colloquium exactarum

ANÁLISE DA SIMILARIDADE DE SEQUÊNCIAS GÊNICAS DO ASCORBATO E DO LICOPENO EM ESPÉCIES VEGETAIS CULTIVADAS

ANALYSIS OF THE SIMILARITY OF GENE SEQUENCES OF ASCORBATE AND LYCOPENE IN CULTIVATED PLANT SPECIES

Ana Carolina Preto Malaman, Tais Lira Sevilha, Antonio Fluminhan

[1]Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Curso de Ciências Biológicas, Presidente Prudente, SP. e-mail: fluminhan@unoeste.br

RESUMO – A bioinformática tem auxiliado na identificação e comparação de sequências nucleotídicas responsáveis pela produção de substâncias antioxidantes em vegetais, utilizando bases genômicas de acesso público e diversos aplicativos capazes de alinhar sequências de diversas espécies. O presente estudo analisou as sequências nucleotídicas dos genes para ascorbato e licopeno, conhecidos por sua ação antioxidante, a fim de verificar em quais espécies vegetais essas substâncias já haviam sido identificadas e assim compará-las através cladogramas, observando o grau de similaridade entre as espécies e suas relações filogenéticas. Foi possível produzir uma representação das matrizes de similaridade dos genes analisados, que podem refletir a evolução dos demais caracteres. Este relato demonstra a viabilidade da metodologia proposta, que fornecem subsídios para estudos avançados das relações filogenéticas das espécies.
Palavras-chave: similaridade; antioxidantes; ascorbato; licopeno; bioinformática; Clustal W.

ABSTRACT – Bioinformatics has made possible the identification and comparison of nucleotide sequences responsible for the production of antioxidants compounds in plants by using genomic public access databases and several applications able to align sequences from different species. The present study analyzed the nucleotide sequences of the genes for ascorbate and lycopene, known for its antioxidant action, in order to verify which species these substances have already been identified as well as to compare them through cladograms, observing the degree of similarity between the species and their phylogenetic relationships. It was built the representation of similarity matrix from the genes, which might reflect the evolution of the remaining characters. This report shows the viability of the methodology, and provides a basis for more advanced studies about the phylogenetic relationships among the species.
Keywords: similarities; antioxidants; bioinformatics; ascorbate; lycopene; Clustal W.

Recebido em: 19/08/2014
Revisado em: 29/08/2014
Aprovado em: 16/09/2014

1 INTRODUÇÃO

A área das ciências biológica que, unida à informática, recebe a denominação de Bioinformática, está evoluindo e possibilitando grande avanço em pesquisas relacionadas à identificação de genes e estudos evolutivos. A bioinformática é uma área interdisciplinar da ciência aplicada que engloba a biologia, a ciência da computação, a química, a física e a matemática, tendo como objetivo principal a capitalização de tecnologias emergentes, aplicadas à investigação biológica (LESK, 2002). O crescimento abundante de dados sobre sequências de ácidos nucléicos, proteínas, estruturas de moléculas e expressão e regulação gênica nos bancos de dados, se tornaram muito mais quantitativos e precisos devido ao crescente interesse no estudo de genomas (FLEISCHMANN et al., 1995). As ferramentas de bioinformática são programas de computadores com capacidade de armazenamento alta e rápida, que auxiliam no alinhamento das sequências para a análise de informações, a partir da comparação de regiões similares e identificação de possíveis relações funcionais, estruturais e também para determinação de relações evolucionárias entre os organismos de uma forma mais simples e direta, através dos programas disponíveis na web com livre acesso para os pesquisadores.

A similaridade entre sequências de ácidos nucléicos e proteínas reflete o fato de que elas derivam por evolução da mesma sequência ancestral e podem possuir a mesma função biológica, determinando uma filogenia. O alinhamento de sequências revela quais posições foram conservadas e quais divergem entre os descendentes de um mesmo ancestral. Sequências que apresentam relação evolutiva sequências homólogas, o que não significa que elas são similares.

