

Estudios sobre la regulación de la expresión génica por microARNs en plantas mediante estrategias bioinformáticas

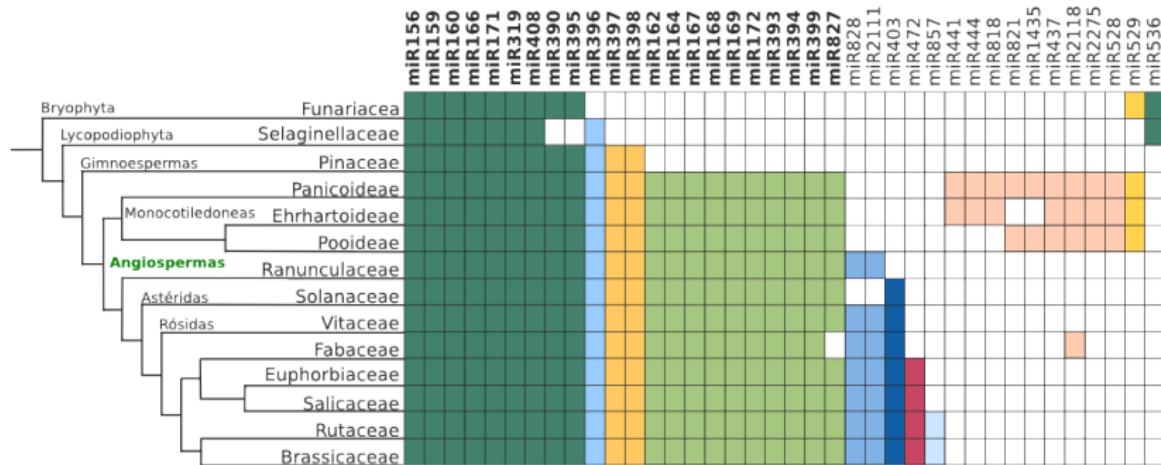
Uciel Chorostecki

Director Dr. Javier Palatnik
Instituto Biología Molecular y Celular Rosario

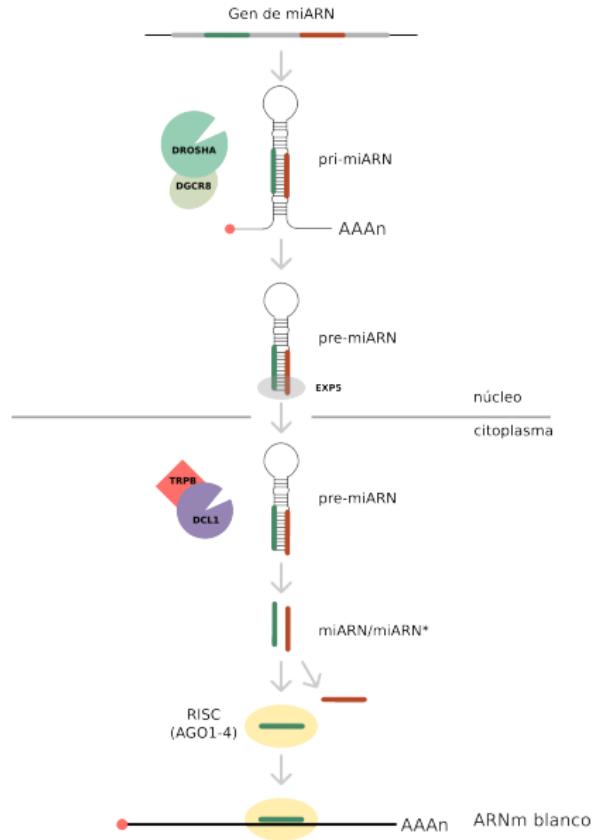
Los microARNs (miARNs) son ARN pequeños de 20-22 nt que regulan la expresión génica en animales y plantas.

- ▶ Controlan una gran variedad de procesos biológicos, como el desarrollo, la diferenciación y proliferación celular, y respuesta a estrés
- ▶ En *A. thaliana* se han identificado más de 300 miARNs.
- ▶ Están codificados por familias de genes de 1 a 32 miembros que dan lugar a miARNs maduros idénticos o muy similares.
- ▶ Muchos de ellas han aparecido recientemente en la evolución y por lo tanto aparecen en un número pequeño de especies.

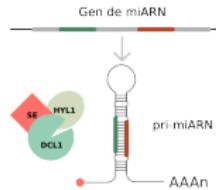
22 familias de miARNs que están altamente conservadas en las plantas



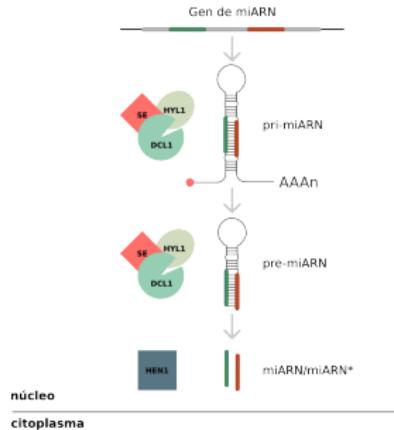
Procesamiento de miARNs en animales



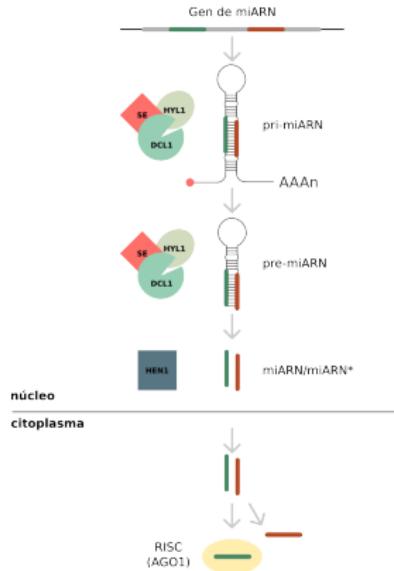
Biogénesis y actividad de miARNs en plantas



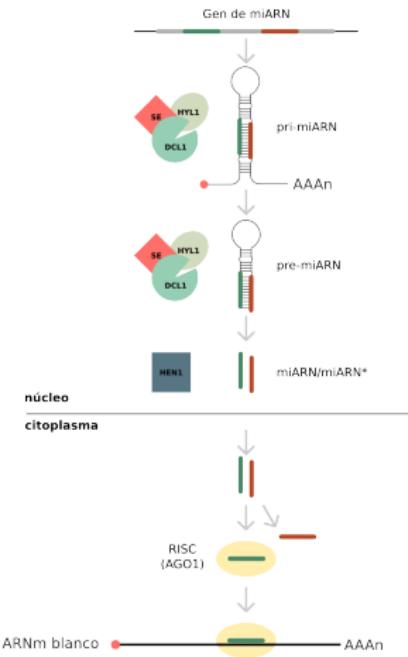
Biogénesis y actividad de miARNs en plantas



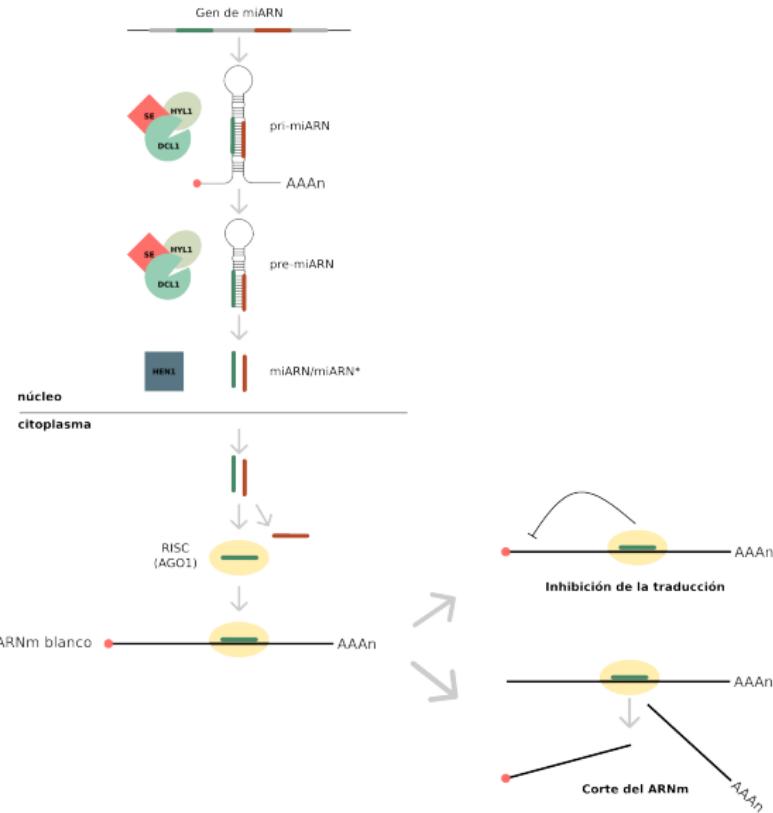
Biogénesis y actividad de miARNs en plantas



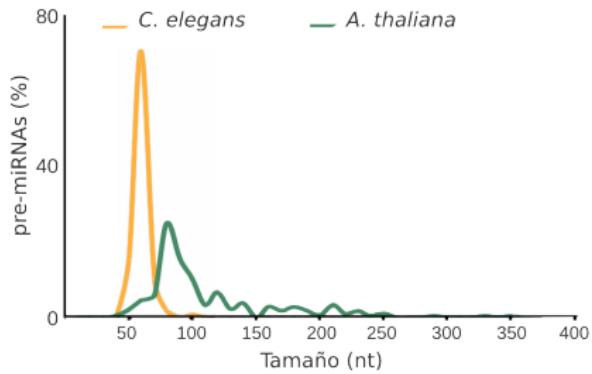
Biogénesis y actividad de miARNs en plantas



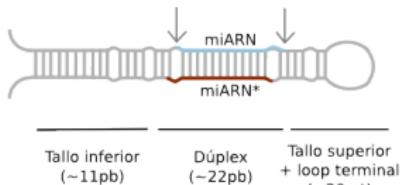
Biogénesis y actividad de miARNs en plantas



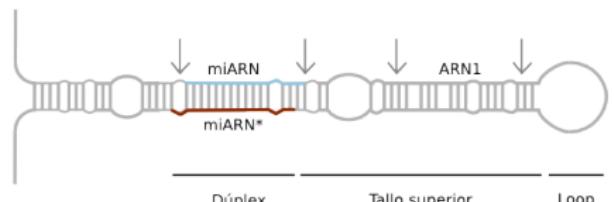
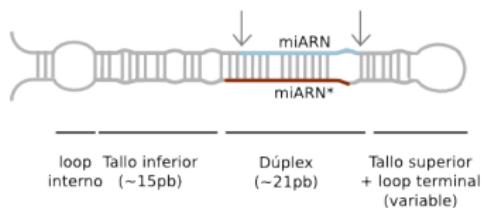
El tamaño de los precursores es muy variado en plantas



Estructuras secundarias de precursores de miARNs



pre-miARNs de animales



pre-miARNs de plantas

En animales existe un gran número de genes blancos mediado por miARNs y un ARNm puede estar regulado por varios miARNs, en cambio los miARNs en plantas regulan un número limitado de genes blanco.

En animales existe un gran número de genes blancos mediado por miARNs y un ARNm puede estar regulado por varios miARNs, en cambio los miARNs en plantas regulan un número limitado de genes blanco.

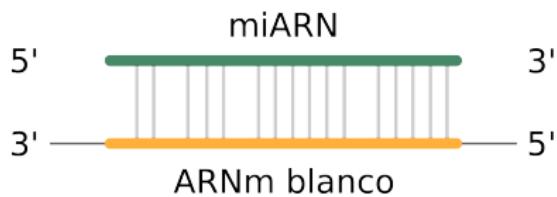
- ▶ Regulación por corte del ARN blanco.
 - ▶ Es el mecanismo más común en plantas.
 - ▶ El corte ocurre entre las posiciones 10 y 11 desde el extremo 5' del miARN.

En animales existe un gran número de genes blancos mediado por miARNs y un ARNm puede estar regulado por varios miARNs, en cambio los miARNs en plantas regulan un número limitado de genes blanco.

- ▶ Regulación por corte del ARN blanco.
 - ▶ Es el mecanismo más común en plantas.
 - ▶ El corte ocurre entre las posiciones 10 y 11 desde el extremo 5' del miARN.
- ▶ Regulación de la traducción por miARNs.
 - ▶ Inhibición de la traducción del ARNm blanco por el miARN explica la represión de la expresión de los blancos de miARNs en animales.
 - ▶ Otras veces los miARNs de animales disminuyen la vida media de los transcriptos a los que se unen.

Predicción de genes blancos de miARNs

Plantas



Animales



Diseñar estrategias computacionales para:

- ▶ identificar redes regulatorias de miARNs en plantas.
- ▶ comprender la biogénesis de los miARNs en plantas.

Diseñar estrategias computacionales para:

- ▶ identificar redes regulatorias de miARNs en plantas.
- ▶ comprender la biogénesis de los miARNs en plantas.

Objetivos específicos

- ▶ Diseñar una estrategia para la identificación de genes blancos regulados por miARNs.
- ▶ Caracterizar precursores de miARNs en distintas especies que tengan mecanismos de procesamiento distintos.
- ▶ Caracterizar la relación entre la evolución de los precursores de miARNs en plantas y los mecanismos de procesamiento determinados previamente.

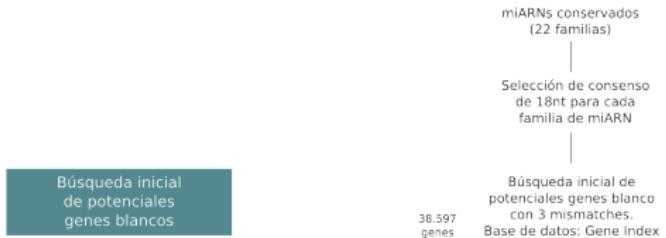
- ▶ Diseñar una estrategia para la identificación de genes blancos regulados por miARNs.
- ▶ Caracterizar precursores de miARNs en distintas especies que tengan mecanismos de procesamiento distintos.
- ▶ Caracterizar la relación entre la evolución de los precursores de miARNs en plantas y los mecanismos de procesamiento determinados previamente.

- ▶ Estrategias computacionales donde tienen en cuenta la complementariedad con sus mensajeros blanco.
- ▶ Uno de los mayores desafíos es predecir los genes regulados por estos ARN pequeños con una baja frecuencia de predicciones falsas.

