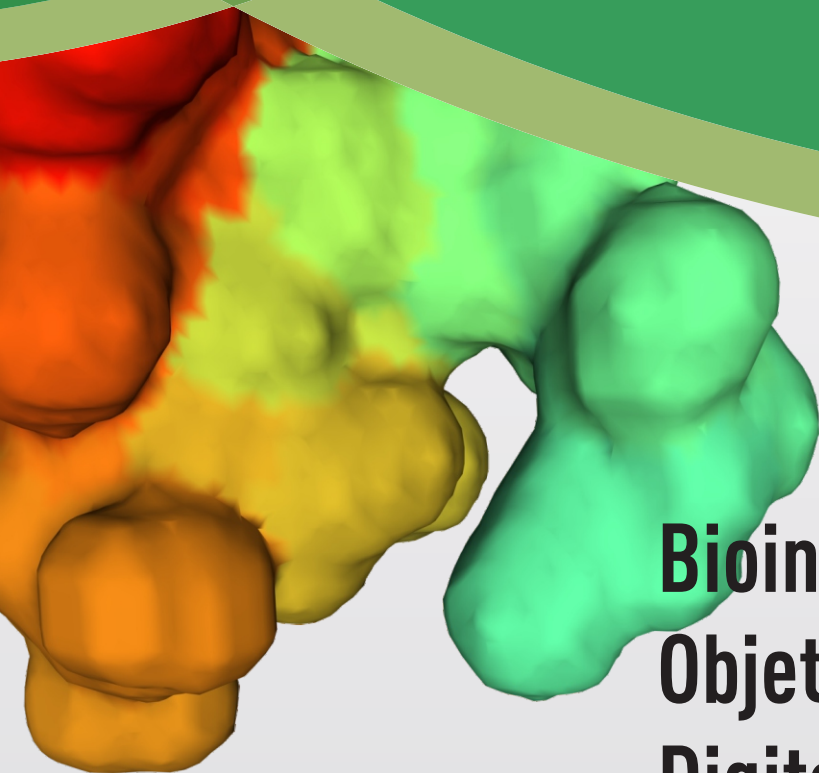


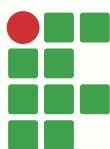
Ano 1 . Nº 1
ISBN 978-65-87749-09-9

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano
Campus Governador Mangabeira

BOLETIM TÉCNICO



Bioinformática como Objeto de Aprendizagem Digital (OAD) para o ensino da Biologia Molecular



**INSTITUTO
FEDERAL**

Baiano

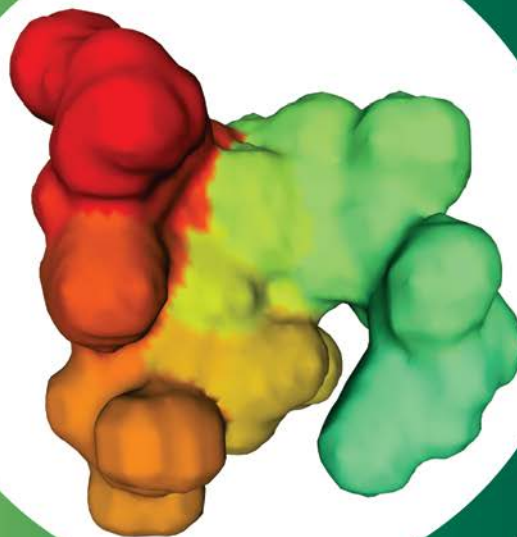
Campus
Governador
Mangabeira

Jacqueline Araújo Castro
Marilúcia Campos dos Santos
Suyare Araújo Ramalho
James Lima Chaves

GOVERNADOR MANGABEIRA - BA
2020

Bioinformática como Objeto de Aprendizagem Digital (OAD) para o ensino da Biologia Molecular

Proteína insulina humana (51 aminoácidos)
Fonte: Servidor *Swiss-Model*



Jacqueline Araújo Castro
Marilúcia Campos dos Santos
Suyare Araújo Ramalho
James Lima Chaves

1ª Edição

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano
Campus Governador Mangabeira
Boletim Técnico
Ano 01 – Nº 01
ISBN 978-65-87749-09-9

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano
Campus Governador Mangabeira

Bioinformática como Objeto de Aprendizagem Digital (OAD) para o ensino da Biologia Molecular

Jacqueline Araújo Castro
Marilúcia Campos dos Santos
Suyare Araújo Ramalho
James Lima Chaves

1ª Edição

Governador Mangabeira, BA
2020

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano

Campus Governador Mangabeira

Boletim Técnico

Ano 01 – Nº 01

ISBN 978-65-87749-09-9

Rua Waldemar Mascarenhas, s/n – Portão - CEP 44350-000

www.ifbaiano.edu.br/unidades/gmb/

Telefones: (75) 3638-2012 / 3638-2081

Comitê de Publicação

Editor Chefe: *Bethania Felix Miranda Ramos*

Conselho Editorial: *Alisson Jadavi Pereira da Silva*

Brena Mota Moitinho Sant'Anna

Silvana Santos da Silva

Revisão de Texto e Normatização Bibliográfica: *José Nilton Santos da Cruz Junior*

Projeto Gráfico: *Elísio José da Silva Filho*

Ficha Catalográfica: *Anderson Silva da Rocha*

1ª Edição (2020)

B615 Bioinformática como objeto de aprendizagem digital
(OAD) para o ensino da biologia molecular/ Jacqueline
Araújo Castro... [et al.]-- Governador Mangabeira/BA :
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano
- Campus Governador Mangabeira, 2020.
33 p.. -- (Boletim Técnico, n.01) --

ISBN 9786587749099

1. Bioinformática. 2. Biologia molecular. I.Castro,
Jacqueline Araújo. II. Título.

CDU: 57:004

OS AUTORES

Jacqueline Araújo Castro: Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Mestre em Recursos Genéticos Vegetais pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Especialista em Tecnologias e Educação Aberta e Digital na Modalidade EaD (UFRB/Universidade Aberta de Portugal - UAP). Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). Tem experiência na área de Genética e Educação à Distância (EaD). Professora do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico (EBTT) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano (IFBaiano). E-mail: jacqueline.castro@ifbaiano.edu.br

Marilúcia Campos dos Santos: Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). Mestre em Defesa Agropecuária pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Especialista em Educação a Distância (EaD) pela Universidade do Estado da Bahia (UNEB). Graduada em Ciências Biológicas, com Habilitação em Biologia pela Universidade do Estado da Bahia (UNEB). Técnica em Laboratório na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), junto ao Hospital Veterinário. E-mail: marilucampos@gmail.com

Suyare Araújo Ramalho: Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Sergipe (UFS) com intercâmbio de Doutorado na North Dakota State University - NDSU, EUA. Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e Engenheira de Alimentos (2009) pela Universidade Federal de Sergipe (UFS). Graduada em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Sergipe (UFS). Tem experiência em Biotecnologia e Bioquímica dos Alimentos. Professora do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico (EBTT) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano (IF Baiano). E-mail: suyare.ramalho@ifbaiano.edu.br

James Lima Chaves: Mestrando do Programa de Pós-graduação em Planejamento Territorial pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Especialista em Gestão Pública pela Universidade Cândido Mendes (UCAN). Tecnólogo em Gestão Pública pela Universidade Estácio de Sá (UNESA). Servidor Técnico da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), junto ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB). E-mail: james@ufrb.edu.br

PREFÁCIO

Nas salas de aulas, os professores de Biologia e diversas outras áreas falam de genes, proteínas, moléculas e estruturas diminutas que requerem abstração dos estudantes para imaginá-las, compreendê-las e conectá-las aos conhecimentos que já povoam seus arcabouços teóricos. A Bioinformática usa conhecimentos multidisciplinares e pode ser explorada como Objeto de Aprendizagem Digital (OAD) para o ensino da Biologia Molecular, pois na tela de um computador, proteínas e sequências nucleotídicas podem ganhar forma, cor e movimento, alimentando assim a criação de saberes e o prazer em conhecê-los.

Apresentamos aqui roteiros de aulas práticas, simples e explicativos, que permitem o uso de computadores para visualizar estruturas mencionadas na Biologia Molecular, além de permitir a investigação em bancos de dados, criando condições para que o próprio aluno dê os comandos necessários para construção de sua aprendizagem. Foi pensada também a distribuição deste material de forma gratuita, a fim de que o acesso fosse o mais democrático possível entre os estudantes e docentes.

O esforço de elaboração deste boletim não seria possível sem a dedicação dos autores. Por isso, agradecemos inicialmente a todos que contribuíram para este material e acreditaram na proposta de um material gratuito e digital, em sua origem. Agradeço aos avaliadores e revisadores do texto. Agradeço também aos órgãos de fomento como CNPq e CAPES, que financiaram por anos os estudos destes autores.

Este reconhecimento se estende às Universidades e aos Institutos de Pesquisa nas quais os autores estão sediados, com seu apoio físico, logístico e administrativo. Nominalmente, estas instituições incluem: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano (IF Baiano) e Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Assim, esperamos que a presente obra sirva de grande auxílio aos estudantes do Ensino Médio e Superior e constitua, também, fonte de material e inspiração para professores que desejam explorar de forma alternativa o tema Biologia Molecular.

BIOINFORMÁTICA COMO OBJETO DE APRENDIZAGEM DIGITAL (OAD) PARA O ENSINO DA BIOLOGIA MOLECULAR

Dra. Jacqueline Araújo Castro^{1*},
Ma. Marilúcia Campos dos Santos²
Dra. Suyare Araújo Ramalho¹
Esp. James Lima Chaves²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano (IFBaiano), Governador Mangabeira, Bahia, Brasil.

²Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

* jacqueline.castro@ifbaiano.edu.br

RESUMO

A Biologia Molecular estuda estruturas moleculares e não visíveis a olho nu, e a aprendizagem deste conteúdo requer abstração. Para facilitar o ensino desses conceitos a Bioinformática pode ser aplicada, uma vez que o uso de Objetos de Aprendizagem Digital (OAD) possibilita inserir o aluno na construção do conhecimento de forma atraente. Além de conciliar teoria à prática, a experimentação possibilita o desenvolvimento da pesquisa e da problematização em sala de aula, e estimula o estudante a desenvolver habilidades e competências específicas. Dessa forma, o presente trabalho objetivou desenvolver roteiros de aulas práticas experimentais que orientem o uso da Bioinformática como OAD para o ensino da Biologia Molecular, em nível de ensino médio e graduação. Os roteiros foram preparados de forma a apresentar em sua estrutura uma breve introdução do assunto a ser abordado, uma metodologia simples e de baixo custo a ser aplicada, e os resultados esperados, indicando assim quais são as competências que se deseja desenvolver. Em alguns trechos da atividade foram inseridas perguntas sobre o tema, pois o levantamento de dúvidas gera uma interação social entre os grupos e desperta curiosidade, o que desencadeia o processo de aprendizagem. Como resultados, foram gerados três roteiros de aula prática: (1) “Localização do *start códon* e *stop códon* em uma sequência de nucleotídeos”, (2) “Observação da estrutura tridimensional de proteínas” e (3) “Análise de promotores gênicos”, que poderão ser utilizados por professores das diversas modalidades e níveis de ensino, como estratégia para dinamizar o ensino da Biologia Molecular com aplicação de OAD.

Palavras-Chave: Roteiros de aula prática; Promotores gênicos; Códon; Proteínas.

INTRODUÇÃO

A Biologia Molecular relaciona-se intimamente com a bioquímica e a genética e ocupa-se do estudo de estruturas moleculares e submicroscópicas, tais como ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico (RNA) e proteínas. Trata-se de uma área que permite a aplicação de ferramentas tecnológicas recentemente desenvolvidas, tais como a Bioinformática, que também se dedica a elucidar estruturas e funções de moléculas biológicas, utilizando conhecimentos multidisciplinares que abarcam a bioquímica, evolução molecular, termodinâmica, matemática, biofísica e estatística, para citar alguns exemplos (PINHO, 2006).

Os avanços atuais na Biologia Molecular apresentam à sociedade temas como transgenia, terapia gênica e edição de genomas. Sendo assim, o sistema educacional brasileiro tem necessidade de adequar-se à realidade, aproximando a escola dos novos conceitos, permitindo a formação de cidadãos que possam emitir opiniões com base em um arcabouço sólido de conhecimentos. Também é importante considerar que a Biologia Molecular tem relação estreita com o progresso tecnológico. Então, estudá-la e compreendê-la bem oportuniza visualizar a relação entre ciência e tecnologia, numa possível geração de produtos que beneficiarão a sociedade, bem como em correlações entre diferentes áreas do conhecimento. Segundo Casagrande (2006), para que a população possa entender o grande espectro de aplicações e implicações da Biologia Molecular, ela precisa de conhecimentos básicos que devem ser adquiridos na escola.

