

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
BIOQUÍMICA

Lavínia Perquim de Carvalho

**DESREGULAÇÃO PROGRESSIVA DE RNAs CIRCULARES NO  
HIPOCAMPO DE UM MODELO ANIMAL TRANSGÊNICO DE AMILOIDOSE**

Porto Alegre

2023

Lavínia Perquim de Carvalho

**DESREGULAÇÃO PROGRESSIVA DE RNAs CIRCULARES NO  
HIPOCAMPO DE UM MODELO ANIMAL TRANSGÊNICO DE AMILOIDOSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestra em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Rigon Zimmer

Porto Alegre

2023

## CIP - Catalogação na Publicação

Perquim de Carvalho , Lavinia  
DESREGULAÇÃO PROGRESSIVA DE RNAs CIRCULARES NO  
HIPOCAMPO DE UM MODELO ANIMAL TRANSGÊNICO DE  
AMILOIDOSE / Lavinia Perquim de Carvalho . -- 2023.  
132 f.  
Orientador: Eduardo Rigon Zimmer.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da  
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Biológicas: Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. doença de Alzheimer . 2. RNAs circulares . 3.  
transcriptômica. I. Rigon Zimmer, Eduardo, orient.  
II. Título.

Lavínia Perquim de Carvalho

**DESREGULAÇÃO PROGRESSIVA DE RNAS CIRCULARES NO  
HIPOCAMPO DE UM MODELO ANIMAL TRANSGÊNICO DE AMILOIDOSE**

Dissertação como requisito parcial à obtenção do título de mestra em Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Rigon Zimmer

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Diogo Onofre Gomes de Souza  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas:  
Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Dr. Guilherme Bauer Negrini  
Pesquisador Pós-Doutorado: Universidade de Pittsburgh

---

Prof. Dr. Guilherme Baldo  
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular e Programa de Pós-Graduação Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

*“Nothing in life is to be feared, it is only to be understood. Now is the time to understand more, so that we may fear less“.*

**Marie Curie** (Varsóvia, 1867 - França, 1934)

Cientista polonesa pioneira na descoberta da radioatividade.

Primeira mulher a ganhar um prêmio Nobel e única pessoa premiada em dois campos científicos distintos (Prêmio Nobel de Física em 1903 | Prêmio Nobel de Química em 1911).

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos aos meus amigos e colegas de trabalho que estiveram ao meu lado durante todo o processo de produção e desenvolvimento desta dissertação, especialmente em momentos extremamente difíceis que enfrentei em minha vida pessoal. Em especial, gostaria de agradecer a Christian Limberger, Giovanna Collar e Dr. Wyllians Vendramini Borelli. Essas pessoas são extremamente especiais para mim e tiveram um impacto significativo em minha vida pessoal e profissional.

Também gostaria de agradecer ao Dr. Marco Antônio de Bastiani, que se juntou a mim nessa nova pesquisa, e aos demais colegas que desempenharam um papel relevante na realização deste trabalho. Suas contribuições, insights e debates enriqueceram e aprimoraram o pensamento crítico necessário para este trabalho. Seu apoio foi fundamental para superar os desafios e dificuldades encontrados ao longo do caminho.

Gostaria de expressar minha gratidão ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo generoso apoio financeiro fornecido. Sem o suporte dessas agências de fomento, este trabalho não seria possível.

Não posso deixar de mencionar a importância do meu orientador, que desempenhou um papel fundamental na construção deste trabalho. Sua orientação e conhecimento possibilitaram a elaboração de um trabalho sólido e bem fundamentado, além do meu amadurecimento científico. Sou imensamente grata pela oportunidade de fazer parte desse grupo, aprender com o professor Eduardo Zimmer e pela confiança depositada em mim.

Quero expressar um agradecimento especial ao meu namorado, Guilherme Vogt, que foi uma base de apoio incansável e uma fonte de força durante toda a realização deste trabalho. Mesmo pertencendo a áreas diferentes, você dedicou tempo e esforço para entender os conceitos e desafios da minha área de pesquisa. Sua presença, encorajamento, amor, suporte emocional e compreensão foram fundamentais para minha motivação e determinação em concluir este trabalho.

Agradeço também a todos os demais colegas, funcionários da universidade e todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento e realização deste estudo.

Muito obrigada a todos!

## SUMÁRIO

PARTE 1 .....	1
RESUMO .....	2
ABSTRACT .....	3
LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	4
LISTA DE QUADROS .....	5
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	6
1 INTRODUÇÃO .....	8
1.1 DEMÊNCIA .....	8
1.1.2 História da doença de Alzheimer .....	9
1.1.3 Patologia da doença de Alzheimer .....	10
1.1.4 Classificação da doença de Alzheimer .....	12
1.1.5 Doença de Alzheimer e RNAs não codificantes .....	13
1.2 RNAs CIRCULARES .....	16
1.2.1 Biogênese de RNAs circulares .....	17
1.2.2 Classes de RNAs circulares .....	19
1.2.3 RNAs circulares no sistema nervoso central .....	22
1.2.4 Transcrição diferencial de RNAs circulares na doença de Alzheimer .....	23
1.2.5 Recentes achados de RNAs circulares como possíveis biomarcadores para a doença de Alzheimer .....	25
2 OBJETIVOS .....	27
2.1 OBJETIVO GERAL .....	27
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	27
Parte II .....	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	29
3.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA DE DATASETS E ANÁLISES BIOINFORMÁTICAS .....	29
3.2 MODELO DE AMILOIDOSE APPSWE/PSEN1DE .....	29
3.3 ANÁLISES DE BIOINFORMÁTICA: EXTRAÇÃO DOS DADOS E ALINHAMENTO DOS ARQUIVOS FASTQ .....	30
3.3.1 Análise das leituras de junção usando o algoritmo CIRI2 .....	30
3.3.2 Identificação dos RNAs circulares diferentemente expressos .....	31
3.3.3 Genes precursores de RNAs circulares .....	31
3.3.4 Análises de enriquecimento funcional no GO .....	31
3.3.5 Análise de similaridade entres os bancos de dados .....	32
3.3.6 Busca dos potenciais funções dos RNAs circulares utilizando o circFunbase .....	32

3.3.7 Potenciais redes de regulação dos RNAs circulares.....	32
4 RESULTADOS .....	34
4.1 SELEÇÃO DOS BANCOS DE DADOS .....	34
4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUIDOS .....	35
4.3 PERFIL DE EXPRESSÃO DE CIRCNRNAS.....	36
4.4 ANÁLISES DE ENRIQUECIMENTO FUNCIONAL.....	38
4.5 GENES PRECURSORES DE CIRCNRNAS DIFERENTEMENTE EXPRESSOS COMPARTILHADOS ENTRE OS ESTUDOS .....	44
4.6 PREVISÃO DAS REDES DE REGULAÇÃO CIRCNRNA-MIRNA-MRNA .....	55
Parte III .....	64
5 DISCUSSÃO.....	65
6 CONCLUSÃO .....	76
7 PERSPECTIVAS .....	78
8 APOIO E FOMENTO .....	79
REFERÊNCIAS.....	80
PARTE I E III .....	80
PARTE II.....	90



## RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa que leva a grave comprometimento das funções cognitivas, sendo a causa mais comum de demência entre idosos. O número de casos de DA está em constante aumento e estima-se que triplique até 2050, chegando a 139 milhões de casos, representando um problema global de saúde pública. Nos últimos anos, os RNAs circulares (circRNAs), um novo grupo de RNAs não codificantes, emergiu como reguladores transcricionais importantes. Sua estrutura circular confere maior estabilidade e resistentes à degradação em comparação com os RNAs lineares. Estudos recentes relatam o enriquecimento de circRNAs no sistema nervoso central (SNC), destacando sua importância no desenvolvimento neuronal e transmissão sináptica. Além disso, evidências sugerem que as desregulações dos circRNAs podem estar envolvidas no desenvolvimento de doenças cerebrais, como a DA. Dessa forma, o objetivo desta dissertação é investigar as alterações na transcrição de circRNAs no hipocampo, uma região do cérebro altamente vulnerável à DA, em um modelo de camundongo transgênico amiloide amplamente utilizado na literatura, o APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>. Para isso, foi utilizado bancos de dados de sequenciamento de RNA hipocampal de circRNAs provenientes de bases científicas como NCBI, Pubmed e *Web of Science*. Identificamos circRNAs diferencialmente expressos (CDES) entre os animais transgênicos e os animais selvagens pareados por idade, utilizando o algoritmo CIRI2 e o método DESeq2 com  $p < 0,01$ . Realizamos análises de enriquecimento funcional no *Gene Ontology* (GO) usando pacotes como ClusterProfiler para investigar as funções biológicas associadas aos genes precursores dos CDES. Além disso, utilizamos o pacote UpSetR para identificar os circRNAs comumente alterados entre os diferentes estudos e os bancos de dados circFunBase e pelo MiRDB para prever as redes de interações circRNAs-miRNAs-mRNAs. Entre os 8 bancos de dados encontrados, utilizamos três pois tinham dados de circRNA hipocampal de camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> de 4, 6 e 8 meses de idade (GSE166393; GSE158995; e PRJNA712946,  $n = 3$  por grupo). O beta-amiloide ( $A\beta$ ) começa a se depositar a partir dos seis meses no hipocampo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>. Assim, os resultados revelaram uma progressiva expressão diferencial de circRNAs no hipocampo dos camundongos APP/PS1 com o avanço da idade: 41 (4 meses), 82 (6 meses) e 425 (8 meses). Identificamos clusters relacionados principalmente à função sináptica, aprendizado e memória, desenvolvimento embrionário e transporte de íons nas análises de enriquecimento funcional. Além disso, encontramos 15 genes precursores de circRNAs compartilhados em pelo menos duas idades e o gene *CCDC14* compartilhado entre os três estudos nas análises de UpSetR. Com esse resultado, também identificamos as redes de interações circRNA-miRNA-mRNA associadas aos genes *Fmn1*, *Ndst3*, *Atp11b* e *Homer1*. Nossos achados sugerem que os circRNAs desempenham um papel importante na DA, fornecendo evidências das alterações de circRNAs no hipocampo em um modelo animal. Suas alterações podem estar relacionadas aos processos neurodegenerativos característicos da doença. Considerando o papel dos circRNAs como reguladores da transcrição, é plausível argumentar que essas mudanças progressivas podem afetar a expressão gênica em regiões cerebrais relacionadas à DA. Surpreendentemente, os genes precursores de circRNAs mostraram-se associados à doença, fornecendo mais indícios da participação dos circRNAs na DA. Embora tenhamos obtido poucas redes de interações, observamos que muitos mRNAs são indiretamente regulados por esses circRNAs. No entanto, ainda há muito a ser investigado, incluindo a compreensão dos mecanismos regulatórios dessas moléculas e a identificação de genes e vias afetados. O estudo dos circRNAs na DA pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias de diagnóstico precoce e terapias direcionadas.

**Palavras-chave:** CircRNAs; doença de Alzheimer; transcriptômica.

## ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder that leads to severe impairment of cognitive functions, representing the most common cause of dementia among the elderly. The number of AD cases is continually rising, and it is estimated to triple by 2050, reaching 139 million cases, posing a global public health issue. In recent years, circular RNAs (circRNAs), a novel group of non-coding RNAs, have emerged as crucial transcriptional regulators. Their circular structure confers greater stability and resistance to degradation compared to linear RNAs. Recent studies report an enrichment of circRNAs in the central nervous system (CNS), emphasizing their significance in neuronal development and synaptic transmission. Furthermore, evidence suggests that circRNA dysregulations may be involved in the development of brain diseases, such as AD. Therefore, the aim of this dissertation is to investigate transcriptional changes in circRNAs in the hippocampus, a region highly vulnerable to AD, using a widely employed transgenic mouse model of amyloid, the APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>. To achieve this, we utilized hippocampal circRNA RNA sequencing datasets from scientific databases such as NCBI, Pubmed, and Web of Science. Differentially expressed circRNAs (CDES) were identified between transgenic and age-matched wild-type animals using the CIRI2 algorithm and the DESeq2 method with  $p < 0.01$ . Functional enrichment analyses were conducted using Gene Ontology (GO), employing packages like ClusterProfiler to investigate biological functions associated with CDES precursor genes. Additionally, the UpSetR package was used to identify commonly altered circRNAs across different studies, and circFunBase and MiRDB databases were employed to predict circRNA-miRNA-mRNA interaction networks. Out of the eight databases initially identified, three were chosen due to containing hippocampal circRNA data from APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> mice at 4, 6, and 8 months of age (GSE166393, GSE158995, and PRJNA712946,  $n = 3$  per group). Amyloid-beta ( $A\beta$ ) deposition begins at six months in the hippocampus of APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> mice. Consequently, the results revealed a progressive differential expression of circRNAs in the hippocampus of APP/PS1 mice with advancing age: 41 (4 months), 82 (6 months), and 425 (8 months). Clusters related mainly to synaptic function, learning and memory, embryonic development, and ion transport were identified in functional enrichment analyses. Furthermore, 15 precursor genes of circRNAs were shared at least between two ages, with the CCDC14 gene being shared among all three studies in UpSetR analyses. These results allowed us to identify circRNA-miRNA-mRNA interaction networks associated with the genes *Fmn1*, *Ndst3*, *Atp11b*, and *Homer*. Our findings suggest that circRNAs play an important role in AD, providing evidence of circRNA alterations in the hippocampus in an animal model. These changes may be related to the characteristic neurodegenerative processes of the disease. Considering the role of circRNAs as transcriptional regulators, it is plausible to argue that these progressive changes may affect gene expression in brain regions related to AD. Surprisingly, circRNA precursor genes have shown associations with the disease, providing further evidence of circRNA involvement in AD. Although we obtained few interaction networks, we observed that many mRNAs are indirectly regulated by these circRNAs. However, there is still much to be investigated, including understanding the regulatory mechanisms of these molecules and identifying affected genes and pathways. The study of circRNAs in AD may contribute to the development of early diagnostic strategies and targeted therapies.

**Keywords:** CircRNAs, Alzheimer's disease, transcriptomics.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ilustração da Biogênese de circRNAs.....	18
Figura 2 – CircRNAs: biogêneses, classe e função .....	21
Figura 3 – Diagrama de fluxo da seleção dos bancos de dados .....	34
Figura 4 – Características fenotípicas do modelo APPswe/PSEN1dE9.....	36
Figura 5 – Gráficos de vulcão sobre a expressão diferencial de circRNAs na DA.....	37
Figura 6 – Análise GO dos genes precursores de circRNAs nos camundongo APPswe/PSEN1dE9 de 4 meses (GSE166393) .....	39
Figura 7 – Porcentagem de variação dos GO compartilhados entre os bancos de dados de 6 meses (GSE158995) e 8 meses (PRJNA712946).....	44
Figura 8 – Análise de intersecção entre os genes precursores de circRNAs entre os bancos de dados.....	46
Figura 9 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Fmn1 .....	51
Figura 10 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Ndst3 .....	52
Figura 11 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Atp11b.....	53
Figura 12 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Homer1.....	54

**LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 – Principais ncRNAs já descritos na DA.....	14
Quadro 2 – Características das classes de circRNAs .....	20
Quadro 3 – Análise de agrupamento de enriquecimento funcional de circRNAs nos camundongo APPswe/PSEN1dE9 de 6 meses (GSE158995).....	39
Quadro 4 – Análise de agrupamento de enriquecimento funcional de circRNAs nos camundongo APPswe/PSEN1dE9 de 8 meses (PRJ158995).....	40
Quadro 5 – GOs compartilhados entre os bancos de dados de 6 meses (GSE158995) e 8 meses (PRJNA712946) .....	42
Quadro 6 – Análise da função dos genes precursores de CDES comumente entre os bancos de dados.....	46
Quadro 7 – Análise da localização cromossômica dos circRNAs derivados dos genes precursores de CDES entre os bancos de dados .....	48
Quadro 8 – CircRNAs do gene Fmn1 e suas interações circRNA-miRNA-mRNA .....	55
Quadro 9 – CircRNAs do gene Ndst3 e suas interações circRNA-miRNA-mRNA .....	59
Quadro 10 – CircRNAs do gene Atp11b e suas interações circRNA-miRNA-mRNA.....	60
Quadro 11 – CircRNA do gene Homer1 e suas interações circRNA-miRNA-mRNA.....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APOE $\epsilon$ 4	Proteína apolipoproteína $\epsilon$ 4
APP	Proteína precursora de amiloide
A $\beta$	Peptídeo $\beta$ -amiloide
BP	Processos biológicos
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CC	Componentes celulares
CDES	Do inglês <i>CirRNA differentially expressed</i>
CDR	Do inglês <i>Clinical Dementia Rating</i>
CircRNA	RNA circular
CIRI2	Do inglês <i>CircRNA Identifier</i>
ciRNA	RNA intrônico circular
CNPq	Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DA	Doença de Alzheimer
ecRNA	circRNA derivado de <i>exon-shuffling</i>
ElciRNAs	circRNAs exon-íntron
EOAD	Do inglês <i>Early-onset Alzheimer disease</i>
FAPERGS	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul
GEO	Gene Expression Omnibus
GO	Do inglês <i>Gene Ontology</i>
GWAS	Do inglês <i>Genome-wide association study</i>
lncRNA	RNAs não codificadores longos
LCR	Líquido cefalorraquidiano
lncRNAs	Do inglês long non-coding RNAs
LOAD	Do inglês <i>late-onset Alzheimer's disease</i>
MF	funções moleculares
miRNA	Micro-RNAs
mRNA	RNAs mensageiros
ncRNA	Do inglês non-coding RNA
NFT	Do inglês <i>Neurofibrillary tangles</i>
PiRNA	RNAs que interagem com piwi
Pré-mRNA	Precursor de mRNA
PS1	Proteína presenilina 1
PS2	Proteína presenilina 2

RBPs	com proteínas de ligação ao RNA
RNA	Ácido ribonucleico
RNA-seq	sequenciamento de RNA
rRNA	RNAs ribossômicos
SNC	Sistema nervoso central
tRNA	RNAs transportadores
UBE2A	Ubiquitina ligase A

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 DEMÊNCIA

De acordo com a *Alzheimer's Disease International*, demência é o termo coletivo utilizado para caracterizar um grupo de síndromes cerebrais progressivas que afetam principalmente a memória, o pensamento, a capacidade intelectual, o comportamento e as emoções. No contexto atual, o termo demência abrange mais de 100 formas diferentes de síndromes cerebrais progressivas. Entre elas, a doença de Alzheimer (DA) é a causa mais prevalente de demência em todo o mundo, representando cerca de 60% a 70% de todos os casos diagnosticados (ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL, 2023).

Atualmente, estima-se que haja mais de 55 milhões de pessoas vivendo com demência em todo o mundo. Infelizmente, esse número tende a triplicar até o ano de 2050, chegando a alarmantes 139 milhões de casos. Isso significa que a cada três segundos, um novo caso de demência é diagnosticado globalmente, totalizando mais de 10 milhões de novos casos por ano (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2023).

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde em 2023, no contexto da América Latina e do Caribe, estima-se que mais de 3 milhões de pessoas com demência estejam vivendo sem um diagnóstico. No Brasil, estima-se que mais de 70% das pessoas com demência no país não recebam um diagnóstico adequado. Essa estatística é preocupante, pois indica que uma grande parcela da população idosa no Brasil vive com demência e não tem acesso a acompanhamento médico adequado (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS, 2023).

A DA, em particular, é responsável pela maior parcela desses casos. Dessa forma, essa tendência coloca a DA como um dos principais desafios da saúde pública global, uma vez que seu impacto está em constante crescimento (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2022; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2023). A DA é caracterizada por neurodegeneração, com progressão lenta, que inicia com leve perda de memória e se encerra com grave comprometimento das funções neuropsicológicas (ATRI, 2019). A sua patogênese tem sido atribuída à um processamento e polimerização aberrante de proteínas normalmente solúveis, em que após uma longa cascata de eventos, leva a uma perda sináptica, neuronal e glial nos portadores da doença (ATRI, 2019; SENGOKU, 2020).

De acordo com o relatório *Alzheimer's Disease Facts and figures 2023* da *Alzheimer's Association*, estima-se que, nos Estados Unidos da América, haja uma prevalência de 6,2 milhões de pessoas com mais de 64 anos vivendo com a DA neste ano de 2023. Isso equivale a

aproximadamente 1 em cada 9 pessoas nessa idade, sendo que quase 2 em cada 3 são mulheres. Além disso, projeta-se um aumento significativo para o número de novos casos, chegando a 13,8 milhões de pessoas com a doença até o ano de 2060 nos EUA (2023 ALZHEIMER'S DISEASE FACTS AND FIGURES, 2023).

Em termos de custos, a DA é uma das condições mais caras para tratar, principalmente devido aos custos com cuidados de longo prazo. Nos EUA, os custos estimados de cuidados diretos e indiretos para pessoas com Alzheimer e outras demências foram de US\$ 345 bilhões em 2023. Esse valor deve chegar a US\$ 2,8 trilhão até 2030 se não forem desenvolvidas terapias mais eficazes para prevenir, tratar ou curar a doença (2023 ALZHEIMER'S DISEASE FACTS AND FIGURES, 2023).

Em todo o mundo, a perspectiva em relação à DA é desafiadora, pois ainda não existe uma cura para a doença e as opções de tratamento disponíveis são limitadas (CUMMINGS, 2021; TREVISAN *et al.*, 2019). Esse cenário é agravado pelo aumento da expectativa de vida da população ao longo dos anos. Além disso, ainda não se sabe como a pandemia do vírus COVID-19, e a infecção por SARS-CoV-2, impactará o número de casos e a proporção de pessoas com Alzheimer nos próximos anos. Diante disso, é fundamental direcionar esforços significativos para melhorar a pesquisa, o diagnóstico precoce, o desenvolvimento de terapias mais eficazes e o suporte adequado aos indivíduos afetados pela DA e seus cuidadores.

### **1.1.2 História da doença de Alzheimer**

Em 1898, o psiquiatra e neuropatologista alemão Alois Alzheimer registrou um caso clínico de uma forma de demência até então desconhecida, que ele descreveu como "demência pré-senil". Nesse novo caso, ele observou graves alterações atróficas no cérebro do paciente, (ALZHEIMER, 1898).

Poucos anos depois, em 1906, Alzheimer ganhou notoriedade ao relatar mais um exemplo da demência pré-senil com o caso de uma mulher de 51 anos, chamada Auguste Deter. Ela apresentava sintomas como perda de memória, desorientação, delírios, comprometimento cognitivo, afasia, alucinações e disfunção psicossocial. Deter faleceu aos 55 anos. Após a sua morte, seu cérebro foi submetido a uma autópsia que revelou características distintas, descritas por Alzheimer como "uma alteração química na substância fibrilar" (ALZHEIMER A.; PSYCHIATR; 1907, 1907; ALZHEIMER *et al.*, 1995).

Após a descrição do caso de Auguste Deter, Alois Alzheimer continuou seus estudos com a doença que posteriormente receberia seu nome. Em 1911, ele publicou um artigo que

descrevia as principais características neuropatológicas da DA, incluindo a presença de placas senis e emaranhados neurofibrilares no cérebro (ALZHEIMER, 1911).

No entanto, mesmo após a descrição detalhada, a DA permaneceu relativamente desconhecida por várias décadas. Foi somente na década de 1970 que a DA começou a receber mais atenção da comunidade médica e científica, com a realização de estudos epidemiológicos (GRUENBERG, 1978; KATZMAN, 1976; NEUMAN; COHN, 1976). O lançamento do medicamento tacrina em 1993, o primeiro aprovado para o tratamento da DA, também contribuiu para aumentar a conscientização sobre a doença (AMBERLA *et al.*, 1993; CRISMON, 1994).

Desde então, a pesquisa sobre a DA tem se intensificado, com a descoberta de novos marcadores biológicos, o desenvolvimento de técnicas de neuroimagem cada vez mais sofisticadas e a investigação de tratamentos potenciais. No entanto, apesar desses avanços, a DA continua sendo uma doença desafiadora, com uma variedade de fatores genéticos e ambientais que contribuem para seu desenvolvimento e progressão.

### **1.1.3 Patologia da doença de Alzheimer**

Atualmente, sabe-se que as principais características neuropatológicas da DA são os emaranhados neurofibrilares (NFTs – *neurofibrillary tangles*) e placas  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ). Essas duas características confirmam as observações histológicas feitas por Alois Alzheimer, que foram iniciadas em 1906 (MASTERS *et al.*, 2015; SERRANO-POZO *et al.*, 2011; YNDART, 2019).

As placas  $A\beta$  são aglomerados extracelulares compostos por um núcleo de fibrilas  $A\beta$  insolúveis, fragmentos de neurônios, astrócitos reativos e células microgлияis ativadas (RASKIN *et al.*, 2015a; SERRANO-POZO *et al.*, 2011). Esses depósitos extracelulares de  $A\beta$  são originados a partir da proteólise errada da proteína precursora de amiloide (APP), que em uma via fisiológica, é uma proteína transmembrana dos neurônios metabolizada de forma complexa e rápida (GIRI *et al.*, 2016; O'BRIEN & WONG, 2011; YNDART, 2019).

Porém, nessa via patológica (amiloidogênica), a APP é clivada anormalmente pela BACE-1, uma  $\beta$ -secretase, liberando um ectodomínio APPs $\beta$  truncado e o fragmento C-terminal C99 é retido na membrana e posteriormente clivado pelo complexo que forma a  $\gamma$ -secretase, liberando fragmentos de peptídeo  $A\beta$  (DAS; YAN, 2017; GIRI; ZHANG; LÜ, 2016; O'BRIEN; WONG, 2011). A clivagem da  $\beta$ -secretase é o ponto crítico para o processamento errado da APP, em que é feito um corte no terminal N da  $A\beta$ , sendo removido a maior porção, mas

deixando o c-terminal da APP, que posteriormente é clivado, resultando em dois monômeros (DAS & YAN, 2017; O'BRIEN & WONG, 2011).

Assim, durante o processo, são formados dois principais tipos de polímeros de A $\beta$ , com 40 ou 42 aminoácidos (A $\beta$ 40 e A $\beta$ 42), os quais se agregam rapidamente primeiro em oligômeros, depois em protofibrilas e fibrilas amiloides (ARMSTRONG, 2019; LANE; HARDY; SCHOTT, 2018; MURPHY; LEVINE, 2010; O'BRIEN; WONG, 2011). As fibrilas são formas insolúveis e se agregam em placas A $\beta$ , causando a morte neuronal, enquanto os oligômeros são formas solúveis, essa solubilidade possibilita que os oligômeros se espalhem por todo o cérebro à medida que a DA progride, afetando principalmente o funcionamento das sinapses (RASKIN et al., 2015; SERRANO-POZO et al., 2011; THAI et al., 2002).

O agregado A $\beta$ , por conseguinte, interfere na sinalização sináptica por se difundir em fendas sinápticas e iniciar uma cascata de eventos que pode causar a hiperfosforilação da proteína tau (HERRUP, 2010; TAKATA; KITAMURA; TANIGUCHI, 2011). A agregação e patologia desempenhada pela proteína A $\beta$ , leva uma ativação de cinases, incluindo GSK3 $\beta$ , cdk5, caspase 3, caspase 9 e calpaína (LANE; HARDY; SCHOTT, 2018). A ativação dessas caspases, conseqüentemente, leva a hiperfosforilação e polimerização em NFTs insolúveis da proteína tau (O'BRIEN; WONG, 2011).

Os NFTs consistem em agregados anormais de proteínas tau hiperfosforiladas que se acumulam dentro dos neurônios. A tau é uma proteína associada aos microtúbulos, normalmente localizada no axônio, onde facilita fisiologicamente o transporte axonal por meio da ligação e estabilização dos microtúbulos (SERRANO-POZO *et al.*, 2011). No entanto, na DA, por mecanismos ainda pouco conhecidos, a tau sofre hiperfosforilação, levando a mudanças estruturais e conformacionais da proteína. Essa alteração faz com que ela se dissocie dos microtúbulos, danificando-os e desregulando as vias de sinalização intracelulares. À medida que a fosforilação da tau aumenta, ela também se torna insolúvel e se agrega em filamentos, formando os NFTs (POLANCO *et al.*, 2017; RASKIN *et al.*, 2015b; SERRANO-POZO *et al.*, 2011).

Acredita-se que as placas A $\beta$  e os NFTs atuem de forma sinérgica na progressão da DA. Essa dupla proteinopatia recruta e ativa astrócitos, assim como, a micróglia em torno das placas amiloides, o que desencadeia a resposta imune inata contra as agregações. Assim, gerando uma cascata de respostas inflamatórias no cérebro causando danos extensos no cérebro e levando à morte neuronal e culminando na atrofia (HERRUP, 2010; MASTERS *et al.*, 2015; O'BRIEN; WONG, 2011; TAKATA; KITAMURA; TANIGUCHI, 2011; YNDART, 2019). Além disso,

estudos têm sugerido que a interação entre as placas  $\beta$ -amiloide e os NFTs é complexa e pode envolver mecanismos de feedback, em que a presença de um agravo pode influenciar a formação do outro, formando, assim, um ciclo contínuo de agregação e inflamação (HERRUP, 2010).

#### **1.1.4 Classificação da doença de Alzheimer**

A doença de Alzheimer é classificada em dois tipos principais: a de início tardio (LOAD, do inglês Late-Onset Alzheimer's Disease) e a de início precoce (EOAD, do inglês Alzheimer's Disease) (MENDEZ, 2017; PARK *et al.*, 2017). Contudo, os dois tipos da doença, apresentam os sinais clínicos e moleculares semelhantes (GIRI; ZHANG; LÜ, 2016; MENDEZ, 2017; TREVISAN *et al.*, 2019).

A maioria dos casos pertence ao tipo LOAD, que se desenvolve após os 60 anos. A LOAD é considerada um distúrbio complexo, multifatorial, em que está associada a uma série de fatores de risco como alterações relacionadas com a idade, fatores de risco genéticos, como a variação alélica  $\epsilon 4$  da proteína Apolipoproteína (APOE $\epsilon 4$ ), fatores de risco associados à hábitos alimentares, doenças cardiovasculares, exposição a metais e infecção, podem estar envolvidas no desenvolvimento da doença mas apresentam uma base inicial desconhecida para o processo amiloidogênico (ARMSTRONG, 2019; LANE; HARDY; SCHOTT, 2018; PARK *et al.*, 2017).

Seu desenvolvimento também possui implicação de múltiplas variantes genéticas de baixa penetrância, além dos fatores ambientais, o que torna a compreensão das causas que levam a doença, bastante nebulosa (GIRI; ZHANG; LÜ, 2016; NAJ; SCHELLENBERG, 2017; TREVISAN *et al.*, 2019). Antes do surgimento de estudos de GWAS (*genome-wide association study*), a variação alélica APOE $\epsilon 4$ , era o único fator de suscetibilidade para o desenvolvimento de LOAD conhecido (GIRI; ZHANG; LÜ, 2016; NAJ; SCHELLENBERG, 2017). Porém, apesar dos esforços em estudos de GWAS, a maioria dos casos esporádicos de DA permanecem inexplicadas (NAJ; SCHELLENBERG, 2017).

Por outro lado, a EOAD é menos comum ocorrendo em pessoas com menos de 65 anos de idade. Apenas 1% dos casos de EOAD apresentam suas causas intimamente ligadas a mutações hereditárias monogênica dominante. A análise genética de famílias portadoras do tipo precoce foi a base para desvendar e identificar as mutações de alta penetração relacionadas com esse tipo da DA, associada a mutações genéticas específicas nos genes APP, PS1 e PS2, com pelo menos um parente de primeiro grau também afetado (BERTRAM; TANZI, 2008;

CACACE; SLEEGERS; VAN BROECKHOVEN, 2016; MENDEZ, 2017; O'BRIEN; WONG, 2011) Entretanto, essas mutações descritas, podem explicar apenas uma fração pequena das causas de EOAD. A maioria dos pacientes com EOAD permanece também sem explicação (CACACE; SLEEGERS; VAN BROECKHOVEN, 2016).

Ambas as formas da doença não possuem estratégias terapêuticas eficazes para retardar ou interromper a progressão da doença (BERTRAM; TANZI, 2008; SLOMSKI, 2022). Além da lacuna na compreensão da DA, que ressalta a necessidade da identificação de outros genes causais, alterações no âmbito das desregulações epigenéticas, regulações transcricionais, heterogeneidade fenotípica e de estudos que investiguem suas bases moleculares, a fim de compreender as bases causais da DA e desenvolver abordagens mais eficazes para o tratamento da doença. (ARMSTRONG, 2019; BERTRAM; TANZI, 2008; CACACE; SLEEGERS; VAN BROECKHOVEN, 2016; DI RESTA; FERRARI, 2019)

### **1.1.5 Doença de Alzheimer e RNAs não codificantes**

Por muitos anos, o RNA foi visto apenas como um participante do processo de síntese proteica, embora menos de 2% do genoma humano seja codificado para proteínas (KAPRANOV; WILLINGHAM; GINGERAS, 2007; WILUSZ; SHARP, 2013). Os 98% restante do genoma que não codificam proteínas, como a classe de RNAs não codificantes (ncRNAs, do inglês "*non-coding RNAs*") foram por muito tempo considerados como "lixo de DNA" (WILUSZ; SHARP, 2013). Contudo, nos últimos anos, foi visto que os ncRNAs representam a maioria do transcriptoma humano e são uma classe importante de moléculas reguladoras (WANG *et al.*, 2022a). Assim, os ncRNAs regulam a expressão gênica em diferentes níveis, desde a transcrição até a tradução por meio de muitos mecanismos diferentes não completamente conhecidos (DELGADO-MORALES EDITOR, 2017; HARVEY LODISH, 2013).

Eles são divididos em ncRNAs de limpeza e ncRNAs regulatórios. Os ncRNAs de limpeza desempenham funções cruciais na manutenção das células como os RNAs de transferência (tRNAs), RNAs ribossomais (rRNAs) e os pequenos RNAs nucleares (snRNAs). Já os ncRNAs reguladores, são expressos em células específicas e funcionam em resposta a diferentes estímulos como sinais de desenvolvimento, estímulos patológicos, entre outros (DELGADO-MORALES EDITOR, 2017; IDDA *et al.*, 2018).

Recentemente, houve um crescente interesse no papel dos ncRNAs reguladores na patogênese da DA pelo envolvimento dessas moléculas em processos biológicos que estão desregulados na DA. Esses ncRNAs têm ganhado destaque entre os fatores genéticos não hereditários envolvidos na DA (IDDA *et al.*, 2018). Assim, vários estudos têm sugerido que os ncRNAs como microRNAs (miRNAs), long non-coding RNAs (lncRNAs), circular RNAs (circRNAs) e PIWI-interacting RNAs (piRNAs), podem estar envolvidos na formação e desenvolvimento da DA, regulando genes relacionados à neuroinflamação, neuroplasticidade, apoptose e processos mitocondriais (IDDA *et al.*, 2018; PIEROULI *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2022b).

Os miRNAs são uma das classes de ncRNAs que mais têm sido estudados na DA. Eles são pequenos RNAs de cerca de 22 nucleotídeos de comprimento que se ligam a sequências específicas de RNAs mensageiros (mRNAs) e inibem sua tradução em proteínas ou promovem sua degradação (O'BRIEN *et al.*, 2018; PICHLER *et al.*, 2017; SØRENSEN; NYGAARD; CHRISTENSEN, 2016). Vários estudos identificaram alterações nos perfis de miRNA em cérebros de pacientes com DA, sugerindo um papel importante na sua patogênese. Estudos *in vitro* e *in vivo* sugerem que alguns miRNAs podem regular a expressão de proteínas tau e A $\beta$ , além de estar envolvidos na neuroinflamação e na morte neuronal (S. Li *et al.*, 2023; SØRENSEN *et al.*, 2016; SU *et al.*, 2022). O Quadro 1 a seguir apresenta outros exemplos de ncRNAs identificados em estudos sobre DA, juntamente com informações sobre o tipo de ncRNA, principal função na DA e localização.

Quadro 1 – Principais ncRNAs já descritos na DA

Tipo de ncRNA	Função principal na DA	Localização	Principais alvos	Referências
MiRNA (Micro-RNAs)	Regulam a expressão gênica pelo bloqueio da tradução de mRNAs ou sua degradação	Plasma, LCR, tecido cerebral	APP, CCDC6, CD2AP, CLU, CNTNAP2, FERMT2, PICALM, ADAMTS4, HS3ST1, PLCG2, SCIMP, SLC24A4, SPI1, PTK2B e SORL1	(TAKOUSIS <i>et al.</i> , 2019)
PiRNA (RNAs que interagem com piwi)	Interagem com proteínas piwi e regulação positiva ou negativa de genes associados à DA	Tecido cerebral	APOE, BACE1, CYP19A1, CTC1 e HIST1H4H	(QIU <i>et al.</i> , 2017; WANG <i>et al.</i> , 2022b)

lncRNA (RNAs não codificadores longos)	Regulam processos celulares, como inativação do cromossomo X, suporte estrutural e regulação positiva ou negativa de genes associados à DA	Tecido cerebral	BACE-AS1, NEAT1, GAS5	(PIEROULI <i>et al.</i> , 2023)
CircRNA (RNA circular)	Regulação da transcrição gênica nos níveis transcricional, pós-transcricional e translacional	Tecido cerebral	BACE1, N-κB, HOMER1, miRNAs, UBE2A entre outros	(DUBE <i>et al.</i> , 2019; WANG <i>et al.</i> , 2022b; ZHANG <i>et al.</i> , 2020b)

Fonte: Elaboração própria.

Os estudos recentes sugerem que ncRNAs, como lncRNAs, miRNAs e circRNAs, estão envolvidos na DA e podem ser potenciais alvos terapêuticos (PIEROULI *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2022b). Contudo, mais pesquisas são necessárias para elucidar a contribuição desses ncRNAs na patogênese da doença. Assim, no presente estudo iremos focar especificamente nos circRNAs na DA, os próximos capítulos trarão informações mais detalhadas sobre a molécula circular.

## 1.2 RNAS CIRCULARES

Em virtude do recente avanço das tecnologias de sequenciamento de nova geração, novas classes de ncRNA puderam ser descobertas e mais bem estudadas, como os circRNAs (SHEN *et al.*, 2015). Os circRNAs se diferenciam da maioria dos RNAs, por não possuírem sua estrutura na forma tradicional linear. Sua extremidade 3' é covalentemente ligada na extremidade 5' formando, desse modo, uma molécula de fita simples fechada, sem extremidades livres (HUANG *et al.*, 2018; LU; XU, 2016; SALZMAN, J *et al.*, 2012; SHEN *et al.*, 2015).

A primeira descrição de RNAs em formato circular foi feita em 1970, há mais de cinco décadas atrás, em viróides de plantas (SANGER *et al.*, 1976). Pouco tempo depois, Coca-Prados relatou a existência de circRNAs em células eucarióticas por microscopia eletrônica (COCA-PRADOS, 1979). Entretanto, na época esse achado foi considerado como um produto de *splicing* errôneo ou artefato de sequenciamento, sem nenhuma função biológica aparente e, assim, sua existência foi esquecida até pouco tempo (JECK *et al.*, 2013b; SEKAR; LIANG, 2019).

Nos últimos 10 anos, importantes descobertas foram feitas sobre os circRNAs. Foi revelado a expressão difusa e abundante da molécula circular em diferentes células e tecidos animais pela utilização das tecnologias de sequenciamento de RNA (RNA-seq) de nova geração (NGS) juntamente com o enriquecimento de circRNAs por técnicas bioquímicas e algoritmos de análise bioinformática (MEMCZAK *et al.*, 2013a; RYBAK-WOLF *et al.*, 2014; SALZMAN *et al.*, 2013; SALZMAN, J *et al.*, 2012; SHEN *et al.*, 2015). A utilização desses protocolos, também possibilitou ter um entendimento melhor sobre a biogênese, mecanismos de ação e características dos circRNAs. A estrutura circular confere uma interessante estabilidade e resistência à exonucleases para essa classe de ncRNA, muito maior que a de RNAs tradicionalmente lineares (JECK *et al.*, 2013a; ZHANG, X.-O. *et al.*, 2016).

Sua estrutura também é responsável por suas funções, envolvidas, de modo geral, na regulação transcricional, nos quais não foram totalmente elucidados ainda, mas os papéis mais descritos e estudados até o momento são os papéis como esponja de miRNA e proteínas de ligação ao RNA (RBPs), através de sítios de ligação (HANSEN *et al.*, 2013; PIWECKA *et al.*, 2017a), o potencial de ser traduzido por possuir sequências de leituras e sítios de entrada de ribossomo para gerar peptídeos (HANSEN *et al.*, 2013; SINHA *et al.*, 2021) e a capacidade da molécula de regular a expressão do gene parental ou gene precursor, no qual são produzidos a partir de um pré RNA mensageiro (pré-mRNA) por processamento de *splicing* específico

chamado *back-splicing* (DUBE et al., 2019; EGER et al., 2018; LI et al., 2015; LU & XU, 2016).

### 1.2.1 Biogênese de RNAs circulares

Até o momento, o *back-splicing* é considerado o principal mecanismo responsável pela formação dos circRNAs. Ao contrário do *splicing* canônico, mecanismo por trás da formação de RNAs lineares, que envolve a ligação de um local doador a montante 5' a um local acceptor de *splicing* a jusante 3' no pré-mRNA, o mecanismo de *back-splicing* segue uma rota diferente na formação de circRNAs. No *back-splicing*, um local doador de *splicing* a jusante 5' é ligado reversamente a um local acceptor de *splicing* a montante 3'. Após a circularização, frequentemente, remanescem dois éxons intermediários que são posteriormente processados por outro evento de *splicing* para serem removidos (EGER et al., 2018; JECK et al., 2013b; ZHANG, X. O. et al., 2016).

Assim, dois modelos foram propostos para explicar evento, demonstrados na figura 1. Se o *back-splicing* ocorrer primeiro, será formado um circRNA diretamente e um intermediário éxon-íntron(s)-éxon, que posteriormente pode ser processado para formar um RNA linear, esse modelo foi referido como “*splicing* reverso direto” (JECK; SHARPLESS, 2014b). Por outro lado, se o *splicing* canônico ocorrer primeiro, é gerado inicialmente um RNA linear e um grande laço de íntron contendo os éxons que serão unidos posteriormente para formar um circRNA. Esse segundo mecanismo foi denominado como “*lariat* precursor” ou “salto de éxon” (CHEN & YANG, 2015; SALZMAN et al., 2012). Contudo, qual dos dois modelos é selecionado preferencialmente por cada célula ou gene ainda é desconhecido (EGER et al., 2018).