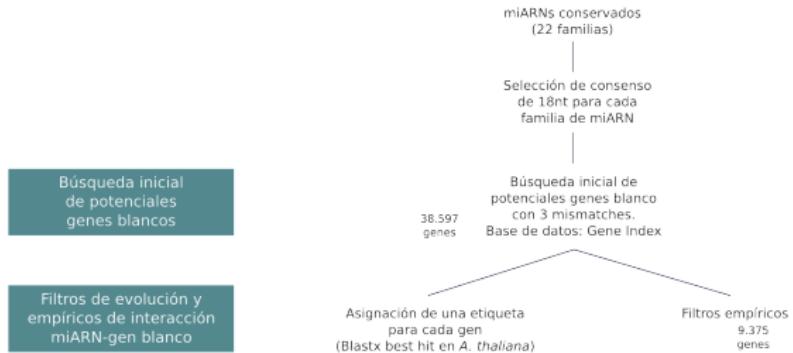
Conservación y divergencia de miARNs en distintas especies

	BAD	AVG	GOOD	miR319		BAD	AVG	GOOD	miR160
ath	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		ath	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ath	mir319b	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		ath	m1R160b	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ath	mir319c	JUUGGCACUAAGGGAGCUCUU	U		ath	m1R160c	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ath	mir319d	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		bdi	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
cpa	mir319	AJUUGGCACUAAGGGAGCUCU			bdi	m1R160c	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
cs1	mir319	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCU			bdi	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			bdi	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319b	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			bdi	m1R160f	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319g	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			cpa	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319h	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		cpa	m1R160c	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319j	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		cpa	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319k	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		cpa	m1R160e	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319l	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		cpa	m1R160f	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319m	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		csi	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319n	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		gma	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
gma	mir319q	JUUGGCACUAAGGGAGCUCUC			gma	m1R160b	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
mdm	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		gma	m1R160c	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
mdm	mir319b	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		gma	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
mdm	mir319c	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC	U		gma	m1R160e	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
mtr	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mdm	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
mtr	mir319b	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mdm	m1R160b	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
mtr	mir319c	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mdm	m1R160c	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
mtr	mir319d	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mdm	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
osa	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mdm	m1R160e	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
mir319b		JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mdm	m1R160f	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ppc	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mdm	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ptc	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mdm	m1R160e	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ptc	mir319b	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mdm	m1R160f	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ptc	mir319c	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mtr	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ptc	mir319d	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mtr	m1R160b	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ptc	mir319e	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mtr	m1R160c	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ptc	mir319f	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mtr	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ptc	mir319g	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mtr	m1R160e	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ptc	mir319h	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			mtr	m1R160f	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
ptc	mir319i	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			osa	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
sly	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			osa	m1R160b	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
sly	mir319b	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			osa	m1R160c	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
sly	mir319c	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			osa	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
sly	mir319d	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			osa	m1R160e	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
sly	mir319e	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			osa	m1R160f	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
vvi	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			vvi	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
vvi	mir319b	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			vvi	m1R160b	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
vvi	mir319c	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			vvi	m1R160c	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
vvi	mir319f	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			vvi	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
vvi	mir319g	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			vvi	m1R160e	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
vvi	mir319h	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			vvi	m1R160f	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
vvi	mir319i	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			zma	m1R160a	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
zma	mir319a	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			zma	m1R160b	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
zma	mir319c	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			zma	m1R160c	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
zma	mir319b	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			zma	m1R160d	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		
zma	mir319d	JUUGGCACUAAGGGAGCUCCC			zma	m1R160f	UGCUCGGCUCCCUGUAGUAGCC		

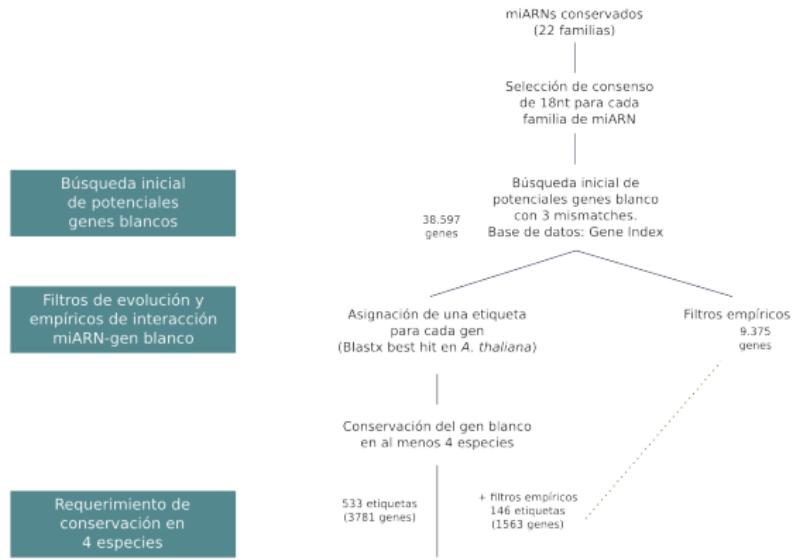
Esquema de la estrategia para la identificación de nuevos genes blancos



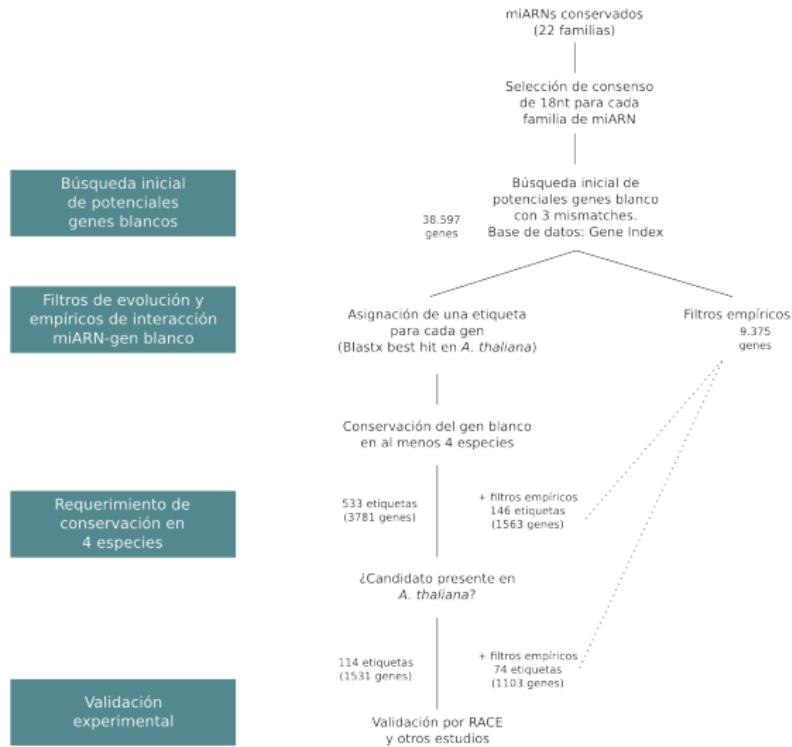
Esquema de la estrategia para la identificación de nuevos genes blancos



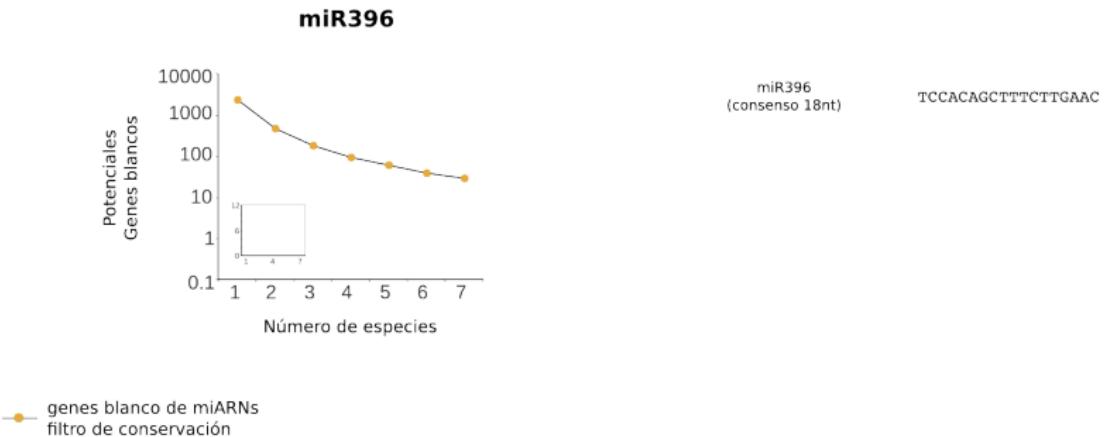
Esquema de la estrategia para la identificación de nuevos genes blancos



Esquema de la estrategia para la identificación de nuevos genes blancos



Conservación de la interacción en distintas especies

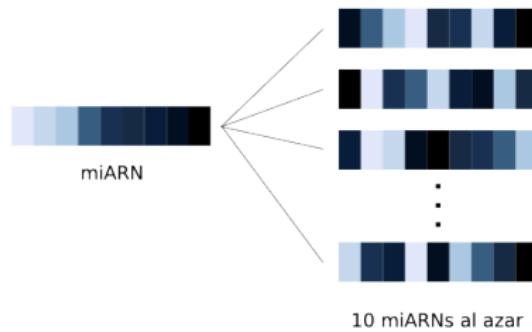


miARN consenso de 18 nt

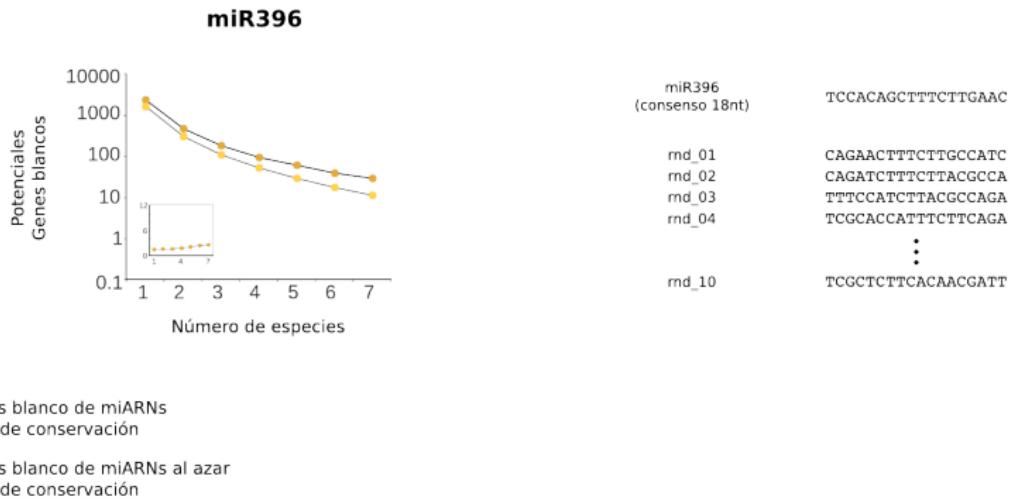


miARN

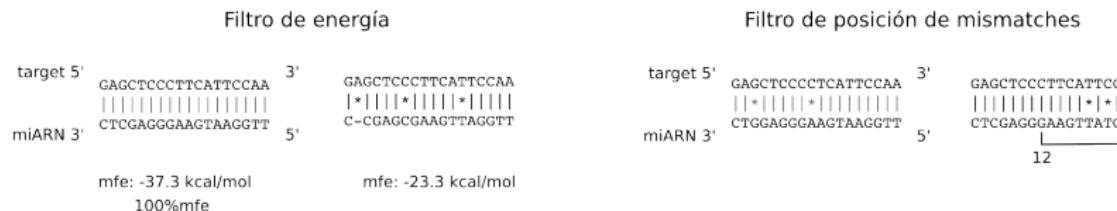
Control: miARN al azar



La relación señal/ruido incrementa al aumentar el número de especies



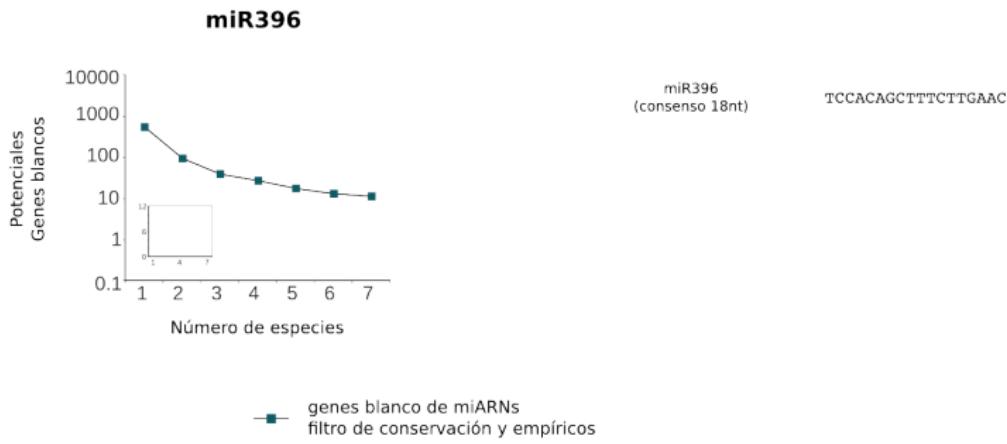
Parámetros empíricos deducidos de interacciones miARN-gen blanco validadas experimentalmente.



Parámetros empíricos deducidos de interacciones miARN-gen blanco validadas experimentalmente. Filtros aplicados en nuestra estrategia.

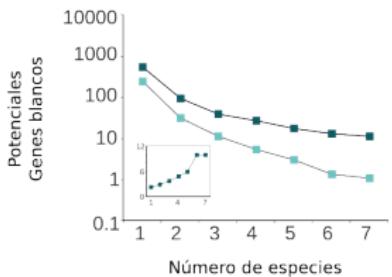


Selección de candidatos teniendo en cuenta los filtros empíricos



Al aplicar filtros empíricos y de conservación la relación señal/ruido aumenta

miR396

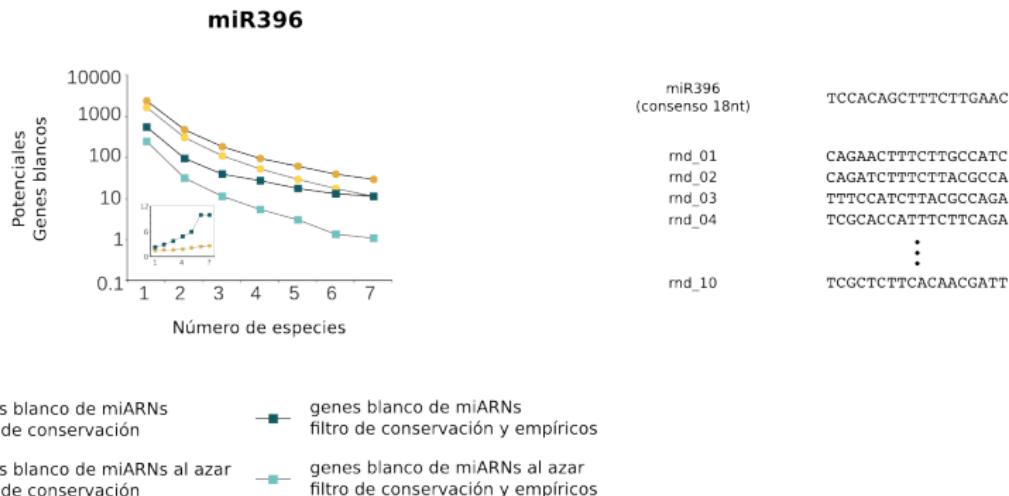


- genes blanco de miARNs
filtro de conservación y empíricos
- genes blanco de miARNs al azar
filtro de conservación y empíricos

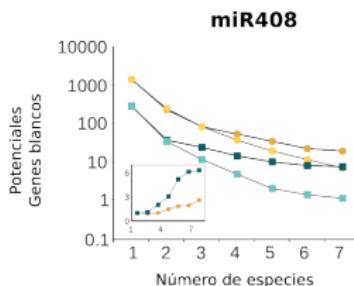
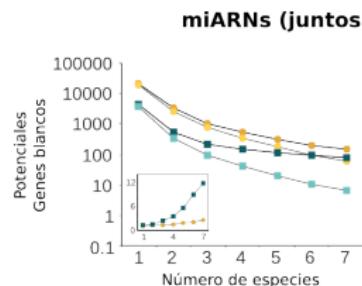
miR396
(consenso 18nt)

TCCACAGCTTCTTGAAAC
CAGAACTTCTTGCATC
CAGATCTTCTTACGCCA
TTTCCATCTTACGCCAGA
TCGGCACCATTTCTTCAGA
•
TCGCTCTTCACAACGATT

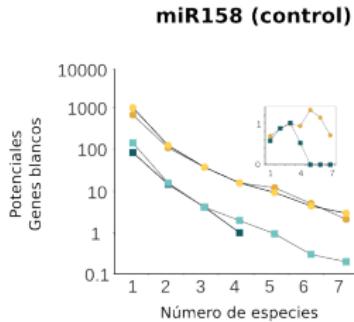
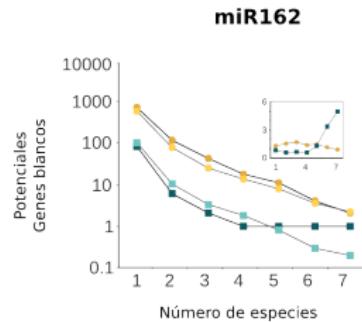
Efecto sinérgico al combinar filtro de conservación evolutiva y empíricos



