# T6

# Exercício 1

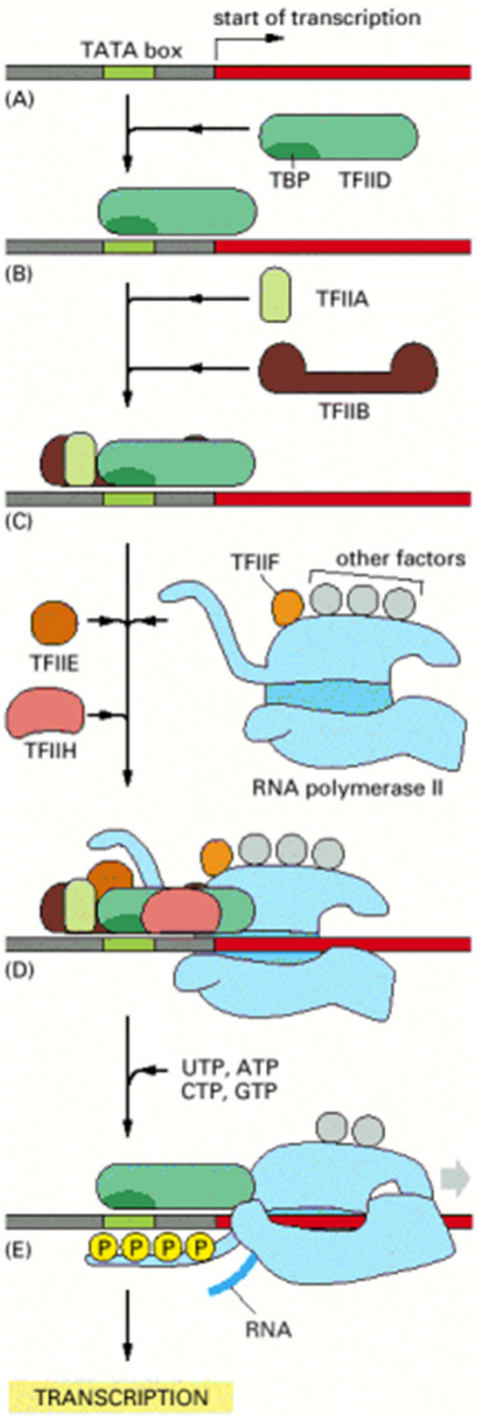
**INR**
369/2.000
Consenso:
**TCAGT**YKNNNTYNR

**Desconhecida**
311/2.000
Consenso:
Y**GGTCAC**TR

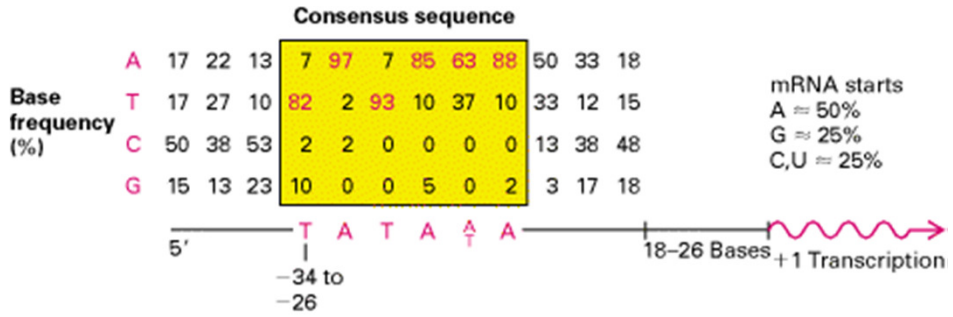
**DRE**
277/2.000
Consenso:
W**ATCGAT**W

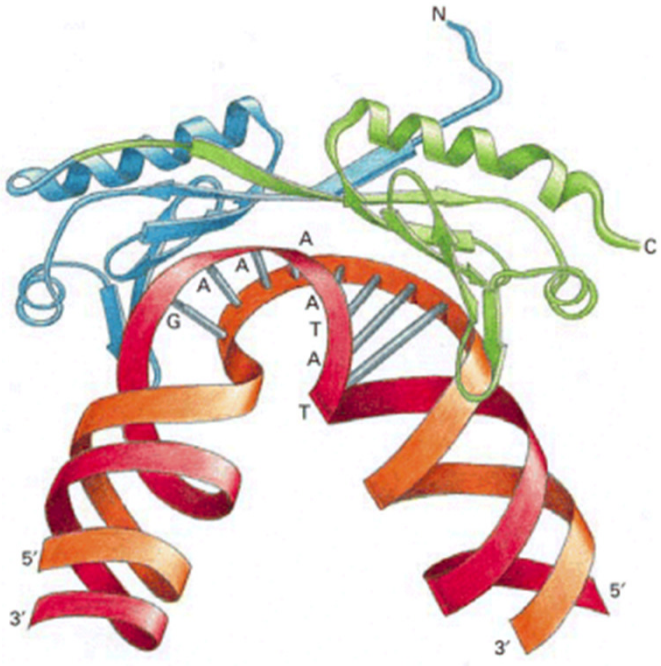
**TATA**
251/2.000
Consenso:
S**TATA**WAAR

