

Alejandro Boëchat Fernandes

EVOLUÇÃO MOLECULAR DOS GENES *PON1*, *PON2* e *PON3*

Curitiba
2007

Alejandro Boëchat Fernandes

EVOLUÇÃO MOLECULAR DOS GENES *PON1*, *PON2* e *PON3*

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza

Curitiba
2007

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, **José Manoel** e **Marcia Boëchat**, que sempre me incentivaram a estudar e me acompanharam na realização desse trabalho como também na trajetória da minha vida, sempre com amor, carinho e apoio.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos:

A Deus, pela criação de tudo, da vida, o que me inspirou no estudo da Biologia.

Ao professor **Dr. Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza**, meu orientador, pela orientação segura e paciente durante a realização desse trabalho e pela amizade e convívio.

À colega **Fernanda Izumi Rubel**, pela participação no trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	VI
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 A evolução molecular.....	1
1.2. A família PON.....	1
1.3. Princípios da comparação de seqüências.....	7
1.3.1. Alinhamento de seqüências.....	7
1.3.2. Similaridade e homologia.....	7
1.4. Regulação Gênica.....	8
1.4.1. Fatores de transcrição.....	8
2. OBJETIVOS.....	10
2.1 Objetivo geral.....	10
2.2 Objetivos específicos.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. MATERIAL.....	11
3.2. MÉTODOS.....	11
4. RESULTADOS.....	13
5. DISCUSSÃO.....	23
6. CONCLUSÕES.....	26
APÊNDICES.....	31

RESUMO

O gene *PON1* localizado no cromossomo 7 em humanos codifica uma enzima, a paraoxonase (PON1) e faz parte de uma família multigênica que inclui também os genes *PON2* e *PON3*. A PON1 hidrolisa vários organofosforados (OPs), incluindo agentes nervosos como o sarin e soman; e inseticidas como paration. A maioria das pesquisas atuais se esforçaram para determinar o papel fisiológico da PON1 e dos outros membros da família e a maioria têm-se focado em arteriosclerose e doenças cardiovasculares. Atividade baixa de PON1 foi descrita como sendo relacionada à sua suspeita em implicações em doenças neurodegenerativas, como as doenças de Parkinson e de Alzheimer. Os três genes demonstram ter a habilidade de prevenir modificação oxidativa mediada por célula no LDL, mas o exato substrato e mecanismo dessa atividade protetora ainda restam para serem elucidados. O presente projeto teve como objetivo estudar a evolução dos genes *PON1*, *PON2* e *PON3*, visando fornecer informações que colaborem para entender sua origem, estrutura e funções. As análises mostraram que a composição nucleotídica dos genes em três espécies de primatas (*Homo sapiens*, *Pan troglodytes*, *Macaca mulatta*) e em roedores (*Mus musculus*) é muito semelhante. Os éxons estão conservados nas quatro espécies e os íntrons estão conservados em primatas. O gene *PON2* parece sofrer maior pressão de seleção que os genes *PON1* e *PON3*. Na comparação dos íntrons entre primatas e roedores, existem regiões conservadas, nas quais foi verificada a presença de muitos sítios de ligação de proteínas regulatórias. Na construção da árvore filogenética, verificou-se maior semelhança entre os genes *PON2* e *PON3*.

1. INTRODUÇÃO

1.1 A evolução molecular

A evolução molecular compreende o estudo evolutivo das macromoléculas, caracterizando as mudanças no material genético e dos seus produtos durante o tempo evolutivo, bem como as taxas e padrões dessas mudanças. Um segundo aspecto da evolução molecular se refere a construir filogenias moleculares de organismos e de macromoléculas, cuja história evolutiva é inferida a partir de dados moleculares (GRAUR e LI, 2000).

O estudo comparativo dos genes *PON1*, *PON2* e *PON3* também poderá encontrar regiões importantes dos genes, além de identificar outros genes evolutivamente relacionados, o que pode sugerir novas funções.

1.2. A família PON

O gene *PON1* é o membro mais bem estudado da família de enzimas conhecidas como paraoxonases, ou PONs (NGUYEN, SOK, 2003). PON é uma família multi-gene que inclui *PON1*, *PON2* e *PON3* agrupados na mesma família devido a similaridades genéticas, compartilhando em mamíferos entre 60 a 70% dos aminoácidos, fisicamente ligados no cromossomo 7 na região 7q21.3-22.1 em humanos. (HOFER et al., 2006). Essa diversidade de genes PONs é devida provavelmente às duplicações gênicas ao longo da evolução dos organismos. Um dos maiores objetivos das pesquisas atuais sobre paraoxonases é identificar os seus substratos naturais e elucidar os mecanismos de suas atividades catalíticas (DRAGANOV, 2004).

Augustinsson (1968) propôs que as arilesterases advem de um mesmo ramo das carboxilesterases, que se diferenciam por ter cisteína ao invés de serina, como componente principal dos seus centros ativos. Embora essa hipótese não tenha sido confrontada por anos, a extensiva clonagem e seqüenciamento das enzimas hidrolíticas tornou evidente que não há nenhuma similaridade estrutural nas seqüências de

aminoácidos dos PONs com as seqüências encontradas nas colinesterases e carboxilesterases dos mamíferos, ou com organofosfatases bacterianas. Foi concluído que não há relação das PONs com essas esterases e portanto outros ancestrais comuns da família PON ainda precisam ser descobertos (LA DU et. al. 1999).

Kobayashi et. al. (1999) clonaram um gene de uma hidrolase de lactona do fungo *Fusarium oxysporum*, que demonstra apresentar uma homologia estrutural com a PON1. Além do mais, as duas enzimas compartilham um grande número de substratos, como o dihydrocoumarin e lactona homogentisica ácida. Interessantemente, a lactonase do fungo não hidrolisa o paraoxon.

Uma árvore filogenética dos genes PONs em vertebrados está representada na figura 1. Tendo como base a homologia estrutural e predição da distância evolutiva entre eles, aparentemente o *PON2* é o membro mais velho da família, em seqüência adveio o *PON3* e, mais recentemente, apareceu o *PON1* (DRAGANOV et.al. 2004).



Figura 1. Árvore filogenética das paraoxonases em vertebrados. A hidrolase da lactona do fungo (LH) foi usada como grupo externo.

A paraoxonase (PON1) é encontrada em mamíferos (incluindo o homem), em outros vertebrados como também em invertebrados (incluindo espécies tipo, como o *Caenorhabditis elegans*) (NGUYEN, SOK, 2003). Outras seqüências parecidas com PON podem ser encontradas em bactérias, plantas, e na mosca *Drosophila melanogaster*. Foram identificadas seqüências parecidas ao PON no peixe paulistinha (*Danio regio*), no sapo (*Xenopus laevis*), no frango (*Galus gallus*), no peru (*Meleagris gallopavo*) e em um grande número de mamíferos (PRIMO-PARMO et. al. 1996; DRAGANOV et. al. 2004).

A paraoxonase humana presente no soro (PON1, EC 3.1.8.1) é uma glicoproteína dependente de cálcio com atividade hidrolítica. O nome se deriva da sua habilidade de hidrolisar o paraoxon em p-nitrofenol e dietilfosfato. O paraoxon é um potente inibidor da acetilcolinesterase, que é metabolicamente gerado, *in vivo*, pelo inseticida parathion (um organofosforado) na oxidação mitocondrial, envolvendo a cascata do citocromo-P450 (YEUNG et al., 2004).

O gene *PON1* é composto por 9 éxons e 8 íntrons, codifica uma proteína ácida composta de 355 aminoácidos. (YEUNG et al., 2004) Em uma resolução de 2,2 Å. PON1 se apresenta como sendo uma hélice de 6 pás com um sítio ativo único que esta envolvido também na junção com o HDL. A estrutura tridimensional, juntamente com estudos dirigidos de evolução, permitirá uma descrição detalhada do sítio ativo de PON1 como também do mecanismo catalítico, podendo elucidar o porque dos membros da família de PON1 divergiram tanto no quesito substratos e seletividade de reações (BARGOTA et al., 2003).

A proteína madura retém a seqüência hidrofóbica líder, na qual somente a metionina inicial é clivada (HASSETT et. al., 1991). O peptídeo sinal N-terminal retido é um requerimento estrutural para a associação de PON1 com o HDL (SORENSEN et. al., 1999).

Aproximadamente 200 polimorfismos do gene *PON1* de nucleotídeos únicos (SNPs) já foram registrados (CELLINI et al., 2006). Dentre essas mutações, duas são as mais bem estudadas, as variantes dos aminoácidos 55 e 192 do gene *PON1*, com os alelos *PON1*55L* e *PON1*55M*; *PON1*192Q* e *PON1*192R*, respectivamente. Estudos

demonstraram que o alelo *PON1*192R* desempenha uma importante função no envelhecimento celular bem sucedido (MARCHEGANI et al., 2006).

Embora ainda não se saiba o seu substrato natural, é sabido que as PONs são como coringas, atuando em grande variedade de substratos, incluindo uma variedade de lactonas aromáticas e alifáticas, além de carbonatos cíclicos que são hidrolisados pela PON1 (BILLECKE et. al. 2000; JAKUBOWSKI, 2000; YEUNG et al., 2004). Dentre os substratos de ésteres aromáticos estão o fenilacetato, o trifenilacetato e o 2-naftilacetato (LA DU, 1992). PON1 também catalisa a reação inversa, a lactonização de ácidos hidrocarboxílicos (TEIBER et. al., 2003).

As PONs tem uma grande capacidade de hidrolisar uma variedade de compostos, os ésteres de estrogênio foram incluídos no grupo, o que anteriormente não era sabido, como sendo um potencial substrato para as enzimas. É de conhecimento que os diesteres são mais eficazmente hidrolisados, pela PON3. Esses e outros resultados dão pistas a respeito da estrutura dos sítios ativos e sugerem que os compostos naturais com grupos ésteres aromáticos podem ser substratos para as PONs (TEIBER et. al., 2007).

A maioria dos outros substratos não tem significância fisiológica, sendo a grande maioria de origem sintética, tais como fenilacetato e dihidrocoumarin. A PON1 hidrolisa vários organofosforados (OPs), incluindo agentes nervosos como o sarin, soman e inseticidas como parathion anteriormente citado, diazinon e chlorpyriphos (LA DU, 1992). Os interesses iniciais no estudo da PON1 foram, portanto, toxicológicos (HAREL et.al. 2004).

A presença da enzima PON1 no sangue, fígado e alguns outros tecidos deveria prover alguma proteção contra exposição crônica perante baixos níveis de organofosforados; da vantagem de que a enzima age cataliticamente, ao invés de estequiometricamente como as carboxilesterases e colinesterases fazem. Todavia, PON1 demonstra baixa eficiência com muitos organofosforados, então a hidrólise enzimática protege contra exposições agudas até certo limite (DRAGANOV, 2004).

A atividade de lactonase da PON1 está sendo usada no desenvolvimento de drogas glicocorticoides de ação local, que sofreriam uma rápida hidrólise e inativação ao chegar na circulação, se não fosse pela ação da PON1 (BIGGADIKE et. al. 2000). A

PON3 por sua vez pode também hidrolisar uma grande gama de drogas atualmente usadas como estatinas na forma de lactonas (lovastatin e simvastatin) e spiro lactonas diuréticas (DRAGANOV, 2004).

