HAUCKE, 2005).

A maior parte de PtdIns(4,5)P₂ se localiza na membrana plasmática (BALLA *et al.*, 2000; WATT *et al.*, 2002). PtdIns(4,5)P₂ é gerado durante o processo de fusão de vesículas na secreção regulada ou de vesículas sinápticas com a membrana plasmática (CREMONA & DE CAMILLI, 2001; MARTIN, 2001), porém o papel de PtdIns(4,5)P₂ na fusão de vesículas não é conhecido com precisão (ROTH, 2004).

Sabe-se que Arf1, o principal regulador do tráfego de membrana no Golgi, está aumentado em membranas contendo PtdIns(4,5)P₂ (TERUI *et al.*, 1994; ROTH, 2000).

Dessa forma, o baixo nível de expressão de Pten pode estar afetando os níveis de $PtdIns(4,5)P_2$ na glândula 4dR e consequentemente processos regulatórios do tráfego de vesículas no Golgi e rede trans-Golgi (TGN).

A GBF1 é um trocador de nucleotídeo guanina (GEFs) que atua no tráfego de membranas, ativando as Arfs (SHINOTSUKA *et al.*, 2002; LEFRANCOIS & MCCORNICK, 2007; MANOLEA *et al.*, 2008). GBF1 está diretamente relacionada ao recrutamento tanto de COPI como de GGAs (*Golgi localized γ-ear containing Arf binding proteins*) (ALVAREZ *et al.*, 2003; LEFRANCOIS & MCCORNICK, 2007; DENG *et al.*, 2009). O recrutamento de GBF1 para o Golgi ocorre através da *small* GTPase Rab1 que ativa PI4KIIIα (fosfatidil-inositol 4-quinase) produzindo PtdIns(4)P (fosfatidil-inositol 4-fosfato) que serve como local de ligação para GBF1 no Golgi. GBF1 ligado ao Golgi pode então ativar Arf1, que recruta COPI e GGA (NIU *et al.*, 2005; MONETTA *et al.*, 2007; DUMARESQ-DOIRON *et al.*, 2010).

Com base nesses dados pode-se concluir que componentes de diferentes etapas do processo de transporte através de vesículas apresentam sua expressão reduzida na glândula 4dR, somando-se aos dados de análise histológica que mostraram a ausência de vesículas secretoras na glândula de veneno tratada com reserpina (4dR) (YAMANOUYE *et al.*, 1997) pode-se concluir que o processo de tráfego de membrana pode estar sendo afetado pela inibição da atividade simpática.

A análise de enriquecimento de termos do GO dos genes "exclusivos" da glândula 4d e da glândula 4dR revelou poucas diferenças entre as duas glândulas.

Na glândula 4d o principal processo celular é a secreção de fluído, entre os genes encontram-se a aquoporina 5 (AQP5). As aquoporinas são pequenas proteínas hidrofóbicas integrais de membrana com cerca de 270 aminoácidos amplamente expressa em animais e plantas (SMITH & AGRE, 1991). As aquoporinas podem ser divididas em dois grupos de acordo com sua permeabilidade característica, as aquoporinas (AQP0, AQP1, AQP2, AQP4, AQP5, AQP6 e AQP8) são basicamente permeáveis a água, enquanto as aquagliceporinas (AQP3, AQP7, AQP9 e AQP10) também transportam glicerol e outros solutos menores (revisado em KING *et al.*, 2004; TAKATA *et al.*, 2004 e DELPORTE *et al.*, 2006). A AQP5 está presente nas glândulas submandibular e parótida de rato (RAINA *et al.*, 1995; KING *et al.*, 1997), bem como nas glândulas parótidas, submandibular e sublingual de camundongo (KRANE *et al.*, 1999). A translocação da AQP5 até a membrana apical na glândula parótida de rato

ocorre após ativação dos receptores muscarínicos (M3R) ou do adrenoceptor α (ISHIKAWA *et al.*, 1999; ISHIKAWA & ISHIDA, 2000), devido ao aumento na concentração de cálcio intracelular e ativação da via de óxido nítrico/cGMP (ISHIKAWA *et al.*, 2002). Foi demonstrado que AQP5 pode estar envolvido na osmorregulação dos grânulos de secreção (MATSUKI *et al.*, 2005). A co-localização de AQP5 e Rab4 sugere que Rab4 pode estar envolvida com o transporte de AQP5 para a membrana apical da célula (NASHIDA *et al.*, 2003). O estímulo do receptor de vasopressina (V2) no rim, resulta na translocação de AQP5 para a membrana plasmática via cAMP (NIELSEN *et al.*, 2002), o cAMP também foi responsável por translocar AQP5 para a membrana apical nas células de pulmão. Foi demonstrado que a ativação do adrenoceptor β provoca aumento no nível de expressão da AQP5, através do aumento dos níveis de cAMP intracelular (YANG *et al.*, 2003).

Entre os genes "exclusivos" da glândula 4dR, processos relacionados a tradução, formação de endossomos e resposta a estresse celular estão entre os termos enriquecidos.

Grande parte dos genes relacionados ao processo de tradução são genes para proteínas ribossomais. Já entre os genes que participam dos processos envolvendo formação de endossomos estão ANXA2 (*annexin* A2) e ANXA6 (*annexin* A6), que são proteínas que se ligam a Rab e participam do processo de formação de vesículas de secreção. Também encontram-se Rab5b, proteína encontrada na membrana do endossomo inicial (SEGEV, 2011), o gene para Akt1 (*v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1*), uma serina-treonina quinase que atua na formação de vesículas fosforilando efetores da Rab5 (MCLAUGHLIN *et al.*, 2008) e finalmente, genes responsivos a resposta UPR como as chaperonas, Dnaj(Hsp40)C e Erp29 (*endoplasmic reticulum protein 29*), e Erp18 (*thioredoxin domain containing 12 - endoplasmic reticulum*) (JEONG *et al.*, 2008).

O mais interessante entre os genes "exclusivos" na glândula 4d e na glândula 4dR é que nas duas condições encontram-se isoformas das *small* GTPases da famíla Rab. Na glândula 4dR encontram-se as Rab1a, Rab2a e Rab5b, enquanto na glândula 4d encontram-se as Rab11b, Rab24 e Rab7a. Dessas, somente a Rab11b parece estar envolvida com a regulação da secreção (FUKUDA, 2008).

Proteínas Rab (*Ras-associated binding protein*) e proteínas associadas a Rab são reguladores chave do processo de transporte por vesículas. As Rabs formam a maior

família de *small* Ras-*like* GTPases, incluindo 11 membros em leveduras, conhecidos como Ypts, e mais de 60 em humanos (PEREIRA-LEAL & SEABRA, 2000; PEREIRA-LEAL et al., 2001). Essas GTPases alternam entre o estado "ativo" (ligado a GTP) e "inativo" (ligado a GDP), essa alternância de estados permite controlar quando e por quanto tempo essas GTPases permanecerão ativas, para isso é necessário reguladores específicos: fatores de troca de nucleotídeo guanina (GEFs), que catalizam a troca de GDP por GTP, e proteínas ativadoras de GTPase (GAPs), que catalizam a troca de GTP por GDP (BOS *et al.*, 2007; BARR & LAMBRIGHT, 2010).

Foram encontradas proteínas GAP (*GTPase activating proteins*), como a Rabgap1 (*rab gtpase activating protein 1*), tanto entre os genes "exclusivos" da glândula 4d como da glândula 4dR, o único gene para proteína GEF (*guanine nucleotide exchange factors*) identificado, o GBF1 (*golgi brefeldin a resistant guanine nucleotide exchange factor 1*) apresenta a expressão reduzida na glândula 4dR (*fold change* = -1,6).

Cada Rab possui um padrão específico de localização subcelular (PFEFFER & AIVAZIAN, 2004; ZERIAL & MCBRIDE, 2001), recrutando um grupo único de efetores elas regulam o tráfego de membrana para dentro ou para fora dos compartimentos ao qual elas estão associadas. Muitos exemplos de cascatas de Rab GEFs foram descritas, nas quais uma Rab, no seu estado ligado a GTP, recruta uma GEF que ativa a próxima Rab ao longo da via (GROSSHANS *et al.*, 2006; ORTIZ *et al.*, 2002; RINK *et al.*, 2005).

As proteínas Rab são responsáveis por recrutar efetores que são críticos para a movimentação da vesícula ao longo de estruturas do citoesqueleto. Existem diversos exemplos como Ypt31/32, homólogos da levedura da Rab11, que recrutam a miosina tipo V ou Myo 2, como efetor do transporte de vesículas secretoras (BENLI *et al.*, 1996; CASAVOLA et al., 2008; LIPATOVA *et al.*, 2008). Em mamíferos, Rab11 interage com a miosina Vb através de seu efetor Rab11-FIP2 para regular a reciclagem da membrana plasmática (HALES *et al.*, 2002). Rab11 aparece somente na glândula 4d e MyoVb tem sua expressão reduzida na glândula 4dR (*fold change* = -4,779).

Rab1, ou Ypt1 é necessária para o transporte do RE para o Golgi e, provavelmente recruta fatores que facilitam o desmonte da cobertura das vesículas de COPII em preparação para o processo de fusão (SEGEV, 1991; LIAN *et al.*, 1994; PIND *et al.*, 1994; JEDD *et al.*, 1995; MOYER *et al.*, 2001).
<u>Discussão</u>

Estudos mostraram que Rab3d, provavelmente regula o tamanho do grânulo de secreção, enquanto o complexo formado entre Rab27 e slac2-c (*synaptotagmin-like protein homologue lacking C2 domains-c*) parece ser essencial para a secreção da amilase (RIEDEL *et al.*, 2002; IMAI *et al.*, 2004).

Um grande número de isoformas de Rab estão geralmente presentes nas vesículas secretoras, mas a maioria delas não é exclusiva dessas vesículas, sendo integrantes bem caracterizadas do Golgi (Rab1 e Rab2) ou dos endossomos (Rab5 e Rab21) (TAKAMORI *et al.*, 2006; CASEY *et al.*, 2007; BRUNNER *et al.*, 2007; RINDLER *et al.*, 2007). Somente sete isoformas foram encontradas exclusivamente nas vesículas de secreção, Rab3A/B/C/D, Rab27A/B e Rab37 (TSUBOI & FUKUDA, 2006), porém 11 isoformas de Rab estão envolvidas no processo de secreção (Rab3a/b/c/d, Rab4a, Rab8b, Rab11b, Rab26, Rab27a/b e Rab37). Três delas, Rab4a (residente do endossomo), Rab8b (residente do Golgi), e Rab11b (residente do endossomo) são, provavelmente, reguladores mais específicos (SHIRAKAWA *et al.*, 2000; CHEN *et al.*, 2001; KHVOTCHEV *et al.*, 2003), enquanto as outras estão presentes nas vesículas maduras de secreção (PEREIRA-LEAL & SEABRA, 2001; FUKUDA, 2003). Essas Rabs são classificadas como "Rabs secretoras" (FUKUDA, 2008).

Os dados apresentados aqui deixam clara a importância das proteínas Rab como reguladoras dos processos de endocitose e exocitose em mamíferos e é de se esperar que apresentem funções semelhantes na glândula de veneno.

O fato de terem sido encontradas poucas sequências dessas proteínas Rab nos dois transcriptomas é um forte indício do baixo nível de expressão dessas proteínas, o que é coerente com o seu modo de regulação que se dá através de alterações estruturais e não a nível de transcrição.

Como foi mostrado ao longo dessa discussão, diversos elementos relacionados ao processo de secreção tiveram sua expressão alterada na glândula 4dR. Por exemplo, componentes importantes no processo de formação de vesículas, como PACSIN3 e PICALM, na seleção do cargo, como PACS1, reguladoras da via endocítica, como Pten, além de outros genes que não entraram na discussão mas também desempenham papel no processo de transporte por vesículas, como Vps26b (*vacuolar protein sorting-associated protein 26b*) (COLLINS *et al.*, 2008), Vps52 (*vacuolar protein sorting 52*) (CONIBEAR *et al.*, 2003), Sec13 (RUSSELL & STAGG, 2010), entre outros.

<u>Discussão</u>

Sabe-se que em glândulas parótidas de roedores o aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular em resposta a ativação do adrenoceptor α e dos receptores muscarínicos causa elevação da secreção de fluído salivar, enquanto que a ativação do adrenoceptor β , leva ao aumento do cAMP intracelular provocando aumento na secreção de proteínas (BUTCHER & PUTNEY, 1980; BAUM, 1993; CASTLE & CASTLE, 1998).

Nas células acinares da glândula parótida de rato, o processo de secreção de amilase se inicia com a liberação de noradrenalina, que se liga e ativa o adrenoceptor β provocando aumento dos níveis intracelulares de cAMP, que é responsável por ativar a proteína quinase dependente de cAMP, o PKA. A ativação de PKA é essencial para a secreção dependente de cAMP (TAKUMA & ICHIDA, 1994).

A ativação dos receptores muscarínicos, por acetilcolina, e do adrenoceptor α , por noradrenalina, ativa o metabolismo de fosfolipídeos e induz o aumento da concentração de Ca²⁺ intracelular sem afetar os níveis de cAMP (BUTCHER & PUTNEY, 1980; SUGIYA & FURUYAMA, 1989). O estímulo simultâneo de ambas as vias por cAMP e Ca²⁺ resulta numa resposta que é maior do que a soma das respostas geradas quando cada via é estimulada individualmente (YOSHIMURA & NEZU, 1992; YOSHIMURA *et al.*, 1998; YOSHIMURA *et al.*, 2000).

O processo de secreção da amilase ocorre em três passos: (1) ancoragem das vesículas na membrana plasmática; (2) preparação acompanhada de hidrólise de ATP e promovida por cAMP e (3) fusão e secreção ativada pelo aumento da concentração intracelular de Ca²⁺ (YOSHIMURA *et al.*, 1998) (figura 63).



Figura 63: Modelo para o mecanismo de secreção de amilase dependente de cAMP e Ca²⁺ em células acinares de parótida de rato. cAMP estimula a ancoragem e preparação dos grânulos secretores e aumenta o efeito do Ca²⁺ como ativador da fusão do grânulo com a membrana. (Reproduzido de TURNER & SUGIYA, 2002).

Foi demonstrado que a ativação do adrenoceptor β é capaz de induzir a redistribuição de Rab3d (RAFFANIELLO *et al.*, 1999), Rab26 (YOSHIE *et al.*, 2000) e Rap1 (D'SILVA *et al.*, 1998).

A regulação da secreção de insulina pelas células β pode ser ativada por três vias, (1) via mitocondrial; (2) via fosfolipase C (PLC); (3) via cAMP. Tanto a via mitocondrial como a via da PLC provocam aumento na concentração intracelular de Ca²⁺. A entrada de glicose nas células provoca abertura dos canais de cálcio voltagem dependente, o aumento na concentração intracelular de Ca²⁺ ativa a PLC que hidrolisa a fosfatidil-inositol(4,5)bisfosfato (PIP₂) em diacilglicerol (DAG) e inositol (1,4,5)trifosfato (IP₃). IP₃ se liga aos receptores na membrana do retículo endoplasmático liberando os estoques de Ca²⁺. A fosfolipase C pode ser ativada através da ativação do receptor acoplado a proteína G. A ativação do receptor acoplado a proteína G, provoca aumento dos níveis intracelulares de cAMP que ativa PKA. (revisado em YAMAZAKI *et al.*, 2010).

A glândula de veneno de *Bothrops jararaca* possui inervação noradrenérgica, e sabe-se que a produção de veneno depende da ativação dos adrenoceptores $\alpha \in \beta$ (YAMANOUYE *et al.*, 1997), num processo muito semelhante ao descrito para glândula parótida de roedores e células β de pâncreas de mamíferos.

<u>Discussão</u>

A ativação do adrenoceptor α_1 nas células secretoras quiescentes ativa a PLC que hidrolisa PIP₂ (fosfatidil-inositol 4,5-bisfosfato) produzindo DAG (diacilglicerol) e IP₃ (inositol (1,4,5) trifosfato) que mobiliza cálcio das reservas intracelulares e ativa PKC e ERK (KERCHOVE *et al.*, 2008). A ativação do adrenoceptor β ativa adenilato ciclase, que provoca aumento dos níveis intracelulares de cAMP e da concentração de cálcio citossólico através da ativação de canais de Ca²⁺ voltagem-dependente e ligantedependente (YAMANOUYE *et al.*, 2000; ZABLITH, 2007) (figura 64).

Com base nos dados apresentados nesse trabalho propomos que a ativação dos adrenoceptores α e β provavelmente é necessária para que ocorra o processo de secreção das toxinas do veneno na glândula. Já a inibição do sistema simpático pela ação da reserpina bloquearia esse processo, possivelmente provocando o acúmulo de proteínas no lúmen do retículo endoplasmático. Essa sitação potencialmente gera estresse de RE, ativando a resposta UPR.



Figura 64: Desenho esquemático do mecanismo de regulação da secreção proposto para a glândula de veneno de Bothrops jararaca. PIP₂ (fosfatidil-inositol 4,5-bisfosfato), DAG (diacilglicerol), IP₃ (inositol (1,4,5) trifosfato), PLC (fosfolipase C), α (adrenoceptor α), β (adrenoceptor β), Gs (proteína Gs), Gq (proteína Gq), PKC (proteína quinase C), PKA (proteína quinase dependente de cAMP), RE (retículo endoplasmático), TGN (rede trans-Golgi), AQ5 (aquoporina 5). A ativação do adrenoceptor α_1 nas células secretoras quiescentes ativa a PLC que hidrolisa PIP₂ produzindo DAG e IP₃ que mobiliza cálcio das reservas intracelulares e ativa PKC. A ativação do adrenoceptor β ativa adenilato ciclase, que provoca aumento dos níveis intracelulares de cAMP, que ativa PKA. O aumento da concentração de cálcio intracelular e aumento dos níveis de cAMP são necessários para que ocorra tanto a secreção de fluídos como de proteínas, como a ativação de ambos adrenoceptores ocorre concomitantemente pela ação da noradrenalina é difícil estabelecer qual o papel de cada via no processo de produção do veneno.

Estudos mais específicos são necessários para desvendar em que nível do processo de secreção os segundos mensageiros, Ca2+, cAMP e PKC, estão envolvidos. Além disso, permanece sem resposta como se dá o controle da expressão dos genes de toxinas, acreditamos que seja uma resposta rápida e que é necessário analisar os momentos iniciais do ciclo.

Diante dos resultados obtidos nesse trabalho, a glândula de veneno de *Bothrops jararaca* pode ser entendida como as demais glândulas exócrinas modelo, já que possui um mecanismo de ação muito semelhante ao de glândulas exócrinas de mamíferos. Seu estudo mais detalhado pode fornecer informações valiosas sobre processo de secreção, resposta UPR, bem como da regulação da expressão gênica.

O intuito desse trabalho mais do que elucidar questões foi de lançar luz nova sobre os mecanismos por trás de um processo altamente controlado e especializado, mas que ao mesmo tempo compartilha tantas características funcionais com outros organismos. Assim, esperamos que esse trabalho sirva de ponto de partida para muitos outros estudos envolvendo a biologia da glândula de veneno.

7.3. Algumas considerações sobre o método de RNA-seq.

Para a análise transcriptômica em larga escala (RNA-seq) a plataforma escolhida foi a *Genome Sequencer FLX Instrument and System* (454 Life Science Corporation – Roche), pioneira no mercado. O GS FLX Titanium produz cerca de um milhão de leituras (*reads*) com uma média de 400pb cada.

Para o sequenciamento de uma biblioteca de cDNA de glândula de veneno normal (4d) e uma biblioteca de cDNA de glândula de veneno tratada com reserpina (4dR) utilizamos metade de um chip, o que é capaz de gerar 500 mil *reads*. Foram geradas 215.875 *reads* da glândula controle (4d) e 167.043 *reads* da glândula tratada com reserpina (4dR), após os tratamentos para eliminar as sequências do adaptador, sequências de baixa qualidade, sequências de RNA ribossomal, restaram 147.712 (68,42%) *reads* de glândula 4d e 104.516 (62,57%) *reads* de glândula 4dR.

A glândula 4d apresentou 652 (83,5%) *contigs* de transcritos celulares e a glândula 4dR, 767 (83,74%) *contigs* de celulares (figura 57). Um número muito maior se comparado a porcentagem de transcritos celulares identificados entre os transcritos diferencialmente expressos na glândula 4dR (28%) e na biblioteca de cDNA da glândula 4d (29,28%).

Nas recentes análises transcriptômicas de glândulas de veneno de serpentes utilizando a metodologia de RNA-seq (ROKYTA *et al.*, 2011, DURBAN *et al.*, 2011) a

<u>Discussão</u>

porcentagem de transcritos celulares encontrada foi consideravelmente superior do que nas análises transcriptômicas pelo método de ESTs (CORRÊA_NETTO *et al.*, 2011; CARDOSO *et al.*, 2010; NEIVA *et al.*, 2009; CIDADE *et al.*, 2006; KASHIMA *et al.*, 2004; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO & HO, 2002). Esse maior número de transcritos celulares em relação aos transcritos de toxinas tem dois motivos. Um deles é o fato da tecnologia de sequenciamento em larga escala ser bastante sensível e capaz de capturar mesmo transcritos pouco expressos (MALONE & OLIVER, 2011), aumentando a representatividade de transcritos celulares no transcriptoma. O outro é o fato das toxinas apresentarem alta taxa de redundância, dessa forma os *contigs* de transcritos celulares são formados por menos *reads* do que os *contigs* de toxinas.

Nos transcriptomas das glândulas 4d e 4dR os *contigs* celulares apresentaram a média de 4,24 *reads/contig*, enquanto os *contigs* de toxinas apresentaram a média de 27,9 *reads/contigs*.

A grande quantidade de transcritos celulares permitiu que fosse possível obter uma visão mais abrangente do perfil de expressão das glândulas normal e tratada com reserpina, e principalmente identificar as diferenças entre as duas condições.

O método de RNA-seq se mostrou de grande valia para organismos cujo genoma não está disponível permitindo realizar uma análise de expressão gênica com uma cobertura que não seria possível pelo método tradicional de *microarray*.

8. Conclusões

O pico de expressão dos transcritos encontrados na glândula de veneno ocorre no 2° dia do ciclo, sendo que o 4° dia é caracterizado por intensa atividade de tradução e secreção de toxinas.

O processo de transcrição de toxinas se inicia logo após o início do ciclo de produção de veneno.

A expressão dos genes de toxinas, bem como o processo de tradução não dependem da ativação dos adrenoceptores α_1 e β.

• O bloqueio da atividade simpática por reserpina ativa a transcrição de genes de proteínas ligadas a resposta UPR na glândula de veneno de *Bothrops jararaca*.

A ativação dos adrenoceptores α_1 e β está relacionada ao processo de secreção na glândula de veneno de *Bothrops jararaca*.

9. Resumo

A glândula de veneno da serpente *Bothrops jararaca* é uma glândula exócrina relacionada a glândula salivar dos mamíferos. Diferentemente de outras glândulas exócrinas, esta possui um lúmen central no qual o veneno produzido fica estocado. Os mecanismos envolvidos na regulação da síntese e secreção de toxinas pela glândula de veneno são pouco conhecidos. Sabe-se que a inervação noradrenérgica possui um papel essencial no ciclo de produção de veneno, pois serpentes *Bothrops jararaca* tratadas com reserpina, um potente bloqueador da atividade simpática, não acumulam veneno no lúmen. Porém a ativação direta dos adrenoceptores α e β , através da ação de agonistas, tem a capacidade de reverter a ação da reserpina.

No presente trabalho utilizamos métodos combinados de análise de expressão gênica em larga escala a fim de identificar os processos celulares sob controle do sistema simpático durante o ciclo de produção de veneno da glândula de veneno de *Bothrops jararaca*.

Foi construído um *array* de cDNA em membrana da náilon contendo 4608 clones provenientes da biblioteca de cDNA construída a partir das glândulas de veneno de um macho e uma fêmea, adultos, de *Bothrops jararaca*.

Para a análise temporal da expressão gênica foram utilizados machos adultos de *B. jararaca*. As glândulas de veneno foram extraídas em diferentes dias do ciclo de produção de veneno (0, 1, 2, 4 e 15 dias). Através da análise do perfil de expressão gênica identificamos que os transcritos de toxinas e de não toxinas (celulares) possuem perfil semelhante de expressão ao longo do ciclo, sendo que no 2° dia do ciclo ocorre o pico de expressão desses transcritos.

Para identificar os processos celulares sob controle da inervação noradrenérgica machos adultos de *B. jararaca* foram submetidos a tratamento farmacológico com reserpina (glândula 4dR) e com reserpina e agonistas dos adrenoceptores α e β (glândula 4dA). Na análise da expressão gênica utilizando macroarranjos, entre os clones com expressão aumentada na glândula 4dR, aproximadamente 51% eram de toxinas, indicando que a inibição da atividade simpática não interfere na transcrição das toxinas. A análise dos transcritos celulares confirmou que os processos de transcrição e tradução não são afetados pelo tratamento com reserpina.

<u>Resumo</u>

A análise da expressão por PCR quantitativo em tempo real, confirmou que as toxinas são expressas normalmente na glândula 4dR. Além disso, a análise da expressão de genes envolvidos nos processos de enovelamento protéico e secreção revelou que genes responsivos a estresse de retículo endoplasmático apresentam aumento na expressão na glândula 4dR.

Também realizamos a análise transcriptômica por sequenciamento em larga escala (RNA-seq) da glândula 4d e da glândula 4dR. Entre os *contigs* identificados como toxinas não houve diferenças quantitativas nem qualitativas significativas entre as glândulas 4d e 4dR, confirmando que o processo de transcrição de toxinas ocorre independentemente da ativação dos adrenoceptores α e β .

A análise de enriquecimento de termos do *gene ontology* revelou predominância de processos biológicos relacionados a resposta a estresse de retículo endoplasmático entre os transcritos mais expressos na glândula 4dR e de processos envolvendo a formação de vesículas de transporte entre os transcritos menos expressos na glândula 4dR. Na análise dos transcritos exclusivos da glândula 4d e exclusivos da glândula 4dR identificamos diversas isoformas de *small* GTPases da família Ras (Rab) que possuem papel fundamental na regulação da formação de vesículas.

Assim, nesse trabalho mostramos que o processo de transcrição de toxinas ocorre independentemente da ativação dos adrenoceptores α e β e que a ativação dos adrenoceptores parece ser necessária para que ocorra a formação de vesículas secretoras. Já a inibição do processo pela ação da reserpina possivelmente provoca a ativação da resposta UPR (*unfolded protein response*), o que pode estar associado com o acúmulo de proteínas no lúmen do retículo endoplasmático.

10. Abstract

The venom gland of the Brazilian venomous snake *Bothrops jararaca* (Crotalinae, Viperidae) is an exocrine tissue related to the salivary gland. The venom gland has a central lumen where the venom is stored. When the venom is released, the production of new venom is triggered by the activation of noradrenaline on both α_1 - and β -adrenoceptors. But the genes involved and the regulation of venom production cycle are poorly known. When the *Bothrops jararaca* is treated with reserpine, a depletor of catecholamine, the venom production is inhibited.

At present work we used combined methods of high throughput analysis of gene expression to identify cellular process controlled by the sympathetic system during the cycle of venom production in the venom glands of *Bothrops jararaca*.

Was constructed a cDNA array with 4608 clones from a cDNA library of the venom glands of one male and one female of *B.jararaca*. In order to get a time series analysis adult males of *B. jararaca* were used. The venom gland was extracted at different time points of the venom production cycle (0, 1, 2, 4 and 15 days). The resulting profile of the gene expression of toxins and non-toxins during the cycle was shown to be similar, and the higher level of gene expression was found at the 2^{nd} day of the venom production cycle.

A differential gene expression analysis was performed also with venom glands of *B. jararaca* treated with reserpine. Although previous results reported that venom glands under effect of reserpine are not able to produce venom, we found that 51% of upregulated clones of the venom gland treated with reserpine (4dR) are toxins. Moreover, most of the non-toxins clones were involved with transcription and translation processes, showing that these processes are not affected by the inhibition of the sympathetic system.

The analysis of gene expression by quantitative real-time PCR confirmed that in the venom gland treated with reserpine (4dR) the toxins are normally produced, and the genes responsive for unfolded protein response (UPR) are upregulated.

We also performed the next generation sequencing to produce a transcriptomic profile (RNA-seq) of normal venom gland (4d) and venom gland treated with reserpine (4dR). The comparison between the transcripts of toxins found at 4d and 4dR

<u>Abstract</u>

transcriptomes revealed no qualitative or quantitative differences, confirming that the toxins transcription are independent of the activation of α_1 - and β -adrenoceptors. The enrichment analysis of Gene Ontology terms revealed that the unfolded protein response are activated at 4dR venom gland and the membrane trafficking are possibly inhibited. We also identify many isoforms of Ras family small GTPases (Rab proteins) that has a key role ate regulation of membrane trafficking.

At present work we showed that the transcriptional control of the toxins in the venom gland are independent of the activation by α_1 - and β -adrenoceptors, however, the adrenoceptors seems to be necessary to activate the secretory pathway. The inhibition of the activation of α_1 - and β -adrenoceptor by reserpine seems to be recruiting an unfolded protein response, probably due to the accumulation of proteins at the lumen of the endoplasmic reticulum.

11. Referências Bibliográficas.

ABRAMS, E. W.; ANDREW, D. J. CrebA regulates secretory activity in the Drosophila salivary gland and epidermis. **Development**, v. 132, n. 12, p. 2743-58, Jun 2005. ISSN 0950-1991 (Print) 0950-1991 (Linking).

ADAMS, M. D.; KELLEY, J. M.; GOCAYNE, J. D.; DUBNICK, M.; POLYMEROPOULOS, M. H.; XIAO, H.; MERRIL, C. R.; WU, A.; OLDE, B.; MORENO, R. F.; ET AL. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. **Science,** v. 252, n. 5013, p. 1651-6, Jun 21 1991. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking).

ALAPE-GIRON, A.; FLORES-DIAZ, M.; SANZ, L.; MADRIGAL, M.; ESCOLANO, J.; SASA, M.; CALVETE, J. J. Studies on the venom proteome of Bothrops asper: perspectives and applications. **Toxicon**, v. 54, n. 7, p. 938-48, Dec 1 2009. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking).

ALTSCHUL, S. F.; MADDEN, T. L.; SCHAFFER, A. A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Res,** v. 25, n. 17, p. 3389-402, Sep 1 1997. ISSN 0305-1048 (Print)

0305-1048 (Linking).

ALVAREZ, C.; GARCIA-MATA, R.; BRANDON, E.; SZTUL, E. COPI recruitment is modulated by a Rab1b-dependent mechanism. **Molecular Biology of the Cell,** v. 14, n. 5, p. 2116-2127, May 2003. ISSN 1059-1524.

AMSTERDAM, A. O., I. & SCHRAMM, M. . Dynamic changes in the ultrastructure of acinar cell of the rat parotid gland during the secretory cycle. **J. Cell. Biol.**, v. 41, p. 753-73, 1969.

ANA CONESA, M. J. N., ALBERTO FERRER AND MANUELTALÓN maSigPro:a method to identify significantly differential expression profiles in time-course microarray experiments. **Bioinformatics**, v. 22, n. 9, p. 1096-1102, 2006.

ANDERSEN, C. L.; JENSEN, J. L.; ORNTOFT, T. F. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. **Cancer Res**, v. 64, n. 15, p. 5245-50, Aug 1 2004. ISSN 0008-5472 (Print) 0008-5472 (Linking).

ANDERSON, P.; KEDERSHA, N. RNA granules: post-transcriptional and epigenetic modulators of gene expression. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 10, n. 6, p. 430-6, Jun 2009. ISSN 1471-0080 (Electronic) 1471-0072 (Linking).

ANN, D. K.; LIN, H. H. Transcriptional regulation of salivary proline-rich protein gene expression. **Ann N Y Acad Sci,** v. 842, p. 108-14, Apr 15 1998. ISSN 0077-8923 (Print) 0077-8923 (Linking).

ANTUNES, T. C.; YAMASHITA, K. M.; BARBARO, K. C.; SAIKI, M.; SANTORO, M. L. Comparative analysis of newborn and adult Bothrops jararaca snake venoms. **Toxicon**, v. 56, n. 8, p. 1443-58, Dec 2010. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking).

APPENZELLER-HERZOG, C.; ELLGAARD, L. The human PDI family: versatility packed into a single fold. **Biochim Biophys Acta**, v. 1783, n. 4, p. 535-48, Apr 2008. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002 (Linking).

ASHBURNER, M.; BALL, C. A.; BLAKE, J. A.; BOTSTEIN, D.; BUTLER, H.; CHERRY, J. M.; DAVIS, A. P.; DOLINSKI, K.; DWIGHT, S. S.; EPPIG, J. T.; HARRIS, M. A.; HILL, D. P.; ISSEL-TARVER, L.; KASARSKIS, A.; LEWIS, S.; MATESE, J. C.; RICHARDSON, J. E.; RINGWALD, M.; RUBIN, G. M.; SHERLOCK, G. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. **Nat Genet**, v. 25, n. 1, p. 25-9, May 2000. ISSN 1061-4036 (Print) 1061-4036 (Linking).

AUSBELL, F. M. B., R.; KINGSTON, R. E. ET AL. . Current Protocols in Molecular Biology. New York: Wiley Interscience, 1994.

BAILEY-SERRES, J.; SORENSON, R.; JUNTAWONG, P. Getting the message across: cytoplasmic ribonucleoprotein complexes. **Trends Plant Sci**, v. 14, n. 8, p. 443-53, Aug 2009. ISSN 1878-4372 (Electronic) 1360-1385 (Linking).

BALLA, T.; BONDEVA, T.; VARNAI, P. How accurately can we image inositol lipids in living cells? **Trends in Pharmacological Sciences,** v. 21, n. 7, p. 238-241, Jul 2000. ISSN 0165-6147.

BARLOWE, C. Signals for COPII-dependent export from the ER: what's the ticket out? **Trends Cell Biol**, v. 13, n. 6, p. 295-300, Jun 2003. ISSN 0962-8924 (Print) 0962-8924 (Linking).

BARR, F.; LAMBRIGHT, D. G. Rab GEFs and GAPs. **Curr Opin Cell Biol**, v. 22, n. 4, p. 461-70, Aug 2010. ISSN 1879-0410 (Electronic) 0955-0674 (Linking).

BARSALOBRES-CAVALLARI, C., DE ROSA JÚNIOR, V., NOGUEIRA, F., FERRO, J., DI MAURO, S., MENOSSI, M., ULIAN, E., SILVA-FILHO, M. A novel system for largescale gene expression analysis: bacterial colonies array. **APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY**, v. 71, n. 6, p. 963-969, 2006.

BARSALOBRES, C. F. **Análise da expressão gênica induzida por** *Diatraea saccharalis* **em cana-de-açúcar via macroarranjos de colônias bacterianas.** 2004. 228p (mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

BAUM, B. J. Principles of Saliva Secretion. **Annals of the New York Academy of Sciences,** v. 694, p. 17-23, Sep 20 1993. ISSN 0077-8923.

BENLI, M.; DORING, F.; ROBINSON, D. G.; YANG, X. P.; GALLWITZ, D. Two GTPase isoforms, ypt31p and ypt32p, are essential for Golgi function in yeast. **Embo Journal**, v. 15, n. 23, p. 6460-6475, Dec 2 1996. ISSN 0261-4189.

BERTOLOTTI, A.; ZHANG, Y.; HENDERSHOT, L. M.; HARDING, H. P.; RON, D. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. **Nat Cell Biol**, v. 2, n. 6, p. 326-32, Jun 2000. ISSN 1465-7392 (Print) 1465-7392 (Linking).

BOS, J. L.; REHMANN, H.; WITTINGHOFER, A. GEFs and GAPs: critical elements in the control of small G proteins. **Cell**, v. 129, n. 5, p. 865-77, Jun 1 2007. ISSN 0092-8674 (Print) 0092-8674 (Linking).

BOYCE, M.; YUAN, J. Cellular response to endoplasmic reticulum stress: a matter of life or death. **Cell Death Differ,** v. 13, n. 3, p. 363-73, Mar 2006. ISSN 1350-9047 (Print) 1350-9047 (Linking).

BRENO, M. C. Y., N.; PREZOTO, B.C.; LAZARI, M.F.M.; TOFFOLETTO, O.; PICARELLI, Z.P. Maintenance of the snake Bothrops jararaca (Wied, 1824) in captivity. . **The Snake**, v. 22, p. 126-30, 1990.

BRUNNER, Y.; COUTE, Y.; IEZZI, M.; FOTI, M.; FUKUDA, M.; HOCHSTRASSER, D. F.; WOLLHEIM, C. B.; SANCHEZ, J. C. Proteomics analysis of insulin secretory granules. **Mol Cell Proteomics,** v. 6, n. 6, p. 1007-17, Jun 2007. ISSN 1535-9476 (Print) 1535-9476 (Linking).

BUCHAN, J. R.; PARKER, R. Eukaryotic stress granules: the ins and outs of translation. **Mol Cell,** v. 36, n. 6, p. 932-41, Dec 25 2009. ISSN 1097-4164 (Electronic) 1097-2765 (Linking).

BURGESS, J.; JAUREGUI, M.; TAN, J.; ROLLINS, J.; LALLET, S.; LEVENTIS, P. A.; BOULIANNE, G. L.; CHANG, H. C.; LE BORGNE, R.; KRAMER, H.; BRILL, J. A. AP-1 and clathrin are essential for secretory granule biogenesis in Drosophila. **Mol Biol Cell**, v. 22, n. 12, p. 2094-105, Jun 15 2011. ISSN 1939-4586 (Electronic) 1059-1524 (Linking).

BUTCHER, F. R.; PUTNEY, J. W., JR. Regulation of parotid gland function by cyclic nucleotides and calcium. **Adv Cyclic Nucleotide Res,** v. 13, p. 215-49, 1980. ISSN 0084-5930 (Print)

0084-5930 (Linking).

CALFON, M.; ZENG, H.; URANO, F.; TILL, J. H.; HUBBARD, S. R.; HARDING, H. P.; CLARK, S. G.; RON, D. IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA. **Nature**, v. 415, n. 6867, p. 92-6, Jan 3 2002. ISSN 0028-0836 (Print)

0028-0836 (Linking).

CAO, H.; THOMPSON, H. M.; KRUEGER, E. W.; MCNIVEN, M. A. Disruption of Golgi structure and function in mammalian cells expressing a mutant dynamin. **Journal of Cell Science**, v. 113, n. 11, p. 1993-2002, Jun 2000. ISSN 0021-9533.

CARDOSO, K. C.; DA SILVA, M. J.; COSTA, G. G.; TORRES, T. T.; DEL BEM, L. E.; VIDAL, R. O.; MENOSSI, M.; HYSLOP, S. A transcriptomic analysis of gene expression in the venom gland of the snake Bothrops alternatus (urutu). **BMC Genomics**, v. 11, p. 605, 2010. ISSN 1471-2164 (Electronic) 1471-2164 (Linking).

CARNEIRO, S. M., PINTO, V.R., JARED, C., LULA, L.A.B.M., FARIA, F.P., SESSO, A. . Morphometric studies on venom secretory cells from Bothrops jararacussu (jararacuçu) before and after venom extration. **Toxicon**, v. 29, p. 569-80, 1991.

CASAVOLA, E. C.; CATUCCI, A.; BIELLI, P.; DI PENTIMA, A.; PORCU, G.; PENNESTRI, M.; CICERO, D. O.; RAGNINI-WILSON, A. Ypt32p and Mlc1p bind within the vesicle binding region of the class V myosin Myo2p globular tail domain. **Molecular Microbiology**, v. 67, n. 5, p. 1051-1066, Mar 2008. ISSN 0950-382X.

CASEY, T. M.; MEADE, J. L.; HEWITT, E. W. Organelle proteomics: identification of the exocytic machinery associated with the natural killer cell secretory lysosome. **Mol Cell Proteomics,** v. 6, n. 5, p. 767-80, May 2007. ISSN 1535-9476 (Print) 1535-9476 (Linking).

CASTLE, D.; CASTLE, A. Intracellular transport and secretion of salivary proteins. **Crit Rev Oral Biol Med,** v. 9, n. 1, p. 4-22, 1998. ISSN 1045-4411 (Print) 1045-4411 (Linking).

CHAKRABARTI, A.; CHEN, A. W.; VARNER, J. D. A review of the mammalian unfolded protein response. **Biotechnol Bioeng**, Aug 1 2011. ISSN 1097-0290 (Electronic) 0006-3592 (Linking).

CHAUDHARY, A.; GU, Q. M.; THUM, O.; PROFIT, A. A.; QI, Y.; JEYAKUMAR, L.; FLEISCHER, S.; PRESTWICH, G. D. Specific interaction of Golgi coatomer protein alpha-COP with phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. **J Biol Chem**, v. 273, n. 14, p. 8344-50, Apr 3 1998. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

CHEN, S.; LIANG, M. C.; CHIA, J. N.; NGSEE, J. K.; TING, A. E. Rab8b and its interacting partner TRIP8b are involved in regulated secretion in AtT20 cells. **J Biol Chem**, v. 276, n. 16, p. 13209-16, Apr 20 2001. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

CHI, S.; CAO, H.; CHEN, J.; MCNIVEN, M. A. Eps15 mediates vesicle trafficking from the trans-Golgi network via an interaction with the clathrin adaptor AP-1. **Molecular Biology of the Cell**, v. 19, n. 8, p. 3564-3575, Aug 2008. ISSN 1059-1524.

CHING, A. T.; ROCHA, M. M.; PAES LEME, A. F.; PIMENTA, D. C.; DE FATIMA, D. F. M.; SERRANO, S. M.; HO, P. L.; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I. L. Some aspects of the venom proteome of the Colubridae snake Philodryas olfersii revealed from a Duvernoy's (venom) gland transcriptome. **FEBS Lett,** v. 580, n. 18, p. 4417-22, Aug 7 2006. ISSN 0014-5793 (Print)

0014-5793 (Linking).

CHOMCZYNSKI, P., SACCHI, N. . Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal Biochem**, v. 162, n. 1, p. 159-9, 1987.

CIDADE, D. A.; SIMAO, T. A.; DAVILA, A. M.; WAGNER, G.; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I. L.; HO, P. L.; BON, C.; ZINGALI, R. B.; ALBANO, R. M. Bothrops jararaca venom gland transcriptome: analysis of the gene expression pattern. **Toxicon**, v. 48, n. 4, p. 437-61, Sep 15 2006. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking).

CIDADE, D. A. P., SIMÃO, T.A., DÁVILA, A.M.R., WAGNER, G., JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I.L.M., HO, P.L., BON, C., ZINGALI,R.B., ALBANO, R.M. . Bothrops jararaca venom gland transcriptome: Analysis of the gene expression pattern. **Toxicon**, v. 48, p. 437-461, 2006.

COLLINS, B. M.; NORWOOD, S. J.; KERR, M. C.; MAHONY, D.; SEAMAN, M. N.; TEASDALE, R. D.; OWEN, D. J. Structure of Vps26B and mapping of its interaction with the retromer protein complex. **Traffic**, v. 9, n. 3, p. 366-79, Mar 2008. ISSN 1398-9219 (Print) 1398-9219 (Linking).

CONESA, A.; GOTZ, S.; GARCIA-GOMEZ, J. M.; TEROL, J.; TALON, M.; ROBLES, M. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. **Bioinformatics**, v. 21, n. 18, p. 3674-6, Sep 15 2005. ISSN 1367-4803 (Print) 1367-4803 (Linking).

CONIBEAR, E.; CLECK, J. N.; STEVENS, T. H. Vps51p mediates the association of the GARP (Vps52/53/54) complex with the late Golgi t-SNARE Tlg1p. **Mol Biol Cell**, v. 14, n. 4, p. 1610-23, Apr 2003. ISSN 1059-1524 (Print) 1059-1524 (Linking).

CORREA-NETTO, C.; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO IDE, L.; SILVA, D. A.; HO, P. L.; LEITAO-DE-ARAUJO, M.; ALVES, M. L.; SANZ, L.; FOGUEL, D.; ZINGALI, R. B.; CALVETE, J. J. Snake venomics and venom gland transcriptomic analysis of Brazilian coral snakes, Micrurus altirostris and M. corallinus. **J Proteomics**, v. 74, n. 9, p. 1795-809, Aug 24 2011. ISSN 1876-7737 (Electronic).

COSTA, V.; ANGELINI, C.; DE FEIS, I.; CICCODICOLA, A. Uncovering the complexity of transcriptomes with RNA-Seq. **J Biomed Biotechnol**, v. 2010, p. 853916, 2010. ISSN 1110-7251 (Electronic) 1110-7243 (Linking).

CREMONA, O.; DE CAMILLI, P. Phosphoinositides in membrane traffic at the synapse. **Journal of Cell Science,** v. 114, n. 6, p. 1041-1052, Mar 2001. ISSN 0021-9533.

CRUMP, C. M.; XIANG, Y.; THOMAS, L.; GU, F.; AUSTIN, C.; TOOZE, S. A.; THOMAS, G. PACS-1 binding to adaptors is required for acidic cluster motif-mediated protein traffic. **Embo Journal**, v. 20, n. 9, p. 2191-2201, May 1 2001. ISSN 0261-4189.

D'SILVA, N. J.; JACOBSON, K. L.; OTT, S. M.; WATSON, E. L. beta-adrenergic-induced cytosolic redistribution of Rap1 in rat parotid acini: role in secretion. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 274, n. 6, p. C1667-C1673, Jun 1998. ISSN 0363-6143.

D'ALESSIO, J. M., NOON, M.C. , LEY III, H. L. , GERARD, G. F. . One-tube doublestranded cDNA synthesis using cloned M-MLV reverse transcriptase. **Focus**, v. 9, p. 1-19, 1987.

DALTRY, J. C., WUSTER, W., THORPE, R.S. and snake venom evolution. Nature, v. 379, n. 6565, p. 537-40, 1996.

DE LUCCA, F. L.; HADDAD, A.; KOCHVA, E.; ROTHSCHILD, A. M.; VALERI, V. Protein synthesis and morphological changes in the secretory epithelium of the venom gland of Crotalus durissus terrificus at different times after manual extraction of venom. **Toxicon**, v. 12, n. 4, p. 361-8, Aug 1974. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking).

DE LUCCA, F. L., HADDAD, A., KOCHVA, E., ROTSCHILD, A.M., VALERI, V. . Protein synthesis and morphological changes in the secretory epithelium of the venom gland of Crotalus durissus terrificus at different times after manual extraction of venom. . **Toxicon**, v. 12, p. 361-9, 1974.

DE LUCCA, F. L.; IMAIZUMI, M. T. Synthesis of ribonucleic acid in the venom gland of Crotalus durissus terrificus (Ophidia, Reptilia) after manual extraction of the venom. **Biochem J**, v. 130, n. 2, p. 335-42, Nov 1972. ISSN 0264-6021 (Print) 0264-6021 (Linking).

DELPORTE, C.; STEINFELD, S. Distribution and roles of aquaporins in salivary glands. **Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes,** v. 1758, n. 8, p. 1061-1070, Aug 2006. ISSN 0005-2736.

DENG, Y.; GOLINELLI-COHEN, M. P.; SMIRNOVA, E.; JACKSON, C. L. A COPI coat subunit interacts directly with an early-Golgi localized Arf exchange factor. **Embo Reports**, v. 10, n. 1, p. 58-64, Jan 2009. ISSN 1469-221X.

DENNIS, G., JR.; SHERMAN, B. T.; HOSACK, D. A.; YANG, J.; GAO, W.; LANE, H. C.; LEMPICKI, R. A. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. **Genome Biol**, v. 4, n. 5, p. P3, 2003. ISSN 1465-6914 (Electronic) 1465-6906 (Linking).

DOLEY, R.; KINI, R. M. Protein complexes in snake venom. **Cell Mol Life Sci,** v. 66, n. 17, p. 2851-71, Sep 2009. ISSN 1420-9071 (Electronic) 1420-682X (Linking).

DOLEY, R.; MACKESSY, S. P.; KINI, R. M. Role of accelerated segment switch in exons to alter targeting (ASSET) in the molecular evolution of snake venom proteins. **BMC Evol Biol**, v. 9, p. 146, 2009. ISSN 1471-2148 (Electronic) 1471-2148 (Linking).

DUMARESQ-DOIRON, K.; SAVARD, M. F.; AKAM, S.; COSTANTINO, S.; LEFRANCOIS, S. The phosphatidylinositol 4-kinase PI4KIII alpha is required for the recruitment of GBF1 to Golgi membranes. **Journal of Cell Science**, v. 123, n. 13, p. 2273-2280, Jul 1 2010. ISSN 0021-9533.

DURBAN, J.; JUAREZ, P.; ANGULO, Y.; LOMONTE, B.; FLORES-DIAZ, M.; ALAPE-GIRON, A.; SASA, M.; SANZ, L.; GUTIERREZ, J. M.; DOPAZO, J.; CONESA, A.; CALVETE, J. J. Profiling the venom gland transcriptomes of Costa Rican snakes by 454 pyrosequencing. **BMC Genomics**, v. 12, p. 259, 2011. ISSN 1471-2164 (Electronic) 1471-2164 (Linking).

ERNST, J.; BAR-JOSEPH, Z. STEM: a tool for the analysis of short time series gene expression data. **BMC Bioinformatics**, v. 7, p. 191, 2006. ISSN 1471-2105 (Electronic) 1471-2105 (Linking).

FANG, H.; MULLINS, C.; GREEN, N. In addition to SEC11, a newly identified gene, SPC3, is essential for signal peptidase activity in the yeast endoplasmic reticulum. **J Biol Chem**, v. 272, n. 20, p. 13152-8, May 16 1997. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

FENWICK, A. M.; GUTBERLET, R. L.; EVANS, J. A.; PARKINSON, C. L. Morphological and molecular evidence for phylogeny and classification of South American pitvipers, genera Bothrops, Bothriopsis, and Bothrocophias (Serpentes: Viperidae). **Zoological Journal of the Linnean Society,** v. 156, n. 3, p. 617-640, Jul 2009. ISSN 0024-4082.

FERREIRA, S. H.; BARTELT, D. C.; GREENE, L. J. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from Bothrops jararaca venom. **Biochemistry**, v. 9, n. 13, p. 2583-93, Jun 23 1970. ISSN 0006-2960 (Print) 0006-2960 (Linking).

FONS, R. D.; BOGERT, B. A.; HEGDE, R. S. Substrate-specific function of the transloconassociated protein complex during translocation across the ER membrane. **J Cell Biol**, v. 160, n. 4, p. 529-39, Feb 17 2003. ISSN 0021-9525 (Print) 0021-9525 (Linking).

FORD, M. G.; PEARSE, B. M.; HIGGINS, M. K.; VALLIS, Y.; OWEN, D. J.; GIBSON, A.; HOPKINS, C. R.; EVANS, P. R.; MCMAHON, H. T. Simultaneous binding of PtdIns(4,5)P2 and clathrin by AP180 in the nucleation of clathrin lattices on membranes. **Science**, v. 291, n. 5506, p. 1051-5, Feb 9 2001. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking).

FOX, J. W.; SERRANO, S. M. Structural considerations of the snake venom metalloproteinases, key members of the M12 reprolysin family of metalloproteinases. **Toxicon**, v. 45, n. 8, p. 969-85, Jun 15 2005. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking).

FOX, J. W.; SERRANO, S. M. Exploring snake venom proteomes: multifaceted analyses for complex toxin mixtures. **Proteomics**, v. 8, n. 4, p. 909-20, Feb 2008a. ISSN 1615-9861 (Electronic)

1615-9853 (Linking).

FOX, J. W.; SERRANO, S. M. Insights into and speculations about snake venom metalloproteinase (SVMP) synthesis, folding and disulfide bond formation and their contribution to venom complexity. **FEBS J**, v. 275, n. 12, p. 3016-30, Jun 2008b. ISSN 1742-464X (Print)

1742-464X (Linking).

FOX, J. W.; SERRANO, S. M. Timeline of key events in snake venom metalloproteinase research. **J Proteomics**, v. 72, n. 2, p. 200-9, Mar 6 2009. ISSN 1874-3919 (Print).

FOX, R. M.; HANLON, C. D.; ANDREW, D. J. The CrebA/Creb3-like transcription factors are major and direct regulators of secretory capacity. **J Cell Biol**, v. 191, n. 3, p. 479-92, Nov 1 2010. ISSN 1540-8140 (Electronic) 0021-9525 (Linking).

FRY, B. G.; SCHEIB, H.; VAN DER WEERD, L.; YOUNG, B.; MCNAUGHTAN, J.; RAMJAN, S. F.; VIDAL, N.; POELMANN, R. E.; NORMAN, J. A. Evolution of an arsenal: structural and functional diversification of the venom system in the advanced snakes (Caenophidia). **Mol Cell Proteomics,** v. 7, n. 2, p. 215-46, Feb 2008. ISSN 1535-9484 (Electronic)

1535-9476 (Linking).

FRY, B. G.; VIDAL, N.; VAN DER WEERD, L.; KOCHVA, E.; RENJIFO, C. Evolution and diversification of the Toxicofera reptile venom system. **J Proteomics**, v. 72, n. 2, p. 127-36, Mar 6 2009. ISSN 1874-3919 (Print).

FUJIMI, T. J.; NAKAJYO, T.; NISHIMURA, E.; OGURA, E.; TSUCHIYA, T.; TAMIYA, T. Molecular evolution and diversification of snake toxin genes, revealed by analysis of intron sequences. **Gene**, v. 313, p. 111-8, Aug 14 2003. ISSN 0378-1119 (Print) 0378-1119 (Linking).

FUKUDA, M. Distinct Rab binding specificity of Rim1, Rim2, rabphilin, and Noc2. Identification of a critical determinant of Rab3A/Rab27A recognition by Rim2. **J Biol Chem**, v. 278, n. 17, p. 15373-80, Apr 25 2003. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

FUKUDA, M. Regulation of secretory vesicle traffic by Rab small GTPases. **Cell Mol Life Sci**, v. 65, n. 18, p. 2801-13, Sep 2008. ISSN 1420-682X (Print) 1420-682X (Linking).

FURTADO, M. F.; MARUYAMA, M.; KAMIGUTI, A. S.; ANTONIO, L. C. Comparative study of nine Bothrops snake venoms from adult female snakes and their offspring. **Toxicon**, v. 29, n. 2, p. 219-26, 1991. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking).

GENTLEMAN, R. C., CAREY, V.J., BATES, D.M. ET AL. Bioconductor:open software development for computational biology and bioinformatics. Genome Biol., v. 5, n. R80, 2004.

GETHER, U. Uncovering molecular mechanisms involved in activation of G protein-coupled receptors. **Endocr Rev,** v. 21, n. 1, p. 90-113, Feb 2000. ISSN 0163-769X (Print) 0163-769X (Linking).

GETHING, M. J. Role and regulation of the ER chaperone BiP. **Semin Cell Dev Biol**, v. 10, n. 5, p. 465-72, Oct 1999. ISSN 1084-9521 (Print) 1084-9521 (Linking).

GOPALAKRISHNAKONE, P. K., E. . Histological features of the venom apparatus of sea snake Lapenis curtus. . **The Snake**, v. 25, p. 27-37, 1993.

GROSSHANS, B. L.; ORTIZ, D.; NOVICK, P. Rabs and their effectors: achieving specificity in membrane traffic. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 103, n. 32, p. 11821-7, Aug 8 2006. ISSN 0027-8424 (Print) 0027-8424 (Linking).

HALES, C. M.; VAERMAN, J. P.; GOLDENRING, J. R. Rab11 family interacting protein 2 associates with Myosin Vb and regulates plasma membrane recycling. **J Biol Chem,** v. 277, n. 52, p. 50415-21, Dec 27 2002. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

HAUCKE, V. Phosphoinositide regulation of clathrin-mediated endocytosis. **Biochemical Society Transactions,** v. 33, p. 1285-1289, Dec 2005. ISSN 0300-5127.

HAYASHI, M. A.; CAMARGO, A. C. The Bradykinin-potentiating peptides from venom gland and brain of Bothrops jararaca contain highly site specific inhibitors of the somatic angiotensinconverting enzyme. **Toxicon**, v. 45, n. 8, p. 1163-70, Jun 15 2005. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking). HETZ, C.; MARTINON, F.; RODRIGUEZ, D.; GLIMCHER, L. H. The Unfolded Protein Response: Integrating Stress Signals Through the Stress Sensor IRE1{alpha}. **Physiol Rev**, v. 91, n. 4, p. 1219-43, Oct 2011. ISSN 1522-1210 (Electronic) 0031-9333 (Linking).

HINNERS, I.; WENDLER, F.; FEI, H.; THOMAS, L.; THOMAS, G.; TOOZE, S. A. AP-1 recruitment to VAMP4 is modulated by phosphorylation-dependent binding of PACS-1. **Embo Reports,** v. 4, n. 12, p. 1182-1189, Dec 2003. ISSN 1469-221X.

HUBER, W.; VON HEYDEBRECK, A.; SULTMANN, H.; POUSTKA, A.; VINGRON, M. Variance stabilization applied to microarray data calibration and to the quantification of differential expression. **Bioinformatics**, v. 18 Suppl 1, p. S96-104, 2002. ISSN 1367-4803 (Print)

1367-4803 (Linking).

IANZER, D.; KONNO, K.; MARQUES-PORTO, R.; VIEIRA PORTARO, F. C.; STOCKLIN, R.; MARTINS DE CAMARGO, A. C.; PIMENTA, D. C. Identification of five new bradykinin potentiating peptides (BPPs) from Bothrops jararaca crude venom by using electrospray ionization tandem mass spectrometry after a two-step liquid chromatography. **Peptides**, v. 25, n. 7, p. 1085-92, Jul 2004. ISSN 0196-9781 (Print) 0196-9781 (Linking).

IHAKA, R. A. G., R. R. a language for data analysis and graphics. J. Comp.Graph. Stat, v. 5, p. 299–314, 1996.

IMAI, A.; YOSHIE, S.; NASHIDA, T.; SHIMOMURA, H.; FUKUDA, M. The small GTPase Rab27B regulates amylase release from rat parotid acinar cells. **J Cell Sci**, v. 117, n. Pt 10, p. 1945-53, Apr 15 2004. ISSN 0021-9533 (Print) 0021-9533 (Linking).

ISHIKAWA, Y.; IIDA, H.; ISHIDA, H. The muscarinic acetylcholine receptor-stimulated increase in aquaporin-5 levels in the apical plasma membrane in rat parotid acinar cells is coupled with activation of nitric oxide/cGMP signal transduction. **Molecular Pharmacology**, v. 61, n. 6, p. 1423-1434, Jun 2002. ISSN 0026-895X.

ISHIKAWA, Y.; ISHIDA, H. Aquaporin water channel in salivary glands. **Jpn J Pharmacol**, v. 83, n. 2, p. 95-101, Jun 2000. ISSN 0021-5198 (Print) 0021-5198 (Linking).

ISHIKAWA, Y.; SKOWRONSKI, M. T.; INOUE, N.; ISHIDA, H. alpha(1)-adrenoceptorinduced trafficking of aquaporin-5 to the apical plasma membrane of rat parotid cells. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 265, n. 1, p. 94-100, Nov 1999. ISSN 0006-291X (Print) 0006-291X (Linking).

JALINK, K.; MOOLENAAR, W. H. G protein-coupled receptors: the inside story. **Bioessays**, v. 32, n. 1, p. 13-6, Jan 2010. ISSN 1521-1878 (Electronic) 0265-9247 (Linking).

JAMIESON, J. D. A. P., G.E. . Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I Role of the peripheral elements of the Golgi complex. **J. Cell. Biol.**, v. 34, p. 577-96, 1967a.

JAMIESON, J. D. A. P., G.E. . Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. II Transport to condensing vacuoles and zymogen granules. J. Cell. Biol., v. 34, p. 597-615, 1967b.

JEDD, G.; RICHARDSON, C.; LITT, R.; SEGEV, N. The Ypt1 Gtpase Is Essential for the First 2 Steps of the Yeast Secretory Pathway. Journal of Cell Biology, v. 131, n. 3, p. 583-590, Nov 1995. ISSN 0021-9525.

JEONG, W.; LEE, D. Y.; PARK, S.; RHEE, S. G. ERp16, an endoplasmic reticulum-resident thiol-disulfide oxidoreductase: biochemical properties and role in apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. J Biol Chem, v. 283, n. 37, p. 25557-66, Sep 12 2008. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

JOHNSON, A. E.; VAN WAES, M. A. The translocon: a dynamic gateway at the ER membrane. Annu Rev Cell Dev Biol, v. 15, p. 799-842, 1999. ISSN 1081-0706 (Print) 1081-0706 (Linking).

JONES, S. M.; HOWELL, K. E.; HENLEY, J. R.; CAO, H.; MCNIVEN, M. A. Role of dynamin in the formation of transport vesicles from the trans-Golgi network. Science, v. 279, n. 5350, p. 573-7, Jan 23 1998. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking).