Complexo de iniciação da transcrição pela polimerase II do RNA de eucariotos

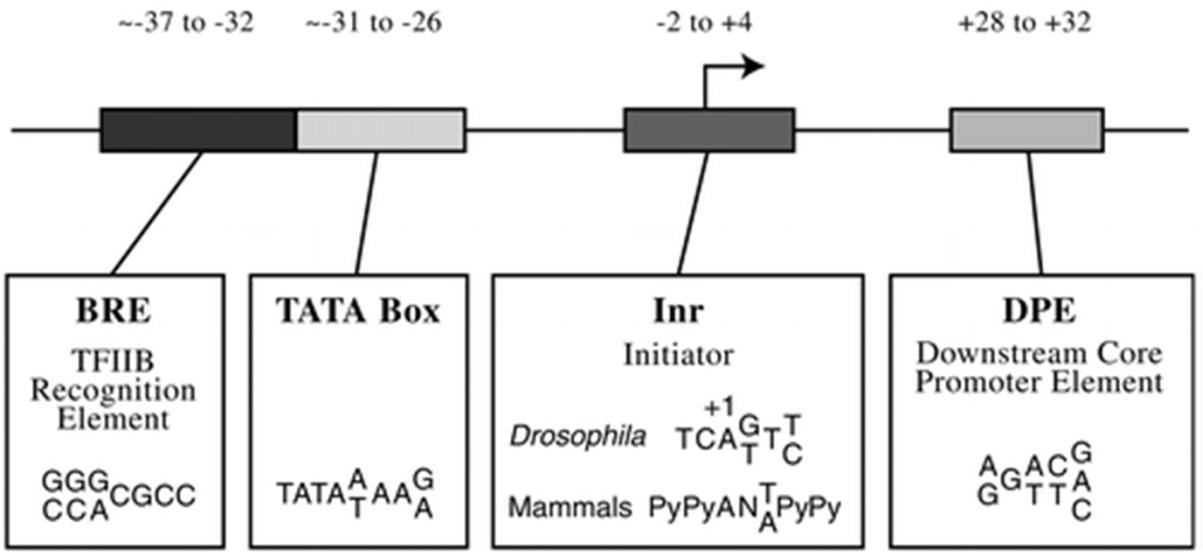


# TATA box e TBP



# Promotores basais de fatores de transcrição gerais



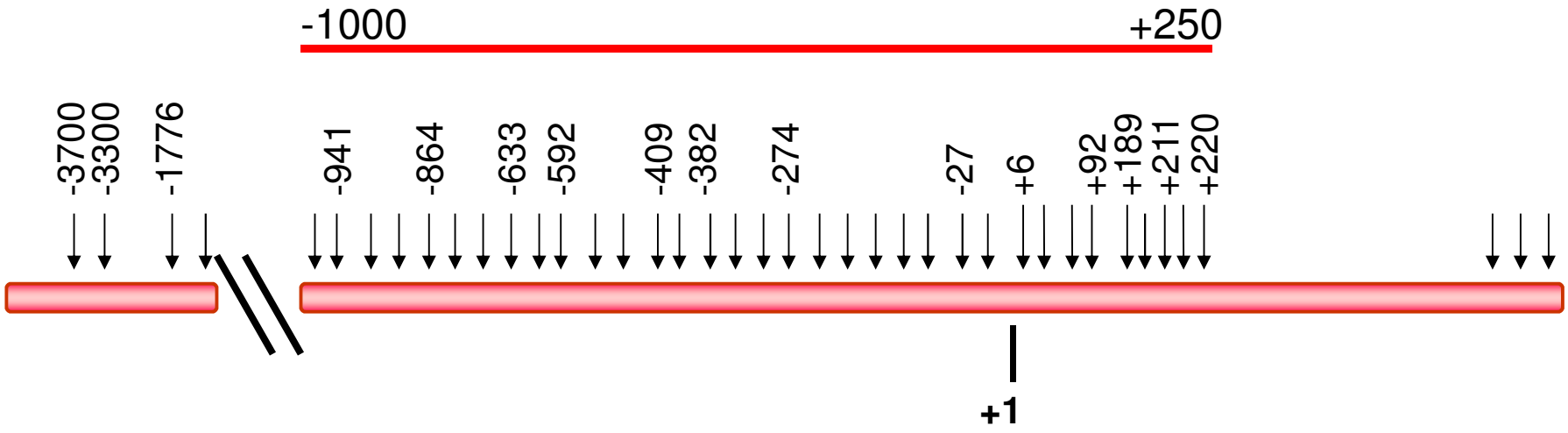
# Exercício 1


-45
+1
+30
4f-rnp
44D
44L
74F
Abdb
abl p1
abl p2
ace
Act5C
Act5C
Act79B
Act87E
Act88F
ald
Adh1
Adh2
andropin
Amy
Antp p1
Antp p2
arm E16
arm E9
ASC T4
ASC T5
ase
bam
b1 Tubul
b3 Tubul
cad
cad
Cc
CecA1
CecA2
CecB
Cf2