Por ocupar-se do estudo de estruturas moleculares, não visíveis a olho nu, a aprendizagem dos conteúdos de Biologia Molecular requer abstração. Tendo em vista essa complexidade, o seu ensino, principalmente para o público do nível médio, constitui-se um desafio. Segundo Carabetta (2010), para a realização desta tarefa é necessário que o educador planeje procedimentos didáticos que instiguem o aluno ao interesse, reflexão e aplicação dos conteúdos na resolução de situações problemas. Ou seja, o professor deve assumir o papel de agente facilitador e mediador do processo de aprendizagem, apontar também as aplicações deste assunto e empregar ferramentas capazes de auxiliar o ensino da Biologia Molecular.

A utilização de ferramentas para tornar o processo de aprendizagem desses conceitos mais efetivo e dinâmico é importante, pois a dinamização dos meios de ensino

pode contribuir para o melhor entendimento dos estudantes, tanto quando se proporciona o maior envolvimento dos alunos quanto na reestruturação da prática em fuga ao tradicionalismo, este muitas vezes exacerbado, que pode contribuir negativamente no aprendizado dos alunos (PAVAN *et al.*, 1998). Em 2002, os Parâmetros Curriculares Nacionais para o Ensino Médio já almejavam que a área de Ciências da Natureza propiciasse um aprendizado útil à vida e ao trabalho, e desenvolvesse no aluno da escola pública competências, habilidades e valores que lhes permitissem uma visão crítica sobre a natureza das ciências e do conhecimento científico. Nesse sentido, a Bioinformática pode ser aplicada para facilitar o ensino da Biologia Molecular e, como atualmente vive-se a era da informação, o uso de OAD trazem a possibilidade de inserir o aluno na construção do conhecimento de forma atraente e tecnológica, perpassando por sua vivência no cotidiano.

Segundo Thampi (2009), a Bioinformática é uma área que está no cruzamento da ciência experimental e teórica, e não é apenas sobre a modelagem de dados ou “mineração”, trata-se de compreender o mundo molecular que alimenta a vida a partir de perspectivas evolutivas. Adicionalmente, Griffiths *et al.* (2008) define a Bioinformática como sistema de informação computacional e métodos analíticos aplicados a problemas biológicos. O avanço desta ciência foi impulsionado, sobretudo, pela necessidade de criação de bancos, como o GenBank e EMBL, que acomodassem os dados oriundos de sequências de DNA, por exemplo, o Projeto Genoma Humano e os diversos sequenciamentos genômicos de espécies animais, vegetais e microbianas que geraram grande quantidade de informações. Atualmente, a Bioinformática abrange a análise da estrutura de genes, promotores, proteínas, processamento alternativo dos genes (*splicing*), genômica comparativa, interação proteína-proteína, modelagem de fenômenos biológicos, desenvolvimento de algoritmos e estatísticas, entre outros. Ribeiro (2005, p. 182) acrescenta que “a Bioinformática é um campo emergente da pesquisa, que utiliza ferramentas computacionais avançadas para o armazenamento, análise e apresentação de dados biológicos e moleculares”. Esta ciência também trouxe para o mercado um novo profissional, com conhecimentos sobre os problemas biológicos, capaz de analisá-los e, a partir dos resultados encontrados, criar métodos para explicá-los: o bioinformata. Este possui familiaridade com os princípios e técnicas laboratoriais da Biologia Molecular e domínio da ciência da computação, sendo um profissional requisitado e raro em laboratórios desta área (ARAÚJO, 2004).

O uso de computadores e ferramentas da informática são aspectos positivos na construção das relações de ensino/aprendizagem, pois tecnologias educacionais com base na *web* têm obtido ótimos resultados nas últimas décadas, permitindo que computadores e pessoas trabalhem cooperativamente de maneira muito eficiente (ISOTANI *et al.*, 2009). Adicionalmente, os OAD também permitem a interatividade em um meio digital, contribuindo com a dinâmica social de um grupo em estudo ou aprendizado (BOYLE, 2010). O professor da era da cibercultura deve estar consciente de que o uso da internet e suas ferramentas tecnológicas provocaram mudanças na relação com o saber, na forma de criação/apropriação do conhecimento. Sendo assim, com objetivo de exercer a docência em prol da emancipação do estudante, o docente deve integrar métodos pedagógicos com o uso da *web* 2.0 e 3.0 (LIVINGSTONE, 2009).

Diante do exposto, torna-se necessário explorar objetos virtuais de aprendizagem que permitam trabalhar conteúdos e competências e que auxiliem no planejamento de atividades educativas mais criativas, que desperte o interesse dos estudantes. Espera-se ainda que essa ferramenta seja utilizada diretamente pelo estudante e por seus familiares fora da escola.

O presente artigo teve como objetivo desenvolver roteiros que orientem o uso da Bioinformática como objeto de aprendizagem digital para o ensino da Biologia Molecular, em nível de ensino médio e graduação. Os objetivos específicos foram: (i) empregar sites que disponibilizem ferramentas de bioinformática para o desenvolvimento de atividades/roteiros de ensino do conteúdo Biologia Molecular, (ii) desenvolver roteiros de atividades que permitam aos estudantes integrar conhecimento teórico e prática e (iii) planejar atividades direcionadas ao público de ensino médio e também a graduandos.

DESENVOLVIMENTO

O presente artigo utilizou sites voltados a análises de bioinformática para elaborar roteiros de aula prática que correlacionem conteúdos teóricos de Biologia Molecular a atividades que permitam ao estudante visualizar sequências de DNA, sequências de aminoácidos, estrutura tridimensional de proteínas e *cis* elementos em sequências promotoras gênicas. Em cada roteiro foi adicionado um texto introdutório que explica o assunto abordado, os procedimentos de análise que devem ser seguidos, passo a passo, diretrizes para o professor orientador da atividade prática e resultados esperados.

A introdução das aulas práticas experimentais, guiadas por roteiros bem elaborados, contrapondo-se ao antigo modelo de centralização apenas no livro didático, gera um campo fértil para a aprendizagem significativa. Dessa forma, foram elaborados três roteiros de aula prática (Apêndice 1), sendo intitulados, respectivamente, “Localização do start códon e stop códon em uma sequência de nucleotídeos”, “Observação da estrutura tridimensional de proteínas” e “Análise de promotores gênicos” (Tabela 1).

Os roteiros de número 1,2 e 3 apresentam, respectivamente, 6, 8 e 8 figuras, e quadros de orientações para o professor que irá aplicar a prática (Tabela 1). Segundo Alonso & Gallego(2000), existem diferentes estilos de aprendizagem, ou seja, diferentes maneiras pessoais de processar informação, sentimentos e comportamentos em situações de aprendizagem. Desta forma, é importante incluir, além do texto, figuras que favorecem o entendimento do roteiro. Estas também se prestam a atender os estudantes com diferentes estilos de aprendizagem.

Tabela 1. Composição dos roteiros de aula prática.

| Atividade | Nº de figuras | Assunto | Nº de orientações para o docente |
|------------------|----------------------|-----------------|---|
| Roteiro 1 | 6 | Código genético | 3 |
| Roteiro 2 | 8 | Proteínas | 2 |
| Roteiro 3 | 8 | Promotores | 1 |

As atividades desenvolvidas foram planejadas com intuito de, por meio da prática em Bioinformática, proporcionar aos alunos a oportunidade de construir conhecimentos na área de Biologia Molecular. Tomou-se o cuidado para que os roteiros desenvolvidos permitissem o desenvolvimento de habilidades, despertando o interesse no saber/descobrir, fomentando uma atitude autônoma do estudante, uma vez que ele dará todos os comandos necessários para execução da análise utilizando um computador.

Todos os roteiros se iniciam com uma breve introdução do assunto a ser abordado, além de conter os resultados esperados, indicando assim quais são as competências que se deseja desenvolver. Esse norteamento é importante, uma vez que o planejamento de aula do professor é construído com base no que ele deseja alcançar. Muitos conceitos da Biologia Molecular não são novos, apesar disso, é possível ensiná-los de forma diferenciada. Nesse caso, inovar implica em modificar processos por fazer mediações pedagógicas com emprego de OAD.

Quanto ao acesso dos estudantes às ferramentas virtuais, Almeida (2000) afirma:

Os alunos por crescerem em uma sociedade permeada de recursos tecnológicos, são hábeis manipuladores da tecnologia e a dominam com maior rapidez e desenvoltura que seus professores. Mesmo os alunos pertencentes a camadas menos favorecidas têm contato com recursos tecnológicos na rua, na televisão, etc., e sua percepção sobre tais recursos é diferente da percepção de uma pessoa que cresceu numa época em que o convívio com a tecnologia era muito restrito. (Almeida, 2000, p. 108).

Dessa forma, o espaço virtual deve ser entendido não como empecilho, mas como um ambiente formativo e educacional. É necessário que haja envolvimento do uso da tecnologia dentro das escolas e das universidades públicas, afinal de contas, muitos jovens em algum momento já tiveram contato remoto com as ferramentas tecnológicas. No entanto, o desuso destas ferramentas nas instituições de ensino público favorece também à desigualdade de conhecimento, comparado àqueles que acompanham mais de perto a tecnologia.

A Bioinformática, em estudos realizados por Badottit *et al* (2013), se mostrou promissora para o ensino de proteômica, de modo que, mesmo com o auxílio de tutoriais, perceberam que os alunos tornaram-se mais ativos no processo e de fato pensaram de forma analítica. Dessa forma, em alguns trechos da atividade foram inseridas propositalmente perguntas, por exemplo, “Mas onde, em uma sequência de nucleotídeos, estão localizadas as trincas indicativas de iniciação (start códon) e parada

(stop códon)?” e “Quais funções as proteínas desempenham no organismo?” (Tabela 2). A inclusão de um questionamento se fundamenta no princípio de que o levantamento de dúvidas gera uma interação social e curiosidade que desencadeia o processo de aprendizagem. Segundo Postman e Weingartner (1969):

“O conhecimento não está nos livros à espera de que alguém venha aprendê-lo; o conhecimento é produzido em resposta a perguntas; todo novo conhecimento resulta de novas perguntas, muitas vezes novas perguntas sobre velhas perguntas”(Postman e Weingartner, 1969, pg. 23).

Tabela 2. Trecho dos roteiros um, dois e três, grifados em cinza, contendo questionamentos.

| Atividade | Trecho contendo questionamento |
|-----------|---|
| Roteiro 1 | Mas onde, em uma sequência de nucleotídeos, estão localizadas as trincas indicativas de iniciação (start códon) e parada (stop códon)? Na prática, a ORF (do inglês "open reading frame"), ou seja, "fase de leitura aberta", é a sequência de DNA que fica entre a trinca de iniciação e a trinca de parada. No DNA, o códon de iniciação é ATG, enquanto que os códons de parada são três: TAG (chamados de códon "âmbar"), TAA (chamados de códon "ocre") e TGA (chamados de códon "opala"). |
| Roteiro 2 | Quais funções as proteínas desempenham no organismo? Elas possuem função hormonal, estrutural, catalítica e atuação como anticorpos. Dentre as proteínas, a insulina é uma é muito estudada, ela tem função hormonal e é responsável pela redução da glicemia (taxa de glicose no sangue), ao promover a entrada de glicose nas células. Quando a produção de insulina é deficiente, a glicose acumula-se no sangue ao mesmo tempo em que células são destruídas por falta de abastecimento, gerando uma doença conhecida como diabetes mellitus. |
| Roteiro 3 | É possível analisar os promotores utilizando o PlantCARE (LESCOT <i>et al.</i> , 2002), mas, o que é isso? Trata-se de um banco de dados de elementos reguladores, intensificadores e repressores de ação <i>cis</i> presentes nos promotores de vegetais. Utilizando o PlantCARE é possível identificar <i>cis</i> elementos que reagem a diferentes estímulos e assim entender melhor a regulação de um dado gene. |

Segundo Libâneo (1999), as novas exigências educacionais exigem um professor capaz de ajustar sua didática às novas realidades da sociedade, do conhecimento, do aluno, dos diversos universos culturais, dos meios de comunicação. Nesta visão, o novo professor precisa saber usar meios de comunicação e articular as aulas com as mídias e multimídias. A Bioinformática pode ser uma importante ferramenta para o ensino de Biologia Molecular. Um estudo realizado por Mertz e Streu (2015) concluiu que as metodologias ativas e a Bioinformática podem ser utilizadas para melhorar as habilidades de escrita e raciocínio dos alunos. Em seu trabalho, os autores propuseram

aos estudantes a escrita de um projeto com base em cursos de bioquímica fornecidos previamente, sendo que os conteúdos foram mediados por ferramentas de Bioinformática sob metodologia ativa, com finalidade de facilitar a compreensão dos processos abordados. Assim, o aluno conseguiu pensar em diversas maneiras de utilizar as ferramentas estudadas para a criação de vários projetos de pesquisa.

Esse trabalho trouxe uma abordagem diferenciada para o ensino de Biologia Molecular. A experimentação possibilita ao estudante pensar sobre o mundo de forma científica, ampliando seu aprendizado sobre a natureza e estimulando habilidades, como a observação, a obtenção e a organização de dados, bem como a reflexão e a discussão, tornando o aluno o sujeito da ação. Para Moreira (2018), as tecnologias têm um potencial enorme para melhorar o processo pedagógico, devendo ajudar o estudante a pensar, a resolver problemas, a criar e a colaborar com os outros.