JUNQUEIRA-DE- AZEVEDO, I. L. M., HO, P.L. A survey of gene expression and diversity in the venom glands of the pitviper snake Bothrops insularis through the generation of expressed sequence tags (ESTs). . Gene, v. 299, p. 279-291, 2002.

JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO IDE, L.; HO, P. L. A survey of gene expression and diversity in the venom glands of the pitviper snake Bothrops insularis through the generation of expressed sequence tags (ESTs). Gene, v. 299, n. 1-2, p. 279-91, Oct 16 2002, ISSN 0378-1119 (Print) 0378-1119 (Linking).

JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO IDE, L.; PERTINHEZ, T.; SPISNI, A.; CARRENO, F. R.; FARAH, C. S.; HO, P. L. Cloning and expression of calglandulin, a new EF-hand protein from the venom glands of Bothrops insularis snake in E. coli. Biochim Biophys Acta, v. 1648, n. 1-2, p. 90-8, May 30 2003. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002 (Linking).

KAL, A. J.; VAN ZONNEVELD, A. J.; BENES, V.; VAN DEN BERG, M.; KOERKAMP, M. G.; ALBERMANN, K.; STRACK, N.; RUIJTER, J. M.; RICHTER, A.; DUJON, B.; ANSORGE, W.; TABAK, H. F. Dynamics of gene expression revealed by comparison of serial analysis of gene expression transcript profiles from yeast grown on two different carbon sources. Mol Biol Cell, v. 10, n. 6, p. 1859-72, Jun 1999. ISSN 1059-1524 (Print) 1059-1524 (Linking).

KASHIMA, S.; ROBERTO, P. G.; SOARES, A. M.; ASTOLFI-FILHO, S.; PEREIRA, J. O.; GIULIATI, S.; FARIA, M., JR.; XAVIER, M. A.; FONTES, M. R.; GIGLIO, J. R.; FRANCA, S. C. Analysis of Bothrops jararacussu venomous gland transcriptome focusing on structural and functional aspects: I--gene expression profile of highly expressed phospholipases A2. Biochimie, v. 86, n. 3, p. 211-9, Mar 2004. ISSN 0300-9084 (Print) 0300-9084 (Linking).

KASTURIRATNE, A.; WICKREMASINGHE, A. R.; DE SILVA, N.; GUNAWARDENA, N. K.; PATHMESWARAN, A.; PREMARATNA, R.; SAVIOLI, L.; LALLOO, D. G.; DE SILVA, H. J. The global burden of snakebite: a literature analysis and modelling based on regional estimates of envenoming and deaths. **Plos Medicine,** v. 5, n. 11, p. e218, Nov 4 2008. ISSN 1549-1676 (Electronic) 1549-1277 (Linking).

KERCHOVE, C. M.; CARNEIRO, S. M.; MARKUS, R. P.; YAMANOUYE, N. Stimulation of the alpha-adrenoceptor triggers the venom production cycle in the venom gland of Bothrops jararaca. **J Exp Biol**, v. 207, n. Pt 3, p. 411-6, Jan 2004. ISSN 0022-0949 (Print) 0022-0949 (Linking).

KERCHOVE CM, L. M., ZABLITH MB, LAZARI MF, SMAILI SS, YAMANOUYE N. . Alpha1-adrenoceptors trigger the snake venom production cycle in secretory cells by activating phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate hydrolysis and ERK signaling pathway. . **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol,** v. 150, n. 4, p. 431-7, 2008.

KESSELS, M. M.; DONG, J. X.; LEIBIG, W.; WESTERMANN, P.; QUALMANN, B. Complexes of syndapin II with dynamin II promote vesicle formation at the trans-Golgi network. **Journal of Cell Science**, v. 119, n. 8, p. 1504-1516, Apr 15 2006. ISSN 0021-9533.

KESSELS, M. M.; QUALMANN, B. The syndapin protein family: linking membrane trafficking with the cytoskeleton. **J Cell Sci**, v. 117, n. Pt 15, p. 3077-86, Jul 1 2004. ISSN 0021-9533 (Print) 0021-9533 (Linking)

0021-9533 (Linking).

KHVOTCHEV, M. V.; REN, M.; TAKAMORI, S.; JAHN, R.; SUDHOF, T. C. Divergent functions of neuronal Rab11b in Ca2+-regulated versus constitutive exocytosis. **J Neurosci**, v. 23, n. 33, p. 10531-9, Nov 19 2003. ISSN 1529-2401 (Electronic) 0270-6474 (Linking).

KIMATA, Y.; KIMATA, Y. I.; SHIMIZU, Y.; ABE, H.; FARCASANU, I. C.; TAKEUCHI, M.; ROSE, M. D.; KOHNO, K. Genetic evidence for a role of BiP/Kar2 that regulates Ire1 in response to accumulation of unfolded proteins. **Mol Biol Cell**, v. 14, n. 6, p. 2559-69, Jun 2003. ISSN 1059-1524 (Print) 1059-1524 (Linking).

KING, L. S.; KOZONO, D.; AGRE, P. From structure to disease: The evolving tale of aquaporin biology. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 5, n. 9, p. 687-698, Sep 2004. ISSN 1471-0072.

KING, L. S.; NIELSEN, S.; AGRE, P. Aquaporins in complex tissues. I. Developmental patterns in respiratory and glandular tissues of rat. **Am J Physiol**, v. 273, n. 5 Pt 1, p. C1541-8, Nov 1997. ISSN 0002-9513 (Print) 0002-9513 (Linking).

KITANO, H. Systems biology: a brief overview. **Science,** v. 295, n. 5560, p. 1662-4, Mar 1 2002. ISSN 1095-9203 (Electronic) 0036-8075 (Linking).

KLARLUND, J. K.; RAMEH, L. E.; CANTLEY, L. C.; BUXTON, J. M.; HOLIK, J. J.; SAKELIS, C.; PATKI, V.; CORVERA, S.; CZECH, M. P. Regulation of GRP1-catalyzed ADP ribosylation factor guanine nucleotide exchange by phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. J **Biol Chem**, v. 273, n. 4, p. 1859-62, Jan 23 1998. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

KLUMPERMAN, J.; KULIAWAT, R.; GRIFFITH, J. M.; GEUZE, H. J.; ARVAN, P. Mannose 6-phosphate receptors are sorted from immature secretory granules via adaptor protein AP-1, clathrin, and syntaxin 6-positive vesicles. **Journal of Cell Biology**, v. 141, n. 2, p. 359-371, Apr 20 1998. ISSN 0021-9525.

KOCHVA, E. Oral glands of the Reptilia. In: GANS, C. (Ed.). **Biology of the Reptilia**. London: Academic Press, v.8B, 1978. p.43-61.

KOCHVA, E. The origin of snakes and evolution of the venom apparatus. **Toxicon,** v. 25, n. 1, p. 65-106, 1987. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking).

KOCHVA, E. O., U.; OVADIA, M.; SIMON, T.; BDOLAH, A. . Venom glands, venom synthesis, venom secretion and evolution. . In: D. EAKER, T. W. (Ed.). Natural Toxins. Oxford: Pergamon Press, 1980. p.3-12.

KOHL, P.; CRAMPIN, E. J.; QUINN, T. A.; NOBLE, D. Systems biology: an approach. **Clin Pharmacol Ther,** v. 88, n. 1, p. 25-33, Jul 2010. ISSN 1532-6535 (Electronic) 0009-9236 (Linking).

KRANE, C. M.; TOWNE, J. E.; MENON, A. G. Cloning and characterization of murine Aqp5: evidence for a conserved aquaporin gene cluster. **Mamm Genome**, v. 10, n. 5, p. 498-505, May 1999. ISSN 0938-8990 (Print) 0938-8990 (Linking).

LEBORGNE, R.; HOFLACK, B. Mannose 6-phosphate receptors regulate the formation of clathrin-coated vesicles in the TGN. **Journal of Cell Biology**, v. 137, n. 2, p. 335-345, Apr 21 1997. ISSN 0021-9525.

LEFRANCOIS, P.; MCCORMICK, P. J. The Arf GEF GBF1 is required for GGA recruitment to golgi membranes. **Traffic,** v. 8, n. 10, p. 1440-1451, Oct 2007. ISSN 1398-9219.

LI, Y. M.; ZHANG, Y.; XIANG, B.; ZHANG, Y. Y.; WU, L. L.; YU, G. Y. Expression and functional analysis of beta-adrenoceptor subtypes in rabbit submandibular gland. **Life Sci**, v. 79, n. 22, p. 2091-8, Oct 26 2006. ISSN 0024-3205 (Print) 0024-3205 (Linking).

LIAN, J. P.; STONE, S.; JIANG, Y.; LYONS, P.; FERRONOVICK, S. Ypt1p Implicated in V-Snare Activation. **Nature**, v. 372, n. 6507, p. 698-701, Dec 15 1994. ISSN 0028-0836.

LINNARSSON, S. Recent advances in DNA sequencing methods - general principles of sample preparation. **Exp Cell Res,** v. 316, n. 8, p. 1339-43, May 1 2010. ISSN 1090-2422 (Electronic) 0014-4827 (Linking).

LIPATOVA, Z.; TOKAREV, A. A.; JIN, Y.; MULHOLLAND, J.; WEISMAN, L. S.; SEGEV, N. Direct Interaction between a Myosin V Motor and the Rab GTPases Ypt31/32 Is Required for Polarized Secretion. **Molecular Biology of the Cell**, v. 19, n. 10, p. 4177-4187, Oct 2008. ISSN 1059-1524.

LIVAK, K. L. S., T.D. Analysis of Relative gene Expression Data Using Real-Tie Quantitative PCR and the $2-\Delta\Delta CT$ Method. **Methods,** v. 25, p. 402-8, 2001.

LOPEZ F, R. J., LORIOD B, BOURGEOIS A, LOI L, BERTUCCI F, HINGAMP P, HOULGATTE R, GRANJEAUD S. Feature extraction and signal processing for nylon DNA microarrays. **BMC Genomics.**, v. 5, n. 1, 2004.

LUNA, M. S.; HORTENCIO, T. M.; FERREIRA, Z. S.; YAMANOUYE, N. Sympathetic outflow activates the venom gland of the snake Bothrops jararaca by regulating the activation of transcription factors and the synthesis of venom gland proteins. **J Exp Biol**, v. 212, n. Pt 10, p. 1535-43, May 2009. ISSN 0022-0949 (Print) 0022-0949 (Linking).

LUNA, M. S. A. H., T.M.A.; FERREIRA, Z. S.; YAMANOUYE, N. Sympathetic outflow activates the venom gland of the snake Bothrops jararaca by regulating the activation of transcription factors and the synthesis of venom gland proteins. **The journal of Experimental Biology**, v. 212, p. 1535-43, 2009.

MACKESSY, S. P. Morphology and ultrastruture os the venom gland of the northen pacific rattlesnake Crotalus viridis oreganus. **J. Morphol.**, v. 208, p. 109-28, 1991.

MALONE, J. H.; OLIVER, B. Microarrays, deep sequencing and the true measure of the transcriptome. **BMC Biol**, v. 9, p. 34, 2011. ISSN 1741-7007 (Electronic) 1741-7007 (Linking).

MANCIAS, J. D.; GOLDBERG, J. Exiting the endoplasmic reticulum. **Traffic,** v. 6, n. 4, p. 278-85, Apr 2005. ISSN 1398-9219 (Print) 1398-9219 (Linking).

MANOLEA, F.; CLAUDE, A.; CHUN, J.; ROSAS, J.; MELANCON, P. Distinct functions for Arf guanine nucleotide exchange factors at the Golgi complex: GBF1 and BIGs are required for assembly and maintenance of the Golgi stack and trans-Golgi network, respectively. **Molecular Biology of the Cell**, v. 19, n. 2, p. 523-535, Feb 2008. ISSN 1059-1524.

MARDIS, E. R. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. **Trends Genet**, v. 24, n. 3, p. 133-41, Mar 2008. ISSN 0168-9525 (Print) 0168-9525 (Linking).

MARKOU, T.; HADZOPOULOU-CLADARAS, M.; LAZOU, A. Phenylephrine induces activation of CREB in adult rat cardiac myocytes through MSK1 and PKA signaling pathways. **J Mol Cell Cardiol**, v. 37, n. 5, p. 1001-11, Nov 2004. ISSN 0022-2828 (Print) 0022-2828 (Linking).

MAROUN, R. C.; SERRANO, S. M. Identification of the substrate-binding exosites of two snake venom serine proteinases: molecular basis for the partition of two essential functions of thrombin. **J Mol Recognit,** v. 17, n. 1, p. 51-61, Jan-Feb 2004. ISSN 0952-3499 (Print) 0952-3499 (Linking).

MARTIN, T. F. J. PI(4,5)P-2 regulation of surface membrane traffic. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 13, n. 4, p. 493-499, Aug 2001. ISSN 0955-0674.

MATSUKI, N.; HASHIMOTO, S.; SHIMONO, M.; MURAKAMI, M.; FUJITA-YOSHIGAKI, J.; FURUYAMA, S.; SUGIYA, H. Involvement of aquaporin-5 water channel in osmoregulation in parotid secretory granules. **Journal of Membrane Biology**, v. 203, n. 3, p. 119-126, Feb 2005. ISSN 0022-2631.

MAYR, B.; MONTMINY, M. Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. **Nat Rev Mol Cell Biol,** v. 2, n. 8, p. 599-609, Aug 2001. ISSN 1471-0072 (Print) 1471-0072 (Linking).

MCLAUGHLIN, N. J.; BANERJEE, A.; KHAN, S. Y.; LIEBER, J. L.; KELHER, M. R.; GAMBONI-ROBERTSON, F.; SHEPPARD, F. R.; MOORE, E. E.; MIERAU, G. W.; ELZI, D. J.; SILLIMAN, C. C. Platelet-activating factor-mediated endosome formation causes membrane translocation of p67phox and p40phox that requires recruitment and activation of p38 MAPK, Rab5a, and phosphatidylinositol 3-kinase in human neutrophils. **J Immunol**, v. 180, n. 12, p. 8192-203, Jun 15 2008. ISSN 0022-1767 (Print) 0022-1767 (Linking).

MCNIVEN, M. A.; THOMPSON, H. M. Vesicle formation at the plasma membrane and trans-Golgi network: The same but different. **Science**, v. 313, n. 5793, p. 1591-1594, Sep 15 2006. ISSN 0036-8075.

MG., R. Arf. . In: A., H. (Ed.). GTPases. Oxford, UK: Oxford Univ. Press, 2000. p.176–197.

MILLER, S. E.; COLLINS, B. M.; MCCOY, A. J.; ROBINSON, M. S.; OWEN, D. J. A SNARE-adaptor interaction is a new mode of cargo recognition in clathrin-coated vesicles. **Nature**, v. 450, n. 7169, p. 570-4, Nov 22 2007. ISSN 1476-4687 (Electronic) 0028-0836 (Linking).

MONETTA, P.; SLAVIN, F.; ROMERO, N.; ALVAREZ, C. Rab1b interacts with GBF1 and modulates both ARR dynamics and COPI association. **Molecular Biology of the Cell**, v. 18, n. 7, p. 2400-2410, Jul 2007. ISSN 1059-1524.

MOROZOVA, O.; HIRST, M.; MARRA, M. A. Applications of new sequencing technologies for transcriptome analysis. **Annu Rev Genomics Hum Genet,** v. 10, p. 135-51, 2009. ISSN 1545-293X (Electronic) 1527-8204 (Linking).

MORTAZAVI, A.; WILLIAMS, B. A.; MCCUE, K.; SCHAEFFER, L.; WOLD, B. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. **Nat Methods**, v. 5, n. 7, p. 621-8, Jul 2008. ISSN 1548-7105 (Electronic) 1548-7091 (Linking).

MOYER, B. D.; ALLAN, B. B.; BALCH, W. E. Rab1 interaction with a GM130 effector complex regulates COPII vesicle cis-Golgi tethering. **Traffic,** v. 2, n. 4, p. 268-276, Apr 2001. ISSN 1398-9219.

MURAYAMA, N.; HAYASHI, M. A.; OHI, H.; FERREIRA, L. A.; HERMANN, V. V.; SAITO, H.; FUJITA, Y.; HIGUCHI, S.; FERNANDES, B. L.; YAMANE, T.; DE CAMARGO, A. C. Cloning and sequence analysis of a Bothrops jararaca cDNA encoding a precursor of seven bradykinin-potentiating peptides and a C-type natriuretic peptide. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 94, n. 4, p. 1189-93, Feb 18 1997. ISSN 0027-8424 (Print) 0027-8424 (Linking).

NAGASAWA, K.; HIGASHI, T.; HOSOKAWA, N.; KAUFMAN, R. J.; NAGATA, K. Simultaneous induction of the four subunits of the TRAP complex by ER stress accelerates ER degradation. **EMBO Rep**, v. 8, n. 5, p. 483-9, May 2007. ISSN 1469-221X (Print) 1469-221X (Linking).

NAKASHIMA, K. I.; NOBUHISA, I.; DESHIMARU, M.; NAKAI, M.; OGAWA, T.; SHIMOHIGASHI, Y.; FUKUMAKI, Y.; HATTORI, M.; SAKAKI, Y.; HATTORI, S.; OHNO, M. Accelerated Evolution in the Protein-Coding Regions Is Universal in Crotalinae Snake-Venom Gland Phospholipase a(2) Isozyme Genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, n. 12, p. 5605-5609, Jun 6 1995. ISSN 0027-8424.

NASHIDA, T.; YOSHIE, S.; IMAI, A.; SHIMOMURA, H. Co-localization of Rab4 with endocytosis-related proteins in the rat parotid glands. **Archives of Histology and Cytology**, v. 66, n. 1, p. 45-52, Mar 2003. ISSN 0914-9465.

NEIVA, M. A., F.B.M.; SOUZA, J.V.; RÁDIS-BAPTISTA, G.; PRIETO DA SILVA, A.R.B.; WALTER, M.E.M.T.; BRIGIDO, M.M.; YAMANE, T.; LÓPEZ-LOZANO, J.L.; ASTOLFI-FILHO, S. Transcriptome analysis of the Amazonian viper Bothrops atrox venom gland using expressed sequence tags (ESTs) **Toxicon**, v. 53, n. 4, p. 427-36, 2009.

NIELSEN, S.; FROKIAER, J.; MARPLES, D.; KWON, T. H.; AGRE, P.; KNEPPER, M. A. Aquaporins in the kidney: From molecules to medicine. **Physiological Reviews**, v. 82, n. 1, p. 205-244, Jan 2002. ISSN 0031-9333.

NIU, T. K.; PFEIFER, A. C.; LIPPINCOTT-SCHWARTZ, J.; JACKSON, C. L. Dynamics of GBF1, a brefeldin A-sensitive Arf1 exchange factor at the Golgi. **Molecular Biology of the Cell**, v. 16, n. 3, p. 1213-1222, Mar 2005. ISSN 1059-1524.

NORIEGA, V. M.; TORTORELLA, D. A bipartite trigger for dislocation directs the proteasomal degradation of an endoplasmic reticulum membrane glycoprotein. **J Biol Chem**, v. 283, n. 7, p. 4031-43, Feb 15 2008. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

ORTIZ, D.; MEDKOVA, M.; WALCH-SOLIMENA, C.; NOVICK, P. Ypt32 recruits the Sec4p guanine nucleotide exchange factor, Sec2p, to secretory vesicles; evidence for a Rab cascade in yeast. **J Cell Biol**, v. 157, n. 6, p. 1005-15, Jun 10 2002. ISSN 0021-9525 (Print) 0021-9525 (Linking).

PAULOIN, A.; TOOZE, S. A.; MICHELUTTI, I.; DELPAL, S.; OLLIVIER-BOUSQUET, M. The majority of clathrin coated vesicles from lactating rabbit mammary gland arises from the secretory pathway. **Journal of Cell Science**, v. 112, n. 22, p. 4089-4100, Nov 1999. ISSN 0021-9533.

PEREIRA-LEAL, J. B.; HUME, A. N.; SEABRA, M. C. Prenylation of Rab GTPases: molecular mechanisms and involvement in genetic disease. **Febs Letters,** v. 498, n. 2-3, p. 197-200, Jun 8 2001. ISSN 0014-5793.

PEREIRA-LEAL, J. B.; SEABRA, M. C. The mammalian Rab family of small GTPases: Definition of family and subfamily sequence motifs suggests a mechanism for functional specificity in the Ras superfamily. **Journal of Molecular Biology**, v. 301, n. 4, p. 1077-1087, Aug 25 2000. ISSN 0022-2836.

PEREIRA-LEAL, J. B.; SEABRA, M. C. Evolution of the Rab family of small GTP-binding proteins. **J Mol Biol**, v. 313, n. 4, p. 889-901, Nov 2 2001. ISSN 0022-2836 (Print) 0022-2836 (Linking).

PFEFFER, S.; AIVAZIAN, D. Targeting Rab GTPases to distinct membrane compartments. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 5, n. 11, p. 886-96, Nov 2004. ISSN 1471-0072 (Print)

1471-0072 (Linking).

PIND, S. N.; NUOFFER, C.; MCCAFFERY, J. M.; PLUTNER, H.; DAVIDSON, H. W.; FARQUHAR, M. G.; BALCH, W. E. Rab1 and Ca2+ Are Required for the Fusion of Carrier Vesicles Mediating Endoplasmic-Reticulum to Golgi Transport. **Journal of Cell Biology**, v. 125, n. 2, p. 239-252, Apr 1994. ISSN 0021-9525.

PROCTOR, G. B.; CARPENTER, G. H. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. **Auton Neurosci,** v. 133, n. 1, p. 3-18, Apr 30 2007. ISSN 1566-0702 (Print) 1566-0702 (Linking).

RAFFANIELLO, R. D.; LIN, J. Y.; SCHWIMMER, R.; OJAKIAN, G. K. Expression and localization of Rab3D in rat parotid gland. **Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research,** v. 1450, n. 3, p. 352-363, Jul 8 1999. ISSN 0167-4889.

RAINA, S.; PRESTON, G. M.; GUGGINO, W. B.; AGRE, P. Molecular-Cloning and Characterization of an Aquaporin Cdna from Salivary, Lacrimal, and Respiratory Tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 4, p. 1908-1912, Jan 27 1995. ISSN 0021-9258.

RANDAZZO, P. A. Resolution of two ADP-ribosylation factor 1 GTPase-activating proteins from rat liver. **Biochem J,** v. 324 (Pt 2), p. 413-9, Jun 1 1997. ISSN 0264-6021 (Print) 0264-6021 (Linking).

RIBEIRO, A. L. J., M. T. . Acidente por serpente do gênero Bothrops: série de 3.139 casos. **Rev. Soc. Bras. Med. Tropical**. v. 30, n. 6, p. 475-80, 1997.

RIEDEL, D.; ANTONIN, W.; FERNANDEZ-CHACON, R.; ALVAREZ DE TOLEDO, G.; JO, T.; GEPPERT, M.; VALENTIJN, J. A.; VALENTIJN, K.; JAMIESON, J. D.; SUDHOF, T. C.; JAHN, R. Rab3D is not required for exocrine exocytosis but for maintenance of normally sized secretory granules. **Mol Cell Biol**, v. 22, n. 18, p. 6487-97, Sep 2002. ISSN 0270-7306 (Print) 0270-7306 (Linking).

RINDLER, M. J.; XU, C. F.; GUMPER, I.; SMITH, N. N.; NEUBERT, T. A. Proteomic analysis of pancreatic zymogen granules: identification of new granule proteins. **J Proteome Res**, v. 6, n. 8, p. 2978-92, Aug 2007. ISSN 1535-3893 (Print) 1535-3893 (Linking).

RINK, J.; GHIGO, E.; KALAIDZIDIS, Y.; ZERIAL, M. Rab conversion as a mechanism of progression from early to late endosomes. **Cell**, v. 122, n. 5, p. 735-49, Sep 9 2005. ISSN 0092-8674 (Print) 0092-8674 (Linking).

ROKYTA, D. R.; WRAY, K. P.; LEMMON, A. R.; LEMMON, E. M.; CAUDLE, S. B. A highthroughput venom-gland transcriptome for the Eastern Diamondback Rattlesnake (Crotalus adamanteus) and evidence for pervasive positive selection across toxin classes. **Toxicon**, v. 57, n. 5, p. 657-71, Apr 2011. ISSN 1879-3150 (Electronic) 0041-0101 (Linking).

ROTENBERG, D. B., E.S., KOCHVA, E. . Studies on ribonucleic and synthesis in the venom glands of Vipera palaestinae (Ophidia, Reptilia). . **Biochem. J.**, v. 121, p. 609-12, 1971.

ROTH, M. G. Lipid regulators of membrane traffic through the Golgi complex. **Trends in Cell Biology,** v. 9, n. 5, p. 174-179, May 1999. ISSN 0962-8924.

ROTH, M. G. Phosphoinositides in constitutive membrane traffic. **Physiological Reviews**, v. 84, n. 3, p. 699-730, Jul 2004. ISSN 0031-9333.

ROWAN, B. A.; WEIGEL, D.; KOENIG, D. Developmental genetics and new sequencing technologies: the rise of nonmodel organisms. **Dev Cell**, v. 21, n. 1, p. 65-76, Jul 19 2011. ISSN 1878-1551 (Electronic) 1534-5807 (Linking).

RUSSELL, C.; STAGG, S. M. New Insights into the Structural Mechanisms of the COPII Coat. **Traffic,** v. 11, n. 3, p. 303-310, Mar 2010. ISSN 1398-9219.

SAGUCHI, K.; HAGIWARA-SAGUCHI, Y.; MURAYAMA, N.; OHI, H.; FUJITA, Y.; CAMARGO, A. C.; SERRANO, S. M.; HIGUCHI, S. Molecular cloning of serine proteinases from Bothrops jararaca venom gland. **Toxicon**, v. 46, n. 1, p. 72-83, Jul 2005. ISSN 0041-0101 (Print)

0041-0101 (Linking).

SAMBROOK, J., MACCALLUM, P., RUSSELL, D. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Third Edition). Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. ISBN 978-087969577-4.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 74, n. 12, p. 5463-7, Dec 1977. ISSN 0027-8424 (Print) 0027-8424 (Linking).

0027-8424 (Linking).

SCHENA, M.; SHALON, D.; DAVIS, R. W.; BROWN, P. O. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. **Science**, v. 270, n. 5235, p. 467-70, Oct 20 1995. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking).

SCHMID, S. L.; MCNIVEN, M. A.; DE CAMILLI, P. Dynamin and its partners: a progress report. **Curr Opin Cell Biol,** v. 10, n. 4, p. 504-12, Aug 1998. ISSN 0955-0674 (Print) 0955-0674 (Linking).

SEGEV, N. Mediation of the Attachment or Fusion Step in Vesicular Transport by the Gtp-Binding Ypt1 Protein. **Science**, v. 252, n. 5012, p. 1553-1556, Jun 14 1991. ISSN 0036-8075.

SEGEV, N. Coordination of intracellular transport steps by GTPases. **Semin Cell Dev Biol**, v. 22, n. 1, p. 33-8, Feb 2011. ISSN 1096-3634 (Electronic) 1084-9521 (Linking).

SHAFFER, A. L.; SHAPIRO-SHELEF, M.; IWAKOSHI, N. N.; LEE, A. H.; QIAN, S. B.; ZHAO, H.; YU, X.; YANG, L.; TAN, B. K.; ROSENWALD, A.; HURT, E. M.; PETROULAKIS, E.; SONENBERG, N.; YEWDELL, J. W.; CALAME, K.; GLIMCHER, L. H.; STAUDT, L. M. XBP1, downstream of Blimp-1, expands the secretory apparatus and other organelles, and increases protein synthesis in plasma cell differentiation. **Immunity,** v. 21, n. 1, p. 81-93, Jul 2004. ISSN 1074-7613 (Print) 1074-7613 (Linking).

SHINOTSUKA, C.; WAGURI, S.; WAKASUGI, M.; UCHIYAMA, Y.; NAKAYAMA, K. Dominant-negative mutant of BIG2, an ARF-guanine nucleotide exchange factor, specifically affects membrane trafficking from the trans-Golgi network through inhibiting membrane

association of AP-1 and GGA coat proteins. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 294, n. 2, p. 254-260, Jun 7 2002. ISSN 0006-291X.

SHIRAKAWA, R.; YOSHIOKA, A.; HORIUCHI, H.; NISHIOKA, H.; TABUCHI, A.; KITA, T. Small GTPase Rab4 regulates Ca2+-induced alpha-granule secretion in platelets. **J Biol Chem**, v. 275, n. 43, p. 33844-9, Oct 27 2000. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

SMITH, B. L.; AGRE, P. Erythrocyte Mr-28,000 Transmembrane Protein Exists as a Multisubunit Oligomer Similar to Channel Proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 10, p. 6407-6415, Apr 5 1991. ISSN 0021-9258.

SMYTH, G. K. Linear Models and Empirical Bayes Methods for Assessing Differential expression in Microarray Experiments. **Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology**, v. 3, n. 1, p. 1-25, 2004.

SMYTH, G. K. Limma: linear models for microarray data. In: R. GENTLEMAN, V. C., S. DUDOIT, R. IRIZARRY, W. HUBER (Ed.). **Bioinformatics and Computational Biology Solutions using R and Bioconductor.** New York: Springer, 2005.

SPIRIN, A. S. Storage of messenger RNA in eukaryotes: envelopment with protein, translational barrier at 5' side, or conformational masking by 3' side? **Mol Reprod Dev**, v. 38, n. 1, p. 107-17, May 1994. ISSN 1040-452X (Print) 1040-452X (Linking).

SRIBURI, R.; BOMMIASAMY, H.; BULDAK, G. L.; ROBBINS, G. R.; FRANK, M.; JACKOWSKI, S.; BREWER, J. W. Coordinate regulation of phospholipid biosynthesis and secretory pathway gene expression in XBP-1(S)-induced endoplasmic reticulum biogenesis. J **Biol Chem**, v. 282, n. 10, p. 7024-34, Mar 9 2007. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

ST PIERRE L, W. R., EARL S, MASCI PP, LAVIN MF. . Identification and analysis of venom gland-specific genes from the coastal taipan (Oxyuranus scutellatus) and related species. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 62, p. 2679-93, 2005.

SUGIYA, H.; FURUYAMA, S. The Activation of Ca-2+-Mobilizing Receptors in Salivary-Gland. **Biomedical Research-Tokyo**, v. 10, n. 2, p. 111-121, Apr 1989. ISSN 0388-6107.

TAI, Y. C. **The timecourse Package**. 2006. 14 Division of Biostatistics, University of California, Berkeley,CA.

TAKAMORI, S.; HOLT, M.; STENIUS, K.; LEMKE, E. A.; GRONBORG, M.; RIEDEL, D.; URLAUB, H.; SCHENCK, S.; BRUGGER, B.; RINGLER, P.; MULLER, S. A.; RAMMNER, B.; GRATER, F.; HUB, J. S.; DE GROOT, B. L.; MIESKES, G.; MORIYAMA, Y.; KLINGAUF, J.; GRUBMULLER, H.; HEUSER, J.; WIELAND, F.; JAHN, R. Molecular anatomy of a trafficking organelle. **Cell**, v. 127, n. 4, p. 831-46, Nov 17 2006. ISSN 0092-8674 (Print)

0092-8674 (Linking).

TAKATA, K.; MATSUZAKI, T.; TAJIKA, Y. Aquaporins: water channel proteins of the cell membrane. **Progress in Histochemistry and Cytochemistry**, v. 39, n. 1, p. 1-83, 2004. ISSN 0079-6336.

TAKEDA, S.; TAKEYA, H.; IWANAGA, S. Snake venom metalloproteinases: Structure, function and relevance to the mammalian ADAM/ADAMTS family proteins. **Biochim Biophys Acta**, Apr 20 2011. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002 (Linking).

TAKUMA, T.; ICHIDA, T. Catalytic Subunit of Protein-Kinase-a Induces Amylase Release from Streptolysin O-Permeabilized Parotid Acini. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 35, p. 22124-22128, Sep 2 1994. ISSN 0021-9258.

TERUI, T.; KAHN, R. A.; RANDAZZO, P. A. Effects of Acid Phospholipids on Nucleotide Exchange Properties of Adp-Ribosylation Factor-1 - Evidence for Specific Interaction with Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 45, p. 28130-28135, Nov 11 1994. ISSN 0021-9258.

TRAUB, L. M. Common principles in clathrin-mediated sorting at the Golgi and the plasma membrane. **Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research,** v. 1744, n. 3, p. 415-437, Jul 10 2005. ISSN 0167-4889.

TSUBOI, T.; FUKUDA, M. Rab3A and Rab27A cooperatively regulate the docking step of dense-core vesicle exocytosis in PC12 cells. **J Cell Sci**, v. 119, n. Pt 11, p. 2196-203, Jun 1 2006. ISSN 0021-9533 (Print) 0021-9533 (Linking).

TURNER, R. J.; SUGIYA, H. Understanding salivary fluid and protein secretion. **Oral Dis**, v. 8, n. 1, p. 3-11, Jan 2002. ISSN 1354-523X (Print) 1354-523X (Linking).

UNGEWICKELL, E. J.; HINRICHSEN, L. Endocytosis: clathrin-mediated membrane budding. **Current Opinion in Cell Biology,** v. 19, n. 4, p. 417-425, Aug 2007. ISSN 0955-0674.

VANDESOMPELE, J.; DE PRETER, K.; PATTYN, F.; POPPE, B.; VAN ROY, N.; DE PAEPE, A.; SPELEMAN, F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biol,** v. 3, n. 7, p. RESEARCH0034, Jun 18 2002. ISSN 1465-6914 (Electronic) 1465-6906 (Linking).

VANDESOMPELE, J. P., K.D.; PATTYN, F.; POPPE, B.; ROY, N.V.; PAEPE, A.D.; SPELEMAN, F. Accurate normalization of ral-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology**, v. 3, n. 7, p. research0034.1-0034.11, 2002.

VENKATESWARLU, K.; GUNN-MOORE, F.; OATEY, P. B.; TAVARE, J. M.; CULLEN, P. J. Nerve growth factor- and epidermal growth factor-stimulated translocation of the ADPribosylation factor-exchange factor GRP1 to the plasma membrane of PC12 cells requires activation of phosphatidylinositol 3-kinase and the GRP1 pleckstrin homology domain. **Biochem J,** v. 335 (Pt 1), p. 139-46, Oct 1 1998. ISSN 0264-6021 (Print) 0264-6021 (Linking).

VENKATESWARLU, K.; OATEY, P. B.; TAVARE, J. M.; CULLEN, P. J. Insulin-dependent translocation of ARNO to the plasma membrane of adipocytes requires phosphatidylinositol 3-kinase. **Curr Biol**, v. 8, n. 8, p. 463-6, Apr 9 1998. ISSN 0960-9822 (Print) 0960-9822 (Linking).

VIDAL, N.; HEDGES, S. B. The molecular evolutionary tree of lizards, snakes, and amphisbaenians. **C R Biol**, v. 332, n. 2-3, p. 129-39, Feb-Mar 2009. ISSN 1768-3238 (Electronic) 1631-0691 (Linking).

VONK, F. J.; JACKSON, K.; DOLEY, R.; MADARAS, F.; MIRTSCHIN, P. J.; VIDAL, N. Snake venom: From fieldwork to the clinic. **Bioessays**, v. 33, n. 4, p. 269-279, Apr 2011. ISSN 0265-9247.

WANG, B.; HEATH-ENGEL, H.; ZHANG, D.; NGUYEN, N.; THOMAS, D. Y.; HANRAHAN, J. W.; SHORE, G. C. BAP31 interacts with Sec61 translocons and promotes retrotranslocation of CFTRDeltaF508 via the derlin-1 complex. **Cell**, v. 133, n. 6, p. 1080-92, Jun 13 2008. ISSN 1097-4172 (Electronic) 0092-8674 (Linking).

WANG, P.; LI, B.; ZHOU, L.; FEI, E.; WANG, G. The KDEL receptor induces autophagy to promote the clearance of neurodegenerative disease-related proteins. **Neuroscience**, v. 190, p. 43-55, Sep 8 2011. ISSN 1873-7544 (Electronic) 0306-4522 (Linking).

WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. **Nat Rev Genet,** v. 10, n. 1, p. 57-63, Jan 2009. ISSN 1471-0064 (Electronic) 1471-0056 (Linking).

WARSHAWSKY, H.; HADDAD, A.; GONCALVES, R. P.; VALERI, V.; DE LUCCA, F. L. Fine structure of the venom gland epithelium of the South American rattlesnake and radioautographic studies of protein formation by the secretory cells. **Am J Anat**, v. 138, n. 1, p. 79-119, Sep 1973. ISSN 0002-9106 (Print) 0002-9106 (Linking).

WATT, S. A.; KULAR, G.; FLEMING, I. N.; DOWNES, C. P.; LUCOCQ, J. M. Subcellular localization of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate using the pleckstrin homology domain of phospholipase C delta(1). **Biochemical Journal**, v. 363, p. 657-666, May 1 2002. ISSN 0264-6021.

WEI, Q.; LU, Q. M.; JIN, Y.; LI, R.; WEI, J. F.; WANG, W. Y.; XIONG, Y. L. Purification and cloning of a novel C-type lectin-like protein with platelet aggregation activity from Trimeresurus mucrosquamatus venom. **Toxicon**, v. 40, n. 9, p. 1331-8, Sep 2002. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking).

WILLEMS, E.; LEYNS, L.; VANDESOMPELE, J. Standardization of real-time PCR gene expression data from independent biological replicates. **Anal Biochem**, v. 379, n. 1, p. 127-9, Aug 1 2008. ISSN 1096-0309 (Electronic) 0003-2697 (Linking).

WILLIAMS, T. D.; TURAN, N.; DIAB, A. M.; WU, H.; MACKENZIE, C.; BARTIE, K. L.; HRYDZIUSZKO, O.; LYONS, B. P.; STENTIFORD, G. D.; HERBERT, J. M.; ABRAHAM, J. K.; KATSIADAKI, I.; LEAVER, M. J.; TAGGART, J. B.; GEORGE, S. G.; VIANT, M. R.; CHIPMAN, K. J.; FALCIANI, F. Towards a system level understanding of non-model organisms sampled from the environment: a network biology approach. **PLoS Comput Biol**, v. 7, n. 8, p. e1002126, Aug 2011. ISSN 1553-7358 (Electronic) 1553-734X (Linking). WILLIAMS, V.; WHITE, J.; SCHWANER, T. D.; SPARROW, A. Variation in venom proteins from isolated populations of tiger snakes (Notechis ater niger, N. scutatus) in South Australia. **Toxicon,** v. 26, n. 11, p. 1067-75, 1988. ISSN 0041-0101 (Print) 0041-0101 (Linking).

XU, Q.; WU, X. F.; XIA, Q. C.; WANG, K. Y. Cloning of a galactose-binding lectin from the venom of Trimeresurus stejnegeri. **Biochem J,** v. 341 (Pt 3), p. 733-7, Aug 1 1999. ISSN 0264-6021 (Print) 0264-6021 (Linking).

YAMADA, K.; INOUE, H.; KIDA, S.; MASUSHIGE, S.; NISHIYAMA, T.; MISHIMA, K.; SAITO, I. Involvement of cAMP response element-binding protein activation in salivary secretion. **Pathobiology**, v. 73, n. 1, p. 1-7, 2006. ISSN 1015-2008 (Print) 1015-2008 (Linking).

YAMANOUYE, N.; BRITTO, L. R.; CARNEIRO, S. M.; MARKUS, R. P. Control of venom production and secretion by sympathetic outflow in the snake Bothrops jararaca. **J Exp Biol**, v. 200, n. Pt 19, p. 2547-56, Oct 1997. ISSN 0022-0949 (Print) 0022-0949 (Linking).

YAMANOUYE, N., BRITTO, L.R.G., CARNEIRO, S.M., MARKUS, R.P. . Control of venom production and secretion by sympathetic outflow in the snake Bothrops jararaca. **J.Exp.Biol.**, v. 200, p. 2517-56, 1997.

YAMANOUYE, N.; CARNEIRO, S. M.; SCRIVANO, C. N.; MARKUS, R. P. Characterization of beta-adrenoceptors responsible for venom production in the venom gland of the snake Bothrops jararaca. **Life Sci**, v. 67, n. 3, p. 217-26, Jun 8 2000. ISSN 0024-3205 (Print)

0024-3205 (Linking).

YAMANOUYE, N.; KERCHOVE, C. M.; MOURA-DA-SILVA, A. M.; CARNEIRO, S. M.; MARKUS, R. P. Long-term primary culture of secretory cells of Bothrops jararaca venom gland for venom production in vitro. **Nat Protoc,** v. 1, n. 6, p. 2763-6, 2006. ISSN 1750-2799 (Electronic) 1750, 2709 (Lipking)

1750-2799 (Linking).

YAMAZAKI, H.; ZAWALICH, K. C.; ZAWALICH, W. S. Physiologic implications of Phosphoinositides and Phospholipase C in the Regulation of Insulin Secretion. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, v. 56, n. 1, p. 1-8, Feb 2010. ISSN 0301-4800.

YANG, F.; KAWEDIA, J. D.; MENON, A. G. Cyclic AMP regulates aquaporin 5 expression at both transcriptional and post-transcriptional levels through a protein kinase A pathway. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 34, p. 32173-32180, Aug 22 2003. ISSN 0021-9258.

YANG, Z.; LI, H.; CHAI, Z.; FULLERTON, M. J.; CAO, Y.; TOH, B. H.; FUNDER, J. W.; LIU, J. P. Dynamin II regulates hormone secretion in neuroendocrine cells. **J Biol Chem**, v. 276, n. 6, p. 4251-60, Feb 9 2001. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258 (Linking).

YOSHIE, S.; IMAI, A.; NASHIDA, T.; SHIMOMURA, H. Expression, characterization, and localization of Rab26, a low molecular weight GTP-binding protein, in the rat parotid gland. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 113, n. 4, p. 259-263, Apr 2000. ISSN 0301-5564.

YOSHIMURA, K.; HIRAMATSU, Y.; MURAKAMI, M. Cyclic AMP potentiates substance Pinduced amylase secretion by augmenting the effect of calcium in the rat parotid acinar cells. **Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research,** v. 1402, n. 2, p. 171-187, Mar 27 1998. ISSN 0167-4889.

YOSHIMURA, K.; MURAKAMI, M.; SEGAWA, A. Carbachol-induced [Ca2+](i) increase, but not activation of protein kinase C, stimulates exocytosis in rat parotid acini. **Journal of Physiology-London**, v. 522, n. 3, p. 403-416, Feb 1 2000. ISSN 0022-3751.

YOSHIMURA, K.; NEZU, E. Interaction between the calcium and cyclic AMP messenger systems in perifused rat parotid acinar cells. Possible mechanism for potentiation of amylase secretion. **Biochem Pharmacol**, v. 43, n. 5, p. 1031-41, Mar 3 1992. ISSN 0006-2952 (Print) 0006-2952 (Linking).

YOUKER, R. T.; SHINDE, U.; DAY, R.; THOMAS, G. At the crossroads of homoeostasis and disease: roles of the PACS proteins in membrane traffic and apoptosis. **Biochemical Journal**, v. 421, p. 1-15, Jul 1 2009. ISSN 0264-6021.

ZABLITH, M. B. Vias de Sinalização desencadeadas pela estimulação do adrenoceptor β em células secretoras da glândula de veneno da serpente Bothrops jararaca. 2007. 70 (Mestrado). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo

ZELANIS, A.; DE SOUZA VENTURA, J.; CHUDZINSKI-TAVASSI, A. M.; DE FATIMA DOMINGUES FURTADO, M. Variability in expression of Bothrops insularis snake venom proteases: an ontogenetic approach. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol**, v. 145, n. 4, p. 601-9, May 2007. ISSN 1532-0456 (Print) 1532-0456 (Linking).

ZELANIS, A.; TASHIMA, A. K.; PINTO, A. F.; PAES LEME, A. F.; STUGINSKI, D. R.; FURTADO, M. F.; SHERMAN, N. E.; HO, P. L.; FOX, J. W.; SERRANO, S. M. Bothrops jararaca venom proteome rearrangement upon neonate to adult transition. **Proteomics**, Aug 29 2011. ISSN 1615-9861 (Electronic) 1615-9853 (Linking).

ZELANIS, A.; TASHIMA, A. K.; ROCHA, M. M.; FURTADO, M. F.; CAMARGO, A. C.; HO, P. L.; SERRANO, S. M. Analysis of the ontogenetic variation in the venom proteome/peptidome of Bothrops jararaca reveals different strategies to deal with prey. J **Proteome Res,** v. 9, n. 5, p. 2278-91, May 7 2010. ISSN 1535-3907 (Electronic) 1535-3893 (Linking).

ZERIAL, M.; MCBRIDE, H. Rab proteins as membrane organizers. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 2, n. 2, p. 107-17, Feb 2001. ISSN 1471-0072 (Print) 1471-0072 (Linking).

ZINGALI, R. B.; BIANCONI, M. L.; MONTEIRO, R. Q. Interaction of bothrojaracin with prothrombin. **Haemostasis**, v. 31, n. 3-6, p. 273-8, May-Dec 2001. ISSN 0301-0147 (Print) 0301-0147 (Linking).

<u>Apêndice</u>

12. Apêndice

Ap	êndice 1: Tabela dos genes considerados d	liferencialmente expressos na análise o	da expressão i	oor RNA-seq (p-value < 0.05).
	$\partial \partial $	F F F F F F F F F F F F F F F F F F F	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	

Seq. Name	gene symbol	Seq. Length	Difference (normalized values)	Fold Change (normalized values)	P-value	Normal expression	Normal reads	Reserpin expression	Reserpin reads	Seq. Description
BJARALL0776	Acat1	518	-40,25435499	-2,389601531	4,84E-05	69,2226269	21	28,968272	14	acetyl- mitochondrial precursor
BJARALL1010	ACOT2	736	21,50854915	1,632071268	0,023014	34,0286772	5	55,537226	13	acyl-coenzyme a thioesterase mitochondrial-like
BJARALL2855	Acvrl1	367	-15,75342633	-3,186135374	0,004124	22,959488	4	7,2060617	2	serine threonine-protein kinase receptor r3-like
BJARALL0959	Add1	388	-18,19216874	-1,593067687	0,04133	48,8668609	8	30,674692	8	adducin 1 isoform cra_a
BJARALL1332	ANKRD23	464	-12,98395621	-4,779203062	0,003568	16,4195896	3	3,4356334	1	ankyrin repeat domain- containing protein 23-like
BJARALL1939	ANKS1A	425	-11,69604856	-2,389601531	0,028533	20,1128848	3	8,4168363	2	ankyrin repeat and sam domain containing 1
BJAR4Disotig01841	ATP2C1	383	-27,53344238	-6,372270749	7,47E-06	32,6585456	4	5,1251033	1	calcium-transporting atpase type 2c member 1-like
BJARALL2091	Atp5f1	624	-20,36061626	-1,593067687	0,030895	54,6916323	15	34,331016	15	atp synthase subunit b
BJARALL1495	BID	467	16,68634076	2,510878874	0,007363	11,0441287	1	27,730469	4	bh3-interacting domain death agonist-like
BJARALL4387	C12orf10	1170	-160,9431881	-7,434315874	2,22E-15	185,956444	28	25,013256	6	loc443610 protein
BJARALL1488	C17orf28	468	95,96587697	1,251680636	0,00103	381,3002	167	477,26608	333	chromosome 17 open reading frame 28
BJARALL3899	C5H15orf24	563	72,86475766	2,667808803	8,49E-09	43,6889154	4	116,55367	17	riken cdna 2900064a13
BJARALL3777	CBWD1	610	40,39913696	2,72011878	1,54E-05	23,4862484	3	63,885385	13	cobw domain containing protein
BJAR4Disotig00533	CCT5	1150	15,16324677	2,510878874	0,010628	10,0360439	1	25,199291	4	chaperonin containing subunit 5
BJARALL1439	CDK2AP1	311	-41,29153365	-1,383453518	0,009907	148,974817	33	107,68328	38	salmo salar cyclin-dependent kinase 2-associated protein 1

										mrna
BJARALL0429	CDS2	464	-30,89569593	-2,12409025	0,000853	58,380763	8	27,485067	6	phosphatidate cytidylyltransferase 2-like
BJARALL3749	CGNL1	1015	8,967197662	3,138598592	0,031342	4,19302514	1	13,160223	5	cingulin-like protein 1-like
BJARALL0048	CHD3	821	-15,48482377	-4,779203062	0,001461	19,5822018	3	4,0973781	1	elaphe quadrivirgata chd1 mrna for chromodomain helicase dna binding protein partial 3 portion
BJARALL3532	CIAPIN1	483	-18,32564111	-3,982669218	0,000925	24,4696818	5	6,1440407	2	anamorsin-like isoform 2
BJARALL1647	COIL	513	89,70594704	1,102216513	0,035888	877,607189	127	967,31314	223	coilin
BJARALL0404	COX15	395	22,25737593	1,506527324	0,033888	43,941116	10	66,198492	24	cytochrome c oxidase assembly protein cox15 homolog
BJAR4Disotig00560	CS	1079	-29,70898523	-1,593067687	0,00912	79,8027365	7	50,093751	7	citrate synthase
BJAR4Disotig01663	CTAGE1	472	-12,83502221	-3,186135374	0,009621	18,7061235	2	5,8711013	1	ctage member 5
BJAR4Disotig01600	CYP7B1	482	29,94990333	3,76631831	3,05E-05	10,8266295	1	40,776533	6	25-hydroxycholesterol 7-alpha- hydroxylase-like
BJARALL1652	DARS	473	-36,88832612	-1,593067687	0,003663	99,08751	15	62,199184	15	aspartyl-trna cytoplasmic isoform 1
BJARALL3132	DPY19L4	485	-13,08528029	-4,779203062	0,003441	16,5477246	3	3,4624443	1	: shorter than wild-type family member (dpy-19)-like
BJARALL1604	DYNC2H1	442	10,37326688	2,667808803	0,029858	6,21969788	4	16,592965	17	cytoplasmic dynein 2 heavy chain 1-like
BJARALL1078	EEF1A1	3589	-8,180393675	-3,186135374	0,038736	11,9223365	2	3,7419429	1	eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1
BJARALL4525	EEF1B2	751	52,8032497	2,252406048	6,46E-06	42,1614458	17	94,964695	61	eukaryotic translation elongation factor 1 beta 2
BJARALL3587	EEF1G	1443	-21,45623675	-1,686777551	0,01916	52,6981385	18	31,241902	17	elongation factor 1 gamma
BJARALL2180	EHD3	930	-12,83502221	-3,186135374	0,009621	18,7061235	2	5,8711013	1	eh domain-containing protein 3
BJAR4Disotig00282	Eif3s6ip	943	34,86428354	2,38533493	0,000158	25,1666819	5	60,030965	19	eukaryotic translation initiation factor subunit 6 interacting protein
BJAR4Disotig00693	EIF4G2	826	-46,02939771	-4,779203062	4,08E-08	58,2090549	6	12,179657	2	eif4g2 protein
BJARALL0695	EML4	529	-12,69107804	-3,186135374	0,010036	18,4963352	2	5,8052572	1	homo sapiens echinoderm microtubule associated protein like 4 transcript variant mrna
BJARALL4563	ENGASE	288	-26,20527943	-2,336499275	0,001193	45,8126821	22	19,607403	15	Dictyostelium discoideum AX4 hypothetical protein (DDB_G0268520) mRNA, complete cds
-------------------	---------	------	--------------	--------------	----------	------------	-----	-----------	-----	---
BJAR4Disotig01455	ERLEC1	497	-72,37369989	-12,7445415	5,55E-15	78,5360264	8	6,1623266	1	riken cdna 4933407n01 gene
BJARALL3413	EWSR1	981	-8,551293136	-3,186135374	0,034573	12,4628959	2	3,9116027	1	ewing sarcoma breakpoint region 1 isoform ews isoform 2
BJARALL1919	FGFR1	582	-44,17045393	-2,958554276	2,93E-06	66,7230349	13	22,552581	7	fibroblast growth factor receptor 1 (fms-related tyrosine kinase pfeiffer syndrome) isoform cra_b
BJAR4Disotig00593	GAPDH	998	-148,0919045	-27,08215068	0	153,769807	17	5,6779023	1	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
BJAR4Disotig01266	Gapvd1	525	15,07975651	2,197019014	0,017483	12,5977585	4	27,677515	14	gtpase activating protein and vps9 domains 1
BJARALL2865	GBF1	485	-34,22351462	-1,672721072	0,003325	85,0967756	42	50,873261	40	golgi brefeldin a resistant guanine nucleotide exchange factor 1
BJARALL0562	GNG5	356	-9,0771748	-3,186135374	0,029455	13,2293307	2	4,1521559	1	guanine nucleotide binding protein (g protein) gamma 5
BJAR4Disotig00694	GORASP2	824	-11,95264401	-4,779203062	0,005176	15,1153859	3	3,1627419	1	golgi reassembly-stacking protein 2-like
BJARALL0751	Gpr137	533	-46,06771955	-1,327556406	0,010826	186,708289	20	140,64057	24	g protein-coupled receptor 137
BJARALL3334	Hp1bp3	516	-97,78219474	-1,545083721	4,62E-06	277,171509	161	179,38931	166	heterochromatin protein binding protein 3
BJAR4Disotig01572	Hsd3b7	485	-32,35005311	-1,416060166	0,018207	110,103358	16	77,753305	18	3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 7-like
BJARALL1043	Hspa5	2470	422,0711454	1,255439437	2,97E-12	1652,33353	179	2074,4047	358	78 kda glucose-regulated protein precursor
BJARALL4001	HUWE1	585	-314,7166328	-1,998575826	2,44E-15	629,882116	138	315,16548	110	e3 ubiquitin-protein ligase huwe1-like
BJAR4Disotig00414	HYOU1	2582	-10,07197647	-2,389601531	0,042139	17,3200805	3	7,248104	2	hypoxia up-regulated protein 1
BJARALL2737	ll17rb	437	-99,44688855	-3,239237631	4,14E-13	143,857936	61	44,411047	30	interleukin-17 receptor b
BJARALL1322	Ipo9	810	-9,912009854	-3,186135374	0,02289	14,4460428	2	4,534033	1	importin 9
BJARALL4496	JAK2	468	-149,7377147	-3,91025705	0	201,189429	27	51,451714	11	tyrosine-protein kinase jak2
BJARALL2850	KBTBD2	484	-10,8116668	-3,186135374	0,017487	15,7572282	2	4,9455614	1	kelch repeat and btb domain- containing protein 2-like

BJARALL1878	KIAA1109	368	-10,10735812	-2,389601531	0,041779	17,3809239	3	7,2735658	2	uncharacterized protein
BJARALL2176	LDLR	464	-27,8087768	-6,372270749	6,73E-06	32,9851311	4	5,1763543	1	very low-density lipoprotein receptor isoform 2
BJARALL1825	LF3	274	1198,191767	1,159799737	0	7498,08346	932	8696,2752	1722	interleukin enhancer-binding factor 3-like isoform 2
BJAR4Disotig00782	LOC100567 022	748	-15,97582765	-3,186135374	0,003869	23,283622	2	7,3077943	1	PREDICTED: Anolis carolinensis hypothetical protein LOC100567022 (LOC100567022), mRNA
BJARALL0711	MAGT1	484	-25,74012372	-4,779203062	4,08E-05	32,5511162	3	6,8109925	1	magnesium transporter protein 1 precursor
BJARALL4638	MARCH5	457	-13,13293375	-3,186135374	0,008818	19,1403082	2	6,0073744	1	e3 ubiquitin-protein ligase march5
BJAR4Disotig01777	MOCS2	446	-29,4815364	-4,141975987	2,19E-05	38,864656	13	9,3831196	5	molybdopterin synthase sulfur carrier subunit
BJARALL1963	MOGAT3	363	-15,69744212	-2,070987993	0,019284	30,3544151	13	14,656973	10	monoacylglycerol o- acyltransferase 3-like
BJAR4Disotig00888	MTDH	691	-20,88522494	-4,779203062	0,000219	26,4115818	3	5,5263569	1	anolis carolinensis protein lyric- like mrna
BJARPAisotig00134	MUC5AC	606	-15,72097675	-2,5489083	0,008802	25,8706911	8	10,149714	5	mucin-5b precursor (mucin 5 subtype tracheobronchial) (high molecular weight salivary mucin mg1) (sublingual gland mucin)
BJARALL1563	MYO5B	419	-19,82685205	-4,779203062	0,000317	25,0731571	3	5,246305	1	myo5b protein
BJARALL0441	NCBP2	515	385,5099697	1,289268643	2,02E-12	1332,7057	334	1718,2157	686	nuclear cap-binding protein subunit 2
BJARALL3471	NLK	434	-24,99700631	-1,38527625	0,044415	89,8777414	40	64,880735	46	serine threonine-protein kinase nlk
BJARALL3981	NOMO1	489	-15,2040109	-4,779203062	0,001614	19,2270842	3	4,0230733	1	nodal modulator 1
BJAR4Disotig00917	NOTCH2	668	-62,57812673	-3,186135374	1,08E-08	91,2031275	8	28,625001	4	neurogenic locus notch homolog protein 2-like
BJARPAisotig00080	NPM3	268	44,64100537	1,312504866	0,013964	142,848993	11	187,49	23	nucleophosmin-like isoform 3
BJAR4Disotig00444	OAT	1709	-500,3964056	-3,615038213	1,98E-14	691,749787	59	191,35338	26	ornithine mitochondrial-like
BJARALL1042	P4HB	2218	-46,7102397	-3,717157937	2,12E-07	63,9010842	7	17,190845	3	prolyl 4- beta polypeptide
BJARALL0096	PABPC1	256	11,00400767	3,347838498	0,014778	4,68686738	3	15,690875	16	anolis carolinensis polyadenylate-

										binding protein 1-like mrna
BJARALL1686	PACS1	478	-57,22064443	-11,15147381	4,67E-12	62,8573279	7	5,6366835	1	pacs1 protein
BJARALL0947	PACSIN3	470	-10,22549209	-3,186135374	0,020834	14,9029207	2	4,6774286	1	protein kinase c and casein kinase substrate in neurons 3
BJARALL2809	Parp6	368	-13,76025371	-4,779203062	0,002701	17,4013001	3	3,6410464	1	mus musculus poly (adp-ribose) polymerase member 6 transcript variant mrna
BJARALL3163	PCF11	208	-13,8565852	-3,186135374	0,00714	20,1949782	2	6,338393	1	cleavage and polyadenylation factor homolog (cerevisiae)
BJAR4Disotig01216	PCK2	537	-32,67248005	-2,655112812	0,00012	52,4128143	5	19,740334	3	phosphoenolpyruvate carboxykinase
BJAR4Disotig00441	PDIA6	1758	-37,99203673	-1,27445415	0,032128	176,419664	44	138,42763	55	protein disulfide isomerase family member 6
BJARALL0216	PDS5A	466	-16,16420194	-2,389601531	0,010039	27,7964588	3	11,632257	2	sister chromatid cohesion protein pds5 homolog a-like
BJARALL0123	PGM3	476	-10,20293597	-2,389601531	0,040824	17,5452825	3	7,3423465	2	phosphoglucomutase 3
BJARALL0981	PHF12	478	26,11651385	4,394038029	5,03E-05	7,69482063	1	33,811334	7	phd finger protein 12
BJARALL3799	phrf1	370	-25,51065536	-7,965338436	8,5E-06	29,1731702	5	3,6625148	1	enzymatic poly
BJAR4Disotig01784	PICALM	448	-29,59620314	-3,982669218	2,56E-05	39,518927	5	9,9227239	2	phosphatidylinositol-binding clathrin assembly
BJAR4Disotig01247	PIGR	525	128,7326727	1,469976556	7,14E-07	273,912967	79	402,64564	185	polymeric immunoglobulin receptor-like
BJARALL0176	PION	755	-17,36316038	-4,779203062	0,000752	21,9575577	3	4,5943973	1	protein pigeon homolog
BJARPAisotig00047	PP1	484	-11,64618654	-3,186135374	0,013651	16,9734808	4	5,3272943	2	PP1 [Orf virus]
BJARALL4450	PQLC2	480	39,70589237	1,738300759	0,001064	53,7801051	13	93,485997	36	pq-loop repeat-containing protein 2-like
BJARALL3225	PRKDC	419	-39,140636	-2,655112812	2,54E-05	62,7889552	5	23,648319	3	dna-dependent protein kinase catalytic subunit
BJARALL4377	PRPF40B	417	-105,0147366	-7,965338436	0	120,091497	10	15,07676	2	pre-mrna-processing factor 40 homolog a isoform 2
BJARALL1920	PSMB7	386	-185,7695348	-2,538951626	3E-15	306,481279	153	120,71174	96	proteasome subunit beta type-7- like
BJARALL0210	PTEN	389	-7,461238187	-3,186135374	0,048379	10,874219	2	3,4129809	1	phosphatase and tensin-like protein
BJARALL1994	PTPLB	451	-35,33887519	-1,991334609	0,000619	70,9866523	10	35,647777	8	3-hydroxyacyl- dehydratase 2-like

