

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

VALIDAÇÃO DE UM MICROARRANJO PARA AVALIAÇÃO
DA EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL NO MÚSCULO
ESQUELÉTICO DE BOVINOS

Leonardo Bernardes da Rocha
Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**VALIDAÇÃO DE UM MICROARRANJO PARA AVALIAÇÃO
DA EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL NO MÚSCULO
ESQUELÉTICO DE BOVINOS**

Leonardo Bernardes da Rocha

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Roberto Furlan
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Inês Tiraboschi Ferro**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias –
UNESP, Câmpus de Jaboticabal,
como parte das exigências para a
obtenção do título de DOUTOR em
Zootecnia (Produção Animal).

Jaboticabal – SP
Fevereiro de 2009

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LEONARDO BERNARDES DA ROCHA – Brasileiro, natural de Mogi Guaçu – SP, nascido aos 16 de Agosto de 1979. Realizou os estudos de 1º na Escola Estadual de Primeiro e Segundo Grau “Padre Armani” e o 2º na Escola Estadual de Primeiro e Segundo Grau “Luiz Martini”, ambas no município de Mogi Guaçu – SP. Graduou-se em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Campus de Jaboticabal em Dezembro de 2001, tendo sido tema do trabalho final de graduação “Influência da degradabilidade ruminal de diferentes suplementos protéicos na síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com silagem de milho”, realizado no Departamento de Zootecnia, sob a orientação da Profª Drª Telma Teresinha Berchielli. Concluiu o Mestrado em Nutrição e Produção Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Campus de Botucatu em Fevereiro de 2005, sob a orientação do Prof. Dr. Francisco Stefano Wechsler, cuja dissertação foi intitulada de “Efeito de três fungos ligninolíticos sobre o valor nutritivo de feno *Brachiaria decumbens* (Stapf.)”. Durante o curso de Doutorado, realizou estágio de doutorado no *Department of Dairy Science* da *University of Wisconsin-Madison*, EUA, no período de Outubro de 2006 a Setembro de 2007, sob a orientação do Prof. Dr. Guilherme Jordão de Magalhães Rosa.

“Se realmente estamos pensando em ser os melhores, não há nada de errado nisso. O problema é querer ser o maior. As pessoas que tentam ser as melhores, em todos os campos, vão para um lugar extremamente gratificante, que é o de ultrapassar barreiras, ver seu esforço verdadeiro ser retribuído. Ser melhor implica disciplina, esforço, trabalho. Muitas pessoas querem ser maiores. O que normalmente implica atalho, mágica, se dar bem, tirar do caminho aqueles que são melhores. Esse sonho de ser o maior é ilusório. Quem quer ser o maior vai descobrir a insignificância humana. Aqueles que continuam na busca da excelência verdadeira por meio do trabalho, do estudo - não para o engrandecimento de si mesmos, mas para cumprir sua função existencial, para dar vazão aos seus dons - terão um retorno maravilhoso. O que você conquistou em busca de sua melhor capacidade, isso é sagrado.”

Nilton Bonder

OFEREÇO...

À minha esposa **Viviane**,

pelo amor, incentivo, carinho, apoio, compreensão e companheirismo.

Aos meus pais, **Hélio e Sueli**,

pelo apoio, amor, incentivo, e por terem me ensinado tudo que eu sei...

DEDICO...

Aos meus irmãos, **Alexandre e Humberto**, minha filha **Isabella** e
todos **meus amigos**,

pela compreensão, amizade e aprendizado.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Roberto Furlan, pela confiança depositada em mim, pela paciente orientação, amizade, apoio e exemplo de conduta durante todas as etapas desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Leandro Márcio Moreira, Prof^a. Dr^a Lúcia Carareto Alves e aos pesquisadores Dr. Marcelo Luiz de Laia e Dr^a Poliana Fernanda Giachetto pela participação na banca de defesa e sugestões para a melhora dessa tese.

Ao Prof. Jesus Aparecido Ferro e Prof^a. Dr^a Maria Inês Tiraboschi Ferro pela ajuda na execução do presente trabalho, cedendo as instalações do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular.

Às Prof^a. Dr^a Eliana Gertrudes Macedo Lemos e Prof^a. Dr^a Lúcia Carareto Alves pela ajuda na execução do presente trabalho, cedendo as instalações do Laboratório de Bioquímica de Microorganismos e Plantas.

Ao Prof. Dr. Guilherme Jordão de Magalhães Rosa, por me acolher em seu departamento na University of Wisconsin – Madison, pela orientação, amizade e apoio em minha estada nos Estados Unidos.

Ao colega de turma André Luiz Julien Ferraz (Splinter) pela convivência, amizade e ajuda na realização desse trabalho.

Aos amigos e companheiros Thiago Lopes Biscegli (Kba) e Norton Rodrigues Chagas Filho (Sabugo), por me acolherem na república, por sua amizade e convívio.

Aos amigos de República Xic Nu Último, pela amizade e convívio.

Aos colegas da XL Turma de Zootecnia da FCAV de Jaboticabal, onde todos, de uma forma ou de outra, me ajudaram ou me inspiraram a chegar até aqui.

A todos os amigos de Pós-Graduação e do laboratório, pela amizade e convivência.

Aos meus amigos de Mogi Guaçu, verdadeiros parceiros, Alessandro, Adenilson, Sara, Miguel, Ronaldo, Sabanai, Elaine, Dal, Vanessa e Karina pela amizade, compreensão, apoio, e por acreditarem em mim.

À FAPESP, pelo apoio financeiro no desenvolvimento desse trabalho.

À Central Bela Vista, por fornecer os animais e o alimento usado na parte de campo desse trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa sanduíche para realização do estágio de doutorado na University of Wisconsin-Madison, nos Estados Unidos.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
RESUMO.....	xiii
SUMMARY	xiv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. JUSTIFICATIVA	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Divergência genética entre as raças bovinas	3
2.2. Influência do genótipo na nutrição de bovinos	5
2.3. Uso de microarranjos em estudos de expressão gênica	7
2.4. Metodologia Aplicada.....	9
2.4.1. Animais e dieta	9
2.4.2. Colheita e armazenamento das amostras de músculo	11
2.4.3. Extração, quantificação e verificação da qualidade das amostras....	11
2.4.4. Síntese e marcação do cDNA para as hibridizações	12
2.4.5. Hibridização das lâminas.....	12
2.4.6. Normalização, análise estatística e funcional dos dados.....	15
3. OBJETIVOS.....	17
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
 CAPÍTULO 2 – VALIDAÇÃO DE UM MICROARRANJO DE OLIGONUCLEOTÍDEOS LONGOS SINTETIZADOS COM BASE NAS SEQÜÊNCIAS DO DNA DE TAURINOS PARA ESTUDOS DE EXPRESSÃO GÊNICA COM ANIMAIS DE RAÇAS ZEBUÍNAS.	 26

1. INTRODUÇÃO	27
2. MATERIAL E MÉTODOS	29
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
3.1. Validação do microarranjo BLO+ para zebuínos	29
3.2. Genes diferencialmente expressos entre taurinos e zebuínos	32
4. CONCLUSÕES	37
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
CAPÍTULO 3 – EFEITO DE DIETAS COM ALTO E BAIXO NÍVEL DE ENERGIA NA EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL NO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE BOVINOS DAS RAÇAS NELORE (zebuínos) E ABERDEEN ANGUS (taurinos).....	44
1. INTRODUÇÃO	45
2. MATERIAL E MÉTODOS	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4. CONCLUSÕES	62
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
APÊNDICES	68
Apêndice 1A. Genes DE em animais Angus alimentados com a dieta BE.....	69
Apêndice 2A. Genes DE em animais Angus alimentados com a dieta AE.....	81
Apêndice 3A. Genes DE em animais Nelore alimentados com a dieta BE.....	89
Apêndice IV. Genes DE em animais Nelore alimentados com a dieta AE.....	99

LISTA DE ABREVIATURAS

AE – dieta com alto nível energético

ANG – animais da raça Angus

B – estatística B

BE – dieta com baixo nível energético

cDNA – DNA complementar

DE – genes diferencialmente expressos

EM – energia metabolizável

FDR – taxa de falsos positivos

GPD – ganho de peso diário

GO – Gene Ontology

LD – músculo *Longissimus dorsi*

mRNA – RNA mensageiro

MS – matéria-seca

MO – matéria orgânica

NDT – nutrientes digestíveis totais

NEL – animais da raça Nelore

PB – proteína bruta

PCR – reação em cadeia da polimerase

PV – peso vivo

qPCR – PCR quantitativo em tempo real

rRNA – RNA ribossômico

RT-PCR – reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa

SDS – dodecil sulfato de sódio

SSC – citrato de sódio padrão

TIGR – The Institute for Genomic Research

VALIDAÇÃO DE UM MICROARRANJO PARA AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL NO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE BOVINOS

RESUMO – Os bovinos são divididos em dois grandes grupos, taurinos e zebuínos, cuja divergência genética é de aproximadamente 250 mil anos. Apesar da proximidade filogenética, os grupos respondem de maneira diferente ao teor de energia da dieta. No presente estudo objetivou-se validar o uso do microarranjo BLO+ para estudos de expressão gênica em zebuínos e comparar a expressão gênica no músculo LD de NEL e ANG alimentados com a dieta AE e BE. Oito ANG e oito NEL foram divididos em duas baias e receberam a dieta BE por 28 dias e na sequência a dieta AE pelo mesmo período. Após cada período, coletou-se amostras do músculo LD, das quais extraíu-se o RNA para os estudos de expressão gênica usando microarranjos. Foram expressos 9.552 e 8.664 genes em ANG e NEL, sendo que 98% dos genes expressos em NEL também foram expressos em ANG, indicando uma alta similaridade entre as sondas do microarranjo e os transcritos de NEL. Identificaram-se 546 genes DE para ANG e 440 para NEL. Realizou-se a análise funcional desses conjuntos de genes e observou-se diferenças nas categorias funcionais mais representativas entre as raças entre as dietas. A dieta AE estimula de forma mais acentuada a expressão de genes envolvidos no crescimento e desenvolvimento muscular em ANG, enquanto a dieta BE estimula de forma mais acentuada a expressão de genes que codificam proteínas relacionadas à captação de nutrientes endógenos em NEL. Os resultados obtidos sugerem que o microarranjo BLO+ pode ser usado em estudos de expressão gênica com zebuínos e indicam que o nível nutricional da dieta afeta diferentemente a expressão gênica no músculo LD de taurinos e zebuínos.

Palavras-Chave: bovinos, divergência genética, expressão gênica, microarranjo, nível energético, validação.

VALIDATION OF A MICROARRAY FOR DIFFERENTIAL GENE EXPRESSION EVALUATION IN BEEF CATTLE SKELETAL MUSCLE

SUMMARY – Bovines are divided in two large groups, taurine and zebuine, whose genetic divergence is estimated as 250,000 years before present. Despite of phylogenetic proximity, these groups respond differently to diet energy level. The current study aimed to validate the BLO+ microarray use in zebuine gene expression experiments and evaluate gene expression in LD muscle from NEL and ANG fed with AE and BE diets. Eight ANG and NEL animals were separated in two pens and received BE diet during 28-days period; following animals were fed with AE diet for the same period. After each period, samples from LD muscle were collected, of which RNA was extracted to proceed with gene expression experiment using microarrays. Were expressed 9,552 and 8,664 genes in ANG and NEL, where 98% of expressed genes in NEL were also expressed in ANG, indicating a high similarity between microarray probes and NEL transcripts. Statistical analysis identified 546 genes differentially expressed for ANG and 440 for NEL. These gene groups were submitted to functional analysis and differences in overrepresented functional categories were observed between breeds and diets. AE diet stimulates further the expression of genes related to muscle growth and development in ANG, while BE diet stimulates further the expression of genes involved in endogenous nutrients uptake in NEL. The results obtained suggest that BLO+ microarray can be used in zebuine gene expression studies and indicate that nutritional level of diet affects the differential gene expression in LD muscle from taurine and zebuine beef cattle.

Keywords: beef cattle, energetic level, gene expression, genetic divergence, microarray, validation

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. JUSTIFICATIVA

O Brasil possui o maior rebanho comercial bovino do mundo composto por quase 200 milhões de cabeças (IBGE, 2008), e ocupa hoje a posição de maior exportador mundial de carne bovina, com uma produção estimada para o ano de 2008 de 9,5 milhões de toneladas e exportação de, aproximadamente, 2,56 milhões de toneladas de carne (CNA, 2008). A importância da pecuária de corte para a economia do país é incontestável. Em 2007, o Produto Interno Bruto (PIB) do Agronegócio brasileiro foi da ordem de 611,8 bilhões de reais, correspondendo aproximadamente a 24,5% do PIB nacional, sendo que uma parte significativa deste montante é devido à pecuária.

Apesar de sua importância econômica, a pecuária de corte brasileira é um setor que apresenta baixa produtividade, decorrente das baixas eficiências produtiva e reprodutiva que caracterizam o rebanho nacional e da grande variação nos sistemas de produção adotados. O rebanho de corte brasileiro é composto majoritariamente (80%) por animais da subespécie *Bos taurus indicus* (zebuínos) de origem indiana e por produtos de seu cruzamento com animais da subespécie *Bos taurus taurus* (taurinos) de origem européia (SILVA et al., 2002). Os zebuínos apresentam grande rusticidade, caracterizada pela adaptação às condições climáticas das regiões tropicais e pela resistência/tolerância a endo e ectoparasitas, bem como a algumas doenças infecto-contagiosas. Os taurinos, por sua vez, são menos adaptados ao clima tropical e apresentam maior suscetibilidade às doenças e infestações parasitárias, porém, são significativamente mais eficientes no que se refere aos parâmetros produtivos e reprodutivos. Diante deste cenário, torna-se imprescindível o desenvolvimento e a adoção de tecnologias que favoreçam o incremento tanto na produtividade como na eficiência econômica de produção.

A adoção de estratégias de manejo envolvendo o uso de sistemas intensivos de engorda como o confinamento ou a utilização de cruzamentos entre raças tem-se

constituído em alternativas importantes para o pecuarista brasileiro. Desta forma, a necessidade de se adequar a nutrição ao potencial genético de determinado tipo de animal ou grupo de animais em sistemas intensivos é uma das maiores barreiras encontradas por nutricionistas. Nesse sentido, a manipulação de dietas e estratégias nutricionais são ferramentas importantes que podem influenciar a produção dos animais (FURLAN et al., 2007).

Na última década, a genômica funcional tem fornecido ferramentas que podem ser usadas para conseguir um melhor entendimento da expressão gênica, notadamente sobre o processo de transcrição. A ciência da Genômica Nutricional é uma extensão dos métodos de genômica funcional que avaliam os efeitos da nutrição na expressão gênica (MULLER & KERSTEN, 2003; SWANSON et al., 2003), fornecendo um entendimento molecular de como componentes comuns de uma dieta e estratégias nutricionais afetam o crescimento animal (DAWSON, 2006).

Definida como a interface entre o ambiente nutricional e os processos genético-celulares, a Genômica Nutricional dedica-se ao estudo das interações entre os componentes químicos das dietas (nutrientes) e o material genético dos indivíduos (genótipo), ou seja, dos mecanismos moleculares envolvidos na interação nutriente-genótipo e a maneira como estas afetam o fenótipo (KAPUT & RODRIGUEZ, 2004). Dentro de seu escopo existem duas vertentes distintas: a Nutrigenômica, voltada para o entendimento dos efeitos dos nutrientes sobre os mecanismos envolvidos na expressão gênica e a Nutrigenética, que estuda os efeitos das variações nas seqüências do DNA (polimorfismos) sobre o aproveitamento dos nutrientes e/ou o desenvolvimento de doenças metabólicas (FURLAN et al., 2007).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Divergência genética entre as raças bovinas

Os bovinos pertencem ao Gênero *Bos*, Família *Bovidae*, Ordem *Artiodactyla* e são encontrados em praticamente todos os países do mundo. São divididos em dois

grandes grupos, zebuínos (com cupim, como animais da raça Nelore) e taurinos (sem cupim, como animais da raça Angus), mas que, devido à sua completa inter-fertilidade, são mais freqüentemente considerados subespécies, *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus*, respectivamente (LOFTUS et al., 1994). Na Figura 1 estão representados animais dos diferentes grupos de bovinos.



Figura 1. Figura representando os grupos de bovinos. (a) animais da raça Nelore (zebuínos); (b) animais da raça Angus (taurinos).

Acredita-se que os bovinos foram domesticados no período neolítico a aproximadamente 10.000 anos (GÖTHERSTRÖM et al., 2005). Evidências genéticas e arqueológicas sustentam que a domesticação dos taurinos ocorreu na região “Near East”, cujo ancestral foi o *Bos primigenius primigenius*, enquanto que os zebuínos foram domesticados na atual região do Afeganistão e descendem do *Bos primigenius namadicus* (LOFTUS et al., 1994) e depois espalharam-se pela África e Europa (EPSTEIN, 1971; PAYNE, 1991). Esta domesticação independente proposta por LOFTUS e colaboradores (1994) foi fortemente corroborada por MACHUGH e colaboradores (1997).

Esta divisão baseia-se na diversidade genética apresentada pelos dois grupos, que pode estar presente nos polimorfismos protéicos (MANWELL & BAKER, 1980), no polimorfismo morfológico do cromossomo Y (KIEFFER & CARTRIGHT, 1968),

diferenças no DNA mitocondrial (mtDNA) (MEIRELLES et al., 1999) e polimorfismos no DNA genômico (WOMACK, 2005) dessas duas espécies.

Em decorrência do seqüenciamento do genoma de vários mamíferos, dentre os quais o do homem, rato, camundongo e o do próprio boi, entre outros, constatou-se a existência de uma grande similaridade entre os genomas de espécies diferentes, reforçando a hipótese de que o processo de especiação está muito mais associado aos padrões diferenciados de expressão gênica e protéica e/ou a variações na atividade das proteínas produzidas, do que as diferenças existentes entre as regiões codificantes dos genes presentes no genoma destas espécies. De acordo com TAUTZ (2000), a taxa de divergência no genoma de vertebrados separadamente evoluídos varia apenas entre 0,1 a 0,5% a cada milhão de anos. No caso das duas subespécies bovinas, a similaridade genética deve ser ainda maior, tendo em vista que estudos com o DNA mitocondrial estimaram que a divergência genética entre zebuínos e taurinos é de aproximadamente 250.000 anos (BRADLEY et al., 1996; MIRETTI et al., 2002).

Apesar da proximidade filogenética, estas duas subespécies apresentam características fenotípicas bastante distintas, com reflexos marcantes na eficiência reprodutiva, produtiva e na qualidade da carne produzida. De maneira geral, os zebuínos apresentam grande rusticidade, caracterizada pela adaptação às condições climáticas das regiões tropicais e pela resistência/tolerância a endo e ectoparasitas, bem como a algumas doenças infecto-contagiosas. Os taurinos, por sua vez, são menos adaptados ao clima tropical e apresentam maior suscetibilidade às doenças e infestações parasitárias, porém, são significativamente mais eficientes no que se refere aos parâmetros produtivos e reprodutivos. Atualmente, tem-se buscado alternativas na seleção de animais zebuínos puros, que apresentem características desejáveis comparáveis àquelas apresentadas pelos taurinos sem o inconveniente da falta de adaptação ao ambiente tropical.

Segundo BROWN & FEDER (2005), a variação na expressão gênica entre membros da mesma espécie é a matéria-prima da evolução. Neste sentido, tanto trabalhos clássicos (BRITTEN & DAVIDSON, 1969; KING & WILSON, 1975) quanto recentes (KOHN et al., 2004; WITTKOPP et al., 2004), assim como aqueles revisados

por STAMATOYANNOPOULOS (2004), relatam que as diferenças de expressão gênica, motivadas por alterações localizadas nas regiões regulatórias em oposição às presentes nas regiões codificantes, são a principal fonte de variação entre indivíduos. Cabe ressaltar que o uso de mapas genéticos, juntamente com outras metodologias de genética molecular que exploram a expressão gênica, tal como microarranjos, possibilita a identificação de genes que influenciam as características de interesse zootécnicas (WILLIAMS, 2003).

Desse modo, as subespécies *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus* constituem um modelo biológico ideal para o desenvolvimento de estudos comparativos de genômica funcional, visando à identificação de genes diferencialmente expressos relacionados com as características produtivas e reprodutivas. Desta forma, esses genes poderão ser utilizados no desenvolvimento de novos produtos e tecnologias, entre outros a seleção assistida por marcadores moleculares, a introgressão gênica e a produção de animais geneticamente modificados, destinados especificamente ao incremento da produtividade da pecuária de corte nacional.

2.2. Influência do genótipo na nutrição de bovinos

Ganho de peso, conversão alimentar, gordura entremeada e maciez da carne são algumas das principais características avaliadas nos reprodutores de raças de corte, uma vez que estas características são determinantes da eficiência produtiva e conseqüentemente da eficiência econômica da atividade. Apesar de alguns mecanismos bioquímicos e fisiológicos envolvidos na determinação dessas características serem conhecidos e, de tempos em tempos surgirem novas descobertas sobre como tais características se manifestam, os motivos pelos quais as diferentes raças, ou mesmo indivíduos dentro de uma mesma raça, exibem diferentes fenótipos, ainda permanecem desconhecidos.

Sabe-se que a eficiência alimentar, a síntese e degradação de proteínas, as taxas de crescimento dos tecidos (FERREL & JENKINS, 1998) e a deposição de gordura na carcaça de bovinos (OWENS et al., 1993) dependem em grande parte do genótipo

animal. Por exemplo, BEAVER e colaboradores (1989) verificaram que animais da raça Angus possuem maior eficiência energética que animais da raça Brahman para depositar gordura.

Diversos pesquisadores demonstraram que animais zebuínos utilizam mais eficientemente dietas à base de forragem de baixa qualidade do que os taurinos (ASHTON, 1962; KAURUE et al., 1972). Essa diferença pode ser resultante do menor requerimento de manutenção dos zebuínos em situações de alimentação restritiva (FRISCH & VERCOE, 1977; HOTOVY et al., 1991), ou ainda do maior consumo de alimentos em relação às exigências de manutenção, e não propriamente de uma melhor utilização de dietas de baixa qualidade (FERREL et al., 2006).

De forma contrastante, quando alimentados com volumosos de alta qualidade (MORAN, 1976) ou dietas mistas com volumoso e concentrado (LEDGER et al., 1970; O'DONOVAN et al., 1978) os taurinos consomem mais em relação aos seus requerimentos de manutenção, ganham peso mais rápido e são mais eficientes do que os zebuínos. BEAVER e colaboradores (1989) relataram que novilhos da raça Angus consumiram mais alimento e ganharam peso mais rápido do que novilhos da raça Brangus, no entanto, apresentaram digestibilidade da dieta e eficiência alimentar similares quando alimentados com dietas contendo alta proporção de concentrado. Já PUTRINO e colaboradores (2007) verificaram que animais da raça Brangus apresentam maior digestibilidade da MO e NDT do que animais da raça Nelore quando alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. BEAVER e colaboradores (1989) sugeriram que essas diferenças na digestibilidade das dietas entre os grupos genéticos podem ser atribuídas às diferenças na taxa de fermentação e retenção dos alimentos no rúmen. Nesse sentido, HUNTER & SIBERT (1985) demonstraram que os zebuínos são mais eficientes que os taurinos na fermentação de volumosos pobre em proteínas (capim Pangola contendo 3,8% de PB), porém não verificaram diferenças nessa característica quando se forneceu uma suplementação nitrogenada para ambos os grupos genéticos.

A habilidade de zebuínos fermentarem dietas deficientes em nitrogênio de forma mais rápida que os taurinos pode ser devido tanto pela maior quantidade de uréia

reciclada para o trato digestivo diariamente (NORTON et al., 1979) quanto pela maior população de protozoários no rúmen, que representa uma reserva de proteína no rúmen (HENNESSY et al., 1995). Diferenças no número de protozoários também podem influir na produção de metano, bem como na síntese de ácidos graxos de cadeia longa, afetando assim o aproveitamento da energia da dieta entre as raças (HEGARTY, 2004).

O menor tamanho do sistema digestório dos zebuínos também afeta a ingestão de alimentos (McDOWELL et al., 1996). Tal fato foi constatado por BOYLES & RILEY (1991), onde novilhos $\frac{1}{2}$ Brahman + $\frac{1}{2}$ Angus consumiram 0,2% do PV a menos que novilhos da raça Angus, no entanto, não observaram diferenças na eficiência alimentar.

Desta forma, parece bastante claro que, tanto os genótipos do animal, quanto as características nutricionais da dieta, desempenham um importante papel na utilização dos nutrientes e, conseqüentemente, no crescimento do animal. Contudo, o desconhecimento de todos os mecanismos moleculares envolvidos nesse processo impossibilita a manipulação dessas características, seja através do melhoramento genético animal, ou pelo uso da biotecnologia.

2.3. Uso de Microarranjos em estudos de expressão gênica

Os organismos vivos são capazes de produzir centenas de milhares de proteínas a partir de diferentes estímulos internos e externos. Para tanto, a informação gênica contida nos cromossomos (DNA) deve ser expressa em moléculas de RNA (transcrição), as quais podem ser traduzidas em proteínas, que são as moléculas responsáveis pela atividade biológica.

Mudanças fisiológicas ocorridas nas diferentes fases da vida produtiva, tais como crescimento, diferenciação dos tecidos, exposição a diferentes fatores externos, como o são nutrição, drogas, estresse e patógenos, determinam alterações no padrão de expressão gênica. Com o desenvolvimento dos métodos e técnicas de Biologia Molecular tais como *northern blot*, *dot blot*, *differential display*, RT-PCR, microarranjos, entre outras, as alterações na expressão gênica passaram a ser quantificadas,

permitindo a realização de estudos comparativos para elucidar a influência da expressão gênica sobre a manifestação de características fenotípicas.

Apesar de não apresentar grande sensibilidade, a técnica de microarranjos tem sido amplamente utilizada nos estudos de expressão gênica em larga escala, ou seja, no estudo do transcrito das espécies. Nesta técnica, um microarranjo de DNA, composto por fragmentos gênicos de DNA, oligonucleotídeos ou produtos de PCR depositados em uma matriz sólida (geralmente lâminas de vidro), é utilizado para quantificar a abundância relativa dos mRNAs presentes num determinado tipo de célula ou tecido. Geralmente, cada posição no microarranjo (chamada de “spot”) representa um gene diferente, embora o mesmo gene possa estar representado em mais de um “spot” (SCHENA et al., 1995).

Em experimentos de comparação de classes, os cDNAs de duas amostras, produzidos a partir de concentrações equimolares de mRNA, são marcados com fluoróforos que emitem fluorescências com diferentes comprimentos de onda (verde e vermelho). As amostras são hibridadas no mesmo microarranjo, no que se convencionou chamar de hibridação competitiva, sendo posteriormente analisado por um escaner acoplado a um fluorímetro. Ao ser exposto aos raios laser, cada “spot” emitirá a fluorescência correspondente a cada uma das cores ou as variações de tonalidades resultantes das combinações entre elas.

Em princípio, quanto maior a expressão de um determinado gene, maior será a quantidade de cDNAs marcada com o fluoróforo e, conseqüentemente, maior será a intensidade da fluorescência do complexo sonda-alvo após a hibridação (HIENDLEDER et al., 2005). A quantificação das fluorescências detectadas entre as classes comparadas, bem como a interpretação das imagens obtidas, são realizadas com o auxílio de programas específicos (ROSA et al., 2007).

Esta abordagem tem sido largamente empregada na determinação de genes ou conjunto de genes diferencialmente expressos em amostras procedentes de uma mesma condição experimental e/ou condições contrastantes (ROBINSON et al., 2000), bem como na monitoração dos genomas de uma forma abrangente, permitindo assim, a

melhor compreensão das interações que ocorrem entre milhares de genes simultaneamente (SHI, 2000).

Devido ao seu caráter prospectivo, e pela facilidade em identificar genes diferencialmente expressos, os estudos usando microarranjos têm sido extensivamente utilizados nas áreas médica e farmacológica, visando à identificação de conjuntos de genes associados à pré-disposição e ao desenvolvimento de doenças, elaboração de sistemas de diagnóstico, e na identificação de produtos com potencial terapêutico (drogas e novos alvos para medicamentos).

Em razão da complexidade dos fatores envolvidos nas respostas aos estados patológicos e na determinação das características produtivas e reprodutivas nos animais domésticos, a utilização da tecnologia de microarranjo tem despertado um grande interesse por parte dos setores ligados à produção animal, como pode ser constatado nas publicações feitas por SUCHYTA e colaboradores (2003), REVERTER e colaboradores (2004), MADSEN e colaboradores (2004), LOOR e colaboradores (2005), PFISTER-GENSKOW e colaboradores (2005) e LEHNERT e colaboradores (2007).

2.4. Metodologia Aplicada

2.4.1. Animais e Dieta

O experimento zootécnico de campo foi realizado no Setor de Confinamento da Fazenda Angus Bela Vista, no município de Pardinho-SP. Foram utilizados oito novilhos inteiros da raça Nelore e oito novilhos inteiros da raça Angus, com peso inicial de $201 \pm 3,8$ Kg e $204 \pm 3,2$ Kg, respectivamente e com 12 meses de idade.

No início do experimento, os animais foram individualmente identificados, tratados contra endo e ectoparasitas e alojados, conforme a raça, em duas baias coletivas tipo céu aberto, com área livre de aproximadamente $20 \text{ m}^2/\text{animal}$ e disponibilidade de cocho de $1,0 \text{ m}/\text{animal}$. As baias eram equipadas de bebedouro e o cocho coberto para o fornecimento da ração. Anexo às baias, havia um centro de manejo com tronco de contenção, balança e demais estruturas para a condução do experimento.

A entrada dos animais nas baias foi seguida de um período de adaptação de 28 dias, onde foram alimentados com uma dieta de manutenção à base de feno (baixa energia). Após esse período, os animais foram submetidos à biópsia no músculo LD, no lado esquerdo dos animais.

Antes de receberem a dieta de alta energia (relação volumoso:concentrado de 10:90), os animais passaram por um período de adaptação de 14 dias, onde nos primeiros sete dias foram arraçoados com uma dieta cuja relação volumoso:concentrado foi de 50:50, e nos sete dias subseqüentes com uma dieta de 30:70. Terminado este período de adaptação, os animais passaram a receber a dieta de alta energia por um período de 28 dias, formulada segundo as normas do NRC (2000) para ganho diário superior a 1,5 kg. A composição da dieta experimental está apresentada na Tabela 1. Após o período de alimentação com a dieta de alta energia, os animais foram novamente submetidos a uma nova biópsia no músculo LD, desta vez no lado direito dos animais.

Tabela 1. Composição dos ingredientes da dieta de alta energia e as composições nutricionais das dietas experimentais.

Composição da dieta de alta energia	% dos Ingredientes	
Silagem de milho	10	
Concentrado	90	
Composição do concentrado	% dos Ingredientes	
Caroço de algodão	13	
Casca de soja	15	
Milho moído	55	
Farelo de algodão	10	
Núcleo concentrado ¹	5	
Calcário	2	
Composição nutricional estimada (%)		
	Proteína Bruta	Nutrientes Digestíveis Totais
Baixa energia	10	57
Alta energia	17	76

¹Núcleo concentrado comercial para confinamento

2.4.2. Obtenção e armazenamento das amostras de músculo

Os animais foram sedados através da administração subcutânea de 1 mL de xilasina (Rompun®, Bayer) para cada 100 Kg de peso vivo. A área cirúrgica sobre o LD (entre a 12^a e a 13^a costela) foi tricotomizada e lavada com álcool e uma mistura desinfetante à base de iodo para posterior incisão. Após os animais apresentarem sinais de sedação, a anestesia local foi realizada administrando-se 10 mL/animal de cloridrato de lidocaína a 2% (Lidovet®, Bravet) na veia jugular, procedendo-se então a remoção de 1,0 a 2,0g de músculo. Após a sutura das incisões foi realizada a aplicação de antibiótico à base de penicilina, na dosagem de 10 mL/100 Kg de peso vivo, com o objetivo de se evitar infecções, além de curativos diários com solução iodada. Os pontos foram retirados 10 dias após a biópsia.

As amostras colhidas por ocasião das biópsias foram divididas em sub-amostras, embrulhadas em papel alumínio, devidamente identificadas, e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Na seqüência, estas amostras foram armazenadas em freezer -80° C, até o momento da extração do RNA total.

2.4.3. Extração, quantificação e verificação da qualidade dos RNAs

A extração do RNA total procedeu-se com a utilização do reagente Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e o kit PureLink Micro-to-Midi System (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) a partir de 350 mg das amostras do músculo LD, seguindo as recomendações do fabricante. Após a extração, o RNA foi dissolvido em água MiliQ livre de RNase e 1 µL foi utilizado para determinar a concentração e a pureza dos RNAs extraídos através das absorbâncias nos comprimentos de ondas 260 e 280nm, em espectrofotômetro (ND-1000 NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, EUA). Para se determinar a integridade do RNA total foi avaliada a relação 28S/18S por meio de eletroforese em gel de agarose (1,5%) em condições desnaturantes. Posteriormente, as mesmas amostras foram analisadas no equipamento 2100 Bioanalyzer® (Agilent Technologies) para determinação simultânea da quantidade e integridade das

moléculas de RNA, mediante análise dos perfis dos eletroferogramas das amostras, comparada com o padrão utilizado (Kit RNA 600 ladder-Agilent Technologies). As amostras de RNA foram consideradas de boa qualidade quando as áreas do eletroferograma correspondentes às bandas 28S e 18S apresentavam razão superior a 1,5. Em seguida, foram armazenadas em freezer -80°C até a realização dos experimentos de microarranjos.

2.4.4. Síntese e marcação do cDNA para as hibridações

Após a confirmação da qualidade do RNA total, foram utilizados 15 µg de RNA total para a síntese das fitas de DNA complementar (cDNA) de RNA mensageiro (mRNA) e posterior marcação com os fluoróforos Alexa 555 e Alexa 647. Para isso, utilizou-se o kit SuperScript™ Plus Indirect cDNA Labeling System (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). Os passos foram os recomendados pelo fabricante, exceção feita a forma de purificação do cDNA marcado, onde utilizou-se colunas de Sephadex illustra ProbeQuant G-50 Micro Columns (GE Healthcare, Chalfont St Giles, Inglaterra), seguindo as diretrizes do fabricante dos fluoróforos. O cDNA marcado foi purificado para a remoção dos nucleotídeos e fluoróforos não incorporados utilizando o kit PureLink™ PCR Purification System (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA).

A concentração do cDNA marcado foi determinada pelo uso de espectrofotômetro (ND-1000 NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, EUA), avaliando absorbâncias nos comprimentos de ondas 260 e 280nm. Quando o rendimento do cDNA marcado foi maior que 200 ng, as amostras eram combinadas e então concentradas usando os tubos Nanosep 30K Omega (Pall Corporation, East Hills, NY, EUA). Ao cDNA recuperado após a concentração foram adicionados 70 µL da solução SlideHib 1 (Ambion, Austin, TX, EUA) pré-aquecida a 70°C e mantidos a essa temperatura até o momento da aplicação nos microarranjos.

2.4.5. Hibridação das lâminas

Para a realização das hibridações, foram utilizados microarranjos de oligonucleotídeos longos (70 mer) (BLO+), desenhados com base nas seqüências consenso de *Bos taurus* depositadas no TIGR, provenientes de uma grande variedade de tecidos e diferentes estádios de desenvolvimento. Os oligonucleotídeos longos que compõem o microarranjo foram sintetizados pela Operon Biotechnologies Inc. (Huntsville, AL, EUA). O microarranjo BLO+ é composto por um total de 10.179 *spots* correspondentes a genes (representando cerca de 1/3 do genoma bovino), 153 *spots* correspondentes a 3 × SSC e 48 *spots* em branco. O microarranjo dispõe ainda de múltiplos *spots* que servem como controles positivos, nos quais estão depositados seqüências de genes (“housekeeping”) que podem apresentar a mesma expressão em diversos tecidos (Gapdh, BActin, RPL19, PGK1, Beta-2-M, Beta Glucuronidase, RPLP2, Cyclophilin), bem como de múltiplos *spots* para o controle negativo, nos quais estão depositadas 10 seqüências artificiais cuidadosamente elaboradas pela Stratagene (Cedar Creek, TX, EUA) para não apresentarem hibridação. Os *spots* estão arranjados em 48 blocos (12 linhas × 4 colunas) de 15 × 15, perfazendo um total de 10.800 *spots*. Do total de genes representados, foi possível identificar 9.854 entradas únicas do Entrez Gene IDs, que foram classificadas, segundo o *Gene Ontology*, em 4.111 processos biológicos e 4.570 funções moleculares conhecidas. Como a anotação do genoma bovino ainda se encontra incompleta, a anotação do microarranjo foi realizada com base em várias espécies, como mostrado na Tabela 2.

Os microarranjos foram adquiridos junto ao Center for Animal Functional Genomics (CAFG) da Michigan State University (MSU) (<http://cafg.msu.edu>), o mesmo utilizado nos projetos do National Bovine Functional Genomics Consortium dos Estados Unidos.

Tabela 2. Número de genes usado de cada espécie na anotação do microarranjo.

Espécies	Número de genes
<i>Bos taurus</i>	5200
<i>Homo sapiens</i>	2411
<i>Canis familiaris</i>	648
<i>Pan troglodites</i>	202
<i>Mus musculus</i>	110
<i>Sus scrofa</i>	105
<i>Rattus norvegicus</i>	57
<i>Ovis aries</i>	35
<i>Felis catus</i>	7
<i>Rattus sp.</i>	4
Outros	25
Desconhecido	12
Total	9854

O experimento de microarranjos foi constituído de 15 hibridações (8 para animais Angus e 7 para animais Nelore, tendo em vista que a amostra de um animal foi perdida), onde num mesmo microarranjo foram hibridadas as amostras do mesmo animal, nas duas condições nutricionais estudadas. As amostras provenientes dos animais alimentados com a dieta de baixa energia foram sempre marcadas com Alexa 555, enquanto as amostras da outra condição nutricional foram sempre marcadas com Alexa 647.

As lâminas foram previamente lavadas por 2 minutos com solução de SDS 1% em temperatura ambiente, e posteriormente 2 vezes em água milliQ, 1 minuto cada, também em temperatura ambiente. Pouco antes da hibridação as lâminas foram reidratadas com vapor de água a 70°C e transferidas para a estação de hibridação (GeneTAC Hybridization Station Microarray Hybridization Chamber, Genomic Solutions, Ann Arbor, MI, EUA), onde as lâminas eram aquecidas a 70 °C para a aplicação da solução de hibridação.