Poucas vezes os estudantes utilizam dados em sua forma original, por exemplo, uma sequência primária de nucleotídeos ou aminoácidos. Com base nisso, os roteiros aqui apresentados foram preparados de forma a permitir que os estudantes possam manipular dados da fonte, analisá-los e tirar suas próprias conclusões, sendo assim o protagonista de sua própria aprendizagem. Esta prática é coerente com os princípios do construtivismo, da autonomia, da flexibilidade, da inclusão e da interação, podendo ter efeitos positivos na formação acadêmica dos estudantes. Segundo a corrente pedagógica do construtivismo, cujos principais representantes são Piaget e Vygotsky, o saber é construído pelo próprio aluno quando ele resolve problemas e cria hipóteses (VON LINSINGEN, 2010).

A execução do roteiro 1 apresenta ao estudante o site do banco de dados do NCBI (em português: Centro Nacional de Informação Biotecnológica) e suas características básicas, assim como o site do ORFfinder que é um localizador de quadros de leitura abertos (no inglês Open Reading Frame, sigla ORFs), ou seja, da sequência codificadora de proteína em um gene, em uma sequência de DNA. Além disso, o estudante pode estabelecer a correspondência entre nucleotídeos e aminoácidos, bem como a localização dos códons de iniciação e parada.

O roteiro 2 apresenta o site SWISS MODEL, um servidor que faz modelagem de proteínas por homologia, tornando-a acessível a todos. O executor do roteiro pode visualizar a conversão de uma sequência linear de aminoácidos em uma estrutura

tridimensional, que pode ser movimentada, examinada e apresentada em diferentes formas. Adicionalmente, é possível estabelecer relação entre forma e função proteica.

O site PlantCARE é apresentado no roteiro 3. Trata-se de um banco de dados de elementos reguladores, intensificadores e repressores de ação *cis* presentes nos promotores de vegetais. Segundo Ibraheemet *al* (2010), os elementos regulatórios em *cis* são sequências de DNA presentes nos promotores e essenciais para a regulação transcricional do gene.

Utilizando o PlantCARE é possível identificar *cis* elementos que reagem a diferentes estímulos e assim entender melhor a regulação de um dado gene. O estudante pode inserir uma sequência de nucleotídeos e ter como retorno a marcação dos locais onde ocorre cada elemento regulador. É possível conhecer e quantificar os elementos reguladores responsivos a fatores como luz, salinidade, déficit hídrico e outros.

A Bioinformática cresceu em paralelo com a internet e seus avanços, sendo possível analisar e simular dados muito rapidamente. A sua aplicação no ensino de conceitos de Biologia Molecular permite experiências mais interativas, capazes de atrair estudantes da era digital. Lévy (2007) defende que é necessário explorar as potencialidades mais positivas do ciberespaço e, adicionalmente, Teixeira & Da Silva (2014) consideram que na cultura da *Web* o educador torna-se mediador das atividades educativas e um incentivador da aprendizagem.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os roteiros de práticas em Bioinformática desenvolvidos neste trabalho posicionam o estudante como construtor da própria aprendizagem, seja ele de ensino médio ou superior, ampliando o pensamento crítico e reflexivo dos mesmos.

Foram desenvolvidos três roteiros de práticas em Bioinformática, que fazem conexão entre conhecimentos teóricos e práticos, com procedimentos direcionados a tornar o estudante construtor de sua própria aprendizagem. Outro ponto positivo é que os roteiros práticos são de fácil linguagem e aplicação e isso se contrapõe ao fato de que os bancos de dados e sites mais utilizados na Bioinformática se encontram na língua inglesa e com terminologias específicas, barreiras que podem se configurar como desafios para desenvolvimento de novas aplicações didáticas. Além disso, professores das diversas modalidades e níveis de ensino podem fazer uso dos roteiros de aula prática aqui apresentados, como estratégia para dinamizar o ensino da Biologia Molecular aplicando o Objeto Digital de Aprendizagem.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. E. B. **ProInfo: Informática e Formação de Professores**.vol. 1. Série de Estudos Educação a Distância. Brasília: Ministério da Educação, Seed, 2000.
- ALONSO, C. M.; GALLEGO, D. J. **Aprendizaje y ordenador**. Madrid: Dykinson, 2000.
- ARAÚJO, E. O biólogo das telas de computador. **Boletim do Conselho de Informações Sobre Biotecnologia**, ano 2, n. 7, nov/2004.
- BADOTTI F, BARBOSA AS, REIS ALM, BITAR M. **Comparative modeling of proteins: A method for engaging students' interest in bioinformatics tools**. *BiochemMolBiol Educ.*, v. 42, p. 68–78, 2014.
- BOYLE, T. **Layered learning design: towards an integration of learning design and learning object perspectives**. *Computers&Education*, v. 54, p. 661-668, 2010.
- CASAGRANDE, G. L. **A genética humana no livro didático de biologia**. 2006. 103 f. Dissertação (Mestrado em Educação Científica e Tecnológica) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- CARABETTA, V. J. **Uma investigação microgenética sobre a internalização de conceitos de biologia por alunos do ensino médio**. *Revista Contemporânea de Educação*, Rio de Janeiro, v. 5, n. 10, p. 1-10, 2010.
- GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL, S. B. **Introdução a Genética**. 9ed. Guanabara Koogan, 2008.
- IBRAHEEM, O.; BOTHA, C. E. J.; BRADLEY, G.**In silico analysis of cis-acting regulatory elements in regulatory regions of sucrose transporter gene families in rice (Oryza sativa Japonica) and Arabidopsis thaliana**.*ComputationalBiologyandChemistry*, Oxford, v. 34, n. 5/6, p. 268–283, 2010.
- ISOTANI, S.; MIZOGUCHI, R.; BITTENCOURT I. I.; COSTA E. **Estado da arte em web semântica e web 2.0: potencialidades e tendências da nova geração de ambientes de ensino na internet**.*BrazilianJournalofComputers in Education*, v. 17, n. 01, p. 30, 2009.
- LÉVY, P.**A Inteligência Coletiva: Por uma antropologia do ciberespaço**. São Paulo: Edições Loyola, 2007.
- LIBÂNEO, J. C. **Adeus professor, adeus professora? Novas exigências educacionais e profissão docente**. São Paulo: Cortez, 1999.

LIVINGSTONE, S. **Las redes sociales online – una oportunidad con riesgos para adolescentes.** In: Grané, M., Willem, C. (Orgs.). *Web 2.0: Nuevas formas de aprender e participar.* Barcelona: Laertes Educacion. p. 87-106, 2009.

MERTZ, P.; STREU C. **Writing throughout the biochemistry curriculum: Synergistic inquiry-based writing projects for biochemistry students.** *Biochem Mol Biol Educ.*, 43(6), p. 408–16, 2015.

MOREIRA, A. **Reconfigurando ecossistemas digitais de aprendizagem com tecnologias audiovisuais.** *Revista de Educação a Distância.* v.5, n.1, 2018.

PAVAN, O. H. O. et al. **Evoluindo genética: um jogo educativo.** 1. ed. Campinas: Ed. Unicamp, 1998.

PINHO, M. S. L. **Pesquisa em Biologia Molecular: Como fazer?** *Revista Brasileira Coloproct.* v. 26, n. 3, p. 331-336, 2006.

POSTMAN, N; WEINGARTNER, C. **Teaching as a subversive activity.** New York: Dell Publishing Co, 1969.

RIBEIRO, D. C. D. **Ferramentas de Bioinformática: Manipulação de sequências e recuperação de regiões flanqueadoras de um alvo.** IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, p. 182-185, 2005.

THAMPI, S. M. **Introduction to Bioinformatics.** arXiv preprint arXiv. Computational Engineering, Finance and Science, 2009.

TEIXEIRA, M. M.; DA SILVA, M. H. O. **Hiperligações no ciberespaço: Interatividade, comunicação e educação.** *Temática*, v. 9, n. 10, 2014.

VON LINSINGEN, L. **Ciências Biológicas e os PCNs.** Centro Universitário Leonardo da Vinci – Indaial, Grupo UNIASSELVI, 2010.

APÊNDICE 1

ROTEIRO1: LOCALIZAÇÃO DO START CÓDON E STOP CÓDON EM UMA SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEOS

INTRODUÇÃO

A sequência de bases no DNA atua como um código genético que determinará a sequência de aminoácidos em uma dada proteína, que pode ser entendida como sequência específica de aminoácidos ligados entre si por meio de ligações peptídicas. A leitura do código genético contido no DNA é feita a partir de uma sequência de três bases nitrogenadas consecutivas, chamadas códon. O código genético é formado por 64 códons diferentes, os quais especificam 20 tipos de aminoácidos que podem ser combinados de várias maneiras para formar as mais variadas proteínas. Além disso, existem códons que não especificam nenhum aminoácido e são chamados códons de fim ou de parada (PESKOV, 2009).

Mas onde, em uma sequência de nucleotídeos, estão localizadas as trincas indicativas de iniciação (start códon) e parada (stop códon)? Na prática, a ORF (do inglês "open reading frame"), ou seja, "fase de leitura aberta", é a sequência de DNA que fica entre a trinca de iniciação e a trinca de parada. No DNA, o códon de iniciação é ATG, enquanto que os códons de parada são três: TAG (chamados de códon "âmbar"), TAA (chamados de códon "ocre") e TGA (chamados de códon "opala") (GARRATT, 2008).

O processo de tradução consiste em converter (traduzir) uma sequência de nucleotídeos em sequência de aminoácidos, mas essa conversão obedece ao local de início no start códon e ao local de fim em um dos stop códons (PESKOV, 2009).

Nesse sentido, o ORFfinder é um localizador de ORF que pesquisa por quadros de leitura abertos (no inglês sigla ORFs) na sequência de DNA que você insere. O programa retorna o intervalo de cada ORF, juntamente com sua tradução de proteína. O localizador de ORF torna viável pesquisar o DNA recém sequenciado quanto a possíveis segmentos de codificação de proteína e verificar a proteína prevista usando o SMART BLAST recém-desenvolvido ou o BLASTP regular.

PROCEDIMENTOS

1. Acessar o link <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>

2. Inserir a sequência do gene de interesse. Segue a sequência do gene oxidase alternativa de tangerina (*Citros clementina*), que pode ser utilizado:

```
CTTTAATCCTGACGTCGATAATTACGAAGCCCAATCAAGATCGATCCCCGAGCACCGAATTA
ATAAATTACCAAATTGCCTATTTCTTTGTCTGCTAGTCTGTACTTTTGAGCAGCGTTTTGA
CTGACCGAAGAAAACAAAAACAAAGAAAATGAATCAATTAGTAGCGATGTCGGTGATGCGAG
GGCTGATTAACGGCGGGAAGCACAGTATCGGCTACGCAAGGACGGTGGTGAGATGTCATCCG
AACGTTTGGGACGGAGATGACATGCCGTTATTGGGGTTGAGAATGATGGTGATGATGAGTAG
TTATTCTTCTTCTTCGGAATCGGTGCCGAGAAAGTGAAGGAGAAAGGAGAGAACGGAATTG
TACCGTCGAGTTATTGGGGTATTTTCGAGGCCAAAGATCACTAGAGAGGATGGCAGTCCATGG
CCTTGGAATTGTTTCATGCCTTGGGAAACTTATCGGGCAGATTTATCAATTGATTTGAAGAA
GCACCATGTGCCACAACCTTCTTGACAAAGTTGCTTACCGGACGGTCAAACCTCCTCCGAA
TTCCCACTGATTTGTTTTTTTCAGAGACGATATGGATGTCGTGCAATGATGCTGGAAACAGTG
GCGGCTGTACCTGGAATGGTTGGAGGAATGTTGCTACACCTCAAGTCTCTGCGTAAGTTCCA
GCATAGTGGTGGTTGGATCAAAGCTCTGCTTGAAGAAGCAGAGAATGAGAGGATGCATCTGA
TGACCATGGTGGAGCTTGTGAAGCCCAAATGGTATGAGAGGATGCTTGTCTGACTGTGCAG
GGTGTCTTTTTCAATGCATTCTTTGTGCTTTATCTACTCTCACCTAAACTGGCTCATAGAGT
TGTTGGCTACTTGGAGGAGGAGGCTATACACTCTTACACTGAATATCTCAAGGATATTGATA
GTGGATCTATTGAAAATGTTCCAGCCCCTGCTATTGCTATTGACTATTGGAGGTTACCTAAG
GATGCTACACTCAAGGATGTTATTACTGTTATTCGTGCTGACGAAGCTCATCATCGGGATGT
CAACCATTTTGCTTCTGATATAACAGTTTCAGGGGAAGGAATTAAGAGATGCTCCTGCCCTC
TTGGTTACCACTGAGATGGGATGAATTTGAGATTGTTTGTGAGATTTGTGGTTGAGGTA
CTACATGGATTGGTCTGAGATAATGAGGTTTCTGTATATGCTGAGAATAGTACACTAGGAGT
ATGAAATCTCAAGCTAAATGAAAAGGGGTATAGAGTTTTTCTGTATATGCTGAGAATAGTAC
ACTAGGAGTATGAAGTGTCAAGCTAAATGAAAAGGGGTATAGACTAAATAAACACATCTGA
CTTTCTAAACCCCAATTTGGTTGAATTTTATAAGCTTTGAGATTAGACTGCTTTTGTCTGT
ATGATAAGCAAGTAGCATGTTCCAGTAGCTCCTCAGTACATCACCATTTATTTATTTTACT
TGTGCTAGCATTTTCTATTACACATTCATATGAAGGAGACAGGGAGATGGAGACATCTTGAG
TGGAAGGGAATCGTTGCTTCATAGATGATATTACTGCAAGTTTCTCCAAAAGCAGCATGCAA
AAGTTCAGGATTTCTTCTTGAACCTCCCAATATGTTCCCTGATATGAGTGAAGTGTGTTGGT
GAGAACCCCAATTTGTGCTTTATCCATGTAGTCATAAAAGAAATCGAAGTGTGGTGCTGGTA
GCTCAAAGGTTGTAAGTTAAGATCTCTCATAGTCATATGACGTACCAATTCTGTATAATGA
TGAGGCTGGCAGCTCTATAATTTTACTGCAAACATATATTATATAGGTGCTTTAATGTAAC
GAAGATATATATGACTGATCGCTAGCATGAGCAAAGCTATTAAATTAATGATTAGATAAA
CAAAAATAAGTAATCTTATTTGAAATGTGTTTATGGTGGCAGTGGATGGAGATGGTACTGTC
AGCGAATACTACTATTATTATGTGTTTAACTTTGGGATTGTGTATCTTTGCTAGAAAAGTTCTT
CTTGATGGTGAGTTAAATGAGAAAATGGTTAGAAGGGAAATTTTTTTTATTCCCGCCTTGT
AGAAAATGCTGCCTTGTAGAAAATGCTCTCTGTTGGTAACTTAAAAATAAAAAGCTCACTG
TTTGGAAATGACATTAAGGACCTCATGCAAGATCTTCCAAGTTTCAAGTTTCAACCAATTAG
TATGCAAATCGCTTTATGCCTAGGATTGAATAAATAAAAAATAAAAAAGATAAAACGTATCG
TCGTTACTTCTGAAGAAGCATGTG
```

