

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 24/04/2027.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - BOTUCATU
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ZOOLOGIA**



LUCAS DUARTE MARTINEZ

**TRANSCRIPTÔMICA COMPARATIVA EM CERIANTHARIA (CNIDARIA): ÊNFASE
EM PROCESSOS DE SELEÇÃO GENÉTICA NO REPERTÓRIO DE TOXINAS**

**Botucatu - SP
2025**

LUCAS DUARTE MARTINEZ

**TRANSCRIPTÔMICA COMPARATIVA EM CERIANTHARIA (CNIDARIA): ÊNFASE
EM PROCESSOS DE SELEÇÃO GENÉTICA NO REPERTÓRIO DE TOXINAS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia).

Orientador: Dr. Sérgio Nascimento Stampar;
Co-orientadora: Dra. Celine Lopes da Silva Santos.

Botucatu - SP

2025

M385t Martinez, Lucas Duarte
Transcriptômica comparativa em Ceriantharia (Cnidaria) :
ênfase em processos de seleção genética no repertório de
toxinas / Lucas Duarte Martinez. -- , 2025
127 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu,
Orientador: Sérgio Nascimento Stampar
Coorientadora: Celine Lopes da Silva Santos

1. Cnidaria. 2. Anêmonas-do-mar. 3. Transcriptoma. 4.
Evolução. 5. Toxinas. I. Título.

LUCAS DUARTE MARTINEZ

**TRANSCRIPTÔMICA COMPARATIVA EM CERIANTHARIA (CNIDARIA):
ÊNFASE EM PROCESSOS DE SELEÇÃO GENÉTICA NO REPERTÓRIO DE
TOXINAS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia).

Data da defesa: 24 de Abril de 2025.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Sérgio Nascimento Stampar
UNESP - Faculdade de Ciências - Campus de Bauru

Profa. Dra. Kátia Cristina Cruz Capel
UFScar - Universidade Federal de São Carlos

Profa. Dra. Juliana de Oliveira
UNESP - Faculdade de Ciências e Letras - Campus de Assis

AGRADECIMENTOS

Gostaria de iniciar meus agradecimentos à CAPES pelo financiamento desta tese de mestrado. Gostaria de agradecer ao Prof. Dr. Sérgio Nascimento Stampar pela orientação desde os primeiros anos de graduação, estendendo-se ao mestrado, sempre incentivando nossas ideias e trabalhando para aprimorá-las e não apenas moldá-las ao seu gosto. Gostaria de agradecer a Dra. Celine Lopes da Silva Santos, minha co-orientadora, por sempre mostrar-se disposta a elucidar toda e qualquer dúvida que eu tenha tido ao longo desses anos.

Gostaria de agradecer à Profa. Dra. Sônia Cristina da Silva Andrade por me receber de portas abertas em seu laboratório na USP - São Paulo. Gostaria de agradecer a toda a equipe do Laboratório de Diversidade Genômica da USP por terem me recebido tão bem nesses períodos em que estive lá, especialmente ao Dr. Rafael Eiji Iwama, que me ensinou boa parte das técnicas utilizadas no presente trabalho.

Prosseguindo com meus agradecimentos, gostaria de mencionar meus companheiros do Laboratório de Evolução e Diversidade Aquática pelos bons momentos que compartilhamos e pelos ensinamentos que levo de cada um deles. Gostaria de fazer um agradecimento em especial ao Dalton Cruz, meu companheiro da época da graduação, onde passamos por poucas e boas, e de laboratório, que durante o período do mestrado dividimos um apartamento por um ano.

Gostaria de agradecer a todos os meus amigos, tanto os de Assis quanto os de Marília, por terem me apoiado e me distraído nos momentos de maiores dificuldades. Gostaria de agradecer a minha família, em especial a minha avó Neusa e meu avô Cláudio que me criaram desde criança e sempre me apoiaram em continuar com os estudos e sempre ir além. Gostaria de agradecer aos meus pais, minha mãe Cláudia e meu pai Christian, por se doarem tanto para me dar o melhor dentro de seus alcances. Gostaria de agradecer ao meu irmão, João Pedro, apesar das rixas da fraternidades de quando éramos mais novos, hoje somos bons companheiros e sei que estará comigo sempre que precisar. Gostaria de lembrar que apesar de não formamos uma casa onde todos temos nomes compostos, formamos uma casa onde todos somos unespianos e com muito orgulho disso.

Gostaria de agradecer aos meus sogros, Wagner e Graça Cavalheiro, que me acolheram em sua família, sempre me receberam de coração aberto e de bom grado, seja indo para passar um tempo com eles ou quando precisava ir para a USP. Por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer a pessoa que sempre estive ao meu lado, compartilhando comigo todos os momentos de dificuldade, desespero, de alegria e de esperança, minha namorada e mais que isso, minha companheira, Giovanna da Silva Cavalheiro. Só nós dois sabemos o que passamos ao longo desses dois anos e eu tenho certeza que seria mais difícil e monótono passar sem você ao meu lado.