BJARALL0985	QSER1	261	-62,76385801	-2,695960701	7,94E-08	99,7717073	22	37,007849	13	glutamine and serine-rich protein 1-like
BJARALL1910	RANBP6	453	153,7265664	1,894368436	5,17E-12	171,882817	56	325,60938	169	ran binding protein 6
BJAR4Disotig01250	RDH16	528	20,81457216	5,021757747	0,000192	5,17549128	1	25,990063	8	retinol dehydrogenase 16-like
BJARALL4507	RNF2	459	39,54840481	11,92667465	7,36E-09	3,61943648	1	43,167841	19	ring finger protein 2
BJARALL4733	RPL15	810	53,47617945	4,184798123	9,89E-09	16,7910735	3	70,267253	20	ribosomal protein l15
BJARALL2337	RPL32	451	137,6529928	3,081533163	0	66,1305788	11	203,78357	54	ribosomal protein I32
BJARALL1258	RPS12	567	48,08943465	2,887510705	1,34E-06	25,4777017	5	73,567136	23	ribosomal protein s12
BJAR4Disotig00310	RPS25	674	69,76813836	2,331530383	1,27E-07	52,3969556	7	122,16509	26	ribosomal protein s25
BJARALL1187	RPS8	734	148,754779	1,559491175	1,12E-08	265,875112	64	414,62989	159	ribosomal protein s8
BJARALL5145	Sart1	466	21,58263276	2,72011878	0,001581	12,5471758	3	34,129809	13	u4 tri-snrnp-associated protein 1- like
BJARALL4479	SBNO1	434	-68,43325208	-2,920624093	6,96E-09	104,063989	11	35,630737	6	protein strawberry notch homolog 1
BJAR4Disotig01818	SEC13	421	-220,6565624	-19,11681225	0	232,83622	24	12,179657	2	protein sec13 homolog
BJARALL1900	SEMA4G	476	-20,65806887	-2,12409025	0,006396	39,0356581	4	18,377589	3	sema immunoglobulin domain transmembrane domain and short cytoplasmic 4g
BJARALL0937	SEPHS1	427	71,78552005	3,76631831	1,07E-10	25,9498409	3	97,735361	18	water dikinase 1-like isoform 2
BJARALL0890	SETD1A	483	-19,39676676	-2,328329697	0,005392	33,9991406	19	14,602374	13	low quality protein: histone- lysine n-methyltransferase setd1a-like
BJARALL5111	SFSWAP	411	1652,481119	1,916740869	0	1802,56076	243	3455,0419	742	splicing suppressor of white- apricot homolog
BJARALL0604	SLC1A3	519	53,71773666	1,556744902	0,000621	96,4853679	25	150,2031	62	excitatory amino acid transporter 3
BJARPAisotig00140	SLC39A10	571	-51,36362644	-3,783535757	4,55E-08	69,816282	38	18,452656	16	slc39a10 protein
BJAR4Disotig00450	SLC39A6	1648	-12,01721549	-3,186135374	0,012235	17,5142289	2	5,4970134	1	zinc transporter zip6-like
BJARALL1891	SMARCA2	393	-23,07250706	-3,982669218	0,000202	30,8080303	5	7,7355232	2	snf2 family helicase
BJARALL2713	Snrp70	477	-156,928472	-1,700164675	1,67E-10	381,059277	127	224,1308	119	snrnp70 protein
BJAR4Disotig00952	SNX1	649	-337,1864843	-2,590089641	0	549,2415	239	212,05502	147	sorting nexin 1
BJARALL1928	SPG11	424	-15,79743798	-4,779203062	0,001308	19,9775357	3	4,1800977	1	spatacsin isoform 2

BJARALL3193	Spg20	901	36,69465368	3,76631831	3,92E-06	13,264798	2	49,959452	12	spastic paraplegia spartin (troyer syndrome) homolog
BJARALL1487	SPTAN1	624	-17,26675039	-3,982669218	0,001304	23,0557766	5	5,7890262	2	af148808_3nonerythroid alpha- spectrin
BJARALL3427	Srebf2	538	-16,76785202	-4,779203062	0,000928	21,2047271	3	4,4368751	1	mutant sterol regulatory element binding protein-2
BJARALL0462	SRRM1	368	12,82580999	3,138598592	0,010036	5,99729656	1	18,823107	5	loc494754 protein
BJARALL0411	SSR4	566	-16,6313754	-2,389601531	0,009016	28,5998247	3	11,968449	2	signal sequence delta
BJARALL2363	STARD5	374	12,41935826	3,138598592	0,011294	5,80724139	1	18,2266	5	star-related lipid transfer protein 5-like
BJARALL0731	STIM1	360	-34,89199314	-7,965338436	1,92E-07	39,9013683	5	5,0093751	1	stromal interaction molecule 1
BJARALL3279	STT3	340	37,33345401	5,021757747	5,91E-07	9,28286992	1	46,616324	8	anolis carolinensis dolichyl- diphosphooligosaccharide protein glycosyltransferase subunit stt3b-like mrna
BJARALL3870	STT3B	405	59,47965924	1,69484324	8,91E-05	85,6015513	10	145,08121	27	source of immunodominant mhc- associated peptides
BJARPAisotig00154	SUPT6H	526	-50,18420834	-2,389601531	5,7E-06	86,2983081	6	36,1141	4	anolis carolinensis transcription elongation factor spt6-like partial mrna
BJARALL4657	SUPT6H	867	-14,72825759	-3,186135374	0,005545	21,4653782	2	6,7371206	1	transcription elongation factor spt6-like
BJARALL2134	SUPT6H	329	-29,77950329	-3,186135374	8,01E-05	43,4014883	4	13,621985	2	transcription elongation factor spt6-like
BJARALL3906	TACC2	483	-63,14506119	-5,310225624	5,07E-11	77,7951205	10	14,650059	3	anolis carolinensis transforming acidic coiled-coil-containing protein 2-like mrna
BJARALL0449	Tgfbrap1	448	27,11475853	1,38098338	0,037176	71,1704497	25	98,285208	55	transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1
BJARALL2860	TLN1	454	10,83402994	2,510878874	0,030821	7,17068068	1	18,004711	4	talin-1- partial
BJAR4Disotig01813	TMEM161A	424	36,8230456	1,883159155	0,000781	41,6946882	3	78,517734	9	transmembrane protein 161a- partial
BJAR4Disotig00772	TMEM59L	751	14,79687116	3,76631831	0,003382	5,34894018	1	20,145811	6	transmembrane protein 59-like
BJARALL0972	TMTC1	275	-13,27951359	-2,389601531	0,019625	22,83586	3	9,5563464	2	tetratricopeptide repeat protein 1-like
BJARALL1599	TPD52	992	40,42998518	1,726229226	0,001027	55,6711074	8	96,101093	22	tumor protein d52

BJARALL1833	TTC16	505	-23,66704409	-6,372270749	3,28E-05	28,072452	4	4,4054079	1	tetratricopeptide repeat domain 16
BJARALL0250	Ube2e3	834	58,21470056	2,667808803	2,65E-07	34,9049006	4	93,119601	17	ubiquitin-conjugating enzyme e2e 3
BJARALL1424	VAC14	474	16,64136899	2,301638967	0,010417	12,7849345	3	29,426304	11	protein vac14 homolog
BJARALL2577	VARS	464	-77,60408958	-2,314926483	2,84E-08	136,621906	93	59,017816	64	valyl-trna synthetase
BJARPAisotig00116	VM01	729	31,80232845	8,160356339	6,15E-07	4,44144494	1	36,243773	13	vitelline membrane outer layer protein 1 homolog
BJARALL2334	Vps26b	455	-129,2746129	-1,454540062	9,52E-07	413,682135	126	284,40752	138	vacuolar protein sorting- associated protein 26b-like
BJARALL2614	VPS52	619	-14,47286858	-4,779203062	0,002094	18,3024772	3	3,8296086	1	vacuolar protein sorting 52 (cerevisiae)
BJARALL2740	WDR70	536	-107,6549273	-1,509847733	2,83E-06	318,806062	127	211,15113	134	wd repeat-containing protein 70- like
BJARALL3461	WSB1	446	-22,47356403	-5,310225624	8,92E-05	27,6875751	10	5,214011	3	wd repeat and socs box- containing protein 1 isoform 2
BJARALL3096	XBP1	324	13,95423134	2,092399061	0,026389	12,773932	3	26,728163	10	x-box binding protein 1
BJARALL4719	XRN2	601	-61,44549095	-3,186135374	1,46E-08	89,5523921	8	28,106901	4	5 -3 exoribonuclease 2
BJARALL2379	ZDHHC9	517	3512,176178	1,503117141	0	6980,83188	3571	10493,008	8551	palmitoyltransferase zdhhc9
BJARALL1958	Zfp423	459	-26,56232712	-3,982669218	6,66E-05	35,4678829	10	8,9055558	4	zinc finger protein 423
BJARPAisotig00213		472	-81,46415702	-4,602195541	4,51E-13	104,079297	26	22,61514	9	conserved hypothetical protein [Brucella ceti M13/05/1]
BJARALL1013		501	-19,3368969	-4,779203062	0,000376	24,4535568	3	5,1166599	1	gallus gallus finished clone 981f9
BJARALL3922		502	-18,18176955	-3,982669218	0,000969	24,2775744	5	6,0958049	2	homo sapiens cdna flj33816 clone ctong2002999
BJARPAisotig00135		607	36,31155289	5,021757747	8,43E-07	9,02877676	1	45,34033	8	hypothetical protein MELLADRAFT_94729 [Melampsora larici-populina 98AG31]
BJARALL1510		600	-26,22186151	-7,965338436	6,36E-06	29,9864828	5	3,7646213	1	hypothetical protein RUMTOR_00908 [Ruminococcus torques ATCC 27756]
BJAR4Disotig01007		620	-33,28297427	-3,186135374	3,05E-05	48,5075457	4	15,224571	2	hypothetical protein TATV_DAH68_216 [Taterapox virus]

BJARALL4428	403	42,666505	3,138598592	2,65E-06	19,9506841	1	62,617189	5	hypothetical protein TATV_DAH68_216 [Taterapox virus]
BJAR4Disotig01866	234	16,00850181	4,394038029	0,001504	4,71665364	1	20,725155	7	hypothetical protein TATV_DAH68_216 [Taterapox virus]
BJAR4Disotig00536	1132	-8,341187654	-3,186135374	0,03687	12,1566822	2	3,8154946	1	monosiga brevicollis mx1 protein monbrdraft_29174 complete cds
BJARPAisotig00094	1212	-185,1503484	-7,766204975	0	212,514336	39	27,363988	8	natt3_thani ame: full=natterin-3 flags: precursor
BJARALL5176	544	-72,41978044	-14,33760918	4,11E-15	77,8495227	9	5,4297423	1	stachybotrys elegans clone sel4639 small subunit ribosomal rna-like mrna sequence mitochondrial

Apêndice 2: Tabela de anotação dos termos do *Gene Ontology* (GO) dos genes considerados diferencialmente expressos na análise por RNA-seq (p-value <0,005).

Seq. Name	gene symbol	Fold Change (normalized values)	GOs
BJARALL0776	Acat1	-2,389601531	F:metal ion binding; C:mitochondrial inner membrane; F:acetyl-CoA C-acetyltransferase activity; F:protein binding; C:mitochondrial matrix; P:metabolic process
BJARALL1010	ACOT2	1,632071268	P:unsaturated monocarboxylic acid metabolic process; C:peroxisome; P:very-long-chain fatty acid metabolic process; P:long-chain fatty acid metabolic process; P:saturated monocarboxylic acid metabolic process; C:cytosol; F:acyl-CoA thioesterase activity
BJARALL2855	Acvrl1	-3,186135374	 P:positive regulation of BMP signaling pathway; C:cell surface; P:negative regulation of cell proliferation; P:protein amino acid phosphorylation; P:in utero embryonic development; F:SMAD binding; F:ATP binding; F:activin receptor activity, type I; F:transmembrane receptor protein serine/threonine kinase activity; F:protein serine/threonine kinase activity; F:transforming growth factor beta binding; P:negative regulation of cell growth; P:auxin biosynthetic process; F:nucleotide binding; P:angiogenesis; C:cytoplasm; P:regulation of blood pressure; P:wound healing, spreading of epidermal cells; P:signal transduction; P:positive regulation of transcription; P:negative regulation of cell adhesion; P:negative regulation of focal adhesion assembly; C:integral to plasma membrane; C:plasma membrane; P:transforming growth factor beta receptor signaling pathway; F:activin binding

BJARALL0959	Add1	-1,593067687	C:cytosol; F:calmodulin binding; P:barbed-end actin filament capping; F:metal ion binding; P:actin filament bundle assembly; F:actin filament binding; P:positive regulation of protein binding; C:F-actin capping protein complex; F:transcription factor binding; F:protein heterodimerization activity; F:protein homodimerization activity; C:nucleus; F:spectrin binding; C:plasma membrane
BJARALL1332	ANKRD23	-4,779203062	P:response to mechanical stimulus; P:fatty acid metabolic process; C:nucleus; C:I band; C:intercalated disc
BJARALL1939	ANKS1A	-2,389601531	F:molecular_function; P:biological_process; C:cellular_component
BJAR4Disotig01841	ATP2C1	-6,372270749	·
BJARALL2091	Atp5f1	-1,593067687	C:mitochondrial inner membrane
BJARALL1495	BID	2,510878874	P:cellular process
BJARALL4387	C12orf10	-7,434315874	-
BJARALL1488	C17orf28	1,251680636	C:membrane
BJARALL3899	C5H15orf2 4	2,667808803	F:carbohydrate binding; C:integral to membrane
BJARALL3777	CBWD1	2,72011878	
BJAR4Disotig00533	CCT5	2,510878874	P:auxin biosynthetic process; C:nucleolus; P:protein folding; C:microtubule organizing center; C:chaperonin-containing T-complex; F:ATP binding; F:unfolded protein binding; P:response to virus
BJARALL1439	CDK2AP1	-1,383453518	
BJARALL0429	CDS2	-2,12409025	P:insulin-like growth factor receptor signaling pathway; C:mitochondrial inner membrane; F:protein binding; P:phospholipid biosynthetic process; C:integral to membrane; F:phosphatidate cytidylyltransferase activity; C:endoplasmic reticulum
BJARALL3749	CGNL1	3,138598592	C:apical junction complex; F:molecular_function; C:cell junction; P:biological_process; C:actin cytoskeleton; F:motor activity; C:myosin complex
BJARALL0048	CHD3	-4,779203062	
BJARALL3532	CIAPIN1	-3,982669218	P:hemopoiesis; C:cytoplasm; C:nucleolus; P:anti-apoptosis
BJARALL1647	COIL	1,102216513	C:Cajal body; C:nucleoplasm; F:protein C-terminus binding; F:disulfide oxidoreductase activity; C:female germ cell nucleus; F:protein binding; C:nucleolus; C:nucleus; P:biological_process
BJARALL0404	COX15	1,506527324	F:cytochrome-c oxidase activity; C:mitochondrial respiratory chain; C:integral to membrane; P:heme a biosynthetic process; P:respiratory gaseous exchange; P:respiratory chain complex IV assembly; P:mitochondrial electron transport, cytochrome c to oxygen
BJAR4Disotig00560	CS	-1,593067687	C:mitochondrion; F:citrate (Si)-synthase activity; F:transferase activity; P:tricarboxylic acid cycle; P:carbohydrate metabolic process; C:mitochondrial matrix; F:transferase activity, transferring acyl groups, acyl groups converted into alkyl on transfer; P:cellular carbohydrate metabolic process; P:response to stress
BJAR4Disotig01663	CTAGE1	-3,186135374	
BJAR4Disotig01600	CYP7B1	3,76631831	-
BJARALL1652	DARS	-1,593067687	F:ligase activity; P:aspartyl-tRNA aminoacylation; F:nucleic acid binding; F:nucleotide binding; C:cytoplasm; P:translation; F:ATP binding; C:soluble fraction; F:aspartate-tRNA ligase activity; P:protein complex assembly; F:protein binding; F:aminoacylase activity; C:cytosol

BJARALL3132	DPY19L4	-4,779203062	C:integral to membrane
BJARALL1604	DYNC2H1	2,667808803	C:dynein complex; F:ATPase activity; F:ATP binding; F:nucleotide binding; F:microtubule motor activity; P:microtubule-based movement
BJARALL1078	EEF1A1	-3,186135374	F:translation elongation factor activity; F:GTP binding; C:eukaryotic translation elongation factor 1 complex; F:protein binding; P:anti-apoptosis; C:nucleus; C:cytosol; C:neuronal cell body; P:translational elongation; F:GTPase activity
BJARALL4525	EEF1B2	2,252406048	C:cytosol; F:translation elongation factor activity; C:eukaryotic translation elongation factor 1 complex; F:protein binding; P:translational elongation
BJARALL3587	EEF1G	-1,686777551	F:translation elongation factor activity; C:eukaryotic translation elongation factor 1 complex; P:translational elongation
BJARALL2180	EHD3	-3,186135374	F:GTP binding; F:GTPase activity
BJAR4Disotig00282	Eif3s6ip	2,38533493	C:eukaryotic translation initiation factor 3 complex; C:fibrillar center; P:translational initiation; C:nucleoplasm; F:protein binding; F:translation initiation factor activity
BJAR4Disotig00693	EIF4G2	-4,779203062	C:eukaryotic translation initiation factor 4F complex; P:cell cycle arrest; F:protein binding; P:regulation of translational initiation; F:translation initiation factor activity; P:cell death; P:RNA metabolic process
BJARALL0695	EML4	-3,186135374	-
BJARALL4563	ENGASE	-2,336499275	
BJAR4Disotig01455	ERLEC1	-12,7445415	C:endoplasmic reticulum lumen; C:endoplasmic reticulum; F:glycoprotein binding; P:ER-associated protein catabolic process; F:protein binding
BJARALL3413	EWSR1	-3,186135374	C:cytoplasm; F:metal ion binding; C:Cajal body; F:nucleic acid binding; F:protein binding; P:transcription; C:membrane
BJARALL1919	FGFR1	-2,958554276	P:fibroblast growth factor receptor signaling pathway; P:mesenchymal cell differentiation; P:positive regulation of cell proliferation; F:receptor activity; C:integral to plasma membrane; C:plasma membrane; F:fibroblast growth factor binding; P:generation of neurons; F:protein tyrosine kinase activity; C:integral to membrane; P:branching involved in salivary gland morphogenesis; P:in utero embryonic development; P:regulation of branching involved in salivary gland morphogenesis by mesenchymal-epithelial signaling; C:membrane fraction; P:cell maturation; F:ATP binding; P:cell growth; P:skeletal system development; P:chondrocyte differentiation; F:nucleotide binding; P:induction of an organ; P:MAPKKK cascade; P:positive regulation of MAPKKK cascade by fibroblast growth factor receptor signaling pathway; P:inner ear morphogenesis; P:protein amino acid phosphorylation; F:fibroblast growth factor receptor activity; P:positive regulation of apoptosi; P:embryonic limb morphogenesis; P:midbrain development; C:extracellular region; P:angiogenesis; P:neuron projection development; P:lung development; P:positive regulation of mesenchymal cell proliferation; P:regulation of gene expression; P:alivary gland morphogenesis; F:transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity; P:regulation of gene expression; P:alivary gland morphogenesis; F:transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity; P:regulation of lateral mesodermal cell fate specification; C:membrane; F:protein kinase activity; P:brain development; P:paraxial mesoderm development; P:regulation of cell proliferation; P:auxin biosynthetic process; P:blood vessel morphogenesis; P:lung-associated mesenchyme development
BJAR4Disotig00593	GAPDH	-27,08215068	F:glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) activity; C:mitochondrion; P:oxidation reduction; P:nuclear membrane fusion; F:NAD or NADH binding; P:glycolysis; P:gluconeogenesis; P:negative regulation of apoptosis
BJAR4Disotig01266	Gapvd1	2,197019014	C:membrane; F:guanyl-nucleotide exchange factor activity; P:endocytosis; C:endosome; P:regulation of protein transport; P:signal transduction; C:intracellular; P:regulation of small GTPase mediated signal transduction; F:GTPase activator activity; C:cytosol; F:GTPase activating protein binding; F:protein binding
BJARALL2865	GBF1	-1,672721072	P:lipid biosynthetic process; C:peroxisome; F:prostaglandin-E synthase activity; F:electron carrier activity; F:DNA binding; C:nucleus; P:cell

			redox homeostasis; P:prostaglandin biosynthetic process; C:cis-Golgi network; C:integral to membrane; C:endoplasmic reticulum lumen; P:fatty acid biosynthetic process; C:membrane; F:transcription activator activity; F:protein disulfide oxidoreductase activity; P:secretion; C:mitochondrion; C:cytoplasm; F:isomerase activity; C:Golgi stack; C:Golgi apparatus; P:regulation of transcription; C:cytosol; F:protein binding; F:ARF guanyl-nucleotide exchange factor activity; C:Golgi membrane; P:cellular membrane organization; P:regulation of ARF protein signal transduction; P:COPI coating of Golgi vesicle; P:post-Golgi vesicle-mediated transport; P:retrograde vesicle-mediated transport, Golgi to ER; C:intracellular
BJARALL0562	GNG5	-3,186135374	C:heterotrimeric G-protein complex; F:signal transducer activity; P:hormone-mediated signaling pathway; P:signal transduction; P:G-protein coupled receptor protein signaling pathway; C:mitochondrion; F:GTPase activity
BJAR4Disotig00694	GORASP2	-4,779203062	P:Golgi organization; C:Golgi medial cisterna; F:protein binding
BJARALL0751	Gpr137	-1,327556406	C:integral to membrane
BJARALL3334	Hp1bp3	-1,545083721	C:nucleosome; F:DNA binding; P:nucleosome assembly; C:nucleus
BJAR4Disotig01572	Hsd3b7	-1,416060166	F:binding; F:3-beta-hydroxy-delta5-steroid dehydrogenase activity; P:oxidation reduction; P:bile acid biosynthetic process; C:endoplasmic reticulum; C:membrane part
BJARALL1043	Hspa5	1,255439437	C:ER-Golgi intermediate compartment; P:ER-associated protein catabolic process; P:negative regulation of caspase activity; F:chaperone binding; P:negative regulation of transforming growth factor beta receptor signaling pathway; P:cerebellar Purkinje cell layer development; C:integral to endoplasmic reticulum membrane; P:cerebellum structural organization; C:endoplasmic reticulum lumen; P:auxin biosynthetic process; P:positive regulation of protein ubiquitination; C:caspase complex; P:regulation of protein folding in endoplasmic reticulum; C:melanosome; F:caspase inhibitor activity; F:calcium ion binding; F:ATP-dependent protein binding; F:ribosome binding; P:ER overload response; C:extracellular region; F:protein binding, bridging; P:anti-apoptosis; C:cell surface; P:activation of signaling protein activity involved in unfolded protein response; P:positive regulation of embryonic development; F:unfolded protein binding; P:cellular response to glucose starvation; F:misfolded protein binding; C:perinuclear region of cytoplasm; C:nucleus; F:ATP binding
BJARALL4001	HUWE1	-1,998575826	P:DNA methylation; F:RNA binding; F:methyltransferase activity; F:site-specific DNA-methyltransferase (adenine-specific) activity; F:transferase activity; P:RNA-dependent DNA replication; F:RNA-directed DNA polymerase activity; F:DNA binding
BJAR4Disotig00414	HYOU1	-2,389601531	P:auxin biosynthetic process; C:endoplasmic reticulum lumen; F:protein binding; F:ATP binding; P:response to hypoxia
BJARALL2737	ll17rb	-3,239237631	-
BJARALL1322	lpo9	-3,186135374	C:cytoplasm; P:protein import into nucleus; F:histone binding; F:protein transporter activity; C:nucleus
BJARALL4496	JAK2	-3,91025705	P:negative regulation of DNA binding; F:protein kinase activity; P:positive regulation of interleukin-1 beta production; F:protein binding; P:negative regulation of heart contraction; P:positive regulation of cell activation; P:positive regulation of tyrosine phosphorylation of Stat5 protein; P:neuroprotection; P:G-protein coupled receptor protein signaling pathway; P:negative regulation of cell proliferation; P:positive regulation of cell migration; P:positive regulation of cell proliferation; P:positive regulation of cell migration; P:positive regulation of cell proliferation; P:positive regulation of cell proliferation; P:positive regulation of JAK2 kinase activity; C:caveola; P:positive regulation of nitric oxide biosynthetic process; C:nuclear matrix; P:positive regulation of DNA binding; P:positive regulation of phosphoinositide 3-kinase cascade; P:myeloid cell differentiation; P:positive regulation of tyrosine phosphorylation of Stat3 protein; P:peptidyl-tyrosine phosphorylation; F:nucleotide binding; F:acetylcholine receptor binding; P:response to hydroperoxide; P:protein amino acid autophosphorylation; C:membrane raft; P:protein amino acid phosphorylation; C:cytoskeleton; P:response to antibiotic; F:transferase activity; P:tyrosine phosphorylation of Stat1 protein; P:elevation of cytosolic calcium ion concentration; P:tyrosine phosphorylation of Stat3 protein; P:positive regulation of phosphoprotein phosphatase activity; P:STAT protein nuclear translocation; P:positive regulation of insulin secretion; P:enzyme linked receptor

			protein signaling pathway; P:tyrosine phosphorylation of STAT protein; P:signal transduction; P:erythrocyte differentiation; P:hormone- mediated signaling pathway; F:insulin receptor substrate binding; P:JAK-STAT cascade; P:positive regulation of growth hormone receptor signaling pathway; P:JAK-STAT cascade involved in growth hormone signaling pathway; P:mineralocorticoid receptor signaling pathway; P:positive regulation of apoptosis; P:positive regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation; C:cytoplasm; P:platelet-derived growth factor receptor signaling pathway; P:axon regeneration; C:nucleus; F:interleukin-12 receptor binding; P:intracellular protein kinase cascade; P:positive regulation of inflammatory response; F:phosphoinositide 3-kinase binding; P:positive regulation of protein import into nucleus, translocation; P:negative regulation of cell-cell adhesion; C:cytosol; P:induction of apoptosis by oxidative stress; P:cell differentiation; F:peptide hormone receptor binding; C:membrane fraction; F:growth hormone receptor binding; P:positive regulation of transcription factor activity; F:ATP binding; P:activation of MAPKK activity; C:membrane; P:cytokine-mediated signaling pathway; F:Janus kinase activity; P:positive regulation of cell differentiation; F:SH2 domain binding; C:endomembrane system; F:receptor binding; F:histone binding; P:histone H3-Y41 phosphorylation; F:histone kinase activity (H3-Y41 specific)
BJARALL2850	KBTBD2	-3,186135374	F:protein binding
BJARALL1878	KIAA1109	-2,389601531	-
BJARALL2176	LDLR	-6,372270749	P:very-low-density lipoprotein particle clearance; C:nucleus; F:low-density lipoprotein receptor activity; C:very-low-density lipoprotein particle; P:lipid transport; C:integral to membrane; P:cholesterol metabolic process; P:endocytosis; P:steroid metabolic process; P:response to lipopolysaccharide; C:extracellular space; F:calcium ion binding; F:receptor activity; P:response to hypoxia; P:cellular response to insulin stimulus; P:response to nutrient; F:very-low-density lipoprotein receptor activity; P:signal transduction; P:nervous system development; C:coated pit; F:apolipoprotein binding; P:memory; C:membrane fraction; P:positive regulation of protein kinase activity; F:protein binding; C:plasma membrane; P:response to hormone stimulus
BJARALL1825	LF3	1,159799737	P:M phase; C:ribonucleoprotein complex; C:mitochondrion; C:nucleus; F:DNA binding; P:positive regulation of transcription, DNA-dependent; F:double-stranded RNA binding; P:negative regulation of transcription, DNA-dependent; C:cytoplasm; F:RNA binding; C:nucleolus; F:transcription repressor activity; F:transcription activator activity; C:intracellular; F:protein binding; P:regulation of transcription
BJAR4Disotig00782	LOC100567 022	-3,186135374	
BJARALL0711	MAGT1	-4,779203062	P:cell redox homeostasis; C:oligosaccharyltransferase complex; C:integral to membrane; F:dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycotransferase activity; P:protein amino acid N-linked glycosylation via asparagine
BJARALL4638	MARCH5	-3,186135374	F:ligase activity; C:integral to membrane; C:mitochondrial outer membrane; F:zinc ion binding
BJAR4Disotig01777	MOCS2	-4,141975987	F:identical protein binding; P:sulfur metabolic process; F:Mo-molybdopterin synthase activity; P:Mo-molybdopterin cofactor biosynthetic process; F:transferase activity; C:cytosol; C:molybdopterin synthase complex; F:nucleotide binding
BJARALL1963	MOGAT3	-2,070987993	-
BJAR4Disotig00888	MTDH	-4,779203062	-
BJARPAisotig00134	MUC5AC	-2,5489083	F:extracellular matrix structural constituent; F:peptidase inhibitor activity; P:cell adhesion; C:extracellular region; F:protein binding
BJARALL1563	MYO5B	-4,779203062	P:protein transport; C:dendritic spine; F:nucleotide binding; F:actin binding; F:ionotropic glutamate receptor binding; F:ATP binding; C:perinuclear region of cytoplasm; C:neuronal cell body; F:Rab GTPase binding; C:myosin complex; F:motor activity; P:regulation of protein localization; F:calmodulin binding; C:synaptosome; F:protein binding; F:transferase activity; P:fatty acid metabolic process; P:lipid metabolic

			process; C:mitochondrial inner membrane; C:mitochondrion; F:acetyl-CoA C-acyltransferase activity; F:acyltransferase activity; P:metabolic		
			process; P:cholesterol biosynthetic process		
BJARALL0441	NCBP2	1,289268643	C:mRNA cap binding complex; P:positive regulation of RNA export from nucleus; F:RNA 7-methylguanosine cap binding; P:RNA splicing; P:gene silencing by RNA; P:mRNA capping; F:protein binding; P:snRNA export from nucleus; F:nucleotide binding; P:regulation of translational initiation; C:nucleoplasm; C:cytoplasm; P:nuclear-transcribed mRNA catabolic process, nonsense-mediated decay; P:mRNA transport		
BJARALL3471	NLK	-1,38527625	F:ubiquitin protein ligase binding; P:protein amino acid phosphorylation; C:nucleus; F:ATP binding; F:SH2 domain binding; P:peptidyl-threonine phosphorylation; F:protein serine/threonine kinase activity; F:protein kinase activity; F:MAP kinase activity; P:intracellular protein kinase cascade; F:nucleotide binding; P:protein amino acid autophosphorylation; C:cytoplasm; P:regulation of transcription; P:negative regulation of Wnt receptor signaling pathway; C:nucleolus; F:magnesium ion binding; F:transcription factor binding; F:transferase activity; P:serine phosphorylation of STAT3 protein; F:protein binding; P:transforming growth factor beta receptor signaling pathway; F:kinase activity; P:auxin biosynthetic process: P:Wnt receptor signaling pathway: E:metal ion binding: P:transcription		
BJARALL3981	NOM01	-4,779203062	F:carbohydrate binding; F:molecular_function; P:biological_process; P:regulation of signal transduction		
BJAR4Disotig00917	NOTCH2	-3,186135374	P:hair follicle morphogenesis; P:anagen; P:endocardium morphogenesis; P:positive regulation of keratinocyte differentiation; P:peripheral nervous system neuron axonogenesis; P:somatic stem cell division; P:secretory columnal luminar epithelial cell differentiation involved in prostate glandular acinus development; P:in utero embryonic development; P:positive regulation of cell proliferation; P:negative regulation of gene-specific transcription; P:positive regulation of glial cell differentiation; P:regulation of somitogenesis; P:positive regulation of apoptosis; P:cell fate specification; F:metal ion binding; P:forebrain development; P:liver development; P:spermatogenesis; P:negative regulation of osteoblast differentiation; P:epithelial to mesenchymal transition; P:regulation of receptor-mediated endocytosis; P:regulation of epithelial cell proliferation involved in prostate gland development; P:negative regulation of photoreceptor cell differentiation; P:endoderm development; P:osteoblast fate commitment; C:integral to plasma membrane; P:compartment pattern formation; C:acrosomal vesicle; P:neural plate development; P:negative regulation of apoptosis; C:Golgi apparatus; F:protein binding; F:transcription activator activity; F:transcription factor activity; P:positive regulation of transcription of Notch receptor target; F:sequence-specific DNA binding; P:negative regulation of BMP signaling pathway; P:branching morphogenesis of a tube; P:foregut morphogenesis; P:neural tube development; P:embryonic hindlimb morphogenesis; P:prostate gland epithelium morphogenesis; P:pronephros development; C:nucleus; P:sprouting angiogenesis; P:determination of left/right symmetry; P:neuron fate commitment; F:chromatin DNA binding; P:lung development		
BJARPAisotig00080	NPM3	1,312504866	F:nucleic acid binding		
BJAR4Disotig00444	OAT	-3,615038213	F:pyridoxal phosphate binding; C:mitochondrion; F:transaminase activity; F:protein binding		
BJARALL1042	P4HB	-3,717157937	F:protein disulfide isomerase activity; F:procollagen-proline 4-dioxygenase activity; C:ER-Golgi intermediate compartment; P:cell redox homeostasis; C:cell surface; C:melanosome; C:microsome; C:endoplasmic reticulum lumen; F:protein binding; P:peptidyl-proline hydroxylation to 4-hydroxy-L-proline; C:extracellular region; C:plasma membrane		
BJARALL0096	PABPC1	3,347838498	-		
BJARALL1686	PACS1	-11,15147381	C:COPI-coated vesicle; F:protein binding; P:protein targeting to Golgi; C:cytosol; P:interspecies interaction between organisms		
BJARALL0947	PACSIN3	-3,186135374	F:cytoskeletal protein binding; P:positive regulation of membrane protein ectodomain proteolysis; P:negative regulation of endocytosis; C:cytoplasm		
BJARALL2809	Parp6	-4,779203062	-		

BJARALL3163	PCF11	-3,186135374	F:molecular_function; P:biological_process	
BJAR4Disotig01216	PCK2	-2,655112812	C:soluble fraction; P:gluconeogenesis; F:metal ion binding; F:GTP binding; P:oxaloacetate metabolic process; F:phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) activity; C:mitochondrion	
BJAR4Disotig00441	PDIA6	-1,27445415	P:cell redox homeostasis; F:isomerase activity	
BJARALL0216	PDS5A	-2,389601531	F:binding; P:cell cycle; P:cell division; C:chromatin; F:identical protein binding; P:mitosis; F:protein binding; C:nucleus	
BJARALL0123	PGM3	-2,389601531	P:spermatogenesis; P:UDP-N-acetylglucosamine biosynthetic process; F:phosphoglucomutase activity; F:phosphoacetylglucosamine mutase activity; P:carbohydrate metabolic process; P:embryonic development; P:glucose 1-phosphate metabolic process; P:hemopoiesis; F:magnesium ion binding; F:metal ion binding; F:intramolecular transferase activity, phosphotransferases	
BJARALL0981	PHF12	4,394038029	F:zinc ion binding; F:protein binding; F:metal ion binding; C:nucleus; P:negative regulation of transcription, DNA-dependent; C:nucleolus; F:transcription repressor activity; C:transcriptional repressor complex; P:regulation of transcription	
BJARALL3799	phrf1	-7,965338436	P:DNA methylation; F:RNA binding; F:methyltransferase activity; F:site-specific DNA-methyltransferase (adenine-specific) activity; F:transferase activity; P:RNA-dependent DNA replication; F:RNA-directed DNA polymerase activity; F:DNA binding	
BJAR4Disotig01784	PICALM	-3,982669218	C:AP-2 adaptor complex; P:positive regulation of transcription; P:clathrin coat assembly; F:clathrin heavy chain binding; F:phosphatidylinositol binding; C:presynaptic membrane; C:Golgi apparatus; C:postsynaptic membrane; P:receptor internalization; P:regulation of protein localization; P:endosome transport; P:negative regulation of receptor-mediated endocytosis; C:perinuclear region of cytoplasm; C:nucleus	
BJAR4Disotig01247	PIGR	1,469976556		
BJARALL0176	PION	-4,779203062	·	
BJARPAisotig00047	PP1	-3,186135374	-	
BJARALL4450	PQLC2	1,738300759	C:integral to membrane	
BJARALL3225	PRKDC	-2,655112812	P:DNA metabolic process; F:binding; F:transferase activity, transferring phosphorus-containing groups	
BJARALL4377	PRPF40B	-7,965338436	F:protein binding	
BJARALL1920	PSMB7	-2,538951626	C:cytoplasm; C:proteasome core complex; C:nucleus; F:threonine-type endopeptidase activity; P:proteolysis involved in cellular protein catabolic process	
BJARALL0210	PTEN	-3,186135374	P:angiogenesis; F:phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase activity; F:protein tyrosine/serine/threonine phosphatase activity; P:response to arsenic; F:platelet-derived growth factor receptor binding; P:endothelial cell migration; P:response to glucose stimulus; P:negative regulation of cell migration; P:inositol phosphate dephosphorylation; P:phosphoinositide dephosphorylation; P:central nervous system development; P:memory; F:PDZ domain binding; F:protein tyrosine phosphatase activity; P:regulation of protein stability; P:response to ethanol; P:response to ATP; P:regulation of B cell apoptosis; P:aging; P:negative regulation of focal adhesion assembly; P:regulation of neuron projection development; P:prostate gland growth; F:phosphatidylinositol-3-phosphatase activity; F:inositol-1,3,4,5-tetrakisphosphate 3- phosphatase activity; P:response to organic cyclic substance; P:regulation of cyclin-dependent protein kinase activity; C:cytosol; P:cardiac muscle tissue development; P:response to zinc ion; P:induction of apoptosis; P:regulation of myeloid cell apoptosis; F:magnesium ion binding; P:negative regulation of epithelial cell proliferation; P:response to drug; F:phosphatidylinositol-3,4-bisphosphata 3-phosphatase activity; F:lipid binding; P:protein amino acid dephosphorylation; P:platelet-derived growth factor receptor signaling pathway; C:nucleus; P:response to nutrient; P:response to estradiol stimulus; P:negative regulation of apoptosis; P:negative regulation of protein kinase B signaling cascade; P:negative regulation of phagocytosis; F:protein serine/threonine phosphatase activity; C:mitochondrion	

BJARALL1994	PTPLB	-1,991334609	F:protein binding	
BJARALL0985	QSER1	-2,695960701	-	
BJARALL1910	RANBP6	1,894368436	P:intracellular protein transport; F:protein transporter activity; C:nucleus; F:protein binding	
BJAR4Disotig01250	RDH16	5,021757747	F:oxidoreductase activity; P:oxidation reduction; F:binding	
BJARALL4507	RNF2	11,92667465	P:mitotic cell cycle; P:negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; F:zinc ion binding; P:gastrulation with mouth forming second; C:ubiquitin ligase complex; P:histone ubiquitination; C:sex chromatin; C:nuclear body; F:ubiquitin-protein ligase activity; F:RING-like zinc finger domain binding; P:anterior/posterior axis specification; F:chromatin binding; C:PcG protein complex; F:ATPase activity, coupled to transmembrane movement of ions, phosphorylative mechanism; E:transcription repressor activity; C:MUL1 complex	
BJARALL4733	RPL15	4,184798123	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; C:cytosol; P:translational elongation	
BJARALL2337	RPL32	3,081533163	F:structural constituent of ribosome; F:protein binding; C:cytosolic large ribosomal subunit; P:translational elongation	
BJARALL1258	RPS12	2,887510705	F:structural constituent of ribosome; C:cytosolic small ribosomal subunit; C:mitochondrion; P:translational elongation	
BJAR4Disotig00310	RPS25	2,331530383	C:nucleolus; F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; F:protein binding; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:ribosomal small subunit assembly; P:translational elongation	
BJARALL1187	RPS8	1,559491175	F:structural constituent of ribosome; F:protein binding; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:translational elongation	
BJARALL5145	Sart1	2,72011878	F:molecular_function; P:biological_process	
BJARALL4479	SBNO1	-2,920624093	F:ATP binding; F:molecular_function; F:hydrolase activity; P:biological_process; F:DNA binding; C:cellular_component	
BJAR4Disotig01818	SEC13	-19,11681225	C:Nup107-160 complex; P:cellular membrane organization; C:kinetochore; F:protein binding; P:intracellular protein transport; P:ER to Golgi vesicle-mediated transport	
BJARALL1900	SEMA4G	-2,12409025	P:multicellular organismal development; C:membrane; F:receptor activity	
BJARALL0937	SEPHS1	3,76631831	F:ATP binding; F:selenide, water dikinase activity	
BJARALL0890	SETD1A	-2,328329697	F:transferase activity; F:methyltransferase activity; C:nucleus; F:nucleotide binding; F:RNA binding; F:histone-lysine N-methyltransferase activity; P:chromatin modification; C:histone methyltransferase complex; F:protein binding; C:nuclear speck; P:regulation of transcription	
BJARALL5111	SFSWAP	1,916740869	-	
BJARALL0604	SLC1A3	1,556744902	C:integral to membrane; F:glutamate binding; P:protein homooligomerization; P:L-glutamate import; P:D-aspartate import; F:glutamate:sodium symporter activity; F:protein binding; F:sodium:dicarboxylate symporter activity; P:dicarboxylic acid transport	
BJARPAisotig00140	SLC39A10	-3,783535757	P:metal ion transport; C:membrane	
BJAR4Disotig00450	SLC39A6	-3,186135374	P:metal ion transport; C:membrane; F:metal ion transmembrane transporter activity; P:transmembrane transport	
BJARALL1891	SMARCA2	-3,982669218	F:helicase activity; F:nucleic acid binding; F:ATP binding; F:DNA binding	
BJARALL2713	Snrp70	-1,700164675	F:RNA binding; F:nucleic acid binding; C:spliceosomal complex; P:nuclear mRNA splicing, via spliceosome; P:regulation of RNA splicing; P:RNA splicing; F:protein binding; C:nucleus; P:mRNA processing; C:ribonucleoprotein complex; F:nucleotide binding; P:hemopoietic stem cell differentiation	
BJAR4Disotig00952	SNX1	-2,590089641	F:phosphoinositide binding; P:cell communication; P:intracellular protein transport; F:protein binding; F:protein transporter activity;	

			C:membrane; C:early endosome; C:endosome; P:transport; C:Golgi apparatus; P:endosome to lysosome transport; C:endosome membrane; P:endocytosis; C:cytoplasm	
BJARALL1928	SPG11	-4,779203062	C:cytoplasm; C:integral to membrane; C:membrane; C:cytosol; P:cell death; C:nucleus	
BJARALL3193	Spg20	3,76631831	P:cell death; F:molecular_function; P:biological_process	
BJARALL1487	SPTAN1	-3,982669218	C:cytosol; F:protein N-terminus binding; C:Z disc; F:calmodulin binding; C:lateral plasma membrane; C:protein complex; C:microtubule cytoskeleton; F:calcium ion binding; P:actin cytoskeleton reorganization; C:membrane fraction; C:spectrin; F:actin binding; C:cuticular plate; F:structural constituent of cytoskeleton; F:protein heterodimerization activity; F:syntaxin binding; C:fascia adherens; P:actin filament capping; F:spectrin binding	
BJARALL3427	Srebf2	-4,779203062	F:transcription regulator activity; C:ER to Golgi transport vesicle membrane; C:integral to membrane; C:Golgi membrane; P:regulation of transcription; F:DNA binding; F:protein binding; P:cholesterol metabolic process; C:endoplasmic reticulum membrane; C:nucleus	
BJARALL0462	SRRM1	3,138598592	F:DNA binding; C:spliceosomal complex; F:RNA binding; F:protein binding; P:RNA splicing, via transesterification reactions; C:nuclear speck; P:mRNA processing; C:nuclear matrix	
BJARALL0411	SSR4	-2,389601531	F:receptor activity; C:Sec61 translocon complex; F:protein binding; C:integral to membrane	
BJARALL2363	STARD5	3,138598592	F:lipid binding	
BJARALL0731	STIM1	-7,965338436	F:protein binding	
BJARALL3279	STT3	5,021757747	-	
BJARALL3870	STT3B	1,69484324	C:membrane; P:protein amino acid glycosylation; F:oligosaccharyl transferase activity	
BJARPAisotig00154	SUPT6H	-2,389601531	-	
BJARALL4657	SUPT6H	-3,186135374	P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; F:hydrolase activity, acting on ester bonds; F:transcription elongation regulator activity; F:RNA binding; F:protein binding; P:chromatin remodeling; F:transcription factor activity; C:nucleus	
BJARALL2134	SUPT6H	-3,186135374	P:chromatin remodeling; F:transcription factor activity; F:hydrolase activity, acting on ester bonds; C:nucleus; F:RNA binding; P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; P:regulation of transcription, DNA-dependent; F:protein binding; P:nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolic process; F:transcription elongation regulator activity	
BJARALL3906	TACC2	-5,310225624	-	
BJARALL0449	Tgfbrap1	1,38098338	F:transforming growth factor beta receptor binding; P:regulation of transcription; F:SMAD binding; P:signal transduction; C:membrane; P:transforming growth factor beta receptor signaling pathway	
BJARALL2860	TLN1	2,510878874	P:cytoskeletal anchoring at plasma membrane; C:focal adhesion; F:insulin receptor binding; C:cytoplasm; F:actin binding; F:structural constituent of cytoskeleton; F:protein binding; C:ruffle membrane; C:ruffle; C:cytosol; C:plasma membrane; C:cytoskeleton	
BJAR4Disotig01813	TMEM161 A	1,883159155	P:positive regulation of DNA repair; P:cellular response to oxidative stress; P:cellular response to UV; P:response to retinoic acid; P:negative regulation of apoptosis; C:membrane	
BJAR4Disotig00772	TMEM59L	3,76631831	C:integral to membrane	
BJARALL0972	TMTC1	-2,389601531		
BJARALL1599	TPD52	1,726229226	P:secretion; P:anatomical structure morphogenesis; F:calcium ion binding; F:protein heterodimerization activity; C:endoplasmic reticulum; F:protein homodimerization activity; C:perinuclear region of cytoplasm; P:B cell differentiation	

BJARALL1833	TTC16	-6,372270749	F:binding	
BJARALL0250	Ube2e3	2,667808803	C:cytoplasm; F:protein binding; F:ATP binding; F:ubiquitin-protein ligase activity; P:regulation of protein metabolic process; C:nucleus; P:post- translational protein modification; P:regulation of growth	
BJARALL1424	VAC14	2,301638967	F:receptor activity; F:protein binding; P:signal transduction; C:endosome membrane	
BJARALL2577	VARS	-2,314926483	C:cytoplasm; F:valine-tRNA ligase activity	
BJARPAisotig00116	VM01	8,160356339	P:vitelline membrane formation; F:structural constituent of vitelline membrane	
BJARALL2334	Vps26b	-1,454540062	C:retromer complex; P:protein transport; P:vacuolar transport	
BJARALL2614	VPS52	-4,779203062	C:endosome membrane; C:membrane; C:Golgi apparatus; C:endosome; P:protein transport	
BJARALL2740	WDR70	-1,509847733	-	
BJARALL3461	WSB1	-5,310225624	C:intracellular; F:protein binding; P:intracellular signaling pathway	
BJARALL3096	XBP1	2,092399061	P:regulation of transcription, DNA-dependent; P:immune response; F:transcription factor activity; P:endoplasmic reticulum unfolded protein response; P:organ development; P:exocrine system development; C:nucleus	
BJARALL4719	XRN2	-3,186135374	P:cell growth; F:zinc ion binding; F:nucleic acid binding; F:5'-3' exoribonuclease activity; C:nucleolus; P:RNA catabolic process; P:regulation of transcription; P:spermatogenesis; F:protein binding; P:transcription termination; P:DNA catabolic process, exonucleolytic; P:mRNA processing	
BJARALL2379	ZDHHC9	1,503117141	C:intracellular membrane-bounded organelle; C:cytoplasmic part; C:membrane	
BJARALL1958	Zfp423	-3,982669218	F:transcription factor activity; C:nucleus; P:positive regulation of transcription; F:zinc ion binding; P:multicellular organismal development; P:cell differentiation; F:transcription repressor activity; F:protein binding; C:intracellular; F:transcription activator activity; F:metal ion binding; P:nervous system development; P:negative regulation of transcription; F:nucleic acid binding	
BJARPAisotig00213		-4,602195541	C:plastid	
BJARALL1013		-4,779203062	-	
BJARALL3922		-3,982669218	-	
BJARPAisotig00135		5,021757747	-	
BJARALL1510		-7,965338436	-	
BJAR4Disotig01007		-3,186135374	-	
BJARALL4428		3,138598592	-	
BJAR4Disotig01866		4,394038029	-	
BJAR4Disotig00536		-3,186135374	-	
BJARPAisotig00094		-7,766204975	F:hydrolase activity; C:extracellular region; P:pathogenesis	
BJARALL5176		-14,33760918	-	

Apêndice 3: Tabela com genes "exclusivos" da glândula de veneno normal (4d) e anotação dos termos do Gene Ontology (GO). Análise

por RNA-seq.

Seq. Name	Seq. Length	Normal expression	Normal reads	Seq. Description	GOs
BJAR4Disotig00850	702	11,1436254	1	acadvl protein	P:temperature homeostasis; P:negative regulation of fatty acid oxidation; C:mitochondrial inner membrane; P:regulation of cholesterol metabolic process; P:oxidation reduction; P:fatty acid beta-oxidation using acyl-CoA dehydrogenase; C:mitochondrial nucleoid; F:long-chain-acyl-CoA dehydrogenase activity; P:negative regulation of fatty acid biosynthetic process; P:energy derivation by oxidation of organic compounds; F:FAD binding
BJARALL3316	839	7,92911805	1	acyl- synthetase long-chain family member 3	P:fatty acid biosynthetic process; F:long-chain-fatty-acid-CoA ligase activity; C:peroxisome; C:integral to membrane; C:mitochondrial outer membrane; F:ATP binding; C:microsome; C:endoplasmic reticulum
BJAR4Disotig00519	1196	13,3363064	2	cytoplasmic 1	C:cytosol; C:cortical cytoskeleton; P:auxin biosynthetic process; P:sarcomere organization; C:axon; C:soluble fraction; F:kinesin binding; F:identical protein binding; C:NuA4 histone acetyltransferase complex; F:ATP binding; P:axonogenesis; F:nitric-oxide synthase binding; P:cellular component movement; C:filamentous actin; F:protein kinase binding; F:structural constituent of cytoskeleton; C:ribonucleoprotein complex; C:MLL5-L complex; P:response to calcium ion
BJARALL2208	488	10,3726827	1	arp2 actin-related protein 2 homolog	C:cell projection; F:ATP binding; C:cytoplasm; F:actin binding
BJARALL1348	440	8,50132245	1	a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 7-like	P:proteolysis; F:metallopeptidase activity; F:hydrolase activity; C:extracellular matrix; F:zinc ion binding; F:peptidase activity; C:proteinaceous extracellular matrix; F:metalloendopeptidase activity
BJAR4Disotig00786	742	9,97534207	1	adenylate cyclase 8	P:cyclic nucleotide biosynthetic process; F:phosphorus-oxygen lyase activity; C:integral to membrane; F:nucleotide binding; P:intracellular signaling pathway; F:lyase activity; F:adenylate cyclase activity; P:activation of protein kinase A activity; P:cAMP-mediated signaling; F:ATP binding; F:metal ion binding; P:activation of adenylate cyclase activity by G-protein signaling pathway; F:calcium- and calmodulin-responsive adenylate cyclase activity; P:signal transduction; P:long-term memory; P:inhibition of adenylate cyclase activity by G-protein signaling pathway; C:membrane fraction; P:learning or memory; C:plasma membrane; P:hormone-mediated signaling pathway; P:cAMP biosynthetic process
BJARALL2259	781	7,14995616	1	rab gtpase-activating protein 1-like	P:regulation of Rab GTPase activity; C:intracellular; F:Rab GTPase activator activity; C:microtubule associated complex; F:tubulin binding; C:cytoplasm; C:centrosome; F:GTPase activator activity; C:cytosol; P:cell cycle; C:cytoskeleton
BJARALL5051	503	9,02877676	1	apoptosis-inducing factor mitochondrial-like	P:apoptotic chromosome condensation; C:soluble fraction; P:cell redox homeostasis; P:oxidation reduction; F:electron carrier activity; F:DNA binding; F:oxidoreductase activity; C:mitochondrial intermembrane space; C:microsome; P:DNA fragmentation involved in apoptosis; F:protein binding; P:neuron apoptosis; F:FAD binding; P:DNA damage response, signal transduction resulting in induction of apoptosis; C:nucleus

BJARALL2360	748	25,7249723	3	adenylate kinase 2	C:mitochondrial intermembrane space; F:adenylate kinase activity; C:mitochondrial inner membrane; P:nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolic process; F:ATP binding
BJAR4Disotig01242	528	10,2332361	2	homo sapiens activated leukocyte cell adhesion molecule transcript variant mrna	-
BJARALL1028	372	5,89722249	1	alkylated dna repair protein alkb homolog 1-like	-
BJARALL1866	370	6,77776667	1	amot protein	P:negative regulation of angiogenesis; P:cell migration involved in gastrulation; C:endocytic vesicle; C:lamellipodium; C:cell junction; P:positive regulation of embryonic development; C:external side of plasma membrane; P:chemotaxis; P:gastrulation with mouth forming second; P:regulation of cell migration; F:receptor activity; P:in utero embryonic development; C:ruffle; P:vasculogenesis; C:cell surface; P:positive regulation of cell size; C:integral to membrane; C:tight junction; P:cell-cell junction assembly; P:positive regulation of stress fiber assembly; C:cytoplasm; P:positive regulation of blood vessel endothelial cell migration; C:stress fiber; F:angiostatin binding; P:negative regulation of vascular permeability; P:actin cytoskeleton organization; F:protein binding; C:actin filament
BJARALL0453	206	10,180596	1	homo sapiens anaphase promoting complex subunit 16 transcript variant mrna	-
BJAR4Disotig00631	911	9,38855724	1	ankyrin node of ranvier (ankyrin g)	C:membrane fraction; P:synapse organization; P:axon guidance; C:axon; C:synapse
BJARALL2364	452	12,9184587	1	progressive ankylosis protein	C:integral to plasma membrane; P:regulation of bone mineralization; P:phosphate transport; F:inorganic diphosphate transmembrane transporter activity; F:inorganic phosphate transmembrane transporter activity; C:outer membrane; P:locomotory behavior
BJARALL4967	669	12,038369	1	acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member a- like	P:regulation of transcription; F:protein binding; P:nucleocytoplasmic transport; C:nuclear matrix; C:endoplasmic reticulum; C:perinuclear region of cytoplasm
BJARALL0852	522	10,2438295	1	annexin a2	F:phospholipase inhibitor activity; P:fibrinolysis; F:cytoskeletal protein binding; C:early endosome; C:basement membrane; C:cytoplasm; C:sarcolemma; P:angiogenesis; C:extracellular region; F:calcium-dependent phospholipid binding; F:calcium ion binding; P:collagen fibril organization; C:protein complex; F:Rab GTPase binding; C:perinuclear region of cytoplasm; P:body fluid secretion; C:cell junction; C:stress fiber; C:membrane fraction; C:proteinaceous extracellular matrix; F:protein binding; F:phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate binding; C:plasma membrane; P:positive regulation of vesicle fusion; C:melanosome; P:regulation of fibrinolysis; F:actin filament binding; P:skeletal system development; C:soluble fraction
BJARALL1507	588	11,8085195	1	aquaporin 5 homologue	C:integral to plasma membrane; C:apical plasma membrane; P:saliva secretion; P:water transport; C:basal plasma membrane; C:microvillus; P:camera-type eye morphogenesis; F:water channel activity; C:endoplasmic reticulum
BJARALL1090	832	8,85110853	1	arfaptin-2 isoform 3	C:soluble fraction; P:cellular component movement; F:GTP binding; P:ruffle organization; F:GTP-dependent protein binding; C:plasma membrane; C:ruffle; C:cell cortex; P:lamellipodium assembly; F:Rac GTPase binding; P:actin cytoskeleton organization; P:small GTPase mediated signal transduction

BJARALL1085	510	14,0561638	1	equus caballus arrestin domain containing 3 mrna	-
BJARALL0966	496	32,1806157	4	astrotactin-2- partial	F:molecular_function; P:biological_process; C:integral to membrane; C:membrane
BJAR4Disotig01079	589	10,329373	1	bifunctional purine biosynthesis protein purh	F:phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransferase activity; P:organ regeneration; C:mitochondrion; P:IMP biosynthetic process; F:IMP cyclohydrolase activity; F:protein homodimerization activity
BJARALL2094	545	12,2469546	1	na+ k+ beta 3 polypeptide	P:transport
BJAR4Disotig00462	1507	9,95527096	1	calcium-transporting atpase type 2c member 2-like	F:calcium-transporting ATPase activity; C:integral to membrane; F:metal ion binding; P:ATP biosynthetic process; F:ATP binding; P:calcium ion transport
BJARALL0654	1504	9,91537007	1	d chain low resolution structures of bovine mitochondrial f1-atpase during controlled dehydration: hydration state	P:angiogenesis; F:proton-transporting ATPase activity, rotational mechanism; F:hydrogen-exporting ATPase activity, phosphorylative mechanism; P:negative regulation of cell adhesion involved in substrate-bound cell migration; F:hydrogen ion transporting ATP synthase activity, rotational mechanism; P:auxin biosynthetic process; P:regulation of intracellular pH; C:mitochondrial inner membrane; F:MHC class I protein binding; C:mitochondrial nucleoid; C:cell surface; P:plasma membrane ATP synthesis coupled proton transport; C:proton-transporting ATP synthase complex, catalytic core F(1); P:lipid metabolic process; F:eukaryotic cell surface binding; P:ATP catabolic process; C:plasma membrane; F:ATP binding
BJAR4Disotig01124	567	9,85611487	1	atp h+ mitochondrial f0 subunit c (subunit 9) isoform isoform cra_a	F:hydrogen ion transporting ATP synthase activity, rotational mechanism; C:mitochondrial membrane; C:integral to membrane; P:response to ethanol; P:ATP synthesis coupled proton transport; F:lipid binding; C:proton-transporting ATP synthase complex, coupling factor F(o); F:protein binding; P:aging
BJARALL1205	482	12,4628959	1	transcriptional regulator atrx	F:helicase activity; F:ATP binding; F:zinc ion binding; F:DNA binding; F:hydrolase activity; P:response to DNA damage stimulus; C:nucleus; F:nucleic acid binding; F:nucleotide binding; P:DNA repair; F:protein binding; F:metal ion binding
BJARALL3771	508	10,460401	1	gallus gallus kiaa1218 protein mrna	-
BJARALL1121	1108	6,29487235	1	ornithine decarboxylase antizyme inhibitor	P:polyamine biosynthetic process; F:ornithine decarboxylase inhibitor activity; F:catalytic activity; F:protein binding; F:ornithine decarboxylase activator activity
BJARALL1865	472	7,51940679	1	bcl6 co-repressor-like 1	F:molecular_function; P:regulation of transcription; P:biological_process; P:chromatin modification; C:cellular_component; C:nucleus
BJARALL0771	774	17,0612747	2	bod1l protein	F:DNA binding; P:biological_process; C:cellular_component
BJAR4Disotig00922	667	10,0564424	1	5a11 basigin-2	C:membrane
BJAR4Disotig01439	499	10,3944741	1	bystin	C:intracellular part; P:cellular process
BJARALL0323	495	9,38855724	1	upf0467 protein c5orf32 homolog	-
BJAR4Disotig00251	880	20,1128848	2	calmodulin	P:positive regulation of ryanodine-sensitive calcium-release channel activity; F:phosphoprotein phosphatase activity; C:nucleoplasm; F:kinase activity; P:skeletal muscle fiber development; F:receptor binding; P:regulation of release of sequestered calcium ion into cytosol by sarcoplasmic reticulum; F:N-terminal myristoylation domain binding; P:negative regulation of ryanodine-sensitive calcium-release channel activity; C:microsome; P:response to calcium ion; C:calcineurin complex; F:calcium ion binding; P:muscle contraction; P:regulation of cytokinesis;

