



Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - Universidad Nacional
de Rosario

Tesis de Doctorado

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

Presentada por: Uciel Pablo Chorostecki

Rosario, Argentina

2016

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

Uciel Pablo Chorostecki

Licenciado en Ciencias de la Computación

Universidad Nacional de Rosario

Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Biológicas, de la Universidad de Rosario y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), dependiente de la Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, durante el período comprendido entre el ?? y el ??, bajo la dirección del Dr. Javier Palatnik.

I would like to dedicate this thesis to my loving parents ...

Índice general

Índice de figuras	ix
Índice de tablas	xi
1 Aplicaciones bioinformáticas para el estudio de interacciones miARN-gen blanco en plantas	1
1.1 Introducción	1
1.2 Resultados	1
1.2.1 Predicción de genes regulados por microARNs.	1
1.2.2 comTAR: una herramienta para la predicción de genes blanco regulados por microARNs en plantas.	9
1.2.3 Where does it come from?	9
2 My second chapter	11
2.1 Short title	11
Appendix A Anexo	13

Índice de figuras

1.1	Strategy	3
-----	--------------------	---

Índice de tablas

1.1	miARNs y sus genes blancos en plantas	4
1.2	Detection of miRNA targets using different filters	8
A.1	A nice looking table	13
A.2	Especies y base de datos utilizadas para la búsquedas de genes blanco de miARNs conservados	14
A.3	My caption	15

Resumen

Resumen: Deberá contener la siguiente información

1. Breve presentación del problema
2. Enfoque y planificación del problema
3. Datos significativos y hallazgos más importantes
4. Conclusiones

Capítulo 1

Aplicaciones bioinformáticas para el estudio de interacciones miARN-gen blanco en plantas

1.1 Introducción

1.2 Resultados

1.2.1 Predicción de genes regulados por microARNs.

Diseño de una estrategia para la identificación de genes blanco regulados por microARNs basado en la conservación evolutiva del par microARN-gen blanco.

Enfocamos nuestro análisis en 22 miARNs que están conservados en Angiospermas ([?], [?]). En general estos miARNs están codificados por pequeñas familias hasta 32 miembros. En los genomas completos de Arabidopsis, poplar y arroz es común encontrar variaciones en la secuencia de los miARNs pertenecientes a una misma familia, especialmente en el primer nucleótido y los nucleótidos 20 y 21 ([?]).

Sin embargo, observamos que la región entre la posición 2 y 19 está bastante conservada y pudimos encontrar una secuencia consenso presente en la mayoría de los miembros de cada familia de miARNs en esas tres especies. (tabla 1.1 y tabla A.1). Curiosamente, las bases variables fuera de esta región conservada son propensas a tener mismatches con genes blanco conocidos, lo que indica que podría existir una correlación entre la interacción miARN-gen blanco y la conservación de la secuencia del miARN.

Diseñamos una estrategia para identificar nuevos pares miARN-gen blanco principalmente basada en la conservación evolutiva de la secuencia del gen blanco (Figura 1.1). Las secuencias consenso de 18 nt de cada familia de miARN fueron usadas inicialmente para realizar la búsqueda de genes blanco en contigs de ESTs, de 41 especies de plantas, obtenidos de “Gene Index Project”¹ un proyecto mantenido y administrado por la universidad de Harvard que contiene un catálogo completo de genes en una amplia gama de organismos incluyendo plantas. Además se utilizaron ARNm completos para *A. thaliana*² y *Oryza Sativa*³ (para ver la lista completa de especies, ver tabla A.2). Utilizando las secuencias consenso de 18nt y permitiendo 3 mismatches (errores), la búsqueda de genes blanco arrojó como resultado 38.597 genes distribuidos en las 43 especies (Figura 1.1, bin 1). Las interacciones G-U y los bulges fueron considerados como mismatches en esta primera búsqueda. Todos los genes blanco de *A. thaliana* conocidos hasta ese momento fueron identificados usando esta estrategia con la excepción de CSD2, un gen blanco del miR398 que contiene 4 mismatches (tabla A.2).

