

**Errata:**

<b>Página</b>	<b>Onde lê-se</b>	<b>Leia-se</b>
Bibliografia		Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Scheithauer BW, Kleihues P. The <b>2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System</b> . <i>Acta Neuropathol</i> 2007, <b>114</b> :97-109.
Título	seleção de novos genes	seleção de novos transcritos
Todas	sondas	alvos
<i>i</i>	completo de genes	completo de transcritos
<i>i</i>	caracterização de novos genes	caracterização de novos transcritos
<i>i</i>	ainda é considerado genes	ainda é considerado transcritos
<i>i</i>	melhor caracterização dos genes	melhor caracterização dos transcritos
<i>ii</i>	novos genes	novos transcritos
<i>ii</i>	como um novo gene ou um gene sem função conhecida	como um novo transcrito ou um transcrito sem função conhecida
<i>ii</i>	Cuja expressão se correlaciona diretamente com o grau de malignidade dos tumores de glia	cuja expressão se vê aumentada em tumores de glia
<i>ii</i>	Esta seqüência corresponde a um novo gene	Esta seqüência corresponde a um novo transcrito
<i>iii</i>	new human genes	new human transcripts
<i>iii</i>	set of human genes	set of human transcripts
<i>iii</i>	considered as new genes	considered as new

		transcripts
<i>iii</i>	characterization of these genes	characterization of these transcripts
<i>iii</i>	their degree of ineditism	their degree of novelty
<i>iv</i>	New human genes	New human transcripts
<i>iv</i>	This sequence constitutes a new gene	This sequence constitutes a new transcript
<i>iv</i>	over expression by silencing this gene using RNAi.	over expression and silencing this transcript using RNAi.
1	Busca de novos genes	Busca de novos transcritos
1	conjunto completo dos genes codificados contidos nesta seqüência	conjunto completo dos transcritos contidos nesta seqüência
1	identificação completa dos genes	identificação completa dos transcritos
1	possível função dos genes	possível função dos transcritos
2	fração importante de genes	fração importante de transcritos
2	completo dos genes	completo dos transcritos
2	identificação de novos genes	identificação de novos transcritos
3	concretas da existência de um gene	concretas da existência de um transcrito
3	mapeamento de cada gene	mapeamento de cada transcrito
4	caracterização de novos genes	caracterização de novos transcritos
4	sequenciar novos genes	sequenciar novos transcritos
7	As regiões do genoma não	As regiões transcritas

	cobertas por ESTs	do genoma não cobertas por ESTs
7	tratava de um único gene	tratava de um único transcrito
7	que representavam genes não descritos	que representavam transcritos não descritos
8	detectar novos genes	detectar novos transcritos
8	encontrar novos genes	encontrar novos transcritos
8	função de todos os genes	função de todos os transcritos
9	conjuntos de genes	conjuntos de transcritos
9	para identificar genes	para identificar transcritos
9	caracterização de genes	caracterização de transcritos
10	visando isolar genes	visando isolar transcritos
10	sendo os mais freqüentes e fatais	sendo os mais freqüentes e de prognóstico ruim
11	Gliomas de baixo grau são bem diferenciados, crescem lentamente, são biologicamente menos agressivos e possuem um melhor prognóstico. Já os Gliomas de alto grau não são diferenciados (anaplásicos),	Astrocitomas de baixo grau são bem diferenciados, crescem lentamente, são biologicamente menos agressivos e possuem um melhor prognóstico. Já os astrocitomas de alto grau na sua maioria não são diferenciados (anaplásicos),
11	(Behin et al, 2003; Collins, 2004; Kleihues & Sobin, 2000)	(Behin et al, 2003; Collins, 2004; Kleihues & Sobin, 2000, Louis et