Estudos *in vitro* demonstraram que PON1 inibe a oxidação de lipídios de baixa densidade (LDL, colesterol ruim), assim reduzindo o nível de lipídios oxidados, moléculas essas envolvidas na iniciação e progressão de doenças cardiovasculares como a arteriosclerose (HAREL et al., 2004).

A patofisiologia de doenças como arteriosclerose tem como causa a formação de espécies reativas a oxigênio (ROS) que incluem: íons de oxigênio, radicais livres e tanto peróxidos orgânicos como inorgânicos. Foi demonstrado que a produção de ROS acontece em todas as camadas vasculares. Um aumento de ROS pode provocar dano celular diretamente e promove oxidação de lipoproteína de densidade baixa (LDL) (HORKE et. al., 2007).

Acúmulo de LDL em espaços endoteliais faz com que seja absorvido por macrófagos. E o acúmulo exacerbado pode provocar estresse e conseqüente apoptose dos macrófagos. Assim, reduzindo a formação de ROS pode se reduzir a aterogênese. Foi descoberto que a PON2 reduz significativamente a formação de ROS vascular, apresentando-se como um potencial anti-aterogênico endógeno (HORKE et. al., 2007), demonstrando conseqüentemente a importância da presença das PONs.

A oxidação de lipoproteínas é uma causa potencial também para o desenvolvimento de doenças microvasculares em diabetes (MARCHEGANI et al., 2006). Atividade baixa de PON1 foi descrita como sendo relacionada à sua suspeita em implicações em doenças neurodegenerativas, como é o caso das doenças de Parkinson e de Alzheimer (HOFER et al., 2006). Ela pode estar envolvida nessas patogêneses, pois o processo de dano oxidativo é um fator de risco para o aparecimento de tais doenças.

A maioria das pesquisas atuais se esforçou para determinar o papel fisiológico da PON1 e dos outros membros da família e a maioria tem-se focado em arteriosclerose e doenças cardiovasculares. Todavia, é lógico estender o mecanismo protetor proposto para PON1 contra danos vasculares pela oxidação, a outros órgãos e tecidos. Baixos níveis de atividade do PON1 foram encontrados em diabete melito (em

ambos os tipos, tipo 1 e o tipo 2) e doenças renais (revisadas em MACKNESS et. al. 2002). Na maioria dos trabalhos os níveis mais baixos de PON1 foram encontrados em pacientes com complicações vasculares. Em pacientes com diabetes do tipo I, baixos níveis de atividade de PON1 foram encontrados, independentemente dos polimorfismos 55 e 192 do gene *PON1* (BOEMI et. al. 2001; MACKNESS et. al. 2002). Complicações diabéticas em populações japonesas, como a retinopatia (KAO et. al. 1998) ou oclusão da veia central dos rins (MURATA et. al. 1998), podem ser associadas com as aloenzimas PON155L e PON1192R, respectivamente. Uma maior frequência do alelo PON1192R foi reportada em pacientes com diabetes do tipo II com doenças macrovasculares (HU et. al. 2003), doenças cerebrovasculares (KOCH et. al. 2001), e doenças da artéria coronária (OSEI-HYIAMAN et. al. 2001).

PON2 e PON3 foram muito menos estudadas. Similar a PON1, PON3 é expressa geralmente no fígado e em níveis menores nos rins (REDDY et. al. 2001). O mRNA e a proteína PON3 foram identificados em roedores, mas não em macrófagos humanos (ROSENBLAT et. al. 2003). PON3 de coelhos e ratos foi purificada de microsomas do fígado (OZOLS, 1999; RODRIGO et. al. 2003). PON3 de coelho e de humanos e são encontradas no soro associados com HDL, mas duas ordens de magnitude menos abundantes que PON1 (DRAGANOV et. al. 2004; REDDY et. al. 2001). PON3 apresenta atividade de arilesterase e paraoxonase baixas, mas compartilha muitos substratos de lactoses com PON1 (DRAGANOV et. al. 2000). A hidrólise de lactonas como lovastatina, sivastatina e spironolactona têm como o responsável o soro purificado de PON1 (BILLECKE et. al. 2000) era devido ao hPON3, presente em pequenas quantidades na preparação do PON1 (DRAGANOV et. al. 2004). PON2 não é detectável no plasma, mas é amplamente expressa em um grande número de tecidos, incluindo o cérebro, fígado, rins, testículos, e pode ter várias formas de mRNA (MOCHIZUKI et. Al. 1998; NG et. al. 2001). Dihydrocoumarin é o único substrato conhecido para o PON2 (ROSENBLAT et. al. 2003). Como PON1, ambos, PON2 e PON3 demonstram ter a habilidade de prevenir modificação oxidativa mediada por célula no LDL (NG et. al. 2001; REDDY et. al. 2001), mas o substrato natural e o mecanismo dessa atividade protetora ainda restam para serem elucidados.

1.3. Princípios da comparação de seqüências

1.3.1. Alinhamento de seqüências

Qualquer par de seqüências de nucleotídeos ou de aminoácidos mostra algum grau de similaridade. O alinhamento de seqüências é o primeiro passo para quantificar isso, buscando distinguir entre a similaridade casual e relações biológicas reais. Alinhamentos mostram diferenças entre seqüências como substituições (mutações), inserções e deleções (indels), e podem ser interpretados em termos evolutivos (COLLARES, 2005).

1.3.2. Similaridade e homologia

Similaridade pode existir entre quaisquer seqüências de DNA ou proteínas. Homologia deve ser uma conclusão feita pela observação do alinhamento e grau de similaridade entre seqüências, não esquecendo que essa inferência é feita tendo em vista o produto gênico em sua estrutura final e sua funcionalidade (COLLARES, 2005).

Duas ou mais seqüências são homólogas somente se elas são derivadas de um ancestral comum. Proteínas homólogas geralmente apresentam funções biológicas similares (ortólogos), mas o mecanismo de duplicação gênica permite também que seqüências homólogas estejam relacionadas com funções diferentes (parálogos). Por exemplo, quando dois genes homólogos em espécies diferentes têm a mesma função, dizemos que eles são ortólogos. É o caso, por exemplo, dos genes ribossomais. Quando dois genes na mesma espécie ou em espécies diferentes compartilham de alto grau de similaridade, mas têm funções diferentes, dizemos que eles são parálogos. Com estudos recentes de genômica comparativa, tem sido verificado mais claramente que alguns genes não tem a mesma história do genoma em que estão inseridos, ou seja, são produtos da transferência horizontal entre espécies. Nesse caso, os genes são chamados xenólogos (COLLARES, 2005).

1.4. Regulação Gênica

Os eucariontes tipicamente têm dezenas de milhares de genes, alguns cientistas sugerem cerca de 30.000, uma ou duas ordens de magnitude a mais do que a média dos procariontes. Além disso, os padrões de expressão de genes eucarióticos podem ser extraordinariamente complexos. Isto é, pode haver uma grande variação em quando um gene é transcrito ou não e como muitos transcritos precisam ser feitos. Por exemplo, um gene pode ser transcrito apenas durante o início do desenvolvimento e outro apenas na presença de uma infecção viral (GRIFFITHS, 2006).

A grande maioria dos genes em uma célula eucariótica está desligada em qualquer momento. A chave para gerar tantos padrões é dupla. Primeira, quando ligado ao próprio promotor, o grande complexo RNA polimerase II pode catalisar a transcrição apenas em um nível muito baixo (basal). Por esse motivo, o complexo RNA polimerase II é também chamado de aparelho basal de transcrição. Em contraste, a transcrição ativada, em taxas mais altas, requer a ligação de proteínas regulatórias chamadas de fatores de transcrição, ou ativadores, dos elementos de ação cis do DNA ao redor do gene. O segundo componente importante para gerar muitos padrões diversos de expressão gênica é a modularidade e a cooperatividade: padrões complexos requerem muitos sítios de ligação para diferentes proteínas regulatórias que interajam umas com as outras e com o aparelho basal de transcrição. Este componente da diversidade de expressão gênica é chamado de interação combinatória porque diferentes combinações de fatores de transcrição podem apresentar interações únicas que resultam em padrões distintos de expressão gênica. Para acomodar todos estes sítios de ligação para todos esses fatores de transcrição, as regiões regulatórias de muitos genes eucarióticos em geral são maiores que o próprio gene (GRIFFITHS, 2006).

1.4.1. Fatores de transcrição

Os fatores de transcrição, estando ligados aos acentuadores ou elementos proximais do promotor, precisam desempenhar pelo menos duas funções, a primeira é a ligação ao DNA e a segunda é a ativação ou repressão da transcrição. Por este motivo, eles são geralmente compostos de pelo menos dois domínios, um que se liga ao DNA, sendo extremamente conservado, de leveduras e plantas até o homem, e o

outro que influencia a transcrição ligando-se a outra proteína regulatória. Por exemplo, um fator de transcrição pode ter o domínio de ligação ao DNA em sua extremidade amino e o domínio de ativação à sua extremidade carboxila. A maioria dos domínios de ligação ao DNA são de carga positiva, de modo que são atraídos para o arcabouço de fosfato do DNA de carga negativa. Quando se aproximam do DNA, as pontes de hidrogênio entre as bases e os aminoácidos ajustam a interação. Os domínios de ligação, em geral, se ajustam ao sulco maior da dupla hélice (GRIFFITHS, 2006).

2. OBJETIVOS

2.1 *Objetivo geral*

Caracterizar, em termos de evolução molecular, os genes *PON1*, *PON2* e *PON3*, visando detectar as regiões de importância funcional.

2.2 *Objetivos específicos*

Obter as seqüências genômicas e de cDNA dos genes *PON1*, *PON2* e *PON3* nas espécies *Homo sapiens*, *Pan troglodytes*, *Macaca mulatta* e *Mus musculus*.

Alinhar as seqüências e definir éxons e íntrons.

Caracterizar os genes em termos de composição nucleotídica e uso de códons.

Comparar a pressão seletiva nos três genes através das taxas de mutações sinônimas e não sinônimas.

Construir uma árvore filogenética dos genes.

Pesquisar regiões de importância funcional.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

As seqüências nucleotídicas utilizadas nesse projeto foram obtidas do Genbank e estão listadas na tabela 1.

Tabela 1. Códigos das seqüências de DNA genômico e de cDNA dos genes *PON1*, *PON2* e *PON3*.

		PON1	PON2	PON3
<i>Homo sapiens</i>	Cromossomo	7	7	7
	Genômico	NT_079595	NT_007933	NT 007933.14
	cDNA	NM_000446	NM_000305	AF329433
<i>Pan troglodytes</i>	Cromossomo	7	7	7
	Genômico	AC145888	NW_001238075	NW 001238075.1
	cDNA	XM_001169674	XM_519213	XM 001169610
<i>Macaca mulatta</i>	Cromossomo	3	3	3
	Genômico	CM000289	NW_001114279	NW 001114279.1
	cDNA	XM 001095992	CN641534	CO648867
<i>Mus musculus</i>	Cromossomo	6	6	6
	Genômico	NT_039340	NT_039340	NT 039340.7
	cDNA	BC012706	NM_183308	BC099416

3.2. MÉTODOS

Para todos os alinhamentos e revisões foi usado o programa ClustalW encontrado dentro do programa BioEdit (HALL, 1999) e também no programa MEGA (KUMAR, TAMURA, NEI, 2004). Os parâmetros usados para o alinhamento foram: penalidade para abertura de lacuna igual a 18 e penalidade para extensão de lacuna igual a 0,3.