Teniendo en cuenta que la mayoría de los genes blanco arrojados presentan una escasa descripción del tipo genómica funcional, realizamos un BLASTx contra el proteoma de *A. thaliana*. El “locus ID” obtenido como “best hit” se utilizó como tag (etiqueta) para identificar al candidato en distintas especies (Figura 1.1). A pesar que esta estrategia no necesariamente identifica el gen ortólogo de Arabidopsis, sirve como propósito de clasificación de cada potencial gen blanco de miARN. Aunque la mayoría de los potenciales genes blanco pudieron ser fácilmente asignados con una etiqueta, algunos pocos casos, que incluye a los genes que representan ARNs no codificantes fueron perdidos en este paso.

La estrategia permite la selección de los mejores candidatos basándose en la presencia de los genes blanco en un número distinto de especies. Utilizando 4 especies como el mínimo de especies requeridas (ya que tiene una buena especificidad), dio como resultado 3.781 genes que corresponden a 533 tags diferentes (Figura 1.1, bin 2).

La búsqueda también se puede hacer en combinación con filtros empíricos de interacción par miARN-gen blanco que tienen en cuenta la energía de interacción y la posición de los mismatches (ver Materiales y métodos). De los 38.597 candidatos iniciales, 9.375 pasan estos filtros (Figura 1.1, bin 4). Combinando filtros de energía y filtro de conservación evolutiva, la búsqueda arrojó como resultado 563 candidatos correspondientes a 146 tags (Figura 1.1, bin 5).