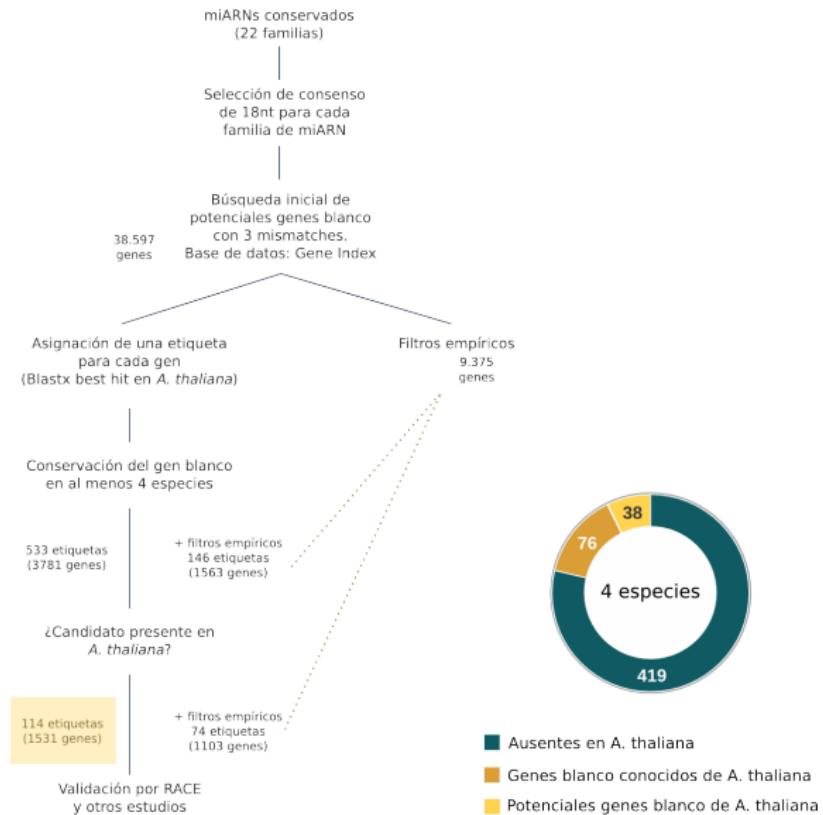
El número de genes blancos candidatos y la relación señal/ruido es variable entre los distintos miARNs



- genes blanco de miARNs filtro de conservación
- genes blanco de miARNs al azar filtro de conservación
- genes blanco de miARNs filtro de conservación y empíricos
- genes blanco de miARNs al azar filtro de conservación y empíricos

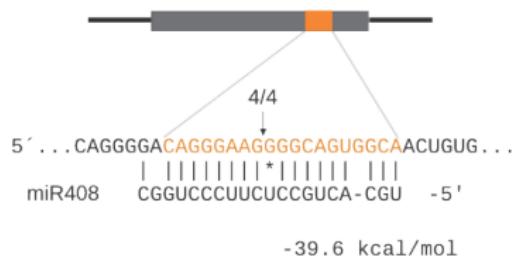


Potenciales genes blancos utilizando solo conservación evolutiva



Se validaron 6 nuevos genes blancos en *A. thaliana*

PAA2 (At5g21930)



<i>Arabidopsis thaliana</i>	CAGGGAAAGGGGCAGUGGCA
<i>Capsicum annuum</i>	CAGCGAAGAACAGUUGCA
<i>Glycine max</i>	CAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA
<i>Gossypium raimondii</i>	CAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA
<i>Haseolus vulgaris</i>	UAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA
<i>Ipomoea nil</i>	CAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA
<i>Lactuca sativa</i>	CAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA
<i>Medicago truncatula</i>	CAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA
<i>Saccharum officinarum</i>	UAGGGAAAGAACAGUGACA
<i>Solanum lycopersicum</i>	CAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA
<i>Solanum tuberosum</i>	CAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA
<i>Sorghum bicolor</i>	UAGGGAAAGAACAGUGACA
<i>Theobroma cacao</i>	CAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA
<i>Vitis vinifera</i>	CAGGGAAAGAGGGCAGUUGCA

¿Pueden los miARNs en Angiospermas regular genes específicos de Solanaceae?

miR398 → CSD2 Todas las Angioespermas

miR398 → ? Específico de Solanacea

Identificación de genes blancos específicos de Solanaceae

Genes blanco de miARNs candidatos

Genes blanco presente en al menos tres especies de Solanaceae

132 genes

Genes blanco específicos de Solanaceae?
41 genes

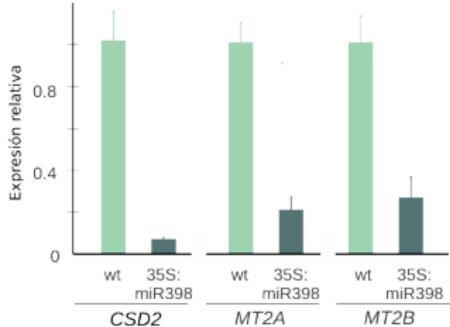
MT2A

5' ...GGUGCUU**GGGGUGGGACCUGAGAAAGAC**AAGCU...
miR398 UUCCCCA--CUGGACUCUUGUGU-5'
-35.9 kcal/mol

MT2B

5' ...GGUGCUU**GGGGUGGGACCUGAGAACAC**CCGCU...
miR398 UUCCCCA--CUGGACUCUUGUGU-5'
-37.7 kcal/mol

Validación experimental



Capsicum annuum GGGGUGGGGACCUGAGAAAGAC
Nicotiana benthamiana GGGGUGGGGACCUGAGAAAGAC
Nicotiana tabacum GGGGUGGGGACCUGAGAAAGAC
Petunia hybrida GGGGUGGGGACCUGAGAAAGAC
Solanum lycopersicum GGGGUGGGGACCUGAGAAAGAC
Solanum tuberosum GGGGUGGGGACCUGAGAAAGAC

Herramienta web para la predicción de genes blancos regulados por miARNs en plantas

Desarrollamos ComTAR, que permite realizar la búsqueda de:

Desarrollamos ComTAR, que permite realizar la búsqueda de:

- ▶ potenciales genes blancos a partir de un miARN.
- ▶ familias de potenciales genes blancos de un miARN.
- ▶ un gen de interés para ver si es potencial gen blanco de algún miARN conservado
- ▶ nuevos ARNs pequeños

Herramienta web para la predicción de genes blancos regulados por miARNs en plantas

Desarrollamos ComTAR, que permite realizar la búsqueda de:

- ▶ potenciales genes blancos a partir de un miARN.
- ▶ familias de potenciales genes blancos de un miARN.
- ▶ un gen de interés para ver si es potencial gen blanco de algún miARN conservado
- ▶ nuevos ARNs pequeños

▶ <http://rnabiology.ibr-conicet.gov.ar/comtar>

Potenciales genes blancos del miR398

comTAR
conserved plant miRNA target prediction tool

First potential miRNA targets
First potential miRNA target families
Is this gene a potential miRNA target?

Targets
miRNA: **mir398_GTGTTCTCAGGTCA**CCCC
MFE cutoff: -29.232 kcal/mol
MM Filter: Yes
Species: All

[Go Back](#)

Arabidopsis Tag [?]	Count [?]	Species [?]	Target description [?]	Gene family [?]	Alignments [?]
AT1G12520	16	Show/Hide	copper chaperone for SOD1		View
AT1G08830	9	Show/Hide	copper/zinc superoxide dismutase 1		View
AT3G15640	4	Show/Hide	Rubredoxin-like superfamily protein		View
AT1G80230	3	Show/Hide	Rubredoxin-like superfamily protein		View
AT2G26975	3	Show/Hide	Ctr copper transporter family		View
AT2G40340	3	Show/Hide	Integrase-type DNA-binding superfamily protein	AP2-EREBP Transcription Factor Family	View
AT3G27200	3	Show/Hide	Cupredoxin superfamily protein	Miscellaneous Membrane Protein Families	View
AT3G43860	3	Show/Hide	glycosyl hydrolase 9A4	Glycoside Hydrolase Gene Families	View
AT4G00050	3	Show/Hide	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein	basic Helix-Loop-Helix (bHLH) Transcription Factor	View
AT5G12220	3	Show/Hide	las1-like family protein		View

ComTAR permite visualizar el alineamiento, energía de hibridación en cada especie

Sequence ID	Species	5'-target-3' Alignment 3'-miRNA-5' [•]	MFE [•]
Aquica_013_00504.1	Aquilegia coerulea	TTGGCGGACCTGGGAACAT * * * * * CCCACTGGACTCTTGTC	-31.7
471402	Arabidopsis lyrata	TGGGAGACCTGGGAACAC * * * * * CCCACTGGACTCTTGTC	-32.1
AT1G12520.1	Arabidopsis thaliana	TGGGAGACCTGGGAACAC * * * * * CCCACTGGACTCTTGTC	-32.1
Brad5g18900.3	Brachypodium distachyon	TTGGTGAACCTGGGAACGC ** * * * * CCCACTGGACTCTTGTC	-33.5
Bra026968	Brassica rapa	TGGGAGACCTGGGAACAC * * * * * CCCACTGGACTCTTGTC	-32.5
Carubv10011818m	Capsella rubella	TGGGAGACCTGGGAACAC * * * * * CCCACTGGACTCTTGTC	-32.1
evm.model.superconig_29.47	Carica papaya	TAGGTGAACCTGGAGACAT ** * * * * CCCACTGGACTCTTGTC	-34.2
Ciclev10021134m	Citrus clementina	TTGGTGAACCTGGGAACAC ** * * * * CCCACTGGACTCTTGTC	-33.9
orange1.1g020436m	Citrus sinensis	TTGGTGAACCTGGGAACAg ** * * * * CCCACTGGACTCTTGTC	-32.7

- ▶ Diseñamos una estrategia para identificar genes blancos regulados por miARNs en plantas, basado en la conservación evolutiva del par miARN-gen blanco.

Conclusiones I

- ▶ Diseñamos una estrategia para identificar genes blancos regulados por miARNs en plantas, basado en la conservación evolutiva del par miARN-gen blanco.
- ▶ Identificamos nuevos genes blancos en *A. thaliana* y se validaron experimentalmente varios de ellos.

miARN	Consenso	Targets conocidos Validados por nosotros
mir156	GACAGAAAGAGAGTGAGCA	fatores de transcripción SPL
mir159	TTCGATTTGAAGGGAGCTC	fatores de transcripción MYB, NOZZLE (NZL)
mir160	GCCTGGCTCCCTGTATGC	fatores de transcripción ARF
mir162	CGATAAACCTCTGCATCC	DCL1
mir164	GGAGAGACCAAGGGCACGTC	fatores de transcripción NAC
mir166	CGGACCAAGGCCATTATCC	fatores de transcripción HDZip
mir167	GAAGCTGCCAGCAATGATC	fatores de transcripción ARF, IAA-ALANINE RESISTANT 3 (IAR3)
mir168	CGCTTGGTCCAGGTCCGGG	AGO1
mir169	AGCCAAGAGTAGCTTGCC	fatores de transcripción CCAAT-HAP2
mir171	TTGACCCGTGCCAAATATC	fatores de transcripción GRAS
mir172	GAATCTTGATGATCTCG	fatores de transcripción AP2
mir319	TGGACTGAAGGGAGCTCC	fatores de transcripción TCP
mir390	AGCTCAGGAGGGATAGCG	TAS RNA
mir393	CCAANGGGATCGCATTGA	TIR1 proteins, F-BOX proteins
mir394	TGGCATTCGTGTCACCTC	proteínas F-BOX
mir395	TGAAGTGTGGGGGAC	ATP-sulfurilasas, transportadores de sulfato
mir396	TCCACACGTTCTTGAC	fatores de transcripción GRF, MMG4.7, FLUORESCENT IN BLUE LIGHT (FLU)
mir397	CATTGACTGCAGCGTTGA	Laccases
mir398	GTGTTTCAGGTCACCCC	Cu/Zn SODs, Cyt C oxidase protein subunit, Chaperona de cobre (CCS)
mir399	GCCAAGGGAGATTGGCC	Enzima E2 de conjugación de ubiquitina
mir408	TGCACTGCCCTTCCCTG	Blue copper proteins, Laccases, P-TYPE ATPase (PAA2), PAC1
mir827	TAGATGACCATCAGCAA	SPX proteins

- ▶ Diseñamos una estrategia para identificar genes blancos regulados por miARNs en plantas, basado en la conservación evolutiva del par miARN-gen blanco.
- ▶ Identificamos nuevos genes blancos en *A. thaliana* y se validaron experimentalmente varios de ellos.
- ▶ Esta estrategia puede ser utilizada para identificar genes blancos presentes en un grupo específico de especies.

- ▶ Diseñamos una estrategia para identificar genes blancos regulados por miARNs en plantas, basado en la conservación evolutiva del par miARN-gen blanco.
- ▶ Identificamos nuevos genes blancos en *A. thaliana* y se validaron experimentalmente varios de ellos.
- ▶ Esta estrategia puede ser utilizada para identificar genes blancos presentes en un grupo específico de especies.
- ▶ Interacciones miARN-gen blanco conservadas probablemente participen en procesos biológicos relevantes.

- ▶ Diseñamos una estrategia para identificar genes blancos regulados por miARNs en plantas, basado en la conservación evolutiva del par miARN-gen blanco.
- ▶ Identificamos nuevos genes blancos en *A. thaliana* y se validaron experimentalmente varios de ellos.
- ▶ Esta estrategia puede ser utilizada para identificar genes blancos presentes en un grupo específico de especies.
- ▶ Interacciones miARN-gen blanco conservadas probablemente participen en procesos biológicos relevantes.
- ▶ Desarrollamos una herramienta web denominada comTAR para predecir potenciales genes blancos regulados por miARNs en plantas.

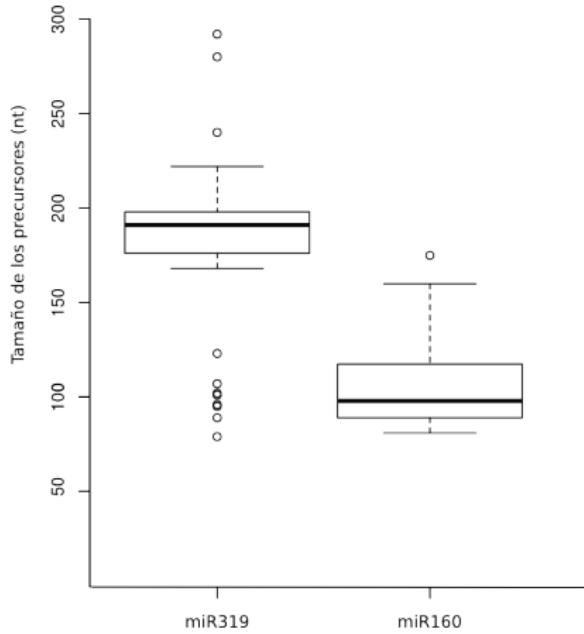
Objetivos específicos

- ▶ Diseñar una estrategia para la identificación de genes blancos regulados por miARNs.
- ▶ Caracterizar precursores de miARNs en distintas especies que tengan mecanismos de procesamiento distintos.
- ▶ Caracterizar la relación entre la evolución de los precursores de miARNs en plantas y los mecanismos de procesamiento determinados previamente.

Objetivos específicos

- ▶ Diseñar una estrategia para la identificación de genes blancos regulados por miARNs.
- ▶ Caracterizar precursores de miARNs en distintas especies que tengan mecanismos de procesamiento distintos.
- ▶ Caracterizar la relación entre la evolución de los precursores de miARNs en plantas y los mecanismos de procesamiento determinados previamente.