Resumo

Cnidaria é um filo de invertebrados que abarca organismos que colonizaram ambientes de água doce e marinhos. Ao longo da história evolutiva, os cnidários desenvolveram diversas características adaptativas para lidarem com os diversos habitats e suas sugestões ambientais. A produção de toxinas a partir de células urticantes, os cnidócitos, espalhadas por todo o corpo, foi uma dessas novidades evolutivas que contribuíram para o sucesso evolutivo de Cnidaria. Estudos em Anthozoa revelaram a presença de diversas toxinas únicas a esse grupo e ausentes em outros Cnidaria, mas ainda pouco exploradas em Ceriantharia, um grupo evolutivamente basal em comparação a Actiniaria. Com base neste cenário, o intuito deste trabalho foi entender a evolução das famílias de genes putativos similares a toxinas formadoras de poros e de neurotoxinas em anêmonas do mar da ordem Actiniaria e da subclasse Ceriantharia. Para isso, foi feito um levantamento a respeito das ferramentas mais adequadas para os processos de limpeza das leituras, montagem *de novo* do transcriptoma e avaliação da qualidade da montagem. Nesse sentido, um guia prático foi proposto com base em artigos selecionados a partir de buscas na plataforma Google acadêmico usando as seguintes palavras-chaves “transcriptome assembly”, “RNA-seq”, “transcriptomics” e “RNA” associadas ao termo “Anthozoa”. Ademais, a partir de transcriptomas de nove espécies de Ceriantharia e sete espécies de Actiniaria, procurou-se discutir a evolução de dois domínios e uma família de proteínas similares a toxinas putativas, com suas duplicações identificadas e reiterando a monofilia presente entre os grupos analisados.

Palavras-chaves: RNA-Seq; Anêmonas do mar; Anêmonas de tubo; Evolução.

ABSTRACT

Cnidaria is a phylum of marine invertebrates that includes organisms that have colonized both freshwater and marine environments. Throughout evolutionary history, cnidarians developed various adaptive characteristics to cope with diverse habitats and their environmental challenges. One such evolutionary innovation was the production of toxins through stinging cells, the cnidocytes, distributed across the body, which contributed to the evolutionary success of Cnidaria. Studies in Anthozoa have revealed the presence of various toxins unique to this group and absent in other cnidarians, but these toxins remain poorly studied in Ceriantharia, a basal group compared to Actiniaria. Against this backdrop, this study aimed to understand the evolution of gene families putatively associated with pore-forming toxins and neurotoxins in sea anemones of the order Actiniaria and the subclass Ceriantharia. To achieve this, a review was conducted to identify the most suitable tools for read cleaning, *de novo* transcriptome assembly, and quality assessment of the assemblies. Based on this review, a practical guide was proposed using selected articles retrieved from searches on Google Scholar with the keywords “transcriptome assembly,” “RNA-seq,” “transcriptomics,” and “RNA,” combined with the term “Anthozoa.” Additionally, using transcriptomes from nine species of Ceriantharia and seven species of Actiniaria, the study sought to discuss the evolution of two domains and one family of putative toxin-like proteins, with their duplications identified and reinforcing the monophyly observed among the analyzed groups.

Keywords: RNA-Seq; Sea anemones; Tube anemones; Evolution.

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	11
1.1 AVANÇOS EM TRANSCRIPTÔMICA.....	11
1.2 FILO CNIDARIA.....	13
1.3 CNIDARIA E SUAS TOXINAS.....	14
REFERÊNCIAS.....	17
2 OBJETIVO GERAL.....	22
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
Capítulo 1: Análises Transcriptomas em Anthozoa (Cnidaria): Um Levantamento das Principais Abordagens e Ferramentas.....	23
RESUMO.....	23
1 INTRODUÇÃO.....	25
2 METODOLOGIA.....	29
2.1 OBTENÇÃO DOS DADOS.....	29
3 RESULTADOS.....	29
3.1 PRÉ-PROCESSAMENTO.....	29
3.1.1 Avaliação preliminar.....	29
3.1.2 Trimagem.....	31
3.1.3 Montagem.....	34
3.1.4 Remoção de redundância e de erros.....	37
3.1.5 Agrupamento (assamblagem).....	39
3.1.6 Qualidade da montagem.....	40
3.2 ANOTAÇÃO FUNCIONAL.....	42
3.2.1 Alinhamento.....	42
3.2.2 Banco de dados.....	44
3.2.3 Identificação dos ORFs.....	46
4 DISCUSSÃO.....	47
4.1 DIFERENÇA ENTRE AS MÉTRICAS.....	47
4.2 PROGRAMAS AVALIATIVOS.....	48
4.3 TRIMAGEM.....	50
4.4 MONTAGEM.....	54
4.5 REMOÇÃO DE REDUNDÂNCIA E CORREÇÕES DE ERROS.....	59
4.6 AGRUPAMENTO.....	62
4.7 QUALIDADE DA MONTAGEM.....	64
4.8 ANOTAÇÃO FUNCIONAL.....	68
4.9 BANCO DE DADOS.....	73
4.10 IDENTIFICAÇÃO DOS ORFS.....	76
4.11 ESCOLHA DAS VERSÕES DISPONÍVEIS.....	79
4.12 TRANSCRIPTÔMICA: DA MONTAGEM A ANOTAÇÃO.....	80
5 CONCLUSÃO.....	81
REFERÊNCIAS.....	83
Capítulo 2: A influência do ambiente no repertório tóxico de Actiniaria e Ceriantharia (Cnidaria): Uma análise evolutiva das toxinas formadoras de poros e neurotoxinas...	98