¹<http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/>

²<http://arabidopsis.org>

³<http://rice.plantbiology.msu.edu>

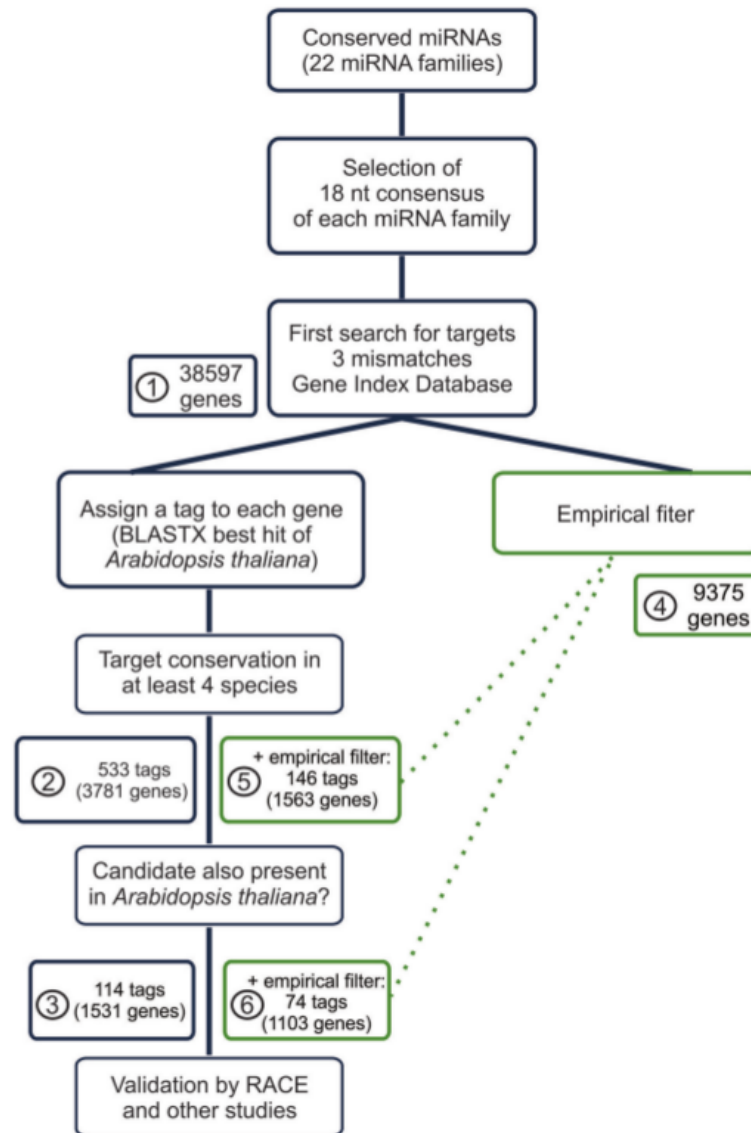


Fig. 1.1 Scheme of the strategy to identify new miRNA targets. The number of detected target genes is indicated for each step of the analysis. After applying the conservation analysis, all genes with the same hit in the *Arabidopsis* proteome were considered as one target. Note that different genes with the same ID tag give only one hit, so that the total numbers of hits are reduced by this filter. Green squares refer to the target search using empirical filters: bins 5 and 6 include target genes selected by both evolutionary and empirical filters, while bins 2 and 3 have potential targets selected only by evolutionary filters.

Table 1.1 miARNs y sus genes blancos en plantas

miARN	Consenso (18 nt)	Targets conocidos ^(a,b)
miR156	GACAGAAGAGAGTGAGCA	factores de transcripción SPL
miR159	TTGGATTGAAGGGAGCTC	factores de transcripción MYB, NOZZLE (NZL)
miR160	GCCTGGCTCCCTGTATGC	factores de transcripción ARF
miR162	CGATAAACCTCTGCATCC	DCL1
miR164	GGAGAAGCAGGGCACGTG	factores de transcripción NAC
miR166	CGGACCAGGCTTCTATTCC	factores de transcripción HDZip
miR167	GAAGCTGCCAGCATGATC	factores de transcripción ARF, IAA-ALANINE RESISTANT 3 (IAR3)
miR168	CGCTTGGTGCAGTCCGGG	AGO1
miR169	AGCCAAGGATGACTTGCC	factores de transcripción CCAAT-HAP2
miR171	TTGAGCCGTGCCAATATC	factores de transcripción GRAS
miR172	GAATCTTGATGATGCTGC	factores de transcripción AP2
miR319	TGGACTGAAGGGAGCTCC	factores de transcripción TCP
miR390	AGCTCAGGAGGGATAGCG	TAS RNA
miR393	CCAAAGGGATCGCATTGA	TIR1 proteins, F-BOX proteins
miR394	TGGCATTCTGTCCACCTC	proteínas F-BOX
miR395	TGAAGTGTGTTGGGGGAAC	ATP-sulfurilasas, transportadores de sulfato
miR396	TCCACAGCTTTCTTGAAC	factores de transcripción GRF, MMG4.7, FLUORESCENT IN BLUE LIGHT (FLU)
miR397	CATTGAGTGCAGCGTTGA	Laccases
miR398	GTGTTCTCAGGTCACCCC	Cu/Zn SODs, CytC oxidase protein subunit, Chaperona de cobre (CCS)
miR399	GCCAAGGAGATTGCCC	Enzima E2 de conjugación de ubiquitina
miR408	TGCACTGCCTCTTCCCTG	Blue copper proteins, Laccases, P-TYPE ATPase (PAA2), PAC1 (Proteasome component)
miR827	TAGATGACCATCAGCAAA	SPX proteins

a Los genes blancos fueron agrupados según sus funciones.

b Nuevos genes blancos validados experimentalmente en este estudio están indicados en negrita.

Parámetros empíricos y de conservación evolutiva pueden actuar de manera sinérgica para identificar genes blanco regulados por miARNs.

Potenciales genes blanco de miARNs fueron clasificados de acuerdo al mínimo número de especie en donde fueron detectados (Figura 2A-E). Como control para cada microARN generamos 10 secuencias “scramble” (al azar), dividiendo las secuencias originales de a di-nucleótidos y luego generando nuevas secuencias al azar conservando la composición de los di-nucleótidos. Estas secuencias al azar fueron utilizadas para realizar búsqueda de genes blanco del mismo modo que lo hicimos para las secuencias originales. La relación señal/ruido fue calculada como el cociente entre el número de genes blanco para los miARNs y el número promedio obtenido de las secuencias al azar. El radio fue de 1,2 para todos los miARNs juntos sin requerir conservación y esa relación incrementa con el número de especie en donde los genes blanco fueron detectados (Figura 1.2 A, recuadro). Los datos para todos los miARNs y sus potenciales genes blancos conservados en al menos 4 especies están incluidos en la tabla 1.2.