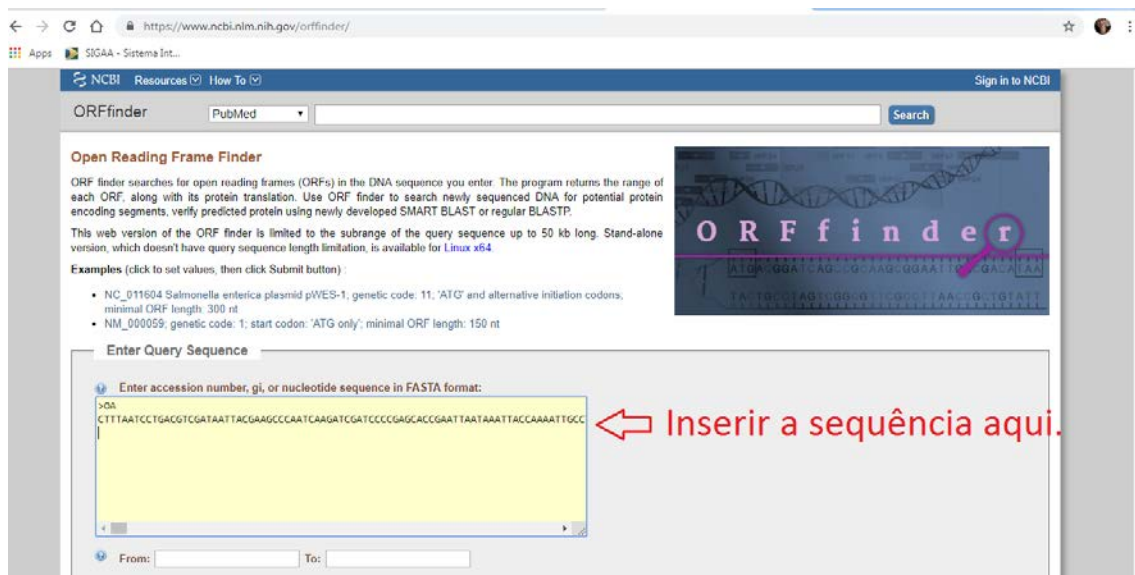
3. Colocar a sequência no formato fasta. Para isso, basta inserir o sinal “>” no início dela, e também inserir um nome ou sigla para identificação da sequência. Podemos abreviar oxidase alternativa como “OA”, ficando assim:

>OA

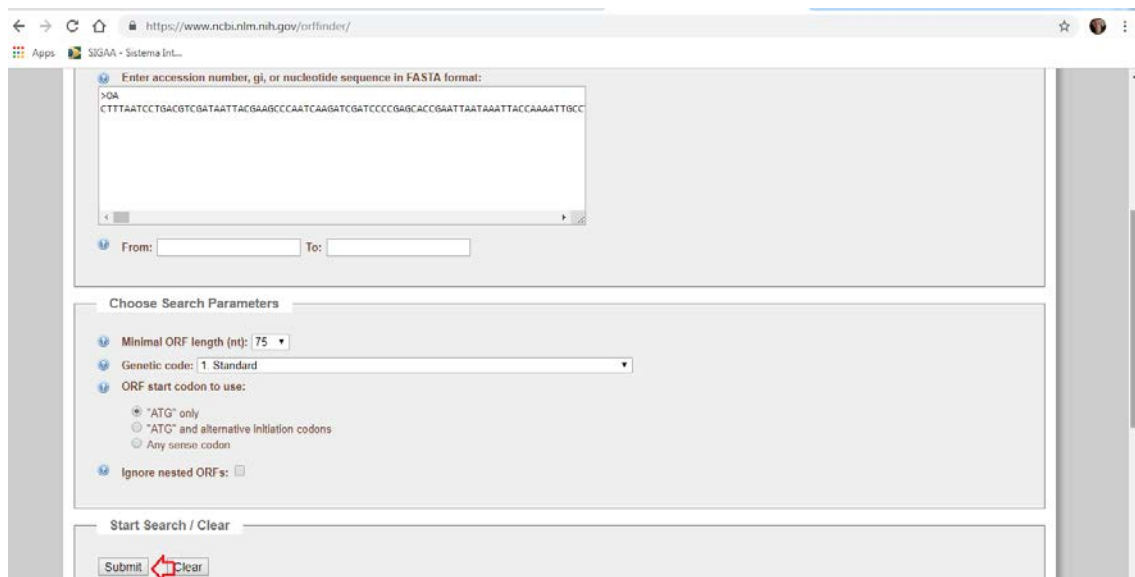
```

CTTTAATCCTGACGTGCGATAATTACGAAGCCCAATCAAGATCGATCCCCGAGCACCGAATTA
ATAAATTACCAAATTGCCTATTTCTTTGTCTGCTAGTCTGTACTTTTGAGCAGCGTTTTGA
CTGACCGAAGAAACAAAAACAAAGAAAATGAATCAATTAGTAGCGATGTCGGTGATGCGAG
GGCTGATTAACGGCGGGAAGCACAGTATCGGCTACGCAAGGACGGTGGTGAGATGTCATCCG
AACGTTTGGGACGGAGATGACATGCCGTTATTGGGGTTGAGAATGATGGTGATGATGAGTAG
TTATTCTTCTTCTTCGGAATCGGTGCCTGAGAAAGTGAAGGAGAAAGGAGAGAACGGAATTG
TACCGTCGAGTTATTGGGGTATTTTCGAGGCCAAAGATCACTAGAGAGGATGGCAGTCCATGG
CCTTGGAATTGTTTCATGCCTTGGGAAACTTATCGGGCAGATTTATCAATTGATTTGAAGAA
GCACCATGTGCCACAACCTTCTTGACAAAGTTGCTTACCGGACGGTCAAACCTCCTCCGAA
TTCCCACTGATTTGTTTTTTTCAGAGACGATATGGATGTCGTGCAATGATGCTGGAAACAGTG
GCGGCTGTACCTGGAATGTTGGAGGAATGTTGCTACACCTCAAGTCTCTGCGTAAGTTCCA
GCATAGTGGTGGTGGATCAAAGCTCTGCTTGAAGAAGCAGAGAATGAGAGGATGCATCTGA
TGACCATGGTGGAGCTTGTGAAGCCCAAATGGTATGAGAGGATGCTTGTCTGACTGTGCAG
GGTGTCTTTTTCAATGCATTCTTTGTGCTTTATCTACTCTCACCTAAACTGGCTCATAGAGT
TGTTGGCTACTTGGAGGAGGAGGCTATACACTCTTACACTGAATATCTCAAGGATATTGATA
GTGGATCTATTGAAAATGTTCCAGCCCCTGCTATTGCTATTGACTATTGGAGGTTACCTAAG
GATGCTACACTCAAGGATGTTATTACTGTTATTCGTGCTGACGAAGCTCATCATCGGGATGT
CAACCATTTTGCTTCTGATATACAGTTTCAGGGGAAGGAATTAAGAGATGCTCCTGCCCTC
TTGGTTACCACTGAGATGGGATGAATTTGAGATTGTTTGTGAGATTGTTGGTGGTACTT
CTACATGGATTGGTCTGAGATAATGAGGTTTCTGTATATGCTGAGAATAGTACACTAGGAGT
ATGAAATCTCAAGCTAAATGAAAAGGGGTATAGAGTTTTCTGTATATGCTGAGAATAGTAC
ACTAGGAGTATGAAGTGTCAAGCTAAATGAAAAGGGGTATAGACTAAATAAACACATCTGA
CTTTCTAAACCAATTTGTTGAATTTTATAAGCTTTGAGATTAGACTGCTTTTTGTTTCTGT
ATGATAAGCAAGTAGCATGTTCCAGTAGCTCCTCAGTACATCACCATTTATTTATTTACT
TGTGCTAGCATTTTCTATTACACATTCATATGAAGGAGACAGGGAGATGGAGACATCTTGAG
TGGAAGGGAATCGTTGCTTCATAGATGATATTACTGCAAGTTTCTCCAAAAGCAGCATGCAA
AAGGTCAGGATTTCTTCTTGAACCTCCAATATGTTCCCTGATATGAGTGAAGTGTGTTGGT
GAGAACCCCAATTTGTGCTTTATCCATGTAGTCATAAAAGAAATCGAAGTGTGGTGTGGTA
GCTCAAAGGTTGTAAGTTAAGATCTCTCATAGTCATATGACGTACCAATTCGTATAATGA
TGAGGCTGGCAGCTCTATAATTTTACTGCAAACATATATTATATAGGTGCTTTAATGTAAC
GAAGATATATATGACTGATCGCTAGCATGAGCAAAGCTATTAATTAATGATTAGATAAA
CAAAAATAAGTAATCTTATTTGAAATGTGTTTATGGTGGCAGTGGATGGAGATGGTACTGTC
AGCGAATACACTATTATTATGTGTTTAACTTTGGGATTTGTGTATCTTTGCTAGAAAGTTCTT
CTTGATGGTGGTAAATGAGAAAATGGTTAGAAGGAAATTTTTTTTTATTCCCGCCTTGTT
AGAAAATGCTGCCTTGTAGAAAATGCTCTCTGTTGGTAACTTAAAAATAAAAAGCTCACTG
TTTGGAAATGACATTAAGGACCTCATGCAAGATCTTCCAAGTTTCAAGTTTCAACCAATTAG
TATGCAAATCGCTTTATGCCTAGGATTGAATAAATAAAAAATAAAAAAGATAAACGTATCG
TCGTTACTTCTGAAGAAGCATGTG
    
```

4. A sequência devidamente identificada e no formato fasta deve ser inserida na caixa do ORFfinder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>), como na figura abaixo:



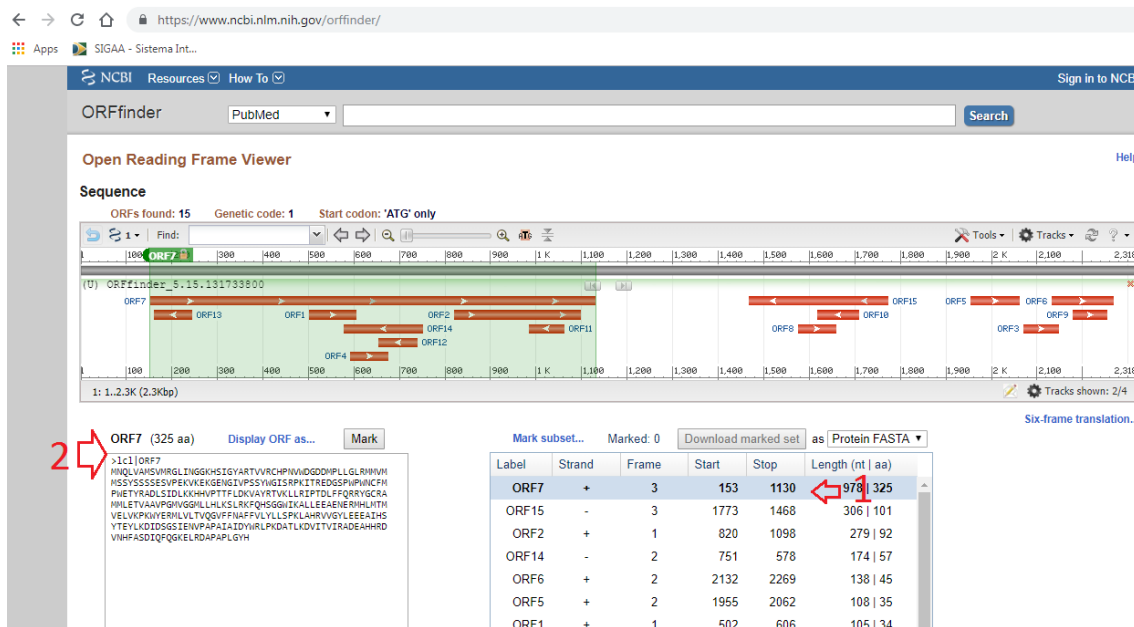
5. O comando “Submit” (indicado pela seta vermelha na figura abaixo) deve ser escolhido; assim você disponibiliza a sequência de nucleotídeos para análise:



6. Deve-se aguardar alguns segundos até que a análise seja concluída, conforme figura abaixo:



7. Obtenção e interpretação da análise:



ORIENTAÇÃO PARA O PROFESSOR:

Aqui a interpretação dos resultados deve ser direcionada pelo professor, que indicará: A direita, conforme indicado pela seta 1 na figura acima, é apresentado o resultado da análise da possível fase de leitura do gene avaliado, começando no nucleotídeo 153 e se estendendo até o 1130. A seta 2 na esquerda da figura acima indica a apresentação da sequência de aminoácidos da proteína resultante do quadro de leitura indicado, totalizando 325 aminoácidos (aa).