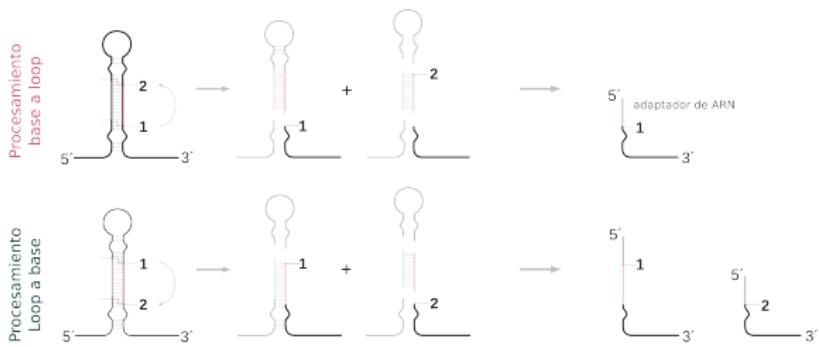
Precursos en plantas son muy variables en tamaño y forma



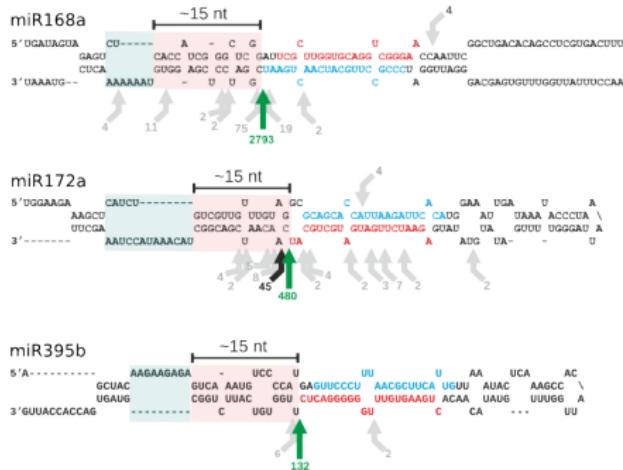
Bibliotecas SPARE para estudios genómicos de biogénesis de miARNs en plantas



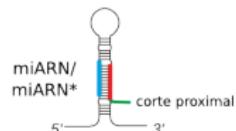
Bibliotecas SPARE para estudios genómicos de biogénesis de miARNs en plantas



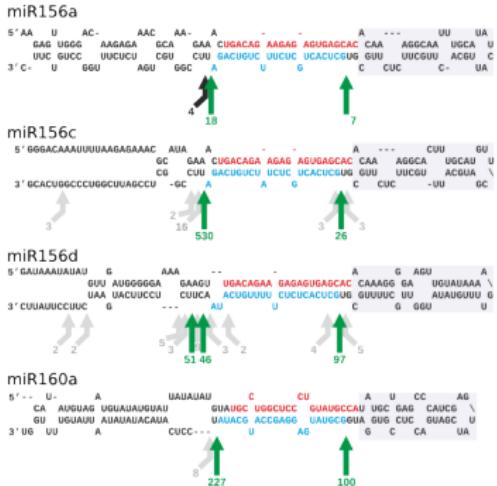
Los precursores que se procesan desde la base tienen un sólo pico de señal en las bibliotecas de SPARE



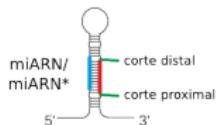
Detección solamente
del corte proximal



Los precursores que se procesan desde la base tienen al menos dos picos de señal en las bibliotecas de SPARE

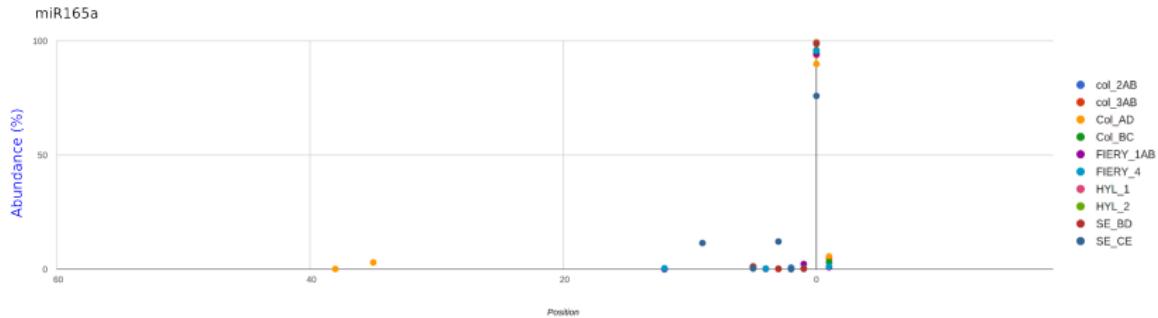


Detección de ambos cortes,
proximal y distal



Bibliotecas	Muestras	Secuencias totales	Secuencias que mapean los precursores	Secuencias únicas que mapean los precursores
col_2AB	Col-0 réplica 1. Control de fiery y hyl1	13911694	80166	308
col_3AB	Col-0 réplica 2. Control de fiery y hyl1	16618008	126556	426
Col_AD	Col-0 réplica 1. Control de se	13758567	119368	496
Col_BC	Col-0 réplica 2. Control de se	14648459	241973	553
FIERY_1AB	fiery réplica 1	9832923	470789	1655
FIERY_4	fiery réplica 2	23529725	821562	1752
HYL_1	hyl1 réplica 1	10171629	45653	316
HYL_2	hyl1 réplica 2	8864406	35860	320
SE_BD	se réplica 1	15291993	299513	639
SE_CE	se réplica 1	25296809	510438	693

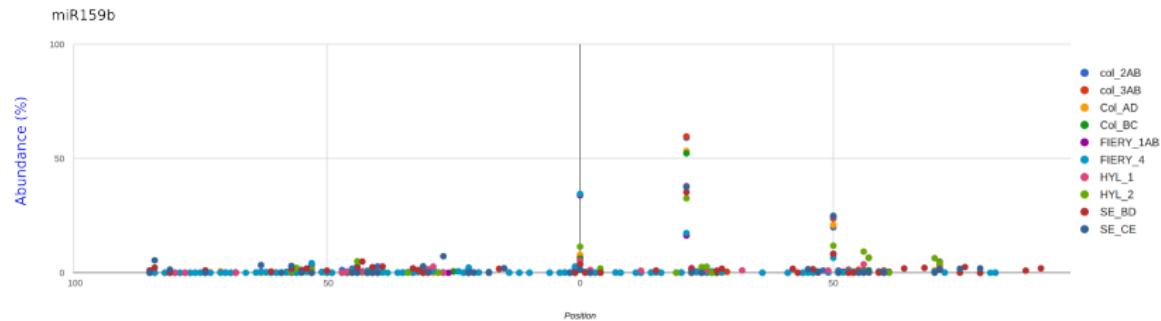
Visualización de precursores procesados desde la base



Position	col_2AB	col_3AB	Col_AD	Col_BC	FIERY_1AB	FIERY_4	HYL_1	HYL_2	SE_BD	SE_CE
-38	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
-35	0	0	89	0	0	0	0	0	0	0
-12	1	0	0	0	10	147	0	0	0	0
-9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	270
-5	29	67	40	26	116	326	2	1	5	9
-4	0	0	0	0	15	111	0	0	0	0
-3	0	0	1	0	0	0	0	1	1	285
-2	0	0	0	0	77	189	0	0	0	1
-1	0	0	0	13	247	141	0	0	1	0
0	2902	4574	2700	3993	10065	29877	317	314	546	1781
1	0	231	169	129	97	387	0	0	0	0

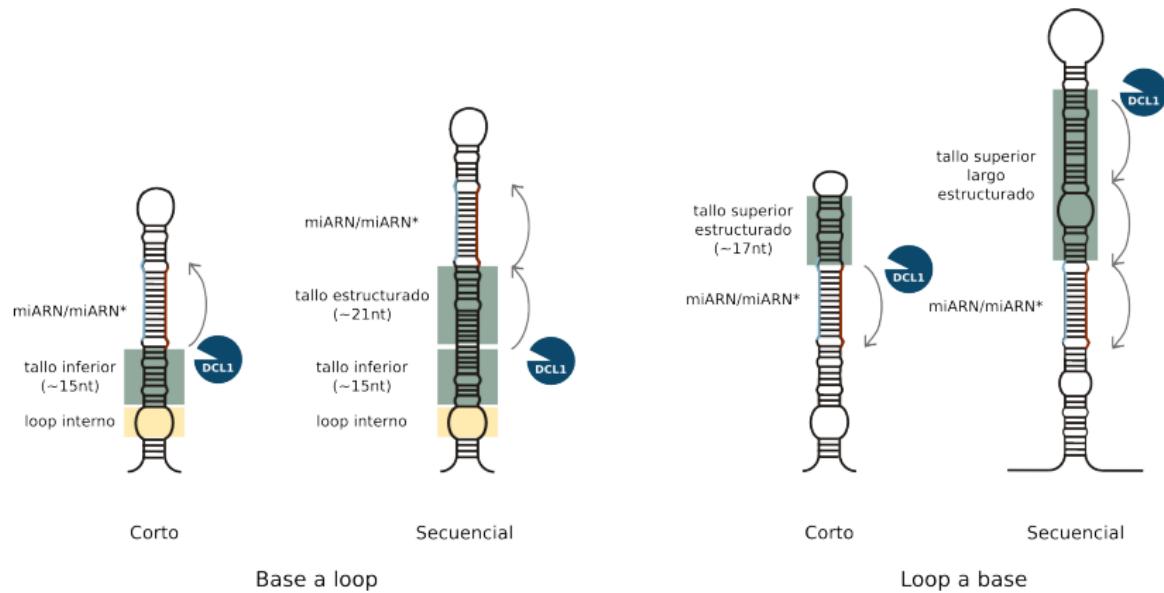


Visualización de precursores procesados desde el loop



Position	col_2AB	col_3AB	Col_AD	Col_BC	FIERY_1AB	FIERY_4	HYL_1	HYL_2	SE_BD	SE_CE
21	10252	19917	5562	10992	6776	20171	2514	1477	1685	2752
50	3450	7908	2174	5164	3392	7627	1629	538	398	1824
0	1209	1319	822	1300	14091	40065	353	518	172	101
71	451	1070	233	1028	538	1713	302	201	70	125
53	9	461	1	64	250	822	0	0	1	0
55	92	450	16	157	365	639	52	24	17	1
57	32	379	66	218	115	227	442	294	6	23

Conclusiones II

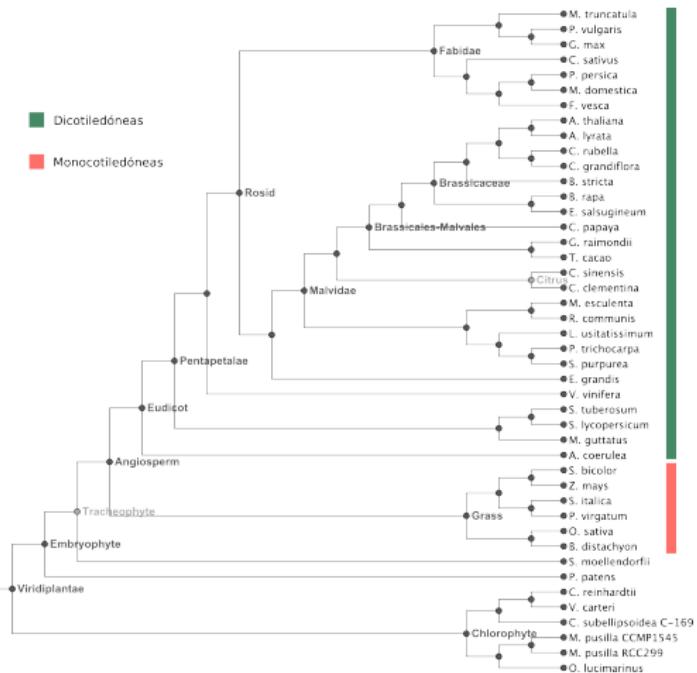


Objetivos específicos

- ▶ Diseñar una estrategia para la identificación de genes blancos regulados por miARNs.
- ▶ Caracterizar precursores de miARNs en distintas especies que tengan mecanismos de procesamiento distintos.
- ▶ Caracterizar la relación entre la evolución de los precursores de miARNs en plantas y los mecanismos de procesamiento determinados previamente.

- ▶ Diseñar una estrategia para la identificación de genes blancos regulados por miARNs.
- ▶ Caracterizar precursores de miARNs en distintas especies que tengan mecanismos de procesamiento distintos.
- ▶ Caracterizar la relación entre la evolución de los precursores de miARNs en plantas y los mecanismos de procesamiento determinados previamente.

Especies utilizadas de Phytozome (30 dicotiledóneas y 6 monocotiledóneas)



Anotación arbitraria en miRBASE (Base de datos de secuencias y anotación de miARNs).

- ▶ Longitud de precursores.
- ▶ Definición de ortólogos

¿Cuál es el ortólogo en otras especies?

Arabidopsis	>ath-MIR160a GUAGUCUGCUCCUGUAUCCGUAAUAGCUGAGCCCCAUUCGAGUAUUCGAUGACCUCCGGUGGAUGGCGLAUGAGGAGCCAUGCAUAU >ath-MIR160b GUUCGUGCCUGCCUCGUAAUGCCACAAGAAAACAUCGAUUUAGUUUCAAAAUUCGAUACAUAGGGCGUACAGAGGUAGUCAAGCAUGAC >ath-MIR160c GUUAUGCCUGCCUCCCGUAAUAGCCAGAGGUAAUCCGAUUUUGGUUUAAAUCGGCUCGCCGUUAAGGGAGUCAAGCAUGAC
	>osa-MIR160a GUGUGCCUGGCUCCCUGUAUGCACACAUGUAGACCAACCCAUUGGUGUCUGGUUGCCUACUGGGGGCGUGCAAGGACCAAGCAUGC >osa-MIR160b AAGGUUUGGUUUGGUAGUCGGCUUGAGGCGUGCUGGCCUCGUAAUCCACUAGCCAAUCCAUUGGUGGUUJUGGAUGCUGGGGGCGUGCAAGGAGCCAAGCAUGC >osa-MIR160c GGAAUUGUGCCUGGGCUCCCUGUAUHGCAACUCAUAGAGCAACAAUCUCUGCGAGAGGUUGCCUAUGAUGGAUGGGCGUCAGGGAGCAAGCAUAUCC Arroz
	>osm-MIR160a GGAAUUGUGCCUGGUCCCGUUAUAGCCACUUCGGUAGCGUUCACAAACUAGUAGAAACAAUCUGCUUCUCCGGCAAGAUCAAGCAUJUGUUGGUAGCUCACUGGGGAUGGGCGUGCAAGGAGCCAAGCAUGACC >osm-MIR160b GUAGGGGAAUAGCCUGGUCCCGUUAUCCGCUUCGCAUGGCGUCAACCCAAUGAACUCAUCGAUCUUGUUGGGCGUCGUACGGCGUGCGAGGUUGCCAAGCAUJGGCCCUU >osm-MIR160f GGAAUUAACGGCUGCCUGGUCCCCUGAAUGCCAACCGAGAACGGUCCGGCUGUUGGGCGUUCUCCUGGUUGGCAUUGAGGGAGUCAUGAGGGGUJUGCUC
	>sly-MIR160a CAAGUCGUGUAACGUAAUAGCCUGGUCCCGUUAUCCGUAAUAGCAUUCACCGGUAAUAAUAGAUGGGGUUUGGUAGGGAGCCAAGCAUAAUCCGAUAAUCGUUAUAGAUGGUUG
Tomate	>Slr-MIR160a CAAGUCGUGUAACGUAAUAGCCUGGUCCCGUUAUCCGUAAUAGCAUUCACCGGUAAUAAUAGAUGGGGUUUGGUAGGGAGCCAAGCAUAAUCCGAUAAUCGUUAUAGAUGGUUG

Conservación de la secuencia primaria del miR172a en distintas especies

BAD AVG GOOD

Alivata	AC	UAUUU	UCC GGA G CC	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	GG	C	CGG	GG	U	S	A	U		U	C	G	C
Medicina	A	AAAGG	UAC AGU AU	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GC	AA	BUA	GG	GG	U	S	A	U					
Mitrancutia				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GC	AA	BUA	GG	GG	U	S	A	U					
Silicopersei				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U					
Bucania	NC	CAUCG	UCC GGG UU	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	BA	GA	GG	GG	U	S	A	U					
Eugenia	TC	CAUCG	UCC GGG UU	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	BA	GA	GG	GG	U	S	A	U					
Cratendiflo	TC	UAUUU	UAC AAA C CC	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	GA	AA	CGG	GG	U	S	A	U					
Pithecellobium				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	BA	GA	GG	GG	U	S	A	U					
Citriensis				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	AA	BA	GA	GG	U	S	A	U					
Lusitanica				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	AA	BA	GA	GG	U	S	A	U					
Citrusjambhiri				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	AA	BA	GA	GG	U	S	A	U					
Genes				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	AA	BA	GA	GG	U	S	A	U					
Vitislitoralis				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	AA	BA	GA	GG	U	S	A	U					
Riccomunis				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	AA	BA	GA	GG	U	S	A	U					
Surpurea				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	AA	BA	GA	GG	U	S	A	U					
AC	UAUUU	UAC UGG GGC U	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Resessulenta	A	AACGCGC	DAG AGU U CGC U	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	U	S	A	U					
Muguttatus				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	U	S	A	U					
Capapaya	UC	UAUUU	UAC UGG GGC U	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	UGU	CGU	GG	GG	U	S	A	U					
Artocarpus				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AU	UGU	CGU	GG	GG	U	S	A	U					
Citriella	AC	UAUUU	UCC GGA G CC	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	U	S	A	U					
Tacaco	ABA	GUU AG	AC AG AC AC	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	U	S	A	U					
Pithecellobium				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	U	S	A	U					
pulgaris	C	AGU AG	GUU AG	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	U	S	A	U					
Gardoni				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	U	S	A	U					
Pitca	ACGUU	UUC	UCC GCA G U	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	U	S	A	U					
Stibarosus				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	U	S	A	U					
cons																				