Figura 1 – Ilustração da Biogênese de circRNAs

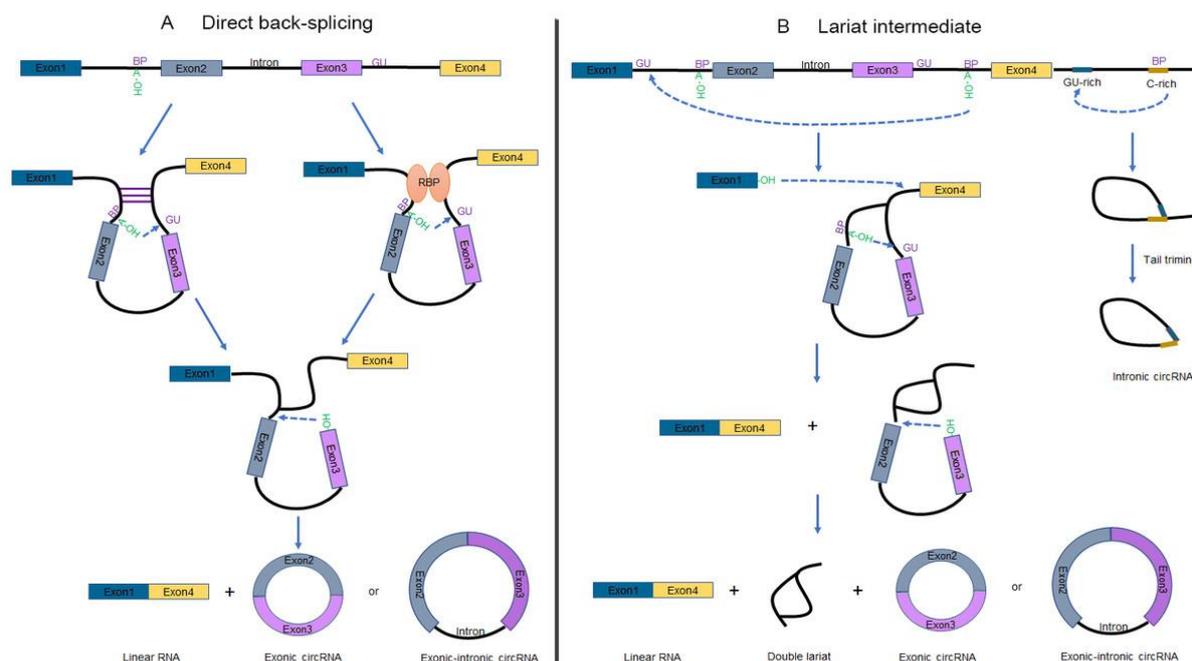


Figura 1 – Ilustração da Biogênese de circRNAs: A) O modelo de "back-splicing" direto: Nesse modelo, a estrutura de loop é formada por meio de sequências complementares presentes em íntrons adjacentes (à esquerda da figura) ou por meio de proteínas de ligação a RNA (à direita da figura). Dependendo da forma como a estrutura de loop é formada, podem ser gerados dois tipos de circRNAs. Se as sequências intrônicas são removidas, resultando na formação de circRNAs exônicos demonstrado no primeiro caso. Se as sequências intrônicas são mantidas, é gerando circRNAs exônico-intrônicos, como visto no segundo caso. B) O modelo de "lariat precursor": Nesse modelo, primeiro ocorre o processo de clivagem canônica, resultando na formação de um precursor em forma de *lariat*. Em seguida, ocorre um processo chamado "back-splicing" interno, onde uma ligação é formada dentro do *lariat*, resultando na geração de uma molécula de *lariat* duplo e um circRNA (à esquerda da figura). A geração de circRNAs intrônicos depende de sequências ricas em GU e sequências ricas em citosina, que são necessárias para a formação do *lariat* intrônico. Posteriormente, ocorre um processo de corte da cauda para formar o circRNA intrônico (à direita da figura). Fonte: Li, X et al. (2020).

O mecanismo de *back-splicing* é favorecido por elementos *cis* e *trans* em íntrons que auxilia na justaposição de dois íntrons para formação dos circRNAs. Apesar do *back-splicing* utilizar a mesma maquinaria spliceossomal canônica, o *back-splicing* é menos favorável e eficiente para a montagem do spliceossoma, isso explica por que os circRNAs são menos abundantes que mRNAs em algumas células (JECK *et al.*, 2013b; LI; YANG; CHEN, 2018). Dessa forma são necessários elementos para aproximar os locais de *back-splicing*, como proteínas que se ligam ao pré-mRNA ou sequências de RNA não traduzidas reversamente complementares em ambos os lados do *back-splicing*. Essas regiões podem ser emparelhadas, como as sequências *Alu* presentes em íntrons, para aproximar o local doador a um local receptor de *splicing* e, assim, facilitar esse mecanismo assim como sequências ricas em nucleotídeos citosina ou e sequências ricas em GU (EGER *et al.*, 2018; JECK *et al.*, 2013; X. O. ZHANG *et al.*, 2014).

### 1.2.2 Classes de RNAs circulares

A sequência dos circRNAs pode ser formada por íntrons, éxons ou ambos. Assim, com base na sua composição, os circRNAs podem ser classificados em quatro tipos: circRNAs intrônicos (ciRNAs), circRNAs exônicos (ecircRNAs), circRNAs éxon-íntron (elciRNAs) e, por fim, os intrônicos de tRNA (tricRNAs) (WANG; NAZARALI; JI, 2016), como demonstrado na figura 2. Porém, a maioria dos circRNAs são construídos a partir de éxons e encontram-se no citoplasma das células (JECK *et al.*, 2013). No Quadro 2, é feita uma descrição melhor das localizações dos circRNAs e algumas funções conhecidas associadas.

Além disso, em virtude do mecanismo de recombinação de éxons e íntrons, denominado como circularização alternativa, um único *locus* gênico pode produzir múltiplos circRNAs com essas diferentes classificações (JECK *et al.*, 2013b; MEMCZAK *et al.*, 2013b; ZHANG *et al.*, 2014b). Provavelmente, a circularização alternativa ocorre devido à competição de pareamento em diferentes conjuntos de íntrons ou regulação por proteínas de ligação ao RNA, o que demonstra a complexidade do mecanismo de *back-splicing* (JECK *et al.*, 2013b; SALZMAN, Julia *et al.*, 2012; WESTHOLM *et al.*, 2014).

Quadro 2 – Características das classes de circRNAs

CircRNA	Constituição	Localização	Funções conhecidas	Referências
ciRNAs	Ítrons	Núcleo	Podem regular a expressão gênica através da interação com proteínas regulatórias ou a regulação da expressão de seus genes parentais.	(LASDA; PARKER, 2014; ZHANG <i>et al.</i> , 2013)
ecircRNAs	Éxons únicos ou múltiplos	Citoplasma	Podem atuar como esponjas de microRNA; podem interagir com proteínas para modular a atividade celular.	(EGER <i>et al.</i> , 2018; JECK <i>et al.</i> , 2013b)
elciRNAs	Éxon-íntron	Núcleo	Podem estar envolvidos na regulação da transcrição do gene parental; podem interagir com fatores de transcrição ou a RNA polimerase II para modular a atividade de genes.	(LI <i>et al.</i> , 2015b; ZHANG <i>et al.</i> , 2020b)
tricRNAs	Intrônicos de tRNA	-	Podem estar envolvidos na regulação da expressão gênica, mas ainda há muito a ser descoberto sobre suas funções biológicas.	(LIN <i>et al.</i> , 2021; LU <i>et al.</i> , 2015)

Fonte: Elaboração própria.

Figura 2 – CircRNAs: biogêneses, classe e função

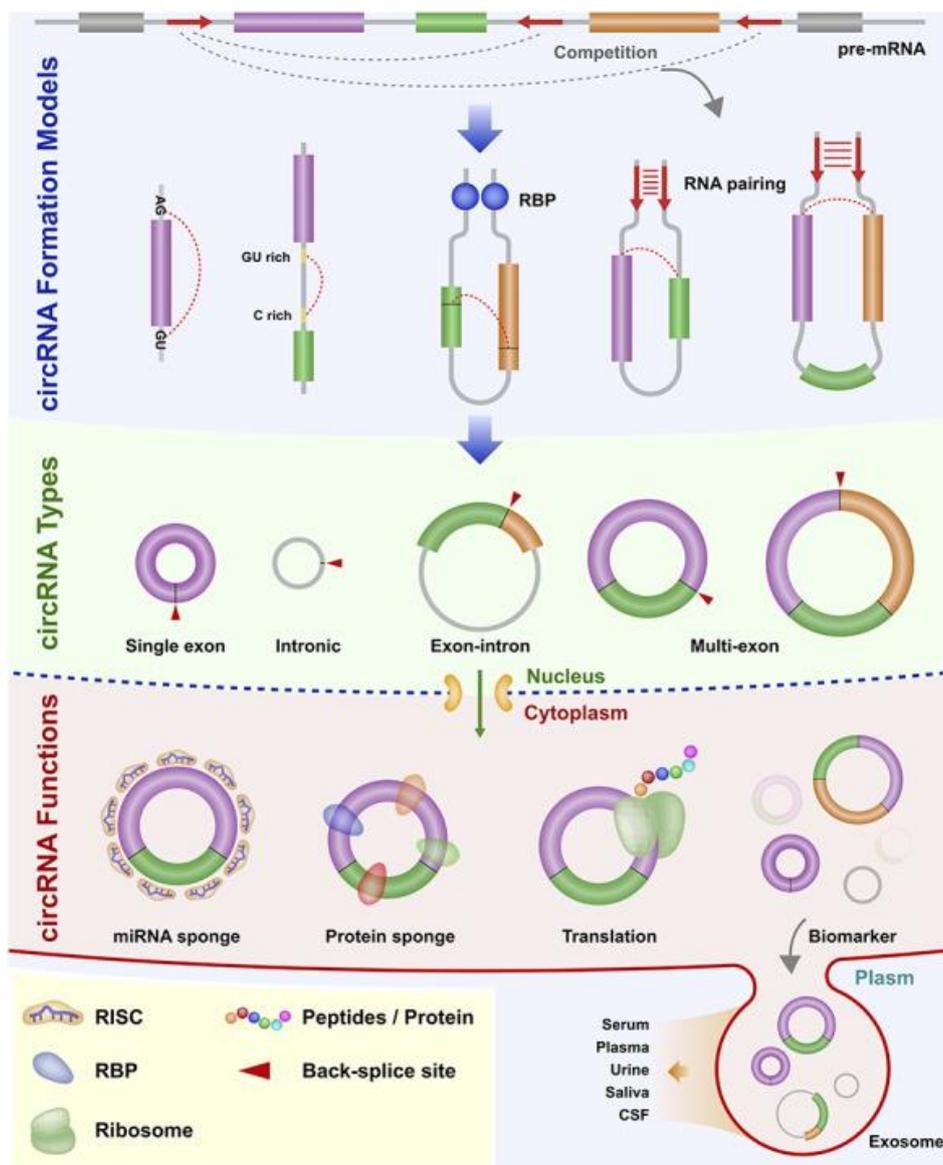


Figura 2 – CircRNAs: biogêneses, classe e função: A biogênese de circRNA é mostrada no início da figura como “modelos de formação de circRNAs”, para a formação de circRNA, são necessários elementos para aproximar os locais de *back-splicing* ambas as extremidades (regiões de flaqueamento AG-GU), sequências complementares (sequências ALU) ou proteínas de ligação a RNA (RBPs). Em seguida é demonstrados os diferentes tipos de circRNA, como os de um único éxon, intrônicos, éxon-intrônicos e de múltiplos éxons. Os circRNA desempenham funções importantes, demonstrado no final da figura, como esponjas de miRNA e proteínas, a molécula pode ser traduzida ao conter regiões de entrada à ribossomos, além de terem potencial como biomarcadores. Abreviações utilizadas incluem CSF (fluido cerebrospinal), RISC (complexo de silenciamento induzido por RNA) e RBP (proteína de ligação a RNA). Fonte: L. CHEN et al. (2021).

### 1.2.3 RNAs circulares no sistema nervoso central

Curiosamente, observou-se que os circRNAs são altamente expressos em células com ciclos mitóticos lentos, como os neurônios (RYBAK-WOLF *et al.*, 2014; YOU *et al.*, 2015; ZHANG, X. O. *et al.*, 2016). Assim, foi demonstrado que os circRNA são transcritos preferencialmente no sistema nervoso central (SNC) em comparação com qualquer outro tecido (MAHMOUDI; CAIRNS, 2019; RYBAK-WOLF *et al.*, 2014; YOU *et al.*, 2015). Inicialmente, o enriquecimento de circRNAs no SNC foi atribuído apenas ao seu acúmulo pós-transcricional. Essa hipótese foi levantada em virtude da resistência à degradação e estabilidade da molécula, além da lenta renovação das células neuronais (RYBAK-WOLF *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2020a). Porém, a alta conservação evolutiva no cérebro de diferentes organismos pluricelulares como humanos, roedores e até mesmo em moscas, indica que os circRNAs têm potenciais funções importantes no SNC (PIWECKA *et al.*, 2017a; RYBAK-WOLF *et al.*, 2014; WESTHOLM *et al.*, 2014).

Foi descrito, também que a maioria dos circRNAs no SNC são oriundos de genes que codificam proteínas sinápticas, como a proteína de estrutura de densidade pós-sináptica HOMER1 (MAASS *et al.*, 2017; WESTHOLM *et al.*, 2014; YOU *et al.*, 2015). Ademais, foi demonstrado em estudos com camundongos nocauteados para o circRNA Cdr1as (também conhecido como ciRS7) houve uma alteração na transmissão sináptica e prejuízos sensório-motor nos animais, associada a distúrbios neuropsiquiátricos (PIWECKA *et al.*, 2017).

Assim, os circRNAs vêm sendo associados a uma série de processos biológicos do SNC, incluindo a plasticidade sináptica, a regulação da expressão gênica e a formação de memórias (RYBAK-WOLF *et al.*, 2014; YOU *et al.*, 2015). Um exemplo interessante do papel dos circRNAs na plasticidade sináptica é o estudo recente de XU *et al.* (2018). Neste estudo, os pesquisadores identificaram o circGRIA1, um circRNA derivado do gene do receptor AMPA, em tecidos cerebrais *post mortem* de macacos machos. Ao manipular *in vivo* e *in vitro* a expressão do circGRIA1 em neurônios do hipocampo de macacos, observou-se um aumento na sua expressão relacionado à idade. Esse aumento do circRNA teve um impacto significativo nos níveis de receptores de glutamato e, portanto, na plasticidade sináptica, indicando uma explicação para a perda de função sináptica durante o envelhecimento (XU *et al.*, 2018).

Outro indicativo da importância da molécula circular para o cérebro é o seu aumento dinâmico e significativo não só no envelhecimento, mas como em diferentes estágios do neurodesenvolvimento (MAHMOUDI; CAIRNS, 2019; RYBAK-WOLF *et al.*, 2014; YOU *et al.*, 2015). Em embriões de camundongos foi visto uma mudança no padrão de transcrição de

circRNA associado ao início da sinaptogênese (DANG *et al.*, 2016; SEKAR; LIANG, 2019; YOU *et al.*, 2015). Além dos transcritos lineares, uma quantidade significativa de genes, expressa também circRNAs durante a formação e desenvolvimento dos neurônios (CHEN; HUANG; JANITZ, 2019). Em contraste, no cérebro adulto, a quantidade de circRNAs é menor em relação ao descrito no cérebro fetal (XIA *et al.*, 2017). Entretanto, estudos em cérebro de ratos idosos e moscas *Drosophila* mostraram que a um aumento da expressão de alguns circRNAs de forma significativa em comparação com os controles jovens, sendo cumulativa com o envelhecimento do cérebro (MAHMOUDI & CAIRNS, 2019; WESTHOLM *et al.*, 2014; XIA *et al.*, 2017).

Diante disto, começou a ser questionado se o acúmulo de circRNAs e a desregulação da sua transcrição estaria envolvida com doenças neurológicas ou neurodegenerativas associadas ao envelhecimento (XU *et al.*, 2020). Assim, as redes de interação dos circRNAs a suas participações em condições patológicas do SNC vem sendo estudado através de tecidos humanos e modelos animais. Dessa forma, evidências atuais começaram a mostrar que a expressão diferencial de circRNAs podem estar envolvidas no desenvolvimento e progressão de doenças como a DA, doença de Parkinson, esclerose múltipla e esquizofrenia (LUKIW, 2013; MEHTA; DEMPSEY; VEMUGANTI, 2020; RYBAK-WOLF *et al.*, 2014; YOU *et al.*, 2015).

#### **1.2.4 Transcrição diferencial de RNAs circulares na doença de Alzheimer**

Apesar dos circRNAs terem sido inicialmente considerados como subprodutos sem função, os circRNAs têm sido cada vez mais reconhecidos como importantes reguladores da expressão gênica em várias condições patológicas, incluindo a DA. Um dos primeiros circRNAs a serem associados com a DA foi o circRNA CDR1as. Esse circRNA possui mais de 70 sítios de ligação para o miRNA-7, exercendo a função de “esponja” de miRNA (HANSEN *et al.*, 2013; MEMCZAK *et al.*, 2013). Na DA há uma regulação negativa do CDR1as na região hipocampal, causando um aumento do miRNA-7 que regulou negativamente alvos relevantes para a AD, como a proteína UBE2A (LUKIW, 2013). A UBE2A comanda a depuração de peptídeos A $\beta$  e já foi descrita estar esgotado na DA, o que contribui para o seu acúmulo e depósito (ZHAO *et al.*, 2016). Além disso, a expressão normal de CDR1as inibe a tradução de N- $\kappa$ B e induz sua localização citoplasmática, estimulando a expressão de UCHL1, que promove a degradação de APP e de Beta-secretase 1 (SHI *et al.*, 2017; ZHAO *et al.*, 2016).

Após a descrição do CDR1as, vários outros estudos têm demonstrado que os circRNAs podem ter um papel importante no desenvolvimento e progressão da DA. Um estudo publicado por Dube em 2019, revelou 31 circRNAs significativamente associados com a DA em córtex parietal de humanos. Esses circRNAs foram associados com *Clinical Dementia Rating* (CDR) e com o Braak *Score* na DA, indicando sua correlação com estados clínicos e gravidade da doença. Surpreendentemente, a expressão dos circRNAs foi responsável por uma variação maior no desempenho de CDR do que o gene da APOE  $\epsilon 4$ , que é um importante fator de risco para a DA (DUBE *et al.*, 2019).

Adicionalmente, a análise das assinaturas transcricionais de circRNAs entre cérebros com EOAD e LOAD possibilitou a identificação de diferenças significativas entre esses dois tipos de doença (CHEN *et al.*, 2022). Foi constatado um aumento na expressão do circPSEN1, que não foi encontrado em casos de Alzheimer esporádico ou controles, sendo esse resultado independentemente da idade e da gravidade da doença, medida pelo escore Braak NFT. Porém, Chen *et al.* (2022) sugerem que esse aumento não é específico para portadores da mutação PSEN1, pois resultados semelhantes foram observados em portadores da mutação APP, indicando um mecanismo biológico específico para o circPSEN1 na EOAD. Além disso, análises bioinformáticas previram a ligação do circPSEN1 com 26 miRNAs, os quais estão associados de maneira significativa a várias vias, incluindo as vias de orientação wnt, hipo e axônica, que já foram relacionadas ao desenvolvimento da DA e à neuroinflamação (CHEN *et al.*, 2022).

Estudos em modelos animais para a DA têm se mostrado importantes para replicar resultados encontrados em amostras humanas. Por exemplo, um estudo em camundongos Tg2576, modelo para DA que superexpressa uma forma mutante de APP (isoforma 695), analisou a expressão de circRNA por meio da técnica de *microarray* aos sete e doze meses de idade dos animais (LEE *et al.*, 2019). Os resultados mostraram que 101 circRNAs foram desregulados aos sete meses e doze circRNAs aos doze meses. Ao analisar as redes circRNA-miRNA-mRNA o estudo revelou 2.275 redes desreguladas aos sete meses e 38 redes aos doze meses. Além disso, análises de ontologia gênica (GO) e de vias demonstraram que os mRNAs desregulados nessas redes representam os mecanismos patológicos da DA em cada estágio da doença, incluindo vias de ativação do sistema imunológico, inflamatórias e de produção de espécies reativas de oxigênio (LEE, W.-J. *et al.*, 2019).

Em conclusão, os estudos recentes sugerem que os circRNAs podem ter um papel importante na patogênese da DA por meio da regulação da expressão gênica e da modulação

da atividade celular (CHEN *et al.*, 2022; LEE, W.-J. *et al.*, 2019; LUKIW, 2013; ZHANG *et al.*, 2020b). No entanto, o mecanismo molecular subjacente ao papel dos circRNAs na DA ainda é pouco compreendido. Estudos futuros são necessários para elucidar o papel dos circRNAs na DA e seu potencial como biomarcadores e alvos terapêuticos na doença.

### **1.2.5 Recentes achados de RNAs circulares como possíveis biomarcadores para a doença de Alzheimer**

As qualidades de um biomarcador considerado confiável incluem estabilidade, capacidade de detectar alterações relevantes com alta sensibilidade e especificidade, precisão na medição e capacidade de ser reproduzido em diferentes estudos (ZHANG; YANG; XIAO, 2018). Levando em consideração os achados da desregulação transcricional dos circRNAs na DA, a estabilidade incomum, apresentando uma meia-vida de 48h em comparação com 10h para um mRNA e a especificidade de expressão dos circRNAs, começaram se especular sobre a possibilidade de usar as moléculas circulares como biomarcador (JECK; SHARPLESS, 2014a; MENG *et al.*, 2017; ZHANG; YANG; XIAO, 2018; ZHAO *et al.*, 2016). Assim, o uso de circRNAs como biomarcadores da DA começou a ser objeto de alguns estudos recentes na literatura científica.

Um estudo conduzido por Li Liu, investigou o perfil de expressão de circRNAs em amostras de sangue periférico de pacientes com DA e identificou 254 circRNAs diferencialmente expressos (CDE, do inglês *CirRNA differentially expressed*) em comparação com controles saudáveis (LI LIU *et al.*, 2020). Entre os circRNAs identificados, o hsa\_circ\_0003391 se destacou como o mais importante, uma vez que apresentou uma diminuição significativa nos níveis de expressão em pacientes com DA em comparação com controles. Além disso, em comparação com outros tipos de demência a expressão de hsa\_circ\_0003391 em pacientes com DA apresentou uma diminuição específica. Estudos correlacionais mostraram que os níveis de hsa\_circ\_0003391 estavam positivamente relacionados com escores de testes cognitivos, como *mini-mental state* (MMSE), MoCA, RAVLT-I e RAVLT-D, e negativamente correlacionados com CDR. Além disso, os níveis de hsa\_circ\_0003391 estavam positivamente correlacionados com os volumes do hipocampo nas imagens de ressonância magnética, sugerindo que esse circRNA pode estar envolvido com a patogênese da DA e pode ser um possível biomarcador (LI LIU *et al.*, 2020).

Outro exemplo de estudos avaliando circRNAs como biomarcadores é a publicação de Li em que o grupo avaliou o perfil de expressão de circRNAs como biomarcadores em LCR de

pacientes com DA e controles por *microarray*. 112 circRNAs foram encontrados regulados positivamente e 51 circRNAs foram regulados negativamente em comparação com os controles. As análises bioinformáticas das redes de interações desses circRNAs desregulados foram ligadas a processos como sinalização celular, morte neuronal, citotoxicidade e sinapses colinérgicas. As análises de regressão logística multivariada revelaram que cinco circRNAs (circ-AXL, circ-GPHN, circ-ITPR3, circ-PCCA e circ-TTC39C) foram fatores preditivos independentes para o risco de DA. Além disso, foram encontradas correlações entre os níveis de circRNAs e o escore do MMSE bem como com níveis de proteínas associadas à DA, como A $\beta$ 42 e p-tau (LI, Y. *et al.*, 2020).

Estes resultados sugerem que os circRNAs apresentam um potencial promissor como biomarcadores para a DA, devido à sua expressão alterada em tecidos cerebral e fluidos biológicos de pacientes, bem como à sua associação com processos biológicos relacionados DA (LI LIU *et al.*, 2020; LI, Y. *et al.*, 2020; PISCOPO *et al.*, 2022). Estudos têm demonstrado que circRNAs presentes em exossomos podem atravessar a barreira hematoencefálica e ser detectados em fluidos corporais, possibilitando o uso da molécula futuramente para diagnósticos, prognósticos e monitoramento frequente da terapia para diferentes tipos de doenças (Jeck & Sharpless, 2014b; Y. Li *et al.*, 2020; Z. Zhang *et al.*, 2018). No entanto, até o momento, foram documentados poucos candidatos a biomarcadores de circRNA para DA, havendo menos de 10 estudos publicados fazendo essa análise atualmente. Isso enfatiza a necessidade de mais pesquisas para validar e confirmar esses achados, bem como investigar a função dos circRNAs na DA e seu potencial terapêutico.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a transcrição de circRNAs em regiões vulneráveis à DA em um modelo animal transgênico de amiloidose humana por métodos de bioinformática

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

I. Buscar de forma sistemática na literatura dados de sequenciamento de nova geração (em específico, RNA-seq) ou microarranjo de circRNAs em modelos transgênicos para a DA.

II. Analisar os bancos de dados selecionados por expressão diferencial em busca de circRNAs diferencialmente expressos nos modelos animais com mutações da DA familiar;

III. Analisar as vias de Ontologias genicas dos genes precursores dos circRNAs;

IV. Encontrar circRNAs diferencialmente expressos em interseções entre os bancos de dados por métodos de bioinformática;

V. Analisar a função dos circRNAs diferencialmente expressos no modelo de amiloidose humana em interseções entre os bancos de dados.



### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA DE DATASETS E ANÁLISES BIOINFORMÁTICAS

Os bancos de dados contendo informações sobre a expressão de circRNAs na DA foram buscados nas bases de dados PubMed e *Web of Science*, além da busca no repositório de dados genéticos *Gene Expression Omnibus* (GEO), usando o termo de busca “(*circRNA OR circRNAs OR circular RNA*) AND (*Alzheimer OR Alzheimer's disease OR alzheimer's*)”. A busca resultou em 281 registros, além de 12 registros adicionais identificados por varredura de listas de referências.

Os critérios de exclusão dos artigos e bancos de dados foram: Artigos ou bancos de dados duplicados, revisões, estudos que não avaliavam a DA ou circRNAs, estudos com apenas dados computacionais, estudos com apenas análise por RT-qPCR, estudos que não satisfizeram controle de qualidade do RNA-seq ou microarranjo, estudos que não avaliavam a regiões vulneráveis para DA e que não utilizavam modelos transgênicos para a doença de Alzheimer. Dessa forma, foram incluídos em nosso trabalho apenas estudos com dados de sequenciamento originais de RNA-seq ou microarranjo. Desses, foram excluídos os bancos de dados que não tinham seus dados compatíveis com o estudo publicado ou com a descrição da amostra, que não possuíam controles pareados na amostra, e estudos que não possuíam no mínimo três amostras por grupo. Ao todo, três bancos de dados foram considerados adequados para análises bioinformáticas no presente estudo (GSE166393, GSE158995 e PRJNA712946).

#### 3.2 MODELO DE AMILOIDOSE APPSWE/PSEN1DE

Os dados de RNAs utilizado no presente projeto são derivados do modelo animal para a DA de camundongo transgênico APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>d</sup> (<https://www.alzforum.org/research-models/appswepsen1de9-c57bl6>). Os camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE</sup> foram criados em um fundo híbrido C57BL/6J e expressam o gene PSEN1 humano sem exon 9 (dE9) e a APP quimérico de camundongo/humano com a mutação sueca, ambos os genes são dirigidos através do promotor da proteína príon de camundongos. Nesse modelo as placas A $\beta$  começam a acumular no córtex por volta dos 4 meses de idade, mas no hipocampo as placas A $\beta$  surgem por volta dos 6 meses e aumentam o seu acúmulo com o decorrer com a idade (MINKEVICIENE *et al.*, 2008). Os dados de RNAseq que encontramos na literatura pertencem a esse modelo nas idades de 4 meses, 6 meses e 8 meses (GSE166393, GSE158995 e PRJNA712946).

### 3.3 ANÁLISES DE BIOINFORMÁTICA: EXTRAÇÃO DOS DADOS E ALINHAMENTO DOS ARQUIVOS FASTQ

A análise bioinformática deste estudo foi iniciada com o download dos arquivos SRA (*Sequence Read Archive*) de cada banco de dados incluído na pesquisa (GSE166393, GSE158995 e PRJNA712946). Em seguida, os arquivos SRA foram convertidos em arquivos FASTQ utilizando o SRA Toolkit (LEINONEN *et al.*, 2011). Para realizar o alinhamento das sequências de *Mus musculus* ao genoma de referência de *Mus musculus* (GRCm39), utilizou-se o algoritmo de alinhamento BWE-MEM (GAO; ZHANG; ZHAO, 2018). Esse algoritmo é altamente eficiente para mapear sequências em um genoma de referência extenso (GAO; ZHANG; ZHAO, 2018; LI, 2013).

#### 3.3.1 Análise das leituras de junção usando o algoritmo CIRI2

Os arquivos SAM foram processados através do algoritmo CIRI v2.0.6 (CIRI2 - *CircRNA Identifier*) (GAO; WANG; ZHAO, 2015). A ferramenta CIRI2 escaneia os arquivos SAM duas vezes e coleta informações para identificar e caracterizar os circRNAs. Durante a primeira varredura, o CIRI2 diferencia as leituras de junção com emenda reversa (BSJ) e leituras não BSJ usando estimativa de máxima verossimilhança eficiente (MLE) com base em correspondência múltipla de sementes e armazena esses resultados intermediários em um arquivo temporário (GAO; WANG; ZHAO, 2015).

Depois que todos os encadeamentos forem concluídos, esses arquivos temporários serão escaneados novamente. O segundo escaneamento é feito para detectar leituras de junções adicionais e ao mesmo tempo faz a filtragem para eliminar candidatos falsos positivos resultantes de mapeamento errôneo ou sequências repetitivas e assim faz a previsão final do circRNA. Ao final das duas leituras, os circRNAs identificados são emitidos como informações de anotação (GAO; WANG; ZHAO, 2015).

Dessa forma, CIRI2 é extremamente eficiente na filtragem de falsos positivos e com alta sensibilidade. Essa maior capacidade de diferenciação combinada com *multithreading* permite que o CIRI2 seja executado mais rapidamente e use a RAM com mais eficiência (GAO; WANG; ZHAO, 2015).

A ferramenta CIRI v2.0.6 foi selecionada como a opção ideal para a identificação de circRNA, com base em um estudo que avaliou o desempenho de vários métodos disponíveis na literatura. Este estudo destacou a ferramenta CIRI como a mais mencionada e, mais importante

ainda, demonstrou sua robustez e alta sensibilidade em comparação com outras ferramentas avaliadas. Portanto, CIRI é altamente recomendado como uma opção confiável e eficiente para a identificação de circRNA (CHEN *et al.*, 2021a).

### 3.3.2 Identificação dos RNAs circulares diferentemente expressos

Após as análises utilizando o algoritmo CIRI2, identificamos os circRNAs diferentemente expressos entre as amostras de caso e controle. A análise foi realizada nos três bancos de dados incluídos no estudo através da utilização da biblioteca DESeq2 (versão3.15) do software R (valor de  $p < 0,01$ ).

### 3.3.3 Genes precursores de RNAs circulares

Atualmente, a falta de uma padronização da nomenclatura entre bancos de dados é um desafio enfrentado em estudo de circRNA e seus respectivos IDs não são universais. Algumas opções de IDs incluem um ID definido por espécies\_circ\_número, apenas o símbolo de gene junto com “circ” (circ+símbolo do gene) ou nome de convenção, e alguns bancos de dados usam o símbolo do gene hospedeiro com números de acesso ou loci BSJ como ID (L. CHEN *et al.*, 2021). CircBank fez uma tentativa de unificar a nomenclatura com o esquema proposto de “hsa-circGENE-x” (sendo GENE o símbolo do gene hospedeiro e 'x' o número baseado na posição do circRNA no gene hospedeiro) (L. CHEN *et al.*, 2021). Uma nomenclatura padronizada é uma necessidade urgente para pesquisas com circRNAs, tornando-se um desafio para os pesquisadores e para a área, especialmente considerando a complexidade dos circRNA e do *back-splicing*. Diante disso, a maioria de nossas análises levou em consideração o gene precursor ou gene parental de circRNAs para indiretamente analisar os circRNAs.

### 3.3.4 Análises de enriquecimento funcional no GO

As análises de enriquecimento funcional no *Gene Ontology* (GO) dos CDES foram realizadas usando o pacote ClusterProfiler R. O GO (<http://geneontology.org/>) é um banco de dados de anotação de genes utilizado para investigar genes e proteínas em termos de sua composição celular, função molecular e processos biológicos. Essa abordagem permite compreender melhor as características e as funções dos genes associadas a formação de circRNAs identificados.

### **3.3.5 Análise de similaridade entres os bancos de dados**

Foi utilizado o pacote UpSetR (versão v1.4.0) para realizar a análise dos três bancos de dados, a fim de identificar os genes que se encontram em intersecção entre eles. O pacote UpSetR emprega um layout baseado em matriz, assim, o UpSetR permitiu encontrar os genes parentais produzindo circRNAs comumente desregulados entre os três estudos independentes do modelo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE</sup> (CONWAY; LEX; GEHLENBORG, 2017).

Após identificar os genes parentais que apresentam circRNAs comumente desregulados nos bancos de dados, os resultados foram organizados em planilhas do Excel. Em seguida, adotamos uma estratégia que consistiu na análise das localizações cromossômicas dos circRNAs derivados desses genes. Essa abordagem envolveu a comparação de todas as localizações utilizando filtros no Excel, que permitiram identificar as localizações que são exatamente iguais. Essa abordagem foi empregada com o intuito de conferir maior confiabilidade às nossas análises, possibilitando a avaliação se os genes comuns entre os estudos estão de fato produzindo os mesmos circRNAs.

### **3.3.6 Busca dos potenciais funções dos RNAs circulares utilizando o circFunbase**

O circFunBase (<https://bis.zju.edu.cn/CircFunBase/>) é um banco de dados que se destaca por abranger um grande número de circRNAs em seu índice. Diferentemente da maioria dos bancos de dados, que se concentram principalmente em circRNAs humanos, o circFunBase também inclui circRNAs detectados em outras espécies (VROMMAN; VANDESOMPELE; VOLDERS, 2021).

Para prever as funções dos circRNAs, utilizamos o circFunBase por meio da busca do gene precursor associado a cada circRNA. Essa abordagem permite explorar as informações disponíveis no banco de dados e obter insights sobre os potenciais funções dos circRNAs. Contudo, não encontramos todos os genes precursores que foram buscados no banco de dados. Dos 16 genes encontrados em comum nos camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> de 4, 6 e 8 meses, nossa busca retornou apenas 4 genes e 5 redes de interação na espécie.

### **3.3.7 Potenciais redes de regulação dos RNAs circulares**

Após a busca pelas possíveis funções dos circRNAs associados aos genes de interesse nos estudos analisados, observamos que a maioria das funções atribuídas estava relacionada à regulação de miRNAs. Com base nesses resultados, utilizamos as informações obtidas nas buscas no circFunBase para prever os possíveis mRNAs regulados pelos miRNAs identificados

em nossa análise, considerando-os como potenciais alvos de regulação dos circRNAs, pelo banco de dados MiRDB (<https://mirdb.org/>).

No entanto, devido à extensão dos resultados das buscas de regulação de miRNAs e mRNAs, percebemos que seria necessário filtrar esses resultados, direcionando nossa atenção para as redes de regulação que sejam relevantes para a DA. Essa etapa de filtragem nos permitiria identificar as interações mais significativas e pertinentes, concentrando-nos nas redes de regulação que possam desempenhar um papel importante no contexto da DA.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 SELEÇÃO DOS BANCOS DE DADOS

Os resultados do processo de busca e seleção dos bancos de dados está mostrado na Figura 1.

Figura 3 – Diagrama de fluxo da seleção dos bancos de dados

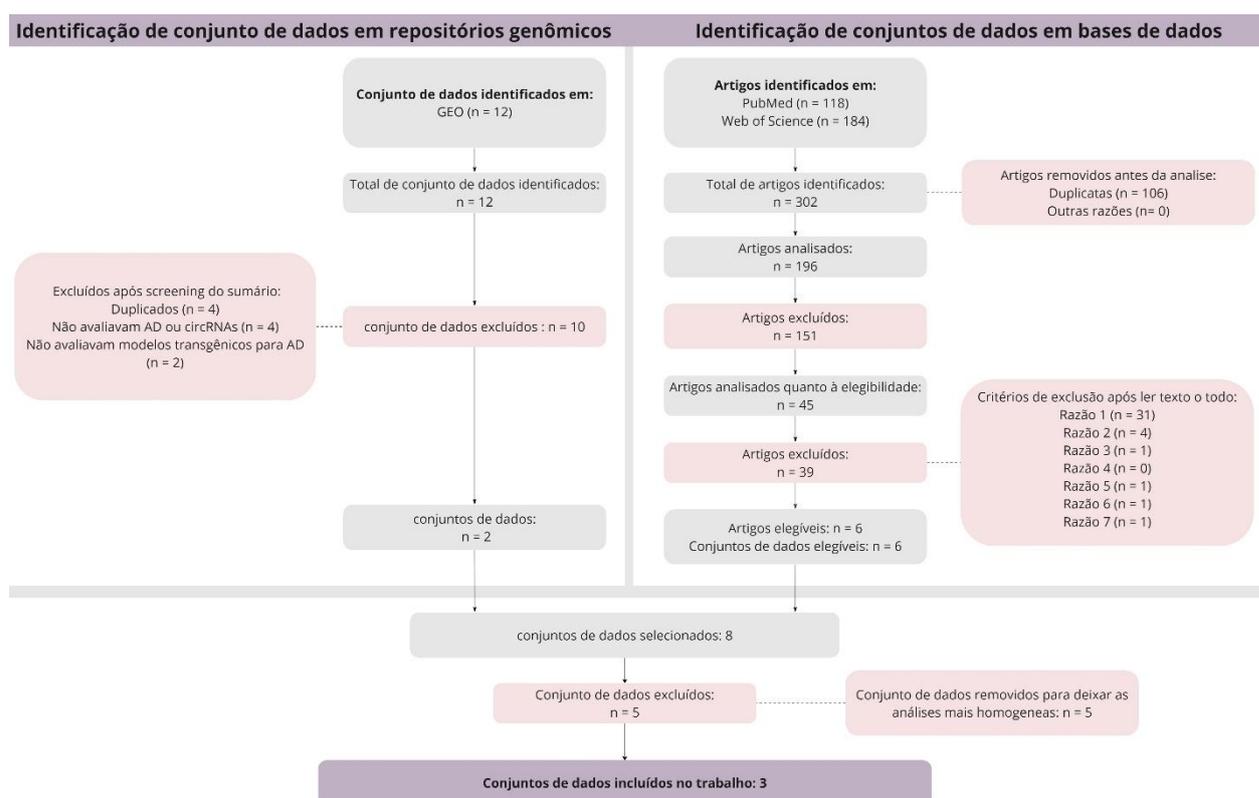


Figura 3 – Diagrama de fluxo da seleção dos bancos de dados: Razão 1: sem grupo modelo transgênico para DA e/ou grupo controle; razão 2: não utilizam RNA-seq ou microarranjo; razão 3: os dados de sequenciamento ou bancos de dados não puderam ser encontrados; razão 4: tamanho amostral menor que três em cada grupo (controle ou DA); razão 5: artigos que avaliam o mesmo banco de dados (excluir um deles); razão 6: estudos apenas com análises *in silico*; razão 7: estudos que apresentavam seus métodos ou resultados confusos. Cada artigo considerado ilegível precisou apresentar um banco de dados único e compatível com as outras razões para ser analisado. Após algumas discussões decidimos deixar nossa análise mais homogênea, selecionando apenas o modelo APPsw/PSEN1dE9, assim foi formulado mais um critério de exclusão. Figura elaborada pela autora.

De forma resumida, a busca no banco de dados identificou 314 estudos (118 artigos do PubMed e 176 artigos do *Web of Science* e 12 bancos de dados do *Gene Expression Omnibus - GEO*). Realizamos a busca dessa maneira porque os bancos de dados disponíveis em

repositórios genéticos como o GEO eram limitados. Essa foi a abordagem que encontramos para capturar outros bancos de dados que não estão depositados em repositórios genéticos. Ao final, incluímos 3 bancos de dados para as análises de bioinformática. As principais razões para a exclusão na fase de avaliação de elegibilidade foram:

- a) estudos que não avaliaram circRNAs em modelos transgênicos para a DA e/ou não há grupo controle;
- b) estudos que avaliaram a transcrição de circRNAs por métodos de transcritora como RNA-seq e microarranjo;
- c) banco de dados não encontrado (após contatar os pesquisadores do estudo);
- d) tamanho da amostra menor que 3 amostras por grupo;
- f) Artigos que analisavam o mesmo banco de dados (excluir um deles);
- g) estudos apenas com análises in silico;
- h) estudos que apresentavam seus métodos ou resultados confusos;

Foram identificados seis estudos potencialmente elegíveis na busca pelos bancos de dados. Entretanto, optamos por realizar nossas análises com base em um modelo selecionado, o APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>, que apresentou a maior ocorrência entre os bancos de dados com exatamente a mesma mutação. Por essa razão, os estudos que não avaliaram esse modelo foram excluídos (W. J. Lee et al., 2019; Ma et al., 2019; Ma et al., 2020; Nam et al., 2020 e GSE216901). No total, três estudos foram incluídos nesta análise - um proveniente da busca no GEO e dois nas bases de dados. Assim, essa estratégia foi tomada para manter a homogeneidade na seleção dos estudos para garantir a qualidade das nossas análises.

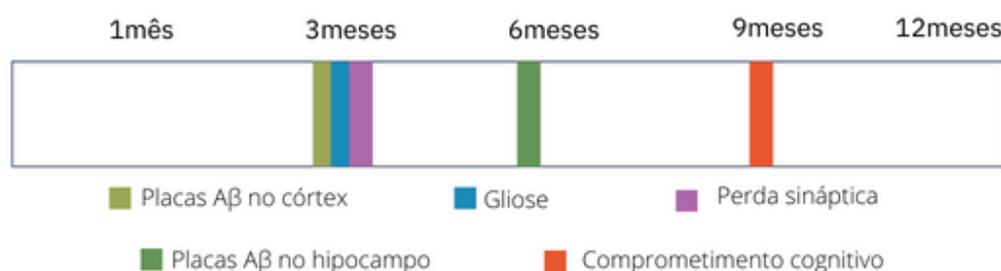
#### 4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUIDOS

Como mencionado anteriormente, para deixar nossas análises mais homogêneas e diminuir o risco de vieses pelos diferentes modelos para AD, decidimos incluir só bancos de dados que analisam os modelos com as mesmas mutações. Assim, todos os bancos de dados incluídos na para análises bioinformáticas eram estudos que utilizavam os camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>. Além de ser o modelo mais prevalente em nossa busca, o camundongo modelo é amplamente empregado em estudos sobre a DA. Por essas razões, optamos por utilizar os dados genômicos desse modelo na presente pesquisa.

Camundongos do modelo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> e seus controles foram utilizados neste estudo, com idades de 4 meses, 6 meses e 8 meses (GSE166393, GSE158995 e PRJNA712946, n = 3 por grupo) com controles pareados para cada grupo. Além disso, os 3 bancos de dados

utilizaram o hipocampo dos animais para a análises de RNA-seq. Considerando as análises de sequenciamento realizadas no hipocampo dos animais de 4 meses, as alterações relacionadas a placas  $\beta$ -amiloides não estão presentes, enquanto nas análises realizadas nos animais de 6 meses, já é possível detectar o início do acúmulo de placas A $\beta$ , e aos 8 meses, são observadas significativas alterações segundo o genótipo do animal (MINKEVICIENE *et al.*, 2008), como demonstrado na figura 4 e descrito mais detalhadamente no capítulo 3.2 deste estudo.

Figura 4 – Características fenotípicas do modelo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>



Fonte: Adaptação de (APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> (C57BL6) | ALZFORUM, n.d.).

#### 4.3 PERFIL DE EXPRESSÃO DE CIRCNRNAS

Foram analisados um total de 4625 circRNAs no hipocampo de camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> com idades de 4 meses (GSE166393), 3230 circRNAs no hipocampo de camundongos de 6 meses (GSE158995) e 3753 circRNAs no hipocampo de camundongos de 8 meses (PRJ158995). Nos animais de 4 meses, foram encontrados 41 CDES de forma significativa considerando  $pval < 0.01$ , dos quais 25 foram regulados positivamente e 16 foram regulados negativamente. Já nos camundongos de 6 meses, foram identificados 82 CDES de forma significativa, também considerando  $pval < 0.01$ , dos quais 44 foram regulados positivamente e 38 foram regulados negativamente. Por fim, 425 CDES de forma significativa ( $pval < 0.01$ ) foram encontrados nos camundongos de 8 meses, em que 297 foram regulados positivamente e 128 foram regulados negativamente. A Figura 5 mostra gráficos de vulcão que ilustram o padrão de expressão de circRNAs.