8. Identificação do start e stop códon na sequência disponibilizada:

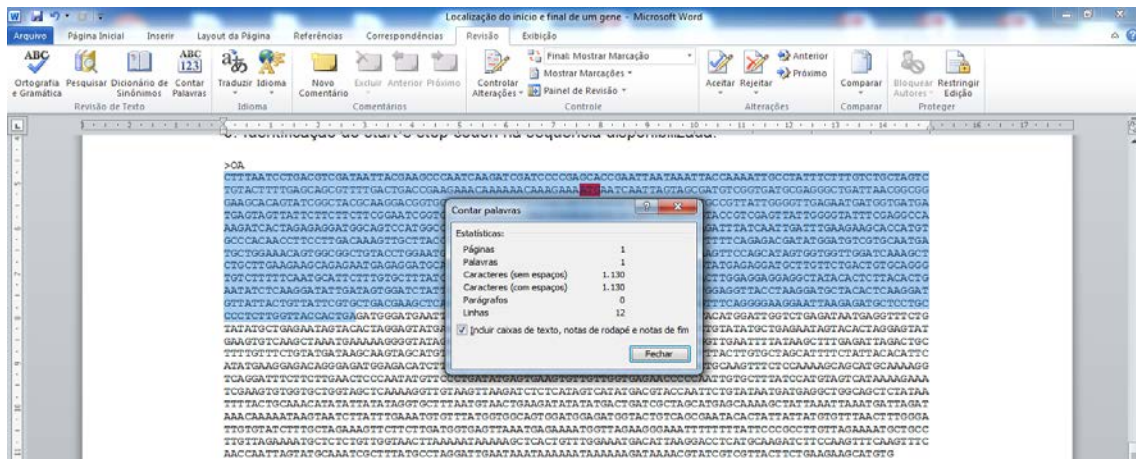
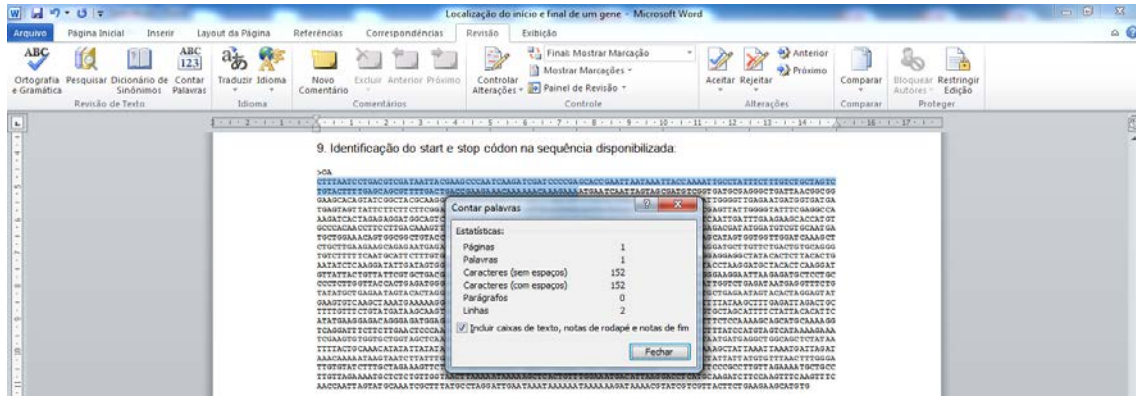
>OA

CTTTAATCCTGACGTCGATAATTACGAAGCCCAATCAAGATCGATCCCCGAGCACCGAATTA
ATAAATTACCAAATTGCCTATTTCTTTGTCTGCTAGTCTGTACTTTTGAGCAGCGTTTTGA
CTGACCGAAGAAACAAAAACAAAGAAAATGAATCAATTAGTAGCGATGTCGGTGATGCGAG
GGCTGATTAACGGCGGGGAAGCACAGTATCGGCTACGCAAGGACGGTGGTGAGATGTCATCCG
AACGTTTGGGACGGAGATGACATGCCGTTATTGGGGTTGAGAATGATGGTGATGATGAGTAG
TTATTCTTCTTCTTCGGAATCGGTGCCGTGAGAAAGTGAAGGAGAAAGGAGAGAACGGAATTG
TACCGTCGAGTTATTGGGGTATTTTCGAGGCCAAAGATCACTAGAGAGGATGGCAGTCCATGG
CCTTGGAATTGTTTCATGCCTTGGGAACTTATCGGGCAGATTTATCAATTGATTTGAAGAA
GCACCATGTGCCACAACCTTCTTGACAAAGTTGCTTACCGGACGGTCAAACCTCCTCCGAA
TTCCCACTGATTTGTTTTTTTCAGAGACGATATGGATGTCGTGCAATGATGCTGGAAACAGTG
GCGGCTGTACCTGGAATGGTTGGAGGAATGTTGCTACACCTCAAGTCTCTGCGTAAGTTCCA
GCATAGTGGTGGTTGGATCAAAGCTCTGCTTGAAGAAGCAGAGAATGAGAGGATGCATCTGA
TGACCATGGTGGAGCTTGTGAAGCCCAAATGGTATGAGAGGATGCTTGTCTGACTGTGCAG
GGTGTCTTTTTCAATGCATTCTTTGTGCTTTATCTACTCTCACCTAAACTGGCTCATAGAGT
TGTGGCTACTTGGAGGAGGAGGCTATACACTCTTACACTGAATATCTCAAGGATATTGATA
GTGGATCTATTGAAAATGTTCCAGCCCCTGCTATTGCTATTGACTATTGGAGGTTACCTAAG
GATGCTACACTCAAGGATGTTATTACTGTTATTCGTGCTGACGAAGCTCATCATCGGGATGT
CAACCATTTTGCTTCTGATATACAGTTTCAGGGGAAGGAATTAAGAGATGCTCCTGCCCTC
TTGGTTACCACATGAGATGGGATGAATTTGAGATTGTTTGTGAGATTTGTGGTTGAGGTACTT
CTACATGGATTGGTCTGAGATAATGAGGTTTCTGTATATGCTGAGAATAGTACACTAGGAGT
ATGAAATCTCAAGCTAAATGAAAAGGGGTATAGAGTTTTCTGTATATGCTGAGAATAGTAC
ACTAGGAGTATGAAGTGTCAAGCTAAATGAAAAGGGGTATAGACTAAATAAACACATCTGA
CTTTCTAAACCCAATTTGGTTGAATTTTATAAGCTTTGAGATTAGACTGCTTTTTGTTTCTGT
ATGATAAGCAAGTAGCATGTTCCAGTAGCTCCTCAGTACATCACCATTTATTTATTTTACT
TGTGCTAGCATTTTCTATTACACATTCATATGAAGGAGACAGGGAGATGGAGACATCTTGAG
TGGAAGGGAATCGTTGCTTCATAGATGATATTACTGCAAGTTTCTCCAAAAGCAGCATGCAA
AAGGTCAGGATTTCTTCTTGAACCTCCAATATGTTCCCTGATATGAGTGAAGTGTGTTGGT
GAGAACCCCAATTTGTGCTTTATCCATGTAGTCATAAAAGAAATCGAAGTGTGGTGCTGGTA
GCTCAAAGGTTGTAAGTTAAGATCTCTCATAGTCATATGACGTACCAATTCTGTATAATGA
TGAGGCTGGCAGCTCTATAATTTTACTGCAAACATATATTATATAGGTGCTTTAATGTAAC
GAAGATATATATGACTGATCGCTAGCATGAGCAAAGCTATTAATTAATGATTAGATAAA
CAAAAATAAGTAATCTTATTTGAAATGTGTTTATGGTGGCAGTGGATGGAGATGGTACTGTC
AGCGAATACTACTATTATTATGTGTTTAACTTTGGGATTGTGTATCTTTGCTAGAAAGTTCTT
CTTGATGGTGAGTTAAATGAGAAAATGGTTAGAAGGGAAATTTTTTTTTATTCCCGCCTTGT
AGAAAATGCTGCCTTGTAGAAAATGCTCTCTGTTGGTAACTTAAAAATAAAAAGCTCACTG
TTTGAAAATGACATTAAGGACCTCATGCAAGATCTTCCAAGTTTCAAGTTTCAACCAATTAG
TATGCAAATCGCTTTATGCCTAGGATTGAATAAATAAAAAATAAAAAAGATAAACGTATCG
TCGTTACTTCTGAAGAAGCATGTG

ORIENTAÇÃO PARA O PROFESSOR:

Deve-se utilizar a ferramenta “revisão” do word e escolher a opção contar palavras, para determinar o local de início do gene no caractere de número 153, 154 e 155, que será a trinca ATG marcada de vermelho na sequência acima. Com a mesma ferramenta do word deve-se localizar os caracteres de número 1128, 1129 e 1130, que coincidirão com o códon de parada TGA, também marcado de vermelho na sequência acima.

Abaixo a localização feita no word:



9. Construção de tabela indicando o número de nucleotídeos do gene e de aminoácidos da proteína.

| | |
|---|-------------------------|
| <p>ATGAATCAATTAGTAGCGATGTCGGTGTATGCGAGGGCTGATTAAC GGCGGAAGCACAGTATCGGCTACGCAAGGACGGTGGTGGAGATGT CATCCGAACGTTTGGGACGGAGATGACATGCCGTTATTGGGGTTG AGAATGATGGTGTATGATGAGTAGTTATTCTTCTTCTTCGGAATCG GTGCCTGAGAAAGTGAAGGAGAAAGGAGAGAACGGAATTGTACCG TCGAGTTATTGGGGTATTTTCGAGGCCAAAGATCACTAGAGAGGAT GGCAGTCCATGGCCTTGAATTTGTTTCATGCCTTGGGAACTTAT CGGGCAGATTTATCAATTGATTTGAAGAAGCACCATGTGCCACA ACCTTCCTTGACAAAGTTGCTTACCGGACGGTCAAACCTCCTCCGA ATTCCCCTGATTTGTTTTTTTCAGAGACGATATGGATGTCGTGCA ATGATGCTGAAACAGTGGCGGCTGTACCTGGAATGGTTGGAGGA ATGTTGCTACACCTCAAGTCTCTGCGTAAGTTCAGCATAGTGGT GGTTGGATCAAAGCTCTGCTTGAAGAAGCAGAGAATGAGAGGATG CATCTGATGACCATGGTGGAGCTTGTGAAGCCCAAATGGTATGAG AGGATGCTTGTCTGACTGTGCAGGGTGTCTTTTTCAATGCATTC TTTGTGCTTTATCTACTCTCACCTAAACTGGCTCATAGAGTTGTT GGCTACTTGGAGGAGGAGGCTATACACTTTACACTGAATATCTC AAGGATATTGATAGTGGATCTATTGAAAATGTTCCAGCCCCTGCT ATTGCTATTGACTATTGGAGGTTACCTAAGGATGCTACACTCAAG</p> | <p>978 nucleotídeos</p> |
|---|-------------------------|

| | |
|---|-----------------|
| GATGTTATTACTGTTATTCGTGCTGACGAAGCTCATCATCGGGAT GTCAACCATTTTCTTCTGATATACAGTTTCAGGGGAAGGAATTA AGAGATGCTCCTGCCCTCTTGTTACCAC TGA | |
| MNQLVAMSVMRGLINGGKHSIGYARTVVRCHPNVWDGDDMPLLGL RMMVMMSSYSSSESSESVPEKVKEKGENGIVPSSYWGISRPKITRED GSPWPWNCFMPWETYRADLSIDLKHHVPTTFLDKVAYRTVKLLR IPTDLFFQRRYGCRRAMLETVAAVPGMVGMLLHLKSLRKFQHS GWIKALLEEAENERMHLMTMVELVKPKWYERMLVLTQGVFFNAF FVLYLLSPKLAHRVVGYLEEEAIHSYTEYLKIDIDSGSIENVPAPA IAIDYWRLPKDATLKDVITVIRADEAHRDVENHFASDIQFQKEL RDAPAPLGYH | 325 aminoácidos |

ORIENTAÇÃO PARA O PROFESSOR:

O professor deve levantar a reflexão sobre o motivo pelo qual o número de aminoácidos é menor que o de nucleotídeos. Para isso pode pedir ao estudante que divida os 978 caracteres (presentes do start até o stop códon) por três (pois cada trinca resulta em um aminoácido): o resultado será 326. No entanto, o último códon não codifica nada, por isso existe um aminoácido a menos, sendo 325 o número real de aminoácidos.