Alivata		UCC	C	CCC A AACG	U	UCC	U	GG	A	GG	GG	U	S	A	U		U	C	G	C	
Medicina				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GC	AA	BUA	GG	GG	U	S	A	U						
Mitrancutia				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GC	AA	BUA	GG	GG	U	S	A	U						
Silicopersei				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Bucania				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Eugenia				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Cratendiflo				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Pithecellobium				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Citriensis				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Lusitanica				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Citrusjambhiri				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Genes				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Vitislitoralis				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Riccomunis				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
Surpurea				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	GA	R	AUA	GG	GG	U	S	A	U						
AC	UAUUU	UAC UGG GGC U	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U						
Resessulenta	A	AACGCGC	DAG AGU U CGC U	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Muguttatus				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Capapaya	UC	UAUUU	UAC UGG GGC U	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Artocarpus				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Citriella	AC	UAUUU	UCC GGA G CC	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Tacaco	ABA	GUU AG	AC AG AC AC	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Pithecellobium				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
pulgaris	C	AGU AG	GUU AG	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Gardoni				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Pitca	ACGUU	UUC	UCC GCA G U	ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
Stibarosus				ACGGGGCGCUUUCGUUUCGCUUUCGCUAUAUCAGAUU	CAACAUUUCU	U	AA	AA	GC	GG	GG	GG	U	S	A	U					
cons																					

CONICET



I B R



El miR172a maduro y el miR172a* están conservados en las distintas especies

BAD AVG GOOD

miARN*

Alyssum	AC	UAUUU	RAGG	UCC	GGA	G	CC	ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GG	CGU	GG	U	S	A	U		U	C	G	C	
Medicago	A								ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GC	AA	BUUA				A		A	A	A	
Mirrored									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GC	AA	BUUA	GGAA	C	U	GGAA	U		A	C	
Silicopera									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	R	AUA	GGAA	GGAA	U	GGAA	AA	A	A	A	
Beta									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	R	AUA	GGAA	GGAA	U	GGAA	AA	A	A	A	
Eruca sativa	NC	CAGGU	UCC	U	GG	U	GG	ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	A	GG	GG	U	GG	GG	G	
Erigeron									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	A	GG	GG	U	GG	GG	
Grevillea	NC	UAC	U	GG	U	GG	U	ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	A	GG	GG	U	GG	GG		
Grandiflora	NC	UAUUU	UAC	AAA	C	CC	ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	AA	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	C	C	
Petroselinum									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	AA	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Citriodora									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	AA	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Lusitanica									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	AA	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Citrus aurantium									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	AA	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Grewia									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	AA	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Vitis vinifera									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	AA	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Ricinus communis									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	AA	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Sympetrum									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	U	AU	GA	AA	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Acacia	AC	UAUUU	DAG	AGG	AC	U	GG	ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG		
Resedina									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Mugiliferus									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Leskeia	NC	UAUUU	UUC	GGG	U	GG	U	ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG		
Catativus									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Artemesia									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Coreopsis	AC	UAUUU	UCA	GGG	AC	U	GG	ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG		
Tacca									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Pterocarya									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Pulgaris									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Gymnodendron									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Psoralea									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	
Strobosorus									ACGGGUCCGUUUCGGCUUUCGGCUUUCGGCUAAGGUU	CACAUUCGUU	AC	AU	GG	A	CGGG	GG	GG	U	GG	GG	U	GG	GG	

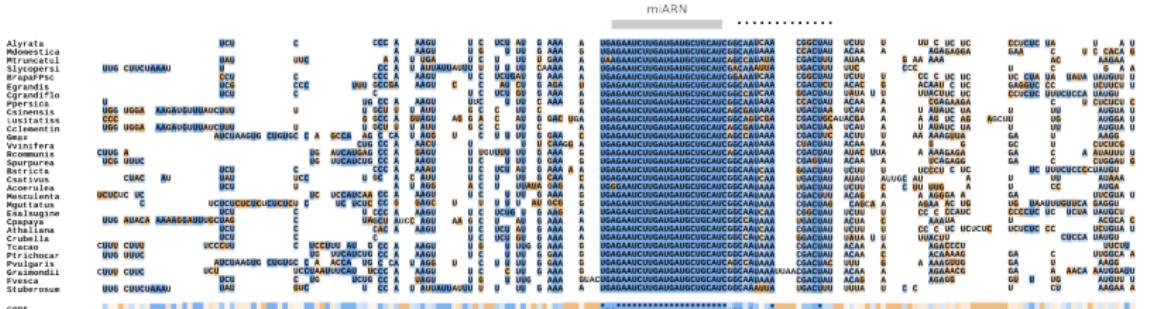
cons

Alyssum	UCC	C	CCC	A	AGGG	U	GG	UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U		
Medicago									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Mirrored									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Silicopera									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Beta									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Eruca sativa									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Erigeron									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Grevillea									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Grandiflora									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Petroselinum									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Citriodora									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Lusitanica									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Citrus aurantium									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Grewia									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Vitis vinifera									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Ricinus communis									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Sympetrum									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Acacia									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Resedina									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Mugiliferus									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Leskeia									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Clementina									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Crucifera									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Grewia									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Citrus									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Artemesia									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Musculenta									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Hippocratea									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Salalaginea									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Carthamus									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Crucifera									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Crotonia									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Psoralea									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Althaea									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Crucifera									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Crotonia									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Pterichocarpus									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Pulgaris									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Gymnodendron									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Psoralea									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	
Strobosorus									UCC	UCC	A	GG	A	AA	A	GG	GG	U	U	C	UC	UC	U	U	

cons

Cola de conservación hacia la izquierda del miARN* y hacia la derecha del miARN

BAD AVG GOOD

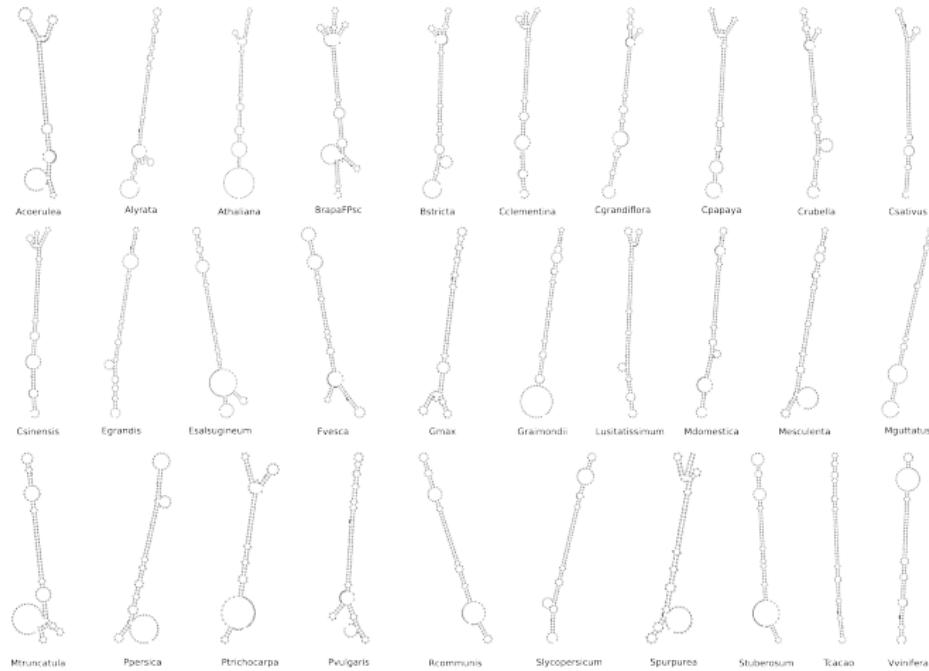


CONICET

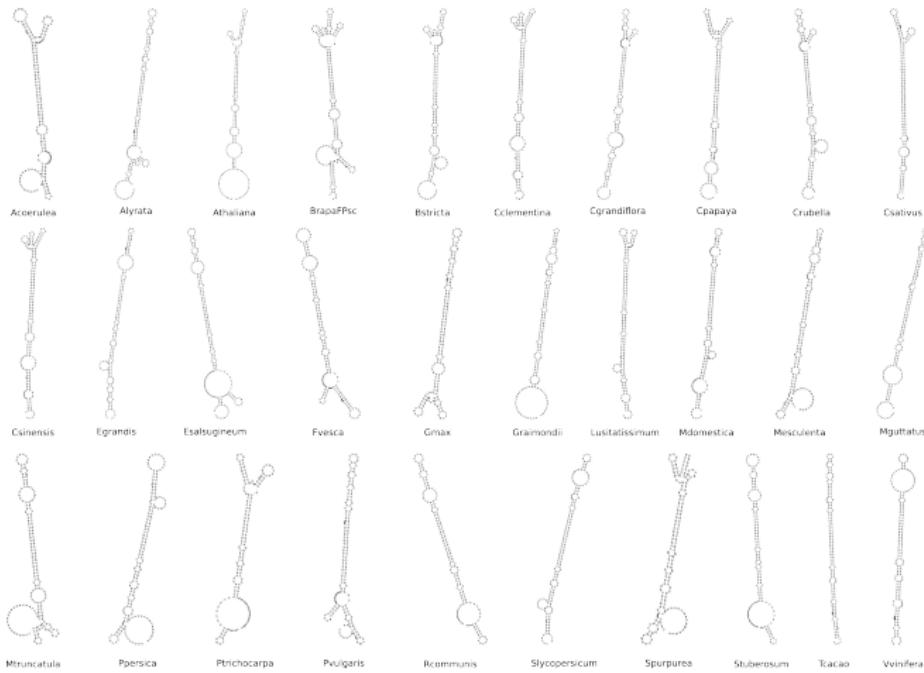


I B R

Existe un patrón estructural que comparten los precursores, en la región inmediata por debajo del dúplex miARN/miARN* (miR172a)

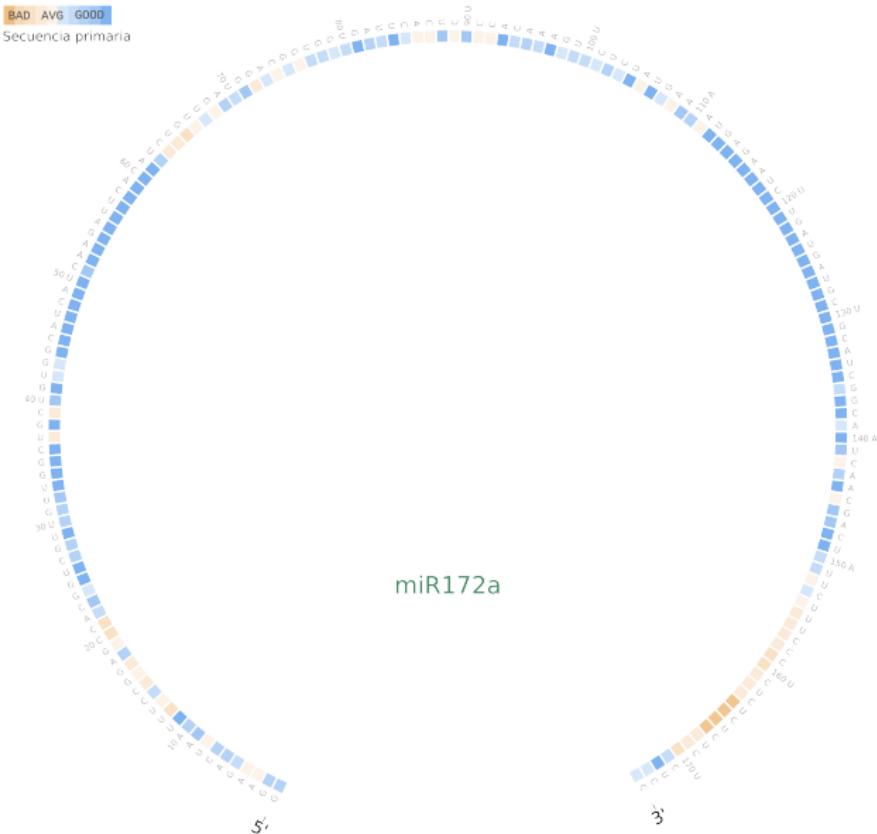


Existe un patrón estructural que comparten los precursores, en la región inmediata por debajo del dúplex miARN/miARN* (miR172a)

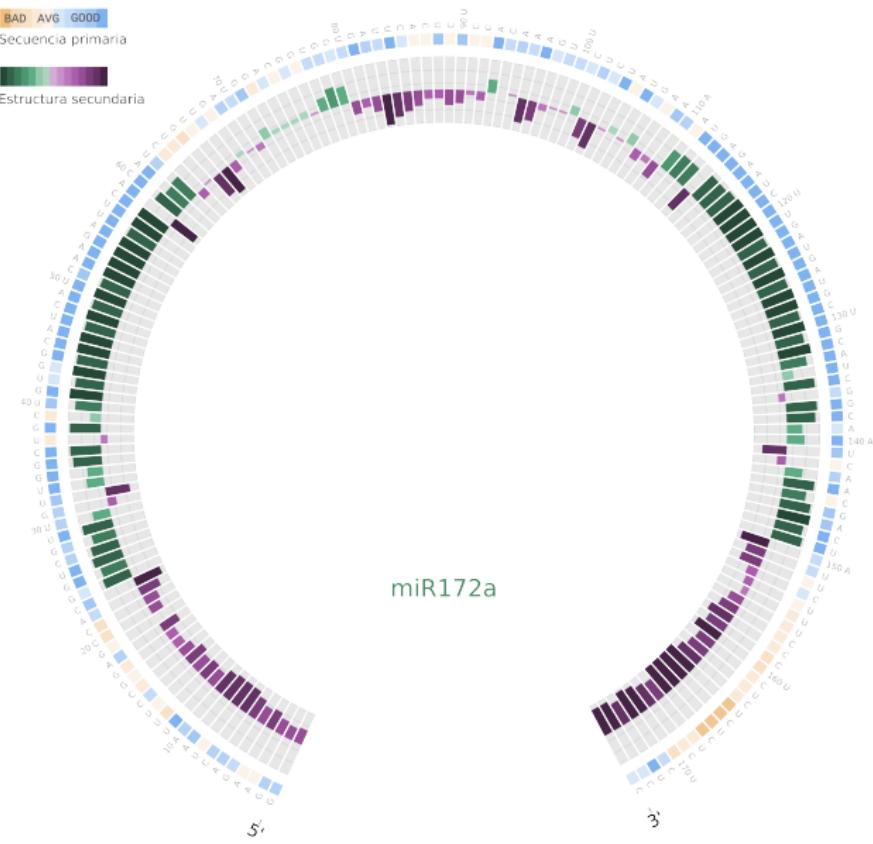


No es trivial deducir información concreta a partir de estas figuras.

