

DESENVOLVIMENTO DE UM APLICATIVO WEB PARA A BUSCA COMPARATIVA DE GENES DE MIRNAS E GENES ALVOS DE MIRNAS ESPECÍFICOS DE PLANTAS

Áurea V. FOLGUERAS-FLATSCHART¹, Ricardo de S. RIBEIRO², Roberto B. FLATSCHART³, Suelmar Z. CASTRO⁴, Ronald de A. PEREIRA⁵, Bernardo P. R. de CARVALHO⁶, José Edson F. FIGUEIREDO⁷

^{2,4,6}ItB3–Instituto Brasileiro de Biotecnologia e Bioinformática, Fundação Biominas, Belo Horizonte-MG, Brasil, ^{1,7}CNPMS, EMBRAPA, Sete Lagoas-MG, Brasil, ³DIPRO, INMETRO, Duque de Caxias-RJ, Brasil,

⁵Koala Informática, Sete Lagoas-MG, Brasil

1aureavff@cnpmc.embrapa.br, 2ricardo.souza@itb3.bio.br, 3rbflatschart@inmetro.br,
4suelmar.castro@itb3.bio.br, 5ronald-pereira@uol.com.br, 6bernardo.penna@itb3.bio.br,
7jeff@cnpmc.embrapa.br

RESUMO

Neste trabalho é descrita a construção de uma base de dados de miRNAs de plantas e o desenvolvimento de uma ferramenta de buscas que permite a localização de possíveis seqüências alvos em genes de plantas, a comparação de miRNAs em diferentes espécies vegetais e a identificação de novos miRNAs nestes organismos. No aplicativo Web desenvolvido, as buscas são feitas, com auxílio do programa BLASTN, em uma base de dados de miRNAs específicos de plantas construída a partir da filtragem de bases pré-existentes. Entre outras aplicações, a nova base de dados e a ferramenta de busca poderão ser úteis no estudo comparativo e evolutivo dos miRNAs de plantas e sua possível contribuição na diversidade fenotípica das plantas.

INTRODUÇÃO

Os microRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas de RNA, com até 22 nucleotídeos, que atuam como reguladores negativos pós-transcricionais. Controlam a estabilidade de mRNAs ou a eficiência de sua tradução, inibindo, por ligação específica, a síntese de proteínas ou promovendo a degradação de seus mRNAs-alvos. A maior categoria de alvos para miRNA correspondem a genes de fatores de transcrição, proteínas de transdução de sinal e proteínas ligadas ao desenvolvimento e à resposta a estresses. Nas plantas, os miRNAs são essenciais nas respostas adaptativas aos diferentes tipos de estresses, bióticos e abióticos (Abdurakhmonov *et al.*, 2007). Embora muitos miRNAs sejam conservados entre as espécies, um grande número de miRNAs de plantas têm se mostrado espécie-específicos ou grupo-específicos (Ehrenreich & Puruggnan, 2008), indicando que mutações nos miRNAs em populações naturais podem determinar mudanças evolutivas. Para este tipo de estudo, a caracterização da contribuição dos miRNAs na evolução das plantas, se faz necessária a identificação dos miRNAs nas diferentes espécies e potenciais mutações entre elas. Como, em plantas, os miRNAs possuem elevado grau de complementaridade às seqüências de seus mRNAs-alvos, é possível o emprego da bioinformática para a predição confiável de seqüências candidatas à regulação por miRNAs (Adai *et al.*, 2005). Assim, com a construção de

uma base de dados de miRNAs específica e o uso do programa BLASTN, foi possível desenvolver esta ferramenta para busca de similaridades com miRNAs de plantas.

MATERIAL E MÉTODO

Base de dados de miRNAs específicos de plantas: Esta base de dados foi construída a partir de dados recuperados da miRBASE, do Sanger Institute, (Griffiths-Jones *et al.*, 2006) e armazenados localmente. Programas em shell script foram usados para a formatação multiFASTA e a filtragem de dados provenientes de plantas vasculares, monocotiledôneas e dicotiledôneas. Para isto, usou-se como referência listas de gêneros de plantas recuperadas do «Kew's Royal Botanic Gardens» (www.kew.org/).

Programa de Busca: O programa de buscas usado no aplicativo web é o BLASTN, do pacote BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Altschul *et al.*, 1990). O programa foi instalado localmente em ambiente LINUX (distribuição Kubuntu).

Aplicativo Web: O aplicativo web, desenvolvido em PHP 6, faz as consultas à nova base de dados, específica de miRNAs de plantas, usando o programa BLASTN e como

arquivo de entrada a seqüência inserida pelo usuário em campo definido num formulário. Além deste dado, é possível inserir e alterar vários parâmetros de busca. O arquivo de saída é impresso em uma janela web permitindo sua gravação.

RESULTADO E DISCUSÃO

O aplicativo, uma página Web, preliminarmente chamada «Plant miRNA World», oferece ao usuário uma forma amigável de consulta, via BLASTN, à base de dados específica de miRNAs de plantas (Figura 1).

Figura 1 - Aparência do aplicativo ao usuário. Os pontos numerados indicam:

- 1 - a janela do formulário para entrada da seqüência de interesse.
- 2 - os dados filtrados que podem ser consultados na base de dados de miRNAs de plantas.
- 3 - os parâmetros que podem ser alterados no processo de busca pelo BLASTN.
- 4 - o botão para execução do programa BLASTN.

A base de dados criada e este aplicativo, desenvolvidos com o objetivo inicial de auxiliar no planejamento de experimentos que usam miRNAs para o estudo dos efeitos do silenciamento gênico, mostram-se úteis também como uma ferramenta no estudo comparativo e evolutivo dos miRNAs de plantas e sua possível contribuição na diversidade fenotípica das plantas.

Suporte Financeiro: FAPEMIG e CNPq, Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAI, A.; JOHNSON, C.; MLOTSHWA, S.; ARCHER-EVANS, S.; MANOCHA, V.; VANCE, V.; SUNDARESAN, V. 2005. Computational prediction of miRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Genome Research*, 15, 78-91.
- ABDURAKHMONOV, I.; DEVOR, E.J.; ABDUKARIMOV, A. 2007. Molecular cloning and characterization of tissue expressed microRNAs in cotton, *G. hirsutum* L. Plant & Animal Genomes XV Conference. P820: Cellular Processes and Regulatory Networks.
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MEYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215, 403-410. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>>.
- EHRENREICH, I. M., PURUGGANAN, M.. 2008. MicroRNAs in Plants. *Plant Signaling & Behavior* 3, 829-830.
- GRIFFITHS-JONES S, GROCOCK RJ, VAN DONGEN S, BATEMAN A, ENRIGHT AJ.V.. 2006. *miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature*. *Nucleic Acidis Research* 34, D140-D144. <<http://microrna.sanger.ac.uk/>>.