Luego estudiamos la selección de candidatos teniendo en cuenta los filtros empíricos. Para esto aplicamos una versión modificada de los filtros descritos anteriormente y requiriendo (i) una energía mínima de hibridación (MFE) de al menos 72% del apareamiento perfecto de cada secuencia consenso y (ii) que sólo un mismatch pudiera estar presente entre la posición 1 y la 11 de la secuencia consenso (2-12 del miARN). De la búsqueda inicial 9.375 genes pasaron estos filtros conteniendo el 97% de los genes validados anteriormente de Arabidopsis. (Figura 1.1, bin 4).

Al aplicar solamente este filtro empírico, dio como resultado una relación señal/ruido de 1,7, al agrupar todos los miARNs juntos (Figura 1.2 A). Observamos que aplicar si-

multáneamente los filtros empíricos y de conservación aumentaron significativamente la relación señal/ruido para todos los miARNs juntos (Figura 1.2 A recuadro) y también de cada miARN individualmente (Figura 1.2 B-E, recuadros y tabla 1.2). En varios casos, esta relación llega hasta 10 cuando se requiere de que el gen blanco este presente en más de 5 especies y que pase los filtros empíricos (Figure 1.2 A–D). Este efecto sinérgico indica que el filtro de conservación evolutiva y los parámetros empíricos pueden estar seleccionando aspectos diferentes de la interacción miARN-gen blanco.

Observamos que el número de genes blanco candidato y la relación señal/ruido es variable entre los distintos miARNs. El miR396 tiene la mayor cantidad de potenciales genes blanco, 92 de ellos presentes en al menos 4 especies y 26 de ellos pasan además los filtros empíricos (Tabla 1.2 y Figura 1.2 B). El miR408 y el miR398 también tienen un número alto de potenciales genes blanco y buenas relaciones de señal/ruido (Figura 1.2 C-D).

En contraste, ciertos miARNs como el miR162, miR168 y miR399 tienen un solo potencial gen blanco conservado en al menos 4 especies de acuerdo con nuestra búsqueda (Tabla 1.2 y Figura 1.2 E). Al menos en el caso del miR162 y del miR168 este resultado podría estar reflejando su rol específico en la regulación por retroalimentación de la biogénesis del miARN, ya que controlan los niveles de expresión DCL1 y AGO1 respectivamente ([?],[?]).

Como control adicional para nuestra estrategia hicimos la búsqueda de genes blanco del miR158 y miR173, que son miARNs presentes solamente en *A. thaliana* y especies bien cercanas (17). Como era esperado estos miARNs no generaron más candidatos que sus versiones al azar (Tabla 1.2 y Figura 1.2 F).

Luego chequeamos si los pares miARN-gen blanco altamente conservados tenían una interacción más fuerte que los que están presentes en pocas especies. Para esto calculamos la energía mínima de hibridación para cada interacción detectada en nuestro trabajo. Observamos que los pares miARN-gen blanco presentes en muchas especies tienden a tener energía de interacción mayores que los que están presentes en menos especies (Figure 1.3 A). De todos modos, la correlación no fue notoria y algunas interacciones miARN-gen blanco tuvieron una baja energía de hibridación (Figure 1.3 A). Estos resultados muestran que una alta conservación podría no ser necesariamente equivalente a una fuerte interacción, la misma podría proporcionar una explicación para los efectos sinérgicos causados por los filtros de evolución y empíricos sobre la relación señal/ruido.