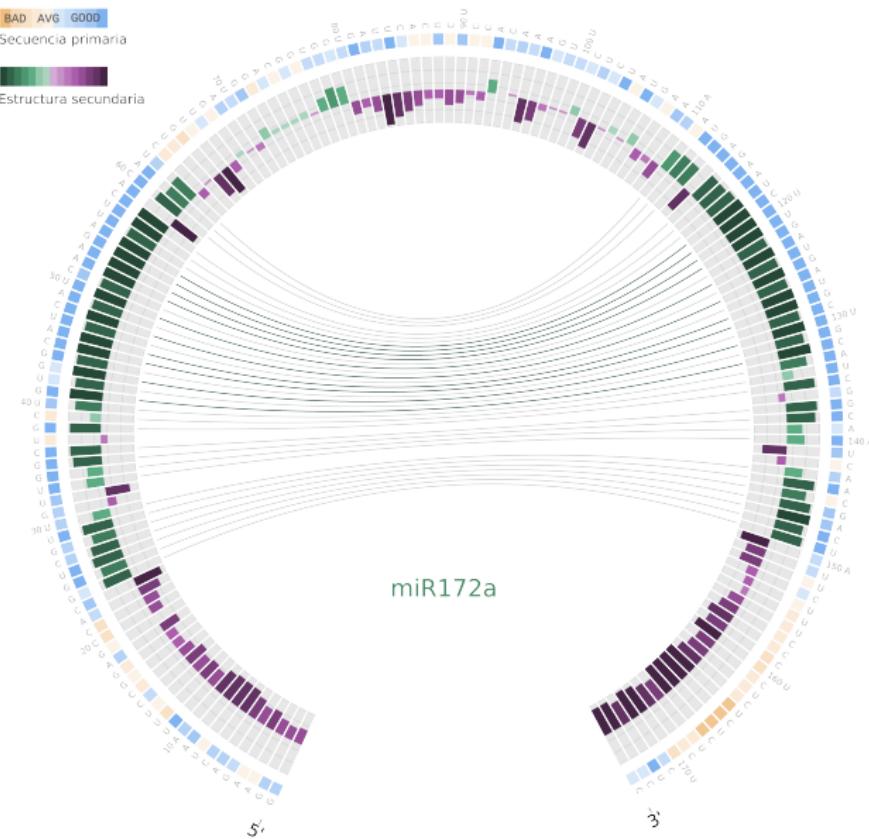
Conservación del consenso en base al alineamiento de secuencia primaria



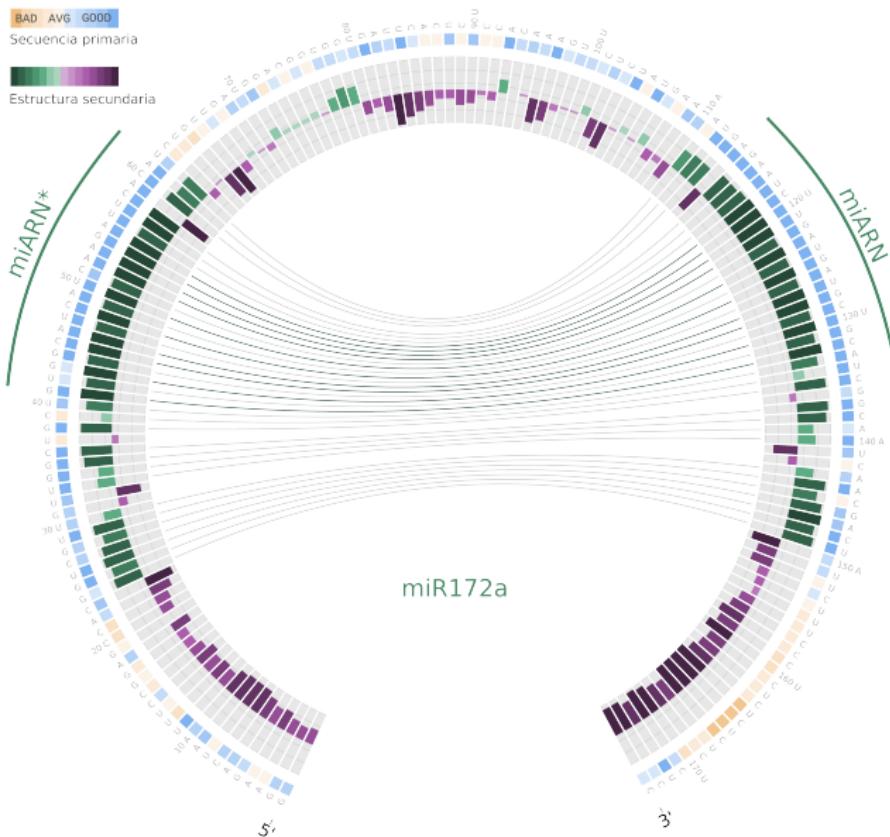
Frecuencia de bases apareadas y desapareadas



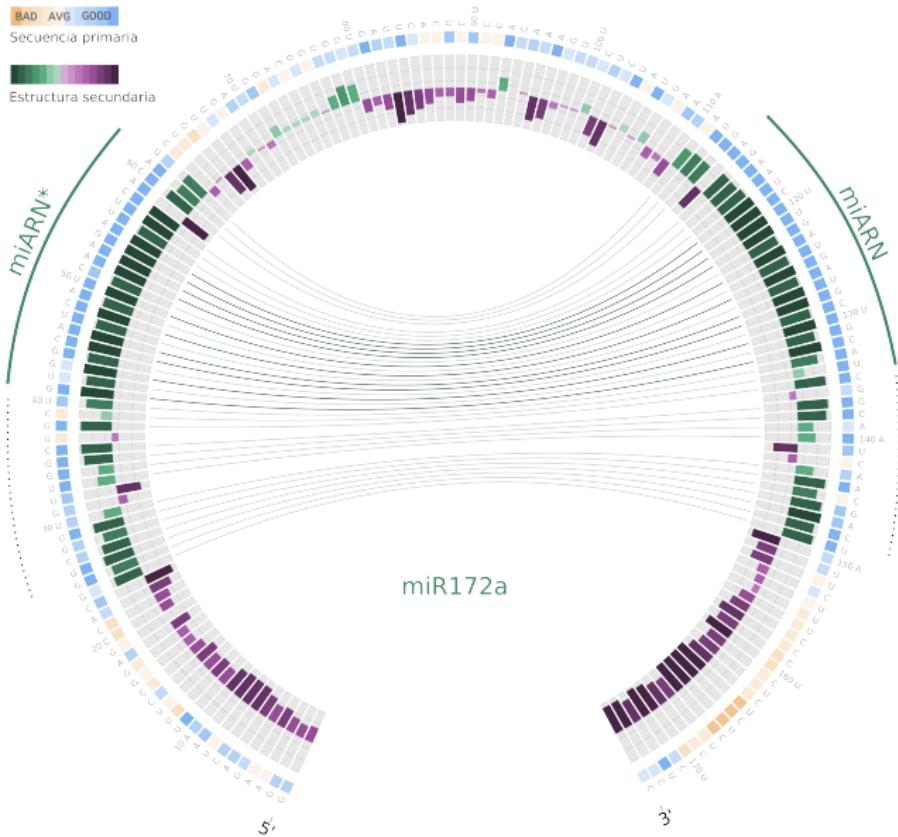
Interacción entre pares de bases considerando estructura secundaria



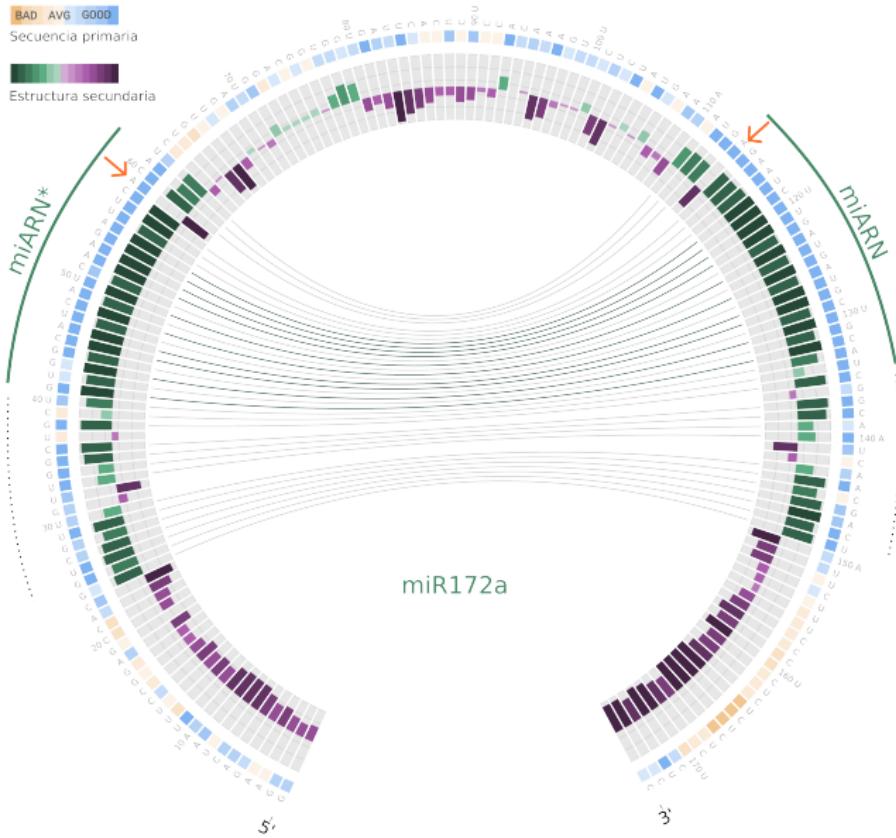
miARN y miARN* conservados en secuencia primaria y estructura



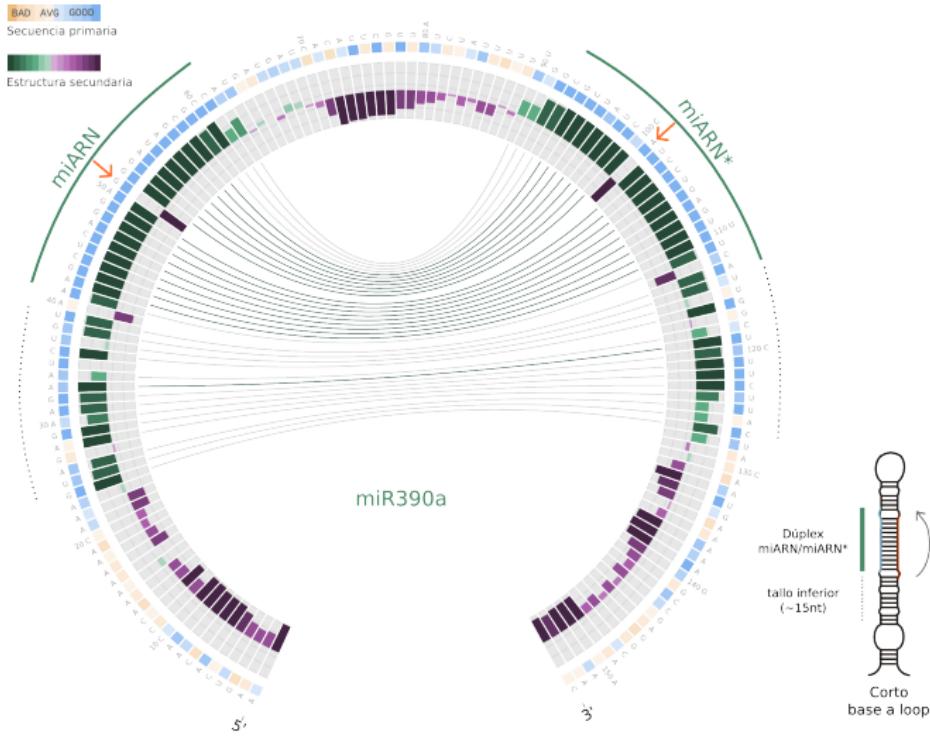
Región conservada por debajo del dúplex que coincide con el tallo inferior



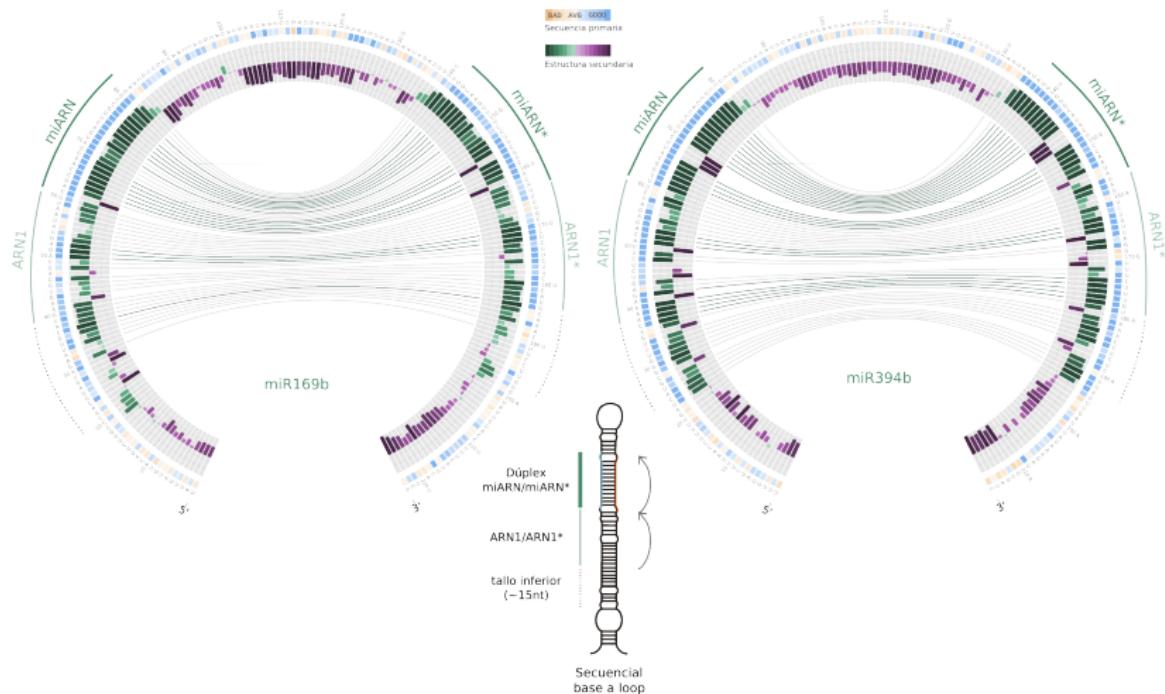
Mismatches conservados



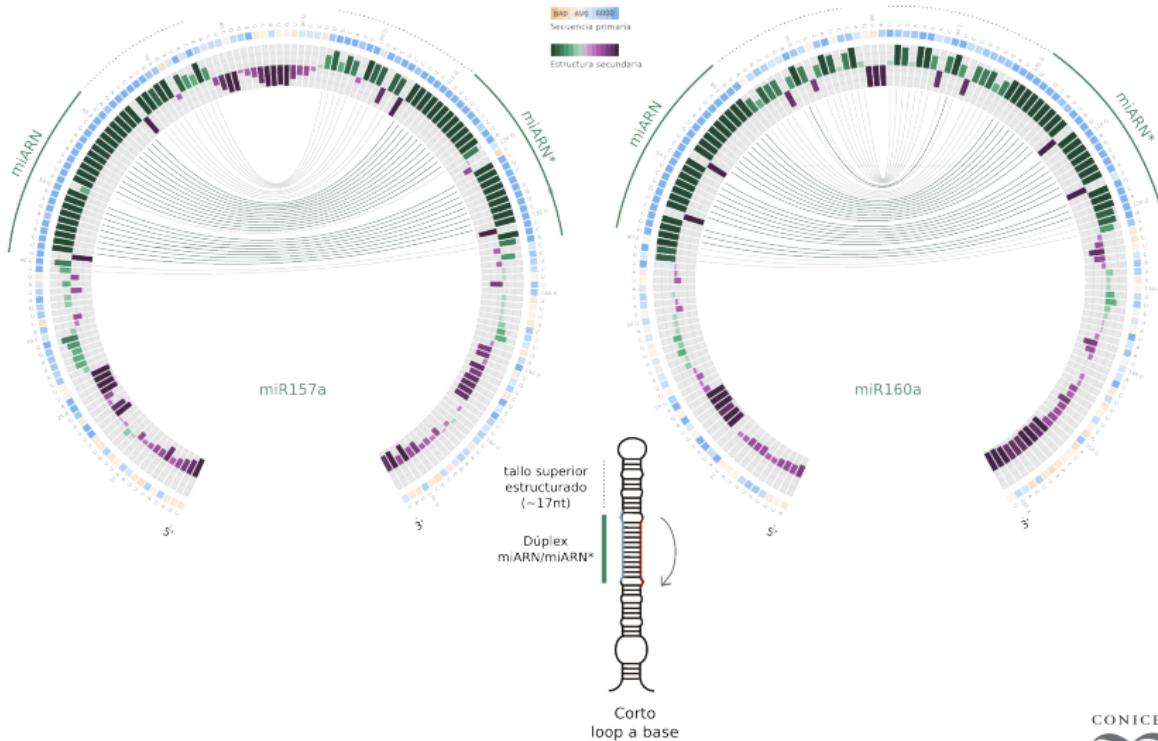
Mismo patrón de conservación en otros precursores que se procesan desde la base



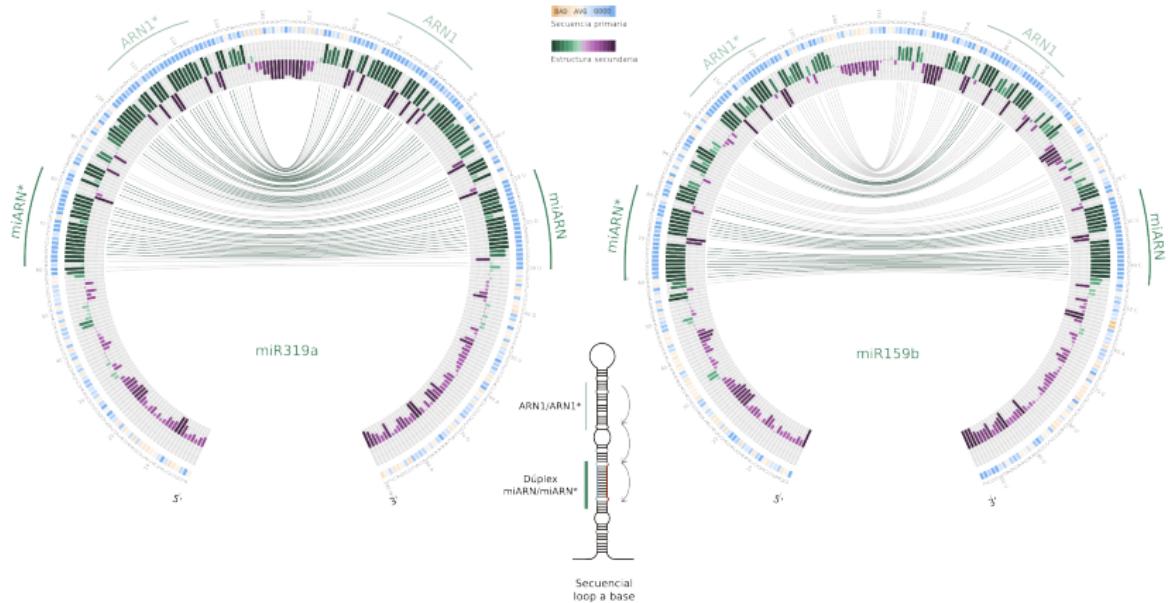
Precursors que se procesan desde la base en forma secuencial