		al, 2007)
11	Os de Grau II nem sempre são curados	Os de Grau II não são curados
12	Os astrocitomas de Graus III e IV são tumores mais agressivos, altamente invasivos	Os astrocitomas de Graus II, III e IV são tumores mais agressivos, invasivos
13	como correspondentes a genes	como correspondentes a transcritos
14	caracterizar estes genes	caracterizar estes transcritos
14	neste trabalho, genes	neste trabalho, transcritos
14	validação dos genes	validação dos transcritos
14	avaliar o envolvimento do gene	avaliar o envolvimento do transcrito
16	Identificação e seleção de genes novos (ou escassamente descritos), provenientes do projeto “Transcript Finishing Initiative” (TFI), associados com o controle da proliferação celular e a origem e progressão de tumores de glia.	Identificação e seleção de transcritos novos (ou escassamente descritos), provenientes do projeto “Transcript Finishing Initiative” (TFI), associados com invasão, migração e progressão de tumores de glia.
16	com alguns outros genes	com alguns outros transcritos
17	Selecionar gene(s) diferencialmente	Selecionar transcrito(s) diferencialmente
26	confirmação do caráter inédito no banco BLAST	confirmação do caráter inédito no BLASTnr
26	busca da função do gene	busca da função do transcrito
27	bibliografia existente sobre o gene	bibliografia existente sobre o transcrito
27	Outro tipo de análise realizada foi a comparação “in silico” da expressão das TFUs em tecidos	Outro tipo de análise realizada foi a comparação “in silico” da expressão das TFUs

	<p>normal/tumoral, para tanto utilizou-se o site CGAP, onde verificou-se a composição de “clusters” UNIGENE e os dados de expressão tanto em número de “ESTs” por tecido como bibliotecas de SAGE (Velculescu et al, 1995)</p>	<p>em tecidos normal/tumoral, para tanto utilizou-se o site CGAP. Na opção “Gene Finder”, entrou-se com o número de acesso do cDNA completo (quando este existia) ou de ESTs do mesmo cluster que a TFU em questão, obtendo-se assim uma “Gene Info”. Nesta opção pode-se obter, além de outras informações, dados de expressão gênica, medidos virtualmente de diferentes formas, umas delas a “Monochromatic SAGE/cDNA Virtual Northern” mostra uma tabela do padrão de expressão do cluster UNIGEN ao qual o transcrito pesquisado pertence. Nesta tabela estão contabilizados tanto o número de ESTs encontrados em cada tecido nas condições normal versus tumoral, como o número de “SAGE tags” (Velculescu et al, 1995).</p>
--	--	---

28	<u>Amplificação de outros genes</u>	<u>Amplificação de outros transcritos</u>
28	Amplicons de outros genes	Amplicons de outros transcritos
28	Estes genes	Estes transcritos
28	A adição destes genes	A adição destes transcritos
29	expressão destes genes	expressão destes transcritos
29	modelo nos quais estes genes	modelo nos quais estes transcritos
30	Outros genes	Outros transcritos
30	Genes	Transcritos
35	A concentração de sondas adotada foi a razão entre a quantidade de cpm (cintilações por minuto) totais pelo volume final da solução de hibridização usada, sendo que a concentração mínima aceita para a hibridização foi de $5 \times 10^5$ cpm/mL.	A atividade de alvos adotada foi a razão entre a quantidade de cpm (cintilações por minuto) totais pelo volume final da solução de hibridização usada, sendo que a atividade mínima aceita para a hibridização foi de $5 \times 10^5$ cpm/mL.
37	<u>Amplificação de outros genes</u>	<u>Amplificação de outros transcritos</u>
37	Os genes inclusos	Os transcritos inclusos
44	selecionou-se somente os “spots” com densidade acima da média interna (“trimmed mean”) dos negativos a 30% mais duas vezes o desvio padrão dos mesmos.	selecionou-se somente os “spots” com densidade acima da média interna a 30% (“trimmed mean”) dos negativos mais duas vezes o desvio padrão dos mesmos.

44	listas de genes	listas de transcritos
45	dados dos outros genes	dados dos outros transcritos
45	quatro repetições de cada gene	quatro repetições de cada transcrito
46	de cada gene	de cada transcrito
46	selecionar os genes	selecionar os transcritos
46	<u>Confirmação dos genes</u>	<u>Confirmação dos transcritos</u>
47	diferentes exons dos genes	diferentes exons dos transcritos
47	exons diferentes do gene	exons diferentes do transcrito
49	“primer” específico para cada gene	“primer” específico para cada transcrito
50	diferença de expressão dos genes	diferença de expressão dos transcritos
50	Dado que a expressão do gene	Dado que a expressão do transcrito
50	para os dados do gene	para os dados do transcrito
57	identificação de novos genes	identificação de novos transcritos
57	classificadas como novos genes	classificadas como novos transcritos
58	alguns dos genes novos	alguns dos transcritos novos
58	Para verificar a condição de cada seqüência colocada nos arranjos de DNA, estas anotações foram realizadas periodicamente, enfocando-se, principalmente, três critérios: a existência de	Para verificar a condição de cada seqüência colocada nos arranjos de DNA, estas anotações foram realizadas com uma periodicidade de 3