Figura 5 – Gráficos de vulcão sobre a expressão diferencial de circRNAs na DA

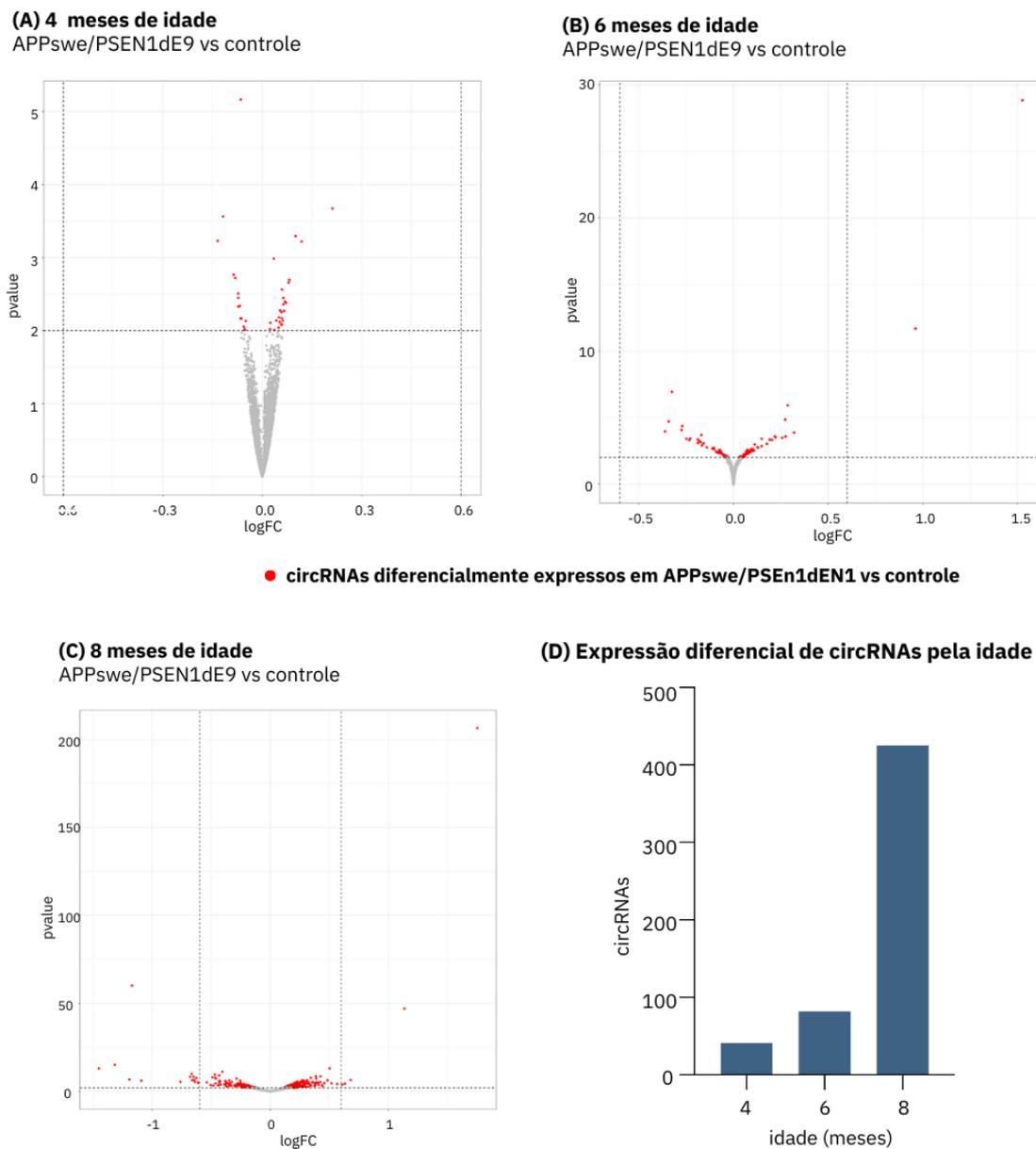


Figura 5 – Gráficos de vulcão sobre a expressão diferencial de circRNAs na DA: Expressão diferencial de circRNAs em camundongos APPswe/PSEN1dE9. Volcano plot representações de CDES ( $p$ valor  $< 0,01$ ) no hipocampo de APP/PS1 vs controle ( $n=9$ ). (A) Banco de dados GSE166393, (B) GSE158995 e (C) PRJNA712946. (D) Representação da quantidade de circRNAs expressos diferencialmente ao longo das idades nos três estudos. Fonte: Elaboração própria.

#### 4.4 ANÁLISES DE ENRIQUECIMENTO FUNCIONAL

Conforme mencionado anteriormente no capítulo 3.1.4, a falta de padronização da nomenclatura e a escassez de estudos publicados dificultam a análise de CircRNAs. Portanto, a análise de ontologia gênica (GO) foi realizada com base nos genes precursores dos circRNAs que apresentaram expressão diferencial no modelo de camundongo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>. Aos 4 meses de idade, foi observada uma expressão diferencial de circRNAs em quantidades baixas, o que resultou na identificação de poucos genes precursores de circRNAs. Conforme ilustrado na Figura 6, a análise dos genes precursores dos circRNAs aos 4 meses resultou na identificação de quatro conjuntos de resultados de GOs como demonstrado na figura 6. Esses GOs incluíram o GO:0043113, que está relacionado ao agrupamento de receptores; o GO:0005923, que está relacionado às junções bicelulares; o GO:0070160, que está relacionado às junções celulares; e o GO:0043296, que está relacionado aos complexos de junção apical. Vale destacar que esses GOs podem ser agrupados em um cluster que está relacionado às junções celulares.

Nos camundongo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> de 6 meses, a análise de GO identificou 97 processos biológicos (BPs), 38 componentes celulares (CCs) e 8 funções moleculares (MFs). Esses resultados foram agrupados em 28 clusters para uma melhor análise, conforme demonstrado na Tabela 3. Enquanto nos camundongo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> de 8 meses podem ser predominantemente enriquecidos em 278 BPs, 70 componentes celulares (CCs) e 71 funções moleculares (MFs). Esses resultados, também foram agrupados, resultando 68 clusters, conforme demonstrado na como demonstrados na Tabela 4.

Ao compararmos os enriquecimentos de *Gene Ontologies* (GOs) entre as idades de 6 meses e 8 meses, identificamos a presença de 57 GOs compartilhados. Curiosamente, observamos que a porcentagem de enriquecimento desses GOs aumentou em média 10% aos 8 meses em comparação com os 6 meses, conforme ilustrado na figura 7.

Figura 6 – Análise GO dos genes precursores de circRNAs nos camundongo APPswe/PSEN1dE9 de 4 meses (GSE166393)

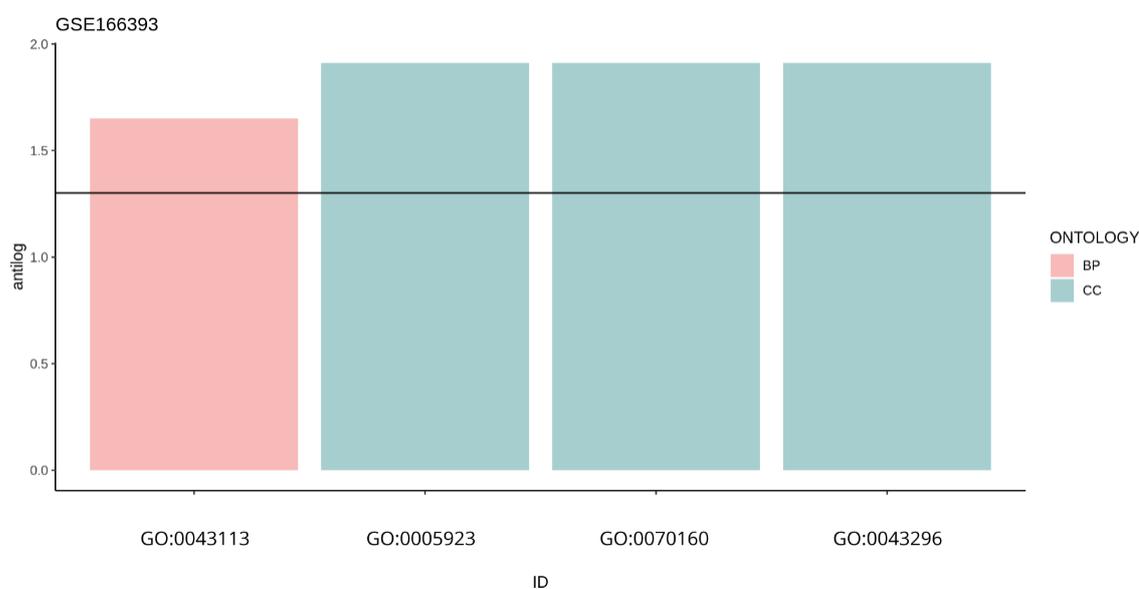


Figura 6 – Análise GO dos genes precursores de circRNAs nos camundongo APPswe/PSEN1dE9 de 4 meses (GSE166393): Distribuição das sequências por ontologias dos termos do Gene Ontology em camundongos APPswe/PSEN1dE9 com 4 meses de idade. Fonte: Elaboração própria.

Quadro 3 – Análise de agrupamento de enriquecimento funcional de circRNAs nos camundongo APPswe/PSEN1dE9 de 6 meses (GSE158995)

Número do Cluster	Nome do Cluster
1	Regulação da localização de proteínas na membrana plasmática
2	Organização do filamento de actina
3	Regulação do transporte transmembrana de íons e cations
4	Regulação do potencial de membrana
5	Crescimento de organismo multicelular
6	Regulação da exocitose da vesícula sináptica
7	Pequena transdução de sinal mediada por GTPase.
8	Regulação da organização do citoesqueleto de actina.
9	Regulação positiva da montagem da sinapse.

10	Organização sináptica.
11	Montagem de sinapse.
12	Regulação da polimerização de proteínas.
13	Contração muscular.
14	Desenvolvimento dendrítico.
15	Regulação da cognição.
16	Regulação positiva da adesão célula-substrato.
17	Potencial pós-sináptico excitatório.
18	Regulação da frequência cardíaca.
19	Regulação da organização pós-sinapse.
20	Regulação da Secreção de Proteínas.
21	Transporte mediado por vesículas na sinapse
22	Homeostase da glicose celular
23	Importação de íons de cálcio
24	Regulagem da montagem filopodium
25	Localização de proteínas para sinapse
26	Movimento baseado em filamento de actina
27	Organização da espinha dendrítica
28	Regulação da via secretora das células

Fonte: Elaboração própria.

Quadro 4 –Análise de agrupamento de enriquecimento funcional de circRNAs nos camundongo APPswe/PSEN1dE9 de 8 meses (PRJ158995)

Número do Cluster	Nome do Cluster
1	Regulação da morfogênese axonal e dendrítica
2	Via de sinalização Wnt
3	Regulação da atividade da GTPase
4	Organização sinapse
5	Manutenção da localização da proteína na célula
6	Autofagia
7	Regulação de vias de sinalização
8	Regulação positiva do desenvolvimento da projeção neuronal
9	Organização estrutural de componentes celulares
10	Transporte transmembrana de íons
11	Regulação do potencial de membrana
12	Resposta ao estresse oxidativo
13	Regulação do transporte de íons
14	Regulação do transporte transmembrana de íons e cátion

15	Importação e exportação de proteínas para o núcleo
16	Adesão celular
17	Comportamento
18	Regulação positiva da cascata de quinase MAP por estresse
19	Resposta celular ao estímulo do hormônio peptídico
20	Desenvolvimento pós-embrionário
21	Desenvolvimento do tubo neural embrionário
22	Regulação negativa de quinase e modificação de proteínas
23	Sinalização mediada por vias de transdução de sinais
24	Resposta celular ao estresse oxidativo
25	Transporte de ânions inorgânicos
26	Regulação da diferenciação neuronal
27	Regulação da ligação de proteínas
28	Regulação do processo apoptótico de neurônios
29	Desenvolvimento da retina neural
30	Internalização do receptor
31	Modificação pós-traducional de proteínas
32	Aprendizagem ou memória
33	Regulação positiva da atividade da proteína quinase
34	Aprendizagem visual
35	Transporte intracelular
36	Regulação da migração de células endoteliais
37	Regulação da adesão celular
38	Montagem de sinapse
39	Desenvolvimento do córtex cerebral
40	Resposta a insulina
41	Processos metabólicos de lipídios
42	Regulação da autofagia
43	Acetilação de histonas
44	Regulação da organização celular e sináptica
45	Organização e formação de projeções neuronais
46	Regulação da endocitose
47	Regulação do pH intracelular
48	Desenvolvimento celular
49	Modificação e regulação do DNA e transcrição gênica
50	Regulação da morfogênese celular envolvida na diferenciação
51	Homeostase tecidual
52	Regulação das estruturas celulares e junções intercelulares

53	Tetramerização de proteínas
54	Regulação negativa da fosforilação
55	Regulação do transporte transmembrana de glicose
56	Localização de proteínas sinápticas
57	Regulação da potencialização sináptica de longo prazo
58	Resposta a estímulos extracelulares
59	Transporte de íons cálcio para o citosol
60	Resposta a compostos químicos
61	Regulação positiva do transporte e localização de proteínas
62	Regulação da atividade do transportador
63	Regulação do desenvolvimento morfológico
64	Regulação negativa da atividade da transferase
65	Processo metabólico celulares
66	Migração tecidual
67	Desacilação de macromoléculas
68	Regulação do transporte de aminoácidos

Fonte: Elaboração própria.

Quadro 5 – GOs compartilhados entre os bancos de dados de 6 meses (GSE158995) e 8 meses (PRJNA712946)

ID	GO	Função traduzida
1	GO:0099173	Organização da pós-sinapse
2	GO:1901890	Regulação positiva da montagem de junção celular
3	GO:1904377	Regulação positiva da localização de proteínas à periferia celular
4	GO:1904375	Regulação da localização de proteínas à periferia celular
5	GO:0042391	Regulação do potencial de membrana
6	GO:1903829	Regulação positiva da localização de proteínas
7	GO:0034765	Regulação do transporte iônico transmembrana
8	GO:0031589	Adesão célula-substrato
9	GO:1904062	Regulação do transporte iônico transmembrana de cátions
10	GO:0007264	Transdução de sinal mediada por GTPases pequenas
11	GO:0034329	Montagem de junção celular
12	GO:1905475	Regulação da localização de proteínas à membrana
13	GO:0106027	Organização de projeção de neurônio
14	GO:0099175	Regulação da organização pós-sinapse
15	GO:1905477	Regulação positiva da localização de proteínas à membrana
16	GO:0060078	Regulação do potencial de membrana pós-sináptico
17	GO:1901888	Regulação da montagem de junção celular

18	GO:0010810	Regulação da adesão célula-substrato
19	GO:0050808	Organização de sinapse
20	GO:0010811	Regulação positiva da adesão célula-substrato
21	GO:0032535	Regulação do tamanho do componente celular
22	GO:0050807	Regulação da organização de sinapse
23	GO:0050803	Regulação da estrutura ou atividade da sinapse
24	GO:0010959	Regulação do transporte de íons metálicos
25	GO:0072659	Localização de proteínas à membrana plasmática
26	GO:0035418	Localização de proteínas à sinapse
27	GO:0048813	Morfogênese de dendritos
28	GO:0030534	Comportamento adulto
29	GO:0016358	Desenvolvimento de dendritos
30	GO:0007416	Montagem de sinapse
31	GO:0071805	Transporte transmembrana de íons potássio
32	GO:0007265	Transdução de sinal de proteínas Ras
33	GO:0097061	Organização de espinhas dendríticas
34	GO:0050890	Cognição
35	GO:1990778	Localização de proteínas à periferia celular
36	GO:0055001	Desenvolvimento de células musculares
37	GO:0098978	Sinapse glutamatérgica
38	GO:0098685	Sinapse colateral de Schaffer - CA1
39	GO:0097060	Membrana sináptica
40	GO:0005938	Córtex celular
41	GO:0044309	Espinha dendrítica
42	GO:0098793	Pré-sinapse
43	GO:0060076	Sinapse excitatória
44	GO:1990351	Complexo transportador
45	GO:0031252	Borda celular avançada
46	GO:0043197	Espinha dendrítica
47	GO:0045177	Parte apical da célula
48	GO:0032279	Sinapse assimétrica
49	GO:0098984	Sinapse neurônio-neurônio
50	GO:0034703	Complexo de canal catiônico
51	GO:1902495	Complexo transportador transmembrana
52	GO:0009925	Membrana plasmática basal
53	GO:0034702	Complexo de canal iônico
54	GO:0045178	Parte basal da célula
55	GO:0008022	Ligação à extremidade C-terminal da proteína

56	GO:0003779	Ligação à actina
57	GO:0044325	Ligação a transportador transmembrana

Fonte: Elaboração própria.

Figura 7 – Porcentagem de variação dos GO compartilhados entre os bancos de dados de 6 meses (GSE158995) e 8 meses (PRJNA712946)

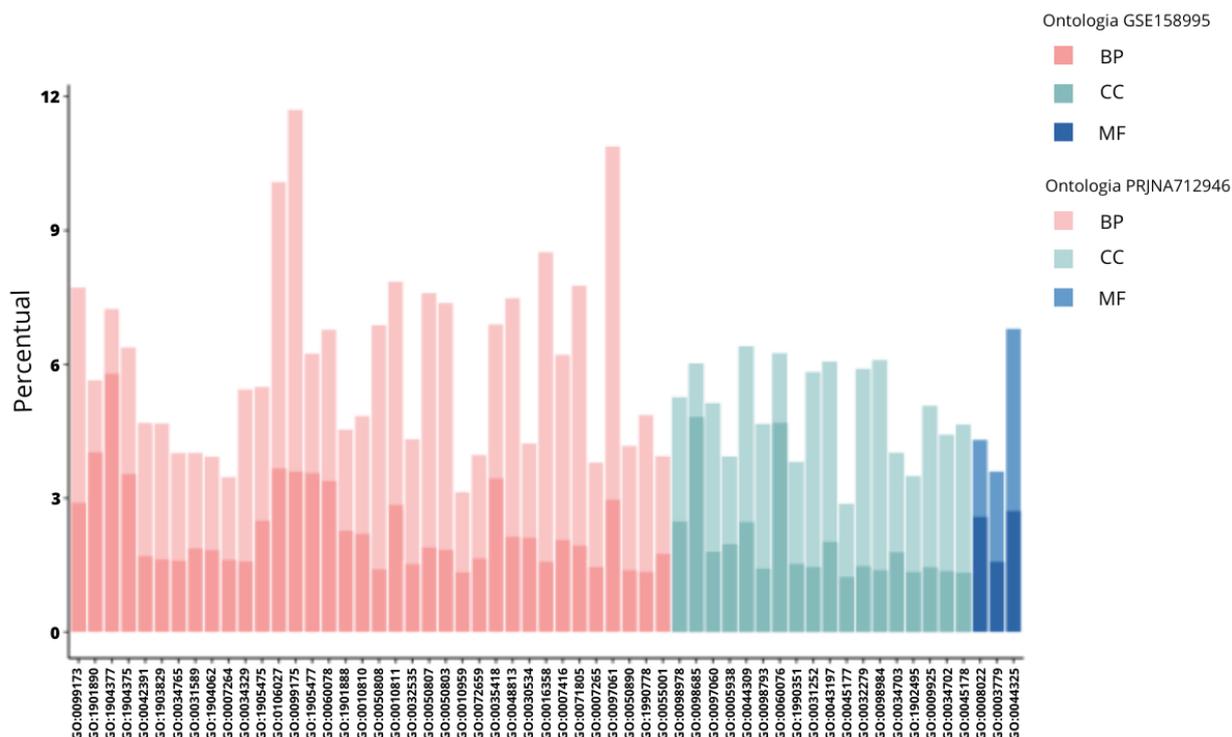


Figura 7 – Porcentagem de variação dos GO compartilhados entre os bancos de dados de 6 meses (GSE158995) e 8 meses (PRJNA712946): Enriquecimento em porcentagem de GOs compartilhados entre as idades de 6 meses (GSE158995) representados em cores mais escuras e 8 meses (PRJNA712946) representado em cores mais claras. O eixo x mostra os termos GO dos processos biológicos (BP), componentes celulares (CC) e funções moleculares (MF), enquanto o eixo y mostra a porcentagem de enriquecimento gênico. Fonte: Elaboração própria.

#### 4.5 GENES PRECURSORES DE CIRCRNAS DIFERENTEMENTE EXPRESSOS COMPARTILHADOS ENTRE OS ESTUDOS

Para prever a presença de CDES comuns aos três estudos analisados, utilizou-se os genes precursores desses circRNAs desregulados e o pacote UpSetR. Os resultados revelaram que 13 genes (ANKRD12, ATP11B, CCDC141, CD2AP, FMN1, HOMER1, IL1RAP, NDST3, SHROOM4, SLC12A2, STIP1, TET1, VPS13C) formando CDES foram compartilhados entre os grupos de 6 meses e o grupo de 8 meses de idade, enquanto 4 genes (CCDC141, IPCEF1,

NLRP5-PS, ZC3H11A) formando CDES foram identificados entre os grupos de 4 e 8 meses de idade. Além disso, somente o gene CCDC141 foi identificado em comum entre os grupos de 4 e 6 meses de idade, e esse mesmo gene foi encontrado formando CDES em todos os grupos. Esses achados podem sugerir a existência de circRNAs específicos para cada idade do modelo, bem como a presença de circRNAs compartilhados entre diferentes grupos.

Após identificar os genes precursores de CDES, realizamos uma análise das localizações genômicas dos circRNAs derivados desses genes. Essa estratégia visa fornecer uma maior confiabilidade ao verificar se estamos vendo o mesmo circRNA em estudos independentes ou se diferentes genes estão produzindo circRNAs distintos. A Tabela 6 apresenta os resultados dessa análise, destacando apenas as localizações exatamente iguais. Quando não há uma localização comum, é mencionado que não há correspondência e é dado um exemplo.

Portanto, observamos que os genes *Zc3h11a*, *Il1rap*, *Shroom4* e *Slc12a2* não apresentaram localizações de circRNAs exatamente iguais, o que sugere a existência de circRNAs distintos sendo produzidos por esses genes. Por outro lado, diversos genes demonstraram a produção de mais de um circRNA que é compartilhado entre diferentes idades, pois sua localização cromossômica é exatamente a mesma nos estudos analisados. Um exemplo disso é o gene *Fmn1*, o qual apresentou 10 localizações compartilhadas entre os estudos GSE158995 (6 meses) e PRJNA712946 (8 meses). Esses resultados evidenciam a complexidade dos processos de *back-splicing*.

Figura 8 – Análise de intersecção entre os genes precursores de circRNAs entre os bancos de dados

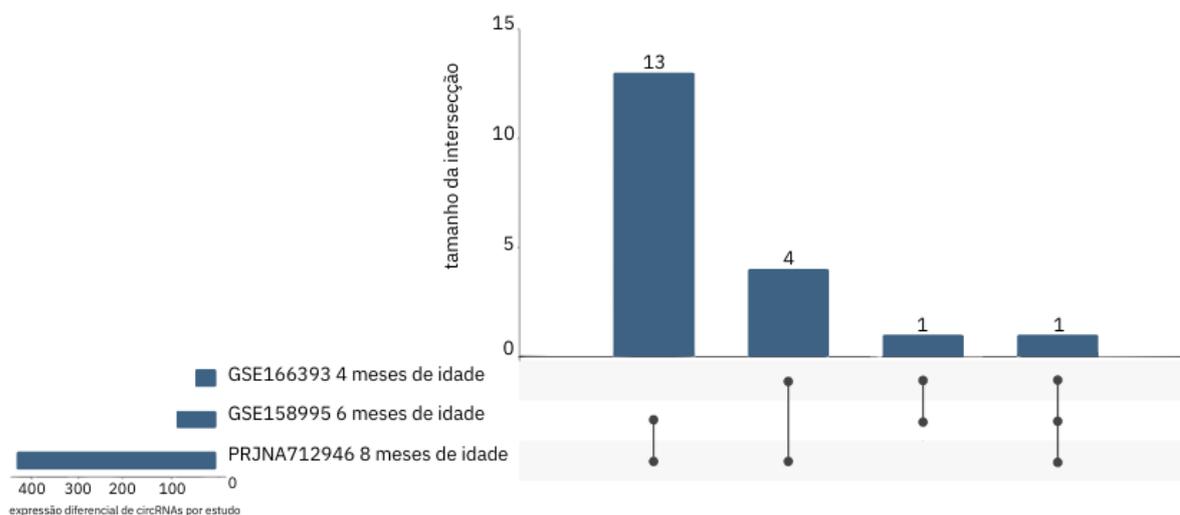


Figura 8 – Análise de intersecção entre os genes precursores de circRNAs entre os bancos de dados: Gráfico UpSet plot mostrando a sobreposição de todas as três anotações de circRNAs no nível dos genes parentais. As barras azuis na horizontal indicam o número total de genes parentais de CDES em cada banco de dados antes da análise de intersecção. As barras azuis na vertical indicam o número total de genes parentais de circRNAs compartilhados entre os bancos de dados indicadas por pontos pretos presentes abaixo do eixo x do gráfico. Pontos pretos conectados por linhas indicam o número de anotações que compartilham os genes parentais de circRNAs representados no gráfico de barras. Figura elaborada pela autora.

Quadro 6 – Análise da função dos genes precursores de CDES comumente entre os bancos de dados

Nome do Gene	Função	Localização	Doenças/ Condição associadas	Referência NCBI Gene
ANKRD12	Codifica a família de cofatores contendo repetições de anquirina com atividade transcricional de receptores nucleares	Cromossomo 18 - NC_000018.10	Deficiência do Complexo Mitocondrial I	ID 23253
ATP11B	ATPases do tipo P responsável pelo transporte ascendente de íons através das membranas	Cromossomo 3 - NC_000003.12	Doença cerebral de pequenos vasos	ID 23200

CCDC141	migração celular radialmente orientada do córtex cerebral e projeção de neurônios	Cromossomo 2 - NC_000002.12	Deficiência do hormônio liberador de gonadotropina	ID 285025
CD2AP	codifica uma molécula de andaime que regula o citoesqueleto de actina	Cromossomo 6 - NC_000006.12	Associado ao aumento dos níveis de tau no líquido cefalorraquidiano	ID 23607
FMN1	junção aderente e na polimerização dos filamentos lineares de actina	Cromossomo 15 - NC_000015.10	Risco de câncer pancreático	ID 342184
HOMER1	Regulam a função do receptor de glutamato metabotrófico 1	Cromossomo 5 - NC_000005.10	Depressão maior, estresse oxidativo e inflamação	ID 9456
IL1RAP	Codifica componentes do complexo receptor da interleucina 1	Cromossomo 3 - NC_000003.12	Leucemia mielóide aguda.	ID 3556
NDST3	Proteína transmembranar tipo II que reside no aparelho de Golgi	Cromossomo 4 - NC_000004.12	esquizofrenia, transtorno bipolar, transtorno depressivo maior	ID 9348
SHROOM4	codifica um membro da família APX/Shroom, papel na arquitetura do citoesqueleto	Cromossomo X - NC_000023.11	síndrome de Stocco dos Santos, caracterizada por deficiências cognitivas	ID 57477
SLC12A2	Transporte e reabsorção de sódio e cloreto	Cromossomo 5 - NC_000005.10	Esquizofrenia e tumores neuroendócrinos	ID 6558
STIP1	Regula tanto as conformações quanto os ciclos ATPase dessas chaperonas	Cromossomo 11 - NC_000011.10	Câncer e neurodegeneração e envolvido na resposta celular à interleucina-7	ID 10963
TET1	Processo de metilação do DNA e ativação de genes	Cromossomo 10 - NC_000010.11	Câncer, doença de Hirschsprung	ID 80312

VPS13C	Organização e despolarização mitocondrial	Cromossomo 15 - NC_000015.10	Implicado na doença de Parkinson	ID 54832
IPCEF1	Previsto para ativar a atividade da peroxidase e resposta ao estresse oxidativo	Cromossomo 6 - NC_000006.12	carcinoma papilar da tireoide e suscetibilidade para leucemia linfocítica crônica.	ID 26034
NLRP5-PS	-	Cromossomo 7 - NC_000073.7	-	ID 100417675
ZC3H11A	Ativa a atividade de ligação do RNA	Cromossomo 1 - NC_000001.11	suscetibilidade ao câncer de mama	ID 9877

Fonte: Elaboração própria.

Quadro 7 – Análise da localização cromossômica dos circRNAs derivados dos genes precursores de CDES entre os bancos de dados

Gene	Estudo	ENSEMBL	localização cromossômica do circRNAs em intersecção
Ccde141	GSE166393 ∩ GSE158995	ENSMUSG00000044033	2:76905180 77003951
	PRJNA712946 ∩ GSE166393	ENSMUSG00000044033	2:76919414 76938823
Ipcef1	GSE166393 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000064065	10:6885175 6906132
Nlrp5-ps	GSE166393 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000041596	7:14297217 14355019
			7:14312661 14343264
Zc3h11a	GSE166393 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000116275	Não iguais (1:133577587 133578753)
			Não iguais (1:133561500 133575267)
Ankrd12	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000034647	17:66317653 66360086
			17:66318284 66360086
			17:66327380 66360086
Atp11b	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000037400	3:35863506 35893363
Cd2ap	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000061665	17:43156217 43163419
Fmn1	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000044042	2:113194181 113196174
			2:113256867 113309308

			2:113256867 113393715
			2:113256870 113309308
			2:113256870 113393715
			2:113355496 113359808
			2:113412443 113433634
			2:113412443 113467169
			2:113423432 113433634
			2:113423432 113467169
Homer1	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000007617	13:93478264 93485805
			13:93478264 93492587
			13:93522853 93529616
Il1rap	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000022514	Não iguais (16:26495459 26519986)
			Não iguais (16:26495459 26531010)
Ndst3	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000027977	3:123395090 123427989
			3:123395090 123466126
			3:123421608 123466126
			3:123464990 123466126
Shroom4	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000068270	Não iguais (X:6432847 6536490)
			Não iguais (X:6492883 6503071)
Slc12a2	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000024597	não iguais (18:58030416 58032471)
			Não iguais (18:58029354 58048580)
Stip1	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000024966	19:7003660 7010017
Tet1	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000047146	10:62668673 62676157
Vps13c	GSE158995 ∩ PRJNA712946	ENSMUSG00000035284	9:67759773 67768167
			9:67766072 67785459
			9:67783509 67797671

Fonte: Elaboração própria.

#### 4.6 PREVISÃO DAS REDES DE REGULAÇÃO

A regulação entre CircRNA e miRNA é uma das primeiras funções dos circRNAs descritas e continua sendo a principal função estudada até o momento. Portanto, alguns bancos de dados já são capazes de prever essa função, ao contrário das outras funções dos circRNAs, que ainda têm poucos estudos disponíveis. Utilizando novamente os genes precursores de circRNAs, buscamos no banco de dados CircFunBase a previsão das funções dos circRNA encontrados. Dos 16 genes encontrados em comum nos camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> de 4, 6 e 8 meses, nossa busca retornou apenas 4 genes (Fmn1, Ndst3, Atp11b e Homer1) e 5 redes de interação na espécie, o gene Fmn1 retornou dois circRNAs na busca. Os genes TET1, SLC12A2, NDST3 e FMN1 retornaram resultados apenas em *Homo sapiens*, como estamos trabalhando como um modelo animal de camundongo, decidimos não utilizar esses dados. Os demais genes não tiveram nenhum retorno na busca.

Ao compararmos essas localizações genéticas com os presentes em nossas bases de dados, observamos uma discreta mudança na posição. Essa diferença pode ser explicada pelo uso de um genoma de referência de camundongos diferente do utilizado em nossas análises. No capítulo de resultados, discutiremos mais detalhadamente esses resultados.

Figura 9 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Fmn1

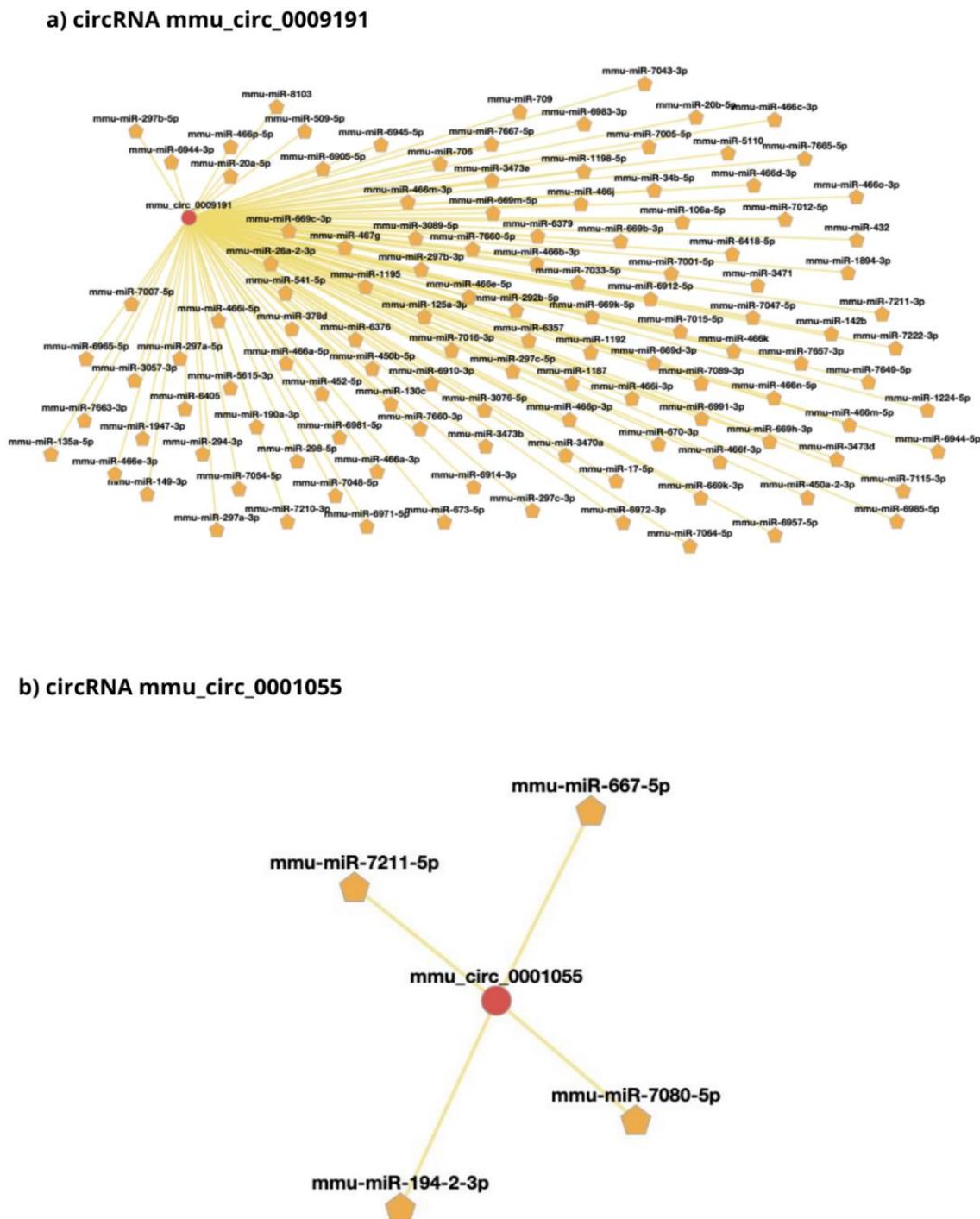


Figura 9 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Fmn1: A rede de interação dos circRNAs provenientes do gene Fmn1 em que (A) interações do circRNA mmu\_circ\_0009191 e (B) mmu\_circ\_0001055. A bola vermelha representa o circRNA e suas regulações e o pentágono laranja representa os miRNAs. Fonte: Elaboração própria.

Figura 10 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Ndst3

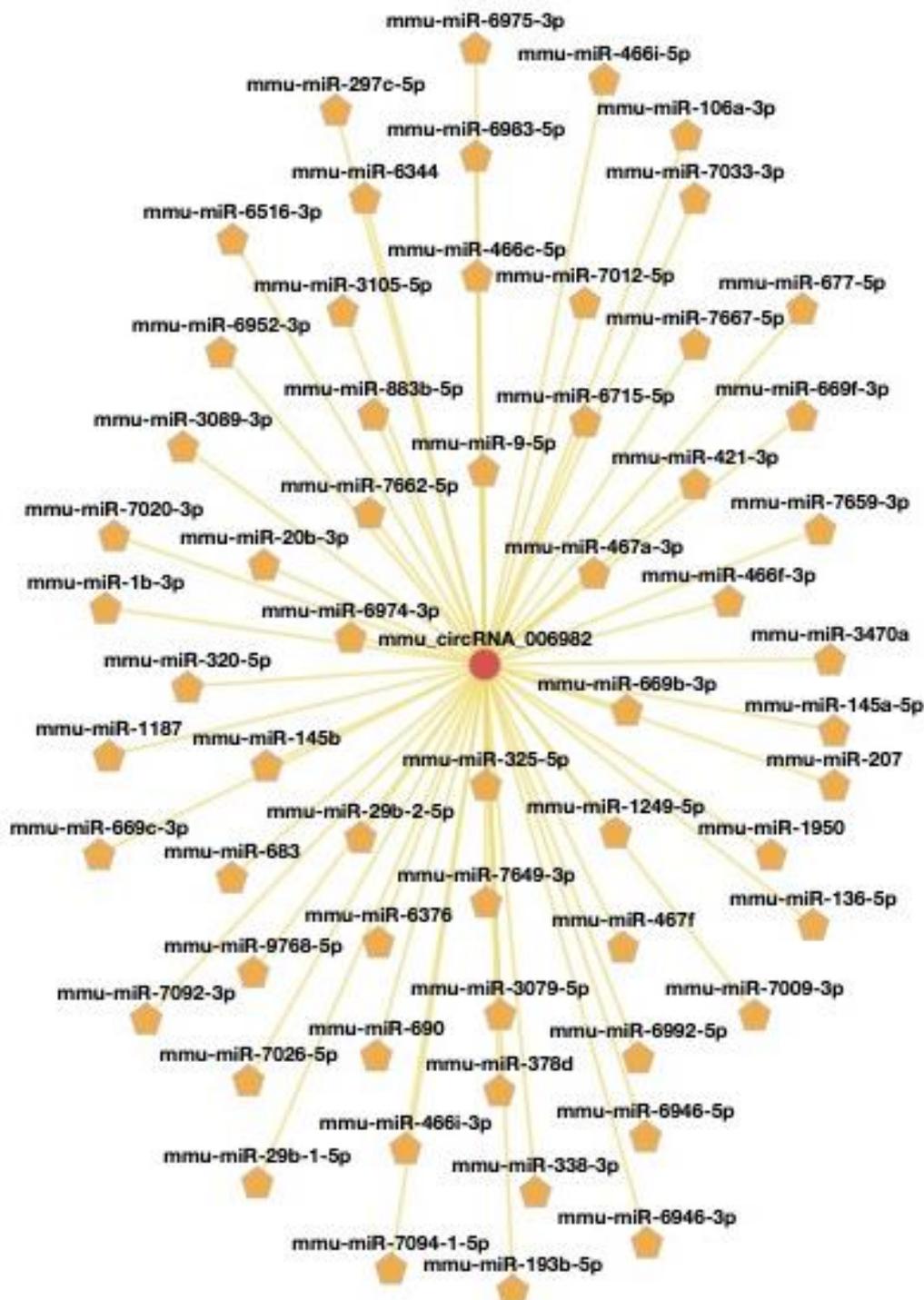


Figura 10 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Ndst3: A rede de interação do circRNA provenientes do gene Ndst3. A bola vermelha representa o circRNA e suas regulações e o pentágono laranja representa os miRNAs. Fonte: Elaboração própria. Fonte: Elaboração própria.

Figura 11 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Atp11b

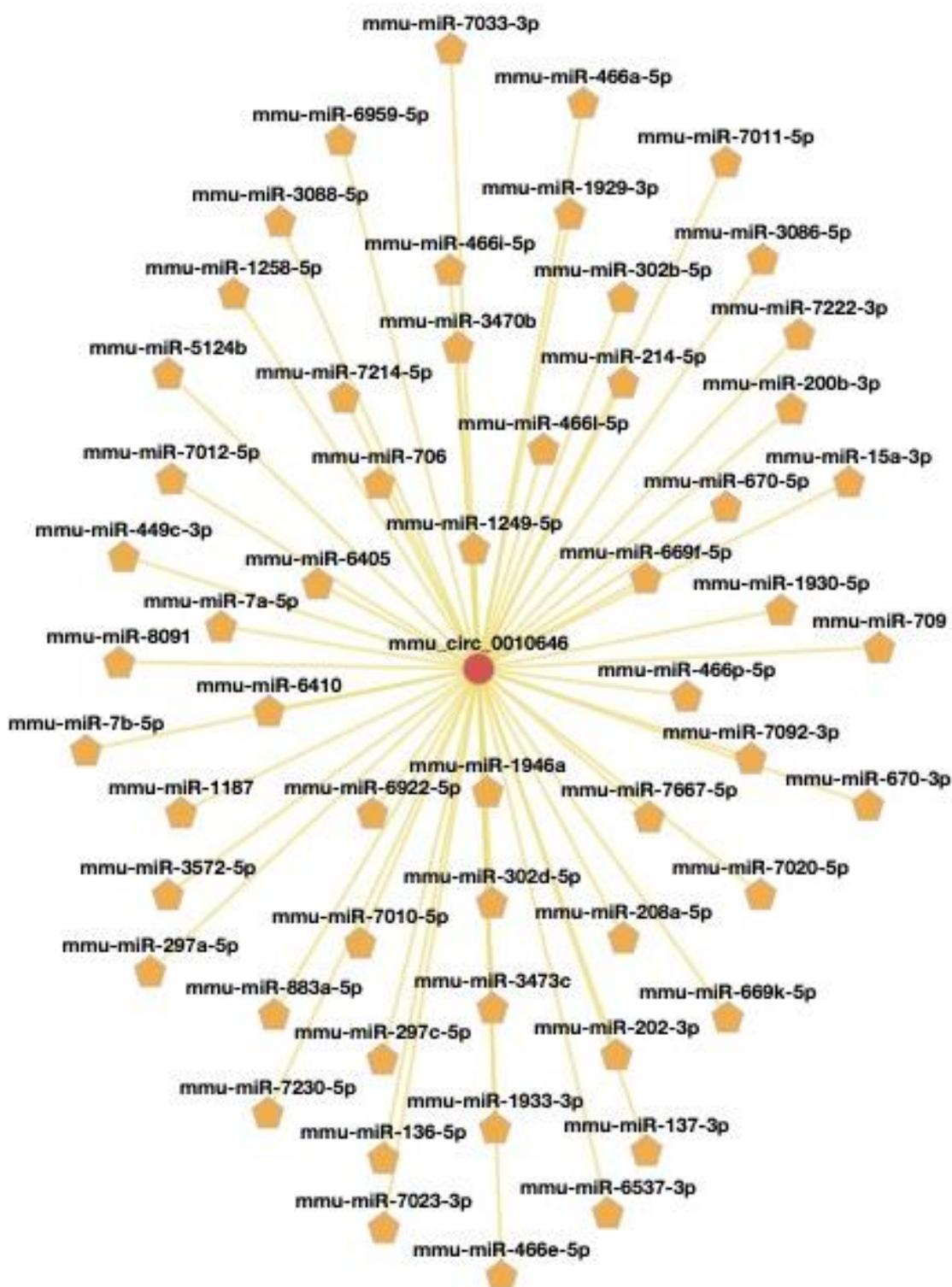


Figura 11 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Atp11b: A rede de interação do circRNA provenientes do gene Atp11b. A bola vermelha representa o circRNA e suas regulações e o pentágono laranja representa os miRNAs. Fonte: Elaboração própria.

