



Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Tiago Henrique

**IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA
EXPRESSÃO DE MARCADORES
MOLECULARES ENVOLVIDOS NA
TUMORIGÊNESE DE PULMÃO**

São José do Rio Preto
2010

IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE MARCADORES MOLECULARES ENVOLVIDOS NA TUMORIGÊNESE DE PULMÃO

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina de São José do Rio Preto para
a obtenção do título de Mestre no Curso
de Pós-Graduação em ciências da saúde
eixo temático: Medicina e Ciências
Correlatas

Orientadora: Profa. Dra. Eloiza Helena Tajara da
Silva

São Jose do Rio Preto
2010

Tiago Henrique

Identificação e Avaliação da Expressão de
Marcadores Moleculares Envolvidos na
Tumorigênese de Pulmão

Banca Examinadora

Presidente e Orientador: Eloiza Helena Tajara da Silva

2° Examinador: Nelson José Freitas da Silveira

3° Examinador: Flávia Cristina Rodrigues Lisoni

Henrique, Tiago

Identificação e avaliação da expressão de marcadores moleculares envolvidos na tumorigênese de pulmão / Tiago Henrique.

São José do Rio Preto, 2010

114p.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Eixo Temático: Medicina e Ciências Correlatas

Orientadora: Eloiza Helena Tajara da Silva

1. Câncer de Pulmão; 2. Marcadores Moleculares; 3. Proteômica; 4. Genômica; 5. Bioinformática.

Sumário

Dedicatória.....	i
Agradecimentos.....	ii
Epígrafe.....	iv
Lista de Figuras.....	v
Lista de Quadros e Tabelas.....	vi
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	vii
Resumo.....	ix
Abstract.....	x
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	12
3. Casuística e Métodos.....	13
3.1. Casuística.....	13
3.2. Métodos.....	14
3.2.1. Análise de dado de bibliotecas SAGE.....	14
3.2.2. Extração de RNA de amostras frescas.....	14
3.2.3. Extração de RNA de amostras emblocadas em parafina	15
3.2.4. Síntese de DNA complementar (cDNA).....	16
3.2.5. PCR em tempo real.....	17
3.2.6. Extração de proteínas.....	19

3.2.7. Precipitação de proteínas por acetona.....	20
3.2.8. Eletroforese unidimensional (1DE).....	21
3.2.9. Eletroforese bidimensional (2DE).....	21
3.3. Coloração por <i>Coomassie blue</i>	23
3.3.1. Coloração de géis unidimensional por nitrato de prata	23
3.3.2. Digestão dos spots e espectrometria de massas.....	24
4. Resultados.....	26
4.1. Casuística.....	26
4.2. RNA de amostras frescas.....	28
4.3. RNA de amostras emblocada em parafina.....	28
4.4. Análise de genes constitutivos.....	28
4.5. Validação por PCR em tempo real dos dados das bibliotecas SAGE.....	33
4.6. Eletroforese bidimensional (2DE).....	37
4.7. Espectrometria de massas.....	37
5. Discussão.....	40
6. Conclusão.....	50
7. Referência Bibliográfica.....	51
8. Apêndices.....	70

Dedicatória

Dedico este trabalho

Aos meus pais, **Pedro e Irma,**
Ao meu irmão, **Mateus,**
À minha amada esposa, **Letícia**
com muito amor e carinho

Agradecimentos

A realização do presente trabalho somente foi possível devido à contribuição de várias pessoas. A todos eles, meus mais sinceros agradecimentos.

Primeiramente aos pacientes e seus familiares que em momentos difíceis de suas vidas aceitaram contribuir com este trabalho.

À minha orientadora Profa. Dra. Eloiza Helena Tajara da Silva, por ter confiado em meu trabalho. Por estar sempre tão preocupada com a qualidade do trabalho que desenvolvemos e com a nossa formação científica, por saber que sempre posso contar e por ser um exemplo de pessoa.

Ao médico, Dr. Francisco de Assis Cury, da Faculdade de Medicina de São Jose do Rio Preto – FAMERP, por ter gentilmente cedido as amostras de câncer de pulmão estudado nesse trabalho.

À Dra. Patrícia Maluf Cury, pelas análises patológicas, tão importantes para o desenvolvimento deste trabalho e por ser sempre tão atenciosa.

Aos amigos do Laboratório de Marcadores Moleculares e Bioinformática Médica, da Faculdade de Medicina de São Jose do Rio Preto – FAMERP, pelo apoio e convivência sempre tão agradável. Agradeço à Flavia, Nelson, Ulises, Caique, Flávio, Rodrigo, Giovana, Fernanda, Bianca, Natália, Juliana e Jaqueline.

Aos amigos Dra. Ana Maria Cavallini Rossi e Dr. Flávio Rossi por tudo que fizeram por mim.

À Minha família pelo amor e compreensão. Aos meus pais Pedro e Irma, que investiram muito em minha formação pessoal e profissional, muitas vezes deixando

de realizar seus sonhos para realizar os meus. Obrigado. Tudo que sou hoje devo a eles.

À Letícia, minha esposa amada e companheira.

A FINEP, FAPESP e CNPq pelo auxílio financeiro sem o qual esse trabalho não realizado.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron.

A Deus, por tudo!

Muito obrigado, a todos!

Epígrafe

Para não arrefeceres, imaginai que pode vir a saber tudo; para não presumirdes, refleti que, por muito que souberdes, mui pouco tereis chegado a saber.
Rui Barbosa

Lista de Figuras

Figura 1.	Eletroforese bidimensional e espectrometria de massas.....	6
Figura 2.	Eventos genéticos ocorridos na transformação do epitélio normal em pré neoplásico ou neoplásico.....	9
Figura 3.	Nicotina e o câncer de pulmão.....	10
Figura 4.	Gel de agarose mostrando as bandas 18S e 28S de RNAs extraídos de tecidos frescos.....	29
Figura 5.	Gel de agarose mostrando as bandas 18S e 28S de RNAs extraídos de tecidos parafinados.....	30
Figura 6.	Análise por PCR em tempo real das amostras parafinadas gene TUBA6.....	31
Figura 7.	Análise por PCR em tempo real das amostras frescas gene TUBA6.....	31
Figura 8.	Análise por PCR em tempo real das amostras parafinadas gene GAPDH.....	32
Figura 9.	Análise por PCR em tempo real das amostras frescas gene GAPDH.....	32
Figura 10.	Expressão dos genes <i>COL3A1</i> , <i>CTSB</i> e <i>ITGB1</i>	34
Figura 11.	Géis de poliacrilamida SDS-PAGE 12,5%.....	36
Figura 12.	Regiões ampliadas dos spots diferencialmente expressos.....	37

Lista de Quadros e Tabelas

Tabela 1.	Sequência dos iniciadores utilizados.....	17
Tabela 2.	Dados demográficos e anatomopatológicos dos adenocarcinomas de pulmão.....	27
Tabela 3.	Dados demográficos e anatomopatológicos dos carcinomas epidermóides de pulmão.....	27
Tabela 4.	Quantificação dos RNAs extraídos de amostras frescas.....	29
Tabela 5.	Quantificação dos RNAs extraídos de amostras emblocadas.....	30
Tabela 6.	Proteínas identificadas por <i>MALDI Q Tof</i>	39
Tabela 7.	Funções das proteínas identificadas.....	40

Lista de Abreviaturas e Símbolos

2DE	- Eletroforese bidimensional
1DE	- Eletroforese unidimensional
ACN	- Acetonitrila
Akt	- V-akt murine thymoma viral oncogene homolog
ABL	- V-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog
BCR	- Breakpoint cluster region
BRCA1	- Breast cancer gene 1
CA125	- Carbohydrate antigen 125
CD 20	- Cluster of differentiation 20
cDNA	- DNA complementar
CDKN2A	- Cyclin dependent kinase inhibitor
CHAPS	- 3-[(3-colamidopropil) dimetilamino]-1-propano sulfonato
Ct	- Cycle threshold
CsA	- Ciclosporina
DNA	- Ácido desoxirribonucléico
DTT	- Ditioneitol
EGFR	- Epidermal growth factor receptor
ERCC1	- Excision repair cross-complementation group 1
MAPKs	- Mitogen-activated protein kinases.
mA	- Milliampere
mL	- Mililitro
min	- Minutos
NFKB	- Nuclear factor kappa B.
PCR	- Polymerase Chain Reaction

pI	- Ponto isoelétrico
PSA	- Prostatic specific antigen
RNA	- Ácido ribonucléico
RRM1	- Ribonucleotide reductase messenger 1
SAGE	- Serial analysis of gene expression
SDS	- Sodium dodecyl sulfate
SDS-PAGE	- Sodium dodecyl sulfate poliacrylamide gel electrophoresis
STAT	- Signal transducer and activator of transcription
TFA	- Ácido trifluoroacético
TP53	- Tumor protein 53
kDa	- KiloDalton
μ L	- Microlitro
μ m	- Micrometro
mM	- Milimol

Resumo

Introdução: O câncer de pulmão é a neoplasia humana mais comum. As taxas de sobrevida em 5 anos estão entre as mais baixas para tumores agressivos e seus valores não têm mostrado diferenças importantes nos últimos anos. Quando detectado nos estágios precoces, o câncer de pulmão mostra bom prognóstico, mas a maioria dos pacientes apresenta doença metastática no momento do diagnóstico, o que reduz a sobrevida significativamente. Apesar de todo o progresso obtido nos últimos anos em tratamento do câncer, o prognóstico desses pacientes permanece desfavorável. **Objetivos:** O presente estudo teve como objetivo investigar o perfil molecular de câncer de pulmão de células não pequenas, bem como de novos marcadores tumorais relevantes para diagnóstico e prognóstico dessa doença. **Métodos:** O RNA total de espécimes cirúrgicos congelados foi extraído pelo método do trizol e o kit *RNeasy FFPE* foi utilizado para extração de RNA de tecidos fixados em formalina e emblocados em parafina. Com o objetivo de identificar genes diferencialmente expressos envolvidos em câncer de pulmão, dados combinados de bibliotecas SAGE (*Serial Analysis of Gene Expression*) públicas foram analisados. O perfil protéico foi também avaliado em amostras de adenocarcinoma, carcinoma epidermóide e de margens cirúrgicas normais, utilizando eletroforese bidimensional e espectrometria de massas. **Resultados:** A análise estatística dos dados de SAGE identificou um conjunto de *tags* diferencialmente expressas entre as bibliotecas de adenocarcinoma e de margens cirúrgicas. Três genes com expressão alterada na análise de SAGE e de proteômica, dois com níveis elevados (*COL3A1*, *CTSB*) e um com nível reduzido (*ITGB1*) em células neoplásicas, foram selecionados para experimentos de PCR (reação em cadeia da polimerase) em tempo real no mesmo conjunto de amostras. Consistente com os resultados estatísticos, a PCR quantitativa confirmou a expressão elevada de *COL3A1* e *CTSB* em carcinomas quando comparados com o tecido livre de tumor. **Conclusão:** O RNA de amostras congeladas e arquivadas é adequado para amplificação por PCR em tempo real, embora exiba qualidade mais baixa nessas últimas. Portanto, métodos otimizados para tecidos arquivados permitem análises por PCR quantitativa e podem ser utilizados para avaliação do perfil transcricional de espécimes embebidos em parafina procedentes de pacientes com câncer. Este é aparentemente o primeiro estudo descrevendo a análise de dados de SAGE em câncer de pulmão. As abordagens estatística e proteômica foram efetivas em identificar genes e proteínas diferencialmente expressas envolvidas no desenvolvimento do câncer e podem revelar novos marcadores relevantes para a tumorigênese de pulmão.

Abstract

Introduction: Lung cancer is the most common malignancy in human. The average 5 years survival rate is one of the lowest among aggressive cancers, showing no significant improvement in recent years. When detected early, lung cancer has a good prognosis, but most patients present metastatic disease at the time of diagnostic, which significantly reduces survival rates. Despite all the recent advances in cancer treatment, prognostic of these patients have improved minimally. **Objectives:** The present study aimed to investigate the molecular profile of non-small cell lung cancer as well as new tumor makers relevant to diagnosis and prognosis of this disease. **Methods:** Total RNA from frozen surgical tissues was extracted using TRIZOL reagent and RNeasy FFPE kit was used for RNA extraction from formalin fixed, paraffin embedded tissue. Aiming to identify differentially expressed genes involved in lung cancer, we analyzed combined data from normal and tumor SAGE (*Serial Analysis of Gene Expression*) libraries available in the public domain. Proteome profiling was also analyzed in adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and normal surgical margin samples using two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. **Results:** The statistical analysis of SAGE data identified a subset of differentially expressed tags between normal surgical margins and adenocarcinoma libraries. Three genes displaying differential regulation in SAGE or proteomic analysis, two up- (*COL3A1*, *CTSB*) and one down-regulated (*ITGB1*) in neoplastic cells, were selected for real-time polymerase chain reaction (PCR) experiments using the same set of samples. Similar to the statistical results, quantitative PCR confirmed the upregulation of *COL3A1* and *CTSB* in carcinomas when compared to tumor free tissues. **Conclusion:** RNA from frozen and archived samples is appropriate for amplification experiments by real time PCR, although with lower efficiency among the last ones. Therefore, improved methods of RNA extraction in archived tissues are suitable for Real Time quantitative RT-PCR, and may be used for gene expression profiling of paraffin embedded tissues from cancer patients. To the best of our knowledge, this is the first study reporting SAGE data analysis in lung cancer. The statistical approach as well as the proteomic evaluation were effective in identifying differentially expressed genes and proteins reportedly involved in cancer development and may be useful to disclose new tumor makers relevant to lung tumorigenesis.

Introdução

1. Introdução

Nas últimas décadas, o câncer se manteve como um dos problemas de saúde pública mais relevantes. Esse fato se deve, em parte, ao aumento substancial da média de expectativa de vida da população e à forte correlação positiva entre câncer e idade. Aproximadamente, 10 milhões de casos serão diagnosticados a cada ano em todo o mundo e é esperado que esse número duplique até o ano de 2020. ⁽¹⁾

Várias neoplasias apresentam como principal fator etiológico a exposição crônica ao tabaco, que tem no cigarro o seu produto mais popular. De acordo com a *International Agency for Research on Cancer*, a fumaça do cigarro contém por volta de 4000 substâncias químicas, das quais mais de 60 são conhecidas como carcinogênicas⁽²⁾. Entre os mais potentes ingredientes responsáveis pela tumorigênese, estão os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e as nitrosaminas. Enquanto as nitrosaminas iniciam cascatas de sinalização, como do Akt (*v-akt murine thymoma viral oncogene homolog*) e das MAPKs (*mitogen-activated protein kinases*), que induzem proliferação celular⁽³⁾, os hidrocarbonetos ligam-se covalentemente ao DNA para formar adutos e causam mutações, elevando assim o risco de câncer, em especial o de pulmão. ⁽⁴⁾

O principal alcalóide do tabaco é a nicotina que, por si só, não é cancerígena, mas pode induzir proliferação, angiogênese e suprimir a apoptose ⁽⁵⁾, ⁽⁶⁾, processos estreitamente ligados à tumorigênese. Esse alcalóide atua por meio dos receptores nicotínicos de acetilcolina, da família de canais de íon dependentes de ligantes, que incluem receptores de serotonina e de ácido g-aminobutírico. Em células epiteliais bronquiais, a ativação desses receptores pela nicotina leva à estimulação da cascata Akt e de uma variedade de alvos, como os fatores de transcrição NFκB (*nuclear factor kappa B*), contribuindo para sobrevivência e proliferação celular. ⁽⁷⁾

O câncer de pulmão é uma das neoplasias mais frequentemente ligadas ao uso do cigarro. Sua associação ao tabaco foi estabelecida em 1957 e confirmada nos anos seguintes por vários estudos retrospectivos e prospectivos [revisado por ⁽⁸⁾].

Os resultados obtidos não diminuíram o interesse dos pesquisadores e muitos dados recentes estão disponíveis não apenas sobre o efeito da fumaça do cigarro na epidemia de câncer de pulmão, mas de outros fatores ocupacionais (asbestos, arsênico, cromo, níquel e radônio) e do ambiente (fumo passivo e poluição), e de fatores que conferem susceptibilidade à doença, como sexo, dieta e polimorfismos genéticos. ⁽⁹⁻¹²⁾

A cada ano, 1,35 milhões de pessoas são diagnosticadas com câncer de pulmão e mais de 3.000 morrem diariamente. ⁽¹³⁾ No Brasil, o número de casos novos estimados para 2010 é de aproximadamente 18 mil entre os homens e 10 mil entre as mulheres, o que corresponde a 18 casos novos a cada 100 mil homens e 10 a cada 100 mil mulheres. ⁽¹⁴⁾

Um estudo recente sobre mortalidade por esse câncer durante 1970-2007 em 37 países da Europa mostrou que os índices diminuíram no sexo masculino nas últimas duas décadas, mas, no sexo feminino, ainda estão em ascensão em muitos países, o que reflete diferentes fases da epidemia de fumo em homens e mulheres. ⁽¹⁵⁾

Do ponto de vista clínico, os tumores epiteliais de pulmão são divididos em dois grandes grupos, os carcinomas de pequenas células e os carcinomas de células não pequenas. Esses últimos compreendem três subtipos - os adenocarcinomas, que são os mais prevalentes, os carcinomas epidermóides e os carcinomas de células grandes - mas, de maneira geral, podem também incluir qualquer tumor epitelial sem o componente de células pequenas. ⁽¹⁶⁾

Os carcinomas de células não pequenas são responsáveis por 70 a 85% dos casos de câncer de pulmão e as principais características desse grupo são a baixa resposta ao tratamento e sobrevida de cinco anos em apenas 15% dos pacientes. ⁽¹⁷⁾ Seu prognóstico desfavorável pode ser explicado pelo fato de 50% dos pacientes apresentarem metástases no momento do diagnóstico ⁽¹⁸⁾, que estão entre as principais causas de morte dos pacientes. ⁽¹⁹⁾ O adenocarcinoma é atualmente o subtipo histológico predominante e sua taxa de incidência continua crescendo em muitos países. ⁽²⁰⁾

Embora as análises morfológicas sejam capazes de estratificar os pacientes com câncer de pulmão, é necessário identificar aqueles com riscos mais altos de apresentarem metástases e recorrência da doença.⁽²¹⁾ Atualmente, o sistema utilizado para o estadiamento clínico, considera fatores como tamanho e localização do tumor (T), comprometimento de linfonodos regionais (N) e presença de metástases à distância (M).⁽²²⁾

O sistema TNM é útil por causa de sua simplicidade, valor prognóstico e porque permite a avaliação da extensão da doença no momento do diagnóstico, o que facilita a escolha da terapia apropriada para o paciente: cirurgia nos casos precoces, quimioterapia, cirurgia e radioterapia para os localmente avançados e quimioterapia para os metastáticos. Entretanto, esse sistema contém limitações considerando que o câncer de pulmão é heterogêneo e biologicamente complexo.⁽²³⁾ A principal consequência da imprecisão do estadiamento é o resultado do tratamento. Por exemplo, quando o estadiamento é subestimado, o paciente pode não se beneficiar de terapias sistêmicas. Em contrapartida, quando o estadiamento é superestimado, o paciente não é submetido ao procedimento cirúrgico que, em muitos casos, leva à cura da doença.⁽²⁴⁾ Todavia, em 30 a 35% dos pacientes que são tratados cirurgicamente, a doença reaparece, indicando a existência de subgrupos de pacientes que inicialmente são diagnosticados como apresentando a doença em estágios iniciais mas, na verdade, estão em fases avançadas, não detectadas que podem apresentar células tumorais não detectadas pelas abordagens utilizadas para diagnóstico e estadiamento.⁽²⁵⁾

A avaliação de tumores iniciais e restritos ao pulmão não é simples por causa das dificuldades de acesso à lesão e dos limites de sensibilidade das técnicas de imagem. Esse fato, somado às limitações da avaliação de estadiamento do tumor citadas acima, torna muito importante a investigação de alterações moleculares desencadeadas durante o processo de malignização para identificação de marcadores eficientes no rastreamento de grupos de risco, diagnóstico precoce, escolha do tratamento e previsão do curso da doença.⁽²⁶⁾

A caracterização dos marcadores moleculares tem evoluído do nível histológico simples até abordagens capazes de avaliar centenas a milhares de

genes e proteínas. Atualmente, algumas formas de câncer já estão sendo tratadas com base no conhecimento gerado por essas técnicas. É o caso da leucemia mielóide crônica, que apresenta translocação dos genes *BCR* e *ABL* resultando em elevada atividade da quinase serina/treonina quimérica, dos linfomas positivos para CD20 e dos tumores de mama com amplificação do receptor de membrana tirosina/quinase HER2/neu [revisto por ⁽²⁷⁾].

A busca de marcadores moleculares em câncer não é recente. Um dos primeiros marcadores foi referido por um estudo de 1848, que detectou a cadeia leve de imunoglobulina na urina de 75% dos pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo. A introdução de técnicas imunológicas facilitou a descoberta da alfa-fetoproteína e do antígeno carcinoembrionário e iniciou a era moderna de monitoramento de doenças. Em 1980, a tecnologia do hibridoma permitiu a descoberta do marcador CA125 (*carbohydrate antigen 125*) para câncer epitelial de ovário. No mesmo ano, foi identificado o PSA (*prostate-specific antigen*) em câncer de próstata, considerado ainda hoje um dos melhores marcadores moleculares de câncer [revisto por ⁽²⁸⁾].

Nos últimos anos, com o progresso na área de biotecnologia, foram desenvolvidas algumas abordagens que permitem a análise em larga escala das características das células malignas. Entre elas estão os arranjos de cDNA ⁽²⁹⁾, as análises seriadas de expressão gênica (SAGE)⁽³⁰⁾ e os métodos de sequenciamento de última geração ⁽³¹⁾, que são muito auxiliados na etapa de validação pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (RT-PCR). ⁽³²⁾ Essas abordagens têm tornado possível, de maneira robusta e reprodutível, a identificação de ganhos e perdas cromossômicas e a resultante alteração da expressão gênica nos tumores ⁽³³⁾, bem como sua correlação com a evolução clínica da doença. ⁽³⁴⁻³⁷⁾

Entretanto, as técnicas referidas acima não fornecem uma avaliação precisa do que ocorre no nível das proteínas. Por exemplo, alguns genes, por meio de *splicing* alternativo, codificam diferentes isoformas. Modificações pós-traducionais, tais como fosforilação, glicosilação, clivagem proteolítica e adição de oligossacarídeos ou lipídeos, podem alterar a estrutura e a função de uma mesma

proteína e determinar a mudança na sua localização intracelular ⁽³⁸⁾. Por esse motivo, para o entendimento dos mecanismos envolvidos na tumorigênese, é importante que, paralelamente aos dados derivados do genoma e do transcrito e dos dados clínicos, sejam também obtidas informações sobre as diferenças protéicas entre a célula normal e a maligna.

A abordagem proteômica utiliza uma combinação de técnicas, como eletroforese bidimensional (2D), espectrometria de massas, sequenciamento de polipeptídeos e bioinformática, para identificar e caracterizar as proteínas celulares (Figura 1). ^(39, 40) A eletroforese 2D, por exemplo, é capaz de separar centenas de proteínas em um único gel. ⁽⁴¹⁾ Suas principais desvantagens referem-se à dificuldade de detecção de certos tipos de proteínas, como as de baixa abundância (receptores, transdutores de sinal e reguladores), as muito básicas e hidrofóbicas, as de membrana e aquelas acima de 150 kDa ou abaixo de 10 kDa. ⁽⁴¹⁾

Apesar dessas limitações, a proteômica tem se tornado uma ferramenta eficaz para identificação de marcadores moleculares de diagnóstico, prognóstico e predição de desfecho em câncer. Geralmente, as análises proteômicas utilizam tecidos frescos, do mesmo modo que as abordagens genômicas. Enquanto a coleta de sangue e urina é fácil de ser realizada e pode ser repetida várias vezes para um mesmo paciente, a obtenção de tecidos sólidos é invasiva e restrita para procedimentos diagnósticos e/ou terapêuticos.

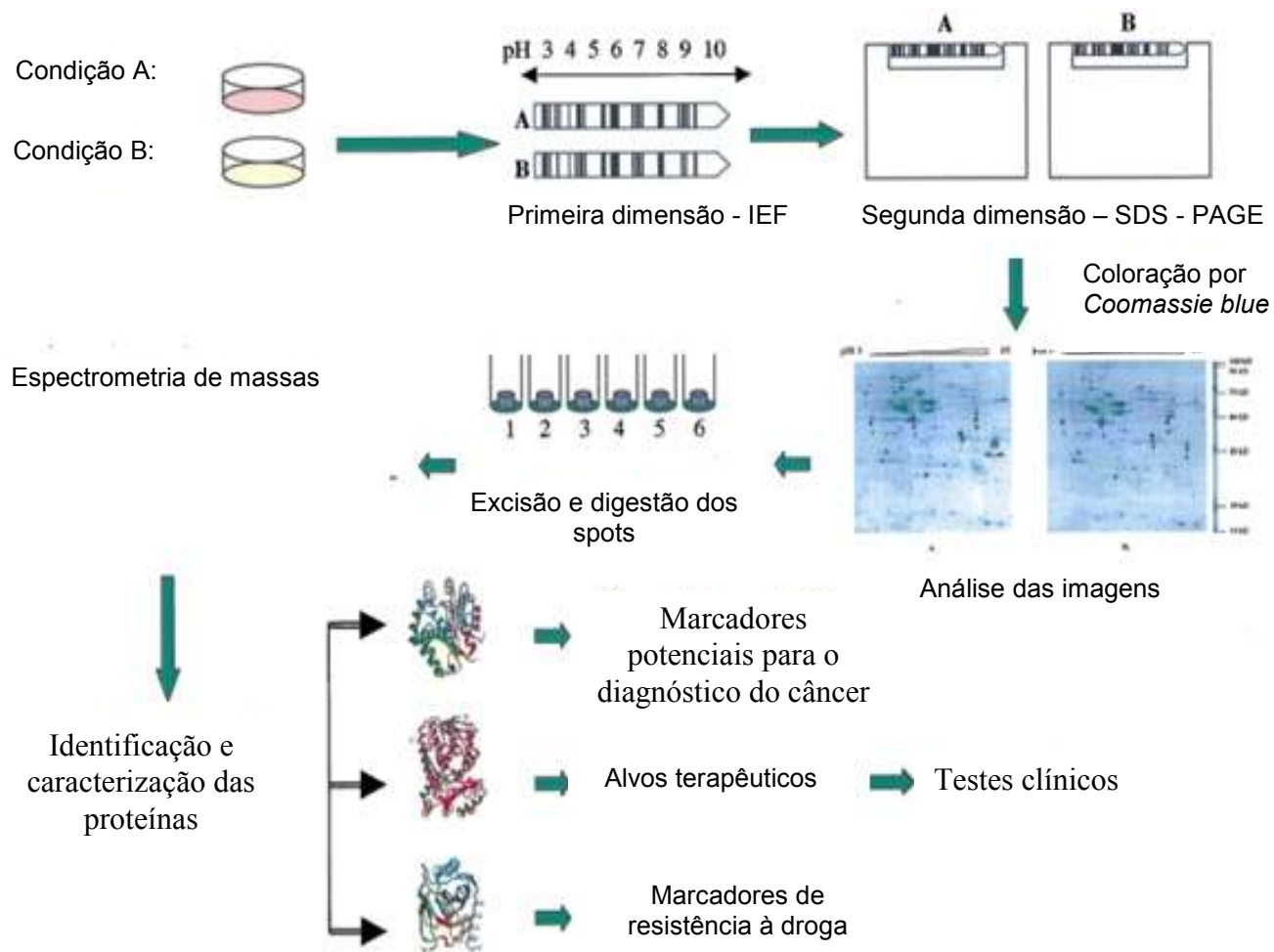


Figura 1. Eletroforese bidimensional e espectrometria de massas. Resumo das etapas da eletroforese bidimensional e espectrometria de massas (<http://www.blackwell-synergy.com/links/doi/10.1046/j.1525-1438.2002.01200.x/full/>).

Nos estudos de busca de marcadores, tais amostras costumam ser obtidas apenas após ressecção de grandes tumores e quando não prejudicam as análises de rotina para diagnóstico. Para lesões em estágios iniciais ou pré-malignas, que são interessantes para os experimentos de validação e frequentemente muito pequenas, o número de casos disponíveis é sempre reduzido.

Tais fatores, somados à necessidade de tempos curtos entre a ressecção cirúrgica do espécime e seu armazenamento adequado, limitam a casuística a pequenos grupos de pacientes e a tumores já em estados avançados. ⁽⁴²⁾

Alguns estudos têm comparado extratos protéicos de tecidos frescos e emblocados em parafina por técnicas clássicas de análise de proteínas, como eletroforese bidimensional, espectrometria de massas, *Western blot* e arranjos de proteínas, e seus resultados são bastante promissores. ⁽⁴²⁻⁴⁷⁾

Os avanços metodológicos são especialmente importantes para a análise molecular do câncer de pulmão, que nem sempre é tratado por cirurgia e o material obtido muitas vezes resume-se a pequenas biópsias. Apesar disso, muitos dados estão disponíveis e já permitiram algumas importantes conclusões.

Acredita-se que, na tumorigênese de pulmão, o acúmulo gradual de 10 a 20 alterações genéticas ocorra durante a transformação de um epitélio normal para pré-neoplásico e neoplásico. (Figura 2). Tais alterações envolvem mutações, deleções e modificações epigenéticas que ocorrem na árvore brônquica exposta a carcinógenos, conferindo vantagem de crescimento e sobrevivência às células (Figura 3). Incluem ativação de cascatas de sinalização relacionadas á proto-oncogenes e inativação de genes supressores de tumor, levando à auto-suficiência de sinais de crescimento e insensibilidade a sinais inibidores de crescimento, resistência a apoptose, perda de mecanismos de reparo de DNA, angiogênese sustentada, potencial ilimitado de proliferação e aquisição de fenótipo com capacidade de migração e invasão. ⁽⁴⁸⁾

No caso do carcinoma epidermóide, o modelo proposto de passos sequenciais inclui perdas alélicas no epitélio de fumantes, seguidas de reativação da telomerase, inativação de genes supressores de tumor, como o *TP53* (*tumor*

protein p53) e o *CDKN2A* (*cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*), e expressão elevada da ciclina D1 na passagem de displasia a carcinoma *in situ*.

Ao contrário, o desenvolvimento dos adenocarcinomas, que surgem no epitélio alveolar periférico, envolve pelo menos duas vias separadas, dependendo dos pacientes serem fumantes ou não. Entre os primeiros, são frequentes as mutações no oncogene *KRAS* e a inativação de genes supressores, por metilação (*CDKN2A*) ou mutação (*TP53*). Entre os não-fumantes, especialmente mulheres de origem asiática, são observadas amplificação ou mutações no gene do receptor do fator de crescimento epidérmico (*EGFR*), que são suficientes para transformação maligna e progressão (Figura 1).⁽⁴⁹⁾

A cascata do EGFR é a principal via transdutora de sinais de crescimento e sobrevivência nas células do pulmão e, portanto, um alvo para terapia. As mutações nesse receptor estão geralmente presentes nos exons que codificam o domínio tirosina quinase da proteína e são associadas a uma maior sensibilidade a inibidores de tirosina quinase, como o gefitinibe e o erlotinibe.⁽⁵⁰⁻⁵²⁾ Essas drogas competem com o ATP pela ligação ao domínio catalítico e inibem a autofosforilação do receptor, bem como os efetores secundários, como quinases MAPK e Akt e fatores de sinalização e transcrição da família STAT (*signal transducer and activator of transcription*).⁽⁵³⁾

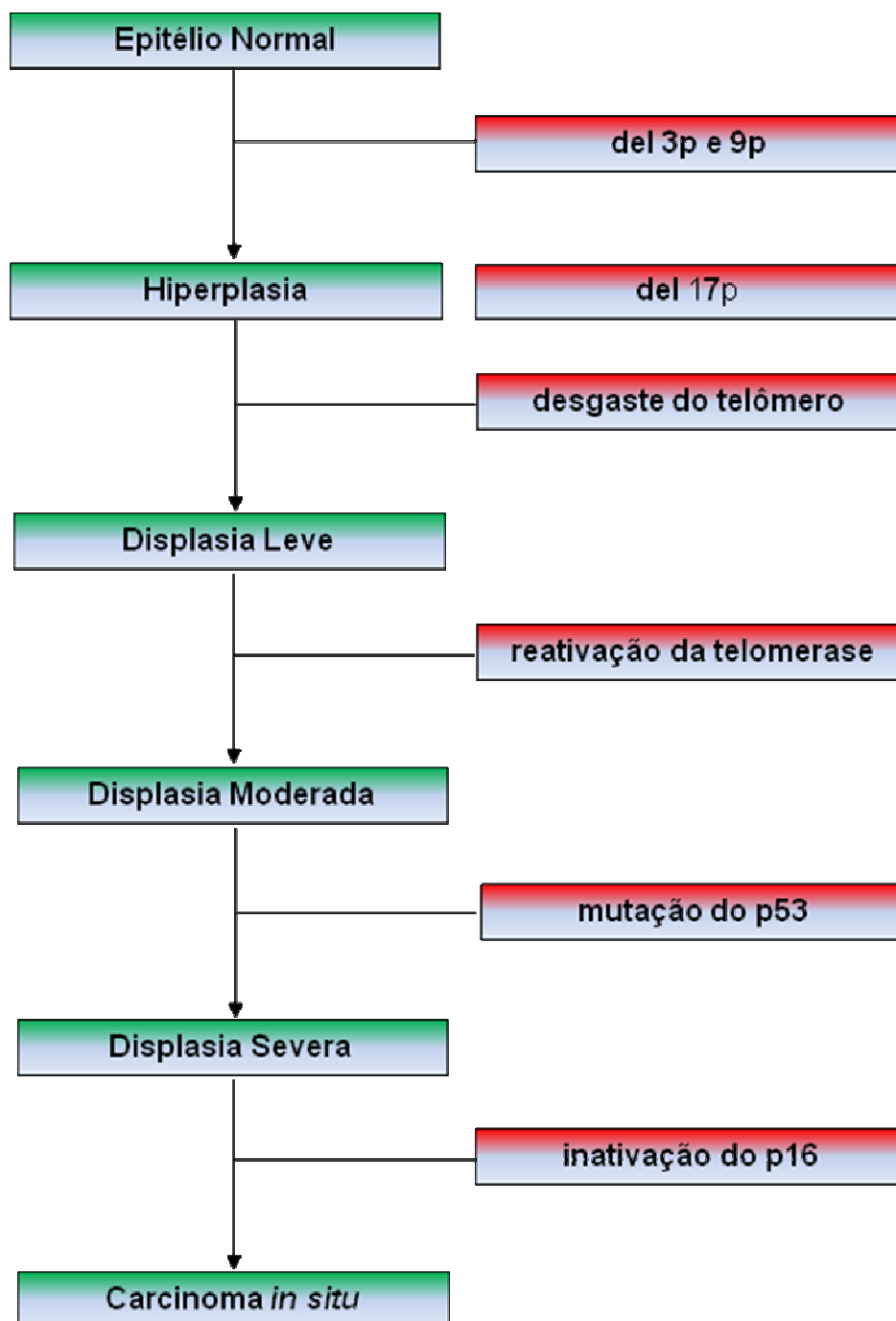


Figura 2. Eventos genéticos ocorridos durante a transformação do epitélio normal para pré-neoplásico e neoplásico Lantuéjoul et al. (2009), com modificações.

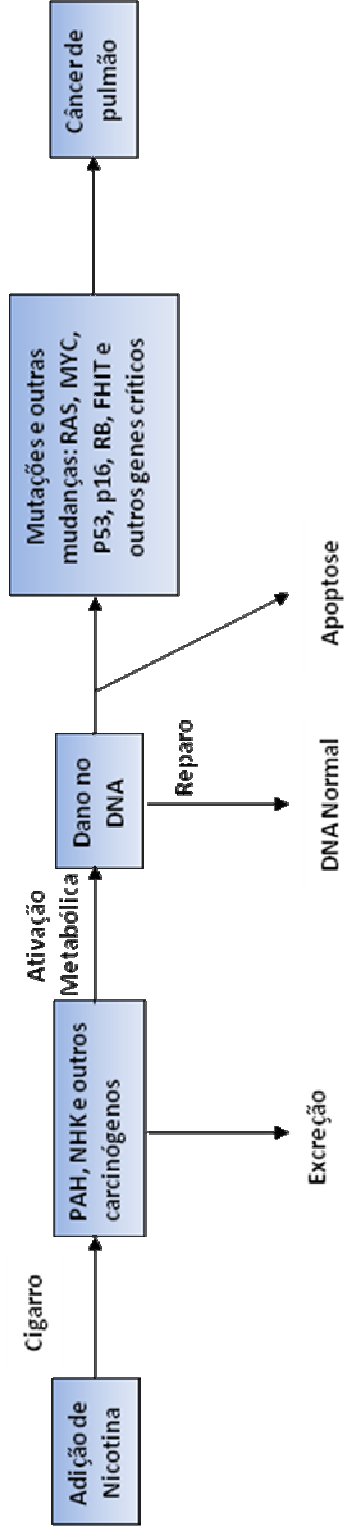


Figura 3. Nicotina e câncer de pulmão via carcinógenos da fumaça e indução de mutações em genes críticos. Alberg et al. (2007) e Hecht et al. (1999), com modificações.

Muitos marcadores potenciais do câncer de pulmão já foram descritos e estão detalhados na revisão feita por Coate et al. ⁽²⁶⁾, que selecionou os mais importantes para os tumores de células não pequenas e didaticamente agrupou-os por padrões moleculares: (a) reparo por excisão de nucleotídeo (NER) e seus principais membros envolvidos: ERCC1 (*excision repair cross-complementation group 1*), RRM1 (*ribonucleotide reductase messenger 1*) e BRCA1 (*breast cancer gene 1*); (b) reguladores do ciclo celular, como a proteína p27 e as já citadas p53 e KRas; (c) beta tubulin classe III, envolvida na formação de microtúbulos que participam da separação das cromátides na divisão celular e, portanto, são importantes para a divisão celular; e (d) padrão EGFR.

A principal pergunta é qual desses marcadores ou de outros que serão descritos se mostrará mais útil para diagnóstico e predição de desfecho ou para seleção de tratamento personalizado e quais serão validados em grande número de pacientes com câncer de pulmão.

Objetivos

2. Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo geral identificar o perfil molecular dos carcinomas de pulmão bem como investigar novos marcadores tumorais relevantes para diagnóstico e prognóstico dessa doença. Seus objetivos específicos compreendem:

A. Investigar perfis de expressão gênica característicos de câncer de pulmão em bancos de dados públicos para seleção de genes candidatos e vias bioquímicas relacionados com a tumorigênese de pulmão.