	uma molécula submetida a bancos de dados (ineditismo), a função descrita e a presença de bibliografia especializada para cada seqüência. Com base nestes aspectos, foi possível observar que 11 TFUs permanecem novas	meses entre elas enfocando-se, principalmente, três critérios: a existência de uma molécula submetida a bancos de dados (ineditismo), a função descrita e a presença de bibliografia especializada para cada seqüência. Com base nestes aspectos, foi possível observar que, em julho de 2007, 11 TFUs permanecem novas
58	compartilham pouco do gene descrito	compartilham pouco do transcrito descrito
58	ou são gene hipotéticos	ou são transcritos hipotéticos
78	para os putativos genes	para os putativos transcritos
80	selecionados cinco genes	selecionados cinco transcritos
82	Outros genes amplificados	Outros transcritos amplificados
86	Contudo, por se tratar de lâminas caseiras, adotamos como uma boa correlação um valor de corte (arbitrário) de 0,65.	Por se tratarem de lâminas caseiras, adotamos um valor de corte arbitrário de 0,65.
86	número de genes	número de transcritos
89	no número de genes	no número de transcritos
89	normalizar todos os genes	normalizar todos os



		transcritos
90	Somente se visualiza os genes	Somente se visualiza os transcritos
90	Os genes destacados	Os transcritos destacados
91	foram encontrados 37 genes	foram encontrados 37 transcritos
92	Sendo assim, os genes selecionados	Sendo assim, os transcritos selecionados
96	expressão diferencial dos genes	expressão diferencial dos transcritos
99	para este conjunto de genes.	para este conjunto de transcritos.
101	mediu a expressão dos genes	mediu a expressão dos transcritos
105	a maneira de normalizar os dados não interfere na tendência dos dados.	a maneira de normalizar os dados não interferiu na tendência destes.
109	os genes foram quantificados	os transcritos foram quantificados
109	mostraram uma maior expressão destes genes nos glioblastomas de maior grau	mostraram uma maior expressão destes transcritos nos astrocitomas de maior grau
109	Estes experimentos foram realizados duas vezes com triplicatas.	Estes experimentos foram realizados duas vezes com triplicatas. Os dados brutos dos experimentos podem ser visualizados no anexo 2.
111	quantificação destes genes	quantificação destes transcritos

116	A TFU168 mostrou uma relação direta entre o aumento da expressão e o maior grau de malignidade do tumor, com diferença estatística significativa, o que poderia indicar uma possível função na progressão tumoral ou ser um bom alvo para diagnóstico	A TFU168 mostrou um aumento de sua expressão nos tecidos tumorais, com diferença estatística significativa, o que poderia indicar este transcrito como um bom alvo para diagnóstico e eventos precoces da tumorigenese assim como um possível marcador de prognóstico
116	sendo, portanto, um novo gene	sendo, portanto, um novo transcrito
116	o que indica ser um gene	o que indica ser um transcrito
117	validação de seqüências de novos genes	validação de seqüências de novos transcritos
119	caracterizar novos genes humanos	caracterizar novos transcritos humanos
119	a lista de novos genes	a lista de novos transcritos
121	pesquisa é a busca de genes	pesquisa é a busca de transcritos
121	compartilhadas por mais de um gene	compartilhadas por mais de um transcrito
121	elas sim representam um único gene	elas sim representam um único transcrito
122	se tratando de genes	se tratando de transcritos
122	validar os genes selecionados	validar os transcritos selecionados
123	como sendo genes de baixa	como sendo transcritos