RESUMO.....	98
1 INTRODUÇÃO.....	100
2 OBJETIVO GERAL.....	103
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	103
3.1 COLETA DOS ESPÉCIMES DE CERIANTHARIA E OBTENÇÃO DOS DADOS DE ACTINIARIA.....	103
3.2 PREPARAÇÃO DA BIBLIOTECA CDNA E SEQUENCIAMENTO DO RNA DE CERIANTHARIA.....	104
3.3 MONTAGEM DE NOVO DOS TRANSCRIPTOMAS DE CERIANTHARIA E ACTINIARIA E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA MONTAGEM.....	104
3.4 ANOTAÇÃO FUNCIONAL DOS GENES SIMILARES A TOXINAS PUTATIVAS.....	105
3.5 ALINHAMENTO E CONSTRUÇÃO DAS ÁRVORES DE GENES.....	105
3.6 ANÁLISES DE SELEÇÃO.....	106
4 RESULTADOS.....	106
4.1 SEQUENCIAMENTO DO RNA E MONTAGEM DE NOVO DOS TRANSCRIPTOMAS.....	106
4.2 ÁRVORES DOS GENES.....	107
4.3 ANÁLISES DE SELEÇÃO.....	110
5 DISCUSSÃO.....	111
5.1 ÁRVORES GÊNICAS E SUAS DUPLICAÇÕES.....	111
5.2 TESTES DE SELEÇÃO.....	115
6 CONCLUSÃO.....	117
REFERÊNCIAS.....	119

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 AVANÇOS EM TRANSCRIPTÔMICA

Após 15 anos do descobrimento da dupla hélice por Rosalind Franklin, James Watson e Francis Crick, o primeiro sequenciamento do DNA, mesmo que de forma parcial, já havia sido realizado em 1968 (KLUG, 1968; HUTCHISON, 2007). Na década de 70, Frederick Sanger foi responsável pelo desenvolvimento de uma técnica de sequenciamento que perdurou como sendo dominante por 30 anos (HUTCHISON, 2007). Sua técnica se baseia na utilização de didesoxinucleotídeos (ddNTPs) para interromper a síntese de DNA em pontos específicos, onde, na replicação *in vitro*, a incorporação aleatória desses ddNTPs resulta em fragmentos de diferentes comprimentos, cada um terminando com um nucleotídeo marcado. Esses são então separados por eletroforese capilar, permitindo a leitura sequencial das bases e a determinação precisa da sequência de nucleotídeos do DNA alvo (SANGER *et al.*, 1977).

Nos anos 2000, a técnica de sequenciamento de nova geração (do inglês *Next Generation Sequencing* – NGS, também chamada de sequenciamento de alto desempenho, HTS) surgiu (HEATHER E CHAIN, 2016). Essa nova abordagem combinou as etapas de amplificação gênica (similar à PCR) e sequenciamento por síntese (similar à técnica de Sanger) de forma massiva e simultânea (YAMAMOTO, 2017). Entre os sequenciamentos de nova geração, destaca-se o sequenciamento por Illumina, que, utilizando-se da técnica do sequenciamento por síntese, permite a leitura de milhões de fragmentos do material genético (MARDIS, 2008; GOODWIN *et al.*, 2016).

O sequenciamento Illumina inicia-se com a fragmentação do DNA e adição de adaptadores, seguida da fixação dos fragmentos em uma *flow cell*, onde ocorre a amplificação em ponte (Bridge PCR) (MARDIS, 2008). Durante o sequenciamento, nucleotídeos fluorescentes reversíveis são incorporados pela DNA polimerase, cada um com um marcador fluorescente distinto e uma extremidade temporariamente bloqueada para evitar múltiplas incorporações simultâneas (MARDIS, 2008). Após a adição de cada nucleotídeo, um sistema óptico registra o sinal fluorescente, a extremidade é desbloqueada e o processo se repete até que o fragmento seja

completamente sequenciado (MARDIS, 2008; GOODWIN *et al.*, 2016). Esse método, realizado de forma massivamente paralela, permite a leitura simultânea de milhões de fragmentos, reduzindo tempo e custos, enquanto um software reconstrói a sequência do DNA com alta precisão (YAMAMOTO, 2017).