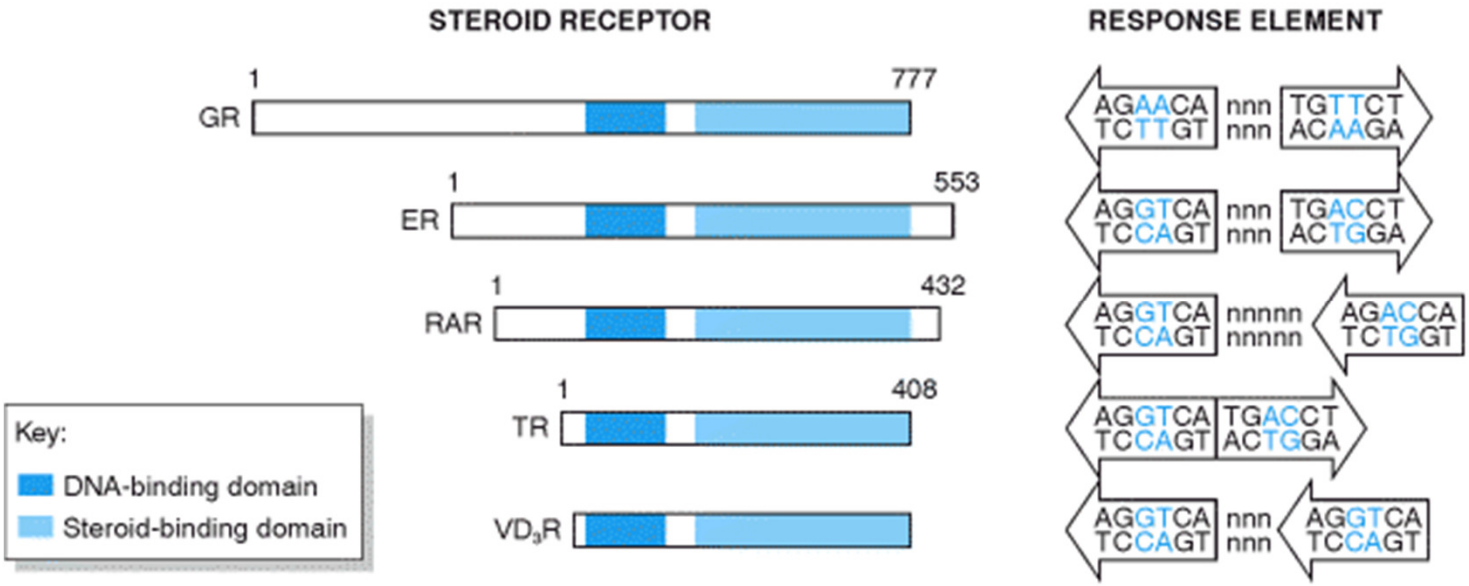
# Exercício 1


_-45_____+1_____+30_____
AACTTATGTAATCATATAGATTCTATAATAAACAAAGAAACAAAACTAGTTGTAAAACAAACACGATTCCTGTGTGTCATTGCGGGATATGG 74F
GCTAAGCGGGCTTTAATAAAACGGGCTGCGGGACCAGTTTTCATATCACTACCGTTTGAGTTCTTGTGCTGTGTGGATACTCCTCCCGACAC Act5C distal
CGGGACAGAACTTATTTAAATGCAGCTGCCGGAGCGCATAACGAATCACTCTGATCGCTGTCGCTGTTGGATTTACACGTCGTGAGTGTAGT Act79B
GCAGCAGCGACACGGGCCGAAAATAAAAGCGTTAACCGCTCTCCTCCAGTGCAGCAGCAGCAGCGGACCCAGCCAGTAGCCAGCAGCTAATC ald
AGCAGTGGGGTCCACTATATAAGGAGCGGCTCTGAGTAGTTCCGACCAGAGTGAAACTGAACTTCCATCTGGAATCATCATGTTTCTGGCCA Amy
AGGCCCTGATACCTATAAATAGCCTGAACGGAACGGGGAAGGGCATCAGAACAGAGCCAGCGCTGAAGCAAGGAGCATCGTCACACAATAAC ASC T5
GCTGCTGTTCGCCTATAAAAGCTCTCGCCTTTTGTATCGCAGTCATCAGTCGCTCAGACCTCACTGCAATATCAATATCTTTAGCTTCTCCT CecA1
AAGCTGATTCGCCTATAAAAGCTCTCGGCGTTCCTGGTGCAATCAACAGTCGATCACTTTCCATTGCAACAGCAACATCAGAGCTATAGCTA CecA2
CATCTGTTGGTATCGCTATATAAGCTCAATCTCTTCGATGTCCAATCATCAGTCGCACAGTTCTCACTGCAACAGCTTAAGCTTTCTTTCAA CecB
GGATTTGCGCTACACATAAAATAAACGGACCACTGCCGGTGCCTTTCAGTTAGTCGTTGGAATCCCAGCGGAAAGGTGCTCGGATCGGTAAA cytb5
CGGCACGTGCAGCTATAAAAGCAGCGGTAACCGGAGACGAATGCAACATTTCGAACGCAATCGTCGTGCAGTCAACATCTCAGGATAACCTC E(spl)m7
ATAGGAATTTCGGGTATAAAAGCTGCAGCGAGCGGACTGAAAAATGCAGTTGCCTGCTGGTCTGTGTTGCAGCAAGTTAAATCCATCTGAGC fbp1
AGCTTTTCGTCAGTTTAAAAAGACTGGCGCCTGCTGGTCAGAAGCTGAGTCGGTAACGGTCTGCGTCTGCGCGCAGTTCGAACAAGTTGAGA Gld
TCTACCTGAGCGATATATAAACTAATGCCTGTTGCAATTGTTCAGTCAGTCACGAGTTTGTTACCACTGCGACAACACAACAGAAGCAGCAC hb (zyg)
CAGCAAGCGGTTGTATAAATATCCGGCACTTTCGTGCAACCGGCGTCAGTTGAATTCAAAAAGCCAAAGCGATAACAGCTAAAGCGAAAGTA hsp23
AAAGCTCCAGCGGGTATAAAAGCAGCGTCGCTTGACGAACAGAGCACAGATCGAATTCAAAAATCGAGCAGTGAACAACTCAAAGCAACTTT hsp26
TCTTTAATCTTGAACCTCATAAATGGATCATCTGCGCCCAGCTGGCAAGTCAGTTGTTATTCAGCTGGCGAACCGGTTGAAATTCGTGCTCC hsp67bhs
GGAATCTGTGGCTATATAAGCAGACCCGTGGGCGTCGGTAAGGCAACAGTCTTTAGGCATTGGATCCATCAAGTGCATCCGATCCGGAGCAG lsp1 alpha
GGGACTCTTGGGTATAAAAGCAGCCAGGTGGACGGCAGTGAGGCAACAGTCTTTAGGCATTGGATCCACTGGGTGCATCTGATCCGGAGCAG lsp1 beta
CGCTCTCTCGCGCTTTAAAAGCCGCATACGCCCCGTTGGCTGGCATCAGTGTTAGCTTTTCAGAGCTTTAGTGAAGATCCCGCAGGACCCGA Mp20
CGAGCATTGCGAAAACTATAAAAGCCACGCGGCAGAATGCAGACATTGCAGGTTTCCAACGACCAATCGCCGCGACTAGTCCGCCCCAGTGA ninaE
TGCGAGTGCACGGGGGCTTATAGACCGGAGCTTGCGATGCGAGCACTAGTGTTCGTGCGAATTTAGAGCCAGAAGGTCGACAACGCGTTCGT period
CCGCTTAACAGTGCCATATATAGATTGTAACATTAGGAGCTCAAATCATTGTTGGAACACAAACCACAAAGAACACACGAAACATGAGCGGG Pgd
CGAAACGGTATTAATTTAGTAATTTTCATAGAACCCATGCTGCGGTCACACTGCGGCATTTCCTCAAAAAAGCATCATCATTGCCTGGCGAA Pros28.1 p1
GCACAGCGAGCACTTATAAAGGCCGGCTGCCTTGCCTTTCGAAAGTCAGTTGCGTGCGAGCCGCGAGCGCGAGATCATCAAACTGAGAAAGT rhomboid
GTATGAATTATCCAGAAATATTTACAAATGTACGACCCACAGTAGGCACTCTTTATGGGTGATCGAATTTTTGTGCTGCCAGAACTATTTAA rotund
CGCGTCCGGAGCATATTTAAAGTAGTCGGCCACCAATGGAGGGCAGCAGAAGACAGCAGACAGTCCAAGCGGGAGCACACCAGAAGCCGAAG s38
TTCGGCATGGCAGCGAATAAAAGGAAGTGCCGAAGACGCGCCGCTTCAGTCCTTCGAAGAACGCCGCGCTGAAAACATCCTTCCATTGGAAG sca