Com o programa BioEdit (versão 7.0.5.3) foram feitas as análises de composição nucleotídica e a construção da árvore filogenética através do programa DNAPars, que usa o método de máxima parcimônia (FELSENSTEIN, 1982).

Com o programa DNASP (versão 4.10.7) (ROZAS et. al. 2003) foram feitas às análises de sítios polimórficos, análise dos polimorfismos; substituições sinônimas e não sinônimas e viés na utilização dos códons sinônimos.

Através do programa Mulan foi analisada a existência de sítios de ligação para fatores de transcrição em cada íntron separadamente, dos três genes.

4. RESULTADOS

Foi feito o alinhamento entre as seqüências genômicas e de cDNA de cada um dos táxons, para determinação dos éxons e íntrons. Fez-se o alinhamento entre as seqüências genômicas dos quatro táxons. Com a separação dos nove éxons e oito íntrons, foi feito o alinhamento dos íntrons todos juntos, sem os éxons, nos quatro táxons e como arquivo base para as análises futuras o alinhamento de todos os éxons, juntos sem os íntrons dos quatro táxons.

A análise da composição dos nucleotídeos dos quatro táxons mostrou que os nucleotídeos estão igualmente distribuídos dentro de cada um dos genes: *PON1* ($P > 0,99$), *PON2* ($P > 0,70$) e *PON3* ($P > 0,95$), conforme pode ser visto na tabela 2, 3 e 4. Na comparação da composição nucleotídica entre os três genes para cada um dos táxons, também estão igualmente distribuídos (*H. sapiens*: $P > 0,95$; *P. troglodytes*: $P > 0,95$; *M. mulatta*: $P > 0,95$ e *M. musculus*: $P > 0,80$).

Tabela 2. Composição nucleotídica dos éxons do gene *PON1* dos quatro táxons.

Táxons	Nucleotídeos			
	Adenina	Timina	Citosina	Guanina
<i>Homo sapiens</i>	308 (29,11%)	301 (28,45%)	216 (20,42%)	233 (22,02%)
<i>Pan troglodytes</i>	309 (29,21%)	301 (28,45%)	216 (20,42%)	232 (21,93%)
<i>Macaca mulatta</i>	306 (28,92%)	300 (28,36%)	219 (20,70%)	233 (22,02%)
<i>Mus musculus</i>	303 (28,64%)	292 (27,60%)	227 (21,46%)	236 (22,31%)

$P > 0,99$ e G.L = 9

Tabela 3. Composição nucleotídica dos éxons do gene *PON2* dos quatro táxons.

Táxons	Nucleotídeos			
	Adenina	Timina	Citosina	Guanina
<i>Homo sapiens</i>	306 (28,81%)	300 (28,25%)	234 (22,03%)	222 (20,90%)
<i>Pan troglodytes</i>	306 (28,81%)	300 (28,25%)	234 (22,03%)	222 (20,90%)
<i>Macaca mulatta</i>	304 (28,62%)	300 (28,25%)	235 (22,13%)	223 (21,00%)
<i>Mus musculus</i>	285 (26,84%)	277 (26,08%)	246 (23,16%)	254 (23,92%)

P>0,70 e G. L. = 9

Tabela 4. Composição nucleotídica dos exóons do gene *PON3* dos quatro táxons.

Táxons	Nucleotídeos			
	Adenina	Timina	Citosina	Guanina
<i>Homo sapiens</i>	302 (28,44%)	288 (27,12%)	223 (21,00%)	249 (23,45%)
<i>Pan troglodytes</i>	302 (28,44%)	288 (27,12%)	223 (21,00%)	249 (23,45%)
<i>Macaca mulatta</i>	303 (28,53%)	286 (26,93%)	225 (21,19%)	248 (23,35%)
<i>Mus musculus</i>	302 (28,44%)	267 (25,14%)	247 (23,26%)	246 (23,16%)

P>0,95 e G. L. = 9

Também foram comparadas as proporções do conteúdo de G+C e A+T nos éxons dos três genes dos quatro táxons. Dentro de cada um dos quatro táxons a proporção de A+T é maior que a de G+C ($P < 0,001$), exceto para a espécie *Mus musculus* no gene *PON2* que mostrou equilíbrio entre A+T e G+C ($P > 0,05$). No entanto, entre os táxons não houve diferença significativa das proporções de G+C e A+T (PON1: $P > 0,95$; PON2: $P > 0,20$; PON3: $P > 0,80$), conforme as tabelas 5, 6 e 7.

Tabela 5. Proporções de G+C e A+T nos quatro táxons no gene *PON1*.

Táxon	G+C		A+T	
	Éxon	Íntron	Éxon	Íntron
<i>Homo sapiens</i>	449 (42,44%)	9847 (40,23%)	609 (57,56%)	14631 (59,77%)
<i>Pan troglodytes</i>	448 (42,34%)	9778 (40,14%)	610 (57,66%)	14584 (59,86%)
<i>Macaca mulatta</i>	452 (42,72%)	9659 (40,39%)	606 (57,28%)	14255 (59,61%)
<i>Mus musculus</i>	463 (43,76%)	10521 (43,20%)	595 (56,24%)	13834 (56,80%)

Tabela 6. Proporções de G+C e A+T nos quatro táxons no gene *PON2*.

Táxon	G+C		A+T	
	Éxon	Íntron	Éxon	Íntron
<i>Homo sapiens</i>	456 (42,94%)	10816 (37,88%)	606 (57,06%)	17741 (62,12%)
<i>Pan troglodytes</i>	456 (42,94%)	10791 (32,28%)	606 (57,06%)	17755 (61,35%)
<i>Macaca mulatta</i>	458 (43,13%)	10791 (38,16%)	604 (56,87%)	17488 (61,84%)
<i>Mus musculus</i>	500 (47,08%)	13169 (41,28%)	562 (52,92%)	18731 (58,72%)

Tabela 7. Proporções de G+C e A+T nos quatro táxons no gene *PON3*.

Táxon	G+C		A+T	
	Éxon	Íntron	Éxon	Íntron
<i>Homo sapiens</i>	472 (44,44%)	13833 (39,17%)	590 (55,56%)	21484 (60,83%)
<i>Pan troglodytes</i>	472 (44,44%)	14109 (39,71%)	590 (55,56%)	21417 (60,29%)
<i>Macaca mulatta</i>	473 (44,54%)	11302 (38,84%)	589 (55,46%)	17795 (61,16%)
<i>Mus musculus</i>	493 (46,42%)	14026 (41,75%)	569 (53,58%)	19572 (58,25%)

Foram feitas comparações dos íntrons entre os táxons e não houve diferença significativa das proporções de G+C e A+T para os primatas (*PON1*: $P > 0,80$; *PON2*: $P > 0,50$; *PON3*: $P > 0,05$), entretanto, considerando-se todos os táxons a diferença foi significativa devido à espécie *Mus musculus* ($P < 0,001$ para os 3 genes).

Também foram comparados, dentro de cada táxon, as proporções de C + G e A + T entre éxons e íntrons. Em *PON1* não houve diferença significativa nas proporções nos 4 táxons (Primatas: $P > 0,10$; *Mus musculus* $P > 0,70$), no entanto para *PON2* e *PON3* há maior proporção de G + C nos éxons do que nos íntrons ($P < 0,01$).

As tabelas 8, 9 e 10 mostram dados referentes ao número efetivo de códons utilizados e o índice de uso dos códons dentro de cada espécie (Apêndice 1). A comparação entre os números efetivos de códons dos três genes mostrou que estão igualmente distribuídos ($P > 0,99$). Essas tabelas mostram que nem todos os códons estão sendo usados igualmente, ou seja, há preferência no uso de determinados códons sinônimos.

Tabela 8. Uso dos códons referentes à proteína madura do gene *PON1* em *H. sapiens*, *P. troglodytes*, *M. mulatta* e *Mus musculus*.

<i>Espécie</i>	<i>Número efetivo de códons</i>	<i>Índice de uso dos códons^a</i>
<i>H. sapiens</i>	49,27	0,308
<i>P. troglodytes</i>	47,74	0,314
<i>M. mulatta</i>	51,23	0,310
<i>Mus musculus</i>	61,00	0,204

^aVaria de zero a 1, quando todos os códons possíveis são usados igualmente até o uso mínimo de um códon para cada aminoácido, respectivamente.

Tabela 9. Uso dos códons referentes à proteína madura do gene *PON2* em *H. sapiens*, *P. troglodytes*, *M. mulatta* e *Mus musculus*.

<i>Espécie</i>	<i>Número efetivo de códons</i>	<i>Índice de uso dos códons^a</i>
<i>H. sapiens</i>	56,96	0,260
<i>P. troglodytes</i>	57,14	0,267
<i>M. mulatta</i>	58,71	0,247
<i>Mus musculus</i>	59,91	0,217

^aVaria de zero a 1, quando todos os códons possíveis são usados igualmente até o uso mínimo de um códon para cada aminoácido, respectivamente.

Tabela 10. Uso dos códons referentes à proteína madura do gene *PON3* em *H. sapiens*, *P. troglodytes*, *M. mulatta* e *Mus musculus*.

<i>Espécie</i>	<i>Número efetivo de códons</i>	<i>Índice de uso dos códons^a</i>
<i>H. sapiens</i>	55,37	0,274
<i>P. troglodytes</i>	55,37	0,274
<i>M. mulatta</i>	54,86	0,290
<i>Mus musculus</i>	58,10	0,231

^aVaria de zero a 1, quando todos os códons possíveis são usados igualmente até o uso mínimo de um códon para cada aminoácido, respectivamente.

As comparações da região codificadora dos genes *PON1*, *PON2* e *PON3* dos quatro táxons, utilizando o programa DNASP, mostraram as quantidades de sítios invariáveis, sítios polimórficos e mutações (tabela 11). A comparação desses valores mostrou que não estão igualmente distribuídos ($P < 0,05$), pois o gene *PON2* tem menor número de sítios polimórficos e mutações que os outros genes.

Tabela 11. Comparações da região codificadora dos genes *PON1*, *PON2* e *PON3* dos quatro táxons.

	<i>PON1</i>	<i>PON2</i>	<i>PON3</i>
Sítios invariáveis	864	905	873
Sítios polimórficos	194	157	189
Mutações	199	157	191

Na tabela 12 podemos ver o número de substituições sinônimas e não sinônimas dos éxons do gene *PON1*, onde podemos ver que a proporção de mutações não sinônimas é baixa em relação às mutações sinônimas (Ka/Ks).

Tabela 12. Comparação das seqüências dos éxons do gene *PON1* nas quatro espécies, mostrando a proporção de diferenças sinônimas por posições sinônimas (Ks), a proporção de diferenças não sinônimas por posições não sinônimas (Ka) e a proporção Ka/Ks. HS: *Homo sapiens*, PT: *Pan troglodites*, MaM: *Macaca mulatta*, MuM: *Mus musculus*.