Com o sequenciamento completo, o arquivo de saída resultante é composto por curtas sequências de DNA (*reads*), que apresentam um comprimento de 50 a 300 pares de base (bp), com alta precisão e cobertura (MARDIS, 2008). Entretanto, o fato de serem curtas implica dificuldades na montagem de genomas/transcriptomas complexos, especialmente em regiões altamente repetitivas, pois as leituras podem não apresentem comprimento suficiente para cobrir completamente essas áreas e estabelecer conexões entre fragmentos distantes, resultando em montagens fragmentadas (*scaffolds* curtos) e dificuldades na identificação de variantes estruturais (VAN DIJK *et al.*, 2014). Outra problemática são possíveis contaminações oriundas do processo de sequenciamento em si (material genético externo à amostra; adaptadores etc.) (STOLER, 2021).

A fim de conferir qualidade ao montar-se o genoma e transcriptoma, além de garantir que não haja ruídos e enviesamento no resultado final, faz-se necessário remover os possíveis contaminantes e redundâncias oriundos do processo de sequenciamento, por meio de processos como análise preliminar (utilizando, por exemplo, o FastQC) (ANDREWS, 2010) e a trimagem (i.e., SeqyClean) (ZHBANNIKOV *et al.*, 2017). Uma vez com as *reads* filtradas, a montagem pode ser feita utilizando um genoma de referência ou não, sendo denominada montagem de novo (GRABHERR *et al.*, 2011). De forma geral, as montagens de transcriptomas ocorrem com a construção de gráficos de Bruijn, que são formados a partir do alinhamento de pares de bases em comum de reads com determinado comprimento definido (k-mers), formando *contigs*, e a junção deles resulta no transcriptoma montado (RAGHAVAN *et al.*, 2022).

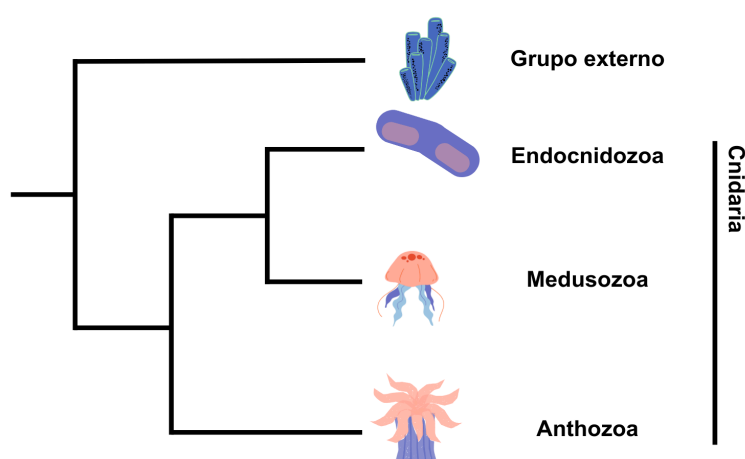
A montagem do transcriptoma interfere nas análises posteriores a serem realizadas, podendo comprometer as respostas biológicas dos dados, caso apresente baixa qualidade. Uma montagem fragmentada e incompleta pode não apresentar a completude esperada dos genes. Além disso, a criação de transcritos artificiais pode ocorrer em montagens de baixa qualidade, distorcendo a abundância real de genes e interferindo em análises de expressão gênica, por exemplo (HASS *et al.*, 2013; CONESA *et al.*, 2016). Em estudos comparativos, uma montagem que

apresenta sequências não confiáveis gera uma anotação imprecisa, prejudicando a identificação de genes e domínios proteicos e dificultando análises de função gênica e evolução molecular (SMITH-UNNA *et al.*, 2016; SALZBERG, 2019).

1.2 FILO CNIDARIA

Com mais de 13.000 espécies descritas, o filo Cnidaria apresenta uma grande variedade entre os seus indivíduos (COLLINS, 2002; DALY *et al.*, 2007). O grupo é dividido em três subfilos (Figura 1), com base em caracteres morfológicos, dados filogenômicos e em seu desenvolvimento (COLLINS, 2002; KAYAL *et al.*, 2013; ZAPATA *et al.*, 2015; KAYAL *et al.*, 2018). De forma geral, a divisão do grupo se dá em: Medusozoa, caracterizado por um ciclo de vida metagenético (com algumas exceções em Hydrozoa) (GIBBONS *et al.*, 2010); Anthozoa, cujo desenvolvimento é caracterizado por uma fase de plânula e um estágio polipoide (COLLINS, 2002), com exceção de algumas espécies de Ceriantharia, que podem apresentar uma larva livre-natante denominada cerínula (UCHIDA, 1979); e Endocnidozoa, que possui um hábito de vida parasitário (OKAMURA *et al.*, 2015).