Entende-se por *alinhamento múltiplo de sequências*, o procedimento de comparar duas ou mais sequências procurando-se uma série de caracteres individuais ou padrões de caracteres que estão na mesma ordem nas sequências. Os alinhamentos de sequências dividem-se em duas categorias: alinhamento global, que se refere ao alinhamento de sequências nucleotídicas em toda sua expansão e o alinhamento local que busca alinhar regiões altamente similares (MOUNT, 2001).

Uma dieta rica de vegetais cultivados reduz os riscos das principais doenças humanas por apresentarem genes antioxidantes que por sua vez são mecanismos de defesa contra a atuação de radicais livres no organismo que danificam o DNA das células, bem como outros materiais genéticos. As fontes de radicais livres podem ser endógenas, quando produzidas pelo próprio organismo como produto de reações

metabólicas, ou exógenas provenientes do meio externo em especial a radiação ultravioleta fator principal contribuinte no processo de fotoenvelhecimento.

A lista dos principais aliados de uma boa saúde apresenta uma grande variedade de vegetais com diferentes tipos de agentes antioxidantes, surgindo a necessidade de estudos das relações genéticas em várias espécies, a fim de extrair informações e possíveis similaridades. Diversos genes podem ser utilizados em estudos genéticos. O NCBI, um dos maiores bancos de dados existentes, possui uma grande quantidade de sequências de genes cadastrados, porém nesse estudo foram escolhidas sequências gênicas de duas substâncias de origem vegetal com reconhecida ação antioxidante e protetora das células: Ascorbato e Licopeno.

2 JUSTIFICATIVA

A busca por uma vida mais saudável e uma longevidade maior, tem estimulado estudos sobre o envelhecimento celular. A forma como vivemos nosso dia-a-dia determina nosso padrão de envelhecimento, sendo muitas vezes visivelmente expresso pela aparência de nossa pele devido às alterações em nível celular, com diminuição da capacidade dos órgãos de executar suas funções normais, resultando provavelmente em doença e até mesmo em morte do paciente. Um dos maiores precursores para essa ocorrência trata-se da deterioração progressiva da homeostase celular e tecidual em resposta adaptativa a fatores ambientais (YAAR, 1995). Um dos fatores mais relatado atualmente é o fotoenvelhecimento, em resposta à exposição excessiva ao sol.

Além das inúmeras alterações histológicas causadas por esse tipo de fator, o fotoenvelhecimento contribui para o aumento de radicais livres no organismo, frequentemente associados ao envelhecimento precoce, por ser o responsável por diversas agressões físicas às células do corpo e tecidos. Segundo a teoria de Denham Harman, os radicais livres estão envolvidos no processo de envelhecimento, por provocarem danos celulares que são acumulados durante a vida, resultando em aceleração de disfunções.

Várias teorias tentam explicar as causas do envelhecimento, como a teoria genética, telomérica, imunológica e também da ação dos radicais livres. Se ocorrer um desequilíbrio entre os agentes oxidantes e pró-oxidantes, há um acúmulo de radicais livres no organismo, afetando seu funcionamento e muitas vezes levando a célula à morte. O envelhecimento é um processo deteriorativo progressivo e irreversível, havendo uma grande probabilidade de morte seja não só de uma célula, como do tecido, do órgão ou até mesmo de um indivíduo.

Alguns alimentos têm a capacidade de neutralizar a formação de radicais livres pelo

organismo por conter agentes antioxidantes. Diante desse fato surge a necessidade de análise de sequências nucleotídicas dos genes responsáveis pela produção desses agentes em espécie de vegetais cultivadas.

3 OBJETIVOS

Este projeto procurou estabelecer as bases para a implantação de um sistema para a análise de sequências gênicas responsáveis pela produção de substâncias que apresentam propriedades antioxidantes. Foram estudadas nove espécies de vegetais considerados comuns no âmbito regional, e com efeitos benéficos a saúde. Para tanto, foram utilizadas sequências de DNA para genes selecionados, disponibilizadas em bancos genômicos internacionais de acesso público.