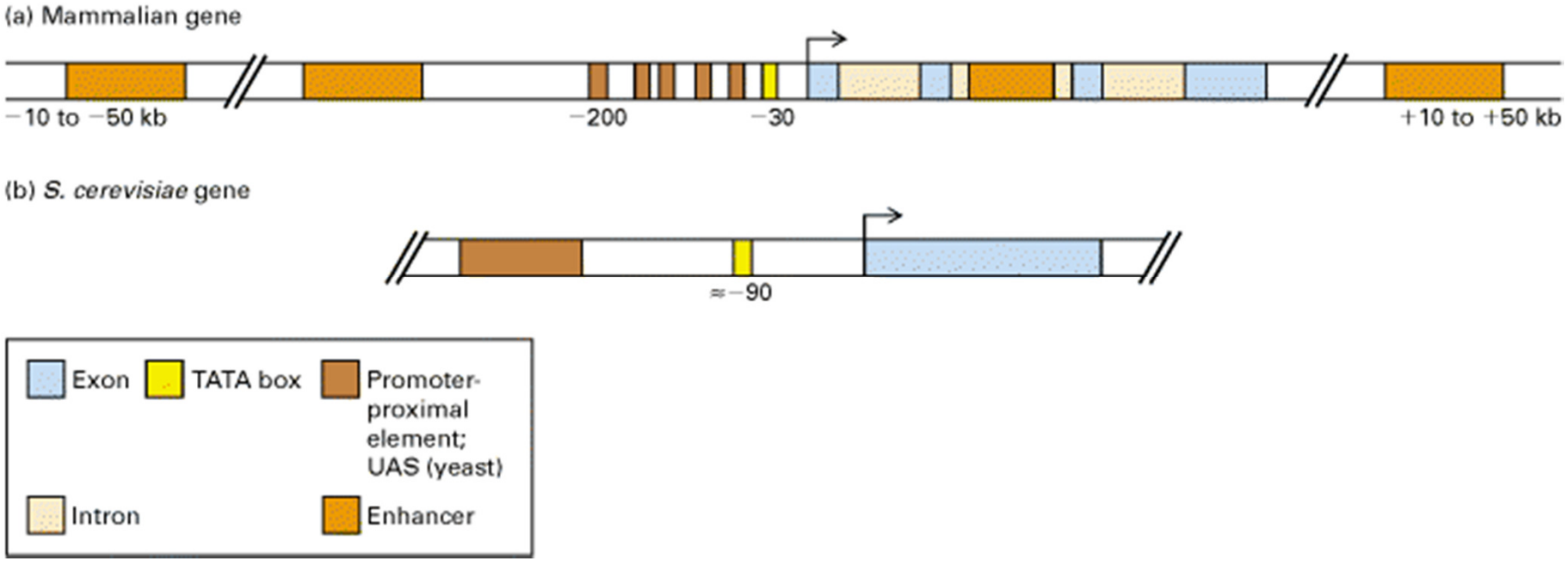
# Exercício 2
# Elementos responsivos ao estrógeno (ERE)



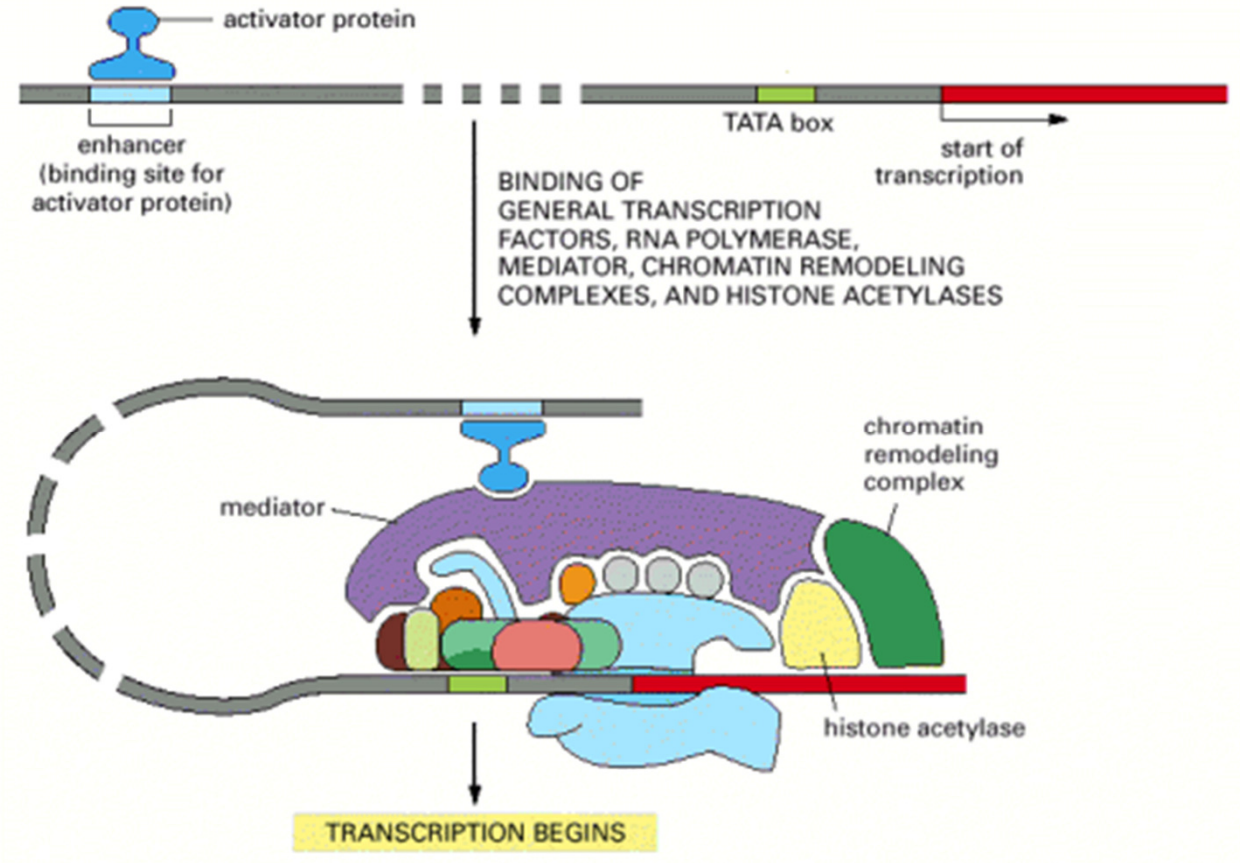
# Domínios de receptores de esteróides (fatores transcricionais induzidos pelo ligante)