Figura 1 - Árvore filogenética mostrando a divisão de Cnidaria.



Fonte: Adaptada de KAYAL *et al.*, 2018.

Apesar dessa grande diversidade, a característica que confere sinapomorfia ao filo é a presença de células especializadas, os cnidócitos, que provavelmente possuem origem neuronal (BABONIS & MARTINDALE, 2017). Os cnidócitos são classificados em três tipos distintos: (a) pticocistos, que estão presentes somente na

subclasse Ceriantharia e exercem um papel crucial na síntese dos tubos que circundam o corpo desses organismos (MARISCAL, 1977); (b) espirocistos, exclusivos de Hexacorallia e Ceriantharia, que possuem uma função adesiva; e (c) nematocistos, compartilhados por todos os cnidários, nos quais os compostos tóxicos estão presentes (MARISCAL, 1977).

Dentre os diversos grupos de indivíduos dentro de Cnidaria, destaca-se, pelo número de espécies e alta diversidade, o subfilo Anthozoa, representado pelos corais, anêmonas-do-mar e anêmonas-de-tubo (7.500 espécies – DALY *et al.*, 2007). Além disso, Anthozoa é o grupo basal dentro de Cnidaria, devido sua derivação mais ancestral, em relação aos outros grupos dentro do filo. O grupo apresenta, de forma majoritária, seus organismos tendo DNA mitocondrial circular; entretanto, na subclasse Ceriantharia, há registro de um possível DNA mitocondrial formado por uma série de pequenos fragmentos de sequências lineares (KAYAL *et al.*, 2013; STAMPAR *et al.*, 2019).

Dentro de *Anthozoa* encontra-se a subclasse *Hexacorallia*, que inclui a ordem *Actiniaria*, constituída pelas anêmonas-do-mar — indivíduos solitários ou coloniais — encontradas ao longo de todo o globo, desde costões rochosos até recifes de corais. Em sua morfologia, apresentam de zero a duas sifonoglifes e filamentos mesentéricos trilobados ou unilobados (GOMES, 1998; DALY *et al.*, 2003; AMMONS & DALY, 2008; WALLACE & CROWTHER, 2019). Outro grupo de destaque é a subclasse Ceriantharia, formada pelas anêmonas-de-tubo, que apresentam características que diferem dos demais antozoários, sendo a principal delas a presença de um tubo de proteção formado pela aglutinação do substrato através dos pticocistos (MARISCAL, 1977). São indivíduos solitários, encontrados em profundidades elevadas (30–130 m), com larva plânula conhecida como cerínula, presença de um sifonogliffe e tentáculos divididos entre marginais e labiais (UCHIDA, 1979; DALY *et al.*, 2003; STAMPAR *et al.*, 2016).

1.3 CNIDARIA E SUAS TOXINAS

Cnidaria é o grupo basal dos metazoários, crucial para compreender a evolução das toxinas (VAN ITEN *et al.*, 2014). Com sua derivação ocorrendo no Período Criogeniano (aproximadamente 700 milhões de anos atrás), o filo Cnidaria foi o primeiro grupo de animais a produzir toxinas, sendo anterior à grande radiação

do Cambriano (ERWIN *et al.*, 2011; VAN ITEN *et al.*, 2014). A produção, o armazenamento e a utilização das toxinas em cnidários ocorrem por meio dos nematocistos, um tipo de cnidócitos, que são células com origem neural, especializadas para tal função (MARISCAL, 1984). Sua ativação ocorre mediante estímulos físicos e químicos, liberando as toxinas armazenadas através de um sistema semelhante ao funcionamento de um arpão, configurando-se como uma inovação evolutiva no que se refere à produção e armazenamento de toxinas (HOLSTEIN & TARDENT, 1984; BABONIS & MARTINDALE, 2014; ZANCOLLI *et al.*, 2022).

Os nematocistos estão distribuídos ao longo de todo o organismo (FAUTIN, 2009; MACRANDER *et al.*, 2016), proporcionando um perfil de toxinas que difere com base nos tecidos específicos e em suas funções ecológicas (ex.: SURM *et al.*, 2019; ASHWOOD *et al.*, 2021). Os cnidários possuem um extenso repertório de compostos tóxicos à sua disposição (FRAZÃO *et al.*, 2012; STARCEVIC & LONG, 2013). Os ancestrais de *Anthozoa* e *Medusozoa* continham pelo menos dezessete classes de toxinas; porém, após a divergência evolutiva, algumas dessas famílias foram perdidas, resultando em diferenças nos perfis tóxicos entre os dois grupos (JAIMES-BECERRA *et al.*, 2017).