Foram analisadas as sequências gênicas para as substâncias antioxidantes: ascorbato e licopeno, a fim de avaliar a semelhança entre os mesmos em diferentes espécies de plantas. Foi analisado o grau de similaridade dos genes responsáveis para cada uma das substâncias. Os resultados obtidos foram confrontados com a relação filogenética consensual entre as espécies estudadas, para cada uma das substâncias individualmente.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Fotoenvelhecimento

O fotoenvelhecimento da pele conhecido como envelhecimento extrínseco é desencadeado pela interação com fatores ambientais e ocorre especialmente pela exposição aos raios ultravioleta advindos de luz solar, podendo vir acompanhados por flacidez muscular e cutânea (VIEIRA, 2007). O sol é a principal causa de 90% de todos os cânceres de pele. A radiação mais associada ao processo é a UVA, que penetra a pele de modo mais profundo e atinge queratinócitos da epiderme e fibroblastos da derme, sendo mais prejudicial que a UVB. Todos esses fatores que predispõem a pele ao envelhecimento fazem com que haja aumento na produção de radicais livres pelo corpo.

Devido à deficiência de proteínas de histonas em resposta à exposição solar, ocorrem mutações no DNA mitocondrial fazendo com que haja aumento na produção de radicais livres. Cada tipo de onda atua de modo especifico, a radiação UVA age indiretamente através da geração de radicais livres que atuam na ativação de fatores envolvidos na transcrição do DNA. Esse processo resulta em mutações no DNA mitocondrial (KRUTMANN, 2001). A radiação UVB, por sua vez, também gera espécies de radicais livres, porém sua principal ação é a indução direta de dano ao DNA (STEGE et al., 2000).

4.2 Radicais Livres

Os radicais livres são substâncias químicas que possuem em sua estrutura um elétron desemparelhado na sua órbita mais externa, causador de uma alta instabilidade ao conjunto molecular. Para manter a estabilidade dessa molécula é necessária a doação ou captura de um elétron de outra molécula, o que leva o meio a um estresse oxidativo, processo no qual inicia uma cadeia de reações, que podem causar alterações nas proteínas extracelulares e modificações celulares e por consequência a perioxidação dos ácidos graxos que são os principais componentes da membrana celular podendo levar a celular à morte (ANDERSON, 1996). Além dessa fonte endógena de produção de radicais livres, fontes exógenas também são causas prováveis da formação de RL, que são provenientes das condições do meio externo ao sistema biológico, incluindo poluição do ar, tabaco, álcool, resíduos de pesticidas, solventes orgânicos, stress, dieta incorreta e exposição a radiações gama e ultravioleta.

Os radicais livres nem sempre são prejudicais para saúde, ao contrário, são necessários no nosso organismo pois são indispensáveis às nossas defesas contra as infecções, mas seu excesso é tóxico, favorecendo alterações nas células e no desenvolvimento de células cancerígenas.

4.3 Bioinformática

A bioinformática surgiu a partir da aplicação da Ciência da Computação no armazenamento, análise e geração de dados biológicos possibilitando um grande avanço nas pesquisas que transformaram a biologia. O crescimento abundante de sequências de ácidos nucléicos, proteínas, estruturas de moléculas e expressão e regulação gênica nos bancos de dados se tornaram muito mais quantitativos e precisos devido ao crescente interesse no estudo de genomas.

O entendimento de como os seres vivos são formados com base no genoma que os codificam não seria possível sem os avanços na área de hardware e software computacionais. A obtenção e a análise de informações exigem programas com meios de armazenamento rápidos e de alta capacidade para manter os bancos de dados. As ferramentas de bioinformática são programas de computadores que auxiliam na interpretação dos resultados gerados pelos diferentes sequenciamentos. Os mais populares são o BLAST (ALTSCHUL; LIPMAN, 1990) e o FASTA (PEARSON, 1991).