					P:regulation of excitatory postsynaptic membrane potential; F:myosin binding; C:extracellular region; C:cytosol; F:protein domain specific binding; C:centrosome; F:titin binding; P:G-protein coupled receptor protein signaling pathway; P:G1/S transition of mitotic cell cycle; P:regulation of synaptic transmission; C:Z disc; P:response to stress; C:spindle microtubule; P:positive regulation of DNA binding; C:plasma membrane; F:calmodulin binding; P:protein import into nucleus; C:spindle pole; F:calcium channel regulator activity; C:mitochondrion
BJARALL0141	692	9,44230852	1	cysteinyl-trna cytoplasmic-like	P:cysteinyl-tRNA aminoacylation; F:ligase activity; C:cytoplasm; F:nucleotide binding; P:translation; F:ATP binding; F:cysteine-tRNA ligase activity; F:tRNA binding; F:metal ion binding
BJARALL1511	506	9,81700331	1	coiled-coil domain-containing protein 6	C:cytoplasm; F:structural constituent of cytoskeleton; C:cytoskeleton; F:protein tyrosine kinase activity; P:peptidyl- tyrosine phosphorylation; F:ATP binding; C:nucleus; P:protein amino acid autophosphorylation; F:protein serine/threonine kinase activity; F:SH3 domain binding
BJARALL4375	479	9,79756369	1	cyclin-dependent kinase 12-like	F:ATP binding; F:protein kinase activity; F:nucleotide binding; P:protein amino acid phosphorylation; P:auxin biosynthetic process; F:protein serine/threonine kinase activity
BJARALL4520	1271	21,024517	3	calsyntenin 1	C:Golgi membrane; C:endoplasmic reticulum membrane; P:homophilic cell adhesion; C:postsynaptic membrane; C:cell junction; F:calcium ion binding; C:integral to membrane; C:extracellular region; C:nucleus; C:cell projection
BJARALL0587	606	13,0893377	1	ump-cmp kinase-like	C:cytoplasm; F:ATP binding; F:phosphotransferase activity, phosphate group as acceptor; F:cytidylate kinase activity; C:nucleus; P:pyrimidine nucleotide biosynthetic process
BJARALL2175	610	8,01907563	1	collagen alpha-4 chain	F:extracellular matrix structural constituent; F:binding; C:collagen; C:basement membrane; P:long-term strengthening of neuromuscular junction; F:protein binding; C:collagen type IV; C:basal lamina; P:glomerular basement membrane development; C:extracellular region
BJARALL1118	1240	38,8364966	5	carboxypeptidase a2	F:metallocarboxypeptidase activity; F:protein binding; P:vacuolar protein catabolic process; C:extracellular region; P:proteolysis; F:zinc ion binding
BJARALL1827	440	10,7094582	1	oxidoreductase nad-binding domain- containing protein 1 precursor	P:oxidation reduction; F:oxidoreductase activity; C:mitochondrion
BJARALL1440	980	4,39801748	1	cytochrome p450 2j2-like	-
BJARALL2659	487	13,1240575	1	bitis gabonica cytokine-like protein complete cds	-
BJARALL4033	429	18,7415518	2	dynactin subunit 2-like isoform 1	C:dynein complex; C:growth cone; P:cell proliferation; C:kinetochore; P:mitotic spindle organization; C:dynactin complex; F:protein binding; P:mitosis; C:centrosome; F:motor activity; C:membrane; C:cytosol; C:microtubule
BJARALL3385	437	13,0548012	1	taeniopygia guttata defective in cullin neddylation domain containing 2 (cerevisiae) mrna	-
BJARALL4261	471	39,5821573	4	atp-dependent rna helicase ddx1-like	F:binding
BJAR4Disotig01523	489	6,45922933	1	denn domain-containing protein 3- like	F:molecular_function; P:biological_process
BJAR4Disotig01760	455	9,81700331	1	24-dehydrocholesterol reductase	P:Ras protein signal transduction; P:negative regulation of caspase activity; C:Golgi membrane; P:plasminogen activation; P:cellular membrane organization; F:delta24-sterol reductase activity; C:integral to membrane; C:endoplasmic reticulum membrane; P:neuroprotection; F:FAD binding; P:negative regulation of cell proliferation;

					P:anti-apoptosis; P:cell cycle arrest; P:cholesterol biosynthetic process; P:protein localization; P:skin development; P:male genitalia development; F:peptide antigen binding; P:oxidation reduction; P:amyloid precursor protein catabolic process; F:enzyme binding; C:nucleus; P:response to oxidative stress
BJARALL3044	454	8,66509574	1	deah (asp-glu-ala-his) box polypeptide 16	F:helicase activity; F:ATP binding; F:hydrolase activity; F:nucleotide binding; P:auxin biosynthetic process; F:ATP- dependent helicase activity; F:nucleic acid binding; F:molecular_function; P:biological_process; C:cellular_component
BJARALL4077	403	10,5496155	1	dnaj homolog subfamily c member 21- partial	F:RNA binding; P:RNA-dependent DNA replication; F:RNA-directed DNA polymerase activity
BJARALL0027	462	17,1499815	2	aspartyl aminopeptidase	C:vacuole; F:metallopeptidase activity; P:proteolysis; F:zinc ion binding; F:protein binding; F:aminopeptidase activity
BJARALL3902	447	9,30031892	1	dedicator of cytokinesis protein 4-like	F:GTP binding; F:GTPase binding; F:guanyl-nucleotide exchange factor activity; C:membrane; F:PDZ domain binding; F:Rac GTPase binding; F:protein binding; C:endomembrane system; C:stereocilium bundle; F:Rac GTPase activator activity; C:stereocilium; F:SH3 domain binding
BJARALL3379	847	4,74833941	1	gallus gallus down-regulator of transcription tbp-binding (negative cofactor 2) mrna	
BJARALL0785	453	7,06824238	1	ecdysoneless homolog	
BJARALL0745	983	14,6383718	1	eukaryotic translation elongation factor 1 delta (guanine nucleotide exchange protein)	F:translation elongation factor activity; F:signal transducer activity; C:eukaryotic translation elongation factor 1 complex; F:protein binding; P:positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade; C:cytosol; P:translational elongation
BJAR4Disotig00487	1336	11,780404	1	eukaryotic elongation factor-2 isoform cra_a	P:protein amino acid phosphorylation; F:calcium ion binding; F:ATP binding; F:elongation factor-2 kinase activity; C:cytosol; F:calmodulin binding
BJARALL5144	643	9,0123309	1	probable rna-binding protein eif1ad	F:RNA binding; C:nucleus; P:translational initiation; F:translation initiation factor activity
BJARALL1804	833	8,61980778	1	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit c	C:eukaryotic translation initiation factor 3 complex; P:translational initiation; F:protein binding; F:translation initiation factor activity; C:cytosol; F:ribosome binding
BJAR4Disotig01402	504	10,2226646	1	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit f-like	C:cytosol; C:eukaryotic translation initiation factor 3 complex; F:protein binding; P:translational initiation; F:translation initiation factor activity
BJARALL2356	968	10,6289359	2	eukaryotic translation initiation factor 4e	C:eukaryotic translation initiation factor 4F complex; P:translational initiation; F:eukaryotic initiation factor 4G binding; F:RNA cap binding; F:translation initiation factor activity; P:regulation of translation; C:cytosol; P:interspecies interaction between organisms
BJARALL3795	496	13,7438046	1	eukaryotic translation initiation factor 5b	F:GTP binding; F:GTPase activity; P:translation; C:cytoplasm; P:regulation of translational initiation; F:translation initiation factor activity; F:nucleotide binding; F:protein binding
BJARALL4503	416	10,6863276	1	low quality protein: upf0493 protein kiaa1632-like	-
BJARALL0515	253	9,87578776	1	loc494814 protein	-
BJARALL4645	627	9,47848595	1	endoplasmic reticulum-golgi intermediate compartment 1	C:Golgi membrane; C:endoplasmic reticulum membrane; F:protein binding; C:integral to membrane; P:ER to Golgi vesicle-mediated transport; C:ER-Golgi intermediate compartment membrane

BJAR4Disotig00478	1395	19,1033578	2	constitutive coactivator of ppar- gamma-like protein 1-like	F:RNA binding; C:membrane; C:plasma membrane
BJAR4Disotig01416	502	11,4531705	1	protein fam151b-like	-
BJARALL4470	410	13,0893377	2	protein fam160b2-like	F:molecular_function; P:biological_process
BJARALL0405	526	10,3944741	1	fatty acyl- reductase 1-like	P:metabolic process; F:catalytic activity; C:cellular_component; C:peroxisome; C:integral to membrane; C:membrane; P:lipid biosynthetic process; P:oxidation reduction; P:wax biosynthetic process; F:oxidoreductase activity; F:long-chain-fatty-acyl-CoA reductase activity; F:binding; P:lipid metabolic process; F:oxidoreductase activity, acting on the aldehyde or oxo group of donors, NAD or NADP as acceptor; C:peroxisomal membrane
BJARALL2306	770	7,99316586	1	and pleckstrin domain protein 1 (chondrocyte-derived)	F:molecular_function; P:biological_process
BJARALL4210	478	12,0972363	1	autism-related protein 1	F:molecular_function; P:biological_process
BJARALL2771	329	6,77776667	1	f-box lrr-repeat protein 20-like isoform 2	C:cytoplasm; F:protein binding
BJARALL3827	820	18,2574526	2	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase fkbp11-like	P:protein folding; C:integral to membrane; F:peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity
BJARALL0005	504	10,3509826	1	flightless i homolog	C:nucleus; P:actin filament severing; F:actin binding; P:multicellular organismal development; F:protein binding; P:transcription; P:actin cytoskeleton organization; P:regulation of transcription; C:cytoskeleton; C:cytoplasm; C:centrosome; P:muscle contraction; C:nucleolus
BJAR4Disotig01069	591	10,1596913	1	flna protein	F:protein kinase C binding; F:signal transducer activity; C:trans-Golgi network; P:negative regulation of transcription factor activity; P:protein localization at cell surface; C:actin cytoskeleton; P:cytoplasmic sequestering of protein; P:protein stabilization; C:extracellular region; C:cytosol; F:glycoprotein binding; P:actin crosslink formation; P:positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade; F:actin filament binding; F:Rac GTPase binding; P:early endosome to late endosome transport; P:inhibition of adenylate cyclase activity by dopamine receptor signaling pathway; F:protein homodimerization activity; F:GTP-Ral binding; P:actin cytoskeleton reorganization; F:Fc-gamma receptor I complex binding; C:plasma membrane; F:transcription factor binding; P:negative regulation of protein catabolic process; C:nucleus; P:positive regulation of transcription factor import into nucleus; C:cell cortex; P:receptor clustering
BJARALL3997	501	32,1980672	3	gallus gallus fndc3 protein mrna	-
BJAR4Disotig01751	458	17,8298006	2	far upstream element-binding protein	C:nucleolus; P:regulation of transcription; F:RNA binding; F:protein binding; F:single-stranded DNA binding; F:transcription factor activity; P:transcription from RNA polymerase II promoter
BJAR4Disotig01417	503	12,8680615	2	uap56-interacting factor-like	F:RPTP-like protein binding; P:cell-cell adhesion; P:epithelial cell differentiation involved in salivary gland development; F:mRNA binding; C:lamellipodium; P:salivary gland morphogenesis; C:nucleus; P:transport; P:morphogenesis of a polarized epithelium; P:mRNA export from nucleus; C:nucleoplasm; C:membrane fraction; F:protein binding; C:nuclear speck; F:cadherin binding; F:binding; F:RNA binding; F:molecular_function; P:biological_process; C:cellular_component
BJARALL5141	1180	42,6531868	4	glycyl-trna synthetase	C:cytosol; C:secretory granule; C:soluble fraction; P:cell death; P:regulated secretory pathway; P:glycyl-tRNA

					aminoacylation; P:diadenosine tetraphosphate biosynthetic process; F:ATP binding; F:protein dimerization activity; C:mitochondrial matrix; F:glycine-tRNA ligase activity
BJARALL3867	653	13,8205857	2	mucus-type core 2 betan- acetylglucosaminyltransferase	C:Golgi apparatus; C:host cell membrane; F:acetylglucosaminyltransferase activity; C:membrane; C:host cell Golgi apparatus
BJARALL4619	465	19,8307401	2	glycine cleavage system protein h (aminomethyl carrier)	F:aminomethyltransferase activity; F:lipoic acid binding; C:glycine cleavage complex; C:mitochondrion; P:glycine decarboxylation via glycine cleavage system
BJAR4Disotig01457	500	9,26548627	1	golgi to er traffic protein 4 homolog	F:protein binding
BJARALL3268	425	5,18634137	1	gdnf family receptor alpha-1-like	P:cell surface receptor linked signaling pathway; F:glial cell line-derived neurotrophic factor receptor activity; F:receptor binding; C:extrinsic to membrane
BJAR4Disotig00771	753	7,87861412	1	gins complex subunit 3 (psf3 homolog)	C:nucleus; P:DNA replication
BJARALL0907	634	8,68029766	1	glutamine synthetase	F:glutamate-ammonia ligase activity; F:glutamate decarboxylase activity; F:ATP binding; C:mitochondrion; P:glutamine biosynthetic process
BJARALL2179	425	15,270894	1	guanine nucleotide binding protein (g protein) gamma 11	C:heterotrimeric G-protein complex; F:signal transducer activity; P:hormone-mediated signaling pathway; P:signal transduction; P:G-protein coupled receptor protein signaling pathway; F:GTPase activity
BJAR4Disotig00507	1232	30,2307719	3	nucleolar gtp-binding protein 1	P:negative regulation of cell migration; P:negative regulation of DNA replication; P:protein stabilization; P:negative regulation of cell proliferation; P:ribosome biogenesis; F:protein binding; P:negative regulation of collagen binding; F:GTPase activity; P:negative regulation of protein ubiquitination; C:perinuclear region of cytoplasm; P:regulation of cyclin-dependent protein kinase activity; P:negative regulation of cell-cell adhesion; F:GTP binding; C:nucleus
BJARALL2677	355	9,93528045	1	golgi reassembly stacking protein 65kda	P:protein transport; C:membrane; C:cytosol; P:Golgi organization; C:Golgi apparatus; F:protein binding
BJARALL2500	411	13,9965196	2	golgi snap receptor complex member 1	C:Golgi membrane; P:intra-Golgi vesicle-mediated transport; F:SNAP receptor activity; C:SNARE complex; P:retrograde transport, endosome to Golgi; P:intracellular protein transport; C:integral to membrane; C:cis-Golgi network; P:ER to Golgi vesicle-mediated transport
BJAR4Disotig00748	773	8,12441653	1	glucose-6-phosphate isomerase-like	P:angiogenesis; P:gluconeogenesis; P:negative regulation of caspase activity; F:glucose-6-phosphate isomerase activity; F:growth factor activity; F:cytokine activity; C:synaptosome; P:glucose 6-phosphate metabolic process; C:extracellular space; C:integral to membrane; F:phosphatidylinositol N-acetylglucosaminyltransferase activity; P:aldehyde catabolic process; C:cytosol; P:negative regulation of neuron apoptosis; P:GPI anchor biosynthetic process; P:glycolysis; P:methylglyoxal biosynthetic process; F:monosaccharide binding; F:intramolecular transferase activity
BJAR4Disotig01673	471	10,8029905	1	glutathione peroxidase 1	P:angiogenesis involved in wound healing; P:myoblast proliferation; P:hydrogen peroxide catabolic process; P:skeletal muscle fiber development; P:sensory perception of sound; P:response to gamma radiation; P:protein amino acid oxidation; P:temperature homeostasis; P:response to xenobiotic stimulus; P:response to lipid hydroperoxide; P:endothelial cell development; P:regulation of neuron apoptosis; P:negative regulation of inflammatory response to antigenic stimulus; P:heart contraction; P:vasodilation; F:glutathione peroxidase activity; P:fat cell differentiation; P:myotube differentiation; P:blood vessel endothelial cell migration; P:skeletal muscle tissue regeneration; P:induction of apoptosis by oxidative stress; P:glutathione metabolic process; F:glutathione binding; F:selenium binding; P:interaction with symbiont; P:response to toxin; P:triglyceride metabolic process;

					P:oxidation reduction; C:soluble fraction; F:phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase activity; C:nucleus; P:negative regulation of apoptosis; P:response to symbiotic bacterium; P:positive regulation of protein kinase B signaling cascade; C:mitochondrion
BJAR4Disotig00426	2098	16,9250958	3	glutathione peroxidase 3	P:hydrogen peroxide catabolic process; P:response to corticosterone stimulus; C:soluble fraction; F:glutathione peroxidase activity; P:female pregnancy; C:extracellular space; P:glutathione metabolic process; P:response to organic cyclic substance; F:glutathione binding; P:response to drug; P:protein homotetramerization; F:selenium binding; P:response to selenium ion
BJARALL0703	465	10,8266295	4	general transcription factor iih subunit 2-like	P:regulation of transcription; C:nucleus; F:zinc ion binding; P:DNA repair
BJAR4Disotig00261	2119	9,26548627	1	high density lipoprotein binding protein	C:cytoplasm; F:lipid binding; C:plasma membrane; F:RNA binding; F:protein binding; P:lipid transport; P:cholesterol metabolic process; C:nucleus; C:high-density lipoprotein particle
BJARALL5169	326	10,9222288	1	heat repeat-containing protein 3	F:binding
BJARALL5097	750	6,8433882	1	probable e3 ubiquitin-protein ligase herc4-like isoform 1	C:cytosol; F:acid-amino acid ligase activity; P:protein modification process
BJARALL5075	951	22,1873079	3	hexosaminidase d	P:carbohydrate metabolic process; C:nucleus; F:beta-N-acetylhexosaminidase activity; F:cation binding
BJARALL2065	300	5,57181269	1	hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate	P:intracellular protein transport; F:zinc ion binding; F:metal ion binding; F:kinase activity; C:cellular_component; C:secretory granule; C:membrane; C:early endosome; C:endosome; C:cytoplasm; P:negative regulation of JAK-STAT cascade; C:intracellular membrane-bounded organelle; F:protein binding; C:multivesicular body membrane; F:protein domain specific binding; C:cytosol; C:early endosome membrane
BJARALL1033	408	13,3363064	1	h2a histone member isoform cra_a	C:nucleosome; F:DNA binding; P:nucleosome assembly; C:nucleus
BJAR4Disotig01154	558	20,3193826	2	non-histone chromosomal protein hmg-17- partial	F:molecular_function; C:cellular_component
BJAR4Disotig01778	449	6,66815319	1	taeniopygia guttata heterogeneous nuclear ribonucleoprotein a b mrna	-
BJARALL4796	546	32,9851311	3	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein d (au-rich element rna binding protein 37kda) isoform cra_a	P:RNA processing; C:chromosome; C:ribonucleoprotein complex; C:heterogeneous nuclear ribonucleoprotein complex; P:RNA splicing; F:DNA binding; C:nucleus; C:cytoplasm; F:nucleotide binding; F:RNA binding; P:mRNA stabilization; P:regulation of transcription, DNA-dependent; F:telomeric DNA binding; F:protein binding; F:transcription activator activity; P:RNA catabolic process; C:cytosol
BJAR4Disotig01571	485	7,98027365	1	e3 ubiquitin-protein ligase huwe1-like	C:cytoplasm; C:nucleolus; P:cell differentiation; P:histone ubiquitination; F:DNA binding; F:protein binding; P:protein polyubiquitination; F:ubiquitin-protein ligase activity
BJAR4Disotig01175	546	9,75891453	1	isocitrate dehydrogenase	P:glyoxylate cycle; C:cytosol; P:response to steroid hormone stimulus; P:2-oxoglutarate metabolic process; C:peroxisome; C:soluble fraction; P:female gonad development; P:oxidation reduction; P:tricarboxylic acid cycle; F:NAD or NADH binding; F:isocitrate dehydrogenase (NADP+) activity; F:magnesium ion binding; P:response to organic cyclic substance; P:NADPH regeneration; P:isocitrate metabolic process; F:protein homodimerization activity; F:NADP or NADPH binding
BJARALL3845	481	11,194049	1	intraflagellar transport protein 80 homolog	C:cilium axoneme; C:microtubule basal body

BJARALL1691	904	9,68252381	1	immunoglobulin binding protein 1	P:response to biotic stimulus; P:regulation of signal transduction
BJARALL2722	492	8,01907563	1	insulin-like growth factor 2 (somatomedin a)	P:neural retina development; P:glucose metabolic process; C:extracellular region; P:negative regulation of apoptosis; F:hormone activity
BJAR4Disotig00457	1545	41,812138	6	integral membrane protein 2a-like	F:protein binding; C:cytoplasm; C:plasma membrane
BJAR4Disotig00657	871	10,7326891	1	kh domain rna signal transduction associated 1	P:cell cycle arrest; F:RNA binding; F:SH3/SH2 adaptor activity; P:G2/M transition of mitotic cell cycle; F:transcription repressor activity; P:regulation of RNA export from nucleus; F:DNA binding; P:signal transduction; P:negative regulation of transcription; P:mRNA processing; P:cell proliferation; P:cell surface receptor linked signaling pathway; C:membrane; C:nucleus; F:SH3 domain binding
BJARALL3488	296	10,2015869	1	ktn1 protein	C:endoplasmic reticulum membrane; C:integral to membrane; C:membrane; C:endoplasmic reticulum; C:integral to endoplasmic reticulum membrane; F:receptor activity; P:protein transport; F:molecular_function; C:membrane fraction; P:microtubule-based movement; C:integral to plasma membrane
BJAR4Disotig01184	546	8,21888649	1	lysosomal-associated protein transmembrane 4 alpha	C:endomembrane system; C:integral to membrane; C:Golgi apparatus; P:transport
BJARALL3223	434	11,0688359	1	la-related protein 1-like	F:molecular_function; P:biological_process
BJARALL4956	598	36,181131	4	la-related protein 1b-like	F:RNA binding
BJARALL0922	417	26,282973	4	leukocyte receptor cluster member 8	F:receptor activity
BJAR4Disotig00427	1995	18,1236984	1	lysophosphatidylcholine acyltransferase 2	F:calcium ion binding; C:integral to membrane; C:Golgi membrane; C:Golgi stack; P:cellular membrane organization; F:1-acylglycerophosphocholine O-acyltransferase activity; F:1-alkylglycerophosphocholine O-acetyltransferase activity; C:endoplasmic reticulum membrane; P:platelet activating factor biosynthetic process
BJAR4Disotig00951	648	7,00817233	1	mitochondrial leucine-rich ppr motif- containing protein	F:microtubule binding; F:RNA binding; P:mitochondrion transport along microtubule; C:cytoskeleton; C:nuclear membrane; C:condensed nuclear chromosome; F:actin filament binding; C:mitochondrial nucleoid; F:DNA binding; C:perinuclear region of cytoplasm; F:beta-tubulin binding
BJARALL2222	658	9,14560012	1	leucine-rich repeat-containing protein 1	F:protein binding
BJARALL4451	314	23,9022689	1	methionyl-trna cytoplasmic	F:ligase activity; F:methionine-tRNA ligase activity; C:mitochondrion; C:cytoplasm; F:nucleotide binding; F:ATP binding; P:methionyl-tRNA aminoacylation; F:protein binding; F:tRNA binding; C:cytosol; P:tRNA aminoacylation for protein translation; P:translation; F:RNA binding; F:aminoacyl-tRNA ligase activity; P:rRNA transcription; C:nucleolus
BJARALL3472	496	11,0688359	1	membrane-bound transcription factor site-1 protease isoform 2	F:serine-type endopeptidase activity; C:integral to membrane; C:membrane; C:nucleus; C:Golgi membrane; C:Golgi stack; C:Golgi apparatus; P:regulation of transcription factor import into nucleus; C:endoplasmic reticulum membrane; C:endoplasmic reticulum lumen; F:peptidase activity; P:proteolysis; P:cholesterol metabolic process; P:steroid metabolic process; C:endoplasmic reticulum
BJAR4Disotig01561	479	11,6144828	1	male enhanced antigen isoform cra_a	P:multicellular organismal process; C:cytoplasm; P:developmental process
BJARALL4469	404	9,87578776	1	methionine aminopeptidase 1-like	C:cytoplasm; F:metal ion binding; P:N-terminal protein amino acid modification; F:metalloexopeptidase activity; F:protein binding; F:aminopeptidase activity; P:peptidyl-methionine modification; P:regulation of translation; P:proteolysis

BJARALL1435	459	7,24417228	1	mgc84737 protein	C:cytoplasm; F:protein binding; C:nucleus; C:nucleolus; F:molecular_function; P:biological_process
BJARALL1591	588	12,1866248	1	morc family cw-type zinc finger protein 2	F:metal ion binding; F:ATP binding; F:zinc ion binding
BJARALL0984	411	7,55384682	1	3-mercaptopyruvate sulfurtransferase-like isoform 1	F:thiosulfate sulfurtransferase activity; P:sulfate transport
BJAR4Disotig00986	622	10,5947959	1	peptide methionine sulfoxide reductase	P:oxidation reduction; F:peptide-methionine-(S)-S-oxide reductase activity; P:protein modification process
BJAR4Disotig00955	645	10,1388723	1	serine threonine protein kinase mst4	C:cytosol; P:auxin biosynthetic process; F:protein serine/threonine kinase activity; P:regulation of apoptosis; F:identical protein binding; F:ATP binding; F:magnesium ion binding; C:Golgi apparatus; P:protein amino acid phosphorylation
BJARALL1907	531	9,30031892	1	low quality protein: mtss1-like	P:filopodium assembly; F:cytoskeletal adaptor activity; F:SH3 domain binding; P:signal transduction; F:actin binding
BJAR4Disotig00132	650	6,36778593	1	monosiga brevicollis mx1 protein monbrdraft_31217 complete cds	-
BJARALL1786	441	8,42890914	1	loc398088 protein	F:binding; P:chromosome condensation; P:cell cycle; C:cytoplasm; P:cell division; P:mitosis; C:nucleus
BJAR4Disotig00733	788	7,42908358	1	nuclear receptor coactivator 4	F:receptor activity
BJARALL3711	349	10,1181384	1	nadh dehydrogenase	P:nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolic process; F:ATP binding; F:phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor; C:mitochondrion; C:mitochondrial matrix; P:electron transport chain; C:respiratory chain; P:transport; F:molecular_function; P:biological_process
BJARALL2874	1118	10,3509826	1	nadh dehydrogenase	C:mitochondrial inner membrane; C:respiratory chain; P:cellular metabolic process; F:coenzyme binding; F:catalytic activity
BJARALL4921	623	9,2481676	1	nadh dehydrogenase subunit 2	P:mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone; C:mitochondrial inner membrane; C:respiratory chain; F:NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity; P:transport; C:integral to membrane
BJARALL3797	474	19,8705609	2	nima (never in mitosis gene a)-related kinase 7	F:ATP binding; F:protein kinase activity; F:nucleotide binding; P:protein amino acid phosphorylation; P:auxin biosynthetic process; F:protein serine/threonine kinase activity; F:metal ion binding; C:cytoplasm; F:transferase activity; F:protein binding
BJARALL3593	458	21,6374767	3	nucleolar complex protein 3 homolog	P:fat cell differentiation; C:nuclear speck; C:nucleolus; C:nucleus
BJAR4Disotig01655	471	13,3004561	1	non-pou domain-containing octamer- binding protein	C:paraspeckles; C:nuclear matrix; F:RNA binding; P:DNA recombination; P:DNA repair; P:regulation of transcription; F:identical protein binding; P:RNA splicing; F:DNA binding; F:nucleotide binding; P:mRNA processing
BJARPAisotig00079	402	6,32707118	1	taeniopygia guttata clone 0069p0004f05 nucleophosmin-like complete sequence	-
BJARALL0142	393	5,94683854	1	nucleoporin 160	P:mRNA export from nucleus; C:Nup107-160 complex; C:kinetochore; F:nucleocytoplasmic transporter activity; F:protein binding; P:transmembrane transport; P:protein transport
BJARALL1462	530	10,8503721	1	oxoglutarate (alpha-ketoglutarate) dehydrogenase	F:thiamin pyrophosphate binding; P:glycolysis; C:mitochondrion; F:oxidoreductase activity, acting on the aldehyde or oxo group of donors, disulfide as acceptor; F:oxoglutarate dehydrogenase (succinyl-transferring) activity; P:oxidation reduction; F:oxidoreductase activity; C:mitochondrial matrix; P:metabolic process

BJARALL2413	466	10,8266295	1	oxysterol-binding protein 5-like	·
BJARALL4439	441	6,99825978	1	otoancorin isoform 1	C:apical plasma membrane; C:proteinaceous extracellular matrix; P:sensory perception of sound; C:anchored to membrane; C:extracellular region; C:plasma membrane
BJAR4Disotig00897	684	7,09866523	1	prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1- like	C:endoplasmic reticulum lumen; F:L-ascorbic acid binding; F:iron ion binding; F:procollagen-proline 4-dioxygenase activity; P:oxidation reduction; F:oxidoreductase activity, acting on single donors with incorporation of molecular oxygen, incorporation of two atoms of oxygen
BJARALL1350	494	36,6114034	7	proteasomal atpase-associated factor 1	C:proteasome complex; F:protein binding
BJAR4Disotig00845	704	16,5339003	4	protein dj-1	P:regulation of androgen receptor signaling pathway; C:cytosol; P:adult locomotory behavior; C:axon; C:mitochondrion; P:cell death; P:membrane depolarization; P:membrane hyperpolarization; P:negative regulation of protein binding; P:dopamine uptake; F:protein binding; P:hydrogen peroxide metabolic process; P:response to drug; F:peroxiredoxin activity; P:response to hydrogen peroxide; C:nucleus
BJARALL0962	402	3,39120608	1	proprotein convertase subtilisin kexin type 2	C:membrane; P:insulin processing; F:peptidase activity; C:extracellular space; F:protein complex binding; P:peptide hormone processing; C:transport vesicle; F:serine-type endopeptidase activity; P:protein maturation by peptide bond cleavage; P:proteolysis; P:islet amyloid polypeptide processing; C:cytoplasmic vesicle; P:nervous system development; P:enkephalin processing; C:soluble fraction; P:protein autoprocessing; F:protein binding; C:secretory granule; F:endopeptidase activity; F:hydrolase activity; F:serine-type peptidase activity
BJARALL3187	681	6,45922933	1	protein disulfide-isomerase a5	F:isomerase activity; P:cell redox homeostasis
BJARALL0374	649	5,98279282	1	achain phosphoinositide-dependent kinase-1 with fragment8	C:cytosol; P:positive regulation of establishment of protein localization in plasma membrane; P:cellular response to insulin stimulus; P:intracellular signaling pathway; P:peptidyl-threonine phosphorylation; P:negative regulation of protein kinase activity; P:actin cytoskeleton organization; F:ATP binding; F:protein binding; F:3-phosphoinositide-dependent protein kinase activity; P:activation of protein kinase B activity; C:plasma membrane
BJARALL0968	244	10,9706644	1	phosphoprotein enriched in astrocytes 15	C:cytoplasm; C:microtubule associated complex; P:negative regulation of glucose import; C:membrane fraction; P:anti-apoptosis; F:protein kinase C binding
BJAR4Disotig01440	499	17,9918897	2	peptidase d	P:cellular process; P:proteolysis; F:manganese ion binding; F:metalloexopeptidase activity; F:aminopeptidase activity
BJARALL2022	456	11,387272	2	profilin 1	C:cytosol; F:proline-rich region binding; P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; P:regulation of actin polymerization or depolymerization; F:actin binding; C:actin cytoskeleton; C:extracellular region; F:Rho GTPase binding; C:nucleus; P:neural tube closure
BJARALL3103	584	15,1539653	2	geranylgeranyl transferase type-1 subunit beta isoform 2	F:CAAX-protein geranylgeranyltransferase activity; F:drug binding; F:peptide binding; P:positive regulation of cell cycle; P:response to protein stimulus; F:zinc ion binding; P:negative regulation of nitric-oxide synthase 2 biosynthetic process; C:CAAX-protein geranylgeranyltransferase complex; F:protein binding; P:response to cytokine stimulus; P:positive regulation of cell proliferation; P:protein amino acid geranylgeranylation; F:isoprenoid binding
BJARALL1079	904	9,97534207	1	cytosolic phospholipase a2 zeta-like	C:cytoplasm; F:phospholipase A2 activity; P:lipid catabolic process
BJARALL4824	579	22,6442548	2	proline-rich nuclear receptor coactivator 1	-

BJARALL3319	385	12,4943678	1	homo sapiens protein phosphatase regulatory subunit 13 like transcript variant mrna	-
BJARALL1869	389	10,1596913	1	serine threonine-protein phosphatase 5	P:protein amino acid dephosphorylation; C:cytosol; P:protein heterooligomerization; C:neuron projection; F:signal transducer activity; F:metal ion binding; P:positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade; F:protein serine/threonine phosphatase activity; P:mitosis; C:neuronal cell body; F:protein domain specific binding; P:transcription; P:response to morphine; C:nucleus
BJARALL5159	358	9,57015409	1	palmitoyl-protein thioesterase 1	P:DNA fragmentation involved in apoptosis; C:membrane raft; P:cellular protein catabolic process; P:neuron development; P:regulation of synapse structure and activity; F:palmitoyl-(protein) hydrolase activity; P:cofactor transport; P:neurotransmitter secretion; P:grooming behavior; C:membrane fraction; P:regulation of synaptic plasticity; C:extracellular space; C:lysosome; P:positive regulation of pinocytosis; P:protein transport; P:associative learning; C:Golgi apparatus; C:cytosol; P:negative regulation of neuron apoptosis; C:dendrite; P:lysosomal lumen acidification; P:brain development; C:neuronal cell body; P:visual perception; P:positive regulation of receptor- mediated endocytosis; P:negative regulation of cell growth; P:protein depalmitoylation; C:axon; C:synaptic vesicle; P:cofactor metabolic process; P:regulation of phospholipase A2 activity; P:membrane raft organization; C:nucleus; F:palmitoyl-CoA hydrolase activity; P:sphingolipid catabolic process; P:adult locomotory behavior
BJARALL0188	264	6,75924818	1	preli domain-containing protein mitochondrial-like	P:immune response; C:nucleolus; P:multicellular organismal development; C:mitochondrion
BJAR4Disotig00819	723	17,5142289	2	glucosidase 2 subunit beta-like	P:protein heterooligomerization; F:RNA binding; F:protein binding; C:alpha-glucosidase II complex; F:alpha- glucosidase activity
BJARALL2483	498	10,6175315	1	protein kinase d3	F:protein kinase C activity; F:ATP binding; P:protein amino acid phosphorylation; F:transferase activity; P:auxin biosynthetic process; C:membrane; F:protein serine/threonine kinase activity; F:protein kinase activity; P:intracellular signaling pathway; C:cytoplasm; F:nucleotide binding; F:metal ion binding
BJAR4Disotig00682	836	9,49667882	1	protein arginine methyltransferase 1	C:cytoplasm; P:protein amino acid methylation; P:in utero embryonic development; F:N-methyltransferase activity; F:protein methyltransferase activity; P:cell surface receptor linked signaling pathway; F:protein binding; C:nucleus
BJARPAisotig00123	680	10,383567	2	cationic trypsin-3-like	C:extracellular space; F:serine-type endopeptidase activity; F:protein binding; P:endothelial cell migration; F:calcium ion binding; P:zymogen activation; P:digestion
BJAR4Disotig00767	757	10,3944741	1	psmd1 protein	P:regulation of protein catabolic process; F:binding; F:enzyme regulator activity
BJAR4Disotig00777	751	9,5887009	1	26s proteasome non-atpase regulatory subunit 4	P:DNA repair; C:proteasome complex; P:negative regulation of ubiquitin-protein ligase activity during mitotic cell cycle; F:zinc ion binding; P:regulation of transcription; P:anaphase-promoting complex-dependent proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process; P:positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity during mitotic cell cycle; F:protein binding; C:cytoplasm; P:fluid transport
BJARALL3687	1435	10,1596913	1	proteasome inhibitor pi31 subunit- like	F:proteasome inhibitor activity; P:negative regulation of ubiquitin-protein ligase activity during mitotic cell cycle; P:anaphase-promoting complex-dependent proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process; P:positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity during mitotic cell cycle; F:protein binding; C:proteasome core complex
BJAR4Disotig01092	576	11,3741831	1	protein tyrosine phosphatase 4a2	C:early endosome; C:plasma membrane; F:protein binding; P:protein amino acid dephosphorylation; F:prenylated protein tyrosine phosphatase activity

BJARALL2044	299	8,9149003	2	tyrosine-protein phosphatase non- receptor type 23	C:cytoplasmic membrane-bounded vesicle; P:protein amino acid dephosphorylation; F:hydrolase activity; F:protein tyrosine phosphatase activity
BJARALL2781	525	9,91537007	1	receptor-type tyrosine-protein phosphatase c-like	-
BJAR4Disotig01468	487	10,8503721	2	phosphotidylinositol phosphatase ptprq-like	-
BJAR4Disotig00637	904	9,91537007	1	glutaminyl-trna synthetase	C:cytosol; F:RNA binding; C:soluble fraction; P:glutamyl-tRNA aminoacylation; F:proline-tRNA ligase activity; P:protein complex assembly; F:ATP binding; F:protein binding; F:glutamate-tRNA ligase activity; P:prolyl-tRNA aminoacylation
BJARALL2870	498	9,09516483	1	ras-related protein rab-11b	P:cellular component movement; F:GTP binding; C:cytoplasmic membrane-bounded vesicle; C:plasma membrane; P:cell cycle; P:small GTPase mediated signal transduction; C:mitochondrion; F:GDP binding; F:GTPase activity; P:protein transport
BJARALL3100	856	5,31446795	1	member ras oncogene family	F:GTP binding; F:protein binding; C:membrane; C:cytosol; P:small GTPase mediated signal transduction; C:mitochondrion; P:autophagy; P:protein transport
BJARALL3759	834	10,8029905	1	ras-related protein rab-7a	C:lysosome; P:small GTPase mediated signal transduction; C:melanosome; C:late endosome; F:protein binding; P:endocytosis; F:GTPase activity; C:phagocytic vesicle; P:protein transport; C:Golgi apparatus; P:bone resorption; F:GTP binding
BJARALL4794	509	9,83652021	1	retinoblastoma binding protein 4	C:ESC/E(Z) complex; F:histone binding; P:cell cycle; P:regulation of transcription; P:DNA replication; P:negative regulation of cell proliferation; C:NuRD complex; F:DNA-dependent ATPase activity; F:histone deacetylase binding; C:Sin3 complex; P:chromatin remodeling
BJARALL4217	1002	15,4617802	1	receptor expression-enhancing protein 3-like	-
BJARALL1227	381	10,3509826	1	btb domain containing isoform cra_b	F:ion channel activity; C:nucleus; F:protein binding
BJAR4Disotig01711	464	13,7057331	1	ring finger protein 146-like	F:zinc ion binding; F:protein binding; F:metal ion binding
BJARALL1792	666	15,1307941	2	rna polymerase ii-associated protein 3-like	F:binding
BJAR4Disotig01575	485	19,7122297	2	ribosomal protein l11	P:induction of apoptosis; C:nucleolus; P:rRNA processing; P:ribosomal large subunit biogenesis; F:rRNA binding; F:structural constituent of ribosome; P:translational elongation; P:protein targeting; P:embryonic development; F:protein binding; C:cytosolic large ribosomal subunit
BJARALL1256	577	8,44329295	1	ribosomal protein I23a	F:structural constituent of ribosome; F:protein binding; C:cytosolic large ribosomal subunit; F:rRNA binding; F:nucleotide binding; P:translational elongation
BJARALL2561	1251	9,0618492	1	ribosomal protein l4	F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; F:protein binding; C:cytosolic large ribosomal subunit; P:translational elongation
BJARALL4516	626	10,076924	1	ribosomal protein s19	F:RNA binding; P:gas transport; C:nucleolus; P:rRNA processing; F:structural constituent of ribosome; P:translational elongation; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:positive regulation of cellular component movement; P:erythrocyte differentiation; P:ribosomal small subunit biogenesis; P:response to extracellular stimulus; F:protein binding

BJARALL3932	553	5,44908554	1	40s ribosomal protein s20	F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; C:small ribosomal subunit; P:translation
BJARALL4163	397	10,4163572	1	probable ribosome biogenesis protein rlp24-like	C:nucleolus; C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; P:ribosome biogenesis; P:translation
BJARALL0156	418	15,2005212	2	sin3a associated protein 130	C:STAGA complex; F:histone acetyltransferase activity; P:histone H3 acetylation; P:mRNA processing; C:small nuclear ribonucleoprotein complex; P:RNA splicing; C:nucleus; F:nucleic acid binding; P:RNA splicing, via transesterification reactions; C:spliceosomal complex; P:protein complex assembly; F:protein binding; F:transcription coactivator activity; P:regulation of transcription
BJARALL2857	423	6,64130156	1	squamous cell carcinoma antigen recognized by t cells	P:spliceosomal snRNP assembly; C:Cajal body; P:mRNA processing; C:nucleus; P:RNA splicing; C:cytoplasm; F:molecular_function; C:nucleoplasm; P:induction of apoptosis by intracellular signals; C:spliceosomal complex; C:cytosol; P:positive regulation of cytotoxic T cell differentiation; P:cell cycle arrest
BJAR4Disotig01855	324	28,544825	3	ribosome maturation protein sbds	P:leukocyte chemotaxis; F:rRNA binding; P:rRNA processing; C:cytoplasm; P:learning; C:nucleolus; C:spindle pole; P:bone marrow development; F:microtubule binding; P:bone mineralization; P:mitotic spindle stabilization; P:exocrine pancreas development; P:hemopoiesis; P:ribosome biogenesis; P:cell migration
BJARALL3576	1096	20,7019651	2	stromal cell-derived factor 2-like 1	C:membrane; C:endoplasmic reticulum
BJARALL0563	668	9,73970407	1	protein transport protein sec24d-like	C:COPII vesicle coat; P:ER to Golgi vesicle-mediated transport; F:zinc ion binding; P:intracellular protein transport; F:protein binding; C:membrane; C:Golgi membrane; P:cellular membrane organization; C:cytoplasm; C:Golgi apparatus; F:molecular_function; C:perinuclear region of cytoplasm; C:endoplasmic reticulum membrane; C:endoplasmic reticulum; P:vesicle-mediated transport; P:biological_process; C:cellular_component; P:transport
BJARALL1543	380	7,74298852	1	protein transport protein sec31a isoform 4	P:protein transport; C:membrane; P:cellular membrane organization; C:cytoplasm; C:COPII vesicle coat; F:calcium- dependent protein binding; C:perinuclear region of cytoplasm; C:cytoplasmic vesicle; P:ER to Golgi vesicle-mediated transport; C:endoplasmic reticulum membrane; P:response to calcium ion; C:intracellular membrane-bounded organelle; F:protein binding; C:endoplasmic reticulum; P:vesicle-mediated transport; P:transport; F:molecular function; P:biological process; C:ER to Golgi transport vesicle membrane
BJAR4Disotig01133	563	9,35306175	1	anolis carolinensis selenoprotein k- transcript variant 2 mrna	
BJARALL0903	458	7,24417228	1	sema immunoglobulin domain transmembrane domain and short cytoplasmic 4g	F:receptor activity; P:multicellular organismal development; C:membrane; P:nervous system development; C:integral to membrane
BJARALL2936	656	19,1033578	2	homo sapiens septin 7 transcript variant mrna	-
BJAR4Disotig01853	332	9,49667882	1	gallus gallus set translocation (myeloid leukemia-associated) mrna	-
BJARALL5038	679	12,2773441	1	splicing factor 3b subunit 3	P:mRNA processing; C:small nuclear ribonucleoprotein complex; P:RNA splicing; C:nucleus; F:nucleic acid binding; P:RNA splicing, via transesterification reactions; P:protein complex assembly; C:spliceosomal complex; F:protein binding
BJARALL4664	430	9,91537007	1	sid1 transmembrane member isoform cra_f	C:integral to membrane; F:molecular_function; C:membrane; P:biological_process; C:cellular_component

BJARALL1823	391	6,44240842	1	nucleotide exchange factor sil1-like	F:binding; F:unfolded protein binding; C:endoplasmic reticulum lumen; P:protein folding; C:endoplasmic reticulum; P:intracellular protein transport; P:transmembrane transport
BJARALL1682	426	9,72056909	1	excitatory amino acid transporter 4	F:sodium:dicarboxylate symporter activity; P:dicarboxylic acid transport
BJAR4Disotig00305	1080	9,93528045	1	solute carrier family 31 (copper transporters) member 2	C:integral to plasma membrane; P:transport
BJARALL0321	432	10,6175315	1	udp-xylose and udp-n- acetylglucosamine transporter	C:Golgi membrane; F:UDP-xylose transmembrane transporter activity; P:UDP-xylose transport; P:transmembrane transport; P:UDP-N-acetylglucosamine transport; C:integral to membrane; F:UDP-N-acetylglucosamine transmembrane transporter activity
BJARALL4974	1024	10,3726827	1	amino acid transporter	C:integral to membrane; P:amino acid transport; P:sodium ion transport
BJARALL4611	701	7,37372528	1	zinc transporter zip4	C:cytoplasmic membrane-bounded vesicle; C:integral to membrane; P:metal ion transport; C:endosome; P:ion transport; C:recycling endosome membrane; P:zinc ion transport; C:apical plasma membrane; F:metal ion transmembrane transporter activity; P:transmembrane transport; P:cellular zinc ion homeostasis; F:zinc ion transmembrane transporter activity; C:plasma membrane
BJAR4Disotig01277	520	9,40640621	1	solute carrier family member partial	C:cytoplasm; F:SH3/SH2 adaptor activity; F:Rho guanyl-nucleotide exchange factor activity; F:calcium ion binding; P:regulation of Rho protein signal transduction; P:endocytosis
BJARALL0597	472	11,7245727	1	low quality protein: protein smg5-like	C:cytoplasm; F:protein phosphatase 2A binding; P:nuclear-transcribed mRNA catabolic process, nonsense-mediated decay; P:mRNA export from nucleus; P:regulation of dephosphorylation; C:nucleus
BJAR4Disotig01002	617	10,7794546	1	u5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kda helicase-like	F:helicase activity; P:mRNA processing; P:cis assembly of pre-catalytic spliceosome; C:nucleus; F:hydrolase activity; P:RNA splicing; F:nucleic acid binding; F:nucleotide binding; F:ATP binding; F:ATP-dependent helicase activity; C:U5 snRNP; C:spliceosomal complex; F:protein binding; F:molecular_function; P:biological_process; C:ribonucleoprotein complex; P:auxin biosynthetic process; C:cellular_component; F:nucleoside-triphosphatase activity
BJAR4Disotig01652	473	9,04528275	1	u11 u12 small nuclear ribonucleoprotein 25 kda protein	P:RNA splicing; F:nucleic acid binding; C:U12-type spliceosomal complex; P:mRNA processing
BJAR4Disotig00627	930	9,97534207	1	signal peptidase complex subunit 3	C:microsome; F:peptidase activity; P:signal peptide processing; C:integral to membrane; C:signal peptidase complex
BJARALL4659	822	23,504844	2	sam pointed domain containing ets transcription factor	F:sequence-specific DNA binding; F:protein binding; P:multicellular organismal development; F:transcription factor activity; C:nucleus; P:regulation of transcription, DNA-dependent
BJARALL4583	574	6,49313604	1	signal recognition particle 72 kda	C:nucleolus; P:SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane
BJAR4Disotig00942	654	20,4453292	2	double-stranded rna-binding protein staufen homolog 1-like isoform 2	F:double-stranded RNA binding; C:microtubule associated complex; C:neuron projection; C:rough endoplasmic reticulum; F:protein phosphatase 1 binding; C:neuronal cell body
BJARALL1306	465	18,7061235	2	interleukin enhancer-binding factor 3- like isoform 1	C:mitochondrion; F:transcription repressor activity; F:DNA binding; F:double-stranded RNA binding; F:transcription activator activity; F:protein binding; C:ribonucleoprotein complex; P:negative regulation of transcription, DNA-dependent; P:positive regulation of transcription, DNA-dependent; C:nucleus
BJARALL2752	608	9,66361263	1	calmodulin binding protein isoform cra_b	C:protein complex; C:dendrite; F:protein complex binding; P:negative regulation of estrogen receptor signaling pathway; C:neuronal cell body; P:response to estradiol stimulus; P:negative regulation of transcription; C:cytoplasm; C:membrane
BJAR4Disotig00420	2302	9,21372377	1	dolichyl-diphosphooligosaccharide	F:protein binding; C:oligosaccharyltransferase complex; C:integral to membrane; F:dolichyl-

				protein glycosyltransferase subunit stt3b-like	diphosphooligosaccharide-protein glycotransferase activity; P:protein amino acid N-linked glycosylation via asparagine
BJAR4Disotig01470	496	11,3221274	1	syntaxin 5	F:protein binding; C:membrane; P:vesicle-mediated transport
BJARALL0921	423	7,87861412	1	supt16h protein	P:DNA repair; P:regulation of transcription; P:DNA replication; F:positive transcription elongation factor activity; C:chromosome; C:nucleoplasm; P:transcription from RNA polymerase II promoter; P:nucleosome disassembly
BJARALL2387	494	12,4315821	1	syncrip protein	C:spliceosomal complex; C:CRD-mediated mRNA stability complex; P:CRD-mediated mRNA stabilization; P:RNA splicing; C:histone pre-mRNA 3'end processing complex; C:microsome; F:poly(A) RNA binding; F:protein binding; F:nucleotide binding; P:interspecies interaction between organisms; P:mRNA processing; C:nucleoplasm; C:endoplasmic reticulum
BJAR4Disotig00452	1623	10,1596913	1	e3 ubiquitin-protein ligase synoviolin	F:zinc ion binding; P:ER-associated protein catabolic process; C:nucleolus; C:integral to membrane; P:anti-apoptosis; F:ubiquitin-protein ligase activity; F:protein binding; C:ubiquitin ligase complex; P:response to unfolded protein; C:endoplasmic reticulum membrane; P:in utero embryonic development
BJARALL2092	399	10,6863276	1	uncharacterized protein kiaa0467-like	-
BJARALL2450	329	32,1283745	3	dyt3 protein	F:p53 binding; P:G1 phase of mitotic cell cycle; P:RNA polymerase II transcriptional preinitiation complex assembly; F:histone acetyltransferase activity; P:peptidyl-threonine phosphorylation; P:response to DNA damage stimulus; F:TATA-binding protein binding; P:protein amino acid autophosphorylation; P:positive regulation of gene-specific transcription from RNA polymerase II promoter; P:positive regulation of transcription initiation from RNA polymerase II promoter; C:nucleolus; P:regulation of transcription involved in G2/M-phase of mitotic cell cycle; P:positive regulation of proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process; P:peptidyl-serine phosphorylation; F:protein serine/threonine kinase activity; F:transcription coactivator activity; P:RNA elongation from RNA polymerase II promoter; C:transcription factor TFIID complex; F:transcription initiation factor activity; F:promoter binding; F:ATP binding; F:histone acetyl-lysine binding; P:interspecies interaction between organisms; C:MLL1 complex
BJARALL4293	582	11,3480956	1	tbc1 domain family member 8b-like	P:regulation of Rab GTPase activity; C:intracellular; F:Rab GTPase activator activity; F:GTPase activator activity
BJARALL0616	590	10,076924	1	transcription elongation factor b polypeptide 2-like	F:translation elongation factor activity
BJARALL4603	682	56,0509437	11	thap domain-containing protein 5-like	F:metal ion binding; F:DNA binding; C:nucleus; F:protease binding; P:negative regulation of cell cycle
BJARALL0553	390	7,69482063	1	tight junction protein zo-1	C:cytoplasm; C:basolateral plasma membrane; C:tight junction; P:cell-cell junction assembly; F:protein domain specific binding; P:blastocyst formation; C:cell-cell adherens junction; C:nucleus; C:intercellular canaliculus
BJAR4Disotig01085	578	10,5947959	1	transmembrane 9 superfamily member 2-like	C:integral to membrane
BJARALL3230	685	12,7192022	2	transmembrane protein 144-like	-
BJARALL3654	419	14,5095885	1	transmembrane protein 204	C:adherens junction; C:integral to membrane; P:response to stress
BJARALL4169	621	11,5332626	1	triosephosphate isomerase	C:cytosol; P:fatty acid biosynthetic process; C:soluble fraction; P:pentose-phosphate shunt; P:glyceraldehyde-3- phosphate metabolic process; P:embryonic development; F:triose-phosphate isomerase activity; F:protein binding; P:glycolysis; P:gluconeogenesis; C:nucleus

BJAR4Disotig01512	490	10,2438295	1	tnf receptor-associated protein 1	F:unfolded protein binding; C:mitochondrion; F:ATP binding; P:response to stress; C:cytoplasm; P:protein folding; P:cellular response to oxidative stress; F:receptor activity; F:molecular_function; F:nucleotide binding; P:biological process
BJAR4Disotig00488	1326	40,4725535	4	tetraspanin 13	C:integral to membrane
BJARALL3250	514	10,3509826	1	tetratricopeptide repeat domain 28	F:binding
BJARALL1032	1133	10,0871961	2	tetratricopeptide repeat protein 39a- like	P:biological_process; C:cellular_component
BJARALL2753	431	8,20525649	1	ubiquitin-like modifier activating enzyme 1	P:cell death; F:ATP binding; F:small protein activating enzyme activity; F:protein binding; P:protein modification process; F:ligase activity
BJAR4Disotig01370	509	17,4524503	2	ubiquitin a-52 residue ribosomal protein fusion product 1	P:axon guidance; P:ER-associated protein catabolic process; C:nucleoplasm; F:transcription regulator activity; P:positive regulation of transcription; F:protein binding; P:regulation of synaptic plasticity; P:translational elongation; P:induction of apoptosis by extracellular signals; P:anti-apoptosis; P:positive regulation of ubiquitin- protein ligase activity during mitotic cell cycle; F:structural constituent of ribosome; P:long-term strengthening of neuromuscular junction; P:anaphase-promoting complex-dependent proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:endosome membrane; P:negative regulation of ubiquitin-protein ligase activity during mitotic cell cycle; C:cytosolic small ribosomal subunit
BJAR4Disotig00769	755	22,354381	3	ubiquitin-conjugating enzyme e2 d2	F:protein binding; P:protein ubiquitination; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; F:ATP binding; F:ubiquitin-protein ligase activity; P:regulation of protein metabolic process
BJARALL1565	919	9,16253642	1	ubiquitin-conjugating enzyme e2-like	F:binding; P:oxidation reduction; F:oxidoreductase activity, acting on the CH-OH group of donors, NAD or NADP as acceptor; P:glycolysis; P:regulation of protein metabolic process; P:post-translational protein modification; F:small conjugating protein ligase activity; P:protein transport
BJARALL4969	1044	16,8865859	2	ubiquilin 1	P:apoptosis; C:proteasome complex; P:response to hypoxia; C:nucleus; C:endoplasmic reticulum; P:regulation of protein ubiquitination; F:kinase binding; C:perinuclear region of cytoplasm
BJARALL1954	524	8,48674042	1	anolis carolinensis ubiquitin protein ligase e3 component n-recognin 5 mrna	
BJAR4Disotig01577	484	11,2449311	1	ubx domain containing 2	C:endoplasmic reticulum membrane; P:response to unfolded protein; C:integral to membrane; C:membrane; C:endoplasmic reticulum; F:protein binding; C:nuclear envelope; C:nucleus
BJAR4Disotig00349	468	11,7245727	1	e3 ufm1-protein ligase 1-like	F:ligase activity; P:protein ufmylation; F:UFM1 conjugating enzyme activity; C:endoplasmic reticulum; F:protein binding
BJARALL2103	600	4,06554615	1	cytochrome b-c1 complex subunit mitochondrial-like	F:ubiquinol-cytochrome-c reductase activity; F:zinc ion binding; C:mitochondrial respiratory chain complex III; F:protein complex binding; F:metalloendopeptidase activity; P:proteolysis
BJARALL3693	471	9,13715543	4	usp6 n-terminal like	F:GTPase activator activity; P:regulation of Rab GTPase activity; F:molecular_function; P:biological_process; C:cellular_component; F:Rab GTPase activator activity; C:intracellular
BJARALL0032	385	10,5048188	1	ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 7-like	F:cysteine-type peptidase activity; F:peptidase activity; F:ubiquitin-specific protease activity; F:ubiquitin thiolesterase activity; P:protein deubiquitination; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:nucleus; P:interspecies interaction between organisms; F:cysteine-type endopeptidase activity; F:p53 binding; F:protein C-

					terminus binding; F:protein binding; F:protein homodimerization activity; P:induction of apoptosis; C:cytoplasm; P:regulation of protein stability
BJARALL0808	565	6,95888842	1	vesicle-associated membrane associated protein a	C:tight junction; C:integral to membrane; C:microtubule; C:membrane fraction; P:positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade; C:vesicle; C:perinuclear region of cytoplasm; F:protein heterodimerization activity; F:structural molecule activity; C:endoplasmic reticulum membrane
BJAR4Disotig00494	1298	18,884617	2	vanin 1	F:pantetheine hydrolase activity; P:pantothenate metabolic process; P:cellular component movement
BJARALL2191	591	5,89020198	1	uncharacterized protein c3orf21 homolog	C:integral to membrane; C:membrane; F:transferase activity, transferring glycosyl groups; P:biological_process; C:cellular_component
BJAR4Disotig00616	954	13,574128	2	protein yif1a-like	P:protein transport; C:integral to membrane; C:endoplasmic reticulum; C:Golgi apparatus; P:vesicle-mediated transport
BJAR4Disotig00466	1492	19,3272253	2	tyrosine 3-monooxygenase tryptophan 5-monooxygenase activation theta polypeptide	F:protein N-terminus binding; C:protein complex; C:soluble fraction; P:small GTPase mediated signal transduction; F:monooxygenase activity; P:protein targeting; F:protein domain specific binding; P:signal transduction; P:negative regulation of transcription, DNA-dependent; C:cytoplasm
BJARALL2144	475	5,93257754	1	zinc finger mym-type protein 2-like	-
BJARALL1238	439	33,8116378	3	zinc finger protein 167-like	-
BJAR4Disotig01377	507	8,51595467	1	zinc finger protein 208-like	-
BJAR4Disotig00808	720	11,4531705	1	zinc finger protein 224- partial	-
BJARALL4606	797	10,5271695	1	zinc finger protein 436-like	F:nucleic acid binding; C:intracellular; F:zinc ion binding
BJARALL3669	512	23,0128822	2	znf638 protein	C:cytoplasm; P:RNA splicing; C:nucleoplasm; F:double-stranded DNA binding
BJAR4Disotig00165	576	18,8486463	2	agkistrodon piscivorus leucostoma metalloproteinase vmp-iii complete cds	-
BJARALL2217	1240	13,0548012	2	hypothetical protein Bm1_04940 [Brugia malayi]	•
BJARALL3974	494	9,75891453	1	hypothetical protein TATV_DAH68_216 [Taterapox virus]	-
BJARALL2523	480	7,76729932	1	loc100158555 protein	-
BJAR4Disotig01077	588	8,63485107	1	mus musculus 0 day neonate head riken full-length enriched clone:4831429j10 product: full insert sequence	-
BJARALL4205	196	13,6302195	2	mus musculus 4 days neonate male adipose riken full-length enriched clone:b430214e22 product: full insert sequence	-

BJAR4Disotig01033	607	10,2650823	1	PREDICTED: hypothetical protein LOC100491494 [Xenopus (Silurana) tropicalis]	-
BJARALL0973	354	5,43114124	1	PREDICTED: similar to Y56A3A.9, partial [Strongylocentrotus purpuratus]	-
BJARALL2163	530	6,96868967	1	protein archease-like	
BJAR4Disotig01363	509	11,9511345	1	rhabdophis tigrinus mitochondrial uncoupling protein a complete cds nuclear gene for mitochondrial product	-
BJARALL1381	528	11,5872826	1	rna-binding protein 5-like	-
BJARALL4634	399	36,3272369	5	uncharacterized protein mitochondrial-like	F:catalytic activity; P:metabolic process
BJAR4Disotig00233	377	10,5496155	1	xenopus tropicalis oocyte zinc finger mrna	-

Apêndice 4: Tabela de genes "exclusivos" da glândula de veneno tratada com reserpina (4dR) e anotação dos termos do Gene Ontology

(GO). Análise por RNA-seq.