B. Implantar e otimizar a técnica de extração de RNA e proteínas a partir de amostras de tumores de pulmão emblocadas em parafina.

C. Investigar o perfil protéico de amostras de câncer de pulmão frescos e emblocados em parafina.

D. Validar a expressão de marcadores potencialmente relacionados com o processo de desenvolvimento e progressão do câncer de pulmão.

Casuística e Métodos

3. Casuística e Métodos

3.1. Casuística

No presente trabalho, foram estudadas cinco amostras frescas de adenocarcinoma e duas de carcinoma epidermóide de pulmão, bem como suas respectivas margens cirúrgicas aparentemente livres da doença, colhidas após ressecção cirúrgica (lobectomia), realizada pela equipe de cirurgia torácica do Hospital de Base de São José do Rio Preto, SP. Foram também estudadas oito amostras de adenocarcinoma e oito de carcinoma epidermóide de pulmão emblocadas em parafina. As amostras foram armazenadas até o momento de uso a -80°C, no caso de material fresco, ou em temperatura ambiente, no caso de material arquivado. Os dois grupos de amostras foram utilizados em experimentos para avaliação de expressão gênica e protéica.

Todos os pacientes concordaram em participar da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética (CONEP parecer 270/2005) da Instituição participante (**Anexo 3**).

Para seleção de genes diferencialmente expressos em tecidos neoplásicos e normais, foram analisados os dados de duas bibliotecas SAGE (*Serial Analysis of Gene Expression*) de adenocarcinoma de pulmão e uma de tecido pulmonar normal, disponíveis no banco de dados público do *Cancer Genome Anatomy Project* (<http://cgap.nci.nih.gov/SAGE>). Essas bibliotecas são denominadas SAGE_Lung_normal_B_1, SAGE_Lung_adenocarcinoma_MD_L9 e SAGE_Lung_adenocarcinoma_MD_L10.

3.2. Métodos

3.2.1. Análise de dados de bibliotecas SAGE

O método estatístico de semelhança parcial desenvolvido por Cox (1975), foi utilizado para as análises das três bibliotecas SAGE. Resumidamente, o teste considera três frequências de um tag específica formando uma distribuição trinomial, onde o tamanho da amostra e o total de tags. A probabilidade do trinômio desconhecido de tags é representada por (p_1, p_2, p_3) e o tamanho da biblioteca é representado por (N_1, N_2, N_3) . A homogeneidade das médias pode ser testada utilizando o modelo de hipótese trinomial **H: $(p_1, p_2, p_3) = (N_1, N_2, N_3)/N$ onde $N = N_1 + N_2 + N_3$ (Anexo 1 e 2)** Silveira et al. (2008).⁽⁵⁴⁾ Após essa análise, foram selecionados dois genes que apresentaram padrão de expressão aumentada (*COL3A1* *CTSB*) ou diminuída (*ITGB1*) nas bibliotecas de tecido tumoral em relação ao tecido normal correspondente, para validação por PCR em tempo real.

3.2.2. Extração de RNA de amostras frescas

As amostras frescas foram submetidas à extração de RNA utilizando TRizol (solução de extração de RNA, Life Technologies, Grand Island, NY, USA) e protocolo já estabelecido no laboratório (Sambrook, Russel, 2001). Em resumo, os fragmentos de tecidos com aproximadamente 100mg foram macerados manualmente em almofariz, com pistilo e adição de nitrogênio líquido. Para cada 10mg de tecido, foram adicionados 1000 μ L de TRizol, que mantém a integridade do RNA enquanto promove a lise celular. O material foi, então, distribuído em tubos de 1,5mL e mantido à temperatura ambiente por 5min.

O próximo passo foi a adição de 200 μ L de clorofórmio gelado para cada mL de amostra em TRizol. O material foi agitado vigorosamente por aproximadamente 20s e

permaneceu por 3min à temperatura ambiente sendo, em seguida, acondicionado em gelo. As amostras foram centrifugadas a 12.000g, por 15min a 4°C, para separação da fase aquosa, que contém RNA, da interfase branca e leitosa que contém principalmente DNA, e da fase orgânica com proteína. A fase aquosa com RNA foi transferida para um novo tubo com 400µL de isopropanol gelado e 10µg de glicogênio, por 15min à temperatura ambiente. Após essa etapa de precipitação, as amostras foram centrifugadas a 12.000g, por 15min a 4°C, e o sobrenadante foi descartado por inversão. O sedimento foi lavado com 1mL de etanol 75% gelado e agitado até se soltar do tubo. A amostra foi centrifugada a 7.500g por 5min a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi seco sobre papel absorvente à temperatura ambiente, sendo posteriormente ressuscitado em 20-50µL de água livre de nucleases (dependendo do tamanho do sedimento). As amostras foram colocadas em banho seco a 500g por 10min a 57°C. O RNA foi quantificado e a razão de absorbância foi obtida em espectrofotômetro *NanoDrop ND1000 (Thermo Scientific, Delaware, USA)*. A qualidade do RNA extraído dos tecidos frescos foi avaliada pela presença das duas bandas ribossômicas 18S e 28S em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio.

3.2.3. Extração de RNA de amostras emblocadas em parafina

A extração de RNA dos tecidos emblocados em parafina foi realizada utilizando o Kit *RNAasy* (Quiagen, Germany), seguindo as instruções do fabricante. Primeiramente, foram obtidos quatro cortes histológicos com 10µm de espessura, que foram colocados em tubos de 2mL contendo 1mL de xilol, para desparafinização dos cortes. As amostras foram agitadas vigorosamente por 10s e centrifugadas a

15.000g, por 2min a 20°C. O sobrenadante foi removido e, ao sedimento, foi adicionado 1mL de etanol 100% para completa retirada do xilol.

A amostra foi centrifugada novamente a 15.000g, por 2min a 20°C, e o sedimento foi incubado em proteinase K por 15min a 55°C, seguidos de 15min a 80°C. O RNA total foi coletado em coluna e eluído em 20µL de água livre de nucleases. A quantificação do RNA foi realizada em espectrofotômetro *NanoDrop ND1000* e sua qualidade foi avaliada em gel de agarose corado com brometo de etídio.

3.2.4 Síntese de DNA complementar (cDNA)

Uma vez avaliada a qualidade dos RNAs extraídos, o cDNA foi sintetizado a partir de 1µg de RNA total, utilizando o *High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit* (Applied Biosystems, Foster City, Califórnia, USA). A qualidade do cDNA foi avaliada em reação de amplificação por PCR de fragmento do gene da alfa tubulina 1c, *TUBA6*, com 106 pb. As condições da reação foram 5min a 94°C e 35 ciclos de 50s a 94°C para desnaturação do DNA, 30 segundos para anelamento dos iniciadores a 60°C e 45s a 72°C para extensão das cadeias, além de 7min a 72°C para extensão final. A sequência dos iniciadores está descrita na Tabela 1.

Tabela 1 – Sequências dos iniciadores utilizados para avaliação da expressão gênica.

Genes	Primer F	Primer R	Fragmentos PB
TUBA6	5' TCAACACCTTCTTCAGTGAAACG	5' AGTGCCAGTGCGAACTTCATC	106
GAPDH	5' ACCCACTCCTCCACCTTTGA	5'CTGTTGCTGTAGCCAAATTCGT	105
COL3A1	5' AAAGGGGAGCTGGCTACTTC	5'GTTGAAGGAGGATGTTCCC	126
CTSB	5' AAAGTTCCCCATCATTCC	5' CTTTGGAGAACGCCAGTCTC	116
ITGB1	5' TGCAACAGCTCTCACCTACG	5 AAGATGGGCAACTCAAATGG'	120

3.2.5. PCR em tempo real

Os experimentos de validação de dois genes selecionados a partir das bibliotecas SAGE (*COL3A1* e *ITGB1*) foram realizados por PCR em tempo real no *7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems.cidade,estado,pais)*. Para esses experimentos, foi também selecionado o gene *CTSB*, cujo produto mostrou-se alterado em amostras de adenocarcinoma de pulmão analisadas por eletroforese bidimensional e espectrometria de massas.

A expressão desses genes foi avaliada nas amostras frescas de adenocarcinoma e carcinoma epidermóide de pulmão em relação às suas margens. Os iniciadores foram desenhados manualmente utilizando os seguintes parâmetros: 23 - 20 pares de bases (pb), 43 - 55% de conteúdo de GC, tamanho de produto pequeno (105-126pb) e pelo menos um iniciador flanqueando os limites intron-exon para impedir amplificação genômica (Tabela 1). Todos os iniciadores foram comprados de Invitrogen (São Paulo, São Paulo, Brasil).

As reações foram feitas em triplicata em volume final de 20µL, com 10µL de *SYBR Green (Applied Biosystems)*, 50nM de cada iniciador e 20ng de cDNA. As condições de PCR foram: uma primeira etapa a 50°C por 2min, seguida de 10min a 95°C e 40 ciclos de 15s a 95°C para desnaturação do DNA, 1min a 60°C para anelamento dos iniciadores e extensão das cadeias. Para os iniciadores, foi

calculada a eficiência da reação ($y = 1$) em diluições seriadas da mesma amostra de cDNA (5466). A eficiência da reação (E) foi estimada pela fórmula $E = [10^{(-1/\text{slope})}] - 1$ e atingiu os valores de 1.022 a 1.017 nos diferentes experimentos.

Os dados resultantes da reação de PCR em tempo real foram analisados calculando-se as médias geométricas de cada triplicata das amostras a partir dos valores do C_t (C_t ou *cycle threshold* é o ciclo no qual as amostras atingem o ponto de fluorescência detectado pelo equipamento). Posteriormente, foi calculado o ΔC_t a partir da diferença entre a média geométrica obtida para a sequência de interesse e a média calculada para o controle interno (gene *TUBA6*). Para calcular o $\Delta-\Delta C_t$ foram escolhidas as amostras de margens cirúrgicas como calibradores, atribuindo o valor de zero para essas amostras como resultado da subtração com seu próprio ΔC_t . Nas demais amostras, o $\Delta-\Delta C_t$ foi calculado a partir das diferenças dos valores de ΔC_t de cada uma delas em relação ao calibrador. Em seguida, foi calculado o $2^{-\Delta-\Delta C_t}$, ou seja, o $(\Delta-\Delta C_t)^2$. Finalmente, para uma melhor representação gráfica, os resultados foram apresentados em uma escala logarítmica de base 3 (Log_3).

Foi considerado aumento ou diminuição significativa da expressão quando o valor apresentado na forma de Log_3 esteve acima ou abaixo de um, respectivamente.

3.2.6. Extração de proteínas

Extração sequencial de proteínas por TRIZOL® Reagent. A fase orgânica obtida da extração do RNA foi submetida ao isolamento de DNA e proteínas. O material recebeu etanol 100% e foi misturado por inversão. A amostra foi incubada por 2-3min a 15-30°C e o DNA foi sedimentado por centrifugação a 2.000g por 5min a 2-8°C. O sobrenadante, com as proteínas, recebeu 1,5mL de álcool isopropil e foi mantido por 10min a 15-30°C. O material foi centrifugado a 12.000g por 20min a 2-8°C e o sedimento foi lavado três vezes em solução de hidrocloreto de guanidina 0,3M em etanol, mantido a 15-30°C por 20min e centrifugado a 7.500g por 5min a 2-8°C. Em seguida, o material foi seco em centrífuga á vácuo por 5-10min, dissolvido em 300-400µL (dependendo do tamanho do *pellet*) de SDS 1% e incubado a 50°C por 16h. Após centrifugação a 10.000g por 10min a 2-8°C, o sobrenadante ou extrato protéico foi transferido para um novo tubo.

A concentração de proteínas foi medida em espectrofotômetro *NanoDrop ND 1000*. Para essa quantificação, foi realizada uma curva de diluição utilizando albumina sérica bovina (*BSA*) fornecida juntamente com o *BCA™ Protein Assay Kit* (Pierce), nas concentrações de 2000µg/mL, 1.500µg/mL, 1000µg/mL, 500µg/mL, 250µg/mL, 125µg/mL, 62,5µg/ml e 0µg/mL (branco).

Extração de proteínas de amostras emblocadas em parafina. Para extração de proteínas a partir de material emblocado em parafina, foi utilizado o protocolo descrito por Shi et al. (2006) e Ikeda et al. (1998).^(55, 56) Em resumo, quatro cortes histológicos de 10µm foram colocados em tubos de 2mL contendo 1mL de xilol, para desparafinização. O material foi agitado por 10s, centrifugado a 15.000g durante

5min por cinco vezes e o sobrenadante foi desprezado. Após as lavagens, o material foi reidratado em etanol absoluto 95%, 90%, 80%, e 60%, sucessivamente, e em água destilada, e seco em temperatura ambiente por 2 a 3min. Após desparafinização, o material foi pré-incubado a 100°C por 20min em tampão RIPA pH 7.6 [fosfato de sódio di-hidrogenado 1 M, fosfato dissódico monohidrogenado 10 mM, cloreto de sódio 154 mM, triton X-100 1%, desoxicolato sódico 12 mM, azida sódica 0.2%, fluoreto fenil, metil, sulfonil 2 mM, aprotinina 50 mg/mL (Sigma Chemical; St Louis, MO, USA), leupeptina 50 mM (Bayer, Leverkusen, Germany) e SDS 2%] e, posteriormente, mantido a 60°C por 2h. Após a incubação, os lisados foram centrifugados a 15.000g por 20min a 4°C. O sobrenadante foi coletado e armazenado a -80°C. As amostras de proteínas extraídas de material emblocado foram quantificadas da mesma maneira que as amostras extraídas de tecido fresco.

3.2.7 Precipitação de proteínas por acetona

Muitos contaminantes orgânicos solúveis, tais como detergentes e lipídeos, interferem nos resultados da eletroforese bidimensional. ⁽⁵⁷⁾ Como esses compostos são solúveis em acetona, uma etapa de precipitação de proteínas é realizada previamente à sua utilização. Com esse objetivo, cerca de 1000µL de acetona gelada foram adicionados a cada extrato protéico obtido de amostras frescas. O material foi incubado a -20°C por pelo menos 2h e, em seguida, centrifugado a 13.000g por 10min a 2-8°C. Os sedimentos foram secos ao ar por 5-10min à temperatura ambiente e, posteriormente, ressuspensos em solução de reidratação e submetidos à focalização isoeletrica.

3.2.8. Eletroforese unidimensional (1DE)

Para minimizar possíveis interferências causadas por variabilidade individual, as amostras foram reunidas em pools seguindo sua classificação histológica. Os *pools* de amostras emblocadas em parafina de adenocarcinomas e carcinoma epidermóides foram submetidos à eletroforese unidimensional em gel de poliacrilamida SDS 12% para separação das proteínas. As proteínas foram desnaturadas a 96°C por 10 minutos em tampão 5X com β -mercaptoetanol e 5 e 10 μ g de cada pool. SDS-PAGE corrido em sistema vertical de gel poliacrilamida (SE 400 Vertical Unit, GE Healthcare, Uppsala, Sweden) a 120 V. As proteínas foram detectadas por *Comassie Brilliant Blue*. O marcador de peso molecular utilizado foi o *LMW calibration kit for SDS-Electrophoresis* (Ge Healthcare, Uppsala, Sweden).

Em resumo cerca de 1000 μ g de cada amostra foram adicionados a 250 μ L de solução de reidratação (uréia 8M; CHAPS 2%; tampão IPG 0,5%; 70mg DTT e azul de bromofenol).

3.2.9. Eletroforese bidimensional (2DE)

As proteínas extraídas, após precipitação por acetona no caso de amostras frescas, foram submetidas à focalização isoelétrica e separadas na segunda dimensão. Cada amostra contribuiu com a mesma quantidade de massa protéica para a confecção dos pools. Um pool de adenocarcinoma foi formado por cinco amostras, um pool de carcinoma pulmonar por duas amostras e o pool de normal por sete amostras.

As tiras de pH 3-10 imobilizado foram reidratadas nessa solução e, em seguida, as proteínas foram submetidas à focalização isoelétrica, com acúmulo total de 26.500

V/h. Após a corrida de primeira dimensão, as tiras foram incubadas na solução de equilíbrio (Tris-Cl 50mM pH 8,8, uréia 6M, glicerol 30%, SDS 2%, bromofenol e 100 mg de DTT/10 mL de solução) por 15min e, em seguida, tratadas com solução de Tris-Cl 50mM pH 8,8, uréia 6M, glicerol 30%, SDS 2%, bromofenol; 250mg de iodoacetamida/10mL de solução.

Após o equilíbrio, as proteínas foram separadas na segunda dimensão em géis SDS-PAGE 12%. As tiras de pH imobilizado da primeira dimensão foram colocadas entre duas placas de géis de poliacrilamida pré-montadas juntamente com um marcador de peso molecular de proteína. A eletroforese compreendeu uma pré-corrida a 30mA, por 15min, e uma corrida a 60mA, durante 5h.

Os géis de eletroforese 2D foram fixados e corados por *coomassie blue*, suas imagens foram capturadas em *scanner* modelo *ImageScanner* e analisados pelo *software* ImageMaster 2D Elite (Amersham Bioscience/GE Healthcare, Uppsala Sweden). A análise de imagens foi iniciada pela marcação manual dos *spots* presentes nos géis. Os marcadores de peso molecular e a escala de PI foram calibrados. O *background* dos géis foi subtraído e a imagem foi normalizada para a realização do *matching* ou sobreposição dos *spots*.

3.3. Coloração por *coomassie blue*

Primeiramente, os géis foram fixados em solução fixadora (etanol 50%, ácido acético glacial 10%), por 30min até 16h. Em seguida, os géis foram descorados em solução de descoloração (etanol 50%, ácido acético glacial 5%) por 3min. O próximo passo compreendeu a coloração por solução de *coomassie* (*coomassie brilliant blue* R-250, etanol ou metanol 40%, ácido acético glacial 10%), durante 90min. Os géis foram submetidos a quatro lavagens (15, 45, 120 e 120min) com solução de descoloração, para que fosse retirado o excesso de corante. Finalmente, os géis foram colocados em solução de preservação (ácido acético glacial 5%), por 30min ou mais.

Os géis foram mantidos em solução de metanol 15% durante 48h. Em seguida, cada gel foi colocado em sacos plásticos com 2mL da solução de glicerol 50% (1mL de cada lado do gel) e os sacos foram lacrados com seladora.

3.3.1. Coloração de géis unidimensionais por nitrato de prata

A coloração por nitrato de prata seguiu as instruções do *Silver Staining Kit Protein* (Amersham Biosciences, cidade, estado, país). Inicialmente, os géis foram fixados em solução fixadora (etanol 40%, ácido acético glacial 10%) por 30 minutos. Posteriormente, foram mergulhados em solução sensibilizadora (etanol 30%, glutaraldeído 0,125%, tiosulfato de sódio 0,2%, acetado de sódio 6,8%) por mais 30 minutos e submetidos a três lavagens sucessivas de 5 minutos cada com 250 mL de água. Os géis foram corados por nitrato de prata (solução de prata 0,25%, formaldeído 0,015%) por 20 minutos. Para retirada do excesso de prata dos géis, foram realizadas duas lavagens sucessivas em água, que não ultrapassaram um

minuto de duração. Para revelação dos géis, foi adicionada a solução reveladora (carbonato de sódio 2,5%, formaldeído 0,0074%) por aproximadamente 2-5 minutos (tempo suficiente para que as proteínas fossem visualizadas). O bloqueio da revelação foi realizado com solução bloqueadora (Na_2EDTA 1,5%) por 10 minutos. Finalmente, os géis foram submetidos a três lavagens sucessivas com água por 5 minutos cada.

3.3.2. Digestão dos spots e espectrometria de massas

Os *spots* de proteínas que apresentaram expressão diferencial foram recortados do gel 2D juntamente com um controle positivo (banda do marcador) e um controle negativo (porção do gel sem marcação) e descorados com 250 μL de solução de bicarbonato de amônio 50 mM / acetonitrila (ACN) 50%. Em seguida, a solução de descoloração foi retirada e 200 μL de ACN 50% ou 100% foram adicionados. Após 15min, a solução de ACN foi retirada e o material foi seco em centrifuga *speedvac* durante 30min. O fragmento de gel foi submetido a tratamento com 20 μL de solução contendo 0,4 μg de tripsina em solução de bicarbonato de amônio 50 mM e incubado a 37°C por 24h para digestão enzimática. A reação foi interrompida com 50 μL de ácido trifluoroacético (TFA) 1%.

Uma alíquota de cada digesto triptico foi analisada por espectrômetro de massas *Maldi Q Tof* (Matrix Assisted laser Desorption Ionization – Quadrupole Time of flight, Waters Corporation, Milford, MA, USA) e as massas dos peptídeos foram determinadas. Essa etapa foi realizada no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Campinas, SP.

O “mapa” de peptídeo obtido pela espectrometria de massas foi analisado com a utilização de banco de dado de sequências não redundantes:

Mascot: <http://www.matrixscience.com/cgi/index.pl?page=../home.html>

Resultados

4. Resultados

4.1. Casuística

Foram analisadas sete amostras de tecidos tumorais frescos e suas margens cirúrgicas aparentemente livres da doença, sendo cinco de adenocarcinoma de pulmão (três mulheres e dois homens, com 45 a 61 anos) e duas amostras de carcinoma epidermóide de pulmão (ambas de pacientes do sexo feminino, com 50 e 58 anos). Em relação às amostras emblocadas em parafina, foi estudado um total de oito pacientes com adenocarcinoma (quatro homens e quatro mulheres, com 55 a 75 anos) e oito pacientes com carcinoma epidermóide de pulmão (cinco homens e três mulheres, 49 a 76 anos), que incluíram os sete casos cujos tecidos frescos foram estudados.

Os adenocarcinomas eram geralmente pequenos, moderadamente diferenciados, sem invasão perineural e vascular e sem infiltração inflamatória. Os carcinomas epidermóides apresentaram características similares, exceto que eram geralmente pouco diferenciados. Apenas um caso mostrou margens cirúrgicas comprometidas por células neoplásicas. Os dados demográficos e anatomopatológicos desses casos estão apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Dados demográficos e anatomopatológicos dos adenocarcinomas de pulmão (NA=não avaliado).

Casos *	Idade Anos	Sexo	Margem cirúrgica	Diferenciação	TNM	Invasão perineural	Infiltração linfática	Infiltração vascular	Infiltração inflamatória peritumoral
*7894	48	M	-	Moderada	pT2N0M1	+	NA	-	-
*3391	45	F	-	Moderada	pT1pN1pM X	-	NA	-	+
5271	64	M	-	Moderada	NA	-	NA	-	-
3968	55	F	-	Pouca	NA	-	NA	-	-
3883	75	M	-	Moderada	pT1N0Mx	+	NA	+	-
*5496	61	M	-	Pouca	pT2N0Mx	-	NA	-	-
*5414	61	F	-	Moderada	NA	-	NA	-	-
*5466	61	F	-	Moderada	pT2N1Mx	-	NA	-	-

*Casos com amostras frescas e parafinadas. Os demais, apenas com amostras parafinadas.

Tabela 3. Dados demográficos e anatomopatológicos dos carcinomas epidermóides de pulmão (NA=não avaliado).

Casos *	Idade Anos	Sexo	Margem cirúrgica	Diferenciação	TNM	Invasão perineural	Infiltração linfática	Infiltração vascular	Infiltração inflamatória peritumoral
1479	71	F	-	Bem	pT2N0Mx	-	-	+	-
1096	64	M	NA	Moderada	pT2N0Mx	-	-	+	-
5249	49	M	+	NA	NA	-	-	-	-
1350	76	M	NA	Pouca	NA	-	-	-	-
1414	68	M	NA	Bem	pT2N0Mx	-	-	-	-
1382	57	M	NA	Pouca	NA	-	-	-	-
*7967	58	F	-	Pouca	pT1N0Mx	-	+	+	-
*1862	50	F	-	Pouca	pT2pN0p	-	-	+	+

*Casos com amostras frescas e parafinadas. Os demais, apenas com amostras parafinadas.

4.2. RNA de amostras frescas

Os RNAs extraídos das amostras frescas mostraram, pela análise em espectrofotômetro, quantidade e razão de absorvância satisfatórias (Tabela 4). Sua análise em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio também mostrou bom resultado, com bandas ribossômicas 18S e 28S nítidas (Figura 4).

4.3. RNA de amostras emblocadas em parafina

Os RNAs extraídos de amostras emblocadas em parafina mostraram, pela análise em espectrofotômetro, quantidade e razão de absorvância similares àquelas dos tecidos frescos (Tabela 5). Entretanto, quando submetidos a eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídio para visualização das bandas ribossômicas 18S e 28S, sua qualidade não foi satisfatória (Figura 5).

4.4. Análise de genes constitutivos

A concentração relativa de transcritos dos genes *TUBA6* e *GAPDH* foi avaliada em experimentos de PCR em tempo real utilizando cDNA confeccionado a partir de RNAs de amostras de adenocarcinomas e carcinomas epidermóides de pulmão. Tanto as amostras frescas como as emblocadas em parafina mostraram resultados satisfatórios, embora a maioria dessas últimas tenha exibido um *cycle threshold* maior (25 versus 21), o que sugere menor concentração de transcritos de boa qualidade nesses casos. Os resultados das reações de PCR em tempo real estão apresentados nas Figuras 6 a 9.

Tabela 4. Quantificação do RNA extraído de amostras frescas e razão de absorbância. N= margem cirúrgica; T – tumor.

Amostras	ng/ μ L	260/280 nm
5414-N	425,00	1,94
5414-T	1046,50	2,00
1862-N	388,09	1,90
1862-T	1750,06	2,00
7967-N	356,76	1,90
7967-T	591,70	1,93
5496-N	529,00	1,88
5496-T	1589,24	1,94
5466-N	426,72	1,96
5466-T	1742,41	1,95
7894-N	378,54	1,97
7894-T	829,37	1,92
3391-N	331,87	1,92
3391-T	386,45	1,86

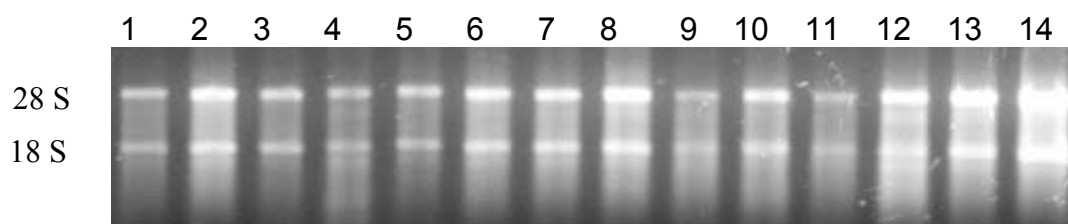


Figura 4. Gel de agarose 1% corado com brometo de etídio mostrando as bandas 18s e 28s de RNAs obtidos de amostras frescas. Casos 7894-N, 7894-T, 3391-N, 3391-T, 5466-N, 5466-T, 5496-N, 5496-T, 7967-N, 7967-T, 1862-N, 1862-T, 5414-N, 5414-T, nas linhas 1 a 14, respectivamente.

Tabela 5. Quantificação do RNA extraído de amostras emblocadas e razão de absorbância. T – tumor.

Amostras	ng/ μ L	260/280 nm
10960-T	714,60	1,91
5249-T	696,40	2,00
1350-T	197,24	1,95
*14140-T	11,40	1,94
1382-T	1599,05	2,03
7467-T	1028,32	1,98
18628-T	498,49	1,92
14794-T	1795,33	1,97
5466-T	1309,25	1,96
5414-T	707,69	1,97
3391-T	822,24	2,03
7894-T	689,58	1,92
*3968-T	26,96	1,93
3883-T	1187,20	2,01
3001-T	1726,89	1,99
5271-T	342,15	1,86

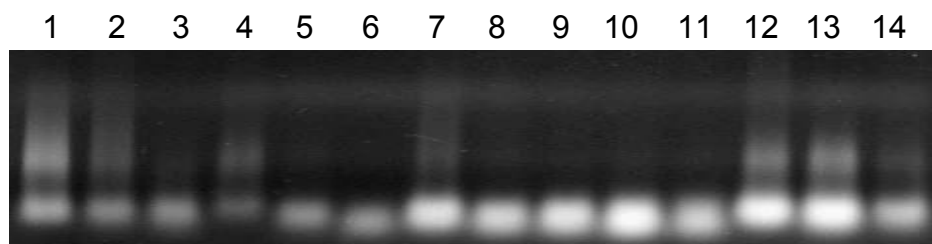


Figura 5. Gel de agarose 1% corado com brometo de etídio mostrando a degradação dos RNAs obtidos de amostras parafinadas. Casos 10960, 5249, 1350, 1382, 7967, 1862, 14794, 5466, 5414, 3391, 7894, 3883, 3001, 5271 nas linhas 1 a 14, respectivamente.



Figura 6. Análise por PCR em tempo real de transcritos do gene *TUBA6* nas amostras embocadas em parafina 7894, 3391, 5496, 5414, 5466, 7967, 1862.

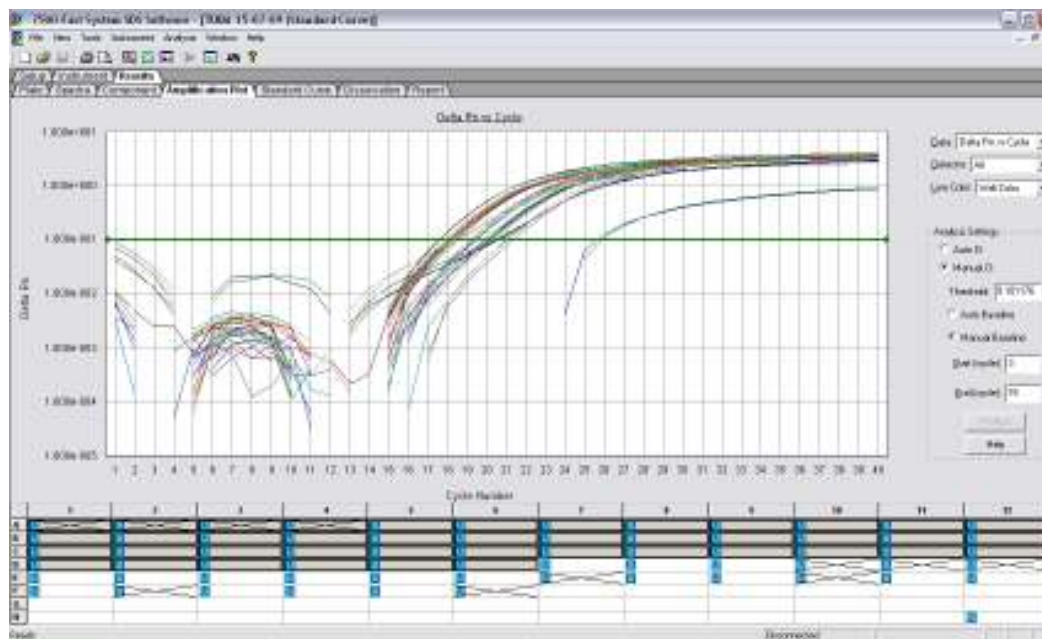


Figura 7. Análise por PCR em tempo real de transcritos do gene *TUBA6* nas amostras frescas 7894, 3391, 5496, 5414, 5466, 7967, 1862.

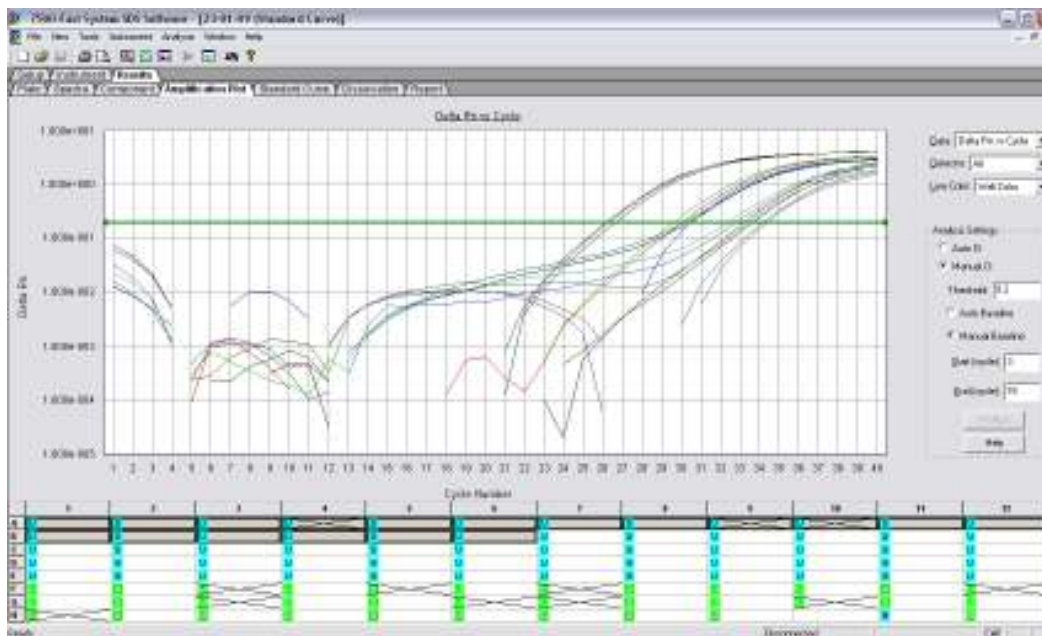


Figura 8. Análise por PCR em tempo real de transcritos do gene *GAPDH* nas amostras emblocados em parafina 7894, 3391, 5496, 5414, 5466, 7967, 1862.

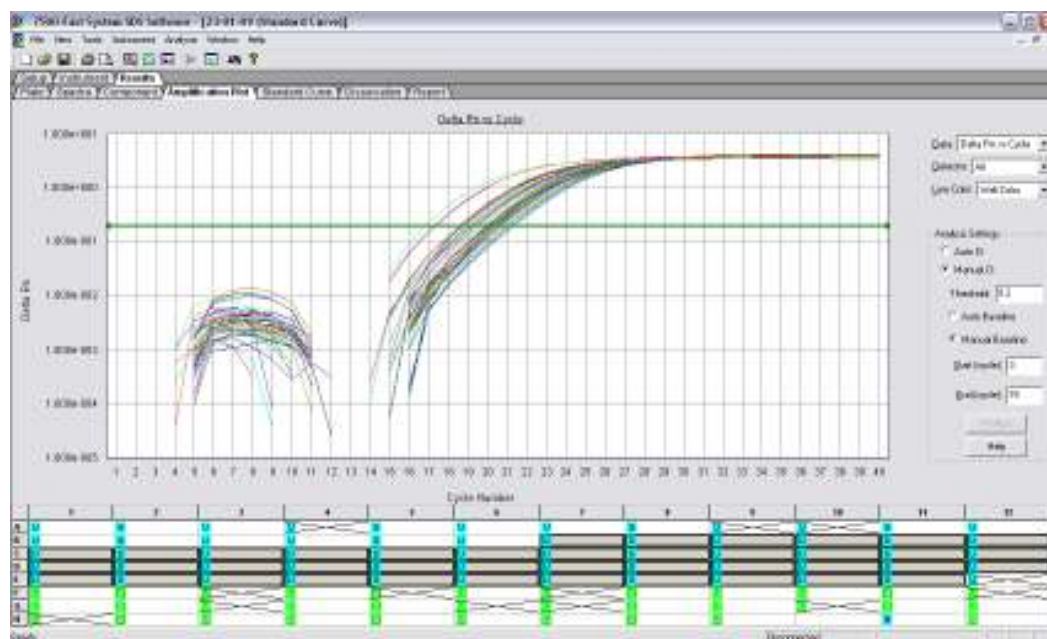


Figura 9. Análise por PCR em tempo real de transcritos do gene *GAPDH* nas amostras frescas 7894, 3391, 5496, 5414, 5466, 7967, 1862.

4.5. Validação por PCR em tempo real dos dados das bibliotecas SAGE

As análises estatísticas das bibliotecas SAGE revelaram 372 e 416 genes com expressão aumentada nas bibliotecas L9 e L10 de adenocarcinoma de pulmão e 204 e 451 genes com expressão diminuída respectivamente, em relação à biblioteca B1 de tecido normal de pulmão (Anexo 1).

Desses dados, foram selecionados 240 genes, sendo 60 mais expressos e 60 menos expressos de cada uma das bibliotecas. A partir dessa lista, foi selecionado um gene com padrão de expressão aumentada (*COL3A1*) e um gene com padrão de expressão diminuída (*ITGB1*), para validação por PCR em tempo real. Para esse experimento de validação, foi também selecionado o gene (*CTSB*) que, embora não tenha ficado entre os 240 genes da lista, seu produto mostrou nítida elevação de expressão em amostras de adenocarcinoma de pulmão analisadas por técnicas proteômicas.

Em sete amostras de tecido tumoral fresco, o gene *COL3A1* mostrou níveis elevados de transcritos em seis e ausência de amplificação em uma delas, quando comparadas ao tecido normal. No caso do gene *CTSB*, todas as sete amostras mostraram expressão elevada. Para o gene *ITGB1*, apenas três das sete amostras confirmaram o resultado esperado de expressão diminuída. Nenhuma das amostras parafinadas mostrou amplificação para os três genes estudados. A Figura 10 apresenta os resultados obtidos pelos experimentos de PCR em tempo real para os três genes selecionados.