As informações entram no domínio da bioinformática quando um cientista deposita seus resultados experimentais em arquivos de bancos de dados apropriados. Com a popularização da rede mundial de computadores, a web possibilitou que usuários interajam com programas e bancos

de dados, tornando disponíveis para uma comunidade mundial de pesquisadores. Hoje em dia existem, não somente os bancos de dados de sequência de nucleotídeos e de aminoácidos, mas também inúmeros outros com informações bem específicas: enzimas, mutações, estruturas tridimensionais, etc.

Nesse sentido, a Bioinformática tem facilitado os estudos por possuir ferramentas úteis para a realização de pesquisas com os genes (SANTOS NETO; FLUMINHAN, 2014).

4.4 Clustal W

É um programa de computador para alinhamento múltiplo de sequências para DNA ou proteínas, produzindo alinhamentos de sequências divergentes com significância biológica. São calculados pelo programa os melhores pareamentos para cada sequência, e os alinhamentos são mostrados de tal forma que as identidades e diferenças ficam claras. Este programa dispõe de um ambiente integrado para leitura de arquivos em vários formatos. As relações evolucionárias podem ser vistas nos cladogramas e dendogramas formados pelo programa. Este programa está distribuído gratuitamente na internet, onde é possível acessar o clustal x com versão baseada no clustal w com interface mais didática.

4.5 Antioxidantes

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes resultam na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo. A produção contínua de radicais livres durante o processo metabólico de oxidação, ocorrido dentro das mitocôndrias levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos (SIES, 1993). A administração de antioxidantes tem demonstrado resultados positivos na prevenção do dano celular provocado pela ação dos radicais livres por atuarem em diferentes níveis de atuação na proteção dos organismos.

Sua primeira reação é impedir a formação de moléculas de radicais livres, eles são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas.

Os estudos sobre os antioxidantes têm ressaltado, principalmente, o uso de nutrientes isolados no tratamento e prevenção de doenças. Entretanto, nos

alimentos são encontradas grandes variedades de substâncias que podem atuar em sinergismo na proteção das células e tecidos (JACOB, 1995).

4.6 Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico, mais conhecido como vitamina C ou ascorbato na sua forma ionizada, é um poderoso antioxidante, com função de transformar os radicais livres de oxigênio em formas inertes (SIES, 1993; RIGHETTO, 2003). Sua maior propriedade é a produção de colágeno. Ele ajuda às células do organismo, incluindo o desenvolvimento e regeneração de ossos, dentes, gengivas, os ligamentos e os vasos sanguíneos a permanecer saudáveis. Ajuda também o organismo a responder infecções e ao estresse, além de auxiliar a utilização eficiente do ferro.

São vários os fatores que influenciam no teor de vitamina C em frutas, como: grau de maturação, tratos culturais, condições de plantio e manuseio pré e pós-colheita, bem como estocagem. No entanto, é possível controlar tais fatores por meio de tecnologias adequadas, tais como tratamento térmico, armazenamento em baixas temperaturas e os dois associados (RIGHETTO, 2003).

4.7 Licopeno

O pigmento vermelho licopeno é um carotenóide que se acumula em frutos, flores e raízes de algumas espécies vegetais, incluindo, hortaliças e fruteiras. A principal fonte de licopeno na dieta humana é o fruto do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) e seus derivados. A estrutura química singular do licopeno confere marcante ação antioxidante, contribuindo na prevenção de doenças degenerativas, cardiovasculares e de certos tipos de câncer. Devido a sua estrutura química, o licopeno figura como um dos melhores supressores biológicos de radicais livres, especialmente aqueles derivados do oxigênio. Entre uma série de carotenóides avaliados, o licopeno mostrou-se como um dos mais eficientes antioxidantes, podendo doar elétrons para neutralizar as moléculas de oxigênio singleto e outras moléculas oxidantes antes que elas prejudiquem as células (RAO; AGAWAL, 2000).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

Para as análises envolvidas neste estudo, foi utilizado um computador equipado com processador Intel Core i5, 4GB de memória, HD de 1TB com placa de vídeo 1GB, configurado com permissão de administrador, e uma impressora jato de tinta colorido; scanner de mesa e acesso irrestrito a internet.

