

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

Uciel Chorostecki

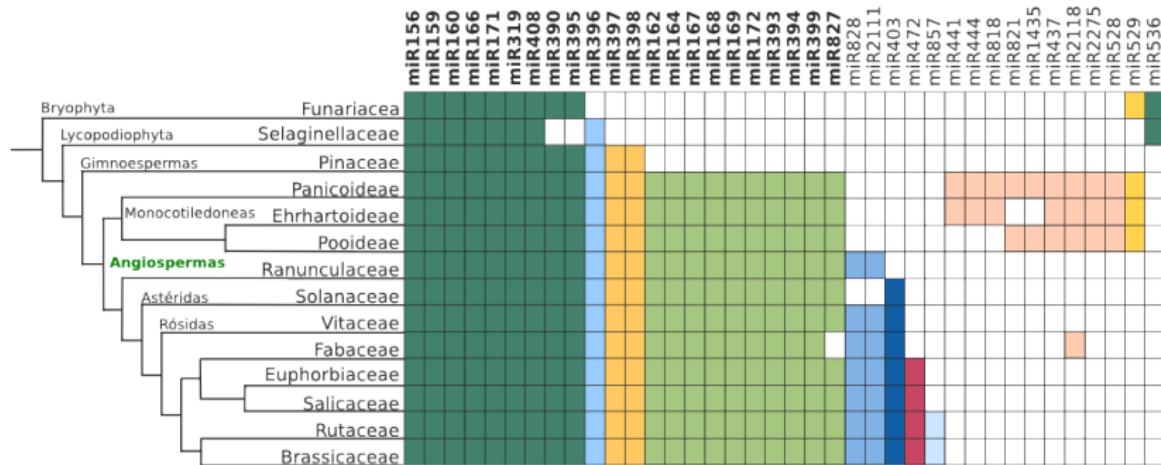
Director Dr. Javier Palatnik  
Instituto Biología Molecular y Celular Rosario

## microARNs

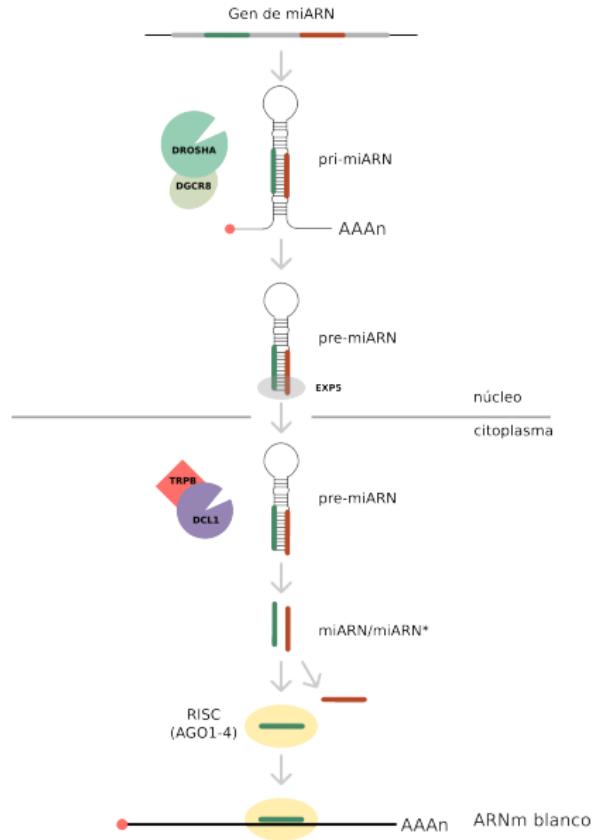
Los microARNs (miARNs) son ARN pequeños de 20-22 nt que regulan la expresión génica en animales y plantas.

- ▶ 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.
- ▶ 42 familias de miARNs en plantas, las que regulan una amplia variedad de procesos biológicos.
- ▶ Muchos de ellos han aparecido recientemente en la evolución y por lo tanto aparecen en un número pequeño de especies.

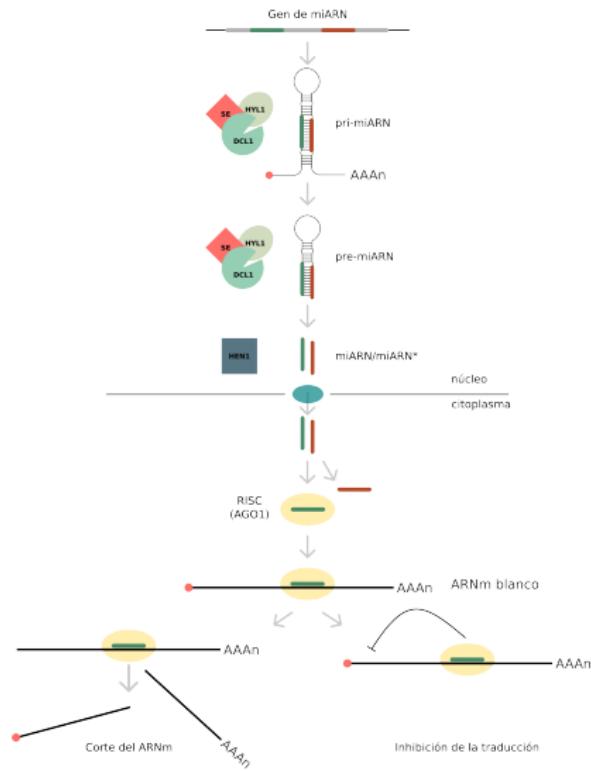
## 22 familias de miARNs que están altamente conservadas en las plantas



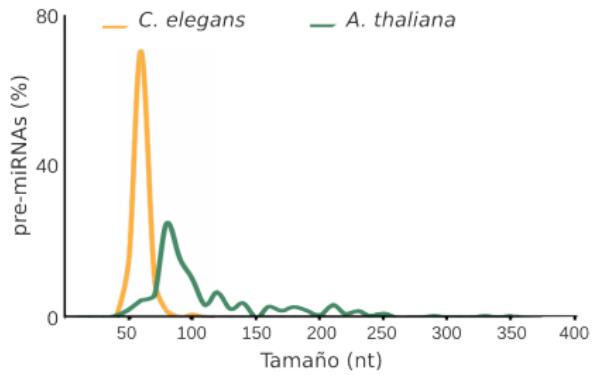
# Procesamiento de miARNs en animales



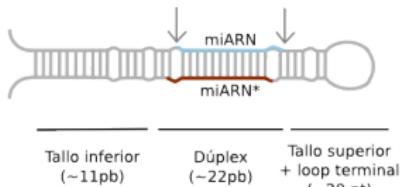
## Procesamiento de miARNs en plantas



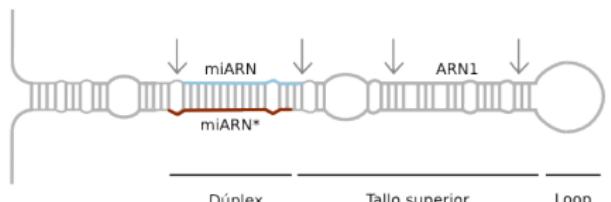
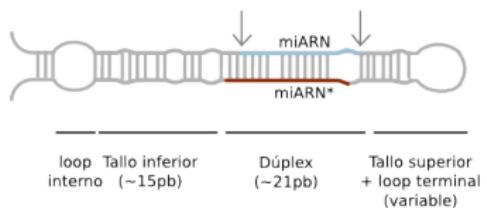
# Estructuras secundarias de precursores de miARNs



# Estructuras secundarias de precursores de miARNs



**pre-miARNs de animales**

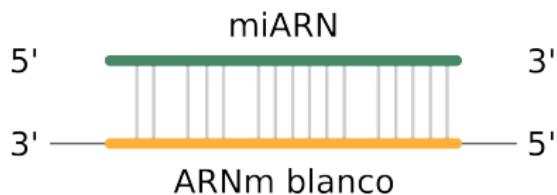


**pre-miARNs de plantas**

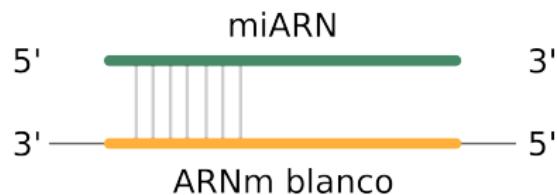
- ▶ En animales existe un gran número de genes blanco mediado por miARNs y un ARNm puede estar regulado por varios miARNs, en cambio los miARNs en plantas regulan un número limitado de genes blancos.
- ▶ En plantas controlan procesos vitales como el desarrollo, señalización hormonal y respuestas al estrés.

## Predicción de genes blanco de miARNs

### Plantas



### Animales



# Objetivos

1. Identificar genes regulados por miARNs en plantas.
2. Estudiar la biogénesis de los miARNs en plantas.

# Objetivos

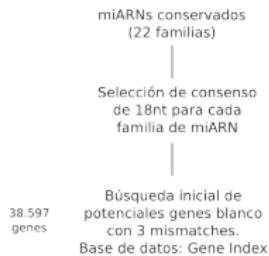
1. Identificar genes regulados por miARNs en plantas.
2. Estudiar la biogénesis de los miARNs en plantas.

- ▶ Diseñar una estrategia y una herramienta web para la identificación de genes blancos regulados por miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollar herramientas para el análisis de los intermediarios de procesamiento de miARNs en plantas.
- ▶ Identificar y 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.

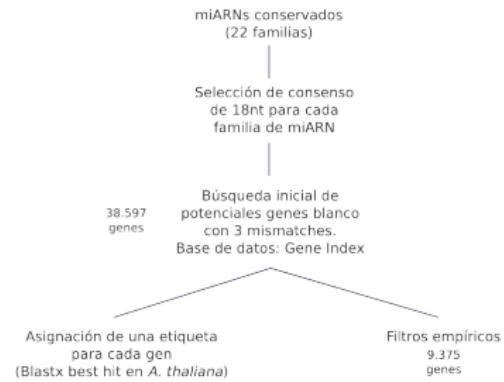
- ▶ Diseñar una estrategia y una herramienta web para la identificación de genes blancos regulados por miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollar herramientas para el análisis de los intermediarios de procesamiento de miARNs en plantas.
- ▶ Identificar y caracterizar precursores de miARNs en distintas especies 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.

# Aplicaciones bioinformáticas para el estudio de interacciones miARN-gen blanco

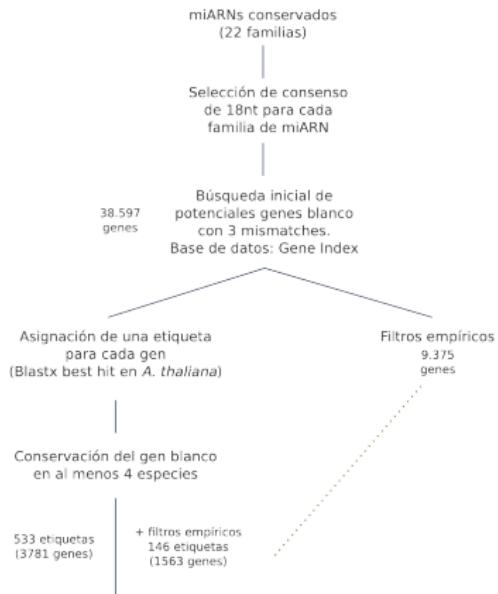
# Búsqueda de potenciales genes blancos



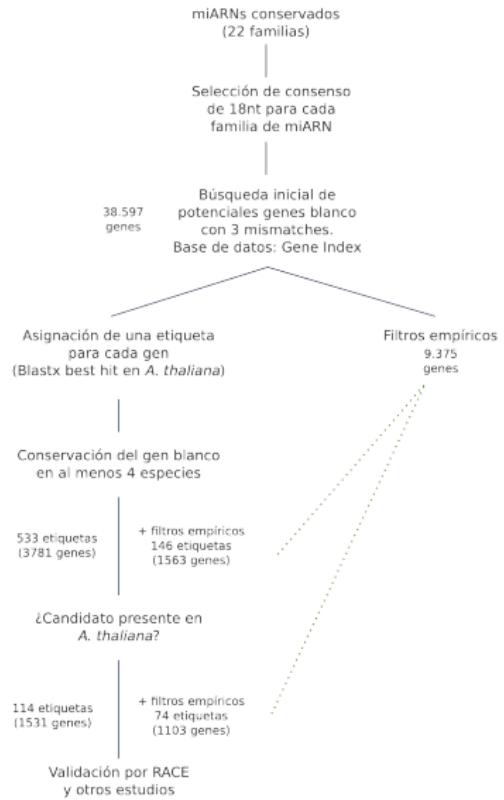
# Filtros de evolución y empíricos de interacción miARN-gen blanco



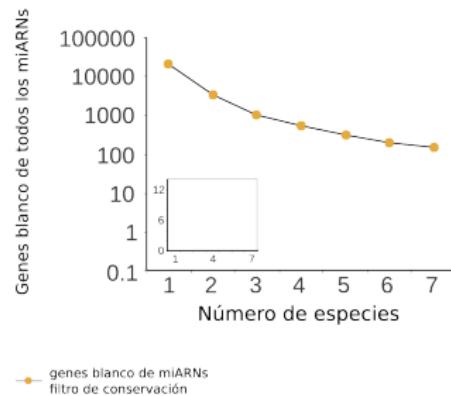
# Mínimo de 4 especies requeridas



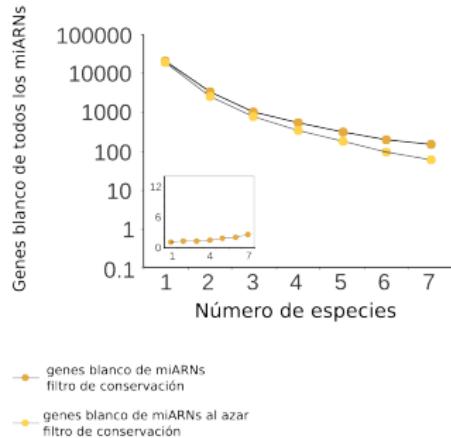
# Validación experimental



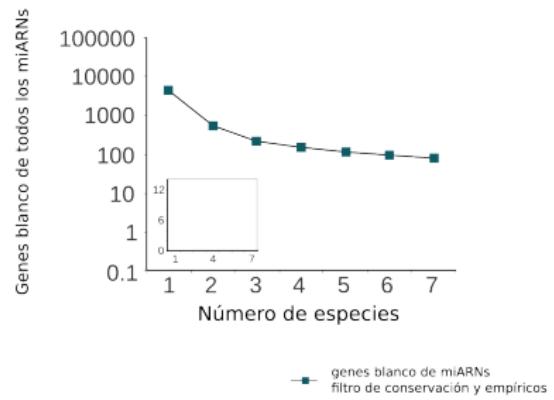
## Conservación de la interacción en distintas especie



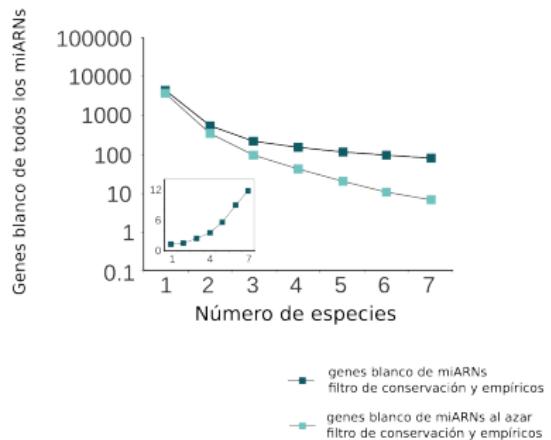
# La relación señal/ruido incrementa al aumentar el número de especies



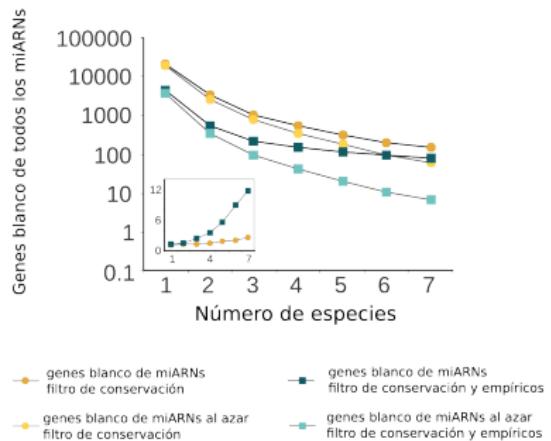
Slección de candidatos teniendo en cuenta los filtros empíricos



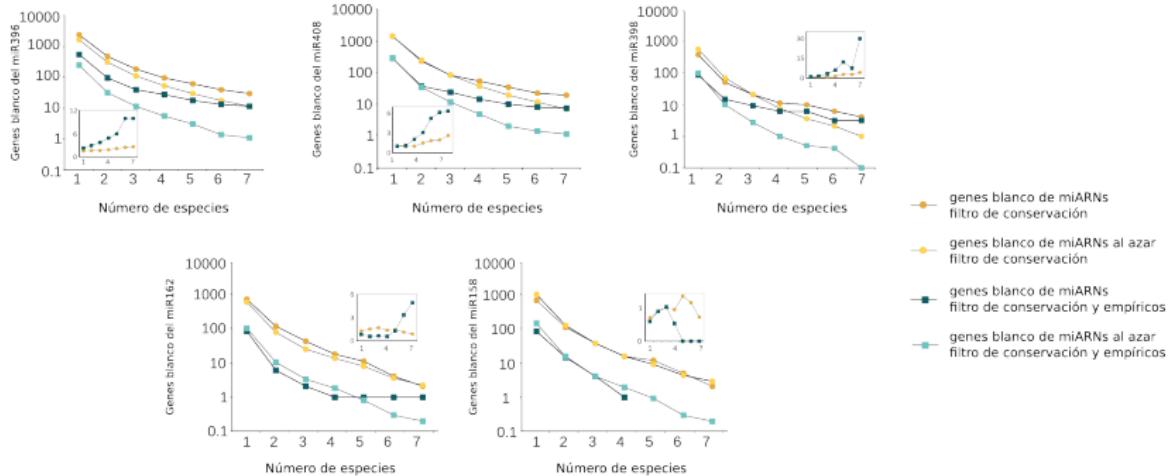
# Al aplicar filtros empíricos y de conservación la relación señal/ruido aumenta



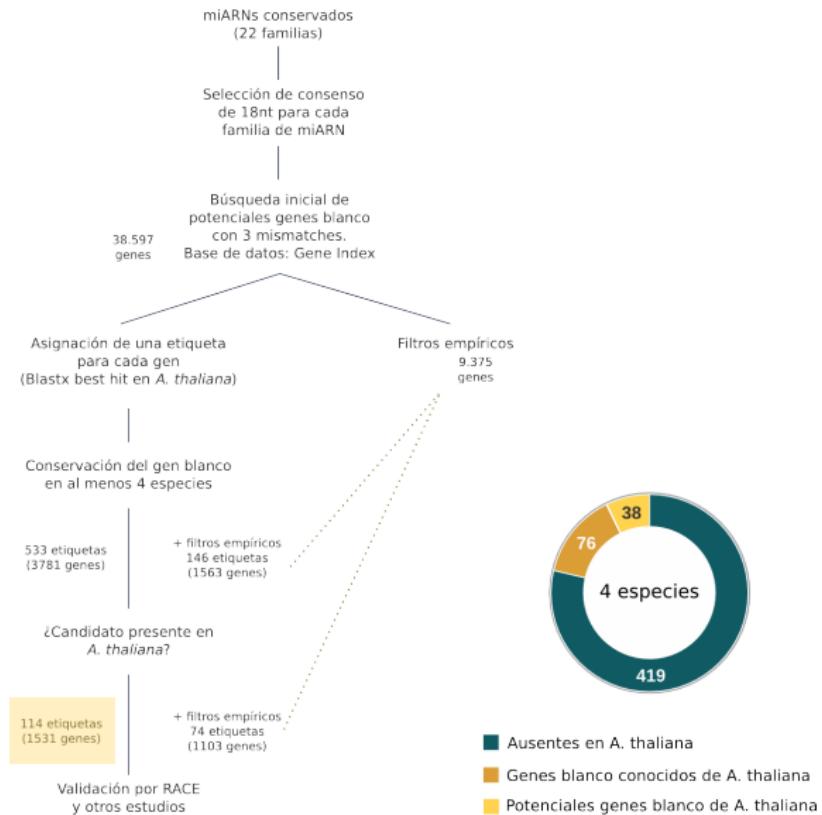
# Efecto sinérgico al combinar filtro de conservación evolutiva y empíricos



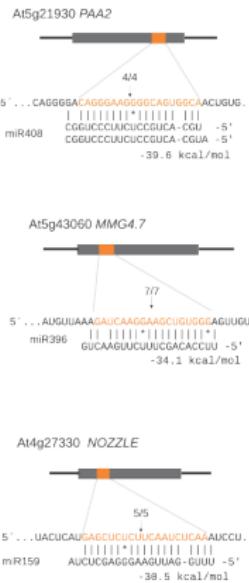
# El número de genes blancos candidatos y la relación señal/ruido es variable entre los distintos miARNs



# Potenciales genes blancos utilizando solo conservación evolutiva



# Nuevos genes blancos validados en *A. thaliana*



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

**At3g22110 PAC1**

5' ... AUCCAAAC~~CAGGGAAAGGGCAGUGCA~~ACGUUC...  
miR408 CGGUCCUCUUCUGUCGUACGU -5'  
-32.9 kcal/mol

**Arabidopsis thaliana** CAGGGAAAGGGCAGUGCA  
**Capiscum annuum** AAGGGAAAGGGCAGUGCA  
**Citrus clementina** AAGGGAAAGGGCAGUGCA  
**Glycine max** AAGGGAAAGGGCAGUGCA  
**Helianthus annuus** CAGAAAAGGGCAGUGCA  
**Lotus japonicus** UAGGAAGGAAGGCAGUGCA  
**Medicago truncatula** AAGGGAAAGGGCAGUGCA  
**Nicotiana tabacum** AAGGGAAAGGGCAGUGCA  
**Phaseolus coccineus** AAGGGAAAGGGCAGUGCA  
**Prunus persica** AAGGAAGAAGGCAGUGCA  
**Solanum tuberosum** AAGGGAAAGGGCAGUGCA  
**Theobroma cacao** AAGGGAAAGGGCAGUGCA  
**Triphysaria versicolor** CAGGGAGGAGGCGUGUCA

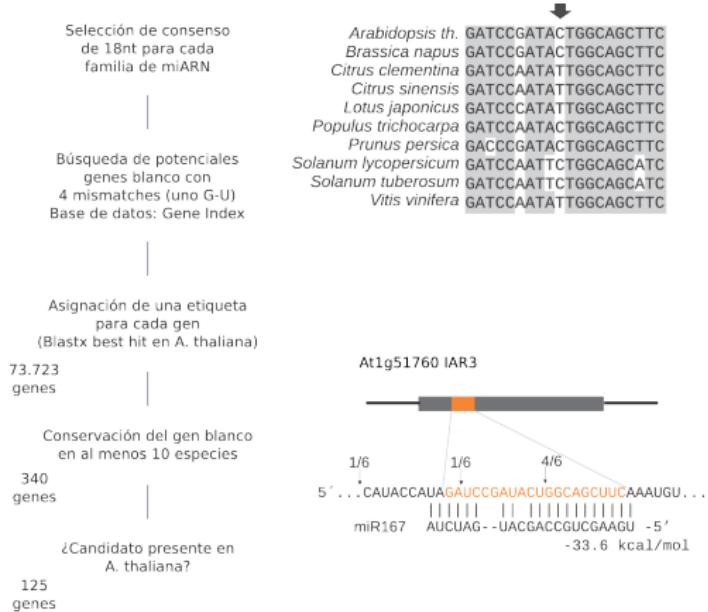
**At3g14110 FLU**

5' ... AUACAGA~~GUUCAGAUAGCUUUGGACUUGC~~...  
miR396 GUCAAGUUCUUUCGACACCUU -5'  
-39.1 kcal/mol

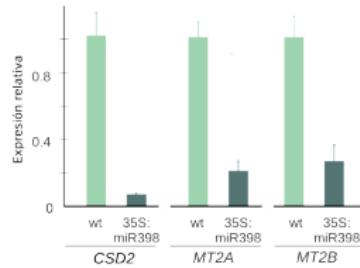
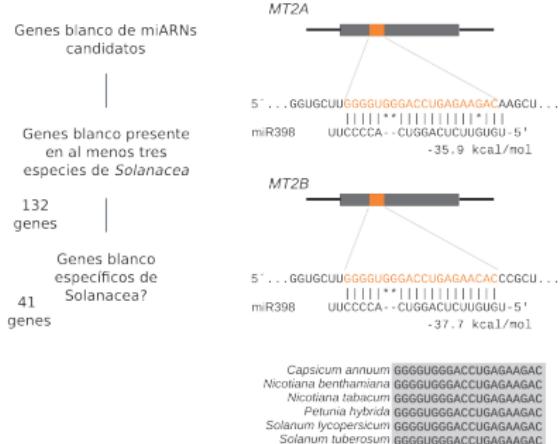
**Arabidopsis thaliana** GUUCAAGAUAGCUUUGG  
**Brassica napus** GUUCAAGACAGCUUUGG  
**Festuca arundinacea** GUUCAAGACAGCUUUGG  
**Hordeum vulgare** GUUCAAGAUAGCUUUGG  
**Ipomoea nil** GUUCAAGAAAGCCUUGA  
**Panicum virgatum** GUUCAGGACAGCUUUGG  
**Triticum aestivum** GUUCAAGACGCGCUUUGG

# Nuevos genes blancos con interacciones G-U

## ESTO NO LO VOY A PONER



# Identificación de genes blancos específicos de Solanaceae



ComTAR, una herramienta para predecir potenciales genes blancos regulados por miARNs en plantas basada en la conservación evolutiva del par miARN-gen blanco. 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

ComTAR, una herramienta para predecir potenciales genes blancos regulados por miARNs en plantas basada en la conservación evolutiva del par miARN-gen blanco. 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



Targets					
Arabidopsis Tag [?]	Count [?]	Species [?]	Target description [?]	Gene family [?]	Alignments [?]
AT1G12520	16	Show/Hide	copper chaperone for SOD1		<a href="#">View</a>
AT1G08830	9	Show/Hide	copper/zinc superoxide dismutase 1		<a href="#">View</a>
AT3G15640	4	Show/Hide	Rubredoxin-like superfamily protein		<a href="#">View</a>
AT1G60230	3	Show/Hide	Rubredoxin-like superfamily protein		<a href="#">View</a>
AT2G26975	3	Show/Hide	Ctr copper transporter family		<a href="#">View</a>
AT2G40340	3	Show/Hide	Integrase-type DNA-binding superfamily protein	AP2-EREBP Transcription Factor Family	<a href="#">View</a>
AT3G27200	3	Show/Hide	Cupredoxin superfamily protein	Miscellaneous Membrane Protein Families	<a href="#">View</a>
AT3G43860	3	Show/Hide	glycosyl hydrolase 9A4	Glycoside Hydrolase Gene Families	<a href="#">View</a>
AT4G00050	3	Show/Hide	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein	basic Helix-Loop-Helix (bHLH) Transcription Factor	<a href="#">View</a>
AT5G12220	3	Show/Hide	las1-like family protein		<a href="#">View</a>

# 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

# Conclusiones I

miARN	Consenso (18 nt)	Targets conocidos <sup>(a,b)</sup>
miR156	GACAGAAGAGAGTGAGCA	factores de transcripción SPL
miR159	TTGGATTGAAGGGAGCTC	factores de transcripción MYB, NOZZLE (NZL)
miR160	GCCTGGCTCCCTGTATGC	factores de transcripción ARF
miR162	CGATAAACCTTGTGATCC	DCL1
miR164	GGAGAAAGCAGGGCACGTG	factores de transcripción NAC
miR166	CGGACCAGGCTTCATTC	factores de transcripción HDZip
miR167	GAAGCTGCCAGCATGATC	factores de transcripción ARF, IAA-ALANINE RESISTANT 3 (IAR3)
miR168	CGCTTGGTGCAGGTCGGG	AGO1
mir169	AGCCAAGGATGACTTGCC	factores de transcripción CCAAT-HAP2
mir171	TTGAGCCGTGCCAATATC	factores de transcripción GRAS
miR172	GAATCTTGTATGATGCTGC	factores de transcripción AP2
miR319	TGGACTGAAGGGAGCTCC	factores de transcripción TCP
miR390	AGCTCAGGGAGGGATAGCG	TAS RNA
miR393	CCAAAGGGATCGCATTTGA	TIR1 proteins, F-BOX proteins
miR394	TGGCAATTCTGTCCACCTC	proteínas F-BOX
miR395	TGAAGTTGTTGGGGAAAC	ATP-sulfurilasas, transportadores de sulfato
miR396	TCCACAGCTTCTTGAAAC	factores de transcripción GRF, MMG4.7, FLUORESCENT IN BLUE LIGHT (FLU)
miR397	CATTGAGTGCAGCGTTGA	Laccases
miR398	GTGTTCTCAGGTACCCCC	Cu/Zn SODs, CytC oxidase protein subunit, Chaperona de cobre (CCS)
miR399	GCCAAAGGGAGATTGCC	Enzima E2 de conjugación de ubiquitina
miR408	TGCACTGCCTTCTCCCTG	Blue copper proteins, Laccases, P-TYPE ATPase (PAA2), PAC1 (Proteasome component)
miR827	TAGATGACCATCAGCAAA	SPX proteins

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

- ▶ 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.

- ▶ 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.

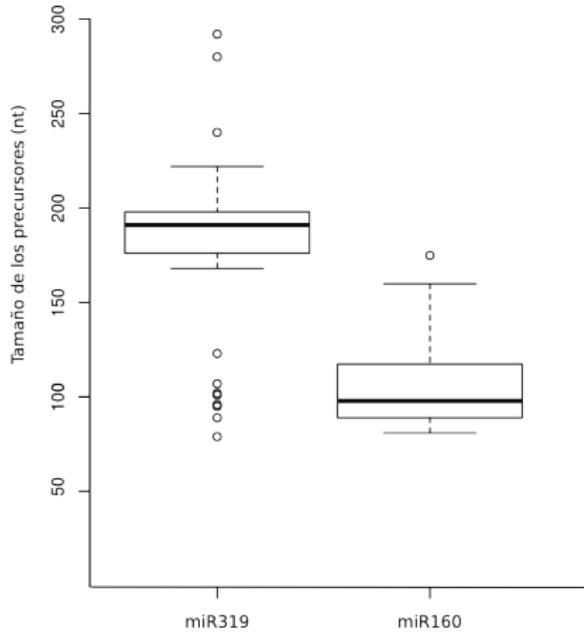
- ▶ Diseñamos una estrategia para identificar genes blancos regulados por miARNs en plantas, basado en la conservación evolutiva del par miARN-gen blanco.
- ▶ Identificamos nuevos genes blancos en *A. thaliana* y se validaron experimentalmente varios de ellos.
- ▶ Esta estrategia puede ser utilizada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

- ▶ Diseñar una estrategia y una herramienta web para la identificación de genes blancos regulados por miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollar herramientas para el análisis de los intermediarios de procesamiento de miARNs en plantas.
- ▶ Identificar y 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 y una herramienta web para la identificación de genes blancos regulados por miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollar herramientas para el análisis de los intermediarios de procesamiento de miARNs en plantas.
- ▶ Identificar y 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.

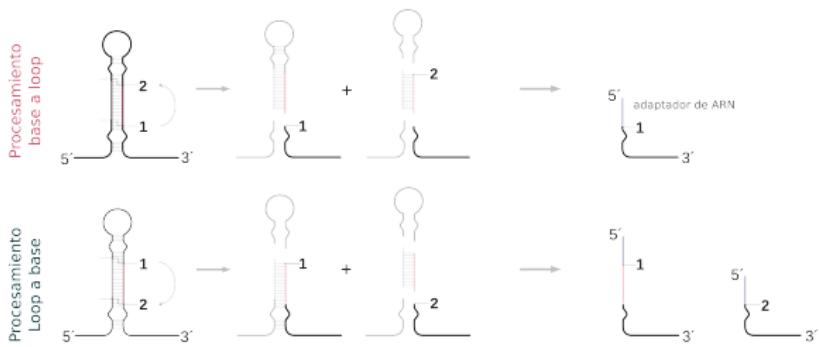
## Precursos en plantas son muy variables en tamaño y forma



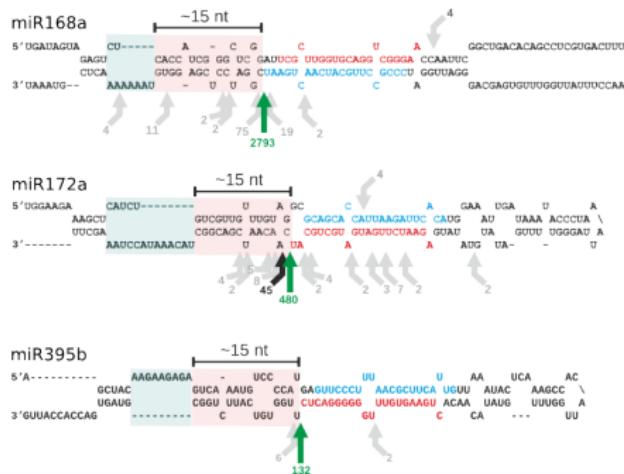
# Bibliotecas SPARE para estudios genómicos de biogénesis de miARNs en plantas



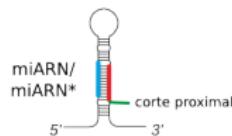
# Bibliotecas SPARE para estudios genómicos de biogénesis de miARNs en plantas



## Visualización de precursores que se procesan desde la base

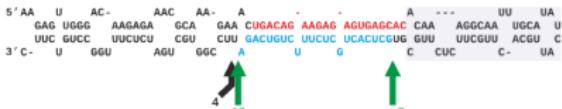


Detección solamente  
del corte proximal

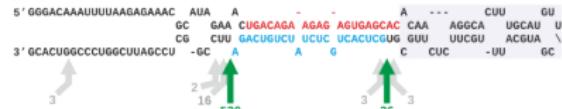


# Visualización de precursores que se procesan desde el loop

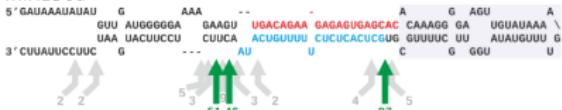
miR156a



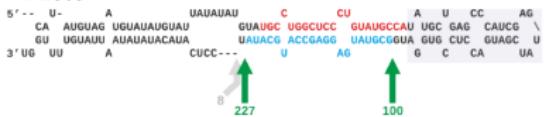
miR156c



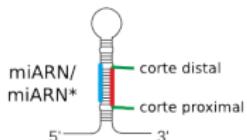
miR156d



miR160a

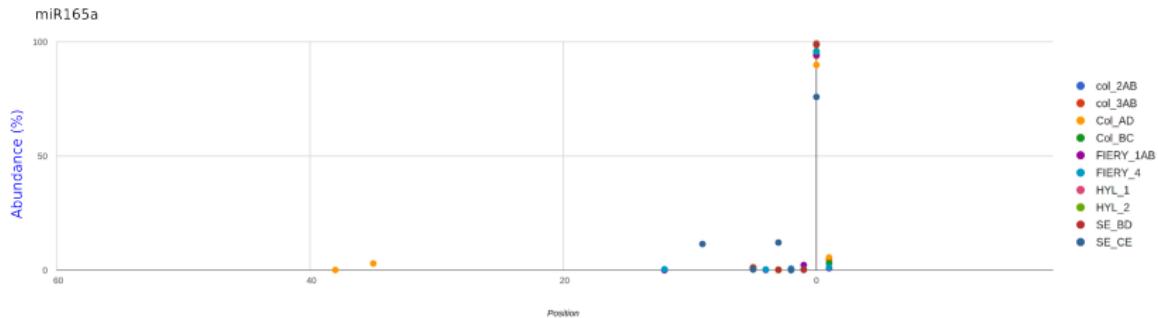


Detección de ambos cortes,  
proximal y distal



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

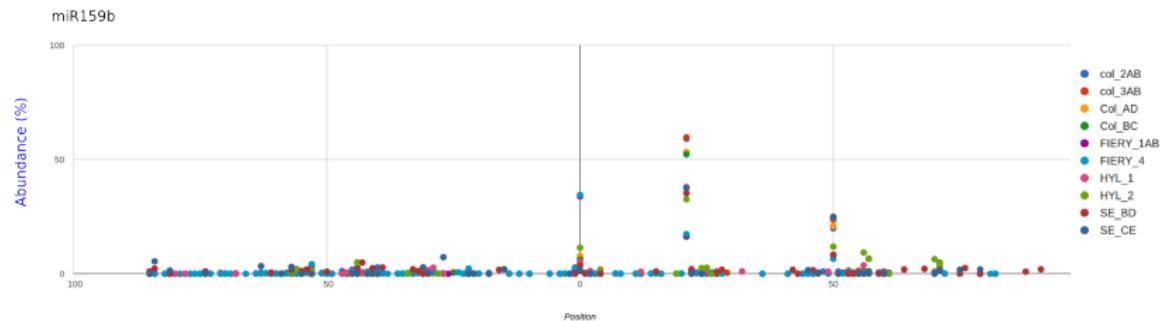
# Precursors procesados desde la base



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

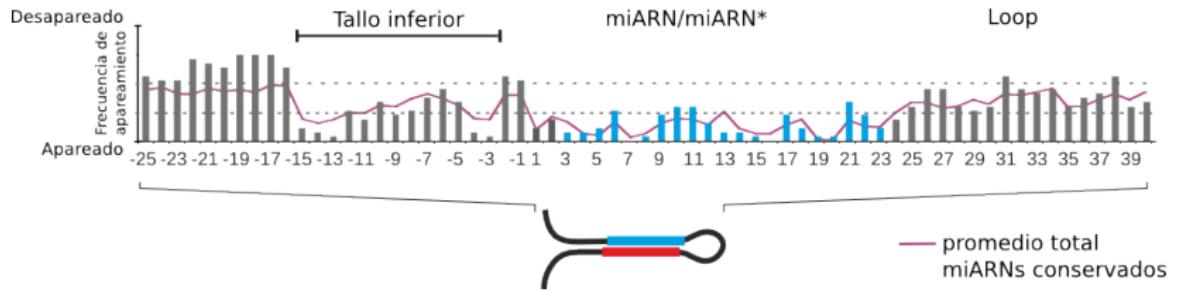


# Precursors procesados desde el loop

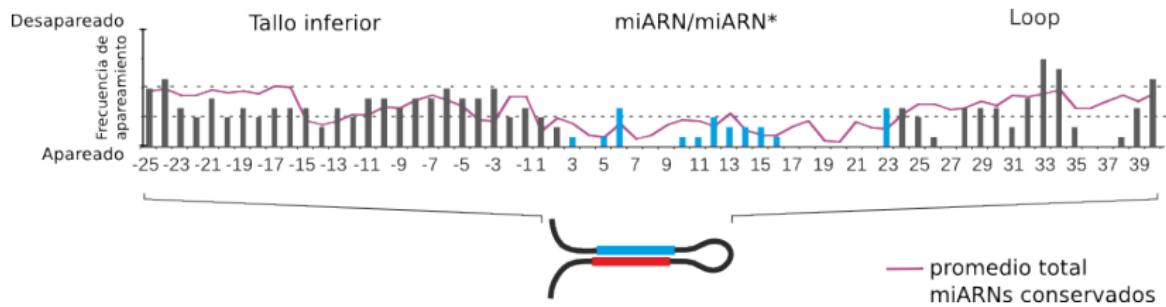


Position	col_2AB	col_3AB	Col_AD	Col_BC	FIERY_1AB	FIERY_4	HYL_1	HYL_2	SE_BD	SE_CE
21	10252	19917	5562	10992	6776	20171	2514	1477	1685	2752
50	3450	7908	2174	5164	3392	7627	1629	538	398	1824
0	1209	1319	822	1300	14091	40065	353	518	172	101
71	451	1070	233	1028	538	1713	302	201	70	125
53	9	461	1	64	250	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

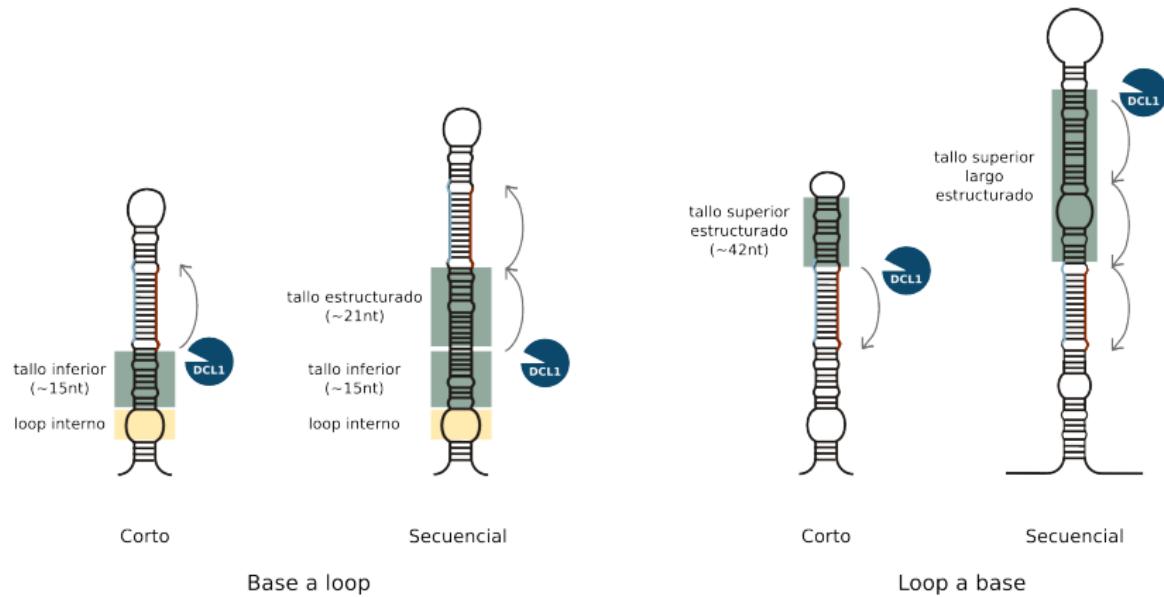
# Tallo inferior de 15 nt en precursores procesados desde la base



# Región terminal estructurada en precursores procesados desde el loop



## Conclusiones II



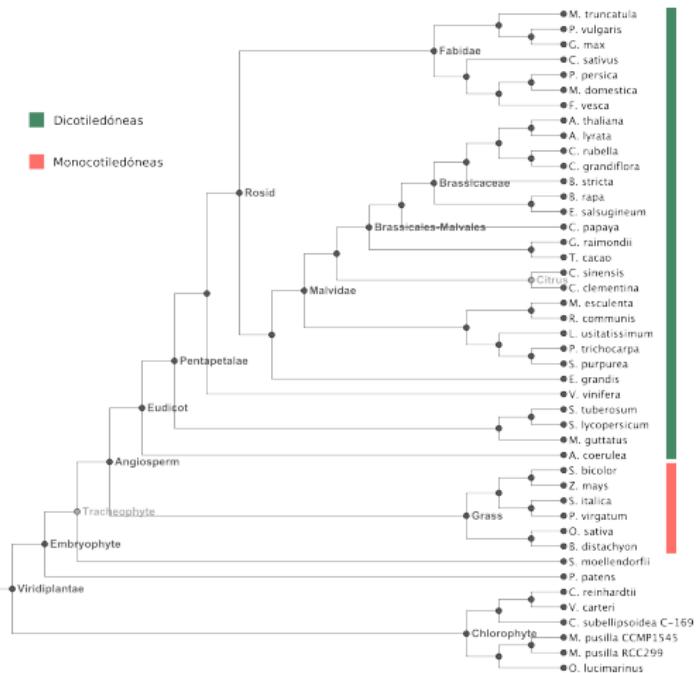
- ▶ Diseñar una estrategia y una herramienta web para la identificación de genes blancos regulados por miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollar herramientas para el análisis de los intermediarios de procesamiento de miARNs en plantas.
- ▶ Identificar y caracterizar precursores de miARNs en distintas especies 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 y una herramienta web para la identificación de genes blancos regulados por miARNs en plantas.
- ▶ Desarrollar herramientas para el análisis de los intermediarios de procesamiento de miARNs en plantas.
- ▶ Identificar y 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.

## VER LO QUE PUSE EN EL SEMINARIO IBR!!!!

Comenzamos nuestro análisis con una definición arbitraria de los precursores de plantas incluyendo 150 nt fuera del par miARN/miARN\*. Para cada miembro de cada familia de *A. thaliana* no es trivial asignarle un ortólogo en otra especie teniendo en cuenta la anotación de miRBase. Por esto, realizamos una búsqueda de ortólogos para cada miembro de cada familia de *A. thaliana* utilizando como criterio la técnica de Blast recíproco.

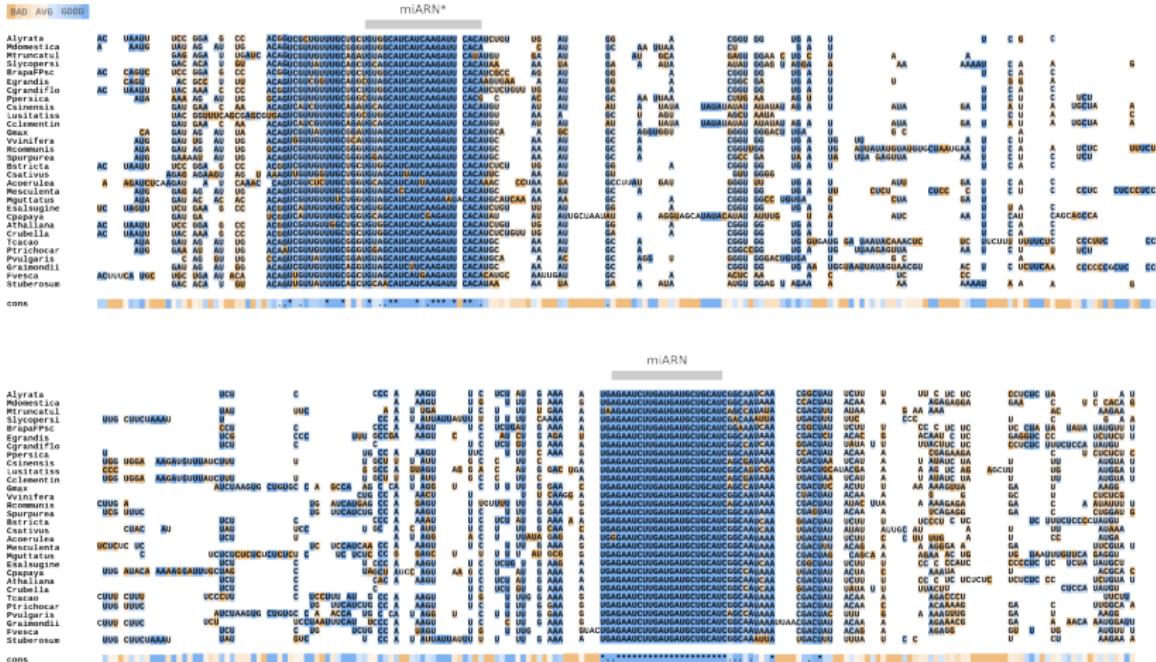
# Especies utilizadas de Phytozome (30 dicotiledóneas y 6 monocotiledóneas)



# Conservación de la secuencia primaria del miR172a en distintas especies

		Avg	Good													
Alvareza	AC	UAUUU	UCG CGG G CC	ACGGGUCGCUUCCGUUUCGCCGUUUCGUUUCGUCAUCGUACGUU CACAUUUU	U	AU	G	GG	C	CGU	GG	GU	U	U	U	U
Mitracanthica	A	AAAGG	UAG	ACGGGUCGCUUCCGUUUCGCCGUUUCGUUUCGUCAUCGUACGUU CACAUUUU	GC	AU	G	GU	GU	GU	GGAA	G	A	AA	A	A
Mitracanthus					GU	U	U	GU	GU	GU	GGAA	U	AA	A	A	G
Silicopetala					ACG	ACA U	U	GU	ACGGGUCGCUUCCGUUUCGCCGUUUCGUUUCGUCAUCGUACGUU CACAUUUU	AA	GU	R	AUA	AA	AA	AA
Baccharis					UCC	U	U	GU	ACGGGUCGCUUCCGUUUCGCCGUUUCGUUUCGUCAUCGUACGUU CACAUUUU	AA	GU	AA	GU	AA	AA	AA
Eryngium																
Argyranthemum																
Grandiflora																
Corynephorum																
Cistennensis																
Cistophilus																
Luzulastris																
Coldeniella																
Glossy																
Veronica	CA	GAU AG AG	GA	ACGGGUCGCUUCCGUUUCGCCGUUUCGUUUCGUCAUCGUACGUU CACAUUUU	AG	GU	U	GG	GU	GU	GU	GU	U	U	U	U
Viniperifera																
Rcommunis																
Surpurea																
AC	ACG	UAUUU	AGAGAU	U	ACGGGUCGCUUCCGUUUCGCCGUUUCGUUUCGUCAUCGUACGUU CACAUUUU	AA	CC	CG	GG	GU	GGAG	GU	GU	GU	GU	
Resessilenta																
Mugitaetus																
Leptosiphon	UC	UACG	U	ACGGGUCGCUUCCGUUUCGCCGUUUCGUUUCGUCAUCGUACGUU CACAUUUU	AC	AA	AC	GG	GU	GGAG	GU	GU	GU	GU	GU	GU
Capapaya																
Antennaria	AC	UAUUU	GC C G	ACGGGUCGCUUCCGUUUCGCCGUUUCGUUUCGUCAUCGUACGUU CACAUUUU	AC	GU	U	GG	GU	GU	GU	GU	U	U	U	U
Corydalis																
Tsacca	ABA	GAU AG AG	AG	ACGGGUCGCUUCCGUUUCGCCGUUUCGUUUCGUCAUCGUACGUU CACAUUUU	AA	GU	AC	AA	GU	GU	GG	GU	GU	GU	GU	GU
Pithecellobium																
pulvularis																
Grammondi																
Fragaria																
Strobosorus																
cons					*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Alvareza																
Mitracanthica																
Mitracanthus																
Silicopetala																
Baccharis																
Eryngium																
Argyranthemum																
Cistennensis																
Cistophilus																
Luzulastris																
Coldeniella																
Glossy																
Veronica																
Viniperifera																
Rcommunis																
Surpurea																
Brachystachys																
Brachystachys																
Carex																
Carthamus																
Argemone																
Mensulenta																
Hypolepis																
Salimginea																
Careya																
Atheliana																
Cribellata																
Trixacum																
Pithecellobium																
pulvularis																
Grammondi																
Fragaria																
Strobosorus																
cons					*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Alvareza																
Mitracanthica																
Mitracanthus																
Silicopetala																
Baccharis																
Eryngium																
Argyranthemum																
Cistennensis																
Cistophilus																
Luzulastris																
Coldeniella																
Glossy																
Veronica																
Viniperifera																
Rcommunis																
Surpurea																
Brachystachys																
Brachystachys																
Carex																
Carthamus																
Argemone																
Mensulenta																
Hypolepis																
Salimginea																
Careya																
Atheliana																
Cribellata																
Trixacum																
Pithecellobium																
pulvularis																
Grammondi																
Fragaria																
Strobosorus																
cons					*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

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



CONICET



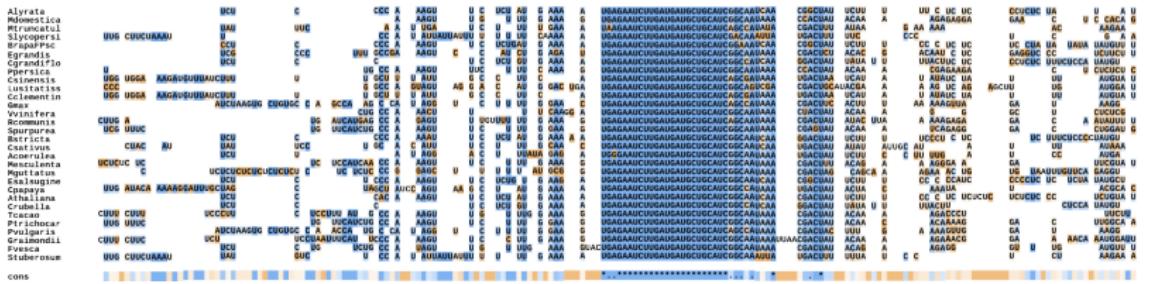
I B R

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

BAD AVG GOOD



miARN

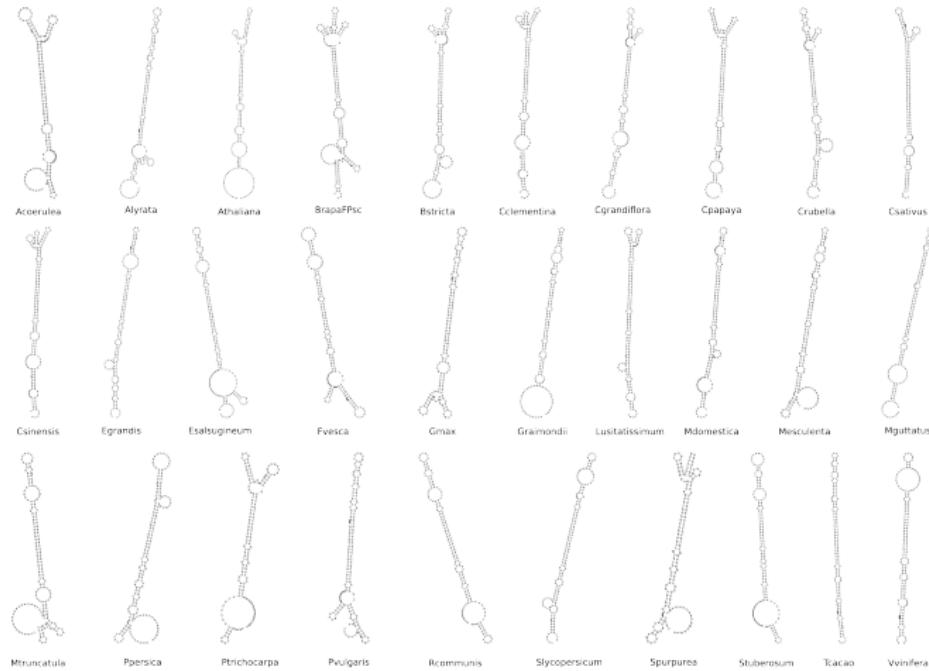


CONICET

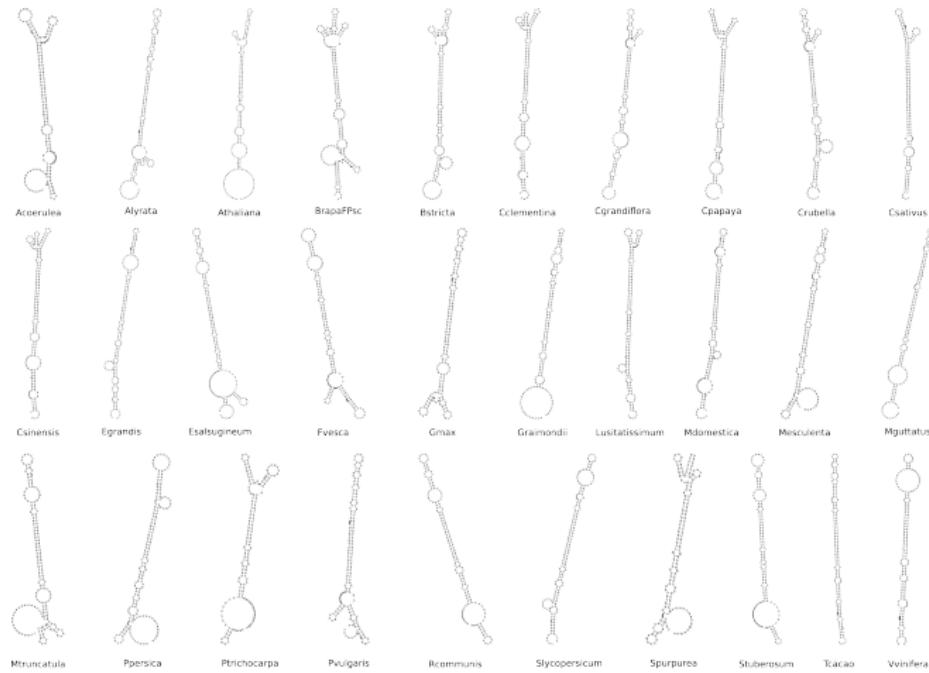


I B R

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

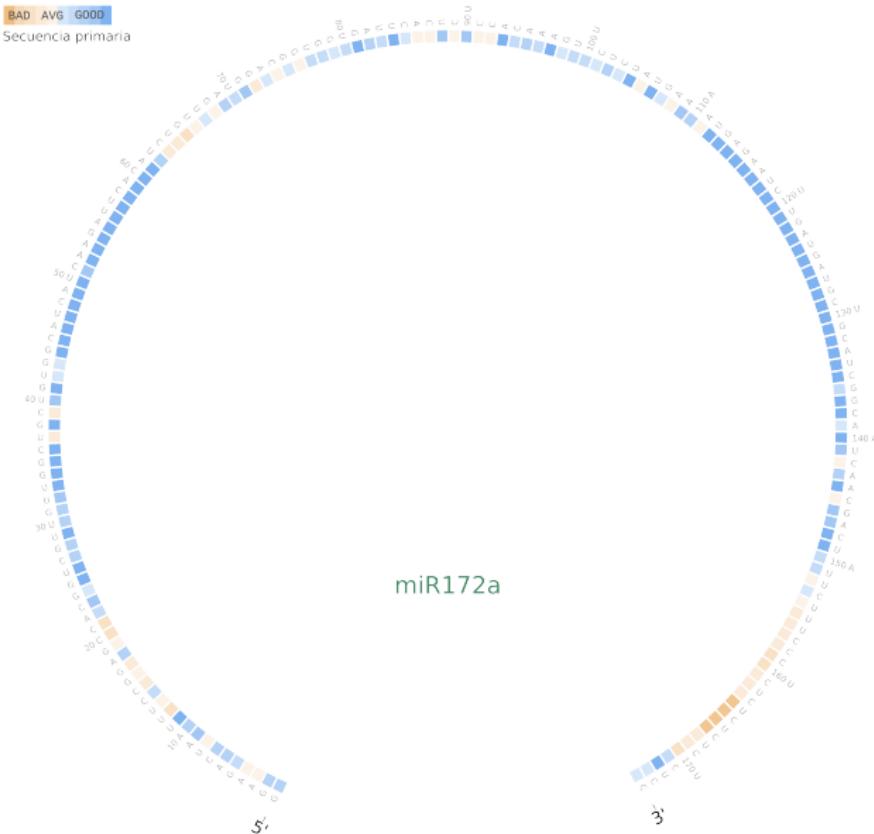


Existe un patrón estructural que comparten los precursores, en la región inmediata por debajo del dúplex miARN/miARN\*

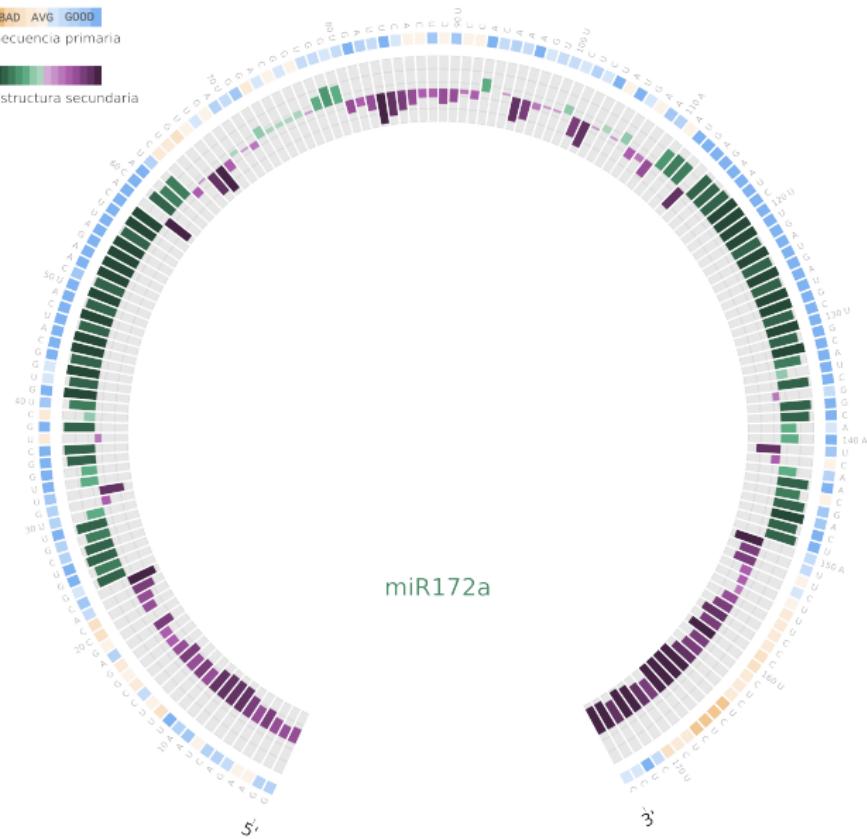


No es trivial deducir información concreta a partir de estas figuras.

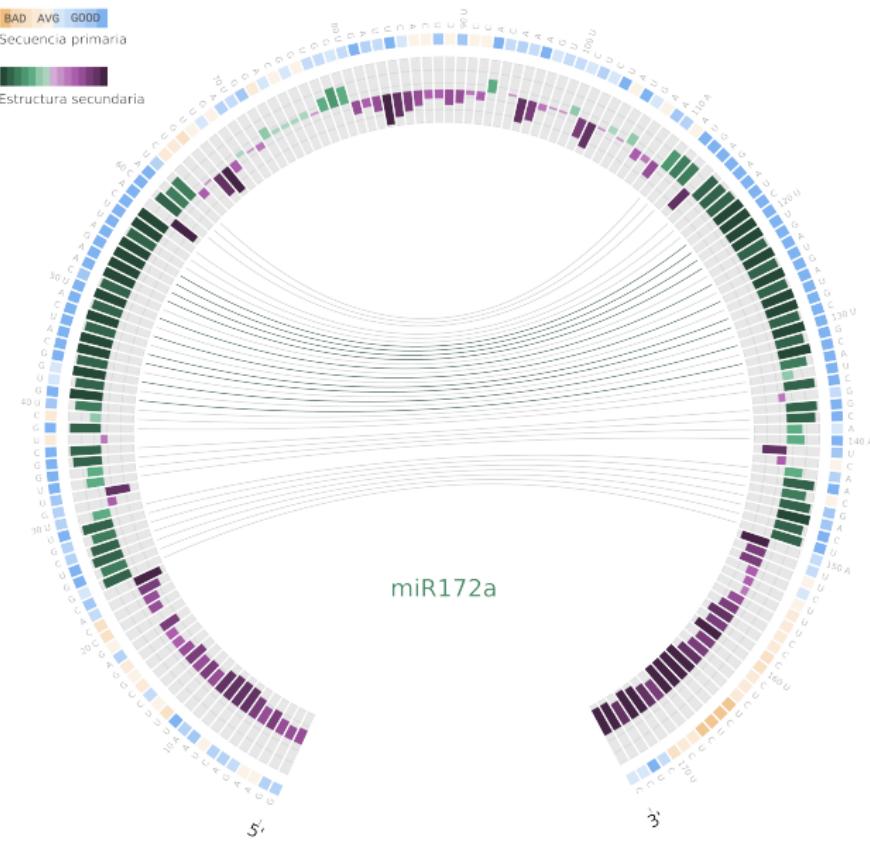
# Conservación del consenso en base al alineamiento de secuencia primaria



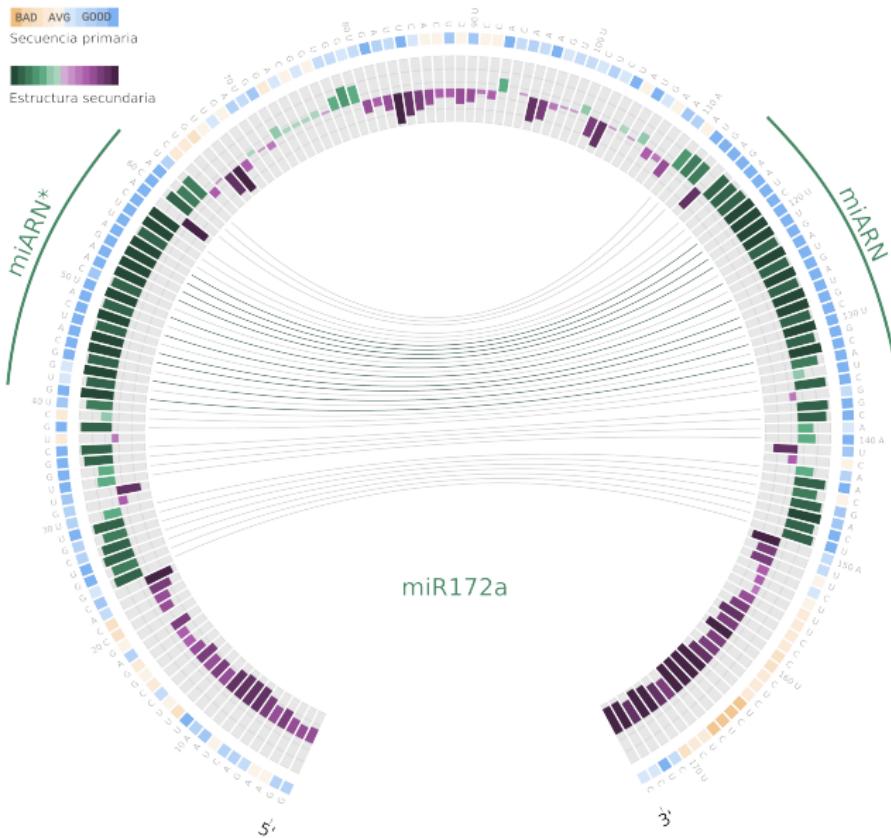
# Frecuencia de bases apareadas y desapareadas



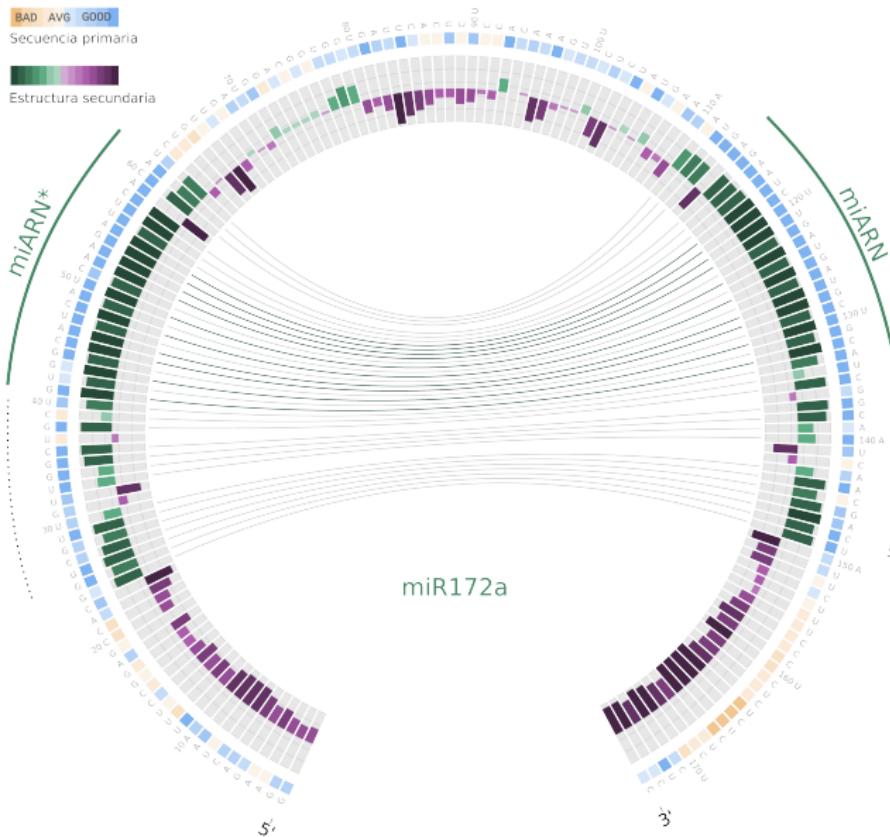
# Interacción entre pares de bases considerando estructura secundaria



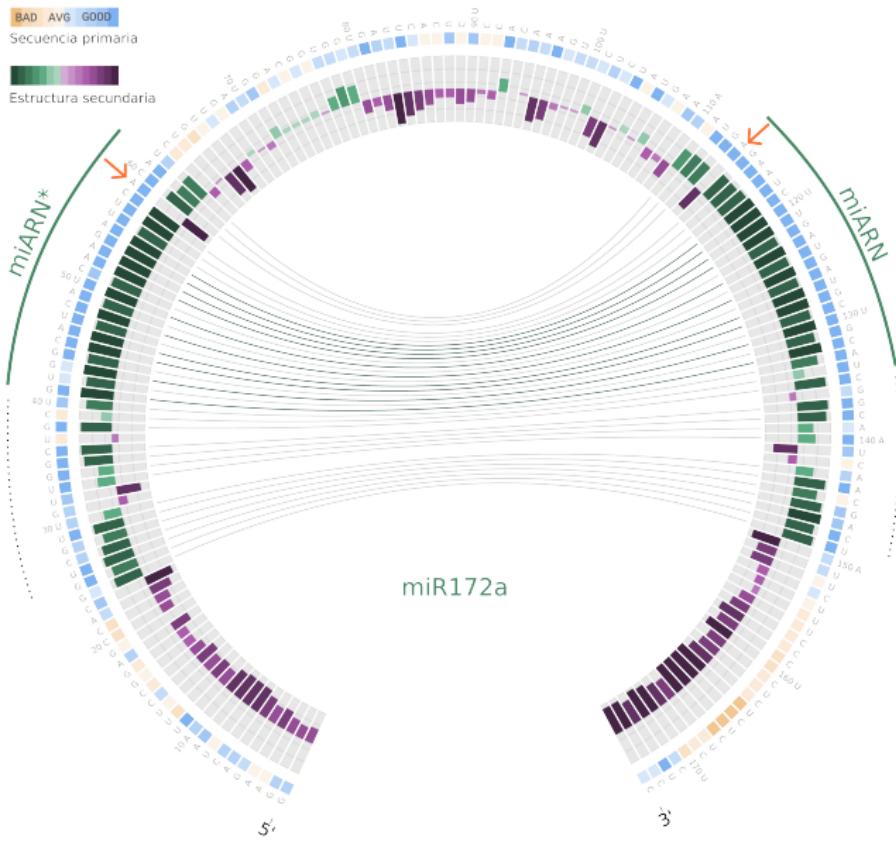
# miARN y miARN\* conservados en secuencia primaria y estructura



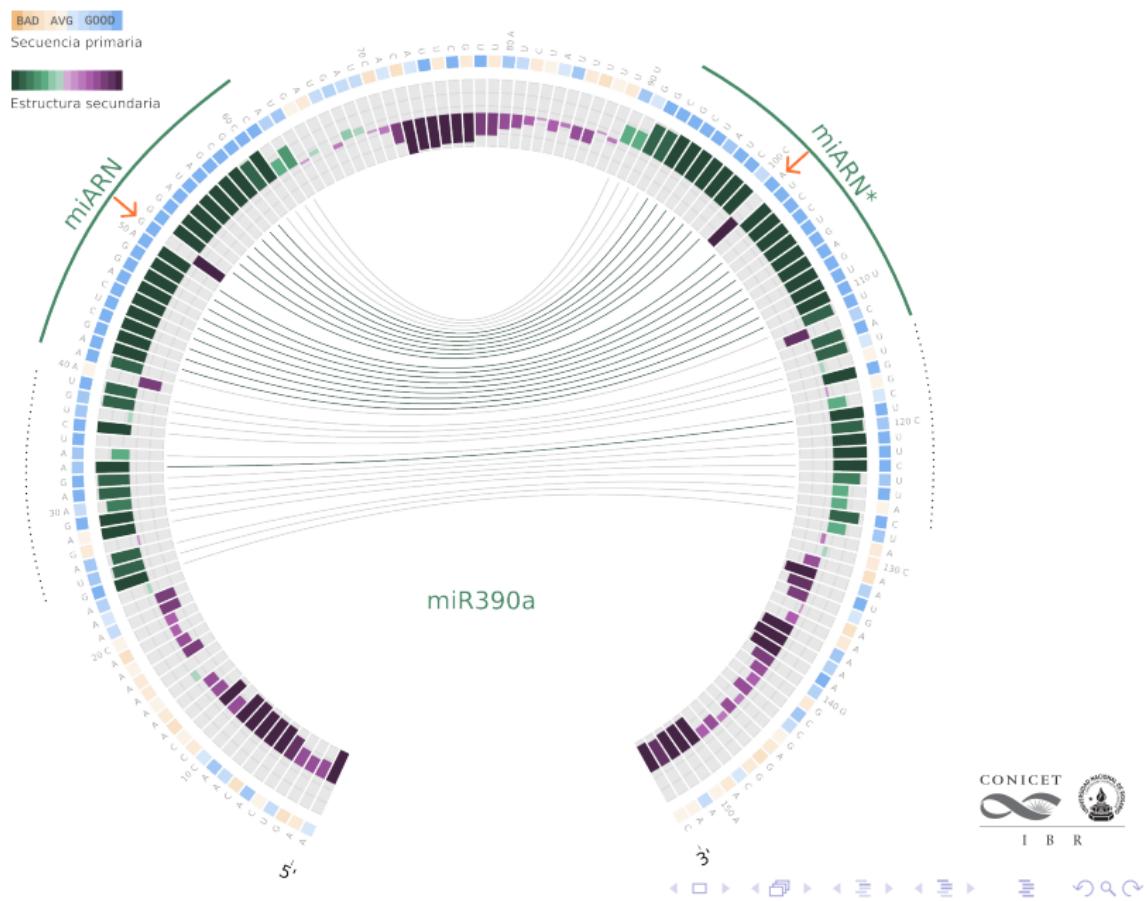
# Región conservada por debajo del dúplex que coincide con el tallo inferior



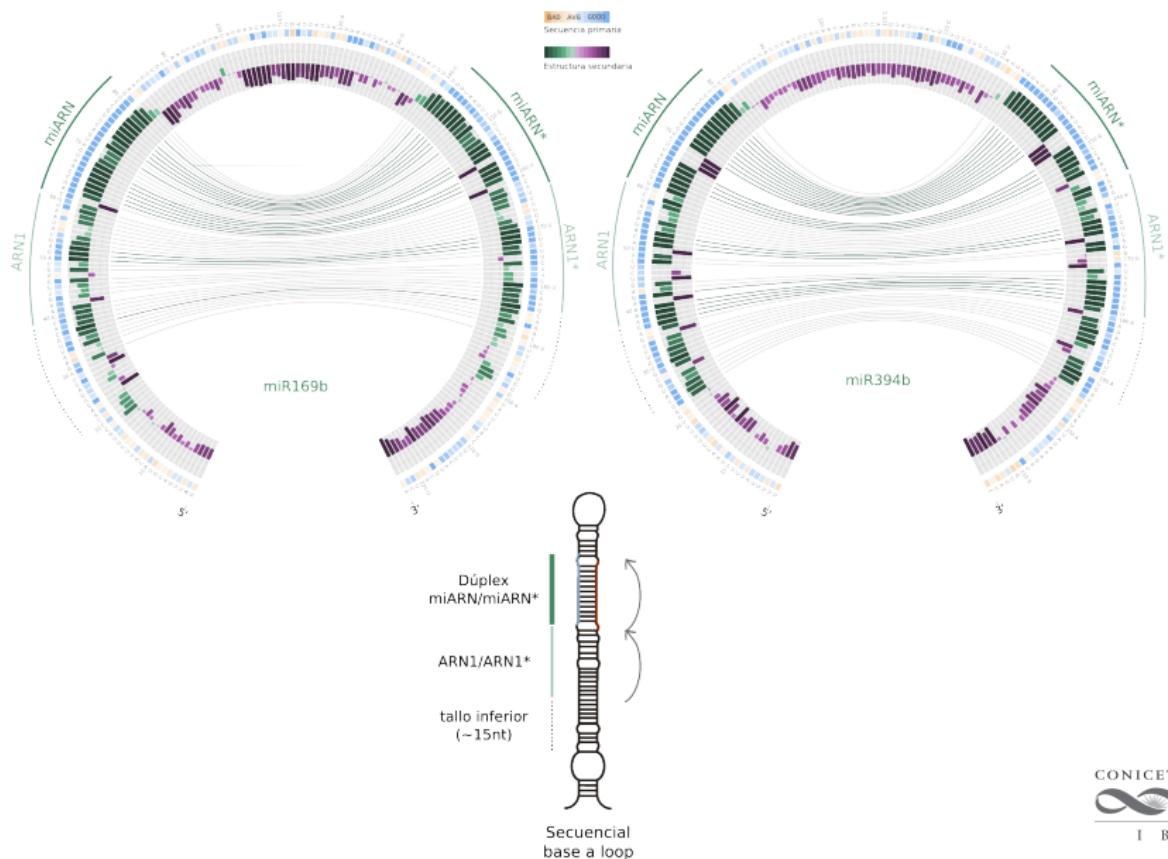
# Mismatches conservados



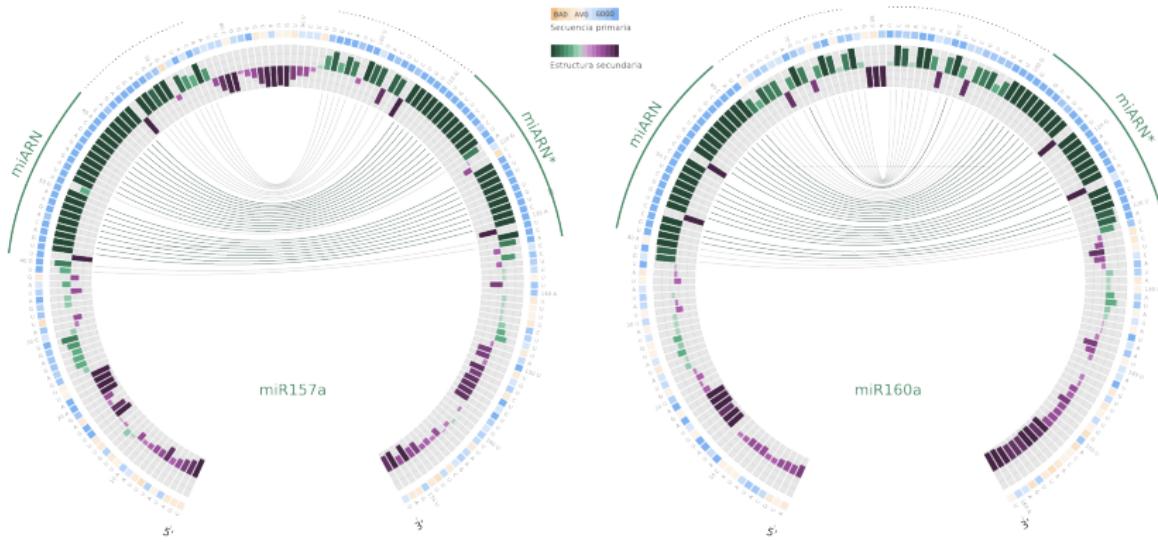
Mismo patrón de conservación en otros precursores que se procesan desde la base



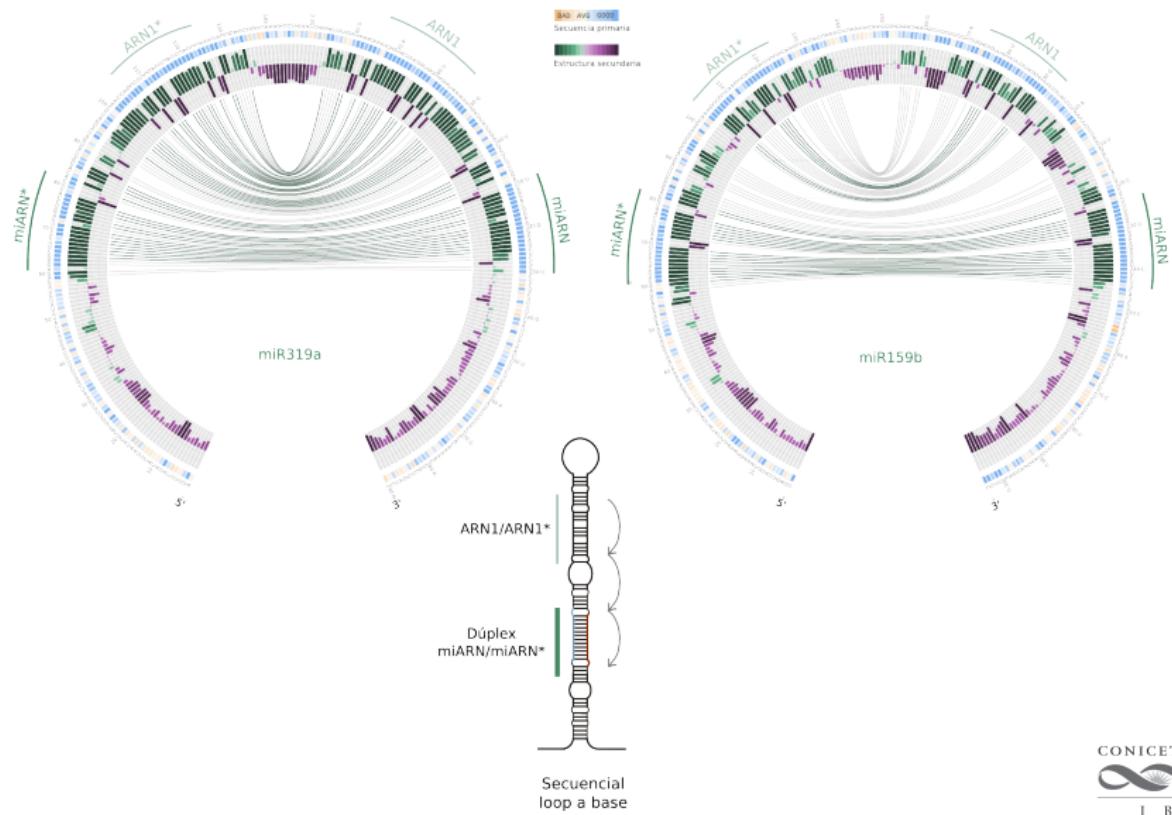
# Precursos que se procesan desde la base en forma secuencial



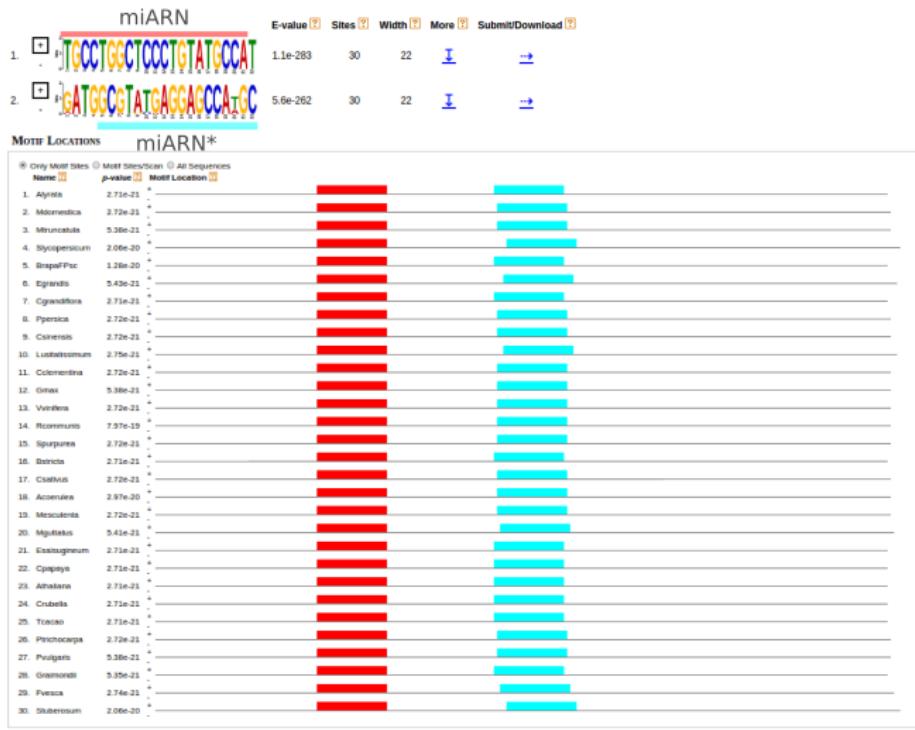
# Precursors que se procesan desde el loop cortos



# Precursors que se procesan desde el loop en forma secuencial



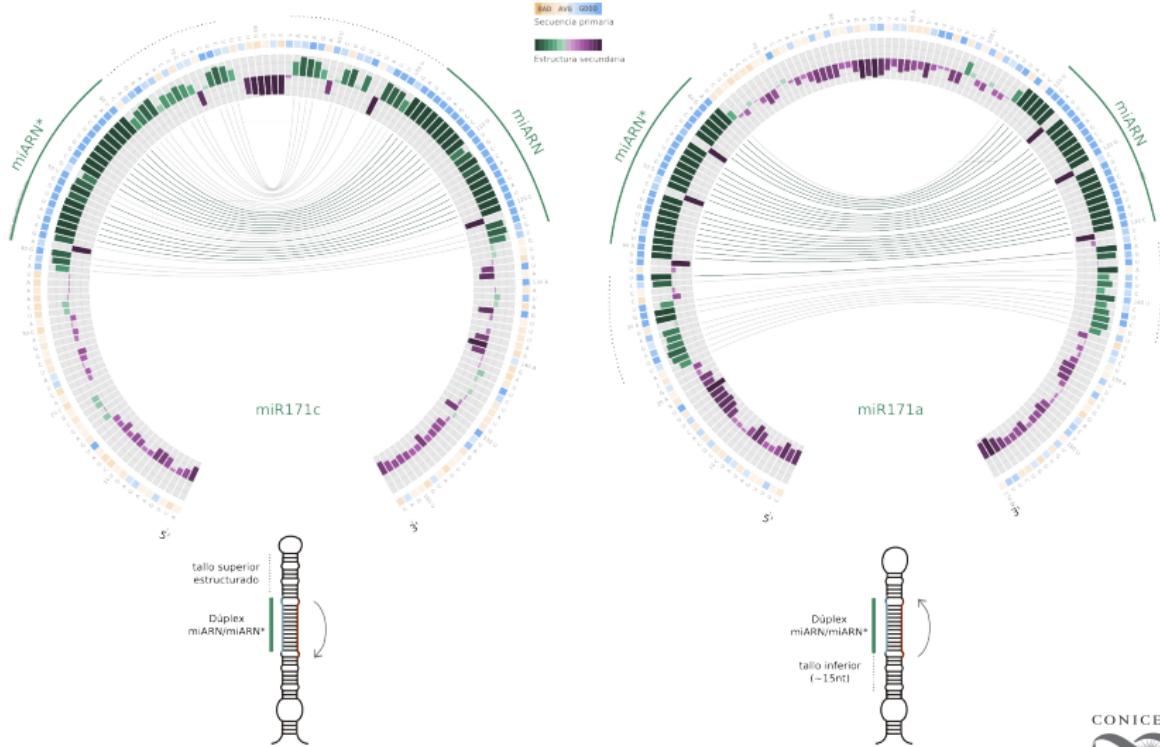
En precursores que se procesan desde el loop, el tamaño de la región que comprende al tallo superior y al loop no varía en distintas especies



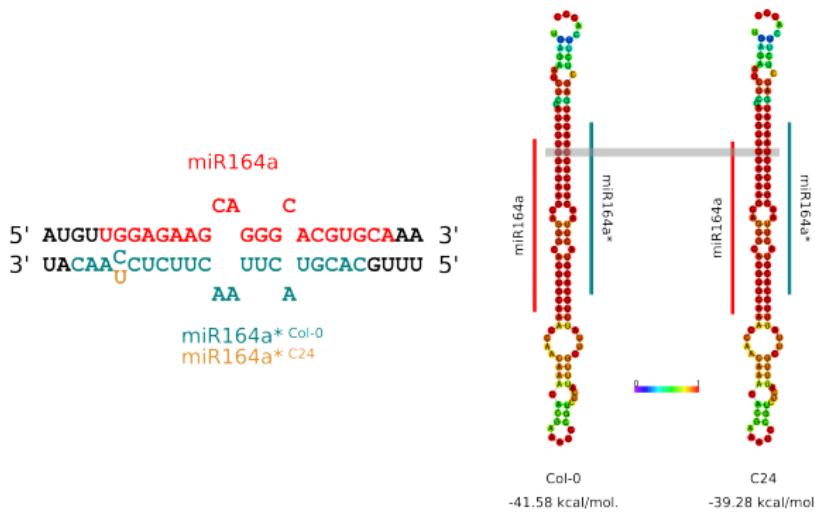
En precursores que se procesan desde la base, el tamaño de la región que comprende al tallo superior y al loop es muy variado en distintas especies



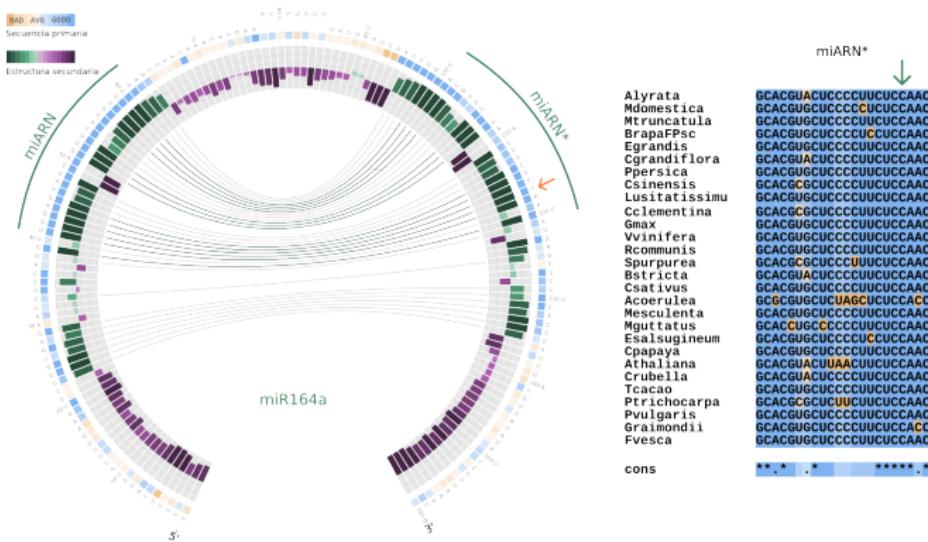
# Procesamiento mixto de miembros de la familia del miR170/miR171



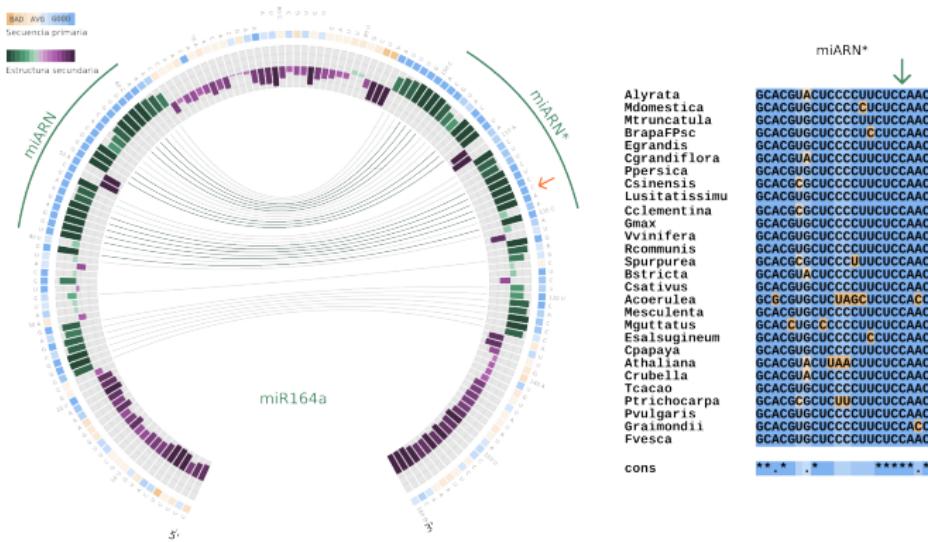
# Mutaciones puntuales que afectan el procesamiento de miARNs en plantas



# Posición \*2 del miR164a\* está conservada en dicotiledóneas

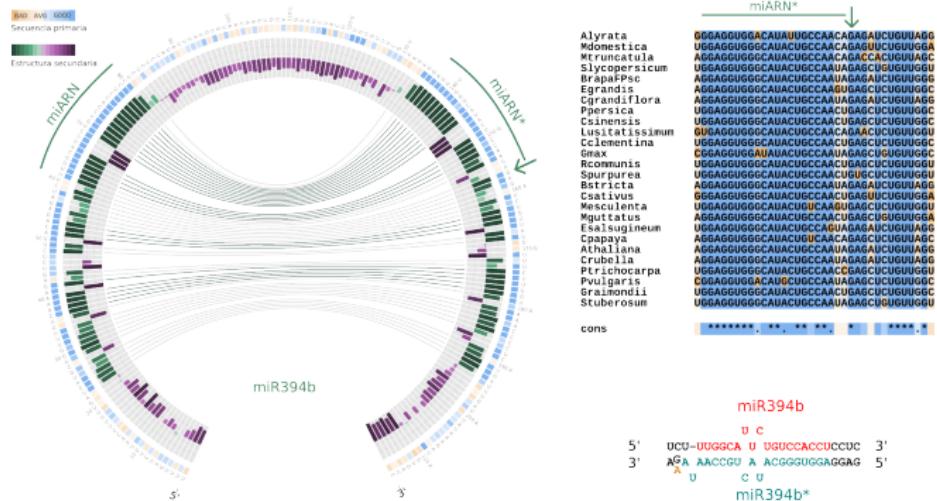


# Posición \*2 del miR164a\* está conservada en dicotiledóneas

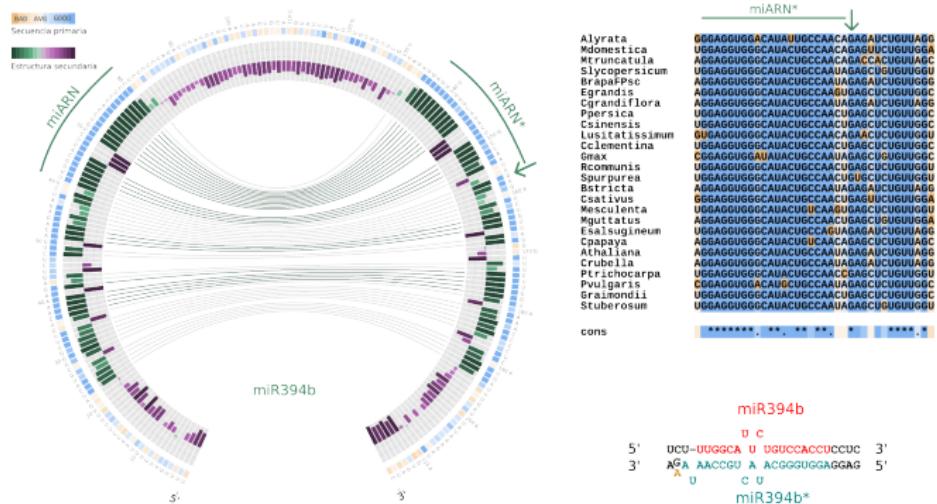


La posición \*2 es importante para la estabilidad del precursor y su buen procesamiento.

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

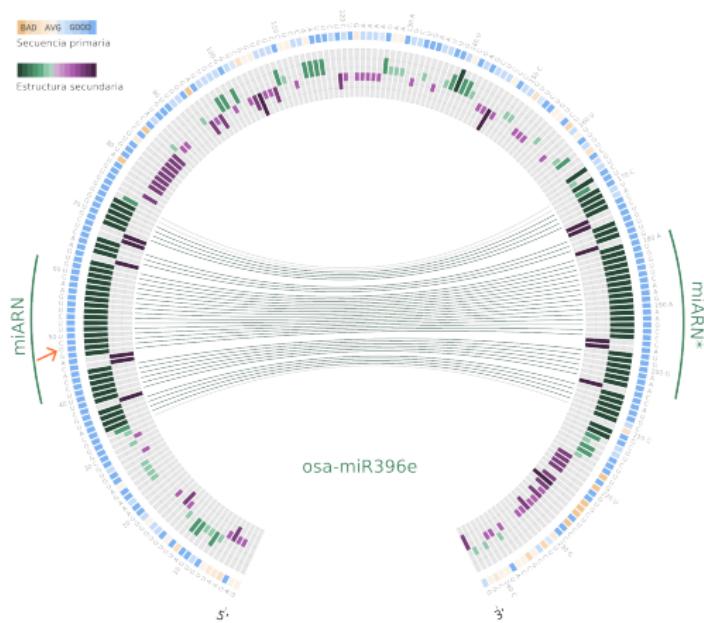


# Alelo mir394b-1 con un “mismatch” en el tallo inferior del precursor del miR394b

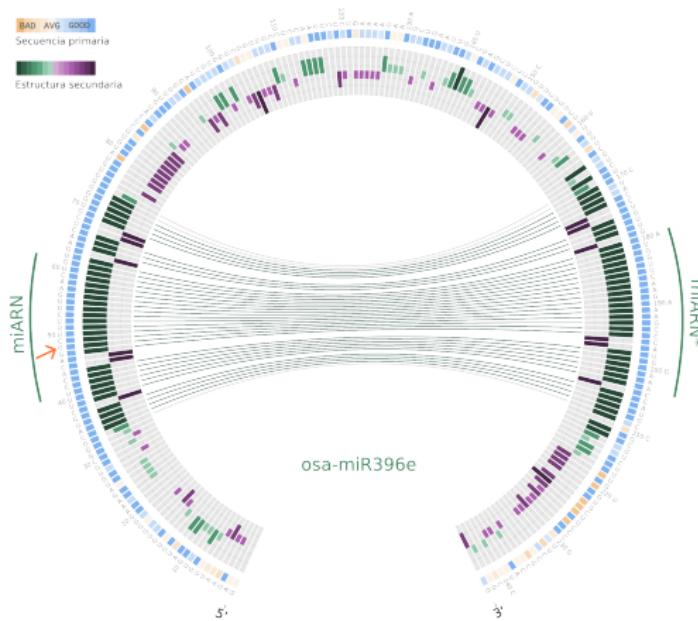


Mutaciones simples en el precursor puede afectar el reconocimiento de DICER.

# 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?

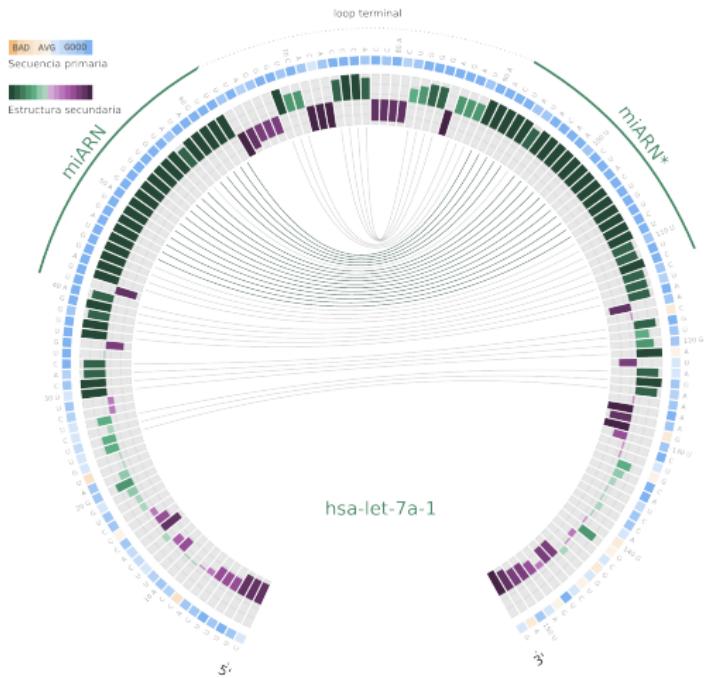
## Animales

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

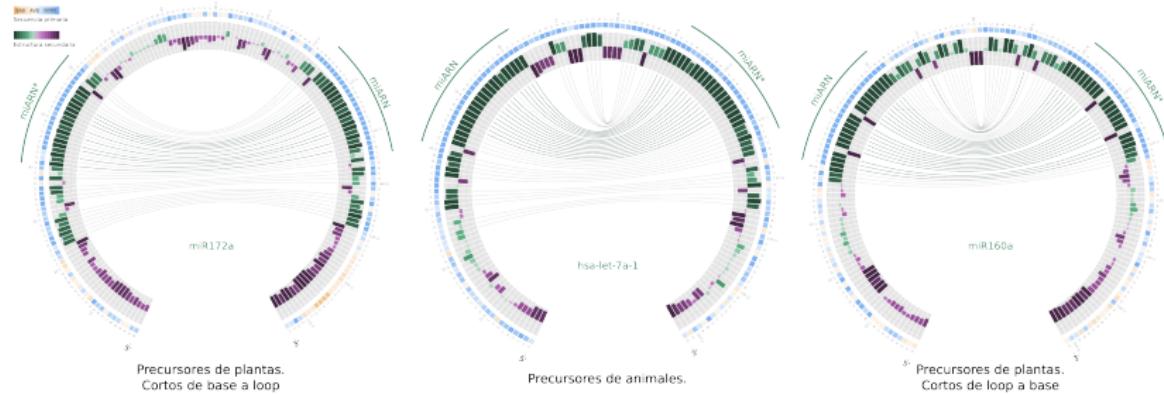
La riboproteína HnRNP A1 se une al loop terminal del precursor de let-7-a e inhibe su procesamiento por Drosha.

hsa-let-7-a. El loop terminal está conservado en algunos precursores de animales.

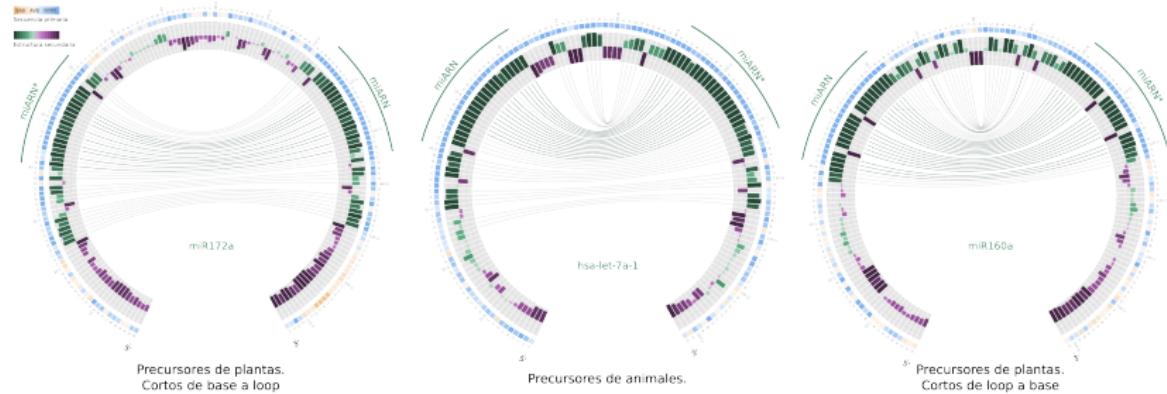
La riboproteína HnRNP A1 se une al loop terminal del precursor de let-7-a e inhibe su procesamiento por Drosha.



# Circos animales vs plantas



# Circos animales vs plantas



Estructuralmente los precursores en animales comparten patrones similares a los precursores de plantas cortos de loop a base y también a los cortos de la base al loop

- ▶ 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.

En cuanto a la primera parte de la Tesis, diseñamos una estrategia para identificar genes blanco regulados por miARNs en plantas, basada en la conservación evolutiva del par miARN-gen blanco.

# Muchas gracias.



