

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

Áurea V. FOLGUERAS-FLATSCHART<sup>1</sup>, Ricardo de S. RIBEIRO<sup>2</sup>, Roberto B. FLATSCHART<sup>3</sup>, Suelmar Z. CASTRO<sup>4</sup>, Ronald de A. PEREIRA<sup>5</sup>, Bernardo P. R. de CARVALHO<sup>6</sup>, José Edson F. FIGUEIREDO<sup>7</sup>

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

<sup>5</sup>Koala 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/](http://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).

This site was created for scientists working on plant miRNAs and their targets: miRNAs and DNA sequences from different database (see below) were piece together in this site. New miRNAs and genes will be added to database as soon as their are published. This site allows scientists to compare their cloned pri-miRNA and/or miRNAs with previously described miRNAs, and allows you to predict your mRNA and ESTs sequences.

Enter your sequence

Select the database

Match

Mismatch

Gap opening cost

Gap extension

Word size

number of sequences to show

Submit Query Reset

published miRNA filtered for Vascular plants

All published miRNA data from miRBase

published miRNA filtered for Vascular plants

published miRNA filtered for Monocotyledons

published miRNA filtered for Dicotyledons

All mature miRNAs from miRBase

All mature miRNAs filtered for Vascular plants

All mature miRNAs filtered for Monocotyledons

All mature miRNAs filtered for Dicotyledons

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/>>.