Em *Nematostella vectensis*, as cnidas apresentam cerca de 6,5 a 11,5 kDa de neurotoxinas, as quais são capazes de interferir nos canais iônicos das células-alvo, levando à paralisia, e aproximadamente 20 kDa de toxinas formadoras de poros, que são responsáveis pela formação de poros na membrana celular, causando lise celular no alvo (HONMA, 2006; MARTINS *et al.*, 2009). Em linhagens mais antigas, como Cnidaria, os genes responsáveis pelas toxinas sofreram seleção purificadora, preservando o funcionamento essencial das suas principais toxinas (SUNAGAR *et al.*, 2014; JOUIAEI *et al.*, 2015). Apesar da seleção negativa, muitas famílias de genes apresentaram duplicações, o que desencadeou a evolução dessas características via seleção positiva (CASEWELL *et al.*, 2014).

Tratando-se da subclasse *Ceriantharia*, o grupo apresenta um repertório de toxinas constituído principalmente por toxinas responsáveis por ações homeostáticas e hemorrágicas, um grupo de enzimas com funções mistas e neurotoxinas, mas apresenta menor representatividade de toxinas ativas de membrana, inibidoras de protease, alergênicas e proteínas auxiliares (KLOMPEN *et al.*, 2020). Em contrapartida, a ordem *Actiniaria* apresenta um perfil tóxico diferente,

no qual as neurotoxinas apresentam dominância, seguidas por toxinas que carecem de informação funcional e toxinas ativas de membrana (formadoras de poros) (MITCHELL *et al.*, 2020).

REFERÊNCIAS

- ANDERLUH, Gregor; MAČEK, Peter. Cytolytic peptide and protein toxins from sea anemones (Anthozoa: Actiniaria). **toxicon**, v. 40, n. 2, p. 111-124, 2002.
- BABONIS, Leslie S.; MARTINDALE, Mark Q. Old cell, new trick? Cnidocytes as a model for the evolution of novelty. **American Zoologist**, v. 54, n. 4, p. 714-722, 2014.
- BABONIS, Leslie S. *et al.* Single-cell atavism reveals an ancient mechanism of cell type diversification in a sea anemone. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, p. 885, 2023.
- BEETON, Christine *et al.* Targeting effector memory T cells with a selective peptide inhibitor of Kv1.3 channels for therapy of autoimmune diseases. **Molecular pharmacology**, v. 67, n. 4, p. 1369-1381, 2005.
- BEETON, Christine; GUTMAN, George A.; CHANDY, K. George. Targets and therapeutic properties of venom peptides. In: **Handbook of biologically active peptides**. Academic Press, 2006. p. 403-414.
- BEETON, Christine; W. PENNINGTON, Michael; S. NORTON, Raymond. Analogs of the sea anemone potassium channel blocker ShK for the treatment of autoimmune diseases. **Inflammation & Allergy-Drug Targets-Inflammation & Allergy**, v. 10, n. 5, p. 313-321, 2011.
- BOLGER, Anthony M.; LOHSE, Marc; USADEL, Bjoern. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114-2120, 2014.
- BOLLATI, Valentina; BACCARELLI, Andrea. Environmental epigenetics. **Heredity**, v. 105, n. 1, p. 105-112, 2010.
- BORDON, Karla C. F. *et al.* From animal poisons and venoms to medicines: achievements, challenges and perspectives in drug discovery. **Frontiers in pharmacology**, v. 11, p. 1132, 2020.
- BRACE, R. C. Observations on the morphology and behaviour of *Chilina fluctuosa* Gray (Chilinidae), with a discussion on the early evolution of pulmonate gastropods. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences**, v. 300, n. 1101, p. 463-491, 1983.
- BUSHMANOVA, Elena *et al.* rnaSPAdes: a de novo transcriptome assembler and its application to RNA-Seq data. **GigaScience**, v. 8, n. 9, p. giz100, 2019.
- CASEWELL, Nicholas R. *et al.* Complex cocktails: the evolutionary novelty of venoms. **Trends in ecology & evolution**, v. 28, n. 4, p. 219-229, 2013.
- COLLINS, A. G. Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycles. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 15, n. 3, p. 418-432, 2002.

CONESA, Ana *et al.* A survey of best practices for RNA-seq data analysis. **Genome biology**, v. 17, p. 1-19, 2016.

CREST, Marcel; BERAUD-JUVEN, Evelyne; GOLLA, Maurice. Towards therapeutic applications of Kv1 channel blockers in neurological diseases. **Perspectives in drug discovery and design**, v. 15, p. 333-342, 1999.