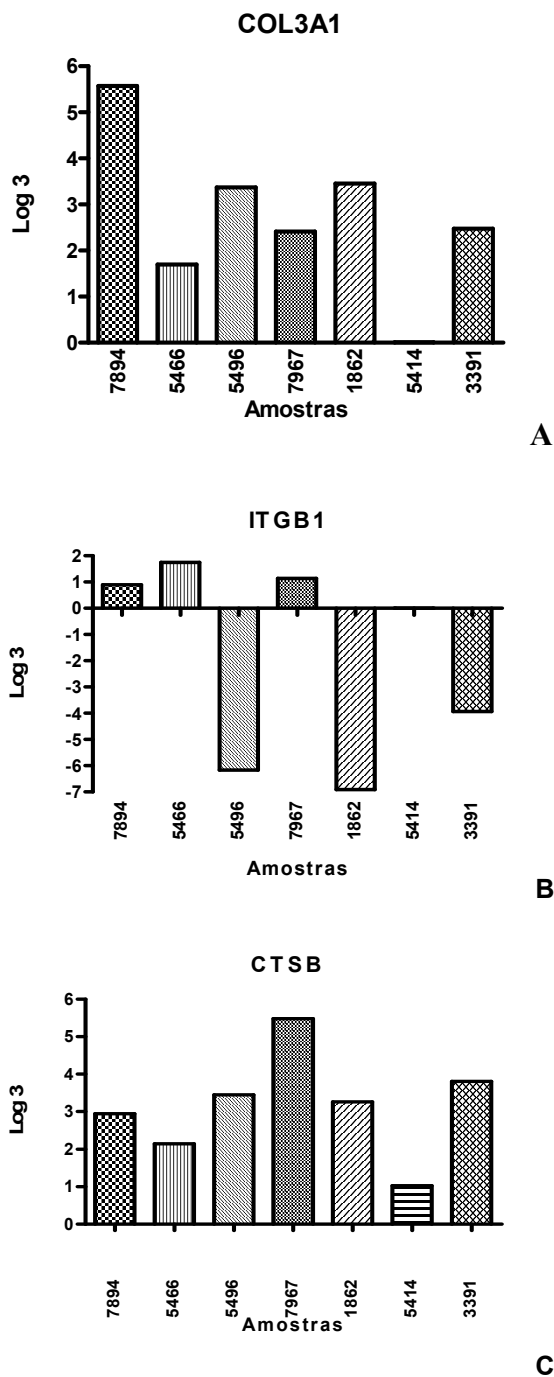


Figura 10. Expressão de (A) *COL3A1*, (C) *ITGB1* e (C) *CTSB* determinada por PCR em tempo real em sete amostras de tumores frescos de pulmão. A quantificação relativa está apresentada em log₃ e foi calculada utilizando a amostra normal pareada como calibrador.

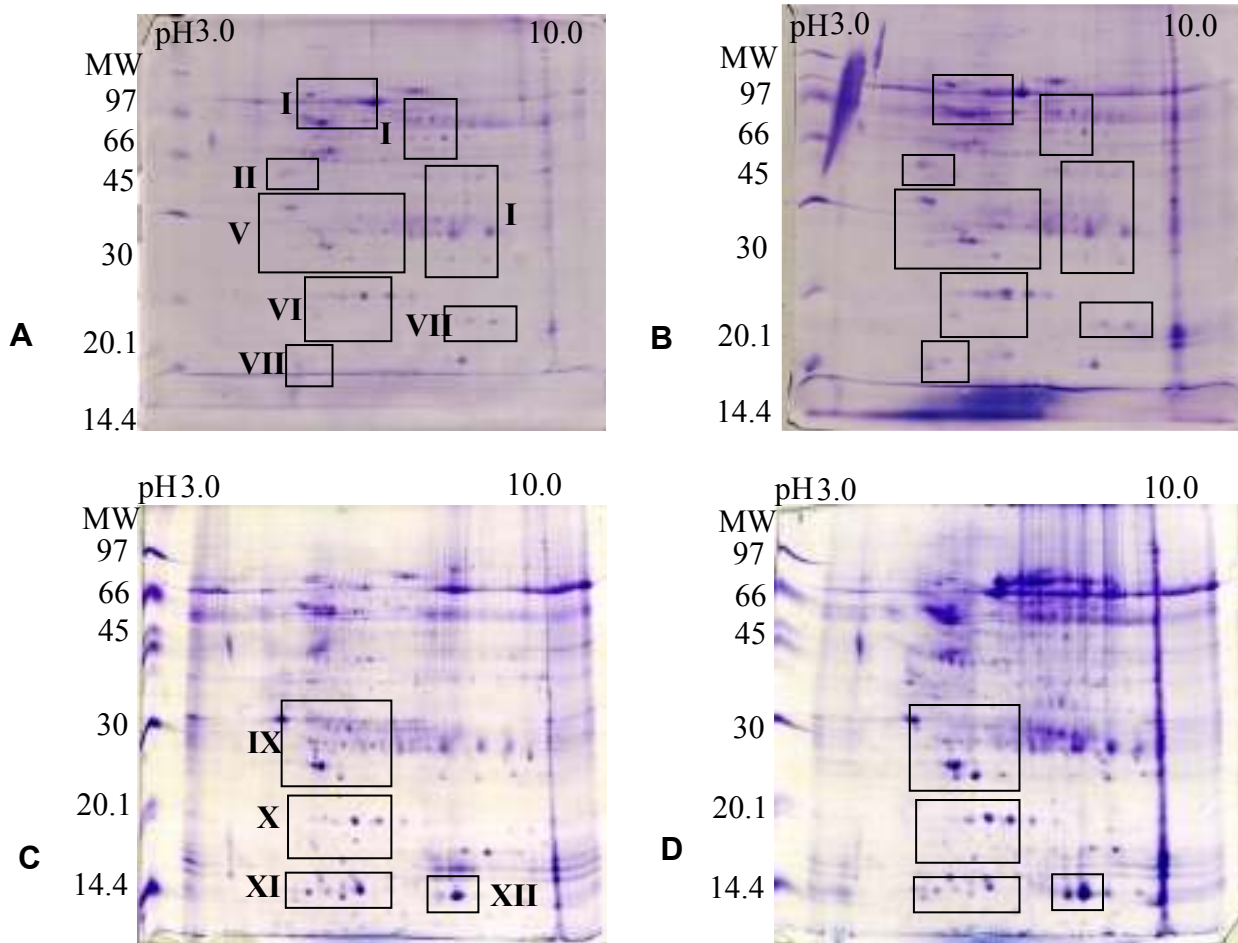


Figura 11. Foto de gel de poliacrilamida SDS-PAGE 12,5% corado por *Comassie Blue* relativo à eletroforese 2D de (A) *pool* de duas amostras de carcinoma (B) *pool* de 2 amostras de sete amostras de tecido pulmonar normal (C) *pool* de sete amostras de adenocarcinoma de pulmão e (D) *pool* de sete amostras de tecido pulmonar normal. MW = marcador de peso molecular *LMW Calibration* (kD). Os spots assinalados foram retirados para análise por espectrometria de massas.

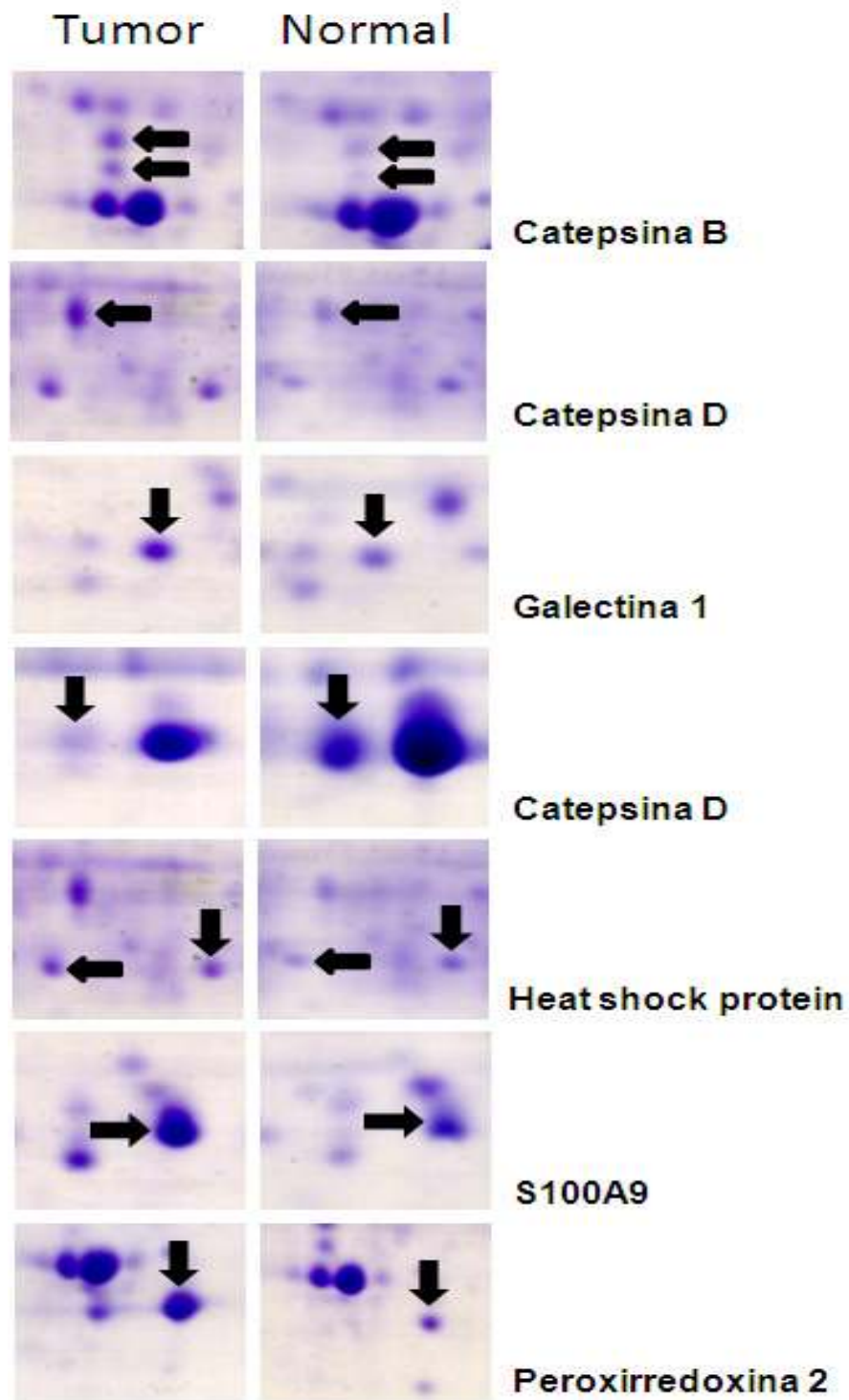


Figura 12. Regiões ampliadas dos spots diferencialmente expressos comparados entre adenocarcinoma de pulmão (Tumor) e margens cirúrgicas (Normal).

4.6. Espectrometria de Massas

Para análise por espectrometria de massas, foram selecionados *spots* diferencialmente expressos nos géis 2D obtidos dos tumores frescos em relação aos tecidos normais. Desses, nove de onze *spots* de adenocarcinoma e 20 de 41 *spots* de carcinoma epidermóide de pulmão foram conclusivos em relação à identificação de proteínas (Tabela 6). Algumas proteínas identificadas foram comuns a ambos os tipos de tumores.

Os processos biológicos e as categorias funcionais aos quais as proteínas identificadas estão associadas foram obtidos de bancos de dados públicos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, <http://www.expasy.ch>) e estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 6. Proteínas identificadas por *MALDI Q Tof* e diferencialmente expressas em adenocarcinomas e carcinomas epidermóides de pulmão. Azul – expressão reduzida; Vermelho – expressão elevada. * Proteínas comuns entre os dois tipos tumorais

Area	Acesso Mascot	Acesso Swiss-Prot	Nome	pl	Massa	Cobertura da sequência %	Score	Buscas alinhadas
Adenocarcinomas								
XI	KHHUB	P07858	*Catepsina B	5.88	38752	8%	129	2
XI	KHHUD	P07339	Catepsina D	6.10	45037	8%	139	2
XI	LEG1_HUMAN	P09382	Galectina-1	5.34	15048	8%	60	1
IX	HHHU27	P04792	*Heat shock protein beta-1	5.98	22826	20%	174	3
IX	Q53GZ6_HUMAN	Q53GZ6	*Heat shock 70kDa protein 8 isoforma 1 variante	5.28	71083	8%	173	4
IX	PRDX2_HUMAN	P32119	Peroxirredoxina-2	5.67	21918	14%	130	2
X	MRP-14	P06702	Proteína S100-A9	5.55	12770		58	1
Carcinomas epidermóides								
II	ENOA_HUMAN	P06733	Alfa enolase	6.99	47350	11%	143	4
II	ENOA_HUMAN	P06733	Alfa enolase	6.69	41973	10%	100	3
IV	CAH1_HUMAN	P00915	Anidrase carbônica 1	6.65	28620	12%	51	2
II	FGHUB	P02675	Cadeia beta do fibrinogênio	8.54	56577	5%	100	2
V	TPM4_HUMAN	P67936	Cadeia alfa 4 da tropomiosina	4.67	28487	4%	51	1
V	Q5TCU3_HUMAN	Q5TCU3	Cadeia beta da tropomiosina 2	4.64	320909	7%	53	2
V	Q53FM4_HUMAN	P07951	Cadeia beta da tropomiosina	4.63	33000	7%	160	3
V	GDIR_HUMAN	P52565	Inibidor 1 de dissociação de Rho GDP	5.03	23119	20%	123	3
VII	CSHUA	P62937	Peptidil-proil cis-trans isomerase	7.68	18229	13%	59	2
VI	Q8WU39_HUMAN	Q8WU39	Proteína pro-apoptótica adaptadora de caspase	5.37	21023	22%	82	3
I	A29821	P11021	Proteína reguladora da glicose 78 kDa	5.03	72185	9%	218	4
IV	TPIS_HUMAN	P60174	Triose fosfato isomerase	6.51	26807	8%	62	1
V	DSHUN	P04179	Superóxido dismutase Mn mitocondrial	8.35	24878	10%	55	2

Tabela 7. Processos biológicos aos quais as proteínas estão relacionadas

Proteínas	Processos Biológicos
Catepsina B	<i>Proteólise</i>
Catepsina D	<i>Proteólise</i>
Galectina-1	<i>Apoptose</i>
Heat shock protein beta-1	<i>Apoptose,</i> <i>Tradução</i>
Heat shock 70kDa protein 8 isoforma 1 variante	<i>Apoptose</i>
Peroxirredoxina-2	<i>Apoptose</i>
Proteína S100-A9	<i>Transdução de sinais,</i> <i>Resposta inflamatória</i>
Alfa enolase	<i>Transcrição</i>
Alfa enolase	<i>Transcrição</i>
Anidrase carbônica 1	
Cadeia Beta do Fibrinogênio	<i>Resposta a estímulos</i>
Inibidor 1 da dissociação Rho GDP-1	<i>Apoptose,</i> <i>Regulação negativa da adesão celular,</i> <i>Mobilidade,</i> <i>Transdução de sinais</i>
Galectina 1	<i>Apoptose</i>
Peptidil-prolil cis-trans isomerase	<i>Metabolismo de proteína</i>
Proteína pro-apoptótica adaptadora de caspase	<i>Apoptose</i>
Proteína reguladora da glicose 78 kDa	<i>Resposta a estímulo</i>
Triose fosfato isomerase	<i>Metabolismo</i>
Tropomiosina 2 (Beta)	
Cadeia alfa 4 da Tropomiosina	<i>Mobilidade</i>
Cadeia Beta da tropomiosina	<i>Contração muscular</i>
Superóxido dismutase Mn mitocondrial	<i>Apoptose,</i> <i>Transcrição,</i> <i>Resposta a estímulos</i>

Discussão

5. Discussão

O câncer de pulmão é o tumor mais comum no mundo ⁽⁵⁷⁾. Somente 16% dos pacientes apresentam lesões em estágios precoces, ainda restritos ao órgão e sem sinais de metástases. Na maioria dos casos, que exibem estágios avançados e inoperáveis no momento do diagnóstico, a quimioterapia e a radioterapia não são mais consideradas curativas, um fato que contribui para a reduzida taxa de sobrevivência desses pacientes. ⁽⁵⁸⁻⁶¹⁾

Aproximadamente 30 a 35% dos portadores de câncer de pulmão submetidos à ressecção cirúrgica nos estágios iniciais da doença apresentam recorrência em dois ou três anos, evidenciando que as células tumorais residuais não são detectadas pelas técnicas utilizadas atualmente. ^(18, 24, 61, 62) Portanto, torna-se de extrema importância a identificação de marcadores moleculares eficientes para diagnóstico precoce e para predição de risco de recorrência após cirurgia. ⁽⁶³⁾

No presente estudo, foram analisadas amostras frescas e emblocadas em parafina de adenocarcinoma e carcinoma epidermóide de pulmão, utilizando técnicas de genômica, proteômica e bioinformática, na tentativa de identificar e validar marcadores biológicos potenciais desses tumores.

As amostras frescas ou congeladas em temperaturas inferiores a -80°C imediatamente após sua retirada mantêm boa qualidade do material genético, principalmente do RNA, que é utilizado para estudos de expressão gênica. Contudo, esse procedimento não é padrão e poucos hospitais possuem bancos de tecidos congelados acompanhados de informações clínicas detalhadas. De maneira geral, todas as amostras de tumores obtidas para diagnóstico ou tratamento são rotineiramente fixadas em formalina e emblocadas em parafina

para análises histológicas. Conseqüentemente, a maioria das instituições possui grandes arquivos de tecidos assim armazenados, que permitem estudos retrospectivos para todos os tipos de cânceres, incluindo os mais raros. Embora essa metodologia de preservação de amostras conserve as características morfológicas dos tecidos, o DNA, a proteína e o RNA sofrem degradação, em especial esse último. ⁽⁶⁴⁾

Na verdade, uma parcela muito pequena, aproximadamente 3% do RNA extraído a partir de material fixado, pode ser utilizada para síntese de cDNA. O restante provavelmente está quimicamente alterado pelo processo de fixação e emblocamento e não pode ser transcrito. ⁽⁶⁵⁾ Apesar dessa limitação, vários pesquisadores obtiveram sucesso na extração de RNA de vários tecidos, mesmo para espécimes conservados por períodos de 10 a 20 anos. ⁽²³⁾

A utilização de material arquivado para análise do perfil de expressão gênica do câncer é, portanto, viável e pode permitir a obtenção de respostas a questões importantes sobre o processo neoplásico bem como de dados que auxiliem a tomada de decisões durante o tratamento dos pacientes. Como as informações clínicas e anatomopatológicas no momento do diagnóstico e as informações sobre desfecho e resposta à terapia estão disponíveis para a maioria dos casos arquivados. Sua ligação a dados moleculares dos tumores devem permitir a obtenção de importantes conclusões sobre o processo neoplásico.

As principais técnicas para avaliação da expressão gênica e com maior custo-benefício são aquelas que utilizam arranjos de cDNA e PCR em tempo real. Vários estudos têm demonstrado que é possível analisar amostras

emblocadas em parafina por tais técnicas, entre elas as de câncer de cólon ^(66, 67); mama ^(68, 69) e pulmão. ⁽⁷⁰⁾

O trabalho de Doleshal e colaboradores ⁽⁷⁰⁾ fez algumas análises controladas sobre extração de RNA de tecidos parafinados e seus resultados são bastante interessantes. Esses autores compararam os métodos de extração utilizando amostras de diferentes idades e também pares de espécimes emblocados em parafina e congelados do mesmo paciente. Como esperado, a qualidade dos transcritos obtidos de tecidos parafinados mostrou, ao contrário dos tecidos frescos, produtos de peso molecular baixo, em média menor que 100 nucleotídeos independentemente do kit utilizado. Entretanto, um dos kits (*RecoverAll, Ambion*) revelou-se melhor na recuperação de RNA puro e forneceu dados de PCR em tempo real mais consistentes e reprodutíveis, embora o RNeasy (Qiagen) tenha também demonstrado boa performance.

No presente trabalho, de forma similar ao estudo de Doleshal e colaboradores, foram utilizadas amostras pareadas de tecidos frescos e parafinados de pacientes com câncer de pulmão. Os RNAs, obtidos pelo kit RNeasy, tiveram sua qualidade e quantidade avaliadas em espectrofotômetro e por eletroforese em gel de agarose. Os resultados da eletroforese mostraram as duas bandas ribossomais para o material extraído de tecidos frescos, mas não para os tecidos emblocados, o que indica degradação na fase de fixação e emblocamento.

Para avaliação da qualidade e da eficiência de extração de RNA mensageiro (mRNA) de tecidos parafinados, foram analisados, por PCR em tempo real, os níveis de expressão de transcritos do gene *GAPDH*. Foi observado um *cycle threshold* (Ct) mais alto em tecidos parafinados em relação

aos tecidos frescos. Essa diferença pode ser resultante de inibidores da reação de PCR presentes no material ou de modificações irreversíveis no RNA por causa de tempo prolongado de fixação durante o processamento inicial da amostra. A formalina, que é o fixador mais frequentemente utilizado em laboratórios de Patologia, induz ligações cruzadas entre proteínas e DNA ou RNA, resultando na inibição de amplificação de sequências. Essas ligações cruzadas preservam a estrutura celular, mas por outro lado, tornam mais difícil a extração de ácidos nucleicos, impedem a elongação do DNA nascente e modificam o RNA pela adição de grupos de mono-metilol ($-\text{CH}_2\text{OH}$), interrompendo a transcrição reversa [revisito por ⁽⁷¹⁾]. A extensão de tratamento da amostra por proteinase melhora a extração ⁽⁷²⁾, provavelmente liberando o RNA bem como o DNA das ligações cruzadas.

Embora enfrentando as mesmas dificuldades que outros autores, os dados obtidos pelo presente estudo demonstram que é relativamente simples a recuperação de RNA amplificável a partir de amostras arquivadas, cujo processamento não teve precauções quanto ao tipo e ao tempo de fixação.

Em relação às proteínas, o protocolo utilizado não teve sucesso para material arquivado. Apesar da coloração por prata ser mais sensível que o corante *Coomassie blue* e ter permitido a visualização de algumas bandas nos géis unidimensionais, a quantidade de proteínas foi insuficiente para análise por eletroforese 2D e espectrometria de massas. A otimização dos protocolos e o desenvolvimento de novos kits comerciais compreendem desafios importantes que precisam ser vencidos por causa do potencial das amostras arquivadas para estudos retrospectivos e porque as proteínas representam o produto final do gene e participam diretamente do processo tumorigênico. Com o propósito de

superar as dificuldades observadas, inovações na técnica de fixação de tecidos foram recentemente propostas pela literatura e mostram resultados promissores.

(73)

Vários artigos já foram publicados sobre análises proteômicas utilizando amostras frescas de câncer de pulmão ^(39, 74-77); entre outros. Por exemplo, Conrad e colaboradores (2007), ⁽³⁹⁾ com essa abordagem, atingiram um valor de 98% de acurácia na diferenciação de adenocarcinomas e carcinomas epidermóides de pulmão. Outros dados também já foram publicados utilizando plasma ou soro de pacientes ^(78, 79) e sobre o secretoma do câncer de pulmão.

(80)

Na presente análise, foi investigado o padrão de expressão protéica de adenocarcinomas e de carcinomas epidermóides de pulmão e de suas respectivas margens cirúrgicas. Os resultados mostraram proteínas com expressão elevada nas amostras dos carcinomas, várias delas envolvidas em processos biológicos associados com a tumorigênese, entre eles, apoptose (galectina 1, inibidor 1 da dissociação Rho GDP, proteína *heat shock* 27 kDa, *heat shock* 70 kDa, peroxirredoxina-2, superóxido-dismutase Mn mitocondrial), regulação negativa da adesão celular (inibidor 1 da dissociação Rho GDP), mobilidade (cadeia alfa 4 da tropomiosina, inibidor 1 da dissociação Rho GDP), transdução de sinais (inibidor 1 da dissociação Rho GDP, S100-A9), tradução (proteína *heat shock* 27 kDa), transcrição (alfa-enolase, superóxido-dismutase Mn mitocondrial), proteólise (catepsina B e D), resposta inflamatória (S100-A9) e resposta a estímulos (superóxido-dismutase Mn mitocondrial). Duas proteínas exibiram padrão de expressão diminuído apenas nos adenocarcinomas, a galectina 1 e a catepsina D.

As catepsinas B e D já foram observadas com expressão elevada em carcinomas epidermóides de pulmão ⁽⁸¹⁾ e em câncer colorretal ⁽⁸²⁾ e estão relacionadas positivamente com um prognóstico desfavorável em diversos tipos de neoplasias. Esse fato deve estar relacionado com a capacidade dessas enzimas proteolíticas facilitarem a degradação da matriz extracelular e contribuírem para a invasão local. ^(73, 83-85) No presente trabalho, ao contrário do esperado, um nível de expressão diminuído de catepsina D foi observado nos adenocarcinomas. Em outros tumores, ela aparentemente possui uma função mitogênica independente de sua atividade proteolítica e atenua a resposta imune anti-tumor. ⁽⁸⁶⁾

Outras proteínas também contribuem para o processo de invasão e metástase, que é bastante complexo e envolve vários passos. ⁽⁸⁷⁾ As tropomiosinas, por exemplo, já foram associadas com esse processo em câncer de mama ⁽⁸⁸⁻⁹⁰⁾, provavelmente por causa de seu papel na manutenção do citoesqueleto de actina e na motilidade celular ⁽⁹¹⁾, das quais também participam as proteínas ligadoras de cálcio da família S110. ⁽⁹²⁾

São particularmente importantes no processo de metastatização os inibidores de dissociação Rho GDP e, portanto, reguladores críticos das GTPases Rho. Sua expressão foi vista marcadamente elevada em tumores colorretais metastáticos ⁽⁸¹⁾ e o bloqueio com RNA de interferência em linhagens celulares de câncer de mama e de pulmão demonstrou seu papel na inibição da apoptose. ^(88, 93)

A proteção contra apoptose ou fatores de estresse é uma importante característica da célula neoplásica, especialmente durante o tratamento com quimioterápicos. Algumas proteínas, como as *heat shock proteins (HSPs)* 27 e

70⁽⁹⁴⁻⁹⁷⁾, participam desse mecanismo protetor em situações de estresse e podem promover resistência ao tratamento com drogas. Portanto, sua expressão elevada, como aquela observada neste trabalho, deve conferir vantagens seletivas para o tumor.

A galectina 1 também protege da apoptose e da resposta imune contra o câncer, está associada com adesão celular e atua como fator angiogênico. Por esse motivo, não é surpresa sua expressão elevada em diferentes tumores, que parece contribuir para um prognóstico desfavorável. Em nosso estudo, a galectina 1 apresentou nível de expressão elevado em carcinomas epidermóides e diminuído em adenocarcinomas de pulmão. Essa discrepância deve ser produto das diferenças entre os dois tipos de tumores e já foi observada por diversos autores [revisto por⁽⁹⁸⁾].

Outras proteínas foram vistas com expressão aumentada nos carcinomas estudados, entre elas, alfa enolase, anidrase carbônica 1, cadeia beta do fibronogênio, ciclofilina A, peroxirredoxina-2, proteína adaptadora da caspase proapoptótica, S100-A9, superóxido dismutase e triosefosfato-isomerase.

A expressão aumentada da subunidade alfa da enolase já foi detectada em pacientes com câncer de pulmão⁽⁹⁹⁾ e a importância dessa enzima para a célula neoplásica está relacionada com sua participação no metabolismo da glicose. De fato, a ativação de enzimas glicolíticas é uma consequência da tumorigênese, como postulado por Otto Warburg no início do século XX. Provavelmente, em resposta à hipóxia provocada pela proliferação excessiva das células, a via glicolítica é utilizada como fonte de energia e, embora menos eficiente na produção de ATPs, representa uma fuga da dependência de oxigênio [revisto por⁽¹⁰⁰⁾].

As peroxiredoxinas 1 e 2 também são referidas com níveis elevados em alguns tipos de câncer, como o de mama, cabeça e pescoço e os mesoteliomas. ⁽¹⁰¹⁻¹⁰³⁾ A peroxirredoxina 2 parece conferir resistência contra alguns agentes quimioterápicos, mas sua ausência provoca sensibilidade à radiação e ao agente anti-neoplásico cisplatina, dependendo do tipo tumoral. ⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁷⁾

A ciclofilina A é uma peptidil-prolil isomerase, inicialmente identificada como um receptor intracelular para ciclosporina (CsA). Essa enzima possui importantes papéis na determinação da estrutura e tráfego de proteínas, na sinalização celular e na imuno-modulação, e sua forma secretada pode atuar como fator de crescimento para vários tipos celulares. A literatura sugere seu envolvimento em proliferação celular, regulação negativa da apoptose e migração/invasão. Vários estudos relatam níveis substancialmente elevados em tecidos frescos e soro de pacientes com câncer, incluindo carcinoma epidermóide de pulmão. ^(108, 109)

Do exposto acima, pode ser concluído que os dados da literatura, para várias proteínas identificadas nos géis 2DE deste estudo, referem padrões de expressão similares em células tumorais, validando os achados presentemente obtidos.

Neste trabalho, também foi investigado o potencial de dados públicos para identificação de marcadores de câncer de pulmão, utilizando informações geradas pela técnica de SAGE.

Os dados de algumas bibliotecas SAGE de pulmão estão disponíveis na literatura. ⁽¹¹¹⁻¹¹⁴⁾ Entretanto, foram identificadas apenas duas de adenocarcinoma e uma de tecido pulmonar normal com informações completas sobre a expressão de cada sequência ou *tag* (etiqueta) obtida. Como a técnica de SAGE

gera uma grande quantidade de informações, muitas associadas com o fenótipo tumoral e outras representando eventos casuais, um tratamento estatístico previamente validado para tumores de cabeça e pescoço ⁽⁵⁴⁾ foi utilizado para superar essas limitações e melhorar a eficiência de identificação de um perfil de expressão com significado biológico.

A partir da lista gerada pela análise estatística, foram selecionados para validação por PCR em tempo real um gene com número elevado de *tags* (*COL3A1*) e um gene com redução de *tags* (*ITGB1*) em células neoplásicas. Para esse experimento de validação, também foi selecionado o gene *CTSB* (catepsina B) que mostrou nítido aumento de expressão em amostras de adenocarcinoma de pulmão pela técnica proteômica utilizada. Essa seleção também levou em conta o fato da literatura não apresentar dados de expressão (*COL3A1* e *ITGB1*) ou de existirem poucos estudos (*CTSB*) em pacientes com câncer de pulmão. Em outros tumores, os dados são igualmente escassos.

Em carcinomas de mama do tipo lobular e dutal invasivos, o gene *COL3A1*, que atua na adesão celular e no padrão de sinalização mediado pelas integrinas, mostrou expressão elevada ⁽¹¹⁰⁾, bem como em câncer de ovário. ⁽¹¹¹⁾ No caso do produto de *ITGB1*, uma integrina que também trabalha na adesão e na migração celular, altos níveis já foram associados com sobrevida em câncer gástrico mas seu papel nesses tumores não é bem entendido ⁽¹¹²⁾. Em carcinomas cervicais positivos para HPV de alto risco, esse gene mostrou baixa expressão, de forma similar ao presente estudo. ⁽¹¹³⁾

Os experimentos de validação confirmaram os dados das bibliotecas *SAGE* e de proteômica para os genes *COL3A1* e *CTSB*, mas não para o *ITGB1*, que exibiu padrão variável de expressão entre as amostras. Como não é possível a

microdissecção da lesão pulmonar, os resultados negativos desse último gene podem ser explicados pela contaminação do tecido tumoral por células normais e, conseqüentemente, pela presença de transcritos. O caso inverso também deve ocorrer, mas a ausência de transcritos nas células normais certamente tem um impacto muito menor no resultado positivo.

Utilizando ferramentas de bioinformática, abordagens proteômicas e experimentos para validação de expressão gênica, o presente trabalho detectou alguns marcadores potenciais de carcinoma de pulmão que merecem posterior análise detalhada. Além disso, os resultados confirmam a viabilidade de utilização de material arquivado para análise genética do câncer, que representa uma fonte importante de informações sobre etiologia e mecanismos envolvidos em resposta à terapia e desfecho em carcinomas de pulmão e de outros órgãos.

Conclusões

6. Conclusões

As principais conclusões obtidas no presente trabalho estão relacionadas a seguir:

1 – As amostras de câncer de pulmão emblocadas em parafina permitem a extração de RNA com qualidade apropriada para estudos de expressão gênica.

2 – As amostras de câncer de pulmão emblocadas em parafina mostram sucesso reduzido na extração de proteínas para a utilização em análises proteômicas.

3 – A metodologia SAGE, compreendem uma fonte importante de informações sobre o câncer, que pode ser utilizada para busca de marcadores moleculares dessa doença.

4 – A abordagem proteômica permite a seleção de marcadores protéicos diferencialmente expressos em tumores de pulmão

5 – O gene *COL3A1* e a proteína *CTSB* mostraram expressão elevada em adenocarcinoma de pulmão o que sugere seu envolvimento na progressão neoplásica.

6 – O gene *ITGB1* mostra expressão diminuída em alguns adenocarcinoma de pulmão, mas seu papel não está ainda esclarecido.

Referências Bibliográficas

7. Referências Bibliográficas

1. Sikora K. Developing a global strategy for cancer. *Eur J Cancer*. 1999 Dec;35(14):1870-7.
2. IARC. Tobacco smoking. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. 2004;83.
3. Akopyan G, Bonavida B. Understanding tobacco smoke carcinogen NNK and lung tumorigenesis. *Int J Oncol*. 2006 Oct;29(4):745-52.
4. Tang D, Phillips DH, Stampfer M, Mooney LA, Hsu Y, Cho S, et al. Association between carcinogen-DNA adducts in white blood cells and lung cancer risk in the physicians health study. *Cancer Res*. 2001 Sep 15;61(18):6708-12.
5. Tsurutani J, Castillo SS, Brognard J, Granville CA, Zhang C, Gills JJ, et al. Tobacco components stimulate Akt-dependent proliferation and NFkappaB-dependent survival in lung cancer cells. *Carcinogenesis*. 2005 Jul;26(7):1182-95.
6. Zheng Y, Ritzenthaler JD, Roman J, Han S. Nicotine stimulates human lung cancer cell growth by inducing fibronectin expression. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007 Dec;37(6):681-90.

7. Catassi A, Servent D, Paleari L, Cesario A, Russo P. Multiple roles of nicotine on cell proliferation and inhibition of apoptosis: implications on lung carcinogenesis. *Mutat Res*. 2008 Sep-Oct;659(3):221-31.
8. Cornfield J, Haenszel W, Hammond EC, Lilienfeld AM, Shimkin MB, Wynder EL. Smoking and lung cancer: recent evidence and a discussion of some questions. 1959. *Int J Epidemiol*. 2009 Oct;38(5):1175-91.
9. Alberg AJ, Ford JG, Samet JM. Epidemiology of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest*. 2007 Sep;132(3 Suppl):29S-55S.
10. Alberg AJ, Brock MV, Samet JM. Epidemiology of lung cancer: looking to the future. *J Clin Oncol*. 2005 May 10;23(14):3175-85.
11. Toh CK, Gao F, Lim WT, Leong SS, Fong KW, Yap SP, et al. Never-smokers with lung cancer: epidemiologic evidence of a distinct disease entity. *J Clin Oncol*. 2006 May 20;24(15):2245-51.
12. Landi MT, Consonni D, Rotunno M, Bergen AW, Goldstein AM, Lubin JH, et al. Environment And Genetics in Lung cancer Etiology (EAGLE) study: an integrative population-based case-control study of lung cancer. *BMC Public Health*. 2008;8:203.

13. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005 Mar-Apr;55(2):74-108.
14. Brasil. Ministério da saúde. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2009 - Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA ; 2009. 94p.
15. Bray FI, Weiderpass E. Lung cancer mortality trends in 36 European countries: secular trends and birth cohort patterns by sex and region 1970-2007. *Int J Cancer*. 2009 Sep 2.
16. Beasley DW, Holbrook MR, Travassos Da Rosa AP, Coffey L, Carrara AS, Phillippi-Falkenstein K, et al. Use of a recombinant envelope protein subunit antigen for specific serological diagnosis of West Nile virus infection. *J Clin Microbiol*. 2004 Jun;42(6):2759-65.
17. Hecht SS, Kassie F, Hatsukami DK. Chemoprevention of lung carcinogenesis in addicted smokers and ex-smokers. *Nat Rev Cancer*. 2009 Jul;9(7):476-88.
18. Kumar V CR, Robbins SL. Robbins Basic Pathology. 7th ed. Saunders, editor. Philadelphia; 2003.
19. Reed CE, Graham A, Hoda RS, Khor A, Garrett-Mayer E, Wallace MB, et al. A simple two-gene prognostic model for adenocarcinoma of the lung. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2008 Mar;135(3):627-34.

20. Ishii A, Suzuki M, Satomi K, Kobayashi H, Sakashita S, Kano J, et al. Increased cytoplasmic S100A6 expression is associated with pulmonary adenocarcinoma progression. *Pathol Int.* 2009 Sep;59(9):623-30.
21. Beer DG, Kardia SL, Huang CC, Giordano TJ, Levin AM, Misek DE, et al. Gene-expression profiles predict survival of patients with lung adenocarcinoma. *Nat Med.* 2002 Aug;8(8):816-24.
22. Rami-Porta R, Crowley JJ, Goldstraw P. The revised TNM staging system for lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2009 Feb;15(1):4-9.
23. Nguyen DM, Schrupp DS. Lung cancer staging in the genomics era. *Thorac Surg Clin.* 2006 Nov;16(4):329-37.
24. D'Amico TA. Molecular biologic staging of lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 2008 Feb;85(2):S737-42.
25. Hoffman PC, Mauer AM, Vokes EE. Lung cancer. *Lancet.* 2000 Feb 5;355(9202):479-85.
26. Coate LE, John T, Tsao MS, Shepherd FA. Molecular predictive and prognostic markers in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol.* 2009 Oct;10(10):1001-10.

27. Sung HJ, Cho JY. Biomarkers for the lung cancer diagnosis and their advances in proteomics. *BMB Rep.* 2008 Sep 30;41(9):615-25.
28. Kulasingam V, Diamandis EP. Tissue culture-based breast cancer biomarker discovery platform. *Int J Cancer.* 2008 Nov 1;123(9):2007-12.
29. DeRisi J, Penland L, Brown PO, Bittner ML, Meltzer PS, Ray M, et al. Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer. *Nat Genet.* 1996 Dec;14(4):457-60.
30. Velculescu VE, Zhang L, Vogelstein B, Kinzler KW. Serial analysis of gene expression. *Science.* 1995 Oct 20;270(5235):484-7.
31. Morozova O, Hirst M, Marra MA. Applications of new sequencing technologies for transcriptome analysis. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2009;10:135-51.
32. Diatchenko L, Lau YF, Campbell AP, Chenchik A, Moqadam F, Huang B, et al. Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Jun 11;93(12):6025-30.
33. Sawyers CL. The cancer biomarker problem. *Nature.* 2008 Apr 3;452(7187):548-52.

34. Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, Huard C, Gaasenbeek M, Mesirov JP, et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science*. 1999 Oct 15;286(5439):531-7.
35. Alizadeh AA, Staudt LM. Genomic-scale gene expression profiling of normal and malignant immune cells. *Curr Opin Immunol*. 2000 Apr;12(2):219-25.
36. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Sep 11;98(19):10869-74.
37. Stratowa C, Loffler G, Lichter P, Stilgenbauer S, Haberl P, Schweifer N, et al. CDNA microarray gene expression analysis of B-cell chronic lymphocytic leukemia proposes potential new prognostic markers involved in lymphocyte trafficking. *Int J Cancer*. 2001 Feb 15;91(4):474-80.
38. Fels LM, Buschmann T, Meuer J, Reymond MA, Lamer S, Rocken C, et al. Proteome analysis for the identification of tumor-associated biomarkers in gastrointestinal cancer. *Dig Dis*. 2003;21(4):292-8.
39. Chambers G, Lawrie L, Cash P, Murray GI. Proteomics: a new approach to the study of disease. *J Pathol*. 2000 Nov;192(3):280-8.