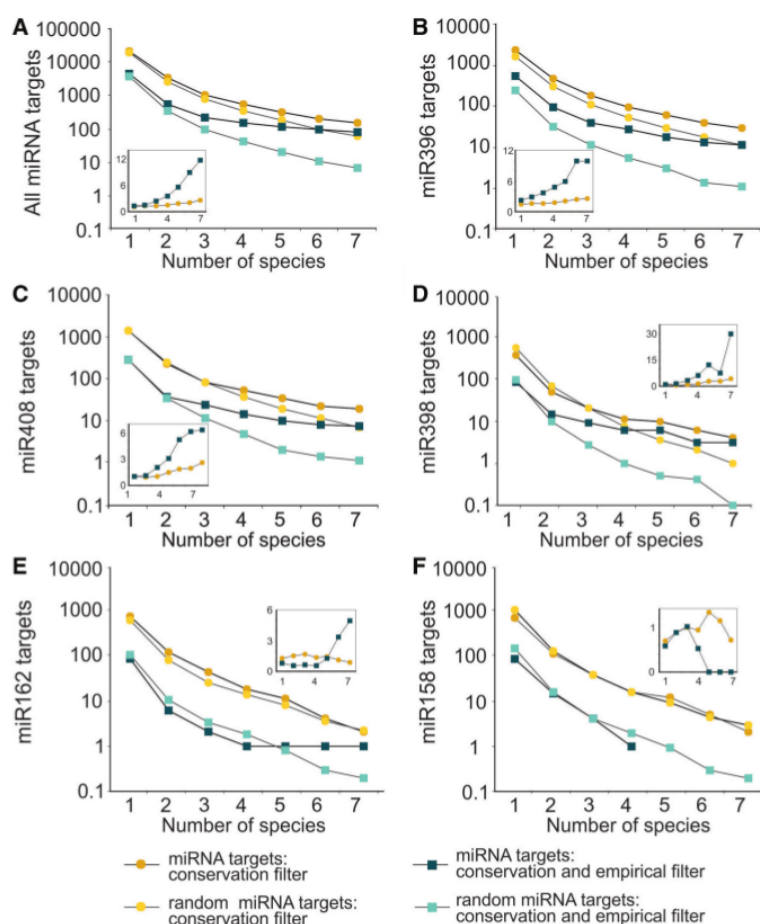


Fig. 1.2 Conservación de potenciales genes blanco en distintas especies. Todos los miARNs (A), miR396 (B), miR408 (C), miR398 (D), miR162 (E), miR158 (F). Puntos naranja representan los genes blanco de miARNs usando filtro evolutivo. Puntos amarillos representan los genes blanco de las secuencias al azar usando filtro evolutivo. El cuadrado azul muestra los genes blanco de miARNs luego de aplicar filtros empíricos y evolutivos, mientras que el cuadrado celeste representa los genes blanco de las secuencias al azar en las mismas condiciones. Los recuadros muestran la relación señal/ruido.