Seq. Name	Seq. Length	Reserpin expression	Reserpin reads	Seq. Description	GOs
BJARALL0402	534	9,98653563	2	25-hydroxycholesterol 7-alpha- hydroxylase-like	F:RNA binding; P:RNA-dependent DNA replication; F:signal transducer activity; P:cell surface receptor linked signaling pathway; F:endonuclease activity; C:nucleus; F:RNA-directed DNA polymerase activity
BJARALL0830	494	2,89181805	1	3 -phosphoadenosine 5 - phosphosulfate synthase 1	P:3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate biosynthetic process; P:skeletal system development; F:sulfate adenylyltransferase (ATP) activity; F:ATP binding; P:sulfate assimilation; F:adenylylsulfate kinase activity
BJAR4Disotig01709	458	6,55234722	1	39s ribosomal protein mitochondrial- like	F:structural constituent of ribosome; P:translation; C:ribosome; C:intracellular; C:mitochondrion
BJARALL0251	689	13,1602228	2	3-oxoacid transferase 1	C:mitochondrion; P:ketone body catabolic process; F:transferase activity; P:metabolic process; P:cellular ketone body metabolic process; F:3-oxoacid CoA-transferase activity; F:CoA-transferase

					activity
BJARALL2268	587	14,8603473	2	40s ribosomal protein s27	P:cell proliferation; F:DNA binding; F:structural constituent of ribosome; F:protein binding; C:cytosolic
BJARALL3332	1738	7,25092431	3	40s ribosomal protein s2-like isoform 2	C:nucleolus; C:nucleoplasm; F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; F:fibroblast growth factor 3 binding; F:fibroblast growth factor 1 binding; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:translational elongation
BJARALL1122	1053	4,92204846	1	60s acidic ribosomal protein p0 isoform 2	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; F:protein binding; P:ribosome biogenesis; P:translational elongation
BJARALL3184	391	13,8036115	4	60s acidic ribosomal protein p1-like	F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; F:protein binding; C:cytosolic large ribosomal subunit; P:translational elongation
BJARALL1473	517	7,13979904	1	a chain crystal structure of chk2 in complex with an inhibitor	P:response to gamma radiation; F:protein serine/threonine kinase activity; P:senescence; F:metal ion binding; C:chromosome, telomeric region; F:ATP binding; C:PML body; F:protein binding; P:DNA damage checkpoint; P:DNA damage response, signal transduction resulting in induction of apoptosis; P:protein amino acid phosphorylation
BJARALL0909	804	4,59439731	1	a kinase anchor protein 1	F:protein binding; C:membrane; P:regulation of biological process; P:cellular process; C:mitochondrial part
BJARALL0651	816	3,96655502	1	acetyl- carboxylase 1-like	F:acetyl-CoA carboxylase activity; P:fatty acid biosynthetic process; P:tissue homeostasis; C:soluble fraction; C:mitochondrion; F:metal ion binding; P:acetyl-CoA metabolic process; F:biotin binding; F:ATP binding; F:protein binding; P:response to organic cyclic substance; F:biotin carboxylase activity; P:response to drug; P:lipid homeostasis; P:multicellular organismal protein metabolic process
BJARALL2474	522	16,0714752	4	acetyl-coenzyme a synthetase 2- mitochondrial-like	F:acetate-CoA ligase activity; F:AMP binding
BJAR4Disotig01131	563	6,5801114	1	achain crystal structure of the catalytic fragment of murine poly (adp-ribose) polymerase-2	F:NAD+ ADP-ribosyltransferase activity; P:protein amino acid ADP-ribosylation; F:transferase activity; C:nucleus; F:transferase activity, transferring glycosyl groups; P:base-excision repair; P:DNA repair; C:nucleoplasm; C:nucleolus; F:protein binding
BJARALL2126	483	5,84898791	1	achain peptide-in-groove interactions link target proteins to the b-propeller of clathrin	C:T-tubule; P:vesicle-mediated transport; F:peptide binding; F:heat shock protein binding; C:clathrin coat of coated pit; C:mitochondrion; C:clathrin coat of trans-Golgi network vesicle; F:ankyrin binding; C:membrane fraction; C:melanosome; P:Golgi organization; P:intracellular protein transport; F:structural molecule activity
BJARALL0770	337	3,94138652	1	adenylosuccinate synthetase isozyme 2	C:cytoplasm; F:adenylosuccinate synthase activity; P:purine nucleotide biosynthetic process; F:GTP binding; F:magnesium ion binding
BJARALL0172	897	5,75150478	1	adp-dependent glucokinase	F:metal ion binding; F:ADP-specific glucokinase activity; P:glycolysis; C:extracellular region
BJARALL1794	423	5,87110129	1	a-kinase anchor protein 9-like	P:transport; F:receptor binding; C:cytoplasm; C:Golgi apparatus; C:centrosome; P:signal transduction; P:synaptic transmission; F:protein binding; C:intracellular membrane-bounded organelle; C:cytosol; C:cytoskeleton
BJAR4Disotig00826	717	7,07474392	1	akt interacting protein	C:FHF complex; C:HOPS complex; P:apoptosis; P:positive regulation of protein amino acid phosphorylation; P:endosome to lysosome transport; P:positive regulation of protein binding;
					F:protein binding; P:early endosome to late endosome transport; F:small conjugating protein ligase activity; P:endosome organization; P:lysosome organization; P:protein transport; C:plasma membrane
-------------------	-----	------------	---	------------------------------------	--
BJAR4Disotig01839	386	5,1763543	1	aldehyde dehydrogenase 9 member a1	P:oxidation reduction; F:oxidoreductase activity; P:cellular aldehyde metabolic process; C:mitochondrion; C:nucleus; F:4-trimethylammoniobutyraldehyde dehydrogenase activity; F:aldehyde dehydrogenase (NAD) activity; C:cytoplasm; P:neurotransmitter biosynthetic process; P:carnitine metabolic process; F:aminobutyraldehyde dehydrogenase activity; C:cytosol; C:cytoskeleton
BJARALL1130	311	6,66483387	1	amyloid beta a4 protein	P:visual learning; P:regulation of epidermal growth factor receptor activity; C:perinuclear region of cytoplasm; P:collateral sprouting in the absence of injury; C:plasma membrane; P:smooth endoplasmic reticulum calcium ion homeostasis; C:apical part of cell; C:integral to membrane; P:endocytosis; P:regulation of multicellular organism growth; P:neuron apoptosis; P:positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; P:axon cargo transport; P:adult locomotory behavior; P:regulation of translation; P:regulation of synapse structure and activity; F:serine-type endopeptidase inhibitor activity; P:mRNA polyadenylation; P:mating behavior; F:identical protein binding; C:cytoplasmic vesicle; C:spindle midzone; F:binding; P:positive regulation of mitotic cell cycle; P:protein amino acid phosphorylation; P:ionotropic glutamate receptor signaling pathway; C:cell surface; C:dendritic shaft; C:dendritic spine; C:axon; C:neuromuscular junction; P:extracellular matrix organization; P:neuromuscular process controlling balance; P:axon midline choice point recognition; P:dendrite development; P:forebrain development; P:neuron remodeling; P:cellular copper ion homeostasis; F:DNA binding; C:cytoplasm; P:synaptic growth at neuromuscular junction; C:Golgi apparatus; F:acetylcholine receptor binding; P:axonogenesis; P:suckling behavior; P:G2 phase of mitotic cell cycle; C:ciliary rootlet; P:locomotory behavior; F:protein binding; P:neuron projection development; F:metal ion binding; P:Notch signaling pathway
BJARALL4910	920	1,55368313	1	anionic trypsin-2 precursor	C:extracellular space; F:serine-type endopeptidase activity; P:response to nutrient; F:protein binding; P:response to caffeine; P:response to nicotine; F:calcium ion binding; P:collagen catabolic process; P:proteolysis; P:digestion
BJARALL1970	747	5,84898791	1	ankyrin repeat domain 13a	F:molecular_function; P:biological_process
BJAR4Disotig01301	520	12,1320804	2	annexin a2	F:cytoskeletal protein binding; P:angiogenesis; F:Rab GTPase binding; C:protein complex; C:soluble fraction; F:calcium ion binding; P:fibrinolysis; F:calcium-dependent phospholipid binding; C:basement membrane; P:skeletal system development; F:phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate binding; P:body fluid secretion; C:melanosome; C:early endosome; P:collagen fibril organization; C:perinuclear region of cytoplasm; C:sarcolemma; F:phospholipase inhibitor activity; P:positive regulation of vesicle fusion
BJARALL3616	793	6,13796953	1	annexin a6-like	P:calcium ion transport; P:regulation of muscle contraction; F:protein binding; C:melanosome; F:calcium ion binding: F:calcium-dependent phospholipid binding: C:perinuclear region of cytoplasm
BJARALL3190	829	5,28199419	1	annexin a6-like	C:perinuclear region of cytoplasm; P:regulation of muscle contraction; F:calcium ion binding; C:cytoplasm; P:calcium ion transport; F:calcium-dependent phospholipid binding; C:melanosome;

					F:protein binding; C:protein complex; C:apical plasma membrane
BJARALL3463	582	4,06519971	1	anolis carolinensis 40s ribosomal protein s29-like mrna	-
BJAR4Disotig00368	464	7,77424926	2	anolis carolinensis calpain (mu i) large subunit mrna	-
BJARALL4220	503	5,1506013	1	anolis carolinensis cold-inducible rna- binding mrna	-
BJARALL3286	445	9,9545275	2	anolis carolinensis lysophosphatidylcholine acyltransferase 2 mrna	-
BJARALL0716	452	12,3614431	4	anolis carolinensis plasma membrane calcium-transporting atpase 1- transcript variant 2 mrna	-
BJARALL0514	684	6,24911988	1	anolis carolinensis polypyrimidine tract-binding protein 2-like mrna	-
BJAR4Disotig00863	694	5,43925146	1	anolis carolinensis proline-rich protein prcc-like mrna	-
BJARALL3064	597	7,29063986	1	anolis carolinensis protein btg1-like mrna	-
BJARALL4784	586	14,9677715	2	anolis carolinensis reticulon-4-like partial mrna	-
BJARALL2858	474	4,76351623	1	anolis carolinensis serine threonine- protein kinase b-raf- transcript variant 2 mrna	-
BJARALL3124	402	4,02307329	1	anolis carolinensis uncharacterized protein kiaa1467 homolog mrna	-
BJARALL2242	523	5,73028152	1	ap-1 complex-associated regulatory isoform 1	C:early endosome; P:protein transport; C:Golgi apparatus; C:late endosome; C:transport vesicle
BJARALL0626	420	5,516541	1	ap-4 complex subunit epsilon-1-like	C:membrane coat; F:binding; P:vesicle-mediated transport; C:COPI vesicle coat; F:structural molecule activity; P:intracellular protein transport; F:protein binding
BJAR4Disotig01000	625	8,77348187	1	apurinic apyrimidinic endonuclease 1	F:endonuclease activity; P:heart looping; F:oxidoreductase activity; F:DNA binding; C:intracellular; P:heart contraction; P:negative regulation of apoptosis; P:DNA repair
BJARALL1448	481	13,022275	2	arf-gap with coiled- ank repeat and ph domain-containing protein 2	F:metal ion binding; F:ARF GTPase activator activity; P:regulation of ARF GTPase activity; F:zinc ion binding; F:GTPase activator activity; C:ruffle; P:actin filament-based process
BJARALL3898	529	13,3011245	2	ash1 (or homeotic)-like	F:transferase activity; F:RNA polymerase II transcription factor activity; F:methyltransferase activity; P:transcription from RNA polymerase II promoter; F:DNA binding; C:nucleus; C:tight junction; C:cell junction; F:zinc ion binding; F:histone-lysine N-methyltransferase activity; P:chromatin modification; P:cell-cell signaling; F:protein binding; P:DNA packaging; F:metal ion binding; P:regulation of

					transcription
BJARALL1707	450	8,89917645	2	asparagine synthetase	F:asparagine synthase (glutamine-hydrolyzing) activity; P:asparagine biosynthetic process
BJARALL4301	502	6,72253805	1	aspergillus niger cbs glutamate mrna	-
BJAR4Disotig00475	1429	6,16844604	2	atpase 6	F:hydrogen ion transmembrane transporter activity; C:mitochondrial inner membrane; P:ATP synthesis coupled proton transport; C:proton-transporting ATP synthase complex, coupling factor F(o)
BJAR4Disotig01107	572	32,8078794	3	b-cell translocation gene anti- proliferative	P:positive regulation of endothelial cell differentiation; P:positive regulation of catalytic activity; F:transcription cofactor activity; P:positive regulation of angiogenesis; C:cytoplasm; P:negative regulation of cell proliferation; P:response to peptide hormone stimulus; P:spermatid development; P:negative regulation of cell growth; P:protein amino acid methylation; P:regulation of transcription; P:positive regulation of myoblast differentiation; P:regulation of apoptosis; C:nucleus; P:cell migration; F:kinase binding; P:response to oxidative stress
BJARPAisotig00051	1626	1,67068993	1	bile salt-activated lipase-like	F:hydrolase activity
BJARALL5190	371	4,69865746	1	bos taurus la ribonucleoprotein domain member 1 mrna	
BJARALL3508	279	21,1279767	3	bos taurus nuclear mitotic apparatus protein 1 mrna	-
BJARALL4920	580	10,7096986	2	brd2-a-prov protein	-
BJARALL1225	412	8,15173906	1	bromodomain adjacent to zinc finger 2a	F:histone acetyl-lysine binding; P:histone deacetylation; C:nucleus; F:DNA binding; P:DNA methylation; F:RNA binding; F:zinc ion binding; P:chromatin modification; C:nucleolus; C:rDNA heterochromatin; F:protein binding; C:chromatin silencing complex; P:chromatin silencing at rDNA; F:metal ion binding; P:transcription
BJARALL0281	475	3,60303084	1	calumenin	C:Golgi apparatus; F:protein binding; C:melanosome; F:calcium ion binding; C:sarcoplasmic reticulum Iumen; C:extracellular region
BJARPAisotig00052	1007	5,08316298	3	carboxyl ester lipase	F:hydrolase activity
BJARPAisotig00088	1583	1,7130792	1	carboxypeptidase a1	C:soluble fraction; C:extracellular space; F:metallocarboxypeptidase activity; F:zinc ion binding; P:proteolysis involved in cellular protein catabolic process
BJARALL1062	858	3,47406329	1	catenin (cadherin-associated protein) delta 1	P:Wnt receptor signaling pathway; P:cell-cell adhesion; P:salivary gland morphogenesis; P:regulation of transcription; C:membrane fraction; P:epithelial cell differentiation involved in salivary gland development; F:cadherin binding; P:morphogenesis of a polarized epithelium; C:lamellipodium; C:cytoplasm; F:RPTP-like protein binding; C:nucleus; C:plasma membrane
BJARALL1933	410	4,06519971	1	cathepsin I	F:cysteine-type endopeptidase activity; P:proteolysis
BJAR4Disotig00764	762	6,04243693	1	ccaat enhancer-binding protein delta- like	F:promoter binding; P:positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; F:specific RNA polymerase II transcription factor activity; F:protein homodimerization activity; C:nucleus

BJAR4Disotig00540	1130	8,50907557	1	cdk5 regulatory subunit-associated protein 3-like	P:cell proliferation; F:neuronal Cdc2-like kinase binding; P:regulation of neuron differentiation; P:brain development
BJARALL3883	560	11,8542465	2	cdkn2a interacting protein	F:double-stranded RNA binding; C:granular component; C:nucleoplasm; F:p53 binding; P:negative regulation of cell growth; P:positive regulation of signal transduction; P:regulation of protein stability
BJARALL0312	846	6,52481635	1	cell cycle progression protein 1-like	P:cell cycle; C:integral to membrane; C:membrane
BJARALL1355	522	5,38269078	1	cell division cycle and apoptosis regulator protein 1-like	P:RNA splicing; P:apoptosis; C:Golgi apparatus; F:nucleic acid binding; P:regulation of transcription; P:cell cycle; C:nucleus; C:perinuclear region of cytoplasm
BJARALL2408	831	8,0046716	1	cellular nucleic acid-binding isoform 3	C:cytosol; F:zinc ion binding; F:single-stranded RNA binding; P:positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; F:protein binding; F:transcription factor activity; F:single-stranded DNA binding; P:positive regulation of cell proliferation; P:cholesterol biosynthetic process; C:endoplasmic reticulum; C:nucleus
BJARALL2007	885	4,40540792	1	chloride channel protein 1-like	C:integral to plasma membrane; P:muscle contraction; F:chloride channel activity; P:transport
BJAR4Disotig01309	517	6,05421556	1	chromodomain-helicase-dna-binding protein 1-like	F:helicase activity; F:nucleic acid binding; F:ATP binding; F:chromatin binding; C:chromatin; P:chromatin assembly or disassembly; C:nucleus; F:DNA binding
BJARALL1443	494	7,30779431	1	chromosome 12 open reading frame 65 ortholog	F:translation release factor activity; P:translational termination; F:molecular_function; C:cellular_component
BJARALL0284	424	17,5469637	2	chromosome 6 open reading frame 106	-
BJARPAisotig00120	698	2,17646292	1	chymotrypsinogen 2	F:serine-type endopeptidase activity; F:serine-type peptidase activity; F:hydrolase activity; F:catalytic activity; F:peptidase activity; C:cellular_component; P:proteolysis
BJARPAisotig00112	769	4,27503452	2	chymotrypsinogen b1	C:extracellular space; P:digestion; P:proteolysis; F:serine-type endopeptidase activity
BJARALL0889	345	3,25215977	1	clathrin light chain a isoform 4	F:peptide binding; C:clathrin coat of coated pit; C:clathrin coat of trans-Golgi network vesicle; P:post- Golgi vesicle-mediated transport; F:protein binding; P:endocytosis; P:intracellular protein transport; F:structural molecule activity
BJARALL1876	493	4,99326782	1	cobalamin synthesis protein p47k family protein	-
BJARALL1552	524	15,1873476	2	coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain-containing protein 7	-
BJAR4Disotig01263	526	7,94325468	1	collagen alpha-3 chain-like	 F:extracellular matrix structural constituent; F:binding; C:collagen; P:negative regulation of angiogenesis; P:negative regulation of cell proliferation; P:cell proliferation; C:basement membrane; P:activation of caspase activity; P:induction of apoptosis; C:collagen type IV; P:cell adhesion; F:structural molecule activity; P:sensory perception of sound; P:response to glucose stimulus; P:blood circulation; P:glomerular basement membrane development; F:integrin binding; P:cell surface receptor linked signaling pathway; F:protein binding; C:extracellular region; F:metalloendopeptidase inhibitor activity
BJARALL1038	1070	9,61551883	2	complement component q	P:immune response; C:membrane; C:mitochondrion; F:protein binding

BJARALL1978	785	5,06657844	1	cop9 constitutive photomorphogenic homolog subunit 6	P:interspecies interaction between organisms; C:cytoplasm; F:protein binding; C:signalosome
BJAR4Disotig00333	449	6,21162516	1	cyclin k	P:regulation of transcription; F:protein binding; P:mitosis; P:regulation of cyclin-dependent protein kinase activity; P:transcription from RNA polymerase II promoter; P:cell division
BJARALL2625	877	12,1320804	2	cytochrome b	F:metal ion binding; F:oxidoreductase activity; C:respiratory chain; F:electron carrier activity; P:transport; C:integral to membrane; P:respiratory electron transport chain; C:mitochondrion
BJAR4Disotig00954	646	6,27436885	1	cytochrome b-c1 complex subunit mitochondrial-like	F:metalloendopeptidase activity; F:ubiquinol-cytochrome-c reductase activity; P:proteolysis; F:zinc ion binding
BJARALL3343	540	4,15215586	1	cytochrome c oxidase subunit via polypeptide 1	C:mitochondrial respiratory chain complex IV; F:cytochrome-c oxidase activity
BJARALL5024	589	5,09149604	1	cytochrome c oxydase subunit 4	C:intracellular membrane-bounded organelle; F:cytochrome-c oxidase activity
BJAR4Disotig01863	275	6,00737443	1	danio rerio monoamine mrna (cdna clone image:6793010)	-
BJAR4Disotig00884	691	5,73028152	1	d-beta-hydroxybutyrate mitochondrial-like	F:binding; F:3-hydroxybutyrate dehydrogenase activity; C:mitochondrial inner membrane; C:mitochondrial matrix; P:oxidation reduction
BJARALL1017	448	17,6969378	4	ddb1- and cul4-associated factor 4-like	-
BJARALL4727	483	2,93001187	1	ddb1- and cul4-associated factor 8	F:protein binding; C:CUL4 RING ubiquitin ligase complex
BJARALL2257	351	7,35974545	1	dead (asp-glu-ala-asp) box polypeptide 17	P:RNA processing; C:nucleus; F:hydrolase activity; F:RNA helicase activity; F:nucleotide binding; F:ATP binding; F:RNA binding; F:ATP-dependent helicase activity; F:RNA-dependent ATPase activity; F:nucleic acid binding; F:helicase activity; P:auxin biosynthetic process
BJAR4Disotig01325	514	6,41696814	1	delta-aminolevulinic acid dehydratase isoform 1	F:lead ion binding; P:protein homooligomerization; F:identical protein binding; F:zinc ion binding; F:lyase activity; P:heme biosynthetic process; F:catalytic activity; P:metabolic process; F:porphobilinogen synthase activity; C:cytosol
BJARALL2856	472	4,7489489	1	denn madd domain containing 4c	-
BJARPAisotig00068	575	1,70461722	1	deoxyribonuclease i	P:DNA catabolic process; F:deoxyribonuclease activity
BJAR4Disotig00622	941	10,3527086	2	deoxyribonuclease ii	P:DNA catabolic process; F:DNA binding; C:lysosome; F:deoxyribonuclease II activity; F:protein binding; P:erythrocyte differentiation
BJARALL0964	384	5,90458666	1	dihydrolipoamide s-acetyltransferase (e2 component of pyruvate dehydrogenase complex)	F:dihydrolipoyllysine-residue acetyltransferase activity; P:pyruvate metabolic process; F:acyltransferase activity; P:metabolic process; F:protein binding; C:pyruvate dehydrogenase complex; F:transferase activity; P:sleep; C:mitochondrion; P:glycolysis; C:mitochondrial matrix; F:lipoic acid binding; P:acetyl-CoA biosynthetic process from pyruvate; C:mitochondrial pyruvate dehydrogenase complex
BJARALL4931	446	12,9274197	4	dna-dependent protein kinase catalytic subunit	F:RNA binding; P:RNA-dependent DNA replication; F:RNA-directed DNA polymerase activity; F:transferase activity; F:DNA-dependent protein kinase activity; C:nucleus; F:DNA binding; F:nucleotide binding; F:ATP binding; P:double-strand break repair via nonhomologous end joining; F:kinase activity; P:DNA repair; F:phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor

BJAR4Disotig01026	611	5.59605871	1	dna-dependent protein kinase catalytic	F:RNA binding: P:RNA-dependent DNA replication: F:RNA-directed DNA polymerase activity:
		-,		subunit	F:transferase activity; F:DNA-dependent protein kinase activity; C:nucleus; F:DNA binding; F:nucleotide binding; F:ATP binding; P:double-strand break repair via nonhomologous end joining; F:kinase activity; P:DNA repair; F:phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor
BJARALL1185	781	5,42026629	1	dnaj homolog subfamily c member 1- like	P:negative regulation of proteolysis; P:regulation of protein secretion; F:ATPase activator activity; F:protein binding; C:membrane; C:endoplasmic reticulum
BJAR4Disotig01185	547	6,70801853	1	dolichyl-diphosphooligosaccharide protein glycosyltransferase subunit stt3a	P:protein amino acid glycosylation; F:oligosaccharyl transferase activity; C:membrane; F:transferase activity; C:oligosaccharyltransferase complex; P:protein amino acid N-linked glycosylation via asparagine; C:membrane fraction
BJARALL4557	883	4,60347715	3	dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 5	F:MAP kinase activity; F:MAP kinase kinase activity; C:cytosol; P:auxin biosynthetic process; F:metal ion binding; P:positive regulation of epithelial cell proliferation; P:heart development; P:BMK cascade; F:protein tyrosine kinase activity; F:ATP binding; F:protein binding; P:positive regulation of cell growth; P:signal transduction; C:spindle; C:membrane; C:nucleus; P:protein amino acid phosphorylation
BJAR4Disotig01055	596	13,9901468	1	dual specificity protein kinase clk1-like	C:cytoplasm; P:auxin biosynthetic process; F:non-membrane spanning protein tyrosine kinase activity; P:peptidyl-threonine phosphorylation; P:cell proliferation; P:peptidyl-tyrosine phosphorylation; P:peptidyl-serine phosphorylation; F:ATP binding; C:nucleus; P:protein amino acid autophosphorylation; F:protein serine/threonine kinase activity
BJARALL2555	635	6,43025379	1	dynactin subunit 2-like isoform 2	·
BJARALL0954	545	5,42974228	1	e3 ubiquitin-protein ligase huwe1-like	F:ligase activity; F:DNA binding; C:nucleus; P:histone ubiquitination; C:cytoplasm; P:cell differentiation; P:protein modification process; P:protein polyubiquitination; C:nucleolus; F:ubiquitin- protein ligase activity; F:protein binding; C:intracellular; F:acid-amino acid ligase activity
BJARALL0264	424	4,77083346	1	ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 2	F:hydrolase activity; P:platelet activation; C:integral to membrane; C:membrane; C:basal lamina; F:nucleoside-triphosphatase activity; F:nucleoside-diphosphatase activity; P:purine ribonucleoside diphosphate catabolic process; F:protein binding; P:G-protein coupled receptor protein signaling pathway
BJARPAisotig00032	938	1,6546684	1	elastase pancreatic	C:extracellular region; P:proteolysis; F:serine-type endopeptidase activity; P:cholesterol metabolic process
BJARALL1053	2874	6,5385528	2	elongation factor 2	F:GTP binding; F:translation elongation factor activity; P:translation; F:GTPase activity; C:cytoplasm; F:nucleotide binding; C:ribonucleoprotein complex; F:protein binding
BJARALL1892	489	3,85815227	1	elongation factor 2	F:translation elongation factor activity; F:GTP binding; F:protein binding; C:ribonucleoprotein complex; P:translational elongation; F:GTPase activity
BJAR4Disotig00742	780	11,5030096	2	endoplasmic reticulum resident protein 29-like	P:protein folding; C:endoplasmic reticulum lumen; C:melanosome; P:intracellular protein transport; F:protein disulfide isomerase activity; P:protein secretion
BJARALL1453	413	31,0064484	6	enzymatic poly	P:DNA methylation; F:RNA binding; F:methyltransferase activity; F:site-specific DNA- methyltransferase (adenine-specific) activity; F:transferase activity; P:RNA-dependent DNA replication; F:RNA-directed DNA polymerase activity; F:DNA binding

BJARALL1299	375	6,60811188	1	enzymatic poly	P:DNA methylation; F:RNA binding; F:methyltransferase activity; F:site-specific DNA- methyltransferase (adenine-specific) activity; F:transferase activity; P:RNA-dependent DNA replication; F:RNA-directed DNA polymerase activity; F:DNA binding
BJAR4Disotig00432	1927	11,0135198	2	ero1-like beta (cerevisiae)	C:endoplasmic reticulum membrane; P:protein thiol-disulfide exchange; F:oxidoreductase activity, acting on sulfur group of donors, disulfide as acceptor; P:transport; F:unfolded protein binding; F:FAD binding; P:electron transport chain
BJARALL0825	479	3,78757632	1	eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 1	C:eukaryotic translation initiation factor 2B complex; F:RNA binding; F:protein binding; P:regulation of translational initiation in response to stress; C:eukaryotic translation initiation factor 2 complex; F:translation initiation factor activity; C:nucleus; P:protein amino acid autophosphorylation
BJARALL0120	450	9,24348983	1	eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3-like	P:translational initiation; F:GTP binding; F:protein binding; F:translation initiation factor activity; C:cytosol; F:GTPase activity
BJAR4Disotig00513	1210	6,84099688	1	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit a	-
BJAR4Disotig00419	2317	30,1535202	5	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit b-like	C:eukaryotic translation initiation factor 3 complex; F:RNA binding; P:regulation of translational initiation; F:protein complex scaffold; F:translation initiation factor activity; C:cytosol; F:nucleotide binding
BJAR4Disotig00740	781	6,72253805	1	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit c	C:eukaryotic translation initiation factor 3 complex; P:translational initiation; F:protein binding; F:translation initiation factor activity; C:cytosol; F:ribosome binding
BJARALL2227	528	10,6912653	2	eukaryotic translation initiation factor 3 subunit j-like	P:translation; C:cytoplasm; F:translation initiation factor activity; C:eukaryotic translation initiation factor 3 complex; F:protein binding; F:molecular_function; P:biological_process; C:cellular_component; C:cytosol
BJAR4Disotig01031	606	10,6181627	2	eukaryotic translation initiation factor 4e-binding protein 1-like	F:translation repressor activity; P:insulin receptor signaling pathway; P:negative regulation of translational initiation; C:cytoplasm; F:eukaryotic initiation factor 4E binding
BJAR4Disotig00821	712	22,2240614	4	eukaryotic translation initiation factor 5a	C:ribosome; P:mRNA export from nucleus; F:translation elongation factor activity; P:aging; F:protein N-terminus binding; P:protein export from nucleus; C:endoplasmic reticulum membrane; F:translation initiation factor activity; P:translational frameshifting; F:ribosome binding; C:cytosol; C:nuclear pore; C:dendrite; P:positive regulation of cell proliferation; P:peptidyl-lysine modification to hypusine; C:neuronal cell body; P:induction of apoptosis; F:U6 snRNA binding; C:annulate lamellae; P:transmembrane transport; P:positive regulation of translational termination; P:positive regulation of muscle cell differentiation; P:positive regulation of translational elongation; P:negative regulation of apoptosis
BJARALL3076	759	8,04614658	1	eukaryotic translation initiation factor 5b-like	F:GTP binding; F:GTPase activity; P:translation; C:cytoplasm; P:regulation of translational initiation; F:translation initiation factor activity; F:nucleotide binding; F:protein binding
BJAR4Disotig01447	499	6,33839302	1	extracellular matrix protein 1	P:positive regulation of angiogenesis; P:negative regulation of bone mineralization; F:protease binding; F:molecular_function; F:laminin binding; C:proteinaceous extracellular matrix; C:extracellular region; F:protein C-terminus binding; F:protein binding; F:signal transducer activity; P:positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade; P:positive regulation of endothelial cell proliferation; P:biomineral formation; P:biological_process; P:negative regulation of peptidase

					activity; C:extracellular space
BJARALL0301	498	6,76647621	1	fbxl18 protein	F:molecular_function; P:biological_process
BJARALL2018	757	5,0013085	1	fk506 binding protein 133kda	C:cytoplasm; C:nucleolus
BJARALL1116	471	9,45452841	2	fras1-related extracellular matrix protein 2-like	P:cell communication; F:calcium ion binding; P:homophilic cell adhesion; C:integral to membrane; C:membrane
BJARALL4759	347	3,91653541	1	gallus gallus finished clone 472m2	-
BJARALL4304	476	6,71527045	2	gallus gallus finished clone 966j9	-
BJARALL3453	463	4,60120382	1	gallus gallus hypothetical loc416256 mrna	-
BJARALL1099	1971	5,65207021	2	gamma 1	C:cytosol; C:cortical cytoskeleton; P:auxin biosynthetic process; P:sarcomere organization; C:soluble fraction; C:myofibril; F:identical protein binding; C:NuA4 histone acetyltransferase complex; F:ATP binding; F:nitric-oxide synthase binding; P:cellular component movement; C:filamentous actin; F:structural constituent of cytoskeleton; C:MLL5-L complex; P:response to calcium ion
BJARALL0949	408	4,06519971	1	gata binding protein 4	F:sequence-specific DNA binding; F:transcription factor activity; C:nucleus; P:positive regulation of transcription; F:zinc ion binding; P:regulation of transcription, DNA-dependent; F:transcription activator activity; F:metal ion binding; P:response to retinoic acid; F:DNA binding; F:transcription regulator activity; F:promoter binding; P:positive regulation of gene-specific transcription from RNA polymerase II promoter; P:transcription; P:regulation of transcription
BJARALL0998	514	9,69556477	3	gc-rich promoter binding protein 1-like 1	P:regulation of transcription; F:DNA binding; C:nucleus; P:transcription
BJAR4Disotig00602	972	6,8865024	1	gelsolin precursor	P:vesicle-mediated transport; C:cytosol; C:cytoskeleton; P:actin filament severing; F:actin binding; C:extracellular region; C:lamellipodium; P:actin filament capping
BJAR4Disotig00810	729	6,27436885	1	gelsolin precursor	P:response to folic acid; C:lamellipodium; P:oligodendrocyte development; P:tissue regeneration; P:response to ethanol; C:actin cytoskeleton; P:aging; C:extracellular space; P:regulation of cell adhesion; F:calcium ion binding; P:actin filament severing; C:cytosol; F:actin binding; P:vesicle- mediated transport; C:protein complex; P:apoptosis; P:response to cadmium ion; C:perinuclear region of cytoplasm; P:phosphoinositide-mediated signaling; P:barbed-end actin filament capping
BJAR4Disotig01103	575	6,41696814	1	glucoside xylosyltransferase 1 isoform 2	P:O-glycan processing; C:membrane; F:UDP-xylosyltransferase activity
BJAR4Disotig01333	509	6,44359457	1	glutamate dehydrogenase mitochondrial-like	F:NAD binding; F:glutamate dehydrogenase activity; F:ADP binding; C:mitochondrial inner membrane; P:glutamate deamidation; F:glutamate dehydrogenase [NAD(P)+] activity; P:oxidation reduction; F:leucine binding; P:glutamate biosynthetic process; F:identical protein binding; F:ATP binding; C:mitochondrial matrix; F:GTP binding; P:positive regulation of insulin secretion
BJARALL1265	610	7,46589563	1	glutamic-oxaloacetic transaminase soluble (aspartate aminotransferase 1)	P:glycerol biosynthetic process; P:oxaloacetate metabolic process; C:cytosol; P:aspartate catabolic process; P:glutamate catabolic process to 2-oxoglutarate; P:aspartate biosynthetic process; F:phosphatidylserine decarboxylase activity; P:cellular response to insulin stimulus; F:L-aspartate:2-

					oxoglutarate aminotransferase activity; P:fatty acid homeostasis; P:glutamate catabolic process to aspartate; P:response to glucocorticoid stimulus; F:pyridoxal phosphate binding
BJARALL1338	393	6,76647621	1	glutathione s-transferase kappa 1	F:catalytic activity
BJAR4Disotig00701	813	10,4047323	2	glutathione s-transferase theta-1-like	C:cytoplasm; F:glutathione transferase activity
BJAR4Disotig01599	482	6,43025379	1	glycerol-3-phosphate acyltransferase 4-like	P:fatty acid metabolic process; P:lactation; C:integral to endoplasmic reticulum membrane; P:glandular epithelial cell maturation; F:acyl-[acyl-carrier-protein]-UDP-N-acetylglucosamine O- acyltransferase activity; P:triglyceride biosynthetic process; P:diacylglycerol metabolic process; F:glycerol-3-phosphate O-acyltransferase activity; P:regulation of multicellular organism growth
BJARALL3992	630	5,1677414	1	golgin subfamily a member 1-like	-
BJAR4Disotig01259	523	26,7413137	7	golgin subfamily a member 4-like	C:cytoplasm; P:vesicle-mediated transport; C:membrane; C:Golgi apparatus; C:Golgi membrane; C:trans-Golgi network
BJARALL0779	549	6,51113749	2	golgin subfamily b member 1-like	-
BJARALL2371	635	7,0267253	1	golgin subfamily b member 1-like	-
BJARALL1152	678	9,66038128	2	heat shock 70 kda protein 4-like	P:cellular chaperone-mediated protein complex assembly; F:ATP binding; P:mitochondrial outer membrane translocase complex assembly; P:response to stress; C:cytoplasm; F:nucleotide binding; C:nucleus
BJARALL1241	521	17,0649043	3	heavy polypeptide isoform cra_a	C:T-tubule; P:vesicle-mediated transport; F:peptide binding; F:heat shock protein binding; C:clathrin coat of coated pit; C:mitochondrion; C:clathrin coat of trans-Golgi network vesicle; F:ankyrin binding; C:membrane fraction; P:Golgi organization; P:intracellular protein transport; F:structural molecule activity
BJARALL0508	860	8,23822966	1	hect domain and rld 4	F:acid-amino acid ligase activity; C:intracellular; P:protein modification process
BJARALL4467	494	18,7097143	2	hect domain containing 1	F:ligase activity; P:neural tube closure; P:protein modification process; P:protein ubiquitination; F:ubiquitin-protein ligase activity; C:intracellular; F:acid-amino acid ligase activity; F:metal ion binding; F:binding
BJAR4Disotig00646	887	3,6410464	1	heme-binding protein 1	F:heme binding; C:cytosol; C:mitochondrion
BJAR4Disotig01338	512	6,85609841	2	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein h-like	C:cytoplasm; C:nucleolus; C:heterogeneous nuclear ribonucleoprotein complex; C:nucleoplasm; P:regulation of RNA splicing; C:spliceosomal complex; F:protein binding; F:poly(U) RNA binding; P:mRNA processing; C:actin cytoskeleton; F:nucleotide binding
BJARALL3772	464	2,47870118	1	homo sapiens elav-like family member 1 transcript variant mrna	-
BJARALL5065	418	6,28707	1	homo sapiens fibronectin type iii domain containing 3b transcript variant mrna	
BJARALL2854	348	9,85972248	3	homo sapiens raly rna binding transcript variant mrna	-

BJARALL2237	401	23,2210286	4	homo sapiens u2 small nuclear rna auxiliary factor 2 transcript variant mrna	-
BJAR4Disotig00762	759	5,4679799	1	homocysteine-responsive endoplasmic reticulum-resident ubiquitin-like domain member 1 partial	C:integral to membrane; P:response to unfolded protein; C:endoplasmic reticulum membrane
BJARALL0207	439	6,33839302	2	hsp70-binding protein 1-like	P:protein folding; F:protein binding; P:positive regulation of proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process; P:positive regulation of protein ubiquitination; F:enzyme inhibitor activity
BJAR4Disotig00294	822	6,32548387	1	hypothetical protein Bm1_11025 [Brugia malayi]	
BJARALL3926	455	4,49466365	1	Hypothetical protein COLAER_01673 [Collinsella aerofaciens ATCC 25986]	
BJARPAisotig00055	1084	3,52933248	1	hypothetical protein MYCGRDRAFT_74254 [Mycosphaerella graminicola IPO323]	-
BJARALL2164	495	5,00937513	1	hypothetical protein SCH_0249 [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis str. SC-B67]	-
BJARALL3197	476	7,33367788	2	hypothetical protein TATV_DAH68_216 [Taterapox virus]	F:RNA binding; P:RNA-dependent DNA replication; F:RNA-directed DNA polymerase activity
BJARALL4442	435	4,32564426	1	hypothetical protein VMD_37440 [Vibrio mimicus VM573]	-
BJAR4Disotig01830	405	6,84099688	1	immt protein	C:integral to mitochondrial inner membrane
BJARALL0547	646	11,5888529	2	influenza virus ns1a-binding protein homolog	C:cytoskeleton; C:nucleus; F:protein binding
BJARALL0512	238	5,99577718	1	inosine triphosphatase isoform variant 1	F:nucleoside-triphosphate diphosphatase activity
BJARALL2336	730	3,55356131	1	insulin-like growth factor binding 1	C:extracellular region; F:insulin-like growth factor binding; P:regulation of cell growth
BJAR4Disotig01395	506	5,96125256	1	integrin alpha-v-like	P:cell migration; P:positive regulation of MAPKKK cascade; F:peptide binding; P:angiogenesis; C:integrin complex; C:external side of plasma membrane; P:integrin-mediated signaling pathway; F:receptor activity; P:elevation of cytosolic calcium ion concentration; P:cell adhesion; P:positive regulation of cell proliferation; P:apoptotic cell clearance
BJAR4Disotig01753	457	4,16887595	1	interleukin enhancer binding factor 3 isoform c	C:mitochondrion; C:nucleolus; F:transcription repressor activity; F:DNA binding; F:double-stranded RNA binding; P:M phase; F:transcription activator activity; F:protein binding; C:ribonucleoprotein complex; P:negative regulation of transcription, DNA-dependent; P:positive regulation of transcription, DNA-dependent; P:protein amino acid methylation
BJARALL0670	591	5,516541	1	intracellular hyaluronan-binding	C:extracellular region; C:cytosol

				protein 4-like isoform 1	
BJARALL2566	592	3,37955667	1	isoform cra_a	-
BJARALL2494	398	5,18499596	1	killer cell immunoglobulin-like receptor with three domains and long cytoplasmic tail	F:unfolded protein binding; F:calcium ion binding; P:protein folding; C:integral to membrane; C:endoplasmic reticulum; P:protein secretion; F:sugar binding; C:endoplasmic reticulum membrane; C:membrane; C:melanosome; C:dendritic spine; C:dendrite cytoplasm; C:neuronal cell body; C:cytoplasm; C:ribosome; C:rough endoplasmic reticulum; C:axon; P:aging; F:protein binding
BJARALL3567	507	6,67916684	1	kinesin light chain 2	C:kinesin complex; C:neuron projection; C:cytoplasm; C:ciliary rootlet; C:cytosol; F:microtubule motor activity; P:axon cargo transport; F:protein binding
BJARALL2837	494	8,56382146	3	leucine rich repeat and sterile alpha motif containing 1	C:membrane part; P:non-lytic virus budding; P:protein autoubiquitination; P:protein catabolic process; P:negative regulation of endocytosis; C:cytoplasm; F:zinc ion binding; P:protein polyubiquitination; F:ubiquitin-protein ligase activity; F:protein binding; F:metal ion binding; P:ubiquitin-dependent endocytosis
BJARALL0709	582	11,1719877	2	leucine-rich repeat flightless- interacting protein 2 isoform 3	F:LRR domain binding
BJARALL1911	739	6,40373728	1	leucine-rich repeats and calponin homology domain containing 4	C:PML body; F:protein binding
BJARALL2502	450	5,71972851	1	leukotriene a-4 hydrolase	C:cytoplasm; P:inflammatory response; P:leukotriene biosynthetic process; F:inositol or phosphatidylinositol kinase activity; F:protein binding; P:proteolysis; F:leukotriene-A4 hydrolase activity; F:zinc ion binding; F:metallopeptidase activity; F:epoxide hydrolase activity
BJARALL5112	527	3,61982818	1	lim domain only protein 7-like	F:zinc ion binding; F:protein binding; F:metal ion binding
BJARALL4899	431	5,0255867	1	loc100125125 protein	-
BJARALL4478	485	4,92204846	1	loc100145345 protein	P:proteolysis; F:serine-type endopeptidase activity; F:calcium ion binding; F:serine-type peptidase activity; F:hydrolase activity; F:catalytic activity; F:peptidase activity; C:extracellular region
BJARALL0461	387	8,41683626	1	low affinity cationic amino acid transporter 2-like isoform 2	-
BJARALL3084	460	16,549623	3	low quality protein: probable e3 ubiquitin-protein ligase trip12-like	F:binding; F:acid-amino acid ligase activity; P:protein modification process; C:intracellular
BJARALL3561	746	7,63098914	1	low quality protein: protein	-
BJARPAisotig00179	494	5,75683518	2	low quality protein: u4 u6 small nuclear ribonucleoprotein prp4-like	P:nuclear mRNA splicing, via spliceosome; C:spliceosomal complex; F:molecular_function; P:RNA splicing; P:mRNA processing; C:U4/U6 x U5 tri-snRNP complex; C:Cajal body; P:RNA processing; C:nucleus; P:RNA splicing, via transesterification reactions; C:U4/U6 snRNP; C:nucleolus; F:protein binding; C:nuclear speck
BJARALL4908	676	6,27436885	1	low quality protein: u5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kda helicase- like	F:nucleic acid binding; F:helicase activity; F:molecular_function; F:nucleotide binding; P:biological_process; C:ribonucleoprotein complex; P:auxin biosynthetic process; C:cellular_component
BJARALL0185	726	9,06806593	2	lrrfip1 protein	P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; C:cytoskeleton; F:transcription

					repressor activity; F:double-stranded RNA binding; F:protein binding; P:negative regulation of
					transcription; C:nucleus
BJARALL2670	608	4,28387942	1	lysine-specific demethylase 5b-like	P:histone H3-K4 demethylation; F:oxidoreductase activity, acting on single donors with incorporation of molecular oxygen, incorporation of two atoms of oxygen; C:nucleus; F:DNA binding; F:zinc ion binding; P:oxidation reduction; P:chromatin modification; F:oxidoreductase activity; F:protein binding; C:intracellular; F:histone demethylase activity (H3-dimethyl-K4 specific); F:metal ion binding; F:histone demethylase activity (H3-trimethyl-K4 specific); P:regulation of transcription; F:transcription factor activity; P:negative regulation of transcription, DNA-dependent; F:transcription repressor activity; P:transcription
BJARALL4718	429	25,5622435	6	macaca fascicularis brain cdna clone: - human tyrosine 3-monooxygenase tryptophan 5- monooxygenaseactivation epsilon polypeptide eq:	-
BJARALL2959	385	4,70577664	1	mannose-6-phosphate isomerase	P:carbohydrate metabolic process; C:cytoplasm; F:zinc ion binding; F:mannose-6-phosphate isomerase activity
BJARALL2834	427	3,37955667	1	map kinase-activated protein kinase 5	C:cytoplasm; P:protein amino acid phosphorylation; F:protein binding; F:ATP binding; C:nucleus; F:protein serine/threonine kinase activity
BJARALL2010	518	4,38055371	1	meleagris gallopavo heterogeneous nuclear ribonucleoproteins a2 b1-like mrna	-
BJARALL0536	504	6,00737443	1	member ras oncogene family	C:soluble fraction; F:GTP binding; C:Golgi apparatus; P:Rab protein signal transduction; P:intracellular protein transport; C:insoluble fraction; P:ER to Golgi vesicle-mediated transport; C:endoplasmic reticulum; C:neuronal cell body; F:GTPase activity
BJAR4Disotig01441	499	19,8243356	3	member ras oncogene family	C:early endosome membrane; P:small GTPase mediated signal transduction; C:endocytic vesicle; C:membrane fraction; C:melanosome; F:GTP-dependent protein binding; F:GTPase activity; P:regulation of endocytosis; P:endosome organization; P:protein transport; F:GTP binding; C:plasma membrane
BJARALL0466	689	12,7679859	4	member ras oncogene family	C:chromatin; C:nucleoplasm; P:mitotic spindle organization; C:melanosome; F:GTP binding; P:androgen receptor signaling pathway; P:cell division; P:protein export from nucleus; P:DNA metabolic process; C:cytosol; C:nuclear pore; P:mitosis; F:transcription coactivator activity; P:spermatid development; P:signal transduction; P:positive regulation of transcription, DNA- dependent; F:chromatin binding; F:GTPase activity; P:protein import into nucleus; F:androgen receptor binding; P:RNA export from nucleus; P:interspecies interaction between organisms
BJARALL1098	2172	17,1908445	3	membrane palmitoylated 55kda	C:cortical cytoskeleton; C:stereocilium; C:membrane fraction; F:guanylate kinase activity; P:regulation of neutrophil chemotaxis; F:protein binding; P:signal transduction; C:integral to plasma membrane
BJARALL4105	1063	7,15625019	1	methionine aminopeptidase 2-like	C:cytoplasm; F:metal ion binding; P:N-terminal protein amino acid modification;

					F:metalloexopeptidase activity; F:protein binding; P:protein processing; F:aminopeptidase activity; P:peptidyl-methionine modification; P:proteolysis
BJAR4Disotig00738	778	17,4483853	2	mgc80995 protein	-
BJARALL1502	504	7,8035492	1	microfibrillar-associated protein 1	C:extracellular region
BJARALL0892	497	5,48730138	1	mindbomb homolog 2	C:early endosome; F:actin binding; P:protein ubiquitination; F:ubiquitin-protein ligase activity; F:zinc ion binding; C:ubiquitin ligase complex
BJARALL1776	471	4,09737808	1	mitochondrial cytochrome c oxidase subunit va	F:metal ion binding; C:mitochondrial inner membrane; F:electron carrier activity; F:cytochrome-c oxidase activity
BJARALL3768	578	5,55601535	1	mitochondrial intermembrane space import and assembly protein 40-like	P:protein transport; P:transmembrane transport; C:mitochondrial intermembrane space
BJAR4Disotig01270	525	6,85609841	1	mitochondrial leucine-rich ppr motif- containing protein	C:condensed nuclear chromosome; C:nuclear inner membrane; F:RNA binding; C:nucleus; F:DNA binding; C:membrane; C:perinuclear region of cytoplasm; C:mitochondrial nucleoid; F:microtubule binding; C:nuclear outer membrane; F:beta-tubulin binding; C:mitochondrion; F:actin filament binding; C:cytoplasm; P:regulation of transcription; P:mitochondrion transport along microtubule; P:transport; F:single-stranded DNA binding; C:nucleoplasm; C:cytoskeleton; P:mRNA transport; F:protein binding
BJARALL4646	725	5,32729431	1	mitochondrial ribosomal protein l12	P:translation; C:mitochondrial large ribosomal subunit; F:structural constituent of ribosome; P:transcription from mitochondrial promoter; F:protein binding; P:positive regulation of transcription, DNA-dependent
BJARALL4976	892	3,70180284	1	mitogen-activated protein kinase 1	P:cytosine metabolic process; F:MAP kinase 2 activity; C:axon part; P:positive regulation of cell proliferation; P:positive regulation of translation; C:soluble fraction; P:lipopolysaccharide-mediated signaling pathway; P:synaptic transmission; F:RNA polymerase II carboxy-terminal domain kinase activity; C:protein complex; C:insoluble fraction; C:cytosol; C:nucleoplasm; P:sensory perception of pain; F:transcription factor binding; C:dendrite cytoplasm; P:negative regulation of cell differentiation; P:response to exogenous dsRNA; P:positive regulation of transcription; P:signal transduction; F:phosphotyrosine binding; P:chemotaxis; P:Ras protein signal transduction; P:response to DNA damage stimulus; C:perikaryon; P:protein amino acid phosphorylation; P:response to estrogen stimulus; F:ATP binding; F:DNA binding; P:positive regulation of cell migration; P:nuclear translocation of MAPK; P:interspecies interaction between organisms; P:cell cycle; P:T cell receptor signaling pathway; P:B cell receptor signaling pathway; P:labyrinthine layer blood vessel development; P:auxin biosynthetic process; C:nucleolus; C:microtubule cytoskeleton; F:mitogen- activated protein kinase kinase kinase binding; P:response to lipopolysaccharide; P:organ morphogenesis; P:induction of apoptosis
BJARALL3828	455	5,14207381	1	mitogen-activated protein kinase kinase 1 interacting protein 1	F:kinase activity
BJARPAisotig00256	381	5,29099247	2	monosiga brevicollis mx1 protein monbrdraft_26068 complete cds	-

BJAR4Disotig00131	650	12,1796572	2	monosiga brevicollis mx1 protein monbrdraft_31217 complete cds	-
BJARALL4476	252	4,0023358	1	monosiga brevicollis mx1 protein monbrdraft_31986 complete cds	-
BJARALL2454	470	6,21162516	1	morc family cw-type zinc finger protein 2	F:ATP binding; F:zinc ion binding
BJARALL3502	361	7,01086361	1	motile sperm domain containing 1	F:structural molecule activity; C:integral to membrane; C:membrane
BJARALL4763	443	13,8962532	2	mus musculus 10 days neonate medulla oblongata riken full-length enriched clone:b830007h12 product:hypothetical glutamic acid- rich region containing full insert sequence	
BJARALL4183	382	4,21985405	1	mus musculus activated spleen riken full-length enriched clone:f830036p16 product: full insert sequence	-
BJARALL2810	627	3,99718479	1	mus musculus cu++ alpha polypeptide transcript variant mrna	-
BJARALL4035	418	5,82704049	1	mus musculus ectopic ossification 1 miscrna	-
BJARALL1926	463	2,50873391	1	myb-binding protein 1a-like	F:DNA-directed DNA polymerase activity; P:transcription; F:DNA binding; C:nucleus; C:cytoplasm; F:transcription factor binding; P:nucleocytoplasmic transport; C:NLS-dependent protein nuclear import complex; P:regulation of transcription, DNA-dependent; C:nucleolus; F:protein binding
BJARALL2497	580	2,84154856	1	myeloid lymphoid or mixed-lineage leukemia (trithorax drosophila) translocated 4	P:cell-cell signaling; F:protein C-terminus binding; P:cell adhesion; C:cytosol; P:signal transduction; C:adherens junction; C:cell-cell junction; F:protein binding
BJARALL1468	1082	3,4432512	1	myosin ic	P:transmembrane transport; F:calmodulin binding; C:lateral plasma membrane; C:basal plasma membrane; C:brush border; F:protein C-terminus binding; C:stress fiber; F:ATP binding; C:stereocilium membrane; F:motor activity; F:actin binding; C:filamentous actin; C:myosin I complex; C:cytoplasm; P:protein transport; C:nucleus
BJARALL3252	380	20,9852201	4	myst3 protein	C:nucleosome; F:transferase activity; P:embryonic hemopoiesis; P:somatic stem cell maintenance; F:histone acetyltransferase activity; F:DNA binding; C:nucleus; P:nucleosome assembly; F:zinc ion binding; P:chromatin modification; F:transferase activity, transferring acyl groups other than amino- acyl groups; F:protein binding; F:metal ion binding; P:transcription; P:regulation of transcription; P:DNA packaging; F:transcription activator activity; P:negative regulation of transcription; C:MOZ/MORF histone acetyltransferase complex; P:positive regulation of transcription; F:acetyltransferase activity; F:transcription coactivator activity; P:histone acetylation; F:transcription factor binding; P:myeloid cell differentiation; P:histone H3 acetylation

BJARALL1809	716	3,52532643	1	nadh dehydrogenase subunit 1	C:integral to membrane; P:oxidation reduction; C:mitochondrion; F:NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity
BJAR4Disotig01068	592	3,9363911	1	nadh dehydrogenase subunit 5	C:integral to membrane; C:membrane; C:mitochondrial inner membrane; C:respiratory chain; F:NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity; C:mitochondrion; P:transport; P:oxidation reduction; F:oxidoreductase activity; P:ATP synthesis coupled electron transport; P:electron transport chain
BJARALL3441	602	10,0674638	2	nedd4 family interacting protein 2	P:negative regulation of transporter activity; F:signal transducer activity; C:mitochondrion; C:integral to membrane; P:positive regulation of protein ubiquitination; C:endosome; P:positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade; P:negative regulation of protein transport; P:negative regulation of gene expression; C:perinuclear region of cytoplasm; F:WW domain binding; C:Golgi apparatus; C:endoplasmic reticulum
BJARALL4955	632	6,89414557	2	neogenin isoform 1	C:integral to membrane; P:cell adhesion; C:plasma membrane; P:myoblast fusion; C:membrane; F:transcription regulator activity; F:receptor activity; F:protein binding; F:cadherin binding; P:regulation of transcription
BJARALL2205	492	7,42129649	2	neogenin- partial	P:myoblast fusion; C:integral to membrane; C:membrane; F:transcription regulator activity; F:receptor activity; F:protein binding; C:plasma membrane; F:cadherin binding; P:regulation of transcription; P:cell adhesion; C:integral to plasma membrane
BJARALL5170	427	4,23712494	1	neurobeachin-like protein 2-like	F:binding
BJARALL3447	410	6,23657145	1	neuronal acetylcholine receptor subunit alpha-2-like	 F:ion channel activity; F:nicotinic acetylcholine-activated cation-selective channel activity; C:integral to membrane; C:synapse; P:ion transport; C:cell junction; F:extracellular ligand-gated ion channel activity; P:signal transduction; F:acetylcholine receptor activity; C:nicotinic acetylcholine-gated receptor-channel complex; C:plasma membrane; C:postsynaptic membrane; C:membrane; P:transport; F:receptor activity; P:sensory perception of pain; P:synaptic transmission; P:response to oxidative stress; F:acetylcholine binding; P:response to hypoxia; P:regulation of inhibitory postsynaptic membrane potential; P:regulation of membrane potential; C:neuronal cell body; P:synaptic transmission, cholinergic; P:membrane depolarization; P:calcium ion transport; P:behavioral response to nicotine; P:response to nicotine; P:cognition; P:B cell activation; C:dendrite; C:membrane fraction; C:external side of plasma membrane; P:DNA repair; P:regulation of dopamine secretion; P:neurological system process; P:regulation of action potential
BJAR4Disotig00714	804	6,78125018	1	n-myristoyltransferase 1	P:protein lipoylation; P:in utero embryonic development; P:N-terminal peptidyl-glycine N- myristoylation; F:glycylpeptide N-tetradecanoyltransferase activity; C:cytosol
BJARALL0699	462	5,53620781	1	non-lysosomal glucosylceramidase	P:glucosylceramide catabolic process; C:plasma membrane; F:glucosylceramidase activity; C:integral to membrane
BJARALL1957	523	15,927244	3	n-terminal kinase-like protein	F:protein kinase activity; P:transport; C:cytoplasm; P:protein amino acid phosphorylation; C:Golgi apparatus; F:ATP binding; C:COPI vesicle coat; F:protein binding; P:vesicle-mediated transport; F:binding
BJARALL5028	429	11,0527138	2	nuclear receptor subfamily 1 group d member 2	F:thyroid hormone receptor activity; F:sequence-specific DNA binding; F:steroid hormone receptor activity; F:transcription factor activity; C:nucleus; F:zinc ion binding; P:regulation of transcription, DNA-dependent

BJAR4Disotig00752	770	5,69873868	1	nucleobindin 1	F:calcium ion binding; C:cytoplasm; C:membrane; C:Golgi apparatus; C:ER-Golgi intermediate compartment
BJARALL0443	855	3,0330201	1	nucleolar protein 8-like	P:DNA replication; F:RNA binding; P:positive regulation of cell growth; F:nucleotide binding; F:protein binding; C:nucleolus; C:nucleus
BJARALL2001	1005	4,52742359	1	ORF1 [Platemys spixii]	F:hydrolase activity
BJARALL2419	696	32,8078794	3	origin recognition complex subunit 4	F:nucleoside-triphosphatase activity; P:auxin biosynthetic process; C:origin recognition complex; F:ATP binding; F:DNA replication origin binding; F:protein binding; P:DNA replication initiation; C:nucleoplasm
BJAR4Disotig00588	1013	3,82489234	1	ornithine decarboxylase	P:polyamine biosynthetic process; P:positive regulation of cell proliferation; F:ornithine decarboxylase activity; P:kidney development; F:protein binding; C:cytosol; P:response to virus
BJAR4Disotig00759	763	12,676786	2	ornithine decarboxylase antizyme 1	P:polyamine biosynthetic process; F:ornithine decarboxylase inhibitor activity; F:protein binding
BJARALL5172	510	5,21985308	1	oryctolagus cuniculus histone cluster h2bb-like mrna	-
BJARALL2079	470	7,43017364	1	oryza sativa japonica group os03g0751800 complete cds	-
BJARALL3808	493	6,15012392	1	pan troglodytes zinc finger protein transcript variant 2 mrna	-
BJARPAisotig00229	455	3,51734154	1	pancreatic lipase	P:lipid catabolic process; F:triglyceride lipase activity
BJARALL2570	390	3,1089215	1	paps synthase 2	F:adenylylsulfate kinase activity; F:ATP binding; P:sulfate assimilation; F:sulfate adenylyltransferase (ATP) activity; F:protein binding; P:skeletal system development
BJARALL0428	293	4,09197969	1	paxi_chick ame: full=paxillin	 P:focal adhesion assembly; F:metal ion binding; P:activation of MAPK activity; P:branching morphogenesis of a tube; P:cell adhesion; P:peptidyl-tyrosine phosphorylation; C:focal adhesion; F:BH4 domain binding; P:cellular component movement; P:cytoskeleton organization; C:lamellipodium; C:cell junction; C:cytoplasm; P:integrin-mediated signaling pathway; F:zinc ion binding; F:protein binding; C:cytoskeleton; P:lamellipodium assembly; P:cell-matrix adhesion; P:cellular response to reactive oxygen species; C:microtubule associated complex; P:signal complex assembly; F:vinculin binding; P:signal transduction; P:muscle contraction; C:plasma membrane
BJARALL1516	476	6,07791112	1	pg1 homology to homo sapiens	-
BJARALL3071	393	6,32548387	1	plasma membrane calcium atpase	F:ATP binding; F:ATPase activity, coupled to transmembrane movement of ions, phosphorylative mechanism; C:integral to membrane; C:membrane; P:ATP biosynthetic process; P:cation transport; P:calcium ion transport; F:calcium ion transmembrane transporter activity; F:catalytic activity; F:calcium-transporting ATPase activity; P:metabolic process; F:hydrolase activity, acting on acid anhydrides, catalyzing transmembrane movement of substances; F:hydrolase activity; P:transport; F:nucleotide binding; F:calmodulin binding; F:protein binding; F:metal ion binding; C:integral to plasma membrane; C:plasma membrane; P:auxin biosynthetic process; P:neuron differentiation; P:sensory perception of sound; C:cytoplasm