40. Conrad DH, Goyette J, Thomas PS. Proteomics as a method for early detection of cancer: a review of proteomics, exhaled breath condensate, and lung cancer screening. *J Gen Intern Med.* 2008 Jan;23 Suppl 1:78-84.
41. Fey SJ, Larsen PM. 2D or not 2D. Two-dimensional gel electrophoresis. *Curr Opin Chem Biol.* 2001 Feb;5(1):26-33.
42. Grantzdorffer I, Yumlu S, Gioeva Z, von Wasielewski R, Ebert MP, Rocken C. Comparison of different tissue sampling methods for protein extraction from formalin-fixed and paraffin-embedded tissue specimens. *Exp Mol Pathol.* 2009 Sep 24.
43. Scicchitano MS, Dalmas DA, Boyce RW, Thomas HC, Frazier KS. Protein extraction of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue enables robust proteomic profiles by mass spectrometry. *J Histochem Cytochem.* 2009 Sep;57(9):849-60.
44. Addis MF, Tanca A, Pagnozzi D, Crobu S, Fanciulli G, Cossu-Rocca P, et al. Generation of high-quality protein extracts from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Proteomics.* 2009 Aug;9(15):3815-23.
45. Mange A, Chaurand P, Perrochia H, Roger P, Caprioli RM, Solassol J. Liquid chromatography-tandem and MALDI imaging mass spectrometry analyses of RCL2/CS100-fixed, paraffin-embedded tissues: proteomics evaluation of an alternate fixative for biomarker discovery. *J Proteome Res.* 2009 Dec;8(12):5619-28.

46. Sprung RW, Jr., Brock JW, Tanksley JP, Li M, Washington MK, Slebos RJ, et al. Equivalence of protein inventories obtained from formalin-fixed paraffin-embedded and frozen tissue in multidimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry shotgun proteomic analysis. *Mol Cell Proteomics*. 2009 Aug;8(8):1988-98.
47. Addis MF, Tanca A, Pagnozzi D, Rocca S, Uzzau S. 2-D PAGE and MS analysis of proteins from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Proteomics*. 2009 Sep;9(18):4329-39.
48. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1):57-70.
49. Lantuejoul S, Salameire D, Salon C, Brambilla E. Pulmonary preneoplasia-sequential molecular carcinogenetic events. *Histopathology*. 2009 Jan;54(1):43-54.
50. Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004 Jun 4;304(5676):1497-500.

51. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004 May 20;350(21):2129-39.
52. Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Sep 7;101(36):13306-11.
53. Emery IF, Battelli C, Auclair PL, Carrier K, Hayes DM. Response to gefitinib and erlotinib in Non-small cell lung cancer: a retrospective study. *BMC Cancer*. 2009;9:333.
54. Silveira NJ, Varuzza L, Machado-Lima A, Lauretto MS, Pinheiro DG, Rodrigues RV, et al. Searching for molecular markers in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC) by statistical and bioinformatic analysis of larynx-derived SAGE libraries. *BMC Med Genomics*. 2008;1:56.
55. Shi SR, Liu C, Balgley BM, Lee C, Taylor CR. Protein extraction from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections: quality evaluation by mass spectrometry. *J Histochem Cytochem*. 2006 Jun;54(6):739-43.

56. Ikeda K, Monden T, Kanoh T, Tsujie M, Izawa H, Haba A, et al. Extraction and analysis of diagnostically useful proteins from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. *J Histochem Cytochem*. 1998 Mar;46(3):397-403.
57. Berkelman TS, T. 2-D Electrophoresis using immobilized pH gradients. *Principles and Methods*. Biosciences A, editor. Uppsala; 2002.
58. Rachet B, Quinn MJ, Cooper N, Coleman MP. Survival from cancer of the lung in England and Wales up to 2001. *Br J Cancer*. 2008 Sep 23;99 Suppl 1:S40-2.
59. Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, et al. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin*. 2005 Jan-Feb;55(1):10-30.
60. Castleberry AW, Smith D, Anderson C, Rotter AJ, Grannis FW, Jr. Cost of a 5-year lung cancer survivor: symptomatic tumour identification vs proactive computed tomography screening. *Br J Cancer*. 2009 Sep 15;101(6):882-96.
61. Patz EF, Jr., Campa MJ, Gottlin EB, Kusmartseva I, Guan XR, Herndon JE, 2nd. Panel of serum biomarkers for the diagnosis of lung cancer. *J Clin Oncol*. 2007 Dec 10;25(35):5578-83.
62. Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest*. 1997 Jun;111(6):1710-7.

63. Tomida S, Takeuchi T, Shimada Y, Arima C, Matsuo K, Mitsudomi T, et al. Relapse-related molecular signature in lung adenocarcinomas identifies patients with dismal prognosis. *J Clin Oncol*. 2009 Jun 10;27(17):2793-9.
64. Ledakis P, Tester WT, Rosenberg N, Romero-Fischmann D, Daskal I, Lah TT. Cathepsins D, B, and L in malignant human lung tissue. *Clin Cancer Res*. 1996 Mar;2(3):561-8.
65. Ribeiro-Silva A, Zhang H, Jeffrey SS. RNA extraction from ten year old formalin-fixed paraffin-embedded breast cancer samples: a comparison of column purification and magnetic bead-based technologies. *BMC Mol Biol*. 2007;8:118.
66. Godfrey TE, Kim SH, Chavira M, Ruff DW, Warren RS, Gray JW, et al. Quantitative mRNA expression analysis from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues using 5' nuclease quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Mol Diagn*. 2000 May;2(2):84-91.
67. Bibikova M, Talantov D, Chudin E, Yeakley JM, Chen J, Doucet D, et al. Quantitative gene expression profiling in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues using universal bead arrays. *Am J Pathol*. 2004 Nov;165(5):1799-807.
68. Szafranska AE, Davison TS, Shingara J, Doleshal M, Riggerbach JA, Morrison CD, et al. Accurate molecular characterization of formalin-fixed,

paraffin-embedded tissues by microRNA expression profiling. *J Mol Diagn.* 2008 Sep;10(5):415-23.

69. Ravo M, Mutarelli M, Ferraro L, Grober OM, Paris O, Tarallo R, et al. Quantitative expression profiling of highly degraded RNA from formalin-fixed, paraffin-embedded breast tumor biopsies by oligonucleotide microarrays. *Lab Invest.* 2008 Apr;88(4):430-40.

70. Espinosa E, Sanchez-Navarro I, Gamez-Pozo A, Marin AP, Hardisson D, Madero R, et al. Comparison of prognostic gene profiles using qRT-PCR in paraffin samples: a retrospective study in patients with early breast cancer. *PLoS One.* 2009;4(6):e5911.

71. Doleshal M, Magotra AA, Choudhury B, Cannon BD, Labourier E, Szafranska AE. Evaluation and validation of total RNA extraction methods for microRNA expression analyses in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *J Mol Diagn.* 2008 May;10(3):203-11.

72. McKinney MD, Moon SJ, Kulesh DA, Larsen T, Schoepp RJ. Detection of viral RNA from paraffin-embedded tissues after prolonged formalin fixation. *J Clin Virol.* 2009 Jan;44(1):39-42.

73. Jackson DP, Lewis FA, Taylor GR, Boylston AW, Quirke P. Tissue extraction of DNA and RNA and analysis by the polymerase chain reaction. *J Clin Pathol.* 1990 Jun;43(6):499-504.

74. Kahler D, Alexander C, Schultz H, Abdullah M, Branscheid D, Lindner B, et al. Proteomics Out of the Archive: 2-D-electrophoresis and Mass Spectrometry Using HOPE-fixed, Paraffin-embedded Tissues. *J Histochem Cytochem*. 2009 Dec 7.
75. Yanagisawa K, Tomida S, Shimada Y, Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T. A 25-signal proteomic signature and outcome for patients with resected non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2007 Jun 6;99(11):858-67.
76. Gamez-Pozo A, Sanchez-Navarro I, Nistal M, Calvo E, Madero R, Diaz E, et al. MALDI profiling of human lung cancer subtypes. *PLoS One*. 2009;4(11):e7731.
77. Rho JH, Roehrl MH, Wang JY. Tissue proteomics reveals differential and compartment-specific expression of the homologs transgelin and transgelin-2 in lung adenocarcinoma and its stroma. *J Proteome Res*. 2009 Dec;8(12):5610-8.
78. Li DJ, Deng G, Xiao ZQ, Yao HX, Li C, Peng F, et al. Identificating 14-3-3 sigma as a lymph node metastasis-related protein in human lung squamous carcinoma. *Cancer Lett*. 2009 Jun 28;279(1):65-73.
79. Pernemalm M, De Petris L, Eriksson H, Branden E, Koyi H, Kanter L, et al. Use of narrow-range peptide IEF to improve detection of lung adenocarcinoma markers in plasma and pleural effusion. *Proteomics*. 2009 Jul;9(13):3414-24.

80. Heo SH, Lee SJ, Ryoo HM, Park JY, Cho JY. Identification of putative serum glycoprotein biomarkers for human lung adenocarcinoma by multilectin affinity chromatography and LC-MS/MS. *Proteomics*. 2007 Dec;7(23):4292-302.
81. Huang LJ, Chen SX, Luo WJ, Jiang HH, Zhang PF, Yi H. Proteomic analysis of secreted proteins of non-small cell lung cancer. *Ai Zheng*. 2006 Nov;25(11):1361-7.
82. Lou X, Xiao T, Zhao K, Wang H, Zheng H, Lin D, et al. Cathepsin D is secreted from M-BE cells: its potential role as a biomarker of lung cancer. *J Proteome Res*. 2007 Mar;6(3):1083-92.
83. Chabowski A, Sulkowska M, Sulkowski M, Famulski W, Skrzydlewska E, Kisielewski W. Immunohistochemical evaluation of cathepsin D expression in colorectal cancer. *Folia Histochem Cytobiol*. 2001;39(2):153-4.
84. Duffy MJ. Proteases as prognostic markers in cancer. *Clin Cancer Res*. 1996 Apr;2(4):613-8.
85. Mai J, Waisman DM, Sloane BF. Cell surface complex of cathepsin B/annexin II tetramer in malignant progression. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Mar 7;1477(1-2):215-30.

86. Hulkower KI, Butler CC, Linebaugh BE, Klaus JL, Keppler D, Giranda VL, et al. Fluorescent microplate assay for cancer cell-associated cathepsin B. *Eur J Biochem.* 2000 Jul;267(13):4165-70.
87. Nomura T, Katunuma N. Involvement of cathepsins in the invasion, metastasis and proliferation of cancer cells. *J Med Invest.* 2005 Feb;52(1-2):1-9.
88. Wu MH, Hong TM, Cheng HW, Pan SH, Liang YR, Hong HC, et al. Galectin-1-mediated tumor invasion and metastasis, up-regulated matrix metalloproteinase expression, and reorganized actin cytoskeletons. *Mol Cancer Res.* 2009 Mar;7(3):311-8.
89. Zhang B, Zhang Y, Dagher MC, Shacter E. Rho GDP dissociation inhibitor protects cancer cells against drug-induced apoptosis. *Cancer Res.* 2005 Jul 15;65(14):6054-62.
90. Li DQ, Wang L, Fei F, Hou YF, Luo JM, Zeng R, et al. Identification of breast cancer metastasis-associated proteins in an isogenic tumor metastasis model using two-dimensional gel electrophoresis and liquid chromatography-ion trap-mass spectrometry. *Proteomics.* 2006 Jun;6(11):3352-68.
91. Jung EJ, Moon HG, Cho BI, Jeong CY, Joo YT, Lee YJ, et al. Galectin-1 expression in cancer-associated stromal cells correlates tumor invasiveness and tumor progression in breast cancer. *Int J Cancer.* 2007 Jun 1;120(11):2331-8.

92. Gunning P, O'Neill G, Hardeman E. Tropomyosin-based regulation of the actin cytoskeleton in time and space. *Physiol Rev.* 2008 Jan;88(1):1-35.
93. Breen EC, Tang K. Calcyclin (S100A6) regulates pulmonary fibroblast proliferation, morphology, and cytoskeletal organization in vitro. *J Cell Biochem.* 2003 Mar 1;88(4):848-54.
94. MacKeigan JP, Clements CM, Lich JD, Pope RM, Hod Y, Ting JP. Proteomic profiling drug-induced apoptosis in non-small cell lung carcinoma: identification of RS/DJ-1 and RhoGDIalpha. *Cancer Res.* 2003 Oct 15;63(20):6928-34.
95. Malusecka E, Krzyzowska-Gruca S, Gawrychowski J, Fiszer-Kierzkowska A, Kolosza Z, Krawczyk Z. Stress proteins HSP27 and HSP70i predict survival in non-small cell lung carcinoma. *Anticancer Res.* 2008 Jan-Feb;28(1B):501-6.
96. Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress Chaperones.* 2005 Summer;10(2):86-103.
97. Gething MJ. Role and regulation of the ER chaperone BiP. *Semin Cell Dev Biol.* 1999 Oct;10(5):465-72.

98. Lee SJ, Choi SA, Lee KH, Chung HY, Kim TH, Cho CK, et al. Role of inducible heat shock protein 70 in radiation-induced cell death. *Cell Stress Chaperones*. 2001 Jul;6(3):273-81.
99. Demydenko D, Berest I. Expression of galectin-1 in malignant tumors. *Exp Oncol*. 2009 Jun;31(2):74-9.
100. Chang GC, Liu KJ, Hsieh CL, Hu TS, Charoenfuprasert S, Liu HK, et al. Identification of alpha-enolase as an autoantigen in lung cancer: its overexpression is associated with clinical outcomes. *Clin Cancer Res*. 2006 Oct 1;12(19):5746-54.
101. Denko NC. Hypoxia, HIF1 and glucose metabolism in the solid tumour. *Nat Rev Cancer*. 2008 Sep;8(9):705-13.
102. Kinnula VL, Lehtonen S, Sormunen R, Kaarteenaho-Wiik R, Kang SW, Rhee SG, et al. Overexpression of peroxiredoxins I, II, III, V, and VI in malignant mesothelioma. *J Pathol*. 2002 Mar;196(3):316-23.
103. Noh DY, Ahn SJ, Lee RA, Kim SW, Park IA, Chae HZ. Overexpression of peroxiredoxin in human breast cancer. *Anticancer Res*. 2001 May-Jun;21(3B):2085-90.
104. Karihtala P, Mantyniemi A, Kang SW, Kinnula VL, Soini Y. Peroxiredoxins in breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2003 Aug 15;9(9):3418-24.

105. Park JH, Kim YS, Lee HL, Shim JY, Lee KS, Oh YJ, et al. Expression of peroxiredoxin and thioredoxin in human lung cancer and paired normal lung. *Respirology*. 2006 May;11(3):269-75.
106. Yo YD, Chung YM, Park JK, Ahn CM, Kim SK, Kim HJ. Synergistic effect of peroxiredoxin II antisense on cisplatin-induced cell death. *Exp Mol Med*. 2002 Sep 30;34(4):273-7.
107. Zhang P, Liu B, Kang SW, Seo MS, Rhee SG, Obeid LM. Thioredoxin peroxidase is a novel inhibitor of apoptosis with a mechanism distinct from that of Bcl-2. *J Biol Chem*. 1997 Dec 5;272(49):30615-8.
108. Chung YM, Yoo YD, Park JK, Kim YT, Kim HJ. Increased expression of peroxiredoxin II confers resistance to cisplatin. *Anticancer Res*. 2001 Mar-Apr;21(2A):1129-33.
109. Yang H, Chen J, Yang J, Qiao S, Zhao S, Yu L. Cyclophilin A is upregulated in small cell lung cancer and activates ERK1/2 signal. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007 Sep 28;361(3):763-7.
110. Obchoei S, Wongkhan S, Wongkham C, Li M, Yao Q, Chen C. Cyclophilin A: potential functions and therapeutic target for human cancer. *Med Sci Monit*. 2009 Nov;15(11):RA221-32.

111. Turashvili G, Bouchal J, Baumforth K, Wei W, Dziechciarkova M, Ehrmann J, et al. Novel markers for differentiation of lobular and ductal invasive breast carcinomas by laser microdissection and microarray analysis. *BMC Cancer*. 2007;7:55.
112. Tapper J, Kettunen E, El-Rifai W, Seppala M, Andersson LC, Knuutila S. Changes in gene expression during progression of ovarian carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet*. 2001 Jul 1;128(1):1-6.
113. Xu ZY, Chen JS, Shu YQ. Gene expression profile towards the prediction of patient survival of gastric cancer. *Biomed Pharmacother*. 2009 Nov 13.
114. Manavi M, Hudelist G, Fink-Retter A, Gschwandtler-Kaulich D, Pischinger K, Czerwenka K. Gene profiling in Pap-cell smears of high-risk human papillomavirus-positive squamous cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2007 May;105(2):418-26.

Apêndices

Anexo 1. Comparação das TAGs diferencialmente expressas entre a biblioteca SAGE_Lung_normal_B_1 e SAGE_Lung_adenocarcinoma_MD_L9.

TAG	Frequência absoluta		Frequência Normalizada		Símbolo	Unigene	Descrição
	Normal	L9	Normal/L9				
ACGCAGGGAG	1	126	311,204143		MALAT1	Hs.621695	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (non-coding RNA)
CTGGGCCCC	1	31	76,56609867		TARBP1	Hs.498115	TAR (HIV-1) RNA binding protein 1
ACAGTGTCTG	1	23	56,80710547		UNQ473	Hs.445586	DMC
AAGCTGCGCG	5	98	48,40953336		SCGB3A1	Hs.62492	Secretoglobin, family 3A, member 1
CTCACCCGA	5	89	43,96375988		TFF3	Hs.82961	Trefoil factor 3 (intestinal)
GTCCTCGTGC	1	17	41,98786056		PSMA1	Hs.102798	Proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 1
GCGGAGGTGG	5	77	38,03606192		IGHA1	Hs.699841	Immunoglobulin heavy constant alpha 1
CCAGAGACT	1	15	37,04811226		MALAT1	Hs.621695	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (non-coding RNA)
CAACTAACC	3	40	32,93165534		IGHG1	Hs.650012	Immunoglobulin heavy constant gamma 1 (G1m marker)
TCAGACGCAG	6	73	30,0501355		PTMA	Hs.459927	Prothymosin, alpha (gene sequence 2B)
GACGGCCAG	2	24	29,63848981		ECGF1	Hs.592212	Endothelial cell growth factor 1 (platelet-derived)
GCTGGAGCCG	1	11	27,16861566		F11R	Hs.517293	F11 receptor
AAGGTAGCAG	1	11	27,16861566		CAP1	Hs.370581	CAP, adenylate cyclase-associated protein 1 (yeast)
GACCCAAGAT	1	11	27,16861566		PIGR	Hs.567706	Polymetric immunoglobulin receptor
AGGCTGCCA	1	11	27,16861566		AKR1C2	Hs.567256	Aldo-keto reductase family 1, member C2 (dihydrodiol dehydrogenase 2)
TGGAGAAGAG	1	11	27,16861566		TXNIP	Hs.515249	Thioredoxin interacting protein
GGCACCGTGC	2	21	25,93367858		LOC440335	Hs.390599	Hypothetical gene supported by BC022385; BC035868; BC048326
GCGGGGTGGA	2	20	24,69874151		ZFP36L1	Hs.85155	Zinc finger protein 36, C3H type-like 1
GTGGAGGTGC	1	10	24,69874151		SND1	Hs.122523	Staphylococcal nuclease and tudor domain containing 1
GCCGGGTGGG	2	20	24,69874151		BSG	Hs.501293	Basigin (OK blood group)
CTCTTCGAGA	2	19	23,46380443		GPX1	Hs.76686	Glutathione peroxidase 1
CAGGAGGAGT	1	9	22,22886736		PDI3	Hs.591095	Protein disulfide isomerase family A, member 3
CTGAGGCCCTG	1	9	22,22886736		SDC1	Hs.224607	Syndecan 1
GCCGTCGGAG	1	9	22,22886736		IFI6	Hs.523847	Interferon, alpha-inducible protein 6
CGTGGGGCTG	1	9	22,22886736		AQP5	Hs.298023	Aquaporin 5
GCGTCTCTGG	1	9	22,22886736		MRPL41	Hs.44017	Mitochondrial ribosomal protein L41
GTGGTGGGTG	1	9	22,22886736		DUSP19	Hs.132237	Dual specificity phosphatase 19
AAGGAGCAC	42	376	22,1112543		IGL@	Hs.449585	Immunoglobulin lambda locus
TGGCCCCACC	2	17	20,99393028		PKM2	Hs.534770	Pyruvate kinase, muscle
GCACCTCAGC	1	8	19,75899321		C6orf49	Hs.715653	Chromosome 6 open reading frame 49
CTCAGACAGT	2	16	19,75899321		RPS27L	Hs.108957	Ribosomal protein S27-like

CTCGGCTGG	UP	1	8	19,75899321	CLDN3	Hs.647023	Claudin 3
TCCCTGGGA	UP	1	8	19,75899321	CORO7	Hs.437957	Coronin 7
ATGCCGTGA	UP	1	8	19,75899321	SIL1	Hs.483521	SIL1 homolog, endoplasmic reticulum chaperone (<i>S. cerevisiae</i>)
GAGCGGATC	UP	1	8	19,75899321	SFRS1	Hs.658434	Splicing factor, arginine/serine-rich 1 (splicing factor 2, alternate splicing)
AGAGTGACG	UP	1	8	19,75899321	EVA1	Hs.116651	Myelin protein zero-like 2
GATCAGGCCA	UP	2	16	19,75899321	COL3A1	Hs.722737	Collagen, type III, alpha 1 (Ehlers-Danlos syndrome type IV)
CACTACACGG	UP	1	8	19,75899321	FKBP2	Hs.227729	FK506 binding protein 2, 13kDa
CCGGGAGCA	UP	1	8	19,75899321	GMPPA	Hs.27059	GDP-mannose pyrophosphorylase A
GTAGCCCAT	UP	1	8	19,75899321	HSP90AB1	Hs.509736	Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class B member 1
CTGGGGTGT	UP	4	31	19,14152467	*	*	MRNA; cDNA DKFZp586A0722 (from clone DKFZp586A0722)
CAAGCCCTGC	UP	1	7	17,28911906	HN1L	Hs.513261	Hematological and neurological expressed 1-like
AGACAGAGTG	UP	1	7	17,28911906	ISOC2	Hs.467306	Isochorismatase domain containing 2
CCTGTAGCCC	UP	1	7	17,28911906	SMARCA4	Hs.327527	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin
ACTAGCCCG	UP	1	7	17,28911906	TNFAIP2	Hs.525607	Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 2
ACCGTCCGG	UP	1	7	17,28911906	RPL13	Hs.720698	Ribosomal protein L13
AGTATCTGGG	UP	1	7	17,28911906	ARPC1B	Hs.489284	Actin related protein 2/3 complex, subunit 1B, 41kDa
GCCTGTACAA	UP	2	13	16,05418198	IGFBP2	Hs.438102	Insulin-like growth factor binding protein 2, 36kDa
TCTGCTAAG	UP	2	13	16,05418198	HMGB1	Hs.434102	High-mobility group box 1
GCTCTCTATG	UP	3	19	15,64253629	SSR4	Hs.409223	Signal sequence receptor, delta (translocon-associated protein delta)
GACCTGCC	UP	4	25	15,43671344	FKBP8	Hs.173464	FK506 binding protein 8, 38kDa
GCCGTGGAGA	UP	1	6	14,8192449	MVP	Hs.719952	Major vault protein
GTGGACACA	UP	1	6	14,8192449	SC65	Hs.446459	Synaptonemal complex protein SC65
TGGTGTITTTG	UP	1	6	14,8192449	*	*	Transcribed locus
TGCTCTACC	UP	1	6	14,8192449	FCGBP	Hs.111732	Fc fragment of IgG binding protein
CCAGGCTGG	UP	1	6	14,8192449	ITGB5	Hs.536663	Integrin, beta 5
CCGGCCCTAC	UP	2	12	14,8192449	PDZK1IP1	Hs.431099	PDZK1 interacting protein 1
TTGAAGGCC	UP	1	6	14,8192449	TSC2D3	Hs.522074	TSC22 domain family, member 3
AGCCTCGGCC	UP	1	6	14,8192449	ARHGEF1	Hs.631550	Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 1
TCTGAGGGG	UP	1	6	14,8192449	*	*	Transcribed locus
CTACCAGCAC	UP	1	6	14,8192449	NPLOC4	Hs.464333	Nuclear protein localization 4 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)

ACTGCCCGCT	UP	1	6	14,8192449	ECM1	Hs.81071	Extracellular matrix protein 1
GACTGAAA	UP	1	6	14,8192449	ATP1B1	Hs.291196	ATPase, Na+/K+ transporting, beta 1 polypeptide
GGTGTGGAG	UP	1	6	14,8192449	WBSR22	Hs.647063	Williams Beuren syndrome chromosome region 22
CGGGGCCCC	UP	1	6	14,8192449	C1orf35	Hs.715607	Chromosome 1 open reading frame 35
GGCCAGACCT	UP	1	6	14,8192449	HERC6	Hs.529317	Hect domain and RLD 6
GTGTGAATGT	UP	1	6	14,8192449	HYOU1	Hs.277704	Hypoxia up-regulated 1
CAGGCACAG	UP	1	6	14,8192449	ARPC1B	Hs.489284	Actin related protein 2/3 complex, subunit 1B, 41kDa
GCCTCTGTCT	UP	1	6	14,8192449	RPLP1	Hs.356502	Ribosomal protein, large, P1
GAGGGAGGA	UP	1	6	14,8192449	HCFC1	Hs.83634	Host cell factor C1 (VP16-accessory protein)
GGAGGGGTG	UP	1	6	14,8192449	MMP14	Hs.2399	Matrix metalloproteinase 14 (membrane-inserted)
GAGGCCGTG	UP	1	6	14,8192449	MAPBP1P	Hs.632483	Mitogen-activated protein-binding protein-interacting protein
AGGTCCCCG	UP	1	6	14,8192449	IGKC	Hs.449621	Immunoglobulin kappa constant
TTTGCTTTG	UP	4	23	14,20177637	AQP3	Hs.234642	Aquaporin 3 (Gill blood group)
GATGCTCTG	UP	2	11	13,58430783	UBXD5	Hs.145061	UBX domain containing 5
CGGACTACT	UP	4	22	13,58430783	STARD10	Hs.188606	START domain containing 10
CCACAGGGA	UP	2	11	13,58430783	COL3A1	Hs.722737	Collagen, type III, alpha 1 (Ehlers-Danlos syndrome type IV)
ATCGTGGCG	UP	2	11	13,58430783	CLDN4	Hs.699253	Claudin 4
CGGAGTCCAT	UP	3	16	13,17266214	SEPT2	Hs.712994	Septin 2
CCTGTGGTG	UP	1	5	12,34937075	CTPS	Hs.473087	CTP synthase
CGCGCCCGC	UP	1	5	12,34937075	MPST	Hs.248267	Mercaptopurinate sulfiurtransferase
CTTTGCTGTG	UP	1	5	12,34937075	TRIP12	Hs.591633	Thyroid hormone receptor interactor 12
CTGGGGGAA	UP	1	5	12,34937075	PHLDB1	Hs.504062	Pleckstrin homology-like domain, family B, member 1
GTGGCACCTG	UP	1	5	12,34937075	SLC35E1	Hs.620596	Solute carrier family 35, member E1
AATTCAGTGA	UP	1	5	12,34937075	DYNLT1	Hs.445999	Dynein, light chain, Tctex-type 1
TCCATCTGTT	UP	3	15	12,34937075	SDC4	Hs.632267	Syndecan 4
CCCTGAATCC	UP	1	5	12,34937075	WNK1	Hs.105448	WNK lysine deficient protein kinase 1
AAAGGAGCAC	UP	1	5	12,34937075	NSF	Hs.126938	N-ethylmaleimide-sensitive factor
GATGTCCTA	UP	1	5	12,34937075	CKAP4	Hs.74368	Cytoskeleton-associated protein 4
GCCCGCAGG	UP	1	5	12,34937075	DVL1	Hs.74375	Dishevelled, dsh homolog 1 (Drosophila)
GCCAGGGTCA	UP	1	5	12,34937075	TUBGCP2	Hs.523370	Tubulin, gamma complex associated protein 2
TTCTCCCGCT	UP	1	5	12,34937075	CTSA	Hs.609336	Cathepsin A
TGTGTGGGC	UP	1	5	12,34937075	RHOT2	Hs.513242	Ras homolog gene family, member T2

CAGTCCCAGC	UP	1	5	12,34937075	CDK5RAP2	Hs.269560	CDK5 regulatory subunit associated protein 2
ACTGCTGAAC	UP	1	5	12,34937075	SCAMP3	Hs.200600	Secretory carrier membrane protein 3
ACTGGGGAAT	UP	1	5	12,34937075	*	*	Transcribed locus
CTCGGTGATG	UP	2	10	12,34937075	RHEB	Hs.283521	Ras homolog enriched in brain
TGTGTGTTTG	UP	3	15	12,34937075	H1F0	Hs.715673	H1 histone family, member 0
CAGGTGCTGG	UP	1	5	12,34937075	ANKRD9	Hs.432945	Ankyrin repeat domain 9
TGCAGTGTGC	UP	1	5	12,34937075	SAR1A	Hs.499960	SAR1 gene homolog A (S. cerevisiae)
CAGATTAGTT	UP	1	5	12,34937075	DDX17	Hs.528305	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 17
CCCAGGACAC	UP	1	5	12,34937075	VWA1	Hs.449009	Von Willebrand factor A domain containing 1
GAGCAAGGGG	UP	1	5	12,34937075	NOL3	Hs.513667	Nucleolar protein 3 (apoptosis repressor with CARD domain)
GGAGATAGTG	UP	1	5	12,34937075	ARL6IP1	Hs.634882	ADP-ribosylation factor-like 6 interacting protein 1
TCGTTACGCA	UP	1	5	12,34937075	LOC286167	Hs.374257	Hypothetical protein LOC286167
AGAGACAAGT	UP	1	5	12,34937075	RRBP1	Hs.472213	Ribosome binding protein 1 homolog 180kDa (dog)
CTGCCTTCTT	UP	1	5	12,34937075	PPP1CC	Hs.79081	Protein phosphatase 1, catalytic subunit, gamma isoform
GTGGTGTGCA	UP	1	5	12,34937075	*	*	MRNA; cDNA DKFZp667P018 (from clone DKFZp667P018)
GCCGCCCTGC	UP	3	14	11,52607937	ACADVL	Hs.437178	Acy-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain
CCTGGAAGAG	UP	5	23	11,36142109	P4HB	Hs.464336	Procollagen-proline, 2-oxoglutarate 4-dioxygenase (proline 4-hydroxylase)
AACGTGCAGG	UP	2	9	11,11443368	ASS1	Hs.160786	Argininosuccinate synthetase 1
CGCAGTGTCC	UP	2	9	11,11443368	ATP6V0C	Hs.389107	ATPase, H+ transporting, lysosomal 16kDa, V0 subunit c
CCGATCACCG	UP	2	9	11,11443368	EIF2S2	Hs.429180	Eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 2 beta, 38kDa
ATCCGGCGCC	UP	5	22	10,86744626	TCEB2	Hs.172772	Transcription elongation factor B (SIII), polypeptide 2 (18kDa, elongin B)
ACCGCGTGG	UP	11	48	10,77763266	CYBA	Hs.513803	Cytochrome b-245, alpha polypeptide
CAGCAGAAGC	UP	12	52	10,70278799	SERF2	Hs.424126	Small EDRK-rich factor 2
GACAGTGTGG	UP	1	4	9,879496603	NUMA1	Hs.325978	Nuclear mitotic apparatus protein 1
AGCGAGATC	UP	2	8	9,879496603	PSMA7	Hs.233952	Proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 7
CTTTGATGCG	UP	1	4	9,879496603	RGS16	Hs.512607	Regulator of G-protein signalling 16
TGTCAGGAAC	UP	1	4	9,879496603	C7orf11	Hs.654989	Chromosome 7 open reading frame 11
GATGAGGAGA	UP	3	12	9,879496603	COL1A2	Hs.14968	Collagen, type I, alpha 2
AAGGCACCCG	UP	2	8	9,879496603	MGMT	Hs.501522	O-6-methylguanine-DNA methyltransferase

GAACTGCGCA	UP	1	4	9,879,496,603	AYTL2	Hs.368853	Acyltransferase like 2
GTAAGTATG	UP	1	4	9,879,496,603	KIAA0999	Hs.167451	KIAA0999 protein
GCCGCATCT	UP	2	8	9,879,496,603	TKT	Hs.89643	Transketolase (Wernicke-Korsakoff syndrome)
GCCCCATT	UP	1	4	9,879,496,603	CBR1	Hs.88778	Carbonyl reductase 1
CTGGACTGC	UP	1	4	9,879,496,603	ATG9A	Hs.323363	ATG9 autophagy related 9 homolog A (S. cerevisiae)
ACGGTGATG	UP	2	8	9,879,496,603	P117	Hs.356626	Hypothetical protein P117
TTAGAGTTG	UP	1	4	9,879,496,603	XRN2	Hs.255932	5'-3' exonuclease 2
AGTCTTGA	UP	1	4	9,879,496,603	SH2B1	Hs.15744	SH2B adaptor protein 1
GCCCTGCC	UP	1	4	9,879,496,603	RNPEP	Hs.5345	Arginyl aminopeptidase (aminopeptidase B)
GCCCCCGT	UP	3	12	9,879,496,603	C7orf48	Hs.446311	Chromosome 7 open reading frame 48
AGTGCGGG	UP	1	4	9,879,496,603	ASNA1	Hs.465985	ArsA arsenite transporter, ATP-binding, homolog 1 (bacterial)
CTGTCTGT	UP	2	8	9,879,496,603	TXNDC5	Hs.150837	Thioredoxin domain containing 5
AGTTTATCTG	UP	1	4	9,879,496,603	MALAT1	Hs.621695	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (non-coding RNA)
TGGACACTCA	UP	1	4	9,879,496,603	NCDN	Hs.121870	Neurochondrin
TGACTAATTG	UP	1	4	9,879,496,603	AGR2	Hs.530009	Anterior gradient homolog 2 (Xenopus laevis)
GCCAGGAGCT	UP	1	4	9,879,496,603	LAD1	Hs.519035	Ladinin 1
CAATTACCTG	UP	1	4	9,879,496,603	CASC4	Hs.512867	Cancer susceptibility candidate 4
GGAAGCCAC	UP	2	8	9,879,496,603	ST5	Hs.654928	Suppression of tumorigenicity 5
TGTTCAGTTG	UP	1	4	9,879,496,603	TMEM181	Hs.99145	Transmembrane protein 181
CCACTCTGCC	UP	1	4	9,879,496,603	GCSI	Hs.156178	Glucosidase I
CTTCTATGA	UP	1	4	9,879,496,603	PARP4	Hs.117825	Poly (ADP-ribose) polymerase family, member 4
AGGTACTACT	UP	1	4	9,879,496,603	ELF3	Hs.67928	E74-like factor 3 (ets domain transcription factor, epithelial-specific)
ATGAGCTGAC	UP	4	16	9,879,496,603	CSTB	Hs.695	Cystatin B (steifin B)
TGGCGTGGC	UP	1	4	9,879,496,603	PVT1	Hs.675281	Pvt1 oncogene homolog, MYC activator (mouse)
GCCAACTCC	UP	1	4	9,879,496,603	*	*	
CTCTGTAAGT	UP	1	4	9,879,496,603	MMP12	Hs.1695	Matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)
CAGTGAATG	UP	1	4	9,879,496,603	UBE2B	Hs.612096	Ubiquitin-conjugating enzyme E2B (RAD6 homolog)
GGAAGTCAC	UP	1	4	9,879,496,603	TSTA3	Hs.404119	Tissue specific transplantation antigen P35B
TGCCCTCAA	UP	1	4	9,879,496,603	LCN2	Hs.204238	Lipocalin 2 (oncogene 24p3)
AGCTGGGAG	UP	1	4	9,879,496,603	*	*	Transcribed locus
TAGCTGCTGG	UP	1	4	9,879,496,603	SFRS11	Hs.479693	Splicing factor, arginine/serine-rich 11
AAGCTGCTGG	UP	1	4	9,879,496,603	XAB2	Hs.9822	XPA binding protein 2
CTCGGAGCC	UP	1	4	9,879,496,603	SEPX1	Hs.655346	Selenoprotein X, 1
GTCTTAAAGT	UP	1	4	9,879,496,603	SOD2	Hs.487046	Superoxide dismutase 2, mitochondrial