Após a aplicação da solução contendo os cDNAs marcados, as hibridações foram realizadas durante um período de 18 horas em três passos, com temperaturas de 42, 35 e 30°C por seis horas cada uma. Após todo esse processo, foram realizadas lavagens automáticas por 2 minutos para a remoção das sondas não incorporadas,

sendo a primeira com tampão de alta estringência (2 x SSC + 0,5% SDS) a 37 °C, seguida por uma lavagem com tampão de média estringência (0,5 x SSC) a 25 °C, posteriormente uma lavagem com um tampão pós-lavagem (0,05 x SSC) a 25 °C, e por último, uma lavagem com água MilliQ a 42°C. Ao final do processo de lavagem, as lâminas foram secas por centrifugação a 1.000 rpms, a temperatura ambiente por 2 minutos, dentro de tubos cônicos de polipropileno com capacidade de 50 mL.

Logo após a secagem, as lâminas foram imediatamente escaneadas em um escaner GenePix 4000B (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA). Para o processamento das imagens, alinhamento dos pontos, integração dos arquivos gerados pelas imagens e geração de relatório de intensidade dos dados, foi utilizado o software GenePix Pro 6.0.

2.4.6. Normalização, Análise Estatística e Funcional dos dados

Os efeitos sistemáticos dos fluoróforos nas intensidades observadas em cada hibridação foram visualizados utilizando-se o gráfico de dispersão *M versus A* construído para cada um dos microarranjos, no qual cada par de ordenadas (X,Y) representa o logarítmico da relação de intensidades $M = \log (\text{Alexa } 555 / \text{Alexa } 647) = \log \text{ Alexa } 555 - \log \text{ Alexa } 647$ em função das médias das intensidade na escala logarítmica $A = (\log \text{ Alexa } 555 + \log \text{ Alexa } 647) / 2$ para cada um dos pontos (spots) do microarranjo, como descrito por YANG e colaboradores (2002), sem extrair o sinal de fluorescência do fundo ("background").

A correção de possíveis efeitos sistemáticos observados nos diagramas *M versus A*, usualmente denominada normalização dos dados, foi realizada através da técnica de regressão local robusta LOWESS (CLEVELAND & DEVLIN, 1988), implementada no pacote computacional LIMMA (SMYTH & SPEED, 2003). A eficiência da normalização com a técnica LOWESS foi avaliada pelo monitoramento dos gráficos *M versus A* (Figura 2), dos diagramas de caixa (Figura 3), dos diagramas de dispersão $\log \text{ Alexa } 555 \text{ versus } \log \text{ Alexa } 647$ em cada um dos arranjos, antes e depois da normalização.

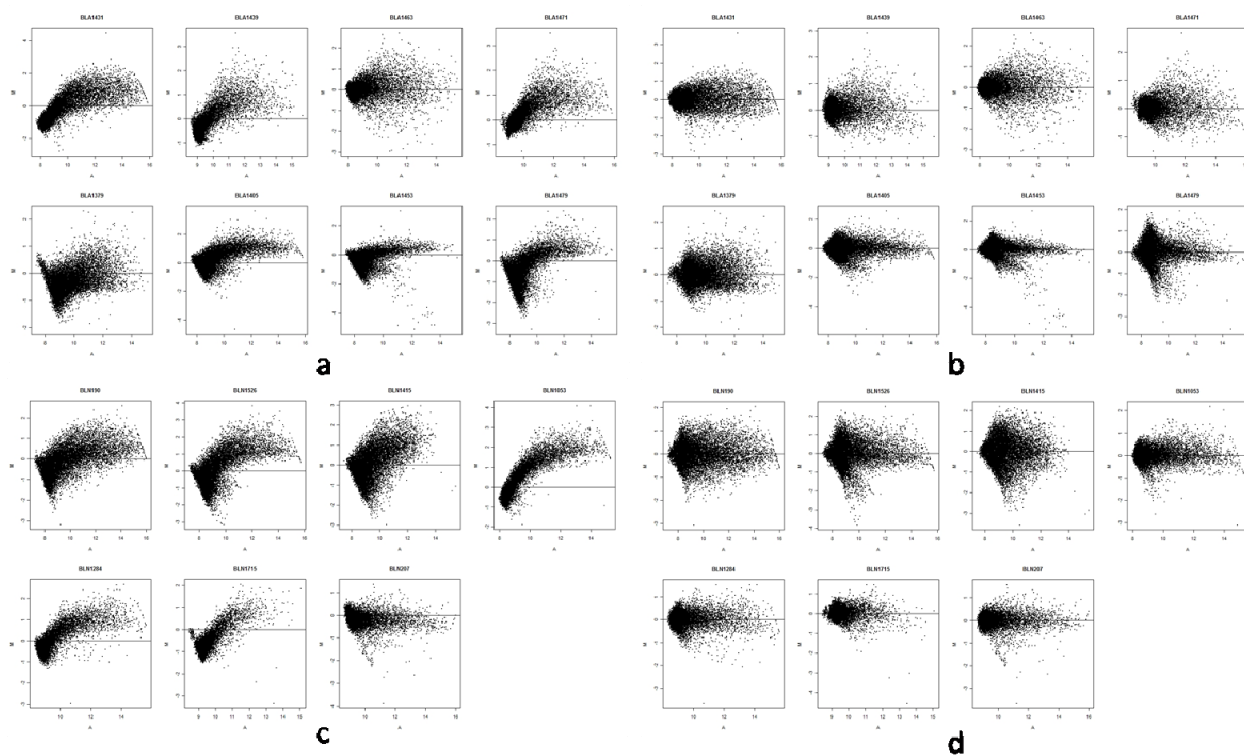


Figura 2. Gráficos M versus A. ANG antes da normalização (a); ANG após a normalização (b); NEL antes da normalização (c); NEL após a normalização (d).

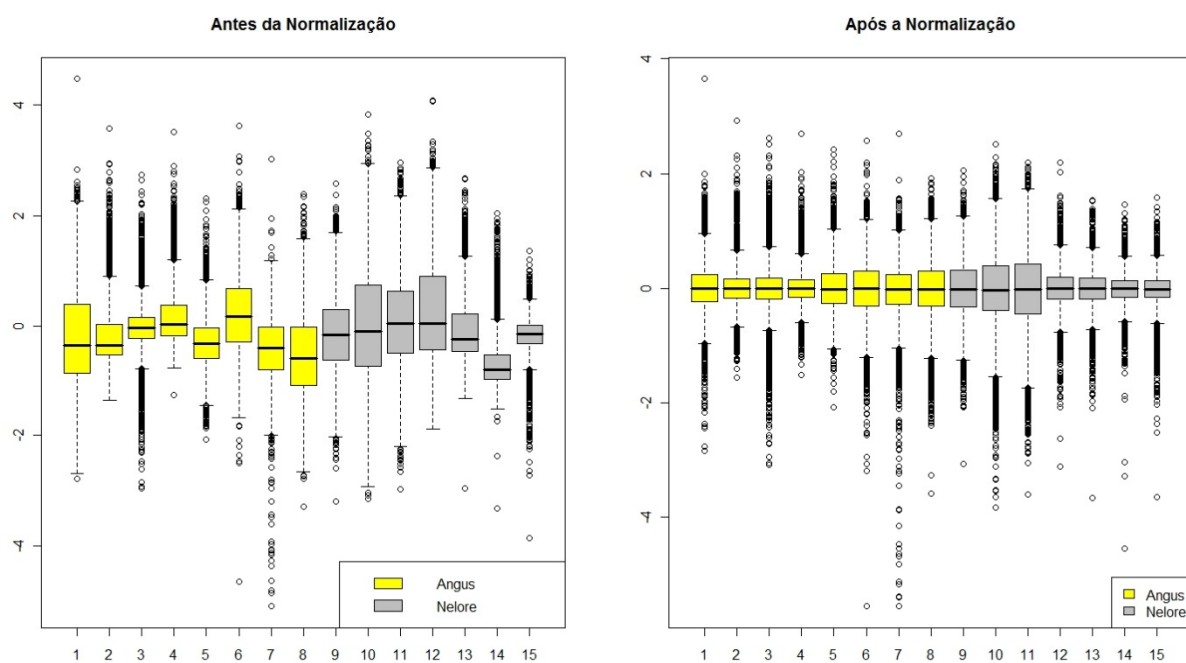


Figura 3. Diagrama de caixa dos valores de M antes da normalização e após a normalização.

Os valores normalizados (ajustados) de M , logarítmico das relações de intensidades, foram então analisados estatisticamente utilizando-se um teste F moderado, no qual as estimativas dos erros-padrão para cada gene foram obtidas a partir de uma técnica de “shrinkage” utilizando-se um procedimento Bayesiano empírico para maior estabilidade nas inferências (SMYTH, 2004). Todas as análises foram conduzidas utilizando-se o pacote computacional LIMMA (SMYTH, 2005), desenvolvido em linguagem R (<http://www.r-project.org/>), o qual é oferecido sem qualquer custo a partir do sítio do projeto BioConductor (<http://www.bioconductor.org>).

Para o ajuste do nível de significância em decorrência da multiplicidade de testes, referente a cada gene considerado no microarranjo, o procedimento descrito por STOREY (2003), definido como o menor valor de FDR para o qual uma determinada hipótese seria rejeitada (q -valor), também implementado no pacote computacional LIMMA, foi utilizado para determinar os genes diferencialmente expressos ($q < 0,05$),

O pacote LIMMA também produz um índice estatístico (estatística B (B); LÖNNSTED & SPEED, 2002) que estima a probabilidade de que o gene seja diferencialmente expresso. Desse modo, os genes foram considerados diferencialmente expressos quando $FDR < 0,05$ e $B > 0$.

Esse conjunto de genes diferencialmente expressos foi então classificado através da ferramenta de Bioinformática Onto-Express (<http://vortex.cs.wayne.edu/projects.htm>) (KHATRI et al., 2002; DRAGHICI et al., 2003) a fim de determinar as categorias funcionais do Gene Ontology (<http://www.geneontology.org/>), mais representadas nos genes diferencialmente expressos.

3. OBJETIVOS

Com base no exposto, o presente projeto, centrado na aplicação da tecnologia de microarranjo, tem como objetivos:

- Validar o uso do microarranjo BLO+, produzido pelo Center for Animal Functional Genomics da Michigan State University - EUA, para zebuínos.

- Caracterizar genes diferencialmente expressos no músculo *Longissimus dorsi* de animais das raças Nelore e Angus quando alimentados inicialmente com dieta de baixa energia e posteriormente com dieta de alta energia, formulada para ganho de peso diário superior a 1,5 Kg/dia (alta energia);

A expectativa é que os resultados deste projeto venham contribuir de forma significativa para a melhor compreensão dos mecanismos genéticos, bioquímicos e fisiológicos envolvidos no desenvolvimento muscular influenciados pela nutrição, permitindo o desenvolvimento de tecnologias que possam ser utilizadas como auxiliares para os programas de melhoramento genético (seleção assistida por marcadores moleculares, introgressão gênica ou mesmo a produção de animais geneticamente modificados) e no desenvolvimento de produtos biotecnológicos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHTON, G.C. Comparative nitrogen digestibility in Brahman, Brahman × Shorthorn, Africander × Hereford and Hereford steers. **J. Agric. Sci.**, v.58, p.333–341, 1962.

BEAVER, E.E.; WILLIAMS, J.E.; MILLER, S.J. et al. Influence of breed and diet on growth, nutrient digestibility, body composition and plasma hormones of Brangus and Angus steers. **J. Anim. Sci.**, v.67, p.2415-2425, 1989.

BOYLES, S.L.; RILEY, J.G. Feedlot performance of Brahman x Angus versus Angus steers during cold weather. **J. Anim. Sci.**, v.69, p.2677-2684, 1991.

BRADLEY, D.G., MacHUGH, D.E., CUNNINGHAN, P., LOFTUS, R.T. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.93, p.5131-5135, 1996.

BRITTEN, R.J.; DAVIDSON, E.H. Gene Regulation For Higher Cells – A Theory. **Science**, v.165, p.349-357, 1969.

BROWN, R.T.; FEDER, M. E. Reverse transcriptional profiling: non-correspondence of transcript level variation and proximal promoter polymorphism. **BMC Genomics**, v.6, artigo 110, 2005.

BYRNE, K.A.; WANG, Y.H.; LEHNERT, S. A. et al. Gene expression profiling of muscle tissue in Brahman steers during nutritional restriction. **J. Anim. Sci.**, v.83, p.1-12, 2005.

CNA. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. *Indicadores Pecuários*. Disponível em < <http://www.cna.org.br/>>. Acesso em: 22 de Dezembro, 2008.

CLEVELAND, W.S.; DEVLIN, S.J. Locally weighted regression: an approach to regression analysis by local fitting. **Journal of the American Statistical Association**, v.83, p.596-610, 1988.

DAWSON, K.A. Nutrigenomics:Feeding the genes for improved fertility. **Animal Reproduction Science**, v.96, p.312–322, 2006.

DRAGHICI, S.; KHATRI, P.; BHAVSAR, P. et al. Onto-Tools, the toolkit of the modern biologist: Onto-Express, Onto-Compare, Onto-Design and Onto-Translate. **Nucleic Acids Research**, v.31, p.3775-3781, 2003.

EPSTEIN, H. *The Origin of the Domestic Animals of Africa*. New York: Africana Publishing Cooperation, 1971. p.327–339.

FERRELL, C.; JENKINS T.G. Body composition and energy utilization by steers of diverse genotypes fed a high-concentrate diet during the finishing period: II. Angus, Boran, Brahman, Hereford, and Tuli sires. **J. Anim. Sci.**, v.76, p.647-657, 1998.

FERRELL, C.L.; BERRY, E.D.; FREETLY, H.C. et al. Influence of genotype and diet on steer performance, manure odor, and carriage of pathogenic and other fecal bacteria. I. Animal performance. **J. Anim. Sci.**, v.84, p.2515–2522, 2006.

FURLAN, L.R.; FERRAZ, A.L.J.; BORTOLOSSI, J.C. A genômica funcional no âmbito da produção animal: estado da arte e perspectivas. **R. Bras. Zootec.**, v.36, suplemento especial, p.331-341, 2007.

FRISCH, J.E.; VERCOE, J. E. Food intake, eating rate, weight gains, metabolic rate and efficiency of feed utilization in *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred cattle. **Anim. Prod.**, v.25, p.343–358, 1977.

GÖTHERSTRÖM, A.; ANDERUNG, C.; HELLBORG, L. et al. Cattle domestication in the Near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. **Proc. R. Soc. B**, v.272, p.2345–2350, 2005.

HEGARTY, R.S. Genotype differences and their impact on digestive tract function of ruminants: a review. **Australian Journal Experimental Agriculture**, v.44, p.459-467, 2004.

HENNESSY, D.W.; KOHUN, P.J.; WILLIAMSON, P.J.; BROWN, D.A.; NOLAN, J.V. The effect of nitrogen and protein supplementation on feed intake, growth and digestive function of steers with different *Bos indicus*, *Bos taurus* genotypes when fed a low quality grass hay. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.46, p., 1121-1136, 1995.

HIENDLEDER, S.; BAUERSACHS, S.; BOULESTEIX, A. et al. Functional genomics: tools for improving farm animal health and welfare. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v.24, p. 354-377, 2005.

HOTOVY, S.K.; JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D. E. et al. Variation among twin beef cattle in maintenance energy requirements. **J. Anim. Sci.**, v.69, p.940-946, 1991.

HUNTER, R.A.; SIEBERT, B.D Utilisation of low quality roughage by *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. 1. Rumen digestion. **The British Journal of Nutrition**, v.53, p.637-648, 1985.

IBGE — Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Indicadores IBGE: Estatística da Produção Pecuária*. Rio de Janeiro: IBGE; 2008.

KAPUT, J.; RODRIGUEZ, R.L. Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. **Physiol. Genomics**, v.16, p.166-177, 2004.

- KAURUE, C.N.; EVANS, J.L.; TILLMAN, A. D. Metabolism of nitrogen in Boran and Hereford-Boran crossbred steers. **J. Anim. Sci.**, v.35, p.1025–1030, 1972.
- KHATRI, P.; DRAGHICI, S.; OSTERMEIER, G.C. Profiling Gene Expression Using Onto-Express. **Genomics**, v.79, p.266-270, 2002.
- KIEFFER, N.M.; CARTWRIGTH, T.C. Sex chromosome polymorphism in domestic cattle. **Journal of Heredity**, v. 59, p. 35-37, 1968.
- KING, M.C., WILSON, A.C. Evolution At 2 Levels In Humans And Chimpanzees. **Science**, v.188, p.107-116, 1975.
- KOHN, M.H., FANG, S., WU, C.I. Inference of positive and negative selection on the 5' regulatory regions of Drosophila genes. **Mol. Biol. Evol.**, v.21, p.374-383, 2004.
- LEDGER, H.P.; ROGERSON, A.; FREEMAN, G.H. Further studies on the voluntary food intake of *Bos indicus* and *Bos taurus* and crossbred cattle. **Anim. Prod.**, v.12, p.426–431, 1970.
- LEHNERT, S.A.; BYRNE, K.A.; REVERTER, A. et al. Gene expression profiling of bovine skeletal muscle in response to and during recovery from chronic and severe undernutrition. **Journal of Animal Science**, v.84, p.3239–3250, 2006.
- LEHNERT, S.A.; REVERTER, A.; BYRNE, K.A. et al. Gene expression studies of developing bovine longissimus muscle from two different beef cattle breeds. **BMC Developmental Biology**, v.7, artigo 95, 2007.
- LOFTUS, R.T.; MACHUGH, D.E.; BRADLEY, D.G. et al. Evidence for two independent domestications of cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.91, p.2757-2761, 1994.
- LÖNNSTEDT, I.; SPEED, T. Replicated microarray data. **Statistica Sinica**, v.12, p.31-46, 2002.
- LOOR, J.J.; DANN, H.M.; EVERTS, R.E. et al. Temporal gene expression profiling of liver from periparturient dairy cows reveals complex adaptive mechanisms in hepatic function. **Physiol. Genomics**, v.23, p.217-226, 2005.

- MACHUGH, D.E.; SHRIVER, M.D.; LOFTUS, R.T. et al. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu Cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). **Genetics**, v.146, p.1071-1086, 1997.
- MADSEN, S.A.; CHANG, L.; HICKEY, M. et al. Microarray analysis of gene expression in blood neutrophils of parturient cows. **Physiol. Genomics**, v.16, p.212-221, 2004.
- MANWELL, C.; BAKER, C.M.A. Chemical classification of cattle 2. Phylogenetic tree and specific status of zebu. **Animal Blood Groups and Biochemical Genetics**, v. 11, p. 151- 162, 1980.
- MCDOWELL, R.E.; WILK, J.C.; TALBOTT, C.W. Economic viability of crosses of *Bos taurus* and *Bos indicus* for dairying in warm climates. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1292-1303, 1996.
- MEIRELLES, F.V.; ROSA, A.J.M.; LÔBO, R.B.; GRACIA, J.M.; SMITH, L.C.; DUARTE, F.A.M. Is the american zebu really *Bos indicus*? **Genet. Mol. Biol.**, v.22, p. 543-546, 1999.
- MIRETTI, M.M.; PEREIRA JR., H.A.; POLI, M.A. et al. African-Derived Mitochondria in South American Native Cattle Breeds (*Bos taurus*): Evidence of a New Taurine Mitochondrial Lineage. **J. Hered.**, v.93, p.323-330, 2002.
- MORAN, J.B. The grazing feed intake of Hereford and Brahman cross cattle in a cool temperate environment. **J. Agric. Sci.**, v.86, p.131–134, 1976.
- MULLER, M.; KERSTEN, S. Nutrigenomics: goals and strategies. **Nat. Rev. Genet.**, v.4, p.315-322, 2003.
- NORTON, B.W.; MORAN, J.B.; NOLAN, J.V. The nitrogen metabolism of Brahman cross, buffalo, Bateng and Shorthorn steers given a low-quality roughage. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.30, p.341-351, 1979.
- O'DONOVAN, P.B.; GEBREWOLDE, A.; KEBEDE, B. et al. Fattening studies with cross-bred (European × Zebu) bulls. 1. Performance on diets of native hay and concentrate. **J. Agric. Sci.**, v.90, p.425–429, 1978.

OWENS, F.N.; DUBESKI, P.; HANSON, C.F. Factor that alter the growth and development of ruminants. **J. Anim. Sci.**, v.71, p. 3138- 3150, 1993.

PAYNE, W.J.A. Domestication: A Forward Step in Civilization. In: HICKMAN, C.G. *Cattle Genetic Resources*. Elsevier: Amsterdam, 1991.

PFISTER-GENSKOW, M.; MYERS, C.; CHILDS, L. A.; et al. Identification of Differentially Expressed Genes in Individual Bovine Preimplantation Embryos Produced by Nuclear Transfer: Improper Reprogramming of Genes Required for Development. **Biol Reprod**, v.72, p.546-555, 2005.

PUTRINO, S.M.; LEME, P.R.; LUZ E SILVA, S. et al. Digestibilidade aparente de dietas com níveis crescentes de concentrado em novilhos Brangus e Nelore. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, p.406-413, 2007.

REVERTER, A., BYRNE, K.A., BRUCE, H.L. et al. A mixture model-based cluster analysis of DNA microarray gene expression data on Brahman and Brahman composite steers fed high-, medium-, and low-quality diets. **J. Anim. Sci.**, v.81, p.1900-1910, 2003.

REVERTER, A.; WANG, Y.H.; BYRNE, K.A. et al. Joint analysis of multiple cDNA microarray studies via multivariate mixed models applied to genetic improvement of beef cattle. **J. Anim. Sci.**, v.82, p.3430-3439, 2004.

ROBINSON, B.W.S.; ERLE, D.J.; JONES, D.A. et al. Recent advances in molecular biological techniques and their relevance to pulmonary research. **Thorax**, v.55, p.329-339, 2000.

ROSA, G.J.M.; ROCHA, L.B.; FURLAN, L.R. Estudos de expressão gênica utilizando-se microarrays: delineamento, análise, e aplicações na pesquisa zootécnica. **R. Bras. Zootec.**, v.36, suplemento especial, p.185-209, 2007.

SCHENA, M.; SHALON, D.; DAVIS, R.W. et al. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. **Science**, v.270, p.467-470, 1995.

SHI, L. DNA microarray (Genome Chip) – Monitoring in the genome on a chip, 2000. Disponível em WWW.Gene-Chips.com.

SILVA, L.O.C.; GONDO, A.; NOBRE, P.R.C. et al. Genetic trends in Nelore breed in Brazil. In: WORLD CONGRESS OF GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 2002, Montpellier, França. **Proceedings**...Montpellier, 2002. p. 321-332.

SMYTH, G.K. *Limma: linear models for microarray data*. In: Gentleman, R.; Carey, V.; Dudoit, S. et al. Bioinformatics and Computational Biology Solutions using R and Bioconductor. New York: Springer, 2005. p.397-420.

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, Article 3, 2004.

SMYTH, G.K.; SPEED, T. Normalization of cDNA microarray data. *Methods*, v.31, p.265-273, 2003.

STAMATOYANNOPOULOS, J.A. The genomics of gene expression. **Genomics**, v.84, p.449-457, 2004.

STOREY, J.D. The positive false discovery rate: A Bayesian interpretation and the q-value. **Annals of Statistics**, v.31, p.2013-2035, 2003.

SUCHYTA, S.P.; SIPKOVSKY, S.; KRUSKA, R.; et al. Development and testing of a high-density cDNA microarray resource for cattle. **Physiol. Genomics**, v.15, p.158-16, 2003.

SWANSON, K.S.; SCHOOK, L.B.; FAHEY, G.C. Nutritional genomics: implications for companion animals. **J. Nutr.**, v.133, p.3033–3040, 2003.

TAUTZ, D. Evolution of transcriptional regulation. **Current Opinion in Genetics & Development**, v.10, p.575–579, 2000.

WILLIAMS, J.L. Gene-based technologies applied to livestock genetics and breeding - Molecular genetics and livestock selection: Approaches, opportunities and risks. In:

INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON APPLICATIONS OF GENE-BASED TECHNOLOGIES IMPROVING ANIMAL PRODUCTION AND HEALTH IN DEVELOPING COUNTRIES, ed. Springer Netherlands, p.1-21, 2003.

WITTKOPP, P.J., HAERUM, B.K., CLARK, A.G. Evolutionary changes in cis and trans gene regulation. **Nature**, v.430, p.85-88, 2004.

WOMACK, J.E. Advances in livestock genomics: Opening the barn door. **Genome Res.**, v.15, p.1699-1705, 2005.

YANG, Y.H.; DUDOIT, S.; LUU, P. et al. Normalization for cDNA microarray data: a robust composite method addressing single and multiple slide systematic variation. **Nucleic Acids Res.**, v.30, e15, 2002.

CAPÍTULO 2 – VALIDAÇÃO DE UM MICROARRANJO DE OLIGONUCLEOTÍDEOS LONGOS SINTETIZADOS COM BASE NAS SEQÜÊNCIAS DO DNA DE TAURINOS PARA ESTUDOS DE EXPRESSÃO GÊNICA COM ANIMAIS DE RAÇAS ZEBUÍNAS

RESUMO – Os bovinos são divididos em dois grandes grupos, taurinos e zebuínos, cuja divergência genética é de aproximadamente 250 mil anos. Apesar da proximidade filogenética, esses grupos apresentam diferenças marcantes nas características produtivas. No presente estudo, foi avaliada a possibilidade de se utilizar um microarranjo confeccionado com seqüências específicas de taurinos para estudos de expressão gênica em zebuínos. Dezesseis animais (8 ANG e 8 NEL) foram divididos em duas baias, onde receberam uma dieta BE por 28 dias e na seqüência uma dieta AE pelo mesmo período. Após cada período, foram coletadas amostras do músculo LD, das quais extraiu-se o RNA total para estudos de expressão gênica pela técnica de microarranjos. Dos 10.179 genes do microarranjo, 9.552 e 8.664 genes foram expressos em animais ANG e NEL, respectivamente, sendo que 98% dos genes expressos em NEL também foram expressos em ANG, indicando uma alta similaridade entre as sondas do microarranjo e os transcritos oriundos de NEL. Diferentes critérios foram usados na seleção de genes DE e com a utilização de critério mais conservativo ($FDR < 0,05$ e $B > 0$) foram selecionados 546 genes DE para ANG e 440 NEL, sendo 344 exclusivos para ANG, 238 para NEL e 202 em comum. A similaridade no perfil de expressão gênica entre as raças Angus e Nelore e a possibilidade de discriminar genes DE entre os tratamentos experimentais, sugere que o microarranjo de oligonucleotídeos longos BLO+ pode ser usado de maneira eficiente em estudos de expressão gênica com animais de raças zebuínas.

Palavras-Chave: expressão gênica, divergência genética, microarranjo, taurinos, zebuínos

1. INTRODUÇÃO

Todos os bovinos pertencem à espécie *Bos taurus*, porém são divididos em dois grandes grupos: zebuínos (com cupim) e taurinos (sem cupim). As raças hoje existentes destes grupos apresentam completa inter-fertilidade e representam pelo menos duas domesticações independentes (LOFTUS et al., 1994; MacHUGH et al., 1997). Sendo assim, com base nos relatos de TAUTZ (2000) de que a taxa de divergência no genoma de vertebrados que evoluíram separadamente varia apenas entre 0,1 a 0,5% a cada milhão de anos e nos relatos de BRADLEY e colaboradores (1996) e MIRETTI e colaboradores (2002) de que a divergência genética entre essas subespécies bovinas é de apenas 250 mil anos, estima-se que a semelhança entre o genoma de taurinos e zebuínos seja superior a 99,5%.

Apesar da proximidade filogenética, estas duas subespécies apresentam características fenotípicas muito distintas, com reflexos marcantes na eficiência reprodutiva (BARROS et al., 1995; FIGUEIREDO et al., 1997; PINHEIRO et al., 1998), eficiência produtiva (JENKINS & FERRELL, 2004; FERREL et al., 2006; CALEGARE et al., 2007; PRADO et al., 2008), na qualidade da carne (HUFFMAN et al., 1990; BOYLES & RILEY, 1991; MARSHALL, 1994; FRANKE, 1997), resistência à parasitas (GLASS et al., 2005; JONSSON et al., 2008; KONGSUWAN et al., 2008; PIPER et al., 2008) e tolerância ao calor (SKINNER & LOUW, 1966; SEIF et al., 1979; ROCHA et al., 1998; HANSEN, et al., 2004).

Diferenças na sequência de DNA entre indivíduos da mesma espécie podem produzir alterações qualitativas e quantitativas na expressão gênica que influencia processos biológicos, conferindo suscetibilidade à doenças e repostas benéficas ou adversas a tratamento farmacológico (SACHSE et al., 1997; LIN et al., 2003) ou diferentes dietas (REVERTER et al., 2003; LEHNERT et al., 2006).

A expressão gênica diferencial é um mecanismo fundamental para o surgimento dessas características específicas para uma determinada espécie (TAUTZ, 2000; BRUNETTI et al., 2001). No entanto, é um grande desafio identificar mudanças transcricionais relevantes à estas características, tendo em vista que o perfil de

expressão gênica de células e tecidos de organismos altamente relacionados sofre variações provocadas por diversos fatores (ENARD et al, 2002; RIFKIN et al., 2003).

Microarranjos de cDNA, oligonucleotídeos e produtos de PCR têm sido amplamente usados para comparar perfis de expressão em células e tecidos de organismos próximos na escala evolutiva (ENARD et al, 2002; MARVANOVÁ et al., 2003; RIFKIN et al., 2003). Normalmente, as sondas de DNA dos microarranjos são específicas para analisar a abundância de transcritos do organismo do qual as sondas são oriundas (NAGPAL et al., 2004), mas devido ao alto custo e tempo necessário para o desenvolvimento de um microarranjo específico para uma determinada espécie, a hibridação entre-espécies tem se tornado uma ferramenta importante no estudo de expressão gênica para aquelas raças que não possuem microarranjos específicos (BRODSKY et al., 2005; CHALMERS et al., 2005).

Apesar das sondas do microarranjo serem específicas para uma determinada espécie, a maioria dos transcritos de RNA de organismos evolutivamente próximos, principalmente aqueles com mais de 95% de identidade dos nucleotídeos, deveriam efetivamente se hibridar nas sondas depositadas no microarranjo (HACIA et al., 1998; KAYO et al., 2001). Assim, RENN e colaboradores (2004) avaliaram o desempenho da hibridação entre-espécies em um microarranjo da espécie de peixe *Astatotilapia burtoni* com o RNA proveniente de sete espécies aparentadas. A variação na expressão de genes específicos do cérebro entre indivíduos das várias espécies de peixes estudadas sugerem que a consistência dos perfis de expressão gênica entre as espécies foram maiores para as espécies mais próximas (com divergência inferior a 10 milhões de anos) e menores para aquelas mais distantes (com divergência superior a 65 milhões de anos ou mais).

O desempenho da hibridação entre-espécies depende do nível de similaridade das seqüências das sondas com os transcritos. Durante o processo de hibridação, um número variável de sondas pode exibir um emparelhamento perfeito ou parcial com o transcrito da espécie alvo, ou emparelhar com mais de um transcrito da espécie alvo (hibridação cruzada), ou ainda não emparelhar com nenhum transcrito. Essa variação no emparelhamento sonda-transcrito tem uma função crucial no processo de hibridação

e pode causar distorções nos resultados biológicos (BAO-OR et al., 2007). GILAD e colaboradores (2005) observaram que uma divergência média de apenas ~1% das seqüências entre espécies podem ser detectadas em experimentos utilizando a hibridação entre-espécies. Assim sendo, considerando que a diferença estimada entre taurinos e zebuínos é de apenas 0,5%, espera-se resultados melhores que os encontrados pelos autores anteriormente citados.

Desse modo, com base no exposto anteriormente, esse estudo tem como objetivo validar a utilização de um microarranjo de oligonucleotídeos longos (70 mer) sintetizados com base nas seqüências de DNA de animais de raças taurinas, em estudos de expressão gênica com animais da raça zebuína.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Vide item Metodologia Aplicada na página 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Validação do microarranjo BLO+ para zebuínos

Para determinar a quantidade de genes expressos em ambas as raças, calculou-se a intensidade de fluorescência média de cada canal de leitura dos 10.179 *spots* correspondente às seqüências gênicas. Em seguida, calculou-se um valor médio de “cutoff” para cada raça nos dois canais de leitura, a partir da intensidade de fluorescência média dos *spots* em branco e daqueles contendo $3 \times \text{SSC}$, acrescida de um desvio-padrão. Dessa forma, foram considerados expressos aqueles genes cujos *spots* apresentaram intensidades superiores ao “cutoff” em ambos os canais de leitura.

Com base no critério adotado, verificou-se que 92,73% dos *spots* correspondentes às seqüências gênicas foram expressos em Angus, enquanto somente 85,12% foram expressos em Nelore. Destes, 8.488 genes foram expressos em ambas

as raças, enquanto que 176 e 964 foram expressos exclusivamente nas raças Nelore e Angus, respectivamente.

A porcentagem de genes expressos em Angus no presente trabalho (92,73%) foi muito próxima à encontrada por RENN e colaboradores (2004), que avaliaram o desempenho da hibridação entre-espécies em um microarranjo de cDNA da espécie de peixe *Astatotilapia burtoni* com o RNA proveniente de sete espécies aparentadas. Já a porcentagem de genes expressos em Nelore foi semelhante à descrita por OLLIER e colaboradores (2007), que examinaram os efeitos da restrição alimentar na expressão gênica da glândula mamária de caprinos usando um microarranjo de oligonucleotídeos longos oriundos do genoma de taurinos.

Entretanto, quando utilizaram cDNAs provenientes de músculo esquelético de suínos e humanos em um microarranjo de cDNA humano, MOODY e colaboradores (2002) observaram que 48% dos genes de ambas espécies não foram expressos, embora os coeficientes de correlação de Pearson e Spearman calculados para os dados normalizados demonstraram alta reprodutibilidade nas hibridações de ambas as espécies.

WANG e colaboradores (2005) usaram um microarranjo de cDNA de tecido muscular e adiposo para estudar as diferenças na expressão gênica do músculo LD entre animais da raça “Japanese Black” e Holandês e identificaram apenas 70% de genes expressos. Os autores atribuíram essa observação ao fato de que muitas das sondas presentes no microarranjo representavam fatores de transcrição e outras moléculas regulatórias, que foram expressas de maneira transitória ou em níveis abaixo da sensibilidade do microarranjo.

A diferença no número de genes expressos entre as raças Angus e Nelore pode ser atribuída às diferenças nas seqüências dos cDNAs provientes dos animais Nelore, uma vez que as sondas depositadas no microarranjo BLO+ são específicas para taurinos. Essas diferenças podem ser causadas por variações na marcação dos cDNAs, *splicing* alternativo, falta de homologia entre o alvo e a sonda, diferenças causadas por deleções ou inserções, polimorfismos intra-específico ou ausência do gene (HSIEH et al., 2003; GILAD et al., 2005; ZAKHARKIN et al., 2005; GILAD &

BOREVITZ, 2006; KIRST et al., 2006; POOLE et al., 2007; CAMBON et al., 2007). De maneira que é possível que alguma ou todas essas variáveis podem estar influenciando os resultados encontrados no presente estudo.

Para se verificar a inexistência de erros metodológicos durante o processo de marcação dos cDNAs, procedeu-se o cálculo das correlações (método de Pearson) das intensidades de fluorescência para os fluoróforos Alexa647 e Alexa555, encontrando os valores de 0,959 e 0,943, respectivamente. Os valores observados no presente trabalho foram semelhantes aos reportados por RENN e colaboradores (2004) e MOODY e colaboradores (2002), que compararam a hibridação entre cDNA provenientes de músculo esquelético de suínos e humanos em um microarranjo de cDNA humano, indicando uma alta reprodutibilidade nas hibridações.

Outro fator que influencia a identificação de genes expressos no microarranjo é a condição de estringência no processo de hibridização. MILLER e colaboradores (2002) usaram condições de alta estringência e verificaram que ocorreu hibridação entre-espécies entre genes com até 94% de identidade na seqüência. HUANG e colaboradores (2000) validaram com sucesso a expressão de 15 genes identificados por hibridação entre-espécies (microarranjo de camundongo e humano) usando uma estringência reduzida. VONTAS e colaboradores (2006) monitoraram a expressão gênica em linhagens resistentes e suscetível a inseticidas de *Anopheles stephensi* usando um microarranjo de *Anopheles gambiae* e reportaram ~7.000 ESTs expressas utilizando condições de estringência reduzida, sendo que em condições normais menos que 2.500 ESTs seriam detectadas.

Embora no presente trabalho tenha sido utilizada uma condição de alta estringência, a alta porcentagem de genes expressos na raça Nelore (85,12%) sugerem a existência de alta similaridade entre as sondas do microarranjo e os transcritos oriundos dos animais Nelore, evidenciando que o microarranjo BLO+, confeccionado com seqüências específicas de taurinos, pode ser perfeitamente utilizado em estudos de expressão gênica com zebuínos. É preciso ainda ressaltar que 98% dos genes expressos em animais Nelore também o foram nos da raça Angus.

3.2. Genes diferencialmente expressos entre taurinos e zebuínos

A Tabela 1 mostra as freqüências de genes diferencialmente expressos para ambas as raças de acordo com os critérios estatísticos usados: $P < 0,05$; $FDR < 0,05$ e $FDR < 0,05$ e $B > 0$.

Tabela 1. Freqüência dos genes com diferença significativa de expressão para as raças conforme os critérios estatísticos adotados.

Estatísticas	Angus	% do total ¹	Nelore	% do total ¹	Nelore/Angus
$P < 0,05$	3848	37,80	3869	38,01	100,55
$FDR < 0,05$	2272	22,32	2155	21,17	94,85
$FDR < 0,05$ e $B > 0$	546	5,36	440	4,32	80,59

¹Percentagem em relação aos 10.179 “spots” correspondente às seqüências gênicas.

Os resultados evidenciam que quanto mais rígido o critério para se descartar os falsos positivos, maior se torna a diferença no número de genes DE, tanto dentro das raças, como entre elas. De fato, os dados da coluna relação Nelore/Angus mostram claramente que quanto mais conservativo o critério para a seleção de genes DE, menor é o número de genes selecionados para a raça Nelore. Assim, quando se aplicou a correção para testes múltiplos (FDR), houve uma queda de aproximadamente 6 pontos percentuais nesta relação, que atingiu valores próximos a 14 pontos percentuais quando se combinou os critérios FDR e B.

Essa diminuição no número de genes DE pode estar ligada à diversos fatores, dentre os quais as variações individuais nos níveis de expressão gênica, assim como de eventuais distorções causadas por variações que ocorrem durante o processo analítico, que contribuem para o aumento do número de falso positivos, os quais são excluídos com o uso de critérios mais conservativos.

A quantidade de genes selecionados para ambas as raças com $P < 0,05$ (~38%) foi muito superior à quantidade esperada para esse critério, que deveria ser de aproximadamente 508 genes, ou seja, 5% do total. Contudo, uma quantidade de genes acima do esperado também foi relatada por BREM e colaboradores (2002), que

compararam o perfil de expressão de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* usando um microarranjo de cDNA que continha mais de 6.000 ORFs do genoma de levedura. Eles identificaram que 1.528 genes foram diferencialmente expressos ao invés dos 23 esperados pelo acaso ($P < 0,005$).