RESULTADOS ESPERADOS

Ao final desta prática, espera-se que os estudantes compreendam a correspondência entre as sequências nucleotídicas e de aminoácidos, assimilem o conceito de códon de iniciação (start códon) e parada (stop códon), compreendam a codificação genética e notem a importância de ferramentas de informática para auxiliar estudos biológicos.

REFERÊNCIAS

GARRATT, R. C.; ORENCO, C. A. *The Protein Chart*. Nova Iorque: Wiley-VCH, 2008.
PETSKO, G. A.; RINGE, D. *Protein Structure and Function*. New York: Oxford University Press, 2009.

ROTEIRO 2: OBSERVAÇÃO DA ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL DE PROTEÍNAS

INTRODUÇÃO

Quando as proteínas são liberadas pelos ribossomos ainda não estão prontas para desempenhar suas funções biológicas, pois são necessárias algumas modificações que incluem dobramentos da molécula e adição e de fosfato. O dobramento da proteína é a modificação pós traducional mais importante, pois sua estrutura tridimensional interfere diretamente no papel desempenhado por essas moléculas no organismo (Ogo& Godoy, 2016).

Quais funções as proteínas desempenham no organismo? Elas possuem função hormonal, estrutural, catalítica e atuação como anticorpos. Dentre as proteínas, a insulina é muito estudada, ela tem função hormonal e é responsável pela redução da glicemia (taxa de glicose no sangue), ao promover a entrada de glicose nas células. Quando a produção de insulina é deficiente, a glicose acumula-se no sangue ao mesmo tempo em que células são destruídas por falta de abastecimento, gerando uma doença conhecida como *diabetes mellitus*.

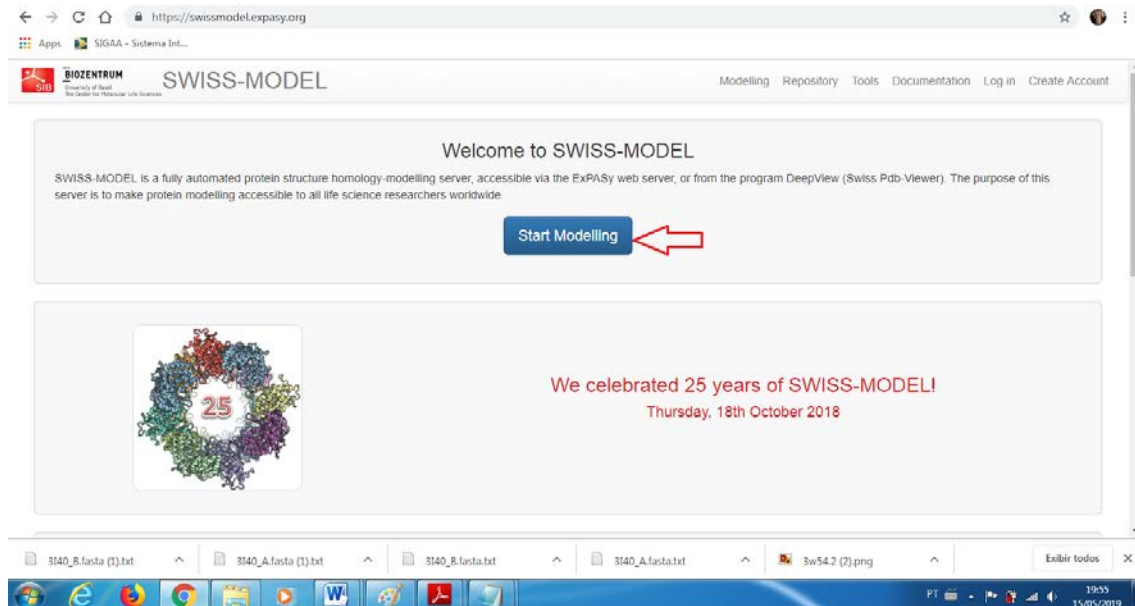
A sequência exata de aminoácidos contida na molécula de insulina foi determinada pelo biólogo britânico Frederick Sangerem 1955. Foi a primeira vez que a estrutura de uma proteína fora completamente determinada. Por isso, ele recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1958. Sendo assim, hoje sabemos que a insulina é formada por um total de cinquenta e um aminoácidos e possui duas cadeias de polipeptídios ligadas por duas pontes dissulfídicas.

Sabendo a sequência de aminoácidos da insulina, é possível visualizar a sua forma tridimensional, que é tão importante para desempenho de sua função. Também é possível determinar em quais aminoácidos ela recebe a adição de grupos fosfato, processo conhecido como fosforilação.

O SWISS-MODEL é um servidor de modelagem de homologia de estrutura protéica totalmente automatizado, acessível através do servidor web ExPASy, ou do programa DeepView (SwissPdb-Viewer). O objetivo deste servidor é tornar a modelagem de proteínas acessível a todos os pesquisadores de ciências da vida em todo o mundo.

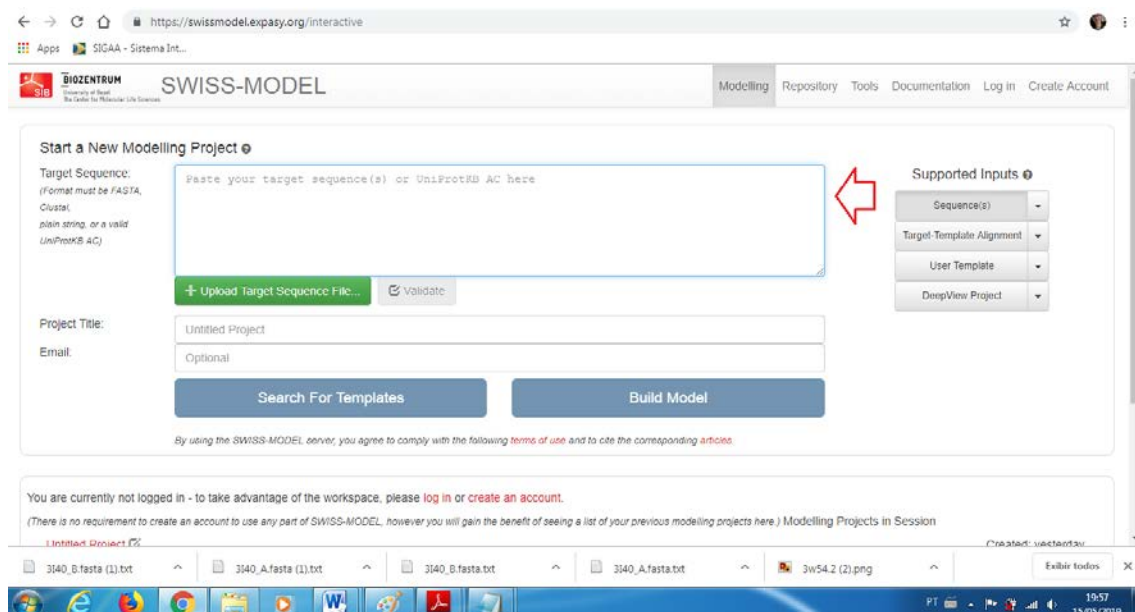
PROCEDIMENTOS

1. Acessar o site SWISS MODEL no link: <https://swissmodel.expasy.org/>
2. Selecionar a opção Start Modelling (Iniciar modelagem, em português), apontada pela seta vermelha na figura abaixo.

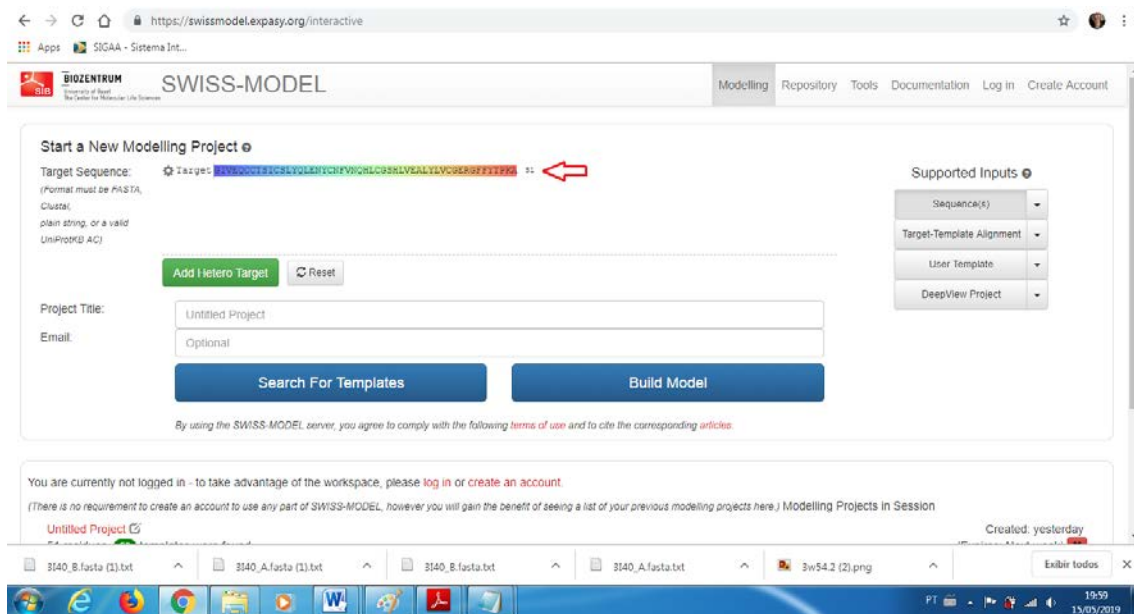


3. Inserir a sequência de aminoácidos da proteína insulina no quadro indicado pela seta vermelha abaixo. Sendo a sequência:

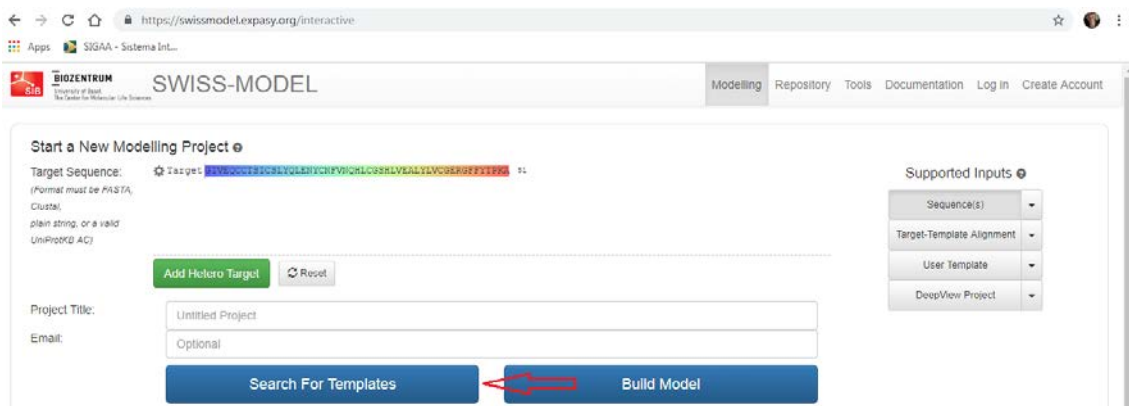
GIVEQCCTSI CSLYQL ENYCNFVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA



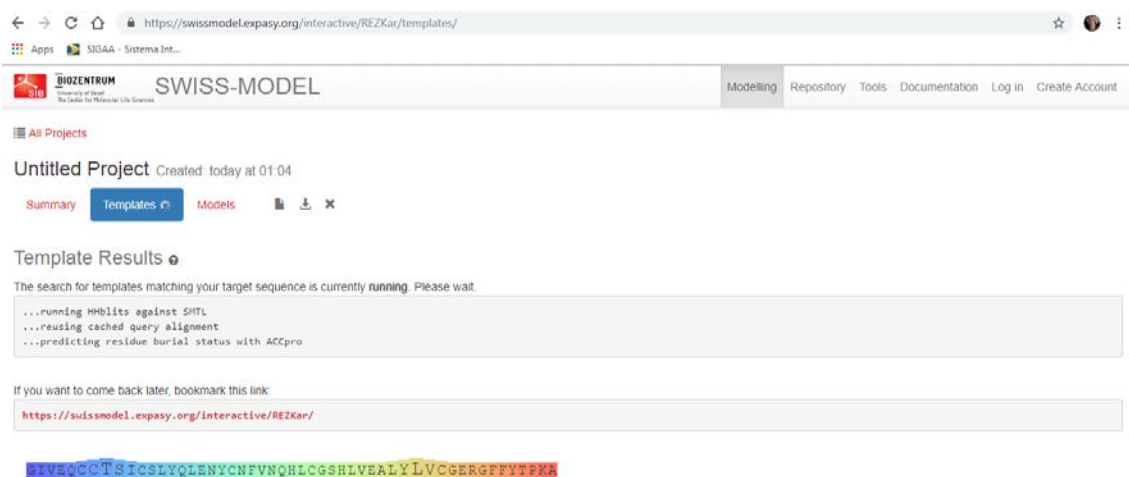
4. Observar se a sequência inserida apresenta mudança de cor, como indicado pela seta vermelha na figura abaixo.