GCTCACACCT	UP	1	4	9,879,496,603	ST3GAL1	Hs.374257	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 1
TTCTGTAGCC	UP	1	4	9,879,496,603	ATP2A3	Hs.513870	ATPase, Ca++ transporting, ubiquitous
TGTTGAGGGG	UP	1	4	9,879,496,603	ARMCX6	Hs.83530	Armadillo repeat containing, X-linked 6
GAGGGAAAC	UP	1	4	9,879,496,603	SHC1	Hs.433795	SHC (Src homology 2 domain containing) transforming protein 1
CCGCTGCTTG	UP	1	4	9,879,496,603	DNAJB2	Hs.77768	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 2
CCGGGGCCCT	UP	1	4	9,879,496,603	NPM3	Hs.90691	Nucleophosmin/nucleoplasmin, 3
TGCCCTCCCAT	UP	1	4	9,879,496,603	EIF2B5	Hs.283551	Eukaryotic translation initiation factor 2B, subunit 5 epsilon, 82kDa
AAGGAATCGG	UP	1	4	9,879,496,603	PSMB4	Hs.89545	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 4
TCTAAGTACC	UP	3	12	9,879,496,603	HP	Hs.591391	Haptoglobin
CCAGCTCCTT	UP	1	4	9,879,496,603	CDC47L	Hs.520245	Cell division cycle associated 7-like
TTGGACCTGG	UP	2	8	9,879,496,603	ATP5D	Hs.418668	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, delta subunit
GGCAGAAAT	UP	1	4	9,879,496,603	XPO6	Hs.460468	Exportin 6
CGTGTGCCTG	UP	1	4	9,879,496,603	EFHD2	Hs.465374	EF-hand domain family, member D2
TGCCCCCTA	UP	1	4	9,879,496,603	MAP1LC3A	Hs.632273	Microtubule-associated protein 1 light chain 3 alpha
GGGAGGGGG	UP	1	4	9,879,496,603	UBTF	Hs.89781	Upstream binding transcription factor, RNA polymerase I
GAGCCAACAA	UP	1	4	9,879,496,603	CNOT2	Hs.133350	CCR4-NOT transcription complex, subunit 2
GTGAAACTCT	UP	1	4	9,879,496,603	HGSNAT	Hs.600384	Heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase
GGAACGTGA	UP	1	4	9,879,496,603	TSPAN1	Hs.38972	Tetraspanin 1
TTCTGTGTCA	UP	1	4	9,879,496,603	SLC25A1	Hs.676133	Solute carrier family 25 (mitochondrial carrier, citrate transporter), member
GCGGGCTGC	UP	1	4	9,879,496,603	LOC388564	Hs.534672	Hypothetical gene supported by BC052596
AGCGGCTACA	UP	1	4	9,879,496,603	ISG20	Hs.459265	Interferon stimulated exonuclease gene 20kDa
CAGATTTTGG	UP	1	4	9,879,496,603	RPL34	Hs.438227	Ribosomal protein L34
CCACGTTCCA	UP	1	4	9,879,496,603	ENO2	Hs.511915	Enolase 2 (gamma, neuronal)
GTCTGACCCC	UP	1	4	9,879,496,603	PPP2R1A	Hs.467192	Protein phosphatase 2 (formerly 2A), regulatory subunit A, alpha isoform
TGTGATACA	UP	1	4	9,879,496,603	PSMB10	Hs.9661	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 10
GAGAGCACCC	UP	1	4	9,879,496,603	PILRB	Hs.632314	Paired immunoglobulin-like type 2 receptor beta
CCTTGGGCCCT	UP	1	4	9,879,496,603	SUPT16H	Hs.213724	Suppressor of Ty 16 homolog (S. cerevisiae)
CTGTACTAGG	UP	1	4	9,879,496,603	RUSC1	Hs.226499	RUN and SH3 domain containing 1
ACCAGCCACA	UP	1	4	9,879,496,603	CST3	Hs.304682	Cystatin C (amyloid angiopathy and cerebral hemorrhage)
CCGAAAGTCGA	UP	1	4	9,879,496,603	SMURF2	Hs.515011	SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 2
TGCCCTGTAGT	UP	4	16	9,879,496,603	LOC388969	Hs.516159	Hypothetical LOC388969
GTGAAACCCAT	UP	1	4	9,879,496,603	RPS6KC1	Hs.591416	Ribosomal protein S6 kinase, 52kDa, polypeptide 1
ACATCCTCAC	UP	1	4	9,879,496,603	PSMD13	Hs.134688	Proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 13
TGTTCCCTTT	UP	1	4	9,879,496,603	MXI1	Hs.501023	MAX interactor 1
TTGTATTCCA	UP	1	4	9,879,496,603	IGBP1	Hs.496267	Immunoglobulin (CD79A) binding protein 1

ACCCCTCCCT	UP	3	11	9,05620522	SSR2	Hs.74564	Signal sequence receptor, beta (translocon-associated protein beta)
TTGCCAGGC	UP	5	18	8,891546943	*	*	Transcribed locus
TACAAAGGA	UP	9	32	8,781774758	RPL6	Hs.546283	Ribosomal protein L6
GCCTCAGTC	UP	8	28	8,644559528	SPINT2	Hs.31439	Serine peptidase inhibitor, Kunitz type, 2
AAGGCCTGT	UP	2	7	8,644559528	TMEM219	Hs.460574	transmembrane protein 219
TCAGATGGG	UP	2	7	8,644559528	TPD5L2	Hs.591347	Tumor protein D52-like 2
GCGATTCCGG	UP	2	7	8,644559528	CTDSP1	Hs.444468	CTD (carboxy-terminal domain, RNA polymerase II, polypeptide A)
GCAGCTCCTG	UP	2	7	8,644559528	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001174013.1 cortactin isoform 1
GCGACCGTCA	UP	8	28	8,644559528	ALDOA	Hs.513490	Aldolase A, fructose-bisphosphate
CCCAGGGAGA	UP	4	14	8,644559528	CCT4	Hs.421509	Chaperonin containing TCP1, subunit 4 (delta)
ATCCCTCAGT	UP	2	7	8,644559528	ATF4	Hs.496487	Activating transcription factor 4 (tax-responsive enhancer element B67)
AAGGTCGAGC	UP	5	17	8,397572113	RPL24	Hs.649475	Ribosomal protein L24
GTGGGGGCA	UP	3	10	8,232913836	C12orf65	Hs.319128	Chromosome 12 open reading frame 65
CCACCCGAA	UP	6	20	8,232913836	TEGT	Hs.708025	Testis enhanced gene transcript (BAX inhibitor 1)
CCAGCTGCCT	UP	3	10	8,232913836	MGC45438	Hs.11782	Hypothetical protein MGC45438
ACAGSGTGAC	UP	3	10	8,232913836	EDF1	Hs.174050	Endothelial differentiation-related factor 1
ATGGCTCCT	UP	3	10	8,232913836	STX4	Hs.83734	Syntaxin 4
GCTAACCCCT	UP	11	36	8,083224494	TPPP3	Hs.534458	Tubulin polymerization-promoting protein family member 3
GGAACAACA	UP	5	16	7,903597283	CD24	Hs.511464	CD24 molecule
CTCAGGGAGG	UP	2	6	7,409622452	MRPL23	Hs.3254	Mitochondrial ribosomal protein L23
GTGGACCCCA	UP	2	6	7,409622452	SIAHBP1	Hs.521924	Poly-U binding splicing factor 60KDa
CTGGCCTGTG	UP	2	6	7,409622452	MAPK8IP1	Hs.23424	Mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 1
TACCTCTGAT	UP	9	27	7,409622452	S100P	Hs.440880	S100 calcium binding protein P
AGCCTGTTGC	UP	3	9	7,409622452	SLC35B2	Hs.182885	Solute carrier family 35, member B2
GCTGGGTCC	UP	2	6	7,409622452	HIST2H2AA3	Hs.530461	Histone cluster 2, H2aa3
GCCCAAGGAC	UP	4	12	7,409622452	FLNA	Hs.195464	Filamin A, alpha (actin binding protein 280)
GTCAAAGACCA	UP	2	6	7,409622452	AP1B1	Hs.368794	Adaptor-related protein complex 1, beta 1 subunit
ACCCCTGGCA	UP	2	6	7,409622452	NADK	Hs.654792	NAD kinase
CTTTTTGTGC	UP	2	6	7,409622452	YWHAH	Hs.643544	Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein
GAGGATGGTG	UP	2	6	7,409622452	PTOV1	Hs.587979	Prostate tumor overexpressed gene 1
GAGAGTGCT	UP	3	9	7,409622452	TIMP1	Hs.522632	TIMP metalloproteinase inhibitor 1
AAGACTGGCT	UP	2	6	7,409622452	SURF4	Hs.512465	Surfeit 4
GGAGCGTGGG	UP	2	6	7,409622452	MYO1C	Hs.658000	Myosin IC
GTGGGCACA	UP	2	6	7,409622452	ADAT1	Hs.188661	Adenosine deaminase, tRNA-specific 1
CGCGTCACTA	UP	5	15	7,409622452	*	*	Transcribed locus, moderately similar to XP_001089230.1 similar to CG8580

CCAGCTGCCA	UP	2	6	7,409622452	UBE1	Hs.533273	Ubiquitin-activating enzyme E1
CCTCGCTCAG	UP	2	6	7,409622452	HADHA	Hs.516032	Hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase/3-ketoacyl-Coenzyme A thiolase/enoyl
ATCAGCCCT	UP	10	28	6,915647622	*	*	Transcribed locus, weakly similar to XP_001104433.1 similar to CTAGE family
GTGACCACGG	UP	226	630	6,885047412	*	*	Transcribed locus, strongly similar to NP_067042.1 adhesion molecule 2
GCTCAGCTGG	UP	8	22	6,792153915	EEF1D	Hs.68655	Eukaryotic translation elongation factor 1 delta
CAGCTCACTG	UP	4	11	6,792153915	RPL14	Hs.446522	Ribosomal protein L14
CCGTCCAAGG	UP	13	35	6,649661175	RPS16	Hs.716776	Ribosomal protein S16
CCTGGAAGT	UP	16	43	6,63778678	MUC1	Hs.449320	Mucin 1, cell surface associated
CTACTGCACT	UP	3	8	6,586331069	FLJ33630	Hs.340623	Hypothetical protein LOC644873
ACCAAAAACC	UP	6	16	6,586331069	COL1A1	Hs.681002	Collagen, type I, alpha 1
CGACCGTGGC	UP	3	8	6,586331069	CCDC56	Hs.721326	Coiled-coil domain containing 56
ATTGCACCAC	UP	3	8	6,586331069	*	*	Transcribed locus
CTCCCCAAG	UP	47	125	6,568814231	IGHA1	Hs.699841	Immunoglobulin heavy constant alpha 1
AGAGCAAGT	UP	5	13	6,421672792	RPL41	Hs.720477	Ribosomal protein L41
GTGGCACGTG	UP	7	18	6,351104959	PTRF	Hs.437191	Polymerase I and transcript release factor
GCCGAGGAAG	UP	38	97	6,304678753	RPS12	Hs.546289	Ribosomal protein S12
GGTTCCCCG	UP	4	10	6,174685377	CENTD2	Hs.503165	Centaurin, delta 2
AAGGAAGATG	UP	2	5	6,174685377	PSMB8	Hs.180062	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 8
CAGCTCCGCT	UP	2	5	6,174685377	DUT	Hs.527980	DUTP pyrophosphatase
GTGCGAGGA	UP	4	10	6,174685377	SAA1	Hs.632144	Serum amyloid A1
GCGGTGGAAG	UP	2	5	6,174685377	CD63	Hs.445570	CD63 molecule
GGAGAAGATG	UP	2	5	6,174685377	PFDN2	Hs.492516	Prefoldin subunit 2
TTGAGCCAGC	UP	2	5	6,174685377	KHSRP	Hs.91142	KH-type splicing regulatory protein (FUSE binding protein 2)
GAGAGCCTCA	UP	2	5	6,174685377	TAOK3	Hs.644420	TAO kinase 3
ATCAACTGGA	UP	2	5	6,174685377	NUCB2	Hs.654599	Nucleobindin 2
CCTTGGTGCC	UP	2	5	6,174685377	TRAF4	Hs.525796	TNF receptor-associated factor 4
CTGTGACACA	UP	2	5	6,174685377	CCT2	Hs.189772	Chaperonin containing TCP1, subunit 2 (beta)
GGCGGCTGTG	UP	2	5	6,174685377	AGOT8	Hs.444776	Acy-CoA thioesterase 8
GCCCCCTGCG	UP	2	5	6,174685377	PLEKHJ1	Hs.501353	Pleckstrin homology domain containing, family J member 1
CCTGAGTGG	UP	2	5	6,174685377	TM7SF3	Hs.438641	Transmembrane 7 superfamily member 3
GCTCTGGGG	UP	2	5	6,174685377	*	*	CDNA clone IMAGE:5764174
TTGGCTTTC	UP	2	5	6,174685377	NBPF10	Hs.607640	Neuroblastoma breakpoint family, member 10
ACCTGCCGAC	UP	2	5	6,174685377	CDK2AP2	Hs.523835	CDK2-associated protein 2
TGATCTGCCT	UP	2	5	6,174685377	SULT1A4	Hs.460558	Sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 4

AAGCTGAGGT	UP	2	5	6,174685377	POMT1	Hs.522449	Protein-O-mannosyltransferase 1
GGCAGAGTA	UP	2	5	6,174685377	GBP1	Hs.62661	Guanylate binding protein 1, interferon-inducible, 67kDa
GCCGATCCTC	UP	2	5	6,174685377	TBCA	Hs.291212	Tubulin folding cofactor A
CCCAACGCTG	UP	2	5	6,174685377	FLAD1	Hs.118666	FAD1 flavin adenine dinucleotide synthetase homolog (S. cerevisiae)
CATTGAAGGG	UP	2	5	6,174685377	MLF2	Hs.524214	Myeloid leukemia factor 2
GGACTGGCCC	UP	2	5	6,174685377	NUDC	Hs.380291	Nuclear distribution gene C homolog (A. nidulans)
GTGACACCT	UP	2	5	6,174685377	POLK	Hs.135756	Polymerase (DNA directed) kappa
GAATAAAGC	UP	94	234	6,14841012	IGHG1	Hs.650012	Immunoglobulin heavy constant gamma 1 (G1m marker)
TTCTGTGCTG	UP	5	12	5,927697962	C1R	Hs.631730	Complement component 1, r subcomponent
GGGGTAACT	UP	5	12	5,927697962	FUS	Hs.652334	Fusion (involved in t(12;16) in malignant liposarcoma)
TGCAGCACGA	UP	10	24	5,927697962	HLA-F	Hs.519972	Major histocompatibility complex, class I, F
TCCTGCTGCC	UP	3	7	5,763039685	C16orf13	Hs.239500	Chromosome 16 open reading frame 13
GCCTCTGCCA	UP	3	7	5,763039685	BAP1	Hs.106674	BRCA1 associated protein-1 (ubiquitin carboxy-terminal hydrolase)
TGCTGCCTCA	UP	3	7	5,763039685	HOOK2	Hs.30792	Hook homolog 2 (Drosophila)
CCTGTAATCT	UP	6	14	5,763039685	SFRS13A	Hs.3530	splicing factor, arginine/serine-rich 13A
ACCCCCCCGC	UP	3	7	5,763039685	JUND	Hs.2780	Jun D proto-oncogene
TTAAGAGGGG	UP	3	7	5,763039685	NASP	Hs.319334	Nuclear autoantigenic sperm protein (histone-binding)
CCCGTCCGGA	UP	86	199	5,715173907	RPL13	Hs.720698	Ribosomal protein L13
CTCCCCAAA	UP	33	75	5,613350343	IGHA1	Hs.699841	Immunoglobulin heavy constant alpha 1
TCGTCCGAGA	UP	4	9	5,557216839	NDUFA7	Hs.333427	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 7, 14.5kDa
GAAGGTCTG	UP	4	9	5,557216839	KDELR2	Hs.654552	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 2
CCTGTAGTCC	UP	18	40	5,488609224	MAFF	Hs.632605	V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)
GGGGCAGGGC	UP	9	20	5,488609224	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_001013229.1 rich protein 2
CTCATAAGGA	UP	19	42	5,459721807	RPS15	Hs.406683	Ribosomal protein S15
ACCCACGTCA	UP	5	11	5,433723132	JUNB	Hs.532851	Jun B proto-oncogene
ATGCCAACAG	UP	6	13	5,351393993	ITGA5	Hs.505654	Integrin, alpha 5 (fibronectin receptor, alpha polypeptide)
GCCTGTATGA	UP	55	119	5,343909526	RPS24	Hs.280130	Ribosomal protein S24
GCCGTGTCCG	UP	26	56	5,31972894	RPS6	Hs.408073	Ribosomal protein S6
CGCCGAACA	UP	39	78	4,939748302	RPL4	Hs.644628	Ribosomal protein L4
GACTGTGCCA	UP	5	10	4,939748302	DYNLL1	Hs.5120	Dynein, light chain, LC8-type 1
GTGAAACCTC	UP	7	14	4,939748302	MRPS18B	Hs.655329	Mitochondrial ribosomal protein S18B
TGCTTGTCCTC	UP	5	10	4,939748302	ARF1	Hs.25584	ADP-ribosylation factor 1
GTGGCGGGTG	UP	6	12	4,939748302	KIR3DX1	Hs.288520	Killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, X1
CCAGGAGGAA	UP	13	26	4,939748302	LOC85391	Hs.722290	RNA, small nucleolar

CTGTTGGCAT	UP	9	18	4,939748302	RPL21	Hs.535873	Ribosomal protein L21
CCACTGTACT	UP	5	10	4,939748302	SNRPD3	Hs.356549	Small nuclear ribonucleoprotein D3 polypeptide 18kDa
CTTCTCATCT	UP	13	25	4,749757982	DMBT1	Hs.650754	Deleted in malignant brain tumors 1
CAGCTCATCT	UP	7	13	4,586909137	JTB	Hs.6396	Jumping translocation breakpoint
GTGGTACAGG	UP	18	33	4,52810261	PRDX5	Hs.502823	Peroxiredoxin 5
TCACCCACAC	UP	33	60	4,490680274	RPL23	Hs.406300	Ribosomal protein L23
CCAAACGTGT	UP	21	38	4,469296082	H3F3A	Hs.719957	H3 histone, family 3A
CCAGTGCCCC	UP	20	36	4,445773471	RPS9	Hs.546288	Ribosomal protein S9
CGAGGGGCCA	UP	5	9	4,445773471	ACTN4	Hs.270291	Actinin, alpha 4
CACTACTCAC	UP	9	16	4,390887379	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_039502.1 b
GCTCTGCCCTC	UP	8	14	4,322279764	CTSZ	Hs.252549	Cathepsin Z
CTCAACATCT	UP	27	46	4,207933738	RPLP0	Hs.546285	Ribosomal protein, large, P0
TTTGGTTTTC	UP	6	10	4,116456918	COL1A2	Hs.14968	Collagen, type I, alpha 2
GACAAATGCCA	UP	6	10	4,116456918	ATP5C1	Hs.271135	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, gamma polypeptide 1
ACATCGTAGG	UP	6	10	4,116456918	APH1A	Hs.108408	Anterior pharynx defective 1 homolog A (C. elegans)
GCCCTCCGG	UP	6	10	4,116456918	CHCHD2	Hs.547257	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 2
TTTCCAATCT	UP	6	10	4,116456918	VEGFA	Hs.73793	Vascular endothelial growth factor A
ATGGCTGGTA	UP	50	83	4,09999109	RPS2	Hs.381079	Ribosomal protein S2
GCCTACCCGA	UP	10	16	3,951798641	TACSTD2	Hs.23582	Tumor-associated calcium signal transducer 2
CCTGTGGTCC	UP	7	11	3,881230808	PNPLA5	Hs.248086	Patatin-like phospholipase domain containing 5
TTCTTTGTGC	UP	15	23	3,787140365	RPS11	Hs.433529	Ribosomal protein S11
ACAAACCCCC	UP	6	9	3,704811226	NME7	Hs.706952	Non-metastatic cells 7, protein expressed in (nucleoside-diphosphate kinase)
TTTTTGTCTT	UP	6	9	3,704811226	C4BPA	Hs.1012	Complement component 4 binding protein, alpha
AGCCCTCCCT	UP	10	15	3,704811226	RALY	Hs.121663	RNA binding protein, autoantigenic
TGTGGTGCT	UP	6	9	3,704811226	CDH1	Hs.46108	Cadherin 1, type 1, E-cadherin (epithelial)
GATCCACTG	UP	6	9	3,704811226	PON2	Hs.530077	Paraoxonase 2
GGCCAGCCCT	UP	6	9	3,704811226	PFKL	Hs.255093	Phosphofructokinase, liver
TGATTTCACT	UP	15	22	3,622482088	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_203160.2 c oxidase subunit III
TGTGCTCGGG	UP	9	13	3,567595996	GANAB	Hs.595071	Glucosidase, alpha: neutral AB
CCTGTAATCC	UP	113	162	3,540881526	HLA-E	Hs.650174	Major histocompatibility complex, class I, E
GTGGCAGGGC	UP	7	10	3,528391644	GP2	Hs.53985	Glycoprotein 2 (zymogen granule membrane)
CCCACACTAC	UP	7	10	3,528391644	GNB2	Hs.185172	Guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 2
TTCCAGACCT	UP	7	10	3,528391644	RPN2	Hs.370895	Ribophorin II
GTGGCTCAGC	UP	7	10	3,528391644	*	*	AF034176 Human mRNA (Tripodis and Ragoussis) Homo sapiens cDNA clone ntcon5
TGGTGTGAG	UP	79	112	3,501593733	RPS18	Hs.627414	Ribosomal protein S18

CCCTCGAGAT	UP	12	17	3,49898838	RPS5	Hs.378103	Ribosomal protein S5
CAAACCATCC	UP	10	14	3,457823811	KRT18	Hs.406013	Keratin 18
CTGGCTGCAA	UP	10	14	3,457823811	COX5B	Hs.1342	Cytochrome c oxidase subunit Vb
CGGCTGGTGA	UP	10	14	3,457823811	PSMB1	Hs.352768	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 1
CCCCCGTGAA	UP	8	11	3,396076957	IRAK1	Hs.522819	Interleukin-1 receptor-associated kinase 1
GTGCCCTGTT	UP	8	11	3,396076957	NCKAP1	Hs.603732	NCK-associated protein 1
AACCCAGGAG	UP	8	11	3,396076957	GK5	Hs.706584	Glycerol kinase 5 (putative)
TGCCCTCAGG	UP	8	11	3,396076957	LCN2	Hs.204238	Lipocalin 2 (oncogene 24p3)
GACGACACGA	UP	30	41	3,375494673	RPS28	Hs.153177	Ribosomal protein S28
GCGAAACCCC	UP	32	43	3,31889339	C10orf58	Hs.718589	Chromosome 10 open reading frame 58
GATGCTGCCA	UP	12	16	3,293165534	RPL22	Hs.515329	Ribosomal protein L22
GGAGCTGAG	UP	9	12	3,293165534	DEGS1	Hs.299878	Degenerative spermatocyte homolog 1, lipid desaturase (Drosophila)
AAGGAGATGG	UP	78	103	3,261500481	RPL31	Hs.469473	Ribosomal protein L31
TGGGTGAGCC	UP	39	51	3,229835428	CTSB	Hs.520898	Cathepsin B
CCCATCCGAA	UP	37	48	3,20416106	RPL26	Hs.719996	Ribosomal protein L26
CGACCCACG	UP	23	29	3,114189147	APOE	Hs.110675	Apolipoprotein E
ACCCTTGGCC	UP	16	20	3,087342688	*	*	Transcribed locus, moderately similar to XP_001082071.1 similar to NADH
GTTAACGTCC	UP	13	16	3,039845109	RPL36A	Hs.432485	Ribosomal protein L36a
CCTCCAGCTA	UP	14	17	2,999132897	KRT8	Hs.533782	Keratin 8
GGCGGTGTG	UP	14	17	2,999132897	UOQR	Hs.8372	Ubiquinol-cytochrome c reductase, 6.4kDa subunit
TTTTTTGTAA	UP	10	12	2,963848981	ALG14	Hs.408927	Asparagine-linked glycosylation 14 homolog (S. cerevisiae)
TTTGGCCTA	UP	13	15	2,849854789	CRIP1	Hs.70327	Cysteine-rich protein 1 (intestinal)
AGTCAAGGAG	UP	22	25	2,806675171	KIAA0319L	Hs.456507	KIAA0319-like
GTGGCAGGTG	UP	21	23	2,70510026	LRAP	Hs.482910	Leukocyte-derived arginine aminopeptidase
ATGGATGCC	UP	139	152	2,700869575	SFTPB	Hs.512690	Surfactant, pulmonary-associated protein B
TGTGTTGAGA	UP	161	176	2,699886649	EEF1A1	Hs.535192	Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1
CGCCCGGTG	UP	25	26	2,568669117	EIF3S8	Hs.567374	Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit C
GTGAAACCCT	UP	66	68	2,544718822	CHST12	Hs.213088	Carbohydrate (chondroitin 4) sulfotransferase 12
CCCTGGGTTG	UP	104	107	2,541120521	FTL	Hs.713706	Ferritin, light polypeptide
CTAAGACTTC	UP	50	50	2,469874151	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001083530.1 similar to ribosomal
GTGTTAACCA	UP	22	22	2,469874151	RPL15	Hs.381219	Ribosomal protein L15
AAACCCCAAT	UP	30	29	2,387545012	IGL@	Hs.449585	Immunoglobulin lambda locus
CACAAAACGGT	UP	239	221	2,283858524	RPS27	Hs.654475	Ribosomal protein S27 (metallopanstimulin 1)
GGGAAATCG	UP	59	51	2,134975961	TMSB10	Hs.446574	Thymosin, beta 10
AGTCTCTAGC	UP	27	23	2,103966869	GSTP1	Hs.523836	Glutathione S-transferase pi

AGCTCTCCCT	UP	91	72	1,954186141	RPL17	Hs.485081	Ribosomal protein L17
AATCCTGTGG	UP	40	31	1,914152467	RPL8	Hs.178551	Ribosomal protein L8
CCACTGCAC	UP	130	100	1,899903193	CCNB1P1	Hs.107003	Cyclin B1 interacting protein 1
GTGAAACCC	UP	192	135	1,736630262	CD82	Hs.527778	CD82 molecule
CGCTGTTCC	UP	123	83	1,666663045	RPL11	Hs.719951	Ribosomal protein L11
TGGGCAAGC	UP	108	71	1,623713562	EEF1G	Hs.144835	Eukaryotic translation elongation factor 1 gamma
CCCATCGTC	UP	260	158	1,500923522	*	*	Transcribed locus, weakly similar to XP_001104433.1 similar to CTAGE family
CGCAGCGGT	UP	269	150	1,377253244	NAPSA	Hs.512843	Napsin A aspartic peptidase
CCAGAACAGA	Down	237	65	0,677391645	RPL30	Hs.400295	Ribosomal protein L30
AGGGCTTCCA	Down	296	77	0,642501046	RPL10	Hs.534404	Ribosomal protein L10
ATTCTCCAGT	Down	203	52	0,632677122	RPL23	Hs.406300	Ribosomal protein L23
CACCTAATTG	Down	171	42	0,606635756	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_039504.1
GCCTTCCAAT	Down	144	35	0,600316634	DDX5	Hs.434059	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 5
GGGCTGGGGT	Down	214	49	0,565531932	RPL29	Hs.425125	Ribosomal protein L29
GTGCACGTAG	Down	155	35	0,557713518	HLA-C	Hs.720721	Major histocompatibility complex, class I, C
TTGTAATCGT	Down	113	24	0,524575041	OAZ1	Hs.446427	Ornithine decarboxylase antizyme 1
GGATTTGGCC	Down	282	59	0,516746719	RPLP2	Hs.437594	Ribosomal protein, large, P2
AGGAAAGCTG	Down	108	21	0,480253307	RPL36	Hs.408018	Ribosomal protein L36
GTTACATTA	Down	473	87	0,454289749	CD74	Hs.714487	CD74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain
CAAAAAAAAA	Down	66	12	0,449068027	CNTN4	Hs.298705	Contactin 4
GCCCCCAATA	Down	112	20	0,441048955	LGALS1	Hs.445351	Lectin, galactoside-binding, soluble, 1 (galectin 1)
AGCCCTACAA	Down	306	54	0,435860144	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_149938.1 dehydrogenase subunit 3
CTGCCAATAT	Down	117	20	0,42220071	SFTPD	Hs.253495	Surfactant, pulmonary-associated protein D
GGGACGAGTG	Down	59	10	0,418622737	TM4SF1	Hs.351316	Transmembrane 4 L six family member 1
GGGCATCTCT	Down	494	82	0,40997911	HLA-DRA	Hs.520048	Major histocompatibility complex, class II, DR alpha
ATTGATGTGT	Down	121	20	0,408243661	*	*	Transcribed locus
ATGAAACCC	Down	79	13	0,406434987	DDX19A	Hs.656037	DEAD (Asp-Glu-Ala-As) box polypeptide 19A
GTGAAGGCAG	Down	213	35	0,405847865	RPS3A	Hs.356572	Ribosomal protein S3A
GTTGTGGTTA	Down	1265	201	0,392446407	B2M	Hs.534255	Beta-2-microglobulin
GGAAGAAGTG	Down	82	13	0,391565414	SERPINA1	Hs.525557	Serpine peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antitrypsin, antitrypsin),
TTGGCAGCCC	Down	51	8	0,387431239	RPL27A	Hs.523463	Ribosomal protein L27a
GTGGCAGCG	Down	211	33	0,386283635	S100A9	Hs.112405	S100 calcium binding protein A9
CAATAAACTG	Down	64	10	0,385917836	EIF1	Hs.150580	Eukaryotic translation initiation factor 1
GCATAATAGG	Down	358	55	0,379449939	RPL21	Hs.535873	Ribosomal protein L21
TTACCATATC	Down	111	17	0,378269014	RPL39	Hs.558387	Ribosomal protein L39

GAAGCAGGAC	Down	106	16	0,372811193	CFL1	Hs.170622	Cofilin 1 (non-muscle)
GCCTGCTGGG	Down	60	9	0,370481123	GPX4	Hs.433951	Glutathione peroxidase 4 (phospholipid hydroperoxidase)
TACCCATAAA	Down	68	10	0,363216787	ATRN	Hs.276252	Attractin
TGGGGTTTC	Down	607	89	0,362139703	FTH1	Hs.449153	Ferritin, heavy polypeptide 1
GAATAACAGT	Down	164	24	0,361444998	NT5C	Hs.67201	5', 3'-nucleotidase, cytosolic
ACTCCAAAAA	Down	82	12	0,361444998	RPS15	Hs.406683	Ribosomal protein S15
TGGCTGGGAA	Down	63	9	0,352839164	VAMP8	Hs.714302	Vesicle-associated membrane protein 8 (endobrevin)
ATTGTTTATG	Down	70	10	0,352839164	HMGN2	Hs.181163	High-mobility group nucleosomal binding domain 2
TGCACGTTTT	Down	270	38	0,347611918	RPL32	Hs.265174	Ribosomal protein L32
CTCTAAGAAG	Down	57	8	0,346649004	C10A	Hs.632379	Complement component 1, q subcomponent, A chain
ACAGTGC TTG	Down	43	6	0,344633602	PPP2CB	Hs.491440	Protein phosphatase 2 (formerly 2A), catalytic subunit, beta isoform
TGGAGATCT	Down	94	13	0,34157834	NDUFA4	Hs.50098	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 4, 9kDa
CTAACTAGTT	Down	59	8	0,33489819	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001106655.1 similar to CG14446
AATAGGTCCA	Down	207	28	0,334089257	RPS25	Hs.512676	Ribosomal protein S25
TTTCAGAGAG	Down	52	7	0,332483059	*	*	Transcribed locus
AACTAACAAA	Down	67	9	0,33177414	RPS27A	Hs.546292	Ribosomal protein S27a
AATATGTGGG	Down	45	6	0,329316553	COX6C	Hs.351875	Cytochrome c oxidase subunit VIc
ACCTGTATCC	Down	129	17	0,325487291	IFITM3	Hs.374650	Interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U)
GTAAGATTTG	Down	39	5	0,316650532	MTCH1	Hs.485262	Mitochondrial carrier homolog 1 (C. elegans)
TTAACCCCTC	Down	125	16	0,316143891	RNASE1	Hs.623499	Ribonuclease, RNase A family, 1 (pancreatic)
GAGGGAGTTT	Down	404	51	0,311791044	RPL27A	Hs.523463	Ribosomal protein L27a
TAGTTTGTCT	Down	832	105	0,311702868	TPT1	Hs.660859	Tumor protein, translationally-controlled 1
GGCTGGGGGC	Down	144	18	0,308734269	PFN1	Hs.494691	Profilin 1
ATCGCTTTCT	Down	65	8	0,303884511	APP	Hs.529408	Amyloid beta (A4) precursor protein (peptidase nexin-II, Alzheimer disease)
ATGTGAAGAG	Down	82	10	0,301204165	SPARC	Hs.497349	Secreted protein, acidic, cysteine-rich (osteonectin)
TAGTTGAAGT	Down	33	4	0,299378685	UOORB	Hs.131255	Ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein
AATGSATGAA	Down	42	5	0,294032637	*	*	Transcribed locus, moderately similar to XP_001089230.1 similar to CG8580
AGTTTCTTGT	Down	59	7	0,293035916	CD68	Hs.633037	CD68 molecule
GCACAGGCCA	Down	68	8	0,29057343	EGFL7	Hs.91481	EGF-like-domain, multiple 7
TTTTCTAGTTT	Down	61	7	0,283428181	LAPTM4A	Hs.467807	Lysosomal-associated protein transmembrane 4 alpha
TCTCTACC CA	Down	35	4	0,282271332	APLP2	Hs.370247	Amyloid beta (A4) precursor-like protein 2
CAC TTGCCCCT	Down	35	4	0,282271332	NDUFB9	Hs.15977	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 beta subcomplex, 9, 22kDa
TCTGTTTATC	Down	44	5	0,280667517	SRP14	Hs.533732	Signal recognition particle 14kDa (homologous Alu RNA binding protein)
TTCATACACC	Down	273	31	0,2804619	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001087649.1 similar to 40S
AAAAAAAAAA	Down	240	27	0,277860842	UBAP2	Hs.483739	Ubiquitin associated protein 2

GCCTCCTCC	Down	36	4	0,274430461	EIF3S12	Hs.314359	Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit K
TGTATAAAA	Down	54	6	0,274430461	HSP90B1	Hs.192374	Heat shock protein 90kDa beta (Grp94), member 1
GGTGCACCTC	Down	64	7	0,270142485	RHOA	Hs.61581	Ras homolog gene family, member A
ATAATAAAGC	Down	55	6	0,269440816	RARRES2	Hs.647064	Retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 2
ACCCITTAAC	Down	112	12	0,264629373	HLA-E	Hs.650174	Major histocompatibility complex, class I, E
GCTTTATTTG	Down	123	13	0,261043609	ACTB	Hs.721681	Actin, beta
TGAGGGAATA	Down	57	6	0,259886753	TP11	Hs.524219	Triosephosphate isomerase 1
AATAAAGGCT	Down	29	3	0,255504222	RHOC	Hs.658289	Ras homolog gene family, member C
AACTGCTTCA	Down	58	6	0,255504222	ARPC1B	Hs.489284	Actin related protein 2/3 complex, subunit 1B, 41kDa
ACAGTGGGGA	Down	39	4	0,253320426	PTGES3	Hs.50425	Prostaglandin E synthase 3 (cytosolic)
AGTTTCCCAA	Down	30	3	0,246887415	TMED9	Hs.279929	Transmembrane emp24 protein transport domain containing 9
TAAAAACAAGA	Down	30	3	0,246887415	CD55	Hs.126517	CD55 molecule, decay accelerating factor for complement (Cromer blood group)
CATATCATT	Down	81	8	0,243938188	IGFBP7	Hs.709685	Insulin-like growth factor binding protein 7
AGAAAGATGT	Down	71	7	0,243508719	ANXA1	Hs.494173	Annexin A1
AGGACACCAA	Down	336	33	0,242576926	SFTPB	Hs.512690	Surfactant, pulmonary-associated protein B
AATAAAGCCT	Down	31	3	0,239020079	SEPP1	Hs.718521	Selenoprotein P, plasma, 1
TAAACTGTTT	Down	32	3	0,231650702	RPS14	Hs.381126	Ribosomal protein S14
GCTTTTAGA	Down	32	3	0,231650702	HMG1	Hs.356285	High-mobility group nucleosome binding domain 1
TGTTGGAAGG	Down	578	53	0,226476349	TMSB4X	Hs.703237	Thymosin, beta 4, X-linked
AGCAAACTGA	Down	33	3	0,224534014	LAP3	Hs.570791	Leucine aminopeptidase 3
TTCATTATAA	Down	45	4	0,219544369	PTMA	Hs.459927	Prothymosin, alpha (gene sequence 28)
TGTAATCAAT	Down	57	5	0,216655627	HNRPA1	Hs.689177	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1
TCTTGATTTA	Down	81	7	0,213445914	LOC144571	Hs.592432	Hypothetical protein LOC144571
GCCGTGAGCA	Down	344	28	0,201036268	SFTPC	Hs.1074	Surfactant, pulmonary-associated protein C
ATGTGTAACG	Down	37	3	0,200260066	S100A4	Hs.654444	S100 calcium binding protein A4
TCTTAATGAA	Down	37	3	0,200260066	*	*	Transcribed locus
TTTTTAATGT	Down	62	5	0,199183399	H3F3A	Hs.719957	H3 histone, family 3A
TCTAAGTAGG	Down	25	2	0,197589932	*	*	Transcribed locus, strongly similar to NP_067042.1
GAGACTGCAA	Down	25	2	0,197589932	SLC40A1	Hs.643005	Solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1
TTCACGTGA	Down	125	10	0,197589932	LGALS3	Hs.531081	Lectin, galactoside-binding, soluble, 3
GGGAAACAGG	Down	26	2	0,189990319	C10orf54	Hs.47382	Chromosome 10 open reading frame 54
TGTGCTTTT	Down	26	2	0,189990319	GPR116	Hs.693354	G protein-coupled receptor 116
TGATGTTTGA	Down	39	3	0,189990319	DAZAP2	Hs.369761	DAZ associated protein 2
GGCTGTACCC	Down	79	6	0,187585379	CSRP1	Hs.108080	Cysteine and glycine-rich protein 1
TTTCAGGGGA	Down	27	2	0,182953641	GRINA	Hs.594634	Glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate-associated protein 1