Seq.	Seq.	Diferenças	Posições	Ks	Diferenças	Posições	Ka	Ka/Ks
1	2	sinônimas	sinônimas		Não	Não		
					sinônimas	sinônimas		
HS	PT	3,00	250,08	0,0121	2,00	805,92	0,0025	0,21
HS	MaM	17,00	249,58	0,0714	14,00	806,42	0,0176	0,25
HS	MuM	103,00	252,00	0,5905	75,00	804,00	0,0996	0,17
PT	MaM	18,00	250,50	0,0755	14,00	805,50	0,0176	0,23
PT	MuM	103,00	252,92	0,5873	75,00	803,08	0,0997	0,17
MaM	MuM	103,00	252,42	0,5891	76,00	803,58	0,1011	0,17

Na tabela 13 podemos ver o número de substituições sinônimas e não sinônimas éxons do gene *PON2*, onde podemos ver que a proporção de mutações não sinônimas é baixa em relação às mutações sinônimas (Ka/Ks).

Tabela 13. Comparação das seqüências dos éxons do gene *PON2* nas quatro espécies, mostrando a proporção de diferenças sinônimas por posições sinônimas (Ks), a proporção de diferenças não sinônimas por posições não sinônimas (Ka) e a proporção Ka/Ks. HS: *Homo sapiens*, PT: *Pan troglodites*, MaM: *Macaca mulatta*, MuM: *Mus musculus*.

Seq.	Seq.	Diferenças	Posições	Ks	Diferenças	Posições	Ka	Ka/Ks
1	2	sinônimas	sinônimas		Não	Não		
					sinônimas	sinônimas		
HS	PT	2,00	254,33	0,0079	0,00	807,67	0,0000	0,00
HS	MaM	15,00	254,17	0,0615	6,00	807,83	0,0075	0,12
HS	MuM	98,00	253,67	0,5429	46,00	808,33	0,0592	0,11
PT	MaM	15,00	254,17	0,0615	6,00	807,83	0,0075	0,12
PT	MuM	98,00	253,67	0,5429	46,00	808,33	0,0592	0,11
MaM	MuM	100,00	253,50	0,5599	47,00	808,50	0,0605	0,11

Na tabela 14 podemos ver o número de substituições sinônimas e não sinônimas éxons do gene *PON3*, onde podemos ver que a proporção de mutações não sinônimas é baixa em relação às mutações sinônimas (Ka/Ks).

Tabela 14. Comparação das seqüências dos éxons do gene *PON3* nas quatro espécies, mostrando a proporção de diferenças sinônimas por posições sinônimas (Ks), a proporção de diferenças não sinônimas por posições não sinônimas (Ka) e a proporção Ka/Ks. HS: *Homo sapiens*, PT: *Pan troglodites*, MaM: *Macaca mulatta*, MuM: *Mus musculus*.

Seq.	Seq.	Diferenças	Posições	Ks	Diferenças	Posições	Ka	Ka/Ks
1	2	sinônimas	sinônimas		Não	Não		
					sinônimas	sinônimas		
HS	PT	0,00	248,50	0,0000	0,00	813,50	0,0000	0
HS	MaM	15,00	249,25	0,0627	12,00	812,75	0,0149	0,24
HS	MuM	92,00	250,08	0,5057	80,00	811,92	0,1056	0,21
PT	MaM	15,00	249,25	0,0627	12,00	812,75	0,0149	0,27
PT	MuM	92,00	250,08	0,5057	80,00	811,92	0,1056	0,21
MaM	MuM	98,50	250,83	0,5561	82,50	811,17	0,1093	0,20

Através do programa Mulan, foi verificada a existência de sítios de ligação para fatores de transcrição em regiões conservadas dos íntrons dos 3 genes. Os fatores de transcrição mostrados no Apêndice 2 são apenas aqueles sítios de ligação que estão em regiões conservadas dos íntrons nas quatro espécies. Com os íntrons 3 e 6 no *PON1* não foi possível fazer a análise, pois o programa Mulan não retornou nenhum resultado nesses íntrons, devido ao programa não conseguir apurar nenhum dado.

Usando o método de máxima parcimônia, foi construída uma árvore filogenética das 4 espécies estudadas e como grupo externo o gene *PON2* de *Gallus gallus* (Figura 2).

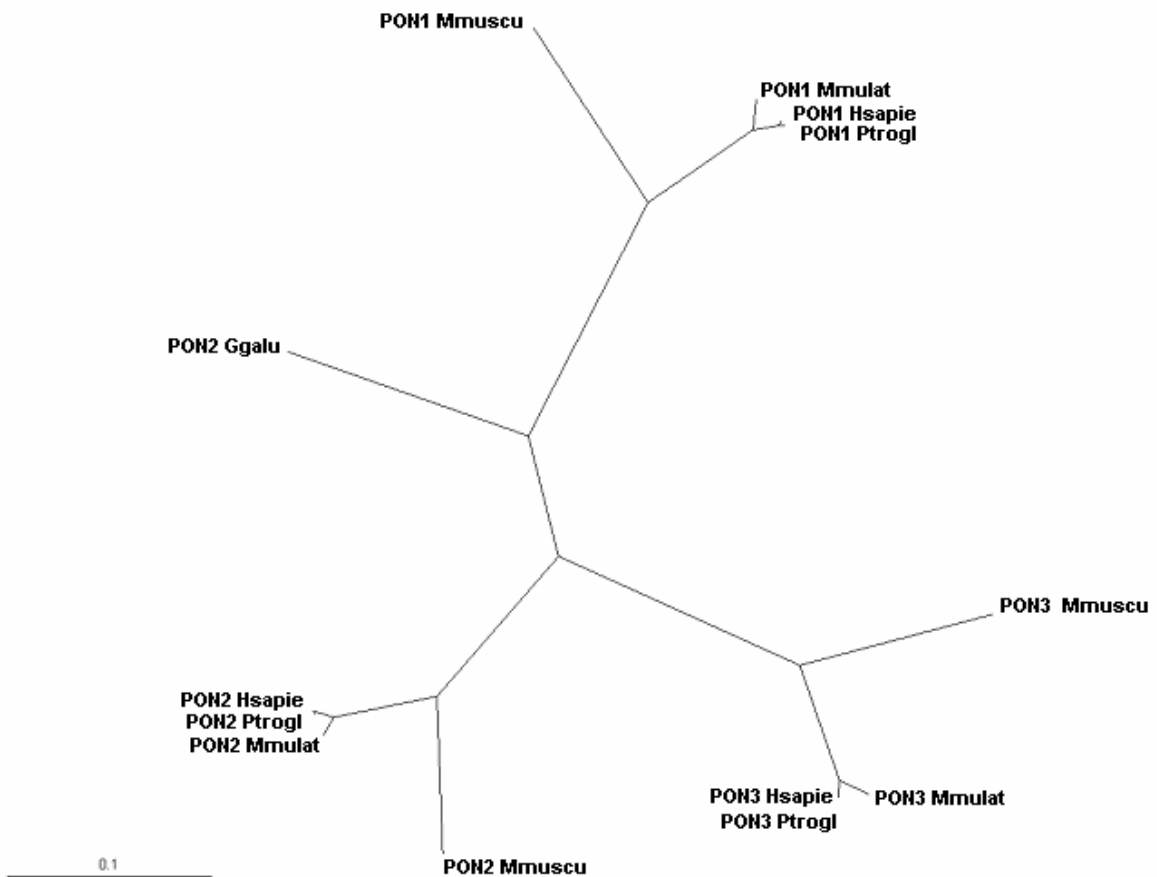


Figura 2. Árvore filogenética gerada com os éxons dos genes *PON1*, *PON2* e *PON3*.

5. DISCUSSÃO

A comparação da composição nucleotídica dos genes *PON1*, *PON2* e *PON3* entre as quatro espécies analisadas não mostrou diferença significativa, bem como a comparação dentro de cada espécie entre os três genes. Os três genes mostraram uma maior proporção de A+T do que G+C, exceto o gene *PON2* em *Mus musculus*, que não apresenta diferença significativa entre essas proporções. Em relação aos íntrons, as comparações mostraram que entre os primatas não houve diferenças significativas das proporções de A+T e G+C, no entanto, essa proporção é diferente em *Mus musculus*, que tem mais G + C do que os primatas.

As comparações entre éxons e íntrons dentro de cada táxon, mostraram que no gene *PON1*, a proporção de A+T e G+C não difere significativamente, entretanto, no *PON2* e *PON3*, há maior proporção de G + C nos éxons do que nos íntrons.

GRAUR e LI (1999) observaram o padrão das mudanças de nucleotídeos em pseudogenes e relataram que 56,4% de todas as mutações resultam em alterações para A ou T, sendo que o esperado para mutações ao acaso, sem direcionamento de nucleotídeos, é 50%. Um motivo para que genes que não estejam sob seleção forte tenham uma taxa de mutação maior de G+C para A+T é que o padrão de metilação dos dinucleotídeos CpG facilita a conversão da citosina metilada em timina por desaminação. A tendência em pseudogenes é diminuir gradualmente as frequências dos dinucleotídeos CpG ao longo do tempo, aumentando assim a proporção de A+T. Embora os três genes tenham maior proporção de A + T, *PON2* e *PON3* tem maior proporção de G + C nos éxons que nos íntrons, o que pode indicar maior pressão seletiva nesses genes em comparação ao *PON1*, que não apresenta diferença entre éxons e íntrons, quanto à proporção G + C. Esse resultado também pode ser em decorrência de que *PON1* foi o último membro da família PON a surgir, segundo DRAGANOV et al. (2004).

Segundo GRAUR e LI (1999), os códons dos genes de mamíferos tendem a terminar com C ou G, o que não é verificado nos genes *PON1*, *PON2* e *PON3*, em primatas, os quais têm maior quantidade de A ou T nas últimas posições dos códons. A

última posição dos códons terminando em C ou G estão relacionadas com genes com alta expressão gênica e aqueles terminados com A ou T tem baixa expressão gênica. Isso pode indicar que esses genes são pouco expressos, de forma constitutiva. No entanto, nos genes *PON2* e *PON3* na espécie *Mus musculus*, não houve diferença entre as quantidades de códons terminando em C/G e A/T. Isso mostra que pode haver uma maior expressão desses genes nessa espécie, o que pode denotar maior importância funcional para o camundongo. Entretanto, esses resultados precisam de confirmação experimental.

As análises de K_a e K_s mostraram que existe maior proporção de mutações sinônimas (K_s) do que de mutações não sinônimas (K_a) nos três genes. Podemos ver isso também ao analisar os valores de K_a/K_s , pois se não houver seleção esse valor tende a 1 e os valores observados estão abaixo de 0,25 para *PON1*, abaixo de 0,12 para *PON2* e abaixo de 0,27 para *PON3*, indicando que a seleção deve ser maior no gene *PON2* (tabelas 12, 13 e 14). Isso também é corroborado pelos dados da tabela 11, na qual é mostrado que o *PON2* apresenta menor número de sítios polimórficos e mutações. É interessante notar também que o camundongo (*Mus musculus*), quando comparado com os primatas, tem o menor valor de K_a/K_s (0,17), em *PON1*, podendo significar uma maior seleção sobre esse gene nessa espécie.

Em *PON2* e *PON3*, a relação de K_a/K_s entre *Homo sapiens* e *Pan troglodytes* foi igual a zero, provavelmente devido à grande semelhança do genoma dessas espécies, pois o alinhamento desses genes mostrou que inclusive os íntrons são bastante semelhantes. Em *PON1*, essa relação foi de 0,21, o que pode significar que *PON1* nessas espécies talvez não tenha uma função essencial.