5.2 Metodologia

Sequências de nucleotídeos dos genes responsáveis pela síntese de ascorbato e do licopeno de diferentes espécies de plantas foram obtidas a partir dos bancos de dados genômicos disponibilizados pelo GenBank (National Center for Biotechnology Information), localizado nos Estados Unidos (KARLIN; ALTSCHUL, 1990; BENSON et al., 1999), EBI (European Bioinformatics Institute), sediado na Europa e o DDBJ (DNA Data Bank of Japan), descrito por (SANSOM; SMITH, 2000) e mantido pelo governo do Japão.

As sequências foram comparadas entre si através da ferramenta BLAST, conforme descrito por Zhang e Massen, (1997), Zhang (1998) e Carneiro (2000) e os resultados obtidos foram relacionados através da construção de dendogramas dos genes através da ferramenta Clustal W, conforme (MAGALHÃES; GAFEIRA; VICENTE, 2002).

6 RESULTADOS

Quatro genes responsáveis pela síntese do ascorbato e do licopeno foram selecionados e analisados nas bases NCBI (Estados Unidos), EBI (Europa) e DDBJ (Japão), através da ferramenta BLAST, de forma a verificar-se em quais espécies vegetais as duas substâncias já foram identificadas e analisadas. Sequências nucleotídicas de nove vegetais cultivados foram selecionadas, utilizando-se como critério de seleção a existência de, pelo menos, duas sequências dentre os quatro genes estudados (Ascorbato Oxidase, Ascorbato Peroxidase, Licopeno Beta Ciclase, Licopeno Épsilon Ciclase). Para a avaliação de similaridade entre os vegetais para cada gene as sequências obtidas foram formatadas através da ferramenta FASTA e analisadas através da construção de dendogramas obtidos pelo Clustal W.

A Figura 1 apresenta o dendograma de similaridade genética do gene para Ascorbato Peroxidase, onde pode-se observar que as sequências para o goji-berry e tabaco apresentaram grande similaridade. Na mesma figura, a mamona e o tomate também apresentaram relação genética de proximidade, enquanto a soja e o cacau apresentaram significativa distância das demais espécies.

Na formação do dendograma da Figura 2, que demonstra a similaridade genética do gene para Ascorbato Oxidase, foi possível observar similaridades em alguns casos isolados, tais como o goji-berry, o tomate e o tabaco, todos pertencentes à família das Solanaceas, enquanto o morango silvestre e a uva, com taxonomias totalmente diferentes apresentaram notória proximidade genética entre si. Nesta figura, nota-se que o pepino apareceu distante das outras espécies.

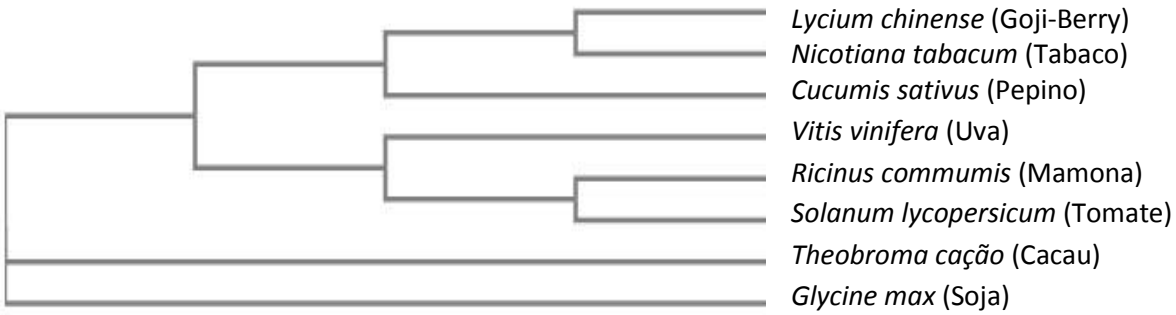


Figura 1. Dendograma de similaridade genética do gene para Ascorbato Peroxidase - APX
Fonte: Clustal W. (ano)