GCCTCAGTTC	Down	27	2	0,182953641	*	*	Transcribed locus, strongly similar to NP_067042.1 adhesion molecule 2
ACAACTCAAT	Down	82	6	0,180722499	BR13	Hs.596464	Brain protein 13
TATGTTTCAG	Down	28	2	0,176419582	PTPN12	Hs.61812	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 12
AAGTTGCTAT	Down	129	9	0,172316801	PSAP	Hs.523004	Prosaposin (variant Gaucher disease)
TTGACACTTT	Down	43	3	0,172316801	PIGY	Hs.26136	Phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class Y
AACAGAAGCA	Down	29	2	0,170336148	SNHG6	Hs.372680	Small nucleolar RNA host gene (non-protein coding) 6
CTGGGTTAAT	Down	262	18	0,16968601	RPS19	Hs.438429	Ribosomal protein S19
GTAAAAA	Down	91	6	0,162848845	*	*	Transcribed locus
TGCACITCAA	Down	76	5	0,16249172	SPARCL1	Hs.62886	SPARC-like 1 (mast9, hevjin)
CAATAAATGT	Down	199	13	0,161348563	RPL37	Hs.558601	Ribosomal protein L37
GTATGTGCTC	Down	62	4	0,159346719	SFTPA2B	Hs.535295	Surfactant, pulmonary-associated protein A2B
AGCACATTTG	Down	31	2	0,159346719	COTL1	Hs.289092	Coactosin-like 1 (Dictyostelium)
TTCTATTTCA	Down	47	3	0,157651542	MSN	Hs.87752	Moesin
TGTACCTGTA	Down	158	10	0,156321149	TUBA1B	Hs.676750	Tubulin, alpha 1b
GGAGTGTGCT	Down	48	3	0,154367134	MYL9	Hs.504687	Myosin, light chain 9, regulatory
GCCGTGAACA	Down	356	22	0,152632672	SFTPC	Hs.1074	Surfactant, pulmonary-associated protein C
TTATGTTTAA	Down	33	2	0,149889342	LUM	Hs.406475	Lumican
CTAAAAA	Down	50	3	0,148192449	CD81	Hs.332012	CD81 molecule
AAAACATTC	Down	67	4	0,147455173	RP11-217H1.1	Hs.658128	Implantation-associated protein
TCACCTTAGG	Down	34	2	0,145286715	ITM2B	Hs.643683	Integral membrane protein 2B
TAATAAAGGT	Down	255	15	0,145286715	RPS8	Hs.512675	Ribosomal protein S8
TGTTTCCTTA	Down	35	2	0,141135666	LAMP3	Hs.518448	Lysosomal-associated membrane protein 3
AACGAGGAAT	Down	72	4	0,137215231	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001106655.1 similar to CG14446
CTCCAGCCA	Down	1706	94	0,136089197	SFTPA2B	Hs.535295	Surfactant, pulmonary-associated protein A2B
AACTAAAAA	Down	91	5	0,135707371	RPS27A	Hs.546292	Ribosomal protein S27a
AAGCACAAAA	Down	73	4	0,13533557	TYROBP	Hs.515369	TYRO protein tyrosine kinase binding protein
ATCAAGAATC	Down	129	7	0,134024179	IFI30	Hs.14623	Interferon, gamma-inducible protein 30
GACAAAAA	Down	74	4	0,133506711	RPS15A	Hs.370504	Ribosomal protein S15a
TGATAAATCA	Down	37	2	0,133506711	USMG5	Hs.500921	Upregulated during skeletal muscle growth 5 homolog (mouse)
TTCAATAAAA	Down	278	15	0,132266591	RPLP1	Hs.356502	Ribosomal protein, large, P1
TTTCCITCCT	Down	19	1	0,129993376	CLTA	Hs.522114	Clathrin, light chain (Lca)
TTTCCCAAC	Down	19	1	0,129993376	CD93	Hs.97199	CD93 molecule
TTCTTGTTTT	Down	19	1	0,129993376	PRNP	Hs.714553	Prion protein (p27-30) (Creutzfeldt-Jakob disease)
AAAAATAAGA	Down	19	1	0,129993376	APEX1	Hs.73722	APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1
AATGAATGG	Down	19	1	0,129993376	MLPH	Hs.102406	Melanophilin

AAACCAAAAA	Down	19	1	0,129993376	ENG	Hs.76753	Endoglin (Osler-Rendu-Weber syndrome 1)
ATAATCTTT	Down	403	21	0,12870312	RPS29	Hs.156367	Ribosomal protein S29
ATCTTTTAAA	Down	39	2	0,126660213	CYB5A	Hs.465413	Cytochrome b5 type A (microsomal)
ATTATTTTC	Down	119	6	0,12453147	RPL7	Hs.571841	Ribosomal protein L7
TCAGTCCAA	Down	20	1	0,123493708	FCGR3A	Hs.372679	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor (CD16a)
AAATTTCTATT	Down	20	1	0,123493708	GN5	Hs.645427	Guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 5
AACTAATACT	Down	40	2	0,123493708	C17orf45	Hs.368934	Chromosome 17 open reading frame 45
ATAGTAGCTT	Down	20	1	0,123493708	FSCN1	Hs.118400	Fascin homolog 1, actin-bundling protein (Strongylocentrotus purpuratus)
CAAAATAAAAA	Down	20	1	0,123493708	LTBR	Hs.1116	Lymphotoxin beta receptor (TNFR superfamily, member 3)
GTAGGGTAA	Down	41	2	0,120481666	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_149938.1 dehydrogenase subunit 3
AATGCTTTGT	Down	41	2	0,120481666	TUBA1A	Hs.654422	Tubulin, alpha 1a
GCAATTTAAAT	Down	104	5	0,11874395	EEF1B2	Hs.421608	Eukaryotic translation elongation factor 1 beta 2
TGCATCTGTG	Down	21	1	0,117613055	IL33	Hs.348390	Interleukin 33
AAATATGCTTT	Down	21	1	0,117613055	ATP6V1E1	Hs.517338	ATPase, H+ transporting, lysosomal 31kDa, V1 subunit E1
TAATAAATGC	Down	21	1	0,117613055	PNPLA2	Hs.654697	Patatin-like phospholipase domain containing 2
GACTGGAAAA	Down	42	2	0,117613055	FCER1G	Hs.433300	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; gamma polypeptide
AAGGACCAAG	Down	21	1	0,117613055	CES1	Hs.719952	Carboxylesterase 1 (monocyte/macrophage serine esterase 1)
TGTGATCAGA	Down	85	4	0,116229372	ATP5L	Hs.486360	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit G
GAGTTAAAAA	Down	152	7	0,113744204	HLA-DRB4	Hs.716081	Major histocompatibility complex, class II, DR beta 4
GAATGTAAG	Down	22	1	0,112267007	PCBP2	Hs.546271	Poly(rC) binding protein 2
GACTTCACCT	Down	22	1	0,112267007	COMMD6	Hs.508266	COMM domain containing 6
CCACTACACT	Down	45	2	0,109772184	TNFSF10	Hs.478275	Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10
GAAGCAATAA	Down	90	4	0,109772184	ST3GAL3	Hs.597915	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 3
TCAATAAAGA	Down	23	1	0,107385833	QARS	Hs.79322	Glutamylyl-tRNA synthetase
TGAAGTTATA	Down	23	1	0,107385833	ITGB1	Hs.643813	Integrin, beta 1 (fibronectin receptor, beta polypeptide, antigen CD29)
GAACAAGAT	Down	47	2	0,105101028	PGK1	Hs.78771	Phosphoglycerate kinase 1
TAGCAGCAAT	Down	47	2	0,105101028	SLC39A8	Hs.288034	Solute carrier family 39 (zinc transporter), member 8
ACATTTCCAAG	Down	24	1	0,102911423	*	*	Transcribed locus
TAATGGTAAC	Down	24	1	0,102911423	COX5A	Hs.401903	Cytochrome c oxidase subunit Va
AATGAACAAT	Down	24	1	0,102911423	NINJ1	Hs.494457	Ninjurin 1
GACAGCTGAG	Down	24	1	0,102911423	AK1	Hs.175473	Adenylate kinase 1
GGGTTTTTAT	Down	25	1	0,098794966	YBX1	Hs.473583	Y box binding protein 1
ACTTATTATG	Down	25	1	0,098794966	DCN	Hs.156316	Decorin
GAATTTTATA	Down	51	2	0,09885781	TSPO	Hs.202	Translocator protein (18kDa)
ATACTTTTAAAT	Down	26	1	0,09499516	ACSM3	Hs.706754	Acy-CoA synthetase medium-chain family member 3

TTTGGTCTTT	Down	26	1	0.09499516	C11orf59	Hs.530753	Chromosome 11 open reading frame 59
GAACCCGAGG	Down	26	1	0.09499516	POMP	Hs.268742	Proteasome maturation protein
AAAAAACCCA	Down	26	1	0.09499516	ENSA	Hs.632456	Endosulfine alpha
ATGTAAAAAA	Down	286	11	0.09499516	LYZ	Hs.524579	Lysozyme (renal amyloidosis)
GAATGATTC	Down	27	1	0.09147682	C5orf32	Hs.529798	Chromosome 5 open reading frame 32
TAAAAAATA	Down	27	1	0.09147682	DFFA	Hs.567562	DNA fragmentation factor, 45kDa, alpha polypeptide
GAATAATTA	Down	28	1	0.08820971	NGFRAP1	Hs.448588	Nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1
GAATAAATA	Down	168	6	0.08820971	RPS15A	Hs.370504	Ribosomal protein S15a
TTTTTGATT	Down	28	1	0.08820971	TXNIP	Hs.515249	Thioredoxin interacting protein
CTCACTTTT	Down	58	2	0.085168074	CEBPD	Hs.440829	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), delta
GGAAAAATA	Down	89	3	0.083254185	ATP5E	Hs.177530	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, epsilon subunit
TACAAAACCA	Down	30	1	0.082329138	NCL	Hs.498021	Nucleolin
CCCTGATTT	Down	30	1	0.082329138	EIF4G2	Hs.183684	Eukaryotic translation initiation factor 4 gamma, 2
AGCCAGAAC	Down	31	1	0.07967336	SFTPC	Hs.1074	Surfactant, pulmonary-associated protein C
CTTTGAGTCC	Down	226	7	0.076500527	SCGB1A1	Hs.523732	Secretoglobin, family 1A, member 1 (uteroglobin)
CATTCATAA	Down	33	1	0.074844671	ATP5J	Hs.246310	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit F6
GTAGCATAA	Down	33	1	0.074844671	UBB	Hs.48444	Ubiquitin B
GTAAGTGAC	Down	33	1	0.074844671	*	*	*
GAGAACCGTA	Down	34	1	0.072643357	NPDC1	Hs.719906	Neural proliferation, differentiation and control, 1
TGAAAAATA	Down	34	1	0.072643357	SYCE1	Hs.553795	Synaptonemal complex central element protein 1
GCGCAGAGGT	Down	69	2	0.071590555	RPL41	Hs.720477	Ribosomal protein L41
AAAAATAAG	Down	69	2	0.071590555	ATP5A1	Hs.298280	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, alpha subunit 1
GCTGCTCCCT	Down	35	1	0.070567833	MRPL14	Hs.311190	Mitochondrial ribosomal protein L14
CTTCTACTAA	Down	36	1	0.068607615	FAM129B	Hs.522401	Family with sequence similarity 129, member B
GCAGAGAAAA	Down	36	1	0.068607615	CORO1A	Hs.415067	Coronin, actin binding protein, 1A
TTCTGCTCTT	Down	36	1	0.068607615	VWF	Hs.131433	Von Willebrand factor
TAAGTAGCAA	Down	74	2	0.066753355	ITM2B	Hs.643683	Integral membrane protein 2B
AGTCTGATGT	Down	40	1	0.061746854	C7orf59	Hs.406520	chromosome 7 open reading frame 59
TAAAAAATA	Down	87	2	0.056778716	UBE2A	Hs.379466	Ubiquitin-conjugating enzyme E2A (RAD6 homolog)
CAACTTAGTT	Down	44	1	0.056133503	MRLC2	Hs.50889	Myosin regulatory light chain MRLC2
ACACTTCTTT	Down	44	1	0.056133503	GNG11	Hs.83381	Guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 11
AAATAAAGAA	Down	45	1	0.054886092	MGST1	Hs.389700	Microsomal glutathione S-transferase 1
TGAAGTAACA	Down	55	1	0.044906803	EIF1	Hs.150580	Eukaryotic translation initiation factor 1
GAATAATGGT	Down	313	5	0.039454859	RPSA	Hs.449909	Ribosomal protein SA
TGCCACACAC	Down	66	1	0.037422336	SFTPA2B	Hs.535295	Surfactant, pulmonary-associated protein A2B

AACGTTATTA	Down	70	1	0.035283916	EPAS1	Hs.468410	Endothelial PAS domain protein 1
TACCTGCAGA	Down	523	2	0.009445025	S100A8	Hs.416073	S100 calcium binding protein A8

Anexo 1. Comparação das TAGs diferencialmente expressas entre a biblioteca SAGE_Lung_normal_B_1 e SAGE_Lung_adenocarcinoma_MD_L10.

TAG	Frequência absoluta		Frequência Normalizada		Símbolo	Unigene	Descrição
	Tipo	Normal	L10	Normal/L10			
ACG CAGGAG	Up	1	305	311.39	MALAT1	Hs.621695	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (non-coding RNA)
CTGGCCCT	Up	1	58	59.22	TARBP1	Hs.498115	TAR (HIV-1) RNA binding protein 1
CCAGAACT	Up	1	43	43.9	MALAT1	Hs.621695	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (non-coding RNA)
GCGGGTGA	Up	2	72	36.75	ZFP36L1	Hs.85155	Zinc finger protein 36, C3H type-like 1
AAGCTCGCG	Up	5	171	34.92	SCGB3A1	Hs.62492	Secretoglobin, family 3A, member 1
CTCCACCGA	Up	5	163	33.28	TFF3	Hs.82961	Trefoil factor 3 (intestinal)
CAAACCTAAC	Up	3	97	33.01	IGHG1	Hs.650012	Immunoglobulin heavy constant gamma 1 (G1m marker)
TCAGACGAG	Up	6	179	30.46	PTMA	Hs.459927	Prothymosin, alpha (gene sequence 28)
CGTGGGCTG	Up	1	29	29.61	AQP5	Hs.298023	Aquaporin 5
CACTACACGG	Up	1	29	29.61	FKBP2	Hs.227729	FK506 binding protein 2, 13kDa
GCGGAGTGG	Up	5	144	29.4	IGHA1	Hs.699841	Immunoglobulin heavy constant alpha 1
ACTCAGCCCG	Up	1	26	26.54	TNFAIP2	Hs.525607	Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 2
CTGAGGCTG	Up	1	26	26.54	SDC1	Hs.224607	Syndecan 1
CCACAGGGA	Up	2	51	26.03	COL3A1	Hs.722737	Collagen, type III, alpha 1
AGCAGTGACG	Up	1	25	25.52	EVA1	Hs.116651	Myelin protein zero-like 2
GGCACCGTGC	Up	2	48	24.5	LOC440335	Hs.390599	Hypothetical gene supported by BC022385; BC035868; BC048326
GCGGGTGGG	Up	2	46	23.48	BSG	Hs.501293	Basigin (OK blood group)
AGGTCCCGG	Up	1	23	23.48	IGKC	Hs.449621	Immunoglobulin kappa constant
GACCAAGAT	Up	1	23	23.48	PIGR	Hs.567706	Polymeric immunoglobulin receptor
CTCTTCGAGA	Up	2	46	23.48	GPX1	Hs.76686	Glutathione peroxidase 1
AGGTCTGCCA	Up	1	22	22.46	AKR1C2	Hs.567256	aldo-keto reductase family 1, member C2 (dihydrodiol dehydrogenase 2; bile acid binding protein; 3-alpha hydroxysteroid dehydrogenase, type III)
GACGGCGCAG	Up	2	43	21.95	TYMP	Hs.592212	thymidine phosphorylase
ACAGTGCTG	Up	1	21	21.44	UNQ473	Hs.445586	DMC
GTCTGCGTGC	Up	1	21	21.44	PSMA1	Hs.102798	Proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 1
CCGCCCTAC	Up	2	41	20.93	PDZK1IP1	Hs.431099	PDZK1 interacting protein 1
AAGGGAGCAG	Up	42	849	20.64	IGL@	Hs.449585	Immunoglobulin lambda locus
CTCGCGCTGG	Up	1	20	20.42	CLDN3	Hs.647023	Claudin 3
TAGCTGCTGG	Up	1	20	20.42	SFRS11	Hs.479693	Splicing factor, arginine/serine-rich 11
GATCAGGCCA	Up	2	40	20.42	COL3A1	Hs.722737	Collagen, type III, alpha 1
GCTGGAGCGC	Up	1	18	18.38	F11R	Hs.517293	F11 receptor
CAGGAGGAGT	Up	1	18	18.38	PDIA3	Hs.591095	Protein disulfide isomerase family A, member 3
GCCTGTACAA	Up	2	33	16.85	IGFBP2	Hs.438102	Insulin-like growth factor binding protein 2, 36kDa

GGCTCCTCGA	Up	1	16	16.34	TAPBP	Hs.370937	TAP binding protein (tapasin)
CAAGCCCTGC	Up	1	16	16.34	HN1L	Hs.513261	Hematological and neurological expressed 1-like
AGTATCTGGG	Up	1	16	16.34	ARPC1B	Hs.489284	Actin related protein 2/3 complex, subunit 1B, 41kDa
GAGCGGGATC	Up	1	16	16.34	SFRS1	Hs.658434	Splicing factor, arginine/serine-rich 1
TTACACCTGT	Up	1	15	15.31	CETN2	Hs.82794	Centrin, EF-hand protein, 2
GTGAGCCCAT	Up	1	15	15.31	HSP90AB1	Hs.509736	Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class B member 1
GCACCTCAGC	Up	1	15	15.31	PRICKLE4	Hs.715653	prickle homolog 4 (Drosophila)
GCTCTCTATG	Up	3	44	14.97	SSR4	Hs.409223	Signal sequence receptor, delta (translocon-associated protein delta)
CTCAGACAGT	Up	2	29	14.8	RPS27L	Hs.108957	Ribosomal protein S27-like
GCGGAACGCA	Up	1	14	14.29	SEC62	Hs.622596	SEC62 homolog (S. cerevisiae)
CCACGGACAC	Up	1	14	14.29	VWA1	Hs.449009	Von Willebrand factor A domain containing 1
CCAGGCTGGC	Up	1	14	14.29	ITGB5	Hs.536663	Integrin, beta 5
TGACTAATTG	Up	1	14	14.29	AGR2	Hs.530009	Anterior gradient homolog 2 (Xenopus laevis)
TGGAGAAGAG	Up	1	14	14.29	TXNIP	Hs.515249	Thioredoxin interacting protein
GACACTGAAA	Up	1	14	14.29	ATP1B1	Hs.291196	ATPase, Na+/K+ transporting, beta 1 polypeptide
GGGAGGGGTG	Up	1	14	14.29	MMP14	Hs.2399	Matrix metalloproteinase 14 (membrane-inserted)
CCGCTGCTTG	Up	1	14	14.29	DNAJB2	Hs.77768	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 2
CTTGACATAC	Up	1	14	14.29	DUSP1	Hs.171695	Dual specificity phosphatase 1
CCTGGAAGAG	Up	5	69	14.09	P4HB	Hs.464336	proyl 4-hydroxylase, beta polypeptide
TTTGCITTTG	Up	4	54	13.78	AQP3	Hs.234642	Aquaporin 3 (Gill blood group)
ATCCCTCAGT	Up	2	27	13.78	ATF4	Hs.496487	Activating transcription factor 4 (tax-responsive enhancer element B67)
TGCCCTCAA	Up	1	13	13.27	LCN2	Hs.204238	Lipocalin 2 (oncogene 24p3)
TGTTTCATCAT	Up	1	13	13.27	RTN4	Hs.429581	Reticulon 4
CGTGTCCTG	Up	1	13	13.27	EFHD2	Hs.465374	EF-hand domain family, member D2
GCCTCTGTCT	Up	1	13	13.27	RPLP1	Hs.356502	Ribosomal protein, large, P1
CTGGGCGGTG	Up	4	52	13.27	*	*	MRNA; cDNA DKFZp586A0722 (from clone DKFZp586A0722)
ACCGGTCGGG	Up	1	13	13.27	RPL13	Hs.410817	Ribosomal protein L13
AAGGAATCGG	Up	1	13	13.27	PSMB4	Hs.89545	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 4
ACAGGGTGAC	Up	3	39	13.27	EDF1	Hs.174050	Endothelial differentiation-related factor 1
AGGTGCGGGG	Up	1	13	13.27	ASNA1	Hs.465985	ArsA arsenite transporter, ATP-binding, homolog 1 (bacterial)
ATGCCCGTGA	Up	1	13	13.27	SIL1	Hs.483521	SIL1 homolog, endoplasmic reticulum chaperone (S. cerevisiae)
GCGGTCGGAG	Up	1	13	13.27	IF16	Hs.523847	Interferon, alpha-inducible protein 6
TGGCCCCACC	Up	2	25	12.76	PKM2	Hs.534770	Pyruvate kinase, muscle
ATCGTGGGG	Up	2	25	12.76	CLDN4	Hs.699253	Claudin 4
GTTCCTCCAC	Up	3	37	12.59	SEC61A1	Hs.518236	Sec61 alpha 1 subunit (S. cerevisiae)

GGCGTCCTGG	Up	1	12	12.25	MRPL41	Hs.44017	Mitochondrial ribosomal protein L41
AAGGTAGCAG	Up	1	12	12.25	CAP1	Hs.370581	CAP, adenylate cyclase-associated protein 1 (yeast)
TGCTGCTTGA	Up	1	12	12.25	SRPRB	Hs.12152	Signal recognition particle receptor, B subunit
CTGGCCATCG	Up	1	12	12.25	EHBP1L1	Hs.502867	EH domain binding protein 1-like 1
AGCGGAGATC	Up	2	23	11.74	PSMA7	Hs.233952	Proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 7
ACCGCCGTGG	Up	11	122	11.32	CYBA	Hs.513803	Cytochrome b-245, alpha polypeptide
ACTGCTGAAC	Up	1	11	11.23	SCAMP3	Hs.200600	Secretory carrier membrane protein 3
ACCAGCCACA	Up	1	11	11.23	CST3	Hs.304682	Cystatin C (amyloid angiopathy and cerebral hemorrhage)
CTGCCITCTT	Up	1	11	11.23	PPP1CC	Hs.79081	Protein phosphatase 1, catalytic subunit, gamma isoform
GTGGCACACA	Up	1	11	11.23	SC65	Hs.446459	Synaptonemal complex protein SC65
AGAGACAAGT	Up	1	11	11.23	RRBP1	Hs.472213	Ribosome binding protein 1 homolog 180kDa (dog)
GCGGCGCTGC	Up	1	11	11.23	LOC388564	Hs.534672	Hypothetical gene supported by BC052596
GTGGTGGGTG	Up	1	11	11.23	DUSP19	Hs.132237	Dual specificity phosphatase 19
GATGTCTCTA	Up	1	11	11.23	CKAP4	Hs.74368	Cytoskeleton-associated protein 4
GTGAAACTCT	Up	1	11	11.23	HGSNAT	Hs.600384	Heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase
TCCATCTGTT	Up	3	33	11.23	SDC4	Hs.632267	Syndecan 4
TGGTGTTTTG	Up	1	11	11.23	*	*	Transcribed locus
TGTGTGGGGC	Up	1	11	11.23	RHOT2	Hs.513242	Ras homolog gene family, member T2
CTGTGCGGAA	Up	1	11	11.23	RASSF4	Hs.522895	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family 4
GGTGCTGGAG	Up	1	11	11.23	WBSR22	Hs.647063	Williams Beuren syndrome chromosome region 22
GGGTCAGGG	Up	1	11	11.23	PYGB	Hs.368157	Phosphorylase, glycogen; brain
GGCAGGGCGT	Up	1	11	11.23	IER2	Hs.501629	Immediate early response 2
AGSCGAGCTG	Up	1	11	11.23	DERL1	Hs.241576	Der1-like domain family, member 1
CTCGAGGAGG	Up	2	21	10.72	MRPL23	Hs.3254	Mitochondrial ribosomal protein L23
AGACAGAGTG	Up	1	10	10.21	ISOC2	Hs.467306	Isochorismatase domain containing 2
ACATCTCTCAC	Up	1	10	10.21	PSMD13	Hs.134688	Proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 13
GAGCAAGGGG	Up	1	10	10.21	NOL3	Hs.513667	Nucleolar protein 3 (apoptosis repressor with CARD domain)
GGCCAGACCT	Up	1	10	10.21	HERC6	Hs.529317	Hect domain and RLD 6
TGAAAGTGTG	Up	1	10	10.21	HSPH1	Hs.36927	Heat shock 105kDa/110kDa protein 1
GTGAAAACCC	Up	1	10	10.21	TCTA	Hs.517962	T-cell leukemia translocation altered gene
GCTTTGCTGGC	Up	1	10	10.21	DGCR8	Hs.643452	DiGeorge syndrome critical region gene 8
CCTATAGTCC	Up	1	10	10.21	PRR11	Hs.631750	Proline rich 11
GGCCCCGGAC	Up	1	10	10.21	GPA11	Hs.535619	Glycosylphosphatidylinositol anchor attachment protein 1 homolog (yeast)
AAGCGCTACC	Up	1	10	10.21	SPSB2	Hs.479856	SpA/rvanocine receptor domain and SOCS box containing 2
AGATGTGTGG	Up	1	10	10.21	HADHB	Hs.515848	hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase/3-ketoacyl-Coenzyme A thiolase/enoyl-Coenzyme A hydratase (trifunctional protein), beta subunit

CTTTGTGTG	Up	1	10	10.21	TRIP12	Hs.591633	Thyroid hormone receptor interactor 12
CCGATCACCG	Up	2	20	10.21	EIF2S2	Hs.429180	Eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 2 beta, 38kDa
GCGACCGTCA	Up	8	77	9.83	ALDOA	Hs.513490	Aldolase A, fructose-bisphosphate
GGCTCCTGGC	Up	2	19	9.7	ITGB4BP	Hs.654848	Eukaryotic translation initiation factor 6
GCGGCCCTGC	Up	3	28	9.53	ACADVL	Hs.437178	Acyl-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain
CCACGTTCCA	Up	1	9	9.19	ENO2	Hs.511915	Enolase 2 (gamma, neuronal)
TCTGCAGGGG	Up	1	9	9.19	KRTCAP3	Hs.59509	Keratinocyte associated protein 3
CTCGGTGATG	Up	2	18	9.19	RHEB	Hs.283521	Ras homolog enriched in brain
CAGGTGCTGG	Up	1	9	9.19	ANKRD9	Hs.432945	Ankyrin repeat domain 9
TTCTGTAGCC	Up	1	9	9.19	ATP2A3	Hs.513870	ATPase, Ca++ transporting, ubiquitous
CGGGGGCCCG	Up	1	9	9.19	C1orf35	Hs.715607	Chromosome 1 open reading frame 35
GAGGGCCGTG	Up	1	9	9.19	ROBLD3	Hs.632483	roadblock domain containing 3
CCATTTCTG	Up	1	9	9.19	EIF3A	Hs.523299	Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit A
CTTTGATGGG	Up	1	9	9.19	RGS16	Hs.512607	Regulator of G-protein signalling 16
CCGTGGTCAC	Up	1	9	9.19	AP2S1	Hs.119591	Adaptor-related protein complex 2, sigma 1 subunit
TCTGGAGGGG	Up	1	9	9.19	*		Transcribed locus
CCTGGAGTGG	Up	2	18	9.19	TMTSF3	Hs.438641	Transmembrane 7 superfamily member 3
CCGGGGAGCA	Up	1	9	9.19	GMPPA	Hs.27059	GDP-mannose pyrophosphorylase A
TTGAAGGGCC	Up	1	9	9.19	TSC2D3	Hs.522074	TSC22 domain family, member 3
CCCTGAATCC	Up	1	9	9.19	WNK1	Hs.105448	WNK lysine deficient protein kinase 1
CTCCACCTGG	Up	1	9	9.19	PMM1	Hs.75835	Phosphomannomutase 1
ACCTGCCGAC	Up	2	18	9.19	CDK2AP2	Hs.523835	CDK2-associated protein 2
CGCAGTGTCC	Up	2	18	9.19	ATP6V0C	Hs.389107	ATPase, H+ transporting, lysosomal 16kDa, V0 subunit c
GCTGTAATCC	Up	1	9	9.19	ABHD5	Hs.19385	Abhydrolase domain containing 5
GGAGATAGTG	Up	1	9	9.19	ARL6IP1	Hs.634882	ADP-ribosylation factor-like 6 interacting protein 1
GTCTGACCCC	Up	1	9	9.19	PPP2R1A	Hs.467192	Protein phosphatase 2 (formerly 2A), regulatory subunit A, alpha isoform
GATGCCTCTG	Up	2	17	8.68	UBXD5	Hs.145061	UBX domain containing 5
CCAGCTGCCA	Up	2	17	8.68	UBE1	Hs.533273	Ubiquitin-activating enzyme E1
TCTGCTAAAG	Up	2	17	8.68	HMGB1	Hs.434102	High-mobility group box 1
TCCTGTGTCG	Up	3	25	8.51	C16orf13	Hs.239500	Chromosome 16 open reading frame 13
CGGAGTCCAT	Up	3	25	8.51	SEPT2	Hs.712994	Septin 2
ATGAGCTGAC	Up	4	33	8.42	CSTB	Hs.695	Cystatin B (stefin B)
CTCATAAGGA	Up	19	153	8.22	RPS15	Hs.406683	Ribosomal protein S15
TCTGTGACCT	Up	1	8	8.17	MICAL2	Hs.501928	Microtubule associated monoxigenase, calponin and LIM domain containing 2
CGCCAGGGGG	Up	1	8	8.17	DNAJC17	Hs.511069	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 17

CCTGTGTTGG	Up	1	8	8.17	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001083530.1
GCCGCCATCT	Up	2	16	8.17	TKT	Hs.89643	Transketolase (Wernicke-Korsakoff syndrome)
CTGGCCGTGTG	Up	2	16	8.17	MAPK8IP1	Hs.234249	Mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 1
CGCGCCCGGC	Up	1	8	8.17	MPST	Hs.248267	Mercaptopurivate sulfurtransferase
GGGCAGAGA	Up	1	8	8.17	JTB	Hs.6396	Jumping translocation breakpoint
TCCTGTGAT	Up	1	8	8.17	SEC24C	Hs.81964	SEC24 related gene family, member C (S. cerevisiae)
GCCCAGGAC	Up	4	32	8.17	FLNA	Hs.195464	Filamin A, alpha (actin binding protein 280)
CAGCTGGGC	Up	1	8	8.17	PTBP1	Hs.172550	Polypyrimidine tract binding protein 1
GCCCCGCCCT	Up	1	8	8.17	C19orf6	Hs.515003	Chromosome 19 open reading frame 6
CAGCAGTAGC	Up	1	8	8.17	CHD4	Hs.162233	Chromodomain helicase DNA binding protein 4
CGTTGCTGGG	Up	1	8	8.17	TRMT1	Hs.515169	TRM1 tRNA methyltransferase 1 homolog (S. cerevisiae)
GCCCCGAGGG	Up	1	8	8.17	DVL1	Hs.74375	Dishevelled, dsh homolog 1 (Drosophila)
GCGGACGAGG	Up	1	8	8.17	PDCD5	Hs.443831	Programmed cell death 5
CAGCACATTA	Up	1	8	8.17	WNK1	Hs.105448	WNK lysine deficient protein kinase 1
GCGTGTCTCT	Up	3	24	8.17	AKR1A1	Hs.474584	Aldo-keto reductase family 1, member A1 (aldehyde reductase)
GCCTGGTCT	Up	1	8	8.17	BAIAP2L1	Hs.656063	BAI1-associated protein 2-like 1
TCCAGAGAC	Up	1	8	8.17	B4GALT1	Hs.272011	UDP-Gal4betaGalNAc beta 1,4-galactosyltransferase, polypeptide 1
GTCCTAAAGT	Up	1	8	8.17	SOD2	Hs.487046	Superoxide dismutase 2, mitochondrial
GCGAACTCC	Up	1	8	8.17	BTBD7	Hs.525549	BTB (POZ) domain containing 7
GCGGAGAGAG	Up	1	8	8.17	RPL4	Hs.644628	Ribosomal protein L4
GGTGCAGAGC	Up	1	8	8.17	C17orf89	Hs.356545	Chromosome 17 open reading frame 89
CTACGTGATG	Up	1	8	8.17	NFE2L2	Hs.155396	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
GCTAGGCTG	Up	1	8	8.17	GCN1L1	Hs.298716	GCN1 general control of amino-acid synthesis 1-like 1 (yeast)
GTGTTCCCAT	Up	1	8	8.17	RNF146	Hs.267120	Ring finger protein 146
GGAGCGTGGG	Up	2	16	8.17	MYO1C	Hs.658000	Myosin IC
CCTGTAATGC	Up	1	8	8.17	RAD1	Hs.38114	RAD1 homolog (S. pombe)
GCCAGGAGCT	Up	1	8	8.17	LAD1	Hs.519035	Ladlinin 1
AGCGGCTACA	Up	1	8	8.17	ISG20	Hs.459265	Interferon stimulated exonuclease gene 20kDa
ACTGCCCGCT	Up	1	8	8.17	ECM1	Hs.81071	Extracellular matrix protein 1
CAGCAGAAGC	Up	12	96	8.17	SERF2	Hs.424126	Small EDRK-rich factor 2
AGGGGGCTGA	Up	1	8	8.17	ZFYVE27	Hs.52319	Zinc finger, FYVE domain containing 27
TGCCGTAAT	Up	1	8	8.17	ERBB3	Hs.573018	V-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 3 (avian)
GCCCTGCCT	Up	1	8	8.17	RNPEP	Hs.5345	Arginyl aminopeptidase (aminopeptidase B)
CGTGGCCACG	Up	1	8	8.17	CHKA	Hs.77221	Choline kinase alpha
CAGCCTCCCT	Up	1	8	8.17	UROS	Hs.501376	Uroporphyrinogen III synthase (congenital erythropoietic porphyria)

AGACAAGCTG	Up	2	16	8.17	SFRS5	Hs.632326	Splicing factor, arginine/serine-rich 5
CAGATTAGTT	Up	1	8	8.17	DDX17	Hs.528305	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 17
TGATGGCTCC	Up	1	8	8.17	ARSA	Hs.465985	Arylsulfatase A
TCCAATCGA	Up	3	23	7.83	VIM	Hs.455493	Vimentin
ACCCTTCCCT	Up	3	23	7.83	SSR2	Hs.74564	Signal sequence receptor, beta (translocon-associated protein beta)
CCAGCTGCCT	Up	3	23	7.83	C16orf89	Hs.11782	chromosome 16 open reading frame 89
ACTTTAGATG	Up	2	15	7.66	COL6A3	Hs.233240	Collagen, type VI, alpha 3
GCTGCGGTCC	Up	2	15	7.66	HIST2HZ2AA3	Hs.530461	Histone cluster 2, H2aa3
GGCCACACC	Up	2	15	7.66	ZMIZ2	Hs.600681	Zinc finger, MIZ-type containing 2
CAGCTCACTG	Up	4	30	7.66	RPL14	Hs.446522	Ribosomal protein L14
AAGCCTTGT	Up	2	15	7.66	LOC124446		Hypothetical protein BC017488
GTGATGCGCA	Up	2	15	7.66	TCIRG1	Hs.495985	T-cell, immune regulator 1, ATPase, H+ transporting, lysosomal V0 subunit A3
GCTAACCCT	Up	11	82	7.61	TPPP3	Hs.534458	Tubulin polymerization-promoting protein family member 3
GCCTGCAGTC	Up	8	59	7.53	SPINT2	Hs.31439	Serine peptidase inhibitor, Kunitz type, 2
ACCAAAAACC	Up	6	43	7.32	COL1A1	Hs.681002	Collagen, type I, alpha 1
TACAAGAGGA	Up	9	63	7.15	RPL6	Hs.546283	Ribosomal protein L6
GACCAGGCC	Up	2	14	7.15	TPM2	Hs.300772	Tropomyosin 2 (beta)
GCCGATCCTC	Up	2	14	7.15	TBCA	Hs.291212	Tubulin folding cofactor A
CTGCTAAGGT	Up	2	14	7.15	KIAA0746	Hs.479384	KIAA0746 protein
GCGATTCGG	Up	2	14	7.15	CTDSP1	Hs.444468	CTD (carboxy-terminal domain, RNA polymerase II, polypeptide A)
CGGACTCACT	Up	4	28	7.15	STARD10	Hs.188606	START domain containing 10
GAATAAAGC	Up	94	642	6.97	IGHG1	Hs.650012	Immunoglobulin heavy constant gamma 1 (G1m marker)
TTGCCCAGGC	Up	5	34	6.94	*	*	Transcribed locus
GACCCCTGCC	Up	4	27	6.89	FKBP8	Hs.173464	FK506 binding protein 8, 38kDa
TGCCTGTAGT	Up	4	27	6.89	C2orf68	Hs.516159	chromosome 2 open reading frame 68
CTCCCCCAAG	Up	47	317	6.89	IGHA1	Hs.699841	Immunoglobulin heavy constant alpha 1
TGGAATGAC	Up	6	40	6.81	COL1A1	Hs.681002	Collagen, type I, alpha 1
ACCCCCCGC	Up	3	20	6.81	JUND	Hs.2780	Jun D proto-oncogene
TGTGTGTTG	Up	3	20	6.81	H1FO	Hs.715673	H1 histone family, member 0
TAGAAAGGCA	Up	3	20	6.81	ZFP36L2	Hs.503093	Zinc finger protein 36, C3H type-like 2
GGCTGCCCTG	Up	3	20	6.81	DPYSL3	Hs.519659	Dihydropyrimidinase-like 3
TGCTTGTCCT	Up	5	33	6.74	ARF1	Hs.25584	ADP-ribosylation factor 1
GGAACAAACA	Up	5	33	6.74	CD24	Hs.511464	CD24 molecule
AAGTGCAGG	Up	2	13	6.64	ASS1	Hs.160786	Argininosuccinate synthetase 1
GGAAGCCAC	Up	2	13	6.64	ST5	Hs.654928	Suppression of tumorigenicity 5