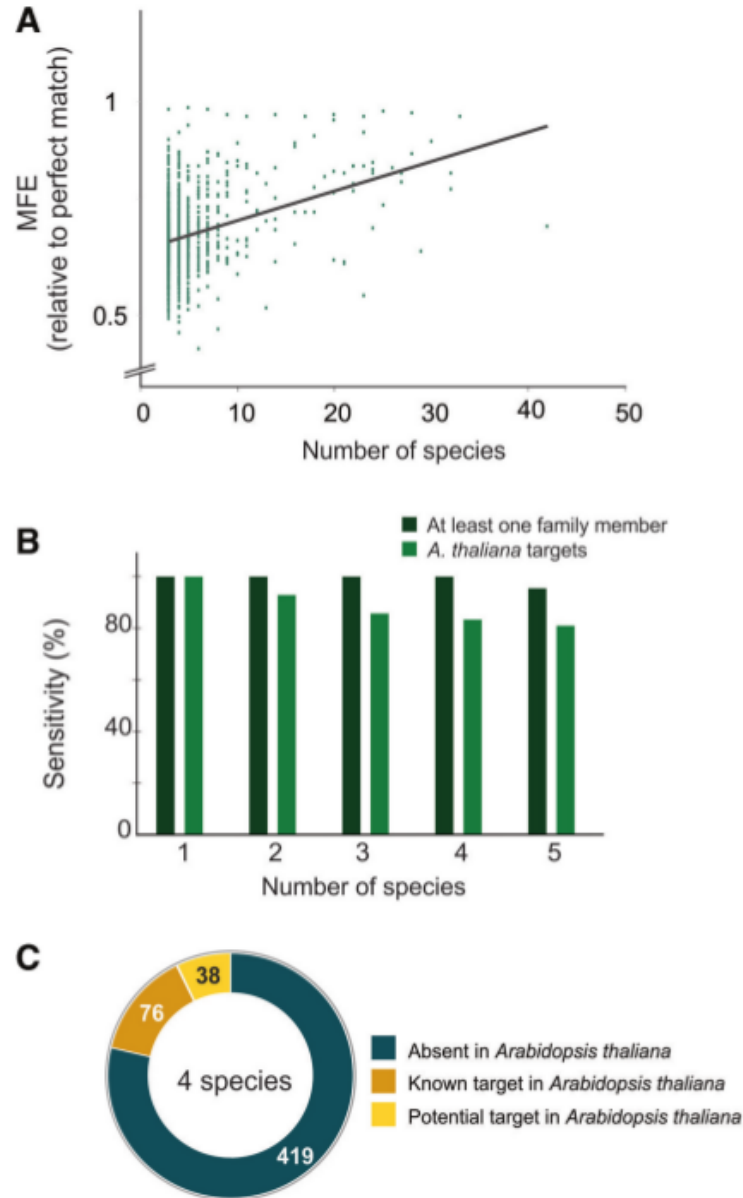


Fig. 1.3 Selección de genes blanco por conservación evolutiva de la secuencia. (A) Relación entre MFE y el número de especies en donde cada gen blanco fue detectado. (B) Sensibilidad de la estrategia, analizado de dos modos distinto. Verde claro: evaluando la presencia de genes validados en *Arabidopsis* y en verde oscuro teniendo en cuenta la presencia de por lo menos un gen blanco de cada familia regulada por miARNs. (C) Clasificación de los potenciales genes blanco presentes en al menos 4 especies.

Table 1.2 Detection of miRNA targets using different filters

	Sin filtros			Filtros empíricos			Conservación 4 especies			Todos los filtros		
	miARN	scramble	ratio	miARN	scramble	ratio	miARN	scramble	ratio	miARN	scramble	ratio
miR156	3915	3994.4	± 149.9	1.0	890	704.7	± 45.2	1.3	34	39.7	± 3.1	0.9
miR159	1663	1283.7	± 47.8	1.3	472	254.9	± 21.9	1.9	20	10.1	± 1.1	2.0
miR160	793	695.6	± 30.5	1.1	277	157.5	± 28.8	1.8	5	4.4	± 0.9	1.1
miR162	1191	930.2	± 139.5	1.3	108	164.7	± 24.1	0.7	18	13.5	± 3.5	1.3
miR164	2486	1480.2	± 60.4	1.7	678	333.2	± 32.2	2.0	39	12.4	± 1.9	3.1
miR166	879	815.5	± 45.0	1.1	231	129	± 14.5	1.8	16	10.6	± 1.4	1.5
miR167	1777	1364.2	± 146.6	1.3	478	214.8	± 27.5	2.2	22	20.2	± 3.6	1.1
miR168	962	797.5	± 48.5	1.2	209	185	± 14.2	1.1	6	4.4	± 0.8	1.4
miR169	1540	1047.2	± 69.7	1.5	464	181.4	± 15.6	2.6	26	11.1	± 2.1	2.3
miR171	884	723.4	± 32.1	1.2	202	113.8	± 13.4	1.8	7	6.6	± 1.4	1.1
miR172	3007	1693.7	± 124.7	1.8	540	288.1	± 40.3	1.9	34	17.7	± 1.7	1.9
miR319	1363	1274.2	± 113.6	1.1	324	249.2	± 22.3	1.3	18	15	± 2.8	1.2
miR390	873	814.4	± 64.3	1.1	335	173	± 22.5	1.9	8	4.7	± 1.2	1.7
miR393	986	844.6	± 58.7	1.2	276	124.6	± 11.1	2.2	14	7.1	± 1.2	2.0
miR394	1569	1531.4	± 57.5	1.0	188	237.1	± 25.0	0.8	26	21.4	± 2.2	1.2
miR395	1472	1226.7	± 66.7	1.2	426	217.6	± 16.5	2.0	11	8.8	± 1.3	1.3
miR396	4641	2979.3	± 246.6	1.6	1246	390.5	± 38.8	3.2	92	51.4	± 5.9	1.8
miR397	1426	1050.9	± 27.9	1.4	368	236.5	± 23.5	1.6	26	9.7	± 0.8	2.7
miR398	935	834	± 34.5	1.1	376	144	± 18.1	2.6	11	7.5	± 1.6	1.5
miR399	1192	1137.6	± 72.0	1.0	275	207.8	± 24.9	1.3	5	13.6	± 1.7	0.4
miR408	2782	2502.9	± 103.6	1.1	695	468.7	± 50.8	1.5	51	35.1	± 3.0	1.5
miR827	2261	2000.1	± 119.8	1.1	317	297.1	± 45.0	1.1	44	23.4	± 3.9	1.9
Total	38597	31021.7	± 1859.8	1.2	9375	5473.2	± 576.3	1.7	533	348.4	± 47.0	1.5
Control												
miR158	1364	1462.8	± 69.1	0.9	170	208.7	± 15.8	0.8	15	16	± 1.7	0.9
miR173	1386	1232.1	± 101.7	1.1	243	215.6	± 23.4	1.1	11	12	± 2.4	0.9