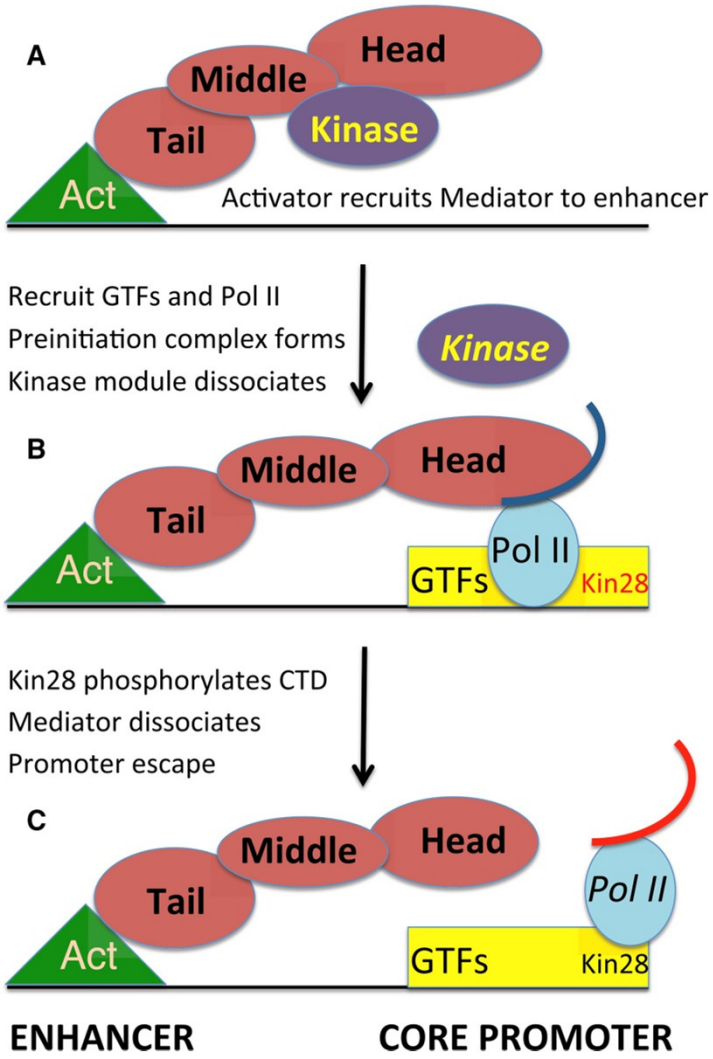


# Estrutura de um gene eucarioto e elementos associados



# Complexo mediador integra acentuadores ao complexo de iniciação da transcrição




A
Head
Middle
Tail
Kinase
Act
Activator recruits Mediator to enhancer
Recruit GTFs and Pol II
Preinitiation complex forms
Kinase module dissociates
Kinase
B
Middle
Head
Tail
Act
Pol II
GTFs
Kin28
Kin28 phosphorylates CTD
Mediator dissociates
Promoter escape
C
Middle
Head
Tail
Act
Pol II
GTFs
Kin28
ENHANCER
CORE PROMOTER

T7

(1) O que define a ponta 5´do RNAm?