Figura 12 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Homer1

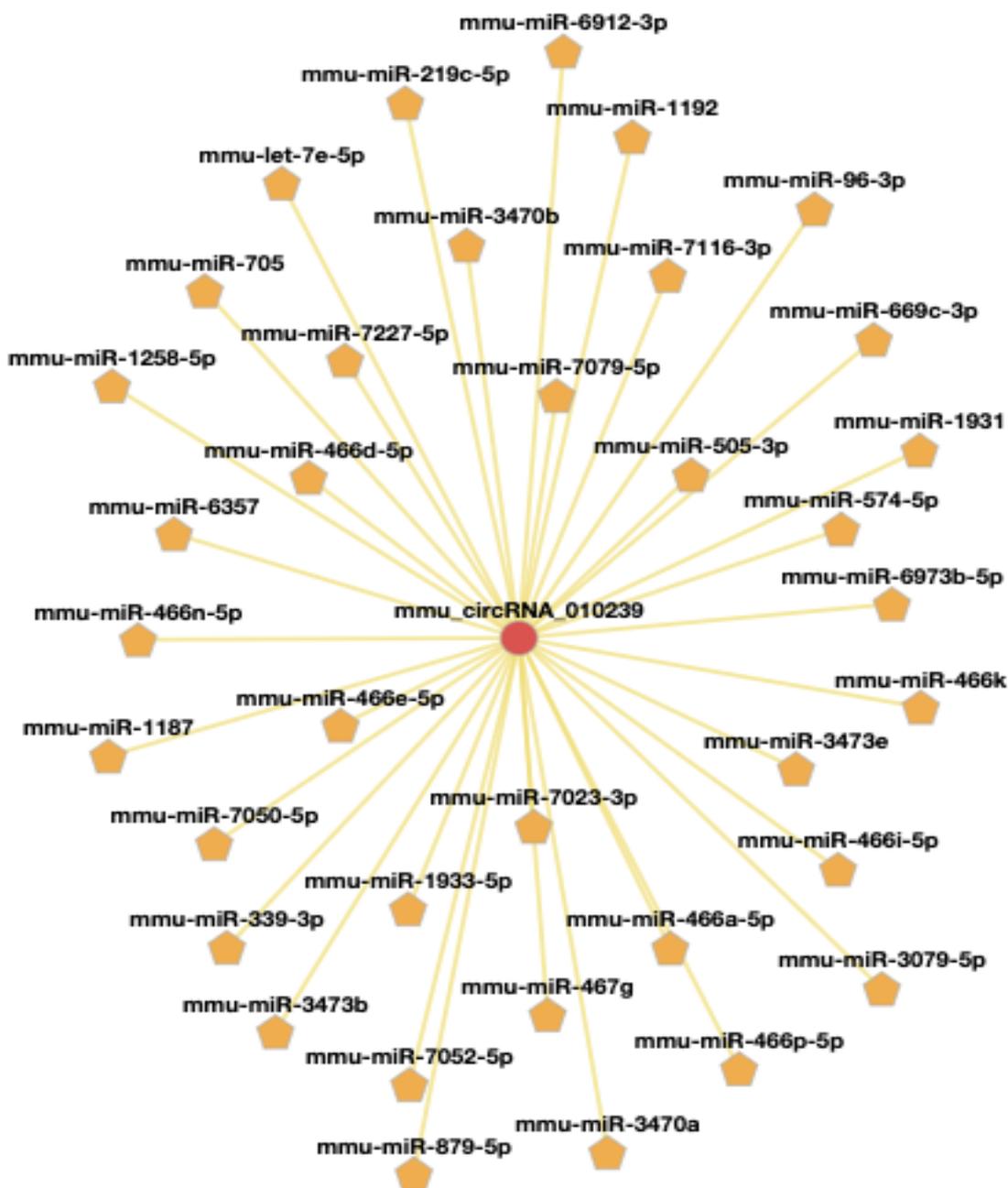


Figura 12 – Previsão da regulação circRNA-miRNA derivado do gene Homer1: A rede de interação do circRNA provenientes do gene Homer1. A bola vermelha representa o circRNA e suas regulações e o pentágono laranja representa os miRNAs. Fonte: Elaboração própria. Fonte: Elaboração própria.

#### 4.6 PREVISÃO DAS REDES DE REGULAÇÃO CIRC RNA-MIRNA-MRNA

Para complementar nossos resultados, buscamos no banco de dados específico de miRNAs, miRDB, as interações entre miRNAs e mRNAs. Os miRNAs utilizados para essa busca foram obtidos como resultado das pesquisas realizadas na circFunBase. Através dessa abordagem, pudemos prever possíveis redes de interações entre CircRNAs, miRNAs e mRNAs, como demonstrado na tabela 8.

Os resultados obtidos nas buscas no miRDB resultaram em um conjunto de até 2 mil genes regulados. Devido ao volume considerável de dados gerados, optamos por fornecer os links de cada busca para cada miRNA, a fim de melhorar a organização e facilitar o acesso às informações. Além disso, planejamos realizar uma filtragem posterior dessas informações, com o intuito de identificar redes que demonstrem ser relevantes para o desenvolvimento da DA. Essa filtragem posterior será validada por meio de técnicas experimentais de laboratório, como RT-qPCR e Western blot.

Quadro 8 – CircRNAs do gene Fmn1 e suas interações circRNA-miRNA-mRNA

CircRNA	Localização	miRNA(s) Matching	mRNA Matching
mmu_circ_0009191	chr2:113422254-113476981	mmu-miR-106a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-125a-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1894-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-292b-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-297c-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3470a	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-378d	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466f-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466m-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-509-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6379	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-669h-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6905-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6945-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6983-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7012-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7048-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>		

mmu-miR-7115-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7660-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-1187	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-130c	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-190a-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-294-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-297c-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3471	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-432	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466b-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466i-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466n-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-5110	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6405	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-669k-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6910-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6957-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6985-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7015-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7054-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7210-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7660-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-1192	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-135a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-1947-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-297a-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-298-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3473b	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-450a-2-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466c-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466i-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466o-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-541-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6418-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-669k-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6912-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6965-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6991-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>

mmu-miR-7016-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-706	Não encontrado
mmu-miR-7211-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7663-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-1195	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-142b	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-20a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-297a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3057-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3473d	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-450b-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466d-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466j	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466p-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-5615-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-669b-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-669m-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6914-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6971-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7001-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7033-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7064-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7222-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7665-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-1198-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-149-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-20b-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-297b-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3076-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3473e	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-452-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466e-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466k	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466p-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6357	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-669c-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-670-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6944-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>

		mmu-miR-6972-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7005-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7043-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7089-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7649-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7667-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1198-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-149-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-20b-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-297b-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3076-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3473e	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-452-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466e-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466k	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466p-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6357	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-669c-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-670-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6944-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6972-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7005-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7043-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7089-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7649-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7667-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu_circ_0001055	chr2:113203992-113205986	mmu-miR-194-2-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-667-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7080-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-7211-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>

Fonte: Elaboração própria.

Quadro 9 – CircRNAs do gene Ndst3 e suas interações circRNA-miRNA-mRNA

CircRNA	Localização	miRNA(s) Matching	mRNA(s) Matching
Mmu_circRNA_006982	chr3:123601440-123634340	mmu-miR-106a-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1187	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1249-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-136-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-145a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-145b	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-193b-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1950	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1b-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-207	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-20b-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-297c-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-29b-1-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-29b-2-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3079-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3089-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3105-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-320-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-325-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-338-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3470a	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-378d	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-421-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466c-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466f-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466i-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466i-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-467a-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-467f	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6344	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6376	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-6516-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-669b-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>		
mmu-miR-669c-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>		
mmu-miR-669f-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>		
mmu-miR-6715-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>		

	mmu-miR-677-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-683	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-690	Não encontrado
	mmu-miR-6946-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-6946-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-6952-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-6974-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-6975-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-6983-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-6992-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7009-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7012-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7020-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7026-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7033-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7092-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7094-1-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7649-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7659-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7662-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7667-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-883b-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-9-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-9768-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>

Fonte: Elaboração própria.

Quadro 10 – CircRNAs do gene Atp11b e suas interações circRNA-miRNA-mRNA

CircRNA	Localização	miRNA(s) Matching	mRNA(s) Matching
mmu_circ_0010646	chr3:35708278-35738136	mmu-miR-1187	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1249-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1258-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-136-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-137-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-15a-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1929-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1930-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1933-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>

mmu-miR-1946a	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-200b-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-202-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-208a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-214-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-297a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-297c-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-302b-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-302d-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3086-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3088-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3470b	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3473c	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-3572-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-449c-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466e-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466i-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466l-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-466p-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-5124b	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6405	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6410	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6537-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-669f-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-669k-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-670-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-670-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6922-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6959-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7010-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7011-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7012-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7020-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7023-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-7033-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-706	Não encontrado
mmu-miR-709	Não encontrado

	mmu-miR-7092-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7214-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7222-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7230-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7667-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7b-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-8091	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-883a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>

Fonte: Elaboração própria.

Quadro 11 – CircRNA do gene Homer1 e suas interações circRNA-miRNA-mRNA

CircRNA	Localização	miRNA(s) Matching	mRNA Matching
mmu_circRNA_010239	chr13:93341755-93356079	mmu-let-7e-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1187	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1192	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1258-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1931	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-1933-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-219c-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3079-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-339-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3470a	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3470b	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3473b	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-3473e	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466a-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466d-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466e-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466i-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466k	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466n-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-466p-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-467g	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-505-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
		mmu-miR-574-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
mmu-miR-6357	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>		

	mmu-miR-669c-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-6912-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-6973b-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7023-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-705	Não encontrado
	mmu-miR-7050-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7052-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7079-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7116-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-7227-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-879-5p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>
	mmu-miR-96-3p	<a href="https://mirdb.org">https://mirdb.org</a>

Fonte: Elaboração própria.



## 5 DISCUSSÃO

A DA é uma doença neurodegenerativa complexa, que é caracterizada por uma série de alterações patológicas, fatores de riscos e componentes genéticos. Neste estudo, foram empregadas abordagens bioinformáticas para avaliar a transcrição de circRNAs em hipocampo de um modelo animal transgênico para amiloidose humana relacionada a DA. Os circRNAs são um tipo especial de RNA não codificante que têm sido cada vez mais reconhecidos como importantes reguladores da expressão gênica e estão implicados em várias doenças, incluído a DA.

Bancos de dados públicos derivados do modelo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> viabilizaram a investigação proposta sobre a expressão de circRNAs na DA no presente trabalho. Em nossas análises utilizamos os dados de RNA-seq com metodologia específica para circRNAs (com enriquecimento de RNase R) de 3 estudos independentes abordando 3 idades diferentes do modelo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> para investigar o perfil de expressão de circRNAs no hipocampo desse modelo para DA.

Devido à natureza exploratória deste estudo, foi adotado um critério de significância estatística de  $p < 0,01$  não ajustado. Esse valor de corte é amplamente utilizado para indicar uma forte evidência estatística contra a hipótese nula, sugerindo que a diferença ou associação observada é altamente improvável de ser atribuída ao acaso. É importante mencionar que um valor de  $p < 0,01$  não ajustado, não leva em consideração correções estatísticas para testes múltiplos. Portanto, é necessário considerar a possibilidade de falsos positivos.

Diante disso, com base nas análises realizadas, observamos que houve uma menor quantidade de CDES no hipocampo de camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> aos quatro meses de idade (Figura 3a). Curiosamente, ao examinar as descrições fenotípicas desse modelo, notamos que nessa mesma idade o hipocampo ainda não apresentava as placas de Ab, alterações neuropatológicas características desse modelo e da DA (MINKEVICIENE *et al.*, 2008). Esse achado levanta a possibilidade de que as alterações na expressão de circRNAs possa estar relacionada ao acúmulo de placas de A $\beta$  e ocorrer progressivamente. Após a análise dos dados de transcriptômica dos camundongos aos seis meses, notamos uma marcante diferença em relação aos animais controle da mesma idade e aos animais de quatro meses (Figura 3b). Aos seis meses, os camundongos começam a apresentar acúmulo de placas de A $\beta$  no hipocampo, além do córtex, e algumas alterações neuropatológicas específicas como reactividade glial e perda sináptica (MINKEVICIENE *et al.*, 2008).

Surpreendentemente, aos oito meses, observamos uma expressão diferencial circRNAs muito mais pronunciada do que nas outras idades analisadas (Figura 3c). A quantidade de CDES foi aproximadamente 10 vezes maior em comparação com os camundongos de quatro meses e cerca de 5 vezes maior em comparação com os camundongos de seis meses. Esses resultados sugerem que, conforme a doença progride no modelo, ocorre um aumento significativo na desregulação dos circRNAs no hipocampo em comparação com os animais controle das mesmas idades.

Esses resultados estão em consonância com uma pesquisa anterior conduzida por Huang et al. (2018). Nesse estudo, os pesquisadores investigaram o tecido hipocampal de camundongos do modelo SAM-P/8 e do grupo controle SAM-R/1. O modelo SAM-P/8 é caracterizado por um envelhecimento acelerado e apresenta algumas alterações neuropatológicas semelhantes às observadas na DA, como acúmulo anormal de A $\beta$ , hiperfosforilação da proteína tau, aumento do estresse oxidativo e gliose, de acordo com os autores (HUANG *et al.*, 2018). No estudo de Huang, foram identificados 231 circRNAs que apresentaram uma desregulação significativa ( $P < 0,05$ ) nas amostras de camundongos SAMP8 com 10 meses em comparação com os animais SAMP8 com 5 meses, demonstrando, também, uma desregulação progressiva de circRNAs no tecido hipocampal nesse modelo (HUANG *et al.*, 2018).

Entretanto, ao comparar os resultados com outras regiões cerebrais mencionadas na literatura, observa-se uma variabilidade no comportamento transcricional dos circRNAs. Por exemplo, em um estudo realizado por Ma et al. (2019), que utilizou o córtex cerebral de camundongos do modelo B6.Cg-Tg APP/PS1, foi observado um padrão de aumento seguido de diminuição na expressão de circRNAs ao longo das diferentes idades dos camundongos. Foram identificadas 343 transcrições de circRNA significativamente desreguladas aos seis meses e 243 aos nove meses (MA *et al.*, 2019). As descrições fenotípicas desse modelo indicam que aos seis meses ocorre a formação de placas de A $\beta$  no córtex cerebral, ativação da micróglia, aumento significativo na astrogliose e perda inicial da função sináptica. Aos nove meses, além dessas alterações, há mudanças na plasticidade sináptica e comprometimento cognitivo (RADDE *et al.*, 2006).

Resultados semelhantes foram observados no estudo de Lee et al. (2019), que utilizou cérebros totais de camundongos do modelo Tg2576 com 7 e 12 meses de idade. Nesse estudo, foram identificados 101 CDES aos 7 meses e apenas 12 aos 12 meses. Aos 7 meses, os animais apresentam perda neuronal, alterações em LTP/LTD e perda de função sináptica. Aos 12 meses,

além dessas alterações, ocorre acúmulo de placas de A $\beta$  e gliose (LEE, W. J. *et al.*, 2019). No entanto, é importante ressaltar que esse resultado pode ter sido afetado pela falta de delimitação das regiões cerebrais analisadas. Na DA, já se sabe que existem áreas cerebrais resistentes e outras mais vulneráveis à doença. Além disso, a caracterização da expressão dos circRNAs nessas regiões vulneráveis e resistentes ainda não foi estabelecida. Portanto, uma análise de cérebro total pode levar a resultados imprecisos ao não considerar essa heterogeneidade regional (W. J. LEE *et al.*, 2019).

Assim, nossos resultados revelam um aumento progressivo na desregulação do perfil de circRNAs no hipocampo dos camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>, o qual também foi observado em estudos anteriores. No entanto, ao compararmos nossos achados com pesquisas que investigaram outras regiões cerebrais em modelos de DA, observamos que a expressão desregulada de circRNAs não segue um padrão uniforme em todas as regiões. A relação causal entre a desregulação primária dos circRNAs e a DA ainda não está clara. É possível que os circRNAs sejam alterados em resposta à fisiopatologia da DA ou que desempenhem um papel ativo na progressão da doença.

Considerando a função dos circRNAs como reguladores transcricionais, podemos especular que extensas redes de regulação estejam sendo formadas na DA, e essas mudanças progressivas possam influenciar a expressão gênica em regiões cerebrais particularmente vulneráveis à DA. Essas alterações nas redes de regulação de circRNAs podem contribuir para as alterações macromoleculares observadas na doença, desempenhando um papel importante na patogênese da DA. Essas descobertas reforçam a hipótese de que os circRNAs desempenham um papel relevante nas alterações neuropatológicas observadas na DA e fornecem suporte adicional para a investigação do seu potencial como alvos terapêuticos e biomarcadores na doença.

A nomenclatura dos circRNAs é outra característica que não está estabelecida de maneira consensual na literatura (VROMMAN; VANDESOMPELE; VOLDERS, 2021). A ausência de uma nomenclatura padronizada, acarreta desafios significativos para os estudos envolvendo as moléculas circulares. Em um estudo conduzido por Vromman *et al.*, (2021), foi observado que o mesmo circRNA pode ser designado por até 11 nomes diferentes, o que gera confusão entre os pesquisadores e dificultar a comparação e interpretação dos seus resultados (VROMMAN; VANDESOMPELE; VOLDERS, 2021). Diante dessas dificuldades, adotamos estratégias que visam mitigar essas variações, como a utilização do gene precursor/gene parental e a localização cromossômica dos circRNAs como referência.

A análise dos genes parentais dos CDES revelou que seus perfis funcionais estão relacionados a temas biológicos conhecidos por serem alterados na DA. Aos 6 meses, a maioria dos clusters estão parcialmente envolvidos com a função sináptica (Clusters 6, 9, 10, 11, 17, 19, 20, 21, 25 e 28 descritos no Quadro 3). Esse resultado está de acordo estudos recentes que revelaram que os circRNAs são particularmente abundantes nas sinapses (RYBAK-WOLF *et al.*, 2014). É interessante observar também que a maioria dos circRNAs neurais é dinamicamente regulada durante processos de plasticidade neural, como aprendizado e memória, e muitos desses circRNAs têm origem em genes que codificam proteínas sinápticas (YOU *et al.*, 2015). Esses achados sugerem que os circRNAs podem desempenhar um papel relevante na regulação da expressão gênica em sinapses e na modulação da plasticidade neural.

Aos 6 meses de idade, o modelo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> começa a manifestar alterações relacionadas à perda sináptica (MINKEVICIENE *et al.*, 2008). É plausível que a desregulação dos genes associados a essas alterações esteja levando à produção diferencialmente expressa de circRNAs. Além disso, clusters relacionados com transmembrana de íons e regulação do potencial da membrana e desenvolvimento de dendritos também aparecem frequentemente nesses resultados relacionados a esses processos biológicos.

Outros clusters de genes particularmente interessantes que surgiram aos 6 meses são a regulação da cognição e homeostase da glicose celular. A perda cognitiva é um dos principais processos observados na DA, e é possível que genes associados a esse fenômeno estejam produzindo circRNAs que desregulam a expressão gênica e contribuem para a patologia da doença (SERRANO-POZO *et al.*, 2011). A identificação desses genes e sua conexão com circRNAs podem fornecer insights valiosos sobre os mecanismos subjacentes à perda cognitiva na DA. Além disso, a homeostase da glicose celular também desempenha um papel crucial na DA. O metabolismo da glicose está amplamente comprometido na doença, e a regulação inadequada dos genes relacionados ao metabolismo da glicose pode contribuir para a progressão da doença.

Essas associações entre os processos biológicos afetados na DA e a presença de circRNAs destacam a importância dessas moléculas na regulação da expressão gênica e na patogênese da doença. A compreensão mais aprofundada do papel dos circRNAs na DA pode abrir caminho para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras e promissoras.

Aos 8 meses de idade, ocorre um aumento significativo na formação de clusters, possivelmente devido à maior desregulação nessa fase do desenvolvimento. Alguns desses clusters estão associados ao desenvolvimento embrionário e à migração celular em regiões

cerebrais essenciais. Curiosamente, há evidências de que os circRNAs apresentam um aumento dinâmico e significativo em diferentes estágios do neurodesenvolvimento como já descrito anteriormente (DANG *et al.*, 2016; SEKAR; LIANG, 2019). No contexto patológico da DA, a ativação desses genes e a formação de circRNAs, que normalmente desempenham papéis cruciais durante estágios de desenvolvimento, pode ter uma contribuição ainda desconhecida para a doença. Diante dessas observações, surge a questão de se os circRNAs podem ser alterados também durante o período embrionário, especialmente devido a mutações em genes essenciais para o desenvolvimento cerebral e a patogênese da DA.

Essas descobertas sugerem uma possível interconexão entre os processos de desenvolvimento embrionário, a formação de circRNAs e a patogênese da DA. Curiosamente, sabe-se que a proteína precursora amiloide (APP) está envolvida na divisão de células progenitoras neurais, na migração neuronal e na sinaptogênese durante o desenvolvimento embrionário (YOU *et al.*, 2015). Alterações nessas vias e a formação de circRNAs na velhice podem estar relacionadas à progressão da DA. Talvez, a regulação anômala dos circRNAs em estágios precoces do desenvolvimento cerebral pode ter implicações para a suscetibilidade à DA.

Os clusters relacionados à resposta a estímulos extracelulares, vias de sinalização, regulação do estresse oxidativo, autofagia, pH, endocitose e processos apoptóticos de neurônios desempenham papéis fundamentais na fisiopatologia da DA (SERRANO-POZO *et al.*, 2011). É notável que essas vias estejam associadas à formação de circRNAs alterados, conforme observado em nossos resultados.

À medida que os animais atingem 8 meses de idade, um número significativo de alterações se manifesta em comparação com os 4 meses de idade. Essas alterações se agravam progressivamente ao longo do tempo e resultam em comprometimento cognitivo nos modelos animais da DA. A descoberta de circRNAs alterados nessas vias sugere que as próprias alterações nesses caminhos estejam gerando circRNAs capazes de desregular outras vias importantes, atuando como um mecanismo de feedback. A regulação anormal dos circRNAs nessas vias pode levar a disfunções celulares, contribuindo para os processos patológicos observados na DA que precisam ser melhores investigados.

Além disso, é interessante observar que certos processos biológicos se sobrepõem em duas idades diferentes analisadas (6 e 8 meses), indicando uma continuidade nas alterações moleculares relacionadas à doença de Alzheimer (DA) ao longo do tempo. Surpreendentemente, todos os processos biológicos compartilhados apresentaram um aumento

significativo aos 8 meses em comparação com a idade anterior. Houve uma diferença percentual de até 10% no enriquecimento dos mesmos termos do GO. Especificamente, processos biológicos como: GO:0106027 - Organização de projeção de neurônio; GO:0099175 - Regulação da organização pós-sinapse; GO:0010811 - Regulação positiva da adesão célula-substrato; GO:0050807 - Regulação da organização de sinapse; GO:0050803 - Regulação da estrutura ou atividade da sinapse; GO:0016358 - Desenvolvimento de dendritos; GO:0097061 - Organização de espinhas dendríticas; GO:0044309 - Espinha dendrítica; GO:0031252 - Borda celular avançada; GO:0032279 - Sinapse assimétrica; GO:0098984 - Sinapse neurônio-neurônio; GO:0009925 - Membrana plasmática basal; GO:0034702 - Complexo de canal iônico; GO:0045178 - Parte basal da célula e GO:0044325 - Ligação a transportador transmembrana, apresentaram as maiores diferenças percentuais. Esses resultados sugerem que, à medida que a DA progride no modelo de camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>, ocorrem maiores mudanças nos CDES, refletindo um maior aumento dos processos biológicos.

A maioria desses processos biológicos estão associados à função sináptica, que já foi descrita como prejudicada na DA. Esse enriquecimento pode estar relacionado a uma progressiva perda sináptica, uma vez que muitos dos processos biológicos afetados estão associados à função sináptica, como a organização pós-sináptica, a regulação da estrutura e atividade sináptica, e a sinapse neurônio-neurônio. Essas descobertas reforçam a hipótese de que a disfunção sináptica desempenha um papel importante na patogênese da DA.

Além disso, a amplificação das alterações moleculares ao longo do tempo sugere um agravamento da patologia da DA conforme a doença progride. Isso pode estar relacionado à progressiva acumulação de placas de A $\beta$  e emaranhados neurofibrilares, que levam a uma maior disfunção sináptica e subsequente deterioração cognitiva. Os circRNAs podem estar envolvidos na regulação desses processos patológicos, exacerbando as alterações moleculares e contribuindo para a progressão da doença.

Além de explorarmos os GOs compartilhados entre as diferentes idades estudadas, empregamos o software UpSetplot para identificar genes precursores de circRNAs que apresentam desregulação comum em todas as idades investigados. Observamos que o gene *CCDC141* foi o único gene que apresentou circRNAs desregulados em todas as três idades/estágios da doença analisadas. A identificação de genes compartilhados em diferentes estágios da DA, incluindo estágios onde ainda não há alterações, como no hipocampo aos 4 meses do modelo animal, é de extrema importância. Esses genes compartilhados são relevantes tanto para fases pré-alteração quanto para fases com possíveis alterações patológicas, além

disso, sua presença está associada à formação de circRNAs, que pode ter potencial como biomarcadores.

Essa descoberta foi surpreendente, considerando a função desse gene na orientação do axônio e na migração celular radialmente orientada do córtex cerebral. O *CCDC141* é conhecido por desempenhar um papel ativo na projeção de neurônios (HUTCHINS *et al.*, 2016). Além disso, estudos anteriores associaram o gene *CCDC141* à migração de interneurônios corticais em camundongos, em conjunto com a disrupção na esquizofrenia-1 e a miosina II (FUKUDA *et al.*, 2010; HUTCHINS *et al.*, 2016).

No entanto, ao comparar as localizações cromossômicas dos circRNAs originados do gene *CCDC141*, notamos que o gene não produzia um circRNA presente nos três estudos, mas sim, um circRNA presente nos estudos GSE166393 (4 meses) e GSE158995 (6 meses), localizado no cromossomo 2:76905180|77003951, e outro circRNA presente nos estudos PRJNA712946 (8 meses) e GSE166393 (4 meses), localizado no cromossomo 2:76919414|76938823. Esse resultado não diminui a importância potencial desse gene, mas destaca a complexidade do processo de *back-splicing*, mostrando como um único gene pode gerar diversos circRNAs em diferentes estágios da doença. Assim, são necessários estudos adicionais para compreender totalmente o papel do *CCDC141* e seus circRNAs na DA.

O gene *CD2AP*, também conhecido como CD2-associated protein, foi mais um achado surpreendente ao analisar a intersecção das idades de 6 e 8 meses formando um circRNA em comum localizado no cromossomo 17:43156217|43163419. Este gene codifica uma proteína composta por 639 resíduos de aminoácidos que desempenha um papel crucial na organização do citoesqueleto e na regulação de diversos processos celulares, incluindo adesão celular, migração e sinalização. A proteína *CD2AP* desempenha uma função essencial na formação de junções celulares, tais como as junções intercelulares e sinápticas. Além disso, atua como uma proteína adaptadora e é expressa em abundância em neurônios, células imunes e células epiteliais (XUE *et al.*, 2022).

Estudos têm mostrado que variantes genéticas no gene *CD2AP* estão relacionadas a um maior risco de desenvolvimento da DA (XUE *et al.*, 2022). O *CD2AP* desempenha um papel como regulador do tráfego endocítico, modulando a geração de  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) em neurônios. Além disso, a redução da expressão do gene *cindr*, o ortólogo de *Drosophila* do *CD2AP*, aumento da neurodegeneração induzida pela tau na mosca, sugerindo que o *CD2AP* também está envolvido na patologia da tau. Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) no gene *CD2AP* foram identificados como significativamente associados à suscetibilidade à DA em estudos de

associação genômica ampla (GWAS) e confirmados por estudos subsequentes. No entanto, o papel do CD2AP na regulação do metabolismo de A $\beta$  e tau na DA ainda não está completamente compreendido (XUE *et al.*, 2022).

Em nossas análises, descobrimos que o gene CD2AP gera um circRNAs diferencialmente expresso no modelo APPswe/PSEN1dE9. No entanto, não encontramos estudos na literatura sobre circRNAs provenientes do gene CD2AP na DA. Com base nesses resultados, podemos especular que os circRNAs derivados do gene CD2AP possam ter influência na progressão da DA. É de extrema importância investigar esse gene e seus circRNAs, pois eles estão envolvidos em uma via direta para a DA e ainda não há estudos que avaliem sua função específica na doença.

Encontramos o gene HOMER1, também em intersecção em nossas análises. Ao contrário de outros genes, já existem estudos na literatura que investigam os circRNAs derivados desse gene na DA. O gene HOMER1 desempenha um papel importante na plasticidade sináptica, aprendizado e memória, sendo expresso principalmente no sistema nervoso (DATKO *et al.*, 2017; URDÁNOZ-CASADO *et al.*, 2021).

Um estudo realizado por Dube (2019) foi o primeiro a relatar a presença de um circRNA derivado do gene HOMER1 associado à DA. Nessa publicação, o circRNA foi denominado como circHOMER1 e foi descrito como tendo uma regulação negativa no córtex parietal de 83 indivíduos com DA, em comparação com 13 indivíduos do grupo controle (DUBE *et al.*, 2019). O circHOMER1 demonstrou uma associação significativa com a coexpressão de genes lineares relacionados à DA e à fosforilação oxidativa, o que sugere um possível papel desse circRNA no hipometabolismo cerebral associado à DA. Além disso, o circHOMER1 apresentou vários sítios de ligação preditos para o miR-651, um microRNA que tem como alvo o PSEN1 e o PSEN2. O estudo também revelou uma correlação significativa entre o circRNA e medidas clínicas, como a escala CDR, o score de Braak e o status de DA versus controle (DUBE *et al.*, 2019).

É relevante destacar que os circRNAs derivados do gene HOMER1 foram descritos em diversas doenças e alterações cerebrais, como a epilepsia e o delirium pós-operatório (CHEN; FANG, 2023; GRAY *et al.*, 2020; RAN *et al.*, 2022). Em um estudo conduzido por Ran *et al.* (2020), a presença desses circRNAs foi identificada no hipocampo de modelos animais com delirium pós-operatório. Os pesquisadores observaram que o transcrito circular do gene HOMER1 é expresso de maneira específica nas sinapses glutamatérgicas e sofreu alterações na regulação de vias de sinalização envolvidas com a liberação de glutamato durante o delirium

pós-operatório (RAN *et al.*, 2022). Essa descoberta foi confirmada por meio da técnica qRT-PCR, que revelou um aumento nos níveis de expressão do circ\_Homer1 e do gene HOMER1 nos tecidos do hipocampo dos animais com delirium (RAN *et al.*, 2022).

Além disso, estudos relacionados à epilepsia revelaram diferenças significativas nos circRNAs derivados do gene HOMER1 (GRAY *et al.*, 2020). Observou-se uma alteração nos níveis de expressão do circRNA do gene HOMER1, bem como nos transcritos lineares, ao comparar hipocampos afetados pela Síndrome de Epilepsia do Lobo Temporal Mesial com hipocampos de indivíduos controle. Esses achados reforçam ainda mais a importância do gene HOMER1 e de seus circRNAs na regulação da atividade neuronal, incluindo sua interação com os receptores de glutamato metabotrópicos do Grupo I, conforme discutido anteriormente em um estudo conduzido por (GRAY *et al.*, 2020).

Em conjunto, esses estudos apontam descobertas significativas relacionadas ao circRNA derivado do gene HOMER1 em diferentes condições neurológicas, como a DA, epilepsia e delirium pós-operatório. O circHOMER1 demonstrou uma regulação negativa no córtex parietal de indivíduos com DA, com um possível envolvimento no metabolismo cerebral associado à doença (CHEN; FANG, 2023). Além disso, as alterações nos níveis de expressão desse circRNA em hipocampos afetados pela epilepsia e no contexto do delirium pós-operatório, reforçam a importância dos circRNAs na regulação da atividade neuronal (GRAY *et al.*, 2020; RAN *et al.*, 2022). Esses resultados fornecem insights valiosos sobre o papel dos circRNAs derivados do gene HOMER1 em diferentes condições neurológicas e podem contribuir para o entendimento da DA.

Além do gene HOMER1, outros genes precursores de circRNAs, como NDST3, TET1 e VPS13C, também demonstraram estar envolvidos em vias importantes relacionadas à doença de Alzheimer (DA). O gene NDST3 produz uma proteína localizada no complexo de Golgi e desempenha papéis em outras doenças neurológicas (TANG; LI; WANG, 2022). Em nossas análises foram encontrados 4 circRNAs diferentes, compartilhados entre os bancos de dados de 6 e 8 meses. Já o gene VPS13C está formando três circRNAs compartilhados entre as idades de 6 e 8 meses e está relacionado à organização e despolarização das mitocôndrias, e estudos sugerem sua implicação na doença de Parkinson (MONFRINI *et al.*, 2022). O gene TET1 está associado aos processos de metilação do DNA, que auxiliam na organização e compactação da cromatina, podendo influenciar a expressão dos genes e afetar o funcionamento do cérebro, incluindo a produção de circRNAs e está formando um circRNA desregulado compartilhado em nossas análises (LIU *et al.*, 2021). Esses genes, de diferentes maneiras, parecem

desempenhar um papel importante na DA, os circRNAs produzidos por eles, em sua grande maioria são desconhecidos e nunca estudados e podem contribuir para uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos em doença neurodegenerativas, incluindo a DA.

É relevante destacar a notável capacidade dos circRNAs de regular a expressão dos genes parentais. Essas moléculas circulares podem interferir na transcrição canônica, compartilhando a mesma maquinaria spliceossomal, e competir por sítios de splicing, o que pode levar à diminuição da expressão das formas lineares dos genes (AUFIERO et al., 2018; LIANG et al., 2017). Além disso, os circRNAs podem desempenhar um papel amplificador na regulação da transcrição linear convencional de alguns genes por meio da interação com proteínas ligantes de RNA como as ribonucleoproteínas nucleares U1 (U1 snRNP) e, assim, interagir com a RNA Polimerase II nos promotores dos genes parentais (LI, Z. et al., 2015). Esses mecanismos de regulação evidenciam o papel complexo e multifacetado desempenhado pelos circRNAs na modulação da expressão gênica, fornecendo uma camada adicional de complexidade à compreensão dos processos moleculares envolvidos. Essa regulação pode ser particularmente crucial em doenças neurodegenerativas, especialmente quando os genes parentais desses circRNAs possuem funções essenciais nessas condições.

Porém, devemos considerar também a importância dos outros genes precursores de circRNAs, mesmo que inicialmente não pareçam estar diretamente envolvidos nas vias patológicas da DA. É crucial lembrar que a produção de circRNAs por um determinado gene não necessariamente está relacionada à sua função principal. Ao analisarmos as vias biológicas relevantes para a DA, podemos levantar a hipótese de que essas vias estão desreguladas, levando à produção de circRNAs também desregulados.

No entanto, ainda não temos um entendimento completo de quando ocorre a disfunção dos circRNAs na DA. Portanto, não devemos subestimar a importância dos genes que não são considerados elementos diretos das vias fisiopatológicas da DA. É crucial direcionar estudos para compreender por que esses genes estão produzindo circRNAs com expressão diferencial. Essa abordagem mais ampla pode fornecer insights valiosos sobre os mecanismos subjacentes à DA e contribuir para avanços significativos no desenvolvimento de estratégias terapêuticas.

Outro mecanismo de suma importância dos circRNAs é a sua interação com miRNAs. Essa função dos circRNAs foi uma das primeiras a ser descrita e mais bem elucidado (PIWECKA *et al.*, 2017b). Os circRNAs podem apresentar sequências complementares aos miRNAs em sua estrutura, permitindo a formação de complexos estáveis com essas moléculas reguladoras. Esse mecanismo pode funcionar tanto na diminuição dos níveis de miRNAs

disponíveis no meio intracelular, como na liberação desses miRNAs para exercerem sua atividade regulatória (MA *et al.*, 2019; PIWECKA *et al.*, 2017b; ZHAO *et al.*, 2016). Além disso, a interação entre os circRNAs e os miRNAs pode afetar os níveis de expressão de genes-alvo dos miRNAs, resultando no aumento ou diminuição da expressão de seus RNAs mensageiros correspondentes (PIWECKA *et al.*, 2017b). Dessa forma, os circRNAs atuam como reguladores de reguladores, desempenhando um papel complexo na rede de regulação gênica.

Devido à importância dessa função, diversos bancos de dados foram desenvolvidos para prever as interações entre os circRNAs e os miRNAs. Utilizando essa disponibilidade de recursos, realizamos uma análise utilizando o circFunBase para prever as interações de miRNAs para os circRNAs identificados na intersecção dos bancos de dados analisadas.

Infelizmente, em nossas análises utilizando o banco de dados circFunbase, conseguimos prever apenas 5 redes de interação entre circRNA e miRNA em camundongos. Essa limitação pode ser atribuída à falta de atualização do banco de dados, que não recebeu atualizações desde 2019, há cerca de quatro anos. É importante ressaltar também que os estudos sobre circRNAs são uma área de pesquisa extremamente nova e em constante desenvolvimento. Portanto, pode haver um atraso na inclusão dessas novas descobertas nos bancos de dados existentes.

Além disso, é relevante destacar que os circRNAs presentes nesses bancos de dados não coincidem exatamente com as localizações cromossômicas encontradas em nossas análises. Suspeitamos que essa pequena diferença possa ser devido ao uso de diferentes genomas de referência para camundongos. Pretendemos investigar essa discrepância mais detalhadamente em futuros estudos.

Com as redes de interações circRNA-miRNA que obtivemos, utilizamos o banco de dados miRDB para identificar os genes que eram regulados pelos miRNAs. Ao contrário dos circRNAs, os miRNAs são mais bem estudados, possuem uma nomenclatura padronizada e robustos bancos de dados que são frequentemente atualizados. Nessa busca, encontramos informações para a maioria dos miRNAs pesquisados, com exceção de apenas 5 miRNAs que não foram encontrados nos bancos de dados consultados.

Devido à natureza abrangente das interações entre miRNAs e seus alvos, a busca por interações entre miRNAs e mRNAs resulta em muitos resultados. Para facilitar a organização e acesso a essas informações, decidimos armazenar nas planilhas o link de acesso aos resultados correspondentes. Essa abordagem permite que os resultados sejam consultados diretamente nos bancos de dados, onde são atualizados regularmente, garantindo que as informações mais

recentes estejam disponíveis. Dessa forma, podemos explorar de forma mais eficiente as interações entre miRNAs e mRNAs relevantes para nossa pesquisa. Dado o volume de dados obtidos, planejamos filtrar essas interações entre circRNA-miRNA-mRNA no futuro, buscando focar em interações que sejam relevantes para o desenvolvimento da DA.

É importante ressaltar que a análise e interpretação desses resultados são baseadas em análises bioinformáticas e exigem validação experimental adicional para confirmar a relevância funcional dos circRNAs identificados. Estudos futuros que investiguem mais a fundo as interações entre os circRNAs, seus genes parentais e os processos biológicos afetados na DA.

## 6 CONCLUSÃO

No presente estudo, propôs-se investigar a transcrição de circRNAs em uma região vulnerável utilizando métodos de bioinformática em um modelo animal transgênico para amiloidose humana. Durante a busca em bases de dados, foram identificados diversos modelos animais com mutações provenientes da doença de Alzheimer familiar. No entanto, optou-se por realizar as análises utilizando o modelo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup> devido à sua ampla utilização na literatura científica. Além disso, foram encontrados diferentes estágios de idade do modelo APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>, o que permitirá uma abordagem mais abrangente em nossas análises.

Os resultados obtidos em nosso estudo revelaram um aumento progressivo na desregulação dos perfis de circRNAs no hipocampo de camundongos transgênicos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>, associados à DA. Importante ressaltar que esse aumento na desregulação de circRNAs já foi relatado em estudos anteriores, utilizando outros modelos para a DA. Essas evidências reforçam a importância de direcionar esforços para investigações adicionais sobre esse tema, a fim de fornecer maior robustez a esse achado.

Ao compararmos com estudos que investigaram outras regiões cerebrais, observamos que a expressão de circRNAs não é uniforme em todas as regiões. No entanto, a caracterização abrangente da expressão de circRNAs em cérebros afetados pela doença ainda não foi estabelecida. Nesse contexto, torna-se essencial realizar pesquisas com o objetivo de compreender o padrão de expressão de circRNAs nas regiões cerebrais afetadas pela DA, bem como ao longo das diferentes fases da doença.

Além da desregulação crescente nos perfis de circRNAs no hipocampo dos camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>, nossos resultados revelaram que os genes parentais dos circRNAs desempenham funções de grande importância na DA. Muitas dessas funções estão

associadas a processos sinápticos, os quais são descritos na literatura como uma das funções mais prejudicadas na DA.

Outras funções que podemos destacar é o transporte de íons, o metabolismo da glicose, as respostas ao estresse oxidativo, a apoptose neuronal, a aprendizagem ou memória, o desenvolvimento neural embrionário, a homeostase da glicose celular e a regulação da cognição. Essas funções são relevantes para o funcionamento normal do cérebro e muitas delas estão desreguladas na DA. Além disso, observamos a presença de GOs compartilhados entre as idades de 6 e 8 meses no modelo animal, sendo que os genes associados a funções sinápticas foram os mais frequentes. Os mesmos GOs compartilhados apresentaram um aumento de expressão de até 10 vezes aos 8 meses em comparação com os 6 meses, demonstrando uma desregulação crescente e contínua desses genes, o que resulta na formação de um maior número de circRNAs.

Ao analisarmos os genes precursores de CDES em intersecção entre os estudos, identificamos 15 genes compartilhados em pelo menos duas das idades investigadas, e o gene *CCDC141* foi compartilhado nas três idades. A descoberta de genes compartilhados em diferentes estágios ou idades da DA formando circRNAs, incluindo estágios pré-alteração, é de grande relevância, pois os circRNAs provenientes desses genes podem fornecer informações importantes sobre os mecanismos da doença, além de serem potenciais biomarcadores. Portanto, é fundamental conduzir estudos adicionais que investiguem o gene *CCDC141* e outros genes em relação à DA com esse perfil.

Os demais genes identificados mostraram-se consistentemente importantes para o funcionamento do cérebro, e muitos deles estão associados a outras doenças neurológicas, como depressão, doença de Parkinson, transtorno bipolar, esquizofrenia, além da própria DA. No entanto, não encontramos estudos sobre circRNAs associados à maioria desses genes, com exceção do gene *Homer1*, que já foi descrito na literatura por produzir CDES na DA.

Ao utilizar genes precursores de CDES compartilhados entre os estudos em bancos de dados específicos para estudar a função de circRNAs, notamos a falta de atualização dessas ferramentas. Nossa busca retornou apenas 4 genes e 5 redes de interação associados a circRNAs na espécie de camundongos. Essa limitação ressalta a falta de atualização dos bancos de dados disponíveis e evidencia a necessidade de estudos mais robustos para preencher essa lacuna.

Direcionamos nossa pesquisa para as 5 redes de interação entre circRNAs e miRNAs encontradas, explorando também os mRNAs regulados nessa via. Ao explorar as interações entre miRNAs e mRNAs, encontramos uma abundância de resultados. Planejamos realizar uma

filtragem criteriosa dessas interações, focando em redes de interações relevantes para o desenvolvimento e a progressão da DA.

Explorar o mecanismo pelo qual as alterações na DA são mediadas através da expressão diferencial de circRNAs e atividade como reguladores transcricionais em vias alteradas da doença trará novas perspectivas e um entendimento mais profundo da patogênese da DA. Até o momento, existem indicativos fortes que sugerem a contribuição das moléculas circulares para o desenvolvimento e progressão da doença. Além disso, os modelos experimentais têm fornecido novas evidências sobre os mecanismos iniciais de disfunção dos circRNAs na DA. Investigar as mudanças transcricionais causadas pelos circRNAs na DA é de extrema importância para a compreensão molecular da doença.

Portanto, o estudo aprofundado das alterações relacionadas aos circRNAs na DA é essencial para melhor compreender a influência dessas moléculas na patologia da doença. Essa compreensão pode ter implicações significativas na identificação de alvos terapêuticos, no desenvolvimento de estratégias de diagnóstico precoce para DA.

## **7 PERSPECTIVAS**

Uma perspectiva promissora e possíveis futuros trabalhos relacionados a esta pesquisa estão associados à continuidade dos experimentos de bioinformática realizados neste estudo, bem como à validação experimental dos resultados obtidos. Essa validação experimental pode fornecer uma confirmação mais robusta e esclarecer aspectos ainda não totalmente compreendidos dos resultados.

Com base nos achados deste estudo, podem ser sugeridos os seguintes passos para investigação adicional:

1. Realizar uma análise comparativa das localizações cromossômicas dos circRNAs identificados neste estudo com os registros em diferentes bancos de dados, a fim de garantir a precisão das identificações e ter maior confiança nos circRNAs encontrados.
2. Refinar as redes de interações circRNAs-miRNAs-mRNAs, filtrando-as com base em vias biológicas importantes relacionadas à DA.
3. Validar experimentalmente as alterações de expressão dos circRNAs identificados utilizando a técnica de RT-qPCR em tecido hipocampal de camundongos APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>dE9</sup>.