a Sin filtros, búsqueda inicial utilizando los miARN consenso de 18nt y 3 mismatches.

b Filtros empíricos, energía de al menos 72% del apareamiento perfecto y 1 mismatch en la posición 2-12 del par miARN-gen blanco.

c Conservación del ID tag en al menos cuatro especies.

d Todos los filtros, combinación de los filtros empíricos y de conservación en al menos cuatro especies.

e miARN, genes blanco para cada miARN específico.

f scramble, promedio de los genes blanco de 10 versiones al azar de cada miARN ± error estándar.

Identificación de nuevos genes blanco en *A. thaliana* por conservación de la secuencia del gen blanco.

Identificación de nuevos genes blanco permitiendo interacciones G-U.

Identificación de genes blanco específicos de *Solanaceae*.

1.2.2 comTAR: una herramienta para la predicción de genes blanco regulados por microARNs en plantas.

1.2.3 Where does it come from?

Capítulo 2

My second chapter

2.1 Enfoque bioinformático para el estudio de la evolución y biogénesis de microARNs en plantas.

Appendix A

Anexo

Predicción de genes regulados por microARNs.

For 64bit OS

```
edit ~/.bashrc file and add following lines
PATH=/usr/local/texlive/2011/bin/x86_64-linux:$PATH;
export PATH
MANPATH=/usr/local/texlive/2011/texmf/doc/man:$MANPATH;
export MANPATH
INFOPATH=/usr/local/texlive/2011/texmf/doc/info:$INFOPATH;
export INFOPATH
```

Table A.1 A nice looking table

Dental measurement	Species I		Species II	
	mean	SD	mean	SD
I1MD	6.23	0.91	5.2	0.7
I1LL	7.48	0.56	8.7	0.71
I2MD	3.99	0.63	4.22	0.54
I2LL	6.81	0.02	6.66	0.01
CMD	13.47	0.09	10.55	0.05
CBL	11.88	0.05	13.11	0.04

Table A.2 Especies y base de datos utilizadas para la búsquedas de genes blanco de miARNs conservados

Specie	Database
Allium_cepa	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Aquilegia	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Arabidopsis_thaliana	http://arabidopsis.org/
Beta_vulgaris	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Brassica napus	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Capsicum_annuum	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Citrus_clementina	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Citrus_sinensis	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Coffea_canephora	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Euphorbia_esula	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Festuca_arundinacea	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Glycine_max	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Gossypium	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Gossypium_raimondii	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Haseolus_vulgaris	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Helianthus_annuus	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Hordeum_vulgare	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Ipomoea_nil	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Lactuca_sativa	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Lactuca_serriola	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Lotus_japonicus	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Malus_x_domestica	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Medicago_truncatula	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Mesembryanthemum_crystallinum	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Nicotiana_benthamiana	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Nicotiana_tabacum	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Oryza_sativa	http://www.jcvi.org/
Panicum_virgatum	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Petunia_hybrida	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Phaseolus_coccineus	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Populus	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Prunus_persica	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Saccharum_officinarum	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Secale_cereale	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Solanum_lycopersicum	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Solanum_tuberosum	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Sorghum_bicolor	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Theobroma_cacao	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
triphysaria	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Triphysaria_versicolor	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Triticum_aestivum	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Vitis_vinifera	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/
Zea_mays	http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/