Entre os primatas analisados, tanto os éxons quanto os íntrons estão bem conservados. Os éxons também estão conservados, quando comparamos o homem e o camundongo, além disso, várias regiões dos íntrons estão conservadas entre o homem e o camundongo e isso indica que essas regiões devem ter uma importância funcional para que mantivessem essa identidade por tanto tempo, pois a separação das linhagens que deram origem aos roedores e primatas aconteceu a cerca de 80 milhões de anos. Uma das possíveis funções dessas regiões intrônicas seria a de regulação gênica, por isso investigamos a presença de sítios de ligação de proteínas regulatórias.

Ao analisar mais detalhadamente as funções das proteínas regulatórias, cujos sítios de ligação foram encontrados no íntron 1 para o gene *PON1*, observou-se que HNF4 tem importância para a regulação de muitos genes expressos no fígado (ODOM et al., 2004). Provavelmente nem todos os sítios encontrados (Apêndice 2) são funcionais ou têm importância para os três genes, mas isso requer mais investigações para determinar a importância dessas regiões. NOBREGA et al. (2003) compararam uma região não gênica entre humano e camundongo e encontraram 1098 regiões conservadas (pelo menos 100pb com > 70% de identidade) em um segmento de 2630kb. Eles expandiram a análise para outros invertebrados (peixes e anfíbios) e o número de regiões conservadas caiu para 32. Com base nesses dados, seria interessante incluir nas comparações outras espécies mais distantes evolutivamente, o que será feito na continuidade do projeto.

A árvore filogenética apresentada na figura 2 difere da árvore mostrada na figura 1 (DRAGANOV et al. 2004), uma vez que essa árvore mostra *PON1* e *PON3* mais próximos enquanto que a do presente estudo mostra *PON2* e *PON3* mais próximos. No entanto, no trabalho de DRAGANOV et al. (2004) não foi explicitada a metodologia da construção da árvore, nem o tipo de seqüência utilizada.

6. CONCLUSÕES

A composição nucleotídica dos três genes nas quatro espécies é homogênea.

Os três genes nas quatro espécies apresentam maior quantidade de A+T do que G+C, exceto o gene *PON2* em *Mus musculus*, no qual a proporção de A+T não difere de G+C.

Os éxons dos três genes estão conservados nas quatro espécies.

Os íntrons estão conservados nos primatas.

O uso dos códons nos genes *PON2* e *PON3* na espécie *Mus musculus* indicam que esses genes podem ter uma maior expressão nessa espécie.

Os valores de Ka/Ks indicam haver maior pressão de seleção no gene *PON2*.

Existem regiões nos íntrons que estão conservadas entre camundongo e o homem.

Nas regiões conservadas dos íntrons, existem diversos sítios de ligação para fatores de transcrição.

Árvore Filogenética mostrou que os genes *PON2* e *PON3* estão mais próximos entre si.

REFERÊNCIAS

AUGUSTINSSON, K.B. In: Van Thoai N, Roche J (eds) Homologous enzymes and biochemical evolution. **Gordon and Breach**, New York, pp 299–311, 1968

BARGOTA, R. S.; AKHTAR, M.; BIGGADIKE, K.; GANI, D.; ALLEMANN, R. K. Structure–activity relationship on human serum paraoxonase (PON1) using substrate analogues and inhibitors. **Bioorg Med Chem Lett**, 13(10) : 1623-6, 2003.

BIGGADIKE, K.; ANGELL, R.M.; BURGESS, C.M.; FARRELL, R.M.; HANCOCK, A.P.; HARKER, A.J.; IRVING, W.R.; IOANNOU, C.; PROCOPIOU, P.A.; SHAW, R.E.; SOLANKE, Y.E.; SINGH, O.M.; SNOWDEN, M.A.; STUBBS, R.J.; WALTON, S.; WESTON, H.E. Selective plasma hydrolysis of glucocorticoidgamma-lactones and cyclic carbonates by the enzyme paraoxonase: an ideal plasma inactivation mechanism. **J Med Chem** 43:19–21, 2000.

BILLECKE, S.; DRAGANOV, D.; COUNSELL, R.; STETSON, P.; WATSON, C.; HSU, C.; LA DU, B.N. Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. **Drug Metab Dispos** 28:1335–1342, 2000.

BOEMI, M.; LEVIEV, I.; SIROLLA, C.; PIERI, C.; MARRA, M.; JAMES, R.W. Serum paraoxonase is reduced in type 1 diabetic patients compared to non-diabetic, first degree relatives; influence on the ability of HDL to protect LDL from oxidation. **Atherosclerosis**155:229–235, 2001.

CELLINI, E.; TEDDE, A.; BAGNOLI, S.; NACMIAS, B.; PIACENTINI, S.; BESSI, V.; BRACCO, L.; SORBI, S. Association analysis of the paraoxonase-1 gene with Alzheimer's disease. **Neurosci Lett**, 408(3): 199-202., 2006.

COLLARES, T. **Animais Transgênicos: Princípios & Métodos**. São Carlos: Suprema, 62-3, 2005

DRAGANOV, D.I.; STETSON, P.L.; WATSON, C.E.; BILLECKE, S.S.; LA DU, B.N. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high densitylipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. **J Biol Chem**. 275:33435–33442, 2004.

FELSENSTEIN, J. Numerical methods for inferring evolutionary trees. **Quarterly Review of Biology**. 57: 379-404. 1982.

GENEBANK: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide> acessado em 13/12/2006 às 10h30.

GRAUR, D.; LI, W.H. **Fundamentals of molecular evolution**. Sunderland: Sinauer Associates Inc, 2000.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S.R.; LEWONTIN, R.C.; GELBART, W.N.; SUZUKI, D.T.; MILLER, J.H. **Introdução à Genética**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 304-6, 2006.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucl. Acids. Symp. Ser.** 41:95-98, 1999.

- HAREL, M.; AHARONI, A.; GAIDUKOV, L.; BRUMSHTEIN, B.; KHERSONSKY, O.; MEGED, R.; DVIR, H.; RAVELI, R. B. G.; McCARTHY, A.; TOKER, L.; SILMAN, I.; SUSSMAN, J. L.; TAWFIK, D. S. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. **Nat Struct Mol Biol**, 11(5) : 412-9. 2004.
- HASSET, C.; RICHTER, R. J.; HUMBERT, R.; CHAPLINE, C.; CRABB, J. W.; OMIECINSKI, C. J.; FURLONG, C. E. Characterization of cDNA clones encoding rabbit and human serum paraoxonase: the mature protein retains its signal sequence. **Biochemistry**, 30(42):10141-9. 1991
- HOFER, S. E.; BENNETTS, B.; CHAN, A. K.; HOLLOWAY, B.; KARSCHIMKUS, C.; JENKINS, A. J.; SILINK, M.; DONAGHUE, K. C. Association between PON 1 polymorphisms, PON activity and diabetes complications. **J Diabetes Complications**, 20(5) : 322-8, 2006.
- HORKE, S.; WITTE, I.; WILGENBUS, P.; STRAND, U.; FORSTERMANN, U.; The Human antioxidative enzyme paraoxonase 2 (PON2): Modulation of ER stress-induced apoptosis and its interaction with the transcription factor TFII-1. 76th Congress of the European Atherosclerosis Society, June 10–13, 2007
- HU, Y.; TIAN, H.; LIU, R. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase 1 is associated with carotid intima-media thickness in patients of type 2 diabetes mellitus of Chinese. **Diabetes Res Clin Pract.** 61(1):21-7. 2003
- JAKUBOWSKI, H. Calcium-dependent human serum homocysteinethiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. **J Biol Chem** 275:3957–3962, 2000.
- KAO, Y.L.; DONAGHUE, K.; CHAN, A.; KNIGHT, J.; SILINK, M. A variant of paraoxonase (PON1) gene is associated with diabetic retinopathy in IDDM. **J Clin Endocrinol Metab** 83:2589–2592, 1998.
- KOBAYASHI, M.; SHINOHARA, M.; SAKOH, C.; KATAOKA, M.; SHIMIZU, S. Lactone-ring-cleaving enzyme: genetic analysis, novel RNA editing, and evolutionary implications. **Proc Natl Acad Sci USA** 95:2787–12792, 1999.
- KOCH, M.; HERING, S.; BARTH, C.; EHREN, M.; ENDERLE, M.D.; PFOHL, M. Paraoxonase 1 192 Gln/Arg gene polymorphism and cerebrovascular disease: interaction with type 2 diabetes. **Exp Clin Endocrinol Diabetes** 109:141–145, 2001.
- KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics** 5:150-163, 2004.
- LA DU, B.N. Human serum paraoxonase/arylesterase. In: Kalow W (ed) Genetic factors influencing the metabolism of foreign compounds (International encyclopedia of pharmacology and therapeutics). **Pergamon Press**, New York, pp 51–91, 1992.
- LA DU, B.N.; AVIRAM, M.; BILLECKE, S.; NAVAB, N.; PRIMO-PARMO, S.; SORENSON, R.C.; STANDIFORD, T.J. On the physiological role(s) of the paraoxonases. **Chem Biol Interact** 119-120:379– 388, 1999.

MACKNESS, B.; DURRINGTON, P.N.; MACKNESS, M.I. PON1 and other diseases. In: COSTA, L.G.; FURLONG, C.E. (eds) Paraoxonase (PON1) in health and disease. Kluwer, **Norwell**, pp 185–195, 2002.

MARCHEGIANI, F.; MARRA, M.; SPAZZAFUMO, L.; JAMES, R.W.; BOEMI, M.; OLIVIERI, F.; CARDELLI, M.; CAVALLONE, L.; BONFIGLI, A.R.; FRANCESCHI, C. Paraoxonase activity and genotype predispose to successful aging. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, 61(6) 541-6, 2006.

MOCHIZUKI, H.; SCHERER, S.W.; XI, T.; NICKLE, D.C.; MAJER, M.; HUIZENGA J.J.; TSUI, L.C.; PROCHAZKA, M. Human PON2 gene at 7q21.3: cloning, multiple mRNA forms, and missense polymorphisms in the coding sequence. **Gene** 213:149–157, 1998.

MULAN: <http://mulan.dcode.org/> acessado em 14/06/2007 às 9h40.

MURATA, M.; NAKAGAWA, M.; TAKAHASHI. Molecular variant of the human paraoxonase/arylesterase gene is associated with central retinal vein occlusion in the Japanese population. **Ophthalmologica** 212:257–259, 1998.

NG, C.J.; WADLEIGH, D.J.; GANGOPADHYAY, A.; HAMA, S.; GRIJALVA, V.R. NAVAB, M.; FOGELMAN, A.M.; REDDY, S.T. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. **J Biol Chem** 276:44444–44449, 2001.

NGUYEN, S. D.; SOK, D. E. Beneficial effect of oleoylated lipids on paraoxonase 1: protection against oxidative inactivation and stabilization. **Biochem J**, 375(Pt 2) : 275-85, 2003.

NOBREGA, M.A.; OVCHARENKO, I.; AFZAL, V.; RUBIN, E.M. Scanning human gene deserts for long-range enhancers. **Science** Vol. 302 – 5644 : 413, 2003.

ODOM, D. T.; ZIZLSPERGER, N.; GORDON, D. B.; BELL, G. W.; RINALDI, N. J.; MURRAY, H. L.; VOLKERT, T. L.; SCHREIBER, J.; ROLFE, P. A.; GIFFORD, D. K.; FRAENKEL, E.; BELL, G. I.; YOUNG, R. A. Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. **Science** 303: 1378-1381, 2004.