4. Avaliar, por meio da técnica de RT-qPCR, a transcrição e expressão gênica dos genes envolvidos nas redes circRNAs-miRNAs-mRNAs identificadas como relevantes para o desenvolvimento e progressão da DA no tecido hipocampal de camundongos APPswe/PSEN1dE9.

Ao seguir essas direções de pesquisa, será possível aprofundar nosso conhecimento sobre o papel dos circRNAs na DA, validar os resultados obtidos pela análise bioinformática e obter informações valiosas sobre os mecanismos moleculares envolvidos na patologia.

## **8 APOIO E FOMENTO**

Este estudo recebeu financiamento de várias instituições, incluindo o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), o Instituto Serrapilheira e a Alzheimer's Association. Essas organizações forneceram suporte financeiro para a realização da pesquisa. É importante ressaltar que os financiadores não desempenharam nenhum papel na concepção da revisão, na coleta e análise dos dados ou nos resultados estatísticos obtidos neste trabalho.

## REFERÊNCIAS

### PARTE I E III

2023 ALZHEIMER'S DISEASE FACTS AND FIGURES. [s. l.], 2023. Disponível em: <https://www.alz.org/media/Documents/alzheimers-facts-and-figures.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2023.

ALZHEIMER, Alois. *et al.* An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". **Clinical anatomy (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 8, n. 6, p. 429–431, 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8713166/>. Acesso em: 20 abr. 2023.

ALZHEIMER, A. Neuere Arbeiten über die Dementia senilis und die auf atheromatöser Gefässerkrankung basierenden Gehirnkrankheiten. **European Neurology**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 101–115, 1898. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/228782>. Acesso em: 20 abr. 2023.

ALZHEIMER, A. Über eigenartige Krankheitsfälle des späteren Alters. **History of Psychiatry**, [s. l.], v. 2, n. 5, p. 74–101, 1911. Disponível em: Acesso em: 20 abr. 2023.

ALZHEIMER A.; PSYCHIATR, A. A.-A. Z.; 1907, undefined. Über eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. **cir.nii.ac.jp**, [s. l.], 1907. Disponível em: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571135649977545216>. Acesso em: 20 abr. 2023.

ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2022 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 700–789, 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/alz.12638>. Acesso em: 27 ago. 2022.

ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL. **About Alzheimer's & Dementia | Alzheimer's Disease International (ADI)**. [S. l.], 2023. Disponível em: <https://www.alzint.org/about/>. Acesso em: 6 jun. 2023.

AMBERLA, K. *et al.* Long-term treatment with tacrine (THA) in Alzheimer's disease—evaluation of neuropsychological data. **Acta Neurologica Scandinavica**, [s. l.], v. 88, n. S149, p. 55–57, 1993. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1600-0404.1993.tb04257.x>. Acesso em: 20 abr. 2023.

ARMSTRONG. Risk factors for alzheimer disease. **Brain and Nerve**, [s. l.], v. 62, n. 7, p. 679–690, 2019.

ATRI, A. The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management. **Medical Clinics of North America**, [s. l.], v. 103, n. 2, p. 263–293, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.10.009>.

BERTRAM, L.; TANZI, R. E. Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. **Nature Reviews Neuroscience** 2008 9:10, [s. l.], v. 9, n. 10, p. 768–778, 2008. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrn2494>. Acesso em: 4 maio 2023.

CACACE, R.; SLEEGERS, K.; VAN BROECKHOVEN, C. Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. **Alzheimer's and Dementia**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 733–748, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2016.01.012>.

CHEN, H. H. *et al.* Circular RNA detection identifies circPSEN1 alterations in brain specific to autosomal dominant Alzheimer's disease. **Acta Neuropathologica Communications**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 29, 2022. Disponível em: [/pmc/articles/PMC8895634/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37094855/). Acesso em: 3 maio 2023.

CHEN, L. *et al.* The bioinformatics toolbox for circRNA discovery and analysis. **Briefings in Bioinformatics**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 1706–1728, 2021. Disponível em: <https://academic.oup.com/bib/article/22/2/1706/5758193>. Acesso em: 29 maio 2023.

CHEN, C.; FANG, F. hsa\_circ\_0006916 Exerts Effect on Amyloid Beta-Induced Neuron Injury by Targeting miR-217/HOMER1. **Annals of clinical and laboratory science**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 181–191, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37094855/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

CHEN, B. J.; HUANG, S.; JANITZ, M. Changes in circular RNA expression patterns during human foetal brain development. **Genomics**, [s. l.], v. 111, n. 4, p. 753–758, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29709512/>. Acesso em: 3 maio 2023.

CHEN, L. L.; YANG, L. Regulation of circRNA biogenesis. **RNA Biology**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 381, 2015. Disponível em: [/pmc/articles/PMC4615371/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29709512/). Acesso em: 1 maio 2023.

COCA-PRADOS, M. **CRNA electron microscopy.pdf**. [S. l.: s. n.], 1979.

CRISMON, M. L. Tacrine: first drug approved for Alzheimer's disease. **The Annals of pharmacotherapy**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 744–751, 1994. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7919566/>. Acesso em: 20 abr. 2023.

CUMMINGS, J. New approaches to symptomatic treatments for Alzheimer's disease. **Molecular Neurodegeneration** 2021 16:1, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–13, 2021. Disponível em: <https://molecularneurodegeneration.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13024-021-00424-9>. Acesso em: 21 abr. 2023.

DANG, Y. *et al.* Tracing the expression of circular RNAs in human pre-implantation embryos. **Genome Biology**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 1–15, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s13059-016-0991-3>.

DAS, B.; YAN, R. Role of BACE1 in Alzheimer's synaptic function. **Translational Neurodegeneration**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 4–11, 2017.

DATKO, M. C. *et al.* Behavioral and Neurochemical Phenotyping of Mice Incapable of Homer1a Induction. **Frontiers in behavioral neuroscience**, [s. l.], v. 11, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29163080/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

DELGADO-MORALES EDITOR, R. **Advances in Experimental Medicine and Biology 978 Proteomics, Metabolomics, Interactomics and Systems Biology Neuroepigenomics in Aging and Disease**. [S. l.: s. n.], 2017. Disponível em: <http://www.springer.com/series/5584>.

DI RESTA, C.; FERRARI, M. New molecular approaches to Alzheimer's disease. **Clinical Biochemistry**, [s. l.], v. 72, n. April, p. 81–86, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2019.04.010>.

DUBE, U. *et al.* An atlas of cortical circular RNA expression in Alzheimer disease brains demonstrates clinical and pathological associations. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 22, n. 11, p. 1903–1912, 2019.

EGER, N. *et al.* Circular RNA splicing. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, [s. l.], v. 1087, p. 41–52, 2018.

FUKUDA, T. *et al.* CAMDI, a novel disrupted in schizophrenia 1 (DISC1)-binding protein, is required for radial migration. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 285, n. 52, p. 40554–40561, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20956536/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GIRI, M.; ZHANG, M.; LÜ, Y. Clinical Interventions in Aging Dovepress Genes associated with Alzheimer's disease: an overview and current status. **Clinical Interventions in Aging**, [s. l.], v. 11, p. 665–681, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2147/CIA.S105769>.

GRAY, L. G. *et al.* Identification of Specific Circular RNA Expression Patterns and MicroRNA Interaction Networks in Mesial Temporal Lobe Epilepsy. **Frontiers in genetics**, [s. l.], v. 11, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33101384/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

GRUENBERG, E. M. Epidemiology of senile dementia. **Advances in neurology**, [s. l.], v. 19, p. 437–457, 1978. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/369330/>. Acesso em: 20 abr. 2023.

HANSEN, T. B. *et al.* Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. [s. l.], 2013. Disponível em: Acesso em: 5 abr. 2023.

HARVEY LODISH. **Biologia Celular e Molecular**. 7. ed. [S. l.: s. n.], 2013.

HERRUP, K. Reimagining Alzheimer's disease - An age-based hypothesis. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 30, n. 50, p. 16755–16762, 2010.

HUANG, J. L. *et al.* Comprehensive analysis of differentially expressed profiles of Alzheimer's disease associated circular rnas in an Alzheimer's disease mouse model. **Aging**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 253–265, 2018.

HUTCHINS, B. I. *et al.* CCDC141 Mutation Identified in Anosmic Hypogonadotropic Hypogonadism (Kallmann Syndrome) Alters GnRH Neuronal Migration. **Endocrinology**, [s. l.], v. 157, n. 5, p. 1956–1966, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27014940/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

IDDA, M. L. *et al.* Noncoding RNAs in Alzheimer's Disease. **Wiley interdisciplinary reviews. RNA**, [s. l.], v. 9, n. 2, 2018. Disponível em: </pmc/articles/PMC5847280/>. Acesso em: 24 abr. 2023.

JECK, W. R. *et al.* Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. **RNA**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 141, 2013b. Disponível em: [/pmc/articles/PMC3543092/](#). Acesso em: 1 maio 2023.

JECK, W. R.; SHARPLESS, N. E. Detecting and characterizing circular RNAs. **Nature biotechnology**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 453, 2014a. Disponível em: [/pmc/articles/PMC4121655/](#). Acesso em: 4 maio 2023.

KAPRANOV, P.; WILLINGHAM, A. T.; GINGERAS, T. R. Genome-wide transcription and the implications for genomic organization. **Nature reviews. Genetics**, [s. l.], v. 8, n. 6, p. 413–423, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17486121/>. Acesso em: 2 maio 2023.

KATZMAN, R. Editorial: The prevalence and malignancy of Alzheimer disease. A major killer. **Archives of neurology**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 217–218, 1976. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1259639/>. Acesso em: 20 abr. 2023.

LANE, C. A.; HARDY, J.; SCHOTT, J. M. Alzheimer's disease. **European Journal of Neurology**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 59–70, 2018.

LASDA, E.; PARKER, R. Circular RNAs: diversity of form and function. **RNA**, [s. l.], v. 20, n. 12, p. 1829, 2014. Disponível em: [/pmc/articles/PMC4238349/](#). Acesso em: 2 maio 2023.

LEE, W. J. *et al.* Possible epigenetic regulatory effect of dysregulated circular RNAs in Alzheimer's disease model. **Scientific reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31420566/>. Acesso em: 9 maio 2023.

LI, Y. *et al.* Circular RNA expression profile of Alzheimer's disease and its clinical significance as biomarkers for the disease risk and progression. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s. l.], v. 123, p. 105747, 2020. Disponível em: Acesso em: 4 maio 2023.

LI, Z. *et al.* Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. **Nature Structural & Molecular Biology** 2015 22:3, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 256–264, 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nsmb.2959>. Acesso em: 2 maio 2023.

LI, X. *et al.* The mechanism and detection of alternative splicing events in circular RNAs. **PeerJ**, [s. l.], v. 8, p. e10032, 2020. Disponível em: <https://peerj.com/articles/10032>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LI, S.; LEI, Z.; SUN, T. The role of microRNAs in neurodegenerative diseases: a review. **Cell Biology and Toxicology**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 53, 2023. Disponível em: [/pmc/articles/PMC9486770/](#). Acesso em: 24 abr. 2023.

LI LIU *et al.* Identification of Circular RNA hsa\_Circ\_0003391 in Peripheral Blood Is Potentially Associated With Alzheimer's Disease. **Frontiers in Aging Neuroscience | www.frontiersin.org**, [s. l.], v. 12, p. 601965, 2020. Disponível em: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org). Acesso em: 4 maio 2023.

LI, X.; YANG, L.; CHEN, L. L. The Biogenesis, Functions, and Challenges of Circular RNAs. **Molecular Cell**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 428–442, 2018. Disponível em: Acesso em: 1 maio 2023.

LIN, Z. *et al.* Functions and mechanisms of circular RNAs in regulating stem cell differentiation. **RNA Biology**, [s. l.], v. 18, n. 12, p. 2136, 2021. Disponível em: /pmc/articles/PMC8632079/. Acesso em: 2 maio 2023.

LIU, W. *et al.* Advances in the DNA methylation hydroxylase TET1. **Biomarker research**, [s. l.], v. 9, n. 1, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34656178/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

LU, Z. *et al.* Metazoan tRNA introns generate stable circular RNAs in vivo. **RNA**, [s. l.], v. 21, n. 9, p. 1554, 2015. Disponível em: /pmc/articles/PMC4536317/. Acesso em: 2 maio 2023.

LU, D.; XU, A. D. Mini Review: Circular RNAs as potential clinical biomarkers for disorders in the central nervous system. **Frontiers in Genetics**, [s. l.], v. 7, n. APR, p. 1–5, 2016.

LUKIW, W. J. Circular RNA (circRNA) in Alzheimer's disease (AD). **Frontiers in Genetics**, [s. l.], v. 4, n. November, p. 2010–2011, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature11928>.

MA, N. *et al.* Whole-Transcriptome Analysis of APP/PS1 Mouse Brain and Identification of circRNA-miRNA-mRNA Networks to Investigate AD Pathogenesis. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, [s. l.], v. 18, p. 1049–1062, 2019. Disponível em: Acesso em: 13 maio 2023.

MAASS, P. G. *et al.* A map of human circular RNAs in clinically relevant tissues. **J Mol Med**, [s. l.], v. 95, p. 1179–1189, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00109-017-1582-9>. Acesso em: 16 mar. 2023.

MAHMOUDI, E.; CAIRNS, M. J. Circular RNAs are temporospatially regulated throughout development and ageing in the rat. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-38860-9>.

MASTERS, C. L. *et al.* Alzheimer's disease. **Nature Reviews Disease Primers** 2015 1:1, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 1–18, 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp201556>. Acesso em: 20 abr. 2023.

MEHTA, S. L.; DEMPSEY, R. J.; VEMUGANTI, R. Role of circular RNAs in brain development and CNS diseases. **Progress in Neurobiology**, [s. l.], v. 186, p. 101746, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101746>.

MEMCZAK, S. *et al.* Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. **Nature** 2013 495:7441, [s. l.], v. 495, n. 7441, p. 333–338, 2013. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature11928>. Acesso em: 2 maio 2023.

MENDEZ, M. F. Early-Onset Alzheimer Disease. **Neurologic Clinics**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 263–281, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ncl.2017.01.005>.

MENG, S. *et al.* CircRNA: Functions and properties of a novel potential biomarker for cancer. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–8, 2017.

MINKEVICIENE, R. *et al.* Age-related decrease in stimulated glutamate release and vesicular glutamate transporters in APP/PS1 transgenic and wild-type mice. **Journal of neurochemistry**, [s. l.], v. 105, n. 3, p. 584–594, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18042177/>. Acesso em: 5 maio 2023.

MONFRINI, E. *et al.* VPS13C-associated Parkinson's disease: Two novel cases and review of the literature. **Parkinsonism & related disorders**, [s. l.], v. 94, p. 37–39, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34875562/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

MURPHY, M. P.; LEVINE, H. Alzheimer's Disease and the Amyloid- $\beta$  Peptide. **Journal of Alzheimer's Disease**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 311–323, 2010. Disponível em: Acesso em: 20 abr. 2023.

NAJ, A. C.; SCHELLENBERG, G. D. Genomic variants, genes, and pathways of Alzheimer's disease: An overview. **American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics**, [s. l.], v. 174, n. 1, p. 5–26, 2017.

NEUMAN, M. A.; COHN, R. Prevalence and malignancy of Alzheimer disease. **Archives of neurology**, [s. l.], v. 33, n. 10, p. 730, 1976. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/973815/>. Acesso em: 20 abr. 2023.

O'BRIEN, J. *et al.* Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 9, n. AUG, p. 402, 2018. Disponível em: Acesso em: 24 abr. 2023.

O'BRIEN, R. J.; WONG, P. C. Amyloid precursor protein processing and alzheimer's disease. **Annual Review of Neuroscience**, [s. l.], v. 34, p. 185–204, 2011.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS. A demência na América Latina e no Caribe: prevalência, incidência, impacto e tendências ao longo do tempo. [s. l.], 2023. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/57323>. Acesso em: 6 jun. 2023.

PARK, K. H. *et al.* Functional Connectivity of the Hippocampus in Early- and vs. Late-Onset Alzheimer's Disease. **Journal of Clinical Neurology (Seoul, Korea)**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 387, 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5653627/>. Acesso em: 27 ago. 2022.

PICHLER, S. *et al.* The miRNome of Alzheimer's disease: consistent downregulation of the miR-132/212 cluster. **Neurobiology of Aging**, [s. l.], v. 50, p. 167.e1-167.e10, 2017. Disponível em: Acesso em: 24 abr. 2023.

PIEROULI, K. *et al.* Role of non-coding RNAs as biomarkers and the application of omics technologies in Alzheimer's disease (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, [s. l.], v. 51, n. 1, 2023. Disponível em: </pmc/articles/PMC9747195/>. Acesso em: 24 abr. 2023.

PISCOPO, P. *et al.* A Plasma Circular RNA Profile Differentiates Subjects with Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment from Healthy Controls. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 21, 2022. Disponível em: </pmc/articles/PMC9658433/>. Acesso em: 4 maio 2023.

PIWECKA, M. *et al.* Loss of a mammalian circular RNA locus causes miRNA deregulation and affects brain function. **Science**, [s. l.], v. 357, n. 6357, p. 1–14, 2017a.

POLANCO, J. C. *et al.* Amyloid- $\beta$  and tau complexity — towards improved biomarkers and targeted therapies. **Nature Reviews Neurology** **2017** **14:1**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 22–39, 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrneuro.2017.162>. Acesso em: 20 abr. 2023.

QIU, W. *et al.* Transcriptome-wide piRNA profiling in human brains of Alzheimer's disease. **Neurobiology of aging**, [s. l.], v. 57, p. 170, 2017. Disponível em: [/pmc/articles/PMC5542056/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35493320/). Acesso em: 4 maio 2023.

RADDE, R. *et al.* Abeta42-driven cerebral amyloidosis in transgenic mice reveals early and robust pathology. **EMBO reports**, [s. l.], v. 7, n. 9, p. 940–946, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16906128/>. Acesso em: 15 maio 2023.

RAN, W. *et al.* Identification of Potential Key circRNAs in Aged Mice With Postoperative Delirium. **Frontiers in molecular neuroscience**, [s. l.], v. 15, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35493320/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

RASKIN, J. *et al.* Neurobiology of Alzheimer's Disease: Integrated Molecular, Physiological, Anatomical, Biomarker, and Cognitive Dimensions. **Current Alzheimer Research**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 712, 2015a. Disponível em: [/pmc/articles/PMC5384474/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26011111/). Acesso em: 20 abr. 2023.

RYBAK-WOLF, A. *et al.* Circular RNAs in the Mammalian Brain Are Highly Abundant, Conserved, and Dynamically Expressed. **Molecular Cell**, [s. l.], v. 58, n. 5, p. 870–885, 2014.

SALZMAN, J. *et al.* Cell-Type Specific Features of Circular RNA Expression. **PLoS Genet**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. 1003777, 2013. Disponível em: [www.plosgenetics.org](http://www.plosgenetics.org). Acesso em: 5 abr. 2023.

SALZMAN, J. *et al.* Circular RNAs Are the Predominant Transcript Isoform from Hundreds of Human Genes in Diverse Cell Types. **The John Curtin School of Medical Research**, [s. l.], v. 7, n. 2, 2012. Disponível em: [www.plosone.org](http://www.plosone.org). Acesso em: 5 abr. 2023.

SALZMAN, Julia *et al.* Circular RNAs Are the Predominant Transcript Isoform from Hundreds of Human Genes in Diverse Cell Types. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 7, n. 2, 2012. Disponível em: [/pmc/articles/PMC3270023/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2270023/). Acesso em: 1 maio 2023.

SANGER, H. L. *et al.* Viroids are single stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base paired rod like structures. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 73, n. 11, p. 3852–3856, 1976.

SEKAR, S.; LIANG, W. S. Circular RNA expression and function in the brain. **Non-coding RNA Research**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 23–29, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2019.01.001>.

SENGOKU, R. Aging and Alzheimer's disease pathology. **Neuropathology**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 22–29, 2020.

SERRANO-POZO, A. *et al.* Neuropathological Alterations in Alzheimer Disease. [s. l.], 2011. Disponível em: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/>. Acesso em: 20 abr. 2023.

SHEN, T. *et al.* An intriguing RNA species—perspectives of circularized RNA. **Protein & Cell**, [s. l.], v. 6, n. 12, p. 871, 2015. Disponível em: </pmc/articles/PMC4656206/>. Acesso em: 5 abr. 2023.

SHI, Z. *et al.* The circular RNA ciRS-7 promotes APP and BACE1 degradation in an NF- $\kappa$ B-dependent manner. **FEBS Journal**, [s. l.], v. 284, n. 7, p. 1096–1109, 2017.

SINHA, T. *et al.* Circular RNA translation, a path to hidden proteome. [s. l.], 2021. Disponível em: <https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wrna.1685>. Acesso em: 5 abr. 2023.

SLOMSKI, Anita. Anti-Tau antibody Semorinemab fails to slow Alzheimer disease. *Jama*, v. 328, n. 5, p. 415-415, 2022. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2794777>

SØRENSEN, S. S.; NYGAARD, A. B.; CHRISTENSEN, T. miRNA expression profiles in cerebrospinal fluid and blood of patients with Alzheimer's disease and other types of dementia - an exploratory study. **Translational neurodegeneration**, [s. l.], v. 5, n. 1, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26981236/>. Acesso em: 24 abr. 2023.

SU, L. *et al.* Identification of altered exosomal microRNAs and mRNAs in Alzheimer's disease. **Ageing Research Reviews**, [s. l.], v. 73, p. 101497, 2022. Disponível em: Acesso em: 24 abr. 2023.

TAKATA, K.; KITAMURA, Y.; TANIGUCHI, T. Pathological changes induced by amyloid- $\beta$  in Alzheimer's disease. **Yakugaku Zasshi**, [s. l.], v. 131, n. 1, p. 3–11, 2011.

TAKOUSIS, P. *et al.* Differential expression of microRNAs in Alzheimer's disease brain, blood, and cerebrospinal fluid. **Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association**, [s. l.], v. 15, n. 11, p. 1468–1477, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31495604/>. Acesso em: 4 maio 2023.

TANG, Q.; LI, X.; WANG, J. Tubulin deacetylase NDST3 modulates lysosomal acidification: Implications in neurological diseases. **BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology**, [s. l.], v. 44, n. 11, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36135988/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

THAL, D. R. *et al.* Phases of A $\beta$ -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. **Neurology**, [s. l.], v. 58, n. 12, p. 1791–1800, 2002. Disponível em: <https://n.neurology.org/content/58/12/1791>. Acesso em: 20 abr. 2023.

TREVISAN, K. *et al.* Theories of aging and the prevalence of Alzheimer's disease. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2019, 2019.

URDÁNOZ-CASADO, A. *et al.* Gender-Dependent Deregulation of Linear and Circular RNA Variants of HOMER1 in the Entorhinal Cortex of Alzheimer's Disease. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 22, n. 17, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34502114/>. Acesso em: 8 jun. 2023.

VROMMAN, M.; VANDESOMPELE, J.; VOLDERS, P. J. Closing the circle: current state and perspectives of circular RNA databases. **Briefings in Bioinformatics**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 288, 2021. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7820840/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35111111/). Acesso em: 20 maio 2023.

WANG, E. *et al.* Non-coding RNAs in Alzheimer's disease: perspectives from omics studies. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], v. 31, n. R1, p. R54–R61, 2022b. Disponível em: <https://academic.oup.com/hmg/article/31/R1/R54/6673215>. Acesso em: 24 abr. 2023.

WANG, F.; NAZARALI, A. J.; JI, S. Circular RNAs as potential biomarkers for cancer diagnosis and therapy. **American Journal of Cancer Research**, [s. l.], v. 6, n. 6, p. 1167, 2016. Disponível em: [/pmc/articles/PMC4937728/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33111111/). Acesso em: 2 maio 2023.

WESTHOLM, J. O. *et al.* Genome-wide Analysis of Drosophila Circular RNAs Reveals Their Structural and Sequence Properties and Age-Dependent Neural Accumulation. **Cell Reports**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 1966–1980, 2014. Disponível em: Acesso em: 2 maio 2023.

WILUSZ, J. E.; SHARP, P. A. A Circuitous Route to Noncoding RNA. **Science**, [s. l.], v. 340, n. 6131, p. 440–441, 2013. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1238522>. Acesso em: 2 maio 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Dementia**. [s. l.], 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>. Acesso em: 6 jun. 2023.

XIA, S. *et al.* Comprehensive characterization of tissue-specific circular RNAs in the human and mouse genomes. **Briefings in Bioinformatics**, [s. l.], v. 18, n. 6, p. 984–992, 2017. Disponível em: <https://academic.oup.com/bib/article/18/6/984/2562874>. Acesso em: 3 maio 2023.

XU, K. *et al.* Annotation and functional clustering of circRNA expression in rhesus macaque brain during aging. **Cell discovery**, [s. l.], v. 4, n. 1, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30245844/>. Acesso em: 2 maio 2023.

XU, K. *et al.* CircGRIA1 shows an age-related increase in male macaque brain and regulates synaptic plasticity and synaptogenesis. **Nature Communications**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2020. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7367861/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33111111/). Acesso em: 2 maio 2023.

XUE, Y. Y. *et al.* Alzheimer's disease susceptibility locus in CD2AP is associated with increased cerebrospinal fluid tau levels in mild cognitive impairment. **Neuroscience letters**, [s. l.], v. 771, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34958910/>. Acesso em: 18 maio 2023.

YNDART, A. Alzheimer ' s disease : pathogenesis , diagnostics , and therapeutics. [s. l.], 2019.

YOU, X. *et al.* Neural circular RNAs are derived from synaptic genes and regulated by development and plasticity. **Nature neuroscience**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 603, 2015. Disponível em: [/pmc/articles/PMC4376664/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26111111/). Acesso em: 16 mar. 2023.

ZHANG, Y. *et al.* Circular Intronic Long Noncoding RNAs. **Molecular Cell**, [s. l.], v. 51, n. 6, p. 792–806, 2013. Disponível em: Acesso em: 2 maio 2023.

ZHANG, X. O. *et al.* Complementary sequence-mediated exon circularization. **Cell**, [s. l.], v. 159, n. 1, p. 134–147, 2014a. Disponível em: <http://www.cell.com/article/S0092867414011118/fulltext>. Acesso em: 1 maio 2023.

ZHANG, X.-O. *et al.* Diverse alternative back-splicing and alternative splicing landscape of circular RNAs. [s. l.], 2016. Disponível em: <http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.202895.115>. Acesso em: 5 abr. 2023.

ZHANG, Y. *et al.* Exploring the regulatory roles of circular RNAs in Alzheimer's disease. **Translational Neurodegeneration**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–8, 2020a.

ZHANG, Z.; YANG, T.; XIAO, J. Circular RNAs: Promising Biomarkers for Human Diseases. **EBioMedicine**, [s. l.], v. 34, p. 267, 2018. Disponível em: </pmc/articles/PMC6116471/>. Acesso em: 4 maio 2023.

ZHAO, Y. *et al.* Deficiency in the ubiquitin conjugating enzyme UBE2A in Alzheimer's Disease (AD) is linked to deficits in a natural circular miRNA-7 sponge (circRNA; ciRS-7). **Genes**, [s. l.], v. 7, n. 12, 2016.

## PARTE II

APPSWE/PSEN1DE9 (C57BL6) | ALZFORUM. [s. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.alzforum.org/research-models/appswepsen1de9-c57bl6>. Acesso em: 6 maio 2023.

CHEN, L. *et al.* The bioinformatics toolbox for circRNA discovery and analysis. **Briefings in Bioinformatics**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 1706, 2021. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7986655/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34811111/). Acesso em: 5 maio 2023.

CONWAY, J. R.; LEX, A.; GEHLENBORG, N. UpSetR: an R package for the visualization of intersecting sets and their properties. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 33, n. 18, p. 2938–2940, 2017. Disponível em: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/33/18/2938/3884387>. Acesso em: 5 maio 2023.

GAO, Y.; WANG, J.; ZHAO, F. CIRI: An efficient and unbiased algorithm for de novo circular RNA identification. **Genome Biology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–16, 2015. Disponível em: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-014-0571-3>. Acesso em: 29 ago. 2022.

GAO, Y.; ZHANG, J.; ZHAO, F. Circular RNA identification based on multiple seed matching. **Briefings in Bioinformatics**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. 803–810, 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/bib/article/19/5/803/3058729>. Acesso em: 5 maio 2023.

LEINONEN, R. *et al.* The Sequence Read Archive. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 39, n. suppl\_1, p. D19–D21, 2011. Disponível em: [https://academic.oup.com/nar/article/39/suppl\\_1/D19/2505848](https://academic.oup.com/nar/article/39/suppl_1/D19/2505848). Acesso em: 29 ago. 2022.

LI, H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. [s. l.], 2013. Disponível em: <https://arxiv.org/abs/1303.3997v2>. Acesso em: 5 maio 2023.

MINKEVICIENE, R. *et al.* Age-related decrease in stimulated glutamate release and vesicular glutamate transporters in APP/PS1 transgenic and wild-type mice. **Journal of neurochemistry**, [s. l.], v. 105, n. 3, p. 584–594, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18042177/>. Acesso em: 5 maio 2023.

VROMMAN, M.; VANDESOMPELE, J.; VOLDERS, P. J. Closing the circle: current state and perspectives of circular RNA databases. **Briefings in Bioinformatics**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 288, 2021. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7820840/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34811111/). Acesso em: 20 maio 2023.

## APÊNDICE A — EXPRESSÃO DIFERENCIA DE CIRC RNAs EM GSE166393

ENSEMBL	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	pvalue	padj	circ_id	circ_type	gene_id	gene_name	gene_type
ENSMUSG00000105119	384.654557305649	0.2116975586145	0.262146836002839	0.000212393637028352	0.118814328013892	3:126769700 126781865;3:126769700 126817039;3:126775449 126817039	exon	ENSMUSG00000105119	Gm43765	TEC
ENSMUSG00000098202	6233.15105291443	-0.118426376037806	0.0911731528041597	0.000273525656813931	0.135655205796801	12:109680429 109684933	intron	ENSMUSG00000098202	B830012L14Rik	lncRNA
ENSMUSG00000030754	7589.98745186648	0.100356541074756	0.0662621072905108	0.0005084689773123	0.193661769422712	7:113818761 113822582;7:113825838 113826409;7:113839860 113846077	exon	ENSMUSG00000030754	Copb1	protein_coding
ENSMUSG00000093593	2905.05936592368	-0.13467307347945	0.17911321491736	0.000590478636872803	0.206320427352879	17:26060026 26060456	exon	ENSMUSG00000093593	Gm20683	protein_coding
ENSMUSG00000039841	2846.22784850249	0.118707838966947	0.133187741598167	0.000602803412607323	0.206320427352879	6:28242976 28247283;6:28242976 28256525;6:28242976 28260835	exon	ENSMUSG00000039841	Zfp800	protein_coding
ENSMUSG00000116275	851.339174542027	0.0349337400947035	0.122016891685891	0.00103378609899046	0.2623103725434	1:133577587 133578753	antisense	ENSMUSG00000116275	Zc3h11a	protein_coding
ENSMUSG00000030022	3288.00976606545	-0.085988566620692	0.154534846196528	0.00171327907021097	0.348562178169361	6:92864322 92871367;6:92864322 92889893;6:92878356 92889893	exon	ENSMUSG00000030022	Adamts9	protein_coding
ENSMUSG00000029001	5961.41428984869	-0.0816979493006716	0.0795518829439268	0.00190648259748899	0.358796629007565	4:148240603 148241163	exon	ENSMUSG00000029001	Fbxo44	protein_coding
ENSMUSG00000060005	26379.5813219607	0.0816696189864126	0.0422783128404533	0.00202136948052795	0.358796629007565	1:150282213 150283328	exon	ENSMUSG00000060005	Tpr	protein_coding
ENSMUSG00000069045	9802.91563926867	0.0792591734576241	0.0694270346510809	0.00219995572043759	0.371522710863711	Y:1267103 1284382	exon	ENSMUSG00000069045	Ddx3y	protein_coding
ENSMUSG00000032232	6356.56893317823	0.0593515557830439	0.140847206199505	0.00273741405847939	0.40859782784824	9:71612430 71624779;9:71612430 71633364;9:71622605 71624779	exon	ENSMUSG00000032232	Cgnl1	protein_coding
ENSMUSG00000108597	1008.88219972096	-0.0729277203683591	0.0776988392368897	0.00310729771994158	0.414240180466733	7:57415172 57442377;7:57415172 57466267	exon	ENSMUSG00000108597	Gm44708	TEC
ENSMUSG00000042078	8901.96150152942	-0.072697353797598	0.061259835584896	0.00356379076776588	0.430089668981436	5:114179885 114183692	exon	ENSMUSG00000042078	Svop	protein_coding
ENSMUSG00000022362	238.347664236163	0.0632663383282026	0.125699571115837	0.00357987602246992	0.430089668981436	15:57915620 57918478;15:7915620 57932825	exon	ENSMUSG00000022362	Gm29394	protein_coding
ENSMUSG00000044033	3172.44415856088	0.0685179622373903	0.0751067833772015	0.00401625915529606	0.448604434164602	2:76853790 77003951;2:76853790 77003951;2:769051879923 77003951;2:76919414 76938823;2:76954466 77003951	intron;intron;intron;exon;intron	ENSMUSG00000044033	Ccdc141	protein_coding
ENSMUSG00000036898	3609.87048878815	0.0715220830680353	0.0565907745823886	0.00416340690142979	0.448604434164602	5:138453242 138455894	exon	ENSMUSG00000036898	Zfp157	protein_coding
ENSMUSG00000105322	1207.9922689734	0.0631845090064748	0.104156278426381	0.00435390464456199	0.45051587885725	3:126832396 126850740;3:126840374 126850740;3:126841831 126850740	exon	ENSMUSG00000105322	Gm43751	TEC
ENSMUSG00000107226	819.759136385519	-0.067572590909755	0.0669786155782705	0.00458502033545183	0.452051141674438	5:81345413 81535835	exon	ENSMUSG00000107226	Gm43594	TEC
ENSMUSG00000063801	8544.57831772364	-0.072320301220777	0.0486651308723484	0.00469702878897523	0.452051141674438	7:79557627 79558685;7:79559583 79565855	antisense;exon	ENSMUSG00000063801	Ap3s2	protein_coding
ENSMUSG00000074925	11833.0237084593	0.0534580261756857	0.113710057785852	0.00529238074131758	0.472890755620085	19:23671685 23697718	exon	ENSMUSG00000074925	Ptar1	protein_coding
ENSMUSG00000020074	8363.63314365759	0.0655520051119469	0.0640704696545515	0.00540683343990524	0.473342319682792	10:62582680 62583243;10:62582680 62586795;10:62595873 62596058;10:62599219 62602561;10:62606634 62607844;10:62606634 62626821;10:62612347 62612742;10:62616220 62621373;10:62616220 62626821	exon	ENSMUSG00000020074	Ccar1	protein_coding
ENSMUSG00000089417	9263.91762073253	0.0576246116105454	0.099143995423022	0.00560356763921295	0.473342319682792	3:68981407 69009581;3:68984083 68997410;3:68988492 69009581	exon	ENSMUSG00000089417	Gm22009	scaRNA

ENSMUSG00000052387	43435.8791412512	0.0505197937458743	0.105003983495146	0.00659703491120491	0.493875932532915	19:22674786 22676297;19:22674786 22727209;19:22674786 22770818;19:22727135 22770818;19:22743998 22770818;19:22743998 22834114	exon	ENSMUSG00000052387	Trpm3	protein_coding
ENSMUSG00000022770	15897.5951738867	0.0592307372019505	0.0735917891131285	0.00675649518730006	0.497566932209658	16:31561924 31600653;16:31561924 31606950;16:31561924 31615828;16:31561924 31624552;16:31561924 31631642;16:31561924 31666487;16:31590575 31624552;16:31600600 31631642;16:31606900 31615828;16:31606900 31631642;16:31608995 31624552;16:31612322 31624552;16:31612322 31675309;16:31615684 31631642;16:31624432 31631642;16:31624432 31657044;16:31648284 31666487	exon	ENSMUSG00000022770	Dlg1	protein_coding
ENSMUSG00000035890	4248.98842414916	-0.0652741250252526	0.054768688598531	0.00678525239303039	0.497566932209658	10:79593843 79595070	intron	ENSMUSG00000035890	Rnf126	protein_coding
ENSMUSG00000022623	41625.946074303	-0.0632581191442136	0.0597358730750069	0.00680989321218738	0.497566932209658	15:89409363 89434085;15:89409363 89440951;15:89415546 89417657;15:89422218 89434085;15:89427303 89434085;15:89431829 89434085	exon	ENSMUSG00000022623	Shank3	protein_coding
ENSMUSG00000089617	6068.81524448518	0.0424281830019777	0.106955620101179	0.00729167409133037	0.512857027741345	6:125160877 125164115	exon	ENSMUSG00000089617	Scarna10	snoRNA
ENSMUSG00000025240	7421.93420658283	0.0618895239118987	0.06029643136286	0.00733411309894293	0.512857027741345	9:123371409 123378054;9:123371409 123381882;9:123371409 123388349;9:123371409 123399630;9:123371409 123408112;9:123371409 123416667;9:123397989 123408112;9:123397989 123411451	exon	ENSMUSG00000025240	Sacm1l	protein_coding
ENSMUSG00000045991	3175.52294273516	-0.0495099206220766	0.0998870052339654	0.00739769224106984	0.512857027741345	18:64519416 64521891	exon	ENSMUSG00000045991	Onecut2	protein_coding
ENSMUSG00000105893	228.954884181467	0.0524767928992583	0.0902114612540408	0.00760394430769222	0.517803444494406	5:4018580 4042138;5:4018580 4064079	exon	ENSMUSG00000105893	Wdr46-ps	processed_pseudogene
ENSMUSG00000017417	1659.35600486083	0.0245128700485088	0.0918561535375926	0.00783893265504631	0.517803444494406	11:97844709 97847392	exon	ENSMUSG00000017417	Ptxdc1	protein_coding
ENSMUSG00000024805	2978.3825540187	0.0571471012579501	0.0686866928464806	0.00817454488057847	0.534060320829326	19:36411970 36422477	exon	ENSMUSG00000024805	Pcgf5	protein_coding
ENSMUSG00000020608	7496.7088649857	0.0586255755323525	0.0632989550398771	0.00836304789229991	0.542416377971235	12:11321730 11335410;12:11321730 11340892;12:11341527 11349430	exon	ENSMUSG00000020608	Smc6	protein_coding
ENSMUSG00000116858	1227.92893117963	-0.0561437568166094	0.0676429532251586	0.00881973880893538	0.559865760350185	17:3195350 3248498;17:3209438 3248498	exon	ENSMUSG00000116858	Gm49797	lncRNA
ENSMUSG00000021775	12278.4895404426	0.0493913778728613	0.0864855287357498	0.00912596762019889	0.567235924892987	14:4247443 4257917	exon	ENSMUSG00000021775	Nr1d2	protein_coding
ENSMUSG00000090098	474.979118540591	0.0233130156164814	0.0888064824993201	0.00952266194354274	0.575336360756326	6:85618301 85751471	exon	ENSMUSG00000090098	Alms1-ps2	transcribed_unprocessed_pseudogene
ENSMUSG00000097391	6467.86002110423	-0.0535161399330224	0.0706723977438787	0.00962256786468705	0.575336360756326	12:109696201 109708724;12:109700997 109704241;12:109700997 109708724	exon	ENSMUSG00000097391	Mirg	lncRNA
ENSMUSG00000054863	10829.8828394903	-0.0530347705520001	0.0715119755308392	0.00972204152697864	0.575336360756326	15:87565681 87567214;15:87565681 87604830	intron;exon	ENSMUSG00000054863	Tafa5	protein_coding
ENSMUSG00000030323	4130.37572640795	-0.053802406825712	0.0692700471668998	0.00973121751480499	0.575336360756326	6:115900227 115901433	exon	ENSMUSG00000030323	lft122	protein_coding

ENSMUSG00000064065	5413.25725388905	0.0362562306884982	0.0988173491301546	0.00982658356394013	0.575810469263254	10:6850570 6870086;10:6869714 6870086;10:6869714 6906132;10:6885175 6906132	exon	ENSMUSG00000064065	Ipcef1	protein_coding
ENSMUSG00000041596	321.267579681295	-0.064964263889804	0.195287756141582	6.81813774147737e-06	0.0171540395436567	7:14297217 14343264;7:14297217 14355019;7:14304126 14343264;7:14312661 14343264	exon;intron;intron;exon	ENSMUSG00000041596	Nlrp5-ps	transcribed_unprocessed_pseudogene