TCAGATGGCG	Up	2	13	6.64	TPD52L2	Hs.591347	Tumor protein D52-like 2
CCGTGACTCT	Up	2	13	6.64	FSTL1	Hs.269512	Follistatin-like 1
CTGTGACACA	Up	2	13	6.64	CCT2	Hs.189772	Chaperonin containing TCP1, subunit 2 (beta)
CTGTCTTGT	Up	2	13	6.64	TXNDC5	Hs.150837	Thioredoxin domain containing 5
ATCTCAAAGA	Up	4	26	6.64	TMEM49	Hs.444569	Transmembrane protein 49
GAAGATGTGG	Up	2	13	6.64	NUCKS1	Hs.719942	Nuclear casein kinase and cyclin-dependent kinase substrate 1
GAGGCCAAGA	Up	2	13	6.64	GSTA1	Hs.446309	Glutathione S-transferase A1
CTGGCCCGAG	Up	3	19	6.47	ARHGDB	Hs.504877	Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) beta
GAAGAAGTCTG	Up	4	25	6.38	KDELR2	Hs.654552	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 2
ATCCGGCGCC	Up	5	31	6.33	TCEB2	Hs.172772	Transcription elongation factor B (SII), polypeptide 2 (18kDa, elongin B)
AAGGTCGAGC	Up	5	31	6.33	RPL24	Hs.649475	Ribosomal protein L24
CCTGGGAAGT	Up	16	99	6.32	MUC1	Hs.449320	Mucin 1, cell surface associated
CCACC0CGAA	Up	6	37	6.3	TEGT	Hs.708025	Testis enhanced gene transcript (BAX inhibitor 1)
CTCCCCAAA	Up	33	202	6.25	IGHA1	Hs.699841	Immunoglobulin heavy constant alpha 1
ATTGTGCCAC	Up	2	12	6.13	*	*	MRNA; cDNA DKFZp313D0511 (from clone DKFZp313D0511)
TCTAAGTACC	Up	3	18	6.13	HP	Hs.591391	Haptoglobin
GCCCC0CGT	Up	3	18	6.13	PSMG3	Hs.446311	proteasome (prosome, macropain) assembly chaperone 3
ACTTGTTCGC	Up	2	12	6.13	C4orf3	Hs.701808	hromosome 4 open reading frame 3
GGTGACAGAG	Up	2	12	6.13	*	*	Transcribed locus
ACAAACTGTG	Up	2	12	6.13	ARPC1A	Hs.124126	Actin related protein 2/3 complex, subunit 1A, 41kDa
GTGCGGAGGA	Up	4	24	6.13	SAA1	Hs.632144	Serum amyloid A1
GAGGCGCTGG	Up	2	12	6.13	BAD	Hs.370254	BCL2-antagonist of cell death
GTGAGAC0CT	Up	2	12	6.13	POLK	Hs.135756	Polymerase (DNA directed) kappa
TGCTTTCAAA	Up	2	12	6.13	SPINT2	Hs.31439	Serine peptidase inhibitor, Kunitz type, 2
GTGACCACGG	Up	226	1349	6.09	*	*	Transcribed locus, strongly similar to NP_067042.1 adhesion molecule 2
CCGTCCAAGG	Up	13	76	5.97	RPS16	Hs.716776	Ribosomal protein S16
ACAGGCTACG	Up	5	29	5.92	TAGLN	Hs.410977	Transgelin
TACCTCTGAT	Up	9	52	5.9	S100P	Hs.440880	S100 calcium binding protein P
TCCTTGCTAC	Up	3	17	5.79	RGS1	Hs.75256	Regulator of G-protein signalling 1
GAGAGTGTCT	Up	3	17	5.79	TIMP1	Hs.522632	TIMP metalloproteinase inhibitor 1
ATTGCACCAC	Up	3	17	5.79	*	*	Transcribed locus
GCCTAC0CGA	Up	10	56	5.72	TACSTD2	Hs.23582	Tumor-associated calcium signal transducer 2
GACTGTG0CA	Up	5	28	5.72	DYNLL1	Hs.5120	Dynein, light chain, LC8-type 1
GCCTGCACCC	Up	2	11	5.62	TEX264	Hs.517864	Testis expressed 264
GCAGCTC0CTG	Up	2	11	5.62	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001174013.1

TTGGCTTTTC	Up	2	11	5.62	NBPF10	Hs.607640	Neuroblastoma breakpoint family, member 10
ATGGCAACAG	Up	6	33	5.62	ITGA5	Hs.505654	Integrin, alpha 5 (fibronectin receptor, alpha polypeptide)
AAGGCCACCG	Up	2	11	5.62	MGMT	Hs.501522	O-6-methylguanine-DNA methyltransferase
CTGACAGTGA	Up	4	22	5.62	HLA-DMA	Hs.351279	Major histocompatibility complex, class II, DM alpha
GGGTGGGGTT	Up	2	11	5.62	PTRPF	Hs.506216	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, F
GGCAGGAGTA	Up	2	11	5.62	GBP1	Hs.62661	Guanylate binding protein 1, interferon-inducible, 67kDa
GCCGAGGAAG	Up	38	203	5.45	RPS12	Hs.546289	Ribosomal protein S12
ACAGATTTGA	Up	3	16	5.45	*	*	MRNA full length insert cDNA clone EUROIMAGE 1913076
GCCCCGAGCC	Up	3	16	5.45	REEP5	Hs.429608	Receptor accessory protein 5
TTTGGGGCTG	Up	4	21	5.36	ATP6V0B	Hs.596514	ATPase, H+ transporting, lysosomal 21kDa, V0 subunit b
GGGGTAACT	Up	5	26	5.31	FUS	Hs.652334	Fusion (involved in t(12;16) in malignant liposarcoma)
CTTCTCATCT	Up	13	66	5.18	DMBT1	Hs.650754	Deleted in malignant brain tumors 1
TCTGCCCTGGG	Up	3	15	5.1	TRAPPC1	Hs.24379	Trafficking protein particle complex 1
TGGGTGGGG	Up	3	15	5.1	JMJD8	Hs.533771	jumonji domain containing 8
GTGC TAAGCG	Up	3	15	5.1	COL6A2	Hs.625041	Collagen, type VI, alpha 2
GCCCAGCTGG	Up	4	20	5.1	EEF1D	Hs.686554	C16orf14 Hs.417710: 194 s eukaryotic translation elongation factor 1 delta (guanine nucleotide exchange protein)
ATGGTGGGG	Up	3	15	5.1	ZFP36	Hs.534052	Zinc finger protein 36, C3H type, homolog (mouse)
ATAATACTG	Up	3	15	5.1	LGALS3	Hs.531081	Lectin, galactoside-binding, soluble, 3
CGATGGTCCC	Up	4	20	5.1	PHB2	Hs.504620	Prohibitin 2
GCCAAGGCC	Up	3	15	5.1	C16orf14	Hs.417710	Chromosome 16 open reading frame 14
GAGGAAGAAG	Up	4	20	5.1	HSP90B1	Hs.192374	Heat shock protein 90kDa beta (Gp94), member 1
GTGGCGGGCA	Up	3	15	5.1	C12orf65	Hs.319128	Chromosome 12 open reading frame 65
TTTTCTGCTG	Up	3	15	5.1	AHSA1	Hs.204041	AHA1, activator of heat shock 90kDa protein ATPase homolog 1 (yeast)
ATGAAAACCT	Up	7	35	5.1	WSB1	Hs.446017	WD repeat and SOCS box-containing 1
CCCGTCGGGA	Up	86	430	5.1	RPL13	Hs.720698	Ribosomal protein L13
CCAGGAGGAA	Up	13	63	4.95	SNORD14E	*	RNA, small nucleolar
CCTGTAATCT	Up	6	29	4.93	LOC727922	*	Similar to FUS-interacting serine-arginine-rich protein 1
TTCTGTGCTG	Up	5	24	4.9	C1R	Hs.631730	Complement component 1, r subcomponent
AGAGCCAAGT	Up	5	24	4.9	RPL41	Hs.720477	Ribosomal protein L41
TCGAAGAACC	Up	4	19	4.85	CD63	Hs.445570	CD63 molecule
GAGCCGCCTC	Up	4	19	4.85	SSU72	Hs.695835	SSU72 RNA polymerase II CTD phosphatase homolog (S. cerevisiae)
TCGTGCGAGA	Up	4	19	4.85	NDUFA7	Hs.333427	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 7, 14.5kDa
TGCTGGTGTG	Up	4	19	4.85	M-RIP	Hs.462341	Myosin phosphatase-Rho interacting protein
CCTGTGGTCC	Up	7	33	4.81	PNPLA5	Hs.248086	Patalin-like phospholipase domain containing 5
GATGAGGAGA	Up	3	14	4.76	COL1A2	Hs.14968	Collagen, type I, alpha 2

CCTGTGTGTG	Up	3	14	4.76	VAC14	Hs.445061	Vac14 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)
CGACCGTGGC	Up	3	14	4.76	CCDC56	Hs.721326	Coiled-coil domain containing 56
CCCTAGGTTG	Up	3	14	4.76	PLXNB2	Hs.3989	Plexin B2
GCCTGGCCAT	Up	3	14	4.76	PRR13	Hs.426359	Proline rich 13
GCTCTGCCTC	Up	8	37	4.72	CTS2	Hs.252549	Cathepsin Z
GTGCCAGCCC	Up	5	23	4.7	FKBP11	Hs.655103	FK506 binding protein 11, 19 kDa
GTGGCAGGGG	Up	7	32	4.67	GP2	Hs.53985	Glycoprotein 2 (zymogen granule membrane)
TTTTGTTTTT	Up	6	27	4.59	COL1A2	Hs.14968	Collagen, type I, alpha 2
CAGGGGAGTG	Up	4	18	4.59	MPG	Hs.459596	N-methylpurine-DNA glycosylase
GTGCCCTGTT	Up	8	36	4.59	NCKAP1	Hs.603732	NCK-associated protein 1
TCACCCACAC	Up	33	148	4.58	RPL23	Hs.406300	Ribosomal protein L23
GCCTGTATGA	Up	55	246	4.57	RPS24	Hs.280130	Ribosomal protein S24
CTGTTGGCAT	Up	9	40	4.54	RPL21	Hs.535873	Ribosomal protein L21
TGATTTCACT	Up	15	66	4.49	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_203160.2 c oxidase subunit III
GCTCAGCTGG	Up	8	35	4.47	EEF1D	Hs.686554	Eukaryotic translation elongation factor 1 delta
CCTGTAATTC	Up	3	13	4.42	CIAO1	Hs.12109	Cytosolic iron-sulfur protein assembly 1 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)
ACGAGCTGGA	Up	3	13	4.42	RABL4	Hs.415172	RAB, member of RAS oncogene family-like 4
CATCCAAAAC	Up	3	13	4.42	*	*	Transcribed locus
AGCTGTTCTG	Up	3	13	4.42	HNRPA1	Hs.689177	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1
GACAAATGCCA	Up	6	26	4.42	ATP5C1	Hs.271135	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, gamma polypeptide 1
TTTCCAATCT	Up	6	26	4.42	VEGFA	Hs.73793	Vascular endothelial growth factor A
TGCTGTGTGC	Up	3	13	4.42	SEP15	Hs.362728	15 kDa selenoprotein
GGTGAGACCT	Up	4	17	4.34	PEBP1	Hs.433863	Phosphatidylethanolamine binding protein 1
GTACTGTGGC	Up	4	17	4.34	CLIC1	Hs.414565	Chloride intracellular channel 1
CCTGTGATCC	Up	4	17	4.34	KCNK6	Hs.240395	Potassium channel, subfamily K, member 6
GTGGTACAGG	Up	18	76	4.31	PRDX5	Hs.502823	Peroxiredoxin 5
CCAGTGGCCC	Up	20	84	4.29	RPS9	Hs.546288	Ribosomal protein S9
GTGAAACCTC	Up	7	29	4.23	MRPS18B	Hs.655329	Mitochondrial ribosomal protein S18B
CCTGTAGTCC	Up	18	74	4.2	MAFF	Hs.632805	V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog F (avian)
GCCGTGTCGG	Up	26	105	4.12	RPS6	Hs.408073	Ribosomal protein S6
TGCAGCACGA	Up	10	40	4.08	HLA-F	Hs.519972	Major histocompatibility complex, class I, F
CTCATCTGCT	Up	4	16	4.08	SDC1	Hs.224607	Syndecan 1
CAGTGGGTGT	Up	4	16	4.08	BSC1L2	Hs.533709	Bernardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2 (seipin)
TCACAGCTGT	Up	4	16	4.08	BTG1	Hs.255935	B-cell translocation gene 1, anti-proliferative
GCAACAACAC	Up	5	20	4.08	*	*	CDNA clone MGC:134704 IMAGE:4002212

GGCCAGGAAG	Up	5	20	4.08	TMCO1	Hs.715707	Transmembrane and coiled-coil domains 1
CGCCGGAACA	Up	39	151	3.95	RPL4	Hs.644628	Ribosomal protein L4
CCAGGCACGC	Up	7	27	3.94	FAM50A	Hs.54277	Family with sequence similarity 50, member A
GCTGAACGG	Up	6	23	3.91	CEBPB	Hs.716248	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta
GTGGTGGCA	Up	5	19	3.88	IVD	Hs.380225	Isovaleryl Coenzyme A dehydrogenase
CGCGTCACTA	Up	5	19	3.88	*	*	Transcribed locus, moderately similar to XP_001089230.1 similar to CG8580
CCCAGGGAGA	Up	4	15	3.83	CCT4	Hs.421509	Chaperonin containing TCP1, subunit 4 (delta)
AACCCAGGAG	Up	8	30	3.83	GK5	Hs.706584	Glycerol kinase 5 (putative)
TCTGTAATCC	Up	4	15	3.83	SULT1A1	Hs.567342	Sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 1
TGCAGACCCA	Up	4	15	3.83	TAX1BP1	Hs.34576	Tax1 (human T-cell leukemia virus type I) binding protein 1
GTGGCTCAG	Up	7	26	3.79	*	*	AF034176 Human mRNA (Tripodis and Ragoussis) Homo sapiens cDNA clone ntcon5
GCCCCTCGG	Up	6	22	3.74	CHCHD2	Hs.547257	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 2
CCSCCTCGG	Up	6	22	3.74	SNRPN	Hs.621316	Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N
TGTGGGTGCT	Up	6	22	3.74	CDH1	Hs.461086	Cadherin 1, type 1, E-cadherin (epithelial)
CCTCCAGCTA	Up	14	51	3.72	KRT8	Hs.533782	Keratin 8
CGACCCACAG	Up	23	83	3.68	APOE	Hs.110675	Apolipoprotein E
ACTGAAGCG	Up	5	18	3.68	ADAM15	Hs.312098	ADAM metalloproteinase domain 15
CGAGGGGCCA	Up	5	18	3.68	ACTN4	Hs.270291	Actinin, alpha 4
ACCAAGGAG	Up	5	18	3.68	ARL6IP4	Hs.103561	ADP-ribosylation-like factor 6 interacting protein 4
CGGGCCGTGC	Up	5	18	3.68	HAGH	Hs.157394	Hydroxyacylglutathione hydrolase
CCTCTCCAAC	Up	5	18	3.68	HLA-DMB	Hs.654428	Major histocompatibility complex, class II, DM beta
GGCTGATGTG	Up	5	18	3.68	GARS	Hs.473648	Glycyl-tRNA synthetase
GTGGCAGGCA	Up	5	18	3.68	SYAP1	Hs.605178	Synapse associated protein 1, SAP47 homolog (Drosophila)
CGGCTGGTGA	Up	10	35	3.57	PSMB1	Hs.352768	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 1
ATGGCTGGTA	Up	50	175	3.57	RPS2	Hs.381079	Ribosomal protein S2
TTTTTGCTTT	Up	6	21	3.57	C4BPA	Hs.1012	Complement component 4 binding protein, alpha
GTGGCACGTG	Up	7	24	3.5	PTRF	Hs.437191	Polymerase I and transcript release factor
CCTTCGAGAT	Up	12	41	3.49	RPS5	Hs.378103	Ribosomal protein S5
GTGTTGGGG	Up	5	17	3.47	EPS8L2	Hs.55016	EPS8-like 2
CCCCCGTGAA	Up	8	27	3.45	IRAK1	Hs.522819	Interleukin-1 receptor-associated kinase 1
CGGTTACTGT	Up	6	20	3.4	NDUFS6	Hs.408257	NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S protein 6, 13kDa (NADH-coenzyme Q reduc
GATGCTGCCA	Up	12	40	3.4	RPL22	Hs.515329	Ribosomal protein L22
AGGTCAGGAG	Up	22	71	3.29	KIAA0319L	Hs.456507	KIAA0319-like
CCTATCAGTA	Up	5	16	3.27	MSMB	Hs.255462	Microsminoprotein, beta-
TCCGGCCGG	Up	5	16	3.27	CCDC72	Hs.356440	Coiled-coil domain containing 72

TAAGGACGAG	Up	5	16	3.27	DENND2D	Hs.557850	DENN/MADD domain containing 2D
GTGAAGCCCC	Up	5	16	3.27	SAV1	Hs.642842	Salvador homolog 1 (Drosophila)
TGGTGACAGT	Up	8	25	3.19	H2AFV	Hs.488189	H2A histone family, member V
CAGGAGTTCA	Up	9	28	3.18	ARPC2	Hs.529303	Actin related protein 2/3 complex, subunit 2, 34kDa
GTGGCTACA	Up	10	31	3.16	C6orf89	Hs.433381	Chromosome 6 open reading frame 89
GACGACACGA	Up	30	91	3.1	RPS28	Hs.153177	Ribosomal protein S28
TGTGCTCGGG	Up	9	27	3.06	GANAB	Hs.595071	Glucoamidase, alpha, neutral AB
CTTGTAATCC	Up	6	18	3.06	NOL6	Hs.493709	Nucleolar protein family 6 (RNA-associated)
CCTGTAATCC	Up	113	337	3.04	HLA-E	Hs.650174	Major histocompatibility complex, class I, E
CCAAACGTTG	Up	21	62	3.01	H3F3A	Hs.719957	H3 histone, family 3A
TTATGGGATC	Up	11	32	2.97	GNB2L1	Hs.5662	Guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 2-like 1
ATCACGCCCT	Up	10	29	2.96	*	*	Transcribed locus, weakly similar to XP_001104433.1 similar to CTAGE family
AAACCCCAAT	Up	30	87	2.96	IGL@	Hs.449585	Immunoglobulin lambda locus
GCAAAACCCT	Up	10	29	2.96	METTL7A	Hs.655369	Methyltransferase like 7A
CTCAACATCT	Up	27	78	2.95	RPLP0	Hs.546285	Ribosomal protein, large, P0
ACCCITGGCC	Up	16	46	2.94	*	*	Transcribed locus, moderately similar to XP_001082071.1 similar to NADH
TGGGTGAGCC	Up	39	112	2.93	CTSB	Hs.520898	Cathepsin B
TTCTTGTCGC	Up	15	43	2.93	RPS11	Hs.433529	Ribosomal protein S11
CAGCTCATCT	Up	7	20	2.92	JTB	Hs.6396	Jumping translocation breakpoint
GACATCAAGT	Up	7	20	2.92	KRT19	Hs.654568	Keratin 19
AACGCGGCCA	Up	22	62	2.88	MIF	Hs.474005	Macrophage migration inhibitory factor (glycosylation-inhibiting factor)
GGAGGCTGAG	Up	9	25	2.84	DEGS1	Hs.299878	Degenerative spermatocyte homolog 1, lipid desaturase (Drosophila)
TTGGCCAGGA	Up	9	25	2.84	C11orf17	Hs.131180	Chromosome 11 open reading frame 17
TGTGGAACC	Up	9	25	2.84	PIM2	Hs.719294	Pim-2 oncogene
CCCTGGGTTT	Up	104	286	2.81	FTL	Hs.713706	Ferritin, light polypeptide
GTGCTGGAGA	Up	8	22	2.81	SNRPD2	Hs.515472	Small nuclear ribonucleoprotein D2 polypeptide 16.5kDa
CGCCCGGGTG	Up	25	68	2.78	EIF3S8	Hs.567374	Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit C
ATGGGATGGC	Up	139	378	2.78	SFTPB	Hs.512690	Surfactant, pulmonary-associated protein B
CGTGTTAATG	Up	9	24	2.72	CNBP	Hs.518249	CCHC-type zinc finger, nucleic acid binding protein
CACTACTCAC	Up	9	24	2.72	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_039502.1 b
CTAAGACTTC	Up	50	131	2.67	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001083530.1 similar to ribosomal
GAGATCCGCA	Up	10	26	2.65	PSME1	Hs.75348	Proteasome (prosome, macropain) activator subunit 1 (PA28 alpha)
ATCAGTGGCT	Up	14	36	2.63	PSMB4	Hs.89545	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 4
TGGTGTGGAG	Up	79	202	2.61	RPS18	Hs.627414	Ribosomal protein S18
CCCATCCGAA	Up	37	94	2.59	RPL26	Hs.719996	Ribosomal protein L26

GTTAACGTCC	Up	13	33	2.59	RPL36A	Hs.432485	Ribosomal protein L36a
CAAGCAGGAC	Up	12	30	2.55	TMED3	Hs.513058	Transmembrane emp24 protein transport domain containing 3
GGGCGTGTGC	Up	12	30	2.55	SLC16A3	Hs.500761	Solute carrier family 16, member 3 (monocarboxylic acid transporter 4)
GCGAAACCCCT	Up	19	47	2.53	DKFZp761E198	Hs.591957	DKFZp761E198 protein
GAGAAACCCC	Up	15	37	2.52	NCAPD2	Hs.5719	Non-SMC condensin I complex, subunit D2
GAAAAATGCA	Up	11	27	2.51	MMP2	Hs.513617	matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A, 72kDa gelatinase, 72kDa type IV collagenase)
GTGTTAACCA	Up	22	53	2.46	RPL15	Hs.381219	Ribosomal protein L15
TTTGGGCCTA	Up	13	31	2.43	CRIP1	Hs.70327	Cysteine-rich protein 1 (intestinal)
TGTGTTGAGA	Up	161	383	2.43	EEF1A1	Hs.535192	Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1
GGGCGCTGTG	Up	14	33	2.41	UOCR	Hs.8372	Ubiquinol-cytochrome c reductase, 6.4kDa subunit
CACGCAATGC	Up	12	28	2.38	AES	Hs.515053	Amino-terminal enhancer of split
GTGAAACCCT	Up	66	152	2.35	CHST12	Hs.213088	Carbohydrate (chondroillin 4) sulfotransferase 12
CTAGCCTCAC	Up	32	72	2.3	ACTG1	Hs.514581	Actin, gamma 1
ATCTTGTTAC	Up	15	33	2.25	FN1	Hs.203717	Fibronectin 1
GGCAAGAAGA	Up	25	55	2.25	RPL27	Hs.697561	Ribosomal protein L27
GTGCTGGACC	Up	16	35	2.23	PSME2	Hs.512410	Proteasome (prosome, macropain) activator subunit 2 (PA28 beta)
AAGGAGATGG	Up	78	166	2.17	RPL31	Hs.469473	Ribosomal protein L31
CCTATAATCC	Up	18	38	2.16	TRIM56	Hs.521092	Tripartite motif-containing 56
GCTGTTGCGC	Up	27	55	2.08	RPS20	Hs.8102	Ribosomal protein S20
CCACTGCACCT	Up	130	260	2.04	CCNB1IP1	Hs.107003	Cyclin B1 interacting protein 1
TTGGCCAGGC	Up	54	106	2	VPS33A	Hs.592009	Vacuolar protein sorting 33 homolog A (S. cerevisiae)
TTTGAATGA	Up	31	60	1.98	39692	*	Spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1
GCGAAACCCC	Up	32	61	1.95	C10orf58	Hs.718589	Chromosome 10 open reading frame 58
CACAAACGGT	Up	239	445	1.9	RPS27	Hs.654475	Ribosomal protein S27 (metallopanstimulin 1)
GTGAAACCCC	Up	192	356	1.89	CD82	Hs.527778	CD82 molecule
CCTGGTCCCA	Up	35	63	1.84	KRT7	Hs.670221	Keratin 7
AGCTCTCCCT	Up	91	162	1.82	RPL17	Hs.485081	Ribosomal protein L17
TGCCTGACCC	Up	46	77	1.71	CST3	Hs.304682	Cystatin C (amyloid angiopathy and cerebral hemorrhage)
GTTCCTGGCC	Up	42	70	1.7	FAU	Hs.387208	Finkel-Biskis-Reilly murine sarcoma virus (FBR-MuSV) ubiquitously expressed
CTGACCTGTG	Up	76	124	1.67	HLA-B	Hs.495349	Major histocompatibility complex, class I, B
GGGAAATCCG	Up	59	94	1.63	TMSB10	Hs.446574	Thymosin, beta 10
TCTCTTTTTC	Up	60	93	1.58	NPC2	Hs.433222	Niemann-Pick disease, type C2
CGCTGGTTCC	Up	123	173	1.44	RPL11	Hs.719951	Ribosomal protein L11
CGCAGCGGGT	Up	289	345	1.31	NAPSA	Hs.512843	Napsin A aspartic peptidase
TTGGTCTCTCT	Down	517	392	0.77	RPL41	Hs.720477	Ribosomal protein L41

TCAGATCTTT	Down	195	130	0.68	RPS4X	Hs.118076	Ribosomal protein S4, X-linked
TTGTAATCGT	Down	113	73	0.66	OAZ1	Hs.446427	Ornithine decarboxylase antizyme 1
CCTFAGCTGGA	Down	189	119	0.64	PPIA	Hs.598115	Peptidylprolyl isomerase A (cyclophilin A)
GTCTGGGGCT	Down	125	78	0.64	TAGLN2	Hs.517168	Transgelin 2
AGGGCTTCCA	Down	296	182	0.63	RPL10	Hs.534404	Ribosomal protein L10
GCCTTCCAAT	Down	144	87	0.62	DDX5	Hs.434059	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 5
GTGCACGTGAG	Down	155	90	0.59	HLA-C	Hs.720721	Major histocompatibility complex, class I, C
AGCACCTCCA	Down	162	92	0.58	EEF2	Hs.515070	Eukaryotic translation elongation factor 2
CACCTAATTG	Down	171	96	0.57	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_039504.1
TGGCCCCCAGG	Down	125	70	0.57	APOC1	Hs.110675	Apolipoprotein C-1
CCAGAACAGA	Down	237	127	0.55	RPL30	Hs.400295	Ribosomal protein L30
GTGCGCTGAG	Down	73	39	0.55	HLA-C	Hs.720721	Major histocompatibility complex, class I, C
CTGTTGGTGA	Down	108	57	0.54	RPS23	Hs.527193	Ribosomal protein S23
GGGACGAGTG	Down	59	31	0.54	TM4SF1	Hs.351316	Transmembrane 4 L six family member 1
CCCCAGCCAG	Down	63	33	0.53	RPS3	Hs.546286	Ribosomal protein S3
GGATTTGGCC	Down	282	144	0.52	RPLP2	Hs.437594	Ribosomal protein, large, P2
ATTCTCCAGT	Down	203	103	0.52	RPL23	Hs.406300	Ribosomal protein L23
AAGSAACTTG	Down	50	25	0.51	LPCAT1	Hs.368853	lysophosphatidylcholine acyltransferase 1
TAGACTAGCA	Down	48	24	0.51	TSPAN3	Hs.716484	Tetraspanin 3
GCACAAGAAG	Down	46	23	0.51	CENPL	Hs.720473	Centromere protein L
AGGAAAGCTG	Down	108	53	0.5	RPL36	Hs.408018	Ribosomal protein L36
CAGGCCCCAC	Down	43	21	0.5	S100A11	Hs.417004	S100 calcium binding protein A11
GGTCAGTCGG	Down	78	38	0.5	*	*	Transcribed locus, moderately similar to NP_001041438.1 protein LOC503325.
ACTTACCTGC	Down	42	20	0.49	COX6B1	Hs.431668	Cytochrome c oxidase subunit Vib polypeptide 1 (ubiquitous)
CTGTTGATTG	Down	42	20	0.49	RP11-78J21.1	Hs.658128	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1-like
ACAGCCATTG	Down	45	21	0.48	SFTA2	Hs.211267	surfactant associated 2
AAGATTGGTG	Down	45	21	0.48	CD9	Hs.114286	CD9 molecule
GGAATGTACG	Down	41	19	0.47	ATP5G3	Hs.429	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit C3
GTTACACATTA	Down	473	217	0.47	CD74	Hs.714487	CD74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain
ATTGTTATG	Down	70	32	0.47	HMG2	Hs.181163	High-mobility group nucleosomal binding domain 2
GCCTGCTGGG	Down	60	27	0.46	GFX4	Hs.433951	Glutathione peroxidase 4 (phospholipid hydroperoxidase)
TGGCTGGGAA	Down	63	28	0.45	VAMP8	Hs.714302	Vesicle-associated membrane protein 8 (endobrevin)
TTACCTCCTT	Down	36	16	0.45	FAM128B	Hs.469925	Family with sequence similarity 128, member B
GTGGCCACGG	Down	211	93	0.45	S100A9	Hs.112405	S100 calcium binding protein A9
GGGCTGGGGT	Down	214	94	0.45	RPL29	Hs.425125	Ribosomal protein L29

Transcribed locus	*	*	0.45	53	121	Down	121	53	0.45	*	*	Transcribed locus
ATTCATGTGT	Down	121	53	0.45								Lectin, galactoside-binding, soluble, 1 (galectin 1)
GCCCCCAATA	Down	112	49	0.45						LGALS1	Hs.445351	
GGA AAAAGTGG	Down	82	35	0.44						SERPINA1	Hs.525557	Serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antitrypsinase, antitrypsin)
TACCTA AAA	Down	68	29	0.44						ATRN	Hs.276252	Attractin
TTTCAGAGAG	Down	52	22	0.43						*	*	Transcribed locus
GATGAGTCTC	Down	31	13	0.43						PSMA7	Hs.233852	Proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 7
CCAGGGGAGA	Down	46	19	0.42						IFI27	Hs.532634	Interferon, alpha-inducible protein 27
GA AATACAGT	Down	164	66	0.41						NT5C	Hs.67201	5', 3'-nucleotidase, cytosolic
TTCTCTACAC	Down	30	12	0.41						TSC22D1	Hs.507916	TSC22 domain family, member 1
CCCCAGTTGC	Down	55	22	0.41						CAPNS1	Hs.515371	Calpain, small subunit 1
GGGCATCTCT	Down	494	197	0.41						HLA-DRA	Hs.520048	Major histocompatibility complex, class II, DR alpha
GAAGCAGGAC	Down	106	42	0.4						CFL1	Hs.170622	Cofilin 1 (non-muscle)
TTAAACCTCA	Down	56	22	0.4						HNRPDL	Hs.527105	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like
ATAGACGCAA	Down	31	12	0.4						MORF4L1	Hs.374503	Mortality factor 4 like 1
GTGCATCAC	Down	26	10	0.39						NOP10	Hs.14317	NOP10 ribonucleoprotein homolog (yeast)
CTGCCAAGTT	Down	47	18	0.39						ZYX	Hs.490415	Zyxin
CTGCTAGGAA	Down	32	12	0.38						TRAM1	Hs.491988	Translocation associated membrane protein 1
TGTTTATCCT	Down	24	9	0.38						DBI	Hs.15250	Diazepam binding inhibitor (GABA receptor modulator, acyl-Coenzyme A binding
GC TTTATTTG	Down	123	46	0.38						ACTB	Hs.721681	Actin, beta
TTGGCAGCCC	Down	51	19	0.38						RPL27A	Hs.523463	Ribosomal protein L27a
GCCTCAGTTC	Down	27	10	0.38						*	*	Transcribed locus, strongly similar to NP_067042.1 adhesion molecule 2
CATATCATT A	Down	81	30	0.38						IGFBP7	Hs.709885	Insulin-like growth factor binding protein 7
GTGAAGGCAG	Down	213	78	0.37						RPS3A	Hs.356572	Ribosomal protein S3A
GCCTCCTCCC	Down	36	13	0.37						EIF3S12	Hs.314359	Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit K
TTACCATATC	Down	111	40	0.37						RPL39	Hs.558387	Ribosomal protein L39
TTAACCCCTC	Down	125	45	0.37						RNASE1	Hs.623499	Ribonuclease, RNase A family, 1 (pancreatic)
AAAGAAAAGTG	Down	28	10	0.36						MGAT1	Hs.519818	Mannosyl (alpha-1,3-)-glycoprotein beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase
TTCATTATAA	Down	45	16	0.36						PTMA	Hs.459927	Prothymosin, alpha (gene sequence 28)
TGTGATCAGA	Down	85	30	0.36						ATP5L	Hs.486360	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial FO complex, subunit G
CTCTAAGAAG	Down	57	20	0.36						C1QA	Hs.632379	Complement component 1, q subcomponent, A chain
TTGGGGTTTC	Down	607	212	0.36						FTH1	Hs.449153	Ferritin, heavy polypeptide 1
TACAGTATGT	Down	46	16	0.36						GLUL	Hs.518525	Glutamate-ammonia ligase (glutamine synthetase)
GA AACCCGAGG	Down	26	9	0.35						POMP	Hs.268742	Proteasome maturation protein
ATTTGAGAAG	Down	26	9	0.35						RAD23B	Hs.521640	RAD23 homolog B (S. cerevisiae)
AACAGAAGCA	Down	29	10	0.35						SNHG6	Hs.372680	Small nucleolar RNA host gene (non-protein coding) 6

GTTGTGGTTA	Down	1265	435	0.35	B2M	Hs.534255	Beta-2-microglobulin
GCTGCTCCCT	Down	35	12	0.35	MRPL14	Hs.311190	Mitochondrial ribosomal protein L14
GAGGGAGTTT	Down	404	136	0.34	RPL27A	Hs.523463	Ribosomal protein L27a
CAAAAAAAAAA	Down	66	22	0.34	CNTN4	Hs.298705	Contactin 4
GGTGGCACTC	Down	64	21	0.34	RHOA	Hs.61581	Ras homolog gene family, member A
GCAAAAAAAAAA	Down	68	22	0.33	TMSB10	Hs.446574	Thymosin, beta 10
TCACCTTAGG	Down	34	11	0.33	ITM2B	Hs.643683	Integral membrane protein 2B
TTTTCTGAAA	Down	25	8	0.33	TXN	Hs.435136	Thioredoxin
GGCTGGGGGC	Down	144	46	0.33	PFN1	Hs.494691	Profilin 1
AATAGGTCCA	Down	207	66	0.33	RPS25	Hs.512676	Ribosomal protein S25
GGCCATCTCT	Down	22	7	0.32	YWHAQ	Hs.74405	tyrosine 3-monooxygenase/tytrophan 5-monooxygenase activation protein, theta polypeptide
TCAGTTTGTG	Down	19	6	0.32	HAX1	Hs.199625	HCLS1 associated protein X-1
CAACATTCCT	Down	19	6	0.32	DDT	Hs.656723	D-dopachrome tautomerase
AAGATCCCGG	Down	19	6	0.32	CUTA	Hs.520070	CutA divalent cation tolerance homolog (E. coli)
GCATAATAGG	Down	358	112	0.32	RPL21	Hs.535873	Ribosomal protein L21
CCACTACACT	Down	45	14	0.32	TNFSF10	Hs.478275	Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10
ACCTGTATCC	Down	129	40	0.32	IFITM3	Hs.374650	Interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U)
TGTGCTTTT	Down	26	8	0.31	GPR116	Hs.693354	G protein-coupled receptor 116
TGCTAAAAAA	Down	23	7	0.31	MYH9	Hs.501140	Myosin, heavy chain 9, non-muscle
TCAATCAAGA	Down	23	7	0.31	YWHAH	Hs.226755	tyrosine 3-monooxygenase/tytrophan 5-monooxygenase activation protein, eta polypeptide
TTCACTGTGA	Down	125	38	0.31	LGALS3	Hs.531081	Lectin, galactoside-binding, soluble, 3
TGCACGTTT	Down	270	82	0.31	RPL32	Hs.265174	Ribosomal protein L32
TTATGTTTAA	Down	33	10	0.31	LUM	Hs.406475	Lumican
CTGGTTAAT	Down	262	79	0.31	RPS19	Hs.438429	Ribosomal protein S19
TACATCCGAA	Down	20	6	0.31	MTPN	Hs.602015	Myotrophin
TACAAAAACCA	Down	30	9	0.31	NCL	Hs.498021	Nucleolin
CAACTAATTC	Down	37	11	0.3	CLU	Hs.436657	Clusterin
TGTATAAAAA	Down	54	16	0.3	HSP90B1	Hs.192374	Heat shock protein 90kDa beta (Grp94), member 1
CAACTTAGTT	Down	44	13	0.3	MRLC2	Hs.50889	Myosin regulatory light chain MRLC2
CAGTCTCTG	Down	48	14	0.3	TMEM66	Hs.521487	Transmembrane protein 66
TTGGTGAAGG	Down	578	167	0.29	TMSB4X	Hs.703237	Thymosin, beta 4, X-linked
TATGTTTCAG	Down	28	8	0.29	PTPN12	Hs.61812	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 12
AATGGATGAA	Down	42	12	0.29	*	*	Transcribed locus, moderately similar to XP_001089230.1
TTGGACTGAG	Down	21	6	0.29	GABARAPL2	Hs.461379	GABA(A) receptor-associated protein-like 2
TAACCAATCA	Down	39	11	0.29	*	*	Transcribed locus

GCTTTTAGA	Down	32	9	0.29	HMGN1	Hs.356285	High-mobility group nucleosome binding domain 1
CTCAGGAAT	Down	25	7	0.29	UCRC	Hs.284292	Ubiquinol-cytochrome c reductase complex (7.2 kD)
CTAAAAAAA	Down	50	14	0.29	CD81	Hs.332012	CD81 molecule
TTGACACTTT	Down	43	12	0.28	PIGY	Hs.26136	Phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class Y
AAATAAAAGC	Down	18	5	0.28	VIL2	Hs.487027	Villin 2 (ezrin)
ACACCTCTAA	Down	18	5	0.28	CNDP2	Hs.149185	CNDP dipeptidase 2 (metallopeptidase M20 family)
TTTATTCTA	Down	18	5	0.28	SCARB2	Hs.349656	Scavenger receptor class B, member 2
ATGAAAAAGAA	Down	18	5	0.28	MAL2	Hs.201083	Mal, T-cell differentiation protein 2
TAATAAAGCA	Down	18	5	0.28	SARS	Hs.719895	Seryl-tRNA synthetase
AGAACAAAAC	Down	36	10	0.28	PRDX1	Hs.180909	Peroxiredoxin 1
AACTGCTTCA	Down	58	16	0.28	ARPC1B	Hs.489284	Actin related protein 2/3 complex, subunit 1B, 41kDa
GCCATAAAAT	Down	22	6	0.28	SRGN	Hs.1908	Serglycin
GACTTCAC TT	Down	22	6	0.28	COMMD6	Hs.508266	COMM domain containing 6
GACTCTGAAA	Down	22	6	0.28	RPS15A	Hs.370504	Ribosomal protein S15a
GCTTAATGTT	Down	22	6	0.28	CAT	Hs.658723	Catalase
ATGTGTAACG	Down	37	10	0.28	S100A4	Hs.654444	S100 calcium binding protein A4
TCTTAATGAA	Down	37	10	0.28	*	*	Transcribed locus
TTTCATTGCC	Down	26	7	0.27	TACC1	Hs.721516	Transforming, acidic coiled-coil containing protein 1
GGGAAACAGG	Down	26	7	0.27	C10orf54	Hs.47382	Chromosome 10 open reading frame 54
AACTAACAAA	Down	67	18	0.27	RPS27A	Hs.546292	Ribosomal protein S27a
CCCTGATTTT	Down	30	8	0.27	EIF4G2	Hs.183684	Eukaryotic translation initiation factor 4 gamma, 2
TGAGGGAATA	Down	57	15	0.27	TP11	Hs.524219	Triosephosphate isomerase 1
TTTCTAGGGG	Down	19	5	0.27	C19orf56	Hs.108969	Chromosome 19 open reading frame 56
GCAGCTAATT	Down	19	5	0.27	CCDC47	Hs.202011	Coiled-coil domain containing 47
CCAACCCGTGC	Down	19	5	0.27	GLO1	Hs.268849	Glyoxalase I
AGGACACCAA	Down	336	88	0.27	SFTPB	Hs.512690	Surfactant, pulmonary-associated protein B
AGCCCTACAA	Down	306	80	0.27	*	*	Transcribed locus, weakly similar to NP_149938.1 dehydrogenase subunit 3
TACATTTTCA	Down	23	6	0.27	SNRPG	Hs.654528	Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide G
TTAAAAAAA	Down	27	7	0.26	DFFA	Hs.567562	DNA fragmentation factor, 45kDa, alpha polypeptide
TGTAGTTTGA	Down	27	7	0.26	SKP1A	Hs.171626	S-phase kinase-associated protein 1A (p19A)
CAATAAATGT	Down	199	50	0.26	RPL37	Hs.558860	Ribosomal protein L37
AGTCTGATGT	Down	40	10	0.26	C7orf59	Hs.406520	chromosome 7 open reading frame 59
GGCCCCCACC	Down	16	4	0.26	IGFBP6	Hs.274313	Insulin-like growth factor binding protein 6
AACTCCCACT	Down	16	4	0.26	GADD45B	Hs.110571	Growth arrest and DNA-damage-inducible, beta
TTAAGGGATG	Down	16	4	0.26	STEAP4	Hs.521008	STEAP family member 4