Esses resultados mostram que o critério do p-valor não deve ser utilizado, uma vez que seleciona uma grande quantidade de falsos positivos, no caso do presente trabalho, aproximadamente 8 vezes mais do que o esperado. Ainda na Tabela 3, observa-se que a correção para testes múltiplos (FDR) reduziu a quantidade de falsos positivos, mas ainda selecionou um número 4 vezes maior de genes DE do que o esperado. Neste sentido, a utilização do critério que combina $FDR < 0,05$ e $B > 0$ parece ser o mais adequado, pois seleciona um número de genes DE muito próximo daquele que é esperado para $P < 0,05$.

A Figura 1 representa a interseção entre as listas de genes DE das raças. Foram identificados 202 genes em comum entre as raças, 344 genes exclusivos para animais Angus e 238 para NEL. Os 202 genes DE em ambas as raças representam 37% do total de genes diferencialmente expressos em Angus e 46% dos genes DE em Nelore.

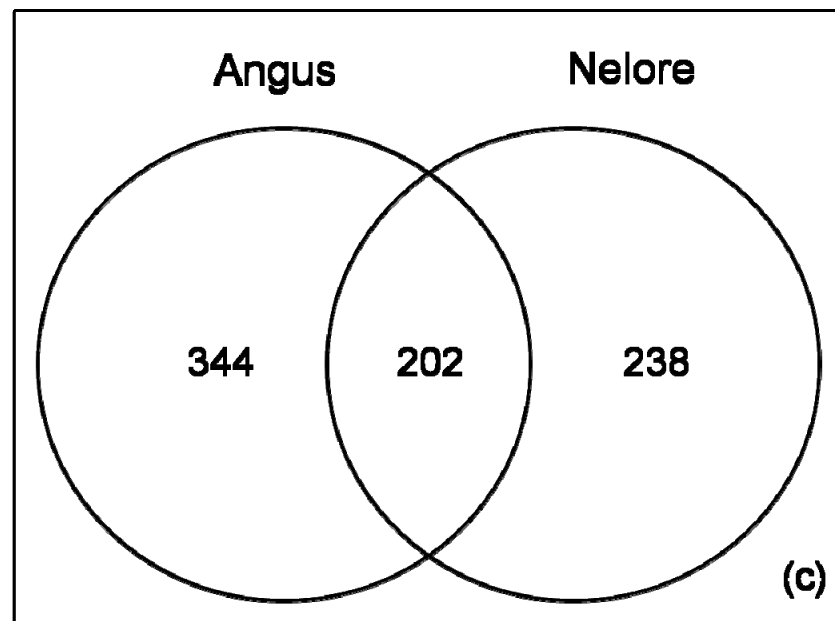


Figura 1. Interseção das listas de genes diferencialmente expressos identificados entre as raças.

Após a análise funcional realizada usando a ferramenta de Bioinformática Onto-Express, uma lista foi selecionada contendo as categorias funcionais mais representativas para os genes exclusivos em cada raça, bem como dos genes em comum. Foram selecionadas as categorias funcionais cujo número de genes DE para as categorias funcionais foi maior que 3.

A análise funcional do conjunto de genes em comum não revelou a existência de padrões específicos, ou seja, aparentemente apresentam uma distribuição aleatória, e devem ser aqueles genes cujas funções estão relacionadas com os processos vitais, cuja expressão não é modulada pelas raças ou pelas dietas experimentais. As categorias funcionais mais representativas desse conjunto de genes podem ser vistas na Tabela 2.

Tabela 2. Categorias funcionais (processos biológicos, GO) com número similar de genes em ambas as raças estudadas.

Categorias Funcionais	Angus		Nelore		Total de Genes no Microarranjo ³
	Genes DE ¹	% ²	Genes DE ¹	% ²	
regulação da transcrição dna-dependente	14	3,09	15	3,31	453
transporte	14	7,45	5	2,66	188
transdução de sinais	13	4,00	12	3,69	325
fosforilação de proteínas e aminoácidos	12	4,78	5	1,99	251
transcrição	10	2,93	10	2,93	341
oxi-redução	8	4,47	4	2,23	179
resposta imune	7	6,19	5	4,42	113
diferenciação celular	6	5,41	5	4,50	111
desenvolvimento multicelular do organismo	6	2,86	8	3,81	210
tradução	6	5,83	3	2,91	103
apoptose	4	3,31	9	7,44	121
via de sinalização de receptor proteico ligado à proteína G	4	5,00	4	5,00	80
regulação positiva do promotor da RNA polimerase II	4	8,00	4	8,00	50
adesão celular	3	2,33	6	4,65	129
desenvolvimento do sistema nervoso	3	4,29	4	5,71	70

¹Número de genes diferencialmente expressos representando a categoria funcional

²Porcentagem em relação ao total de genes da categoria presente no microarranjo

³Total de genes representando a categoria funcional no microarranjo

Como esperado, a quantidade de 344 genes DE exclusivos para animais ANG foi ~31% maior que para animais NEL. Como consequência, o número de categorias funcionais mais representativas também foi maior para animais ANG (40) comparados com NEL (22). Em seguida, foram selecionadas as categorias exclusivas para cada raça, assim como aquelas comuns para ambas as raças, cujos resultados se encontram nas Tabelas 3 a 5.

Tabela 3. Categorias funcionais (processos biológicos, GO) mais representativas nos genes DE exclusiva em animais da raça Angus.

Categorias Funcionais	Genes DE ¹	% ²	Total de Genes no Microarranjo ³
transporte de proteínas	6	4,96	121
transporte de íons	5	4,55	110
regulação positiva da transcrição	5	20,00	25
processamento do mRNA	4	5,48	73
dobramento de proteínas	4	8,16	49
resposta ao estresse	4	10,00	40
biogênese e organização do citoesqueleto de actina	3	7,89	38
anti-apoptose	3	9,38	32
desenvolvimento de vasos sanguíneos	3	42,86	7
remodelagem dos vasos sanguíneos	3	75,00	4
transporte de íons cálcio	3	12,00	25
interrupção do ciclo celular	3	9,38	32
diferenciação das células epiteliais	3	50,00	6
desenvolvimento do coração	3	8,82	34
resposta imune inata	3	12,00	25
processo metabólico de lipídeos	3	5,66	53
biogênese e organização dos microtúbulos do citoesqueleto	3	37,50	8
mitose	3	5,17	58
regulação da apoptose	3	8,82	34
regulação da transdução do sinal da proteína Rho	3	15,00	20
resposta à hipoxia	3	13,64	22
splicing do RNA	3	3,70	81
processo metabólico de esteróides	3	20,00	15
processo catabólico de proteínas dependente de ubiquitina	3	6,67	45

¹Número de genes diferencialmente expressos representando a categoria funcional

²Porcentagem em relação ao total de genes da categoria presente no microarranjo

³Total de genes representando a categoria funcional no microarranjo

Tabela 4. Categorias funcionais (processos biológicos, GO) mais representativas nos genes DE exclusiva em animais da raça Nelore.

Categorias Funcionais	Genes DE ¹	% ²	Total de Genes no Microarranjo ³
ciclo celular	5	4,00	125
reparo do DNA	5	10,20	49
divisão celular	4	6,06	66
interação inter-espécie entre organismos	4	8,51	47
regulação da transcrição do promotor da RNA polimerase	4	8,00	50
proteólise	3	1,99	151

¹Número de genes diferencialmente expressos representando a categoria funcional²Porcentagem em relação ao total de genes da categoria presente no microarranjo³Total de genes representando a categoria funcional no microarranjo

Tabela 5. Categorias funcionais (processos biológicos, GO) mais representativas nos genes DE comuns a ambas as raças.

Categorias Funcionais	Genes em Comum		Total de Genes no Microarranjo ³
	Genes DE ¹	% ²	
ligação de proteínas	40	2,66	1501
ligação de íons zinco	15	2,71	554
ligação de íons metálicos	13	2,41	539
ligação de ATP	13	2,44	532
ligação de nucleotídeos	10	1,55	646
atividade receptora	10	3,66	273
atividade hidrolase	9	3,27	275
atividade transferase	8	1,79	448
ligação do DNA	7	2,47	283
ligação íons cálcio	6	2,14	281
atividade do fator de transcrição	6	2,36	254
ligação de ácidos nucleicos	6	4,14	145
constituente estrutural do ribossomo	6	7,32	82
ligação do RNA	5	2,82	177
atividade de moléculas estruturais	4	5,88	68
atividade peptidase	4	6,45	62
atividade liase	4	10,53	38
atividade catalítica	3	3,09	97
atividade carregadora de elétrons	3	3,90	77
ligação de proteínas idênticas	3	4,76	63
atividade de proteína quinase	3	6,38	47
atividade helicase	3	17,65	17

¹Número de genes diferencialmente expressos representando a categoria funcional²Porcentagem em relação ao total de genes representado a categoria funcional no microarranjo³Total de genes representando a categoria funcional no microarranjo

Apesar da proximidade filogenética entre taurinos e zebuínos, houve uma diferença de 9 pontos percentuais (106 genes DE) entre as raças estudadas, ao passo que os genes DE comuns a ambas as raças representaram ~20% do total (202 genes DE). Também foi possível observar que houve diferenças nas categorias funcionais entre as raças, que podem ser decorrentes da divergência genética causada pela separação entre taurinos e zebuínos que remonta há aproximadamente 250 mil anos.

4. CONCLUSÕES

A grande similaridade no perfil de expressão gênica entre as raças Angus e Nelore e a possibilidade de discriminar genes DE entre os tratamentos experimentais, sugere que o microarranjo de oligonucleotídeos longos BLO+ pode ser usado de maneira eficiente em estudos de expressão gênica com animais de raças zebuínas.

A seleção de genes DE diminuiu de forma mais acentuada em NEL comparado com ANG quando se utilizou critérios mais conservativos para a seleção de genes DE.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAR-OR, C.; CZOSNEK, H.; KOLTAL, H. Cross-species microarray hybridizations: a developing tool for studying species diversity. **TRENDS in Genetics**, v.23, p.200-207, 2007.

BAR-OR, C.; BAR-EYAL, M.; GAL, T.Z. et al. Derivation of species-specific hybridization-like knowledge out of cross-species hybridization results. **BMC Genomics**, v.7, artigo 110, 2006.

BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A.; PINHEIRO, O.L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.19, p.9–12, 1995.

BOYLES, S.L.; RILEY, J.G. Feedlot performance of Brahman x Angus versus Angus steers during cold weather. **J. Anim. Sci.**, v.69, p.2677-2684, 1991.

- BRADLEY, D.G.; MacHUGH, D.E.; CUNNINGHAN, P.; LOFTUS, R.T. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.93, p.5131-5135, 1996.
- BREM, R.B.; YVERT, G.; CLINTON, R. et al. Genetic dissection of transcriptional regulation in budding yeast. **Science**, v.296, p.752–755, 2002.
- BRODSKY, L.I.; JACOB-HIRSCH, J.; AVIVI, A. et al. Evolutionary regulation of the blind subterranean mole rat, *Spalax*, revealed by genome-wide gene expression. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, v.102, p.17047–17052, 2005.
- BRUNETTI, C.R.; SELEGUE, J.E.; MONTEIRO, A. et al. The generation and diversification of butterfly eyespot color patterns. **Curr. Biol.**, v.11, p.1578–1585, 2001.
- CALEGARE, L.; ALENCAR, M.M.; PACKER, I.U. et al. Energy requirements and cow/calf efficiency of Nellore and Continental and British *Bos taurus* x Nellore crosses. **J. Anim. Sci.**, v.85, p.2413-2422, 2007.
- CAMBON, A.C.; KHALYFA, A.; COOPER, N.G.F. et al. Analysis of probe level patterns in Affymetrix microarray data. **BMC Bioinformatics**, v.8, artigo 146, 2007.
- CHALMERS, A.D.; GOLDSTONE, K.; SMITH, J.C. A *Xenopus tropicalis* oligonucleotide microarray works across species using RNA from *Xenopus laevis*. **Mechanisms of Development**, v.122, p.355–363, 2005.b
- ENARD, W.; KHAITOVICH, P.; KLOSE, J. et al. Intra- and interspecific variation in primate gene expression patterns. **Science**, v.296, p.340–343, 2002.
- FERRELL, C.L.; BERRY, E.D.; FREETLY, H.C. et al. Influence of genotype and diet on steer performance, manure odor, and carriage of pathogenic and other fecal bacteria. I. Animal performance. **J. Anim. Sci.**, v.84, p.2515–2522, 2006.
- FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, p.1489–1505, 1997.

FRANKE, D.E. Postweaning performance and carcass merit of F1 steers sired by Brahman and alternative subtropically adapted breeds. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.2604–2608, 1997.

GILAD, Y.; BOREVITZ, J. Using DNA microarrays to study natural variation. **Current Opinion in Genetics and Development**, v.16, p.553–558, 2006.

GILAD, Y.; RIFKIN, S.A.; BERTONE, P. et al. Multi-species microarrays reveal the effect of sequence divergence on gene expression profiles. **Genome Res.**, v.15, p.674–680, 2005.

GLASS, E.J.; PRESTON, P.M.; SPRINGBETT, A. et al. *Bos taurus* and *Bos indicus* (Sahiwal) calves respond differently to infection with *Theileria annulata* and produce markedly different levels of acute phase proteins. **International Journal for Parasitology**, v.35, p.337–347, 2005.

HACIA, J.G.; MAKALOWSKI, W.; EDGEMON, K. et al. Evolutionary sequence comparisons using high-density oligonucleotide arrays. **Nature Genet.**, v.18, p.155–158, 1998.

HANSEN, P.J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Anim. Reprod. Sci.**, v.82–83, p.349–360, 2004.

HSIEH, W.-P.; CHU, T.-M.; WOLFINGER, R.D. et al. Mixed-model reanalysis of primate data suggest tissue and species biases in oligonucleotide-based gene expression profiles. **Genetics**, v.165, p.747–757, 2003.

HUANG, G.S.; YANG, S.M.; HONG, M.Y. et al. Differential gene expression of livers from ApoE deficient mice. **Life Sciences**, v.68, p.19–28, 2000.

HUFFMAN, R. D.; WILLIAMS, S. E.; HARGROVE, D. D. et al. Effects of percentage Brahman and Angus breeding, age-season of feeding and slaughter end point on feedlot performance and carcass characteristics. **J. Anim. Sci.**, v.68, p.2243–2252, 1990.

JENKINS, T.G.; FERRELL, C.L. Prewaning efficiency for mature cows of breed crosses from tropically adapted *Bos indicus* and *Bos taurus* and unadapted *Bos taurus* breeds. **J. Anim. Sci.**, v.82, p.1876-1881, 2004.

JONSSON, N.N.; BOCK, R.E. JORGENSEN, W.K. Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. **Veterinary Parasitology**, v.155, p. 1-9, 2008.

KAYO, T.; ALLISON, D.B.; WEINDRUCH, R. et al. Influences of aging and caloric restriction on the transcriptional profile of skeletal muscle from rhesus monkeys. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.98, p.5093–5098, 2001.

KIRST, M.; CALDO, R.; CASATI, P. et al. Genetic diversity contribution to errors in short oligonucleotide microarray analysis. **Plant Biotechnology Journal**, v.4, p.489–498, 2006.

KONGSUWAN, K.; PIPER, E.K.; BAGNALL, N.H. et al. Identification of genes involved with tick infestation in *Bos taurus* and *Bos indicus*. **Dev. Biol. (Basel)**, v.132, p.77-88. 2008.

LEHNERT, S.A.; BYRNE, K.A.; REVERTER, A. et al. Gene expression profiling of bovine skeletal muscle in response to and during recovery from chronic and severe undernutrition. **Journal of Animal Science**, v.84, p.3239–3250, 2006.

LIN, M.T.; STORER, B.; MARTIN, P.J. et al. Relation of an interleukin-10 promoter polymorphism to graft-versus-host disease and survival after hematopoietic cell transplantation. **N. Engl. J. Med.**, v.349, p.2201-2210, 2003.

LOFTUS, R.T.; MACHUGH, D.E.; BRADLEY, D.G. et al. Evidence for two independent domestications of cattle. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.91, p.2757-2761, 1994.

MACHUGH, D.E.; SHRIVER, M.D.; LOFTUS, R.T. et al. Microsatellite DNA Variation and the Evolution, Domestication and Phylogeography of Taurine and Zebu Cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). **Genetics**, v.146, p.1071-1086, 1997.

MARSHALL, D.M. Breed differences and genetic parameters for body composition traits in beef cattle. **J. Anim. Sci.**, v.72, p.2745–2755, 1994.

MARVANOVA, M.; MENAGER, J.; BEZARD, E. et al. Microarray analysis of non-human primates: validation of experimental models in neurological disorders. **FASEB J.**, v.17, p.929–931, 2003.

MILLER, N.A.; GONG, Q.; BRYAN, R. et al. Cross-hybridization of closely related genes on high-density macroarrays. **Biotechniques**, v.32, p.620-625, 2002.

MIRETTI, M.M.; PEREIRA JR., H.A.; POLI, M.A. et al. African-Derived Mitochondria in South American Native Cattle Breeds (*Bos taurus*):Evidence of a New Taurine Mitochondrial Lineage. **The American Genetic Association**, v.93, p.323–330, 2002.

MOODY, D.E.; ZOU, Z.; MCINTYRE, L. Cross-species hybridisation of pig RNA to human nylon microarrays. **BMC Genomics**, v.3, artigo 27, 2002.

NAGPAL, S.; KARAMAN, M.W.; TIMMERMAN, M.M. et al. Improving the sensitivity and specificity of gene expression analysis in highly related organisms through the use of electronic masks. **Nucleic Acids Research**, v.32, e51, 2004.

NRC. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. updated 7. ed. Washington, DC: National Academy Press, 2000.

NUZHIDIN, S.V.; WAYNE, M.L.; HARMON, K.L. et al. Common Pattern of Evolution of Gene Expression Level and Protein Sequence in *Drosophila*. **Mol. Biol. Evol.**, v.21, p.1308–1317, 2004.

OLLIER, S.; ROBERT-GRANIÉ, C.; BERNARD, L. et al. Mammary Transcriptome Analysis of Food-Deprived Lactating Goats Highlights Genes Involved in Milk Secretion and Programmed Cell Death. **Journal of Nutrition**, v.137, p.560–567, 2007.

PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A. et al. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, p.667–681, 1998.

- PIPER, E.K.; JACKSON, L.A.; BAGNALL, N.H. et al. Gene expression in the skin of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle infested with the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.126, p.110-119, 2008.
- POOLE, R.; BARKER, G.L.; WILSON, I.D. et al. Measuring global gene expression in polyploidy; a cautionary note from allohexaploid wheat. **Functional and Integrative Genomics**, v.7, p.207–219, 2007.
- PRADO, I.N.; PRADO, R.M.; ROTTA, P.P. et al. Carcass characteristics and chemical composition of the *Longissimus* muscle of crossbred bulls (*Bos taurus indicus* vs *Bos taurus taurus*) finished in feedlot. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.17, p.295–306, 2008.
- RENN, S.C.; AUBIN-HORTH, N.; HOFMANN, H.A. Biologically meaningful expression profiling across species using heterologous hybridization to a cDNA microarray. **BMC Genomics**, v.5, artigo 42, 2004.
- REVERTER, A., BYRNE, K.A., BRUCE, H.L. et al. A mixture model-based cluster analysis of DNA microarray gene expression data on Brahman and Brahman composite steers fed high-, medium-, and low-quality diets. **J. Anim. Sci.**, v.81, p.1900-1910, 2003.
- RIFKIN, S.A.; KIM, J.; WHITE, K.P. Evolution of gene expression in the *Drosophila melanogaster* subgroup. **Nature Genet.**, v.33, p.138-144, 2003.
- ROCHA, A.; RANDEL, R.D.; BROUSSARD, J.R. et al., High environmental temperature and humidity decrease oocyte quality in *Bos taurus* but not in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.49, p.657–665, 1998.
- SACHSE, C.; BROCKMOLLER, J.; BAUER, S. et al. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. **Am. J. Hum. Genet.**, v.60, p.284-295, 1997.
- SEIF, S.M.; JOHNSON, H.D.; LIPPINCOTT, A.C. The effects of heat exposure (31 °C) on Zebu and Scottish Highland cattle. **Int. J. Biometeorol.**, v.23, p.9–14, 1979.

SKINNER, J.D.; LOUW, G.N. Heat stress and spermatogenesis in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **J. Appl. Physiol.**, v.21, p.1784–1790, 1966.

TAUTZ, D. Evolution of transcriptional regulation. **Current Opinion in Genetics & Development**, v.10, p.575–579, 2000.

VONTAS, J.; DAVID, J.-P.; NIKOU, D. Transcriptional analysis of insecticide resistance in *Anopheles stephensi* using cross-species microarray hybridization. **Insect Molecular Biology**, v.16, p.315-324, 2007.

WANG, Y.-H.; BYRNE, K.A.; REVERTER, A. et al. Transcriptional profiling of skeletal muscle tissue from two breeds of cattle. **Mammalian Genome**, v.16, p.201–210, 2005.

ZAKHARKIN, S.O.; KIM, K.; MEHTA, T. et al. Sources of variation in Affymetrix microarray experiments. **BMC Bioinformatics**, v.6, artigo 214, 2005.

CAPÍTULO 3 – EFEITO DE DIETAS COM ALTO E BAIXO NÍVEL DE ENERGIA NA EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL NO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE BOVINOS DAS RAÇAS NELORE (zebuínos) E ABERDEEN ANGUS (taurinos)

RESUMO – Diversos fatores influenciam o desenvolvimento pós-natal do músculo esquelético, dentre os quais a nutrição. A restrição alimentar é capaz de modificar características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas do músculo, e assim, a qualidade da carne. O objetivo deste trabalho foi comparar a expressão gênica diferencial no músculo LD de animais NEL e ANG alimentados com dietas com baixo e alto nível energético. Dezesesseis animais (8 NEL e 8 ANG) foram divididos em duas baias, onde receberam uma dieta BE por 28 dias e na sequência alimentados com dietas AE pelo mesmo período. Ao final de cada período, foram coletadas amostras do músculo LD, das quais foram extraídos o RNA total para os estudos de expressão gênica através da técnica de microarranjos. Foram identificados 546 genes DE ($FDR < 0,05$ e $B > 0$) para animais ANG e 440 para animais NEL. Foi realizada a análise funcional para esses conjuntos de genes, e foi possível observar diferenças nas categorias funcionais mais representativas entre as raças entre as dietas. A dieta AE estimula de forma mais acentuada a expressão de genes envolvidos no crescimento e desenvolvimento muscular em animais ANG, enquanto a dieta BE estimula de forma mais acentuada a expressão de genes que codificam proteínas relacionadas à captação de nutrientes endógenos na raça NEL. Os resultados encontrados no presente trabalho indicam que o nível nutricional da dieta afeta de maneira diferente a expressão gênica no músculo LD de taurinos e zebuínos.

Palavras-Chave: expressão gênica, *Longissimus dorsi*, microarranjo, nível energético, taurinos, zebuínos

1. INTRODUÇÃO

Diversos fatores influenciam o desenvolvimento pós-natal do músculo esquelético, dentre os quais a atividade física, a condição endócrina e a nutrição. Estudos realizados em diferentes espécies têm mostrado que a restrição alimentar é capaz de modificar características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas do músculo, e conseqüentemente, a qualidade da carne (GONDRET et al., 2000).

Contudo, o genótipo do animal exerce grande influência nas respostas à restrição alimentar, influenciando na eficiência alimentar, na síntese e degradação de proteínas, nas taxas de crescimento dos tecidos (FERRELL & JENKINS, 1998) e na deposição de gordura na carcaça de bovinos (OWENS et al., 1993).

Alguns pesquisadores têm sugerido que animais das raças zebuínas utilizam mais eficientemente dietas à base de forragem de baixa qualidade do que as taurinas (ASHTON, 1962; KAURUE et al., 1972). No entanto, o melhor desempenho dos zebuínos em situações nutricionalmente restritivas, quando comparados aos taurinos, pode ser fruto de um menor requerimento de manutenção (FRISCH & VERCOE, 1977; HOTOVY et al., 1991), ou ainda resultante de uma maior ingestão de matéria seca em relação às exigências de manutenção e não propriamente de uma melhor utilização de dietas de baixa qualidade (FERRELL et al., 2006).

Por outro lado, quando alimentados com volumosos de alta qualidade (MORAN, 1976) ou dietas mistas com volumoso e concentrado (LEDGER et al., 1970; O'DONOVAN et al., 1978) os taurinos consomem maiores quantidades de alimento em relação aos seus requerimentos de manutenção, ganham peso mais rápido e são mais eficientes que animais zebuínos. Neste sentido, BEAVER e colaboradores (1989) relataram que novilhos Angus consumiram mais alimento e ganharam peso mais rápido do que novilhos Brangus, no entanto, apresentaram digestibilidade da dieta e eficiência alimentar similares quando alimentados em dietas contendo elevado nível de concentrado.

Estas diferenças fenotípicas podem estar parcialmente associadas à existência de padrões de expressão gênica diferenciados na musculatura esquelética destes dois

grupos de bovinos. Assim, utilizando a técnica de microarranjos para estudar os efeitos de diferentes níveis nutricionais (alto, médio e baixo) sobre a expressão gênica no músculo de zebuínos e seus mestiços com taurinos, REVERTER e colaboradores (2003) encontraram três grupos gênicos, dois dos quais contendo mais de 94% dos genes com níveis de expressão quase inalterados. Os autores identificaram ainda, para o contraste de alto nível nutricional x baixo nível nutricional, 27 genes DE, cujas funções não foram informadas.

BYRNE e colaboradores (2005), estudando o efeito da restrição nutricional no músculo esquelético bovino por meio da mesma tecnologia, encontraram 57 genes DE (29 induzidos e 28 reprimidos) entre as dietas formuladas para perda e ganho de peso, respectivamente, muitos dos quais relacionados ao mecanismo de “turnover” protéico e ao metabolismo do citoesqueleto. Já LEHNERT e colaboradores (2006) mensuraram as mudanças globais no perfil de expressão gênica do músculo *Longissimus dorsi* durante a perda de peso e subsequente realimentação em bovinos e relataram que as mudanças na expressão gênica mostraram uma repressão na expressão dos genes relacionados às fibras de contração rápida, com uma atrofia preferencial das fibras glicolíticas de contração rápida.

Desta forma, parece claro que, além do genótipo, as influências nutricionais, bem como seu efeito na expressão gênica, exercem um importante papel no desempenho e utilização dos nutrientes e, por conseguinte, no crescimento animal.

Assim, o objetivo deste trabalho foi comparar a expressão gênica diferencial no músculo LD de animais zebuínos (NEL) e taurinos (ANG) alimentados com dietas com baixo e alto nível energético.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Vide item Metodologia Aplicada na página 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a reprodutibilidade dos fluoróforos Alexa 647 e Alexa 555 e a variabilidade nas hibridações foram calculados coeficientes de correlação para cada canal de leitura usando os resultados de intensidade média para todas as lâminas hibridadas em cada raça. A Figura 1 mostra o gráfico da intensidade média de cada *spot* em cada canal de leitura, bem como seus coeficientes de correlação. Como pode ser observado nessa figura, os altos coeficientes de correlação ($R^2 > 0,96$) indicam que as hibridações foram altamente reprodutíveis.

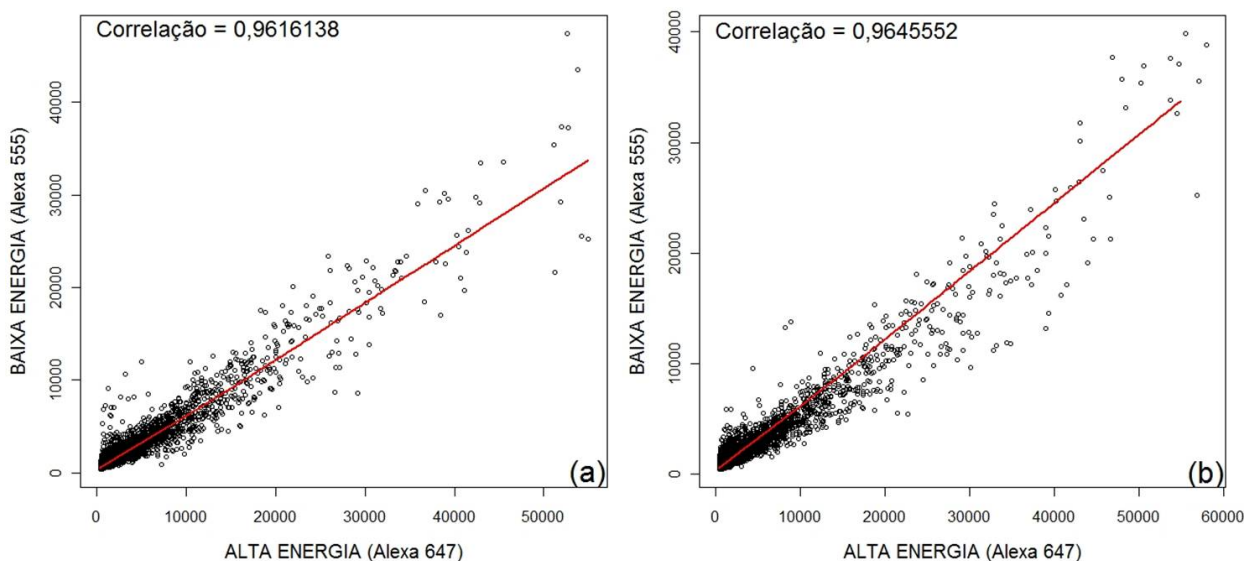


Figura 1. Gráfico da intensidade de fluorescência média de cada *spot* na hibridação competitiva de amostras do músculo LD de animais ANG (a) e NEL (b) e seus coeficientes de correlação. Para cada *spot*, a intensidade média de fluorescência é representada no eixo vertical para amostras oriundas das biópsias de animais alimentados com a dieta BE (marcadas com Alexa 555) e no eixo horizontal para amostras oriundas das biópsias de animais alimentados com a dieta AE (marcadas com Alexa 647).

Dos 10.179 genes representados no microarranjo BLO+, a expressão de 546 (5,36%) e 440 (4,32%) genes diferiu pelo critério $FDR < 0,05$ e $B > 0$ entre as dietas estudadas para animais ANG e NEL, respectivamente.

As listas de genes DE em cada dieta experimental para animais ANG e NEL, selecionados pelo critério adotado estão apresentadas nos Apêndice 1A, Apêndice 2A, Apêndice 3A, Apêndice 4A.

Para os animais ANG, foram identificados 327 genes que tiveram a expressão induzida pela dieta BE, comparados com apenas 219 genes na dieta AE. Já para animais NEL, foram identificados 268 genes induzidos pela dieta BE contra somente 172 na dieta AE (Figura 2). Através dessa Figura verifica-se, que, proporcionalmente, na dieta AE foi observado um menor número de genes DE em comum entre as raças (Figura 2 (b)), indicando que taurinos e zebuínos diferem na resposta a esse tipo de alimentação.

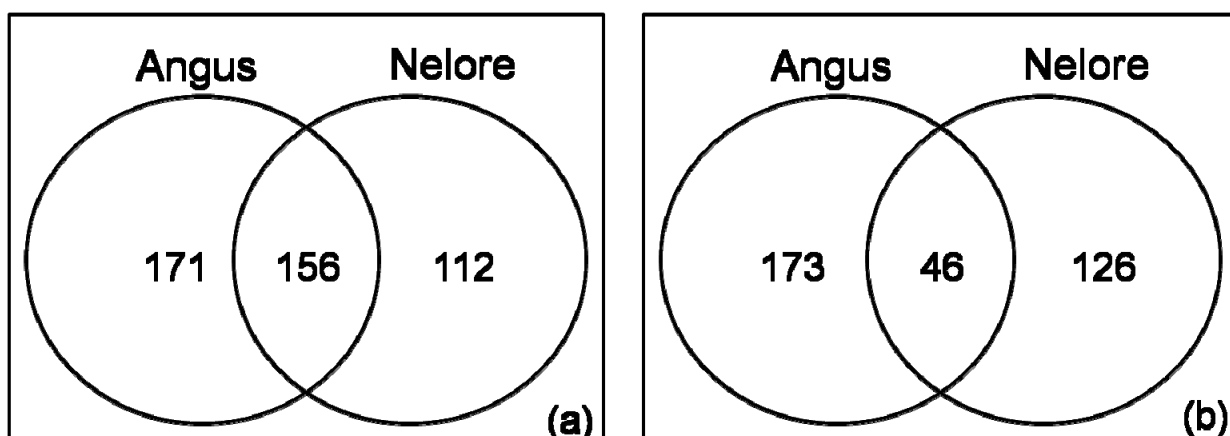


Figura 2. Interseção das listas de genes DE. As áreas de interseções mostram o total de genes DE em comum entre as raças, enquanto que o número apresentado em Angus e Nelore mostram o total de genes DE exclusivos para cada raça. (a) genes mais expressos na dieta BE; (b) genes mais expressos na dieta AE.

Para analisar o perfil da expressão gênica no músculo LD para cada dieta, os genes DE foram classificados em categorias funcionais, processos biológicos e funções moleculares, usando a ferramenta de Bioinformática Onto-Express. As categorias funcionais mais representativas ($P < 0,05$) para animais ANG e NEL estão apresentadas nas Tabelas 1 até 4, nas quais foram incluídos somente os genes com frequência ≥ 2 .

Tabela 1. Lista das principais categorias funcionais (processos biológicos) para animais da raça Angus.

Alta Energia					
GO ID	Categoria Funcional	Genes DE ¹	Total Genes ²	%	P-Value
GO:0006955	resposta imune	7	113	6,19	0,01702
GO:0006412	Tradução	7	103	6,80	0,01061
GO:0007399	desenvolvimento do sistema nervoso	6	70	8,57	0,0059
GO:0045944	regulação positiva da transcrição do promotor da RNA polimerase II	5	50	10,00	0,00615
GO:0045941	regulação positiva da transcrição	5	25	20,00	2,48E-04
GO:0006950	resposta ao estresse	4	40	10,00	0,01401
GO:0007507	desenvolvimento do coração	3	34	8,82	0,04495
GO:0007050	interrupção do ciclo celular	3	32	9,38	0,03855
GO:0007243	cascata da proteína quinase	3	28	10,71	0,02725
GO:0006816	transporte do íon cálcio	3	25	12,00	0,02014
GO:0001666	resposta à hipoxia	3	22	13,64	0,01419
GO:0007265	transdução do sinal da proteína Ras	3	18	16,67	0,00806
GO:0008202	processo metabólico de esteróides	2	15	13,33	0,04726
GO:0000082	transição do ciclo mitótico celular G1/S	2	14	14,29	0,04159
GO:0016337	adesão célula-célula	2	13	15,38	0,0362
GO:0030198	biogênese e organização da matrix extracelular	2	12	16,67	0,0311
GO:0018108	fosforilação tirosina-peptidil	2	9	22,22	0,01777
GO:0001568	desenvolvimento de vasos sanguíneos	2	7	28,57	0,01069
GO:0007015	organização dos filamentos de actina	2	5	40,00	0,00525
GO:0043525	regulação positiva da apoptose neural	2	5	40,00	0,00525
GO:0010224	resposta a raios ultra-violeta	2	4	50,00	0,0032
GO:0001942	desenvolvimento do folículo capilar	2	4	50,00	0,0032
GO:0001974	remodelagem dos vasos sanguíneos	2	4	50,00	0,0032
GO:0034097	resposta a estímulo de citocina	2	3	66,67	0,00163
Baixa Energia					
GO ID	Categoria Funcional	Genes DE ¹	Total Genes ²	%	P-Value
GO:0006364	processamento do rRNA	3	20	15,00	0,033218
GO:0009968	regulação negativa do sinal de transdução	3	14	21,43	0,012424
GO:0000226	biogênese e organização dos microtúbulos do citoesqueleto	3	8	37,50	0,002243
GO:0007179	via de sinalização do receptor TGF beta	2	10	20,00	0,04778
GO:0007626	comportamento de locomoção	2	9	22,22	0,039135
GO:0006890	transporte retrógrado mediado pela vesícula do Golgi para o retículo endoplasmático	2	9	22,22	0,039135
GO:0007126	Meiose	2	9	22,22	0,039135
GO:0008277	regulação da via de sinalização do receptor ligado à proteína G	2	8	25,00	0,031167
GO:0030855	diferenciação celular do epitélio	2	6	33,33	0,017508

GO:0031047	silenciamento gênico pelo RNA	2	4	50,00	0,007346
GO:0006071	processo metabólico do glicerol	2	4	50,00	0,007346
GO:0051881	Regulação do potencial da membrana mitocondrial	2	4	50,00	0,007346

¹ Total de genes diferencialmente expressos correspondendo a categoria funcional.

² Total de genes representados no microarranjo correspondendo a categoria funcional.

Tabela 2. Lista das principais categorias funcionais (função molecular) para animais da raça Angus.

Alta Energia					
GO ID	Categoria Funcional	Genes DE ¹	Total Genes ²	%	P-Value
GO:0005515	ligação de proteínas	47	1501	3,13	0,020751042
GO:0005509	ligação de íons cálcio	13	281	4,63	0,015218143
GO:0003735	constituente estrutural do ribossomos	8	82	9,76	6,55E-04
GO:0005198	atividade estrutural de moléculas	6	68	8,82	0,005122546
GO:0016563	atividade de ativação da transcrição	4	37	10,81	0,010690019
GO:0005125	atividade de citocinas	4	34	11,76	0,007927551
GO:0008009	atividade de quimoquinas	3	23	13,04	0,016045626
GO:0004715	atividade de proteína tirosina-quinase no citoplasma	2	15	13,33	0,047258185
GO:0004707	atividade MAP quinase	2	14	14,29	0,041587981
GO:0047485	ligação no N-terminal de proteínas	2	12	16,67	0,03110198
GO:0005245	atividade do canal de cálcio ativado pelo potencial elétrico	2	9	22,22	0,017767365
GO:0004289	atividade subtilase	2	8	25,00	0,014034507
GO:0005262	Atividade do canal de cálcio	2	7	28,57	0,010690307
Baixa Energia					
GO ID	Categoria funcional	Genes DE ¹	Total Genes ²	%	P-Value
GO:0003676	ligação de ácidos nucleicos	10	145	6,90	0,035700446
GO:0005506	ligação de íons ferro	8	92	8,70	0,017227142
GO:0009055	Atividade carregadora de elétrons	7	77	9,09	0,02019298
GO:0008415	Atividade aciltransferase	7	48	14,58	0,001491118
GO:0016829	Atividade liase	4	38	10,53	0,046140476
GO:0005529	Ligação de açúcares	4	34	11,76	0,032376089
GO:0004386	Atividade helicase	3	17	17,65	0,021440133
GO:0005200	Constituinte estrutural do citoesqueleto	2	9	22,22	0,039135379
GO:0031418	Ligação do ácido ascórbico	2	8	25,00	0,031166587

¹ Total de genes diferencialmente expressos correspondendo a categoria funcional

² Total de genes representados no microarranjo correspondendo a categoria funcional

Tabela 3. Lista das principais categorias funcionais (processos biológicos) para animais da raça Nelore.