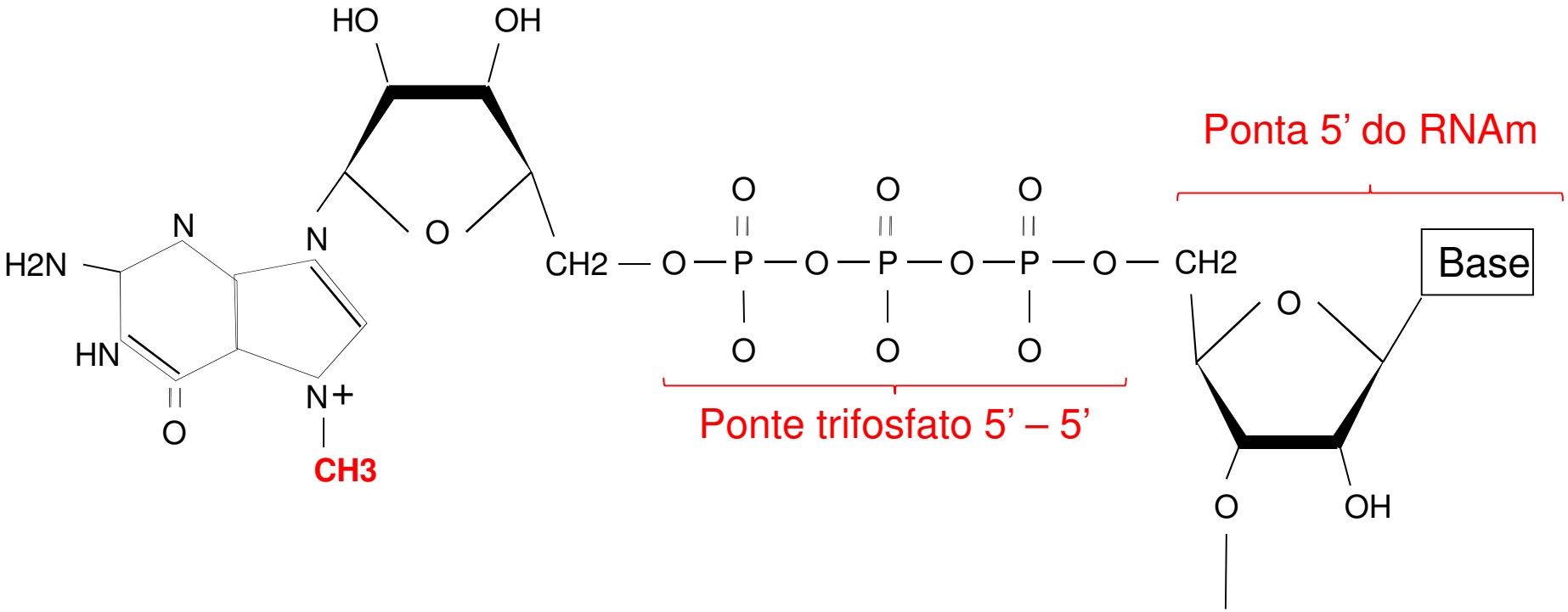
O promotor basal

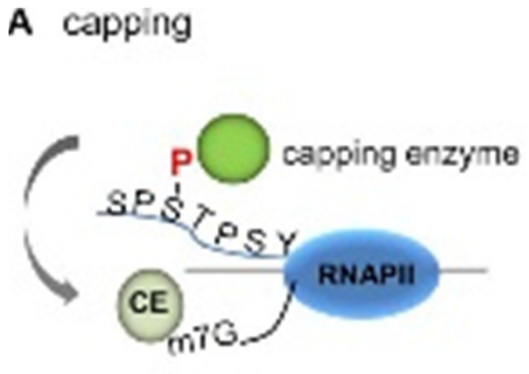
Figura 13-21, página 455

# Alongamento transcricional

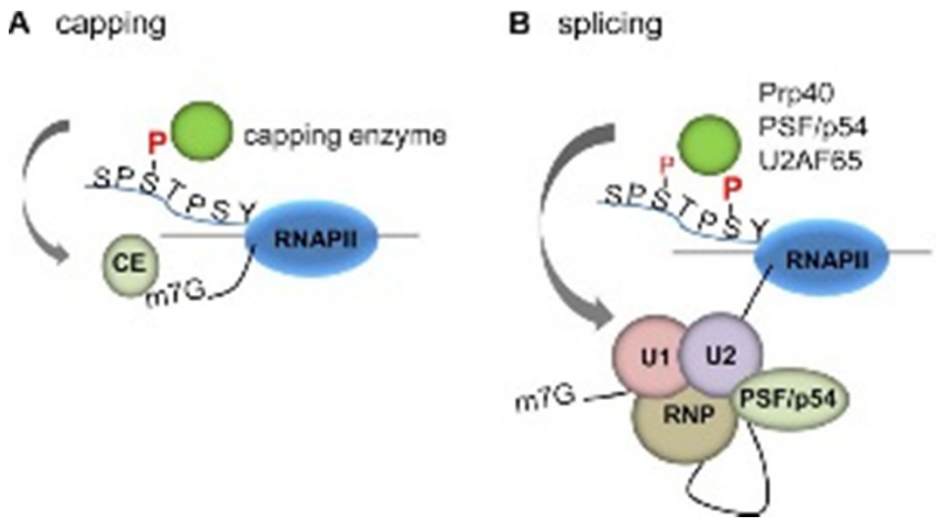
| | Alongamento precoce | | Alongamento transcricional produtivo | |
|---|---|---|---|---|
| | Pausas da RNA POLII | 5' capping | Nucleossomos | Poliadenilação |
| Fosforilação CTD RNA POLII | Ser-5 | Ser-5 | Ser-2 | Ser-2 |
| Fatores recrutados para iniciar esta fase | •Spt5 | •Enzimas do *capping* | •FACT (=Spt16 + SSRP1) | •CPSF<br>•CSTF<br>•PolyA polymerase |
| Efeitos | •Término transcricional abrupto (<10 nt)<br>•Regulação transcricional (>10 nt)<br>•Fim do alongamento precoce | •Desfosforilação 5'<br>•Adição de guanina (5'-5')<br>•Metilação de G | •Deslocamento dímero H2A-H2B<br>•Alongamento transcricional<br>•Atividade chaperona restaura dímero e nucleossomo | •Síntese da cauda poli-A |
| Fatores para finalizar esta fase | •P-TEFb<br>•Spt5 | •Desfosforilação Ser5 CTD RNA POLII<br>•Fosforilação de Ser2<br>•Fim do alongamento transcricional precoce | •FACT (=Spt16 + SSRP1) | •PolyA-binding protein (PABP) |