BJARALL1656	592	4,43054577	1	plectin- partial	F:actin binding; C:cytoplasm; C:cytoskeleton; F:protein N-terminus binding; F:cytoskeletal protein binding; C:basal plasma membrane; C:sarcolemma; C:perinuclear region of cytoplasm; C:insoluble fraction; C:contractile fiber; C:apical plasma membrane; F:structural constituent of cytoskeleton; P:response to nutrient
BJARALL2230	394	11,2123198	2	polymeric immunoglobulin receptor- like	-
BJARALL2250	346	5,12510327	1	polymeric immunoglobulin receptor- like	-
BJARPAisotig00002	866	6,66483387	1	PREDICTED: hypothetical protein [Bos taurus]	-
BJAR4Disotig00667	854	17,0883773	4	PREDICTED: hypothetical protein LOC100428540 [Macaca mulatta]	-
BJARALL1070	771	11,1319447	2	PREDICTED: hypothetical protein LOC100565429 [Anolis carolinensis]	-
BJAR4Disotig01172	548	7,15625019	1	PREDICTED: similar to Ac1147 [Gallus gallus]	-
BJARALL1015	505	5,21109494	1	pre-mrna processing factor 8	P:mRNA processing; C:nucleus; P:RNA splicing; P:response to stimulus; F:RNA binding; P:RNA splicing, via transesterification reactions; C:U5 snRNP; P:nuclear mRNA splicing, via spliceosome; C:spliceosomal complex; F:protein binding; C:nuclear speck; P:visual perception; C:ribonucleoprotein complex
BJAR4Disotig01489	492	16,4328708	3	pre-mrna splicing factor rna helicase (deah box protein 15) isoform 8	P:RNA splicing; F:RNA helicase activity; F:ATP-dependent helicase activity; F:nucleic acid binding; C:U12-type spliceosomal complex; P:mRNA processing; F:ATP binding
BJARALL4027	491	6,27436885	1	pre-mrna-processing factor 40 homolog a-like	P:RNA splicing; P:mRNA processing; P:biological_process; F:protein binding; C:nuclear matrix; C:cellular component; C:nuclear speck; C:nucleus
BJAR4Disotig00470	1463	16,4619041	3	probable atp-dependent rna helicase ddx5	F:RNA binding; F:transcription cofactor activity; P:auxin biosynthetic process; P:cell growth; C:spliceosomal complex; C:nucleolus; F:ATP-dependent helicase activity; P:RNA splicing; F:ATP binding; P:mRNA processing; F:RNA helicase activity; P:positive regulation of transcription
BJARALL0719	477	6,47044288	1	probable e3 ubiquitin-protein ligase herc1-like	F:acid-amino acid ligase activity; P:protein modification process; C:intracellular
BJARALL2488	674	5,86002374	1	proline mitochondrial-like	P:oxidation reduction; F:proline dehydrogenase activity; P:proline catabolic process; P:glutamate biosynthetic process
BJARALL4144	438	7,25657145	1	prolyl endopeptidase	P:proteolysis; F:serine-type endopeptidase activity; C:cytoplasm; C:nucleus
BJARALL1515	496	5,40141318	1	prolyl endopeptidase-like	P:proteolysis; F:serine-type endopeptidase activity; C:cytoplasm; C:cytosol; F:peptidase activity; F:serine-type peptidase activity; F:hydrolase activity
BJARALL0861	436	10,474916	2	protein clec16a-like	F:molecular_function; P:biological_process
BJARALL2266	544	4,80032856	1	protein cwc15 homolog	F:RNA binding; C:nucleus; P:nuclear mRNA splicing, via spliceosome

BJARALL2265	494	5,5460939	1	protein disulfide isomerase family member 6	P:cell redox homeostasis; F:isomerase activity
BJARALL5037	415	1,58298297	1	protein elys	C:nuclear pore; P:protein transport; C:chromatin; P:nuclear pore complex assembly; P:cytokinesis; C:Nup107-160 complex; F:transcription factor activity; C:nuclear matrix; C:nucleus; C:condensed chromosome kinetochore; C:cytoplasm; C:nucleoplasm; P:mRNA transport; P:transmembrane transport; P:cell cycle
BJARALL4235	408	7,17277732	1	protein fam98a-like	-
BJARALL4582	378	13,6819938	2	protein fem-1 homolog b-like	P:apoptosis; C:cytoplasm; P:epithelial cell maturation; P:epithelial cell maturation involved in prostate gland development; P:branching involved in prostate gland morphogenesis; F:protein binding; P:induction of apoptosis; P:regulation of ubiquitin-protein ligase activity; F:death receptor binding; C:cellular_component; F:ubiquitin-protein ligase activity; P:regulation of apoptosis
BJARALL2880	770	6,9248887	2	protein flightless-1 homolog	F:actin binding; F:protein binding; C:nucleus; P:actin filament severing; P:multicellular organismal development; P:transcription; P:actin cytoskeleton organization; P:regulation of transcription; C:cytoskeleton
BJARALL3423	507	10,2841476	2	protein itfg3-like	C:integral to membrane
BJARALL3736	467	5,81612843	1	protein las1 homolog isoform 3	C:MLL1 complex; F:protein binding; C:nucleolus; C:nucleus
BJAR4Disotig01352	511	4,19704403	1	protein phosphatase 1 regulatory subunit 15b-like	P:response to stress
BJARALL4629	466	7,48388574	1	protein ric1 homolog	-
BJAR4Disotig00967	637	9,13474289	1	protein smg9	C:intracellular; P:nuclear-transcribed mRNA catabolic process, nonsense-mediated decay; F:protein binding
BJARALL0072	797	9,51244282	2	protein tyrosine receptor n	F:phosphatase activity; P:dephosphorylation; F:receptor activity; F:hydrolase activity; P:protein amino acid dephosphorylation; F:protein tyrosine phosphatase activity; P:response to insulin stimulus; P:response to reactive oxygen species; F:GTPase binding; C:membrane; F:transmembrane receptor protein tyrosine phosphatase activity; C:membrane fraction; P:response to estrogen stimulus; F:protein binding; P:response to cAMP; P:cytokine-mediated signaling pathway; C:integral to plasma membrane; P:response to glucose stimulus
BJARALL1560	383	22,6701648	3	pulmonary surfactant-associated protein d-like	P:surfactant homeostasis; F:protein binding; P:lung alveolus development; C:extracellular region; P:localization; P:immune system process; P:regulation of cellular process; P:cellular biosynthetic process
BJARALL0310	507	6,62220167	1	r3h domain-containing protein 1-like	F:nucleic acid binding
BJARALL4366	827	6,78125018	1	rab gtpase activating protein 1	C:microtubule associated complex; F:tubulin binding; C:cytoplasm; C:centrosome; C:intracellular; F:Rab GTPase activator activity; F:GTPase activator activity; C:cytosol; P:cell cycle; P:regulation of Rab GTPase activity; C:cytoskeleton; F:molecular_function; C:cellular_component; P:biological_process; C:microtubule organizing center
BJARALL4472	463	4,60120382	1	ras-association domain family 7	F:DNA binding; F:protein binding; P:signal transduction; C:nucleus; P:regulation of transcription, DNA-

					dependent
BJAR4Disotig01647	475	6,72253805	1	ras-related protein rab-2a	C:soluble fraction; P:small GTPase mediated signal transduction; C:Golgi membrane; C:membrane fraction; F:GDP binding; C:melanosome; C:ER-Golgi intermediate compartment membrane; P:ER to Golgi vesicle-mediated transport; C:neuronal cell body; F:GTPase activity; P:intracellular protein transport; C:endoplasmic reticulum membrane; F:GTP binding
BJARPAisotig00118	711	5,41082331	1	rattus norvegicus tl0aea3ym01 mrna sequence	
BJARALL3431	421	12,0380333	1	rcc1 and btb domain-containing protein 1-like	C:cytoplasm; P:chromatin modification; P:regulation of transcription; F:protein binding; P:cell cycle; C:nucleus
BJAR4Disotig01764	454	6,23657145	1	regulation of nuclear pre-mrna domain containing 1b	F:molecular_function; C:cellular_component
BJAR4Disotig00598	982	7,18106955	2	reticulocalbin ef-hand calcium binding domain	F:calcium ion binding; C:endoplasmic reticulum lumen
BJAR4Disotig01538	485	7,27356576	1	reticulocalbin ef-hand calcium binding domain	F:calcium ion binding; C:endoplasmic reticulum lumen
BJARALL0109	673	13,0771056	2	retinoid x receptor beta	P:retinoic acid receptor signaling pathway; F:thyroid hormone receptor coactivator activity; F:zinc ion binding; P:positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; F:ligand-regulated transcription factor activity; P:ventricular cardiac muscle cell differentiation; F:retinoic acid receptor binding; F:steroid binding; P:cardiac muscle cell proliferation; F:sequence-specific DNA binding; F:transcription factor activity; F:steroid hormone receptor activity; F:thyroid hormone receptor binding; F:protein heterodimerization activity; F:retinoid-X receptor activity; C:nucleus; F:vitamin D receptor binding
BJAR4Disotig01746	458	6,55234722	1	rho gdp dissociation inhibitor alpha	C:cytosol; P:regulation of protein localization; F:identical protein binding; P:negative regulation of axonogenesis; C:immunological synapse; P:positive regulation of axonogenesis; F:Rho GDP- dissociation inhibitor activity; F:GTPase activator activity; P:Rho protein signal transduction
BJAR4Disotig01208	540	14,5301173	4	rhomboid family 1	F:receptor activity; C:integral to membrane; C:endoplasmic reticulum; C:membrane
BJARALL2495	455	6,91717724	1	ribonuclease angiogenin inhibitor isoform cra_a	P:regulation of angiogenesis; F:ribonuclease inhibitor activity; C:angiogenin-PRI complex; F:protein binding; C:cytoplasm
BJAR4Disotig00849	705	6,28707	1	ribosomal protein 110	P:spermatogenesis; F:structural constituent of ribosome; C:cytosolic large ribosomal subunit; C:nucleus; C:endoplasmic reticulum; P:translational elongation
BJARALL3584	697	5,4776236	1	ribosomal protein 110a	F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; P:anatomical structure morphogenesis; C:cytosolic large ribosomal subunit; C:mitochondrion; P:translational elongation; P:RNA processing
BJAR4Disotig00792	738	6,44359457	1	ribosomal protein 112	C:nucleolus; C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; F:protein binding; C:cytosol; P:translational elongation
BJARALL0153	580	8,23822966	1	ribosomal protein l18	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; P:translation
BJARALL3970	570	8,65128853	2	ribosomal protein s10	F:protein binding; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:translational elongation

BJAR4Disotig01173	550	5,56597237	1	ribosomal protein s13	F:mRNA binding; C:nucleolus; F:structural constituent of ribosome; P:translational elongation; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:negative regulation of RNA splicing; F:protein binding
BJARALL1148	434	3,55356131	1	ribosomal protein s17	P:translational initiation; F:structural constituent of ribosome; P:rRNA processing; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:ribosomal small subunit biogenesis; P:erythrocyte homeostasis; P:translational elongation
BJAR4Disotig00925	664	6,04243693	1	ribosomal protein s5	F:mRNA binding; P:translational initiation; P:regulation of translational fidelity; F:structural constituent of ribosome; C:cytosolic small ribosomal subunit
BJARALL2953	586	3,84859056	1	ribosome biogenesis protein bms1 homolog	-
BJARALL1168	534	4,38055371	1	ribosome-binding protein 1-like	C:integral to endoplasmic reticulum membrane; P:protein transport
BJARALL4484	523	8,02535551	2	riken cdna 4931428f04 gene	F:oxidoreductase activity; P:oxidation reduction; F:binding
BJARALL4402	415	6,49751586	1	riken cdna 5730596k20	F:GTP binding; F:GTPase activity; C:integral to membrane; C:membrane; P:protein homooligomerization; F:identical protein binding; F:hydrolase activity; F:nucleotide binding; P:ER to Golgi vesicle-mediated transport; C:endoplasmic reticulum membrane; P:endoplasmic reticulum organization; P:Golgi organization; C:endoplasmic reticulum; F:molecular_function; C:cellular_component; P:biological_process
BJARALL3864	432	3,82960861	1	ring finger protein 31	C:internal side of plasma membrane; C:cytosol; F:metal ion binding
BJARALL0707	498	6,65056227	1	rna polymerase ii-associated protein 3- like	F:binding
BJARALL3120	533	6,41696814	2	rna-binding protein mex3c-like	F:RNA binding; F:metal ion binding; F:molecular_function; P:biological_process; F:zinc ion binding; F:protein binding; C:cellular_component; C:nucleus; C:cytoplasm
BJARALL4678	618	36,3678288	5	ruvb-like 1-like	P:histone H4 acetylation; F:protein binding; C:membrane; C:microtubule organizing center; P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; P:DNA recombination; P:auxin biosynthetic process; P:spermatogenesis; P:cell division; P:regulation of growth; P:mitosis; C:nuclear matrix; C:NuA4 histone acetyltransferase complex; F:ATPase activity; P:histone H2A acetylation; F:ATP binding; F:DNA helicase activity; C:MLL1 complex
BJAR4Disotig01800	440	5,99577718	1	safb-like transcription modulator-like	P:apoptosis; P:regulation of transcription; F:RNA binding; C:nucleus; F:nucleotide binding
BJARALL3920	345	6,00737443	1	selenoprotein o	P:biological_process; C:cellular_component
BJARALL0678	571	5,42026629	1	serine (or cysteine) proteinase clade b member 6	C:cytosol; F:ATP binding; F:serine-type endopeptidase inhibitor activity; F:DNA binding; F:protein binding
BJARALL1226	494	6,5385528	1	serine threonine-protein kinase pim-2- like	F:RNA binding; P:RNA-dependent DNA replication; F:RNA-directed DNA polymerase activity
BJAR4Disotig01816	422	6,11380429	1	serine threonine-protein kinase sik2	P:intracellular protein kinase cascade; F:protein serine/threonine kinase activity; F:ATP binding; F:protein binding; F:magnesium ion binding; P:regulation of insulin receptor signaling pathway; C:Golgi apparatus; C:nucleus; P:protein amino acid phosphorylation
BJARALL5106	420	14,8603473	4	serine threonine-protein kinase sik3-	F:ATP binding; P:protein amino acid phosphorylation; F:protein serine/threonine kinase activity;

				like	C:cytoplasm; F:transferase activity; F:magnesium ion binding; F:nucleotide binding; F:protein binding; F:protein kinase activity; F:molecular_function; F:kinase activity; C:cellular_component; F:metal ion binding; P:biological_process
BJAR4Disotig00267	1505	6,87126677	1	set nuclear oncogene	F:protein phosphatase type 2A regulator activity; C:cytosol; C:protein complex; F:histone binding; P:negative regulation of histone acetylation; P:DNA replication; P:nucleocytoplasmic transport; P:nucleosome assembly; C:perinuclear region of cytoplasm; F:phosphoprotein phosphatase inhibitor activity; C:nucleoplasm; C:endoplasmic reticulum; P:nucleosome disassembly
BJARALL0510	450	10,3527086	1	sh3 domain-containing protein sh3p17	F:kinase activator activity; C:synaptosome; P:apoptosis; P:small GTPase mediated signal transduction; P:induction of apoptosis by extracellular signals; P:regulation of Rho protein signal transduction; C:endocytic vesicle; C:synapse; P:negative regulation of neuron apoptosis; F:Rho guanyl-nucleotide exchange factor activity; F:calcium ion binding; F:guanyl-nucleotide exchange factor activity; C:lamellipodium; P:synaptic vesicle endocytosis; C:cell junction; C:endomembrane system; P:positive regulation of protein kinase B signaling cascade; C:cytosol; C:intracellular; F:protein binding; C:plasma membrane; P:intracellular signaling pathway
BJAR4Disotig00273	1430	6,37743857	1	signal peptidase complex subunit 2 homolog	C:microsome; F:peptidase activity; P:signal peptide processing; C:integral to membrane; C:signal peptidase complex
BJARALL0413	541	4,52742359	1	signal recognition particle 54 kda protein	P:biological_process; C:cellular_component; F:GDP binding; P:response to drug; C:nucleus; F:GTPase activity; F:drug binding; F:molecular_function; F:GTP binding; F:endoplasmic reticulum signal peptide binding; F:7S RNA binding; C:signal recognition particle, endoplasmic reticulum targeting; P:protein targeting to ER; P:SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane; C:cytoplasm; F:ribonucleoprotein binding; C:nucleolus; C:nuclear speck; F:protein binding; F:RNA binding; C:ribonucleoprotein complex; P:SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane, signal sequence recognition; C:signal recognition particle; P:SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane, translocation; F:nucleotide binding; F:nucleoside-triphosphatase activity; C:cytosol
BJARALL0818	525	4,5876109	1	slc35a2 protein	C:Golgi membrane; P:UDP-galactose transport; P:galactose metabolic process; F:UDP-galactose transmembrane transporter activity
BJAR4Disotig00686	828	7,55672161	1	small subunit processome component 20 homolog	C:nucleolus; C:preribosome, small subunit precursor; P:endonucleolytic cleavage to generate mature 5'-end of SSU-rRNA from (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA); P:negative regulation of cell proliferation; C:90S preribosome; F:protein binding; C:small-subunit processome; P:endonucleolytic cleavage in 5'- ETS of tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA); C:nucleoplasm; C:cytoplasm; P:endonucleolytic cleavage in ITS1 to separate SSU-rRNA from 5.8S rRNA and LSU-rRNA from tricistronic rRNA transcript (SSU-rRNA, 5.8S rRNA, LSU-rRNA)
BJARALL3203	682	3,31110083	1	solute carrier family 17 member 9	P:transmembrane transport; C:membrane; F:transporter activity
BJARALL4783	1142	12,8074746	2	solute carrier family 25 member 3	P:transmembrane transport; C:integral to membrane; F:binding
BJARALL1814	371	7,10712261	1	solute carrier family member 6	F:anion exchanger activity; F:chloride transmembrane transporter activity; C:membrane; F:formate transmembrane transporter activity; P:bicarbonate transport; C:membrane fraction; P:formate

					trongenert, Gintegral to place membrane: Disblaride transport, Gintegral to membrane . Dissifete
					transport; Clintegral to plasma memorane; Picnioride transport; Clintegral to memorane; Pisulfate transport; Fisecondary active sulfate transmembrane transporter activity; Pitransmembrane transport: Fitransporter activity
BJAR4Disotig01619	477	16.9716535	3	sorting nexin-1-like	P:endosome to lysosome transport: C:early endosome: F:phosphoinositide binding: C:Golgi
					apparatus: F:protein binding: F:protein transporter activity: P:intracellular protein transport:
					C:endosome membrane: P:cell communication: P:endocytosis
BJARALL1316	450	9,09461956	2	spen transcriptional regulator	F:transcription factor activity; P:interspecies interaction between organisms; C:nucleus; F:nucleotide
					binding; P:negative regulation of transcription, DNA-dependent; P:Notch signaling pathway; F:RNA
					binding; P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; F:single-stranded DNA
					binding; C:nucleolus; F:transcription corepressor activity; F:protein binding; F:transcription activator
					activity; P:negative regulation of transcription
BJARALL2238	859	6,85609841	1	spen transcriptional regulator	F:transcription regulator activity; F:nucleic acid binding; C:nucleolus; F:protein binding; P:negative
					regulation of transcription
BJARALL1585	315	6,32548387	1	spen transcriptional regulator	F:transcription factor activity; P:interspecies interaction between organisms; C:nucleus; F:nucleotide
					binding; P:negative regulation of transcription, DNA-dependent; P:Notch signaling pathway; F:RNA
					binding; P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; F:single-stranded DNA
					binding; C:nucleolus; F:transcription corepressor activity; F:protein binding; F:transcription activator
					activity; P:hegative regulation of transcription; F:hucleic acid binding; F:binding; P:regulation of
PLAPDAicotic00129	620	1 25507027	2	colicing factor 1 isoform 4	transcription Ditiscue developmenti Etroposition coroniscon activity: Disell cell signaling: Etrips ion hinding:
DJANFAISOLIGUUIZO	039	4,55597657	2	splicing factor 1 isoform 4	Produce development, Fritalischption corepressor activity, Frienden signaling, Fritiender mRNA 3 ¹ -splice site
					recognition: Cribosome: Progative regulation of smooth muscle cell proliferation: Enhospholipid
					binding: Cinucleolus: Cispliceosomal complex: Piregulation of steroid biosynthetic process:
					P:maintenance of protein location in nucleus: F:RNA polymerase II transcription factor activity:
					F:transcription coactivator activity; F:sequence-specific DNA binding; P:induction of apoptosis; P:cell
					cycle process; P:primary sex determination; F:transcription factor activity; P:luteinization; F:RNA
					binding; P:positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; F:double-stranded
					DNA binding; F:chromatin binding; P:male sex determination; P:Leydig cell differentiation; F:enzyme
					binding
BJAR4Disotig01140	564	6,7960888	1	spnb3 protein	P:cell death; C:spectrin; C:cytoplasm; F:actin binding; C:neuronal cell body; F:structural constituent of
					cytoskeleton; C:cell cortex; P:actin filament capping; C:cytosol; P:vesicle-mediated transport;
					C:cytoskeleton
BJAR4Disotig01550	485	6,28707	1	sr-related ctd-associated factor 1	F:RNA binding; P:transcription from RNA polymerase II promoter; P:RNA splicing; P:mRNA processing;
BLAR4Disotig00930	657	8 0880536	1	start domain containing isoform crain	F:protein domain specific binding; C:nucleus
	577	7 05 207621	- 2	stant domain containing isororin cra_a	Cimitachandrial innar mambrana: Cicutaskalatan: Eirocantar hinding
DJARALLU/ 34	577	7,05207031	2	Stomatin - like Z	
BJAR4Disotig00500	1270	5,56597237	1	subtamily member 3	C:endoplasmic reticulum lumen; F:ATP-dependent protein binding; F:protein kinase inhibitor activity;

BJARALL4604	558	2,44359762	1	subfamily member 3	F:chaperone binding; F:heat shock protein binding; P:response to unfolded protein; F:misfolded protein binding; C:endoplasmic reticulum Sec complex; P:response to virus F:ATP-dependent protein binding; C:endoplasmic reticulum Sec complex; F:misfolded protein binding; C:cytoplasm; F:heat shock protein binding; C:endoplasmic reticulum lumen; F:chaperone binding; C:endoplasmic reticulum; P:response to unfolded protein; F:binding; F:protein binding; F:protein kinase inhibitor activity: P:response to virus
BJAR4Disotig01483	493	7,27356576	1	subfamily member gene 2	C:cytoplasm; P:spermatogenesis; F:metal ion binding; P:protein folding; F:low-density lipoprotein receptor binding; F:heat shock protein binding; P:androgen receptor signaling pathway; P:response to unfolded protein; F:ATP binding; F:unfolded protein binding; C:membrane; P:sperm motility; P:response to heat
BJAR4Disotig01826	412	7,07474392	1	succinate dehydrogenase complex subunit b	P:transport; P:succinate metabolic process; F:ubiquinone binding; F:2 iron, 2 sulfur cluster binding; C:mitochondrial respiratory chain complex II; F:metal ion binding; F:electron carrier activity; P:tricarboxylic acid cycle; F:4 iron, 4 sulfur cluster binding; F:3 iron, 4 sulfur cluster binding; P:respiratory electron transport chain; F:protein binding; F:succinate dehydrogenase (ubiquinone) activity
BJARALL1432	438	13,1046944	1	swi snf-related matrix-associated actin- dependent regulator of chromatin subfamily a-like protein 1	F:helicase activity; F:DNA-dependent ATPase activity; F:DNA helicase activity; P:DNA metabolic process; F:hydrolase activity; F:DNA binding; C:nucleus; F:nucleic acid binding; F:nucleotide binding; F:ATP binding; P:chromatin modification; P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; F:hydrolase activity, acting on acid anhydrides, in phosphorus-containing anhydrides; P:developmental growth; P:embryonic body morphogenesis; P:angiogenesis; P:cell cycle process; P:cartilage development; P:hemopoiesis; C:cellular component; P:biological process
BJARALL2445	629	5,07485716	1	swi snf-related matrix-associated actin- dependent regulator of chromatin subfamily d member 2-like	F:transcription coactivator activity; P:chromatin modification; P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; C:SWI/SNF complex
BJARALL4464	468	13,969172	3	symplekin	C:membrane; P:mRNA processing; C:nucleus; C:tight junction; C:cell junction; F:molecular_function; C:cellular_component; P:biological_process; C:plasma membrane; F:binding; P:cell adhesion; C:cytoskeleton; C:cytoplasm; C:nucleoplasm; F:protein binding
BJAR4Disotig01053	598	13,1881638	2	synaptotagmin-like protein 2-like	C:exocytic vesicle; F:Rab GTPase binding; F:zinc ion binding; F:neurexin binding; P:positive regulation of mucus secretion; C:membrane fraction; F:phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate binding; C:melanosome; P:vesicle docking during exocytosis; F:phosphatidylserine binding; P:intracellular protein transport; C:extrinsic to plasma membrane
BJARALL1700	465	4,70934432	2	synthetic construct homo sapiens clone methylmalonyl coenzyme a mutase complete cds	-
BJARALL4297	447	8,23822966	1	sytl2 protein	F:Rab GTPase binding; P:intracellular protein transport; F:protein binding; C:synaptic vesicle; C:membrane; F:zinc ion binding; P:transport; F:transporter activity
BJARALL0682	397	4,13556935	1	taeniopygia guttata golgi phosphoprotein 3-like partial mrna	-

BJAR4Disotig00785	746	8,55595752	1	taeniopygia guttata nucleosome assembly protein 1-like 4 mrna	-
BJARALL1234	474	8,81081583	2	tax1-binding protein 1 homolog	P:anti-apoptosis; P:apoptosis; F:zinc ion binding; F:identical protein binding; F:protein binding; C:intracellular
BJARALL1279	518	5,25518203	1	tbc1 domain member 10a	P:regulation of Rab GTPase activity; F:Rab GTPase activator activity; C:intracellular; F:PDZ domain binding; C:microvillus; P:biological_process; F:protein binding; F:molecular_function; C:cellular_component
BJAR4Disotig01860	295	5,4679799	1	tbc1 domain member 4	F:GTPase activator activity; P:regulation of Rab GTPase activity; C:cytoplasm; F:Rab GTPase activator activity; C:intracellular
BJARALL3741	1141	14,9317913	2	tc1-like transporase	P:DNA metabolic process; P:transcription, DNA-dependent; F:transcription regulator activity; F:DNA binding
BJARALL1321	424	6,39056087	1	t-cell immunomodulatory	C:integral to membrane; C:membrane; F:protein binding; C:extracellular region; C:plasma membrane
BJAR4Disotig00717	803	6,84099688	1	t-complex protein 1 subunit alpha	F:unfolded protein binding; P:cellular protein metabolic process; F:ATP binding; C:cytoplasm; P:protein folding; F:nucleotide binding; F:protein binding
BJARALL3078	470	5,96125256	2	tetraodon nigroviridis full-length cdna	-
BJAR4Disotig01669	471	5,06657844	1	tetraspanin 3	C:integral to membrane
BJAR4Disotig00526	1177	9,39731492	2	thioredoxin domain containing 12 (endoplasmic reticulum)	P:apoptotic chromosome condensation; C:soluble fraction; P:cell redox homeostasis; P:oxidation reduction; F:protein-disulfide reductase (glutathione) activity; F:electron carrier activity; F:DNA binding; C:mitochondrial intermembrane space; C:microsome; P:DNA fragmentation involved in apoptosis; C:endoplasmic reticulum lumen; F:protein binding; P:neuron apoptosis; F:FAD binding; P:DNA damage response, signal transduction resulting in induction of apoptosis; C:nucleus
BJARALL2662	643	4,37438392	1	thioredoxin-like 1	P:cell redox homeostasis; P:electron transport chain; C:cytoplasm; P:transport; F:disulfide oxidoreductase activity
BJAR4Disotig01633	471	12,8339363	2	tissue alpha-l-fucosidase-like	C:cytoplasm; P:glycosaminoglycan catabolic process; F:alpha-L-fucosidase activity
BJARALL0365	465	7,05866496	1	tmem67 protein	C:microtubule basal body; C:cilium; C:integral to membrane; P:negative regulation of centrosome duplication; P:cilium assembly; C:cytoplasm; C:cytoplasmic vesicle membrane; C:centrosome; C:endoplasmic reticulum membrane; F:protein binding; C:cilium membrane; C:endoplasmic reticulum; C:plasma membrane; F:unfolded protein binding; C:cytoskeleton; P:ER-associated protein catabolic process
BJARALL2213	476	5,09149604	1	tnf receptor-associated factor 2 protein	C:cytosol; P:positive regulation of T cell cytokine production; P:activation of pro-apoptotic gene products; F:zinc ion binding; F:signal transducer activity; P:activation of NF-kappaB-inducing kinase activity; P:protein complex assembly; F:protein binding; P:positive regulation of interleukin-2 production; P:positive regulation of T cell activation
BJARALL2691	657	26,9401339	7	trafficking kinesin-binding protein 1- like	P:protein targeting; C:early endosome; C:nucleus; C:mitochondrion; F:GABA receptor binding; P:regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; P:protein amino acid O-linked glycosylation; F:protein binding; P:endosome to lysosome transport; P:biological_process;

					C:cellular_component
BJAR4Disotig00679	839	6,47044288	1	translocon-associated protein subunit beta-like	C:integral to membrane; C:endoplasmic reticulum membrane; F:receptor activity
BJARALL3790	1854	4,50771057	1	transmembrane emp24 domain trafficking protein 2	C:COPI coated vesicle membrane; C:microsome; C:ER-Golgi intermediate compartment; F:protein binding; P:vesicle targeting; P:intracellular protein transport; C:integral to membrane; C:zymogen granule membrane
BJARALL1103	1126	12,3246531	3	transmembrane emp24-like trafficking protein 10	P:response to acid; C:integral to membrane; P:regulated secretory pathway; C:Golgi membrane; C:COPI-coated vesicle; C:ER-Golgi intermediate compartment; P:response to alkaloid; F:protein complex binding; P:vesicle targeting, to, from or within Golgi; C:melanosome; C:microsome; P:Golgi organization; C:cis-Golgi network; P:kidney development; C:zymogen granule membrane; C:gamma- secretase complex; P:intracellular protein transport
BJARALL1384	506	7,41244053	1	transmembrane protein 127	C:integral to membrane
BJARALL4055	442	8,72419264	1	trna (adenine-n -)-methyltransferase non-catalytic subunit trm6-like	-
BJARALL2246	709	3,86776162	1	tryptophanyl-trna synthetase	P:auxin biosynthetic process; C:soluble fraction; F:tryptophan-tRNA ligase activity; P:negative regulation of cell proliferation; P:tryptophanyl-tRNA aminoacylation; F:ATP binding; F:protein binding; P:regulation of angiogenesis; C:cytoplasm
BJARALL2263	567	4,33167724	1	tubb2b protein	P:microtubule-based movement; F:GTP binding; P:protein polymerization; F:structural molecule activity; F:GTPase activity; C:microtubule
BJARALL3277	732	5,11665994	1	tuberin isoform 4	-
BJARALL0851	453	3,143535	1	tumor necrosis factor member 13	C:external side of plasma membrane; P:immunoglobulin production in mucosal tissue; F:receptor binding; P:positive regulation of germinal center formation; P:positive regulation of cell proliferation; C:extracellular region; P:positive regulation of isotype switching to IgA isotypes
BJAR4Disotig01159	555	17,2067179	2	tumor suppressor candidate 3	P:cell redox homeostasis; C:mitochondrion
BJARALL0705	518	5,33644773	1	type ii cytoskeletal cochleal-like isoform 2	C:keratin filament; F:structural molecule activity; C:intermediate filament; P:intermediate filament cytoskeleton organization; P:epithelial cell differentiation; P:cytoskeleton organization
BJARALL4810	766	4,06519971	1	tyrosine 3 tryptophan 5 - monooxygenase activation zeta polypeptide-like	P:neuron migration; P:hippocampus development; C:melanosome; P:anti-apoptosis; F:monooxygenase activity; F:protein domain specific binding; P:cerebral cortex development; C:protein complex; P:signal transduction; P:response to drug; C:postsynaptic density; P:histamine secretion by mast cell; F:protein complex binding; F:enzyme binding; F:transcription factor binding; C:soluble fraction; C:nucleus; P:protein targeting to mitochondrion; P:negative regulation of protein amino acid dephosphorylation; C:mitochondrion
BJARALL2938	416	5,10824438	1	tyrosine-protein kinase jak1	F:transferase activity; P:auxin biosynthetic process; P:response to antibiotic; C:membrane; P:peptidyl- tyrosine phosphorylation; C:nucleus; F:Janus kinase activity; C:cytoplasm; F:nucleotide binding; F:non-membrane spanning protein tyrosine kinase activity; F:ATP binding; P:enzyme linked receptor protein signaling pathway; P:intracellular protein kinase cascade; F:protein binding; P:cytokine-

					mediated signaling pathway; C:cytoskeleton; P:protein amino acid phosphorylation; F:kinase activity; F:protein kinase activity; F:receptor activity; F:protein tyrosine kinase activity; F:growth hormone receptor binding				
BJARALL1108	967	4,20841813	1	u4 u6 small nuclear ribonucleoprotein prp3	P:mRNA processing; C:spliceosomal complex; P:RNA splicing; C:Cajal body; P:biological_process; F:protein binding; C:cellular_component; C:nuclear speck; C:nucleus				
BJARALL0267	494	6,00737443	1	ubiquitin associated protein 2	-				
BJARALL1201	1103	6,26171891	1	ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 36-like	-				
BJAR4Disotig01824	414	17,8153685	3	ubiquitin conjugation factor e4 a-like	F:ubiquitin-ubiquitin ligase activity; C:ubiquitin ligase complex; F:protein binding; P:protein ubiquitination; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:cytoplasm; P:protein polyubiquitination; F:ubiquitin-protein ligase activity				
BJARALL1673	459	8,19475615	1	ubiquitin specific peptidase isoform cra_b	F:protein binding; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; F:ubiquitin thiolesterase activity; C:nucleus; F:zinc ion binding; P:spliceosome assembly				
BJAR4Disotig01008	619	4,67742859	1	ubiquitin-conjugating enzyme e2d 3 (ubc4 5 yeast) isoform cra_a	F:protein binding; P:protein ubiquitination; P:BMP signaling pathway; P:proteasomal ubiquitin- dependent protein catabolic process; F:ATP binding; F:ubiquitin-protein ligase activity; P:regulation of protein metabolic process				
BJARALL4238	436	5,15915711	1	ubiquitin-protein ligase e3b-like	F:ligase activity; F:acid-amino acid ligase activity; C:intracellular; P:protein modification process				
BJAR4Disotig00798	732	3,89687902	1	ubx domain containing 8	C:endoplasmic reticulum; P:response to unfolded protein; F:protein binding; C:lipid particle				
BJAR4Disotig01308	517	23,4527379	7	udp-n-acetylglucosaminepeptide n- acetylglucosaminyltransferase 110 kda subunit	F:binding				
BJARALL0931	624	4,1082177	1	udp-n-acetylhexosamine pyrophosphorylase	F:sugar binding; P:UDP-N-acetylglucosamine metabolic process; C:cytosol; F:UDP-N- acetylglucosamine diphosphorylase activity				
BJAR4Disotig01606	480	26,9290108	6	uhrf1-binding protein 1-like	-				
BJARALL0900	748	15,1997353	3	uncharacterized protein c17orf56 homolog	C:integral to membrane; C:membrane				
BJARALL2006	340	12,0380333	2	vacuolar protein sorting-associated protein 33a-like	P:platelet formation; C:early endosome; C:late endosome; C:perinuclear region of cytoplasm; C:HOPS complex; P:melanosome localization; P:regulation of developmental pigmentation; P:pigmentation; P:vesicle docking during exocytosis; F:protein binding; P:vesicle-mediated transport; P:lysosome localization				
BJAR4Disotig00601	972	5,58599385	1	vanin 1	F:hydrolase activity, acting on carbon-nitrogen (but not peptide) bonds, in linear amides; P:nitrogen compound metabolic process				
BJARALL4541	760	6,22407331	1	v-type proton atpase catalytic subunit a-like	P:ATP synthesis coupled proton transport; P:ion transport; F:hydrolase activity; C:mitochondrion; P:ATP metabolic process; F:hydrogen ion transporting ATP synthase activity, rotational mechanism; F:nucleotide binding; F:ATP binding; F:proton-transporting ATPase activity, rotational mechanism; C:cytosol; P:proton transport; C:plasma membrane; C:proton-transporting V-type ATPase, V1				

					domain; F:hydrolase activity, acting on acid anhydrides, catalyzing transmembrane movement of substances
BJARALL2174	531	5,30908134	2	v-type proton atpase subunit c 2-like	P:ATP synthesis coupled proton transport; C:proton-transporting V-type ATPase, V1 domain; F:hydrolase activity, acting on acid anhydrides, catalyzing transmembrane movement of substances
BJARALL0969	495	21,6583862	5	wdr90 protein	P:biological_process; C:cellular_component
BJAR4Disotig00229	562	21,6684599	3	xenopus tropicalis oocyte zinc finger mrna	-
BJAR4Disotig00283	1120	4,0075001	1	xenopus tropicalis oocyte zinc finger mrna	-
BJAR4Disotig00230	484	2,02464966	1	xenopus tropicalis oocyte zinc finger mrna	-
BJAR4Disotig00396	2976	5,37337817	2	x-prolyl aminopeptidase (aminopeptidase p) membrane-bound	C:membrane; F:exopeptidase activity
BJARALL4613	818	6,10179289	1	zinc finger protein 167-like	-
BJARALL2198	284	6,40373728	1	zinc finger protein 257	P:regulation of transcription, DNA-dependent; F:metal ion binding; F:zinc ion binding; C:intracellular; F:DNA binding; C:nucleus
BJARALL0621	461	3,67551785	1	zinc finger protein 330-like	C:nucleus; F:zinc ion binding
BJARALL1105	647	6,49751586	1	zinc finger protein 618	F:zinc ion binding; F:protein dimerization activity; C:intracellular; F:metal ion binding; P:regulation of transcription; C:nucleus; F:DNA binding
BJARALL4320	545	4,94556144	1	zinc finger protein 726-like	-
BJARALL3304	435	8,62725717	2	zinc transporter zip6-like	C:membrane; P:transmembrane transport; P:metal ion transport; F:metal ion transmembrane transporter activity; P:zinc ion transport; C:integral to membrane; C:endoplasmic reticulum; P:ion transport; C:plasma membrane

Apêndice 5: Análise de enriquecimento de termos do GO dos genes mais expressos na glândula de veneno tratada com reserpina (4dR). Análise realizada no Blast2go. Foram considerados significativamente enriquecidos termos com p-value <0,005.

GO-ID	Term	Category	P-Value
GO:0044445	cytosolic part	С	0,001
GO:0006414	translational elongation	Р	0,002
GO:0006412	translation	Р	0,009
GO:0003735	structural constituent of ribosome	F	0,011
GO:0007179	transforming growth factor beta receptor signaling pathway	Р	0,013
GO:0030968	endoplasmic reticulum unfolded protein response	Р	0,016
GO:0034620	cellular response to unfolded protein	Р	0,016
GO:0022627	cytosolic small ribosomal subunit	С	0,017
GO:0008303	caspase complex	С	0,018
GO:0005845	mRNA cap binding complex	С	0,018
GO:0034518	RNA cap binding complex	С	0,018
GO:0000340	RNA 7-methylguanosine cap binding	F	0,018
GO:0015501	glutamate:sodium symporter activity	F	0,018
GO:0005416	cation:amino acid symporter activity	F	0,018
GO:0005283	sodium:amino acid symporter activity	F	0,018
GO:0016595	glutamate binding	F	0,018
GO:0040019	positive regulation of embryonic development	Р	0,018
GO:0006987	activation of signaling protein activity involved in unfolded protein response	Р	0,018
GO:0032069	regulation of nuclease activity	Р	0,018

GO:0032075	positive regulation of nuclease activity	Р	0,018
GO:0034975	protein folding in endoplasmic reticulum	Р	0,018
GO:0060904	regulation of protein folding in endoplasmic reticulum	Р	0,018
GO:0021589	cerebellum structural organization	Р	0,018
GO:0048532	anatomical structure arrangement	Р	0,018
GO:0021577	hindbrain structural organization	Р	0,018
GO:0034644	cellular response to UV	Ρ	0,018
GO:0032788	saturated monocarboxylic acid metabolic process	Р	0,018
GO:0001676	long-chain fatty acid metabolic process	Ρ	0,018
GO:0032789	unsaturated monocarboxylic acid metabolic process	Р	0,018
GO:0008535	respiratory chain complex IV assembly	Р	0,018
GO:0006784	heme a biosynthetic process	Р	0,018
GO:0033014	tetrapyrrole biosynthetic process	Р	0,018
GO:0033013	tetrapyrrole metabolic process	Р	0,018
GO:0006778	porphyrin metabolic process	Р	0,018
GO:0042168	heme metabolic process	Р	0,018
GO:0006779	porphyrin biosynthetic process	Р	0,018
GO:0046160	heme a metabolic process	Р	0,018
GO:0006783	heme biosynthetic process	Р	0,018
GO:0006408	snRNA export from nucleus	Р	0,018
GO:0051030	snRNA transport	Ρ	0,018
GO:0046833	positive regulation of RNA export from nucleus	Р	0,018

GO:0032241	positive regulation of nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid transport	Р	0,018
GO:0001702	gastrulation with mouth forming second	Р	0,018
GO:0070779	D-aspartate import	Р	0,018
GO:0042940	D-amino acid transport	Р	0,018
GO:0070777	D-aspartate transport	Р	0,018
GO:0051938	L-glutamate import	Р	0,018
GO:0043090	amino acid import	Р	0,018
GO:0015807	L-amino acid transport	Р	0,018
GO:0043092	L-amino acid import	Р	0,018
GO:0022626	cytosolic ribosome	С	0,018
GO:0071445	cellular response to protein stimulus	Р	0,018
GO:0015935	small ribosomal subunit	С	0,022
GO:0005840	ribosome	С	0,022
GO:0033279	ribosomal subunit	С	0,024
GO:0071216	cellular response to biotic stimulus	Р	0,025
GO:0034976	response to endoplasmic reticulum stress	Р	0,025
GO:0005886	plasma membrane	С	0,027
GO:0043027	caspase inhibitor activity	F	0,036
GO:0043028	caspase regulator activity	F	0,036
GO:0004869	cysteine-type endopeptidase inhibitor activity	F	0,036
GO:0016289	CoA hydrolase activity	F	0,036
GO:0016291	acyl-CoA thioesterase activity	F	0,036

GO:0005160	transforming growth factor beta receptor binding	F	0,036
GO:0004756	selenide, water dikinase activity	F	0,036
GO:0016781	phosphotransferase activity, paired acceptors	F	0,036
GO:0071535	RING-like zinc finger domain binding	F	0,036
GO:0017153	sodium:dicarboxylate symporter activity	F	0,036
GO:0005310	dicarboxylic acid transmembrane transporter activity	F	0,036
GO:0005343	organic acid:sodium symporter activity	F	0,036
GO:0042149	cellular response to glucose starvation	Р	0,036
GO:0021575	hindbrain morphogenesis	Р	0,036
GO:0021587	cerebellum morphogenesis	Р	0,036
GO:0006123	mitochondrial electron transport, cytochrome c to oxygen	Р	0,036
GO:0045995	regulation of embryonic development	Р	0,036
GO:0006370	mRNA capping	Р	0,036
GO:000038	very-long-chain fatty acid metabolic process	Р	0,036
GO:0016574	histone ubiquitination	Р	0,036
GO:0006835	dicarboxylic acid transport	Р	0,036
GO:0046831	regulation of RNA export from nucleus	Р	0,036
GO:0032239	regulation of nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid transport	Р	0,036
GO:0006984	ER-nucleus signaling pathway	Р	0,036
GO:0007178	transmembrane receptor protein serine/threonine kinase signaling pathway	Р	0,040
GO:0003824	catalytic activity	F	0,045

Apêndice 6: Tabela da análise de enriquecimento de termos do GO dos genes menos expressos na glândula de veneno tratada com reserpina (4dR). Análise realizada no Blast2go. Foram considerados significativamente enriquecidos termos com p-value <0,005.

GO-ID	Term	Category	P-Value
GO:0045806	negative regulation of endocytosis	Р	0,0007
GO:0030100	regulation of endocytosis	Р	0,0007
GO:0051129	negative regulation of cellular component organization	Р	0,0008
GO:0060627	regulation of vesicle-mediated transport	Р	0,0009
GO:0030850	prostate gland development	Р	0,0041
GO:0032787	monocarboxylic acid metabolic process	Р	0,0062
GO:0044291	cell-cell contact zone	С	0,0067
GO:0014704	intercalated disc	С	0,0067
GO:0005853	eukaryotic translation elongation factor 1 complex	С	0,0067
GO:0061024	membrane organization	Р	0,0079
GO:0016044	cellular membrane organization	Р	0,0079
GO:0030507	spectrin binding	F	0,0099
GO:0050678	regulation of epithelial cell proliferation	Р	0,0099
GO:0045454	cell redox homeostasis	Р	0,0131
GO:0010324	membrane invagination	Р	0,0131
GO:0006897	endocytosis	Р	0,0131
GO:0043624	cellular protein complex disassembly	Р	0,0151
GO:0043241	protein complex disassembly	Р	0,0151
GO:0051128	regulation of cellular component organization	Р	0,0173
GO:0048259	regulation of receptor-mediated endocytosis	Р	0,0179
GO:0006629	lipid metabolic process	Р	0,0194
GO:0034623	cellular macromolecular complex disassembly	Р	0,0222

GO:0032984	macromolecular complex disassembly	Р	0,0222
GO:0003746	translation elongation factor activity	F	0,0226
GO:0050673	epithelial cell proliferation	Р	0,0226
GO:0006898	receptor-mediated endocytosis	Р	0,0226
GO:0051051	negative regulation of transport	Р	0,0249
GO:0009536	plastid	С	0,0269
GO:0030904	retromer complex	С	0,0269
GO:0019008	molybdopterin synthase complex	С	0,0269
GO:0051800	phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate 3-phosphatase activity	F	0,0269
GO:0051717	inositol-1,3,4,5-tetrakisphosphate 3-phosphatase activity	F	0,0269
GO:0004438	phosphatidylinositol-3-phosphatase activity	F	0,0269
GO:0005161	platelet-derived growth factor receptor binding	F	0,0269
GO:0016314	phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase activity	F	0,0269
GO:0042577	lipid phosphatase activity	F	0,0269
GO:0034594	phosphatidylinositol trisphosphate phosphatase activity	F	0,0269
GO:0004832	valine-tRNA ligase activity	F	0,0269
GO:0003854	3-beta-hydroxy-delta5-steroid dehydrogenase activity	F	0,0269
GO:0004534	5'-3' exoribonuclease activity	F	0,0269
GO:0004605	phosphatidate cytidylyltransferase activity	F	0,0269
GO:0070567	cytidylyltransferase activity	F	0,0269
GO:0031490	chromatin DNA binding	F	0,0269
GO:0030366	Mo-molybdopterin synthase activity	F	0,0269
GO:0004365	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) activity	F	0,0269
GO:0008943	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity	F	0,0269
GO:0050765	negative regulation of phagocytosis	Р	0,0269
GO:0051895	negative regulation of focal adhesion assembly	Р	0,0269
GO:0090109	regulation of cell-substrate junction assembly	Р	0,0269
GO:0051893	regulation of focal adhesion assembly	Р	0,0269

GO:0002902	regulation of B cell apoptosis	Р	0,0269
GO:0070228	regulation of lymphocyte apoptosis	Р	0,0269
GO:0001783	B cell apoptosis	Р	0,0269
GO:0033198	response to ATP	Р	0,0269
GO:0046855	inositol phosphate dephosphorylation	Р	0,0269
GO:0046838	phosphorylated carbohydrate dephosphorylation	Р	0,0269
GO:0006020	inositol metabolic process	Р	0,0269
GO:0046685	response to arsenic	Р	0,0269
GO:0018401	peptidyl-proline hydroxylation to 4-hydroxy-L-proline	Р	0,0269
GO:0018208	peptidyl-proline modification	Р	0,0269
GO:0019511	peptidyl-proline hydroxylation	Р	0,0269
GO:0019471	4-hydroxyproline metabolic process	Р	0,0269
GO:0048663	neuron fate commitment	Р	0,0269
GO:0007221	positive regulation of transcription of Notch receptor target	Р	0,0269
GO:0007386	compartment pattern formation	Р	0,0269
GO:0002051	osteoblast fate commitment	Р	0,0269
GO:0046530	photoreceptor cell differentiation	Р	0,0269
GO:0046533	negative regulation of photoreceptor cell differentiation	Р	0,0269
GO:0046532	regulation of photoreceptor cell differentiation	Р	0,0269
GO:0060768	regulation of epithelial cell proliferation involved in prostate gland development	Р	0,0269
GO:0014807	regulation of somitogenesis	Р	0,0269
GO:0060528	secretory columnal luminar epithelial cell differentiation involved in prostate glandular acinus development	Р	0,0269
GO:0042640	anagen	Р	0,0269
GO:0031069	hair follicle morphogenesis	Р	0,0269
GO:0048730	epidermis morphogenesis	Р	0,0269
GO:0006777	Mo-molybdopterin cofactor biosynthetic process	Р	0,0269
GO:0051189	prosthetic group metabolic process	Р	0,0269
GO:0043545	molybdopterin cofactor metabolic process	Р	0,0269

GO:0032324	molybdopterin cofactor biosynthetic process	Р	0,0269
GO:0019720	Mo-molybdopterin cofactor metabolic process	Р	0,0269
GO:0000740	nuclear membrane fusion	Р	0,0269
GO:0090174	organelle membrane fusion	Р	0,0269
GO:0051044	positive regulation of membrane protein ectodomain proteolysis	Р	0,0269
GO:0051043	regulation of membrane protein ectodomain proteolysis	Р	0,0269
GO:000042	protein targeting to Golgi	Р	0,0269
GO:0034067	protein localization in Golgi apparatus	Р	0,0269
GO:0000301	retrograde transport, vesicle recycling within Golgi	Р	0,0269
GO:0043066	negative regulation of apoptosis	Р	0,0281
GO:0043069	negative regulation of programmed cell death	Р	0,0298
GO:0008202	steroid metabolic process	Р	0,0308
GO:0060548	negative regulation of cell death	Р	0,0316
GO:0006094	gluconeogenesis	Р	0,0334
GO:0022411	cellular component disassembly	Р	0,0340
GO:0019319	hexose biosynthetic process	Р	0,0394
GO:0006090	pyruvate metabolic process	Р	0,0394
GO:0048608	reproductive structure development	Р	0,0394

Apêndice 7: Tabela dos genes de toxinas identificados na análise transcriptômica por RNA-seq da glândula de veneno normal (4d) e da glândula de veneno tratada com reserpina (4dR).

Seq. Name	Seq. Length	Difference (normalized values)	Fold Change (normalized values)	P-value	Normal expression	Normal reads	Reserpin expression	Reserpin reads	Seq. Description
BJAR4Dcontig00370	755	-100,657287	-19,11681225	1,1102E-16	106,213302	12	5,55601535	1	c-type lectin

BJAR4Disotig01243	529	-85,70168946	-8,496360998	3,6637E-15	97,1341284	16	11,4324389	3	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha
BJARALL4797	486	-15,95356619	-7,965338436	0,00043028	18,2439884	5	2,29042226	1	bothrops jararacussu bradykinin- potentiating c-type natriuretic peptide precursor isoform 1 partial cds
BJARALL1058	2865	-16,87444286	-7,965338436	0,00029349	19,2970736	5	2,42263072	1	l-amino acid oxidase
BJARALL4499	329	-10,72897296	-4,779203062	0,00807579	13,5679241	3	2,83895117	1	aminopeptidase n
BJARALL0041	1450	-1046,568102	-4,03273706	0	1391,65839	443	345,090287	175	serine proteinase isoform 8
BJAR4Disotig00005	2200	-340,2154607	-3,230387255	0	492,751959	73	152,536498	36	venom thrombin-like enzyme
BJAR4Disotig01668	473	-10,55945062	-3,186135374	0,01885359	15,3896413	2	4,83019064	1	metalloprotease bojumet ii
BJAR4Dcontig00144	1834	-13,13293375	-3,186135374	0,00881808	19,1403082	2	6,00737443	1	vm3_agkpl ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin vmp- iii short= -iii flags: precursor
BJAR4Dcontig00076	925	-9,671975428	-3,186135374	0,02460482	14,0962099	2	4,42423445	1	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds
BJAR4Dcontig01024	534	-23,83169242	-2,787868453	0,00079564	37,1613602	7	13,3296677	4	<pre>gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta</pre>
BJARALL2947	196	-20,21268439	-2,5489083	0,00297327	33,2623171	8	13,0496327	5	phospholipase b-like 2-like
BJAR4Dcontig00142	928	-6,1676912	-2,389601531	0,11179244	10,6061515	6	4,43846028	4	metalloprotease bojumet ii
BJAR4Disotig00002	2442	-269,0011609	-2,275810982	3,1086E-15	479,848351	90	210,84719	63	venom thrombin-like enzyme
BJAR4Dcontig00214	630	-457,7253702	-2,138638813	0	859,718843	98	401,993472	73	mp_iii3 svmp precursor
BJAR4Disotig00275	1682	-220,796079	-2,092853628	3,1086E-15	422,832357	67	202,036278	51	venom nerve growth factor precursor
BJAR4Disotig00453	1612	-164,7769211	-2,037644716	5,973E-14	323,5759	55	158,798979	43	serine protease
BJAR4Dcontig00044	1273	-457,6507197	-1,734388208	0	1080,82347	135	623,172751	124	mp_iia svmp precursor
BJAR4Dcontig00333	570	-672,2035348	-1,721446768	0	1603,94731	295	931,743774	273	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor
BJAR4Dcontig00014	893	-332,3296699	-1,658987729	0	836,632945	151	504,303275	145	metalloprotease bojumet ii
BJAR4Disotig00003	2444	-55,9277509	-1,623125568	0,00026522	145,681331	54	89,7535806	53	venom thrombin-like enzyme
-------------------	------	--------------	--------------	------------	------------	-----	------------	-----	---
BJAR4Disotig00012	2175	-2,447783501	-1,593067687	0,45431291	6,57510919	2	4,12732569	2	venom thrombin-like enzyme
BJAR4Disotig01327	515	-3,691296762	-1,593067687	0,35816564	9,91537007	1	6,22407331	1	gloydius blomhoffi brevicaudus mrna for aminopeptidase complete cds
BJAR4Disotig00463	1507	-1,31006905	-1,593067687	0,58410939	3,51903959	1	2,20897054	1	crvp_agkpi ame: full=piscivorin flags: precursor
BJAR4Disotig00010	2173	-4,675017981	-1,593067687	0,30109331	12,557791	3	7,88277305	3	venom thrombin-like enzyme
BJAR4Disotig01684	471	-3,481960462	-1,593067687	0,37216306	9,35306175	1	5,87110129	1	sistrurus catenatus edwardsi serine proteinase isoform 12 3 utr
BJARALL4270	1357	-4,012978398	-1,593067687	0,33802699	10,7794546	3	6,76647621	3	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha
BJAR4Disotig00119	2248	-5,308233673	-1,593067687	0,27050158	14,2587022	2	8,95046853	2	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds
BJAR4Disotig00311	1235	-5,66756026	-1,593067687	0,25487112	15,2239067	2	9,5563464	2	vascular endothelial growth factor precursor
BJAR4Disotig00006	2200	-3,392186159	-1,593067687	0,3783999	9,11191467	1	5,71972851	1	venom thrombin-like enzyme
BJAR4Dcontig00013	1024	-363,3937217	-1,489030614	0	1106,48365	229	743,089924	245	jararhagin-c=28 kda disintegrin homolog
BJAR4Dcontig00204	815	-16,77683833	-1,433760918	0,08370329	55,4544545	9	38,6776162	10	vmber_boter ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin berythractivase ame: full=ery1 flags: precursor
BJAR4Disotig01693	465	-39,02097255	-1,412037268	0,00978626	133,723504	39	94,7025319	44	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114
BJARALL2417	441	-3,162680228	-1,327556406	0,50465524	12,8180561	5	9,6553759	6	crotalus adamanteus serine proteinase 3 complete cds
BJAR4Disotig00817	726	-12,58551101	-1,327556406	0,18314118	51,0079347	5	38,4224237	6	venom dipeptidylpeptidase iv
BJAR4Dcontig00743	964	-14,94447701	-1,218228231	0,22513313	83,4254289	13	68,4809519	17	sistrurus catenatus edwardsi serine proteinase isoform 12 3 utr
BJAR4Disotig00001	2442	-87,58933515	-1,178611053	0,00721165	577,980795	91	490,39146	123	venom thrombin-like enzyme
BJAR4Dcontig00597	716	-57,33227384	-1,172674825	0,03247933	389,356781	106	332,024508	144	sistrurus catenatus edwardsi serine proteinase isoform 12 3 utr

BJARALL3967	572	-7,158116269	-1,131916515	0,50559215	61,420589	27	54,2624727	38	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha
BJAR4Disotig00008	2202	-26,27210764	-1,111442572	0,23838662	262,017811	60	235,745703	86	venom thrombin-like enzyme
BJAR4Dcontig00197	1121	-47,0230487	-1,086516211	0,16141679	590,54025	148	543,517202	217	vmhf3_botja ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin hf3 flags: precursor
BJAR4Disotig00276	975	-0,500520855	-1,062045125	0,90232467	8,56756652	2	8,06704567	3	venom nerve growth factor precursor
BJAR4Disotig00120	1823	-1,118184889	-1,062045125	0,85445019	19,1403082	2	18,0221233	3	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds
BJAR4Dcontig00155	733	-77,23624449	-1,062045125	0,12494712	1322,07611	330	1244,83986	495	mp_iii1 svmp precursor
BJAR4Dcontig00117	1414	-0,572945082	-1,062045125	0,89553388	9,80727387	2	9,23432879	3	metalloproteinase vmp-iii precursor
BJAR4Dcontig00595	562	-13,77441498	-1,025497013	0,67627738	554,010829	159	540,236414	247	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds
BJAR4Dcontig00295	572	-0,343895662	-1,013770346	0,96131833	25,3175348	7	24,9736392	11	ixa_trifl ame: full=coagulation factor ix-binding protein subunit a short=ix-bp a
BJAR4Dcontig00177	841	0,612280276	1,046199531	0,90639704	13,2529545	3	13,8652347	5	vmhf3_botja ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin hf3 flags: precursor
BJAR4Dcontig00156	1133	48,94498686	1,065471627	0,21114812	747,575536	76	796,520523	129	mp_iii3 svmp precursor
BJAR4Dcontig00401	536	28,01282156	1,156973599	0,15295182	178,455624	51	206,468446	94	b chain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus
BJAR4Dcontig00012	1116	126,9957709	1,192246177	0,0008101	660,589319	149	787,58509	283	metalloproteinase vmp-iii precursor
BJAR4Dcontig00137	1347	21,10321417	1,217395818	0,15010235	97,0727699	33	118,175984	64	metalloproteinase vmp-iii precursor
BJAR4Dcontig00136	1420	69,71972812	1,255439437	0,00488784	272,940345	47	342,660074	94	metalloproteinase vmp-iii precursor
BJAR4Dcontig00139	1046	1,21524567	1,255439437	0,7106387	4,75747083	1	5,9727165	2	metalloproteinase vmp-iii precursor
BJARPAisotig00108	806	0,713639467	1,255439437	0,77618159	2,79377169	1	3,50741116	2	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds
BJAR4Dcontig00216	1575	2,732660534	1,255439437	0,57797219	10,6978804	2	13,4305409	4	metalloproteinase 6

BJAR4Dcontig00188	777	602,36066	1,513178659	2,2204E-16	1173,78353	302	1776,14419	728	metalloproteinase 3
BJAR4Dcontig00138	1111	205,807942	1,548375305	2,5437E-11	375,304905	60	581,112847	148	metalloproteinase vmp-iii precursor
BJAR4Dcontig00141	779	130,0043902	1,569299296	7,6575E-08	228,3586	30	358,36299	75	vm3_agkpl ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin vmp- iii short= -iii flags: precursor
BJAR4Dcontig00557	1191	303,1240937	1,582268712	1,7764E-15	520,591417	121	823,715511	305	vspl_botas ame: full=venom serine proteinase-like flags: precursor
BJAR4Disotig01165	555	177,7285376	1,734488696	4,4929E-12	241,975865	38	419,704403	105	mmhb_agkha ame: full=mamushigin subunit beta flags: precursor
BJAR4Disotig00022	696	29,26903755	1,769028297	0,00434661	38,0597667	11	67,3288042	31	phospholipase a2
BJAR4Dcontig00623	1161	109,6063048	1,820387183	1,5883E-08	133,603141	30	243,209446	87	crotalus adamanteus serine proteinase 3 complete cds
BJAR4Dcontig00762	820	12,96637412	1,883159155	0,04624481	14,6818091	2	27,6481832	6	vsp_botin ame: full=serine proteinase bits01a flags: precursor
BJAR4Dcontig00585	2167	17,75472305	2,144709038	0,0110051	15,5102497	12	33,2649728	41	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds
BJAR4Disotig01229	530	13,46039629	2,197019014	0,02475833	11,2449311	2	24,7053274	7	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor
BJAR4Dcontig00174	1234	3,301890751	2,510878874	0,23323937	2,18541063	1	5,48730138	4	metalloproteinase 10
BJAR4Dcontig00292	623	55,94531393	2,667808803	4,5286E-07	33,5442011	4	89,4895151	17	<pre>lec1_sisca ame: full=c-type lectin isoform 1 flags: precursor</pre>
BJAR4Dcontig00693	615	61,90402958	2,869575856	4,484E-08	33,1112693	7	95,0152989	32	bothrops jararaca bradykinin- potentiating c-type natriuretic peptide complete cds
BJAR4Dcontig00031	650	41,41431931	2,981668662	5,5996E-06	20,8987103	4	62,3130296	19	metalloproteinase 5
BJAR4Dcontig00550	1795	9,797493742	3,138598592	0,02443791	4,58126821	1	14,378762	5	vspl_botas ame: full=venom serine proteinase-like flags: precursor
BJAR4Dcontig00023	618	7,684308817	3,138598592	0,04628696	3,59315154	1	11,2774604	5	vmbo2_botja ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin bothrojarin-2
BJAR4Dcontig00554	820	8,012728515	5,649477466	0,01792958	1,72336108	1	9,7360896	9	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds
BJAR4Dcontig00752	768	50,19597277	7,114156809	7,6944E-10	8,2097948	3	58,4057676	34	vsp3_botja ame: full=venom serine proteinase a flags: precursor