Alta Energia					
GO ID	Categoria funcional	Genes DE ¹	Total Genes ²	%	P-Value
GO:0006955	resposta imune	6	113	5,31	0,014175284
GO:0006412	Tradução	6	103	5,83	0,0092406
GO:0007399	desenvolvimento do sistema nervoso	6	70	8,57	0,00135547
GO:0030154	diferenciação celular	5	111	4,50	0,0449202
GO:0006357	regulação da transcrição do promotor da RNA polimerase II	4	50	8,00	0,011116025
GO:0045944	regulação positiva da transcrição do promotor da RNA polimerase II	4	50	8,00	0,011116025
GO:0019221	via de sinalização mediada por citocinas e quimoquinas	4	16	25,00	1,39E-04
GO:0050896	resposta a estímulos	3	30	10,00	0,015085106
GO:0007605	percepção sensorial de sons	3	25	12,00	0,00910595
GO:0030183	diferenciação de células B	2	7	28,57	0,006027565
GO:0006730	processo metabólico de compostos contendo um carbono	2	7	28,57	0,006027565
GO:0001836	liberação do citocromo c pela mitocôndria	2	6	33,33	0,004355273
GO:0009396	processo biossintético do ácido fólico e seus derivados	2	5	40,00	0,002937194
GO:0001889	desenvolvimento do fígado	2	5	40,00	0,002937194
GO:0050729	regulação positiva da resposta inflamatória	2	4	50,00	0,001782787
Baixa Energia					
GO ID	Function Name	Genes DE ¹	Total Genes ²	%	P-Value
GO:0044419	interação inter-espécies entre organismos	5	47	10,64	0,012248034
GO:0045893	regulação positiva da transcrição DNA-dependente	3	28	10,71	0,048912245
GO:0030324	desenvolvimento pulmonar	3	11	27,27	0,003562822
GO:0007179	via de sinalização do receptor TGF beta	3	10	30,00	0,002648803
GO:0006468	fosforilação de aminoácidos e proteínas	2	251	0,80	0,018684499
GO:0006914	Autofagia	2	10	20,00	0,033679587
GO:0008624	indução da apoptose por sinais extracelulares	2	8	25,00	0,021789442
GO:0050679	regulação positiva da proliferação celular epitelial	2	6	33,33	0,012139451
GO:0006071	processo metabólico do glicerol	2	4	50,00	0,005050843
GO:0006968	resposta da defesa celular	2	4	50,00	0,005050843

¹ Total de genes diferencialmente expressos correspondendo a categoria funcional² Total de genes representados no microarranjo correspondendo a categoria funcional

Tabela 4. Lista das principais categorias funcionais (funções moleculares) para animais da raça Nelore.

Alta Energia					
GO ID	Categoria Funcional	Genes DE ¹	Total Genes ²	%	P-Value
GO:0005515	ligação de proteínas	40	1501	2,66	0,003170805
GO:0005509	ligação do íon cálcio	12	281	4,27	0,003751403
GO:0004872	atividade receptora	12	273	4,40	0,00296841
GO:0003700	atividade de fatores de transcrição	11	254	4,33	0,004920083
GO:0003735	constituente estrutural de ribossomos	7	82	8,54	5,55E-04
GO:0043565	ligação de sequência específica de DNA	6	146	4,11	0,042800924
GO:0004672	atividade de proteína quinase	4	47	8,51	0,008962721
GO:0003746	tradução de fatores de alongamento	2	9	22,22	0,01009818
Baixa Energia					
GO ID	Categoria Funcional	Genes DE ¹	Total Genes ²	%	P-Value
GO:0016787	atividade hidrolase	14	275	5,09	0,034211861
GO:0000166	ligação de nucleotídeos	12	646	1,86	0,047837316
GO:0004386	atividade helicase	5	17	29,41	1,02E-04
GO:0016829	atividade liase	4	38	10,53	0,025289672
GO:0047485	ligação com o N-terminal de proteínas	2	12	16,67	0,047517207
GO:0004402	atividade histona-acetiltransferase	2	8	25,00	0,021789442
GO:0016407	atividade acetiltransferase	2	6	33,33	0,012139451

¹ Total de genes diferencialmente expressos correspondendo a categoria funcional

² Total de genes representados no microarranjo correspondendo a categoria funcional

Os resultados obtidos revelaram que os animais de ambas as raças quando alimentados com a dieta AE apresentaram um número elevado de genes que codificam proteínas envolvidas na regulação do processo de transcrição, tradução e regulação da transcrição do promotor da RNA polimerase II (Tabela 1 e 3) e atividade do fator de transcrição (Tabela 4). Em animais ANG, a dieta BE influenciou genes que codificam proteínas envolvidas no processamento do rRNA, regulação negativa dos sinais de transdução e silenciamento gênico pelo RNA (Tabela 1). Por outro lado, animais NEL arraçoados com esta mesma dieta, apresentaram genes DE relacionados com a regulação positiva da transcrição DNA-dependente (Tabela 3).

Tais resultados estão dentro do esperado, uma vez que genes relacionados com a tradução e transcrição são mais expressos em animais que receberam a dieta AE, devido ao maior aporte de nutrientes fornecido por essa dieta, principalmente aminoácidos e energia. Aminoácidos atuam regulando múltiplos processos relacionados

à expressão gênica, incluindo modulação da função de proteínas que mediam a tradução do mRNA, as funções de iniciação da tradução e de alongamento da cadeia protéica, causando mudanças preferenciais na tradução de mRNAs que codificam proteínas particulares ou famílias de proteínas (KIMBALL & JEFFERSON, 2006).

Animais ANG e NEL alimentados com a dieta AE também apresentaram maior número de genes envolvidos na resposta imune (Tabela 1 e 1), sendo que os indivíduos ANG apresentaram maior expressão de genes ligados à resposta a estímulos por citocinas, enquanto os NEL apresentaram maior número de genes ligados à diferenciação de células B e regulação positiva à resposta inflamatória.

Sabe-se que a nutrição tem um papel determinante na resposta imune. Dados clínicos e epidemiológicos sugerem que deficiências nutricionais alteram a imunocompetência e aumentam o risco de infecções (CHANDRA, 2004).

Os animais têm requerimentos de energia, aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis, além de micro e macrominerais para crescimento e para se manterem saudáveis. Quando a disponibilidade de qualquer um desses nutrientes é limitada, sintomas de deficiência ocorrem mais rapidamente em tecidos com altas taxas de síntese protéica ou atividade metabólica, como é o caso do músculo esquelético. O sistema imune é particularmente sensível à deficiência nutricional, uma vez que qualquer resposta imune carece de uma rápida síntese protéica nas células imunes e seus produtos. A deficiência de vitaminas e microminerais afetam, direta ou indiretamente, a síntese dessas proteínas. Vitaminas A e D regulam a resposta imune e atuam como antioxidantes protegendo as células do sistema imune. Comparado com outros sistemas no organismo, o sistema imune tem especificamente altos requerimentos para nutrientes oxidantes (vitaminas A e E), no entanto, esses nutrientes são rapidamente consumidos quando animais estão sob situações de estresse. Além disso, vários microminerais como Zn, Cu, Cr e Se possuem efeitos potenciais na função imune (GALYEAN et al., 1999). Isto posto, seria esperado que após a realimentação com dieta AE houvesse um aumento na expressão de genes relacionados com o sistema imunológico.

Outras categorias que estão representadas tanto em animais ANG como NEL alimentados com a dieta AE são aquelas relacionadas com o desenvolvimento de órgãos, sendo que animais ANG apresentaram genes envolvidos no desenvolvimento do coração, bem como no desenvolvimento e remodelagem dos vasos sanguíneos (Tabela 1), enquanto que animais NEL apresentaram genes envolvidos no desenvolvimento do fígado (Tabela 3).

Em vários experimentos com suínos, ratos e ovinos, verificou-se que uma diminuição na qualidade nutricional resultou na diminuição do tamanho relativo de órgãos viscerais como fígado, rim, estômago e intestinos (KOONG et al. 1982; FERRELL & KOONG, 1986; FERRELL et al. 1986). A restrição nutricional diminui a atividade metabólica do fígado, afetando primeiramente seu tamanho, sugerindo que a diminuição na proporção dos órgãos viscerais metabolicamente ativos está envolvida na redução dos gastos de energia total durante a adaptação à restrição alimentar (BURRIN et al., 1990). Embora os órgãos viscerais representem aproximadamente 6-10% do PV, consomem cerca de 50% da energia destinada para manutenção, enquanto os músculos, embora apresentem maior massa no corpo vazio dos animais, consomem apenas 23% do total da energia para manutenção (CATON & DHUYVETTER, 1997).

SAINZ & BENTLEY (1997) alimentaram novilhos em duas fases (crescimento e terminação) em condições de restrição alimentar qualitativa e quantitativa para comparar os efeitos das dietas e dos níveis de ingestão no crescimento e composição celular de órgãos viscerais. Esses autores verificaram que as dietas com restrição quantitativa e qualitativa promoveram um menor crescimento do fígado, da ordem de 25 e 15%, respectivamente, quando comparadas com a dieta de alto teor de concentrado fornecida *ad libitum*. No mesmo trabalho, foi verificada uma diminuição do peso do coração dos animais que sofreram restrição quantitativa na fase de crescimento.

No mesmo sentido, BURRIN e colaboradores (1990) alimentaram cordeiros cruzados com uma dieta *ad libitum* (12,8 MJ/Kg de EM) ou com uma dieta restrita a manter o PV por um período de 21 dias e verificaram um incremento de 10-33% no peso do fígado, estômago e intestino delgado em cordeiros alimentados com a dieta *ad libitum*. Já VÉRAS e colaboradores (2001) avaliaram o efeito de cinco níveis de

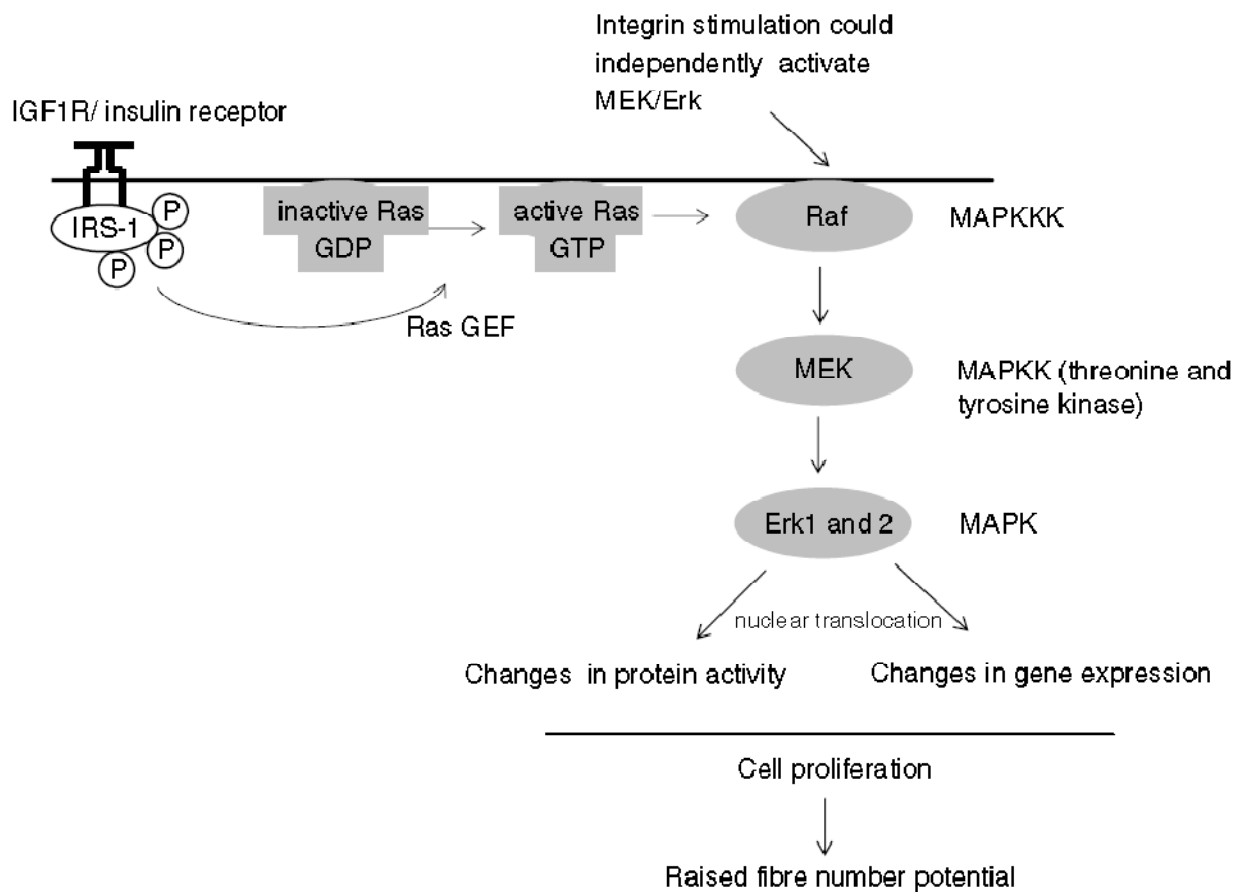
concentrado na dieta (25,0; 37,5; 50,0; 62,5; e 75,0%) sobre o conteúdo do trato gastrointestinal e o peso dos órgãos internos e dos compartimentos gastrintestinais de bovinos Nelore inteiros, e mostraram que os pesos, tanto absolutos, quanto relativos, do fígado, dos rins e do baço aumentaram linearmente, em função dos níveis de concentrado nas dietas.

A dieta AE também influenciou genes que codificam proteínas envolvidas no desenvolvimento do sistema nervoso em animais NEL e ANG. CRAVIOTO e colaboradores (1966) sugeriram que a deficiência protéica causada pela subnutrição pode causar lesões estruturais no sistema nervoso central. Animais experimentalmente subnutridos são atrasados em alcançar simples estágios de desenvolvimento, apresentam aprendizado mais lento e parecem apresentar respostas menos adequadas aos efeitos ambientais.

Algumas das principais categorias funcionais estão ligadas a hipertrofia e diferenciação muscular (Tabela 1). Animais ANG tiveram uma expressão maior de genes que codificam proteínas relacionadas com o processo metabólico de esteróides quando alimentados com a dieta AE em relação à dieta BE. A testosterona é um importante hormônio masculino cujos efeitos na composição corporal são o aumento da massa muscular e a redução da gordura (KUTSCHER et al., 2002). A administração de testosterona está associada com a hipertrofia muscular e aumento do número de células satélite em humanos e alguns animais (SINHA-HIKIM et al., 2003; CHEN et al., 2005). Esteróides anabólicos têm sido amplamente usados na indústria de carne norte-americana desde a segunda metade do século passado como promotores de crescimento, com o objetivo de melhorar a eficiência na produção de carne (NICHOLS et al., 2002). Concomitante ao aumento da síntese protéica, o uso de implantes de esteróides promove a diminuição da concentração de uréia plasmática, indicando a ocorrência de um declínio na quebra/degradação das proteínas e/ou aminoácidos do organismo (WILSON et al., 2008). No entanto, os mecanismos de sinalização induzidos pelos esteróides que regulam a massa muscular ainda são pouco conhecidos (CHEN et al., 2005).

Categorias funcionais relacionadas com as cascatas de proteínas quinase, sinal de transdução da proteína Ras (Tabela 1) e atividade quinase MAP (Tabela 2) estão envolvidas na hipertrofia e diferenciação muscular através de duas importantes vias de sinalização ativadas pelo IGF-I, bem como insulina e IGF-II.

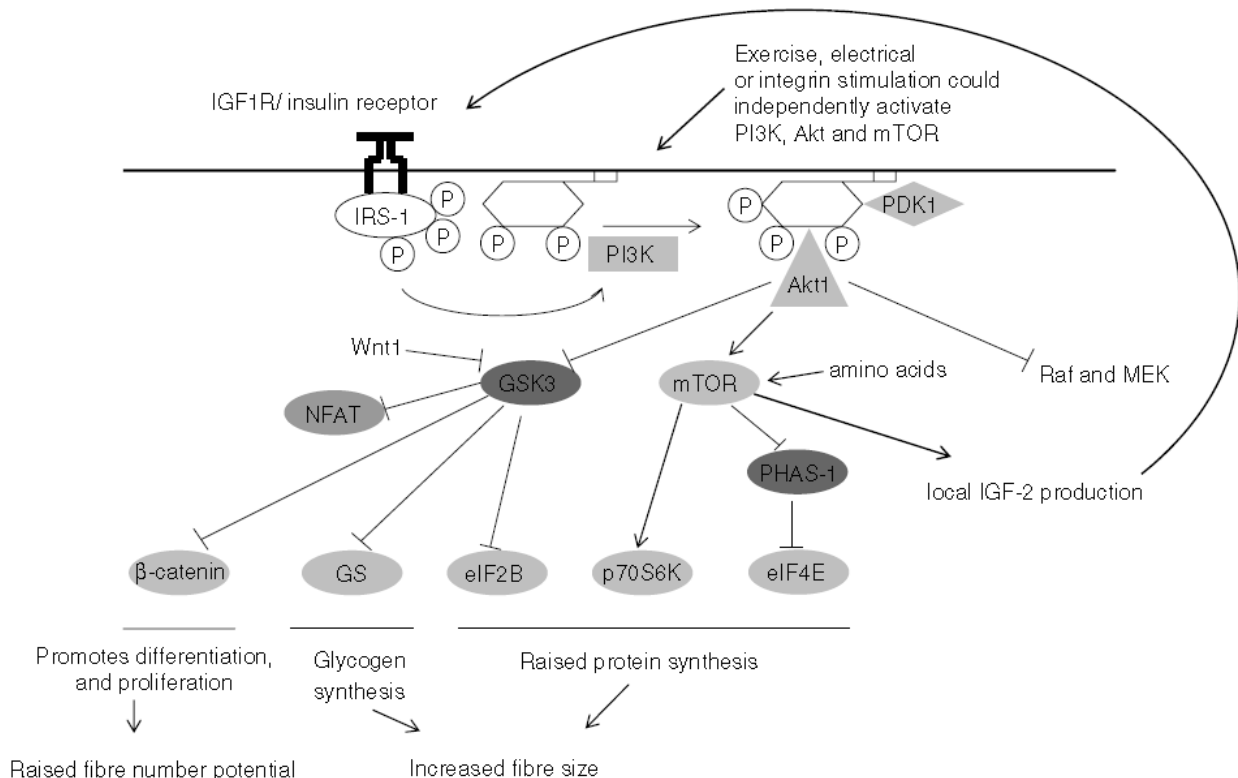
A via da proteína quinase ativada por mitógeno (Erk-MAPK), através da proteína Ras, é responsável pela proliferação celular e desempenha uma função importante no crescimento hiperplástico (ROMMEL et al., 1999; GLASS, 2003a) (Figura 3). IGF-I, IGF-II ou insulina se ligam ao receptor tirosina quinase que inicia uma cascata de fosforilações que levam a mudanças transcricionais e proteicas, culminando na proliferação celular. Integrinas também podem ativar a via Erk-MAPK independente da ligação no receptor tirosina quinase.



Fonte: Chang (2007).

Figura 3. Via de sinalização induzida pelo IGF-I Erk-MAPK da hiperplasia.

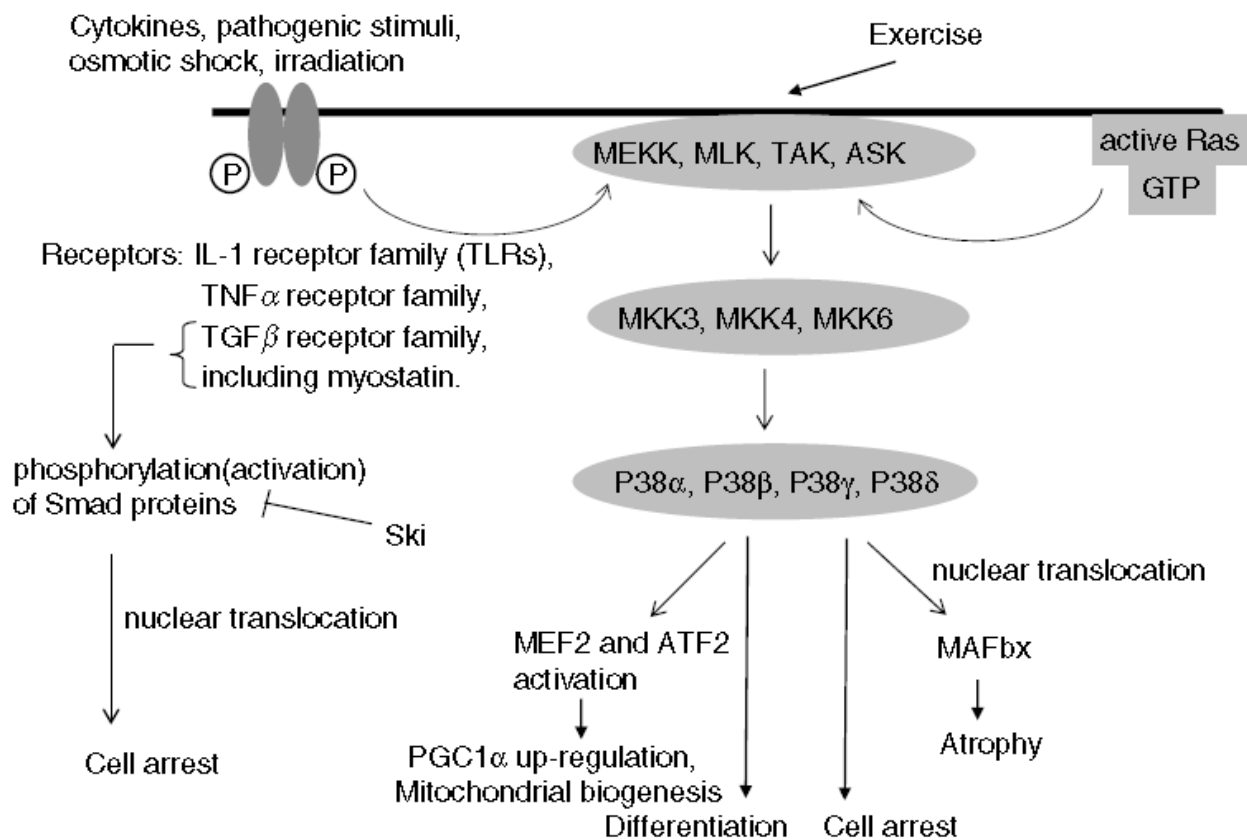
As proteínas quinases ativam a via fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)-Akt1, que é amplamente considerada como a rota primária para a hipertrofia e diferenciação celular no músculo esquelético (GLASS, 2003b; VOLLENWEIDER, 2003) (Figura 4). A via afeta diversos processos celulares, incluindo a promoção da síntese protéica, síntese do glicogênio e a diferenciação e proliferação celular, que culmina na hipertrofia celular. mTOR pode ser ativado por aminoácidos (nutrientes) e induzir uma produção local de IGF-II que, por sua vez, atua como feedback positivo. A cascata PI3K pode ser independentemente ativada por exercícios ou integrinas. Akt1 ativado, inibindo a fosforilação da Raf e MEK, está envolvido numa comunicação inibitória da via Erk-MAPK.



Fonte: Chang (2007).

Figura 4. Via de sinalização induzida pelo IGF-I PI3K-Akt1 da diferenciação e hiperplasia muscular. Abreviações: PI3K = fosfatidilinositol 3-quinase; PDK1 = proteína quinase 1 fosfatidilinositol - dependente; GSK3β = glicogênio sintase quinase 3 β; mTOR = proteína alvo da rapamicina em mamíferos; GS = glicogênio sintase; p70S6K = proteína ribossomal S6 quinase.

Outra importante via de sinalização no desenvolvimento muscular é a p38 MAP quinase, que representa outra via de transdução de sinais MAPK e é ativada por estresse celular (choque térmico (HSPA8), estresse oxidativo e certas citocinas), bem como a insulina (LEE et al., 2002). A sinalização da p38 MAPK tem sido considerada essencial na diferenciação terminal, ou seja, na fusão de mioblastos em miotubos (CABANE et al., 2003). Essa proteína também tem a função de inibir a via Erk-MAPK induzindo a interrupção do ciclo celular durante a diferenciação celular (LEE et al., 2002). Desse modo, a natureza do estímulo da p38 MAPK resultará em diferentes fenótipos, como interrupção celular, atrofia, diferenciação terminal e aumento da capacidade oxidativa que podem ser resultados dessa via (Figura 5).



Fonte: Chang (2007).

Figura 5. Via de sinalização p38 MAPK induzida pelo estresse da interrupção celular e atrofia muscular. Abreviações: IL-1 = interleucina 1; TLRs = receptor do tipo Toll; TNFα = fator α de necrose tumoral; TAK = TGFβ ativado por quinase.

As categorias cascata da proteína quinase, transdução de sinal da proteína Ras e resposta a estímulo de citocinas (Tabela 1), além de atividade de citocinas e atividade MAP quinase (Tabela 2) estiveram mais representadas nos animais ANG arraçados com a dieta AE, indicando que a via foi influenciada por essa dieta. No entanto, parece que o estímulo por citocinas, juntamente com a ação da proteína Ras, induziram tanto a diferenciação terminal como a interrupção do ciclo celular, uma vez que ambas as categorias estiveram representadas nesse tratamento.

Essa via também parece estar ativa em animais NEL alimentados com a dieta AE, que também apresentaram as categorias de sinalização mediada por citocinas e quimoquinas (Tabela 3) e atividade proteína quinase (Tabela 4), que atuam nesta via de sinalização. Entretanto, parece que na raça NEL, ocorre apenas a via da diferenciação celular, não havendo evidências de que possa ocorrer a interrupção do ciclo celular.

A via de sinalização do TGF β está representada tanto em animais ANG quanto NEL (Tabela 1 e 3) alimentados com a dieta de BE, demonstrando que essa dieta causa a interrupção do ciclo celular e até mesmo atrofia no músculo através da via p38 MAPK.

De acordo com BYRNE e colaboradores (2005), a restrição alimentar, juntamente com a atrofia muscular, pode induzir uma remodelagem do citoesqueleto muscular. Em animais ANG alimentados com a dieta BE, parece ter ocorrido uma remodelagem, uma vez que genes que codificam proteínas relacionadas à diferenciação celular do epitélio e biogênese e organização microtubular do citoesqueleto (Tabela 1), bem como aquelas que são constituintes estruturais do citoesqueleto (Tabela 2), estão mais representadas.

Segundo PICARD e colaboradores, (1995) e WHITE e colaboradores, (2000) em situações de restrição alimentar a proporção de fibras musculares oxidativa é aumentada. Essa alteração na proporção das fibras musculares é atribuída ao fato de que as fibras de oxidação rápida glicolítica-oxidativa (tipo IIA ou FOG) estão sujeitas à modulações, que podem ser causadas pela dieta (JOHNSTON et al., 1981).

Animais ANG que receberam a dieta AE apresentaram maior número de genes que codificam proteínas relacionadas à organização dos filamentos de actina,

biogênese e organização da matriz extracelular e adesão célula-célula (Tabela 1), indicando que possivelmente ocorreu um aumento na massa muscular. A matriz extracelular é composta em sua maioria por colágeno (KAYO et al., 2001), cuja expressão é reprimida em condições de restrição energética (BYRNE et al., 2005). No músculo, o colágeno apresenta-se de três formas morfológicamente distintas: epimísio, feixe de fibras espessas que envolvem e separam os músculos; perimísio, composto de bainhas de fibras de colágeno que envolvem e separam grandes e pequenos feixes de fibras musculares e endomísio, camada de tecido conectivo que, envolve individualmente as fibras musculares (MCCORMICK, 1994). O tecido conetivo tem função estrutural de sustentação muscular, bem como, de separar diferentes músculos (BAILEY, 1985). As proteínas de adesão, além de participar de inúmeros eventos de sinalização, como o crescimento celular, são responsáveis por unir a actina do citoesqueleto à matriz extracelular, formando então feixes de fibras (CHANG, 2006).

A categoria liberação do citocromo c (Tabela 3) pela mitocôndria foi mais representada em animais NEL alimentados com a dieta AE. O aumento da expressão de genes que codificam proteínas ligadas ao citocromo c pode ser um indicativo de um maior número de fibras de contração lenta oxidativa (tipo I ou SO). Fibras do tipo I são ricas em mitocôndrias e usam o metabolismo oxidativo para produção de energia, que fornece um longo e estável suprimento de ATP, sendo assim resistentes à fadiga (WANG et al., 2004). O citocromo c, por sua vez, é uma proteína associada à membrana da mitocôndria e é componente essencial da cadeia transportadora de elétrons.

O processo biossintético do ácido fólico e seus derivados e processo metabólico de compostos contendo um carbono (Tabela 3) são importantes processos relacionados com a divisão celular e síntese de DNA em animais NEL alimentados com a dieta AE. O ácido fólico, também conhecido como vitamina B9, é uma vitamina hidrossolúvel pertencente ao complexo B necessária para a formação de proteínas estruturais e hemoglobina, além de ser necessário para a produção e manutenção de novas células (KAMEN, 1997). O ácido fólico é requerido para sintetizar bases de DNA necessárias para sua replicação, desse modo, sua deficiência limita a divisão celular.

Na forma de uma série de compostos tetrahidrofolato, derivados do ácido fólico são substratos em diversas reações de transferências de um único carbono, e também estão envolvidos na síntese de dTMP a partir de dUMO, que é um importante substrato na reação de síntese da vitamina B12, que é importante na síntese do DNA.

Ambas as raças apresentaram maior número de genes que codificam proteínas envolvidas no processo metabólico de glicerol (Tabelas 1 e 3) quando receberam a dieta BE. Quando os animais sofrem com a restrição alimentar, é necessária a obtenção de nutrientes que não sejam de origem alimentar. Neste sentido, o metabolismo de glicerol é um processo importante que ajudam nessa captação de nutrientes. O glicerol é um precursor para a síntese de triacilgliceróis e de fosfolípidios, no fígado e no tecido adiposo. Quando o corpo usa a gordura acumulada como fonte de energia, glicerol e ácidos graxos são liberados na corrente sanguínea. Essa situação é passível de ocorrer em situações de alimentação com dietas restritivas, convertendo o glicerol em glicose pelo fígado, e assim providenciando energia para o metabolismo celular.

Outro fenômeno importante que auxilia no processo de captação de nutrientes é a autofagia, que foi uma categoria representativa em animais NEL alimentados com a dieta BE. Durante o período de restrição alimentar, os níveis de autofagia são aumentados, levando a quebra de componentes celulares não vitais e liberação de nutrientes, assegurando que processos vitais possam continuar (MIZUSHIMA et al., 2004). A autofagia também está envolvida na quebra da proteína muscular, que quando está associada à restrição alimentar, gera aminoácidos livres que entram na circulação. Esses aminoácidos abastecem os tecidos periféricos para manutenção de funções vitais, através da síntese *de novo* de proteína (MORDIER et al., 2000). A autofagia é reprimida pelo mTOR, que por sua vez é diretamente controlado pelo nível intracelular de aminoácidos e indiretamente pela via Akt e pelo status energético da célula (MAMMUCARI et al., 2007; BLOMMAART et al., 1997). Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que a autofagia é reprimida indiretamente pela via p38 MAPK, que por sua vez tem a função de inibir a via Erk-MAPK, uma vez que essa via não foi ativada em animais NEL. Segundo SCHIAFFINO & HANZLIKOVA (1972), a

autofagia é ativada pela atrofia, que poderia ser outra possível interação da via p38 MAPK na ativação da autofagia.

4. CONCLUSÕES

- O nível nutricional da dieta afeta de maneira diferente a expressão gênica no músculo LD de taurinos e zebuínos.
- A realimentação com dieta contendo alto teor energético estimula de forma mais acentuada a expressão de genes envolvidos na hipertrofia e diferenciação celular, bem como organização e formação da matriz extracelular na raça ANG (taurinos).
- A restrição alimentar estimula de forma mais acentuada a expressão de genes que codificam proteínas relacionadas à captação de nutrientes endógenos na raça NEL.
- Uma caracterização melhor desses genes pode ampliar o entendimento sobre a regulação da remodelagem, hipertrofia e diferenciação muscular.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHTON, G.C. Comparative nitrogen digestibility in Brahman, Brahman × Shorthorn, Africander × Hereford and Hereford steers. **J. Agric. Sci.**, v.58, p.333–341, 1962.

BAILEY, A. J. The role of collagen in the development of muscle and its relationship to eating quality. **J. Anim. Sci.**, v.60, p.1580-1587, 1985.

BEAVER, E.E.; WILLIAMS, J.E.; MILLER, S.J. et al. Influence of breed and diet on growth, nutrient digestibility, body composition and plasma hormones of Brangus and Angus steers. **J. Anim. Sci.**, v.67, p.2415-2425, 1989.

BLOMMAART, E.F.C.; LUIKEN, J.J.F.P.; MEIJER, A.J. Autophagic proteolysis: control and specificity. **Histochemical Journal**, v.29, p.365-385, 1997.

- BURRIN, D.G.; FERRELL, C.L.; BRITTON, R. A. et al. Level of nutrition and visceral organ size and metabolic activity in sheep. **British Journal of Nutrition**, v.64, p.439-448, 1990.
- BYRNE, K.A.; WANG, Y.H.; LEHNERT, S.A. et al. Gene expression profiling of muscle tissue in Brahman steers during nutritional restriction. **J. Anim. Sci.**, v. 83, p.1-12, 2005.
- CABANE, C.; ENGLARO, W.; YEOW, K. et al. Regulation of C2C12 myogenic terminal differentiation by MKK3/p38a pathway. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, v.284, C658-C666, 2003.
- CATTON, J.S.; DHUYVETTER, D.V. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.533-542, 1997.
- CHANDRA, R.K. Nutrition and the immune system: an introduction. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.66, p.460S-463S, 1997.
- CHANG, K.C. Key signalling factors and pathways in the molecular determination of skeletal muscle phenotype. **Animal**, v.1, p.681–698, 2007.
- CHEN, Y.; ZAJAC, J.D.; MACLEAN, H.E. Androgen regulation of satellite cell function. **Journal of Endocrinology**, v.186, p.21-31, 2005.
- CRAVIOTO, J.; DELICARDIE, E.R.; BIRCH, H.G. Nutrition, growth and neurointegrative development: an experimental and ecologic study. **Pediatrics**, v.38, p.319-320, 1966.
- DENNIS JR, G.; SHERMAN, B.T.; HOSACK, D.A. et al. DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. **Genome Biology**, v.4, R60, 2003.
- DODSON, M.V.; ALLEN, R.E.; HOSSNER, K.L. Ovine somatomedin, multiplication-stimulating activity, and insulin promote skeletal muscle satellite cell proliferation in vitro. **Endocrinology**, v.117, p.2357-2363, 1985.
- FERRELL, C.L.; BERRY, E.D.; FREETLY, H.C. et al. Influence of genotype and diet on steer performance, manure odor, and carriage of pathogenic and other fecal bacteria. I. Animal performance. **J. Anim. Sci.**, v.84, p.2515–2522, 2006.

FERRELL, C.L.; JENKINS, T.G. Body composition and energy utilization by steers of diverse genotypes fed a high-concentrate diet during the finishing period: ii. Angus, Boran, Brahman, Hereford, and Tuli sires. **J. Anim. Sci.**, v.76, p.647–657, 1998.

FERRELL, C.L.; KOONG, J.L.; NIENABER, J.A. Effect of previous nutrition on body composition and maintenance energy costs of growing lambs. **British Journal of Nutrition**, v.56, p.595-605, 1986.

FERRELL, C.L.; KOONG, L.J. Influence of plane of nutrition on body composition, organ size and energy utilization of Sprague-Dawley rats. **Journal of Nutrition**, v.116, p.2525-2535, 1986.

FRISCH, J.E.; VERCOE, J. E. Food intake, eating rate, weight gains, metabolic rate and efficiency of feed utilization in *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred cattle. **Anim. Prod.**, v.25, p.343–358, 1977.

GALYEAN, M.L.; PERINO, L.J.; DUFF, G.C. Interaction of cattle health/immunity and nutrition. **J. Anim. Sci.**, v.77, p.1120-1134, 1999.

GLASS, D.J. Molecular mechanisms modulating muscle mass. **Trends in Molecular Medicine**, v.9, p.344-350, 2003a.

GLASS, D.J. Signalling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. **Nature Cell Biology**, v.5, p.87-90, 2003b.

GONDRET, F.; LEBAS, F.; BONNEAU, M. Restricted feed intake during fattening reduces intramuscular lipid deposition without modifying muscle fiber characteristics in rabbits. **J. Nutr.**, v.130, p.228–233, 2000.

HOTOVY, S.K.; JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D. E. et al. Variation among twin beef cattle in maintenance energy requirements. **J. Anim. Sci.**, v.69, p.940-946, 1991.

JOHNSTON, D.M.; MOODY, W.G.; BOLING, J.A.; BRADLEY, N.W. Influence of breed type, sex, feeding system, and muscle bundlesize on bovine fiber type characteristics. **Journal of Food Science**, v.46, p.1760-1765, 1981.

KAMEN, B. Folate and antifolate pharmacology. **Semin Oncol.**, v.24, Suppl 18, p.S30-S39, 1997.

KAYO, T.; ALLISON, D.B.; WEINDRUCH, R. et al. Influences of aging and caloric restriction on the transcriptional profile of skeletal muscle from rhesus monkeys. **PNAS**, v.98, p.5093-5098, 2001.

KAURUE, C.N.; EVANS, J.L.; TILLMAN, A. D. Metabolism of nitrogen in Boran and Hereford-Boran crossbred steers. **J. Anim. Sci.**, v.35, p.1025–1030, 1972.

KIMBALL, S.R.; JEFFERSON, L.S. New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.83, Supplement, p.500S–507S, 2006.

KOONG, L.J.; NEINABER, J.A.; PEKAS, J.C. et al. Effects of plane of nutrition on organ size and fasting heat production in pigs. **Journal of Nutrition**, v.112, p.1638-1642, 1982.

KUTSCHER, E.C.; LUNA, B.C.; PERRY, P.J. Anabolic steroids: a review for the clinician. **Sports Medicine**, v.32, p.285-296, 2002.

LEDGER, H.P.; ROGERSON, A.; FREEMAN, G.H. Further studies on the voluntary food intake of *Bos indicus* and *Bos taurus* and crossbred cattle. **Anim. Prod.**, v.12, p.426–431, 1970.