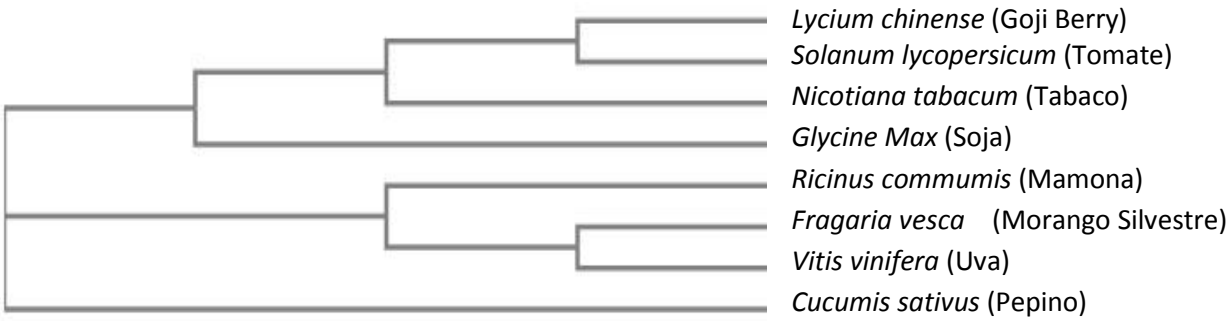


Figura 2. Dendograma de similaridade genética do gene Ascorbato Oxidase - AO
Fonte: Clustal W. (ano)

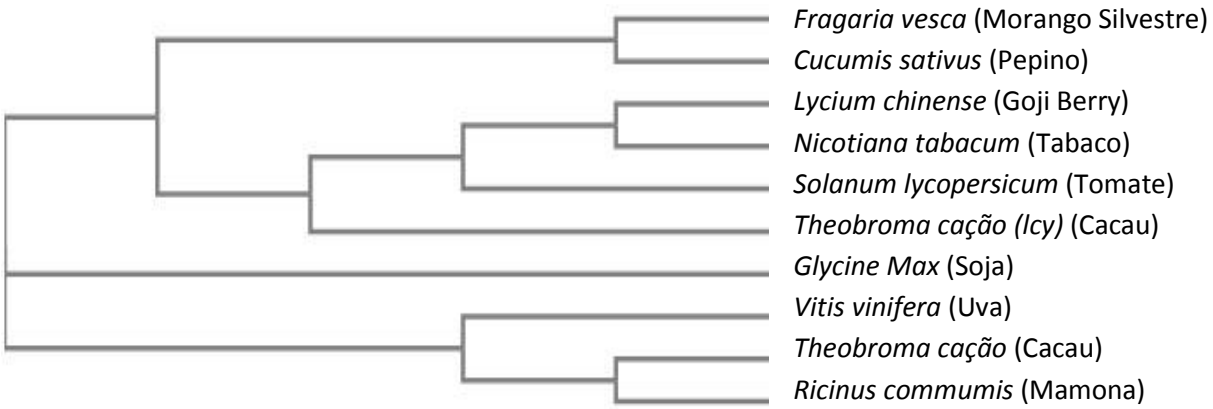


Figura 3. Dendograma de similaridade genética do gene Licopeno Epsilon Cyclase - LECY
Fonte: Clustal W. (ano)