OSEI-HYIAMAN, D.; HOU L, MENGBAI, F.; ZHIYIN, R.; ZHIMING, Z.; KANO, K. Coronary artery disease risk in Chinese type 2 diabetics: is there a role for paraoxonase 1 gene (Q192R) polymorphism? **Eur J Endocrinol** 144:639–644, 2001.

OZOLS, J. Isolation and complete covalent structure of liver microsomal paraoxonase. **Biochem J** 338:265–272, 1999.

PRIMO-PARMO, S.L.; SORENSON, R.C.; TEIBER, J.; LA DU, B.N. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. **Genomics** 33:498–507, 1996.

REDDY, S.T.; WADLEIGH, D.J.; GRIJALVA, V.; NG C.; HAMA, S.; GANGPADHYAY, A.; SHIH, D.M.; et al. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 21:542–547, 2001.

RODRIGO, L.; GIL, F.; HERNANDEZ, A.F.; LOPEZ, O.; PLA, A. Identification of paraoxonase 3 in rat liver microsomes. Purification and biochemical properties. **Biochem J** doi:10.1042/BJ20030732, 2003.

ROSENBLAT, M.; DRAGANOV, D.; WATSON, C.E.; BISGAIER, C.L.; LA DU, B.N.; AVIRAM, M. Mouse macrophage paraoxonase 2 activity is increased whereas cellular paraoxonase 3 activity is decreased under oxidative stress. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 23:468–474, 2003.

ROZAS, J.; SANCHEEZ-DeLBARRIO J. C.; MENENQUER, X.; ROZAS, R. DNASP DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. **Bioinformatics**: 19:2496-2497. 2003.

SORENSEN, R.C.; BISGAIER, C.L.; AVIRAM, M.; HSU, C.; BILLECKE, S.; LA DU, B.N. Human serum paraoxonase/arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with high density lipoproteins by binding phospholipids: apolipoprotein A-1 stabilizes activity. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 19:2214– 2225, 1999.

TEIBER, J.F.; DRAGANOV, D.I.; LA DU, B.N. Lactonase and lactonizing activities of human paraoxonase (PON1) and rabbit serum PON3. **Biochem Pharmacol** 66:887–896, 2003.

TEIBER, J. F.; BILLECKE, S. S.; LA DU, B. N.; DRAGANOV, D. I.; Estrogen esters as substrates for human paraoxonases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 461: 24–29, 2007.

YEUNG, D. T.; JOSSE, D.; NICHOLSON, J. D.; KHANAL, A.; McANDREW, C. W.; BAHNSON, B. J.; LENZ, D. E.; CERASOLI, D. M. Structure/function analyses of human serum paraoxonase (HuPON1) mutants designed from a DFPase-like homology model. **Biochim Biophys Acta**, 1702(1): 67-77, 2004.

APÊNDICES

Apêndice 1. Número de ocorrências dos códons e valor do uso relativo dos códons sinônimos

Apêndice 2. Fatores de transcrição

Apêndice 1

Número de ocorrências dos códons e valor do uso relativo dos códons sinônimos

UUU-F	10 (1,25)	UCU-S	7 (1,75)	UAU-Y	11 (1,29)	UGU-C	1 (1,00)
UUC-F	6 (0,75)	UCC-S	3 (0,75)	UAC-Y	6 (0,71)	UGC-C	1 (1,00)
UUA-L	5 (0,67)	UCA-S	4 (1,00)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	11 (1,47)	UCG-S	2 (0,50)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	4 (1,00)
CUU-L	10 (1,33)	CCU-P	11 (2,20)	CAU-H	8 (1,33)	CGU-R	0 (0,00)
CUC-L	6 (0,80)	CCC-P	5 (1,00)	CAC-H	4 (0,67)	CGC-R	0 (0,00)
CUA-L	2 (0,27)	CCA-P	4 (0,80)	CAA-Q	5 (1,25)	CGA-R	4 (4,00)
CUG-L	11 (1,47)	CCG-P	0 (0,00)	CAG-Q	3 (0,75)	CGG-R	0 (0,00)
AUU-I	8 (1,26)	ACU-T	4 (0,84)	AAU-N	14 (1,22)	AGU-S	5 (1,25)
AUC-I	6 (0,95)	ACC-T	3 (0,63)	AAC-N	9 (0,78)	AGC-S	3 (0,75)
AUA-I	5 (0,79)	ACA-T	12 (2,53)	AAA-K	12 (1,20)	AGA-R	1 (1,00)
AUG-M	6 (1,00)	ACG-T	0 (0,00)	AAG-K	8 (0,80)	AGG-R	1 (1,00)
GUU-V	7 (1,04)	GCU-A	8 (1,78)	GAU-D	11 (1,29)	GGU-G	1 (0,17)
GUC-V	2 (0,30)	GCC-A	3 (0,67)	GAC-D	6 (0,71)	GGC-G	7 (1,17)
GUA-V	3 (0,44)	GCA-A	4 (0,89)	GAA-E	16 (1,28)	GGA-G	12 (2,00)
GUG-V	15 (2,22)	GCG-A	3 (0,67)	GAG-E	9 (0,72)	GGG-G	4 (0,67)

Figura 3. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON1* na espécie humana, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	10 (1,25)	UCU-S	7 (1,75)	UAU-Y	11 (1,29)	UGU-C	1 (1,00)
UUC-F	6 (0,75)	UCC-S	3 (0,75)	UAC-Y	6 (0,71)	UGC-C	1 (1,00)
UUA-L	5 (0,67)	UCA-S	4 (1,00)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	11 (1,47)	UCG-S	2 (0,50)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	4 (1,00)
CUU-L	10 (1,33)	CCU-P	12 (2,40)	CAU-H	8 (1,33)	CGU-R	0 (0,00)
CUC-L	6 (0,80)	CCC-P	4 (0,80)	CAC-H	4 (0,67)	CGC-R	0 (0,00)
CUA-L	2 (0,27)	CCA-P	4 (0,80)	CAA-Q	5 (1,43)	CGA-R	5 (4,29)
CUG-L	11 (1,47)	CCG-P	0 (0,00)	CAG-Q	2 (0,57)	CGG-R	0 (0,00)
AUU-I	8 (1,20)	ACU-T	4 (0,84)	AAU-N	14 (1,22)	AGU-S	5 (1,25)
AUC-I	6 (0,90)	ACC-T	3 (0,63)	AAC-N	9 (0,78)	AGC-S	3 (0,75)
AUA-I	6 (0,90)	ACA-T	12 (2,53)	AAA-K	12 (1,20)	AGA-R	1 (0,86)
AUG-M	5 (1,00)	ACG-T	0 (0,00)	AAG-K	8 (0,80)	AGG-R	1 (0,86)
GUU-V	6 (0,89)	GCU-A	8 (1,78)	GAU-D	11 (1,29)	GGU-G	1 (0,17)
GUC-V	3 (0,44)	GCC-A	3 (0,67)	GAC-D	6 (0,71)	GGC-G	7 (1,17)
GUA-V	3 (0,44)	GCA-A	4 (0,89)	GAA-E	16 (1,28)	GGA-G	12 (2,00)
GUG-V	15 (2,22)	GCG-A	3 (0,67)	GAG-E	9 (0,72)	GGG-G	4 (0,67)

Figura 4. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON1* em *Pan troglodytes*, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	11 (1,29)	UCU-S	6 (1,64)	UAU-Y	10 (1,18)	UGU-C	1 (1,00)
UUC-F	6 (0,71)	UCC-S	4 (1,09)	UAC-Y	7 (0,82)	UGC-C	1 (1,00)
UUA-L	6 (0,78)	UCA-S	3 (0,82)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	10 (1,30)	UCG-S	2 (0,55)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	4 (1,00)
CUU-L	8 (1,04)	CCU-P	12 (2,40)	CAU-H	8 (1,33)	CGU-R	0 (0,00)
CUC-L	7 (0,91)	CCC-P	4 (0,80)	CAC-H	4 (0,67)	CGC-R	0 (0,00)
CUA-L	2 (0,26)	CCA-P	4 (0,80)	CAA-Q	6 (1,33)	CGA-R	3 (3,60)
CUG-L	13 (1,70)	CCG-P	0 (0,00)	CAG-Q	3 (0,67)	CGG-R	1 (1,20)
AUU-I	7 (1,17)	ACU-T	4 (0,84)	AAU-N	14 (1,12)	AGU-S	4 (1,09)
AUC-I	6 (1,00)	ACC-T	3 (0,63)	AAC-N	11 (0,88)	AGC-S	3 (0,82)
AUA-I	5 (0,83)	ACA-T	11 (2,32)	AAA-K	11 (1,10)	AGA-R	1 (1,20)
AUG-M	5 (1,00)	ACG-T	1 (0,21)	AAG-K	9 (0,90)	AGG-R	0 (0,00)
GUU-V	8 (1,10)	GCU-A	8 (1,78)	GAU-D	11 (1,38)	GGU-G	1 (0,17)
GUC-V	2 (0,28)	GCC-A	3 (0,67)	GAC-D	5 (0,63)	GGC-G	6 (1,04)
GUA-V	2 (0,28)	GCA-A	4 (0,89)	GAA-E	17 (1,36)	GGA-G	12 (2,09)
GUG-V	17 (2,34)	GCG-A	3 (0,67)	GAG-E	8 (0,64)	GGG-G	4 (0,70)

Figura 5. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON1* em *Macaca mulatta*, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	9 (1,13)	UCU-S	4 (1,00)	UAU-Y	9 (1,06)	UGU-C	1 (1,00)
UUC-F	7 (0,88)	UCC-S	7 (1,75)	UAC-Y	8 (0,94)	UGC-C	1 (1,00)
UUA-L	7 (0,98)	UCA-S	4 (1,00)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	7 (0,98)	UCG-S	2 (0,50)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	4 (1,00)
CUU-L	8 (1,12)	CCU-P	9 (1,89)	CAU-H	8 (1,45)	CGU-R	1 (0,86)
CUC-L	5 (0,70)	CCC-P	4 (0,84)	CAC-H	3 (0,55)	CGC-R	0 (0,00)
CUA-L	4 (0,56)	CCA-P	6 (1,26)	CAA-Q	3 (1,20)	CGA-R	1 (0,86)
CUG-L	12 (1,67)	CCG-P	0 (0,00)	CAG-Q	2 (0,80)	CGG-R	2 (1,71)
AUU-I	9 (1,23)	ACU-T	7 (1,22)	AAU-N	10 (0,95)	AGU-S	4 (1,00)
AUC-I	6 (0,82)	ACC-T	5 (0,87)	AAC-N	11 (1,05)	AGC-S	3 (0,75)
AUA-I	7 (0,95)	ACA-T	8 (1,39)	AAA-K	10 (1,00)	AGA-R	2 (1,71)
AUG-M	4 (1,00)	ACG-T	3 (0,52)	AAG-K	10 (1,00)	AGG-R	1 (0,86)
GUU-V	4 (0,53)	GCU-A	9 (1,89)	GAU-D	11 (1,16)	GGU-G	3 (0,55)
GUC-V	5 (0,67)	GCC-A	2 (0,42)	GAC-D	8 (0,84)	GGC-G	6 (1,09)
GUA-V	6 (0,80)	GCA-A	6 (1,26)	GAA-E	14 (1,17)	GGA-G	8 (1,45)
GUG-V	15 (2,00)	GCG-A	2 (0,42)	GAG-E	10 (0,83)	GGG-G	5 (0,91)