LEE, J.; HONG, F.; KWON, S. et al. Activation of p38 MAPK induces cell cycle arrest via inhibition of Raf/ERK pathway during muscle differentiation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.298, p.765-771, 2002.

LEHNERT, S.A.; BYRNE, K.A.; REVERTER, A. et al. Gene expression profiling of bovine skeletal muscle in response to and during recovery from chronic and severe undernutrition. **Journal of Animal Science**, v.84, p.3239–3250, 2006.

MAMMUCARI, C.; MILAN, G.; ROMANELLO, V. Foxo3 controls autophagy in skeletal muscle *in vivo*. **Cell Metabolism**, v.6, p.425-427, 2007.

MCCORMICK, R.J. The flexibility of the comportament of muscle. **Meat Science**, v.36, p.79-91, 1994.

MIZUSHIMA, N.; YAMAMOTO, A.; MATSUI, M. et al. *In vivo* analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. **Mol. Biol. Cell.**, v.15, p.1101-1111, 2004.

MORAN, J.B. The grazing feed intake of Hereford and Brahman cross cattle in a cool temperate environment. **J. Agric. Sci.**, v.86, p.131–134, 1976.

MORDIER, S.; DEVAL, C.; BÉCHET, D. et al. Leucine limitation induces autophagy and activation of lysosome-dependent proteolysis in C2C12 myotubes through a mammalian target of rapamycin-independent signaling pathway. **J. Biol. Chem.**, v.275, p.29900-29906, 2000.

NICHOLS, W.T.; GALYEAN, M.L.; THOMSON, D.U. et al. Review: Effects of steroid implants on the tenderness of beef. **Professional Animal Scientist**, 2002. Disponível em:<http://findarticles.com/p/articles/mi_qa4035/is_200209/ai_n9103295>, acesso em: 07/02/2009.

NRC. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. updated 7. ed. Washington, DC: National Academy Press, 2000.

O'DONOVAN, P.B.; GEBREWOLDE, A.; KEBEDE, B. et al. Fattening studies with cross-bred (European × Zebu) bulls. 1. Performance on diets of native hay and concentrate. **J. Agric. Sci.**, v.90, p.425–429, 1978.

OWENS, F.N.; DUBESKI, P.; HANSON, C.F. Factor that alter the growth and development of ruminants. **J. Anim. Sci.**, v.71, p. 3138- 3150, 1993.

PICARD, B.; GAGNIERE, H.; GEAY, Y. et al. Study of the influence of age and weaning on the contractile and metabolic characteristics of bovine muscle. *Reproduction Nutrition Development*, v.35, p.71-84, 1995.

REVERTER, A., BYRNE, K.A., BRUCE, H.L. et al. A mixture model-based cluster analysis of DNA microarray gene expression data on Brahman and Brahman composite steers fed high-, medium-, and low-quality diets. **J. Anim. Sci.**, v.81, p.1900-1910, 2003.

ROMMEL, C.; CLARKE, B.A.; ZIMMERMANN, S. et al. Differentiation stage-specific inhibition of the Raf-MEK-ERK pathway by Akt. **Science**, v.286, p.1738-1744, 1999.

SAINZ, R.D.; BENTLEY, B.E. Visceral organ mass and cellularity in growth-restricted and refed beef steers. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.1229-1236, 1997.

SCHIAFFINO, S.; HANZLIKOVÁ, V. Studies on the effect of denervation in developing muscle. II. The lysosomal system, **J. Ultrastruct. Res.**, v.39, p.1–14, 1972.

SINHA-HIKIM, I.; ROTH, S.M.; LEE, M.I. et al. Testosterone-induced muscle hypertrophy is associated with an increase in satellite cell number in healthy, young men. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v.285, p.E197-E205, 2003.

SONSTEGARD, T.S.; CAPUCO, A.V.; WHITE, J. et al. Analysis of bovine mammary gland EST and functional annotation of the *Bos taurus* gene index. **Mamm. Genome**, v.13, p.373–379, 2002.

VÉRAS, A.S.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. ET AL. Efeito do nível de concentrado sobre o peso dos órgãos internos e do conteúdo gastrointestinal de bovinos nelore não-castrados. **Rev. Bras. Zootec.**, v.30, suppl.1, p.1120-1126, 2001.

VOLLENWEIDER, P. Insulin resistant states and insulin signaling. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.41, p.1107-1119, 2003.

WANG, Y.X.; ZHANG, C.L.; YU, R.T. et al. Regulation of muscle fiber type and running endurance by ppar δ . **PLoS Biology**, v.2, e294, 2004.

WHITE, P.; CATTANEO, D.; DAUNCE, M.J. Postnatal regulation of myosin heavy chain isoform expression and metabolic enzyme activity by nutrition. **Br. J. Nutr.**, v.84, p.185–194, 2000.

WILSON, F.A.; ORELLANA, R.A.; SURYAWAN, A. et al. Stimulation of muscle protein synthesis by somatotropin in pigs is independent of the somatotropin-induced increase in circulating insulin. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v.295, p.E187-E194, 2008.

APÊNDICES

Apêndice 1A. Genes DE em animais Angus alimentados com a dieta BE.

Genes	Entrez Gene ID	Fold change	Intensidade média ¹	FDR	B
<i>Bos taurus</i> similar to zinc finger protein of the cerebellum 3 (LOC541035), mRNA	541035	2,34	10,28	0,0008	6,44
<i>Bos taurus</i> similar to Atp6v0b protein (LOC505684), partial mRNA	505684	2,52	10,20	0,0010	5,63
<i>Bos taurus</i> similar to frizzled 2 (LOC538507), partial mRNA	538507	1,99	10,00	0,0015	5,07
<i>Homo sapiens</i> sclerostin domain containing 1 (SOSTDC1), mRNA	25928	1,46	8,80	0,0016	4,81
<i>Bos taurus</i> RAD9 homolog (RAD9A), mRNA	504647	1,92	9,13	0,0016	4,81
<i>Bos taurus</i> farnesyltransferase, CAAX box, alpha (FNTA), mRNA	281169	1,72	9,63	0,0016	4,54
<i>Bos taurus</i> similar to neuroblastoma, suppression of tumorigenicity 1 precursor (LOC535280), partial mRNA	535280	2,26	10,03	0,0016	4,52
<i>Bos taurus</i> similar to KIAA0802 (LOC514392), partial mRNA	514392	1,91	9,70	0,0016	4,50
<i>Bos taurus</i> cytochrome P450, subfamily I (aromatic compound-inducible), polypeptide 1 (CYP1A1), partial mRNA	282870	1,70	9,60	0,0016	4,44
<i>Homo sapiens</i> solute carrier family 26, member 4 (SLC26A4), mRNA	5172	1,66	8,79	0,0018	4,30
<i>Bos taurus</i> similar to HMBA-inducible (LOC539696), mRNA	539696	1,59	9,66	0,0020	4,13
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (FLJ20436), mRNA	540194	2,11	10,01	0,0020	4,07
<i>Homo sapiens</i> leucine rich repeat transmembrane neuronal 3 (LRRTM3), mRNA	347731	1,86	9,85	0,0020	4,01
<i>Bos taurus</i> similar to microtubule-associated protein 1 light chain 3 alpha (LOC514547), partial mRNA	514547	1,66	10,39	0,0021	3,80
<i>Bos taurus</i> Wiskott-Aldrich syndrome-like (WASL), mRNA	281577	1,46	8,70	0,0021	3,71
<i>Bos taurus</i> similar to melanoma antigen family F, 1 (LOC518728), partial mRNA	518728	1,60	9,57	0,0021	3,64
<i>Homo sapiens</i> solute carrier family 9 (sodium/hydrogen exchanger), isoform 2 (SLC9A2), mRNA	6549	1,38	8,90	0,0021	3,64
<i>Bos taurus</i> similar to novel protein (LOC511930), partial mRNA	511930	2,19	10,43	0,0021	3,61
<i>Homo sapiens</i> DEAQ box polypeptide 1 (RNA-dependent ATPase) (DQX1), mRNA	165545	2,03	9,05	0,0021	3,60
<i>Homo sapiens</i> component of oligomeric golgi complex 3 (COG3), mRNA	83548	1,73	9,20	0,0021	3,54
<i>Bos taurus</i> similar to family with sequence similarity 43, member A (LOC539374), mRNA	539374	1,63	10,08	0,0021	3,51
<i>Bos taurus</i> similar to DVS27 protein (LOC507054), mRNA	507054	1,66	8,98	0,0021	3,50
<i>Homo sapiens</i> plastin 1 (I isoform) (PLS1), mRNA	5357	1,45	9,69	0,0021	3,49
<i>Pan troglodytes</i> LOC459263 (LOC459263), mRNA	459263	1,46	8,82	0,0021	3,48
<i>Bos taurus</i> similar to Kell blood group glycoprotein (CD238 antigen) (LOC504473), mRNA	504473	1,54	9,54	0,0021	3,47
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein DKFZp313G1735 (LOC536626), partial mRNA	536626	1,65	8,84	0,0021	3,47
<i>Bos taurus</i> similar to PX19 homolog (LOC523609), partial mRNA	523609	1,77	9,78	0,0024	3,29

<i>Bos taurus</i> BCL2-associated X protein (BAX), mRNA	280730	2,05	10,17	0,0024	3,29
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein FLJ11773 (LOC513049), mRNA	513049	1,56	8,95	0,0024	3,24
<i>Homo sapiens</i> leucine carboxyl methyltransferase 1 (LCMT1), mRNA	51451	1,67	11,14	0,0024	3,23
<i>Homo sapiens</i> oxysterol binding protein-like 7 (OSBPL7), transcript variant 2, mRNA	114881	1,53	9,44	0,0024	3,23
<i>Bos taurus</i> similar to keratin 20 (LOC505214), partial mRNA	505214	2,43	10,03	0,0025	3,18
<i>Homo sapiens</i> plakophilin 2 (PKP2), transcript variant 2a, mRNA	5318	1,37	8,62	0,0025	3,17
<i>Bos taurus</i> hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase, type II hydroxyacyl-Coenzyme A (HADH2), mRNA	281809	1,53	8,90	0,0025	3,16
<i>Homo sapiens</i> hypothetical protein FLJ12442 (FLJ12442), mRNA	64943	1,92	9,91	0,0025	3,14
DNA FRAGMENTATION FACTOR, 40 KD, BETA POLYPEPTIDE ISOFORM 1	512730	1,78	9,75	0,0026	3,09
<i>Homo sapiens</i> yippee-like 5 (Drosophila) (YPEL5), mRNA	51646	1,95	9,77	0,0026	3,07
<i>Homo sapiens</i> KIAA0470 (KIAA0470), mRNA	9859	1,43	8,77	0,0026	3,04
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein MGC26594 (LOC540811), mRNA	540811	1,80	9,26	0,0026	3,03
<i>Homo sapiens</i> tripartite motif-containing 9 (TRIM9), transcript variant 1, mRNA	114088	1,62	8,79	0,0026	2,98
<i>Homo sapiens</i> HECT, C2 and WW domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2 (HECW2), mRNA	57520	1,60	8,96	0,0027	2,90
<i>Pan troglodytes</i> similar to PEST-containing nuclear protein (LOC460559), mRNA	460559	1,65	9,92	0,0028	2,86
<i>Bos taurus</i> similar to B aggressive lymphoma gene (LOC510532), mRNA	510532	2,17	9,81	0,0028	2,86
<i>Homo sapiens</i> synaptosomal-associated protein, 23kDa (SNAP23), transcript variant 2, mRNA	8773	1,72	9,82	0,0028	2,85
<i>Rattus norvegicus</i> splicing factor 3a, subunit 2, 66kDa (predicted) (Sf3a2_predicted), mRNA	299620	1,85	10,22	0,0029	2,80
<i>Homo sapiens</i> glycerophosphodiester phosphodiesterase domain containing 1 (GDPD1), mRNA	284161	1,83	9,82	0,0029	2,77
<i>Homo sapiens</i> junctophilin 4 (JPH4), mRNA	84502	1,65	9,09	0,0029	2,77
<i>Homo sapiens</i> vestigial-like 3 (VGL-3), mRNA	389136	1,75	10,03	0,0029	2,74
<i>Bos taurus</i> keratin 5 (epidermolysis bullosa simplex, Dowling-Meara/Kobner/Weber-Cockayne types) (KRT5), mRNA	281268	1,47	8,83	0,0030	2,70
<i>Bos taurus</i> hypothetical LOC340481 (LOC540088), mRNA	540088	1,65	8,97	0,0030	2,70
<i>Homo sapiens</i> SLIT-ROBO Rho GTPase activating protein 3 (SRGAP3), mRNA	9901	1,65	8,98	0,0030	2,69
<i>Bos taurus</i> similar to chromodomain helicase DNA binding protein 4 (LOC504271), mRNA	504271	1,44	8,73	0,0030	2,68
<i>Bos taurus</i> serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 7 (SERPINA7), mRNA	282518	1,48	12,28	0,0030	2,64
<i>Canis familiaris</i> pyruvate kinase M (PKM2), mRNA	403874	1,70	9,86	0,0030	2,61
<i>Bos taurus</i> similar to ADP-ribosylation factor 5 (LOC511918), mRNA	511918	1,78	9,97	0,0031	2,60
Sem anotação	NA	1,51	8,88	0,0031	2,57

<i>Bos taurus</i> similar to KIAA1848 protein (LOC504750), partial mRNA	504750	1,44	8,89	0,0032	2,53
<i>Homo sapiens</i> tektin 1 (TEKT1), mRNA	83659	1,57	9,45	0,0032	2,50
<i>Homo sapiens</i> dynein, axonemal, heavy polypeptide 17 (DNAH17), mRNA	8632	1,45	8,75	0,0032	2,50
<i>Homo sapiens</i> actinin, alpha 4 (ACTN4), mRNA	81	2,22	9,77	0,0032	2,49
<i>Pan troglodytes</i> similar to AKT1 substrate 1 (proline-rich); proline-rich Akt substrate, 40 kDa (LOC456218), mRNA"	456218	1,71	9,96	0,0032	2,47
<i>Homo sapiens</i> transducin (beta)-like 2 (TBL2), transcript variant 2, mRNA	26608	1,35	9,85	0,0032	2,43
<i>Bos taurus</i> actin related protein 2/3 complex, subunit 1B, 41kDa (ARPC1B), mRNA	326600	1,40	13,37	0,0032	2,42
<i>Bos taurus</i> similar to protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 3 (LOC511010), partial mRNA	511010	1,35	8,75	0,0032	2,41
<i>Bos taurus</i> similar to Ras-related GTP binding D (LOC532035), partial mRNA	532035	1,49	8,74	0,0032	2,41
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein MGC14595 (LOC534858), mRNA	534858	1,81	9,85	0,0032	2,38
similar to UP TNR7_HUMAN (P26842) Tumor necrosis factor receptor superfamily member 7 precursor (CD27L receptor) (T-cell activation antigen CD27) (T14), partial (93%)	939	1,36	13,93	0,0032	2,37
<i>Bos taurus</i> similar to FYVE, RhoGEF and PH domain containing 2 (LOC511989), partial mRNA	511989	1,99	10,01	0,0032	2,36
<i>Bos taurus</i> similar to HD protein (LOC505881), partial mRNA	505881	1,98	10,21	0,0032	2,34
<i>Bos taurus</i> similar to progesterone membrane binding protein (LOC534021), mRNA	534021	1,97	9,20	0,0032	2,32
<i>Bos taurus</i> similar to Jumonji domain containing protein 2A (LOC512622), partial mRNA	512622	1,33	10,37	0,0032	2,31
<i>Bos taurus</i> mitochondrial ribosomal protein L11 isoform a (MRPL11), mRNA	515990	1,44	11,02	0,0032	2,30
<i>Bos taurus</i> NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S protein 1, 75kDa (NADH-coenzyme Q reductase) (NDUFS1), mRNA	288380	1,43	9,27	0,0032	2,28
<i>Homo sapiens</i> transformer-2 alpha (TRA2A), mRNA	29896	2,00	10,54	0,0032	2,28
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (LOC533188), partial mRNA	533188	1,52	8,85	0,0032	2,26
<i>Homo sapiens</i> sorting nexin 11 (SNX11), transcript variant 2, mRNA	29916	1,91	9,98	0,0032	2,25
<i>Bos taurus</i> perforin 1 (pore forming protein) (PRF1), partial mRNA	369025	1,38	8,78	0,0032	2,23
<i>Bos taurus</i> similar to poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B) (LOC505580), partial mRNA	505580	2,24	10,90	0,0032	2,23
Sem anotação	NA	1,48	8,77	0,0032	2,23
<i>Bos taurus</i> protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, alpha (PRKACA), mRNA	282322	1,66	9,52	0,0033	2,16
<i>Bos taurus</i> similar to granule membrane protein (LOC513006), mRNA	513006	1,58	8,80	0,0033	2,16
<i>Bos taurus</i> similar to Importin alpha-4 subunit (Karyopherin alpha-4 subunit) (Qip1 protein) (LOC535090), partial mRNA	535090	1,75	10,23	0,0033	2,16
<i>Bos taurus</i> guanylate cyclase 2C [heat stable enterotoxin receptor] (GUCY2C), mRNA	282244	1,37	8,78	0,0033	2,13
<i>Bos taurus</i> similar to mitochondrial ribosomal protein L52 isoform a (LOC509469), mRNA	509469	1,51	8,68	0,0033	2,13
<i>Homo sapiens</i> hypothetical protein FLJ10006 (FLJ10006), mRNA	55677	1,43	9,48	0,0033	2,12

<i>Bos taurus</i> similar to myotubularin-related protein 9 (LOC539174), partial mRNA	539174	1,35	8,83	0,0033	2,11
<i>Bos taurus</i> similar to secernin 2 (LOC515013), mRNA	515013	1,94	10,44	0,0034	2,09
<i>Bos taurus</i> tyrosyl-tRNA synthetase (YARS), mRNA	281581	1,84	9,69	0,0034	2,08
<i>Bos taurus</i> hypothetical protein FLJ21103 (FLJ21103), mRNA	540626	1,62	9,93	0,0034	2,07
<i>Bos taurus</i> DKFZP586B1621 protein (DKFZP586B1621), mRNA	512373	1,66	9,37	0,0034	2,06
<i>Homo sapiens</i> 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase/dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1 alpha (TCF1) 2 (PCBD2), mRNA	84105	1,47	8,96	0,0034	2,05
<i>Bos taurus</i> similar to Asialoglycoprotein receptor 1 (Hepatic lectin H1) (ASGPR) (ASGP-R) (LOC509121), partial mRNA	509121	1,49	9,30	0,0034	2,04
<i>Homo sapiens</i> sterol O-acyltransferase (acyl-Coenzyme A: cholesterol acyltransferase) 1 (SOAT1), transcript variant 688113, mRNA	6646	1,41	8,76	0,0034	2,03
<i>Sus scrofa</i> MAD, mothers against decapentaplegic homolog 3 (MADH3), mRNA	397260	1,52	10,34	0,0034	2,03
<i>Homo sapiens</i> mitochondrial ribosomal protein S25 (MRPS25), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA	64432	1,32	9,12	0,0034	2,02
<i>Bos taurus</i> LOC533083 (LOC533083), partial mRNA	533083	2,04	9,77	0,0035	2,00
<i>Bos taurus</i> insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R), partial mRNA	281848	1,38	14,36	0,0035	1,99
<i>Canis familiaris</i> similar to P73 delta-N protein (LOC489620), mRNA	489620	1,51	9,01	0,0035	1,98
<i>Homo sapiens</i> KIAA0907 (KIAA0907), mRNA	22889	1,47	8,76	0,0035	1,98
<i>Ovis aries</i> copper chaperone (SAH), mRNA	443451	1,52	12,76	0,0035	1,97
<i>Bos taurus</i> similar to Ran-specific GTPase-activating protein (Ran binding protein 1) (RANBP1) (HpalI tiny fragments locus 9a protein) (LOC533251), mRNA	533251	1,65	9,15	0,0035	1,96
<i>Bos taurus</i> eukaryotic translation initiation factor 4E (EIF4E), mRNA	281751	1,59	8,82	0,0035	1,95
<i>Homo sapiens</i> glypican 5 (GPC5), mRNA	2262	1,65	8,86	0,0035	1,94
<i>Bos taurus</i> similar to CXX1 protein (LOC513921), mRNA	513921	1,41	8,81	0,0035	1,93
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (LOC540982), mRNA	540982	1,43	8,66	0,0035	1,92
<i>Bos taurus</i> similar to epsilon I globin (LOC539994), mRNA	539994	1,47	9,02	0,0035	1,91
<i>Homo sapiens</i> protein phosphatase 4, regulatory subunit 1 (PPP4R1), mRNA	9989	1,45	8,56	0,0036	1,90
Sem anotação	NA	1,77	10,16	0,0036	1,89
Sem anotação	NA	1,54	8,75	0,0036	1,87
<i>Bos taurus</i> similar to calumenin precursor (LOC540611), partial mRNA	540611	1,34	8,68	0,0036	1,85
<i>Bos taurus</i> similar to Translocation protein SEC63 homolog (LOC541040), partial mRNA	541040	1,37	8,75	0,0037	1,84
<i>Bos taurus</i> similar to very large G-protein coupled receptor 1 (LOC532828), partial mRNA	532828	1,50	8,93	0,0037	1,80
<i>Bos taurus</i> similar to dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 3 isoform a (LOC505149), partial mRNA	505149	1,37	9,37	0,0037	1,80

<i>Bos taurus</i> similar to prefoldin 4 (LOC514621), mRNA	514621	1,57	8,91	0,0038	1,78
<i>Bos taurus</i> similar to WW domain binding protein-2 (LOC507060), mRNA	507060	1,82	9,41	0,0038	1,76
<i>Homo sapiens</i> Indian hedgehog homolog (Drosophila) (IHH), mRNA	3549	1,60	10,91	0,0039	1,74
<i>Bos taurus</i> histidine decarboxylase (HDC), mRNA	515950	2,00	10,54	0,0039	1,73
<i>Canis familiaris</i> similar to heat shock 27kDa protein 3 (LOC479334), mRNA	479334	1,50	8,74	0,0039	1,73
<i>Homo sapiens</i> Kruppel-like factor 10 (KLF10), mRNA	7071	1,79	10,02	0,0039	1,72
<i>Bos taurus</i> junction plakoglobin (JUP), mRNA	445543	2,42	9,75	0,0040	1,68
<i>Homo sapiens</i> cartilage associated protein (CRTAP), mRNA	10491	1,73	9,51	0,0041	1,64
<i>Bos taurus</i> similar to elongation factor 1 delta (LOC504491), partial mRNA	504491	1,38	9,58	0,0042	1,59
<i>Bos taurus</i> similar to KIAA1720 protein (LOC520254), partial mRNA	520254	2,19	10,70	0,0042	1,59
<i>Bos taurus</i> argonaute 2 (AGO2), mRNA	404130	1,54	8,84	0,0042	1,59
<i>Bos taurus</i> similar to non-SMC element 1 homolog (LOC534249), partial mRNA	534249	1,40	8,70	0,0042	1,59
<i>Bos taurus</i> similar to coat protein delta-cop (LOC533078), partial mRNA	533078	1,30	8,73	0,0042	1,58
<i>Homo sapiens</i> eukaryotic translation initiation factor 2C, 1 (EIF2C1), mRNA	26523	1,56	9,04	0,0042	1,58
<i>Canis familiaris</i> similar to hypothetical protein (LOC488020), mRNA	488020	1,58	8,81	0,0042	1,57
<i>Bos taurus</i> similar to gap junction protein, beta 5 (connexin 31.1) (LOC524030), partial mRNA	524030	1,52	8,88	0,0042	1,57
<i>Canis familiaris</i> similar to 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 12 (26S proteasome regulatory subunit p55) (LOC480465), mRNA	480465	1,38	8,78	0,0042	1,57
<i>Homo sapiens</i> transmembrane protein 16F (TMEM16F), mRNA	196527	1,36	8,79	0,0042	1,56
<i>Bos taurus</i> calreticulin (CALR), mRNA	281036	1,55	8,99	0,0042	1,56
<i>Bos taurus</i> similar to tweety homolog 3 (Drosophila) (LOC530009), partial mRNA	530009	1,45	8,90	0,0042	1,54
<i>Homo sapiens</i> v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian) (MAFF), transcript variant 2, mRNA	23764	1,47	8,86	0,0042	1,53
<i>Bos taurus</i> similar to trypsin domain containing 1 (LOC514320), partial mRNA	514320	1,71	9,91	0,0043	1,50
<i>Bos taurus</i> similar to Transforming growth factor-beta induced protein IG-H3 precursor (Beta IG-H3) (Kerato-epithelin) (RGD-containing collagen associated protein) (RGD-CAP) (LOC539596), partial mRNA	539596	1,38	9,36	0,0043	1,48
<i>Homo sapiens</i> phosphatidylinositol glycan, class B (PIGB), mRNA	9488	1,32	8,70	0,0043	1,48
<i>Bos taurus</i> similar to guanine nucleotide-binding protein, beta-4 subunit (LOC525962), partial mRNA	525962	1,53	8,86	0,0043	1,47
<i>Bos taurus</i> similar to zinc transporter ZTL1 (LOC508169), partial mRNA	508169	1,39	13,97	0,0043	1,46
<i>Bos taurus</i> similar to Proteasome beta 1 subunit (LOC514237), partial mRNA	514237	1,72	9,07	0,0043	1,46
<i>Bos taurus</i> similar to Dynamin 3 (Dynamin, testicular) (T-dynamin) (LOC506315), partial mRNA	506315	1,40	8,81	0,0043	1,46
<i>Bos taurus</i> aurora kinase B (AURKB), mRNA	360192	1,80	9,15	0,0043	1,46

<i>Pan troglodytes</i> similar to Peroxisomal membrane protein PEX16 (Peroxin-16) (Peroxisomal biogenesis factor 16) (LOC451150), mRNA	451150	1,46	8,72	0,0043	1,45
<i>Bos taurus</i> similar to BCL2L12 protein (LOC533338), mRNA	533338	1,54	9,85	0,0043	1,45
<i>Bos taurus</i> similar to progesterone membrane binding protein (LOC534021), mRNA	534021	1,93	8,94	0,0043	1,44
<i>Canis familiaris</i> similar to KIAA1662 protein (LOC481263), mRNA	481263	1,75	8,93	0,0043	1,44
<i>Bos taurus</i> similar to ABI gene family, member 3 (LOC524638), partial mRNA	524638	1,44	13,05	0,0043	1,43
<i>Homo sapiens</i> RNA binding motif, single stranded interacting protein 2 (RBMS2), mRNA	5939	1,80	9,41	0,0043	1,43
<i>Bos taurus</i> barrier to autointegration factor 1 (BANF1), mRNA	360196	1,68	9,07	0,0044	1,39
<i>Bos taurus</i> plasminogen activator, tissue (PLAT), mRNA	281407	1,75	9,30	0,0044	1,38
<i>Bos taurus</i> similar to RIKEN cDNA 1700112P19 (LOC515635), mRNA	515635	1,39	8,88	0,0044	1,38
Sem anotação	NA	1,96	11,21	0,0044	1,37
<i>Bos taurus</i> 1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 4 (lysophosphatidic acid acyltransferase, delta) (AGPAT4), mRNA	507456	1,40	9,37	0,0044	1,37
<i>Pan troglodytes</i> ceramide glucosyltransferase (LOC464660), mRNA	464660	1,50	8,91	0,0045	1,35
<i>Bos taurus</i> similar to olfactomedin-like 1 (LOC531068), partial mRNA	531068	1,49	8,92	0,0046	1,33
<i>Bos taurus</i> peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase (PAM), mRNA	280890	1,74	8,95	0,0047	1,28
<i>Bos taurus</i> similar to ankyrin repeat and SOCS box-containing protein 7 isoform 2 (LOC507483), mRNA	507483	1,40	8,84	0,0047	1,27
<i>Homo sapiens</i> fibroblast growth factor receptor 2 (bacteria-expressed kinase, keratinocyte growth factor receptor, craniofacial dysostosis 1, Crouzon syndrome, Pfeiffer syndrome, Jackson-Weiss syndrome) (FGFR2), transcript variant 2, mRNA	2263	1,36	8,97	0,0048	1,25
Sem anotação	NA	1,54	9,85	0,0049	1,24
<i>Bos taurus</i> complement component 4 binding protein, alpha (C4BPA), mRNA	281651	1,49	8,68	0,0049	1,23
Sem anotação	NA	1,54	9,10	0,0049	1,23
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein PRO1855 (LOC532659), partial mRNA	532659	1,40	8,64	0,0050	1,19
<i>Bos taurus</i> similar to IL-16 precursor (LOC512368), partial mRNA	512368	1,36	14,98	0,0050	1,18
<i>Bos taurus</i> N-myristoyltransferase 2 (NMT2), mRNA	282049	1,32	8,59	0,0050	1,18
<i>Bos taurus</i> similar to tubulin, beta 5 (LOC533307), mRNA	533307	1,73	9,14	0,0050	1,18
<i>Pan troglodytes</i> vanin 2 (LOC463007), mRNA	463007	1,37	8,78	0,0050	1,17
<i>Bos taurus</i> similar to BC024760 protein (LOC517597), partial mRNA	517597	1,43	8,73	0,0050	1,15
<i>Bos taurus</i> similar to spermiogenesis associated serine/threonine kinase 22C (LOC538659), partial mRNA	538659	1,31	8,58	0,0051	1,14
<i>Bos taurus</i> angiotensin receptor 1 [angiotensin II receptor 1] (AGTR1), mRNA	281607	1,33	8,70	0,0051	1,13
<i>Bos taurus</i> similar to UPF0315 protein (AD-001) (HSPC152/HSPC170) (LOC507833), mRNA	507833	1,35	9,53	0,0051	1,12

<i>Homo sapiens</i> chromosome 2 open reading frame 17 (C2orf17), mRNA	79137	1,37	8,81	0,0051	1,11
<i>Bos taurus</i> mucin (LOC404174), partial mRNA	404174	1,44	12,64	0,0051	1,11
<i>Bos taurus</i> similar to 3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase (3-HAO) (3-hydroxyanthranilic acid dioxygenase) (3-hydroxyanthranilate oxygenase) (LOC510602), partial mRNA	510602	1,42	8,86	0,0051	1,11
Sem anotação	NA	1,89	9,01	0,0052	1,09
<i>Homo sapiens</i> proline-serine-threonine phosphatase interacting protein 1 (PSTPIP1), mRNA	9051	1,34	10,22	0,0052	1,08
<i>Bos taurus</i> similar to HLA-B associated transcript 4 (LOC522780), mRNA	522780	1,98	9,49	0,0052	1,07
<i>Bos taurus</i> similar to nuclear prelamin A recognition factor-like (LOC511837), partial mRNA	511837	1,30	9,12	0,0052	1,07
<i>Bos taurus</i> tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B (TNFRSF1B), partial mRNA	338033	1,45	9,33	0,0052	1,06
<i>Bos taurus</i> similar to AMPA selective glutamate receptor (LOC528981), partial mRNA	528981	1,52	9,47	0,0052	1,06
<i>Canis familiaris</i> similar to tubulin tyrosine ligase-like family, member 1 (LOC481221), mRNA	481221	1,42	8,79	0,0052	1,05
<i>Bos taurus</i> similar to Solute carrier family 13, member 3 (Sodium-dependent high-affinity dicarboxylate transporter 2) (Na(+)/dicarboxylate cotransporter 3) (NaDC-3) (hNaDC3) (LOC526291), partial mRNA	526291	1,44	9,49	0,0052	1,05
<i>Bos taurus</i> similar to block of proliferation 1 (LOC515056), mRNA	515056	1,70	9,36	0,0053	1,04
<i>Homo sapiens</i> regulator of G-protein signalling 3 (RGS3), transcript variant 5, mRNA	5998	1,35	8,89	0,0053	1,03
<i>Bos taurus</i> similar to Testin (TESS) (LOC534965), partial mRNA	534965	1,92	9,08	0,0053	1,02
<i>Homo sapiens</i> latrophilin 3 (LPHN3), mRNA	23284	2,06	8,93	0,0053	1,00
<i>Bos taurus</i> similar to Ras association (RalGDS/AF-6) domain family 5 (LOC539767), partial mRNA	539767	1,40	8,92	0,0053	1,00
<i>Bos taurus</i> similar to yippee-like 3 (LOC539731), partial mRNA	539731	1,90	9,31	0,0053	1,00
<i>Homo sapiens</i> chromosome 6 open reading frame 139 (C6orf139), mRNA	55166	1,35	8,55	0,0053	1,00
<i>Homo sapiens</i> NMDA receptor regulated 1 (NARG1), mRNA	80155	1,52	8,92	0,0053	1,00
<i>Homo sapiens</i> FN5 protein (FN5), mRNA	56935	1,40	8,69	0,0053	0,99
<i>Homo sapiens</i> transmembrane protein 55B (TMEM55B), mRNA	90809	1,77	9,08	0,0053	0,98
<i>Bos taurus</i> palate, lung and nasal epithelium carcinoma associated (PLUNC), mRNA	281989	1,40	8,84	0,0054	0,97
<i>Homo sapiens</i> beta-site APP-cleaving enzyme 1 (BACE1), transcript variant b, mRNA	23621	1,61	9,51	0,0054	0,97
<i>Homo sapiens</i> ubiquitin specific protease 46 (USP46), mRNA	64854	1,55	10,15	0,0054	0,97
<i>Bos taurus</i> similar to mKIAA3021 protein (LOC509364), partial mRNA	509364	2,17	9,49	0,0054	0,96
<i>Bos taurus</i> similar to zipper protein kinase (LOC505427), mRNA	505427	1,60	8,79	0,0054	0,95
<i>Bos taurus</i> similar to Proliferating-cell nucleolar antigen p120 (Proliferation-associated nucleolar protein p120) (LOC516316), partial mRNA	516316	1,44	9,52	0,0054	0,94
<i>Canis familiaris</i> similar to ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 6 (LOC475636), mRNA	475636	1,28	8,92	0,0054	0,93

<i>Homo sapiens</i> microfibrillar-associated protein 1 (MFAP1), mRNA	4236	1,83	8,94	0,0054	0,93
<i>Bos taurus</i> similar to Fibrillarin (LOC538548), mRNA	538548	1,33	8,75	0,0055	0,91
<i>Homo sapiens</i> arginyltransferase 1 (ATE1), transcript variant 1, mRNA	11101	1,64	9,86	0,0055	0,90
<i>Bos taurus</i> similar to ring finger protein 12 (LOC539871), partial mRNA	539871	1,47	8,84	0,0055	0,90
<i>Bos taurus</i> similar to abhydrolase domain containing 6 (LOC505283), partial mRNA	505283	1,68	8,92	0,0055	0,89
<i>Homo sapiens</i> diacylglycerol kinase, zeta 104kDa (DGKZ), transcript variant 3, mRNA	8525	1,66	9,84	0,0055	0,89
<i>Bos taurus</i> similar to KIAA1949 protein (LOC539829), partial mRNA	539829	1,56	9,12	0,0055	0,87
<i>Bos taurus</i> similar to chromosome 21 open reading frame 70 (LOC512069), partial mRNA	512069	1,29	11,52	0,0055	0,86
<i>Canis familiaris</i> similar to hypothetical protein FLJ10099 (LOC479707), mRNA	479707	1,37	8,69	0,0056	0,85
<i>Bos taurus</i> similar to Tyrosine-protein phosphatase, non-receptor type 6 (Protein-tyrosine phosphatase 1C) (PTP-1C) (Hematopoietic cell protein-tyrosine phosphatase) (SH-PTP1) (Protein-tyrosine phosphatase SHP-1) (LOC512312), mRNA	512312	1,25	8,76	0,0056	0,84
<i>Bos taurus</i> similar to KIAA1018 protein (LOC513945), partial mRNA	513945	1,40	9,95	0,0056	0,84
<i>Bos taurus</i> lipidosin (BG1), mRNA	515577	1,45	9,36	0,0057	0,82
<i>Bos taurus</i> uroplakin IA (UPK1A), mRNA	282112	1,52	8,75	0,0057	0,81
<i>Bos taurus</i> similar to cleavage stimulation factor subunit 3 (LOC508491), mRNA	508491	1,39	8,74	0,0057	0,81
<i>Homo sapiens</i> bol, boule-like (Drosophila) (BOLL), transcript variant 1, mRNA	66037	1,65	9,10	0,0057	0,81
<i>Homo sapiens</i> nucleoredoxin (NXN), mRNA	64359	1,26	11,36	0,0057	0,80
<i>Homo sapiens</i> carbohydrate (chondroitin 4) sulfotransferase 11 (CHST11), mRNA	50515	1,39	8,81	0,0059	0,77
<i>Bos taurus</i> similar to Dystrobrevin alpha (Dystrobrevin-alpha) (LOC533963), partial mRNA	533963	1,46	8,82	0,0059	0,77
<i>Homo sapiens</i> chromosome 1 open reading frame 77 (C1orf77), mRNA	26097	1,65	9,77	0,0059	0,75
<i>Bos taurus</i> similar to mediator of RNA polymerase II transcription, subunit 18 homolog (LOC540695), mRNA	540695	1,31	13,19	0,0059	0,74
<i>Bos taurus</i> procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase precursor (PLOD), mRNA	281409	1,65	10,01	0,0059	0,74
<i>Bos taurus</i> similar to LAG1 longevity assurance homolog 2 isoform 1 (LOC539223), partial mRNA	539223	1,44	8,97	0,0059	0,73
<i>Bos taurus</i> cytokine induced protein 29 kDa (CIP29), mRNA	281691	1,79	10,08	0,0060	0,72
<i>Homo sapiens</i> neuro-oncological ventral antigen 1 (NOVA1), transcript variant 1, mRNA	4857	1,57	8,98	0,0060	0,71
<i>Bos taurus</i> similar to NAD(P)H:quinone oxidoreductase type 3, polypeptide A2 (LOC516287), mRNA	516287	1,46	9,62	0,0060	0,71
<i>Bos taurus</i> similar to colony stimulating factor 3 receptor isoform a precursor (LOC530567), partial mRNA	530567	1,59	9,64	0,0060	0,71
<i>Bos taurus</i> similar to Proteinase activated receptor 2 precursor (PAR-2) (Thrombin receptor-like 1) (Coagulation factor II receptor-like 1) (LOC526525), partial mRNA	526525	1,56	9,32	0,0061	0,69
<i>Rattus norvegicus</i> NFkB inhibitor interacting Ras-like protein 1 (predicted) (Nkiras1_predicted), mRNA	305751	1,38	8,73	0,0061	0,69
<i>Bos taurus</i> similar to Keratin, type I cytoskeletal 14 (Cytokeratin 14) (K14) (CK 14) (LOC504414), mRNA	504414	1,74	9,56	0,0061	0,68

