

9

USO DO BLAST^N NA CONSTRUÇÃO DE PRIMERS

Autores 9.1

Bárbara Rebeca de Macedo Pinheiro ,

Revisão: Savio Costa , Izabela Mamede 

Cite este artigo 9.1

Pinheiro, BRM. **Uso do BLASTⁿ na construção de primers**. BIOINFO. ISSN: 2764-8273. Vol. 3. p.09 (2023). doi: 10.51780/bioinfo-03-09

Resumo 9.1

Opiniões & Perspectivas

O ESTUDO da genética vem evoluindo nas últimas décadas e uma das técnicas revolucionárias para o estudo do DNA foi a **Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**. Essa técnica consiste na replicação, em milhares de cópias, de um fragmento de DNA através das etapas de desnaturação, anelamento e extensão. Na etapa de desnaturação ocorre a separação entre as duas fitas de DNA para que, durante a fase de anelamento, os *primers* se liguem a essas fitas e permitam a ação da Taq polimerase em criar uma nova fita de DNA no decorrer da fase de extensão. Os *primers* são oligonucleotídeos curtos, em média com 20 nucleotídeos, que são construídos e utilizados em pares, em que um se liga na fita sense e outro na fita antisense do DNA, como mostra a Figura 9.1. São chamados também de iniciadores pois são eles que indicam para a enzima Taq polimerase onde iniciar a formação da nova fita de DNA e flanqueiam a região alvo para que durante os ciclos da PCR somente essa região de interesse seja replicada. Sendo assim, a construção dos primers é de extrema importância e deve ser realizada com cuidado para que, durante a PCR, não ocorra a formação de dímeros ou ligações em regiões que não sejam a de interesse [1]. Nesse contexto, o uso de ferramentas de bioinformática para construção desses iniciadores é recomendado e amplamente utilizado, visando a diminuição de erros que possam acontecer durante o experimento.



Figura 9.1: Primers se ligando às fitas de DNA e delimitando o segmento de interesse. Fonte: Fábio Madonini, 2016 [3].

Desse modo, destaca-se aqui a utilização de uma ferramenta de bioinformática, entre outras como o Primer3 e o PrimerQuest, para que haja uma melhor construção de primers: o BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). O BLAST pode ser utilizado tanto pela web, via servidor do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), quanto pode ser instalado localmente. Geralmente, os pesquisadores utilizam a versão *web* devido sua praticidade e rapidez ao enviar suas sequências para análise no servidor remoto do NCBI. O **BLAST** realiza a comparação entre sequências indicadas pelo pesquisador e sequências biológicas armazenadas em um banco de dados [2], sendo utilizado para se ter a certeza de que a sequência de nucleotídeos da região do seu interesse corresponde àquela encontrada no seu organismo de estudo. Para a PCR se usa o **BLASTn**, que pesquisa a sequência de nucleotídeos de interesse. Entre os benefícios em se utilizar o BLASTn é que essa ferramenta é executada no NCBI, uma instituição que apresenta um dos maiores bancos de dados de sequências genéticas, com atualizações regulares, além de oferecer uma interface amigável e apresentar fácil integração com outras ferramentas do NCBI. Nessa função, insere-se no programa a sequência, em formato FASTA, e se configura os parâmetros para a análise, como qual o organismo a ser estudado e qual o banco de dados escolhido para a busca. Caso a sequência indicada tenha similaridade com a sequência apontada no banco de dados, há a certeza de que aquela região do DNA corresponde com a real e a construção de primers pode ser iniciada efetivamente.

Essa ferramenta é extremamente necessária para quem trabalha com polimorfismos, que são variações genéticas que aparecem como consequências de mutações, podendo ter diferentes classificações a depender da mutação original. Logo, é necessário conhecer quais as sequências de nucleotídeos antes e depois daquela mutação, para que haja a construção de *primers* que se liguem somente naquela região flanqueadora. O uso do BLAST é bem mais vasto do que o apresentado, podendo ser utilizado para pesquisar também sobre similaridades de aminoácidos e entre nucleotídeos e aminoácidos.

Saiba mais 9.1

Este artigo está disponível em <https://bioinfo.com.br/uso-do-blastn-na-construcao-de-primers/>

9.1 Referências

- [1] EL-SAMAD, Hana et al. FORMAS DE TRABALHAR COM CÉLULAS: analisando células, moléculas e sistemas. In: ALBERTS, Bruce et al. *Biologia Molecular da Célula*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 8. p. 473-477.
- [2] LIBÓRIO, Leandro; RESENDE, Victor Hugo. Introdução aos bancos de dados biológicos. In: *Bioinfo – Revista Brasileira de Bioinformática e Biologia Computacional*. Vol. 1. Ed. 1. Jul. 2021. Alfahelix. doi: 10.51780/978-6-599-275326-16
- [3] MANDONINI, Fabio. Primer per PCR. 2016. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Primer_per_PCR.png. Acesso em: 27 jul. 2023.