BJAR4Disotig00009	2173	31,51938958	8,160356339	6,9007E-07	4,40193031	2	35,9213199	26	venom thrombin-like enzyme
BJAR4Dcontig00025	859	25,63516201	8,160356339	7,5781E-06	3,58015171	1	29,2153137	13	vmber_boter ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin berythractivase ame: full=ery1 flags: precursor
BJAR4Dcontig00058	803	65,11608996	8,997315964	5,2713E-13	8,142243	3	73,258333	43	vmhf3_botja ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin hf3 flags: precursor
BJAR4Disotig00304	742	18,89946804	#DIV/0!	1,3766E-05	0	0	18,899468	3	aminopeptidase a
BJARALL4945	947	1,537530981	#DIV/0!	0,21498393	0	0	1,53753098	1	botb_botja ame: full=botrocetin subunit beta ame: full=platelet coagglutinin
BJARALL1126	606	-29,74611022	#DIV/0!	4,9137E-08	29,7461102	3	0	0	gloydius blomhoffi brevicaudus dpp4a mrna for dipeptidylpeptidase complete cds
BJAR4Disotig00019	859	-10,73268908	#DIV/0!	0,00105227	10,7326891	1	0	0	pa21_botin ame: full=phospholipase a2 bitp01a ame: full= -i ame: full=phosphatidylcholine 2- acylhydrolase flags: precursor
BJAR4Disotig00017	1084	5,401413185	#DIV/0!	0,02011877	0	0	5,40141318	1	phospholipase a2
BJAR4Disotig00021	811	4,430545765	#DIV/0!	0,03529919	0	0	4,43054577	1	phospholipase a2
BJAR4Disotig01639	476	-44,97972423	#DIV/0!	1,9805E-11	44,9797242	4	0	0	tsu21903trimeresurus stejnegeri venom plasminogen activator precursor (tsv-pa) complete cds
BJAR4Disotig00110	3182	20,84437974	#DIV/0!	4,9759E-06	0	0	20,8443797	3	serine proteinase isoform 7
BJAR4Disotig00112	3199	-18,60063784	#DIV/0!	1,6102E-05	18,6006378	2	0	0	vsp3_botja ame: full=venom serine proteinase a flags: precursor
BJAR4Dcontig00750	784	14,30151611	#DIV/0!	0,00015565	0	0	14,3015161	6	sistrurus catenatus edwardsi serine proteinase isoform 12 3 utr
BJARALL1183	473	12,78112173	#DIV/0!	0,00034998	0	0	12,7811217	2	crotalus adamanteus serine proteinase 5 complete cds
BJAR4Disotig00111	3199	-12,52599915	#DIV/0!	0,00040116	12,5259992	1	0	0	vsp3_botja ame: full=venom serine proteinase a flags: precursor
BJAR4Disotig00195	494	-11,53326262	#DIV/0!	0,00068337	11,5332626	1	0	0	crotalus adamanteus serine proteinase 3 complete cds

BJAR4Disotig00007	2202	-11,34809556	#DIV/0!	0,00075499	11,3480956	1	0	0	venom thrombin-like enzyme
BJARALL1203	1783	11,19211741	#DIV/0!	0,00082118	0	0	11,1921174	2	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds
BJAR4Dcontig00751	606	10,18299207	#DIV/0!	0,00141702	0	0	10,1829921	4	vsp12_botja ame: full=venom serine proteinase hs112 flags: precursor
BJAR4Disotig00108	3607	9,912167813	#DIV/0!	0,00164146	0	0	9,91216781	3	serine proteinase isoform 7
BJAR4Dcontig00578	586	7,98409404	#DIV/0!	0,00471818	0	0	7,98409404	2	vspl_botas ame: full=venom serine proteinase-like flags: precursor
BJARALL2624	470	6,825961717	#DIV/0!	0,00898304	0	0	6,82596172	1	crotalus adamanteus serine proteinase 3 complete cds
BJAR4Disotig00832	702	6,236571449	#DIV/0!	0,01251248	0	0	6,23657145	1	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds
BJAR4Dcontig00582	541	-6,123477309	#DIV/0!	0,0133384	6,12347731	1	0	0	vsp14_botja ame: full=venom serine proteinase hs114 flags: precursor
BJAR4Disotig00121	1808	5,698738681	#DIV/0!	0,01697554	0	0	5,69873868	1	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds
BJAR4Disotig00115	2774	5,401413185	#DIV/0!	0,02011877	0	0	5,40141318	1	vsp3_botja ame: full=venom serine proteinase a flags: precursor
BJAR4Dcontig00605	871	3,801484188	#DIV/0!	0,05120496	0	0	3,80148419	1	vspb_lacmu ame: full=plasminogen- activating proteinase short=lv-pa ame: full=lmut0402s flags: precursor
BJAR4Disotig00011	2175	3,293544625	#DIV/0!	0,06955042	0	0	3,29354462	1	venom thrombin-like enzyme
BJAR4Dcontig00159	784	-68,71902314	#DIV/0!	1,9984E-15	68,7190231	8	0	0	mp_iii1 svmp precursor
BJAR4Dcontig00030	791	-37,69729269	#DIV/0!	8,2319E-10	37,6972927	4	0	0	vmv1_croat ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin vap1 ame: full=vascular apoptosis- inducing protein 1 short=vap-1 flags: precursor
BJAR4Dcontig00113	910	35,99451667	#DIV/0!	1,9722E-09	0	0	35,9945167	7	vm3_agkpl ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin vmp- iii short= -iii flags: precursor
BJAR4Disotig01210	538	15,45180389	#DIV/0!	8,4583E-05	0	0	15,4518039	3	metalloproteinase precursor
BJAR4Dcontig00127	1150	-14,55226372	#DIV/0!	0,00013625	14,5522637	2	0	0	metalloproteinase 2

BJARALL2465	531	10,51036407	#DIV/0!	0,00118671	0	0	10,5103641	2	vmber_boter ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin berythractivase ame: full=ery1 flags: precursor
BJARPAisotig00111	789	6,443594567	#DIV/0!	0,01113401	0	0	6,44359457	3	snake venom metalloprotease
BJARALL1123	422	5,794426458	#DIV/0!	0,01607552	0	0	5,79442646	1	metalloproteinase 6
BJAR4Dcontig00051	1240	-5,246839518	#DIV/0!	0,02198493	5,24683952	1	0	0	vmhf3_botja ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin hf3 flags: precursor

Apêndice 8: Tabela dos transcritos celulares diferencialmente expressos (*fold change* >2) na análise temporal da expressão gênica da glândula de veneno de *Bothrops jararaca*.

clone	gene symbol	Seq. Description	Seq. Length	Hit ACC
21:F-9	OGFOD2	2-oxoglutarate and iron-dependent oxygenase domain-containing protein 2	821	XP_415123
06:L-5	RPS14	40s ribosomal protein s14	936	XP_002717846
06:L-9	RPS20	40s ribosomal protein s20-like	799	XP_002716249
15:0-6	RPS23	40s ribosomal protein s23	355	XP_859053
08:K-3	RPS2	40s ribosomal protein s2-like isoform 2	927	2ZKQ_EE
06:D-9	Rps5	40s ribosomal protein s5	657	EFB23493
05:F-11	RPSA	40s ribosomal protein sa-like isoform 1	576	ACD65093
14:G-4	RPLP1	60s acidic ribosomal protein p1	812	XP_002191206
19:B-10	RPL17	60s ribosomal protein 117-like	523	XP_001082416
20:F-5	RPL37A	60s ribosomal protein 137a	429	NP_001072961
09:H-4	HSPA5	78 kda glucose-regulated protein precursor	810	ACT46911
17:E-8	Atf4	activating transcription factor 4 (tax-responsive enhancer element b67)	748	XP_001519185
17:D-3	RPS15	af159542lapemis hardwickii ribosomal protein s15 complete cds	220	AF159542
04:E-9	Bov-B LINE	af332691vipera ammodytes clone va bov-b complete sequence	750	AF332691

02:I-10	VIM	af447708daboia russellii vimentin complete cds	798	AF447708
08:G-6	ND1	agkistrodon piscivorus complete genome	411	DQ523161
08:N-11	ND1	agkistrodon piscivorus complete genome	661	DQ523161
09:H-7	AKAP13	a-kinase anchor protein 13	720	XP_413874
01:E-5	ATP6	atpase 6	416	ACJ46351
13:P-3	ATP6	atpase 6	933	ACJ46351
05:E-10	ABCE1	atp-binding cassette sub-family e member 1	744	XP_002188739
20:G-12		atp-dependent rna helicase	408	YP_347169
05:J-8		azemiops feae clone afe-25 complete sequence	837	DQ023414
04:I-5	SL44-1	basic proline-rich protein	726	ACT55264
24:E-8	SL44-1	basic proline-rich protein	977	Q95JC9
21:J-7	Btf3	basic transcription factor 3	815	NP_663430
23:L-8	GSN	bos taurus gelsolin transcript variant mrna	578	XM_002188626
23:G-10	PANK1	bos taurus pantothenate kinase 1 mrna	674	XM_002807452
14:P-4	UPF3B	bos taurus ribosomal protein I39-like mrna	273	XM_002191619
04:F-10	camk1	calcium calmodulin-dependent protein kinase i	762	XP_001506792
03:N-8	calgl	calglandulin-like protein	781	Q8AY75
09:L-2	FTH1	callithrix jacchus ferritin heavy chain-like miscrna	812	XR_089409
12:I-10	CALR	calreticulin	346	XP_002761834
14:J-10	CALR	calreticulin	530	AAS49610
19:H-10	CALR	calreticulin	690	AAS49610
24:H-7	RPL12	canis familiaris 60s ribosomal protein transcript variant 1 mrna	359	XM_001364914
05:M-7	PCBP2	canis familiaris poly -binding protein 2 (alpha-cp2) (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein x) (hnrnp x) transcript variant 20 mrna	854	XM_852902
23:P-6	Caprin2	caprin family member 2	803	XP_002197226
16:E-10	CTNNB1	catenin beta-1	599	XP_002199072
10:I-10	CHEK2	chk2 checkpoint homolog (pombe)	838	NP_001073576

22:J-7	MYH9	chkmyoiipachicken myosin ii 3 untranslated region	605	M73982
14:B-7	CPSF1	cleavage and polyadenylation specificity factor subunit 1	769	XP_002922132
09:F-5	carm1	coactivator-associated arginine methyltransferase 1	885	XP_001370935
22:D-4	carm1	coactivator-associated arginine methyltransferase 1	911	XP_001370935
24:K-6	C1QBP	complement component q subcomponent binding protein	887	XP_415748
17:F-8	СКМ	creatine kinase m-type	780	AAF76899
02:D-7	СКМ	creatine muscle	800	AAF76899
23:C-3	CDA	cytidine deaminase	966	XP_002190462
02:0-8	cytb	cytochrome b	819	ACZ99243
02:I-7	COX1	cytochrome c oxidase subunit i	598	YP_003848736
18:E-6	COX2	cytochrome c oxidase subunit ii	666	ABU41860
20:A-7	COX2	cytochrome c oxidase subunit ii	771	ABU41860
21:I-4	COX2	cytochrome c oxidase subunit ii	363	ABU41860
05:M-6	COX3	cytochrome c oxidase subunit iii	738	YP_002970600
10:I-9	COX3	cytochrome c oxidase subunit iii	693	YP_002290837
11:L-4	COX3	cytochrome c oxidase subunit iii	987	YP_002290837
15:D-6	COX3	cytochrome c oxidase subunit iii	875	YP_002290798
24:K-8	COX7A2	cytochrome c oxidase subunit viia polypeptide 2	538	AAU09484
22:I-8	CYC1	cytochrome c-1	710	XP_002819596
17:D-7	DAZAP2	daz-associated protein 2 isoform c	315	NP_001129738
17:D-8	DTX2	deltex homolog 2	583	XP_002193140
23:L-1	DHODH	dihydroorotate dehydrogenase	851	XP_002711734
07:0-8	dctn1	dynactin subunit 1	698	NP_001080006
01:K-7	EEF1A1	elongation factor 1-alpha- partial	437	EAW97576
13:P-4	eef1a1	elongation factor 1-alpha- partial	773	XP_002752909
21:K-6	EEF1A1	elongation factor 1-alpha- partial	860	EAW97576

03:K-9	EEF1G	elongation factor 1-gamma	702	XP_001505899
15:0-1	EEF2	elongation factor 2	1011	BAE88109
13:H-8	ech1	enoyl coenzyme a hydratase peroxisomal	716	CAJ81926
17:0-3	EPHB4	ephrin type-b receptor 4-like	782	XP_001521846
14:C-9	GSTT1	equus caballus glutathione s-transferase theta 1 mrna	797	XM_001489403
10:H-8	EBAG9	estrogen receptor binding site 9	681	NP_001026120
02:G-7	Eef1a1	eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1	717	XP_002190806
05:0-9	Eef1g	eukaryotic translation elongation factor 1 gamma	702	NP_001004223
16:C-1	EEF1G	eukaryotic translation elongation factor 1 gamma	472	XP_002755470
06:K-11	EIF1	eukaryotic translation initiation factor 1	632	XP_511489
23:F-2	EIF3M	eukaryotic translation initiation factor subunit m	859	NP_001006406
22:B-6	Exd1	exonuclease 3 -5 domain containing 1	435	XP_002717830
03:K-5	FAU	fau	242	XP_002755569
11:G-8	FAU	fau	803	XP_002755569
13:G-9	FAU	fau	671	XP_002755569
18:H-9	FAU	fau	561	XP_002755569
22:J-4	Fip1l1	fip1 like 1 (cerevisiae) isoform cra_a	845	EDL89938
06:N-8	FKBP11	fk506 binding protein 19 kda	680	XP_003126145
14:E-7	CIRBP	gallus gallus cold inducible rna binding protein mrna	773	NM_001031347
08:D-9	MTPN	gallus gallus finished clone 984n15	714	CR406746
08:N-9	PABPC1	gallus gallus poly binding cytoplasmic 1 mrna	759	NM_001031597
21:I-9	PSMD3	gallus gallus proteasome (macropain) 26s non- 3 mrna	697	NM_001031362
02:K-7	VAPA	gallus gallus vesicle-associated membrane associated protein a mrna	698	XM_424031
18:G-10	ACTG1	gamma 1	737	XP_002931172
14:C-7	GTF2F2	general transcription factor polypeptide 30kda	846	XP_417039
04:E-11	GSTT1	glutathione s- theta 3	670	NP_990696

09:I-1	GNB2L1	guanine nucleotide binding protein (g protein) beta polypeptide 2-like 1	933	EFB24154
14:P-1	UPF3B	heat shock 70kDa protein 5	579	XM_002192619
05:A-1	FTH1	heavy polypeptide 1	494	XP_001363836
06:P-7	HBB2	hemoglobin beta a subunit	639	P22743
08:L-7	HDAC1A	histone deacetylase 1	318	AAB99850
21:0-1	ARF1	Homo sapiens ADP-ribosylation factor 1, mRNA (cDNA clone MGC:15747 IMAGE:3356859), complete cds	540	BC010429
07:L-6	CREBBP	homo sapiens creb binding protein transcript variant mrna	809	XM_002192801
05:N-7	OAT	homo sapiens full open reading frame cdna clone rzpdo834h0811d for gene ornithine aminotransferase (gyrate atrophy) complete stopcodon	759	CR457045
10:E-3	MKP-5	homo sapiens mrna for dual specificity phosphatase mkp- complete cds	825	AB026436
02:D-8	MTMR3	homo sapiens myotubularin related protein 3 transcript variant mrna	534	XM_415304
04:B-7	PBX3	homo sapiens pre-b-cell leukemia homeobox 3 transcript variant mrna	779	AL445186
21:G-12	TCF12	homo sapiens transcription factor 12 transcript variant mrna	728	XR_054768
06:N-9	UBE2E1	homo sapiens ubiquitin-conjugating enzyme e2e 1 (ubc4 5 yeast) transcript variant mrna	932	XM_002188724
21:E-2		immediate early response 5 [Homo sapiens]	783	51278
19:N-11	IMPAD1	inositol monophosphatase domain containing 1	649	XP_419214
23:L-5	IDH2	isocitrate dehydrogenase	688	NP_001026770
12:P-4	LCMT2	leucine carboxyl methyltransferase 2	500	XP_417263
15:E-8	MYL5	light polypeptide slow	649	NP_002468
16:P-11	Rpl41	lithognathus mormyrus clone Imos8p03h04 mrna sequence	677	DQ851009
24:D-7	gpatch4	loc446277 protein	574	XP_002187510
22:J-9	PTGES3	macaca fascicularis brain cdna clone: - human unactive progesterone 23 kd eq:	725	AY871291
01:D-6	RPL10	Macaca mulatta ribosomal protein L10 (RPL10), mRNA	871	ref NM_001193 559.1
20:A-1	TAGLN2	macaca mulatta transgelin-2-like mrna	329	XM_847648
08:L-11	MED21	mediator of rna polymerase ii transcription subunit 21	551	XP_416442
06:N-11	MTCH2	mitochondrial carrier homolog 2	708	XP_002196599

22:C-7	p_beta	mitochondrial f1 atp synthase beta subunit	793	CAC81058
22:K-7	p_beta	mitochondrial f1 atp synthase beta subunit	479	CAC81058
05:E-5	Timm13	mitochondrial import inner membrane translocase subunit tim13	748	NP_038923
14:J-3	PDE7B	mus musculus mrna for camp specific phosphodiesterase 7b (pde7b gene)	723	AJ251859
18:H-12	PDE7B	mus musculus mrna for camp specific phosphodiesterase 7b (pde7b gene)	654	AJ251859
07:E-8	atp1a1-b	na+ k+ alpha 1 polypeptide	701	NP_001082580
01:K-2	ND1	nadh dehydrogenase subunit 1	811	ABU41857
02:D-2	ND1	nadh dehydrogenase subunit 1	705	ABU41857
04:N-9	ND1	nadh dehydrogenase subunit 1	323	YP_313668
13:P-5	ND1	nadh dehydrogenase subunit 1	777	XP_002933251
22:D-8	ND1	nadh dehydrogenase subunit 1	709	ABU41857
23:H-10	NDUFB1	nadh dehydrogenase subunit 1	803	ACD77436
16:D-4	ND3	nadh dehydrogenase subunit 3	254	YP_313675
22:H-5	ND3	nadh dehydrogenase subunit 3	830	ACD77401
23:F-3	ND6	nadh dehydrogenase subunit 6	411	YP_313679
16:N-12	NIF3L1	nif3-like protein 1	478	XP_002915889
01:J-9		no hits		
05:0-7	SPTBN1	non-erythrocytic 1	740	XP_002199683
23:N-9	YBX1	nuclease sensitive element binding protein 1	794	XP_002927454
03:J-2	YBX1	nuclease-sensitive element-binding protein 1	832	XP_002927454
21:P-12	Nup54	nucleoporin 54kda	535	XP_002924779
22:F-12	Nup54	nucleoporin 54kda	752	XP_002924779
05:I-7	NME1	nucleoside diphosphate kinase	838	NP_990378
18:F-4	NME2	nucleoside diphosphate kinase	975	XP_001363771
12:F-3	NME2	nucleoside diphosphate kinase a	917	NP_001019808
08:M-5	NUBP1	nucleotide binding protein 1 (coli)	874	XP_414933

04:0-9	NRBF2	ornithorhynchus anatinus nuclear receptor binding factor 2 mrna	621	XM_001370534
10:G-3	RPS11	oryctolagus cuniculus ribosomal protein s11-like mrna	709	XM_001363101
10:I-5	ants6	Oxyuranus scutellatus adenine nucleotide translocator mRNA, partial cds	940	DQ084052.1
02:G-4	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	826	AY691666
02:K-8	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	324	AY691666
02:P-4	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	907	AY691666
04:N-6	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	325	AY691666
05:L-12	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	599	AY691666
06:N-10	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	595	AY691666
06:N-7	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	239	AY691666
06:P-8	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	360	AY691666
10:E-2	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	825	AY691666
13:F-4	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	333	AY691666
13:H-5	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	310	AY691666
15:F-5	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	712	AY691666
15:0-8	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	573	AY691666
17:E-9	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	661	AY691666
17:G-8	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	666	AY691666
19:H-3	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	880	AY691666
21:0-2	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	802	AY691666
22:E-11	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	753	AY691666
23:L-6	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	685	AY691666
23:L-9	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	758	AY691666
24:D-10	PDI	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	644	AY691666
19:J-12	PDI	Oxyuranus scutellatus scutellatus PDI mRNA, complete cds	578	AY691666.1
22:B-11	PDI	Oxyuranus scutellatus scutellatus PDI mRNA, complete cds	667	AY691666.1

23:B-9	PDI	Oxyuranus scutellatus scutellatus PDI mRNA, complete cds	815	AY691666.1
23:H-11	PDI	Oxyuranus scutellatus scutellatus PDI mRNA, complete cds	698	AY691666.1
18:E-8	TRAP	Oxyuranus scutellatus translocon-associated protein-like protein mRNA, complete cds	842	DQ084051.1
14:D-1	HoxC12	Pantherophis guttatus HOXC13 (HoxC13) gene, complete cds; and HOXC12 (HoxC12) gene, partial cds	336	GU320306
21:F-5	HoxC12	pantherophis guttatus hoxc13 complete cds and hoxc12 partial cds	728	GU320306
24:J-10	Pcbp2	pcbp2 protein	705	BAG61249
21:E-8	SLC25A3	phosphate carrier mitochondrial	790	NP_001006236
01:D-3	PIGB	phosphatidylinositol class b	782	XP_002804830
05:E-4	PABPC1	polyadenylate-binding protein 1	802	AAZ38995
08:H-6	PABPC1	polyadenylate-binding protein 1	846	AAZ38995
14:P-8	pabpc1	polyadenylate-binding protein 1	830	NP_001005051
23:F-4	PABPC1	polyadenylate-binding protein 1	890	XP_002200268
09:E-9	SMURF2	pongo abelii smad specific e3 ubiquitin protein ligase 2 mrna	747	XM_002827732
14:C-11	PSMD6	PREDICTED: Equus caballus similar to proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 6, transcript variant 3 (LOC100055920), mRNA	764	XM_001914686. 1
06:C-11	CELSR3	PREDICTED: Gallus gallus cadherin, EGF LAG seven-pass G-type receptor 3 (flamingo homolog, Drosophila) (CELSR3), mRNA	464	XM_414354.2
05:1-9	RPS4	PREDICTED: putative ribosomal protein S4 [Taeniopygia guttata]	659	XP_002198479.1
06:E-4	rps25	PREDICTED: Taeniopygia guttata 40S ribosomal protein S25-like (LOC100189961), mRNA	693	XM_002188245
08:J-1	ARF1	PREDICTED: Taeniopygia guttata ADP-ribosylation factor 1 (LOC100221732), mRNA	496	XM_002194789
23:H-1	FIP1L1	PREDICTED: Taeniopygia guttata FIP1-like 1 (LOC100223225), mRNA Length=2169	469	XM_002193063
07:M-7	Vegfa	PREDICTED: Taeniopygia guttata hypothetical protein LOC100226472 (LOC100226472), mRNA	375	XM_002188905
21:F-10	Vegfa	PREDICTED: Taeniopygia guttata hypothetical protein LOC100226472 (LOC100226472), mRNA	864	XM_002188905. 1
22:H-8	PDIA6	PREDICTED: Taeniopygia guttata protein disulfide isomerase family A, member 6 (LOC100229780), mRNA	691	XM_002196385. 1
05:N-11	PRPF19	pre-mrna-processing factor 19	605	ACC59785
05:M-11	PGRMC2	progesterone receptor membrane component 2	651	NP_001006441

21:K-5	prodha	proline dehydrogenase 1	901	XP_002665916
11:I-7	psmd3	proteasome (macropain) 26s non- 3	909	XP_002940423
04:L-7	PSMA5	proteasome subunit alpha type-5	789	NP_001026578
04:D-5	PDIA3	protein disulfide-isomerase a3	995	NP_001164786
07:K-12	PACSIN3	protein kinase c and casein kinase substrate in neurons 3	532	ACH43707
13:C-10	POFUT2	protein o-fucosyltransferase 2	825	XP_421892
19:H-1	Ppp1cc	protein phosphatase catalytic gamma isoform	900	208A_A
12:H-1	tbrg4	protein tbrg4	393	NP_001083350
23:C-8	RAE1	rae1 rna export 1 homolog (pombe)	780	XP_001510132
17:D-9	CORO7	rattus norvegicus coronin 7 mrna	759	XM_001520296
23:К-9	MSL2	rattus norvegicus male-specific lethal 2-like 1 mrna	385	XM_426675
08:A-6	RERGL	rerg ras-like	888	NP_001098942
22:M-2	Rpl10	ribosomal protein I10	878	XP_001362654
04:P-6	Rpl11	ribosomal protein l11	717	EFB27138
14:P-9	Rpl13	ribosomal protein 113	687	XP_001474740
20:G-7	RPL13A	ribosomal protein I13a	860	AAZ38985
02:K-9	RPL14	ribosomal protein l14	610	XP_001381473
20:J-3	RPL14	ribosomal protein l14	901	XP_002198345
22:G-7	RPL14	ribosomal protein l14	851	XP_002198345
17:F-9	RPL18A	ribosomal protein l18a	802	BAC56406
21:F-3	RPL19	ribosomal protein l19	871	XP_001510969
04:L-2	RPL23	ribosomal protein I23	836	XP_001509789
16:F-7	RPL23A	ribosomal protein I23a-like	468	EAW51131
18:D-5	rpl24	ribosomal protein I24	755	XP_001370210
22:L-8	rpl24	ribosomal protein l24	716	XP_002193399
17:D-4	RPL26L1	ribosomal protein I26	924	XP_001231438

23:G-3	rl28	ribosomal protein l28	584	NP_001158770
08:M-3	RPL30	ribosomal protein I30	923	NP_001007968
21:G-5	Rpl35a	ribosomal protein I35a-like	854	XP_002726801
06:H-6	RPL36	ribosomal protein I36	465	XP_001365845
02:H-4	RPL39	ribosomal protein I39	857	XP_002720263
22:M-6	RPL39	ribosomal protein I39	420	NP_989603
24:D-6	RPL4	ribosomal protein l4	818	XP_002200110
02:G-6	RPL5	ribosomal protein I5	337	ADK91582
08:K-8	RPL5	ribosomal protein I5	777	XP_002917985
21:J-6	RPL5	ribosomal protein I5	839	ADK91582
22:C-8	RPL5	ribosomal protein I5	751	XP_002917985
20:J-4	rpl6	ribosomal protein l6	293	AAH93106
12:J-7	RPL7A	ribosomal protein I7a	896	NP_001004379
20:B-8	RPL7A	ribosomal protein I7a	836	XP_001153928
17:E-7	RPS10	ribosomal protein s10	650	XP_001369752
18:E-7	Rps16	ribosomal protein s16	600	AAH82286
04:N-1	Rps17	ribosomal protein s17	815	XP_002726194
22:G-5	Rps17	ribosomal protein s17	629	XP_003128511
02:K-1	Rps18	ribosomal protein s18	826	NP_035426
02:N-1	Rps18	ribosomal protein s18	501	XP_001473856
06:I-1	Rps18	ribosomal protein s18	561	XP_001170149
24:I-5	Rps18	ribosomal protein s18	620	XP_001473856
02:F-4	RPS19	ribosomal protein s19	862	XP_533657
05:0-8	RPS19	ribosomal protein s19	785	XP_533657
19:C-9	RPS19	ribosomal protein s19	691	XP_002923981
13:I-8	RPS23	ribosomal protein s23	864	XP_002828093

16:J-8	RPS24	ribosomal protein s24	844	XP_001521665
15:F-8	rps26	ribosomal protein s26	833	XP_002736863
10:H-2	RPS29	ribosomal protein s29	822	XP_001082945
22:K-2	RPS29	ribosomal protein s29	822	XP_001082945
09:H-1	RPS3	ribosomal protein s3	865	XP_860487
06:P-2	RPS3A	ribosomal protein s3a	846	XP_002748370
23:K-1	RPS3A	ribosomal protein s3a	837	XP_002748370
01:D-9	RPS7	ribosomal protein s7	792	XP_419936
09:H-8	RPS8	ribosomal protein s8	774	ACH44383
13:D-9	RPS8	ribosomal protein s8	777	XP_422423
09:1-7	RPS4	ribosomal protein x-linked	853	XP_002198479
20:A-5	Rexo2	rna exonuclease 2 homolog (cerevisiae)	450	XP_001381185
19:H-8	Rpl17	rpl17 protein	729	BAC56378
05:H-3	S100a9	s100 calcium binding protein a9	748	NP_446039
06:E-9	LDH-B	Sceloporus undulatus L-lactate dehydrogenase B (LDH-B) mRNA, complete cds	744	U28411.1
21:I-2	18S rRNA	Scincus scincus 18S ribosomal RNA gene, partial sequence.	960	EU236693
20:G-10		sensory box histidine kinase response regulator	774	YP_002874004
17:0-6	SRRP86	serine/arginine-rich splicing factor 12 [Mus musculus]	807	AK054414.1
08:K-4	Ssr4	signal sequence receptor delta	496	AAZ38996
12:K-9	SERF1A	small edrk-rich factor 1	728	XP_001365370
15:P-7	SERF1A	small edrk-rich factor 1	813	XP_001365370
02:I-2	SNRPD3	small nuclear ribonucleoprotein sm d3	835	EFB19470
24:B-4	SNX27	sorting nexin-27	718	NP_001026517
02:K-11	SDF4	stromal cell derived factor 4	650	Q5ZKE5
15:P-2	PTMA	Taeniopygia guttata clone 0057P0004C01 prothymosin alpha-like mRNA, complete sequence	624	EF191884
23:M-1	FIP1L1	taeniopygia guttata fip1-like 1 mrna	474	XM_002193063

08:E-10	UPF3B	taeniopygia guttata heat shock 70kda protein 5 mrna	478	XM_002192619
14:E-1	UPF3B	taeniopygia guttata heat shock 70kda protein 5 mrna	825	XM_002192619
06:M-8	IPO5	taeniopygia guttata importin 5 mrna	464	XM_002196581
12:K-8	MID1IP1	taeniopygia guttata mid1 interacting g12-like mrna	457	XM_002190924
08:L-10	SELM	taeniopygia guttata misc_rna miscrna	767	XR_054047
03:N-9	RPL5	taeniopygia guttata ribosomal protein I5-like mrna	801	XM_002193268
05:F-7		tpa_exp: mus musculus mrna for isg12 protein (isg12 gene)	683	AC154347
10:H-4	Tceb2	transcription elongation factor b polypeptide 2	644	XP_001511415
11:P-7	TRAM1	translocating chain-associated membrane protein 1	826	XP_001368009
24:H-6	SEC62	translocation protein 1	657	XP_001494750
22:1-5	TMED6	transmembrane emp24 protein transport domain containing 6	492	XP_001378162
20:B-4	Sec61g	transport protein sec61 subunit gamma	471	NP_035473
06:I-8	gTfTBP	Trimeresurus flavoviridis gTfTBP gene for TATA-box binding protein, complete cds	693	D31777.1
13:G-8	gTfTBP	Trimeresurus flavoviridis gTfTBP gene for TATA-box binding protein, complete cds	805	D31777.1
02:N-12	TSEN15	trna splicing endonuclease 15 homolog (cerevisiae)	739	XP_422291
23:N-11	TSEN15	trna splicing endonuclease 15 homolog (cerevisiae)	643	XP_422291
08:M-8	TPM1	tropomyosin alpha-1 chain	734	XP_865223
24:E-7	Tnni2	troponin i	820	ABG66309
01:K-11	gTgTBP	trugtgtbpbtrimeresurus gramineus g gene for tata-box binding complete cds	752	D31782
04:I-12	Trp53inp2	tumor protein p53 inducible nuclear protein 2	727	XP_001232258
24:K-11	Trp53inp2	tumor protein p53 inducible nuclear protein 2	708	XP_001232258
23:I-11	18S rRNA	typhlacontias punctatissimus isolate s16 18s ribosomal rna partial sequence	738	AY217925
21:H-11	UBAC1	ubiquitin associated domain containing 1	754	XP_002924692
04:N-5	FAU	ubiquitin-like protein fubi and ribosomal protein S30 [Equus caballus]	859	NP_001157337
06:I-7	rbbp7-prov	xenopus laevis retinoblastoma binding protein mrna (cdna clone mgc:53418 image:5571746) complete cds	37	BC042283
19:F-5	ZBTB7A	zinc finger and btb domain containing 7a	199	XP_002834490

Apêndice 9:	Tabela de transcritos de toxinas	diferencialmente expressas	(fold change >2) na	a análise da expres	ssão gênica temp	oral na glândula
de veneno de B	othrops jararaca.					

clone	Seq. Description	Seq. Length	Hit ACC
02:M-11	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	653	AF071564
04:M-1	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	832	AF071564
07:M-3	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	926	AF071564
07:N-1	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	921	AF071564
09:H-6	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	874	AF071564
09:I-2	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	509	AF071564
10:H-1	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	948	AF071564
14:P-10	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	523	AF071564
19:G-2	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	828	AF071564
23:F-1	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	770	AF071564
05:G-10	af093248crotalus atrox fad-containing l-amino acid oxidase apoxin 1 complete cds	785	AF093248
05:J-12	af093248crotalus atrox fad-containing l-amino acid oxidase apoxin 1 complete cds	591	AF093248
05:M-12	af093248crotalus atrox fad-containing l-amino acid oxidase apoxin 1 complete cds	629	AF093248
06:O-8	af093248crotalus atrox fad-containing l-amino acid oxidase apoxin 1 complete cds	808	AF093248
22:I-11	af093248crotalus atrox fad-containing l-amino acid oxidase apoxin 1 complete cds	678	AF093248
23:E-4	Crotalus adamanteus L-amino acid oxidase mRNA, complete cds	758	AF071564
08:H-10	I-amino acid oxidase	601	Q6TGQ9
16:N-11	I-amino acid oxidase	618	AAQ16182
11:P-11	bnp_botin ame: full=bradykinin-potentiating and c-type natriuretic peptides ame: full=angiotensin-converting enzyme inhibitor ame: full=bpp-cnp homolog contains: ame: full=bradykinin-potentiating peptide 13a1 short=bpp-13a1 ame: full=bradykinin-potentiating peptide contains: ame: full=bradykinin-potentiating peptide 13a2 short=bpp-13a2 ame: full=bradykinin-potentiating peptide contains: ame: full=bradykinin-potentiating peptide 10c short=bpp-10c ame: full=bradykinin-potentiating peptide contains: ame: full=bradykinin-potentiating peptide 10c short=bpp-10c ame: full=bradykinin-potentiating peptide contains: ame: full=bradykinin-potentiating peptide 12b short=bpp-12b ame:	787	P68515

	full=bradykinin-potentiating peptide contains: ame: full=bradykinin-potentiating peptide 11e short=bpp-11e contains: ame: full=bradykinin-potentiating peptide 5a1 short=bpp-5a1 ame: full=bradykinin-potentiating peptide contains: ame:		
	full=bradykinin-potentiating peptide 5a2 short=bpp-5a2 ame: full=bradykinin-potentiating peptide contains: ame: full=c- type natriuretic peptide flags: precursor		
10:F-10	bothrops insularis cluster bitb01a bradykinin-potentiating c-type natriuretic protein complete cds	628	AF490531
01:K-10	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	728	AF490532
02:D-11	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	764	AF490532
02:G-8	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	798	AF490532
02:J-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	744	AF490532
05:G-2	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	827	AF490532
05:H-2	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	912	AF490532
05:J-9	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	508	AF490532
06:N-3	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	861	AF490532
07:H-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	856	AF490532
07:J-7	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	734	AF490532
07:M-10	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	722	AF490532
08:M-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	443	AF490532
09:I-3	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	906	AF490532
10:E-7	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	853	AF490532
10:G-10	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	486	AF490532
13:F-11	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	799	AF490532
14:J-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	391	AF490532
15:E-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	788	AF490532
17:E-1	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	821	AF490532
20:L-9	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	656	AF490532
21:C-3	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	914	AF490532
22:E-6	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	663	AF490532
22:G-2	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	775	AF490532
22:G-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	424	AF490532

22:H-6	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	781	AF490532
22:L-2	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	850	AF490532
24:I-3	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	882	AF490532
04:0-7	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide complete cds	829	AF171670
07:J-2	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide complete cds	791	AF171670
08:N-8	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide complete cds	841	AF171670
21:K-9	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide complete cds	748	AF171670
21:L-9	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide complete cds	719	AF171670
03:N-3	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	329	AY310916
03:N-5	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	235	AY310916
05:L-6	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	497	AY310916
07:M-6	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	328	AY310916
08:H-8	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	247	AY310916
09:I-10	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	605	AY310916
10:G-4	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	210	AY310916
17:K-4	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	242	AY310916
21:H-6	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	245	AY310916
23:G-2	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	206	AY310916
10:E-1	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	236	AY310916
12:I-3	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	831	AY310916
24:E-2	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	886	AY310916
01:D-7	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	756	gb AY310916.1
22:F-4	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	849	gb AY310916.1
01:J-5	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	913	D85843
04:M-11	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	657	D85843
05:G-3	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	671	D85843
05:P-1	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	892	D85843

21:I-6	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	706	D85843
24:H-1	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	796	D85843
06:M-3	bothrops jararacussu bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide precursor isoform 2 partial cds	162	AY310915
11:G-2	lachesis muta bpp cnp complete cds	582	DQ396475
23:J-5	lachesis muta bpp cnp complete cds	189	DQ396475
03:N-11	agkistrodon piscivorus piscivorin complete cds	667	AY181982
21:K-10	crvp_agkpi ame: full=piscivorin flags: precursor	688	Q7ZTA0
03:B-3	crvp_croat ame: full=catrin-1 2 flags: precursor	703	Q7ZT99
23:E-11	crvp_croat ame: full=catrin-1 2 flags: precursor	683	Q7ZT99
24:B-9	crvp_croat ame: full=catrin-1 2 flags: precursor	796	Q7ZT99
22:F-7	crvp_liopo ame: full=cysteine-rich secretory protein lio1 short=crisp-lio1 flags: precursor	646	Q2XXQ0
02:D-1	achain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	690	P22029
02:J-2	achain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from	502	P22029
02·N 11	agkistrodon acutus	696	D22020
02.11-11	agkistrodon acutus	080	122023
03:J-3	achain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	857	P22029
04:N-12	achain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	605	P22029
17:D-1	achain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	891	P22029
22:I-2	achain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	875	Q56EB1
24:M-11	achain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	678	P22029
06:N-4	agkistrodon blomhoffi mrna for mamushigin complete cds	666	AF354924
10:G-6	agkistrodon blomhoffi mrna for mamushigin complete cds	765	AB019616
08:N-4	alboaggregin b beta subunit	560	ABS12077
11:I-8	b chain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	779	Q56EB0

21:M-3	b chain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	827	Q56EB0
06:H-1	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	818	Q56EB1
07:D-6	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	876	Q56EB1
11:I-4	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	529	Q56EB1
15:D-5	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	932	Q56EB1
15:0-12	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	648	Q56EB1
16:F-5	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	327	Q56EB1
17:K-10	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	731	Q56EB1
18:D-2	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	591	Q56EB1
18:H-5	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	776	Q56EB1
22:I-10	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	868	Q56EB1
23:F-8	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	702	Q56EB1
24:M-2	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	932	Q56EB1
05:F-5	bjcb_botja ame: full=bothrojaracin subunit beta short=bjc subunit beta flags: precursor	765	Q56EB0
05:M-1	bjcb_botja ame: full=bothrojaracin subunit beta short=bjc subunit beta flags: precursor	804	Q56EB0
09:H-9	bjcb_botja ame: full=bothrojaracin subunit beta short=bjc subunit beta flags: precursor	705	Q56EB0
23:M-7	bjcb_botja ame: full=bothrojaracin subunit beta short=bjc subunit beta flags: precursor	626	Q56EB0
02:0-2	bota_botin ame: full=bothroinsularin subunit alpha short=bin	799	P0C929
08:G-8	bota_botin ame: full=bothroinsularin subunit alpha short=bin	597	P0C929
18:E-2	bota_botja ame: full=botrocetin subunit alpha ame: full=platelet coagglutinin	136	P22029
21:C-2	bota_botja ame: full=botrocetin subunit alpha ame: full=platelet coagglutinin	853	P22029
23:E-1	bota_botja ame: full=botrocetin subunit alpha ame: full=platelet coagglutinin	687	P22029
12:P-1	botb_botin ame: full=bothroinsularin subunit beta short=bin	356	P0C930
23:H-2	botb_botin ame: full=bothroinsularin subunit beta short=bin	942	P0C930
23:I-3	botb_botin ame: full=bothroinsularin subunit beta short=bin	421	P0C930
24:F-1	botb_botin ame: full=bothroinsularin subunit beta short=bin	402	P0C930
08:L-6	botb_botja ame: full=botrocetin subunit beta ame: full=platelet coagglutinin	845	P22030

14:E-12	botb_botja ame: full=botrocetin subunit beta ame: full=platelet coagglutinin	626	P22030
15:C-3	botb_botja ame: full=botrocetin subunit beta ame: full=platelet coagglutinin	429	P22030
15:G-5	botb_botja ame: full=botrocetin subunit beta ame: full=platelet coagglutinin	976	P22030
15:0-3	botb_botja ame: full=botrocetin subunit beta ame: full=platelet coagglutinin	747	P22030
21:J-1	botb_botja ame: full=botrocetin subunit beta ame: full=platelet coagglutinin	870	P22030
22:I-6	botb_botja ame: full=botrocetin subunit beta ame: full=platelet coagglutinin	872	P22030
16:F-1	bothrops insularis c-type lectin complete cds	451	AY522720
24:H-4	Bothrops insularis C-type lectin mRNA, complete cds	366	gb AY522720.1
05:P-4	bothrops jararaca bothojaracin chain a complete cds	779	AY962524
06:K-10	bothrops jararaca bothojaracin chain a complete cds	330	AY962524
18:F-2	bothrops jararaca bothojaracin chain a complete cds	607	AY962524
18:F-9	bothrops jararaca bothojaracin chain a complete cds	702	AY962524
22:G-10	bothrops jararaca bothojaracin chain a complete cds	656	AY962524
22:L-3	bothrops jararaca bothojaracin chain a complete cds	270	AY962524
02:H-1	Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete cds	819	AY962524
24:I-8	Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete cds	402	gb AY962524.1
04:N-2	bothrops jararaca bothojaracin chain b complete cds	938	AY962525
05:F-2	bothrops jararaca bothojaracin chain b complete cds	336	AY962525
05:N-1	bothrops jararaca bothojaracin chain b complete cds	273	AY962525
06:L-10	bothrops jararaca bothojaracin chain b complete cds	325	AY962525
07:L-12	bothrops jararaca bothojaracin chain b complete cds	389	AY962525
24:K-3	bothrops jararaca bothojaracin chain b complete cds	439	AY962525
01:D-5	bothrops jararaca bothropasin complete cds	324	AF056025
18:H-1	bothrops jararacussu c-type lectin complete cds	343	AY251283
23:I-2	cryptelytrops albolabris alboaggregin b alpha subunit complete cds	379	EF690367
02:F-2	c-type lectin	800	Q56EB1
02:0-5	c-type lectin	783	Q71RQ1
03:0-11	c-type lectin	579	Q9DEF8

06:G-5	c-type lectin	903	Q56EB1
07:E-3	c-type lectin	845	Q9PSM6
07:N-6	c-type lectin	868	Q56EB1
09:N-4	c-type lectin	678	Q71RR4
13:P-1	c-type lectin	814	Q9PSM6
15:A-6	c-type lectin	871	Q6QX33
19:J-10	c-type lectin	797	Q56EB0
21:K-1	c-type lectin	869	Q6QX33
21:K-7	c-type lectin	712	Q9PSM6
23:N-4	c-type lectin	596	Q8JIV8
24:I-10	c-type lectin	700	Q6QX33
02:0-3	c-type lectin ctl-1	940	Q8JIV8
24:J-1	c-type lectin ctl-1	822	Q8JIV8
24:L-1	c-type lectin ctl-1	834	Q8JIV8
08:D-6	deinagkistrodon acutus agglucetin-alpha 2 subunit complete cds	594	AF540646
08:O-3	deinagkistrodon acutus agglucetin-alpha 2 subunit complete cds	347	AF540646
10:N-3	deinagkistrodon acutus agglucetin-alpha 2 subunit complete cds	831	AF540646
21:M-2	deinagkistrodon acutus agglucetin-alpha 2 subunit complete cds	399	AF540646
07:K-8	gloydius halys factor ix binding protein a chain partial cds	660	AY356354
01:J-1	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	805	Q9PSM6
02:G-11	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	646	Q9PSM6
02:N-4	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	688	Q9PSM6
03:J-10	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	636	Q9PSM6
03:P-1	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	685	Q9PSM6
04:K-2	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	801	Q9PSM6
04:N-3	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	899	Q9PSM6
05:F-1	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	830	Q9PSM6
05:L-3	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	780	Q9PSM6

05:N-6	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	685	Q9PSM6
06:F-7	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	632	Q9PSM6
06:L-1	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	627	Q9PSM6
07:A-6	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	847	Q9PSM6
07:L-8	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	790	Q9PSM6
08:M-10	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	547	Q9PSM6
09:F-12	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	598	Q9PSM6
10:N-10	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	679	Q9PSM6
12:I-4	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	356	Q9PSM6
12:I-9	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	379	Q9PSM6
12:J-12	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	573	Q9PSM6
12:P-7	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	708	Q9PSM6
13:G-1	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	788	Q9PSM6
13:H-1	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	820	Q9PSM6
14:E-5	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	887	Q9PSM6
14:G-3	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	439	Q9PSM6
14:H-2	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	491	Q9PSM6
16:E-3	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	868	Q9PSM6
16:P-12	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	434	Q9PSM6
18:E-12	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	579	Q9PSM6
18:H-4	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	891	Q9PSM6
20:I-10	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	680	Q9PSM6
21:A-9	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	657	Q9PSM6
21:C-7	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	629	Q9PSM6
23:G-12	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	523	Q9PSM6
23:1-4	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	830	Q9PSM6
23:1-6	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	658	Q9PSM6
23:J-3	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	586	Q9PSM6

23:K-2	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	443	Q9PSM6
24:D-2	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	435	Q9PSM6
24:I-2	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	821	Q9PSM6
02:D-3	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	400	Q9PSM5
02:G-2	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	798	Q9PSM5
02:H-3	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	734	Q9PSM5
02:K-10	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	434	Q9PSM5
02:K-6	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	784	Q9PSM5
03:A-5	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	727	Q9PSM5
03:I-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	778	Q9PSM5
03:M-4	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	751	Q9PSM5
03:N-6	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	562	Q9PSM5
07:K-5	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	729	Q9PSM5
08:H-4	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	707	Q9PSM5
08:M-2	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	710	Q9PSM5
08:N-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	590	Q9PSM5
09:H-11	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	641	Q9PSM5
09:N-5	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	669	Q9PSM5
10:G-7	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	749	Q9PSM5
10:M-4	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	669	Q9PSM5
12:H-2	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	814	Q9PSM5
12:H-4	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	539	Q9PSM5
12:J-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	488	Q9PSM5
14:P-6	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	856	Q9PSM5
15:C-10	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	473	Q9PSM5
15:F-2	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	749	Q9PSM5
16:D-5	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	745	Q9PSM5
16:E-4	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	894	Q9PSM5

16:N-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	865	Q9PSM5
17:C-11	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	794	Q9PSM5
17:E-2	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	785	Q9PSM5
17:F-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	426	AAF66702
20:J-6	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	778	Q9PSM5
21:E-3	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	909	Q9PSM5
21:G-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	943	Q9PSM5
21:I-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	575	Q9PSM5
22:G-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	918	Q9PSM5
22:G-3	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	755	Q9PSM5
22:H-4	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	888	Q9PSM5
22:I-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	873	Q9PSM5
22:K-4	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	892	Q9PSM5
22:0-5	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	804	Q9PSM5
23:B-7	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	586	Q9PSM5
23:E-3	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	930	Q9PSM5
23:J-2	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	737	Q9PSM5
24:D-4	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	665	Q9PSM5
24:E-3	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	883	Q9PSM5
05:0-6	lec1_sisca ame: full=c-type lectin isoform 1 flags: precursor	774	B0VXV0
07:L-1	lec1_sisca ame: full=c-type lectin isoform 1 flags: precursor	764	B0VXV0
16:C-11	lec1_sisca ame: full=c-type lectin isoform 1 flags: precursor	580	B0VXV0
21:E-10	lecg_botin ame: full=c-type lectin flags: precursor	630	Q6QX33
01:J-11	staa_trist ame: full=stejaggregin-a subunit alpha flags: precursor	781	Q71RQ1
15:P-4	staa_trist ame: full=stejaggregin-a subunit alpha flags: precursor	709	Q71RQ1
21:K-11	staa_trist ame: full=stejaggregin-a subunit alpha flags: precursor	776	Q71RQ1
22:K-6	staa_trist ame: full=stejaggregin-a subunit alpha flags: precursor	758	Q71RQ1
24:K-5	tj-gpib-bp beta chain	568	ACZ34294

21:G-10	trimb_trimu ame: full=trimecetin subunit beta flags: precursor	754	Q5FZI5
21:I-8	trimeresurus stejnegeri clone 1 factor ix x binding protein beta chain-1 complete cds	871	AF354912
19:C-2	trimeresurus stejnegeri factor ix x binding protein beta chain-2 complete cds	391	AF354914
14:0-11	trimeresurus stejnegeri factor ix x binding protein beta chain-3 partial cds	391	AF354915
22:K-5	trimeresurus stejnegeri factor ix x binding protein beta chain-3 partial cds	215	AF354915
23:C-5	trimeresurus stejnegeri factor ix x binding protein beta chain-3 partial cds	182	AF354915
04:K-5	trimeresurus stejnegeri stejaggregin-a alpha chain complete cds	821	AF354924
06:L-4	venom c-type lectin mannose binding isoform 1	894	AAQ92957
14:J-12	a chain high-resolution crystal structure of the p-i snake venom metalloproteinase bap1 in complex with a peptidomimetic: insights into inhibitor binding	675	Q5XUW8
22:K-11	a chain high-resolution crystal structure of the p-i snake venom metalloproteinase bap1 in complex with a peptidomimetic: insights into inhibitor binding	696	Q072L5
16:M-4	acu18234agkistrodon contortrix metalloproteinase precursor complete cds	578	U18234
04:L-8	acu86634agkistrodon contortrix laticinctus metalloproteinase-disintegrin-like protein complete cds	315	U86634
10:M-6	acu86634agkistrodon contortrix laticinctus metalloproteinase-disintegrin-like protein complete cds	162	U86634
21:H-8	Agkistrodon contortrix contortrix contortrostatin precursor, mRNA, complete cds	825	gb AF212305.1 AF212305
14:B-9	bothrops insularis cluster bitm02a metalloproteinase complete cds	659	AF490533
06:L-8	Bothrops insularis cluster BITM02A metalloproteinase precursor, mRNA, complete cds	788	AF490533.1
22:E-7	Bothrops insularis cluster BITM02A metalloproteinase precursor, mRNA, complete cds	779	AF490533.1
22:J-5	bothrops insularis cluster bitm06a metalloproteinase complete cds	551	AF490534
02:D-9	Bothrops insularis cluster BITM06A metalloproteinase precursor, mRNA, complete cds	806	gb AF490534.1
12:G-5	bothrops insularis insularinase and insularin complete cds	482	AY736107
20:1-9	bothrops insularis insularinase and insularin complete cds	482	AY736107
04:I-6	bothrops jararaca bothropasin complete cds	622	AF056025
05:D-4	bothrops jararaca bothropasin complete cds	302	AF056025
05:0-5	bothrops jararaca bothropasin complete cds	830	AF056025
07:E-5	bothrops jararaca bothropasin complete cds	260	AF056025
07:E-9	bothrops jararaca bothropasin complete cds	253	AF056025
07:L-9	bothrops jararaca bothropasin complete cds	772	AF056025

10:G-9	bothrops jararaca bothropasin complete cds	456	AF056025
13:F-5	bothrops jararaca bothropasin complete cds	311	AF056025
15:E-3	bothrops jararaca bothropasin complete cds	202	AF056025
24:D-8	bothrops jararaca bothropasin complete cds	449	AF056025
24:K-9	bothrops jararaca bothropasin complete cds	177	AF056025
15:C-2	Bothrops jararaca bothropasin precursor, mRNA, complete cds	435	AF056025
17:C-4	Bothrops jararaca bothropasin precursor, mRNA, complete cds	359	gb AF056025.2
21:H-10	Bothrops jararaca bothropasin precursor, mRNA, complete cds	432	gb AF056025.2
21:K-8	Bothrops jararaca bothropasin precursor, mRNA, complete cds	389	gb AF056025.2
22:M-9	Bothrops jararaca bothropasin precursor, mRNA, complete cds	780	gb AF056025.2
05:I-4	bothrops jararaca bothrostatin complete cds	344	AF345931
20:A-6	bothrops jararaca bothrostatin complete cds	915	AF345931
21:D-6	bothrops jararaca bothrostatin complete cds	349	AF345931
06:P-1	Bothrops jararaca toxin 1 (Tox1) gene, 3' UTR	494	FJ790445
24:K-2	Bothrops jararaca toxin 2 (Tox2) gene, 3' UTR	923	FJ790446
01:C-9	bothrops jararaca toxin 2 3 utr	728	FJ790446
18:N-9	bothrops jararaca toxin 2 3 utr	465	FJ790446
01:J-10	Bothrops jararacussu metalloprotease BOJUMET II mRNA, partial cds	715	gb AY255004.1
21:J-3	Bothrops jararacussu metalloprotease BOJUMET II mRNA, partial cds	864	AY255004
23:M-6	Bothrops jararacussu metalloprotease BOJUMET II mRNA, partial cds	745	AY255004.1
23:N-10	Bothrops jararacussu metalloprotease BOJUMET II mRNA, partial cds	573	gb AY255004.1
24:D-3	Bothrops jararacussu metalloprotease BOJUMET II mRNA, partial cds	802	AY255004
02:B-2	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds	896	AY255004
02:K-3	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds	437	AY255004
03:J-1	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds	878	AY255004
05:O-4	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds	518	AY255004
22:J-10	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds	711	AY255004

24:J-6	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds	595	AY255004
18:K-5	crlprehtacrotalus atrox hemorrhagic toxin atrolysin a (ht-a) partial cds	786	U01234
23:G-4	crlprehtewestern diamondback rattlesnake preprometalloproteinase hemorrhagic toxin e atrolysin e complete cds	586	M89784
21:H-4	Crotalus atrox hemorrhagic toxin a, atrolysin a (Ht-a) mRNA, partial cds	815	gb U01234.1 CRLPREHTA
04:G-4	crotalus molossus molossus clone mol- metalloproteinase complete cds	562	AB078906
09:N-1	crotalus molossus molossus clone mol- metalloproteinase complete cds	592	AB078905
07:I-3	deinagkistrodon acutus acurhagin precursor complete cds	785	AY566610
21:K-4	deinagkistrodon acutus acurhagin precursor complete cds	888	AY566610
24:G-2	Deinagkistrodon acutus acurhagin precursor mRNA, complete cds	871	AY566610
08:N-12	Deinagkistrodon acutus acutolysin e precursor, mRNA, complete cds	634	gb AF141379.1 AF141379
11:F-5	disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10	766	NP_001037869
14:G-5	disja_botja ame: full=disintegrin jarastatin short=jt ame: full=platelet aggregation activation inhibitor contains: ame: full=jarastatin contains: ame: full=disintegrin jarastatin-ageec contains: ame: full=disintegrin jarastatin-geec contains: ame: full=disintegrin jarastatin-ec flags: precursor	941	Q0NZX5
23:G-9	disja_botja ame: full=disintegrin jarastatin short=jt ame: full=platelet aggregation activation inhibitor contains: ame: full=jarastatin contains: ame: full=disintegrin jarastatin-ageec contains: ame: full=disintegrin jarastatin-geec contains: ame: full=disintegrin jarastatin-ec flags: precursor	708	Q0NZX5
21:0-6	elaphe quatuorlineata mrna for metallothionein (metallothionein gene)	437	AM087393
02:H-9	group iii snake venom metalloproteinase	793	Q0NZX9
04:N-10	group iii snake venom metalloproteinase	709	AAP78951
05:D-6	group iii snake venom metalloproteinase	778	Q98UF9
12:P-11	group iii snake venom metalloproteinase	598	AAP78951
14:C-8	group iii snake venom metalloproteinase	908	P0C6E8
18:N-11	group iii snake venom metalloproteinase	771	Q98UF9
23:E-10	group iii snake venom metalloproteinase	721	ACI02287
23:F-11	group iii snake venom metalloproteinase	608	Q0NZX9
16:N-5	macrovipera lebetina lebein alpha complete cds	62	DQ288157
20:A-12	metalloprotease bojumet ii	523	AAP78951
22:H-3	metalloprotease bojumet ii	942	AAP78951

22:H-10	metalloproteinase	870	ADO21503
08:1-8	metalloproteinase precursor	779	Q8QG89
12:G-8	metalloproteinase precursor	764	Q8QG89
18:N-8	metalloproteinase precursor	771	Q8QG89
22:K-9	metalloproteinase precursor	664	ACV83929
02:D-6	metalloproteinase vmp-ii precursor	845	AAP78953
06:D-11	metalloproteinase vmp-ii precursor	531	Q7T1T4
08:A-7	metalloproteinase vmp-ii precursor	826	Q8AWX7
08:K-10	metalloproteinase vmp-ii precursor	834	Q0NZX6
08:N-10	metalloproteinase vmp-ii precursor	687	ACV83932
23:B-8	metalloproteinase vmp-ii precursor	770	ACV83932
24:E-10	metalloproteinase vmp-ii precursor	675	AAP78953
01:D-8	metalloproteinase vmp-iii precursor	817	3DSL_B
02:J-6	metalloproteinase vmp-iii precursor	805	3DSL_B
02:N-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	838	P30431
04:M-5	metalloproteinase vmp-iii precursor	929	093523
05:P-10	metalloproteinase vmp-iii precursor	668	Q98UF9
07:E-12	metalloproteinase vmp-iii precursor	695	ACV83932
07:L-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	806	093523
10:E-9	metalloproteinase vmp-iii precursor	493	3DSL_B
10:H-9	metalloproteinase vmp-iii precursor	809	093523
11:G-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	672	Q7LZ61
11:P-9	metalloproteinase vmp-iii precursor	716	3DSL_B
12:I-8	metalloproteinase vmp-iii precursor	878	ACN38267
13:G-2	metalloproteinase vmp-iii precursor	824	ACV83935
13:H-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	649	P30431
15:F-1	metalloproteinase vmp-iii precursor	932	P30431
15:N-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	797	3DSL_B