<i>Homo sapiens</i> mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 interacting protein 1 (MAP3K7IP1), transcript variant alpha, mRNA	10454	1,30	9,38	0,0062	0,67
<i>Homo sapiens</i> RNA binding motif protein 4 (RBM4), mRNA	5936	1,42	12,58	0,0062	0,65
<i>Canis familiaris</i> similar to FKSG26 protein (LOC479609), mRNA	479609	1,31	9,05	0,0063	0,63
<i>Homo sapiens</i> Snf2-related CBP activator protein (SRCAP), mRNA	10847	1,69	8,89	0,0063	0,63
<i>Bos taurus</i> similar to OTTHUMP00000040984 (LOC539536), mRNA	539536	1,76	8,90	0,0063	0,63
<i>Bos taurus</i> potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 3 (KCNQ3), mRNA	281884	1,46	9,48	0,0064	0,61
<i>Homo sapiens</i> chromosome 3 open reading frame 6 (C3orf6), transcript variant 1, mRNA	152137	1,29	8,78	0,0064	0,61
<i>Homo sapiens</i> nitric oxide synthase 2A (inducible, hepatocytes) (NOS2A), transcript variant 1, mRNA	4843	1,35	9,58	0,0064	0,61
<i>Bos taurus</i> similar to DDR2 protein (LOC510074), partial mRNA	510074	1,34	10,40	0,0064	0,61
Sem anotação	NA	1,46	9,00	0,0064	0,60
<i>Homo sapiens</i> peroxisomal biogenesis factor 19 (PEX19), mRNA	5824	1,33	8,97	0,0064	0,59
<i>Homo sapiens</i> cAMP responsive element binding protein 3-like 1 (CREB3L1), mRNA	90993	1,83	8,98	0,0064	0,59
<i>Bos taurus</i> opioid binding protein/cell adhesion molecule-like (OPCML), mRNA	281957	1,42	8,66	0,0064	0,59
<i>Bos taurus</i> Fc fragment of IgG, low affinity IIa, receptor for (CD32) (FCGR2A), mRNA	282229	1,32	8,75	0,0065	0,58
<i>Homo sapiens</i> chromosome 1 open reading frame 119 (C1orf119), mRNA	56900	1,52	9,70	0,0065	0,58
<i>Homo sapiens</i> sterile alpha motif domain containing 12 (SAMD12), mRNA	401474	1,29	8,71	0,0065	0,57
<i>Bos taurus</i> gene rich cluster, C3f gene (C3F), mRNA	515361	1,30	8,73	0,0065	0,57
<i>Homo sapiens</i> Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 12 (ARHGEF12), mRNA	23365	1,47	8,82	0,0065	0,55
<i>Bos taurus</i> similar to SH2 domain containing 3C (LOC515820), partial mRNA	515820	1,66	8,86	0,0065	0,55
<i>Bos taurus</i> similar to RNA methyltransferase like 1 (LOC538817), partial mRNA	538817	1,53	9,36	0,0065	0,55
<i>Homo sapiens</i> acid phosphatase-like 2 (ACPL2), mRNA	92370	1,32	8,80	0,0065	0,55
<i>Pan troglodytes</i> similar to voltage-dependent calcium channel gamma subunit-like protein (LOC459575), mRNA	459575	1,47	9,40	0,0065	0,54
<i>Homo sapiens</i> drebrin 1 (DBN1), transcript variant 2, mRNA	1627	1,62	9,01	0,0065	0,54
<i>Homo sapiens</i> tubulin, gamma complex associated protein 5 (TUBGCP5), mRNA	114791	1,30	8,80	0,0065	0,54
<i>Bos taurus</i> regucalcin gene promotor region related protein (Rgpr), mRNA	404548	1,71	10,44	0,0066	0,53
<i>Bos taurus</i> similar to Centromere/kinetochore protein zw10 homolog (LOC511084), partial mRNA	511084	1,31	10,20	0,0066	0,52
<i>Homo sapiens</i> brain synembryon (hSyn), mRNA	55188	1,59	9,82	0,0066	0,52
<i>Bos taurus</i> similar to CXXC finger 5 (LOC541258), mRNA	541258	1,57	9,17	0,0066	0,51
<i>Bos taurus</i> similar to metalloprotease 1 (LOC518322), partial mRNA	518322	1,32	10,15	0,0066	0,50

<i>Bos taurus</i> similar to RIKEN cDNA 2010316F05 (LOC526913), partial mRNA	526913	1,37	8,75	0,0066	0,49
<i>Bos taurus</i> similar to Epithelial protein lost in neoplasm (PP624) (LOC540637), mRNA	540637	1,61	9,73	0,0067	0,49
<i>Homo sapiens</i> solute carrier family 35, member B2 (SLC35B2), mRNA	347734	1,42	10,52	0,0067	0,47
<i>Canis familiaris</i> similar to myosin IXA (LOC487630), mRNA	487630	1,33	8,93	0,0067	0,47
<i>Bos taurus</i> similar to MGC19604 protein (LOC505159), partial mRNA	505159	1,34	11,97	0,0068	0,46
<i>Bos taurus</i> regulator of G-protein signalling 7 (RGS7), mRNA	281452	1,28	8,69	0,0068	0,45
<i>Pan troglodytes</i> similar to splicing coactivator subunit SRm300; RNA binding protein; AT-rich element binding factor (LOC453842), mRNA	453842	1,64	9,13	0,0068	0,45
<i>Pan troglodytes</i> similar to Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 5 (Ubiquitin thiolesterase 5) (Ubiquitin-specific processing protease 5) (Deubiquitinating enzyme 5) (Isopeptidase T) (LOC451798), mRNA	451798	1,58	8,89	0,0068	0,45
<i>Bos taurus</i> gap junction protein, beta 6 (connexin 30) (GJB6), mRNA	508454	1,28	8,64	0,0068	0,44
<i>Bos taurus</i> similar to Chordin precursor (UNQ217/PRO243) (LOC530120), partial mRNA	530120	1,90	9,08	0,0069	0,43
<i>Homo sapiens</i> SEC24 related gene family, member D (<i>S. cerevisiae</i>) (SEC24D), mRNA	9871	1,47	8,78	0,0069	0,42
<i>Bos taurus</i> similar to RNA binding motif protein 17 (LOC505339), mRNA	505339	1,75	10,14	0,0069	0,42
<i>Bos taurus</i> similar to Putative eukaryotic translation initiation factor 3 subunit (eIF-3) (LOC506711), partial mRNA	506711	1,31	10,19	0,0069	0,41
<i>Bos taurus</i> similar to HSPC049 protein (LOC540606), partial mRNA	540606	1,41	15,21	0,0069	0,41
<i>Bos taurus</i> pleiotrophin [heparin binding growth factor 8, neurite growth-promoting factor 1] (PTN), mRNA	280904	1,83	9,88	0,0069	0,41
<i>Bos taurus</i> secreted phosphoprotein 1 (SPP1), mRNA	281499	1,43	8,76	0,0069	0,40
<i>Bos taurus</i> similar to RP42 homolog (LOC539869), partial mRNA	539869	1,48	9,05	0,0070	0,40
<i>Bos taurus</i> nuclear domain 10 protein (NDP52), mRNA	281942	1,40	8,80	0,0070	0,39
<i>Homo sapiens</i> sin3-associated polypeptide, 30kDa (SAP30), mRNA	8819	1,59	8,88	0,0070	0,39
<i>Mus musculus</i> UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 2 (Galnt2), mRNA	108148	1,47	8,85	0,0070	0,38
<i>Homo sapiens</i> glioblastoma amplified sequence (GBAS), mRNA	2631	1,73	10,76	0,0071	0,37
<i>Bos taurus</i> LOC515129 (LOC515129), mRNA	515129	1,69	9,68	0,0071	0,37
<i>Homo sapiens</i> tubulin, gamma 1 (TUBG1), mRNA	7283	1,40	8,83	0,0071	0,36
<i>Bos taurus</i> kelch domain containing 3 (KLHDC3), mRNA	541138	1,55	8,91	0,0071	0,36
<i>Bos taurus</i> similar to high-mobility group box 2 (LOC540444), mRNA	540444	1,28	8,59	0,0072	0,34
<i>Bos taurus</i> mannose-6-phosphate receptor (cation dependent) (M6PR), mRNA	281291	1,74	9,25	0,0072	0,34
<i>Homo sapiens</i> zinc finger, RAN-binding domain containing 3 (ZRANB3), mRNA	84083	1,47	8,77	0,0072	0,33
<i>Homo sapiens</i> chromosome 10 open reading frame 45 (C10orf45), mRNA	83641	1,40	8,83	0,0073	0,32
<i>Bos taurus</i> similar to PLU-1 protein (LOC520951), partial mRNA	520951	1,41	8,73	0,0073	0,31

<i>Bos taurus</i> similar to rho-GTPase activating protein (LOC507960), partial mRNA	507960	1,64	9,82	0,0074	0,30
<i>Homo sapiens</i> ankyrin repeat and FYVE domain containing 1 (ANKFY1), transcript variant 1, mRNA	51479	1,26	8,80	0,0074	0,30
<i>Homo sapiens</i> ATPase, Cu++ transporting, alpha polypeptide (Menkes syndrome) (ATP7A), mRNA	538	1,39	8,75	0,0074	0,29
<i>Bos taurus</i> nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha (NFKBIA), partial mRNA	282291	1,65	9,36	0,0075	0,27
<i>Bos taurus</i> similar to parvin, gamma (LOC505984), partial mRNA	505984	1,37	8,74	0,0075	0,26
<i>Bos taurus</i> similar to SCAN-related protein RAZ1 (LOC513983), partial mRNA	513983	1,31	8,91	0,0075	0,26
<i>Homo sapiens</i> phosphoglycerate dehydrogenase (PHGDH), mRNA	26227	1,27	8,85	0,0076	0,25
<i>Canis familiaris</i> similar to Frizzled 1 precursor (Frizzled-1) (Fz-1) (hFz1) (FzE1) (LOC482294), mRNA	482294	1,43	9,30	0,0076	0,24
<i>Bos taurus</i> similar to DNA-directed RNA polymerase I 40 kDa polypeptide (RPA40) (RPA39) (LOC516337), partial mRNA	516337	1,47	9,43	0,0076	0,23
<i>Bos taurus</i> similar to Probable ATP-dependent 61 kDa nucleolar RNA helicase (DEAD-box protein 56) (DEAD-box protein 21) (LOC508728), mRNA	508728	1,34	10,76	0,0076	0,23
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (LOC508735), partial mRNA	508735	1,40	8,74	0,0076	0,23
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein FLJ20364 (LOC515158), mRNA	515158	1,52	8,90	0,0076	0,23
<i>Pan troglodytes</i> LOC458199 (LOC458199), mRNA	458199	1,61	9,46	0,0077	0,22
<i>Rattus norvegicus</i> similar to Pleckstrin homology domain containing, family A member 6 (LOC360842), mRNA	360842	1,27	9,86	0,0077	0,21
<i>Rattus norvegicus</i> similar to hypothetical protein LOC168850 (LOC500057), mRNA	500057	1,31	8,64	0,0077	0,20
<i>Bos taurus</i> similar to interleukin 1 receptor-like 1 ligand precursor (LOC538144), partial mRNA	538144	1,38	8,76	0,0077	0,20
<i>Homo sapiens</i> solute carrier family 33 (acetyl-CoA transporter), member 1 (SLC33A1), mRNA	9197	1,28	8,63	0,0079	0,18
<i>Bos taurus</i> similar to Peroxisomal membrane protein PMP34 (34 kDa peroxisomal membrane protein) (Solute carrier family 25, member 17) (LOC506631), partial mRNA	506631	1,52	8,94	0,0080	0,16
<i>Bos taurus</i> similar to RP11-208F1.2 (LOC508906), partial mRNA	508906	1,24	8,91	0,0080	0,15
<i>Bos taurus</i> similar to Beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase manic fringe (O-fucosylpeptide 3-beta-N-acetylglucosaminyltransferase) (LOC505267), partial mRNA	505267	1,52	9,78	0,0080	0,15
<i>Bos taurus</i> similar to rcd1 (required for cell differentiation) homolog 1 (LOC515329), partial mRNA	515329	1,38	8,74	0,0080	0,15
<i>Bos taurus</i> LOC505726 (LOC505726), mRNA	505726	1,39	9,02	0,0080	0,14
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein DKFZp434I099 (LOC526002), partial mRNA	526002	1,45	9,04	0,0080	0,13
<i>Bos taurus</i> BCL2-like 1 (BCL2L1), mRNA	282152	1,48	9,33	0,0080	0,13
<i>Homo sapiens</i> SRY (sex determining region Y)-box 13 (SOX13), mRNA	9580	1,60	9,59	0,0081	0,12
<i>Bos taurus</i> ancient ubiquitous protein 1 (AUP1), mRNA	509130	1,41	9,18	0,0081	0,12
<i>Homo sapiens</i> fragile X mental retardation, autosomal homolog 2 (FXR2), mRNA	9513	1,64	9,99	0,0082	0,10
<i>Bos taurus</i> ribonuclease k6 (RNASE6), mRNA	282341	1,29	8,81	0,0082	0,09

<i>Bos taurus</i> similar to RIKEN cDNA 9330161F08 (LOC510818), partial mRNA	510818	1,54	8,86	0,0082	0,08
<i>Bos taurus</i> similar to Hypothetical protein KIAA0514 (LOC540175), mRNA	540175	1,52	8,95	0,0082	0,08
<i>Homo sapiens</i> ring finger protein 144 (RNF144), mRNA	9781	1,35	8,91	0,0082	0,07
<i>Bos taurus</i> similar to KIAA0676 protein isoform a (LOC514521), partial mRNA	514521	1,61	9,07	0,0082	0,06
<i>Bos taurus</i> dynactin 4 (MGC3248), mRNA	506441	1,41	9,10	0,0082	0,06
<i>Bos taurus</i> similar to lung type-I cell membrane-associated glycoprotein isoform a (LOC509732), partial mRNA	509732	1,45	8,88	0,0083	0,06
<i>Canis familiaris</i> similar to putative exosome complex exonuclease RRP41 (LOC482086), mRNA	482086	1,31	10,37	0,0083	0,05
<i>Bos taurus</i> similar to multidrug resistance protein 2 (LOC514914), partial mRNA	514914	1,26	8,66	0,0083	0,05
GB AF273330.1 AAG13671.1 voltage-dependent calcium channel subunit gamma	781184	1,65	10,06	0,0083	0,04
<i>Homo sapiens</i> histone deacetylase 3 (HDAC3), mRNA	8841	1,56	9,20	0,0084	0,03
<i>Bos taurus</i> similar to Nucleoporin SEH1 (SEC13-like protein) (LOC506020), mRNA	506020	1,49	9,21	0,0085	0,01
<i>Bos taurus</i> similar to putative inhibitor of apoptosis (LOC514386), mRNA	514386	1,59	9,91	0,0085	0,01
<i>Homo sapiens</i> proline rich 3 (PRR3), mRNA	80742	1,39	8,91	0,0086	0,00
<i>Homo sapiens</i> ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 4 (ABCG4), mRNA	64137	1,53	8,84	0,0086	0,00

[†]expressa em log₂

Apêndice 2A. Genes DE em animais Angus alimentados com a dieta AE.

Gene	Entrez Gene ID	Fold change	Intensidade média ¹	FDR	B
similar to UP Q20WK1_HUMAN (Q20WK1) IL17R protein, partial (71%)	23765	2,06	11,56	0,0003	9,12
UP CD14_BOVIN (Q95122) Monocyte differentiation antigen CD14 precursor (Myeloid cell-specific leucine-rich glycoprotein), complete	281048	1,71	10,27	0,0006	7,46
<i>Homo sapiens</i> calcium homeostasis endoplasmic reticulum protein (CHERP), mRNA	10523	1,87	11,79	0,0006	7,19
Similar to carbonic anhydrase III (carbonate dehydratase III) (ca-III)	513212	1,77	9,50	0,0006	7,09
<i>Homo sapiens</i> erythrocyte membrane protein band 4,1 like 4A (EPB41L4A), mRNA	64097	1,75	11,66	0,0008	6,61
<i>Bos taurus</i> similar to RING finger protein 31 (Zinc in-between-RING-finger ubiquitin-associated domain protein) (LOC509856), mRNA	509856	1,77	9,66	0,0008	6,35
Sem anotação	NA	2,54	10,45	0,0010	5,91
<i>Bos taurus</i> intercellular adhesion molecule 3 (ICAM3), mRNA	281840	1,79	12,03	0,0010	5,84
<i>Bos taurus</i> similar to synaptotagmin I variant b (LOC509428), partial mRNA	509428	1,85	11,23	0,0010	5,74
<i>Bos taurus</i> similar to alpha-smooth muscle actin (LOC535103), mRNA	535103	3,32	11,97	0,0010	5,69
<i>Bos taurus</i> chemokine (C-X-C motif) ligand 2 (CXCL2), mRNA	281734	1,71	9,08	0,0012	5,38
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein S15a (RPS15A), mRNA	337888	1,55	9,59	0,0012	5,31
similar to UP STAT2_PIG (O02799) Signal transducer and activator of transcription 2, partial (59%)	396923	1,67	11,35	0,0016	4,89
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein FLJ10357 (LOC527362), partial mRNA	527362	1,62	10,80	0,0016	4,71
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein L31 (RPL31), mRNA	534279	2,49	10,55	0,0016	4,64
<i>Bos taurus</i> LOC514231 (LOC514231), mRNA	514231	1,56	11,31	0,0016	4,47
UP ACTG_BOVIN (P63258) Actin, cytoplasmic 2 (Gamma-actin), complete	404122	2,33	10,79	0,0016	4,47
<i>Homo sapiens</i> plexin A1 (PLXNA1), mRNA	5361	1,77	13,01	0,0016	4,47
<i>Bos taurus</i> similar to bucentaur (LOC521367), partial mRNA	521367	2,47	13,35	0,0020	4,14
PR DOMAIN CONTAINING 1, WITH ZNF DOMAIN	639	1,66	9,83	0,0020	4,09
<i>Pan troglodytes</i> similar to neuralized-like (LOC462362), mRNA	462362	1,63	9,83	0,0020	4,01
TRIGGERING RECEPTOR EXPRESSED ON MYELOID CELLS-1	404547	1,73	10,69	0,0020	3,98
<i>Canis familiaris</i> similar to Integrin beta-4 precursor (GP150) (CD104 antigen) (LOC483318), mRNA	483318	1,67	9,38	0,0020	3,97
<i>Bos taurus</i> chemokine (C motif) ligand 1 (XCL1), mRNA	319096	1,55	8,88	0,0021	3,83
UP Q599T9_BOVIN (Q599T9) Myeloid differentiation protein (Myeloid differentiation factor 88), complete	444881	1,89	10,89	0,0021	3,82
<i>Bos taurus</i> similar to selenophosphate synthetase 2 (LOC512060), mRNA	512060	1,64	9,90	0,0021	3,68

filamin-1 [<i>Bos taurus</i>]	613533	1,55	8,75	0,0021	3,68
<i>Bos taurus</i> similar to large subunit ribosomal protein L36a (LOC508165), mRNA	508165	1,71	9,51	0,0021	3,57
UP CLD2_BOVIN (Q765P1) Claudin-2, complete	404089	1,41	9,75	0,0021	3,56
<i>Bos taurus</i> NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 4, 9kDa (NDUFA4), mRNA	327704	1,57	9,63	0,0021	3,55
<i>Bos taurus</i> peroxiredoxin 3 (PRDX3), mRNA	281998	1,52	9,42	0,0021	3,55
<i>Bos taurus</i> similar to NF-kappaB inducing kinase (LOC508366), mRNA	508366	1,48	8,99	0,0021	3,51
<i>Homo sapiens</i> giant axonal neuropathy (gigaxonin) (GAN), mRNA	8139	1,53	12,61	0,0022	3,41
<i>Bos taurus</i> insulin-like growth factor 2 receptor (IGF2R), mRNA	281849	1,86	11,16	0,0025	3,20
<i>Bos taurus</i> similar to carbonic anhydrase-like protein (LOC513212), mRNA	513212	3,02	10,42	0,0026	3,03
<i>Bos taurus</i> similar to NFAT activation molecule 1 precursor (LOC512151), partial mRNA	512151	1,60	9,42	0,0026	2,99
<i>Pan troglodytes</i> cytochrome b5 reductase (LOC458883), mRNA	458883	1,47	9,31	0,0027	2,94
<i>Bos taurus</i> similar to nucleophosmin 1 (LOC536964), partial mRNA	536964	1,51	10,63	0,0027	2,90
<i>Bos taurus</i> similar to SH3KBP1 binding protein 1 (LOC534178), partial mRNA	534178	1,38	9,40	0,0027	2,90
Sem anotação	NA	1,55	9,16	0,0029	2,78
<i>Bos taurus</i> similar to pecanex-like 3 (LOC536942), partial mRNA	536942	1,49	9,79	0,0029	2,75
<i>Bos taurus</i> tumor suppressor candidate 4 (TUSC4), mRNA	508487	1,41	10,76	0,0030	2,72
UP Q9TTA4_BOVIN (Q9TTA4) N-type calcium channel alpha1B subunit, complete	282410	1,64	10,30	0,0030	2,65
<i>Bos taurus</i> StAR-binding protein (C6orf18), mRNA	514215	1,47	9,81	0,0030	2,63
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (LOC532754), mRNA	532754	1,52	10,94	0,0032	2,54
<i>Bos taurus</i> similar to ubiquitin specific protease 40 (LOC531972), partial mRNA	531972	1,41	9,04	0,0032	2,53
<i>Homo sapiens</i> progesterone receptor (PGR), mRNA	5241	1,40	9,40	0,0032	2,49
<i>Bos taurus</i> paired basic amino acid cleaving enzyme [furin, membrane associated receptor protein] (FURIN), mRNA	281374	1,72	9,89	0,0032	2,40
Sem anotação	NA	1,57	8,75	0,0032	2,40
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein S25 (RPS25), mRNA	282052	1,46	9,42	0,0032	2,39
<i>Bos taurus</i> likely ortholog of mouse gene trap locus 3 (GTL3), mRNA	445424	1,60	9,29	0,0032	2,37
<i>Canis familiaris</i> gamma-sarcoglycan (SGCG), mRNA	486043	1,54	9,12	0,0032	2,35
Sem anotação	NA	1,39	8,84	0,0032	2,34
homologue to UP TBK1_HUMAN (Q9UHD2) Serine/threonine-protein kinase TBK1 (TANK-binding kinase 1) (T2K) (NF-kappa-B-activating kinase) , partial (43%)	29110	1,61	9,41	0,0032	2,32
<i>Bos taurus</i> similar to PAPD4 protein (LOC533862), partial mRNA	533862	1,44	9,37	0,0032	2,31

<i>Bos taurus</i> mitochondrial NADH:ubiquinone oxidoreductase B14,7 (b14,7), mRNA	326346	1,46	9,94	0,0032	2,29
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein L9 (RPL9), mRNA	282884	1,37	9,11	0,0032	2,28
<i>Bos taurus</i> inositol 1,4,5-triphosphate receptor, type 3 (ITPR3), mRNA	281879	1,42	9,75	0,0032	2,26
<i>Bos taurus</i> similar to alpha-kinase 1 (LOC514496), partial mRNA	514496	1,55	10,94	0,0032	2,25
<i>Canis familiaris</i> similar to homolog of yeast mRNA transport regulator 3 (LOC489713), mRNA	489713	1,67	9,56	0,0032	2,25
"homologue to GB AAB66313,1 2316012 HSU92268 mitogen activated protein kinase p38-2 { <i>Homo sapiens</i> } (exp=-1; wgp=0; cg=0), partial (78%)"	5600	1,45	10,67	0,0032	2,24
<i>Pan troglodytes</i> hypothetical protein XP_516978 (LOC460967), mRNA	460967	1,49	10,03	0,0033	2,20
Sem anotação	NA	1,31	9,24	0,0033	2,16
homologue to UP Q53YD7_HUMAN (Q53YD7) Eukaryotic translation elongation factor 1 gamma (EEF1G protein) (GIG35), complete	1937	1,48	8,86	0,0033	2,15
"GB AAA02571,1 163188 BOVIFNRA alpha-interferon receptor { <i>Bos taurus</i> } (exp=-1; wgp=0; cg=0), complete"	616826	1,51	9,55	0,0033	2,14
<i>Ovis aries</i> lipoprotein lipase (LPL), mRNA	443408	1,34	9,02	0,0033	2,12
<i>Bos taurus</i> similar to Acylphosphatase, muscle type isozyme (Acylphosphate phosphohydrolase) (LOC540763), partial mRNA	540763	1,47	9,67	0,0034	2,06
<i>Bos taurus</i> similar to adaptor protein DAPP1 (LOC523128), partial mRNA	523128	1,48	9,25	0,0035	1,97
UP P53_BOSIN (P67938) Cellular tumor antigen p53 (Tumor suppressor p53), complete	281542	1,51	9,34	0,0035	1,95
<i>Bos taurus</i> guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 1 (GNB1), mRNA	281201	1,38	9,60	0,0035	1,94
<i>Bos taurus</i> tumor rejection antigen (gp96) 1 (TRA1), mRNA	282646	1,75	11,44	0,0036	1,90
<i>Bos taurus</i> similar to Dual specificity testis-specific protein kinase 2 (Testicular protein kinase 2) (LOC539979), partial mRNA	539979	1,32	8,93	0,0036	1,88
<i>Bos taurus</i> similar to ATP synthase B chain, mitochondrial precursor (LOC538809), mRNA	538809	1,42	9,49	0,0036	1,86
<i>Homo sapiens</i> NEL-like 2 (chicken) (NELL2), mRNA	4753	1,58	9,06	0,0037	1,82
<i>Bos taurus</i> MYC induced nuclear antigen (MINA), mRNA	540466	1,53	10,79	0,0037	1,81
homologue to UP Q95N13_SHEEP (Q95N13) Erythropoietin receptor (Fragment), partial (70%)	281144	1,54	9,79	0,0037	1,81
UP IL5_BOVIN (P52173) Interleukin-5 precursor (IL-5) (T-cell replacing factor) (TRF) (Eosinophil differentiation factor), complete	280825	1,80	9,48	0,0038	1,76
<i>Bos taurus</i> similar to Oxysterol binding protein-related protein 2 (OSBP-related protein 2) (ORP-2) (LOC505328), mRNA	505328	1,38	9,61	0,0038	1,76
<i>Homo sapiens</i> UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 13 (GalNac-T13) (GALNT13), mRNA	114805	1,43	9,83	0,0039	1,73
<i>Homo sapiens</i> zuotin related factor 1 (ZRF1), mRNA	27000	1,55	9,28	0,0039	1,71
<i>Bos taurus</i> similar to elongation of very long chain fatty acids (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3, yeast)-like 1 (LOC540348), partial mRNA	540348	1,34	9,03	0,0040	1,67
<i>Homo sapiens</i> transmembrane trafficking protein (TMP21), mRNA	10972	1,54	11,17	0,0041	1,64

<i>Bos taurus</i> similar to splicing factor, arginine/serine-rich 2, interacting protein (LOC538632), partial mRNA	538632	1,34	9,24	0,0042	1,61
<i>Bos taurus</i> similar to ribosomal protein L5 (LOC515238), mRNA	515238	1,53	9,59	0,0042	1,57
"homologue to GB AAH26841,1 20070856 BC026841 Mef2c protein { <i>Mus musculus</i> } (exp=-1; wgp=0; cg=0), complete"	17260	1,72	11,76	0,0042	1,55
<i>Homo sapiens</i> chromosome 22 open reading frame 16 (C22orf16), mRNA	400916	1,36	9,42	0,0042	1,54
<i>Bos taurus</i> similar to plectin 1 (LOC526744), partial mRNA	526744	1,37	9,77	0,0042	1,53
<i>Bos taurus</i> similar to FLJ11171 protein (LOC507425), mRNA	507425	1,36	9,29	0,0043	1,49
<i>Bos taurus</i> similar to CC chemokine ligand 19 (LOC509167), mRNA	509167	1,51	8,97	0,0043	1,47
UP IL12B_BOVIN (P46282) Interleukin-12 beta chain precursor (IL-12B) (IL-12 p40) (Cytotoxic lymphocyte maturation factor 40 kDa subunit) (CLMF p40), complete	281857	1,46	8,90	0,0043	1,46
<i>Bos taurus</i> similar to KIAA1754-like, isoform 2 (LOC539436), mRNA	539436	1,40	9,49	0,0043	1,45
<i>Bos taurus</i> similar to SCY1-like 2 protein (LOC534493), mRNA	534493	1,56	9,55	0,0043	1,44
<i>Bos taurus</i> similar to Wee1-like protein kinase (WEE1hu) (LOC540322), partial mRNA	540322	1,42	9,56	0,0043	1,42
<i>Homo sapiens</i> dedicator of cytokinesis 2 (DOCK2), mRNA	1794	1,47	9,52	0,0044	1,41
<i>Homo sapiens</i> forkhead box F2 (FOXF2), mRNA	2295	1,53	9,11	0,0044	1,40
similar to UP Q9WUT2_MOUSE (Q9WUT2) Voltage-gated calcium channel, alpha-1-G subunit, partial (15%)	12291	1,47	9,14	0,0044	1,37
<i>Bos taurus</i> glucuronyltransferase I (B3GAT3), mRNA	404162	1,54	9,53	0,0044	1,36
similar to UP TNFL9_HUMAN (P41273) Tumor necrosis factor ligand superfamily member 9 (4-1BB ligand) (4-1BBL), partial (17%)	8744	1,60	10,72	0,0044	1,36
<i>Bos taurus</i> similar to malignant fibrous histiocytoma amplified sequence 1 (LOC540498), mRNA	540498	1,31	10,09	0,0046	1,32
<i>Homo sapiens</i> armadillo repeat containing 8 (ARMC8), mRNA	25852	1,45	10,07	0,0047	1,30
homologue to UP Q7TQN4_RAT (Q7TQN4) RELA (V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A), partial (49%)	309165	1,34	9,94	0,0047	1,29
<i>Homo sapiens</i> slit homolog 2 (<i>Drosophila</i>) (SLIT2), mRNA	9353	1,44	10,34	0,0047	1,29
homologue to UP Q6QAQ1_PIG (Q6QAQ1) Cytoskeletal beta actin (Fragment), complete	280979	1,45	9,72	0,0047	1,27
<i>Bos taurus</i> similar to Inositol hexakisphosphate kinase 2 (InsP6 kinase 2) (Inositol hexakisphosphate kinase 2) (P(i)-uptake stimulator) (PiUS) (LOC508236), mRNA	508236	1,48	9,07	0,0049	1,21
<i>Bos taurus</i> similar to family with sequence similarity 20, member C (LOC534672), partial mRNA	534672	1,35	8,91	0,0049	1,21
<i>Canis familiaris</i> similar to reticulon 4 isoform C (LOC474598), mRNA	474598	1,66	9,47	0,0050	1,20
<i>Bos taurus</i> similar to Cysteine and glycine-rich protein 2 (Cysteine-rich protein 2) (CRP2) (Smooth muscle cell LIM protein) (SmLIM) (LIM-only protein 5) (LOC539381), partial mRNA	539381	1,38	11,77	0,0050	1,19
<i>Bos taurus</i> similar to neuronal calcium-binding protein 2 (LOC508250), partial mRNA	508250	1,49	8,67	0,0050	1,19
<i>Homo sapiens</i> protein-kinase, interferon-inducible double stranded RNA dependent inhibitor, repressor of (P58 repressor) (PRKRIR), mRNA	5612	1,38	9,15	0,0050	1,18

<i>Bos taurus</i> similar to Insulin-induced protein 1 (Insulin-induced growth response protein CL-6) (Immediate-early protein CL-6) (LOC511899), partial mRNA	511899	1,45	10,11	0,0051	1,15
<i>Bos taurus</i> similar to RIKEN cDNA 6430402H13 gene (LOC512879), mRNA	512879	1,33	10,00	0,0051	1,14
"similar to GB AAK28062,1 13492052 AF316873 protein kinase BRPK { <i>Homo sapiens</i> } (exp=-1; wgp=0; cg=0) , partial (81%)"	65018	1,40	8,84	0,0051	1,14
Sem anotação	NA	1,49	9,85	0,0051	1,12
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein S29 (RPS29), mRNA	286884	1,41	8,92	0,0051	1,11
<i>Bos taurus</i> H3 histone, family 3A (H3F3A), mRNA	326601	1,49	9,32	0,0052	1,06
<i>Homo sapiens</i> protein phosphatase 2, regulatory subunit B (B56), alpha isoform (PPP2R5A), mRNA	5525	1,34	8,97	0,0053	1,04
<i>Bos taurus</i> DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 5 (DNAJB5), mRNA	540083	1,47	9,20	0,0053	1,03
<i>Bos taurus</i> peroxisome proliferative activated receptor, gamma (PPARG), mRNA	281993	1,94	12,78	0,0053	1,02
<i>Homo sapiens</i> ubiquitin-like 5 (UBL5), mRNA	59286	1,30	9,65	0,0053	1,02
<i>Canis familiaris</i> similar to eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 3 (LOC478202), mRNA	478202	1,45	10,78	0,0053	1,00
<i>Homo sapiens</i> collagen, type III, alpha 1 (Ehlers-Danlos syndrome type IV, autosomal dominant) (COL3A1), mRNA	1281	1,62	10,88	0,0053	0,99
<i>Bos taurus</i> heat shock 70 kDa protein 8 (HSPA8), mRNA	281831	1,51	9,68	0,0054	0,97
<i>Bos taurus</i> similar to histone acetyltransferase MORF (LOC524316), partial mRNA	524316	1,48	8,98	0,0054	0,96
<i>Bos taurus</i> similar to Tripartite motif protein 38 (RING finger protein 15) (Zinc finger protein RoRet) (LOC531022), partial mRNA	531022	1,35	8,87	0,0054	0,95
<i>Homo sapiens</i> transportin 3 (TNPO3), mRNA	23534	1,49	9,77	0,0054	0,94
"RF NP_001030435,1 78369328 NM_001035358 MAP kinase interacting serine/threonine kinase 1 { <i>Bos taurus</i> } (exp=-1; wgp=0; cg=0), complete"	525647	1,41	9,12	0,0054	0,92
<i>Bos taurus</i> similar to Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1 (p195) (LOC532715), mRNA	532715	1,53	9,18	0,0055	0,91
"homologue to GB AAD55586,1 5902966 AF055084 very large G-protein coupled receptor-1 { <i>Homo sapiens</i> } (exp=-1; wgp=0; cg=0), partial (9%)"	84059	1,34	9,50	0,0055	0,91
<i>Bos taurus</i> similar to Eph receptor A2 (LOC512798), partial mRNA	512798	1,30	8,77	0,0055	0,89
<i>Bos taurus</i> similar to hect domain and RLD 2 (LOC515043), mRNA	515043	1,35	9,75	0,0055	0,89
<i>Homo sapiens</i> PHD finger protein 10 (PHF10), transcript variant 1, mRNA	55274	1,33	9,94	0,0055	0,89
<i>Bos taurus</i> similar to Tyrosine-protein kinase receptor TYRO3 precursor (Tyrosine-protein kinase RSE) (Tyrosine-protein kinase SKY) (Tyrosine-protein kinase DTK) (Protein-tyrosine kinase byk) (LOC539987), mRNA	539987	1,59	9,49	0,0055	0,89
<i>Bos taurus</i> similar to Chromatin assembly factor 1 subunit A (CAF-1 subunit A) (Chromatin assembly factor I p150 subunit) (CAF-I 150 kDa subunit) (CAF-Ip150) (LOC510227), partial mRNA	510227	1,47	10,05	0,0055	0,89
Sem anotação	NA	1,37	9,46	0,0055	0,88
<i>Bos taurus</i> similar to Leukocyte elastase inhibitor (LEI) (Leucocyte neutral proteinase inhibitor) (LNPI) (LOC507264), partial mRNA	507264	1,48	9,74	0,0055	0,87
<i>Bos taurus</i> similar to alpha 3 type VI collagen isoform 1 precursor (LOC506360), partial mRNA	506360	1,52	9,85	0,0055	0,87

<i>Bos taurus</i> E74-like factor 5 ESE-2a (ELF5), mRNA	539420	1,27	9,73	0,0057	0,82
<i>Homo sapiens</i> transmembrane emp24 domain containing 3 (TMED3), mRNA	23423	1,47	9,43	0,0057	0,82
<i>Homo sapiens</i> actin related protein 2/3 complex, subunit 1A, 41kDa (ARPC1A), mRNA	10552	1,35	9,21	0,0057	0,81
<i>Homo sapiens</i> Rho family GTPase 1 (RND1), mRNA	27289	1,70	13,37	0,0057	0,80
<i>Canis familiaris</i> similar to RNA polymerase transcriptional regulation mediator, subunit 6 homolog (Activator-recruited cofactor 33 kDa component) (ARC33) (NY-REN-28 antigen) (LOC490763), mRNA	490763	1,62	9,42	0,0059	0,76
<i>Mus musculus</i> GDP-mannose 4, 6-dehydratase (Gmds), mRNA	218138	1,47	10,48	0,0059	0,76
<i>Bos taurus</i> similar to Cofactor required for Sp1 transcriptional activation subunit 9 (Transcriptional coactivator CRSP33) (RNA polymerase transcriptional regulation mediator subunit 7 homolog) (hMED7) (Activator-recruited cofactor 34 kDa component) (ARC34),,, (LOC509729), mRNA	509729	1,48	9,03	0,0059	0,76
homologue to UP MP2K2_HUMAN (P36507) Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 2 (MAP kinase kinase 2) (MAPKK 2) (ERK activator kinase 2) (MAPK/ERK kinase 2) (MEK2) , partial (96%)	5605	1,55	9,89	0,0059	0,75
<i>Bos taurus</i> similar to platelet-derived growth factor receptor beta (LOC527165), partial mRNA	527165	1,39	8,58	0,0059	0,74
<i>Bos taurus</i> similar to developmentally regulated protein TPO1 (LOC504658), partial mRNA	504658	1,57	9,17	0,0059	0,74
UP INHBA_BOVIN (P07995) Inhibin beta A chain precursor (Activin beta-A chain), complete	281867	1,59	9,66	0,0062	0,67
<i>Bos taurus</i> myoglobin (MB), mRNA	280695	1,64	11,16	0,0062	0,67
<i>Bos taurus</i> Abl-philin 2 isoform 2 (ZDHHC16), mRNA	506085	1,57	10,04	0,0062	0,67
<i>Bos taurus</i> similar to Band 4,1-like protein 2 (Generally expressed protein 4,1) (4,1G) (LOC538959), partial mRNA	538959	1,52	9,19	0,0062	0,65
<i>Bos taurus</i> similar to Bai2 protein (LOC506672), partial mRNA	506672	1,43	10,38	0,0062	0,65
<i>Bos taurus</i> similar to PRIP-interacting protein PIPMT (LOC534012), partial mRNA	534012	1,36	10,27	0,0063	0,63
<i>Sus scrofa</i> catalase (CAT), mRNA	397568	1,30	9,68	0,0063	0,62
<i>Homo sapiens</i> acetyl-Coenzyme A acyltransferase 1 (peroxisomal 3-oxoacyl-Coenzyme A thiolase) (ACAA1), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA	30	1,46	8,85	0,0065	0,57
<i>Bos taurus</i> similar to Pescadillo homolog 1 (LOC511676), partial mRNA	511676	1,39	9,45	0,0065	0,56
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein L9 (RPL9), mRNA	282884	1,29	9,35	0,0065	0,55
homologue to UP MK03_HUMAN (P27361) Mitogen-activated protein kinase 3 (Extracellular signal-regulated kinase 1) (ERK-1) (Insulin-stimulated MAP2 kinase) (MAP kinase 1) (MAPK 1) (p44-ERK1) (ERT2) (p44-MAPK) (Microtubule-associated protein 2 kinase) , complete	5595	1,43	9,64	0,0065	0,55
<i>Homo sapiens</i> Kruppel-like factor 2 (lung) (KLF2), mRNA	10365	1,31	8,76	0,0066	0,53
<i>Bos taurus</i> similar to Ten-m1 (LOC522696), partial mRNA	522696	1,67	9,02	0,0066	0,52
<i>Homo sapiens</i> netrin 2-like (chicken) (NTN2L), mRNA	4917	1,52	10,82	0,0066	0,52
<i>Homo sapiens</i> microtubule-actin crosslinking factor 1 (MACF1), transcript variant 1, mRNA	23499	1,40	9,65	0,0066	0,51
<i>Bos taurus</i> similar to NIF3L1 protein (LOC509473), mRNA	509473	1,44	10,32	0,0066	0,51
<i>Mus musculus</i> protein phosphatase 1, regulatory subunit 9B (Ppp1r9b), mRNA	217124	1,42	9,30	0,0066	0,50