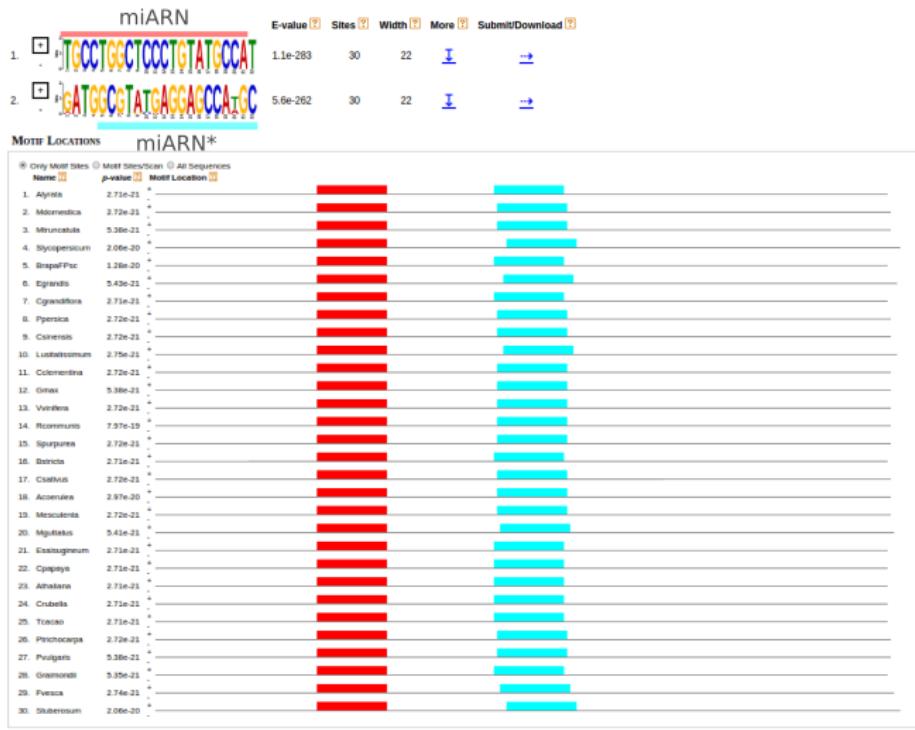
Precursors que se procesan desde el loop cortos



Precursors que se procesan desde el loop en forma secuencial



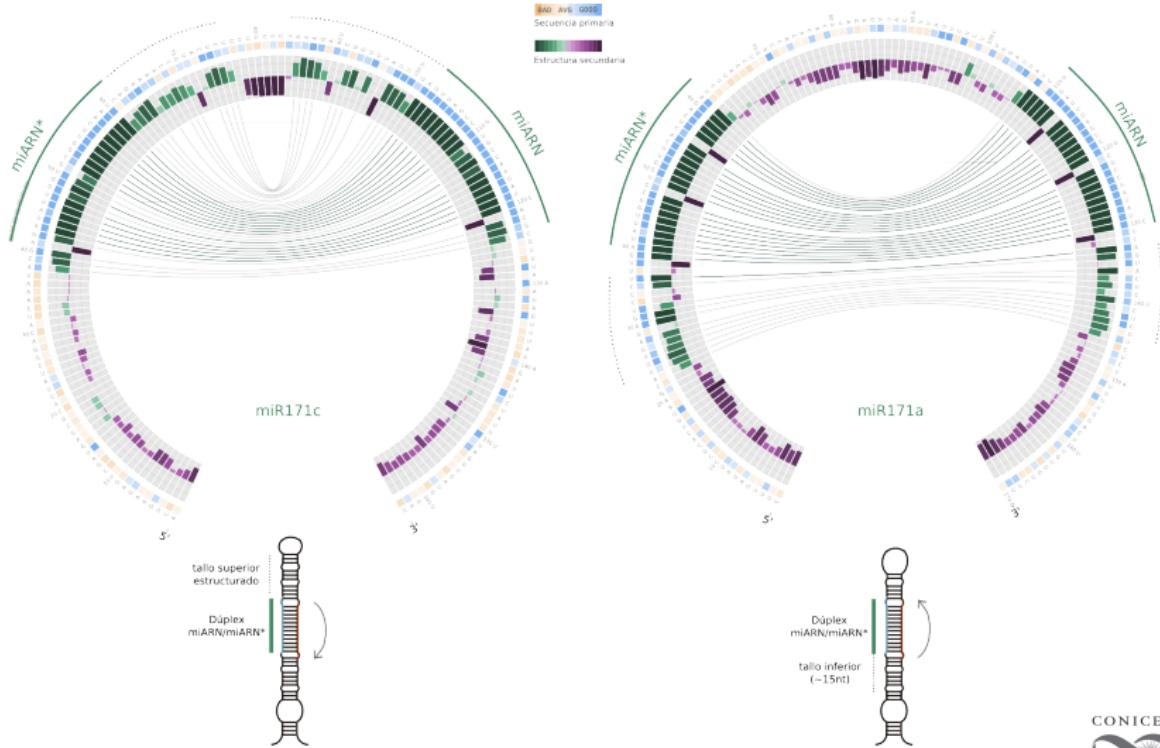
En precursores que se procesan desde el loop, el tamaño de la región que comprende al tallo superior y al loop no varía en distintas especies



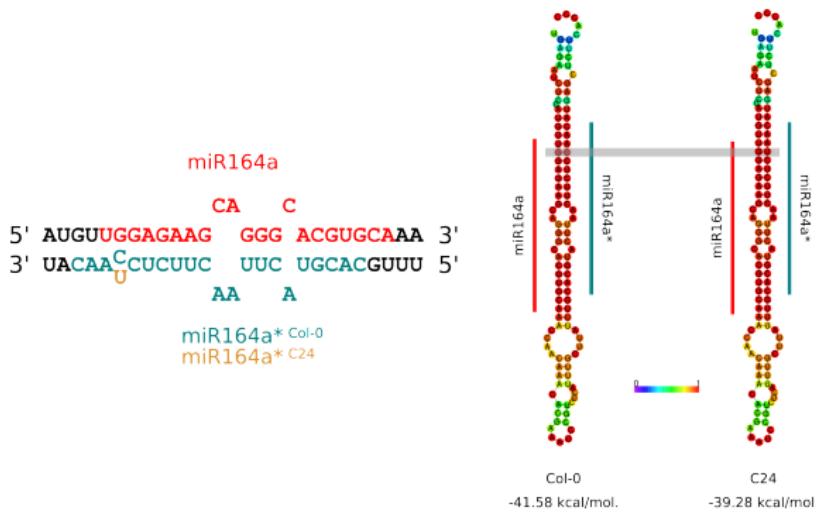
En precursores que se procesan desde la base, el tamaño de la región que comprende al tallo superior y al loop es muy variado en distintas especies



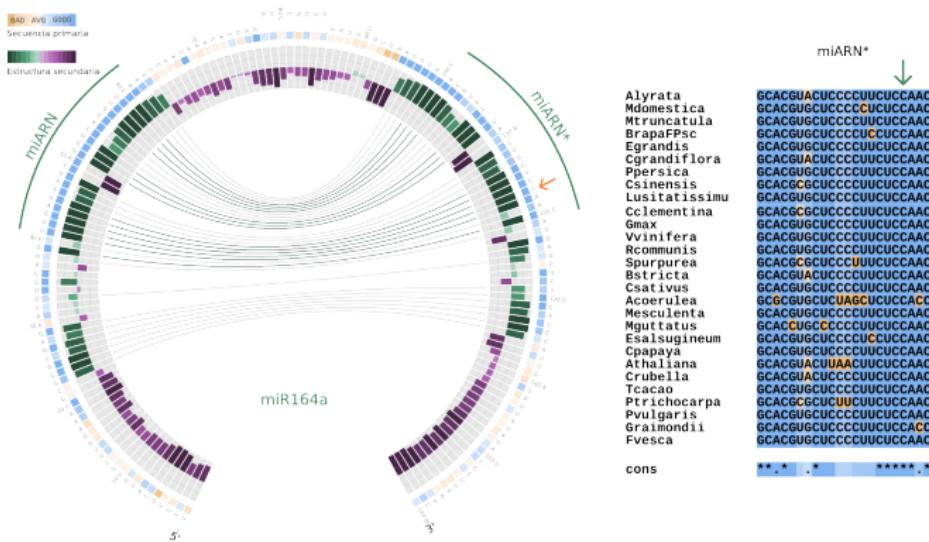
Procesamiento mixto de miembros de la familia del miR170/miR171



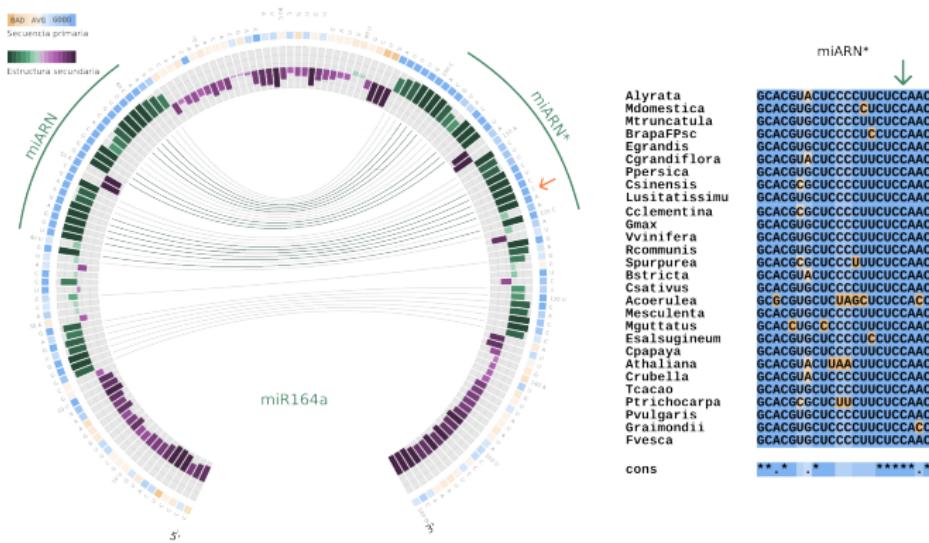
Mutaciones puntuales que afectan el procesamiento de miARNs en plantas



Posición *2 del miR164a* está conservada en dicotiledóneas

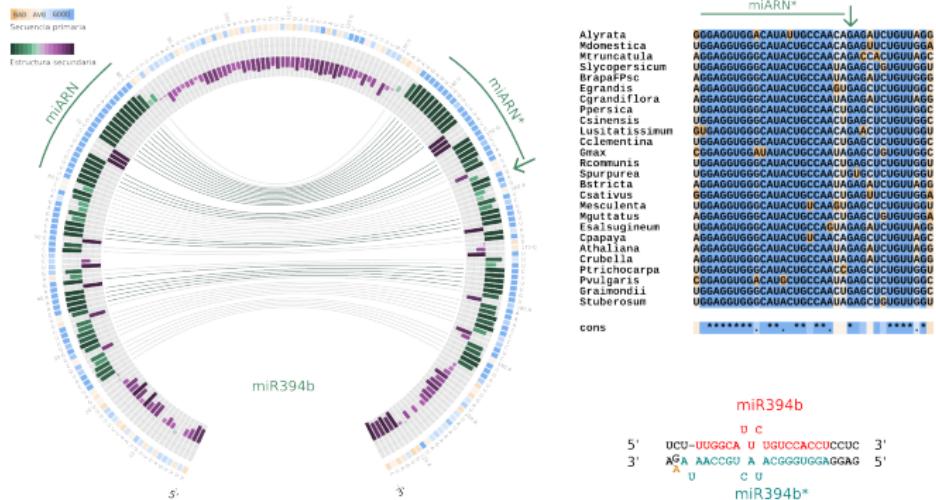


Posición *2 del miR164a* está conservada en dicotiledóneas

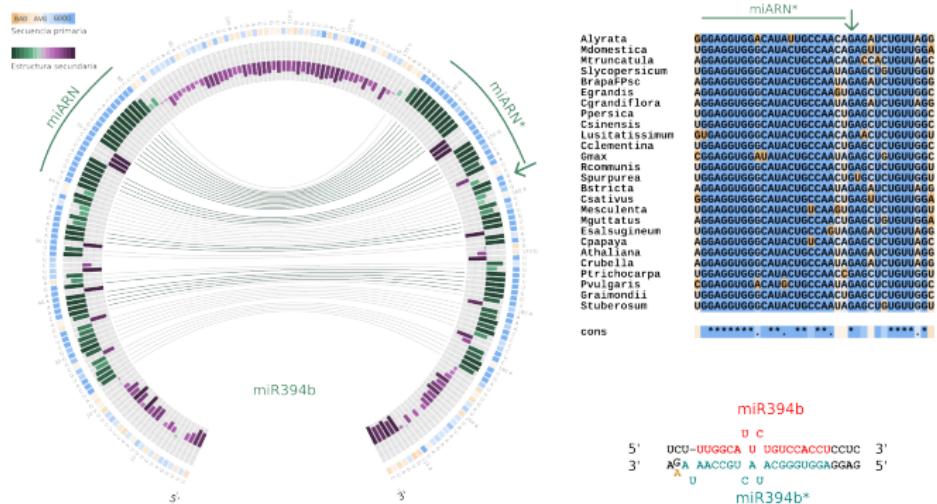


La posición *2 es importante para la estabilidad del precursor y su buen procesamiento.

Alelo mir394b-1 con un “mismatch” en el tallo inferior del precursor del miR394b

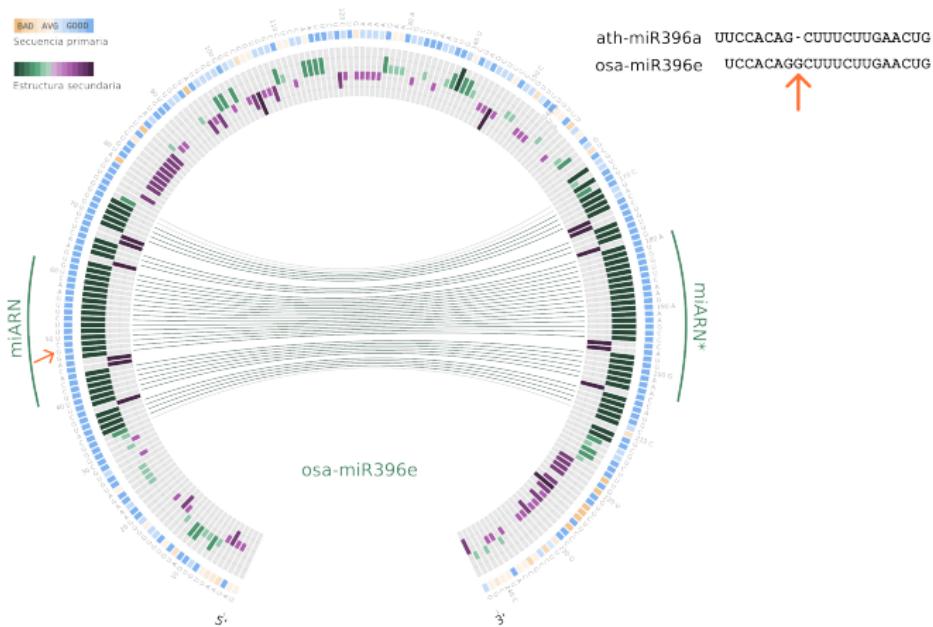


Alelo mir394b-1 con un “mismatch” en el tallo inferior del precursor del miR394b

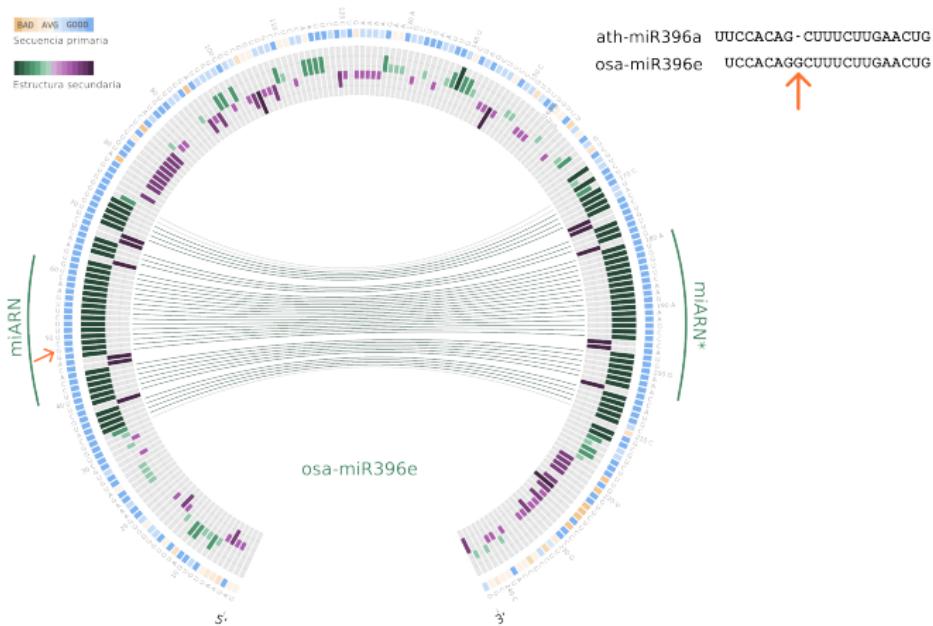


Mutaciones simples en el precursor (fuera del dúplex) puede afectar el reconocimiento de DICER.