# *5’-capping*

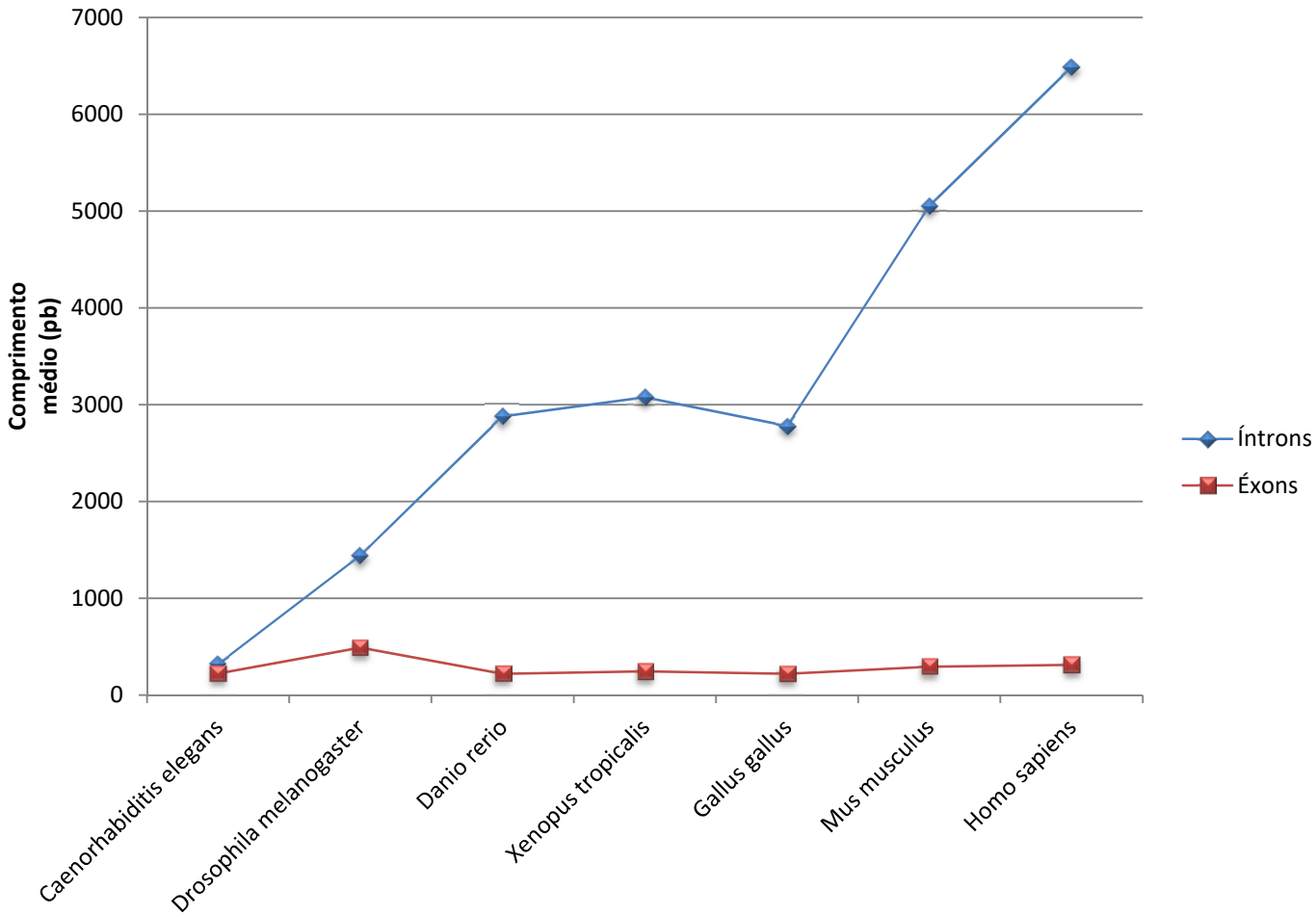

HO
OH
H2N
N
N
O
HN
O
N+
CH3
CH2
O
P
O
O
O
O
O
O
O
O
O
CH2
Base
O
O
OH
Ponta 5’ do RNAm
Ponte trifosfato 5’ – 5’
Cadeia
de RNAm


A capping
P
capping enzyme
SPSTPSY
RNAPII
CE
mTG

**O *splicing* do transcrito primário é um evento co-transcricional.**



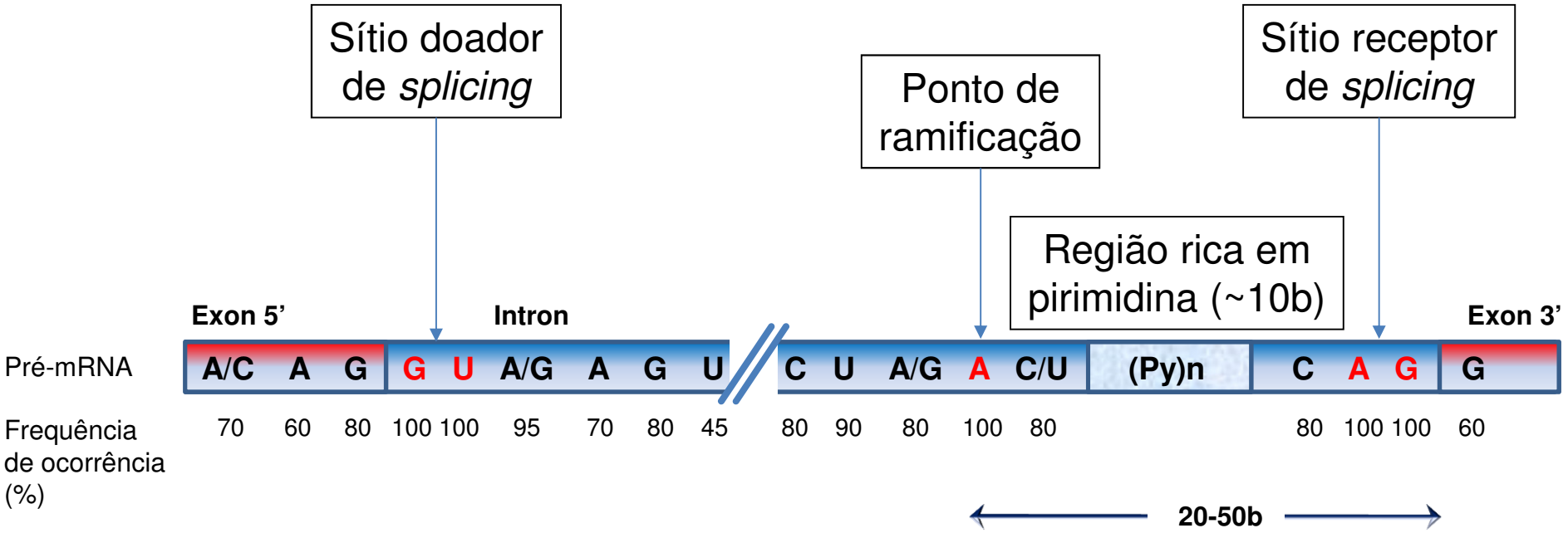
# O tamanho médio dos éxons é semelhante entre espécies e o tamanho de íntrons mais variável



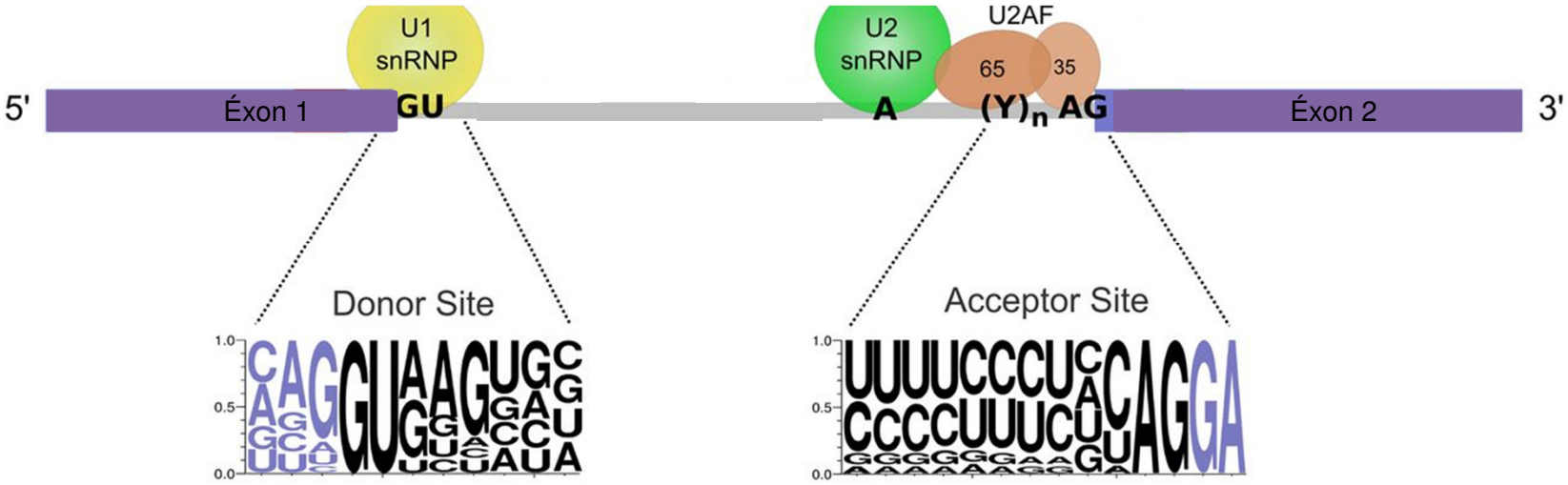
# (2) Que tipo de sequência se observa em éxons?