Figura 6. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON1* em *Mus musculus*, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	8 (1,00)	UCU-S	8 (2,00)	UAU-Y	9 (1,29)	UGU-C	2 (1,33)
UUC-F	8 (1,00)	UCC-S	2 (0,50)	UAC-Y	5 (0,71)	UGC-C	1 (0,67)
UUA-L	7 (0,89)	UCA-S	5 (1,25)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	8 (1,02)	UCG-S	2 (0,50)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	2 (1,00)
CUU-L	7 (0,89)	CCU-P	7 (1,47)	CAU-H	7 (0,93)	CGU-R	1 (0,55)
CUC-L	9 (1,15)	CCC-P	2 (0,42)	CAC-H	8 (1,07)	CGC-R	1 (0,55)
CUA-L	4 (0,51)	CCA-P	8 (1,68)	CAA-Q	1 (0,50)	CGA-R	1 (0,55)
CUG-L	12 (1,53)	CCG-P	2 (0,42)	CAG-Q	3 (1,50)	CGG-R	2 (1,09)
AUU-I	8 (1,14)	ACU-T	5 (1,43)	AAU-N	17 (1,48)	AGU-S	5 (1,25)
AUC-I	8 (1,14)	ACC-T	0 (0,00)	AAC-N	6 (0,52)	AGC-S	2 (0,50)
AUA-I	5 (0,71)	ACA-T	9 (2,57)	AAA-K	10 (1,11)	AGA-R	4 (2,18)
AUG-M	4 (1,00)	ACG-T	0 (0,00)	AAG-K	8 (0,89)	AGG-R	2 (1,09)
GUU-V	11 (1,52)	GCU-A	6 (1,09)	GAU-D	13 (1,18)	GGU-G	2 (0,35)
GUC-V	1 (0,14)	GCC-A	6 (1,09)	GAC-D	9 (0,82)	GGC-G	7 (1,22)
GUA-V	7 (0,97)	GCA-A	8 (1,45)	GAA-E	18 (1,57)	GGA-G	7 (1,22)
GUG-V	10 (1,38)	GCG-A	2 (0,36)	GAG-E	5 (0,43)	GGG-G	7 (1,22)

Figura 7. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON2* na espécie humana, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	8 (1,00)	UCU-S	8 (2,00)	UAU-Y	9 (1,29)	UGU-C	2 (1,33)
UUC-F	8 (1,00)	UCC-S	2 (0,50)	UAC-Y	5 (0,71)	UGC-C	1 (0,67)
UUA-L	7 (0,89)	UCA-S	5 (1,25)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	8 (1,02)	UCG-S	2 (0,50)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	2 (1,00)
CUU-L	7 (0,89)	CCU-P	7 (1,47)	CAU-H	7 (0,93)	CGU-R	1 (0,55)
CUC-L	9 (1,15)	CCC-P	2 (0,42)	CAC-H	8 (1,07)	CGC-R	1 (0,55)
CUA-L	4 (0,51)	CCA-P	8 (1,68)	CAA-Q	1 (0,50)	CGA-R	1 (0,55)
CUG-L	12 (1,53)	CCG-P	2 (0,42)	CAG-Q	3 (1,50)	CGG-R	2 (1,09)
AUU-I	8 (1,14)	ACU-T	5 (1,43)	AAU-N	17 (1,48)	AGU-S	4 (1,00)
AUC-I	8 (1,14)	ACC-T	0 (0,00)	AAC-N	6 (0,52)	AGC-S	3 (0,75)
AUA-I	5 (0,71)	ACA-T	9 (2,57)	AAA-K	10 (1,11)	AGA-R	4 (2,18)
AUG-M	4 (1,00)	ACG-T	0 (0,00)	AAG-K	8 (0,89)	AGG-R	2 (1,09)
GUU-V	11 (1,52)	GCU-A	6 (1,09)	GAU-D	14 (1,27)	GGU-G	2 (0,35)
GUC-V	1 (0,14)	GCC-A	6 (1,09)	GAC-D	8 (0,73)	GGC-G	7 (1,22)
GUA-V	7 (0,97)	GCA-A	8 (1,45)	GAA-E	18 (1,57)	GGA-G	7 (1,22)
GUG-V	10 (1,38)	GCG-A	2 (0,36)	GAG-E	5 (0,43)	GGG-G	7 (1,22)

Figura 8. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON2* em *Pan troglodytes*, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	7 (0,88)	UCU-S	8 (1,92)	UAU-Y	9 (1,29)	UGU-C	2 (1,33)
UUC-F	9 (1,13)	UCC-S	1 (0,24)	UAC-Y	5 (0,71)	UGC-C	1 (0,67)
UUA-L	6 (0,77)	UCA-S	6 (1,44)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	10 (1,28)	UCG-S	2 (0,48)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	2 (1,00)
CUU-L	6 (0,77)	CCU-P	8 (1,60)	CAU-H	7 (1,00)	CGU-R	1 (0,55)
CUC-L	10 (1,28)	CCC-P	3 (0,60)	CAC-H	7 (1,00)	CGC-R	1 (0,55)
CUA-L	4 (0,51)	CCA-P	6 (1,20)	CAA-Q	2 (1,00)	CGA-R	1 (0,55)
CUG-L	11 (1,40)	CCG-P	3 (0,60)	CAG-Q	2 (1,00)	CGG-R	2 (1,09)
AUU-I	9 (1,35)	ACU-T	4 (1,23)	AAU-N	17 (1,42)	AGU-S	5 (1,20)
AUC-I	7 (1,05)	ACC-T	0 (0,00)	AAC-N	7 (0,58)	AGC-S	3 (0,72)
AUA-I	4 (0,60)	ACA-T	8 (2,46)	AAA-K	10 (1,11)	AGA-R	4 (2,18)
AUG-M	4 (1,00)	ACG-T	1 (0,31)	AAG-K	8 (0,89)	AGG-R	2 (1,09)
GUU-V	11 (1,52)	GCU-A	6 (1,04)	GAU-D	13 (1,24)	GGU-G	3 (0,52)
GUC-V	1 (0,14)	GCC-A	6 (1,04)	GAC-D	8 (0,76)	GGC-G	7 (1,22)
GUA-V	8 (1,10)	GCA-A	8 (1,39)	GAA-E	18 (1,57)	GGA-G	8 (1,39)
GUG-V	9 (1,24)	GCG-A	3 (0,52)	GAG-E	5 (0,43)	GGG-G	5 (0,87)

Figura 9. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON2* em *Macaca mulatta*, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	8 (0,94)	UCU-S	5 (1,20)	UAU-Y	5 (0,71)	UGU-C	2 (1,33)
UUC-F	9 (1,06)	UCC-S	5 (1,20)	UAC-Y	9 (1,29)	UGC-C	1 (0,67)
UUA-L	3 (0,38)	UCA-S	3 (0,72)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	9 (1,13)	UCG-S	2 (0,48)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	3 (1,00)
CUU-L	5 (0,63)	CCU-P	8 (1,60)	CAU-H	4 (0,57)	CGU-R	0 (0,00)
CUC-L	12 (1,50)	CCC-P	2 (0,40)	CAC-H	10 (1,43)	CGC-R	1 (0,55)
CUA-L	4 (0,50)	CCA-P	7 (1,40)	CAA-Q	4 (0,89)	CGA-R	1 (0,55)
CUG-L	15 (1,88)	CCG-P	3 (0,60)	CAG-Q	5 (1,11)	CGG-R	2 (1,09)
AUU-I	11 (1,50)	ACU-T	4 (1,14)	AAU-N	10 (1,05)	AGU-S	6 (1,44)
AUC-I	6 (0,82)	ACC-T	3 (0,86)	AAC-N	9 (0,95)	AGC-S	4 (0,96)
AUA-I	5 (0,68)	ACA-T	5 (1,43)	AAA-K	11 (1,22)	AGA-R	4 (2,18)
AUG-M	5 (1,00)	ACG-T	2 (0,57)	AAG-K	7 (0,78)	AGG-R	3 (1,64)
GUU-V	9 (1,29)	GCU-A	6 (1,26)	GAU-D	10 (0,95)	GGU-G	0 (0,00)
GUC-V	5 (0,71)	GCC-A	5 (1,05)	GAC-D	11 (1,05)	GGC-G	11 (1,91)
GUA-V	4 (0,57)	GCA-A	4 (0,84)	GAA-E	13 (1,24)	GGA-G	6 (1,04)
GUG-V	10 (1,43)	GCG-A	4 (0,84)	GAG-E	8 (0,76)	GGG-G	6 (1,04)

Figura 10. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON2* em *Mus musculus*, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	12 (1,41)	UCU-S	7 (1,83)	UAU-Y	10 (1,43)	UGU-C	2 (1,00)
UUC-F	5 (0,59)	UCC-S	4 (1,04)	UAC-Y	4 (0,57)	UGC-C	2 (1,00)
UUA-L	5 (0,73)	UCA-S	3 (0,78)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	5 (0,73)	UCG-S	0 (0,00)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	2 (1,00)
CUU-L	10 (1,46)	CCU-P	7 (1,47)	CAU-H	6 (1,09)	CGU-R	1 (0,60)
CUC-L	5 (0,73)	CCC-P	2 (0,42)	CAC-H	5 (0,91)	CGC-R	2 (1,20)
CUA-L	2 (0,29)	CCA-P	10 (2,11)	CAA-Q	5 (1,00)	CGA-R	1 (0,60)
CUG-L	14 (2,05)	CCG-P	0 (0,00)	CAG-Q	5 (1,00)	CGG-R	0 (0,00)
AUU-I	7 (1,00)	ACU-T	7 (1,87)	AAU-N	10 (1,00)	AGU-S	7 (1,83)
AUC-I	8 (1,14)	ACC-T	6 (1,60)	AAC-N	10 (1,00)	AGC-S	2 (0,52)
AUA-I	6 (0,86)	ACA-T	2 (0,53)	AAA-K	13 (1,30)	AGA-R	2 (1,20)
AUG-M	8 (1,00)	ACG-T	0 (0,00)	AAG-K	7 (0,70)	AGG-R	4 (2,40)
GUU-V	5 (0,59)	GCU-A	4 (0,89)	GAU-D	10 (1,11)	GGU-G	1 (0,17)
GUC-V	6 (0,71)	GCC-A	6 (1,33)	GAC-D	8 (0,89)	GGC-G	7 (1,22)
GUA-V	6 (0,71)	GCA-A	5 (1,11)	GAA-E	16 (1,23)	GGA-G	8 (1,39)
GUG-V	17 (2,00)	GCG-A	3 (0,67)	GAG-E	10 (0,77)	GGG-G	7 (1,22)