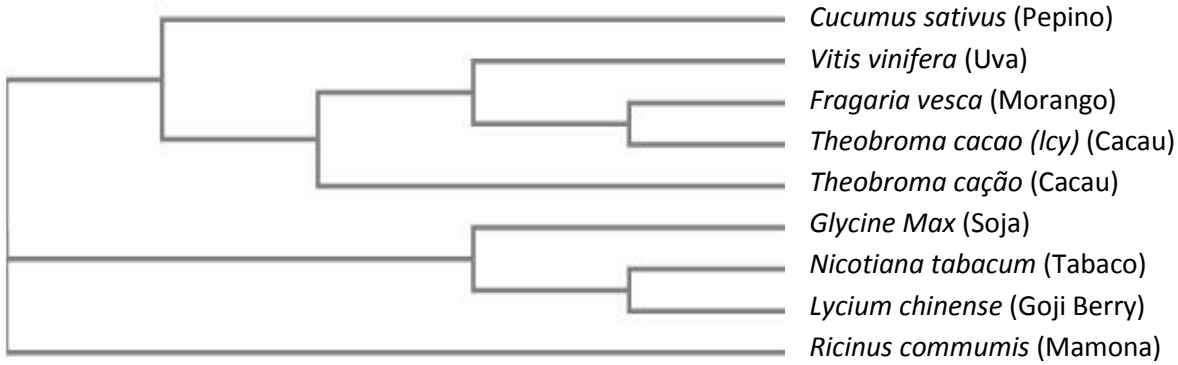


Figura 4. Dendograma de similaridade genética do gene Licopeno Beta Cyclase - LCYB
Fonte: Clustal W. (ano)

Na Figura 3, que apresenta a similaridade genética do gene para Licopeno Epsilon Cyclase (LECY), o morango apresentou maior similaridade com as sequencias oriundas do pepino, enquanto goji-berry e o tabaco apareceram novamente próximos. Por sua vez, o cacau apresentou uma matriz de similaridade com a mamona. A uva mostrou uma grande divergência evolutiva comparada às outras espécies.

Conforme observado na Figura 4, referente ao dendograma de similaridade genética do gene Licopeno Beta Cyclase, o morango silvestre apareceu próximo ao cacau, que apresenta um gene diverso (denominado Licopeno Ciclase). Já o gene LCYB do cacau apresentou distância de todas as espécies. O tabaco mostrou similaridade com o goji-berry e a mamona e, neste dendograma, manteve-se distante do cacau.

7 DISCUSSÃO

Na construção dos dendogramas foi possível verificar a proximidade de algumas espécies, revelando que os organismos filogeneticamente posicionados mais próximos apresentaram um maior grau de similaridade em suas sequências gênicas, refletindo o fato de que elas derivam por evolução da mesma sequência ancestral do que organismos que estão posicionados mais distantes. É regra comum que, quanto maior a distância de uma sequência da outra, maior será a divergência evolutiva entre elas, o que corrobora estudos realizados em outras espécies (MAGALHÃES; GAFEIRA; VICENTE, 2002; RIDLEY, 2006).

Em quase todos os dendogramas ficou bastante visível a similaridade existente entre sequências dos vegetais de uma mesma família. Ocorreram divergências na comparação de similaridade gênica entre algumas espécies, como no caso da mamona, que aparece próxima ao tomate no cladograma referente ao gene AO, enquanto no cladograma referente ao gene LECY ele aparece próxima ao cacau. Com relação ao morango silvestre também foi possível observar divergências, pois ele aparece próximo a diferentes espécies em relação aos genes avaliados.

Supõe-se que as divergências percebidas na avaliação de alguns genes ocorrem devido à relevância dos mesmos durante o processo evolutivos das espécies estudadas. Por se tratarem de genes não essenciais ao desenvolvimento evolutivo, algumas espécies não apresentaram correspondência com o cladograma da classificação taxonômica. Conforme descrito por Carneiro (2000) e Ridley (2006), este fato pode estar relacionado ao grau de dependência que a própria sobrevivência da espécie possui em relação aos genes essenciais. Assim, poucas diferenças seriam encontradas entre os seus cladogramas gênicos e suas relações filogenéticas.

8 CONCLUSÕES

Através da análise de genes selecionados foi possível realizar classificação com base na similaridade de sequencias e construir dendogramas que permitem uma representação das matrizes desta similaridade. Tais matrizes podem ou não refletir a evolução dos demais caracteres. Os resultados apresentados demonstram a viabilidade e o sucesso das ferramentas da Bioinformática. Espera-se que este trabalho possa colaborar para estudos avançados das relações filogenéticas das espécies envolvidas, com base na análise de similaridade de sequências dos genes avaliados. Esta conquista representa uma nova abordagem para a verificação da evolução molecular, com vistas à identificação de variações mais comuns encontradas nos diferentes táxons.