Variante del miR396 específica de monocotiledóneas



Variante del miR396 específica de monocotiledóneas



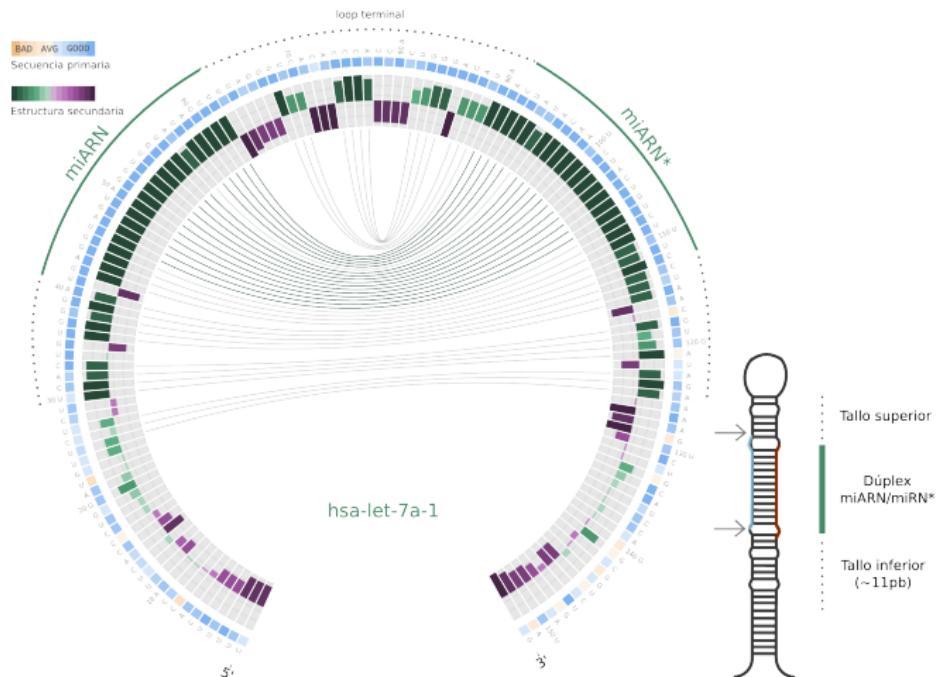
El nucleótido extra, que le da identidad a la variante de monocotiledóneas, está conservado.

¿Qué sucede con los precursores de miARNs conservados en animales?

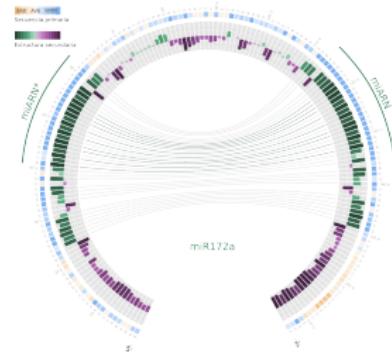
Animales

Bos taurus
Canis familiaris
Equus caballus
Gallus gallus
Gorilla gorilla
Homo sapiens
Macaca mulatta
Monodelphis domestica
Mus musculus
Ornithorhynchus anatinus
Petromyzon marinus
Sus scrofa
Xenopus tropicalis

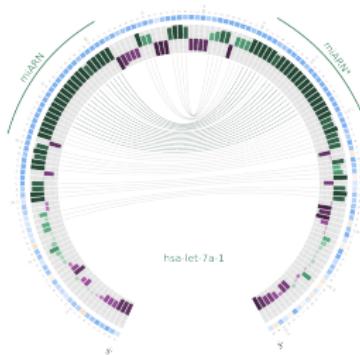
El loop terminal está conservado en la mayoría de los precursores de animales estudiados.



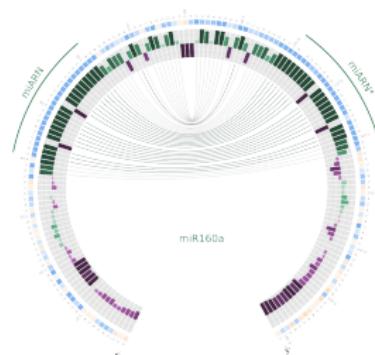
Circos animales vs plantas



Precursors de plantas.
Cortos de base a loop



Precursors de animales.



Precursors de plantas.
Cortos de loop a base

- ▶ Presentamos un enfoque bioinformático para el estudio de la evolución y biogénesis de miARNs en plantas.

- ▶ Presentamos un enfoque bioinformático para el estudio de la evolución y biogénesis de miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollamos una implementación gráfica para visualizar de manera simple los precursores de miARNs en distintas especies de plantas.

- ▶ Presentamos un enfoque bioinformático para el estudio de la evolución y biogénesis de miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollamos una implementación gráfica para visualizar de manera simple los precursores de miARNs en distintas especies de plantas.
- ▶ Lo utilizamos para caracterizar la evolución de precursores de miARNs en plantas con distintos mecanismos de procesamiento.

- ▶ Presentamos un enfoque bioinformático para el estudio de la evolución y biogénesis de miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollamos una implementación gráfica para visualizar de manera simple los precursores de miARNs en distintas especies de plantas.
- ▶ Lo utilizamos para caracterizar la evolución de precursores de miARNs en plantas con distintos mecanismos de procesamiento.
- ▶ Estudiamos precursores con mutaciones que afectan al procesamiento de miARNs en plantas. Esta información podría ser utilizada para ayudar en el diseño de miARNs artificiales en distintas especies y aumentar su eficiencia.

- ▶ Presentamos un enfoque bioinformático para el estudio de la evolución y biogénesis de miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollamos una implementación gráfica para visualizar de manera simple los precursores de miARNs en distintas especies de plantas.
- ▶ Lo utilizamos para caracterizar la evolución de precursores de miARNs en plantas con distintos mecanismos de procesamiento.
- ▶ Estudiamos precursores con mutaciones que afectan al procesamiento de miARNs en plantas. Esta información podría ser utilizada para ayudar en el diseño de miARNs artificiales en distintas especies y aumentar su eficiencia.
- ▶ Pudimos utilizar este mismo enfoque para estudiar precursores de miARNs en animales.

- ▶ Desarrollamos aplicaciones bioinformáticas para el estudio de interacciones miARN-gen blanco.

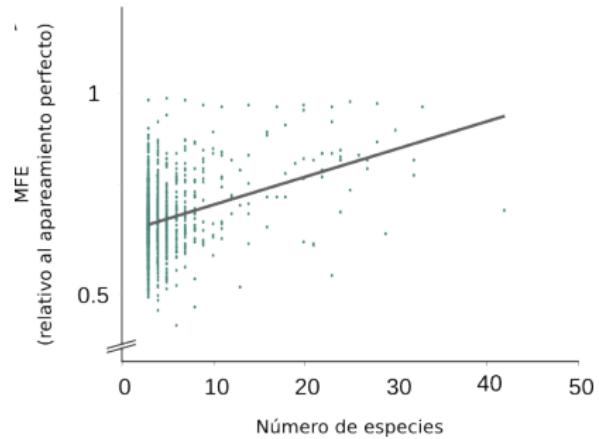
- ▶ Desarrollamos aplicaciones bioinformáticas para el estudio de interacciones miARN-gen blanco.
- ▶ Encontramos determinantes mecanísticos del procesamiento de miARNs en plantas.

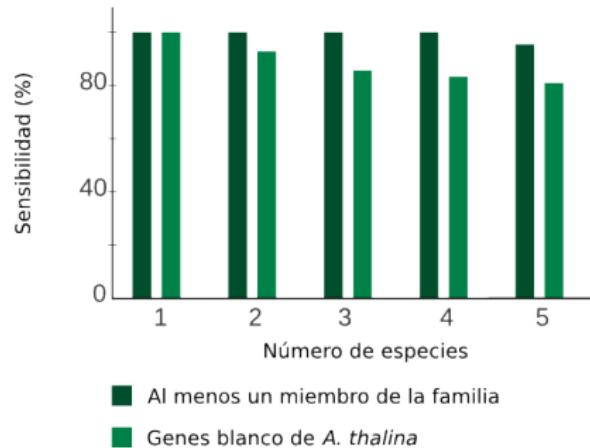
- ▶ Desarrollamos aplicaciones bioinformáticas para el estudio de interacciones miARN-gen blanco.
- ▶ Encontramos determinantes mecanísticos del procesamiento de miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollamos una herramienta para el análisis de bibliotecas de SPARE incluyendo una interfaz gráfica.

- ▶ Desarrollamos aplicaciones bioinformáticas para el estudio de interacciones miARN-gen blanco.
- ▶ Encontramos determinantes mecanísticos del procesamiento de miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollamos una herramienta para el análisis de bibliotecas de SPARE incluyendo una interfaz gráfica.
- ▶ Analizamos las estructuras de los precursores y su evolución.

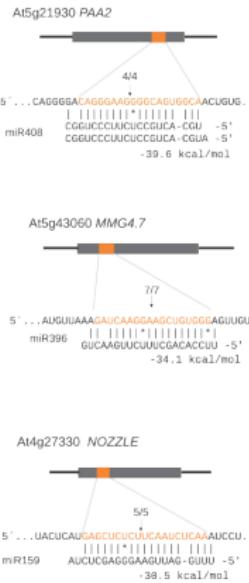
- ▶ Desarrollamos aplicaciones bioinformáticas para el estudio de interacciones miARN-gen blanco.
- ▶ Encontramos determinantes mecanísticos del procesamiento de miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollamos una herramienta para el análisis de bibliotecas de SPARE incluyendo una interfaz gráfica.
- ▶ Analizamos las estructuras de los precursores y su evolución.
- ▶ Realizamos una forma de representación Visualización de información compleja por adaptación de una herramienta Circos.

Muchas gracias.





Nuevos genes blancos validados en *A. thaliana*



Arabidopsis thaliana CAGGGAAAGGGCAGUGCA
Capiscum annuum CAGCGGAAGGAAGCAGUUGCA
Glycine max CAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Gossypium raimondii CAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Haseoulus vulgaris UAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Ipomoea nil CAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Lactuca sativa CAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Medicago truncatula CAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Saccharum officinarum UAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Solanum lycopersicum CAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Solanum tuberosum CAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Sorghum bicolor UAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Theobroma cacao CAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Vitis vinifera CAGGGAAAGGGCAGUUGCA

At3g22110 PAC1

5' ... AUCCAA~~CAGGGAAACCCACCCACCC~~GCUGGCC...
miR408 CGGUCCUCUUCUGUCACGU -5'
-32.9 kcal/mol

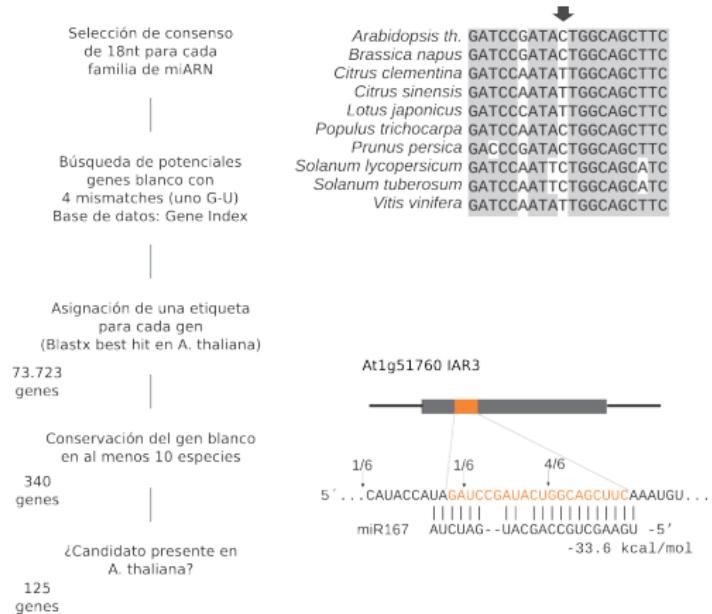
Arabidopsis thaliana CAGGGAAAGAGCAGUUGCA
Capiscum annuum AAGGGAAAGGGCAGUUGCA
Citrus clementina AAGGGAAAGAGCAGUUGCA
Glycine max AAGGGAAAGAGCAGUUGCA
Helianthus annuus CAGAAAAGAGCAGUUGCA
Lotus japonicus UAGGAAGAGAAGCAGUUGCA
Medicago truncatula AAGGGAAAGAGCAGUUGCA
Nicotiana tabacum AAGGGAAAGAGCAGUUGCA
Phaseolus coccineus AAGGGAAAGAGCAGUUGCA
Prunus persica AAGGAAGAGGGCAGUUGCA
Solanum tuberosum AAGGGAAAGAGCAGUUGCA
Theobroma cacao AAGGGAAAGAGCAGUUGCA
Triphysaria versicolor CAGGGAGGAGGCGUGUUC

At3g14110 FLU

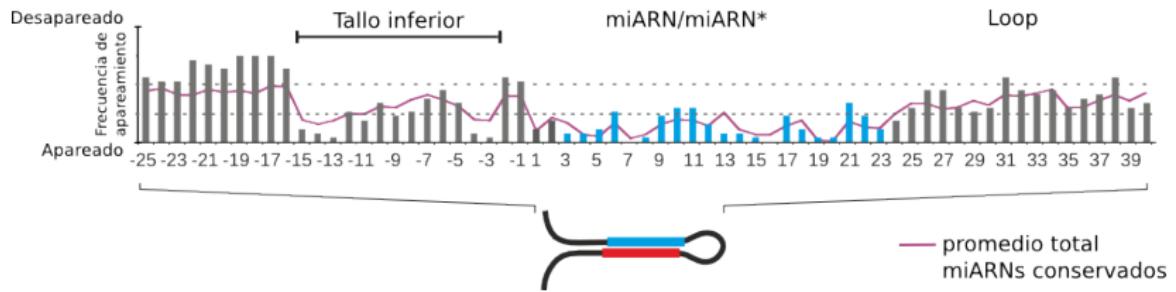
5' ... AUACAGA~~GUUCAGAUACGUUUGGACUUGC~~...
miR396 GUCAAGUUCUUUCGACCCU -5'
-39.1 kcal/mol

Arabidopsis thaliana GUUCAAGAUACGUUUGGA
Brassica napus GUUCAAGACAGCUUUGGA
Festuca arundinacea GUUCAAGACAGCUUUGGA
Hordeum vulgare GUUCAAGAUAGCUCUUGGA
Ipomoea nil GUUCAAGAAAGCCUUGA
Panicum virgatum GUUCAGGACAGCUCUUGGA
Triticum aestivum GUUCAAGACGCGCUUGGA

Nuevos genes blancos con interacciones G-U



Tallo inferior de 15 nt en precursores procesados desde la base



Región terminal estructurada en precursores procesados desde el loop