Figura 11. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON3* na espécie humana, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	12 (1,41)	UCU-S	7 (1,83)	UAU-Y	10 (1,43)	UGU-C	2 (1,00)
UUC-F	5 (0,59)	UCC-S	4 (1,04)	UAC-Y	4 (0,57)	UGC-C	2 (1,00)
UUA-L	5 (0,73)	UCA-S	3 (0,78)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	5 (0,73)	UCG-S	0 (0,00)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	2 (1,00)
CUU-L	10 (1,46)	CCU-P	7 (1,47)	CAU-H	6 (1,09)	CGU-R	1 (0,60)
CUC-L	5 (0,73)	CCC-P	2 (0,42)	CAC-H	5 (0,91)	CGC-R	2 (1,20)
CUA-L	2 (0,29)	CCA-P	10 (2,11)	CAA-Q	5 (1,00)	CGA-R	1 (0,60)
CUG-L	14 (2,05)	CCG-P	0 (0,00)	CAG-Q	5 (1,00)	CGG-R	0 (0,00)
AUU-I	7 (1,00)	ACU-T	7 (1,87)	AAU-N	10 (1,00)	AGU-S	7 (1,83)
AUC-I	8 (1,14)	ACC-T	6 (1,60)	AAC-N	10 (1,00)	AGC-S	2 (0,52)
AUA-I	6 (0,86)	ACA-T	2 (0,53)	AAA-K	13 (1,30)	AGA-R	2 (1,20)
AUG-M	8 (1,00)	ACG-T	0 (0,00)	AAG-K	7 (0,70)	AGG-R	4 (2,40)
GUU-V	5 (0,59)	GCU-A	4 (0,89)	GAU-D	10 (1,11)	GGU-G	1 (0,17)
GUC-V	6 (0,71)	GCC-A	6 (1,33)	GAC-D	8 (0,89)	GGC-G	7 (1,22)
GUA-V	6 (0,71)	GCA-A	5 (1,11)	GAA-E	16 (1,23)	GGA-G	8 (1,39)
GUG-V	17 (2,00)	GCG-A	3 (0,67)	GAG-E	10 (0,77)	GGG-G	7 (1,22)

Figura 12. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON3* em *Pan troglodytes*, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	11 (1,29)	UCU-S	6 (1,64)	UAU-Y	11 (1,57)	UGU-C	2 (1,00)
UUC-F	6 (0,71)	UCC-S	4 (1,09)	UAC-Y	3 (0,43)	UGC-C	2 (1,00)
UUA-L	6 (0,86)	UCA-S	3 (0,82)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	5 (0,71)	UCG-S	0 (0,00)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	2 (1,00)
CUU-L	10 (1,43)	CCU-P	7 (1,40)	CAU-H	6 (1,09)	CGU-R	1 (0,55)
CUC-L	3 (0,43)	CCC-P	3 (0,60)	CAC-H	5 (0,91)	CGC-R	3 (1,64)
CUA-L	1 (0,14)	CCA-P	10 (2,00)	CAA-Q	5 (0,91)	CGA-R	1 (0,55)
CUG-L	17 (2,43)	CCG-P	0 (0,00)	CAG-Q	6 (1,09)	CGG-R	0 (0,00)
AUU-I	7 (0,95)	ACU-T	6 (1,71)	AAU-N	10 (1,11)	AGU-S	7 (1,91)
AUC-I	9 (1,23)	ACC-T	6 (1,71)	AAC-N	8 (0,89)	AGC-S	2 (0,55)
AUA-I	6 (0,82)	ACA-T	2 (0,57)	AAA-K	14 (1,40)	AGA-R	3 (1,64)
AUG-M	8 (1,00)	ACG-T	0 (0,00)	AAG-K	6 (0,60)	AGG-R	3 (1,64)
GUU-V	4 (0,48)	GCU-A	4 (0,84)	GAU-D	10 (1,11)	GGU-G	1 (0,17)
GUC-V	6 (0,73)	GCC-A	6 (1,26)	GAC-D	8 (0,89)	GGC-G	7 (1,22)
GUA-V	8 (0,97)	GCA-A	7 (1,47)	GAA-E	15 (1,20)	GGA-G	8 (1,39)
GUG-V	15 (1,82)	GCG-A	2 (0,42)	GAG-E	10 (0,80)	GGG-G	7 (1,22)

Figura 13. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON3* em *Macaca mulatta*, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

UUU-F	9 (1,29)	UCU-S	6 (1,57)	UAU-Y	9 (1,50)	UGU-C	2 (1,00)
UUC-F	5 (0,71)	UCC-S	3 (0,78)	UAC-Y	3 (0,50)	UGC-C	2 (1,00)
UUA-L	4 (0,55)	UCA-S	4 (1,04)	UAA-*	0 (0,00)	UGA-*	0 (0,00)
UUG-L	7 (0,95)	UCG-S	0 (0,00)	UAG-*	0 (0,00)	UGG-W	2 (1,00)
CUU-L	8 (1,09)	CCU-P	6 (1,20)	CAU-H	4 (0,67)	CGU-R	0 (0,00)
CUC-L	5 (0,68)	CCC-P	3 (0,60)	CAC-H	8 (1,33)	CGC-R	2 (1,20)
CUA-L	4 (0,55)	CCA-P	9 (1,80)	CAA-Q	6 (1,00)	CGA-R	2 (1,20)
CUG-L	16 (2,18)	CCG-P	2 (0,40)	CAG-Q	6 (1,00)	CGG-R	0 (0,00)
AUU-I	6 (0,78)	ACU-T	9 (1,71)	AAU-N	7 (0,78)	AGU-S	5 (1,30)
AUC-I	10 (1,30)	ACC-T	5 (0,95)	AAC-N	11 (1,22)	AGC-S	5 (1,30)
AUA-I	7 (0,91)	ACA-T	6 (1,14)	AAA-K	10 (1,00)	AGA-R	4 (2,40)
AUG-M	8 (1,00)	ACG-T	1 (0,19)	AAG-K	10 (1,00)	AGG-R	2 (1,20)
GUU-V	5 (0,74)	GCU-A	6 (1,20)	GAU-D	11 (1,00)	GGU-G	2 (0,36)
GUC-V	6 (0,89)	GCC-A	7 (1,40)	GAC-D	11 (1,00)	GGC-G	6 (1,09)
GUA-V	4 (0,59)	GCA-A	3 (0,60)	GAA-E	10 (1,00)	GGA-G	7 (1,27)
GUG-V	12 (1,78)	GCG-A	4 (0,80)	GAG-E	10 (1,00)	GGG-G	7 (1,27)

Figura 14. Códons da região codificadora da proteína madura do gene *PON3* em *Mus musculus*, seguidos da abreviação do aminoácido, do número de ocorrência e em parênteses o valor do uso relativo dos códons sinônimos (RSCU).

CDP_02		X						
CDPCR1_01		X						
CDPCR3_01			X					
CDPCR3HD_01					X		X	X
CDXA_01					X		X	X
CEBP_C						X		
CEBP_Q3						X		
CEBPB_02						X		
CHX10_01_3		X	X				X	X
CIZ_01	X				X			
CLOX_01		X						
CMAF_01					X			
CMYB_01					X	X		
COUP_DR1_Q6		X						
CREB_Q2					X			
CREB_Q2_01					X			
CREB_Q3					X			
CREB_Q4					X			
CREB_Q4_01					X			
CREBATF_Q6					X			
CREBP1_Q2					X			
CREL_01					X			
CRX_Q4							X	X
DEAF1_01					X			
DR1_Q3	X	X						
E2_Q6					X			
E2F1DP1_01				X		X		
E47_02		X						
EGR1_01		X						
EGR2_01					X			
EGR3_01	X	X			X			
ELF1_Q6		X						
EN1_01		X						
ER_Q6_02		X		X				
ETS_Q6		X						
ETS2_B								X
EVI1_02	X							
EVI1_06	X	X						
FKB_C					X			
FKB_Q6					X			
FOX_Q2		X						
FOXM1_01					X			
FOXO1_02		X						
FOXO4_01		X			X			
FOXO4_02	X	X						

FREAC2_01			X					X	X
FREAC4_01			X	X					
FXR_IR1_Q6			X						
ER_Q6_02	X								
ERR1_Q2			X						
GATA_C	X	X							
GATA_Q6							X		
GATA1_01				X					
GATA1_03						X		X	X
GATA1_04	X	X							
GATA1_05	X								
GATA1_06			X	X					
GATA2_02	X								
GATA2_03	X		X	X					
GATA3_02			X						
GATA6_01			X						
GCMF_01			X				X		
GEN_INI_B					X	X			
GEN_INI3_B3			X		X	X			
GFI1_Q6								X	X
GR_Q6_01	X				X				
HEB_Q6				X		X			
HELIOSA_01			X						
HES1_Q2			X						
HIF1_Q3	X								
HNF1_01			X	X					
HNF1_C			X						
HNF1_Q6			X	X					
HNF3_Q6	X		X					X	X
HNF3ALPHA_Q6	X		X						
HNF3B_01			X						
HNF4_01_B	X		X						
HNF4_DR1_Q33	X		X	X					
HNF4_Q6_02			X			X			
HNF6_Q6								X	X
HOX13_01								X	
HOXA4_Q2			X					X	X
HOXA7_01	X		X						
HSF1_01						X			
HSF2_01			X			X			
HSF_Q6	X								
HTF_01			X						
IK1_01				X		X			
IK2_01			X			X			
IK3_01				X					

OCT1_04			X					
OCT1_06			X				X	X
OCT1_B		X			X			
OCT1_Q5_01		X						
OCT1_Q6		X		X				
OSF2_Q6		X						
OTX_Q1		X					X	
P1_01					X			
P300_01							X	X
P53_DECAMER_Q2		X						
PAX_Q6							X	X
PAX4_02		X						
PAX4_04		X					X	X
PAX6_01				X			X	X
PAX6_01				X				
PAX8_01	X							
PBX1_01		X						
PBX1_02	X						X	X
PBX1_03					X		X	X
PBX_Q3		X		X				
PEBP_Q6		X	X					
PITX2_Q2		X						
PLZF_02							X	X
POU1F1_Q6								X
POU3F2_01								X
POU6F1_01							X	X
PPAR_DR1_Q2		X						
PPARA_02					X			
PPARG_01	X	X						
PPARG_03		X						
PR_01							X	X
PR_02							X	X
PR_Q2	X							
PTF1BETA_Q6	X							
PXR_Q2		X						
RBPJK_01							X	X
RBPJK_Q4					X			
RFX1_01		X						
RFX1_02		X						
RORA1_01	X	X						
RORA2_01					X	X		
RP58_01		X						
S8_01		X			X		X	X
SF1_Q6							X	X
SMAD_Q6		X						

SMAD3_Q6		X					X	X
SOX_Q6						X	X	
SREBP_Q3	X	X						
SREBP1_02			X					
SRY_01	X					X		
STAF_01						X		
STAF_02	X					X		
STAT_01							X	
STAT3_02	X							
STAT5B_01				X				
SZF11_01			X			X		
T3R_01	X					X		
T3R_Q6					X			
TAL1_Q6	X		X	X				
TATA_C					X			
TAXCREB_02			X					
TBX5_01						X		
TBX5_Q5	X		X					
TBX5B_01						X		
TCF4_Q5_3			X	X		X		X
TCF11_01			X					
TEF1_Q6					X			
TFE_Q6								X
TFIII_Q6							X	X
TITF1_Q3	X							
TTF1_Q6	X							
TST_01	X				X	X		
USF_02								X
VMYB_01							X	X
VMYB_02								X
XFD2_01			X					
XFD3_01			X					
YY1_Q6			X					
ZTA_Q2			X					X

X = PON1

X = PON2

X = PON3

Nome do fator = Fator que coincidiu no mesmo íntron encontrado em genes diferentes.

Nome do fator = Fator que está em diferentes íntrons encontrado em genes diferentes.

Nome do fator = Fator que está no mesmo gene em mais de um íntron.

3 = Fator que está presente nos três genes.