<i>Bos taurus</i> similar to Sfrs7 protein (LOC507066), mRNA	507066	1,49	9,28	0,0066	0,50
"GB AAA13844,1 265430 S55305 14-3-3 protein gamma subtype {Rattus sp.} (exp=-1; wgp=0; cg=0), complete"	286862	1,38	9,53	0,0066	0,49
<i>Bos taurus</i> similar to YLP motif containing protein 1 (Nuclear protein ZAP3) (ZAP113) (LOC540849), partial mRNA	540849	1,37	8,81	0,0067	0,48
<i>Bos taurus</i> similar to ferritin repressor protein (LOC512995), partial mRNA	512995	1,49	9,84	0,0068	0,46
<i>Bos taurus</i> similar to chemokine orphan receptor 1 (LOC509585), mRNA	509585	1,37	9,23	0,0068	0,45
<i>Bos taurus</i> similar to transforming growth factor, beta 2 (LOC534069), mRNA	534069	1,31	8,58	0,0069	0,43
<i>Bos taurus</i> similar to ankyrin repeat protein (LOC540745), mRNA	540745	1,36	9,30	0,0069	0,41
<i>Bos taurus</i> similar to Sorting nexin 15 (LOC507751), partial mRNA	507751	1,37	9,87	0,0070	0,38
<i>Pan troglodytes</i> similar to PLK interacting protein (LOC462834), mRNA	462834	1,55	9,60	0,0071	0,37
<i>Bos taurus</i> similar to Mitochondrial 39S ribosomal protein L27 (L27mt) (MRP-L27) (HSPC250) (LOC510058), mRNA	510058	1,38	10,18	0,0071	0,37
<i>Bos taurus</i> similar to guanine nucleotide-releasing factor 2 isoform a (LOC520454), partial mRNA	520454	1,49	10,50	0,0071	0,35
<i>Bos taurus</i> guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha stimulating activity polypeptide 1 (GNAS1), mRNA	281793	1,33	9,58	0,0073	0,33
UP Q9MZT0_BOVIN (Q9MZT0) Fc gamma receptor I, complete	282227	1,29	8,85	0,0073	0,32
Sem anotação	NA	1,34	9,49	0,0073	0,32
<i>Bos taurus</i> tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP4), partial mRNA	317694	1,67	10,04	0,0073	0,31
<i>Bos taurus</i> similar to adipose tissue-specific protein adipo Q (LOC508020), mRNA	508020	1,39	10,48	0,0074	0,30
voltage-dependent calcium channel subunit alpha2/delta	282608	1,69	12,37	0,0075	0,28
<i>Bos taurus</i> thrombospondin (THBS), mRNA	281530	1,56	8,65	0,0075	0,27
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (LOC535190), mRNA	535190	1,31	8,54	0,0075	0,26
<i>Homo sapiens</i> Janus kinase 1 (a protein tyrosine kinase) (JAK1), mRNA	3716	1,38	9,70	0,0076	0,25
<i>Homo sapiens</i> TBC1 domain family, member 22B (TBC1D22B), mRNA	55633	1,76	12,69	0,0076	0,25
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein FLJ12681 (LOC505124), partial mRNA	505124	1,51	9,08	0,0076	0,24
<i>Bos taurus</i> similar to neuropilin 2 isoform 5 precursor (LOC541004), mRNA	541004	1,39	10,01	0,0076	0,24
weakly similar to UP Q9W3N8_DROME (Q9W3N8) CG17256-PA (LD04361p), partial (6%)	31696	1,38	11,41	0,0076	0,23
<i>Rattus norvegicus</i> matrix metalloproteinase 3 (Mmp3), mRNA	171045	1,29	8,76	0,0077	0,22
<i>Homo sapiens</i> chromosome 6 open reading frame 106 (C6orf106), transcript variant 2, mRNA	64771	1,31	10,32	0,0077	0,22
<i>Homo sapiens</i> chromosome 10 open reading frame 6 (C10orf6), mRNA	55719	1,45	10,81	0,0077	0,20
<i>Bos taurus</i> similar to inositol polyphosphate-5-phosphatase, 145kDa (LOC507329), partial mRNA	507329	1,63	10,77	0,0077	0,20
<i>Homo sapiens</i> cullin 1 (CUL1), mRNA	8454	1,46	11,86	0,0077	0,20

<i>Canis familiaris</i> similar to GLI-Kruppel family member GLI3 (LOC483244), mRNA	483244	1,48	12,64	0,0078	0,18
<i>Bos taurus</i> similar to protein phosphatase 2, regulatory subunit B isoform 1 (LOC534818), mRNA	534818	1,45	9,30	0,0079	0,17
<i>Homo sapiens</i> hypothetical protein LOC126248 (LOC126248), mRNA	126248	1,44	9,50	0,0080	0,16
<i>Bos taurus</i> S100 calcium binding protein A11 (calgizzarin) (S100A11), partial mRNA	337886	1,72	9,49	0,0080	0,16
<i>Bos taurus</i> similar to F-box and leucine-rich repeat protein 11 (LOC540141), partial mRNA	540141	1,32	8,67	0,0080	0,15
<i>Bos taurus</i> similar to U1 small nuclear ribonucleoprotein A (U1 snRNP protein A) (U1A protein) (U1-A) (LOC509802), mRNA	509802	1,41	8,70	0,0080	0,13
<i>Bos taurus</i> similar to topoisomerase (DNA) III beta (LOC520502), partial mRNA	520502	1,43	9,05	0,0080	0,13
<i>Bos taurus</i> adenosine deaminase (ADA), mRNA	280712	1,44	9,11	0,0080	0,13
<i>Bos taurus</i> similar to Protein FAN (Factor associated with N-SMase activation) (Factor associated with neutral-sphingomyelinase activation) (LOC509626), partial mRNA	509626	1,49	9,51	0,0080	0,13
<i>Canis familiaris</i> LOC478545 (LOC478545), mRNA	478545	1,46	8,99	0,0081	0,12
<i>Bos taurus</i> similar to SHP2-interacting transmembrane adaptor protein (LOC512027), partial mRNA	512027	1,37	9,46	0,0081	0,11
<i>Canis familiaris</i> similar to Echinoderm microtubule-associated protein-like 2 (EMAP-2) (HuEMAP-2) (LOC476434), mRNA	476434	1,44	9,75	0,0081	0,11
<i>Bos taurus</i> similar to MYST histone acetyltransferase 1 (LOC505004), mRNA	505004	1,48	9,62	0,0081	0,11
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (FLJ20125), mRNA	504972	1,34	10,00	0,0082	0,10
<i>Homo sapiens</i> pleckstrin homology domain containing, family J member 1 (PLEKHJ1), mRNA	55111	1,31	9,74	0,0082	0,10
<i>Bos taurus</i> similar to Methyltransferase-like protein 2 (HSPC266) (LOC506221), partial mRNA	506221	1,43	9,26	0,0082	0,09
homologue to UP Q5FVN9_RAT (Q5FVN9) Zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa, partial (31%)	301348	1,32	8,49	0,0082	0,09
UP Q32PJ8_BOVIN (Q32PJ8) Histone deacetylase 1, complete	404126	1,36	8,76	0,0082	0,08
<i>Homo sapiens</i> glucosamine-6-phosphate deaminase 2 (GNPDA2), mRNA	132789	1,44	9,17	0,0082	0,08
<i>Canis familiaris</i> similar to Cytoplasmic antiproteinase 3 (CAP3) (CAP-3) (Protease inhibitor 9) (Serpine B9) (LOC488192), mRNA	488192	1,53	8,75	0,0082	0,08
<i>Homo sapiens</i> hypothetical protein FLJ20323 (FLJ20323), mRNA	54468	1,30	9,65	0,0082	0,08
<i>Bos taurus</i> RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor, 80kDa (TAF6), mRNA	505638	1,33	9,14	0,0082	0,07
<i>Homo sapiens</i> NDRG family member 2 (NDRG2), transcript variant 8, mRNA	57447	1,32	9,00	0,0082	0,07
<i>Bos taurus</i> similar to Receptor tyrosine-protein kinase erbB-3 precursor (c-erbB3) (Tyrosine kinase-type cell surface receptor HER3) (LOC511208), partial mRNA	511208	1,49	9,95	0,0083	0,05
<i>Mus musculus</i> zinc finger protein, subfamily 1A, 1 (Ikaros) (Zfpn1a1), transcript variant 1, mRNA	22778	1,32	8,89	0,0083	0,05
Sem anotação	NA	1,79	9,50	0,0084	0,03
<i>Bos taurus</i> similar to Lysophosphatidic acid receptor Edg-4 (LPA receptor 2) (LPA-2) (LOC509748), partial mRNA	509748	1,55	9,49	0,0085	0,02

¹expressa em log₂

Apêndice 3A. Genes DE em animais Nelore alimentados com a dieta BE.

Gene	Entrez Gene ID	Fold change	Intensidade Média ¹	FDR	B
<i>Bos taurus</i> similar to zinc finger protein of the cerebellum 3 (LOC541035), mRNA	541035	2,79	10,28	0,0005	8,04
<i>Bos taurus</i> farnesyltransferase, CAAX box, alpha (FNTA), mRNA	281169	2,11	9,63	0,0005	7,81
<i>Bos taurus</i> similar to frizzled 2 (LOC538507), partial mRNA	538507	2,34	10,00	0,0007	6,91
<i>Bos taurus</i> similar to Atp6v0b protein (LOC505684), partial mRNA	505684	2,96	10,20	0,0007	6,83
<i>Bos taurus</i> similar to KIAA0802 (LOC514392), partial mRNA	514392	2,29	9,70	0,0007	6,74
<i>Homo sapiens</i> vestigial-like 3 (VGL-3), mRNA	389136	2,20	10,03	0,0012	6,08
<i>Homo sapiens</i> hypothetical protein FLJ12442 (FLJ12442), mRNA	64943	2,38	9,91	0,0013	5,83
<i>Homo sapiens</i> leucine rich repeat transmembrane neuronal 3 (LRRTM3), mRNA	347731	2,13	9,85	0,0013	5,57
<i>Bos taurus</i> similar to PX19 homolog (LOC523609), partial mRNA	523609	2,07	9,78	0,0013	5,42
<i>Bos taurus</i> similar to HMBA-inducible (LOC539696), mRNA	539696	1,72	9,66	0,0013	5,36
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (FLJ20436), mRNA	540194	2,42	10,01	0,0013	5,35
<i>Bos taurus</i> similar to neuroblastoma, suppression of tumorigenicity 1 precursor (LOC535280), partial mRNA	535280	2,52	10,03	0,0013	5,28
<i>Bos taurus</i> DKFZP586B1621 protein (DKFZP586B1621), mRNA	512373	1,95	9,37	0,0024	4,52
<i>Bos taurus</i> similar to Proliferating-cell nucleolar antigen p120 (Proliferation-associated nucleolar protein p120) (LOC516316), partial mRNA	516316	1,70	9,52	0,0024	4,41
<i>Homo sapiens</i> transducin (beta)-like 2 (TBL2), transcript variant 2, mRNA	26608	1,46	9,85	0,0024	4,41
<i>Bos taurus</i> similar to melanoma antigen family F, 1 (LOC518728), partial mRNA	518728	1,70	9,57	0,0024	4,32
<i>Homo sapiens</i> sclerostin domain containing 1 (SOSTDC1), mRNA	25928	1,47	8,80	0,0024	4,31
<i>Bos taurus</i> BCL2-associated X protein (BAX), mRNA	280730	2,28	10,17	0,0026	4,13
<i>Homo sapiens</i> cartilage associated protein (CRTAP), mRNA	10491	2,07	9,51	0,0026	4,06
<i>Homo sapiens</i> sorting nexin 11 (SNX11), transcript variant 2, mRNA	29916	2,25	9,98	0,0026	4,05
<i>Pan troglodytes</i> similar to AKT1 substrate 1 (proline-rich); proline-rich Akt substrate, 40 kDa (LOC456218), mRNA"	456218	1,92	9,96	0,0026	3,95
Sem anotação	NA	2,44	11,21	0,0026	3,80
<i>Homo sapiens</i> synaptosomal-associated protein, 23kDa (SNAP23), transcript variant 2, mRNA	8773	1,87	9,82	0,0026	3,79
<i>Bos taurus</i> similar to novel protein (LOC511930), partial mRNA	511930	2,33	10,43	0,0026	3,73
<i>Bos taurus</i> hypothetical LOC162073 (LOC539056), mRNA	539056	1,98	9,55	0,0026	3,73
<i>Pan troglodytes</i> similar to PEST-containing nuclear protein (LOC460559), mRNA	460559	1,78	9,92	0,0026	3,71

<i>Bos taurus</i> similar to Transforming growth factor-beta induced protein IG-H3 precursor (Beta IG-H3) (Kerato-epithelin) (RGD-containing collagen associated protein) (RGD-CAP) (LOC539596), partial mRNA	539596	1,52	9,36	0,0026	3,64
<i>Bos taurus</i> similar to NAD(P)H:quinone oxidoreductase type 3, polypeptide A2 (LOC516287), mRNA	516287	1,70	9,62	0,0026	3,63
DNA FRAGMENTATION FACTOR, 40 KD, BETA POLYPEPTIDE ISOFORM 1	512730	1,90	9,75	0,0026	3,56
<i>Bos taurus</i> similar to FYVE, RhoGEF and PH domain containing 2 (LOC511989), partial mRNA	511989	2,26	10,01	0,0026	3,51
<i>Bos taurus</i> similar to Jumonji domain containing protein 2A (LOC512622), partial mRNA	512622	1,40	10,37	0,0026	3,49
<i>Bos taurus</i> breast cancer 1, early onset (BRCA1), mRNA	353120	1,36	8,58	0,0026	3,47
<i>Rattus norvegicus</i> splicing factor 3a, subunit 2, 66kDa (predicted) (Sf3a2_predicted), mRNA	299620	2,00	10,22	0,0026	3,44
<i>Bos taurus</i> similar to HD protein (LOC505881), partial mRNA	505881	2,24	10,21	0,0026	3,44
<i>Bos taurus</i> similar to B aggressive lymphoma gene (LOC510532), mRNA	510532	2,39	9,81	0,0026	3,43
<i>Bos taurus</i> similar to keratin 20 (LOC505214), partial mRNA	505214	2,63	10,03	0,0026	3,40
<i>Bos taurus</i> similar to family with sequence similarity 43, member A (LOC539374), mRNA	539374	1,67	10,08	0,0026	3,39
<i>Homo sapiens</i> glycerophosphodiester phosphodiesterase domain containing 1 (GDPD1), mRNA	284161	1,98	9,82	0,0026	3,38
<i>Homo sapiens</i> mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 interacting protein 1 (MAP3K7IP1), transcript variant alpha, mRNA	10454	1,43	9,38	0,0027	3,29
<i>Homo sapiens</i> hypothetical protein FLJ10006 (FLJ10006), mRNA	55677	1,53	9,48	0,0027	3,28
<i>Bos taurus</i> histidine decarboxylase (HDC), mRNA	515950	2,34	10,54	0,0027	3,27
<i>Bos taurus</i> similar to poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B) (LOC505580), partial mRNA	505580	2,56	10,90	0,0028	3,19
<i>Homo sapiens</i> SMAD, mothers against DPP homolog 6 (Drosophila) (SMAD6), mRNA	4091	1,64	9,04	0,0028	3,19
Sem anotação	NA	1,67	8,75	0,0029	3,14
<i>Bos taurus</i> similar to [3-methyl-2-oxobutanoate dehydrogenase [lipoamide]] kinase, mitochondrial precursor (Branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase kinase) (BCKDHKIN) (BCKD-kinase) (LOC505005), mRNA	505005	1,38	9,21	0,0030	3,09
<i>Bos taurus</i> similar to Pdcd7 protein (LOC513194), partial mRNA	513194	1,74	8,74	0,0030	3,07
<i>Homo sapiens</i> SRY (sex determining region Y)-box 13 (SOX13), mRNA	9580	1,95	9,59	0,0031	3,01
<i>Canis familiaris</i> similar to Apg3p (LOC478564), mRNA	478564	1,63	9,77	0,0031	2,99
<i>Bos taurus</i> tyrosyl-tRNA synthetase (YARS), mRNA	281581	2,01	9,69	0,0033	2,91
<i>Bos taurus</i> pleiotrophin [heparin binding growth factor 8, neurite growth-promoting factor 1] (PTN), mRNA	280904	2,25	9,88	0,0036	2,83
<i>Homo sapiens</i> KIAA0470 (KIAA0470), mRNA	9859	1,46	8,77	0,0036	2,76
<i>Bos taurus</i> cytochrome P450, subfamily I (aromatic compound-inducible), polypeptide 1 (CYP1A1), partial mRNA	282870	1,63	9,60	0,0040	2,64
<i>Bos taurus</i> retinol binding protein 4, plasma (RBP4), mRNA	281444	1,57	8,78	0,0040	2,62
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein DKFZp313G1735 (LOC536626), partial mRNA	536626	1,64	8,84	0,0042	2,57

<i>Bos taurus</i> potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 3 (KCNQ3), mRNA	281884	1,62	9,48	0,0044	2,46
<i>Canis familiaris</i> similar to P73 delta-N protein (LOC489620), mRNA	489620	1,58	9,01	0,0044	2,45
<i>Bos taurus</i> argonaute 2 (AGO2), mRNA	404130	1,64	8,84	0,0044	2,44
<i>Bos taurus</i> similar to WW domain binding protein-2 (LOC507060), mRNA	507060	1,98	9,41	0,0044	2,43
<i>Bos taurus</i> similar to very large G-protein coupled receptor 1 (LOC532828), partial mRNA	532828	1,58	8,93	0,0044	2,43
<i>Bos taurus</i> LOC515129 (LOC515129), mRNA	515129	1,99	9,68	0,0044	2,41
<i>Bos taurus</i> RAD9 homolog (RAD9A), mRNA	504647	1,76	9,13	0,0044	2,40
<i>Bos taurus</i> similar to Enhancer of rudimentary homolog (LOC508901), mRNA	508901	1,62	9,29	0,0045	2,38
<i>Homo sapiens</i> yippee-like 5 (Drosophila) (YPEL5), mRNA	51646	1,95	9,77	0,0045	2,33
<i>Homo sapiens</i> DEAQ box polypeptide 1 (RNA-dependent ATPase) (DQX1), mRNA	165545	1,97	9,05	0,0045	2,31
<i>Bos taurus</i> similar to UNR protein (N-ras upstream gene protein) (LOC506321), partial mRNA	506321	1,81	9,91	0,0045	2,30
Sem anotação	NA	1,89	10,16	0,0045	2,30
<i>Bos taurus</i> similar to zinc finger protein 655 isoform b (LOC506436), mRNA	506436	1,52	8,65	0,0047	2,24
<i>Bos taurus</i> similar to neurotrophin-1/B-cell stimulating factor-3 (LOC538500), partial mRNA	538500	1,95	10,10	0,0047	2,23
<i>Homo sapiens</i> COMM domain containing 4 (COMMD4), mRNA	54939	2,09	9,60	0,0047	2,21
<i>Bos taurus</i> similar to BCL2L12 protein (LOC533338), mRNA	533338	1,64	9,85	0,0047	2,20
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein FLJ11773 (LOC513049), mRNA	513049	1,54	8,95	0,0047	2,18
<i>Homo sapiens</i> chromosome 2 open reading frame 4 (C2orf4), mRNA	51072	2,24	10,85	0,0047	2,17
<i>Homo sapiens</i> chromosome 1 open reading frame 78 (C1orf78), mRNA	55194	1,49	9,26	0,0047	2,17
<i>Bos taurus</i> guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha activating activity polypeptide O (GNAO1), mRNA	281792	1,88	9,37	0,0048	2,09
<i>Bos taurus</i> similar to trypsin domain containing 1 (LOC514320), partial mRNA	514320	1,83	9,91	0,0048	2,09
<i>Homo sapiens</i> glioblastoma amplified sequence (GBAS), mRNA	2631	2,00	10,76	0,0048	2,06
<i>Pan troglodytes</i> similar to voltage-dependent calcium channel gamma subunit-like protein (LOC459575), mRNA	459575	1,61	9,40	0,0048	2,06
<i>Homo sapiens</i> diacylglycerol kinase, zeta 104kDa (DGKZ), transcript variant 3, mRNA	8525	1,83	9,84	0,0048	2,05
<i>Bos taurus</i> tropomyosin 2 (TPM2), mRNA	497015	1,59	9,56	0,0048	2,04
<i>Homo sapiens</i> carbohydrate (chondroitin 4) sulfotransferase 11 (CHST11), mRNA	50515	1,48	8,81	0,0048	2,04
<i>Bos taurus</i> similar to chromosome 17 open reading frame 37 (LOC505710), partial mRNA	505710	1,56	9,08	0,0048	2,04
<i>Bos taurus</i> similar to Leukocyte antigen CD37 (LOC508751), mRNA	508751	1,85	9,44	0,0048	2,03
<i>Bos taurus</i> similar to dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 3 isoform a (LOC505149), partial mRNA	505149	1,41	9,37	0,0051	1,97

<i>Homo sapiens</i> tetraspanin 15 (TSPAN15), mRNA	23555	1,53	9,26	0,0051	1,96
<i>Bos taurus</i> tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B (TNFRSF1B), partial mRNA	338033	1,54	9,33	0,0052	1,92
<i>Bos taurus</i> similar to secernin 2 (LOC515013), mRNA	515013	2,00	10,44	0,0052	1,91
<i>Bos taurus</i> LOC533083 (LOC533083), partial mRNA	533083	2,12	9,77	0,0054	1,85
<i>Homo sapiens</i> proline-serine-threonine phosphatase interacting protein 1 (PSTPIP1), mRNA	9051	1,39	10,22	0,0055	1,82
<i>Canis familiaris</i> pyruvate kinase M (PKM2), mRNA	403874	1,69	9,86	0,0057	1,75
<i>Canis familiaris</i> similar to hypothetical protein (LOC480341), mRNA	480341	1,33	10,62	0,0057	1,75
<i>Bos taurus</i> similar to Asialoglycoprotein receptor 1 (Hepatic lectin H1) (ASGPR) (ASGP-R) (LOC509121), partial mRNA	509121	1,51	9,30	0,0057	1,73
<i>Bos taurus</i> similar to Testin (TESS) (LOC534965), partial mRNA	534965	2,10	9,08	0,0058	1,69
<i>Homo sapiens</i> transformer-2 alpha (TRA2A), mRNA	29896	2,02	10,54	0,0058	1,69
<i>Homo sapiens</i> Fas-activated serine/threonine kinase (FASTK), transcript variant 1, mRNA	10922	1,65	8,97	0,0059	1,67
<i>Homo sapiens</i> HIV-1 Rev binding protein (HRB), mRNA	3267	1,47	8,82	0,0059	1,66
<i>Homo sapiens</i> tripartite motif-containing 9 (TRIM9), transcript variant 1, mRNA	114088	1,57	8,79	0,0060	1,63
<i>Bos taurus</i> similar to heat shock transcription factor 2 binding protein (LOC511393), mRNA	511393	1,67	10,26	0,0061	1,58
<i>Homo sapiens</i> microfibrillar-associated protein 1 (MFAP1), mRNA	4236	1,98	8,94	0,0061	1,57
<i>Homo sapiens</i> Kruppel-like factor 10 (KLF10), mRNA	7071	1,85	10,02	0,0062	1,54
<i>Bos taurus</i> similar to colony stimulating factor 3 receptor isoform a precursor (LOC530567), partial mRNA	530567	1,71	9,64	0,0064	1,51
similar to UP Q28256_CANFA (Q28256) Glycoprotein Ib, partial (17%)	403638	1,60	10,18	0,0065	1,46
<i>Bos taurus</i> similar to Importin alpha-4 subunit (Karyopherin alpha-4 subunit) (Qip1 protein) (LOC535090), partial mRNA	535090	1,75	10,23	0,0065	1,46
<i>Homo sapiens</i> family with sequence similarity 54, member B (FAM54B), mRNA	56181	1,65	9,14	0,0065	1,43
<i>Bos taurus</i> plasminogen activator, tissue (PLAT), mRNA	281407	1,82	9,30	0,0067	1,39
<i>Bos taurus</i> similar to ADP-ribosylation factor 5 (LOC511918), mRNA	511918	1,73	9,97	0,0067	1,38
<i>Homo sapiens</i> chromosome 1 open reading frame 77 (C1orf77), mRNA	26097	1,77	9,77	0,0068	1,36
<i>Bos taurus</i> hydroxy-delta-MAY-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase (HSD3B), mRNA	281824	1,57	9,06	0,0068	1,32
<i>Homo sapiens</i> chromosome 1 open reading frame 119 (C1orf119), mRNA	56900	1,62	9,70	0,0068	1,32
<i>Homo sapiens</i> protein tyrosine phosphatase, receptor type, f polypeptide (PTPRF), interacting protein (liprin), alpha 3 (PPFIA3), mRNA	8541	1,89	9,82	0,0069	1,31
<i>Homo sapiens</i> Meis1, myeloid ecotropic viral integration site 1 homolog (mouse) (MEIS1), mRNA	4211	1,66	9,55	0,0069	1,29
<i>Homo sapiens</i> v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian) (MAFF), transcript variant 2, mRNA	23764	1,49	8,86	0,0069	1,29
<i>Homo sapiens</i> actinin, alpha 4 (ACTN4), mRNA	81	2,14	9,77	0,0070	1,26

<i>Bos taurus</i> similar to Beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase manic fringe (O-fucosylpeptide 3-beta-N-acetylglucosaminyltransferase) (LOC505267), partial mRNA	505267	1,65	9,78	0,0070	1,26
<i>Bos taurus</i> similar to Proteinase activated receptor 2 precursor (PAR-2) (Thrombin receptor-like 1) (Coagulation factor II receptor-like 1) (LOC526525), partial mRNA	526525	1,65	9,32	0,0070	1,26
<i>Bos taurus</i> similar to Epithelial protein lost in neoplasm (PP624) (LOC540637), mRNA	540637	1,73	9,73	0,0070	1,25
<i>Homo sapiens</i> sterol O-acyltransferase (acyl-Coenzyme A: cholesterol acyltransferase) 1 (SOAT1), transcript variant 688113, mRNA	6646	1,41	8,76	0,0070	1,24
<i>Bos taurus</i> butyrophilin, subfamily 1, member A1 (BTN1A1), mRNA	282157	2,28	9,29	0,0070	1,23
<i>Homo sapiens</i> BTB (POZ) domain containing 14B (BTBD14B), mRNA	112939	1,84	10,50	0,0070	1,23
<i>Bos taurus</i> similar to RIKEN cDNA 2700062C07 (LOC512779), partial mRNA	512779	1,45	9,39	0,0070	1,22
<i>Pan troglodytes</i> similar to Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 5 (Ubiquitin thiolesterase 5) (Ubiquitin-specific processing protease 5) (Deubiquitinating enzyme 5) (Isopeptidase T) (LOC451798), mRNA	451798	1,69	8,89	0,0071	1,21
<i>Bos taurus</i> similar to Bcl-2/adenovirus E1B 19 kDa interacting protein 2 like-2 (LOC524973), partial mRNA	524973	1,94	8,99	0,0074	1,16
<i>Homo sapiens</i> phosphatase and actin regulator 3 (PHACTR3), transcript variant 1, mRNA	116154	1,56	8,78	0,0074	1,15
<i>Canis familiaris</i> LOC478045 (LOC478045), mRNA	478045	1,33	8,70	0,0074	1,15
<i>Homo sapiens</i> zinc finger, RAN-binding domain containing 3 (ZRANB3), mRNA	84083	1,56	8,77	0,0074	1,14
<i>Bos taurus</i> capping protein (actin filament) muscle Z-line, beta (CAPZB), mRNA	338052	1,47	8,91	0,0074	1,13
<i>Bos taurus</i> guanylate cyclase 2C [heat stable enterotoxin receptor] (GUCY2C), mRNA	282244	1,36	8,78	0,0074	1,12
<i>Bos taurus</i> similar to rho-GTPase activating protein (LOC507960), partial mRNA	507960	1,77	9,82	0,0074	1,12
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein MGC14595 (LOC534858), mRNA	534858	1,76	9,85	0,0074	1,12
<i>Bos taurus</i> similar to Keratin, type I cytoskeletal 14 (Cytokeratin 14) (K14) (CK 14) (LOC504414), mRNA	504414	1,86	9,56	0,0075	1,10
<i>Pan troglodytes</i> similar to queuine tRNA-ribosyltransferase 1 (tRNA-guanine transglycosylase); tRNA-guanine transglycosylase (LOC455717), mRNA	455717	1,77	10,50	0,0075	1,09
<i>Bos taurus</i> similar to Coagulation factor XIII B chain precursor (Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase B chain) (Transglutaminase B chain) (Fibrin stabilizing factor B subunit) (LOC511483), partial mRNA	511483	1,59	9,09	0,0075	1,08
<i>Bos taurus</i> similar to IL-16 precursor (LOC512368), partial mRNA	512368	1,38	14,98	0,0075	1,07
<i>Homo sapiens</i> hepatocellularcarcinoma-associated antigen HCA557a (DKFZP586D0919), transcript variant 2, mRNA	25895	2,02	8,82	0,0076	1,05
<i>Canis familiaris</i> similar to Neprilysin (Neutral endopeptidase) (NEP) (Enkephalinase) (LOC477120), mRNA	477120	1,34	8,73	0,0076	1,04
<i>Bos taurus</i> mannose-6-phosphate receptor (cation dependent) (M6PR), mRNA	281291	1,88	9,25	0,0078	1,01
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein MGC26594 (LOC540811), mRNA	540811	1,68	9,26	0,0079	1,00
<i>Canis familiaris</i> similar to ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 6 (LOC475636), mRNA	475636	1,30	8,92	0,0079	0,99
<i>Bos taurus</i> similar to PLU-1 protein (LOC520951), partial mRNA	520951	1,48	8,73	0,0080	0,95
<i>Bos taurus</i> cytokine induced protein 29 kDa (CIP29), mRNA	281691	1,89	10,08	0,0080	0,93
<i>Homo sapiens</i> Snf2-related CBP activator protein (SRCAP), mRNA	10847	1,79	8,89	0,0080	0,92

<i>Homo sapiens</i> likely ortholog of mouse immediate early response, erythropoietin 4 (LEREP04), mRNA	55854	1,46	8,75	0,0080	0,91
<i>Bos taurus</i> similar to putative NFkB activating protein 373 isoform 1 (LOC513806), partial mRNA	513806	1,32	8,70	0,0080	0,90
<i>Homo sapiens</i> E1A binding protein p300 (EP300), mRNA	2033	1,35	9,21	0,0080	0,88
<i>Bos taurus</i> ribonuclease k6 (RNASE6), mRNA	282341	1,34	8,81	0,0080	0,88
<i>Bos taurus</i> opioid binding protein/cell adhesion molecule-like (OPCML), mRNA	281957	1,47	8,66	0,0080	0,87
<i>Bos taurus</i> similar to guanine nucleotide-binding protein, beta-4 subunit (LOC525962), partial mRNA	525962	1,53	8,86	0,0080	0,86
<i>Bos taurus</i> similar to mKIAA3021 protein (LOC509364), partial mRNA	509364	2,27	9,49	0,0080	0,84
<i>Bos taurus</i> molecule possessing ankyrin repeats induced by lipopolysaccharide (MAIL), homolog of mouse (MAIL), mRNA	282713	1,37	8,83	0,0080	0,83
<i>Homo sapiens</i> chromosome 2 open reading frame 30 (C2orf30), mRNA	27248	1,72	9,73	0,0080	0,83
<i>Homo sapiens</i> neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4-like (NEDD4L), mRNA	23327	1,45	8,72	0,0080	0,83
<i>Homo sapiens</i> similar to RIKEN cDNA 2310008M10 (LOC202459), mRNA	202459	1,63	9,32	0,0080	0,83
<i>Bos taurus</i> similar to coat protein delta-cop (LOC533078), partial mRNA	533078	1,30	8,73	0,0080	0,82
<i>Homo sapiens</i> brain synembryon (hSyn), mRNA	55188	1,67	9,82	0,0080	0,82
<i>Bos taurus</i> similar to Tyrosine aminotransferase (L-tyrosine:2-oxoglutarate aminotransferase) (TAT) (LOC512728), partial mRNA	512728	1,38	8,71	0,0080	0,82
<i>Homo sapiens</i> nuclear receptor binding SET domain protein 1 (NSD1), transcript variant 1, mRNA	64324	1,72	8,88	0,0080	0,81
<i>Homo sapiens</i> beclin 1 (coiled-coil, myosin-like BCL2 interacting protein) (BECN1), mRNA	8678	1,81	9,30	0,0080	0,81
<i>Bos taurus</i> gap junction protein, beta 6 (connexin 30) (GJB6), mRNA	508454	1,31	8,64	0,0080	0,81
<i>Bos taurus</i> similar to solute carrier family 5 (choline transporter), member 7 (LOC512311), partial mRNA	512311	1,36	8,62	0,0080	0,81
<i>Bos taurus</i> junction plakoglobin (JUP), mRNA	445543	2,38	9,75	0,0080	0,81
<i>Bos taurus</i> perforin 1 (pore forming protein) (PRF1), partial mRNA	369025	1,35	8,78	0,0080	0,80
Sem anotação	NA	1,56	9,10	0,0080	0,80
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein FLJ90119 (LOC532018), partial mRNA	532018	2,00	9,70	0,0080	0,79
<i>Homo sapiens</i> SLIT-ROBO Rho GTPase activating protein 3 (SRGAP3), mRNA	9901	1,56	8,98	0,0080	0,79
<i>Homo sapiens</i> sin3-associated polypeptide, 30kDa (SAP30), mRNA	8819	1,67	8,88	0,0081	0,78
<i>Bos taurus</i> regulator of G-protein signalling 7 (RGS7), mRNA	281452	1,31	8,69	0,0082	0,74
<i>Homo sapiens</i> zinc finger, DHHC-type containing 23 (ZDHHC23), mRNA	254887	1,47	8,73	0,0082	0,74
<i>Bos taurus</i> similar to Chromosome 14 open reading frame 44 (LOC540668), partial mRNA	540668	1,47	9,26	0,0082	0,74
<i>Homo sapiens</i> tripartite motif-containing 36 (TRIM36), transcript variant 1, mRNA	55521	1,63	9,65	0,0083	0,72
<i>Homo sapiens</i> 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase/dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1 alpha (TCF1) 2 (PCBD2), mRNA	84105	1,44	8,96	0,0083	0,72

<i>Homo sapiens</i> adaptor-related protein complex 3, sigma 1 subunit (AP3S1), transcript variant 1, mRNA	1176	1,37	8,66	0,0083	0,71
<i>Homo sapiens</i> beta-site APP-cleaving enzyme 1 (BACE1), transcript variant b, mRNA	23621	1,64	9,51	0,0083	0,71
<i>Bos taurus</i> similar to mitochondrial ribosomal protein L52 isoform a (LOC509469), mRNA	509469	1,46	8,68	0,0083	0,71
<i>Homo sapiens</i> steroid 5 alpha-reductase 2-like (SRD5A2L), mRNA	79644	1,40	8,67	0,0084	0,70
<i>Bos taurus</i> similar to DVS27 protein (LOC507054), mRNA	507054	1,52	8,98	0,0084	0,68
<i>Homo sapiens</i> cell division cycle 40 homolog (yeast) (CDC40), mRNA	51362	1,33	8,63	0,0084	0,68
<i>Bos taurus</i> RAS p21 protein activator (GTPase activating protein) 3 (Ins(1,3,4,5)P4-binding protein) (GAP1IP4BP), mRNA	282532	1,46	8,93	0,0085	0,66
<i>Bos taurus</i> similar to KIAA1949 protein (LOC539829), partial mRNA	539829	1,59	9,12	0,0085	0,65
<i>Sus scrofa</i> complement component C1s (C1S), mRNA	397274	2,02	9,78	0,0085	0,65
<i>Bos taurus</i> similar to phosphoinositide 3 kinase P110delta (LOC504531), partial mRNA	504531	1,40	9,17	0,0085	0,64
<i>Bos taurus</i> similar to HLA-B associated transcript 4 (LOC522780), mRNA	522780	2,01	9,49	0,0085	0,64
<i>Bos taurus</i> similar to Aldehyde dehydrogenase 7 (LOC508879), partial mRNA	508879	1,43	8,84	0,0085	0,63
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (LOC515838), partial mRNA	515838	1,38	8,64	0,0086	0,61
weakly similar to UP Q2NG62_METST (Q2NG62) Predicted transcriptional regulator, partial (7%)	3855761	1,46	8,94	0,0086	0,61
<i>Homo sapiens</i> general transcription factor IIH, polypeptide 2, 44kDa (GTF2H2), mRNA	2966	1,59	9,11	0,0087	0,59
<i>Homo sapiens</i> solute carrier family 26, member 4 (SLC26A4), mRNA	5172	1,47	8,79	0,0087	0,59
<i>Bos taurus</i> similar to TPA regulated locus (LOC532600), mRNA	532600	1,57	9,01	0,0087	0,58
<i>Bos taurus</i> similar to semaphorin sem2 (LOC509487), partial mRNA	509487	1,29	10,26	0,0087	0,58
<i>Homo sapiens</i> glypican 5 (GPC5), mRNA	2262	1,60	8,86	0,0088	0,56
<i>Bos taurus</i> SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a-like 1 (SMARCA1), mRNA	338072	1,36	8,77	0,0088	0,56
<i>Homo sapiens</i> sterile alpha motif domain containing 12 (SAMD12), mRNA	401474	1,32	8,71	0,0088	0,55
<i>Bos taurus</i> similar to ELLP3030 (LOC510688), partial mRNA	510688	1,33	8,70	0,0088	0,55
<i>Homo sapiens</i> NMDA receptor regulated 1 (NARG1), mRNA	80155	1,53	8,92	0,0088	0,54
<i>Homo sapiens</i> tumor susceptibility gene 101 (TSG101), mRNA	7251	1,37	9,00	0,0089	0,52
<i>Bos taurus</i> similar to Complement component C1q receptor precursor (Complement component 1, q subcomponent, receptor 1) (C1qRp) (C1qR(p)) (C1q/MBL/SPA receptor) (CD93 antigen) (CDw93) (LOC539690), mRNA	539690	1,54	9,56	0,0089	0,52
<i>Bos taurus</i> similar to 60 kDa heat shock protein, mitochondrial precursor (Hsp60) (60 kDa chaperonin) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Mitochondrial matrix protein P1) (P60 lymphocyte protein) (HuCHA60) (LOC511913), partial mRNA	511913	1,43	11,62	0,0089	0,52
<i>Canis familiaris</i> similar to heat shock 27kDa protein 3 (LOC479334), mRNA	479334	1,47	8,74	0,0089	0,52
<i>Homo sapiens</i> neuro-oncological ventral antigen 1 (NOVA1), transcript variant 1, mRNA	4857	1,60	8,98	0,0089	0,49