	abundância	de baixa abundância
126	como correspondendo a genes de baixa expressão e, por outro lado, as ESTs de próstata, como genes, de expressão altamente	como correspondendo a transcritos de baixa expressão e, por outro lado, as ESTs de próstata, como transcritos, de expressão altamente
127	expressão do gene	expressão do transcrito
127	gerar uma lista de genes	gerar uma lista de transcritos
127	que alguns dos genes da biblioteca	que alguns dos transcritos da biblioteca
128	caracterização de novos genes	caracterização de novos transcritos
130	selecionamos este gene	selecionamos este transcrito
130	consistir de um gene sem função conhecida.	consistir de um transcrito sem função conhecida.
131	cinco genes selecionados	cinco transcritos selecionados
131	Dos genes selecionados	Dos transcritos selecionados
132	níveis do transcrito correspondente a este gene	níveis do transcrito correspondente a esta seqüência
132	435 expressa mais de 5.000 vezes o gene	435 expressa mais de 5.000 vezes o transcrito
134	melanocítico já que é um gene sem cDNA completo descrito, ou seja, um novo gene	melanocítico já que é um transcrito sem cDNA completo descrito, ou seja, um novo transcrito
134	expressão de alguns destes	expressão de alguns

	genes	destes transcritos
136	a partir de um conjunto de genes com pouca caracterização funcional e novos genes	a partir de um conjunto de transcritos com pouca caracterização funcional e novos transcritos,
136	seqüência corresponde a um gene	seqüência corresponde a um transcrito
138	corresponder a um gene ligado à pele	corresponder a um transcrito ligado à pele
138	inferir que este gene	inferir que este transcrito
138	Esta TFU é um gene novo	Esta TFU é um transcrito novo
140	um novo gene	um novo transcrito
140	selecionou-se este gene para estudos funcionais	selecionou-se este transcrito para estudos funcionais
141	amplificação do transcrito completo do gene.	amplificação do transcrito completo.
141	silenciamento deste gene	silenciamento deste transcrito
141	alinham na região do gene	alinham na região do transcrito

**e-mail para contato: [luocruz@yahoo.com](mailto:luocruz@yahoo.com); [luocruz@iq.usp.br](mailto:luocruz@iq.usp.br)**

### **Adendo**

página	Adiciona-se
159	Anexo 2: Tabela dos dados brutos das médias dos Ct com seus respectivos desvio padrão dos experimentos de qPCR realizados para as TFUs. Se mostra o número de experimentos realizados, bem como a origem dos cDNAs utilizados

TFU	Experimentos cDNA	Ct média	Desvio
<b>147</b>			
	<b>1</b>		
	T98G	33,503333	0,2055
	A172	32,84	0,4194
	<b>2</b>		
	T98G	33,736667	0,3963
	A172	31,773333	0,3202
	<b>3</b>		
	T98G	36,436667	0,3001
	A172	35,08	0,5603
	<b>4</b>		
	T98G 1:30	34,606667	0,3754
	A172 1:30	32,546667	0,2454
	<b>5</b>		
	T98G	32,605	0,4416
	A172	29,73	0,2775
<b>292</b>			
	<b>1</b>		
	T98G	27,46	0,1308
	A172	25,99	0,6736
	<b>2</b>		
	T98G	28,296667	0,1002
	A172	28,4	0,1513
	<b>3</b>		
	T98G 1:30	29,146667	0,1012
	A172 1:30	27,18	0,0173
	<b>4</b>		
	T98G velho	30,16	0,3874
	a172 VELHO	29,503333	0,2515
	<b>5</b>		
	T98G	28,986667	0,3669
	A172	27,253333	0,335
	<b>pool tumores</b>		
	Tumores Grau I	26,6	1,0867
	Tumores Grau II	25,596667	0,5119
	Tumores Grau III	23,813333	0,1582
	GBM	24,426667	0,1266
	Não tumoral	27,646667	0,1582
<b>1087</b>			
	<b>1</b>		
	T98G	26,21	0,4747
	A172	26,066667	0,0702
	<b>2</b>		
	T98G	25,743333	0,1115
	A172	25,883333	0,485
	<b>3</b>		
	T98G	28,556667	0,3308
	A172	27,743333	0,3553
	<b>4</b>		
	T98G 1:30	28,483333	0,271
	A172 1:30	28,403333	0,1115
	<b>5</b>		
	T98G novo	27,906667	0,2454
	A172 novo	28,943333	0,2274