## APÊNDICE B — EXPRESSÃO DIFERENCIA DE CIRC RNAs EM GSE158995

ENSEMBL	baseMean	log2foldchange	lfcSE	pvalue	padj	circ_type	gene_id	gene_name	gene_type	circ_id
ENSMUSG0000003327	1564.02166375857	-0.36135791528407	0.229934300641742	0.000109789797289022	0.0288251972617649	exon	ENSMUSG0000003327	Tmbb1	protein_coding	17:34938500 33020194
ENSMUSG00000026187	604.423385765201	0.319766259927802	0.174881834922215	0.0013353668588702	0.03110967893952095	exon	ENSMUSG00000026187	Xrcc5	protein_coding	1:72365375 72366045
ENSMUSG00000025372	10450.0628898129	-0.169259967561193	0.0822488117434162	0.0002040405883817	0.045186465729375	exon	ENSMUSG00000025372	Baiap2	protein_coding	11:119871615 119872952
ENSMUSG00000036242	2707.09273252001	0.21827246227263	0.118132141401888	0.00026204559903926	0.0537384910289344	exon	ENSMUSG00000036242	Armh4	protein_coding	14:49191776 49192654
ENSMUSG00000099912	4098.75188111001	0.275511198740432	0.180005916658137	0.000262520504234964	0.0537384910289344	intron;exon;intron	ENSMUSG00000099912	1500004A13Rik	lncRNA	3:86679598 88784578;3:86679598 88807261;3:88718521 88794
ENSMUSG00000037400	3613.25449915026	0.222307806980573	0.128629346405964	0.000305929690224724	0.0580704026137636	exon	ENSMUSG00000037400	Atp11b	protein_coding	3:35863506 35893363
ENSMUSG00000090015	1018.87481624259	0.257563732701303	0.17874886532991	0.000335129113942049	0.0616775787226129	exon	ENSMUSG00000090015	Gmt5446	protein_coding	5:110089941 110155182
ENSMUSG00000061143	1006.99471050265	-0.227980074744489	0.145689077050011	0.000370856152516772	0.0668739801487819	exon	ENSMUSG00000061143	Mam3	protein_coding	3:51762920 51764497
ENSMUSG00000034709	4049.76189381718	-0.248577934797812	0.183179057267566	0.00039018388791339	0.0685096263977708	exon	ENSMUSG00000034709	Ppp1r21	protein_coding	17:88862278 88869673;17:88873069 88893409
ENSMUSG00000041417	7758.97811290849	0.14913221944058	0.0904132287665672	0.00039060745223733	0.0685096263977708	exon	ENSMUSG00000041417	Pik3r1	protein_coding	13:101899834 101894547
ENSMUSG00000024112	5827.97198622642	-0.18944055021048	0.12056568146427	0.00044378966257912	0.0737613360820243	exon	ENSMUSG00000024112	Caclh1	protein_coding	17:25599199 25600547
ENSMUSG00000027977	2370.00160711084	0.191084565986937	0.122894065995025	0.000446237076902331	0.0737613360820243	exon	ENSMUSG00000027977	Ndst3	protein_coding	3:123959090 123427989;3:123395090 123466126;3:123464990 123466126;3:123464990 123466126;17:43126836 43131548;17:43156217 43163419
ENSMUSG00000061665	1991.013699763111	0.203263808622106	0.137644152213811	0.000479890977264399	0.0776213478018981	exon	ENSMUSG00000061665	Cd2ap	protein_coding	7:66558341 66558642;7:66691533 66701785;7:66691533 66728125;7:66720337 66728125
ENSMUSG00000058145	807.9367696684	-0.23175783817716	0.183825896515805	0.000484869194328852	0.0776213478018981	exon	ENSMUSG00000058145	Adamts17	protein_coding	7:66558341 66558642;7:66691533 66701785;7:66691533 66728125;7:66720337 66728125
ENSMUSG00000052942	1880.55026602237	-0.179902210315865	0.127537325014466	0.000585095426584454	0.0863233351684766	exon;exon;intron;exon;exon	ENSMUSG00000052942	Glis3	protein_coding	19:28261052 28294813;19:2833606 2833552;19:2805160 28517808;19:2850273 28509386;
ENSMUSG00000034731	13884.0661916911	-0.17330353121094	0.130289121731261	0.000685511278797942	0.095392796464771	exon	ENSMUSG00000034731	Dgkx	protein_coding	14:78889121 78891236
ENSMUSG00000039911	830.288510723064	-0.187637627229842	0.106293708470696	0.000821402966862788	0.1086170212134791	antisense	ENSMUSG00000039911	Spbl1	protein_coding	4:150028221 150028226
ENSMUSG00000030306	3726.81055340433	-0.157984511028514	0.128233726936926	0.000857887071146401	0.1086170212134791	exon	ENSMUSG00000030306	Tmtc1	protein_coding	6:148312536 148327482
ENSMUSG00000044042	5657.77379773462	0.176304213332871	0.158641599444773	0.000947869033864495	0.116699020638269	exon;exon;intron;intron;intron;exon;exon;exon;exon;exon;exon	ENSMUSG00000044042	Fmn1	protein_coding	2:113194181 113196174;2:113194181 113260157;2:113268667 113309308;2:11326867 113393715;2:11326870 113309308;2:11326870 113393715;2:11335496 113359808;2:113412443 113433634;2:113412443 113467169;2:113467169 113467169
ENSMUSG00000036745	14388.8554396112	0.11226878291901	0.0978777864558528	0.00104517605932388	0.125224718194965	exon	ENSMUSG00000036745	Tu17	protein_coding	3:146599757 146621544
ENSMUSG00000026354	1452.41226911059	-0.166803325990086	0.194950375504116	0.00121012524812507	0.140280233308629	exon	ENSMUSG00000026354	Lct	protein_coding	1:128219660 12822061
ENSMUSG00000034755	1192.33048671965	0.148786362464229	0.15356396624855	0.00142223519224189	0.157700264918648	exon	ENSMUSG00000034755	Pcdh11x	protein_coding	X:119274483 119311594;X:11930991 119311594
ENSMUSG00000027777	5640.73621628555	0.126316880869963	0.134091059028842	0.00171458437499031	0.174907201499012	exon	ENSMUSG00000027777	Schip1	protein_coding	3:68401907 68402590;3:6852397
ENSMUSG00000039087	5165.42129907182	-0.140209311590265	0.1641479361013622	0.00174023706889522	0.175370680079759	exon	ENSMUSG00000039087	Rreb1	protein_coding	13:39072847 39083763
ENSMUSG00000109394	1313.78019752932	0.128841620218767	0.142854329789108	0.00179702341406073	0.177240121479625	exon	ENSMUSG00000109394	A230057D06Rik	lncRNA	7:61463010 61463938;7:61463010 61575168;7:61575168;7:61463010 61575168;7:61575168;19:40300113 40306512;19:40300113 40325479;19:40313915 40315381;19:40325490 40359610;19:40338343 40359610;19:40351646 40359610;19:40381832 40381832
ENSMUSG00000025006	9643.18020853914	-0.103665763685789	0.111937666482837	0.001869990547589	0.18242115440196	exon	ENSMUSG00000025006	Sorbs1	protein_coding	19:40300113 40306512;19:40300113 40325479;19:40313915 40315381;19:40325490 40359610;19:40338343 40359610;19:40351646 40359610;19:40381832 40381832
ENSMUSG00000050896	1601.13930931168	-0.111569284287193	0.126538699619697	0.0020824406831354	0.193623599350693	exon	ENSMUSG00000050896	Rtnr4r2	protein_coding	2:84710732 84711213
ENSMUSG00000034653	2223.15706046696	0.100935443430031	0.117669200359188	0.0022724345501481	0.205926404006314	exon	ENSMUSG00000034653	Ythdc2	protein_coding	18:44963219 44993716
ENSMUSG00000066687	6257.4379808657	-0.101219657810525	0.119781330468386	0.00235422871321943	0.208278582204548	exon	ENSMUSG00000066687	Zbtb16	protein_coding	9:48628583 48744399;9:48654764 48744399
ENSMUSG00000028032	2753.1045795567	0.0923265522165336	0.110455262944787	0.00243576382499377	0.210064037699462	exon	ENSMUSG00000028032	Paps1	protein_coding	3:131285072 131290927;3:131305626 131313224;3:131305626 17:9088169 90890505;17:9088169 9088333;17:90872733 91008333;17:90969099 91008333;17:90969149 91008333;17:90950419 91011795;17:91008172 91011795;17:91298795 91298972;17:91298795 91302906;17:91298795 91302906
ENSMUSG00000024109	33061.8997875486	0.0726649198563214	0.0911199835821569	0.00263497141716213	0.217775508051751	exon;exon;exon;exon;exon;exon;exon;exon;exon;exon;exon	ENSMUSG00000024109	Nrxn1	protein_coding	12:36071800 36074071
ENSMUSG00000020577	7019.76688007208	-0.0714566308318311	0.0900013782387991	0.0026527124562122	0.218232164409355	exon	ENSMUSG00000020577	Tspan13	protein_coding	14:29767172 29769328;14:29858998 29864674;14:29862773 29864674;14:29899913 29918820;
ENSMUSG00000015968	4986.96922953838	-0.0749449630649938	0.0965492249883214	0.00288818687528243	0.227364130218442	exon;exon;intron;exon;exon	ENSMUSG00000015968	Caclh1	protein_coding	3:95777806 95950240
ENSMUSG00000038526	489.791108761892	0.108924804415088	0.167964041760652	0.00289796105609484	0.227364130218442	exon	ENSMUSG00000038526	Car14	protein_coding	18:37289206 37316666
ENSMUSG000000104148	309.239223448313	0.0787917874625744	0.200469709821176	0.00302100382584993	0.231247988654025	exon	ENSMUSG000000104148	Pcaha2	protein_coding	3:125706557 125708110;3:125706557 125708110
ENSMUSG00000032854	2302.04660920795	0.103085058359445	0.150060200071116	0.00323286965121458	0.244547411074079	intron;exon	ENSMUSG00000032854	Ugt8a	protein_coding	Q0287 115709110
ENSMUSG00000022270	1712.26722599936	0.084193919901161	0.113478318205635	0.00330175732809602	0.248704522452195	exon	ENSMUSG00000022270	Retreg1	protein_coding	15:25964319 25972222
ENSMUSG00000064351	455408.666618831	0.0897379690457211	0.123240236860903	0.251881132606631	0.251881132606631	antisense	ENSMUSG00000064351	mt-coi	protein_coding	MT:5760 5954
ENSMUSG00000035284	13987.7673791588	-0.0672089573237533	0.0931900155844765	0.00347374821360034	0.254841270813788	exon	ENSMUSG00000035284	Vps13c	protein_coding	9:67759773 67768167;9:67766072 67785459;9:67783509 67797
ENSMUSG00000026604	1573.52330983235	-0.091958056274019	0.13261386665592	0.00362494525728666	0.255196388691611	exon	ENSMUSG00000026604	Ptpn14	protein_coding	1:189518833 189530878



ENSMUSG00000026904	13786.6685000357	0.0304533321863644	0.0644310366128675	0.00969233729124409	0.397807799623785	exon	ENSMUSG00000026904	Slc4a10	protein_coding	2:62097745 62135119;2:62097745 62147025
ENSMUSG00000050751	8240.28070354551	-0.0284459470954702	0.0626899206342354	0.00973795700401042	0.397807799623785	intron	ENSMUSG00000050751	Pgbd5	protein_coding	8:125122992 125123323
ENSMUSG00000030583	12460.8020614544	-0.0304908590056519	0.065030813754288	0.00996825879069806	0.403522349051115	exon	ENSMUSG00000030583	Sipa1b	protein_coding	7:29082621 29087576
ENSMUSG00000007617	11156.7181230447	-0.325063237272054	0.0647303026229825	1.17534090310854e-07	0.000149872755730669	exon	ENSMUSG00000007617	Homer1	protein_coding	13:93478264 93485805;13:93478264 93492587;13:93522853 93522853
ENSMUSG00000024597	7394.82266209386	0.286014079681474	0.0627710645937991	1.21534244024209e-06	0.000803566416414879	exon	ENSMUSG00000024597	Slc12a2	protein_coding	18:58030416 58032471
ENSMUSG00000024472	4420.62938710435	0.273313698522326	0.0747990476876998	1.41160144064398e-05	0.00614104274245579	exon	ENSMUSG00000024472	Dcp2	protein_coding	18:44538277 44538827
ENSMUSG00000026575	1975.56986489207	1.52579288944895	0.137063532629678	1.45162705735448e-29	2.59144462278923e-25	exon	ENSMUSG00000026575	Nme7	protein_coding	1:164140422 164175448;1:164140422 164230646;1:164140425 164175448;1:164140425 164230646;1:164168298 164175448;1:164168298 164175448
ENSMUSG00000055723	1000.7487873989	-0.34215067380647	0.106484296701189	1.96339592882781e-05	0.00751294421874603	exon;intron	ENSMUSG00000055723	Rras2	protein_coding	7:113657775 113659654;7:113657775 113690573
ENSMUSG00000068270	1194.59767589283	0.96137711666053	0.153886729945157	2.04759966135441e-12	9.13843728862472e-09	exon	ENSMUSG00000068270	Shroom4	protein_coding	X:6432847 6536490
ENSMUSG00000062202	7442.73648830274	-0.27011148512162	0.0905406921971959	4.35720972084719e-05	0.0149586361416469	exon	ENSMUSG00000062202	Btb9	protein_coding	17:30518505 30553306;17:30732530 30749313;17:30732530 30749339;17:30743687 30749339
ENSMUSG00000020431	58018.2783663116	-0.274235063064272	0.10977182365821	8.44802165879075e-05	0.0232021665619588	exon	ENSMUSG00000020431	Adcy1	protein_coding	11:7028888 7059112;11:7028888 7080403;11:7080276 7089189;11:7087273 7089189;11:7087273 7089189

## APÊNDICE C — EXPRESSÃO DIFERENCIA DE CIRCRNAS EM PRJNA712946

ENSEMBL	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	pvalue	padj	circ_type	gene_id	gene_name	gene_type	circ_id
ENSMUSG00000030660	7384.70387087168	-0.276763322901197	0.109541711149675	0.00010624492272199	0.00406021181300944	exon	ENSMUSG00000030660	Pik3c2a	protein_coding	7:115945354 115950164;7:115957871 115967424;7:115957871 11595794;7:115959231 115967424;7:115962584 115987356;7:115977855 115990628;7:115987079 115990628;7:115987079 115993593;7:115987079 116005198;7:115989679 115993593;7:115989679 116005198;7:116016688 116017816
ENSMUSG00000021171	15202.7627795691	0.181770400401907	0.0578907645805172	0.000106643073076048	0.00406486925950231	exon	ENSMUSG00000021171	Esy2	protein_coding	12:116281450 116287830;12:116281450 116297876;12:116281450 116311934;12:11628747 116311934;12:116310124 116321554
ENSMUSG00000024642	9168.03255908228	0.2508375813452	0.0947463321576124	0.000109865907238438	0.00417313943166112	exon	ENSMUSG00000024642	Tle4	protein_coding	19:14441673 14445635;19:14493723 14541815;19:14522152 14541815
ENSMUSG00000049583	62655.27897578	0.227242374909961	0.0819995703854863	0.000118766162827771	0.00439046872785175	exon	ENSMUSG00000049583	Grm5	protein_coding	7:87245324 87252409;7:87251554 87252409;7:87624343 87689317;7:87624343 87724338;7:87675632 87689317;7:87685276 87724338;7:87723399 87724338
ENSMUSG00000014361	4083.58870340409	-0.419257179926895	0.194305592864216	0.000122006095391907	0.00447346635595082	exon	ENSMUSG00000014361	Mertk	protein_coding	2:128571106 128580289;2:128578483 128580289;2:128613267 128625930;2:128618206 128621792
ENSMUSG00000105891	332.967415184074	0.610076972517385	0.314124264783159	0.000130786852174106	0.0047395737833439	intron	ENSMUSG00000105891	A230001M10Rik	lncRNA	3:102186229 102222432
ENSMUSG00000022797	16698.8847882297	-0.261964349179545	0.104299921758737	0.000137323671940741	0.00493995888817635	exon	ENSMUSG00000022797	Tfrc	protein_coding	16:32437036 32437994
ENSMUSG00000001829	5867.0676415184	0.233105639748803	0.0873053733360122	0.000142840297474953	0.00512587633353411	exon	ENSMUSG00000001829	Clpb	protein_coding	7:101355690 101400538
ENSMUSG00000102918	12974.4225870233	-0.240362415002763	0.0920915538449059	0.000148315055462417	0.00529650342480228	intron	ENSMUSG00000102918	Pcdhgc3	protein_coding	18:37939057 37942030
ENSMUSG00000031652	8370.33070347042	0.233063842924899	0.0883757185997019	0.000157497067841401	0.00549884555161583	exon	ENSMUSG00000031652	N4bp1	protein_coding	8:87570578 87579917;8:87570578 87588738;8:87587054 87588738
ENSMUSG00000038886	26389.0924388897	0.16992620608492	0.0546632747402182	0.00015846601739177	0.00549884555161583	exon	ENSMUSG00000038886	Man2a2	protein_coding	7:80017962 80018398
ENSMUSG00000019916	4500.57858433163	0.240441898171949	0.0936236966035028	0.000167383989588128	0.00578103436340407	exon;intron	ENSMUSG00000019916	P4ha1	protein_coding	10:59172876 59179616;10:59184003 59184546
ENSMUSG00000030465	120302.607846326	0.19944460062245	0.0698882203328435	0.000172416594059015	0.00591320594030369	exon;exon;exon	ENSMUSG00000030465	Psd3	protein_coding	8:68145692 68173605;8:68149561 68173605;8:68166335 68173605;8:68172552 68173605;8:68194413 68210917;8:68194413 68243593;8:68335633 68361541;8:68354940 68361541;8:68356769 68361538;8:68356769 68361541;8:68413039 68417006
ENSMUSG00000027782	13892.8156135488	0.2060001322329	0.0740744382243807	0.000184195524805989	0.00623004311832302	exon	ENSMUSG00000027782	Kpna4	protein_coding	3:68981407 69009581;3:68984083 68997410;3:68997109 69009581;3:69000143 69009581

ENSMUSG00000063317	28435.4959758905	0.191441936212115	0.0662189613063304	0.000186377355852864	0.00628938081803484	exon	ENSMUSG00000063317	Usp31	protein_coding	7:121260569 121278745;7:121266027 121278745;7:121268878 121278745
ENSMUSG00000031700	7949.2667108987	-0.208614438591216	0.0763215195651048	0.000199821428140427	0.00663650716079029	exon	ENSMUSG00000031700	Gpt2	protein_coding	8:86238742 86244742
ENSMUSG00000059173	19214.3364005145	0.29454670347386	0.131816800855283	0.000202478098104381	0.00668693137859924	exon	ENSMUSG00000059173	Pde1a	protein_coding	2:79695382 79718285
ENSMUSG00000024187	2295.54529989432	-0.289364038761545	0.129295497395887	0.000211859113050165	0.00694227868665274	exon	ENSMUSG00000024187	Fam234a	protein_coding	17:26437098 26439554
ENSMUSG00000027895	9090.83392226014	0.28790207056988	0.128540683673763	0.000214224856365115	0.00698867031419054	exon	ENSMUSG00000027895	Kcnc4	protein_coding	3:107352746 107355756
ENSMUSG00000030934	7325.11783001406	0.186610672484413	0.064810005697954	0.00021726581122072	0.00705658251763898	exon	ENSMUSG00000030934	Oat	protein_coding	7:132163513 132171869
ENSMUSG00000035877	19447.5565246754	-0.188235795893566	0.0658641748469955	0.000222901620651378	0.0071605928922352	exon	ENSMUSG00000035877	Zhx3	protein_coding	2:160621321 160624299
ENSMUSG00000064065	5821.77433828245	0.410373930007527	0.211574484236644	0.000224626142202706	0.00720027108982225	exon	ENSMUSG00000064065	Ipcef1	protein_coding	10:6885175 6906132
ENSMUSG00000002028	25450.5091240229	0.209191376550553	0.0784929566508488	0.000240659551509223	0.00756763459619355	exon	ENSMUSG00000002028	Kmt2a	protein_coding	9:44720361 44727956;9:44734525 44738256;9:44735622 44738256;9:44740081 44740568
ENSMUSG00000030168	6858.78884751811	-0.435630758702918	0.232730683007424	0.000243866781978499	0.00765034533741931	exon	ENSMUSG00000030168	Adipor2	protein_coding	6:119334177 119342341;6:119338789 119347369
ENSMUSG00000043557	11868.6930179494	0.339954609754454	0.167417587601492	0.000247504078426722	0.00774793086360076	exon	ENSMUSG00000043557	Mdga1	protein_coding	17:30068131 30069662
ENSMUSG00000003814	25343.9535091692	0.204250772178251	0.0758498846775963	0.000248566471162456	0.00775099831959183	exon	ENSMUSG00000003814	Calr	protein_coding	8:85570694 85571594
ENSMUSG00000028613	9085.73259088511	0.213351223002448	0.0814319533746821	0.000249701704286289	0.00776714836186929	exon	ENSMUSG00000028613	Lrp8	protein_coding	4:107707301 107714517;4:107708505 107714517
ENSMUSG00000028082	3111.70214188518	-0.504817568949192	0.288846471736741	0.000262530408133303	0.00806390374710914	exon	ENSMUSG00000028082	Sh3d19	protein_coding	3:85982455 85992664;3:85987702 86014659;3:85990534 85992664;3:86022094 86028493
ENSMUSG00000068663	11724.4904551566	0.187756371208063	0.0669645949244237	0.00026539254649385	0.00813483445117504	exon	ENSMUSG00000068663	Clec16a	protein_coding	16:10377885 10398906;16:10413666 10432464;16:10428867 10456779;16:10428867 10462745;16:10462625 10512654;16:10506344 10512654;16:10549525 10560795
ENSMUSG00000103310	3120.055503472	0.3823920044071	0.199820626357236	0.000269766792719214	0.00820057607702024	intron	ENSMUSG00000103310	Pcdha12	protein_coding	18:37222479 37225624
ENSMUSG00000048249	12890.2463520767	0.214785733201895	0.083504113987731	0.000277132504048969	0.00838981590961415	exon	ENSMUSG00000048249	Crebrf	protein_coding	17:26955763 26962105;17:26955763 26982422;17:26955790 26962105;17:26955790 26982422;17:26958517 26962105;17:26958517 26978923;17:26958517 26982422;17:26961016 26962105;17:26976779 26978923;17:26976779 26982422
ENSMUSG00000029189	6820.88901132622	0.28016040741325	0.129309185864573	0.000286937760046532	0.00861574543584617	exon	ENSMUSG00000029189	Sel1l3	protein_coding	5:53311513 53345424;5:53327699 53345424;5:53327699 53357813;5:53339064 53345424;5:53339064 53357813;5:53357243 53357813
ENSMUSG00000039375	3566.99942316753	0.209930573726264	0.0808844340024804	0.000288714808377308	0.00865144801559132	exon	ENSMUSG00000039375	Wdr17	protein_coding	8:55134381 55143269;8:55134381 55149432
ENSMUSG00000036273	6203.2912844265	0.290487020078506	0.138174669957008	0.000305187043122627	0.00907282870587608	exon	ENSMUSG00000036273	Lrrk2	protein_coding	15:91639993 91664212;15:91648835 91671329;15:91671169 91696603;15:91671169 91698936

ENSMUSG00000117286	4934.15708523062	0.202175358841757	0.076782135532756	0.000309410504394104	0.00915039780821157	on,intron,exo	ENSMUSG00000117286	Gm1043	protein_coding	5:37339425 37351648;5:37339425 37386847;5:37339425 37390723;5:37343027 37351648;5:37386600 37390723
ENSMUSG00000047747	17207.1695661665	0.185531666824908	0.0669802329594109	0.000309719167300303	0.00915039780821157	xon,intron,exc	ENSMUSG00000047747	Rnf150	protein_coding	8:83716976 83733041;8:83716976 83769411;8:83728395 83769411;8:83730204 83769411;8:83762654 83769411
ENSMUSG00000026643	11554.3763515785	0.164393124832597	0.0560621772249515	0.000319215558835026	0.00937300808786499	intron;exon	ENSMUSG00000026643	Nmt2	protein_coding	2:3290322 3317285;2:3305849 3317285
ENSMUSG00000035045	5940.38704734141	0.199527285802489	0.0754898562101122	0.00031980221981297	0.00937300808786499	exon	ENSMUSG00000035045	Zc3h12b	protein_coding	X:94941871 94943306
ENSMUSG00000051920	3089.89931049012	0.439132091851101	0.252685158628783	0.00033309421965067	0.0096956380597238	exon	ENSMUSG00000051920	Rspo2	protein_coding	15:4299173 42956737
ENSMUSG00000045975	1624.54474551097	-0.347784372747494	0.184667075029616	0.000350031327425663	0.00996094224597907	exon	ENSMUSG00000045975	C2cd2	protein_coding	16:97669792 97671480
ENSMUSG00000036356	1742.09908739864	0.242759713028337	0.106416400938408	0.000357830759491287	0.0100387985945665	exon	ENSMUSG00000036356	Csgalnact1	protein_coding	8:68913576 68914503;8:69098451 69172146;8:69171506 69172146
ENSMUSG00000037754	34195.5522461537	-0.194027724432981	0.0733530405027223	0.000361870220061108	0.0101028397490685	exon	ENSMUSG00000037754	Ppp1r16b	protein_coding	2:158537782 158538130
ENSMUSG00000056515	9760.37727826613	-0.256090131613159	0.116750197974792	0.000366495678839531	0.0101740583448415	exon	ENSMUSG00000056515	Rab31	protein_coding	17:66003266 66029082
ENSMUSG00000040653	2439.70766055405	-0.285210263664552	0.139598815927199	0.00037867737076791	0.0104426504290441	intron	ENSMUSG00000040653	Ppp1r14c	protein_coding	10:3373501 3387299
ENSMUSG00000022332	11471.5668155033	0.235834043260308	0.103383102696837	0.000403531671738523	0.0110349823852498	exon	ENSMUSG00000022332	Khdrbs3	protein_coding	15:68866901 68889323;15:68866901 68921310;15:68885207 68921310;15:68885207 68921310;15:68896549 68921310
ENSMUSG00000040234	5867.04520112173	-0.22833110749366	0.0979711471015774	0.000406482616773731	0.0110751458159109	exon	ENSMUSG00000040234	Tm7sf3	protein_coding	6:146520032 146521509
ENSMUSG00000014592	49212.7619659474	0.186587432036261	0.0701185701420581	0.000413470127183827	0.0111826948184847	exon	ENSMUSG00000014592	Camta1	protein_coding	4:151102356 151103444;4:151145173 151145456;4:151874865 151920340;4:151914875 151920340
ENSMUSG00000036333	48280.2954172507	0.164366710126323	0.0577815505355575	0.000417807188486304	0.0112380204098702	exon	ENSMUSG00000036333	Kidins220	protein_coding	12:25044811 25055217;12:25052988 25055217;12:25053943 25055217;12:25060894 25111277;12:25063296 25067051
ENSMUSG00000045103	11923.6254663959	0.18981073613563	0.0727709538373697	0.000443618038946885	0.0117815021787464	in,exon,exon,;	ENSMUSG00000045103	Dmd	protein_coding	X:82857081 82874175;X:82921653 82930839;X:82966073 83008447;X:82998569 83039737;X:82998569 83066018;X:83315558 83356232;X:83315558 83475598;X:83353405 83356232;X:83619166 83690832;X:84148750 84153706;X:84192736 84234308;X:84221310 84241141
ENSMUSG00000041870	3942.95263045897	-0.303876656505407	0.159293837212644	0.00045145277779296	0.0119365661183787	exon	ENSMUSG00000041870	Ankrd13a	protein_coding	5:114924002 114927414;5:114927369 114937602
ENSMUSG00000043639	304.12419188908	-0.442047145341569	0.276221274375347	0.000451890663218714	0.0119365661183787	exon	ENSMUSG00000043639	Rbm20	protein_coding	19:53801679 53806451
ENSMUSG00000031028	28702.5778721359	0.22045803381073	0.0944765439762009	0.000470428868634158	0.0123596784718114	exon	ENSMUSG00000031028	Tub	protein_coding	7:108619724 108628932
ENSMUSG00000021730	24164.4711944675	0.243004011206317	0.112803146990253	0.00049736446863992	0.0130063539157048	exon	ENSMUSG00000021730	Hcn1	protein_coding	13:117793142 117793565
ENSMUSG00000075590	6716.13158309989	-0.286427247986287	0.148292969724531	0.000500952483255008	0.0130682870321471	exon	ENSMUSG00000075590	Nrbp2	protein_coding	15:75959222 75960275
ENSMUSG00000074785	8512.2306697588	0.26025421344004	0.127130124889801	0.00050700501199974	0.0131989733250897	exon	ENSMUSG00000074785	Plxnc1	protein_coding	10:94700579 94718494;10:94742327 94758632
ENSMUSG00000022905	23092.7746831356	0.168729415929833	0.0615283980398214	0.000507756331271716	0.0131989733250897	exon	ENSMUSG00000022905	Kpna1	protein_coding	16:35839628 35843623;16:35841058 35843623

ENSMUSG00000049606	18586.9777009583	0.179242240851262	0.0679137157462915	0.000525716962644589	0.01363774246199	on;intron;intr	ENSMUSG00000049606	Zfp644	protein_coding	5:106765937 106767508;5:106765937 106786501;5:106765937 106814711;5:106767406 106786501;5:106767406 106814711;5:106780791 106786501;5:106780791 106814711;5:106782697 106786501;5:106782697 106814711;5:106782697 106827609;5:106783476 106786501
ENSMUSG00000015002	27368.569704246	0.241953665786459	0.113131672679722	0.0005264898440094	0.01363774246199	exon	ENSMUSG00000015002	Efr3a	protein_coding	15:65687184 65709421;15:65690282 65709421;15:65696463 65720158;15:65701576 65709421
ENSMUSG00000040850	6901.18907494184	-0.197469497950707	0.0797627931131204	0.00053165093519848	0.0137472411416085	exon	ENSMUSG00000040850	Psme4	protein_coding	11:30741092 30752858;11:30741092 30773154;11:30760783 30787491;11:30769928 30789021;11:30800603 30806115
ENSMUSG00000027882	2157.17251236179	-0.328359276017417	0.185743262087917	0.000534087885254123	0.0137860264135858	exon	ENSMUSG00000027882	Stxbp3	protein_coding	3:108702118 108704782
ENSMUSG00000040389	18074.492437032	0.175960216018781	0.06667416081442	0.000570082678351391	0.0144614249079035	exon	ENSMUSG00000040389	Wdr47	protein_coding	3:108525806 108537083;3:108525806 108546073
ENSMUSG00000024431	19104.0527947133	0.194618279613835	0.0791293259697218	0.000592902814714713	0.0149372930015369	exon	ENSMUSG00000024431	Nr3c1	protein_coding	18:39553629 39561833
ENSMUSG00000021245	3654.7058059947	0.25063527992642	0.123977831520437	0.000619273577785774	0.0154955308672825	exon	ENSMUSG00000021245	Mlh3	protein_coding	12:85287572 85297147
ENSMUSG00000040675	1467.67053715589	-0.269102986572348	0.140230335142866	0.000627154401746389	0.0156660827044051	antisense;exon	ENSMUSG00000040675	Mthfd1l	protein_coding	10:3939958 3946679;10:3965514 3968599
ENSMUSG00000038909	10284.9931618736	0.165952169213904	0.0616802884575166	0.000631337765546598	0.0156874525280641	exon	ENSMUSG00000038909	Kat7	protein_coding	11:95185389 95194135
ENSMUSG00000069170	627.49310485148	-0.482935607917813	0.358895362786164	0.000631372153854619	0.0156874525280641	exon	ENSMUSG00000069170	Adgrv1	protein_coding	13:81666072 81677177
ENSMUSG00000037646	20956.7509692418	0.155607844614666	0.0560228172324377	0.000633341045447569	0.0156874525280641	exon;exon;exc	ENSMUSG00000037646	Vps13b	protein_coding	15:35417657 35423443;15:35417657 35472210;15:35417657 35597668;15:35422454 35430430;15:35422454 35472210;15:35422454 35491363;15:35422454 35534506;15:35445716 35472210;15:35445716 35491363;15:35491274 35534506;15:35533442 35534506;15:35533442 35576672;15:35533442 35709959;15:35617744 35675098;15:35623748 35652512;15:35646119 35675098;15:35646119 35709959;15:35665284 35771009;15:35665284 35794635;15:35668847 35771009;15:35668847 35794635;15:35709272 35709959;15:35792185 35794635
ENSMUSG00000027971	5945.79284914273	0.347461946137547	0.212812180179593	0.000657973624930425	0.0160810665508328	exon	ENSMUSG00000027971	Ndst4	protein_coding	3:125231196 125232410;3:125355072 125405282

ENSMUSG00000030839	3387.73221749498	0.251849358259148	0.127594928603527	0.000685411490315758	0.0166348837113249	exon;exon;exc	ENSMUSG00000030839	Sergef	protein_coding	7:46125934 46284980;7:46161379 46165128;7:46161379 46240197;7:46161379 46284980;7:46165092 46284980;7:46240031 46268182;7:46240031 46284980;7:46264042 46284980;7:46270985 46284980;7:46275633 46284980;7:46282084 46284980
ENSMUSG00000026019	3644.62762664903	0.204827164446983	0.0885250661493665	0.000686289296049361	0.0166348837113249	exon	ENSMUSG00000026019	Wdr12	protein_coding	1:60121196 60121808
ENSMUSG00000038178	11142.0626295279	-0.206059243648587	0.0895281991146618	0.000689048926642918	0.016646924232672	exon	ENSMUSG00000038178	Slc43a2	protein_coding	11:75433984 75436656
ENSMUSG00000022197	11488.0352602559	-0.275516900585572	0.15001184939387	0.000715063568234358	0.0171626921361046	exon	ENSMUSG00000022197	Pdz2	protein_coding	15:12406553 12419658;15:12457884 12458385;15:12592167 12592996
ENSMUSG00000052726	7171.55097835519	0.276704687167904	0.151310549890154	0.000719731250204954	0.0172465893880545	exon;exon;exc	ENSMUSG00000052726	Kcnt2	protein_coding	1:140278946 140310833;1:140290687 140310833;1:140290687 140311072;1:140290687 140378042;1:140290687 140411971;1:140352931 140359171;1:140352931 140378042;1:140352931 140411971;1:140461599 140502595
ENSMUSG00000002808	13495.5931092334	0.2466037615985	0.12434781320627	0.000722837473889919	0.0172928581355161	intron	ENSMUSG00000002808	Epd1	protein_coding	13:19768199 19778825
ENSMUSG00000056476	10494.7361565845	0.166505837284298	0.0633169140929543	0.000739161330688164	0.0176546763935308	exon	ENSMUSG00000056476	Med12l	protein_coding	3:58938967 58949834;3:58938967 59001116;3:58944981 58949834;3:58944981 58993822;3:58944981 58999042;3:58944981 59001116;3:58949675 59001116;3:58975663 58984590;3:58975663 59001116;3:58979236 59001116;3:58990374 59001116;3:58993696 59156147;3:58998828 59001116;3:59169295 59172705
ENSMUSG00000044033	2087.90567572475	-0.373544300426061	0.247117190600904	0.000752319993519467	0.0179108156385953	exon;intron	ENSMUSG00000044033	Ccdc141	protein_coding	2:76919414 76938823;2:76919414 77003951
ENSMUSG00000027288	46006.059318331	0.172305971812304	0.0670635317019046	0.000756372013653243	0.017974583068991	exon	ENSMUSG00000027288	Zfp106	protein_coding	2:120353166 120362703;2:120363992 120366160
ENSMUSG00000038902	8522.53304636281	0.16960770872226	0.0654062592653822	0.000757441820347612	0.017974583068991	exon	ENSMUSG00000038902	Pogz	protein_coding	3:94763354 94768282
ENSMUSG00000026842	9112.67482415154	-0.203050359064708	0.0889811966674191	0.000772785286176454	0.0181919838648227	exon	ENSMUSG00000026842	Abl1	protein_coding	2:31668346 31669228
ENSMUSG00000036712	20935.3898030537	0.184320846200177	0.0752546782075644	0.000776857180422502	0.0182586257117512	exon	ENSMUSG00000036712	Cyld	protein_coding	8:89428933 89449840;8:89431854 89436624;8:89431854 89446024;8:89431854 89449840;8:89431952 89449840
ENSMUSG00000034560	6273.96693930273	0.167345778205279	0.0645174967515129	0.000799583944849161	0.0186143648426673	exon	ENSMUSG00000034560	Washc4	protein_coding	10:83394462 834004019:22402114 22425389;9:2255041 22570441;9:22555041 22582253;9:22555041 22590360;9:22555041 22705229;9:22555041 22723839;9:22566521 22590360;9:22798877 22799292
ENSMUSG00000035919	1896.36958745503	0.247329951836106	0.127809795859995	0.000803907452459509	0.0186854507867879	exon	ENSMUSG00000035919	Bbs9	protein_coding	9:22555041 22705229;9:22555041 22723839;9:22566521 22590360;9:22798877 22799292
ENSMUSG00000029434	12837.9685786611	0.146593687865348	0.0531938827643241	0.000841560451512853	0.0193020714415873	exon	ENSMUSG00000029434	Vps33a	protein_coding	5:123701489 123703138

ENSMUSG00000091712	1788.05492423946	-0.340462404962928	0.222257033999755	0.000870205133722468	0.0197887606374941	exon	ENSMUSG00000091712	Sec14I5	protein_coding	16:4989725 4991030
ENSMUSG00000025821	1965.35429437904	-0.24608975847659	0.130462188438352	0.000920016749090653	0.0206344610203823	exon	ENSMUSG00000025821	Zfp282	protein_coding	6:47881495 47882695
ENSMUSG00000037174	5217.91972989515	0.171847874798145	0.0687837188205632	0.000925333371782698	0.0207048215392778	exon	ENSMUSG00000037174	Elf2	protein_coding	3:51161224 51233456;3:51201514 51233453;3:51201514 51233456;3:51207204 51233453;3:51207204 51233456;3:51215471 51233453;3:51215471 51233456;3:51230643 51233453;3:51230643 51233456
ENSMUSG00000029629	6633.31400589225	-0.171867592991959	0.0688038101664366	0.000925968366264172	0.0207048215392778	intron;exon;	ENSMUSG00000029629	Phf14	protein_coding	6:11933252 11934018;6:11959928 12047943;6:11961549 12007105;6:11961549 12047943
ENSMUSG00000028412	16559.4327677008	-0.246309805475803	0.131027587005579	0.000931252118407383	0.0207913693750043	exon	ENSMUSG00000028412	Slc44a1	protein_coding	4:53481464 53517681;4:53481464 53528748
ENSMUSG00000030401	5647.87453408388	0.18655599731064	0.0791851021502376	0.000935496267350288	0.0208307361339349	exon	ENSMUSG00000030401	Rtn2	protein_coding	7:19020460 19021435
ENSMUSG00000046138	8627.29235131423	0.208814325712559	0.0972744850442202	0.000951219111766928	0.0210698186937078	exon;exon;intron	ENSMUSG00000046138	9930021J03Rik	protein_coding	19:29712516 29732417;19:29712516 29763849;19:29712516 29768947;19:29720933 29732417;19:29720933 29763849;19:29720933 29768844;19:29720933 29768947;19:29731000 29732417;19:29731000 29763849
ENSMUSG00000044042	5773.31405014951	0.374470070213411	0.26850315023494	0.000963937250684551	0.0211694543821346	intron;intron	ENSMUSG00000044042	Fmn1	protein_coding	2:113171619 113196174;2:113194181 113196174;2:113194181 113214451;2:113256867 113309308;2:113256867 113393715;2:113256870 113309308;2:113256870 113359808;2:113256870 113393715;2:113259982 113359808;2:113355496 113359808;2:113412443 113433634;2:113412443 113467169;2:113423432 113426737;2:113423432 113433634;2:113423432 113467169
ENSMUSG00000020290	11788.4694544351	0.16228986683433	0.0631623067396139	0.000968766249359673	0.0212105027184953	exon	ENSMUSG00000020290	Xpo1	protein_coding	11:23211835 23221205;11:23226427 23232726
ENSMUSG00000068036	13399.9879685093	0.163787863137326	0.0643584239308199	0.00099742197400685	0.0216127680464842	exon	ENSMUSG00000068036	Afdn	protein_coding	17:14024201 14030832;17:14024201 14038540;17:14038383 14049285;17:14052630 14069924;17:14052630 14080238;17:14066534 14069924
ENSMUSG00000033565	37312.2005138887	0.153731267776466	0.0586663658602663	0.00104037179335895	0.0223786406369741	exon	ENSMUSG00000033565	Rbfox2	protein_coding	15:76978651 76987139;15:76982140 76987139;15:76982140 77001267
ENSMUSG00000019795	13973.6869372602	0.177526797121597	0.0742761963410225	0.00106581117600407	0.0227594772605919	exon	ENSMUSG00000019795	Pcmt1	protein_coding	10:7515809 7516579;10:7515809 7524919;10:7523354 7524919

ENSMUSG00000061313	9359.97856278395	0.179036177267547	0.0754414860488394	0.00107235738580933	0.0228554434346889	exon	ENSMUSG00000061313	Ddhd2	protein_coding	8:26217657 26236980;8:26217657 26243200;8:26224743 26226117;8:26225772 26229612;8:26225772 26231381;8:26225772 26236980;8:26225772 26239874;8:26225772 26243200;8:26226034 26243200;8:262239 26239874;8:26236845 26243200
ENSMUSG00000022329	2064.62953293799	0.249395864110477	0.138492236809321	0.00107341204467954	0.0228554434346889	ron;intron;exc	ENSMUSG00000022329	Stk3	protein_coding	15:34945152 35115791;15:3499977 35115791;15:35040058 35115791;15:35072251 35115791;15:35072576 35115791;15:35088534 35115791;15:35099580 35115791
ENSMUSG00000020841	25639.8302822202	0.148724002217596	0.0560888847287811	0.00107823714377414	0.0229250044744927	exon	ENSMUSG00000020841	Cpd	protein_coding	11:76690615 76704478;11:76702521 76705739
ENSMUSG00000018547	20912.62988676	0.182294295761576	0.0781842571837958	0.00110008607362116	0.0233221417884556	exon	ENSMUSG00000018547	Pip4k2b	protein_coding	11:97617531 97623581
ENSMUSG00000041596	701.752348161603	0.443626734826216	0.421480830176009	0.00110286172465148	0.0233275219808515	intron;intron;ex	ENSMUSG00000041596	Nlrp5-ps	bed_unprocessed_pse	7:14284661 14343264;7:14297217 14355019;7:14297217 14355158;7:14312661 14343264;7:14341165 14343264
ENSMUSG00000041708	24430.4966486345	0.272276737852196	0.163422729808643	0.0011129638329266	0.0234935966626242	exon	ENSMUSG00000041708	Mpped1	protein_coding	15:83676155 83684360;15:83676155 83684385
ENSMUSG00000039952	16310.9741938797	-0.176106279127488	0.0742678944360156	0.00115700814735997	0.0241582012428339	exon	ENSMUSG00000039952	Dag1	protein_coding	9:108095212 108095609
ENSMUSG00000035093	33891.2637985752	-0.215396908552593	0.107435220332706	0.00116359565002521	0.0242492674204263	exon	ENSMUSG00000035093	Secisbp2l	protein_coding	2:125609295 125610253;2:125609295 125617651
ENSMUSG00000110249	3879.28500997381	0.175017384448533	0.0737357057511833	0.00118113291076995	0.0244812091147734	exon	ENSMUSG00000110249	9330121K16Rik	TEC	8:55490363 55528653
ENSMUSG00000109006	2387.43809235322	0.236646717542185	0.12921572572278	0.00120212030906185	0.0247714231193656	intron	ENSMUSG00000109006	B230209E15Rik	lncRNA	7:61137640 61184533
ENSMUSG00000003575	25372.114271723	0.215870285268079	0.10897069515443	0.00121799230943117	0.0248893345120289	exon	ENSMUSG00000003575	Crtc1	protein_coding	8:70850396 70861661
ENSMUSG00000028926	45585.1300141828	0.174394449597714	0.073820740865952	0.00123326411542419	0.0250047835503858	exon	ENSMUSG00000028926	Cdk14	protein_coding	5:5060833 5143081;5:5086426 5185413;5:5245278 5299228;5:5277164 5299228
ENSMUSG00000026566	2767.40676228097	-0.1949469731109735	0.0902504965522579	0.00124032669735592	0.0250047835503858	exon	ENSMUSG00000026566	Mpz1l	protein_coding	1:165420960 165436173;1:165429319 165436173;1:165432179 165436173
ENSMUSG00000039913	4765.74299405455	0.177951880136009	0.0768908246375313	0.0012740869414907	0.025504273700888	exon	ENSMUSG00000039913	Pak5	protein_coding	2:135958097 135958882
ENSMUSG00000037341	6216.9964990168	0.178088821075172	0.0770728288426293	0.0012814084818349	0.0255812252282725	exon	ENSMUSG00000037341	Slc9a7	protein_coding	X:19972160 19986841;X:19972160 19998073;X:19972160 20071804;X:19986759 20028769;X:19986759 20055159;X:20025054 20032352;X:20025054 20055159;X:20025054 20071804;X:20028167 20028769;X:20028167 20032316;X:20052299 20055159;X:20052299 20071804
ENSMUSG00000025958	9645.68807347513	0.148379505290251	0.0573781726843379	0.00130503821551125	0.0259473341416445	exon	ENSMUSG00000025958	Creb1	protein_coding	1:64590008 64615488;1:64605376 64615488
ENSMUSG00000041245	10204.7232182622	0.186166256374506	0.0840389110132257	0.00133070553699367	0.0263154174271343	intron	ENSMUSG00000041245	Wnk3	protein_coding	X:149981018 149994026;X:149981018 150020032

ENSMUSG00000047866	8317.20418034516	0.175929283433479	0.0759970516364227	0.00133602932760867	0.026385234224243039	exon	ENSMUSG00000047866	Lonp2	protein_coding	8:87358014 87378945;8:87358014 87399697;8:87378804 87399697;8:87392319 87399697
ENSMUSG00000023147	6844.37034851565	0.183859853284154	0.083287599130188	0.00143017966575196	0.0279074713822395	exon	ENSMUSG00000023147	Get1	protein_coding	16:95953013 95955395;16:95953013 95957195
ENSMUSG00000037426	8070.97095497178	0.16351868810947	0.0681413966229745	0.00146767022792307	0.0284791258616456	exon	ENSMUSG00000037426	Depdc5	protein_coding	5:33025318 33050797;5:33053224 33070564
ENSMUSG00000038174	27960.0926922073	0.136603046727248	0.0516529679489618	0.00147332253501977	0.0285047256190004	exon	ENSMUSG00000038174	Fam126b	protein_coding	1:58574549 58595723;1:58578718 58605113;1:58583826 58605113;1:58585266 58597216;1:58587798 58597216
ENSMUSG00000032076	28677.9880857536	0.194324051404265	0.0929340609187077	0.00147434895643712	0.0285047256190004	exon	ENSMUSG00000032076	Cadm1	protein_coding	9:47699269 47710828;9:47699269 47725243;9:47699269 47730115;9:47700995 47740707;9:47708705 47725243
ENSMUSG00000040785	122804.167333033	0.166217611438476	0.0702295258426721	0.00149133761671266	0.0286449743533857	exon	ENSMUSG00000040785	Ttc3	protein_coding	16:94184771 94186282;16:94184771 94189244;16:94184771 94194033;16:94184771 94204227;16:94184771 94212982;16:94184771 94268919;16:94189124 94204227;16:94204173 94212982;16:94204173 94219600;16:94204173 94221219;16:94204173 94268919;16:94220257 94225046;16:94243330 94252018
ENSMUSG00000056268	4690.94199739784	0.164930091928261	0.0695109056413221	0.00151686264611209	0.0290215866219078	exon	ENSMUSG00000056268	Dennd1b	protein_coding	1:138967738 138969781;1:138967738 138982359;1:138967738 138990709;1:138967738 139009011;1:138967738 139018293;1:138967738 139038223;1:138967738 139071738;1:138967738 139098241;1:138981084 138990709;1:138981084 139029831;1:138981084 139038223;1:138981084 139071738;1:138988013 139038223;1:139008911 139038223;1:139008911 139071738;1:139013621 139038223;1:139029706 139071738
ENSMUSG00000040029	9620.60372515016	0.155836165922743	0.063399959683424	0.00152896692661326	0.029177289742232	exon	ENSMUSG00000040029	lpo8	protein_coding	6:148698139 148703487;6:148698139 148713654;6:148706120 148713654;6:148717983 148725983
ENSMUSG00000030067	11440.5209418161	0.167409869795099	0.0714367732980272	0.00153438630364122	0.0291857510121112	exon,intron,ir	ENSMUSG00000030067	Foxp1	protein_coding	6:98980161 98993626;6:99237306 99412306;6:99282656 99412306;6:99285305 99412306;6:99395345 99412306;6:99405750 99412306;6:99406171 99412306;6:99412177 99433541