DALY, Marymegan., *et al.* The phylum Cnidaria: a review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus. **Zootaxa** **1668**, p. 127–182, 2007.

ERWIN, Douglas H. *et al.* The Cambrian conundrum: early divergence and later ecological success in the early history of animals. **science**, v. 334, n. 6059, p. 1091-1097, 2011.

FEDOROV, Sergey *et al.* The anticancer effects of actinoporin RTX-A from the sea anemone *Heteractis crispa* (= *Radianthus macrodactylus*). **Toxicon**, v. 55, n. 4, p. 811-817, 2010.

FRAZÃO, Bárbara; VASCONCELOS, Vitor; ANTUNES, Agostinho. Sea anemone (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) toxins: an overview. **Marine drugs**, v. 10, n. 8, p. 1812-1851, 2012.

FINN, Robert D.; CLEMENTS, Jody; EDDY, Sean R. HMMER web server: interactive sequence similarity searching. **Nucleic acids research**, v. 39, n. suppl_2, p. W29-W37, 2011.

FRY, Bryan G. *et al.* The toxicogenomic multiverse: convergent recruitment of proteins into animal venoms. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 10, n. 1, p. 483-511, 2009.

GIBBONS, Mark J. *et al.* Life cycle strategy, species richness and distribution in marine Hydrozoa (Cnidaria: Medusozoa). **Journal of Biogeography**, v. 37, n. 3, p. 441-448, 2010.

GOODWIN, Sara; MCPHERSON, John D.; MCCOMBIE, W. Richard. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. **Nature reviews genetics**, v. 17, n. 6, p. 333-351, 2016.

GRABHERR, Manfred G. *et al.* Trinity: reconstructing a full-length transcriptome without a genome from RNA-Seq data. **Nature biotechnology**, v. 29, n. 7, p. 644, 2011.

HEATHER, James M.; CHAIN, Benjamin. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. **Genomics**, v. 107, n. 1, p. 1-8, 2016.

HENNEY, Neil C. Glenn F. King: venoms to drugs: venom as a source for the development of human therapeutics. **Chromatographia** v. 78, 1507–1508, 2015.

HONMA, Tomohiro; SHIOMI, Kazuo. Peptide toxins in sea anemones: structural and functional aspects. **Marine biotechnology**, v. 8, p. 1-10, 2006.

HRDLICKOVA, Radmila; TOLOUE, Masoud; TIAN, Bin. RNA-Seq methods for transcriptome analysis. **Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA**, v. 8, n. 1, p. e1364, 2017.

HUTCHISON III, Clyde A. DNA sequencing: bench to bedside and beyond. **Nucleic acids research**, v. 35, n. 18, p. 6227-6237, 2007.

JOHNSTONE, Ricky W.; RUEFLI, Astrid A.; LOWE, Scott W. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. **Cell**, v. 108, n. 2, p. 153-164, 2002.

JOUIAEI, Mahdokht *et al.* Ancient venom systems: a review on cnidaria toxins. **Toxins**, v. 7, n. 6, p. 2251-2271, 2015.

KAYAL, Ehsan *et al.* Cnidarian phylogenetic relationships as revealed by mitogenomics. **BMC evolutionary biology**, v. 13, p. 1-18, 2013.

KAYAL, Ehsan *et al.* Phylogenomics provides a robust topology of the major cnidarian lineages and insights on the origins of key organismal traits. **BMC evolutionary biology**, v. 18, p. 1-18, 2018.

KITAHARA, Marcelo V. *et al.* The new systematics of Scleractinia: integrating molecular and morphological evidence. **The Cnidaria, Past, Present and Future: The world of medusa and her sisters**, p. 41-59, 2016.

KLOMPEN, Anna M. L. *et al.* Transcriptomic analysis of four cerianthid (Cnidaria, Ceriantharia) venoms. **Marine drugs**, v. 18, n. 8, p. 413, 2020.

KLUG, Aaron. Rosalind Franklin and the discovery of the structure of DNA. **Nature**, v. 219, n. 5156, p. 808-810, 1968.

KRISTAN, Katarina C. *et al.* Molecular mechanism of pore formation by actinoporins. **Toxicon**, v. 54, n. 8, p. 1125-1134, 2009.

LOPES, Celine. S. S. *et al.* Exploring the larval and adult transcriptome of the tube-dwelling anemones *Arachnanthus* sp.1 (Cnidaria, Ceriantharia): differential expression and toxin profile. (à publicar).

MARDIS, Elaine R. Next-generation DNA sequencing methods. **Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.**, v. 9, n. 1, p. 387-402, 2008.

MARISCAL, Richard N.; CONKLIN, Edwin J.; BIGGER, Charles H. The ptychocyst, a major new category of cnida used in tube construction by a cerianthid anemone. **The Biological Bulletin**, v. 152, n. 3, p. 392-405, 1977.