TAATGGTAAC	Down	24	6	0.26	COX5A	Hs.401903	Cytochrome c oxidase subunit Va
AATAAAATCC	Down	20	5	0.26	NBL1	Hs.654502	Neuroblastoma, suppression of tumorigenicity 1
TATATTTCT	Down	24	6	0.26	TGM2	Hs.517033	Transglutaminase 2 (C polypeptide, protein-glutamine-gamma-glutamyltransferase
AAAAAAAAAAA	Down	240	60	0.26	UBAP2	Hs.493739	Ubiquitin associated protein 2
CAAGGATCTA	Down	16	4	0.26	C1orf43	Hs.287471	Chromosome 1 open reading frame 43
TGTGAACACA	Down	16	4	0.26	IRF1	Hs.436061	Interferon regulatory factor 1
TGTAATCAAT	Down	57	14	0.25	HNRPA1	Hs.689177	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1
TGATAATTCA	Down	37	9	0.25	USMG5	Hs.500921	Upregulated during skeletal muscle growth 5 homolog (mouse)
CATCACGGAT	Down	29	7	0.25	*	*	Transcribed locus
GGGTTTTTAT	Down	25	6	0.25	YBX1	Hs.473583	Y box binding protein 1
GACGCTTAA	Down	21	5	0.24	PSMA4	Hs.251531	Proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type, 4
TTCATACACC	Down	273	65	0.24	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001087649.1 similar to 40S
AATGCAAGAT	Down	17	4	0.24	SKP1A	Hs.171626	S-phase kinase-associated protein 1A (p19A)
GAGCTCCACA	Down	17	4	0.24	PKIG	Hs.472831	Protein kinase (cAMP-dependent, catalytic) inhibitor gamma
GTAATTTTAA	Down	17	4	0.24	ITGB6	Hs.470399	Integrin, beta 6
GAGAACCGTA	Down	34	8	0.24	NPDC1	Hs.719906	Neural proliferation, differentiation and control, 1
GCCGTGAGCA	Down	344	80	0.24	SFTPC	Hs.1074	Surfactant, pulmonary-associated protein C
ATCGCTTCT	Down	65	15	0.24	APP	Hs.529408	Amyloid beta (A4) precursor protein (peptidase nexin-II, Alzheimer disease)
AAAACATTCT	Down	67	15	0.23	RP11-217H1.1	Hs.658128	Implantation-associated protein
TTGAGATCT	Down	94	21	0.23	NDUFA4	Hs.50098	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 4, 9kDa
TAGGTTGCT	Down	832	185	0.23	TPT1	Hs.660859	Tumor protein, translationally-controlled 1
GAACGCCATA	Down	18	4	0.23	DPYSL2	Hs.173381	Dihydropyrimidinase-like 2
CGGCACCTTA	Down	18	4	0.23	CCDC69	Hs.655336	Coiled-coil domain containing 69
GAATGATTC	Down	27	6	0.23	C5orf32	Hs.529798	Chromosome 5 open reading frame 32
TCTGAAGTCA	Down	18	4	0.23	ID2	Hs.180919	Inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein
GGTGATGTG	Down	18	4	0.23	MBD3	Hs.719914	Methyl-CpG binding domain protein 3
GCACAGGCCA	Down	68	15	0.23	EGFL7	Hs.91481	EGF-like-domain, multiple 7
ACAACCTCAAT	Down	82	18	0.22	BR13	Hs.596464	Brain protein 13
AACTTCAGGT	Down	23	5	0.22	SFTPA2B	Hs.535295	Surfactant, pulmonary-associated protein A2B
TTAGTGTCT	Down	23	5	0.22	SPARC	Hs.497349	Secreted protein, acidic, cysteine-rich (osteonectin)
AGCCCTTCT	Down	14	3	0.22	SLC15A3	Hs.237856	Solute carrier family 15, member 3
ATGATGATGA	Down	14	3	0.22	SLC25A5	Hs.721635	Solute carrier family 25
GCAAGAAAGT	Down	14	3	0.22	HBB	Hs.523443	Hemoglobin, beta
ACCTTTACTG	Down	14	3	0.22	TFRC	Hs.529618	Transferrin receptor (p90, CD71)
ACTGGTAAAA	Down	14	3	0.22	ATP5J2	Hs.656515	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial FO complex, subunit F2

TTTTTGATT	Down	28	6	0.22	TXNIP	Hs.515249	Thioredoxin interacting protein
TAGGACAAC	Down	14	3	0.22	H3F3A	Hs.719957	H3 histone, family 3A
TACTAATAAA	Down	28	6	0.22	ROMO1	Hs.472564	reactive oxygen species modulator 1
ATCAGTGTGC	Down	14	3	0.22	*	*	
GAACAAGAT	Down	47	10	0.22	PGK1	Hs.78771	Phosphoglycerate kinase 1
GTTTGATAC	Down	19	4	0.21	LMO7	Hs.207631	LIM domain 7
TGTACCTGTA	Down	158	33	0.21	TUBA1B	Hs.676750	Tubulin, alpha 1b
GGAGTGTGCT	Down	48	10	0.21	MYL9	Hs.504687	Myosin, light chain 9, regulatory
ATCTTTTAAA	Down	39	8	0.21	CYB5A	Hs.465413	Cytochrome b5 type A (microsomal)
ATCAAGAATC	Down	129	26	0.21	IFI30	Hs.14623	Interferon, gamma-inducible protein 30
ACTATTTCCA	Down	15	3	0.2	FBP1	Hs.494496	Fructose-1,6-bisphosphatase 1
AATCTTGCAA	Down	15	3	0.2	DHR57	Hs.59719	Dehydrogenase/reductase (SDR family) member 7
ATAATAAAGC	Down	55	11	0.2	RARRES2	Hs.647064	Retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 2
AACTAATACT	Down	40	8	0.2	NCRNA00188	Hs.368934	non-protein coding RNA 188
GAGAGAAAAA	Down	15	3	0.2	TMEM9	Hs.501853	Transmembrane protein 9
TATATTGATT	Down	15	3	0.2	BTG1	Hs.255935	B-cell translocation gene 1, anti-proliferative
ATAAAGTAAC	Down	15	3	0.2	STRAP	Hs.504895	Serine/threonine kinase receptor associated protein
GTGTGTAATA	Down	15	3	0.2	BCAP31	Hs.522817	B-cell receptor-associated protein 31
TGGAACCTTG	Down	15	3	0.2	DYNCL1L2	Hs.369068	Dynein, cytoplasmic 1, light intermediate chain 2
GAAGCAATAA	Down	90	18	0.2	ST3GAL3	Hs.597915	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 3
CTTCTACTAA	Down	36	7	0.2	FAM129B	Hs.522401	Family with sequence similarity 129, member B
ATACTTTAAT	Down	26	5	0.2	ACSM3	Hs.706754	Acyl-CoA synthetase medium-chain family member 3
GAATAATAAG	Down	26	5	0.2	EMP2	Hs.531561	Epithelial membrane protein 2
AAAAAAACCA	Down	26	5	0.2	ENSA	Hs.632456	Endosulfine alpha
GTCTAGAATC	Down	26	5	0.2	ARL6IP5	Hs.721184	ADP-ribosylation-like factor 6 interacting protein 5
GGAAAAAATA	Down	89	17	0.2	ATP5E	Hs.177530	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, epsilon subunit
TAATAAATGC	Down	21	4	0.19	PNPLA2	Hs.654697	Patatin-like phospholipase domain containing 2
AATATGCTTT	Down	21	4	0.19	ATP6V1E1	Hs.517338	ATPase, H+ transporting, lysosomal 31kDa, V1 subunit E1
GGCTGTACCC	Down	79	15	0.19	CSRP1	Hs.108080	Cysteine and glycine-rich protein 1
TGCAGAAGAA	Down	16	3	0.19	MRC1	Hs.75182	Mannose receptor, C type 1
GCTTGGATCT	Down	16	3	0.19	MXRA7	Hs.597019	Matrix-remodelling associated 7
AGGAAAAAAA	Down	16	3	0.19	SPINK5	Hs.331555	Serine peptidase inhibitor, Kazal type 5
GAGGTGTTTG	Down	16	3	0.19	LIMCH1	Hs.335163	LIM and calponin homology domains 1
TAAATCCCA	Down	16	3	0.19	PTPRC	Hs.654514	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, C
TAAAGGCACA	Down	16	3	0.19	LDB2	Hs.714330	LIM domain binding 2

AAGTTGCTAT	Down	129	24	0.19	PSAP	Hs.523004	Proseposin
GCCGTGAACA	Down	356	66	0.19	SFTPC	Hs.1074	Surfactant, pulmonary-associated protein C
TAAAAA	Down	87	16	0.19	UBE2A	Hs.379466	Ubiquitin-conjugating enzyme E2A (RAD6 homolog)
GCATTTAAAT	Down	104	19	0.19	EEF1B2	Hs.421608	Eukaryotic translation elongation factor 1 beta 2
TCTGTTATC	Down	44	8	0.19	SRP14	Hs.533732	Signal recognition particle 14kDa (homologous Alu RNA binding protein)
ATGTGTTTCA	Down	22	4	0.19	LYN	Hs.14601	V-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral related oncogene homolog
GGAGTCATTG	Down	22	4	0.19	PSMB3	Hs.82793	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 3
CCCTCTCCCT	Down	33	6	0.19	LTP4	Hs.466766	Latent transforming growth factor beta binding protein 4
ATGCTTTTC	Down	39	7	0.18	IGFBP4	Hs.462998	Insulin-like growth factor binding protein 4
GTAAGATTG	Down	39	7	0.18	MTCH1	Hs.485262	Mitochondrial carrier homolog 1 (C. elegans)
AAAGCTTAGA	Down	17	3	0.18	CCND1	Hs.523852	Cyclin D1
TAATAAAGGT	Down	255	45	0.18	RPS8	Hs.512675	Ribosomal protein S8
TAAAGCTGT	Down	17	3	0.18	UBE2B	Hs.612096	Ubiquitin-conjugating enzyme E2B (RAD6 homolog)
TGACTGTGCT	Down	23	4	0.18	NRGN	Hs.524116	Neurogranin (protein kinase C substrate, RC3)
AATAAAGGCT	Down	29	5	0.18	RHOC	Hs.658289	Ras homolog gene family, member C
CTCACTTTT	Down	58	10	0.18	CEBPD	Hs.440829	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), delta
CAATAAACTG	Down	64	11	0.18	EIF1	Hs.150580	Eukaryotic translation initiation factor 1
TTCTATTTCA	Down	47	8	0.17	MSN	Hs.87752	Moesin
GTTCAAAGAC	Down	18	3	0.17	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001082931.1
AACCAAAAA	Down	12	2	0.17	IDH3B	Hs.436405	Isocitrate dehydrogenase 3 (NAD+) beta
AAAGCGTAAA	Down	18	3	0.17	IFNGR1	Hs.520414	Interferon gamma receptor 1
GTTTGATAAA	Down	12	2	0.17	CTDSP2	Hs.524530	CTD (carboxy-terminal domain, RNA polymerase II, polypeptide A) small phosphatase 2
ATTAAAAA	Down	12	2	0.17	*	*	Transcribed locus
CCACTTTTTA	Down	12	2	0.17	TMEM87A	Hs.597178	Transmembrane protein 87A
TTAGTTACCT	Down	18	3	0.17	RHOA	Hs.61581	Ras homolog gene family, member A
GACAGCTGAG	Down	24	4	0.17	AK1	Hs.175473	Adenylate kinase 1
TAATATTTTT	Down	12	2	0.17	ACTN4	Hs.270291	Actinin, alpha 4
TACCCCTTGA	Down	12	2	0.17	GIMAP8	Hs.647121	GTPase, IMAP family member 8
AATGAACAAT	Down	24	4	0.17	NINJ1	Hs.494457	Ninjurin 1
TAGTAAAGGC	Down	12	2	0.17	ZSCAN18	Hs.235390	Zinc finger and SCAN domain containing 18
GTATTTAACA	Down	12	2	0.17	*	*	Transcribed locus
ATCTTCTTTA	Down	12	2	0.17	B2M	Hs.534255	Beta-2-microglobulin
CAGAAGTGTC	Down	12	2	0.17	PPM1F	Hs.112728	Protein phosphatase 1F (PP2C domain containing)
GACTGGAATA	Down	42	7	0.17	FCER1G	Hs.433300	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; gamma polypeptide
GACTAAGAAA	Down	12	2	0.17	CODC85B	Hs.66713	Coiled-coil domain containing 85B

TCATATTA	Down	12	2	0.17	AQP4	Hs.315369	Aquaporin 4
TGTTCTGGAG	Down	30	5	0.17	GJA1	Hs.74471	Gap junction protein, alpha 1, 43kDa
AACTAAAAAA	Down	91	15	0.17	RPS27A	Hs.546292	Ribosomal protein S27a
TAAAGTAGCAA	Down	74	12	0.17	ITM2B	Hs.643683	Integral membrane protein 2B
AGGAGCAAAG	Down	37	6	0.17	BLVRB	Hs.515785	Biliverdin reductase B (flavin reductase (NADPH))
AGCACATTTG	Down	31	5	0.16	COTL1	Hs.289092	Coactosin-like 1 (Dictyostelium)
TCTAAGTACG	Down	25	4	0.16	*	*	Transcribed locus, strongly similar to NP_067042.1 adhesion molecule 2
TTTTGAAGCA	Down	25	4	0.16	HBXIP	Hs.675854	Hepatitis B virus x interacting protein
GCGCAGAGGT	Down	69	11	0.16	RPL41	Hs.720477	Ribosomal protein L41
TTCTTGTTTT	Down	19	3	0.16	PRNP	Hs.714553	Prion protein (p27-30) (Creutzfeldt-Jakob disease)
TATGACTTAA	Down	38	6	0.16	RAC1	Hs.632900	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1
TTTGAATGT	Down	19	3	0.16	MATR3	Hs.268939	Matrin 3
TAAATAATTT	Down	19	3	0.16	HSPE1	Hs.1197	Heat shock 10kDa protein 1 (chaperonin 10)
GGAATAAATT	Down	19	3	0.16	CYC1	Hs.518827	Cytochrome c-1
TAAACTGTTT	Down	32	5	0.16	RPS14	Hs.381126	Ribosomal protein S14
ACTGTGCGCA	Down	13	2	0.16	AQP1	Hs.76152	Aquaporin 1 (Colton blood group)
CTTTTCATCA	Down	13	2	0.16	TNFSF5IP1	Hs.464652	Tumor necrosis factor superfamily, member 5-induced protein 1
GTGATGGCCA	Down	13	2	0.16	RPL23	Hs.406300	Ribosomal protein L23
TTGTTATATT	Down	13	2	0.16	UFM1	Hs.29857	Ubiquitin-fold modifier 1
CTTCTGGATA	Down	13	2	0.16	RGS5	Hs.24950	Regulator of G-protein signalling 5
TGTGAAAATA	Down	13	2	0.16	RIN2	Hs.472270	Ras and Rab interactor 2
CATTTAAATTC	Down	13	2	0.16	TBCB	Hs.31053	Tubulin folding cofactor B
GTAATTCITT	Down	13	2	0.16	*	*	
TGGATCAACC	Down	13	2	0.16	CAV1	Hs.118262	Caveolin 1, caveolae protein, 22kDa
CTAATAAATG	Down	13	2	0.16	TMEM205	Hs.8036	transmembrane protein 205
AAGTACTTCA	Down	13	2	0.16	ACTR2	Hs.643727	ARP2 actin-related protein 2 homolog (yeast)
GGACAGGGAG	Down	13	2	0.16	SOCS3	Hs.527973	Suppressor of cytokine signaling 3

TTGTTTGTA	Down	13	2	0.16	QKI	Hs.593520	Quaking homolog, KH domain RNA binding (mouse)
CTAACTAGTT	Down	59	9	0.16	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001106655.1 similar to CG14446
AGCAAACTGA	Down	33	5	0.15	LAP3	Hs.570791	Leucine aminopeptidase 3
TTCAATAAAA	Down	278	42	0.15	RPLP1	Hs.356502	Ribosomal protein, large, P1
AAGCACAAAA	Down	73	11	0.15	TYROBP	Hs.515369	TYRO protein tyrosine kinase binding protein
TTTTCCACTT	Down	14	2	0.15	RNF13	Hs.12333	Ring finger protein 13
ATTAAGAGGG	Down	42	6	0.15	*	*	Transcribed locus, strongly similar to NP_067042.1.
TATTTCTTT	Down	14	2	0.15	ANKRD10	Hs.525163	Ankyrin repeat domain 10
AGAAATGTAT	Down	14	2	0.15	SNF1LK	Hs.282113	SNF1-like kinase
GAAGATTAAT	Down	21	3	0.15	SNX3	Hs.12102	Sorting nexin 3
AAGGAAGATC	Down	21	3	0.15	GSTO1	Hs.190028	Glutathione S-transferase omega 1
ACAAAAA	Down	14	2	0.15	*	*	Transcribed locus
TACTGGAGTA	Down	14	2	0.15	MESDC1	Hs.513071	Mesoderm development candidate 1
ACAGTGCTTG	Down	43	6	0.14	PPP2CB	Hs.491440	Protein phosphatase 2 (formerly 2A), catalytic subunit, beta isoform
TTCTGCTCTT	Down	36	5	0.14	VWF	Hs.131433	Von Willebrand factor
GAAAAA	Down	168	23	0.14	RPS15A	Hs.370504	Ribosomal protein S15a
ACCCTTAAC	Down	112	15	0.14	HLA-E	Hs.650174	Major histocompatibility complex, class I, E
GACCAGCTGG	Down	15	2	0.14	ZMAT4	Hs.591850	Zinc finger, matrix type 4
GTTGTA	Down	15	2	0.14	*	*	CDNA clone IMAGE:5278517
CTAATAAACT	Down	15	2	0.14	METTL9	Hs.279583	Methyltransferase like 9
AATATGTGG	Down	45	6	0.14	COX6C	Hs.351875	Cytochrome c oxidase subunit VIc
TAACCTCAGG	Down	15	2	0.14	DENND3	Hs.18166	DENN/MADD domain containing 3
ATGTAAAA	Down	286	38	0.14	LYZ	Hs.524579	Lysozyme (renal amyloidosis)
AGATTC	Down	23	3	0.13	SH3BGR1	Hs.108029	SH3 domain binding glutamic acid-rich protein like
TCAATAAAGA	Down	23	3	0.13	QARS	Hs.79322	Glutamyl-tRNA synthetase
ATAATCTTT	Down	403	52	0.13	RPS29	Hs.156367	Ribosomal protein S29
TGATGTTGA	Down	39	5	0.13	DAZAP2	Hs.369761	DAZ associated protein 2
TAGCAGCAAT	Down	47	6	0.13	SLC39A8	Hs.288034	Solute carrier family 39 (zinc transporter), member 8
TTTTACTCAC	Down	16	2	0.13	ADD1	Hs.183706	Adducin 1 (alpha)
GAGTTAAAA	Down	152	19	0.13	HLA-DRB4	Hs.716081	Major histocompatibility complex, class II, DR beta 4
TTTGCTGTAG	Down	16	2	0.13	TNFSF10	Hs.478275	Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10
ATAGACATAA	Down	16	2	0.13	C1QBP	Hs.555866	Complement component 1, q subcomponent binding protein
GCTCACCCCT	Down	16	2	0.13	LST1	Hs.436066	Leukocyte specific transcript 1
ACATTC	Down	24	3	0.13	*	*	Transcribed locus

CTCCAGCCA	Down	1706	207	0.12	SFTPA2B	Hs.535295	Surfactant, pulmonary-associated protein A2B
GTAGCATAAA	Down	33	4	0.12	UBB	Hs.48444	Ubiquitin B
GTAATAAAAA	Down	91	11	0.12	*	*	Transcribed locus
ATTATTTTC	Down	119	14	0.12	RPL7	Hs.571841	Ribosomal protein L7
AGTAGGTGGC	Down	17	2	0.12	SNAP91	Hs.368046	Synaptosomal-associated protein, 91kDa homolog (mouse)
AGTTCCATA	Down	17	2	0.12	*	*	
TGTTCCCTA	Down	35	4	0.12	LAMP3	Hs.518448	Lysosomal-associated membrane protein 3
TTTTTAATGT	Down	62	7	0.12	H3F3A	Hs.719957	H3 histone, family 3A
AGAAAGATGT	Down	71	8	0.12	ANXA1	Hs.494173	Annexin A1
GGATGATTAT	Down	9	1	0.11	ALOX5	Hs.89499	Arachidonate 5-lipoxygenase
GAGACGCATT	Down	9	1	0.11	LMO2	Hs.34560	LIM domain only 2 (rhombotin-like 1)
ATGTACCTGA	Down	9	1	0.11	EMP2	Hs.531561	Epithelial membrane protein 2
ATTTGTATCT	Down	9	1	0.11	C5orf24	Hs.708536	Chromosome 5 open reading frame 24
GGCACCTCTG	Down	9	1	0.11	APBB1	Hs.372840	Amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family B, member 1 (Fe65)
ACCCGAGTAA	Down	9	1	0.11	*	*	
AAATACTTCA	Down	9	1	0.11	ACTR2	Hs.643727	ARP2 actin-related protein 2 homolog (yeast)
TTAACACCTA	Down	18	2	0.11	MSR1	Hs.147635	Macrophage scavenger receptor 1
TTTATTGAAT	Down	9	1	0.11	CD164	Hs.664836	CD164 molecule, sialomucin
AAATCAATAA	Down	9	1	0.11	LOC727869	*	Hypothetical protein LOC727869
AAGGAGATTA	Down	9	1	0.11	DOK4	Hs.279832	Docking protein 4
TAATTACTCT	Down	9	1	0.11	NDUFA12	Hs.506374	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 12
TACTATTGAT	Down	9	1	0.11	GPR116	Hs.693354	G protein-coupled receptor 116
AAAACCTTAGA	Down	9	1	0.11	CD59	Hs.709466	CD59 molecule, complement regulatory protein
TGCTAATTGT	Down	18	2	0.11	IL6ST	Hs.706627	Interleukin 6 signal transducer (gp130, oncostatin M receptor)
GTGATTATGA	Down	9	1	0.11	IFT57	Hs.412196	Intraflagellar transport 57 homolog (Chlamydomonas)
TATTCACCG	Down	9	1	0.11	ARHGAP1	Hs.138860	Rho GTPase activating protein 1
TTTGGTGTTT	Down	9	1	0.11	FASN	Hs.83190	Fatty acid synthase
AAATCAATAC	Down	27	3	0.11	C1QC	Hs.467753	Complement component 1, q subcomponent, C chain
ATCAAAAAAAA	Down	9	1	0.11	PTPN9	Hs.445775	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 9
GAAGTCATT	Down	9	1	0.11	AZ12	Hs.706676	5-azacytidine induced 2
AATAAATGGA	Down	18	2	0.11	C14orf2	Hs.109052	Chromosome 14 open reading frame 2
AATTTTATTT	Down	18	2	0.11	PCBP1	Hs.2853	Poly(IC) binding protein 1
TTGGCAGTAT	Down	9	1	0.11	SGCE	Hs.371199	Sarcoglycan, epsilon
TAAATGAATA	Down	9	1	0.11	EIF2A	Hs.655782	Eukaryotic translation initiation factor 2A, 65kDa
GGCCACGTAG	Down	74	8	0.11	CFD	Hs.155597	Complement factor D (adipsin)

AATGAATGAA	Down	28	3	0.11	BCKDHA	Hs.433307	Branched chain keto acid dehydrogenase E1, alpha polypeptide
CTTTGAGTCC	Down	226	24	0.11	SCGB1A1	Hs.523732	Secretoglobin, family 1A, member 1 (uterogloblin)
TTTCCITCCT	Down	19	2	0.11	CLTA	Hs.522114	Clathrin, light chain (Lca)
AGTTTCTTGT	Down	59	6	0.1	CD68	Hs.633037	CD68 molecule
GTGATGGGGC	Down	10	1	0.1	C6orf1	Hs.381300	Chromosome 6 open reading frame 1
TGTGACCCCT	Down	10	1	0.1	HK3	Hs.411695	Hexokinase 3 (white cell)
CAACCATCAT	Down	10	1	0.1	*	*	Transcribed locus, moderately similar to XP_001094983.1
TGTGTGTGAC	Down	10	1	0.1	ORA11	Hs.55148	RAI calcium release-activated calcium modulator 1
AATCGCTAAT	Down	10	1	0.1	HSDL2	Hs.59486	Hydroxysteroid dehydrogenase like 2
GATTGAGCAT	Down	10	1	0.1	*	*	Transcribed locus
GTCAGACTGT	Down	10	1	0.1	*	*	Transcribed locus
TAAAACAAGA	Down	30	3	0.1	CD55	Hs.126517	CD55 molecule, decay accelerating factor for complement (Cromer blood group)
TGTTTTTATG	Down	10	1	0.1	PCBD1	Hs.3192	Plelin-4, alpha-carbinolamine dehydratase/dimerization cofactor of hepatocyte
GAATAAATA	Down	10	1	0.1	TBK1	Hs.94790	TANK-binding kinase 1
TTTTTTTTTG	Down	10	1	0.1	TSPAN15	Hs.499941	Tetraspanin 15
TAACCCCAAA	Down	10	1	0.1	*	*	CDNA: FLJ22522 fs, clone HRC12491
TGCTGCCAGA	Down	10	1	0.1	RGL1	Hs.437126	Ral guanine nucleotide dissociation stimulator-like 1
TGGCTAATA	Down	10	1	0.1	SDC2	Hs.1501	Syndecan 2
GGGAAGCAGA	Down	10	1	0.1	*	*	Transcribed locus
ATAGCCTCT	Down	10	1	0.1	PHF11	Hs.369039	PHD finger protein 11
TCAAAAAAAG	Down	10	1	0.1	CAPZA1	Hs.514934	Capping protein (actin filament) muscle Z-line, alpha 1
TCTTGATTA	Down	81	8	0.1	LOC144571	Hs.592432	Hypothetical protein LOC144571
GTATGTGCTC	Down	62	6	0.1	SFTPA2B	Hs.535295	Surfactant, pulmonary-associated protein A2B
GGGCAACAG	Down	52	5	0.1	CD52	Hs.597423	CD52 molecule
TATTGACAAC	Down	21	2	0.1	TJP2	Hs.50382	Tight junction protein 2 (zona occludens 2)
GACAAAAAAA	Down	74	7	0.1	RPS15A	Hs.370504	Ribosomal protein S15a
CATCTGTACT	Down	43	4	0.09	HLA-DRB5	Hs.534322	Major histocompatibility complex, class II, DR beta 5
AATTAATAA	Down	11	1	0.09	*	*	Transcribed locus, strongly similar to XP_001110103.1 RAD23 homolog A
TATTTTTGTT	Down	11	1	0.09	TXNRD1	Hs.690011	Thioredoxin reductase 1
CAGAAATAA	Down	11	1	0.09	HTATSF1	Hs.441039	HIV-1 Tat specific factor 1
TAAAAATGTTT	Down	11	1	0.09	LOC401504	Hs.446271	Hypothetical gene supported by AK091718
TGCCACACAC	Down	66	6	0.09	SFTPA2B	Hs.535295	Surfactant, pulmonary-associated protein A2B
TGTGGCGTAT	Down	11	1	0.09	MYLK	Hs.477375	Myosin, light chain kinase
TTTGAGGATT	Down	11	1	0.09	*	*	Transcribed locus
CCAACAAGAA	Down	11	1	0.09	TSPAN7	Hs.441664	Tetraspanin 7

GAGCTTTTGA	Down	11	1	0.09	C10orf119	Hs.124246	Chromosome 10 open reading frame 119
TTAATAAAAG	Down	22	2	0.09	*	*	Transcribed locus
TGAAGTAACA	Down	55	5	0.09	EIF1	Hs.150580	Eukaryotic translation initiation factor 1
GACTCTTCAG	Down	22	2	0.09	SERPINA3	Hs.710488	Serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin)
GGCTTAGGAT	Down	11	1	0.09	RASIP1	Hs.233955	Ras interacting protein 1
ACAAGTACTG	Down	22	2	0.09	CDH5	Hs.76206	Cadherin 5, type 2, VE-cadherin (vascular epithelium)
CAGCTATTTTC	Down	45	4	0.09	FABP5	Hs.408061	Fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)
TGAAAAAAA	Down	34	3	0.09	SYCE1	Hs.553795	Synaptonemal complex central element protein 1
AAATATGTGT	Down	23	2	0.09	ESAM	Hs.173840	Endothelial cell adhesion molecule
TGAAGTTATA	Down	23	2	0.09	ITGB1	Hs.643813	Integrin, beta 1 (fibronectin receptor, beta polypeptide, antigen CD29)
GA AAAAATGGT	Down	313	27	0.09	RPSA	Hs.449909	Ribosomal protein SA
ACTCCAAAAA	Down	82	7	0.09	RPS15	Hs.406683	Ribosomal protein S15
CAAAAGACAAT	Down	12	1	0.09	ZNF706	Hs.374485	Zinc finger protein 706
AAAAAAATCA	Down	12	1	0.09	PLAC8	Hs.162369	Placenta-specific 8
CTGCTCCTT	Down	12	1	0.09	DBNDD2	Hs.655055	Dysbindin (dystrobrein binding protein 1) domain containing 2
GGAGAGAAAA	Down	12	1	0.09	GTPBP10	Hs.709271	GTP-binding protein 10 (putative)
GCAGAGAAAA	Down	36	3	0.09	CORO1A	Hs.415067	Coronin, actin binding protein, 1A
CTAAACTTTT	Down	12	1	0.09	ID2	Hs.180919	Inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein
GCCACCACCA	Down	12	1	0.09	ICAM2	Hs.431460	Intercellular adhesion molecule 2
CAGAGTGCTG	Down	12	1	0.09	*	*	Transcribed locus
AAAAGATACT	Down	12	1	0.09	CITED2	Hs.82071	Cbp/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain
GCTTCTCAA	Down	12	1	0.09	*	*	Transcribed locus
GGGGCTGTAT	Down	12	1	0.09	TGFB1	Hs.720075	Transforming growth factor, beta 1
TTTTATGGAA	Down	49	4	0.08	GNAI2	Hs.77269	Guanine nucleotide binding protein (G protein)
GAGACTGCAA	Down	25	2	0.08	SLC40A1	Hs.643005	Solute carrier family 40 (iron-regulated transporter), member 1
GAATTAACAT	Down	38	3	0.08	YWHAE	Hs.513851	Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein
TTTCATTAAT	Down	13	1	0.08	CAST	Hs.476389	Calpastatin
CTAGGTGCTG	Down	13	1	0.08	HIGD1B	Hs.287963	HIG1 domain family, member 1B
GGGAATAAAC	Down	13	1	0.08	MVD	Hs.252457	Mevalonate (diphospho) decarboxylase
TTTGGCTTTT	Down	26	2	0.08	C11orf59	Hs.530753	Chromosome 11 open reading frame 59
GAGGACTCCG	Down	13	1	0.08	WARS	Hs.497599	Tryptophanyl-tRNA synthetase
CCTTACTTTA	Down	13	1	0.08	*	*	Transcribed locus, moderately similar to NP_001040602.1 protein LOC712428
CAAGGGTAAG	Down	27	2	0.08	EFEEMP1	Hs.76224	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1
AATGCTTTGT	Down	41	3	0.07	TUBA1A	Hs.654422	Tubulin, alpha 1a
TGGCCACACT	Down	14	1	0.07	PEBP4	Hs.491242	Phosphatidylethanolamine-binding protein 4

CTAGCTTTA	Down	15	1	0.07	*	*	Transcribed locus
CAAGTCTTT	Down	30	2	0.07	*	*	SPARC-like 1 (mast9, hev1n)
TGCACITCAA	Down	76	5	0.07	SPARCL1	Hs.62886	Glutathione peroxidase 3 (plasma)
AGGGAGGGGC	Down	61	4	0.07	GFX3	Hs.386793	Selenoprotein P, plasma, 1
AATAAAGCCT	Down	31	2	0.07	SEPP1	Hs.718521	Brain protein 44-like
CAGTGATAT	Down	16	1	0.06	BRP44L	Hs.172755	chromosome 2 open reading frame 77
GTAGAAAAAA	Down	16	1	0.06	C2orf77	Hs.370111	*
TTATAAAGA	Down	16	1	0.06	*	*	Small nucleolar RNA host gene (non-protein coding) 8
TGGCTAAAAA	Down	17	1	0.06	SNHG8	Hs.535762	SET domain, bifurcated 1
GCAATAAGTG	Down	17	1	0.06	SETDB1	Hs.643565	Meningioma expressed antigen 5 (hyaluronidase)
CAAGAGGCAA	Down	17	1	0.06	MGEA5	Hs.500842	Endothelial PAS domain protein 1
AACGTTATA	Down	70	4	0.06	EPAS1	Hs.468410	Ferritin, light polypeptide
GCCC TGGAGA	Down	18	1	0.06	FTL	Hs.713706	MAP3K12 binding inhibitory protein 1
TAAATAAACA	Down	18	1	0.06	MBIP	Hs.368647	PRA1 domain family, member 2
CAAAAAA AAA	Down	18	1	0.06	PRAF2	Hs.29595	Caveolin 1, caveolae protein, 22kDa
TCCTGTAAG	Down	93	5	0.05	CAV1	Hs.118262	Nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23, numatrin)
TGAAATAAAA	Down	57	3	0.05	NPM1	Hs.557550	Platelet/endothelial cell adhesion molecule (CD31 antigen)
CTGAAGGCTG	Down	19	1	0.05	PECAM1	Hs.514412	Pre-B-cell colony enhancing factor 1
GAATAAAGT	Down	19	1	0.05	PBEF1	Hs.489615	AHNAK nucleoprotein
ATTAAGAAAA	Down	19	1	0.05	AHNAK	Hs.441783	Chromosome 13 open reading frame 15
CTAATATTGT	Down	39	2	0.05	C13orf15	Hs.507866	Dickkopf homolog 3 (Xenopus laevis)
CTTTCTTTGA	Down	20	1	0.05	DKK3	Hs.292156	Fascin homolog 1, actin-bundling protein (Strongylocentrotus purpuratus)
ATAGTAGCTT	Down	20	1	0.05	FSCN1	Hs.118400	Interleukin 33
TGCATCTGTG	Down	21	1	0.05	IL33	Hs.348390	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, alpha subunit 1
AAAAATAAAG	Down	69	3	0.04	ATP5A1	Hs.298280	Calponin 3, acidic
TAGAAAACAG	Down	23	1	0.04	CNN3	Hs.483454	Ribosomal protein L10a
GCTTCTCAC	Down	23	1	0.04	RPL10A	Hs.148340	Transcribed locus, strongly similar to XP_001106655.1 similar to CG14446
AACGAGGAAT	Down	72	3	0.04	*	*	Fc fragment of IgG, low affinity Ila, receptor (CD16a)
GTAATAAAAT	Down	25	1	0.04	FCGR3A	Hs.372679	Translocator protein (18kDa)
GAATTTTATA	Down	51	2	0.04	TSPO	Hs.202	Nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1
GAAAAATTTA	Down	28	1	0.04	NGFRAP1	Hs.448588	Receptor (G protein-coupled) activity modifying protein 2
ACTTTTCAA	Down	57	2	0.04	*	*	Surfactant, pulmonary-associated protein C
GCACAAGTTC	Down	57	2	0.04	RAMP2	Hs.514193	Alcohol dehydrogenase IB (class I), beta polypeptide
AGCAGAAAAC	Down	31	1	0.03	SFTPC	Hs.1074	
CAAAGATTAT	Down	34	1	0.03	ADH1B	Hs.4	

											Transcribed locus
TTATTATGA	Down	34	1	0.03	*						
AGCTTGTGGC	Down	34	1	0.03	RAMP3	Hs.25691					Receptor (G protein-coupled) activity modifying protein 3
AAGATAGCTC	Down	74	1	0.01	SFTPC	Hs.1074					Surfactant, pulmonary-associated protein C
TACCTGCAGA	Down	523	4	0.01	S100A8	Hs.416073					S100 calcium binding protein A8

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO

Para obter um maior conhecimento clínico e científico do câncer, os médicos e pesquisadores desta Instituição estão desenvolvendo um projeto que deverá ajudar na obtenção de conhecimento sobre o câncer e, conseqüentemente, de oferecer novas possibilidades de diagnóstico e tratamento para essa doença. O projeto intitulado “Marcadores de agressividade em amostras de tecido pulmonar” envolve o estudo do material biológico do paciente.

É rotina nesse Hospital usar parte do material biológico para exames laboratoriais que são importantes para o diagnóstico definitivo da doença. Se você concordar, a parte não utilizada do material biológico será armazenada para estudos sobre as proteínas do câncer. O material armazenado será identificado no laboratório por código formado por números e letras e, portanto, sua privacidade e identidade serão preservadas. A eventual publicação em revistas científicas dos resultados de pesquisa utilizando esse material será feita de modo a manter o anonimato dos participantes.

Se você concordar com o uso do material biológico do modo descrito acima, é necessário esclarecer que você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre eventuais resultados decorrentes da pesquisa. Se você não concordar em doar o material para pesquisa ou decidir retirar seu consentimento em qualquer momento, sua decisão não influenciará, de modo nenhum, o seu tratamento.

Caso você tenha questões a fazer ou alguma dúvida que não tenha sido esclarecida pelo seu médico, por gentileza, entre em contato com o Pesquisador Responsável pelo projeto ou com o LMMBM, pelo telefone (17) 3201-5737.

DECLARAÇÃO

Declaro estar ciente das informações dadas, tendo lido atentamente e concordado com todo o teor do presente Termo.

São Jose do Rio Preto, de de

Assinatura do Responsável ou Paciente

Nome:

N. do Protuário: