

BIOGÊNESE E MECANISMOS DE AÇÃO DE RNAs CIRCULARES EM PLANTAS

LUIZ FILIPE BASTOS MENDES¹; TATIANE JÉSSICA SIEBENEICHLER²;
CHRISTIAN DOMINGUES SANCHEZ³; VANESSA GALLI⁴

¹Departamento de Biotecnologia - CDTec, UFPEL, Pelotas/RS – luizfbmendes@gmail.com

²Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - FAEM, UFPEL, Pelotas/RS –
tatijs1@hotmail.com

³Departamento de Biotecnologia - CDTec, UFPEL, Pelotas/RS – christian.kun@gmail.com

⁴Departamento de Biotecnologia - CDTec, UFPEL, Pelotas/RS – vane.galli@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os RNAs circulares (circRNAs) compõem um novo e grande grupo de RNAs não codificantes (ncRNAs) produzidos por vias não canônicas. Essas moléculas são caracterizadas por serem RNAs de fita simples com estrutura de *loop* fechado, deficientes de 5' cap e cauda poli(A), formadas a partir da ligação covalente das terminações 5' e 3' de mRNAs prematuros em um processo chamado *backsplicing* (KRISTENSEN et al., 2019; ZHANG; LI; CHEN, 2020). Essas moléculas tem sido identificadas em células eucarióticas há décadas, porém foram consideradas artefatos de processamento errôneo de mRNAs, sem significância biológica determinada. Nos anos recentes, através de sequenciamento de RNA em larga escala (RNA-seq) e algoritmos de bioinformática específico para circRNAs, milhares de circRNAs foram identificados e anotados em protistas, fungos, insetos, peixes, vermes, plantas e mamíferos (IVANOV et al., 2015; WANG et al., 2014; WESTHOLM et al., 2014).

Em 2014, Wang et al. (2014) identificou, de forma inédita, circRNAs no reino vegetal através da predição dessas moléculas a partir de bibliotecas de RNA-seq de *Arabidopsis thaliana*. Nos anos seguintes, diversos estudos relataram a presença, perfil de expressão, e função de circRNAs em diversas espécies vegetais, como arroz, algodão, cevada, tomate, trigo, dentre outros (DARBANI; NOEPARVAR; BORG, 2016; LU et al., 2015; WANG et al., 2017; YE et al., 2015; ZHAO et al., 2017; ZUO et al., 2016).

O desenvolvimento de plantas mais produtivas, nutritivas e resistentes aos estresses ambientais se mostra essencial para suprir as necessidades nutricionais de uma população mundial crescente. Os circRNAs apresentam potencial biotecnológico para o controle dessas características; porém, para que possam ser utilizados de forma eficiente e segura, o conhecimento sobre o ciclo biológico e mecanismos de ação dessas moléculas deve ser aprimorado. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo compilar os dados disponíveis na literatura relativos à biogênese e ao papel dos circRNAs em plantas.

2. METODOLOGIA

Para a elaboração do presente trabalho foi realizada uma pesquisa em forma de revisão de literatura para coletar dados e informações científicas de artigos originais e artigos de revisão relativos ao estudo de RNAs circulares. Para tanto, foi utilizado o banco de dados *PubMed Central* (NCBI) e a plataforma de busca *Google*

Scholar com as palavras-chaves: *circular RNA*, *circRNA biogenesis*, *circRNA plants*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram inclusos nessa revisão 16 artigos, dentre eles 5 artigos de revisão e 11 artigos científicos originais. Os circRNAs de plantas podem ser formados de uma grande gama de posições e combinações genômicas, incluindo exons, introns ou regiões intergênicas, inclusive do genoma de mitocôndrias e cloroplastos; porém, a maioria dos circRNAs são expressos por genes codificantes de proteínas conhecidos. Uma das características conservadas na produção de circRNAs em eucariotos é a sua dependência da transcrição mediada por RNAPII e *backsplicing* de pre-mRNAs. Esse processo consiste na ligação do local de *splice* doador (localizado a *downstream*) ao local de *splice* receptor (a *upstream*), gerando moléculas deficientes de 5' cap e cauda poli(A). Os mecanismos de circularização ainda não foram bem elucidados, porém há dois modelos considerados promissores. No primeiro, o processo é mediado por elementos repetitivos invertidos localizados em introns *downstream* e *upstream*, que ligam por complementariedade de bases ou por dimerização de *RNA-binding proteins* (RBPs) que se ligam a motivos específicos nos introns flanqueadores, gerando circRNAs exônicos (deficiente de intron) ou elciRNAs (com presença de intron). No segundo, o circRNA é formado a partir de precursores de laços formados durante o escape de éxon (*exon skipping*) no *splicing* alternativo, formando um circRNAs exônico, ou a partir de precursores de laços intrônicos que escaparam à degradação, formando um circRNAs intrônico (ciRNA) (KRISTENSEN et al., 2019; ZHAO; CHU; JIAO, 2019).

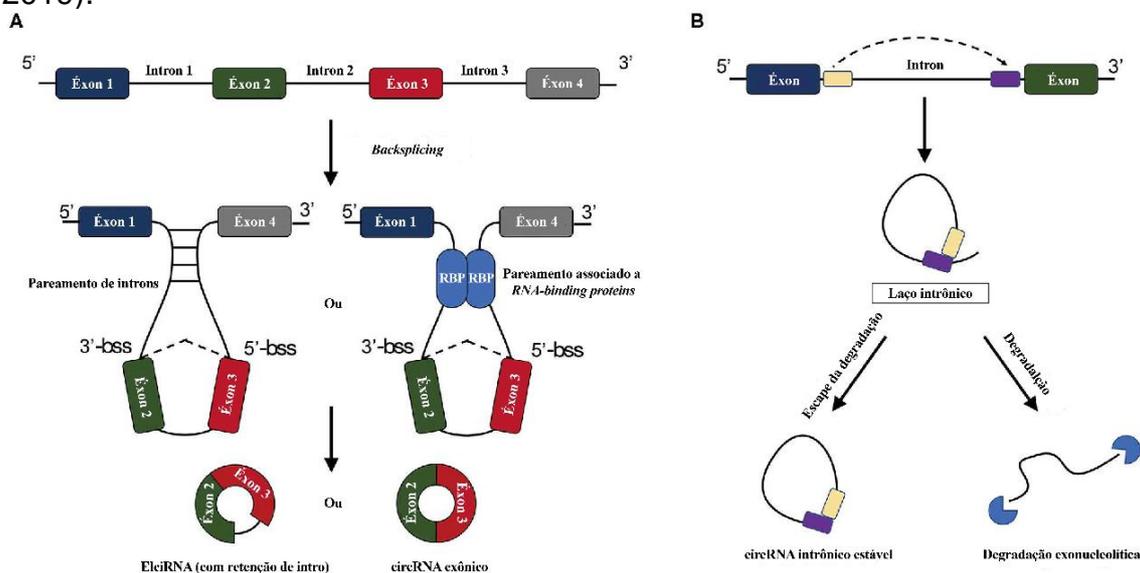


Fig. 1 - Biogênese de circRNAs em plantas. Adaptado de: Zhang; Li; Chen, 2020.

Apesar da crescente quantidade de evidências da funcionalidade de circRNAs de plantas, os mecanismos de ação dos mesmos, em maior parte, ainda não foram elucidados. A maioria dos circRNAs são altamente regulados, bem como apresentam padrões de expressão específicos para tipo celular, tecido ou fase do desenvolvimento, o que indica que sua produção é intencional, diferentemente do que se acreditava posteriormente (KRISTENSEN et al., 2019; LAI et al., 2018). A funcionalidade dessas moléculas tem sido demonstrada em estudos, porém ainda

não foi identificada uma função única que seja desempenhada por todos os membros dessa classe. Diversos mecanismos de funcionalidade foram identificados em animais e podem estar presentes de forma conservada em plantas, como por exemplo: esponja de micro RNAs (miRNAs); regulação da expressão gênica; esponja de proteínas; aumentar a função de proteínas; atuar como molde para mediar formação complexa entre enzimas específicas e substratos; recrutar proteínas para localizações específicas; tradução para proteínas (KRISTENSEN et al., 2019; LAI et al., 2018; LU, 2020). Apesar de existir a possibilidade da ocorrência desses eventos em plantas, até o presente momento somente as funções de esponja de miRNAs e regulação da expressão gênica foram identificadas em plantas.

Os circRNAs que possuem múltiplos locais de ligação para miRNA, podem ancorar os mesmos agindo como molécula mimetizando o mRNA alvo (target mimicry) em plantas, ou RNAs endógenos competitivos em animais (ZHAO; CHU; JIAO, 2019). Diversos estudos demonstram, principalmente através de ferramentas de bioinformática, que circRNAs em plantas também apresentam o potencial de agir como esponjas de miRNAs, porém a porcentagem de moléculas com essa capacidade é menor, quando comparado com animais (ZHANG; LI; CHEN, 2020; ZHAO; CHU; JIAO, 2019). Através da ação sobre miRNAs, circRNAs podem regular diversos processos celulares, como processos metabólicos, desenvolvimento, resposta a estresses, dentre outros (ZHANG; LI; CHEN, 2020).

Além disso, foi identificado que o circRNA CircSEP3, originário do *Sepallata3*, é capaz de se ligar no seu gene parental formando um híbrido RNA:DNA, cuja força de ligação é muito maior do que a obtida com um RNA linear de mesma sequência. Essa estrutura pode levar à pausa de transcrição e alteração no *splicing* do gene (CONN et al., 2017). De forma contrária, estudos têm demonstrado que a expressão de alguns circRNAs exônicos apresentam correlação positiva com a expressão do seu gene de origem (SHAO et al., 2019; YE et al., 2015).

Esses dados demonstram que os circRNAs podem no futuro serem utilizados como ferramentas para a regulação da expressão gênica indiretamente, através da sua atuação sobre miRNAs, ou diretamente, através da sua interação com DNA nuclear, principalmente com o seu gene parental.

4. CONCLUSÕES

Apesar dos avanços recentes, muito ainda se tem a descobrir sobre os processos de biogênese e mecanismos regulatórios de circRNAs em plantas. Sendo assim, futuros estudos devem ser direcionados à elucidação destes processos e à aplicação prática dessas moléculas no desenvolvimento de novos cultivares e outros produtos biotecnológicos na agricultura.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CONN, V. M. et al. A circRNA from SEPALLATA3 regulates splicing of its cognate mRNA through R-loop formation. **Nature Plants**, v. 3, n. 5, p. 1–5, 18 abr. 2017.

DARBANI, B.; NOEPARVAR, S.; BORG, S. Identification of Circular RNAs from the Parental Genes Involved in Multiple Aspects of Cellular Metabolism in Barley. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.

IVANOV, A. et al. Analysis of Intron Sequences Reveals Hallmarks of Circular RNA Biogenesis in Animals. **Cell Reports**, v. 10, n. 2, p. 170–177, 13 jan. 2015.

KRISTENSEN, L. S. et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. **Nature Reviews Genetics**, v. 20, n. 11, p. 675–691, nov. 2019.

LAI, X. et al. CircRNAs in Plants. In: XIAO, J. (Ed.). . **Circular RNAs: Biogenesis and Functions**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Singapore: Springer, 2018. p. 329–343.

LU, M. Circular RNA: functions, applications and prospects. **ExRNA**, v. 2, n. 1, p. 1, 2 mar. 2020.

LU, T. et al. Transcriptome-wide investigation of circular RNAs in rice. **RNA**, v. 21, n. 12, p. 2076–2087, 12 jan. 2015.

SHAO, J. et al. Identification and characterization of circular RNAs in *Ganoderma lucidum*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 16522, 11 nov. 2019.

WANG, P. L. et al. Circular RNA Is Expressed across the Eukaryotic Tree of Life. **PLOS ONE**, v. 9, n. 3, p. e90859, 7 mar. 2014.

WANG, Y. et al. Identification of Circular RNAs and Their Targets in Leaves of *Triticum aestivum* L. under Dehydration Stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2017.

WESTHOLM, J. O. et al. Genome-wide analysis of drosophila circular RNAs reveals their structural and sequence properties and age-dependent neural accumulation. **Cell Reports**, v. 9, n. 5, p. 1966–1980, 11 dez. 2014.

YE, C.-Y. et al. Widespread noncoding circular RNAs in plants. **New Phytologist**, v. 208, n. 1, p. 88–95, 2015.

ZHANG, P.; LI, S.; CHEN, M. Characterization and Function of Circular RNAs in Plants. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 7, 2020.

ZHAO, T. et al. Characterization of conserved circular RNA in polyploid *Gossypium* species and their ancestors. **FEBS Letters**, v. 591, n. 21, p. 3660–3669, 2017.

ZHAO, W.; CHU, S.; JIAO, Y. Present Scenario of Circular RNAs (circRNAs) in Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 2019.

ZUO, J. et al. Deciphering the roles of circRNAs on chilling injury in tomato. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 479, n. 2, p. 132–138, 14 out. 2016.