ENSMUSG00000070695	9776.99925823939	0.218530550667022	0.117783785698656	0.00153513731327058	0.0291857510121112	in;exon;exon;	ENSMUSG00000070695	Cntnap5a	protein_coding	1:115828660 115847887;1:115828660 115987999;1:116187183 116220265;1:116356202 116382947;1:116356202 116452048;1:116369915 116382947
ENSMUSG00000022292	5815.39454884308	0.203471257858793	0.102449640289286	0.00153536133238456	0.0291857510121112	exon	ENSMUSG00000022292	Rrm2b	protein_coding	15:37927299 37953998
ENSMUSG00000059588	1607.22669938728	-0.246312368892837	0.148798070733527	0.00155116017725226	0.029410076917413	exon	ENSMUSG00000059588	Calcr1	protein_coding	2:84198891 84207389
ENSMUSG00000027834	28128.3761400158	0.254091461900807	0.158134572050323	0.00156307695501489	0.0295598344976017	exon	ENSMUSG00000027834	Serpini1	protein_coding	3:75520387 75531263
ENSMUSG00000022449	1576.48476412921	-0.210101267063803	0.110096575137574	0.00159708824821795	0.0299718869847331	exon	ENSMUSG00000022449	Adams20	protein_coding	15:94222541 94224351;15:94222541 94225727;15:94222541 94277844;15:94229199 94243897;15:94229199 94243974;15:94277606 94301431
ENSMUSG00000039230	5725.10289519009	-0.194683644248888	0.095051495585088	0.00161034362436946	0.0301054456738855	exon	ENSMUSG00000039230	Tbcd	protein_coding	11:121387821 121394613;11:121492783 121494198;11:121493814 121496166
ENSMUSG00000039706	3084.10047961006	0.287928059498988	0.201661225652209	0.00162276536686832	0.0302991711202202	exon	ENSMUSG00000039706	Ldb2	protein_coding	5:44690003 44699201
ENSMUSG00000055480	1980.95135264359	0.251306471558673	0.156765014488227	0.00163023447280381	0.0304000504415241	intron	ENSMUSG00000055480	Zfp458	protein_coding	13:67402944 67408307
ENSMUSG00000043067	9462.96449869265	0.250570999408783	0.15651406726555	0.00165268712414	0.0307396033499971	exon	ENSMUSG00000043067	Dpy19l1	protein_coding	9:24373873 24397025;9:24385070 24397025
ENSMUSG00000021779	7571.53574673984	0.225131297013823	0.127468266473759	0.00166450612828106	0.0308507752524461	exon	ENSMUSG00000021779	Thrb	protein_coding	14:4442913 4642802;14:4458426 4461127;14:4458426 4467168;14:4506375 4506635;14:4506375 4544100
ENSMUSG00000024998	2972.26986874344	-0.295581772632932	0.214470733159259	0.00168628461140441	0.0311824221964006	exon	ENSMUSG00000024998	Plec1	protein_coding	19:38512359 38513896;19:38686894 38693889;19:38717127 38736895
ENSMUSG00000034647	15613.9277489625	0.1812139740723	0.0837823077624166	0.0016880747809125	0.0311824221964006	exon;exon;int	ENSMUSG00000034647	Ankrd12	protein_coding	17:66277145 66360086;17:66279292 66294488;17:66279292 66360086;17:66283016 66294488;17:66289831 66360086;17:66317653 66360086;17:66327380 66360086
ENSMUSG00000030322	872.958236610366	0.242897416832657	0.148846332293935	0.00170721195788125	0.0313977619203835	exon	ENSMUSG00000030322	Mbd4	protein_coding	6:115825867 115827800
ENSMUSG00000023025	9580.71573055736	-0.151660615481582	0.0618071847735442	0.00171403218722462	0.0314824570378699	exon	ENSMUSG00000023025	Larp4	protein_coding	15:99882798 99895357
ENSMUSG00000032816	8998.47840112686	0.199362290028282	0.100997344322292	0.00171609668622114	0.0314824570378699	exon	ENSMUSG00000032816	Igdc4	protein_coding	9:65020541 65021723
ENSMUSG00000010803	47283.0190796157	0.192378686326769	0.0944060204502243	0.00173312358708286	0.0317552270694274	exon	ENSMUSG00000010803	Gabra1	protein_coding	11:42037917 42045856
ENSMUSG00000039717	4284.89563367469	0.191057319667781	0.0935078057695708	0.0017631370836124	0.0322248893306699	antisense;exon	ENSMUSG00000039717	Raiy1	protein_coding	3:13684600 13687902;3:13841885 13842163
ENSMUSG00000020794	5989.07361242555	-0.164759537667718	0.0713612517737715	0.00178334691784722	0.0324732465374829	exon	ENSMUSG00000020794	Ube2g1	protein_coding	11:72536363 72563883
ENSMUSG00000063663	3705.04828122159	-0.237960049833846	0.145790583043615	0.00182469370241933	0.0329343805302568	exon	ENSMUSG00000063663	Brwd3	protein_coding	X:107815127 107818616;X:107833339 107842461;X:107847588 107849203;X:107847588 107869101
ENSMUSG00000075270	1908.54170913537	0.287162699025562	0.209082895773607	0.00182881267471974	0.0329343805302568	exon	ENSMUSG00000075270	Pde11a	protein_coding	2:75988640 76045751;2:76025233 76045751
ENSMUSG00000066586	4010.26591915321	0.201873656821845	0.105391699661868	0.00184865031440414	0.0332508460584695	intron;exon;	ENSMUSG00000066586	Runx1t1	protein_coding	4:13771376 13846957;4:13771376 13866032;4:13782529 13846957;4:13835633 13838001;4:13835633 13846957;4:13835633 13866032

ENSMUSG00000000538	37446.4620563397	0.140352390507246	0.0555328388057455	0.00186064496796951	0.0333849626996773	exon	ENSMUSG00000000538	Tom1l2	protein_coding	11:60132644 60165828;11:60149682 60165828;11:60149682 60171109;11:60161144 60165828;11:60161144 60171109
ENSMUSG000000026245	4570.0951554236	0.168507166736176	0.0749659197906803	0.0018821579532186	0.0336822683850322	;exon;intron;	ENSMUSG000000026245	Farsb	protein_coding	1:78420272 78449271;1:78420272 78459000;1:78431391 78459000;1:78438943 78441723;1:78443604 78452942;1:78447720 78452942
ENSMUSG000000024052	11110.328941417	0.152504381410074	0.0635014651834211	0.00191929165930723	0.0341573401822974	exon	ENSMUSG000000024052	Lpin2	protein_coding	17:71537267 71538514
ENSMUSG000000050248	2754.31624614715	0.244481958169958	0.15631737455605	0.00192968825516162	0.0342718004655838	exon	ENSMUSG000000050248	Evc2	protein_coding	5:37549337 37550540
ENSMUSG000000031066	13947.0126527864	0.167619372308232	0.0746418907095089	0.00193336466977738	0.0342718004655838	exon	ENSMUSG000000031066	Usp11	protein_coding	X:20577988 20581361
ENSMUSG000000060681	19000.7603429082	0.152924584525847	0.0640521319568565	0.00196832014355386	0.0346801937653056	exon	ENSMUSG000000060681	Slc9a6	protein_coding	X:55680155 55683748;X:55688728 55700413
ENSMUSG000000031425	280387.557580246	-0.365596592501885	0.405335827323503	0.00197054591094919	0.0346801937653056	antisense;exon	ENSMUSG000000031425	Plp1	protein_coding	X:135732823 135734102;X:135738528 135738690
ENSMUSG000000055067	3664.24748262655	0.175968675417873	0.0818839706208123	0.00197360172874073	0.0346924757884855	tron;intron;ex	ENSMUSG000000055067	Smyd3	protein_coding	1:178871302 178921967;1:179116470 179117437;1:179116840 179117437;1:179232848 179239350;1:179232848 179250983
ENSMUSG00000006494	7972.52131411844	0.188367525190867	0.093430847157205	0.0019859380275445	0.0348559901435032	exon	ENSMUSG00000006494	Pdk1	protein_coding	2:71705750 71714276;2:71710383 71719338
ENSMUSG000000028957	3977.31217172878	-0.215415412119383	0.122492269368469	0.00199203626222927	0.0348559901435032	exon	ENSMUSG000000028957	Per3	protein_coding	4:151102356 151103444
ENSMUSG000000061601	67013.6867831455	0.173825605864729	0.0805278767194082	0.00203321175908036	0.035386823055729	exon	ENSMUSG000000061601	Pclo	protein_coding	5:14570856 14572338;5:14589424 14590815;5:14724969 14732401;5:14762431 14764612;5:14762431 14773338;5:14762431 14800618
ENSMUSG000000022337	1762.93544364686	0.205416569825648	0.112189001081913	0.0020591542759206	0.035536871357373	exon	ENSMUSG000000022337	Emc2	protein_coding	15:43355566 43377245;15:43371041 43377245
ENSMUSG000000041298	11125.3346262062	0.148417670385497	0.0615439769444082	0.00206994486190911	0.035536871357373	exon	ENSMUSG000000041298	Katnal1	protein_coding	5:148825689 148858222;5:148841377 148858222;5:14885406 148858222
ENSMUSG000000026839	2895.1598597467	0.186377646587773	0.0924009759447633	0.00207242792694463	0.0355380327379212	in;exon;exon;	ENSMUSG000000026839	Upp2	protein_coding	2:58517093 58524913;2:5852677 58524913;2:58625129 58670160;2:58645370 58670160
ENSMUSG000000028944	10100.8488183262	0.21621176076548	0.125033765066269	0.00208760943742155	0.0357359359155068	exon	ENSMUSG000000028944	Prkg2	protein_coding	5:25071077 25076090;5:25071077 25094183;5:25071077 25094186;5:25226790 25233534
ENSMUSG000000074776	347.83332307639	0.327103688564688	0.289095217515988	0.00210849301090351	0.0359886979923705	intron	ENSMUSG000000074776	Gm10754	lncRNA	10:97746706 97761766
ENSMUSG000000023868	12029.8133843372	0.161205238547541	0.0708861754593482	0.00211696224277691	0.0360496128217322	exon	ENSMUSG000000023868	Pde10a	protein_coding	17:9159973 9172755;17:9159973 9183547;17:9163202 9172755
ENSMUSG000000036641	2455.36256849472	0.175661333073374	0.0829300400131127	0.00213066887668144	0.0361992276935497	exon	ENSMUSG000000036641	Ccdc148	protein_coding	2:58713256 58719879;2:58713256 58873019;2:58796367 58873019;2:58824381 58873019;2:58824381 58894076;2:58870382 58873019;2:58870382 58893483;2:58870382 58894076;2:58870382 58899197

ENSMUSG00000040760	14462.683380668	0.164415866649484	0.0736470045222257	0.00215780507064376	0.0365337008105658	exon	ENSMUSG00000040760	Appl1	protein_coding	14:26662201 26681423;14:26664605 26667558;14:26664605 26680468;14:26671399 26681423;14:26671399 26682995;14:26680410 26681423;14:26681382 26686914
ENSMUSG00000054640	119297.872587083	0.17612585928687	0.0837647801937611	0.0021813098714425	0.0367269739404668	};exon;exon;e	ENSMUSG00000054640	Slc8a1	protein_coding	17:81696239 81740203;17:81696239 81753022;17:81715496 81740203;17:81715496 81749219;17:81715496 81753022;17:81735611 81753022;17:81815425 81817765;17:81955238 81957067
ENSMUSG00000049044	55584.9747640284	0.169354020912538	0.0778679615533739	0.00218358363390181	0.0367269739404668	in;exon;exon;}	ENSMUSG00000049044	Rapgef4	protein_coding	2:71849159 71875592;2:71861377 71875592;2:72004767 72010447;2:72005146 72010447
ENSMUSG00000028354	13926.2448366629	0.169497515032253	0.0779934191121631	0.00218419779772368	0.0367269739404668	on;exon;exon;}	ENSMUSG00000028354	Fmn2	protein_coding	1:174409482 174440217;1:174409482 174455583;1:174409482 174474759;1:174409482 174494270;1:174420627 17440217;1:174435948 174440217;1:174435948 174455583;1:174435948 174474759;1:174435948 174494270;1:174435948 174547503;1:174494209 174571872;1:174494209 174618973;1:174521753 174527242;1:174521753 174547503;1:174521753 174571872;1:174526335 174571872
ENSMUSG00000022100	12685.2722004123	0.144372533388856	0.0595423043444142	0.00221062734593243	0.0371289499323104	exon	ENSMUSG00000022100	Xpo7	protein_coding	14:70915519 70920290
ENSMUSG00000058006	12508.8001765153	0.155749819832251	0.0674879571623704	0.00223509724519488	0.0374544257045015	exon	ENSMUSG00000058006	Mdn1	protein_coding	4:32671516 32676854;4:32683543 32686424;4:32691714 32695565;4:32715687 32720942;4:32763157 32768827
ENSMUSG00000049470	47321.318306864	0.141368185397641	0.0579665014917013	0.00229389993673654	0.0380069254157711	in;exon;exon;}	ENSMUSG00000049470	Aff4	protein_coding	11:53257165 53266460;11:53259487 53266460;11:53259487 53271499;11:53263105 53266460
ENSMUSG00000028180	11240.1245616302	0.150670877421885	0.0643008685647247	0.00232462289357436	0.0384346905587215	exon	ENSMUSG00000028180	Zranb2	protein_coding	3:157241971 15725248224171613 4189793;2:4436010 4519830;2:4534603 4542136
ENSMUSG00000026657	8180.92131806436	-0.158297859834572	0.0702808548892435	0.00239610277636479	0.0392581961566315	in;exon;exon;}	ENSMUSG00000026657	Frmd4a	protein_coding	15:67973320 67990923;15:67973320 68018440;15:67973320 68042072;15:68017513 68042072;15:68018352 68042072;15:68037602 68042072;15:6808442 68096792;15:68084463 68096792
ENSMUSG00000019806	3768.42655061459	0.1729588671552	0.0828457672720022	0.00243126683995171	0.0396137641375521	exon	ENSMUSG00000019806	Aig1	protein_coding	10:13566268 13677693;10:13677148 13677693
ENSMUSG00000024966	7046.80805602626	0.193307377999401	0.103674528702656	0.00245167404724895	0.0398657456801753	exon	ENSMUSG00000024966	Stip1	protein_coding	19:7003660 7010017

ENSMUSG00000025235	3646.38046635715	0.169839651287436	0.0804605424567427	0.00249149121336421	0.0402818010361065	intron	ENSMUSG00000025235	Bbs4	protein_coding	9:59230266 59230670
ENSMUSG00000110195	43173.2189694286	0.183421869411642	0.0936297084181986	0.00250519892746216	0.0403746459967232	exon	ENSMUSG00000110195	Pde2a	protein_coding	7:101100609 101133837;7:101144844 101159625
ENSMUSG00000049076	21441.6383357543	-0.190809881084204	0.101943884057158	0.00254737719038011	0.0407831137491142	intron;exon;exc	ENSMUSG00000049076	Acap2	protein_coding	16:30920643 30960615;16:30920643 30979206;16:30920643 31018029;16:30946139 30960615;16:30946139 30972577;16:30955355 30979206;16:30972524 30979206
ENSMUSG00000036295	8939.56735845433	0.16537302383601	0.0769224736880804	0.00254738540987126	0.0407831137491142	exon	ENSMUSG00000036295	Lrrm3	protein_coding	12:41501771 41504670
ENSMUSG00000029095	6831.1122709393	0.160311726960148	0.0734709193567032	0.00268396825247747	0.0424615321491409	exon	ENSMUSG00000029095	Ablim2	protein_coding	5:35955797 35969563;5:35994292 35998745;5:35998625 36006913
ENSMUSG00000054693	12492.5751258253	0.16237662105239	0.0752736732342117	0.00269792298044156	0.0425115835478347	exon	ENSMUSG00000054693	Adam10	protein_coding	9:70610569 70655548;9:70610569 70661607;9:70610569 70669048;9:70610569 70676294;9:70661444 70676294
ENSMUSG00000032087	11000.245322107	0.172712805052787	0.0846318056643719	0.00270683131241765	0.042594234331124	exon	ENSMUSG00000032087	Dscam1	protein_coding	9:45358963 45361926;9:45579287 45586021
ENSMUSG00000031284	28803.5895956851	0.151244879822398	0.0665432561622258	0.00271906882726445	0.0426598092012646	exon	ENSMUSG00000031284	Pak3	protein_coding	X:142476283 142499144;X:142492644 142499144;X:142492644 142518418;X:142492644 142526997;X:142492644 142558130;X:142498132 142526997;X:142498132 142558130;X:142526934 142558130
ENSMUSG00000025370	3114.35773782022	0.23822098264127	0.166615310868349	0.00273407354051455	0.0428396421742178	exon	ENSMUSG00000025370	Cdh9	protein_coding	15:16823245 16832364;15:16828430 16832364
ENSMUSG00000030655	28666.9144734656	0.1717491180364	0.083979425694595	0.00274424943163757	0.0429076959486541	exon	ENSMUSG00000030655	Smg1	protein_coding	7:117751501 117757465;7:11778294 117790138;7:117792673 117795258
ENSMUSG00000028988	3713.19366208284	-0.189682989289212	0.103570085942304	0.00282819310665147	0.043663384237317	exon	ENSMUSG00000028988	Cttnbp1	protein_coding	4:149624286 149630949
ENSMUSG00000031099	5035.07730649858	0.193436551855755	0.1095093244554	0.00297074480293656	0.0453831655597687	exon	ENSMUSG00000031099	Smarca1	protein_coding	X:46900004 46976075;X:46900035 46976075;X:46930414 46950265;X:46938793 46950265;X:46938793 46976075;X:46940522 46973080;X:46943443 46973080
ENSMUSG00000037148	961.277090237583	0.231304653064452	0.161837206679408	0.00299466096358554	0.045564060762393	exon	ENSMUSG00000037148	Arhgap10	protein_coding	8:78003777 78091789;8:78037360 78085263;8:78071269 78078301;8:78071269 78085263;8:78071269 78091789;8:78071269 78111425;8:78071269 78137757;8:78071269 7817752;8:78085176 78177552;8:78109354 78140256;8:78111380 78137757;8:78111380 78153060;8:78136177 78147376;8:78136177 78153060;8:78136177 78177552
ENSMUSG00000032883	15968.6130143398	-0.134537356285902	0.056190756982546	0.00303326807680711	0.046075296222809	exon	ENSMUSG00000032883	Acsf3	protein_coding	1:78665954 78668095;1:78673798 78674746
ENSMUSG00000026771	4147.61367551843	0.174147606721168	0.088744585178063	0.00308215470378203	0.0463275972175121	exon	ENSMUSG00000026771	Spopl	protein_coding	2:23396921 23435591

ENSMUSG00000059659	146.587702022149	0.30587723164866	0.319372753840894	0.00308262880962036	0.0463275972175121	exon	ENSMUSG00000059659	Gm10069	lncRNA	6:128449700 128451106
ENSMUSG00000040455	8380.88132991494	0.154573578277926	0.0712453531138732	0.00318321559247248	0.0472445687540198	exon	ENSMUSG00000040455	Usp45	protein_coding	4:21781736 21825077
ENSMUSG00000068270	1423.75084921027	-0.186087493164108	0.102892897256351	0.00319401723309346	0.047324849496983	exon	ENSMUSG00000068270	Shroom4	protein_coding	X:6492883 6503071
ENSMUSG00000042197	15131.274884911	0.129064712448864	0.0534725095209453	0.00328666184989067	0.0483344830684378	exon	ENSMUSG00000042197	Zfp451	protein_coding	1:33815350 33825613;1:33818125 33823045;1:33818125 33825613
ENSMUSG00000061603	59279.2264444602	0.135551840206914	0.0576161831965378	0.00328843998854797	0.0483344830684378	1;exon;exon;e	ENSMUSG00000061603	Akap6	protein_coding	12:52842620 52842983;12:52927422 52934846;12:52983918 52985289;12:53115890 53151513;12:53186164 53189551;12:53186164 53194766;12:53186164 53194953;12:53186164 53223349
ENSMUSG00000003721	4751.59112690159	0.149704611416416	0.0678259059552865	0.00329687043970705	0.0484100347099898	intron;intron;	ENSMUSG00000003721	Insig2	protein_coding	1:121100162 121240054;1:121145635 121240054;1:1211149603 121240054;1:121164494 121240054;1:121177520 121240054;1:121181776 121240054;1:121232205 121240054;1:121233539 121240054;1:121233584 121240054;1:121233584 121247701;1:121234593 121247701
ENSMUSG00000053119	6748.53915443421	0.152947511409039	0.0708012702381409	0.00338545599105154	0.0494639662327124	exon	ENSMUSG00000053119	Chmp3	protein_coding	6:71529383 71538060
ENSMUSG00000015305	20394.2823123924	0.137825858753325	0.059459945393998	0.00339205596711402	0.0495043048979699	exon	ENSMUSG00000015305	Sash1	protein_coding	10:8656283 8665365;10:8656283 8690221;10:8656283 8726235;10:8659962 8726235
ENSMUSG00000041771	4612.37872738581	0.167494379878619	0.0840830614786057	0.00339900000020311	0.0495043048979699	exon	ENSMUSG00000041771	Slc24a4	protein_coding	12:102180121 102189940;12:102195155 102205506
ENSMUSG00000026721	34161.4903881537	0.162289761903076	0.0791313928141227	0.00341159310688414	0.0495438280224449	exon	ENSMUSG00000026721	Rabgap1	protein_coding	1:160169606 160299681;1:160269393 160299681;1:160454785 160551759;1:160509611 160568501;1:160528282 160530030;1:160528282 160551759;1:160528282 160568501;1:160537717 160568501;1:160549703 160568501;1:160561099 160568501
ENSMUSG00000026383	1249.4045835137	-0.195556198071951	0.117237315597345	0.0034309559490013	0.0495870873061455	exon	ENSMUSG00000026383	Epb4115	protein_coding	1:119476624 119506807;1:119495526 119506807;1:119495526 119537016
ENSMUSG00000027668	5706.53062863846	-0.170102427653393	0.0872168312385952	0.00347615119418536	0.0498592770801622	exon	ENSMUSG00000027668	Mfn1	protein_coding	3:32596955 32600844;3:32608304 32618454;3:32617161 32622558
ENSMUSG00000117604	210.35461711993	0.273992404782684	0.256673059778218	0.00353499265681313	0.0503001421273613	in;intron;exon	ENSMUSG00000117604	Gm33228	lncRNA	18:26092536 26204224;18:26149266 26155773;18:26149266 26171722;18:26203988 26278653;18:26238507 26278653;18:26253694 26278653;18:26253694 26345434;18:26276928 26278653;18:26276928 26345434;18:26276928 26359848
ENSMUSG00000024219	3930.99698035917	-0.148866133088441	0.0682084888376857	0.00356264580682196	0.0506446451746585	exon	ENSMUSG00000024219	Anks1	protein_coding	17:28269540 28273730

ENSMUSG00000029330	11150.4775163176	0.187547644819052	0.109019149201912	0.00365909069054069	0.0517212740001228	exon	ENSMUSG00000029330	Cds1	protein_coding	5:101929241 101946382;5:101939341 101946382
ENSMUSG00000019796	24719.1443928281	0.170855945819305	0.0904054763561827	0.00385018585502883	0.0537965664625253	exon	ENSMUSG00000019796	Lrp11	protein_coding	10:7471868 7480147;10:7471868 7484403
ENSMUSG00000058230	42732.46333444	0.123199238439522	0.0512623245585328	0.00386850384986699	0.0539500446853962	exon;intron	ENSMUSG00000058230	Arhgap35	protein_coding	7:16282988 16299254;7:16282988 16332859
ENSMUSG00000026457	7562.9507224573	-0.153268984511344	0.0731328055251282	0.00387383185420007	0.053973189461028	exon	ENSMUSG00000026457	Adipor1	protein_coding	1:134350659 134352660
ENSMUSG00000035776	9606.83968657935	0.157414327121276	0.0768891165335743	0.00387750332932484	0.0539732322463163	exon	ENSMUSG00000035776	Cd99l2	protein_coding	X:70472653 70473955
ENSMUSG00000046561	752.25826782899	0.232236507730181	0.181794401040106	0.00388457690123267	0.0539829949023275	exon	ENSMUSG00000046561	Arsj	protein_coding	3:126231648 126233490
ENSMUSG00000031360	2505.98598304519	0.165609501072351	0.0851674607994308	0.00391802354376312	0.05417845902198	exon	ENSMUSG00000031360	Ctps2	protein_coding	X:161704195 161719801;X:161704195 161724840;X:161704195 161758275;X:161724643 161783154
ENSMUSG00000021096	33404.511854066	0.134601803335164	0.0588822679112019	0.00396594289288062	0.0545830254959381	exon	ENSMUSG00000021096	Ppm1a	protein_coding	12:72830457 72833563;12:72830457 72840623
ENSMUSG00000043673	1061.43878128061	0.186892846200853	0.111813421096259	0.00405428199234555	0.053345556153804	exon	ENSMUSG00000043673	Kcns3	protein_coding	12:11140710 11142756
ENSMUSG00000040649	3452.68050724257	-0.17780293907159	0.100248206464066	0.00409229999121104	0.0556603958721906	exon	ENSMUSG00000040649	Rimklb	protein_coding	6:122433477 122449722;6:122436051 122449722
ENSMUSG00000006191	1413.57178256951	0.195272659397296	0.124225575515474	0.00410234531639116	0.0556603958721906	exon	ENSMUSG00000006191	Cdkal1	protein_coding	13:29538613 29736378;13:29627991 29736378;13:29701396 29736378;13:29875582 29961284;13:29875582 30038924;13:29961200 30034091;13:29961200 30038924
ENSMUSG00000014763	7027.05866302759	0.156603967528357	0.0771843760657468	0.00411175696184242	0.0557055986920695	exon	ENSMUSG00000014763	Fam120b	protein_coding	17:15626017 15637987
ENSMUSG00000047909	1076.65803128418	-0.191229884611288	0.118643754781138	0.00413235931624375	0.0559332130817795	exon	ENSMUSG00000047909	Ankrd16	protein_coding	2:11786288 11791113
ENSMUSG00000028156	11291.1312176777	0.14220661930687	0.064999747666834	0.00415179596827167	0.0561446452952032	exon	ENSMUSG00000028156	Eif4e	protein_coding	3:138252082 138261252
ENSMUSG00000038094	1476.72806210578	-0.225032150350483	0.174614458556517	0.00417750624540709	0.0563028540835527	exon	ENSMUSG00000038094	Atp13a4	protein_coding	16:29288059 29298720
ENSMUSG00000096054	98136.858232891	0.136949684354776	0.0611645158719253	0.00419197264654341	0.05632556488456	exon	ENSMUSG00000096054	Syne1	protein_coding	10:5006377 5025947;10:5209239 5212816;10:5259235 528493;10:5353841 5375760;10:5353841 5376275
ENSMUSG00000037315	1274.50668676506	0.176525383004507	0.100799456938226	0.00438716412560122	0.0580400319321452	exon	ENSMUSG00000037315	Jade3	protein_coding	X:20295262 20368751
ENSMUSG00000037400	5651.88927481125	-0.175495984132491	0.0995144168832194	0.00439057673761148	0.0580400319321452	exon	ENSMUSG00000037400	Atp11b	protein_coding	3:35832174 35843810;3:35863506 35893363
ENSMUSG00000002428	2748.10013855198	0.171461530426784	0.0947897284895223	0.00442964492973714	0.0582946027291793	exon	ENSMUSG00000002428	Hltf	protein_coding	3:20118730 20162287;3:20118735 20162287
ENSMUSG00000058153	50880.1915952004	0.133205154756026	0.059245184367354	0.00449002957231749	0.0588786141689013	exon	ENSMUSG00000058153	Sez6l	protein_coding	5:112609013 112623452;5:112619463 112623452
ENSMUSG00000027351	29121.6558188869	0.144646945364341	0.0684866703905979	0.00463387948935929	0.0602814048867756	exon	ENSMUSG00000027351	Spred1	protein_coding	2:116983473 116995476;2:116983473 117002567
ENSMUSG00000032059	2750.37585712323	0.154037960186931	0.0769999238762864	0.00464880884554521	0.0603688654408709	exon	ENSMUSG00000032059	Alg9	protein_coding	9:50687844 50720106;9:50694558 50734015
ENSMUSG00000025609	21548.0179640855	0.125007696101117	0.054174399972663	0.00472564649208213	0.0611961588753089	exon	ENSMUSG00000025609	Mkln1	protein_coding	6:31395866 31405160;6:31395866 31410066;6:31395866 31428519;6:31395866 31436002;6:31395866 31454991;6:31403649 31410066;6:31445066 31476876

ENSMUSG00000024135	1155.16414348228	0.181868579877585	0.11126229427824	0.00480189828311935	0.0619196577033611	;intron;exon;	ENSMUSG00000024135	Srbd1	protein_coding	17:86295753 86311381,17:86358514 86428174,17:86403295 86428174,17:86405940 86410428,17:86405940 86428174,17:86416655 86428174
ENSMUSG00000034485	496.567884987326	-0.238149374773248	0.217187568395483	0.00483141499293683	0.0620826277651349	exon	ENSMUSG00000034485	Uaca	protein_coding	9:60757412 60761785
ENSMUSG00000021277	12176.8021506034	-0.171003092119057	0.0969208691283354	0.00485712847640815	0.0621332082272369	exon	ENSMUSG00000021277	Traf3	protein_coding	12:111186245 111209972,12:111186245 111215080
ENSMUSG00000019841	9453.45550178731	-0.146404776372678	0.0707342255778094	0.00486195501564914	0.0621332082272369	exon	ENSMUSG00000019841	Rev3l	protein_coding	10:39618687 39671020,10:39659139 39675973,10:39659139 39682979,10:39670860 39690086,10:39708514 39722909,10:39708514 39724079,10:39722138 39728069
ENSMUSG00000064061	11945.9185587376	0.139979776661686	0.065343393827488	0.00486491238209589	0.0621332082272369	exon	ENSMUSG00000064061	Dzip3	protein_coding	16:48747905 48774166,16:48747905 48804998,16:48754157 48768939,16:48792585 48802495,16:48792585 48804998
ENSMUSG00000033352	23654.8076377624	0.129300925531104	0.0574418220247578	0.00490010438927732	0.0624742078677966	exon	ENSMUSG00000033352	Map2k4	protein_coding	11:65581530 65587191,11:65597810 65603123,11:65597810 65647197,11:65647095 65666591
ENSMUSG00000075701	2153.0200963366	-0.175774506640346	0.103579506974202	0.00491460394057824	0.0625506641675845	exon	ENSMUSG00000075701	Selenos	protein_coding	7:65733207 65736784
ENSMUSG00000058420	5523.67905652331	0.181940138421196	0.112488463269158	0.00493787700655422	0.062740524825885	exon	ENSMUSG00000058420	Syt17	protein_coding	7:118007248 118009267,7:118033056 118033675
ENSMUSG00000031622	12220.8267972534	0.145790854235969	0.0705003416614649	0.00495648659571417	0.0628390652453617	exon	ENSMUSG00000031622	Sin3b	protein_coding	8:73471086 73473276
ENSMUSG00000018378	1876.09256713006	-0.165524333792538	0.0909063190198858	0.004982282731404	0.0630846177514175	exon	ENSMUSG00000018378	Cuedc1	protein_coding	11:88060391 88061000
ENSMUSG00000091476	1278.62681533171	0.204527830734352	0.150296991909172	0.0049885882358643	0.0631101450681612	exon	ENSMUSG00000091476	Catspere2	protein_coding	1:177830561 177874563,1:177867875 177950378,1:177898095 177950378,1:177924156 177931667
ENSMUSG00000027519	6862.08615236213	0.14436720047636	0.0695158707941655	0.00503916077081134	0.0635859111671932	exon	ENSMUSG00000027519	Rab22a	protein_coding	2:173529940 173537792
ENSMUSG00000044562	1135.21781345383	-0.195604229064038	0.13551912675923	0.00506821787891412	0.0637339227798833	exon	ENSMUSG00000044562	Rasip1	protein_coding	7:45284241 45286316
ENSMUSG00000045671	14466.696695598	0.148100247357297	0.0731099334743849	0.00511620455204904	0.0639547303095136	exon	ENSMUSG00000045671	Spred2	protein_coding	11:19948120 19958477,11:19948120 19968189,11:19948120 19971207
ENSMUSG00000034158	50947.6953714491	-0.131656482033763	0.059843821445011	0.0052238384214999	0.0651341819453628	exon	ENSMUSG00000034158	Lrrc58	protein_coding	16:37697411 37698926,16:37698649 37698926
ENSMUSG00000040855	43168.4798193435	0.155968116032366	0.081422954724731	0.00525304506293724	0.0653655635398172	exon	ENSMUSG00000040855	Reps2	protein_coding	X:161210649 161254852,X:161221644 161254852,X:161295675 161329845,X:161329751 161337941,X:161329751 161348347
ENSMUSG00000038042	3915.96447406395	-0.206586865201799	0.157972593520609	0.00525763912323463	0.0653655635398172	exon	ENSMUSG00000038042	Ptpdc1	protein_coding	13:48743763 48759836
ENSMUSG00000028360	7095.10214809152	0.205151345749516	0.155246908932305	0.00526016633121346	0.0653655635398172	exon	ENSMUSG00000028360	Slc44a5	protein_coding	3:153939690 153949250
ENSMUSG00000015087	11408.6711785394	0.132018692599229	0.0602293683023486	0.0052766053065066	0.0654592697087956	exon	ENSMUSG00000015087	Rabl6	protein_coding	2:25476880 25478724,2:25482310 25492567,2:25486445 25492567
ENSMUSG00000020015	22154.2797037753	0.167279735949461	0.0952027969184984	0.00536576734498297	0.066453312244726	exon	ENSMUSG00000020015	Cdk17	protein_coding	10:93044034 93074905,10:93057449 93074905,10:93071300 93072825
ENSMUSG00000050640	5195.70201444096	0.150530867468594	0.0763369287580229	0.00537720763379529	0.0665389873137343	intron	ENSMUSG00000050640	Tmem150c	protein_coding	5:100231392 100243555
ENSMUSG00000032329	7454.90212055354	0.142115477956439	0.068668559086693	0.00541250380278331	0.0668145787923574	exon	ENSMUSG00000032329	Hmg20a	protein_coding	9:56381815 56389923

ENSMUSG00000037138	10404.0031956417	0.158851785484889	0.0853847422547652	0.00543769566715787	0.0670618745606821	exon	ENSMUSG00000037138	Aff3	protein_coding	1:38573987 38576027;1:38573987 38578082
ENSMUSG00000033526	12268.9150406863	0.156588618932971	0.0829465380952763	0.00545740904893493	0.0672486259103682	exon	ENSMUSG00000033526	Ppip5k1	protein_coding	2:121177745 121178123
ENSMUSG00000027951	19571.3235827752	0.150630165898998	0.0767693425399011	0.00547085400410038	0.067301567694255	exon	ENSMUSG00000027951	Adar	protein_coding	3:89642149 89647585
ENSMUSG00000020728	430.395919235556	0.217814255370167	0.186850554379338	0.00557238077914368	0.0681409128115269	n,intron,exon;	ENSMUSG00000020728	Cep112	protein_coding	11:108324952 108331422;11:108324952 108422291;11:10855322 108581257;11:10855322 108602029;11:10855322 108648645;11:10855322 108699565;11:10855322 108751087;11:10855322 108751113
ENSMUSG00000028550	5446.81010152219	0.137271500749961	0.0650228808393943	0.00557394333002759	0.0681409128115269	exon	ENSMUSG00000028550	Atg4c	protein_coding	4:99100814 99112787;4:99100814 99123423;4:99100814 99146940
ENSMUSG00000020436	24617.6205622547	0.158850259202911	0.0860240558731321	0.00558076530536872	0.0681409128115269	exon	ENSMUSG00000020436	Gabrg2	protein_coding	11:41803139 41811377;11:41858361 41867513
ENSMUSG00000078671	6489.10612614523	0.15687738683968	0.0844490840571619	0.00573730816225552	0.0694757325030991	exon	ENSMUSG00000078671	Chd2	protein_coding	7:73118204 73130871;7:73118204 73134345;7:73140227 73149731;7:73140227 73169456;7:73147455 73169456;7:73163838 73169456
ENSMUSG00000071369	4707.37047875899	0.154640399905237	0.0822262528735472	0.00580529329266742	0.0699535464496443	exon	ENSMUSG00000071369	Map3k5	protein_coding	10:19895304 19980011;10:19899354 19904949;10:19899354 19934836;10:19899354 19975943;10:19943575 19958214;10:19943575 19975943;10:19952228 19958214;10:19993891 19994329
ENSMUSG00000039683	1304.64030850384	-0.195510887187982	0.144815267756154	0.0058823673714344	0.0706975223083246	exon	ENSMUSG00000039683	Sdk1	protein_coding	5:141568048 141598995;5:141948420 141992560
ENSMUSG00000042208	5315.81711026772	-0.147204273883055	0.0749966688713502	0.00595142664676706	0.0713056516725437	exon	ENSMUSG00000042208	Sanbr	protein_coding	11:23526731 23581334;11:23539951 23556766;11:23543426 23562048;11:23556614 23572529;11:23567138 23579031;11:23570229 23575122;11:23570229 23579031
ENSMUSG00000019873	6295.6252312568	-0.195331331379545	0.146275940476597	0.00603370690181772	0.0721152962196947	exon	ENSMUSG00000019873	Reep3	protein_coding	10:66869850 66898850;10:66870378 66875356
ENSMUSG00000085566	2967.59788649828	0.182823506889937	0.123460166114944	0.00606242708558977	0.0722238783079208	on,intron,intr	ENSMUSG00000085566	A730017L22Rik	lncRNA	2:130716046 130725907;2:130720881 130724250;2:130720881 130725907
ENSMUSG00000024231	6738.3390103888	0.132699772370135	0.0625142463179592	0.00607627810569685	0.0723303234377975	exon	ENSMUSG00000024231	Cul2	protein_coding	18:3399846 3414224
ENSMUSG00000054008	25947.2293079383	-0.116750344142374	0.0512731023792188	0.00615506346439577	0.0729729643446052	exon	ENSMUSG00000054008	Ndst1	protein_coding	18:60822321 60846704;18:60845795 60846704
ENSMUSG00000032177	12265.2306272399	0.140439044176385	0.0694886201941847	0.00625493330604354	0.0740376779821549	exon	ENSMUSG00000032177	Pde4a	protein_coding	9:21103691 21116709;9:21115620 21116709
ENSMUSG00000018736	7176.70612650582	0.126995327397152	0.058799172489944	0.00641079512395722	0.0755180373569116	exon	ENSMUSG00000018736	Ndel1	protein_coding	11:68720741 68736250;11:68726976 68736250
ENSMUSG000000116275	615.587906397061	-0.236829441836869	0.287064473009853	0.00642856550657652	0.0756667874386083	exon	ENSMUSG000000116275	Zc3h11a	protein_coding	1:133561500 133575267
ENSMUSG00000039987	1668.68703508452	-0.153439369138716	0.0835112098941405	0.00648589221285708	0.0761587646670122	exon	ENSMUSG00000039987	Phtf2	protein_coding	5:20965932 21060199;5:20994627 20999479;5:20994627 21060199;5:20999293 21060199

ENSMUSG00000032443	162.353886981258	0.225658806690105	0.236792008067284	0.0066468660542319	0.0776470868821516	exon	ENSMUSG00000032443	Zcwpw2	protein_coding	9:117740948 117843316;9:117789035 117843316;9:117842942 117843316
ENSMUSG00000022324	7734.38212734103	0.187104490267221	0.137721828888037	0.00672926043800416	0.0782509337686011	exon	ENSMUSG00000022324	Matn2	protein_coding	15:34399196 34410382
ENSMUSG00000038831	8265.29366996073	0.12226809652639	0.0559112695863585	0.00673286949999477	0.0782509337686011	exon;exon;exo	ENSMUSG00000038831	Ralgps1	protein_coding	2:33035410 33049048;2:33150490 33166247;2:33150490 33174920;2:33150490 33184259;2:33150490 33214715;2:33150490 33230845;2:33163573 33174920;2:33163573 33184259;2:33163573 33214715;2:33214665 33230845;2:33226525 33230845
ENSMUSG00000045348	7466.60120683427	0.13762504342182	0.0681588364966065	0.00673434917634355	0.0782509337686011	exon	ENSMUSG00000045348	Nyap1	protein_coding	5:137731313 137738064
ENSMUSG00000043460	30783.9412152662	0.155322331019779	0.0867442091284024	0.00673949717744167	0.0782509337686011	exon;intron	ENSMUSG00000043460	Elf2	protein_coding	15:78556056 78558940;15:78556056 78570165
ENSMUSG00000079235	448.192078397924	-0.197829169897339	0.160624970880063	0.00674384449252948	0.0782509337686011	exon	ENSMUSG00000079235	Ccdc13	protein_coding	9:121642352 121643412
ENSMUSG00000023912	2564.47589854785	0.152377043980077	0.083709390055977	0.00687002876446466	0.0793267248415653	exon	ENSMUSG00000023912	Slc25a27	protein_coding	17:43957912 43972589
ENSMUSG00000027438	72908.3582902213	0.136568262410001	0.06755602478996	0.00687887882159447	0.0793267248415653	exon	ENSMUSG00000027438	Napb	protein_coding	2:148544981 148549125
ENSMUSG00000006920	8596.95913810416	0.151707867973508	0.0832972037615291	0.00697273907495303	0.0802110320639436	exon	ENSMUSG00000006920	Ezh1	protein_coding	11:101107821 101109546
ENSMUSG00000021338	3099.66819351129	-0.17719574756935	0.121687543645894	0.00704567634496549	0.0807973780697406	exon	ENSMUSG00000021338	Carnil1	protein_coding	13:24220168 24229065;13:24233626 24258054;13:24248560 24278553;13:24338661 24362240;13:24348784 24362240
ENSMUSG00000023068	12460.17111571102	0.120396371295271	0.0551253751934512	0.00707794585158054	0.0811042190921374	exon	ENSMUSG00000023068	Nus1	protein_coding	10:52305289 52312759;10:52305289 52312835
ENSMUSG00000019558	11381.2493043521	-0.124156190096256	0.0578992239622596	0.00710471440241767	0.0813475976675262	exon	ENSMUSG00000019558	Slc6a8	protein_coding	X:72720927 72722794
ENSMUSG00000025776	1485.3654460765	0.190091026765691	0.148561171059632	0.00715312424331024	0.0818381936172811	exon	ENSMUSG00000025776	Crispld1	protein_coding	1:17815578 17826557
ENSMUSG00000025959	8438.37926730428	0.157737234859663	0.0927410892414679	0.00741994954418396	0.0840413530743484	exon	ENSMUSG00000025959	Klf7	protein_coding	1:64073691 64081596;1:64117866 64118493
ENSMUSG00000039703	9318.08266418414	-0.126422067143619	0.0603063423684728	0.00749961945252682	0.0848062246600441	exon	ENSMUSG00000039703	Nploc4	protein_coding	11:120295032 120307206;11:120295032 120312367;11:120295032 120319462;11:120300438 120307206;11:120302484 120323954
ENSMUSG00000068205	5918.3736305139	0.151107356677046	0.0845652422141167	0.00752879873932886	0.0849472514200503	intron	ENSMUSG00000068205	MacroD2	protein_coding	2:140437986 140467649;2:140466292 140467649