Sem anotação	NA	1,42	8,77	0,0089	0,48
<i>Bos taurus</i> similar to progesterone membrane binding protein (LOC534021), mRNA	534021	1,89	8,94	0,0089	0,48
<i>Bos taurus</i> similar to Cell division cycle 2-related protein kinase 7 (CDC2-related protein kinase 7) (CrkRS) (LOC511513), mRNA	511513	1,48	8,71	0,0089	0,48
<i>Homo sapiens</i> adaptor-related protein complex 2, mu 1 subunit (AP2M1), transcript variant 1, mRNA	1173	1,88	9,08	0,0089	0,48
<i>Bos taurus</i> similar to snRNP core protein SMX5d (LOC538662), partial mRNA	538662	1,41	9,12	0,0089	0,47
<i>Bos taurus</i> calreticulin (CALR), mRNA	281036	1,52	8,99	0,0089	0,47
<i>Pan troglodytes</i> similar to Pin2-interacting protein X1 (TRF1-interacting protein 1) (Liver-related putative tumor suppressor) (67-11-3 protein) (LOC463987), mRNA	463987	1,71	8,98	0,0089	0,46
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein MGC5508 (LOC540138), mRNA	540138	1,76	10,47	0,0089	0,46
<i>Homo sapiens</i> SEC24 related gene family, member D (S. cerevisiae) (SEC24D), mRNA	9871	1,51	8,78	0,0089	0,45
<i>Bos taurus</i> mitochondrial ribosomal protein L11 isoform a (MRPL11), mRNA	515990	1,39	11,02	0,0089	0,44
<i>Bos taurus</i> similar to block of proliferation 1 (LOC515056), mRNA	515056	1,70	9,36	0,0089	0,44
<i>Bos taurus</i> similar to CLDN6 (LOC511318), mRNA	511318	1,42	9,50	0,0089	0,43
<i>Homo sapiens</i> bobby sox homolog (Drosophila) (BBX), mRNA	56987	1,92	8,88	0,0089	0,43
" <i>Homo sapiens</i> SH2 domain protein 1A, Duncan's disease (lymphoproliferative syndrome) (SH2D1A), mRNA"	4068	1,55	9,69	0,0089	0,42
<i>Homo sapiens</i> cadherin 10, type 2 (T2-cadherin) (CDH10), mRNA	1008	1,37	8,97	0,0089	0,42
<i>Bos taurus</i> similar to calumenin precursor (LOC540611), partial mRNA	540611	1,31	8,68	0,0089	0,42
<i>Bos taurus</i> tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6 (TNFAIP6), mRNA	493710	1,88	10,25	0,0089	0,41
<i>Pan troglodytes</i> LOC465793 (LOC465793), mRNA	465793	1,40	9,02	0,0091	0,38
<i>Bos taurus</i> serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 7 (SERPINA7), mRNA	282518	1,40	12,28	0,0091	0,38
<i>Homo sapiens</i> chromosome 10 open reading frame 45 (C10orf45), mRNA	83641	1,44	8,83	0,0091	0,38
<i>Homo sapiens</i> Indian hedgehog homolog (Drosophila) (IHH), mRNA	3549	1,55	10,91	0,0091	0,37
<i>Canis familiaris</i> similar to chromosome 20 open reading frame 81 (LOC485801), mRNA	485801	1,55	9,29	0,0092	0,37
" <i>Homo sapiens</i> X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5 (double-strand-break rejoining; Ku autoantigen, 80kDa) (XRCC5), mRNA"	7520	1,47	8,77	0,0093	0,35
<i>Bos taurus</i> similar to myotubularin-related protein 9 (LOC539174), partial mRNA	539174	1,31	8,83	0,0093	0,34
<i>Bos taurus</i> eukaryotic translation initiation factor 4E (EIF4E), mRNA	281751	1,52	8,82	0,0096	0,31
<i>Homo sapiens</i> acid phosphatase-like 2 (ACPL2), mRNA	92370	1,34	8,80	0,0096	0,30
<i>Bos taurus</i> procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase precursor (PLOD), mRNA	281409	1,67	10,01	0,0096	0,30
<i>Canis familiaris</i> similar to DXImx48e protein (LOC491877), mRNA	491877	1,80	9,99	0,0096	0,29

<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (LOC504463), partial mRNA	504463	1,28	9,19	0,0096	0,29
<i>Canis familiaris</i> LOC488377 (LOC488377), mRNA	488377	1,36	8,69	0,0096	0,28
<i>Bos taurus</i> similar to Chordin precursor (UNQ217/PRO243) (LOC530120), partial mRNA	530120	1,96	9,08	0,0097	0,27
<i>Canis familiaris</i> similar to phosphatidylinositol 4-kinase type-II beta (LOC479126), mRNA	479126	1,26	8,82	0,0097	0,27
<i>Homo sapiens</i> tumor protein p53 inducible nuclear protein 1 (TP53INP1), mRNA	94241	1,60	10,31	0,0098	0,25
<i>Bos taurus</i> similar to CXXC finger 5 (LOC541258), mRNA	541258	1,59	9,17	0,0098	0,24
<i>Homo sapiens</i> junctophilin 4 (JPH4), mRNA	84502	1,52	9,09	0,0098	0,23
Sem anotação	NA	1,59	9,06	0,0098	0,23
<i>Sus scrofa</i> transcription factor GATA-4 (GATA4), mRNA	397555	1,51	8,87	0,0099	0,22
<i>Bos taurus</i> similar to septin 1 (LOC512478), mRNA	512478	1,36	10,98	0,0099	0,22
<i>Bos taurus</i> nuclear domain 10 protein (NDP52), mRNA	281942	1,42	8,80	0,0099	0,21
<i>Bos taurus</i> gene rich cluster, C3f gene (C3F), mRNA	515361	1,31	8,73	0,0099	0,21
<i>Bos taurus</i> similar to Deducator of cytokinesis protein 8 (LOC515267), partial mRNA	515267	1,55	8,92	0,0099	0,21
<i>Bos taurus</i> similar to rcd1 (required for cell differentiation) homolog 1 (LOC515329), partial mRNA	515329	1,41	8,74	0,0100	0,20
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein DKFZp434I099 (LOC526002), partial mRNA	526002	1,50	9,04	0,0100	0,20
<i>Bos taurus</i> similar to START domain containing 7 (LOC524966), partial mRNA	524966	1,37	9,41	0,0100	0,19
<i>Bos taurus</i> similar to Forkhead box protein J2 (Fork head homologous X) (LOC540703), mRNA	540703	1,54	9,97	0,0100	0,19
<i>Homo sapiens</i> drebrin 1 (DBN1), transcript variant 2, mRNA	1627	1,64	9,01	0,0100	0,19
<i>Bos taurus</i> similar to RIKEN cDNA 1700112P19 (LOC515635), mRNA	515635	1,36	8,88	0,0100	0,19
<i>Homo sapiens</i> ankyrin repeat and FYVE domain containing 1 (ANKFY1), transcript variant 1, mRNA	51479	1,28	8,80	0,0100	0,16
<i>Pan troglodytes</i> LOC458199 (LOC458199), mRNA	458199	1,66	9,46	0,0100	0,16
<i>Homo sapiens</i> UDP-glucuronate decarboxylase 1 (UXS1), mRNA	80146	1,29	8,99	0,0100	0,15
<i>Canis familiaris</i> similar to Hypothetical protein CGI-79 (LOC492135), mRNA	492135	1,39	8,77	0,0102	0,13
<i>Homo sapiens</i> polymerase (DNA directed), theta (POLQ), transcript variant 2, mRNA	10721	1,33	9,03	0,0102	0,12
<i>Bos taurus</i> similar to phosphatidic acid phosphatase type 2 domain containing 2 (LOC403313), mRNA	541021	1,53	9,69	0,0103	0,12
<i>Canis familiaris</i> similar to FKSG26 protein (LOC479609), mRNA	479609	1,31	9,05	0,0103	0,11
<i>Homo sapiens</i> B-cell CLL/lymphoma 7C (BCL7C), mRNA	9274	1,68	9,14	0,0103	0,10
<i>Bos taurus</i> similar to Nucleoporin SEH1 (SEC13-like protein) (LOC506020), mRNA	506020	1,54	9,21	0,0103	0,10
<i>Homo sapiens</i> BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog beta (yeast) (BUB1B), mRNA	701	1,43	8,78	0,0103	0,09

<i>Bos taurus</i> similar to serologically defined colon cancer antigen 8 (LOC534444), partial mRNA	534444	1,35	9,26	0,0103	0,09
<i>Bos taurus</i> CGI-41 protein (CGI-41), mRNA	532204	1,48	8,79	0,0103	0,09
<i>Bos taurus</i> similar to Zinc finger protein 292 (LOC541264), partial mRNA	541264	1,33	8,61	0,0103	0,09
<i>Bos taurus</i> LOC512013 (LOC512013), mRNA	512013	1,35	8,81	0,0104	0,07
<i>Pan troglodytes</i> similar to Slit1-prov protein (LOC466168), mRNA	466168	1,36	10,25	0,0105	0,06
<i>Bos taurus</i> similar to myelin P0 protein - bovine (LOC539462), mRNA	539462	1,33	10,97	0,0105	0,05
<i>Bos taurus</i> similar to osmosis responsive factor (LOC531278), partial mRNA	531278	1,59	9,70	0,0105	0,05
homologue to UP Q7KZ72_HUMAN (Q7KZ72) FGF2 protein, partial (90%)	281161	1,33	8,47	0,0105	0,05
<i>Bos taurus</i> similar to DNA-directed RNA polymerase I 40 kDa polypeptide (RPA40) (RPA39) (LOC516337), partial mRNA	516337	1,50	9,43	0,0105	0,04
<i>Bos taurus</i> similar to microtubule-associated protein 1 light chain 3 alpha (LOC514547), partial mRNA	514547	1,46	10,39	0,0105	0,04
<i>Bos taurus</i> SCO-spondin (LOC282659), mRNA	282659	1,50	9,34	0,0106	0,03
<i>Bos taurus</i> similar to Dynamin 3 (Dynamin, testicular) (T-dynamin) (LOC506315), partial mRNA	506315	1,36	8,81	0,0106	0,03
<i>Homo sapiens</i> jun dimerization protein 2 (JDP2), mRNA	122953	1,48	8,72	0,0106	0,02
<i>Bos taurus</i> similar to ELAV-like protein 1 (Hu-antigen R) (HuR) (LOC533938), partial mRNA	533938	1,76	8,91	0,0107	0,02

¹expressa em log₂

Apêndice 4A. Genes DE em animais Nelore alimentados com a dieta AE.

Gene	Entrez Gene ID	Fold Change	Intensidade Média ¹	FDR	B
similar to UP Q20WK1_HUMAN (Q20WK1) IL17R protein, partial (71%)	23765	1,80	11,56	0,0013	5,41
<i>Homo sapiens</i> calcium homeostasis endoplasmic reticulum protein (CHERP), mRNA	10523	1,74	11,79	0,0022	4,75
UP CLD2_BOVIN (Q765P1) Claudin-2, complete	404089	1,48	9,75	0,0024	4,31
Sem anotação	NA	1,71	8,82	0,0026	3,93
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (LOC532754), mRNA	532754	1,65	10,94	0,0026	3,90
"homologue to UP ITA6_HUMAN (P23229) Integrin alpha-6 precursor (VLA-6) (CD49f antigen) [Contains: Integrin alpha-6 heavy chain; Integrin alpha-6 light chain], partial (58%)"	3655	1,80	8,73	0,0026	3,89
<i>Bos taurus</i> similar to Sfrs7 protein (LOC507066), mRNA	507066	1,78	9,28	0,0026	3,89
Sem anotação	NA	1,71	9,19	0,0026	3,83
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein S15a (RPS15A), mRNA	337888	1,52	9,59	0,0026	3,76
<i>Bos taurus</i> similar to ATP synthase B chain, mitochondrial precursor (LOC538809), mRNA	538809	1,55	9,49	0,0026	3,71
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein L9 (RPL9), mRNA	282884	1,44	9,35	0,0026	3,66
UP GHR_BOVIN (O46600) Growth hormone receptor precursor (GH receptor) (Somatotropin receptor) [Contains: Growth hormone-binding protein (GH-binding protein) (GHBP) (Serum-binding protein)], complete	280805	1,77	8,88	0,0026	3,51
<i>Bos taurus</i> similar to chemokine orphan receptor 1 (LOC509585), mRNA	509585	1,56	9,23	0,0026	3,41
SIMILAR TO CARBONIC ANHYDRASE III (CARBONATE DEHYDRATASE III) (CA-III)	513212	1,57	9,50	0,0027	3,30
UP P53_BOSIN (P67938) Cellular tumor antigen p53 (Tumor suppressor p53), complete	281542	1,63	9,34	0,0028	3,22
<i>Bos taurus</i> interleukin 1 receptor antagonist (IL1RN), mRNA	281860	1,65	8,73	0,0031	3,02
<i>Homo sapiens</i> small muscle protein, X-linked (SMPX), mRNA	23676	1,77	11,18	0,0031	2,98
<i>Bos taurus</i> methylosome protein 50 (MEP50), mRNA	512993	1,49	9,25	0,0036	2,81
<i>Bos taurus</i> similar to Galectin-3 (Galactose-specific lectin 3) (Mac-2 antigen) (IgE-binding protein) (35 kDa lectin) (Carbohydrate binding protein 35) (CBP 35) (Laminin-binding protein) (Lectin L-29) (L-31) (Galactoside-binding protein) (GALBP)... (LOC511078), partial mRNA	511078	1,58	9,12	0,0036	2,80
<i>Bos taurus</i> similar to BRCA2 and CDKN1A-interacting protein isoform BCCIPbeta (LOC512466), mRNA	512466	1,39	9,40	0,0037	2,72
<i>Homo sapiens</i> polymerase (DNA-directed), epsilon 4 (p12 subunit) (POLE4), mRNA	56655	1,54	8,64	0,0041	2,59
<i>Homo sapiens</i> H2A histone family, member V (H2AFV), transcript variant 1, mRNA	94239	1,58	8,86	0,0042	2,55
<i>Homo sapiens</i> methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP+ dependent) 1-like (MTHFD1L), mRNA	25902	1,42	11,11	0,0043	2,51
<i>Homo sapiens</i> neuropilin 1 (NRP1), transcript variant 2, mRNA	8829	1,52	9,31	0,0045	2,35
UP CD14_BOVIN (Q95122) Monocyte differentiation antigen CD14 precursor (Myeloid cell-specific leucine-rich glycoprotein), complete	281048	1,46	10,27	0,0045	2,33

TRIGGERING RECEPTOR EXPRESSED ON MYELOID CELLS-1	404547	1,66	10,69	0,0045	2,31
<i>Homo sapiens</i> giant axonal neuropathy (gigaxonin) (GAN), mRNA	8139	1,51	12,61	0,0047	2,24
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein L18 (RPL18), mRNA	509163	1,40	9,05	0,0047	2,23
Sem anotação	NA	1,48	9,17	0,0047	2,20
<i>Bos taurus</i> similar to Eph receptor A2 (LOC512798), partial mRNA	512798	1,37	8,77	0,0048	2,07
UP PDIA3_BOVIN (P38657) Protein disulfide-isomerase A3 precursor (Disulfide isomerase ER-60) (ERP60) (58 kDa microsomal protein) (P58) (ERp57) , complete	281803	1,45	8,70	0,0048	2,05
<i>Sus scrofa</i> neuron-derived orphan receptor-1 alfa (NOR-1), mRNA	397479	1,54	9,70	0,0048	2,05
<i>Bos taurus</i> E74-like factor 5 ESE-2a (ELF5), mRNA	539420	1,33	9,73	0,0049	2,02
<i>Bos taurus</i> retinol binding protein 4, plasma (RBP4), mRNA	281444	1,62	9,61	0,0052	1,94
<i>Homo sapiens</i> optic atrophy 1 (autosomal dominant) (OPA1), nuclear gene encoding mitochondrial protein, transcript variant 1, mRNA	4976	1,37	8,63	0,0052	1,92
<i>Homo sapiens</i> MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast) (MAD2L1), mRNA	4085	1,40	8,71	0,0053	1,88
homologue to UP Q7TQN4_RAT (Q7TQN4) RELA (V-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A), partial (49%)	309165	1,39	9,94	0,0053	1,87
"homologue to GB AAA30695.1 163516 BOVPHO2A protein phosphatase type 2A catalytic subunit { <i>Bos taurus</i> } (exp=-1; wgp=0; cg=0), complete"	524361	1,58	9,00	0,0055	1,82
homologue to UP Q6QAQ1_PIG (Q6QAQ1) Cytoskeletal beta actin (Fragment), complete	280979	1,52	9,72	0,0056	1,79
Sem anotação	NA	1,45	9,46	0,0057	1,77
<i>Homo sapiens</i> matrix metalloproteinase 17 (membrane-inserted) (MMP17), mRNA	4326	1,73	9,57	0,0057	1,75
<i>Homo sapiens</i> NDRG family member 2 (NDRG2), transcript variant 8, mRNA	57447	1,42	9,00	0,0057	1,74
<i>Homo sapiens</i> follicle stimulating hormone receptor (FSHR), transcript variant 1, mRNA	2492	1,48	8,56	0,0057	1,73
<i>Bos taurus</i> similar to putative ISG12(a) protein (LOC507138), mRNA	507138	1,45	8,71	0,0057	1,72
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein L12 (RPL12), mRNA	404133	1,49	8,85	0,0060	1,64
<i>Pan troglodytes</i> similar to Peroxisome assembly protein 26 (Peroxin-26) (LOC458640), mRNA	458640	1,66	10,42	0,0060	1,64
<i>Canis familiaris</i> similar to COMM domain containing 3 (LOC477977), mRNA	477977	1,42	10,51	0,0060	1,62
<i>Bos taurus</i> similar to cardiac ankyrin repeat protein (LOC510376), partial mRNA	510376	1,77	9,18	0,0060	1,61
Sem anotação	NA	1,36	8,31	0,0061	1,58
CCAAT/ENHANCER BINDING PROTEIN (C/EBP), GAMMA	1054	1,36	8,60	0,0061	1,57
Sem anotação	NA	1,64	9,85	0,0064	1,50
<i>Bos taurus</i> beta-2-microglobulin (B2M), mRNA	280729	1,49	13,48	0,0064	1,49
filamin-1 [<i>Bos taurus</i>]	613533	1,47	8,75	0,0065	1,47

<i>Bos taurus</i> RAS p21 protein activator (GTPase activating protein) 3 (Ins(1,3,4,5)P4-binding protein) (GAP1IP4BP), mRNA	282532	1,49	8,58	0,0065	1,45
<i>Bos taurus</i> angiopoietin 2 (ANGPT2), partial mRNA	282141	1,49	9,44	0,0065	1,44
<i>Bos taurus</i> paired basic amino acid cleaving enzyme [furin, membrane associated receptor protein] (FURIN), mRNA	281374	1,70	9,89	0,0065	1,43
UP Q8K2U0_MOUSE (Q8K2U0) Map2k4 protein, partial (61%)	26398	1,51	8,80	0,0065	1,42
<i>Bos taurus</i> nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (NFE2L2), mRNA	497024	1,50	9,35	0,0065	1,42
<i>Mus musculus</i> matrix metalloproteinase 23 (Mmp23), mRNA	26561	1,61	9,42	0,0067	1,40
homologue to UP Q53YD7_HUMAN (Q53YD7) Eukaryotic translation elongation factor 1 gamma (EEF1G protein) (GIG35), complete	1937	1,47	8,86	0,0067	1,39
UP Q5I2B0_BOVIN (Q5I2B0) Mannan-binding lectin A (Mannose binding lectin, liver), complete	497014	1,92	9,27	0,0067	1,37
<i>Bos taurus</i> similar to Transcription elongation factor A protein 1 (Transcription elongation factor S-II protein 1) (Transcription elongation factor TFIIS.o) (LOC505722), mRNA	505722	1,35	8,73	0,0068	1,35
<i>Homo sapiens</i> Janus kinase 1 (a protein tyrosine kinase) (JAK1), mRNA	3716	1,47	9,70	0,0068	1,34
Sem anotação	NA	1,49	9,89	0,0068	1,34
<i>Bos taurus</i> LOC512970 (LOC512970), mRNA	512970	1,34	8,61	0,0069	1,30
<i>Canis familiaris</i> similar to GLI-Kruppel family member GLI3 (LOC483244), mRNA	483244	1,59	12,64	0,0069	1,28
<i>Bos taurus</i> enoyl Coenzyme A hydratase, short chain, 1, mitochondrial (ECHS1), mRNA	281748	1,56	8,95	0,0071	1,21
<i>Bos taurus</i> similar to mitochondrial ribosomal protein S10 (LOC515885), partial mRNA	515885	1,59	11,60	0,0073	1,18
<i>Bos taurus</i> similar to HGF activator preproprotein (LOC504303), partial mRNA	504303	1,53	8,79	0,0075	1,10
UP JAM1_BOVIN (Q9XT56) Junctional adhesion molecule A precursor (JAM-A) (Junctional adhesion molecule 1) (JAM-1) (CD321 antigen), complete	281258	1,37	8,63	0,0075	1,07
<i>Canis familiaris</i> similar to reticulon 4 isoform C (LOC474598), mRNA	474598	1,71	9,47	0,0075	1,07
UP Q9TTA4_BOVIN (Q9TTA4) N-type calcium channel alpha1B subunit, complete	282410	1,58	10,30	0,0075	1,07
<i>Canis familiaris</i> similar to Integrin beta-4 precursor (GP150) (CD104 antigen) (LOC483318), mRNA	483318	1,52	9,38	0,0075	1,06
homologue to UP MK03_HUMAN (P27361) Mitogen-activated protein kinase 3 (Extracellular signal-regulated kinase 1) (ERK-1) (Insulin-stimulated MAP2 kinase) (MAP kinase 1) (MAPK 1) (p44-ERK1) (ERT2) (p44-MAPK) (Microtubule-associated protein 2 kinase) , complete	5595	1,49	9,64	0,0076	1,05
<i>Bos taurus</i> similar to cell death-inducing DFFA-like effector a isoform 2 (LOC527051), partial mRNA	527051	1,32	8,69	0,0079	0,99
<i>Bos taurus</i> similar to Cytochrome c, somatic (LOC506941), partial mRNA	506941	1,33	8,86	0,0079	0,98
Sem anotação	NA	1,61	8,44	0,0079	0,98
<i>Bos taurus</i> similar to neuropilin 2 isoform 5 precursor (LOC541004), mRNA	541004	1,47	10,01	0,0079	0,97
Sem anotação	NA	1,35	14,05	0,0080	0,94
<i>Bos taurus</i> similar to sperm tail protein SHIPPO1 (LOC510060), mRNA	510060	1,46	8,76	0,0080	0,94

<i>Bos taurus</i> similar to autocrine motility factor receptor isoform a (LOC507541), partial mRNA	507541	1,36	9,31	0,0080	0,94
<i>Sus scrofa</i> heart and neural crest derivatives expressed 1 (hand1), mRNA	541594	1,57	12,36	0,0080	0,92
CYTOCHROME B5 REDUCTASE 1	516287	1,45	8,92	0,0080	0,92
<i>Bos taurus</i> similar to klotho beta like (LOC514925), mRNA	514925	1,38	9,10	0,0080	0,92
UP UPAR_BOVIN (Q05588) Urokinase plasminogen activator surface receptor precursor (uPAR) (U-PAR) (CD87 antigen), complete	281983	1,41	10,08	0,0080	0,91
<i>Bos taurus</i> similar to Hypothetical protein KIAA0391 (LOC511004), mRNA	511004	1,40	8,42	0,0080	0,90
<i>Bos taurus</i> similar to ubiquitin conjugating enzyme (LOC512207), mRNA	512207	1,60	9,52	0,0080	0,89
<i>Bos taurus</i> similar to Neurotrophin-5 precursor (NT-5) (Neutrophic factor 5) (Neurotrophin-4) (NT-4) (Neutrophic factor 4) (LOC506660), partial mRNA	506660	1,48	8,94	0,0080	0,88
<i>Bos taurus</i> similar to NF-kappaB inducing kinase (LOC508366), mRNA	508366	1,39	8,99	0,0080	0,85
UP SCF_BOVIN (Q28132) Kit ligand precursor (C-kit ligand) (Stem cell factor) (SCF) (Mast cell growth factor) (MGF), complete	281885	1,68	9,25	0,0080	0,85
<i>Bos taurus</i> insulin-like growth factor 2 receptor (IGF2R), mRNA	281849	1,71	11,16	0,0080	0,82
<i>Bos taurus</i> similar to Tripartite motif protein 38 (RING finger protein 15) (Zinc finger protein RoRet) (LOC531022), partial mRNA	531022	1,38	8,87	0,0080	0,82
<i>Canis familiaris</i> similar to homolog of yeast mRNA transport regulator 3 (LOC489713), mRNA	489713	1,61	9,56	0,0080	0,82
NEUTROPHIL BETA-DEFENSIN 4	286836	1,50	8,53	0,0080	0,81
<i>Bos taurus</i> similar to CYR61 protein precursor (Cysteine-rich, angiogenic inducer, 61) (Insulin-like growth factor-binding protein 10) (GIG1 protein) (LOC508941), mRNA	508941	1,49	9,43	0,0080	0,79
<i>Bos taurus</i> similar to small nuclear RNA activating complex, polypeptide 2, 45kDa (LOC516078), partial mRNA	516078	1,68	9,04	0,0082	0,74
<i>Homo sapiens</i> deafness, autosomal recessive 31 (DFNB31), mRNA	25861	1,30	9,39	0,0082	0,74
"homologue to GB AAD55586.1 5902966 AF055084 very large G-protein coupled receptor-1 { <i>Homo sapiens</i> } (exp=-1; wgp=0; cg=0), partial (9%)"	84059	1,36	9,50	0,0084	0,70
<i>Homo sapiens</i> chemokine (C-X-C motif) ligand 12 (stromal cell-derived factor 1) (CXCL12), transcript variant 1, mRNA	6387	1,62	10,10	0,0084	0,69
INTERFERON INDUCED TRANSMEMBRANE PROTEIN 3 (1-8U)	282255	1,31	8,41	0,0084	0,68
"RF NP_777012.1 27807061 NM_174587 protein kinase C, beta 1 polypeptide { <i>Bos taurus</i> } (exp=-1; wgp=0; cg=0), complete"	282325	1,49	8,64	0,0084	0,68
<i>Bos taurus</i> similar to 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase (5,10-methenyl-tetrahydrofolate synthetase) (Methenyl-THF synthetase) (MTHFS) (LOC513372), partial mRNA	513372	1,42	9,20	0,0084	0,67
<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (LOC533402), partial mRNA	533402	1,60	8,65	0,0085	0,65
Sem anotação	NA	1,50	8,75	0,0085	0,65
weakly similar to UP Q8IX89_HUMAN (Q8IX89) Programmed cell death 1, partial (88%)	5133	1,36	9,46	0,0085	0,63
<i>Bos taurus</i> similar to Serine/threonine-protein kinase PLK1 (Polo-like kinase 1) (PLK-1) (Serine-threonine protein kinase 13) (STPK13) (LOC511327), partial mRNA	511327	1,63	11,60	0,0085	0,63
homologue to UP ACTN4_MOUSE (P57780) Alpha-actinin-4 (Non-muscle alpha-actinin 4) (F-actin cross linking protein), partial (73%)	60595	1,45	8,65	0,0086	0,61

<i>Homo sapiens</i> activating transcription factor 1 (ATF1), mRNA	466	1,71	11,86	0,0087	0,59
Sem anotação	NA	1,43	8,59	0,0087	0,58
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein S25 (RPS25), mRNA	282052	1,41	9,42	0,0088	0,56
<i>Bos taurus</i> similar to Mitochondrial 39S ribosomal protein L27 (L27mt) (MRP-L27) (HSPC250) (LOC510058), mRNA	510058	1,42	10,18	0,0088	0,55
Sem anotação	NA	1,69	9,96	0,0088	0,54
<i>Homo sapiens</i> KIAA1754 (KIAA1754), mRNA	85450	1,45	8,56	0,0088	0,54
CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN-RELATED CELL ADHESION MOLECULE 1 (BILIARY GLYCOPROTEIN)	634	1,37	8,76	0,0089	0,53
<i>Bos taurus</i> similar to Mucosa associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1 (MALT-lymphoma associated translocation) (Paracaspase) (LOC504994), partial mRNA	504994	1,39	9,11	0,0089	0,51
<i>Bos taurus</i> voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2), mRNA	282120	1,43	9,25	0,0089	0,50
<i>Bos taurus</i> similar to Monoglyceride lipase (HU-K5) (Lysophospholipase homolog) (Lysophospholipase-like) (LOC505290), mRNA	505290	1,49	8,59	0,0089	0,50
<i>Homo sapiens</i> inner membrane protein, mitochondrial (mitofilin) (IMMT), mRNA	10989	1,47	8,78	0,0089	0,50
similar to UP TNFL9_HUMAN (P41273) Tumor necrosis factor ligand superfamily member 9 (4-1BB ligand) (4-1BBL), partial (17%)	8744	1,58	10,72	0,0089	0,49
Sem anotação	NA	1,53	9,27	0,0089	0,49
<i>Homo sapiens</i> cell division cycle 25C (CDC25C), transcript variant 1, mRNA	995	1,29	8,90	0,0089	0,48
<i>Bos taurus</i> similar to SLC26A6a anion exchanger (LOC514514), partial mRNA	514514	1,59	11,18	0,0089	0,48
Sem anotação	NA	1,51	8,82	0,0089	0,46
<i>Bos taurus</i> mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 5a (COX5A), mRNA	444878	1,53	9,55	0,0089	0,45
<i>Bos taurus</i> similar to Testin (TESS) (LOC534965), partial mRNA	534965	1,36	8,57	0,0089	0,44
<i>Homo sapiens</i> E2F transcription factor 2 (E2F2), mRNA	1870	1,89	8,88	0,0089	0,44
<i>Bos taurus</i> NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 beta subcomplex, 9, 22kDa (NDUFB9), mRNA	327660	1,59	8,99	0,0089	0,43
<i>Homo sapiens</i> chemokine (C-C motif) ligand 25 (CCL25), transcript variant 1, mRNA	6370	1,39	8,36	0,0089	0,43
<i>Bos taurus</i> similar to Potential phospholipid-transporting ATPase IH (ATPase class I type 11A) (ATPase IS) (LOC509092), partial mRNA	509092	1,53	11,32	0,0089	0,42
UP Q2KIP0_BOVIN (Q2KIP0) Signal transducer and activator of transcription 5B, complete	282376	1,56	8,94	0,0089	0,41
<i>Mus musculus</i> netrin G2 (Ntng2), transcript variant a, mRNA	171171	1,53	8,90	0,0089	0,41
" <i>Bos taurus</i> solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 3 (SLC25A3), mRNA"	282477	1,48	9,52	0,0091	0,38
<i>Homo sapiens</i> chromosome 10 open reading frame 6 (C10orf6), mRNA	55719	1,50	10,81	0,0093	0,34
PEROXISOME PROLIFERATIVE ACTIVATED RECEPTOR, GAMMA	281993	1,74	9,06	0,0094	0,34
<i>Bos taurus</i> similar to Ephrin-B1 precursor (EPH-related receptor tyrosine kinase ligand 2) (LERK-2) (ELK ligand) (ELK-L) (LOC534413), mRNA	534413	1,61	9,00	0,0096	0,31

<i>Bos taurus</i> similar to hypothetical protein (FLJ20125), mRNA	504972	1,37	10,00	0,0096	0,31
<i>Bos taurus</i> similar to dispatched A (LOC534637), partial mRNA	534637	1,35	8,98	0,0096	0,29
<i>Bos taurus</i> ribosomal protein L9 (RPL9), mRNA	282884	1,32	9,11	0,0096	0,29
UP TNR1A_BOVIN (O19131) Tumor necrosis factor receptor superfamily member 1A precursor (p60) (TNF-R1) (TNF-RI) (TNFR-I) (p55), complete	282527	1,75	9,35	0,0096	0,29
<i>Bos taurus</i> similar to selenophosphate synthetase 2 (LOC512060), mRNA	512060	1,47	9,90	0,0098	0,26
<i>Bos taurus</i> oviduct specific glycoprotein (OVGP1), mRNA	281962	1,35	9,13	0,0098	0,26
<i>Homo sapiens</i> Cbp/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain, 2 (CITED2), mRNA	10370	1,54	8,66	0,0098	0,25
<i>Bos taurus</i> CD38 antigen (CD38), mRNA	327677	1,52	8,36	0,0098	0,24
<i>Bos taurus</i> similar to transforming, acidic coiled-coil containing protein 2 isoform d (LOC533768), mRNA	533768	1,53	9,35	0,0098	0,24
<i>Bos taurus</i> similar to RGM domain family member B precursor (LOC540954), partial mRNA	540954	1,34	8,94	0,0099	0,23
<i>Bos taurus</i> similar to LISCH protein isoform 1 (LOC508651), partial mRNA	508651	1,50	8,69	0,0100	0,20
<i>Bos taurus</i> similar to DAZ interacting protein 1 (LOC538828), partial mRNA	538828	1,35	8,71	0,0100	0,19
<i>Bos taurus</i> similar to growth differentiation factor 3 precursor (LOC504995), mRNA	504995	1,70	9,12	0,0100	0,18
<i>Bos taurus</i> similar to F-box and leucine-rich repeat protein 11 (LOC540141), partial mRNA	540141	1,35	8,67	0,0100	0,17
UP Q8SPQ5_BOVIN (Q8SPQ5) NK receptor KIR2DL1, complete	282860	1,48	8,59	0,0100	0,16
<i>Bos taurus</i> signal transducer and activator of transcription 6, interleukin-4 induced (STAT6), mRNA	353105	1,72	8,97	0,0100	0,16
<i>Bos taurus</i> similar to DNA-directed RNA polymerase III 39 kDa polypeptide (RNA polymerase III C39 subunit) (LOC529410), partial mRNA	529410	1,38	11,62	0,0100	0,16
<i>Mus musculus</i> calcium/calmodulin-dependent protein kinase I (Camk1), mRNA	52163	1,46	8,73	0,0100	0,16
Sem anotação	NA	1,32	8,53	0,0100	0,16
<i>Bos taurus</i> similar to transducin-like enhancer of split 6 (E(sp1) homolog, Drosophila) (LOC511478), partial mRNA	511478	1,36	8,54	0,0101	0,15
<i>Bos taurus</i> similar to KIAA0098 protein (LOC533784), mRNA	533784	1,31	9,04	0,0101	0,15
<i>Homo sapiens</i> tumor protein D52 (TPD52), transcript variant 3, mRNA	7163	1,62	9,49	0,0101	0,14
<i>Bos taurus</i> similar to class I histocompatibility antigen BoLA-KN104 alpha chain precursor - bovine (fragment) (LOC533142), mRNA	533142	1,51	9,95	0,0101	0,14
GLUTATHIONE PEROXIDASE 1	281209	1,49	9,22	0,0102	0,13
<i>Mus musculus</i> DiGeorge syndrome critical region gene 8 (Dgcr8), mRNA	94223	1,44	8,68	0,0103	0,11
<i>Rattus norvegicus</i> matrix metalloproteinase 3 (Mmp3), mRNA	171045	1,30	8,76	0,0103	0,11
Sem anotação	NA	1,35	8,72	0,0103	0,10
<i>Bos taurus</i> similar to RIKEN cDNA 2210021J22 (LOC534451), mRNA	534451	1,54	9,90	0,0103	0,09

<i>Bos taurus</i> similar to Tyrosine-protein kinase receptor TYRO3 precursor (Tyrosine-protein kinase RSE) (Tyrosine-protein kinase SKY) (Tyrosine-protein kinase DTK) (Protein-tyrosine kinase byk) (LOC539987), mRNA	539987	1,57	9,49	0,0104	0,08
<i>Homo sapiens</i> poly (ADP-ribose) polymerase family, member 10 (PARP10), mRNA	84875	1,35	9,09	0,0104	0,08
<i>Bos taurus</i> similar to Amida (LOC506610), mRNA	506610	1,65	9,29	0,0104	0,07
<i>Canis familiaris</i> similar to solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 17 isoform a (LOC480251), mRNA	480251	1,61	8,87	0,0105	0,06
<i>Bos taurus</i> similar to GDNF receptor alpha (LOC534801), partial mRNA	534801	1,46	8,92	0,0105	0,06
<i>Sus scrofa</i> myosin heavy chain 2a (MYH2), mRNA	397256	1,52	9,83	0,0105	0,05
<i>Homo sapiens</i> uridine-cytidine kinase 2 (UCK2), mRNA	7371	1,49	9,08	0,0106	0,02
STK25 PROTEIN	373543	1,49	8,93	0,0107	0,01
similar to UP Q96F31_HUMAN (Q96F31) NFKBIE protein (Fragment), partial (93%)	4794	1,67	9,78	0,0107	0,01

expressa em log₂