9 REFERÊNCIAS

ALTSCHUL, S. F.; LIPMAN, D. J. Protein database searches for multiple alignments. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.87, p.5509-5513, 1990. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.87.14.5509

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v.350, n.1, p.103-108, 1996. http://dx.doi.org/10.1016/0027-5107(95)00096-8

BENSON, D. A. et al. GenBank. **Nucleic Acids Research**, v.27, n.1, p.12-17, 1999. http://dx.doi.org/10.1093/nar/27.1.12

CARNEIRO, N. P. et al. Desvendando o código genético. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, São Paulo, Ano 3, n.17, nov./dez. 2000. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/bio29/bioinfo.asp>. Acesso em: 21 nov. 2013.

FLEISCHMANN, R.D. et al. Whole-genome randon sequencing and assembly of Haemophilus influenza Rd. **Science**, n.269, p.496-512, 1995. http://dx.doi.org/10.1126/science.7542800

JACOB, R.A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, New York, v.15, n.5, p.755-766, 1995. http://dx.doi.org/10.1016/0271-5317(95)00041-G

KARLIN, S.; ALTSCHUL, S. F. Methods for assessing the statistical significance of molecular sequence features by using general scoring schemes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.89, p.2264-2268, 1990. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.87.6.2264

KRUTMANN, J. The role of UVA rays in skin aging. **Eur J Dermatol**., n.11, p.170-1, 2001.

LESK, A.M. **Introdução à bioinformática**. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2002.

MAGALHÃES D.; GAFEIRA J.; VICENTE, L. Distâncias e similaridades em sequências mRNA utilizando algoritmos evolutivos. In: WORKSHOP BIOMED. **Anais...** Instituto Superior Técnico, Engenharia Biomédica, 2002.

MOUNT, D.W. **Bioinformatics.** Sequence and Genome Analysis. 1. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

PEARSON, W. Searching protein sequence libraries: comparison of the sensitivity and selectivity of the smith-waterman and FASTA

algorithms. **Genomics**, n.11, p.635-650, 1991. http://dx.doi.org/10.1016/0888-7543(91)90071-L

RAO, A.V.; AGAWAL, S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. **Journal of the American College of Nutrition**, v.19, n.5, p.563-569, 2000. http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2000.10718953

RIDLEY, M. **Evolução**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

RIGHETTO, A. M. **Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização**. 2003. 200f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.

SANSOM, C.E.; SMITH, C.A. Computer applications in biomolecular sciences. Part 2: bioinformatics and genome projects **Biochemical Education,** n.28, p.127-131, 2000. http://dx.doi.org/10.1016/S0307-4412(99)00142-9

SANTOS NETO, A.A.; FLUMINHAN, A. Implantação de metodologias para análise comparativa de sequências genômicas relacionadas ao câncer de pele. **Colloquium Exactarum**, v. 6, n.3, Set-Out. 2014, p.01 –09. http://dx.doi.org/10.5747/ce.2014.v06.n3.e084

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.215, n.2, p.213-219, 1993. http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb18025.x

STEGE, H. et al. Enzyme plus light therapy to repair DNA damage in ultraviolet-B-irradiated human skin. **Proc Natl Acad Sci USA**., n.97, p.1790-5, 2000. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.030528897

VIEIRA, F.N. M**ecanismos moleculares do envelhecimento cutâneo:** dos cromossomos as rugas. São Paulo: Artes Médicas, 2007.

YAAR, M. Molecular mechanisms of skin aging. **Adv Dermatol.,** n.10, p.63-75, 1995.

ZHANG, Z. et al. Protein sequence similarity searches using patterns as seeds. **Nucleic Acids Research**, 1998, v.26, n.17, 1998. http://dx.doi.org/10.1093/nar/26.17.3986

ZHANG, J.; MASSEN, T. L. **PowerBLAST**: A new network BLAST application for interactive or automated sequence analysis and annotation. Maryland: National Center for Biotechnology Information (NCBI), National Library of Medicine, National Institutes of Health, 1997.