MARTINS, René D. *et al.* Purification and characterization of the biological effects of phospholipase A2 from sea anemone *Bunodosoma caissarum*. **Toxicon**, v. 54, n. 4, p. 413-420, 2009.

MITCHELL, Michela L. *et al.* Tentacle transcriptomes of the speckled anemone (Actiniaria: Actiniidae: Oulactis sp.): Venom-related components and their domain structure. **Marine Biotechnology**, v. 22, n. 2, p. 207-219, 2020.

OKAMURA, Beth; GRUHL, Alexander; REFT, Abigail J. Cnidarian origins of the Myxozoa. **Myxozoan evolution, ecology and development**, p. 45-68, 2015.

PENNINGTON, M. W. *et al.* Chemical synthesis and characterization of ShK toxin: a potent potassium channel inhibitor from a sea anemone. **International journal of peptide and protein research**, v. 46, n. 5, p. 354-358, 1995.

QUATTRINI, Andrea M. *et al.* Universal target-enrichment baits for anthozoan (Cnidaria) phylogenomics: New approaches to long-standing problems. **Molecular ecology resources**, v. 18, n. 2, p. 281-295, 2018.

RENTZSCH, Fabian; TECHNAU, Ulrich. Genomics and development of Nematostella vectensis and other anthozoans. **Current opinion in genetics & development**, v. 39, p. 63-70, 2016.

SANGER, Frederick; NICKLEN, Steven; COULSON, Alan R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 74, n. 12, p. 5463-5467, 1977.

SCHEINER, Samuel M.; WILLIG, Michael R. (Ed.). **The theory of ecology**. University of Chicago Press, 2011.

SMITH, I. D. M. *et al.* Rapid in situ chondrocyte death induced by Staphylococcus aureus toxins in a bovine cartilage explant model of septic arthritis. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 21, n. 11, p. 1755-1765, 2013.

SPEED, Michael P.; RUXTON, Graeme D. Ecological pharmacodynamics: prey toxin evolution depends on the physiological characteristics of predators. **Animal Behaviour**, v. 98, p. 53-67, 2014.

STAMPAR, Sérgio N. *et al.* A new species of tube-dwelling anemone (Cnidaria, Anthozoa, Ceriantharia, Ceriantheopsis) from the Warm Temperate South-western Atlantic. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 96, n. 7, p. 1475-1481, 2016.

STAMPAR, Sérgio N. *et al.* Linear mitochondrial genome in Anthozoa (Cnidaria): a case study in Ceriantharia. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 6094, 2019.

TADOKORO, Takashi *et al.* Cysteine-rich secretory proteins (CRISPs) from venomous snakes: An overview of the functional diversity in a large and underappreciated superfamily. **Toxins**, v. 12, n. 3, p. 175, 2020.

TECHNAU, Ulrich; SCHWAIGER, Michaela. Recent advances in genomics and transcriptomics of cnidarians. **Marine genomics**, v. 24, p. 131-138, 2015.

UCHIDA, H. Cerianthids (Anthozoa, Coelenterata) from Kii Region, Middle Japan. 1979.

VAN DIJK, Erwin L.; JASZCZYSZYN, Yan; THERMES, Claude. Library preparation methods for next-generation sequencing: tone down the bias. **Experimental cell research**, v. 322, n. 1, p. 12-20, 2014.

VAN ITEN, Heyo *et al.* Origin and early diversification of the phylum Cnidaria Verrill: major developments in the analysis of the taxon's Paleozoic–Cambrian history. **Palaeontology**, v. 57, n. 4, p. 677-690, 2014.

WANG, Da-Zhi. Neurotoxins from marine dinoflagellates: a brief review. **Marine drugs**, v. 6, n. 2, p. 349-371, 2008.

WULFF, Heike *et al.* The voltage-gated Kv1.3 K⁺ channel in effector memory T cells as new target for MS. **The Journal of clinical investigation**, v. 111, n. 11, p. 1703-1713, 2003.

WULFF, Heike; CASTLE, Neil A.; PARDO, Luis A. Voltage-gated potassium channels as therapeutic targets. **Nature reviews Drug discovery**, v. 8, n. 12, p. 982-1001, 2009.

YAMAMOTO, Guilherme L. Aplicabilidade clínica da técnica de sequenciamento de nova geração com enfoque em displasias esqueléticas. 2017.

ZAPATA, Felipe *et al.* Phylogenomic analyses support traditional relationships within Cnidaria. **PloS one**, v. 10, n. 10, p. e0139068, 2015.

ZHBANNIKOV, Ilya Y. *et al.* SeqyClean: a pipeline for high-throughput sequence data preprocessing. In: **Proceedings of the 8th ACM international conference on bioinformatics, computational biology, and health informatics**. 2017. p. 407-416.