Table A.3 My caption

microRNA	Target	ID
miR156/miR157	SPL	At1g27370
miR156/miR157	SPL	At1g53160
miR156/miR157	SPL	At2g33810
miR156/miR157	SPL	At3g15270
miR156/miR157	SPL	At5g43270
miR156/miR157	SPL	At1g69170
miR156/miR157	SPL	At2g42200
miR156/miR157	SPL	At3g57920
miR156/miR157	SPL	At5g50670
miR159/miR319	TCP	At1g30210
miR159/miR319	TCP	At1g53230
miR159/miR319	TCP	At2g31070
miR159/miR319	MYB	At3g11440
miR159/miR319	TCP	At3g15030
miR159/miR319	TCP	At4g18390
miR159/miR319	MYB	At5g06100
miR159/miR319	MYB	At2g26950
miR159/miR319	MYB	At2g32460
miR159/miR319	MYB	At5g55020
miR160	ARF	At1g77850
miR160	ARF	At2g28350
miR160	ARF	At4g30080
miR162	DCL	At1g01040
miR164	NAC	At1g56010
miR164	NAC	At3g15170
miR164	NAC	At5g07680
miR164	NAC	At5g53950
miR164	NAC	At5g61430
miR164	NAC	At3g12977
miR164	NAC	At5g39610
miR166/miR165	HD-ZIPIII	At1g30490
miR166/miR165	HD-ZIPIII	At1g52150
miR166/miR165	HD-ZIPIII	At2g34710
miR166/miR165	HD-ZIPIII	At5g60690
miR166/miR165	HD-ZIPIII	At4g32880
miR167	ARF	At1g30330
miR167	ARF	At5g37020
miR168	AGO	At1g48410
miR169	HAP2	At1g17590
miR169	HAP2	At1g54160
miR169	HAP2	At1g72830
miR169	HAP2	At3g05690
miR169	HAP2	At3g20910
miR169	HAP2	At5g06510
miR170/miR171	SCL	At2g45160
miR170/miR171	SCL	At3g60630
miR170/miR171	SCL	At4g00150
miR172	AP2	At2g28550
miR172	AP2	At4g36920
miR172	AP2	At5g60120
miR172	AP2	At5g67180
miR172	AP2	At2g39250
miR172	AP2	At3g54990
miR390/miR391	TAS3	At3g17185
miR390/miR391	TAS3	At5g49615
miR390/miR391	TAS3	At5g57735
miR393	TIR1/AFB	At1g12820
miR393	bHLH	At3g23690
miR393	TIR1/AFB	At3g26810
miR393	TIR1/AFB	At3g62980
miR393	TIR1/AFB	At4g03190
miR394	F-Box	At1g27340
miR395	APS	At3g22890
miR395	AST	At5g10180
miR395	APS	At5g43780
miR395	APS	At4g14680
miR396	GRF	At2g22840
miR396	GRF	At2g36400
miR396	GRF	At2g45480
miR396	GRF	At4g24150
miR396	GRF	At4g37740
miR396	GRF	At5g53660
miR396	GRF	At3g52910
miR397	LAC	At2g29130
miR397	LAC	At2g38080
miR397	LAC	At5g60020
miR398	CSD	At1g08830
miR398	CSD	At2g28190
miR398	CytC oxidase	At3g15640
miR399	E2-UBC	At2g33770
miR399	E2-UBC	At2g33770
miR408	LAC	At2g30210
miR827	PLC	At2g02850
miR827	SPX	At1g02860