ENSMUSG00000054843	19405.0011915474	0.13257526823596	0.0655003930441863	0.00755197077857068	0.0851341805549495	exon	ENSMUSG00000054843	Atrnl1	protein_coding	19:57617517 57631060;19:57617517 57645670;19:57617517 57661705;19:57617517 57744050;19:57618658 57645670;19:57626884 57645670;19:57638690 57643458;19:57638690 57645670;19:57670803 57744050;19:57680199 57703155;19:57680199 57728664;19:57680199 57744050;19:57680199 57766377;19:57680199 57785935;19:57687949 57766377;19:57719984 57744050;19:57719984 57766377;19:57719984 57785935;19:57728612 57766377;19:57740062 57744050;19:57740062 57766377;19:57740062 57785935
ENSMUSG00000037286	5945.4071281327	0.142467023324268	0.0749369295559646	0.0075656023751988	0.0851665705786533	exon;exon;exc	ENSMUSG00000037286	Stag1	protein_coding	9:100545282 100620195;9:100545303 100594593;9:100545303 100620195;9:100587206 100620195;9:100587206 100639839;9:100587206 100658885;9:100587206 100668749;9:100587206 100678908;9:100587206 100685407;9:100587206 100730791;9:100587206 100737957;9:100639743 100685407;9:100658809 100678908;9:100658809 100685407;9:100716471 100737957;9:100716471 100748267;9:100727069 100748267;9:100737850 100790770;9:100769433 100790770
ENSMUSG00000090061	7903.35592688037	0.172158323196793	0.11678856503755	0.00761560243322618	0.0855330981679823	exon	ENSMUSG00000090061	Nwd2	protein_coding	5:63948787 63957967
ENSMUSG00000030105	25060.3390391371	0.138291205628235	0.0709444647708269	0.00764196898814772	0.0856091913460259	exon	ENSMUSG00000030105	Arl8b	protein_coding	6:108790588 108795574
ENSMUSG00000020064	3738.23800316546	0.152247626751615	0.0866028218037967	0.00769918974183714	0.0860689655169284	exon	ENSMUSG00000020064	Herc4	protein_coding	10:63099805 63119120;10:63105407 63114244;10:63118960 63123788;10:63123298 63127062;10:63123677 63147412;10:63124831 63143688;10:63124831 63147693;10:63124831 63152581
ENSMUSG00000020647	26777.4915741486	0.136204334012562	0.069273502276783	0.00778089660881169	0.0868591288356953	exon	ENSMUSG00000020647	Ncoa1	protein_coding	12:4309212 4328219;12:4356424 4404509;12:4385781 4404509
ENSMUSG00000061950	1923.31720392134	-0.161648341971056	0.100182733828789	0.00778958765255252	0.0868902222380631	exon	ENSMUSG00000061950	Ppp4r1	protein_coding	17:66110155 66123045;17:66110206 66123045
ENSMUSG00000060862	1532.81971415016	0.17320024505803	0.120261853191396	0.00782880552702536	0.0870636551164959	exon	ENSMUSG00000060862	Zbtb40	protein_coding	4:136744588 136746078
ENSMUSG00000048939	1320.65079180628	-0.190346978059578	0.157640637208494	0.00785828584859597	0.0872595922191641	exon	ENSMUSG00000048939	Atp13a5	protein_coding	16:29066886 29117072
ENSMUSG00000046314	14938.7140808806	0.184506688062516	0.144192751080684	0.00788298621738325	0.0873226379078808	exon	ENSMUSG00000046314	Stxbp6	protein_coding	12:45066250 45066438

ENSMUSG00000038970	35130.5442059043	0.149712036701654	0.0841109870642571	0.00789080088481691	0.0873226379078808	exon	ENSMUSG00000038970	Lmtk2	protein_coding	5:144080344 144093812;5:144080344 144103237;5:144080344 144113295;5:144080347 144113295;5:144108555 144113295;5:144119555 144120239
ENSMUSG00000087475	312.636001781807	0.210143877342231	0.222381141884639	0.00807417096727856	0.0889852265479921	exon	ENSMUSG00000087475	493340618Rik	lncRNA	7:113918688 113920486
ENSMUSG00000030223	5149.23336879832	-0.173074689219765	0.122024218471148	0.00809790002855689	0.0890891596169772	exon	ENSMUSG00000030223	Ptpro	protein_coding	6:137345071 137363361
ENSMUSG00000052748	975.233314681778	-0.162283430174858	0.103028338961953	0.00814681342214105	0.0895175996116215	exon	ENSMUSG00000052748	Swt1	protein_coding	1:151246330 151264519;1:151255134 151279647;1:151260068 151281296;1:151264371 151270523
ENSMUSG00000020721	13727.5558961679	0.119837375801203	0.0564571212918625	0.0082598782557159	0.0902209270796942	exon	ENSMUSG00000020721	Helz	protein_coding	11:107483532 107495189;11:107483532 107511040;11:107504677 107511040;11:107509809 107511040
ENSMUSG00000035934	3587.1224370538	0.174705372446774	0.127771926612679	0.0084125725625471	0.0915489497875411	exon	ENSMUSG00000035934	Pknox2	protein_coding	9:36834880 36847788;9:36834880 36898568;9:36834880 36994572;9:36847617 36994572;9:36865989 36994572
ENSMUSG00000032263	2419.87938910083	0.163229165817808	0.106090663058921	0.00842400594157589	0.0916056167172255	in;exon;exon;	ENSMUSG00000032263	Bckdhb	protein_coding	9:83834336 83873875;9:83834577 83894672;9:83834577 83951244;9:83870829 83892404;9:83870829 83894672
ENSMUSG00000026885	3758.31638060375	0.165722449542182	0.110873539788667	0.00849536698574313	0.0919737560421182	exon	ENSMUSG00000026885	Ttl11	protein_coding	2:35779277 35793157;2:35779277 35834971;2:35830686 35834971
ENSMUSG00000061665	2390.3242421457	-0.173778931918244	0.128157052947222	0.00870267917834312	0.0934616925189506	exon	ENSMUSG00000061665	Cd2ap	protein_coding	17:43116051 43140996;17:43140809 43145176;17:43156217 43163419
ENSMUSG00000025981	1722.91561649598	-0.160465440813211	0.10345942209379	0.00881234380710205	0.0943639115239391	exon	ENSMUSG00000025981	Coq10b	protein_coding	1:55100434 55106757
ENSMUSG00000021619	615.630932256839	0.171281279674126	0.124152609762685	0.00886581219438512	0.0946608815790917	exon	ENSMUSG00000021619	Atg10	protein_coding	13:91170689 91189107
ENSMUSG00000051111	7444.94818064339	0.185331220773737	0.157596579587644	0.00889068792977036	0.0948576443152366	exon	ENSMUSG00000051111	Sv2c	protein_coding	13:96224728 96225408
ENSMUSG00000047368	5649.84993165534	-0.168054336147361	0.118276379312561	0.00896440364963051	0.0953675133022514	exon	ENSMUSG00000047368	Abhd17b	protein_coding	19:21655717 21658411;19:21655717 21661669
ENSMUSG00000029534	2312.15005714552	0.148679195439908	0.0870024482196787	0.00914299144868139	0.0966041832468195	exon	ENSMUSG00000029534	St7	protein_coding	6:17844908 17855027;6:17844908 17886117;6:17850356 17855027;6:17852257 17906509
ENSMUSG00000002881	4232.50866763045	0.148846070466715	0.0872610416817684	0.00915287374743875	0.0966041832468195	exon	ENSMUSG00000002881	Nab1	protein_coding	1:52518397 52529914;1:52529080 52529914
ENSMUSG00000030138	1624.70554523941	-0.151127062261334	0.0908845646078205	0.00927700716235208	0.097494718842633	exon	ENSMUSG00000030138	Bms1	protein_coding	6:118365717 118375116
ENSMUSG00000058093	2046.60577225278	0.154240960341163	0.0955753348823867	0.00928699676579542	0.097530038126444	exon	ENSMUSG00000058093	Zfp729b	protein_coding	13:67690587 67744894
ENSMUSG00000028488	30965.9205085232	0.136182907249918	0.0726758722861529	0.0093327082318342	0.0979069737555864	intron	ENSMUSG00000028488	Sh3gl2	protein_coding	4:85304027 85413096
ENSMUSG00000018909	37957.1710519338	0.12355556851378	0.0610147566811318	0.00938124606034839	0.0980996967206154	exon	ENSMUSG00000018909	Arrb1	protein_coding	7:99243828 99247768
ENSMUSG00000024064	2195.95321636368	0.165420822375319	0.116034035684915	0.00942523819681705	0.0984198222780478	exon	ENSMUSG00000024064	Galnt14	protein_coding	17:73801056 73819157;17:73842234 73852118
ENSMUSG00000024565	928.330143410802	-0.194466632135547	0.195565793879362	0.00948909782933074	0.0986664991964263	exon	ENSMUSG00000024565	Sall3	protein_coding	18:81012865 81017844
ENSMUSG00000060212	14081.6183381689	0.133731407915288	0.0709785047822605	0.00973027693350454	0.100343108586565	exon	ENSMUSG00000060212	Pcnx2	protein_coding	8:126512011 126515291;8:126528200 126545549;8:126577022 126582100;8:126577022 126592797
ENSMUSG00000074771	165.57320587605	0.200829301650287	0.23363480190244	0.00973218350798803	0.100343108586565	exon	ENSMUSG00000074771	Ankef1	protein_coding	2:136388738 136397808

ENSMUSG00000029212	43045.1881261481	0.13156592882502	0.0688726135691451	0.0097608424495839	0.100527678730197	in;exon;exon;	ENSMUSG00000029212	Gabrb1	protein_coding	5.72006556 72026962;5:72026742 72026962;5:72265651 72266179;5:72265651 72279536
ENSMUSG00000042700	52121.2574231809	0.153980095145495	0.0973558686923281	0.00981467823031391	0.100907959440755	;exon;exon;ex	ENSMUSG00000042700	Sipa1l1	protein_coding	12:82281237 82284029;12:82281237 82287634;12:82281237 82358183;12:82358123 82389273;12:82358123 82419316;12:82387436 82389273;12:82387436 82409905;12:82387436 82419316;12:82387436 82434486;12:82404007 82419316;12:82404007 82434486;12:82404007 82449953;12:82404007 82472229;12:82419142 82434486;12:82431425 82449953;12:82442967 82449953;12:82479527 82487735
ENSMUSG00000045071	2488.23204659265	-0.186810620072503	0.174621364029038	0.00982728304141291	0.100907959440755	exon	ENSMUSG00000045071	E130308A19Rik	protein_coding	4:59690144 59691338
ENSMUSG00000017740	67727.1765876446	0.133443405842835	0.0708958854936085	0.0098356680312579	0.100907959440755	exon	ENSMUSG00000017740	Slc12a5	protein_coding	2:164821199 164825481
ENSMUSG00000005882	4406.65556270588	0.133150060623963	0.0706385281647403	0.00985661689887116	0.100918861818435	exon	ENSMUSG00000005882	Uqcc1	protein_coding	2:155729029 155753756
ENSMUSG00000020576	10070.6945283636	0.123480993777975	0.0616856202332228	0.00987279806198982	0.101014240532723	exon	ENSMUSG00000020576	Nbas	protein_coding	12:13335184 13339981;12:13335184 13360305;12:13335184 13386411;12:13350094 13360305;12:13356905 13412616;12:13367699 13386411;12:13367699 13465732;12:13424697 13443533;12:13424697 13443533;12:13424697 13465732;12:13427435 13465732;12:13427435 13465732;12:13463529 13465732;12:13463529 13491947;12:13482898 13491947;12:13519842 13519842;12:13519842 13584576;12:13532387 13534045;12:13608613 13616258
ENSMUSG00000028405	3685.56010407264	-0.246113404338078	0.0908734161985213	9.9377285813701e-05	0.00384773159520259	exon	ENSMUSG00000028405	Aco1	protein_coding	4:40163719 40167191
ENSMUSG00000022892	214394.158246753	1.13595274520916	0.0794918191266399	9.86919508511436e-48	4.84018224290959e-44	exon	ENSMUSG00000022892	App	protein_coding	16:84810515 84827253;16:84810515 84840631;16:84876728 84879776;16:84917418 84917585
ENSMUSG00000017009	11589.8630597063	-0.429179178252708	0.117676407304892	9.57561247691582e-07	9.08959175734807e-05	antisense	ENSMUSG00000017009	Sdc4	protein_coding	2:164266495 164266785
ENSMUSG00000022791	22085.8588924959	0.282681233529158	0.073862044429456	9.54668604447481e-07	9.08959175734807e-05	exon	ENSMUSG00000022791	Tnk2	protein_coding	16:32482557 32490451
ENSMUSG00000036800	18360.623037281	0.502561820498747	0.0733824780540236	9.5441467957975e-14	5.01510827880606e-11	exon	ENSMUSG00000036800	Fam135b	protein_coding	15:71391788 71404887

ENSMUSG00000021198	12868.3093346772	0.194937229576569	0.0633769707889646	9.53703429023864e-05	0.00373187195511386	in;exon;exon;	ENSMUSG00000021198	Unc79	protein_coding	12:102956588 102988135;12:102957609 102968235;12:102957609 102977551;12:102957609 102988135;12:102957609 103016182;12:102964856 102988135;12:102964856 103016182;12:102977459 102988135;12:103025578 103045327;12:103029364 103036467;12:103094488 103115340;12:103108031 103115340
ENSMUSG00000039585	24599.7705221174	0.217212460966718	0.0606617111377248	9.47531634894215e-06	0.000627974456945882	exon	ENSMUSG00000039585	Myo9a	protein_coding	9:59686826 59690848;9:59686826 59697375;9:59686826 59722661;9:59686826 59739591;9:59686826 59750421;9:59686826 59819873;9:59690754 59697375;9:59709197 59722661;9:59709197 59734601;9:59709197 59739586;9:59709197 59739591;9:59709197 59750421;9:59709197 59781966;9:59709197 59796838;9:59709197 59831025;9:59719185 59734601;9:59762649 59817990
ENSMUSG00000006800	12180.6979567247	-0.254802120283984	0.0644573576058907	9.40236652139669e-07	9.08959175734807e-05	exon	ENSMUSG00000006800	Sulf2	protein_coding	2:165958792 165974774
ENSMUSG00000057541	1275.485064808	-0.38900562706263	0.169732687089083	9.25901042726584e-05	0.00368432363820346	exon	ENSMUSG00000057541	Pus7	protein_coding	5:23959456 23980966
ENSMUSG00000009828	3696.34306373437	-0.612558740440415	0.201252553139478	9.06927496617299e-06	0.000606528375351378	exon	ENSMUSG00000009828	Cilk1	protein_coding	9:78038577 78048555
ENSMUSG00000027130	20910.134642032	0.189102553557595	0.0602398861384025	8.92639415244012e-05	0.00359819279903703	exon	ENSMUSG00000027130	Slc12a6	protein_coding	2:112174833 112188984
ENSMUSG00000056999	9205.94884789049	-1.17017910037683	0.0720449850273881	8.64881932387409e-61	6.36250393560797e-57	on;exon;exon	ENSMUSG00000056999	Ide	protein_coding	19:37253914 37255412;19:37273282 37281395;19:37273282 37308011;19:37287187 37292916;19:37287187 37295498;19:37287187 37308011;19:37287187 37321425;19:37289482 37308011;19:37302547 37308011
ENSMUSG00000092341	208993.206791564	-0.381631535935731	0.16413049371363	8.64453437290269e-05	0.00351046854201234	exon	ENSMUSG00000092341	Malat1	lncRNA	19:5846254 5846911;19:5847477 5848099;19:5847477 5848103;19:5847477 5848924;19:5847847 5848924;19:5848064 5848928
ENSMUSG00000028496	5161.59209991674	0.238058543885787	0.084759501239359	8.50286709569727e-05	0.00350427685095221	exon	ENSMUSG00000028496	Mlit3	protein_coding	4:87691717 87712248;4:8770524 87712248;4:87758919 87759626;4:87758919 87798385
ENSMUSG00000043262	2471.69952070912	0.327514552276575	0.104572875301718	8.29124667282981e-06	0.000562161807821866	exon	ENSMUSG00000043262	Uevld	protein_coding	7:46589881 46604837
ENSMUSG00000027375	37757.025628395	-1.31553785997242	0.176316045822017	7.72505840664373e-16	5.98204128089206e-13	exon	ENSMUSG00000027375	Mal	protein_coding	2:127480509 127482308
ENSMUSG00000051323	25162.1951714145	0.392168822640631	0.127543570699605	7.65048565823642e-06	0.000521714277024359	exon	ENSMUSG00000051323	Pcdh19	protein_coding	X:132526018 132582157
ENSMUSG00000031295	2957.67165966847	0.231702137481912	0.0802472427092661	7.5560971936486e-05	0.00315831982983386	exon	ENSMUSG00000031295	Phka2	protein_coding	X:159324365 159347355
ENSMUSG00000031790	2899.22216696736	-0.53702896843674	0.173543573042644	7.50031250983363e-06	0.000515664009145711	exon	ENSMUSG00000031790	Mmp15	protein_coding	8:96091942 96093050
ENSMUSG00000023886	3568.59957621564	0.566297752882705	0.253268261412403	7.37225815996087e-05	0.00311689753757196	exon	ENSMUSG00000023886	Smc2	protein_coding	17:14545797 14558023;17:14545797 14569040;17:14545891 14595781

ENSMUSG00000102504	1811.73913621189	0.286751789804764	0.110092028708077	7.35934450443996e-05	0.00311689753757196	intron	ENSMUSG00000102504	Gm21955	TEC	4:42714686 42852280
ENSMUSG00000034832	11126.8338415337	-0.405123024210714	0.0674686337888886	7.2114663029652e-12	2.79216588725071e-09	exon	ENSMUSG00000034832	Tet3	protein_coding	6:83362967 83381806;6:83362967 83418255;6:83379649 83381806;6:83379649 83418255
ENSMUSG00000038128	7664.98789912977	-0.27780894280586	0.104862273356879	7.19330122740454e-05	0.00308111792380581	exon	ENSMUSG00000038128	Camk4	protein_coding	18:33211046 33262886;18:33211046 33291954;18:33289802 33318269
ENSMUSG00000055567	69515.6261500903	0.199284192261834	0.0636575963117649	7.17133695540413e-05	0.00308111792380581	intron;exon;exon	ENSMUSG00000055567	Unc80	protein_coding	1:66511135 66512691;1:66511135 66530290;1:66511135 66530339;1:66522400 66530290;1:66522400 66570012;1:66560614 66570012;1:66569131 66594258;1:66594086 66609161;1:66629354 66647651;1:66629354 66651447
ENSMUSG00000029701	2745.6397646596	0.355274396939262	0.113513550477051	7.0454146521999e-06	0.000491275761980176	exon	ENSMUSG00000029701	Rbm28	protein_coding	6:29131266 29139625
ENSMUSG00000005871	57164.1188585648	-0.284877264311273	0.064521457768606	6.97457486822203e-08	9.08114336603104e-06	intron;exon;exon	ENSMUSG00000005871	Apc	protein_coding	18:34394058 34412405;18:34398890 34412405;18:34399111 34412405;18:34399111 34422995;18:34399111 34433114;18:34401351 34412405;18:34401351 34422995;18:34401351 34433114;18:34409617 34429182;18:34429084 34439432
ENSMUSG00000028274	3462.81023845598	0.389975638598744	0.0915423069431628	6.94999893334433e-08	9.08114336603104e-06	exon	ENSMUSG00000028274	Rngtt	protein_coding	4:33320519 33331082;4:33320519 33339092;4:33320519 33356196;4:33320519 33368737;4:33320519 33379437;4:33320519 33404253;4:33320519 33443667;4:33329520 33379437;4:33356061 33379437;4:33356061 33404253;4:33379369 33404253;4:33379369 33443667
ENSMUSG00000022311	9332.9207107556	0.24079714759763	0.0841372824352016	6.81863569586835e-05	0.00295936834788528	exon	ENSMUSG00000022311	Csm3	protein_coding	15:47492632 47499893;15:47507538 47513668;15:47559097 47574468;15:47559097 47713216;15:47595322 47713216;15:47683748 47713216;15:47683748 47874622;15:47701804 47721377;15:47701804 47818447;15:47833394 47874622;15:47864863 47874622;15:48014957 48048768;15:48014957 48177506;15:48118921 48177506;15:48150881 48177506;15:48485390 48537022
ENSMUSG00000007617	20748.0331238574	0.270375202435094	0.0800529446372753	6.77406996543406e-06	0.000476875078475748	exon	ENSMUSG00000007617	Homer1	protein_coding	13:93478264 93485805;13:93478264 93492587;13:93478264 93492693;13:93522853 93529616

ENSMUSG00000070565	20048.2850370962	-0.346495625903924	0.0923793793937707	6.75560050595277e-07	6.76157484653626e-05	};exon;exon;ir	ENSMUSG00000070565	Rasal2	protein_coding	1:157001713 157006822;1:157001713 157020426;1:157114301 157126834;1:1571144301 157219240
ENSMUSG00000043872	1527.37993431277	0.319724328955184	0.12658287298432	6.72036102344204e-05	0.00293402586759355	exon	ENSMUSG00000043872	Zmy1	protein_coding	4:126944357 126953452
ENSMUSG00000033009	18497.0157047059	0.251684570448977	0.089655659888497	6.61344885382799e-05	0.00290458725332451	exon	ENSMUSG00000033009	Ogfod1	protein_coding	8:94773900 94781972
ENSMUSG00000030638	2314.40345442588	-0.431754773175343	0.138849067525269	6.60550521939793e-06	0.00046724422526508	exon	ENSMUSG00000030638	Sh3gl3	protein_coding	7:81909340 81934338;7:81917488 81934338;7:81923069 81934338
ENSMUSG00000044813	1162.46467993904	-0.379463025852979	0.156763697749738	6.57044272430803e-05	0.00290458725332451	exon	ENSMUSG00000044813	Shb	protein_coding	4:45444679 45489175
ENSMUSG00000041852	41350.4979416032	0.261260273599959	0.0760764784037314	6.4426343345896e-06	0.000457925019153705	};exon;intron;}	ENSMUSG00000041852	Tcf20	protein_coding	15:82698682 82741485;15:82709432 82741485;15:82724579 82741485;15:82735714 82741485
ENSMUSG00000040565	6267.69842826724	-0.222785196349363	0.0742259226343968	6.35036530041548e-05	0.00283130074742463	exon	ENSMUSG00000040565	Btaf1	protein_coding	19:36928434 36947438;19:36933771 36939899;19:36933771 36947438;19:36933771 36950418;19:36935773 36947438;19:36935773 36961052;19:36939039 36947438;19:36946505 36968324;19:36971670 36982043
ENSMUSG00000034472	7980.49186898253	0.234185482279904	0.0799699868257621	6.30050370897514e-05	0.00281760823921432	intron	ENSMUSG00000034472	Rasd2	protein_coding	8:75940453 75940706
ENSMUSG00000038665	17327.7288659958	0.243856387487066	0.0849788792926055	6.27342778029375e-05	0.00281405313815433	};exon;exon;exo	ENSMUSG00000038665	Dgki	protein_coding	6:36871711 36952182;6:36871711 36989917;6:36890568 36897358;6:36890568 36914335;6:36890568 36952182;6:36890568 36989917;6:36890568 37034963;6:36890568 37044320;6:36890568 37064629;6:36890568 37034963;6:36952082 37044320;6:36952082 37064629;6:36972248 37034963;6:36976977 36989917;6:36976977 37034963;6:36976977 3704320;6:36976977 37064629;6:36989806 37044320;6:36989806 37064629;6:36996851 37034963;6:37006698 37011632;6:37006698 37034963;6:37006698 37040948;6:37006698 37044320;6:37006698 37064629;6:37009798 37025115;6:37025055 37034963;6:37025055 37035939;6:37025055 37040948;6:37025055 37044320;6:37025055 37064629
ENSMUSG00000073514	34144.9964651472	0.281856402047932	0.0841124412011156	6.224719156427e-06	0.000446752648529319	exon	ENSMUSG00000073514	Dok6	protein_coding	18:89432952 89439237;18:89432952 89616915
ENSMUSG00000026098	1422.63820416646	0.485979954365353	0.127346585893915	5.99674815420152e-07	6.1270941383866e-05	exon;exon;exc	ENSMUSG00000026098	Pms1	protein_coding	1:53255346 53321251;1:53255390 53321251;1:53255390 53329582;1:53295788 53321251;1:53295788 53329582;1:53306987 53321251;1:53306987 53329582

ENSMUSG00000016346	83637.7937186523	0.360877736136413	0.113814612747706	5.93647408743322e-06	0.000430262774622684	exon	ENSMUSG00000016346	Kcnq2	protein_coding	2:180728762 180742411;2:180738743 180756522;2:180753793 180756522
ENSMUSG00000020661	10494.7872520643	-0.678361354213224	0.13298211030493	5.72626095814739e-09	1.06609505268297e-06	exon	ENSMUSG00000020661	Dnmt3a	protein_coding	12:3885027 3923428;12:3915985 3923428;12:3949193 3950361
ENSMUSG00000028402	11975.5738743689	0.313069521155759	0.081185932574522	5.65236740300819e-07	5.85656912679292e-05	exon	ENSMUSG00000028402	Mpdz	protein_coding	4:81253913 81274734
ENSMUSG00000022514	9168.45352036185	-0.460539934508586	0.105275339018811	5.58185402511444e-08	7.74771870485932e-06	exon	ENSMUSG00000022514	Il1rap	protein_coding	16:26495459 26531010
ENSMUSG00000013523	8081.50752273068	-0.660774842502043	0.166239710574821	5.54578286297356e-07	5.78688675623617e-05	exon	ENSMUSG00000013523	Bcas1	protein_coding	2:170220643 170229872
ENSMUSG00000039976	9965.44920086828	-0.273780152571856	0.099324376364351	5.43253239596189e-05	0.0025031657390272	exon	ENSMUSG00000039976	Tbc1d16	protein_coding	11:119041854 119044901;11:119099597 119101566
ENSMUSG00000035284	33201.9955548004	0.279622457711806	0.0822858495143736	5.40194580839011e-06	0.000399391098888662	xon;exon;intr	ENSMUSG00000035284	Vps13c	protein_coding	9:67759773 67768167;9:67766072 67785459;9:67783509 67797671;9:67788612 67797671;9:67808727 67818905;9:67816904 67817377;9:67818789 67823736;9:67857515 67861170;9:67872747 67883187
ENSMUSG00000089774	13477.1406759049	0.424574926062942	0.133748435557982	5.29098561924363e-06	0.000393162986949149	exon	ENSMUSG00000089774	Slc5a3	protein_coding	16:91873608 91876114
ENSMUSG00000028136	21781.1757491842	0.204537998250897	0.0642133184633973	5.26411929588247e-05	0.00244324880758104	tron;exon;exc	ENSMUSG00000028136	Snx27	protein_coding	3:94409477 94438696;3:94409477 94471898;3:94426355 94438696;3:94426355 94469307;3:94436219 94469307
ENSMUSG00000031997	4668.55721388722	0.63312373851267	0.269361875646447	5.1133530676744e-05	0.00238834170427598	xon;exon;intr	ENSMUSG00000031997	Trpc6	protein_coding	9:8570574 8572999;9:8609701 8610475;9:8634048 8658378;9:8634048 8660821;9:8634048 8680654
ENSMUSG00000040957	2156.27997869214	-0.648746009320317	0.126782751841812	4.9686970186169e-09	9.61900516248821e-07	exon	ENSMUSG00000040957	Cables1	protein_coding	18:12056417 12059421
ENSMUSG00000027852	6859.42425161519	-0.262264162721413	0.0921817519198725	4.88884918901835e-05	0.00229807150536827	exon	ENSMUSG00000027852	Nras	protein_coding	3:102967517 102969849
ENSMUSG00000060657	40733.471107333	0.270685826924725	0.067059076776201	4.85877648284701e-07	5.10622702800915e-05	exon	ENSMUSG00000060657	Marf1	protein_coding	16:13956207 13958236;16:13966880 13971895
ENSMUSG00000024597	23742.818162176	-0.638077915424678	0.194850053473484	4.81754374265703e-06	0.000361635311661801	exon	ENSMUSG00000024597	Slc12a2	protein_coding	18:58029354 58048580;18:58030416 58048580
ENSMUSG00000014418	1649.51876323213	-0.347895569522272	0.134355488479793	4.52634134101314e-05	0.00214826000484924	exon	ENSMUSG00000014418	Hps5	protein_coding	7:46421031 46424361;7:46424238 46426458;7:46425189 46426458
ENSMUSG00000030077	37971.5959970952	0.253026174315714	0.086231207645157	4.29456130885527e-05	0.00205817200446865	exon	ENSMUSG00000030077	Ch1	protein_coding	6:103618855 103626638;6:103618855 103694592;6:103672298 103676202
ENSMUSG00000025324	1445.79114861091	-0.759885336464284	0.227803196073611	4.23842398651142e-06	0.000324791313091368	exon	ENSMUSG00000025324	Atp10a	protein_coding	7:58308107 58308663
ENSMUSG00000052512	9531.15778985669	-0.324216459996538	0.0973636613212174	4.11518646840658e-06	0.00031699863094066	exon	ENSMUSG00000052512	Nav2	protein_coding	7:49195548 49198289;7:49225396 49244200
ENSMUSG00000054555	828.336221312761	-0.46390919280016	0.183834526573602	3.99221957430051e-05	0.00193853223091364	exon	ENSMUSG00000054555	Adam12	protein_coding	7:133562813 133569729
ENSMUSG00000103897	3304.96031715462	0.681882158549456	0.166749762969754	3.8540241764428e-07	4.2316610229853e-05	intron	ENSMUSG00000103897	Pcdhga8	protein_coding	18:37939057 37942030
ENSMUSG00000001774	7016.63762284994	0.426834246068398	0.0870443715951294	3.82614670650739e-09	7.60731033687071e-07	exon	ENSMUSG00000001774	Chordc1	protein_coding	9:18206596 18213479
ENSMUSG00000001441	20184.1465530503	0.225507692607281	0.0718777367444266	3.81750854737226e-05	0.00186601339725874	exon	ENSMUSG00000001441	Npepps	protein_coding	11:97103106 97117694;11:97104597 97129084;11:97108617 97129084;11:97109334 97129084;11:97117555 97125941;11:97117555 97126995;11:97117555 97129084;11:97120656 97129084;11:97122715 97127047;11:97122715 97129084;11:97125881 97135361

ENSMUSG00000023011	42560.2172583439	0.270409843391341	0.0765679149605858	3.78879803424254e-06	0.000294944896707992	exon	ENSMUSG00000023011	Faim2	protein_coding	15:99408463 99412331
ENSMUSG00000021614	3513.69712915506	-0.64390383540789	0.157643738550816	3.65228315760988e-07	4.0403039171364e-05	intron	ENSMUSG00000021614	Vcan	protein_coding	13:89833763 89850590
ENSMUSG00000027977	3514.42889845279	0.322642960168361	0.118228781808787	3.43278178188318e-05	0.00173329450255417	∓;exon;exon;∓;ir	ENSMUSG00000027977	Ndst3	protein_coding	3:123340418 123342691;3:123340418 123355733;3:123342521 123355733;3:123395090 123400680;3:123395090 123421762;3:123395090 123440015;3:123395090 123466126;3:123421608 123466126;3:123464990 123466126
ENSMUSG00000037455	2549.54168324861	0.377743720883775	0.143172759817962	3.37952022510783e-05	0.00171458210593143	exon	ENSMUSG00000037455	Slc18b1	protein_coding	10:23674644 23681938
ENSMUSG00000030287	5401.62286214027	-0.374370513649073	0.112879374144929	3.33455042085895e-06	0.000262359574021913	exon	ENSMUSG00000030287	Itpr2	protein_coding	6:146251521 146260985;6:146272751 146277680;6:146316819 146328068
ENSMUSG00000041439	13967.8927017544	0.211926687892917	0.0648330472576231	3.32057307449783e-05	0.00169050490121407	exon	ENSMUSG00000041439	Mfsd6	protein_coding	1:52747323 52748914
ENSMUSG00000019978	7369.89109866958	-0.250891293906443	0.0829630197316845	3.32007622477297e-05	0.00169050490121407	exon	ENSMUSG00000019978	Epb41l2	protein_coding	10:25317471 25319852;10:25317471 25336794;10:25354907 25364991
ENSMUSG00000024921	24647.2477928821	0.231024058642822	0.0734403646104648	3.29106462325992e-05	0.00169050490121407	exon	ENSMUSG00000024921	Smarca2	protein_coding	19:26597084 26608531;19:26597084 26631911;19:26597084 26669667;19:26624421 26661322;19:26654034 26661322;19:26748338 26754838
ENSMUSG00000039697	11153.1103514402	0.236138147225549	0.0756057617700321	3.18652100247826e-05	0.00165139259632547	exon	ENSMUSG00000039697	Ncoa7	protein_coding	10:30565700 30647836;10:30574126 30580676
ENSMUSG00000061589	3459.6919898478	-0.468937047188902	0.0860282069579806	3.18606087860634e-10	8.37080601909556e-08	exon	ENSMUSG00000061589	Dot1l	protein_coding	10:80600436 80609602;10:80601997 80607200
ENSMUSG00000040268	10956.4816581922	-0.62521527768254	0.13294734928374	3.05362157242068e-08	4.5381751712147e-06	exon	ENSMUSG00000040268	Plekha1	protein_coding	7:130479464 130487178;7:130479464 130494008
ENSMUSG00000019986	21824.4267448259	0.259678821622993	0.0713829597415426	3.05258979825721e-06	0.000246773371987683	exon	ENSMUSG00000019986	Ahi1	protein_coding	10:20852896 20893932;10:20852896 20864583;10:20857223 20883677;10:20893812 20934149;10:20917085 20934149
ENSMUSG00000079037	152439.663378696	1.75402677937189	0.0575926401917815	3.02542275880061e-207	4.45130450502334e-203	antisense	ENSMUSG00000079037	Pmp	protein_coding	2:131779178 131779736
ENSMUSG00000030102	87407.8732728884	0.329677575400745	0.119726833128917	2.99807870944241e-05	0.00156977694135324	exon	ENSMUSG00000030102	Itpr1	protein_coding	6:108345972 108417648;6:108353723 108417648;6:108415261 108417648;6:108415261 108450621;6:108417535 108448058
ENSMUSG00000060961	40897.9877999015	-0.27816844929588	0.0952387242383491	2.9838282830632e-05	0.00156789519745389	exon	ENSMUSG00000060961	Slc4a4	protein_coding	5:89205808 89304461;5:89232501 89327703;5:89232501 89347675;5:89277498 89304461;5:89297159 89327703;5:89318610 89347675
ENSMUSG00000043241	5259.13384018151	0.386364645584792	0.0785312464645995	2.90080568542635e-09	6.09707914995398e-07	exon	ENSMUSG00000043241	Upf2	protein_coding	2:5978280 5993283;2:5978280 6015239;2:5984585 6015239;2:5987803 6015239;2:6008356 6039062
ENSMUSG00000028780	5113.0488442863	-0.340835532927143	0.124270999197249	2.8797604769031e-05	0.00151863497837546	exon	ENSMUSG00000028780	Sema3c	protein_coding	5:17875448 17898863
ENSMUSG00000049176	19540.6624341918	0.229563179812983	0.0601494834191888	2.84103149600205e-06	0.000232222757781546	intron;exon	ENSMUSG00000049176	Frmpd4	protein_coding	X:166383924 166394027;X:166387555 166512131

ENSMUSG00000029913	970.043634493771	0.518900734302682	0.194671651884332	2.5624591205986e-05	0.00138100589895118	exon	ENSMUSG00000029913	Prdm5	protein_coding	6:65832933 65847453;6:65832933 65878843;6:65839899 65847453;6:65839899 65863162;6:65839899 65878843;6:65846165 65863162;6:65846165 65878843;6:65846165 6590505;6:65858033 65878843
ENSMUSG00000055485	11308.8785149724	-0.36473581486023	0.132484453781302	2.45749544120486e-05	0.0013391529787573	exon	ENSMUSG00000055485	Soga1	protein_coding	2:156895439 15690233219:16613133 16630120;19:16613133 16646065;19:16613167 16617453;19:16641116 16646065;19:16655218 16669261;19:16669111 16688305;19:16672823 16688305;19:16687635 16703057;19:16736951 16743904
ENSMUSG00000046230	17270.4507741646	0.345149814441395	0.0766142382347517	2.37638889112833e-08	3.68040102686011e-06	exon	ENSMUSG00000046230	Vps13a	protein_coding	6:51851455 518993201:40013087 40029459;1:40042917 40049837;1:40042917 40053857
ENSMUSG00000059182	1335.05110959386	0.458299039891011	0.169365249182339	2.35836064950033e-05	0.00129563697287321	exon	ENSMUSG00000059182	Skap2	protein_coding	6:142974886 142987269;6:142974886 142995965;6:142974886 143007587;6:142974886 143018420;6:143023989 143036411
ENSMUSG00000026074	16390.0555030335	-0.425378696292509	0.124970707859214	2.35324759284367e-06	0.000195612044257112	exon	ENSMUSG00000026074	Map4k4	protein_coding	2:76329601 763544881:46849005 46881041;1:46851146 46875311;1:46871716 46875311
ENSMUSG00000030279	5899.75160470778	0.28856840309567	0.0802225206114715	2.20422703553422e-06	0.000186383864217327	exon	ENSMUSG00000030279	C2cd5	protein_coding	1:60042815 60053177;1:60042815 60054994;1:60042815 60067395;1:60042815 60067405
ENSMUSG00000042359	10724.8031195626	0.20523237195002	0.0597367487729554	2.15482533217014e-05	0.00119637528725356	exon	ENSMUSG00000042359	Osbp16	protein_coding	8:18911493 189261468:114463313 1144812916:120710692 1207141096:112752460 112758019;6:112793552 112793714;6:112793552 112806592
ENSMUSG00000025986	21022.9645045694	0.380853377279281	0.137110882769301	2.13718085338932e-05	0.00119107355666353	tron;exon;exc	ENSMUSG00000025986	Slc39a10	protein_coding	4:74105551 7410600611:8428225 84296655:71130768 71192140;5:71163450 71192140;5:7116266171192140
ENSMUSG00000026018	3738.199064747	0.302865180420298	0.102658067861431	1.97586366547632e-05	0.0011181108503905	exon	ENSMUSG00000026018	Ica1l	protein_coding	1:132510733 132516048;1:13251536 13253332315:53207798 5332561210:62668673 626761571:152424818 1524333388:129431894 12945266716:52088745 52117347;16:52109281 52126141;16:52109281 52130275
ENSMUSG00000031467	7650.3767015563	-0.24867139662453	0.0777029843872872	1.89969240588782e-05	0.00108334009177626	exon	ENSMUSG00000031467	Agpat5	protein_coding	5:71130768 71192140;5:71163450 71192140;5:7116266171192140
ENSMUSG00000053399	152.746096307407	-1.19171138191216	0.284983863151469	1.80392610515006e-07	2.12329318280583e-05	exon	ENSMUSG00000053399	Adamts18	protein_coding	1:132510733 132516048;1:13251536 13253332315:53207798 5332561210:62668673 626761571:152424818 1524333388:129431894 12945266716:52088745 52117347;16:52109281 52126141;16:52109281 52130275
ENSMUSG00000071226	2026.50691170996	0.310556954726657	0.104785213614876	1.7411313516221e-05	0.00100855376285102	exon	ENSMUSG00000071226	Cecr2	protein_coding	10:7090319 7104485;10:7102864 7104485
ENSMUSG00000030257	58666.5827507526	0.247411009635979	0.0764795630351868	1.72456380920214e-05	0.00100290542785735	exon	ENSMUSG00000030257	Srgap3	protein_coding	
ENSMUSG00000049122	439.681502814216	-0.612141682381964	0.217649073342809	1.68192325403691e-05	0.000985901866001793	exon	ENSMUSG00000049122	Frmd3	protein_coding	
ENSMUSG00000020422	12011.9589538679	-0.465486979439311	0.0998932156033953	1.60654852628841e-08	2.59748884255839e-06	exon	ENSMUSG00000020422	Tns3	protein_coding	
ENSMUSG00000000560	8523.9345128665	0.405476666981322	0.141585344026148	1.52238432544901e-05	0.000910521974810214	exon	ENSMUSG00000000560	Gabra2	protein_coding	
ENSMUSG00000026442	50560.4121648808	-0.664002124731696	0.114310577410781	1.39045524150259e-10	4.26203499338074e-08	exon	ENSMUSG00000026442	Nfasc	protein_coding	
ENSMUSG00000058656	9885.43600682634	0.406660114618965	0.140005499036207	1.32934881728328e-05	0.000825261989396155	exon	ENSMUSG00000058656	Samd12	protein_coding	
ENSMUSG00000047146	3017.98363726486	-0.38108574427665	0.106721775964532	1.25162353589324e-06	0.000112976301126364	exon	ENSMUSG00000047146	Tet1	protein_coding	
ENSMUSG00000026482	14574.4484157313	0.307384943675601	0.083295595586396	1.19186799983437e-06	0.000108918968208466	exon	ENSMUSG00000026482	Rgl1	protein_coding	
ENSMUSG00000025809	7322.97370862849	-0.489623845703656	0.102519690226346	1.11356220049913e-08	1.88320007539584e-06	exon	ENSMUSG00000025809	Irgb1	protein_coding	
ENSMUSG00000022636	18549.7779837641	0.252342651885616	0.0757082967386956	1.1042903890435e-05	0.000715745572422776	exon	ENSMUSG00000022636	Alcam	protein_coding	
ENSMUSG00000015202	1141.19717120626	-1.45197382965251	0.219361638685055	1.07805845133211e-13	5.46947379118945e-11	exon	ENSMUSG00000015202	Cnksr3	protein_coding	

ENSMUSG00000033209	4022.13101133725	-0.432260271237072	0.0836971534594608	1.05108876375643e-09	2.49430144857233e-07	exon	ENSMUSG00000033209	Ttc28	protein_coding	5:111248560 111249966;5:11330790 111331297
ENSMUSG00000026347	1518.51911615887	-1.09124702809231	0.293678890670208	1.02650644270836e-06	9.61973840227266e-05	exon	ENSMUSG00000026347	Tmem163	protein_coding	1:127447082 127480541
ENSMUSG00000021814	7589.71794063373	0.273741579960089	0.0841101363199077	1.00364979884757e-05	0.000659227655823407	exon	ENSMUSG00000021814	Anxa7	protein_coding	14:20510227 20515014

## ANEXO A — PARECER CONSUBSTANCIADO

---

**PPG**  
**Ciências**  
**Biológicas**  
**Bioquímica**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE**

---

**PARECER CONSUBSTANCIADO**

O projeto de pesquisa intitulado “Avaliação da transcrição diferencial de RNA circular na doença de Alzheimer”, da aluna **Lavinia Perquim de Carvalho**, sob a orientação do Prof. Dr. Eduardo Rigon Zimmer, vinculado ao PPG Ciências Biológicas – Bioquímica desta Universidade, apresentado para apreciação da Comissão de Pós-Graduação, apresenta:

- Um tema relevante e com mérito científico uma vez que propõe desvendar mecanismos fisiopatológicos associados aos RNA circulares na doença de Alzheimer, e o valor como biomarcador periférico da doença no cérebro.
- Uma introdução fundamentada e com objetivos adequados ao estudo proposto. A metodologia é coerente para que os objetivos sejam alcançados, havendo até este momento uma infraestrutura adequada no Departamento para sua realização.
- Um cronograma de execução que prevê o período de 36 meses para a realização do projeto.

O projeto atende as exigências do “n” amostral, do detalhamento dos procedimentos experimentais e do tratamento dos rejeitos.

Sendo assim, somos de parecer favorável à aprovação do presente projeto.

Parecer aprovado em 08 fevereiro de 2023



---

Prof. Luis Valmor C. Portela

Fátima  
Theresinha Costa  
Rodrigues Guma

Assinado de forma digital  
por Fátima Theresinha  
Costa Rodrigues Guma  
Dados: 2023.02.08  
17:46:14 -03'00'