15:P-8	metalloproteinase vmp-iii precursor	822	POC6R9
19:E-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	798	3DSL_B
21:G-8	metalloproteinase vmp-iii precursor	717	093523
22:E-8	metalloproteinase vmp-iii precursor	760	093523
23:E-5	metalloproteinase vmp-iii precursor	825	Q9PSN7
23:F-9	metalloproteinase vmp-iii precursor	597	093523
23:J-10	metalloproteinase vmp-iii precursor	720	P30431
23:J-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	843	3DSL_B
24:M-9	metalloproteinase vmp-iii precursor	742	3DSL_B
02:K-2	snake venom metalloprotease	766	AAP78951
10:B-3	snake venom metalloprotease	854	AAP78951
13:N-10	snake venom metalloprotease	629	AAP78951
19:0-10	snake venom metalloprotease	787	AAP78951
21:J-9	snake venom metalloprotease	791	ACI02287
02:H-10	snake venom metalloprotease inhibitor precursor	860	P68515
04:F-9	snake venom metalloprotease inhibitor precursor	673	Q6LEM5
05:G-11	snake venom metalloprotease inhibitor precursor	713	Q6LEM5
06:P-9	snake venom metalloprotease inhibitor precursor	706	Q6LEM5
13:H-11	snake venom metalloprotease inhibitor precursor	703	Q6LEM5
03:K-4	trimeresurus flavoviridis mrna for flavoridin complete cds	257	AB052155
04:0-10	Trimeresurus flavoviridis mRNA for flavoridin precursor, complete cds	452	dbj AB052155.1
22:E-9	Trimeresurus flavoviridis mRNA for flavoridin precursor, complete cds	763	dbj AB052155.1
05:N-3	viridovipera stejnegeri stejnihagin-b complete cds	459	DQ195153
14:B-11	vm2a_botin ame: full=zinc metalloproteinase bitm02a flags: precursor	779	Q8QG89
16:G-7	vmagk_agkhp ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin agkistin flags: precursor	830	Q8AWX7
03:M-11	vmha_agkhp ame: full=zinc metalloprotease-disintegrin halysase flags: precursor	822	
12:J-8	vmins_botin ame: full=zinc metalloproteinase disintegrin contains: ame: full=metalloproteinase insularinase-a contains: ame: full=disintegrin insularin flags: precursor	820	Q5XUW8

07:E-7	vmja2_botja ame: full=zinc metalloproteinase disintegrin contains: ame: full=metalloproteinase jararafibrase-2 ame: full=jararafibrase ii contains: ame: full=disintegrin bothrostatin short=d-btt flags: precursor	501	Q98SP2
21:M-8	vmjaq_botja ame: full=zinc metalloproteinase disintegrin contains: ame: full=metalloproteinase contains: ame: full=disintegrin jararin flags: precursor	625	Q0NZX6
09:N-3	af306533crotalus durissus terrificus nerve growth factor complete cds	541	AF306533
22:L-10	nerve growth factor beta polypeptide	591	ACC85807
06:E-11	crotalus durissus mrna for convulxin beta	449	Y16349
07:B-10	crotalus durissus mrna for convulxin beta	578	Y16349
20:B-6	Crotalus durissus mRNA for convulxin beta	909	Y16349.1
07:H-9	crotalus durissus terrificus crotocetin-1 complete cds	709	AF541883
06:1-9	ophiophagus hannah ohanin complete cds	484	GQ187298
20:D-7	ophiophagus hannah ohanin complete cds	781	DQ103590
22:I-4	ophiophagus hannah ohanin complete cds	801	DQ103590
01:K-3	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	794	Q9PVE3
02:J-10	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	565	Q9PVE3
04:D-10	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	805	Q9PVE3
05:I-8	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	771	Q9PVE3
05:L-11	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	640	Q9PVE3
05:N-4	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	530	Q9PVE3
06:I-2	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	705	Q9PVE3
06:N-1	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	755	NP_001083350
07:E-4	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	563	Q9PVE3
08:H-12	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	586	Q9PVE3
11:I-10	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	702	Q9I834
11:I-3	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	894	Q9PVE3
15:C-1	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	405	AAF66702
15:F-3	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	917	Q9PVE3
16:N-2	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	770	AAF66702
17:G-1	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	924	AAF66702

18:G-11	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	760	Q9PVE3
21:J-11	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	620	Q9PVE3
22:D-2	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	808	Q90249
22:E-5	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	711	Q9PVE3
22:J-1	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	725	Q9PVE3
23:G-1	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	888	Q9PVE3
24:C-6	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	648	Q9PVE3
24:I-6	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	824	Q9PVE3
24:N-3	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	797	Q9PVE3
12:P-12	acidic phospholipase a2	325	ABC96692
15:N-6	acidic phospholipase a2	840	ABC96692
02:0-1	af109911bothrops asper m1-3-3 protein complete cds	846	AF109911
05:P-3	af109911bothrops asper m1-3-3 protein complete cds	251	AF109911
06:E-3	af109911bothrops asper m1-3-3 protein complete cds	818	AF109911
21:E-4	af109911bothrops asper m1-3-3 protein complete cds	200	AF109911
05:F-10	bothrops jararacussu myotoxic a2-like phospholipase complete cds	863	AY299391
07:K-4	bothrops jararacussu myotoxic a2-like phospholipase complete cds	265	AY299391
07:L-11	bothrops jararacussu myotoxic a2-like phospholipase complete cds	358	AY299391
14:J-5	bothrops jararacussu myotoxic a2-like phospholipase complete cds	723	AY299391
14:0-3	Bothrops jararacussu myotoxic A2-like phospholipase mRNA, complete cds	767	AY299391
01:D-2	crotalus durissus terrificus mrna for crotoxin a	784	X12606
02:H-2	crotalus durissus terrificus mrna for crotoxin a	529	X12606
15:C-11	crotalus durissus terrificus mrna for crotoxin a	641	X12606
23:P-1	gloydius shedaoensis acidic phospholipase a2 partial cds	233	AY434727
03:N-2	k49 phospholipase a2-like	795	AAR14171
18:E-11	pa2h_cergo ame: full=phospholipase a2 homolog pgo-k49 flags: precursor	775	Q8UVU7
13:G-3	pa2h1_botat ame: full=phospholipase a2 homolog 1 ame: full=myotoxin i flags: precursor	990	Q6JK69
09:N-2	pa2h2_botas ame: full=phospholipase a2 homolog 2 ame: full=myotoxin ii flags: precursor	793	P24605

01:D-1	phospholipase a2	789	ABC96692
02:G-1	phospholipase a2	772	ABC96692
02:1-4	phospholipase a2	832	ABC96692
03:N-7	phospholipase a2	768	ABC96692
04:N-8	phospholipase a2	756	ABC96692
05:D-3	phospholipase a2	780	P20476
05:K-7	phospholipase a2	864	ABC96692
05:N-10	phospholipase a2	758	ACX71493
07:K-1	phospholipase a2	661	ABC96692
07:P-6	phospholipase a2	699	ACX71493
12:P-3	phospholipase a2	373	AAR11860
17:0-1	phospholipase a2	894	ABC96692
18:G-9	phospholipase a2	746	ABC96692
21:B-2	phospholipase a2	782	Q9PVE3
23:E-8	phospholipase a2	836	AAW92121
24:D-1	phospholipase a2	931	Q6JK69
24:G-5	phospholipase a2	820	Q9PVE3
24:1-4	phospholipase a2	710	P20476
23:B-3	phospholipase a2 precursor	302	ABC96692
06:D-6	phospholipase b domain containing 1	371	XP_416206
06:M-11	trimeresurus flavoviridis phospholipase a2 gene cluster (135)	635	AB440236
22:J-11	trimeresurus flavoviridis phospholipase a2 gene cluster (135)	284	AB440236
07:A-9	bothrops atrox batroxobin gene (ec)	720	X12747
22:F-6	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	216	AB178322
01:D-12	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	750	dbj AB178322.1
03:K-1	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	798	AB178322
04:0-4	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	921	dbj AB178322.1
04:P-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	880	dbj AB178322.1

05:G-5	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	475	dbj AB178322.1
06:B-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	511	dbj AB178322.1
06:L-2	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	320	AB178322
07:L-5	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	772	dbj AB178322.1
08:1-2	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	751	AB178322
08:L-2	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	863	AB178322
09:E-5	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	817	dbj AB178322.1
10:E-4	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	350	AB178322
12:P-9	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	748	dbj AB178322.1
13:G-10	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	887	dbj AB178322.1
15:0-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	776	dbj AB178322.1
18:D-4	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	311	dbj AB178322.1
20:B-1	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	784	AB178322
21:E-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	764	dbj AB178322.1
21:F-7	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	829	AB178322.1
22:D-7	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	763	dbj AB178322.1
22:1-3	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	263	AB178322
22:P-4	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	883	dbj AB178322.1
24:H-10	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	777	dbj AB178322.1
02:H-11	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds	701	AB178322
05:0-10	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds	743	AB178322
06:E-10	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds	760	AB004067
06:J-11	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds	810	AB178322
06:L-11	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds	605	AB004067
09:G-7	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds	251	AB178322
23:E-12	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds	549	AB178322
23:K-10	bothrops jararaca mrna for kn- complete cds	475	AB178322
04:N-4	Bothrops jararaca mRNA for KN-BJ2, complete cds	616	dbj AB004067.1
---------	---	-----	----------------
19:B-4	Bothrops jararaca mRNA for KN-BJ2, complete cds	796	dbj AB004067.1
23:G-8	Bothrops jararaca mRNA for protease A, complete cds	333	dbj AB031394.1
07:E-10	bothrops jararaca mrna for protease complete cds	551	AB178323
01:D-4	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	780	AB178322
02:K-5	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	973	AB178322
11:I-5	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	895	AB178322
15:C-8	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	725	AB178322
20:D-2	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	813	AB178322
23:F-10	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	750	AB178322
23:J-1	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	519	AB178322
24:N-4	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	886	AB178322
03:0-12	serine protease	663	Q7T229
04:K-4	serine protease	898	Q5W959
12:I-11	serine protease	721	Q7T229
12:K-10	serine protease	802	Q8QG86
14:P-11	serine protease	625	P81661
22:E-10	serine protease	650	Q072L6
04:F-5	sistrurus catenatus edwardsi serine proteinase isoform 12 3 utr	528	AB178322
05:J-2	sistrurus catenatus edwardsi serine proteinase isoform 12 3 utr	793	AB178322
17:K-2	sistrurus catenatus edwardsi serine proteinase isoform 12 3 utr	519	DQ439973
03:M-10	trimeresurus flavoviridis mrna for serine complete cds	369	D67079
05:N-2	trimeresurus flavoviridis mrna for serine complete cds	891	AY251282
12:P-2	trimeresurus flavoviridis mrna for serine complete cds	660	AB178322
17:N-7	trimeresurus flavoviridis mrna for serine complete cds	464	AB178321
23:B-4	trimeresurus flavoviridis mrna for serine complete cds	367	AB031394
02:N-6	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	440	AB178323
03:K-3	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	832	AF490536

08:I-6	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	106	AY251282
08:N-6	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	847	AB178322
09:H-2	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	702	AB178322
09:L-12	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	226	AB178323
11:K-5	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	880	AF490536
11:P-4	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	648	AB178322
12:I-1	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	188	D67080
13:H-9	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	709	AB178322
18:B-12	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	336	X12747
23:F-7	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	436	AB178321
23:K-3	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	806	AB178321
23:K-7	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	672	AB178321
24:M-4	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	806	AY251282
05:E-2	Trimeresurus gramineus mRNA for serine protease, complete cds	779	D67082
22:G-9	venom thrombin-like enzyme	804	CAC00530
01:D-11	vsp_botin ame: full=serine proteinase bits01a flags: precursor	627	Q8QG86
01:G-12	vsp_botin ame: full=serine proteinase bits01a flags: precursor	616	Q8QG86
11:F-10	vsp_botin ame: full=serine proteinase bits01a flags: precursor	617	Q8QG86
23:J-11	vsp_botin ame: full=serine proteinase bits01a flags: precursor	555	Q8QG86
21:M-1	vsp12_botja ame: full=venom serine proteinase hs112 flags: precursor	888	Q5W960
06:D-10	vsp3_botja ame: full=venom serine proteinase a flags: precursor	697	Q9PTU8
06:E-12	vspa_botat ame: full=thrombin-like enzyme batroxobin short=bx ame: full=bothrops atrox serine proteinase ame: full=defibrase ame: full=reptilase ame: full=venombin-a flags: precursor	658	AAA48553
24:H-11	vsph_botjr ame: full=venom serine protease homolog flags: precursor	606	Q7T229
07:N-9	vsptl_botal ame: full=venom serine protease	669	Q6IWF1
05:E-11	bothrops insularis vascular endothelial growth factor complete cds	500	AY033151
06:B-2	bothrops insularis vascular endothelial growth factor complete cds	839	AY033151
07:D-10	bothrops insularis vascular endothelial growth factor complete cds	447	AY033151

02:1-3	bothrops jararaca vascular endothelial growth factor complete cds	867	AY033152
20:I-11	bothrops jararaca vascular endothelial growth factor complete cds	684	AY033152
23:J-4	bothrops jararaca vascular endothelial growth factor complete cds	683	AY033152
21:C-10	Trimeresurus flavoviridis vascular endothelial growth factor A190 isoform precursor, gene, complete cds	848	gb FJ554641.1
02:N-10	vascular endothelial growth factor precursor	693	Q6J936
07:I-10	vascular endothelial growth factor precursor	697	Q90X23
24:D-11	vascular endothelial growth factor precursor	642	Q90X23
02:J-12	venom nerve growth factor precursor	678	Q90W38
23:I-5	venom nerve growth factor precursor	560	Q90W38
23:K-6	venom nerve growth factor precursor	825	Q90W38
23:L-11	venom nerve growth factor precursor	642	Q90W38
24:K-10	venom nerve growth factor precursor	605	Q90W38

Apêndice 10: Tabela dos transcritos de toxinas e celulares considerados diferencialmente expressos (*p-value* < 0,001) na glândula de veneno tratada com reserpina e adrenoceptores α e β (4dA), através da análise da expressão gênica por macroarranjos.

ID	produto	logFC	t	P.Value	adj.P.Val	В
21:F-9	2-oxoglutarate and iron-dependent oxygenase domain-containing protein 2	3,530398	-6,61692	0,000153	0,025301	1,450927
20:G-7	60S ribosomal protein L13a [Oxyuranus scutellatus].	6,948006	-14,4173	4,35E-07	0,002337	5,915073
20:G-7	60S ribosomal protein L13a [Oxyuranus scutellatus].	5,86011	-4,75109	0,00137	0,071752	-0,64441
10:J-3	60s ribosomal protein I36	2,391955	-4,2851	0,002555	0,093617	-1,19693
17:D-1	achain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	3,066386	-4,41236	0,002148	0,087067	-1,05475
02:J-10	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	3,998812	-3,41295	0,008927	0,16709	-2,46683
21:J-11	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	1,613635	-3,52102	0,007602	0,154768	-2,30187
24:I-6	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	2,834878	-3,9459	0,004103	0,118497	-1,70113

18:C-8	acipenser brevirostrum 5s rrna clone bre21a	1,572781	-3,77795	0,00522	0,130742	-1,94389
02:M-11	af071564crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	1,885901	-4,77301	0,001331	0,071459	-0,59351
21:E-4	af109911bothrops asper m1-3-3 protein complete cds	2,024261	-3,6488	0,006299	0,141279	-2,10469
04:E-9	af332691vipera ammodytes clone va bov-b complete sequence	3,636567	-3,4088	0,008982	0,16709	-2,48134
02:F-6	anolis carolinensis axin dorsalization-associated mrna	3,987543	-6,03317	0,000289	0,033851	0,84644
14:H-1	apolipoprotein a-i binding protein	2,028364	-3,3491	0,009823	0,173662	-2,45808
02:E-12	arp2 actin-related protein 2 homolog	3,329588	-5,59706	0,000479	0,040192	0,331613
17:P-5	baixa qualidade	-1,95602	4,485088	0,001948	0,082007	-0,94315
04:N-3	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	-2,05353	4,607014	0,001655	0,078025	-0,81039
15:D-5	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	2,156689	-3,76889	0,005289	0,130742	-1,90509
20:F-11	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	4,500822	-5,30574	0,00068	0,050587	0,041704
24:A-4	bjcb_botja ame: full=bothrojaracin subunit beta short=bjc subunit beta flags: precursor	2,491517	-5,2581	0,000721	0,051633	-0,04011
12:K-5	Bos taurus coronin, actin binding protein, 1B (CORO1B), mRNA	-3,05499	5,843994	0,000359	0,037029	0,642809
23:G-10	bos taurus pantothenate kinase 1 mrna	2,077683	-3,42379	0,008784	0,166645	-2,4356
22:B-4	bota_botin ame: full=bothroinsularin subunit alpha short=bin	2,670503	-5,51623	0,000527	0,042871	0,280844
21:C-2	bota_botja ame: full=botrocetin subunit alpha ame: full=platelet coagglutinin	2,099507	-4,5652	0,00175	0,07835	-0,87039
18:N-3	botb_botin ame: full=bothroinsularin subunit beta short=bin	-3,7222	7,333314	7,37E-05	0,018702	1,864382
08:B-1	bothrombin=fibrinogen-clotting serine protease [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 232 aa].	-2,79105	5,744413	0,000403	0,037581	0,535528
07:A-9	Bothrops atrox batroxobin gene	-3,10613	6,590142	0,000157	0,025386	1,405936
03:B-10	bothrops insularis cluster bitb01a bradykinin-potentiating c-type natriuretic protein complete cds	3,807689	-5,1858	0,000788	0,053656	-0,0974
02:D-11	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	5,557269	-4,9992	0,000996	0,06208	-0,3241
02:E-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	4,020564	-5,87248	0,000347	0,036225	0,675098
02:G-8	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	3,743085	-6,35114	0,000203	0,030025	1,170481
02:J-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	3,565807	-4,39686	0,002194	0,088491	-1,0572
05:H-2	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	3,674886	-5,98851	0,000304	0,033948	0,745159
10:0-12	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	-4,08177	5,602414	0,000476	0,040192	0,37004
10:0-12	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	-4,02218	5,03755	0,000949	0,060316	-0,27908
11:D-10	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	-2,59292	4,825918	0,001243	0,070201	-0,5344

16:J-2	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	-3,08587	5,000092	0,000995	0,06208	-0,31447
16:O-2	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	-2,82406	4,314583	0,002454	0,091994	-1,17698
17:M-2	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	-2,59725	4,613533	0,001641	0,078025	-0,80644
20:G-11	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	2,811312	-6,64666	0,000148	0,025301	1,453734
21:C-3	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	1,854836	-3,86132	0,00463	0,1233	-1,78947
21:F-1	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	2,670418	-5,33799	0,000653	0,049012	0,076632
24:I-3	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	3,041495	-5,12114	0,000854	0,056944	-0,17473
02:1-6	bothrops insularis cluster bitm02a metalloproteinase complete cds	4,341352	-6,15885	0,000251	0,032687	0,959513
03:K-6	bothrops insularis cluster bitm06a metalloproteinase complete cds	-3,32245	5,073993	0,000906	0,058778	-0,23588
24:H-4	Bothrops insularis C-type lectin mRNA, complete cds	5,841562	-10,7098	4,39E-06	0,006022	4,355686
14:N-2	bothrops insularis vascular endothelial growth factor complete cds	-4,36559	7,303023	7,60E-05	0,018702	1,97256
18:F-9	bothrops jararaca bothojaracin chain a complete cds	2,416108	-4,779	0,001321	0,071459	-0,60132
22:G-10	bothrops jararaca bothojaracin chain a complete cds	3,879252	-8,14628	3,43E-05	0,012682	2,559409
04:M-6	Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete	-3,7539	7,829481	4,59E-05	0,01542	2,233286
23:0-2	Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete cds	1,852643	-4,0622	0,003482	0,110513	-1,53471
24:1-8	Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete cds	4,187885	-5,24418	0,000733	0,051753	-0,0322
21:K-8	bothrops jararaca bothropasin complete cds	5,171865	-7,20075	8,40E-05	0,019209	1,789469
21:K-8	bothrops jararaca bothropasin complete cds	4,635785	-4,56314	0,001755	0,07835	-0,86745
02:F-5	bothrops jararaca bothrostatin complete cds	3,805882	-5,35541	0,00064	0,048477	0,095226
03:D-4	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	4,029785	-6,89359	0,000115	0,02157	1,621631
13:0-1	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	-3,41681	5,179066	0,000795	0,053725	-0,11381
19:M-4	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	-1,90735	3,457032	0,008359	0,162743	-2,30531
24:E-2	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	-3,27996	6,507566	0,000172	0,026588	1,298099
12:0-8	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	-3,21351	4,264891	0,002627	0,09509	-1,21988
22:F-4	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	-2,22172	4,446711	0,002051	0,084864	-0,98401

05:D-2	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	3,12129	-4,74812	0,001375	0,071752	-0,6159
05:P-1	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	-2,82575	3,639911	0,006381	0,142132	-2,17286
16:G-8	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	1,938394	-4,09551	0,003323	0,108866	-1,43483
24:H-1	bothrops jararaca mrna for bradykinin-potentiating peptide and c-type natriuretic peptide complete cds	4,348768	-7,56918	5,87E-05	0,017607	2,274967
03:K-1	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	-3,35606	5,393914	0,000611	0,04844	0,142017
02:I-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	3,948236	-7,77172	4,85E-05	0,015506	2,199661
02:I-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	2,45907	-3,53309	0,007467	0,1535	-2,22716
04:P-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	-1,91452	3,488229	0,00798	0,160609	-2,38036
05:H-6	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	1,996674	-4,60934	0,00165	0,078025	-0,79938
06:B-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	-1,98658	3,623499	0,006536	0,1437	-2,19665
08:I-2	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	-2,1831	3,37666	0,009425	0,170561	-2,55834
11:P-4	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	-3,26321	4,982863	0,001017	0,062508	-0,33693
24:G-9	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	7,898824	-7,01335	0,000101	0,020958	1,738915
24:H-10	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	6,461824	-10,8214	4,06E-06	0,006022	4,216251
24:H-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	7,25434	-10,4447	5,32E-06	0,006384	4,174754
24:H-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	4,050225	-3,41276	0,008929	0,16709	-2,4693
10:D-7	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS112.	-2,52088	5,473222	0,000555	0,044759	0,202494
02:F-9	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114.	3,936592	-8,04962	3,75E-05	0,01333	2,592263
02:F-9	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114.	2,068177	-3,52033	0,007609	0,154768	-2,2891
11:P-5	Bothrops jararaca toxin 2 (Tox2) gene, 3' UTR.	-3,50494	4,597793	0,001676	0,078025	-0,82836
11:P-5	Bothrops jararaca toxin 2 (Tox2) gene, 3' UTR.	-3,15709	3,559526	0,007181	0,151906	-2,28969
20:I-11	bothrops jararaca vascular endothelial growth factor complete cds	2,228144	-3,60153	0,006751	0,146621	-2,16158
17:0-11	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet iii partial cds	-3,27379	5,377461	0,000623	0,048477	0,119902

03:J-3	botrocetin alpha chain [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 133 aa]	4,193707	-5,35344	0,000641	0,048477	0,095181
22:N-8	bradykinin-potentiating peptides and C-type natriuretic peptide precursor [Bothrops jararaca].	-2,14552	4,522945	0,001851	0,080745	-0,88874
04:P-5	calmodulin	-3,18546	7,257577	7,94E-05	0,019061	2,015711
24:H-7	canis familiaris 60s ribosomal protein transcript variant 1 mrna	7,031605	-8,47485	2,57E-05	0,012682	2,949171
19:B-1	Cerastes cerastes clone Ccc Hy-4 hyaluronidase mRNA, complete cds.	2,682006	-4,41195	0,002149	0,087067	-1,09751
03:J-9	Chain A, The Three-Dimensional Structure Of Bothropasin, The Main Hemorrhagic Factor From Bothrops Jararaca Venom.	3,334608	-6,10022	0,000268	0,033434	0,897315
10:I-10	chk2 checkpoint homolog (pombe)	2,391761	-3,72921	0,005602	0,134451	-1,98098
02:D-7	creatine muscle	4,995117	-8,59478	2,31E-05	0,012682	2,875017
02:D-7	creatine muscle	4,170163	-4,30414	0,002489	0,092052	-1,21216
10:H-1	crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	-2,05782	3,909335	0,004323	0,119247	-1,6798
13:J-10	crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	3,418576	-6,01309	0,000296	0,033948	0,677581
02:C-12	crotalus atrox fad-containing l-amino acid oxidase apoxin 1 complete cds	2,731386	-5,51725	0,000526	0,042871	0,272211
02:C-12	crotalus atrox fad-containing l-amino acid oxidase apoxin 1 complete cds	2,074228	-4,00853	0,003755	0,112995	-1,62617
07:B-10	crotalus durissus mrna for convulxin beta	-3,80787	5,578441	0,000489	0,040496	0,347582
05:D-8	cysteine-rich seceretory protein ts-crpyb	2,827668	-5,00723	0,000986	0,06208	-0,30605
11:L-4	cytochrome c oxidase subunit iii	2,132497	-3,82511	0,004877	0,12669	-1,80303
02:I-10	Daboia russellii vimentin mRNA, complete cds	3,875796	-4,87926	0,001161	0,067524	-0,46255
24:G-2	Deinagkistrodon acutus acurhagin precursor mRNA, complete cds	3,196744	-6,16317	0,00025	0,032687	0,979371
19:C-6	deinagkistrodon acutus agglucetin-alpha 2 subunit complete cds	3,920799	-7,30282	7,60E-05	0,018702	1,927132
24:G-10	ecto-5 -nucleotidase	7,137552	-5,18705	0,000787	0,053656	-0,09581
03:K-9	elongation factor 1-gamma	-3,40021	3,882904	0,004489	0,121393	-1,79948
04:M-8	elongation factor 2	-2,99199	5,096708	0,000881	0,057908	-0,20113
20:1-8	endoplasmin precursor	4,067014	-5,23644	0,00074	0,051868	-0,03834
17:0-3	ephrin type-b receptor 4-like	-5,01559	3,933836	0,004174	0,119006	-1,74154
22:B-8	es1 protein mitochondrial-like isoform 1	4,354537	-8,3865	2,77E-05	0,012682	2,829185
22:B-6	exonuclease 3 -5 domain containing 1	2,27935	-4,32624	0,002415	0,091994	-1,18826
09:0-4	gata-binding factor 3	-3,76203	8,259325	3,10E-05	0,012682	2,823977

09:0-4	gata-binding factor 3	-2,16913	4,594692	0,001683	0,078025	-0,80095
02:F-11	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	3,550425	-7,46041	6,52E-05	0,018702	2,079756
02:F-11	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	3,938926	-5,91287	0,000331	0,035753	0,718237
04:K-2	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	-2,34986	4,16709	0,003007	0,1031	-1,37066
12:I-4	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	-1,87442	3,338577	0,009979	0,175138	-2,57931
17:0-2	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	-3,762	4,363082	0,002297	0,090298	-1,16286
17:0-2	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	-4,75487	3,43224	0,008673	0,165868	-2,47629
18:F-6	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	5,007062	-6,47239	0,000178	0,027171	1,306627
21:C-7	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	1,905342	-3,38915	0,00925	0,169794	-2,53099
02:D-3	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	3,177663	-4,05853	0,0035	0,110513	-1,5493
03:I-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	3,70726	-6,19209	0,000242	0,032687	0,871539
23:E-10	group iii snake venom metalloproteinase	-3,80483	4,06814	0,003453	0,110485	-1,53271
04:M-12	hemorrhagic metalloproteinase HF3 [Bothrops jararaca].	-4,67013	6,768967	0,00013	0,023607	1,510541
17:P-9	hemorrhagic metalloproteinase HR1b [Trimeresurus flavoviridis].	-2,61465	5,149477	0,000824	0,055349	-0,13935
02:D-8	homo sapiens myotubularin related protein 3 transcript variant mrna	2,940894	-3,55928	0,007184	0,151906	-2,25284
10:P-5	isocitrate dehydrogenase	-5,36421	7,400799	6,90E-05	0,018702	2,116607
24:G-4	<pre>lec1_sisca ame: full=c-type lectin isoform 1 flags: precursor</pre>	6,507576	-8,3263	2,92E-05	0,012682	2,670339
24:I-11	<pre>lec1_sisca ame: full=c-type lectin isoform 1 flags: precursor</pre>	3,150581	-6,51209	0,000171	0,026588	1,304827
15:E-8	light polypeptide slow	3,335396	-4,21237	0,002824	0,099628	-1,3598
02:E-6	M1-3-3 protein [Bothrops asper].	3,441489	-6,67733	0,000143	0,025036	1,305089
24:G-5	M1-3-3 protein [Bothrops asper].	6,523989	-7,43355	6,69E-05	0,018702	2,055547
20:A-1	macaca mulatta transgelin-2-like mrna	3,449161	-4,07738	0,003408	0,109794	-1,52727
24:J-7	metalloproteinase	1,882588	-3,67252	0,006084	0,139397	-1,98749
03:J-4	metalloproteinase vmp-iii precursor	4,454837	-5,88636	0,000342	0,036044	0,68805
05:P-10	metalloproteinase vmp-iii precursor	-2,93496	3,610276	0,006664	0,145738	-2,21561
10:P-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	-5,67903	7,814007	4,66E-05	0,01542	2,492609
10:P-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	-5,39267	4,955675	0,001052	0,063149	-0,38136
11:P-9	metalloproteinase vmp-iii precursor	-3,3934	6,694347	0,000141	0,025036	1,50179

24:G-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	5,214387	-5,97638	0,000308	0,034022	0,783322
24:M-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	-2,54004	5,770438	0,000391	0,037581	0,555417
02:J-3	mus musculus microtubule-actin crosslinking factor 1 transcript variant mrna	2,74455	-3,69104	0,005922	0,137695	-2,02089
05:K-2	myotoxic phospholipase A2-like [Bothrops jararacussu]	-2,64386	5,68667	0,000431	0,03864	0,413416
18:0-3	myotoxin II precursor [Bothrops moojeni]	-2,75937	7,001845	0,000103	0,020958	1,779156
02:D-2	nadh dehydrogenase subunit 1	3,200688	-4,26271	0,002635	0,09509	-1,28034
19:B-11	nadh dehydrogenase subunit 1	2,16244	-4,5693	0,00174	0,07835	-0,83201
12:F-3	nucleoside diphosphate kinase a	1,941254	-4,07322	0,003428	0,110067	-1,49241
10:I-5	Oxyuranus scutellatus adenine nucleotide translocator mRNA, partial cds	-2,68613	6,156083	0,000252	0,032687	0,9462
10:I-5	Oxyuranus scutellatus adenine nucleotide translocator mRNA, partial cds	2,895059	-4,02448	0,003671	0,112246	-1,5723
02:G-4	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	2,570092	-3,76771	0,005298	0,130742	-1,93762
04:N-6	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	-2,86947	5,62633	0,000462	0,039631	0,404108
06:P-8	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	-2,46705	4,025124	0,003668	0,112246	-1,58112
20:F-10	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	3,670443	-6,04695	0,000285	0,033741	0,862924
18:L-9	Oxyuranus scutellatus scutellatus PDI mRNA, complete cds	3,170986	-5,81166	0,000372	0,037401	0,588207
14:D-1	pantherophis guttatus hoxc13 complete cds and hoxc12 partial cds	5,346199	-9,68044	9,48E-06	0,010112	3,000444
14:D-1	pantherophis guttatus hoxc13 complete cds and hoxc12 partial cds	3,540751	-3,57172	0,007053	0,15047	-2,23252
22:B-11	PDI [Oxyuranus scutellatus scutellatus]	2,811974	-5,71844	0,000415	0,037581	0,469852
22:B-11	PDI [Oxyuranus scutellatus scutellatus]	2,586538	-3,69689	0,005872	0,137695	-2,06246
21:E-8	phosphate carrier mitochondrial	1,874937	-3,92265	0,004241	0,119056	-1,71217
02:I-4	phospholipase a2	3,970056	-5,99679	0,000301	0,033948	0,795306
04:N-8	phospholipase a2	-2,4243	4,970773	0,001032	0,062561	-0,35274
04:N-8	phospholipase a2	-2,61326	3,661592	0,006182	0,140178	-2,09936
05:D-3	phospholipase a2	2,595521	-4,8308	0,001235	0,070201	-0,51574
05:0-2	phospholipase a2	-2,57731	5,216514	0,000759	0,052396	-0,06505
17:0-1	phospholipase a2	-3,92874	4,586338	0,001701	0,078025	-0,84004
17:0-1	phospholipase a2	-3,09957	4,020356	0,003693	0,112542	-1,6318
24:1-4	phospholipase a2	2,220721	-4,53061	0,001832	0,080745	-0,91104

12:G-1	phospholipase A2 precursor [Bothrops erythromelas].	2,014221	-4,07813	0,003405	0,109794	-1,44978
17:P-2	phospholipase A2 precursor [Bothrops erythromelas].	-2,6114	5,739073	0,000405	0,037581	0,485193
23:B-3	phospholipase A2 precursor [Bothrops erythromelas].	2,659618	-5,5921	0,000481	0,040192	0,302103
02:F-12	phospholipase b-like 1-like	4,025207	-8,44016	2,64E-05	0,012682	2,881368
02:F-12	phospholipase b-like 1-like	3,203455	-3,92402	0,004233	0,119056	-1,74817
17:L-10	platelet glycoprotein Ib-binding protein alpha subunit, GPIb-BPalpha subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 142 aa].	3,019683	-4,6676	0,001528	0,07641	-0,72431
22:D-10	platelet glycoprotein Ib-binding protein alpha subunit, GPIb-BPalpha subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 142 aa].	-2,52797	5,277065	0,000704	0,051207	0,00383
02:H-3	platelet glycoprotein Ib-binding protein beta subunit, GPIb-BP beta subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 123 aa].	2,113154	-3,95272	0,004064	0,117863	-1,6257
10:J-10	platelet glycoprotein Ib-binding protein beta subunit, GPIb-BP beta subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 123 aa].	2,730327	-5,73923	0,000405	0,037581	0,474888
15:L-5	platelet glycoprotein Ib-binding protein beta subunit, GPIb-BP beta subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 123 aa].	-2,51523	3,699242	0,005852	0,137684	-1,98264
14:P-8	polyadenylate-binding protein 1	-2,24677	4,31774	0,002443	0,091994	-1,14675
05:D-4	polyadenylate-binding protein 1-like	2,779775	-5,82482	0,000367	0,037401	0,611953
21:F-10	PREDICTED: Taeniopygia guttata hypothetical protein LOC100226472 (LOC100226472), mRNA	1,982172	-4,45214	0,002036	0,08461	-1,01243
02:F-7	protein disulfide isomerase family member 6	4,124734	-8,17716	3,34E-05	0,012682	2,355614
02:F-7	protein disulfide isomerase family member 6	2,915476	-3,66231	0,006175	0,140178	-2,10406
12:H-1	protein tbrg4	2,534519	-3,4712	0,008185	0,162676	-2,37902
12:H-1	protein tbrg4	1,795599	-3,44267	0,00854	0,163962	-2,31858
03:K-12	putative neurotrophic growth factor precursor [Bothrops jararacussu].	-3,23328	6,623966	0,000152	0,025301	1,321698
02:F-2	RecName: Full=Bothrojaracin subunit alpha; Short=BJC subunit alpha; Flags: Precursor.	4,071765	-5,76824	0,000392	0,037581	0,557259
24:I-10	RecName: Full=C-type lectin BiL; Flags: Precursor.	2,953335	-6,38317	0,000196	0,029451	1,098687
02:F-1	RecName: Full=C-type lectin clone 2100755; Flags: Precursor.	3,859846	-8,26594	3,09E-05	0,012682	2,830585
18:0-9	RecName: Full=C-type lectin clone 2100755; Flags: Precursor.	-3,30593	7,353365	7,23E-05	0,018702	2,067373
07:K-6	RecName: Full=Phospholipase A2 homolog M1-3-3; Flags: Precursor.	-4,12508	7,66888	5,34E-05	0,016531	2,195369
09:P-3	RecName: Full=Phospholipase A2 homolog M1-3-3; Flags: Precursor.	-2,97079	4,415595	0,002139	0,087067	-1,04425
20:D-11	ribosomal p0	4,182866	-5,24805	0,00073	0,051753	-0,03987

14:D-7	ribosomal protein l19	4,796472	-7,11199	9,18E-05	0,019833	1,887623
14:D-7	ribosomal protein l19	4,899535	-5,0435	0,000942	0,060264	-0,27299
21:F-3	ribosomal protein l19	1,886735	-3,91403	0,004294	0,119247	-1,76012
21:G-5	ribosomal protein 135a-like	2,881748	-4,61906	0,001629	0,078025	-0,82484
14:P-4	ribosomal protein 139	-1,4395	3,535252	0,007443	0,1535	-2,32109
03:N-9	ribosomal protein I5	3,014092	-3,87748	0,004524	0,121629	-1,7742
10:N-5	ribosomal protein s11	2,656911	-4,58617	0,001702	0,078025	-0,81273
04:N-1	ribosomal protein s17	-1,98927	3,446391	0,008492	0,163868	-2,33535
24:1-5	ribosomal protein s18	2,760118	-4,08594	0,003368	0,109543	-1,5075
02:F-4	ribosomal protein s19	3,194422	-4,32773	0,00241	0,091994	-1,18999
05:0-8	ribosomal protein s19	-3,72356	4,26639	0,002621	0,09509	-1,24113
19:L-1	ribosomal protein s21	-1,73555	3,764203	0,005325	0,130742	-1,90979
18:A-7	ribosomal protein s29	2,289901	-4,35139	0,002334	0,091068	-1,17855
06:P-2	ribosomal protein s3a	-2,24168	3,687138	0,005956	0,137695	-2,07669
04:K-4	serine protease	-2,11371	3,524396	0,007564	0,154494	-2,25212
10:E-11	serine proteinase isoform 5 [Sistrurus catenatus edwardsi]	1,89523	-3,98997	0,003855	0,114925	-1,62112
17:0-6	serine/arginine-rich splicing factor 12 [Mus musculus]	-5,49342	8,510721	2,49E-05	0,012682	2,928597
17:0-6	serine/arginine-rich splicing factor 12 [Mus musculus]	-3,79852	4,300193	0,002503	0,092052	-1,23971
05:J-2	sistrurus catenatus edwardsi serine proteinase isoform 12 3 utr	-2,14537	4,006357	0,003766	0,112995	-1,58062
13:N-10	snake venom metalloprotease	-4,23474	4,872322	0,001171	0,067718	-0,4734
03:K-11	tetratricopeptide repeat domain 1	-3,92416	9,121387	1,48E-05	0,01187	3,389949
10:H-4	transcription elongation factor b polypeptide 2	-1,67924	3,358395	0,009687	0,172551	-2,50334
24:H-6	translocation protein sec62	7,188359	-12,0459	1,77E-06	0,005673	4,972665
22:E-9	Trimeresurus flavoviridis mRNA for flavoridin precursor, complete cds	2,093034	-3,58655	0,006901	0,148244	-2,14436
15:K-6	trimeresurus flavoviridis triflin complete cds	3,375365	-4,55723	0,001769	0,078604	-0,84669
08:1-6	trimeresurus gramineus mrna for serine complete cds	-1,96278	3,903508	0,004359	0,119555	-1,77348
03:F-8	trimeresurus stejnegeri cysteine-rich secretory protein partial cds	2,845692	-7,11421	9,16E-05	0,019833	1,878413
02:C-6	trimeresurus stejnegeri factor ix x binding protein beta chain-3 partial cds	2,487111	-5,28395	0,000698	0,051207	-0,01507

02:C-6	trimeresurus stejnegeri factor ix x binding protein beta chain-3 partial cds	2,335479	-3,92368	0,004235	0,119056	-1,73382
02:H-9	venom metalloproteinase bothrojarin2 [Bothrops jararaca]	2,11054	-3,90961	0,004321	0,119247	-1,70682
02:J-12	venom nerve growth factor precursor	3,798651	-3,8506	0,004702	0,1235	-1,8372
14:0-4	zinc finger protein 267	-2,87885	5,385761	0,000617	0,048477	0,096066

Apêndice 11: Tabela dos transcritos de toxinas e celulares considerados diferencialmente expressos (*fold change* <0,001) na glândula de veneno tratada com reserpina, através da análise da expressão gênica por macroarranjos.

ID	produto	logFC	t	P.Value	adj.P.Val	В
06:L-5	40s ribosomal protein s14	-1,98763	3,700856	0,005838	0,191758	-2,01103
20:G-7	60S ribosomal protein L13a [Oxyuranus scutellatus].	2,936317	-5,25476	0,000724	0,082643	-0,03618
24:M-11	achain crystal structure of aa-x-bp- a snake venom protein with the activity of binding to coagulation factor x from agkistrodon acutus	3,04656	-3,67592	0,006054	0,195422	-2,0051
06:1-2	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	1,390414	-3,40755	0,008999	0,234762	-2,45045
21:J-11	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	1,683322	-3,47916	0,008088	0,225356	-2,30717
24:N-3	achain crystal structure of bnsp- a lys49-phospholipase a2	1,767324	-3,69445	0,005893	0,191758	-1,95764
18:C-8	acipenser brevirostrum 5s rrna clone bre21a	2,422751	-5,50929	0,000531	0,078476	0,268774
02:0-1	af109911bothrops asper m1-3-3 protein complete cds	2,012563	-3,5157	0,007662	0,218131	-2,23506
17:D-3	af159542lapemis hardwickii ribosomal protein s15 complete cds	-2,14255	3,659538	0,006201	0,197049	-2,02774
10:M-6	agkistrodon contortrix laticinctus metalloproteinase-disintegrin-like protein complete cds	-1,70156	3,879502	0,004511	0,177531	-1,76682
03:N-11	agkistrodon piscivorus piscivorus piscivorin complete cds	3,631178	-4,48664	0,001944	0,1278	-0,95926
05:K-4	anolis carolinensis 60s acidic ribosomal protein p2-like mrna	2,930017	-5,0823	0,000897	0,085236	-0,22966
02:F-6	anolis carolinensis axin dorsalization-associated mrna	2,220358	-3,35941	0,009672	0,238076	-2,51544
01:C-11	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	-3,48123	5,28605	0,000696	0,082643	0,009967
04:N-3	bjca_botja ame: full=bothrojaracin subunit alpha short=bjc subunit alpha flags: precursor	2,137353	-5,25107	0,000727	0,082643	-0,02677
04:F-11	bjcb_botja ame: full=bothrojaracin subunit beta short=bjc subunit beta flags: precursor	-2,27211	3,719597	0,005681	0,191354	-1,91487

24:A-4	bjcb_botja ame: full=bothrojaracin subunit beta short=bjc subunit beta flags: precursor	1,706098	-3,61182	0,006649	0,201371	-2,0575
18:N-3	botb_botin ame: full=bothroinsularin subunit beta short=bin	-1,73882	3,883846	0,004483	0,177531	-1,71952
24:M-2	bothojaracin chain A precursor [Bothrops jararaca]	2,627388	-5,37085	0,000628	0,080368	0,115972
24:M-2	bothojaracin chain A precursor [Bothrops jararaca]	2,8037	-4,49747	0,001916	0,127587	-0,92107
03:B-10	bothrops insularis cluster bitb01a bradykinin-potentiating c-type natriuretic protein complete cds	4,923986	-7,01092	0,000102	0,040667	1,768864
01:K-10	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	-4,24554	4,627259	0,001612	0,122662	-0,76988
02:D-11	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	6,9204	-6,12558	0,000261	0,062822	0,921758
02:E-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	3,250175	-4,47639	0,001971	0,12869	-0,95937
02:G-8	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	3,223074	-5,22704	0,000749	0,082643	-0,04977
02:J-4	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	2,978145	-3,67224	0,006087	0,195422	-2,0098
06:M-6	bothrops insularis cluster bitb08 bradykinin-potentiating protein complete cds	-2,98365	5,33495	0,000656	0,081778	0,071024
02:1-6	bothrops insularis cluster bitm02a metalloproteinase complete cds	3,836612	-5,73893	0,000405	0,077571	0,522475
03:K-6	bothrops insularis cluster bitm06a metalloproteinase complete cds	-3,7553	5,620564	0,000466	0,077571	0,393631
22:J-5	bothrops insularis cluster bitm06a metalloproteinase complete cds	2,41912	-4,97253	0,00103	0,092425	-0,34709
02:M-5	Bothrops insularis cluster BITS01A serine proteinase precursor, mRNA, complete cds	-5,74647	11,37166	2,77E-06	0,013291	4,777219
22:G-10	bothrops jararaca bothojaracin chain a complete cds	1,885762	-4,05459	0,003519	0,160107	-1,48555
04:M-6	Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete	-3,9752	8,64056	2,22E-05	0,023708	2,749692
04:M-6	Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete	-5,06114	5,121329	0,000854	0,084515	-0,18194
10:N-3	Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete cds	-2,82162	5,44694	0,000573	0,079395	0,201687
23:0-2	Bothrops jararaca bothojaracin chain A precursor, mRNA, complete cds	3,663249	-6,68348	0,000143	0,048442	1,337341
23:A-7	bothrops jararaca bothrostatin complete cds	2,294187	-5,07444	0,000906	0,085237	-0,22963
04:0-7	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide complete cds	1,800246	-3,53049	0,007496	0,214807	-2,1585
03:D-4	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	2,885961	-5,40237	0,000604	0,079395	0,150014
19:M-4	bothrops jararaca bradykinin-potentiating c-type natriuretic peptide-related pseudogene complete sequence	1,879361	-3,81111	0,004976	0,183049	-1,8354
12:0-8	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	-3,77997	6,288949	0,000218	0,061219	1,111997
22:F-4	Bothrops jararaca bradykinin-potentiating/C-type natriuretic peptide-related pseudogene mRNA, complete sequence	-1,84885	3,370391	0,009514	0,237194	-2,37316

03:K-1	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	-4,44917	7,150786	8,83E-05	0,040377	1,890605
02:I-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	4,180981	-9,16951	1,43E-05	0,021893	3,200981
02:I-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	2,924889	-4,29871	0,002508	0,145906	-1,17848
05:H-6	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	2,464293	-5,87417	0,000346	0,070155	0,664237
10:E-4	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	-1,97144	5,170143	0,000804	0,083174	-0,11517
10:E-4	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114	-2,51806	3,80746	0,005003	0,183049	-1,90436
18:A-6	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114.	-3,45516	5,167932	0,000806	0,083174	-0,11834
02:F-9	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114.	2,212505	-4,84474	0,001213	0,101284	-0,50363
08:I-11	Bothrops jararaca mRNA for hypothetical protein, complete cds, clone: HS114.	-3,78284	6,740182	0,000134	0,048442	1,527403
06:M-7	bothrops jararaca toxin 2 3 utr	-3,44222	5,236168	0,00074	0,082643	-0,04418
01:J-10	Bothrops jararacussu metalloprotease BOJUMET II mRNA, partial cds	-3,92206	4,245865	0,002697	0,148302	-1,29868
05:0-4	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds	3,14215	-4,01822	0,003704	0,16386	-1,57779
23:N-10	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds	2,904738	-5,62689	0,000462	0,077571	0,326506
24:J-6	bothrops jararacussu metalloprotease bojumet ii partial cds	-3,17161	3,672554	0,006084	0,195422	-2,06235
24:M-4	Bothrops jararacussu serine protease mRNA, complete cds	2,558761	-4,91953	0,001102	0,096497	-0,4163
03:J-3	botrocetin alpha chain [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 133 aa]	4,074806	-5,20165	0,000773	0,083174	-0,07868
03:N-8	calglandulin-like protein	3,962394	-3,44236	0,008544	0,23031	-2,39938
04:P-5	calmodulin	-2,62369	5,258498	0,00072	0,082643	-0,02652
03:I-4	calreticulin	-2,34059	5,172889	0,000801	0,083174	-0,11199
19:H-10	calreticulin	-2,3736	4,316491	0,002447	0,143559	-1,16838
19:B-1	Cerastes cerastes clone Ccc Hy-4 hyaluronidase mRNA, complete cds.	3,353242	-5,24856	0,000729	0,082643	-0,02531
03:J-9	Chain A, The Three-Dimensional Structure Of Bothropasin, The Main Hemorrhagic Factor From Bothrops Jararaca Venom.	3,024468	-5,84552	0,000358	0,070155	0,634604
14:L-7	Chain A, The Three-Dimensional Structure Of Bothropasin, The Main Hemorrhagic Factor From Bothrops Jararaca Venom.	-4,11336	5,159303	0,000814	0,083178	-0,13226

10:H-1	crotalus adamanteus l-amino acid oxidase complete cds	-2,83078	6,398433	0,000193	0,05618	1,194297
22:H-12	crotalus adamanteus I-amino acid oxidase complete cds	2,778704	-5,66133	0,000444	0,077571	0,389426
02:C-12	crotalus atrox fad-containing l-amino acid oxidase apoxin 1 complete cds	2,26854	-4,17592	0,00297	0,15467	-1,3202
12:0-1	cyclic amp-dependent transcription factor atf-4	-2,51052	6,078256	0,000275	0,062822	0,894869
02:I-10	Daboia russellii vimentin mRNA, complete cds	4,273778	-5,63813	0,000456	0,077571	0,412878
08:D-6	deinagkistrodon acutus agglucetin-alpha 2 subunit complete cds	-2,29616	4,171857	0,002987	0,15467	-1,33135
19:C-6	deinagkistrodon acutus agglucetin-alpha 2 subunit complete cds	3,961055	-8,22419	3,20E-05	0,027948	2,690388
04:M-8	elongation factor 2	-2,77348	5,096223	0,000881	0,085236	-0,20299
22:B-6	exonuclease 3 -5 domain containing 1	2,041139	-4,04597	0,003562	0,160537	-1,56427
07:M-5	Gallus gallus similar to isocitrate dehydrogenase 2 (NADP+), mitochondrial (LOC431056), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA	-4,48424	5,182864	0,000791	0,083174	-0,10036
07:M-5	Gallus gallus similar to isocitrate dehydrogenase 2 (NADP+), mitochondrial (LOC431056), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA	-3,35444	4,985926	0,001013	0,091723	-0,34505
09:O-4	gata-binding factor 3	-2,13628	4,346035	0,002351	0,142161	-1,11795
02:F-11	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	2,442094	-4,89112	0,001143	0,097426	-0,45296
03:P-1	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	-2,10525	4,13923	0,003126	0,15467	-1,38572
06:F-7	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	-1,73757	3,631708	0,006458	0,19961	-2,08742
09:F-12	gpiba_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit alpha short=gpib-bp subunit alpha	-1,69327	3,591078	0,006855	0,204309	-2,20345
03:I-1	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	2,456943	-4,58791	0,001698	0,12362	-0,80933
06:K-6	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	3,153162	-5,03237	0,000955	0,087308	-0,27957
07:K-5	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	2,384839	-3,38677	0,009283	0,237194	-2,51112
10:G-7	gpibb_botja ame: full=glycoprotein ib-binding protein subunit beta short=gpib-bp subunit beta	-2,17527	3,383169	0,009333	0,237194	-2,48144
04:M-12	hemorrhagic metalloproteinase HF3 [Bothrops jararaca].	-5,5491	9,307819	1,27E-05	0,021893	3,529178
01:L-11	Homo sapiens actin, gamma 1 (ACTG1), mRNA.	-2,63046	4,960675	0,001046	0,09296	-0,40363
02:M-3	M1-3-3 protein [Bothrops asper]	-2,67549	5,217668	0,000758	0,082643	-0,06218
02:E-6	M1-3-3 protein [Bothrops asper].	2,323488	-5,03477	0,000952	0,087308	-0,28319

02:K-5	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	-3,82795	4,493008	0,001927	0,127587	-0,96131
15:C-8	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	2,235251	-3,72302	0,005653	0,191354	-1,98567
24:N-4	macrovipera lebetina serine alpha-fibrinogenase complete cds	2,815216	-3,40113	0,009086	0,235598	-2,43044
03:J-4	metalloproteinase vmp-iii precursor	3,31133	-4,37539	0,002259	0,13811	-1,09829
10:P-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	-3,18341	4,144691	0,003102	0,15467	-1,39062
11:G-7	metalloproteinase vmp-iii precursor	-2,45603	3,79587	0,005087	0,183049	-1,90606
18:B-5	monodelphis domestica gamma-actin mrna	-4,41372	5,273557	0,000707	0,082643	0,001225
02:J-3	mus musculus microtubule-actin crosslinking factor 1 transcript variant mrna	3,849098	-5,4667	0,000559	0,079395	0,223075
01:0-11	myotoxin II precursor [Bothrops moojeni]	3,059989	-6,0916	0,000271	0,062822	0,908915
18:0-3	myotoxin II precursor [Bothrops moojeni]	-2,23665	4,497653	0,001915	0,127587	-0,92566
08:E-8	na+ k+ alpha 1 polypeptide	2,905263	-5,53198	0,000517	0,077571	0,288299
08:N-11	nadh dehydrogenase subunit 1	2,443006	-6,10798	0,000266	0,062822	0,916531
19:B-11	nadh dehydrogenase subunit 1	2,939772	-5,86881	0,000349	0,070155	0,528542
23:N-9	nuclease sensitive element binding protein 1	1,727743	-4,02086	0,00369	0,16386	-1,54087
05:I-7	nucleoside diphosphate kinase	2,9875	-5,42002	0,000592	0,079395	0,171858
03:L-7	oxyuranus scutellatus scutellatus pdi complete cds	-3,45262	5,936269	0,000323	0,068847	0,699178
18:L-9	Oxyuranus scutellatus scutellatus PDI mRNA, complete cds	-1,77053	3,794215	0,005099	0,183049	-1,90674
01:K-12	pan troglodytes y box binding protein 2 mrna	-3,17475	5,656656	0,000446	0,077571	0,438523
01:K-12	pan troglodytes y box binding protein 2 mrna	-2,91827	4,113754	0,003239	0,15467	-1,43308
22:B-11	PDI [Oxyuranus scutellatus scutellatus]	3,577036	-7,28424	7,74E-05	0,039037	1,847525
08:1-3	pheromone partial	3,862569	-8,03699	3,79E-05	0,030339	2,339624
02:G-1	phospholipase a2	2,439642	-3,4492	0,008457	0,23031	-2,36149
02:1-4	phospholipase a2	5,275638	-8,40034	2,74E-05	0,026295	2,879872
21:B-2	phospholipase a2	-1,7827	3,94526	0,004107	0,176045	-1,62614
12:G-1	phospholipase A2 precursor [Bothrops erythromelas].	-1,83215	4,286384	0,00255	0,146615	-1,18601
23:B-3	phospholipase A2 precursor [Bothrops erythromelas].	4,198171	-8,99118	1,65E-05	0,021893	2,872876
23:B-3	phospholipase A2 precursor [Bothrops erythromelas].	3,562665	-7,63781	5,50E-05	0,033663	2,359116
02:F-12	phospholipase b-like 1-like	2,417692	-4,5391	0,001812	0,126961	-0,86946

16:P-12	platelet glycoprotein Ib-binding protein alpha subunit, GPIb-BPalpha subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 142 aa].	2,826941	-4,13098	0,003162	0,15467	-1,42585
02:H-3	platelet glycoprotein Ib-binding protein beta subunit, GPIb-BP beta subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 123 aa].	2,976776	-5,3512	0,000643	0,081228	0,04796
13:H-2	platelet glycoprotein Ib-binding protein beta subunit, GPIb-BP beta subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 123 aa].	-2,11817	5,123067	0,000852	0,084515	-0,17328
13:H-2	platelet glycoprotein lb-binding protein beta subunit, GPIb-BP beta subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 123 aa].	-1,77721	4,648654	0,001567	0,121301	-0,75122
15:L-5	platelet glycoprotein lb-binding protein beta subunit, GPIb-BP beta subunit [Bothrops jararaca, venom, Peptide, 123 aa].	-3,85278	6,694721	0,000141	0,048442	1,495961
05:D-4	polyadenylate-binding protein 1-like	1,664554	-3,37265	0,009482	0,237194	-2,43417
12:A-11	PREDICTED: Anolis carolinensis actin, cytoplasmic 2-like (LOC100564373), miscRNA.	2,051605	-4,06318	0,003477	0,158938	-1,54748
11:G-4	PREDICTED: putative hormone-regulated proliferation-associated 20 kDa protein variant 1 [Taeniopygia guttata].	-2,0328	3,643401	0,006349	0,199172	-2,11666
02:L-12	protein disulfide isomerase family member 4	-4,12417	6,080247	0,000274	0,062822	0,89146
02:F-7	protein disulfide isomerase family member 6	2,411738	-5,40506	0,000602	0,079395	0,11677
13:C-10	protein o-fucosyltransferase 2	1,62365	-3,41156	0,008945	0,233994	-2,45409
03:K-12	putative neurotrophic growth factor precursor [Bothrops jararacussu].	-2,82836	5,559375	0,000501	0,077571	0,248771
21:N-11	putative neurotrophic growth factor precursor [Bothrops jararacussu].	3,237456	-5,98481	0,000305	0,068181	0,543038
04:H-2	rattus norvegicus eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1- transcript variant 2 mrna	3,4838	-4,20369	0,002858	0,153292	-1,31927
02:F-2	RecName: Full=Bothrojaracin subunit alpha; Short=BJC subunit alpha; Flags: Precursor.	2,309698	-3,47126	0,008184	0,226092	-2,35516
02:F-1	RecName: Full=C-type lectin clone 2100755; Flags: Precursor.	2,734774	-5,53797	0,000513	0,077571	0,295196
18:0-9	RecName: Full=C-type lectin clone 2100755; Flags: Precursor.	-2,31736	4,593989	0,001684	0,12362	-0,80204
24:J-1	RecName: Full=C-type lectin clone 2100755; Flags: Precursor.	-2,09488	3,48586	0,008008	0,225356	-2,36433
24:L-1	RecName: Full=C-type lectin clone 2100755; Flags: Precursor.	2,290645	-4,8164	0,001259	0,103265	-0,5438
22:L-8	ribosomal protein l24	2,994693	-3,98724	0,00387	0,168858	-1,61367
22:M-10	ribosomal protein I31	3,71517	-5,3129	0,000674	0,082643	0,048248

02:H-4	ribosomal protein I39	2,770983	-3,89699	0,0044	0,177531	-1,69387
10:N-5	ribosomal protein s11	-1,67783	3,637321	0,006405	0,19961	-2,09908
04:N-1	ribosomal protein s17	-2,08119	4,500568	0,001908	0,127587	-0,96071
04:N-1	ribosomal protein s17	-2,51178	3,679304	0,006024	0,195377	-2,0338
05:0-8	ribosomal protein s19	-3,01266	3,802808	0,005036	0,183049	-1,89136
19:L-1	ribosomal protein s21	1,57347	-3,63458	0,006431	0,19961	-2,09613
18:A-7	ribosomal protein s29	3,34114	-5,53802	0,000513	0,077571	0,296252
18:A-7	ribosomal protein s29	3,018355	-3,42275	0,008797	0,233296	-2,44325
09:0-11	ribosomal protein s3	-3,01611	6,265748	0,000223	0,061219	0,95062
02:B-8	rps2p	-2,67105	5,54664	0,000508	0,077571	0,314942
09:B-11	serine proteinase isoform 8 [Sistrurus catenatus edwardsi]	1,844437	-3,88904	0,00445	0,177531	-1,73791
05:J-2	sistrurus catenatus edwardsi serine proteinase isoform 12 3 utr	-2,03159	3,615996	0,006609	0,201371	-2,08085
15:P-4	staa_trist ame: full=stejaggregin-a subunit alpha flags: precursor	-2,83087	3,514093	0,00768	0,218131	-2,32513
02:J-11	thioredoxin domain containing 5	-3,59051	6,701253	0,00014	0,048442	1,407111
10:H-4	transcription elongation factor b polypeptide 2	-2,37672	4,557791	0,001767	0,124748	-0,84831
15:B-6	transmembrane protein 184b [Mus musculus]	2,990707	-6,44514	0,000184	0,05618	1,12463
03:M-10	trimeresurus flavoviridis mrna for serine complete cds	4,600954	-4,67073	0,001522	0,119758	-0,71239
15:K-6	trimeresurus flavoviridis triflin complete cds	-2,45456	3,783259	0,00518	0,184874	-1,87324
07:0-12	Trimeresurus flavoviridis vascular endothelial growth factor A190 isoform precursor, gene, complete cds	-4,01783	6,597157	0,000156	0,049949	1,386529
02:C-6	trimeresurus stejnegeri factor ix x binding protein beta chain-3 partial cds	2,003621	-3,55236	0,007258	0,209227	-2,11214
23:N-11	trna splicing endonuclease 15 homolog (cerevisiae)	2,696896	-4,12234	0,0032	0,15467	-1,41208
06:M-5	unnamed protein product [Mus musculus]	1,913746	-3,61918	0,006578	0,201111	-2,1731
07:I-10	vascular endothelial growth factor precursor	4,583938	-3,60502	0,006716	0,201831	-2,1935
14:A-8	vascular endothelial growth factor precursor [Bothrops jararaca].	3,022482	-4,41691	0,002135	0,134848	-1,02308
14:A-8	vascular endothelial growth factor precursor [Bothrops jararaca].	6,204069	-4,25254	0,002672	0,148267	-1,2878
02:H-9	venom metalloproteinase bothrojarin2 [Bothrops jararaca]	5,748126	-9,08125	1,53E-05	0,021893	2,879344
01:M-11	vm3_agkpl ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin vmp-iii short= -iii flags: precursor	-3,85798	5,222227	0,000753	0,082643	-0,05957

01:M-11	vm3_agkpl ame: full=zinc metalloproteinase-disintegrin vmp-iii short= -iii flags: precursor	-5,64292	4,144715	0,003102	0,15467	-1,41925