TFU	Experimentos cDNA	Ct média	Desvio
<b>1087</b>			
	<b>pool tumores</b>		
	Tumores Grau I	28,846667	0,2655811
	Tumores Grau II	28,986667	0,4508141
	Tumores Grau III	27,3	0,19
	GBM	27,623333	0,4085748
	Não tumoral	30,053333	0,4012896
<b>168</b>	<b>1</b>		
	T98G	32,633333	0,1850225
	A172	31,14	0,2628688
	<b>2</b>		
	T98G	33,95	0,2515949
	A172	32,193333	0,2302897
	<b>3</b>		
	T98G	31,245	0,0919239
	A172	29,2	0,3394113
	<b>4</b>		
	T98G velho	32,613333	0,2138535
	a172 VELHO	29,073333	0,0550757
	<b>5</b>		
	TI	31,835	0,2192031
	AI	28,225	0,0636396
	<b>pool tumores</b>		
	Tumores Grau I	31,69	0,6000833
	Tumores Grau II	29,12	0,4158125
	Tumores Grau III	27,806667	0,5227173
	GBM	29,496667	0,3146956
	Não tumoral	30,143333	0,3493327
<b>30</b>	<b>1</b>		
	ZR Lu 1:30	35,433333	0,3156475
	435 Lu 1:30	29,483333	0,0208167
	<b>2</b>		
	ZR 1 1:30	40	0
	435 1 1:30	26,816667	1,4688885
	<b>3</b>		
	ZR n 1:30	39,576667	0,7332348
	435 n 1:30	26,326667	0,1457166
	<b>4</b>		
	ZR v 1:30	34,143333	1,6003854
	435 v 1:30	28,193333	0,308599
<b>519</b>	<b>1</b>		
	T98G	26,925	0,3323402
	A172	24,815	0,0919239
	<b>2</b>		
	T98G	25,74	0
	A172	23,97	0,0565685
	<b>3</b>		
	T98G	26,075	0,0919239
	A172	24,02	0,0141421
	<b>4</b>		
	TI	25,97	0,0989949
	AI	24,405	0,1343503

TFU	Experimentos cDNA	Ct média	Desvio
<b>519</b>	<b>5</b>		
	TII	25,81	0,5233
	AII	24,43	0,0424
	<b>6</b>		
	TIII	25,725	0,1768
	AIII	23,87	0,0566
<b>1081</b>	<b>1</b>		
	T98G	29,485	0,0636
	A172	27,37	0,1131
	<b>2</b>		
	T98G	30,17	0,6505
	A172	27,125	0,0778
	<b>3</b>		
	T98G	29,81	0,2687
	A172	27,4	0,0283
	<b>4</b>		
	TI	29,35	0,1273
	AI	26,14	0
	<b>5</b>		
	TII	28,795	0,0212
	AII	26,71	0,0424
	<b>6</b>		
	TIII	29,08	0,2828
	AIII	26,025	0,1768
<b>1016</b>	<b>1</b>		
	T98G	18,965	0,1485
	A172	19,16	0,0566
	<b>2</b>		
	T98G	18,105	0,0071
	A172	18,28	0,0141
	<b>3</b>		
	T98G	18,06	0,5091
	A172	17,88	0,198
<b>35</b>	<b>1</b>		
	T98G	33,365	0,2475
	A172	37,01	0,0566
	<b>2</b>		
	TI	32,3	0,6364
	AI	34,59	0,099
	<b>3</b>		
	TII	32,215	0,0212
	AII	34,84	0,7495
	<b>4</b>		
	TIII	32,58	0,4667
	AIII	34,76	0,9617
	<b>5</b>		
	TI	30,46	0,6505
	AI	32,665	0,4455
	<b>6</b>		
	TII	30,19	0,1414
	AII	33,045	0,4879

TFU	Experimentos cDNA	Ct média	Desvio
<b>35</b>	<b>7</b>		
	TIII	30,435	0,2192031
	AIII	32,555	0,1626346
<b>198</b>	<b>1</b>		
	T98G	33,075	0,0212132
	A172	32,235	0,1909188
	<b>2</b>		
	T98G	33,8	0,0989949
	A172	32,095	0,5586144
	<b>3</b>		
	T98G	32,695	0,3464823
	A172	32,59	0,4525483