5. Clicar em “Search for templates” para pesquisar o modelo tridimensional da insulina, conforme mostrado abaixo:



6. Aguarde a análise da sequência:



7. Observe os resultados apresentados e clique no modelo à direita da tela (destacado na figura abaixo). É possível clicar no botão esquerdo do mouse, permanecer com ele clicado e então movimentar para visualizar as diferentes faces da proteína.

The screenshot shows the Swiss-Model ExPASy interface. On the left, there is a table of protein models. On the right, there is a 3D ribbon representation of a protein structure. A red box highlights the 3D model, and a red arrow points to the 'Show' button in the table.

| ID | Name | Title | Coverage | GMQE | QSQE | Identity | Method | Oligo State | Ligands |
|----------|---------------------------|-------|----------|------|--------|-------------|-----------------|--|---------|
| 2a3g.1.D | Insulin | | 0.70 | 0.49 | 100.00 | X-ray, 2.2Å | hetero-12-mer Δ | 6 x ZN ²⁺ | |
| 2a3g.1.B | Insulin | | 0.70 | 0.49 | 100.00 | X-ray, 2.2Å | hetero-12-mer Δ | 6 x ZN ²⁺ | |
| 1wav.1.B | INSULIN | | 0.70 | - | 100.00 | X-ray, 2.5Å | hetero-dimer Δ | 1 x ZN ²⁺ , 1 x IPH ²⁺ | |
| 1wav.2.B | INSULIN | | 0.70 | - | 100.00 | X-ray, 2.5Å | hetero-dimer Δ | 1 x ZN ²⁺ , 1 x IPH ²⁺ | |
| 1wav.3.B | INSULIN | | 0.70 | - | 100.00 | X-ray, 2.5Å | hetero-dimer Δ | 1 x IPH ²⁺ | |
| 1wav.4.B | INSULIN | | 0.70 | - | 100.00 | X-ray, 2.5Å | hetero-dimer Δ | 2 x IPH ²⁺ | |
| 1wav.5.B | INSULIN | | 0.70 | - | 100.00 | X-ray, 2.5Å | hetero-dimer Δ | 1 x IPH ²⁺ | |
| 1b2c.1.B | PROTEIN (INSULIN B CHAIN) | | 0.70 | - | 100.00 | X-ray, 1.8Å | hetero-dimer Δ | | Show |
| 1mhi.1.B | INSULIN | | 0.69 | - | 93.33 | NMR | hetero-dimer Δ | None | |
| 1mhs.1.B | INSULIN | | 0.69 | - | 93.33 | NMR | hetero-dimer Δ | None | |
| 3jpd.1.L | Insulin B chain | | 0.68 | 0.69 | 93.33 | X-ray, 2.5Å | hetero-12-mer Δ | 6 x ZN ²⁺ , 3 x IPH ²⁺ | |
| 3jpd.1.J | Insulin B chain | | 0.68 | 0.69 | 93.33 | X-ray, 2.5Å | hetero-12-mer Δ | 6 x ZN ²⁺ , 3 x IPH ²⁺ | |
| 4une.1.B | INSULIN B CHAIN | | 0.68 | - | 93.33 | X-ray, 1.6Å | hetero-dimer Δ | None | |
| 1i2a.1.B | INSULIN | | 0.68 | - | 93.33 | X-ray, 2.5Å | hetero-dimer Δ | None | |
| 1i2b.4.J | INSULIN | | 0.68 | - | 93.33 | X-ray, 2.0Å | hetero-12-mer Δ | 6 x ZN ²⁺ | |

8. Escolha a opção “surface” (indicado pela seta na figura abaixo) para ver a superfície tridimensional da proteína.

The screenshot shows the Swiss-Model ExPASy interface with the 3D model now displayed as a surface. A red arrow points to the 'Surface' button in the NGL viewer controls.

9. Agora escolha a opção “Ballandstick” para visualizar a proteína a partir dos átomos que a formam, como na figura abaixo.

The screenshot shows the SWISS-MODEL interactive interface. On the left, a table lists various insulin protein structures with columns for Name, Title, Coverage, GMQE, QSQE, Identity, Method, Oligo State, and Ligands. The structure 2a3g.1.D is selected. On the right, a 3D ribbon model of the protein is displayed. Below the model, there are controls for visualization, including a 'BallAndStick' button highlighted by a red arrow.

ORIENTAÇÃO PARA O PROFESSOR:

O professor deve mostrar aos alunos que a partir de uma sequência linear de aminoácidos se forma uma proteína tridimensional. E que a sequência primária determina como será a estrutura tridimensional.

10. Assistir ao vídeo denominado “Como a insulina age no organismo/ Animação #09”, disponibilizado no link: <https://www.youtube.com/watch?v=vAUbt17h6Co>

ORIENTAÇÃO PARA O PROFESSOR:

O professor deve mencionar que a importante função desempenhada pela insulina só é possível devido a sua estrutura tridimensional, conforme observada no SWISS-MODEL.

O docente pode acessar o PDB (Protein Data Bank) para buscar outras sequências proteicas. Trata-se de um banco de dados em 3D de proteínas e ácidos nucleicos. Link: <https://www.rcsb.org/>

RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se que o estudante compreenda como ocorre o dobramento da cadeia de aminoácidos para gerar uma proteína tridimensional, associe a forma da proteína a função por ela desempenhada e aprenda a manipular o SWISS-MODEL.

REFERÊNCIAS

OGO, M. Y.; GODOY, L.P. *Contato Biologia*. Volume 1. São Paulo: Quinteto Editorial, 2016.

ROTEIRO 3: ANÁLISE DO PROMOTORES GÊNICOS

INTRODUÇÃO

Genes de humanos, vegetais e de bactérias respondem a estímulos ambientais e tem sua expressão regulada. Sendo assim, todos os genes necessitam de alguma regulação para funcionarem da maneira correta e responderem aos mais diversos estímulos ambientais, como luz, salinidade, e presença de hormônios.

Em genética, o promotor é uma região localizada perto do sítio de início da transcrição de genes do DNA que inicia a transcrição de um determinado gene. Eles participam promovendo a transcrição de uma sequência de DNA em RNA. Os elementos regulatórios em *cis* são sequências de DNA presentes nos promotores e essenciais para a regulação transcricional do gene, controlando muitos processos biológicos e respostas a estresses (IBRAHEEM *et al.*, 2010).

É possível analisar os promotores utilizando o PlantCARE (LESCOT *et al.*, 2002), mas, o que é isso? Trata-se de um banco de dados de elementos reguladores, intensificadores e repressores de ação *cis* presentes nos promotores de vegetais. Utilizando o PlantCARE é possível identificar *cis* elementos que reagem a diferentes estímulos e assim entender melhor a regulação de um dado gene.

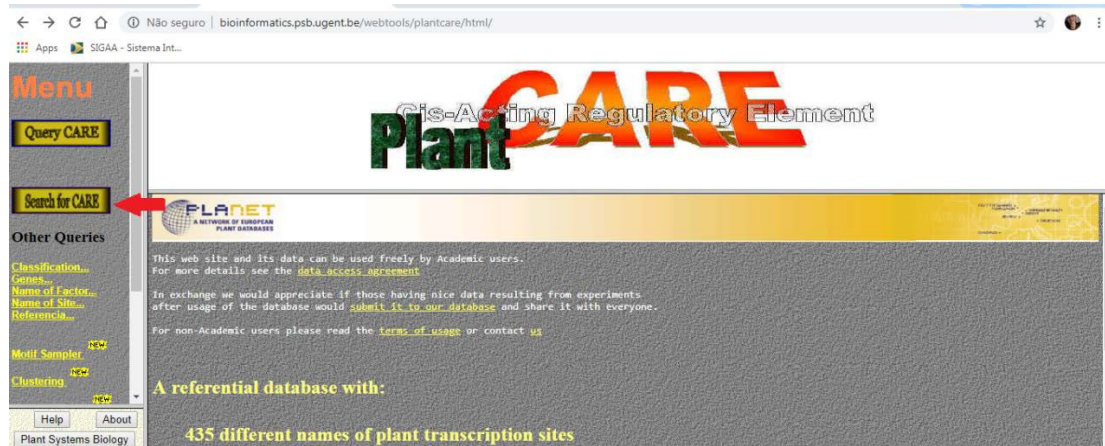
PROCEDIMENTOS

1. Acesse o site PlantCARE:

<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>

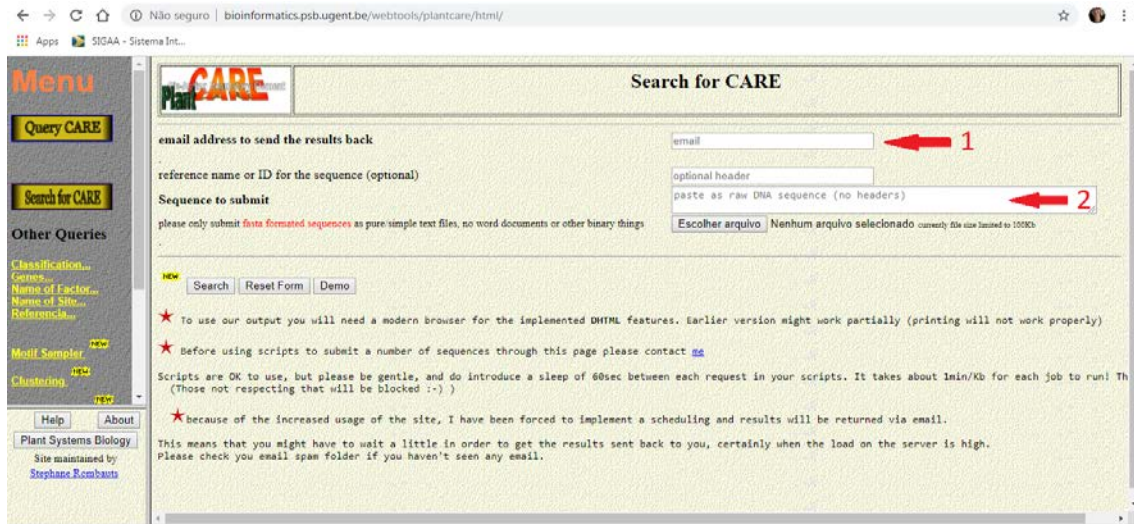


2. Clique em “Search for CARE”, como na figura abaixo.

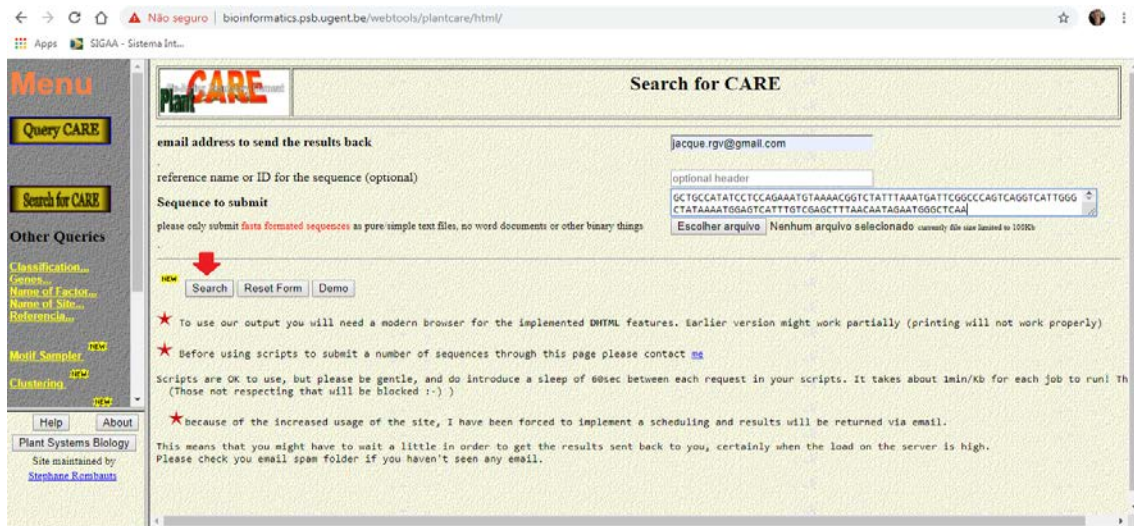


3. Adicione e-mail no local indicado pela seta 1 e a sequência do promotor gênico. Aqui pode ser usado o promotor do gene *oxidase alternativa* de tangerina (*Citrusclementina*), cuja sequência é:

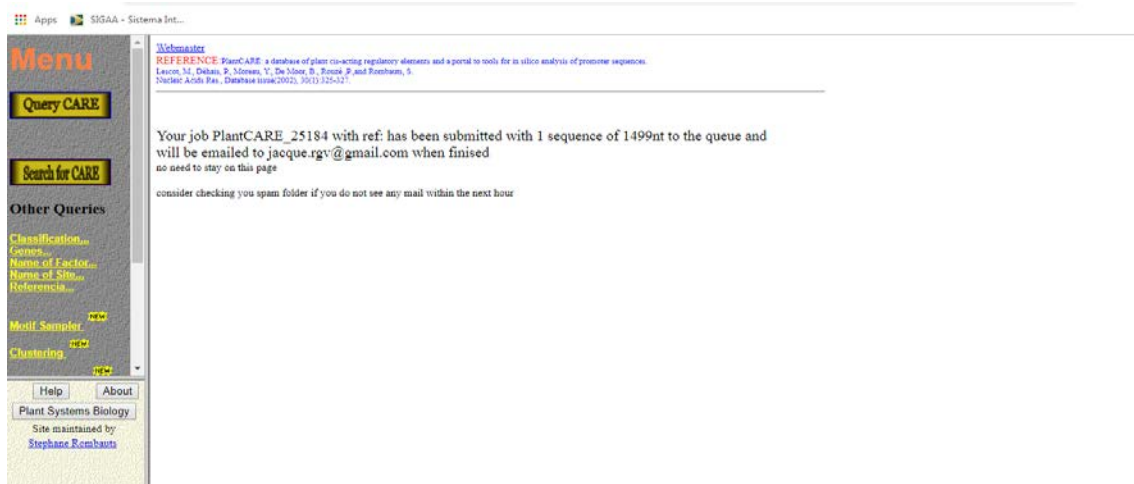
```
CTAGACCGGTGGGTTGTTTAAACTCTCTTAATCTTTTCGCTCTGATGAATCATAAATAGAAGT
TCAATATAATCTAGTAATACTTTATTTTAAATACGTGTATAATTGGCCTTGCCGTTTTTCGC
CTTTTGGGGAGCCGGGAGCCCCCTCCAGAATAAGGTGACCCACAACACTAGTCAGTTTTTGCCA
CTTGTTTTTAAACTGGCGATGATGCCGCTTTTTTTATTGCCGTTTTCTTTCCCTACCACGAAT
TTTTTCTACCCCTTTTTGCGTCCGTTTAAACATAACTTTTACAAATAAAATTTATTTAAACAG
AACTTTTAGTTAAGAGATTTTATACGGAGAATTTTTATTTAAAAGTAATTAATTTATTTAGTT
GTCGATAAAATTTTTTTTTAAAAATAATAAACTATTTTTAATAGATAATTTTTTTAAAAATTA
TATTATTTAAAAATGAATAAGATTGTAATAAATTTAAAGACACTTTAGGATAATTTAACTC
TTTAATACATTGTACAACCTTTTATCTTTAATGATTTTAAATTTAAAATTTACTAATAAAGA
CAAAATAACTTATTTTCATCTCAAAAATTATACTCAAAATATACTAAACAATATTTAAAATGA
TTAACAGACTTATAAACTAAAAAAGTATTGATGACAATCAAATAAATTATATCGGACATGC
ACTAGTATTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAATGGATGCAACATATTTTAATTGATTTTGAAAAAA
AAATCTATTTGTCAAATCTTTACACTTTGCTTAAAAAAATCCTTTTATAATTGTGATTTAAA
GAAAAAATGTAACACGGCACATCAAAATCTTGTAAGTGATTGTCTAAGACGCGATGCGCCGA
TGTCTACATGGCCACATTTTGAAGGCAACTTTAAAAGGGAACCCTTGATACAATAAATATGC
GTGAGCGTGTCCAGATAACCTTCACATGATGCTCGCAAGAATTTCTATCTTCAATTTTCTTG
AGAAAACCGTGTGAAGGCTGTTTCTAACTTTCTGTAAAGCTAAATTCACTGTTTAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAACCTTTGAACAAGGCAACAGGCGTGATAAGAAATTGTTTACAGCTAAT
TTGGTTGCAGACGTAAGAAAAGGATGACCATTGCAACTGGACAATAATGTGGATGACAGGTC
GGTTGAAGTTGACGTCGACAGGAATCCACCGTTCAAGCTTTCCGACTCGGAATAAGCTTCTG
TTGTCCACAAAGATTTAAATTTAAATTTAATTTATATTATACGTGAAGCAAGTACATTTAATTTA
GACTTTAAATCCATTTTTAATGTTGGTGTGTTGACATCAAGCGATTGCGTCATTGTTGTTTCG
TCGTCGGGCCATATTTCTTGTGGGCTGCCATATCCTCCAGAAATGTAAAACGGTCTATTTAAA
TGATTCGGCCAGTCAGGTCATTGGGCTATAAAATGGAGTCATTTGTTCGAGCTTTAACAATA
GAATGGGCTCAA
```



4. Submeter a sequência para análise clicando em “Search”.

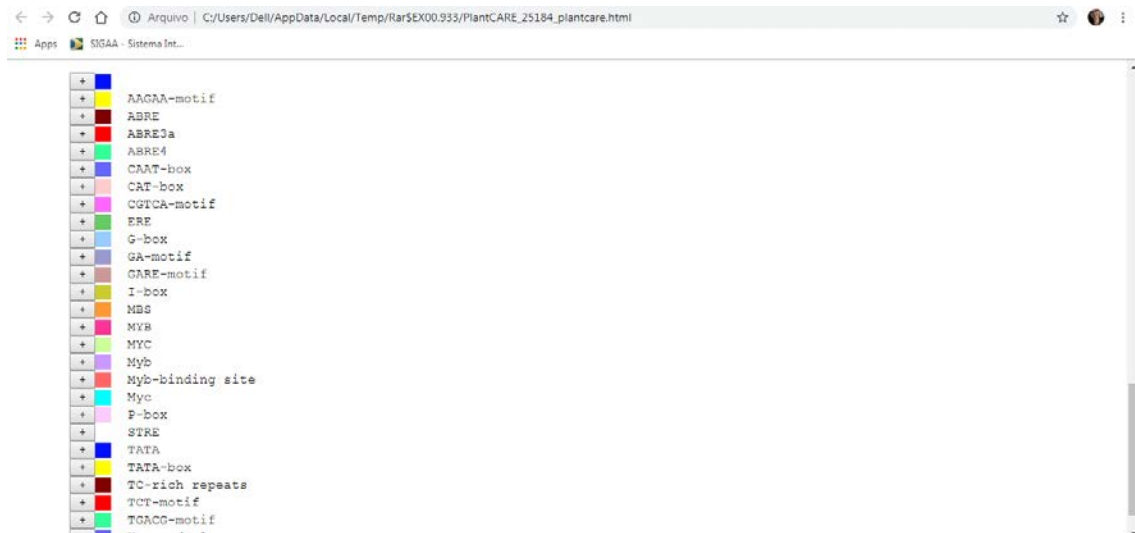


5. Aguardar a conclusão da análise.



6. Acesse o link enviado por e-mail para ver o resultado.

7. Veja a lista de cis elementos encontrados:



8. Ao clicar no sinal “+” ao lado de cada elemento, aparecem as especificações e informações sobre o referido *cis* elemento (figura abaixo).

| Site Name | Organism | Position | Strand | Matrix | score | sequence | function |
|-----------|----------------------|----------|--------|--------|-------|----------|---|
| ABRE | Arabidopsis thaliana | 95 | + | S | | ACGTG | cis-acting element involved in the abscisic acid responsiveness |
| ABRE | Arabidopsis thaliana | 1277 | + | S | | ACGTG | cis-acting element involved in the abscisic acid responsiveness |

ORIENTAÇÃO PARA O PROFESSOR:

O professor deve orientar o aluno na abertura de cada especificação, esclarecendo sobre a função mencionada. Por exemplo, o ácido abscísico é um hormônio vegetal que regula respostas ao estresse hídrico, inibição da germinação de sementes e o desenvolvimento dos gomos.

Podem ser indicados *cis* elementos responsivos à seca, ao frio, ao ataque de patógenos, etc. Em todos eles o professor deve destacar a importância de fatores externos para modular a resposta do vegetal.

9. Ao clicar no sinal “+” ao lado de cada elemento, a sequência de DNA do promotor é marcada para indicar a localização do elemento nela (conforme figura abaixo).

```

- CGAATTTTTT TTAGGAAAAAT ATTAACACTA ATTTCTTTT TTACATTGTG CCGCTAGTT TTAGAACATT
+ GTGATTGCT AAGACCGGAT GCGCCGATGT CTACATGGCC ACATTTTGAA GGCAACTTTA AAAGGGAACC
- CACTAACAGA TTCTGCGCTA CGCGCTACA GATGTACCGG TGTAAAACCT CCGTTGAAAT TTCCCTTGG
+ CTTGATACAA TAAATATGCG TGAGCGTGTG CAGATAACCT TCACATGATG CTCGCAAGAA TTCTTCTTT
- GAACATGTT ATTTATACCG ACTCGCACAG GTCTATTTGA AGTGTACTAC GAGCGTCTT AAAGATAGAA
+ CAATTTCTT GAGAAAACCG TGTGAAGGCT GTTCTAACT TTCTGTAAAG CTAAATTCAC TGTTTAAAAA
- GTTAAAGAA CTCCTTTGGC ACACCTCCGA CAAAGATTGA AAGACATTC GATTTAAGTG ACAAATTTTT
+ AAAAAAATA AAAAAAACC TTGACCAAGG CAACAGCGT GCATAAGAAA TGTTFACAG CTAATTTGGT
- TTTTTTTTTT TTTTTTTTGA AACTTGTTC GTTGTCCGA CCTATTCTTT AACAAATGTC GATTAACCA
+ TGCAGAGCTA AGAAAAGGAT GACCATTGCA ACTGGAAT AATGTGGATG ACAGGTCGT TGAAGTGC
- AGCTCTGCT TCTTTCTA CTGCTAACGT TGACCTGTA TTACACCTAC TGTCCAGCCA ACTTCAACTG
+ GTCGACGAGA ATCCACCCTT CAAGCTTTC GACTCGGAAT AAGCTTCTGT TGTCCACAAA GATTAATTA
- CAGCTGTCTT TAGGTGGCAA GTTCGAAAG CTGAGCCTTA TTCGAAGACA AGAGGTGTT CTAATTTAAT
+ AATTAATTA TATTAFACTG GAAGCAAGTA CATTAAATTT AGACTTTAAA TCCATTTTAA ATGTTGGTGT
- TTAATTTAAT ATAATATGCA CTTCTTTAT GTAATTAATA CTGAAATTT AGGTAAAAT TACAAACCACA
+ GTTGACATCA AGCGATTGCG TCATTGTTGT TCGTCGTCGG GCCATATTCT TGTGGGCTGC CATACTCC
- CAACTGTAGT TCGCTAACGC ACTAACACA AGCAGCAGCC CGGTATAAGA ACACCCGAGC GTATAGGAGG
+ AGAATGTAA AACGGTCTAT TTAAATGATT CGGCCAGTC AGGTATTGG GCATAAAAT GGAGTCATTT
- TCTTTACATP TTGCCAGATA AATTTACTAA GCCGGTCAG TCCAGTACC CGATATTTTA CCTCAGTAA
+ GTCGAGCTTT AACATAGAA TGGGCTCA
- GAGCTCGAAA TTGTTATCTT ACCCGAGT
    
```

RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se que o aluno compreenda como manipular o PlantCARE, bem como a importância do promotor para regular a expressão do gene, a variedade de *cis* elementos reguladores existentes e a diversidade de fatores ambientais que podem modular a expressão gênica.

REFERÊNCIAS

LESCOT, M.; DÉHAIS, P.; THIJS, G.; MARCHAL, K.; MOREAU, Y.; VAN DE PEER, Y.; ROUZÉ, P.; ROMBAUTS, S. PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for *in silico* analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Research*, v. 30, p. 325-327, 2002.

IBRAHEEM, O.; BOTHA, C. E. J.; BRADLEY, G. *In silico* analysis of *cis*-acting regulatory elements in 5' regulatory regions of sucrose transporter gene families in rice (*Oryza sativa Japonica*) and *Arabidopsis thaliana*. *Computational Biology and Chemistry*, Oxford, v. 34, n. 5/6, p. 268–283, 2010.