1. Sequências codificadoras para proteínas
2. Sequências não traduzidas (5’-UTR e 3’-UTR)

# Sequências conservadas em íntrons

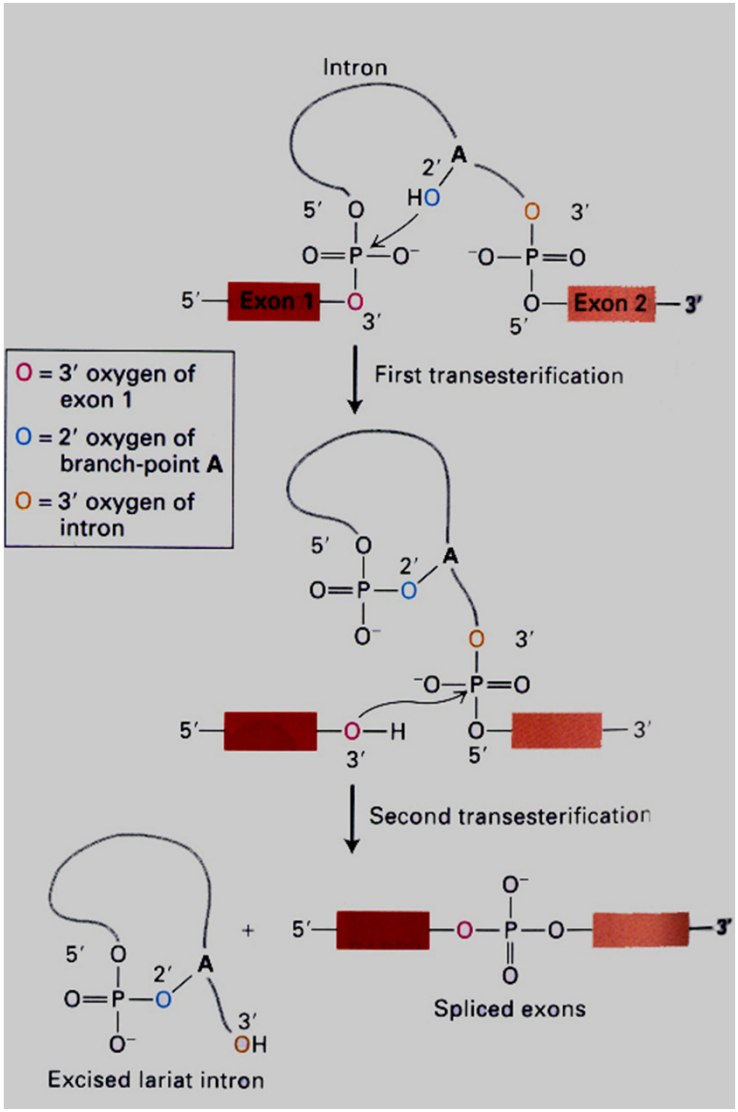


# O íntron é definido por snRNA (RNAs pequenos, nucleares) e proteínas

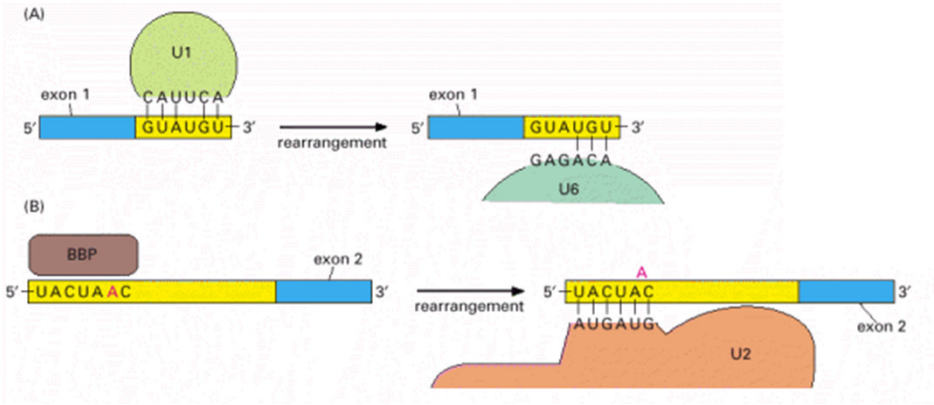


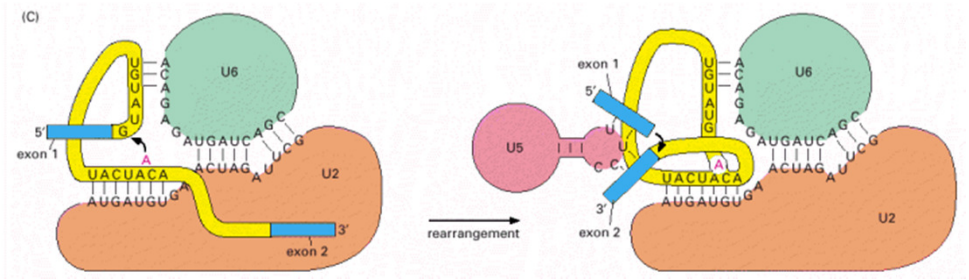

**Julia Dubois et al. mBio 2014; doi:10.1128/mBio.00070-14**

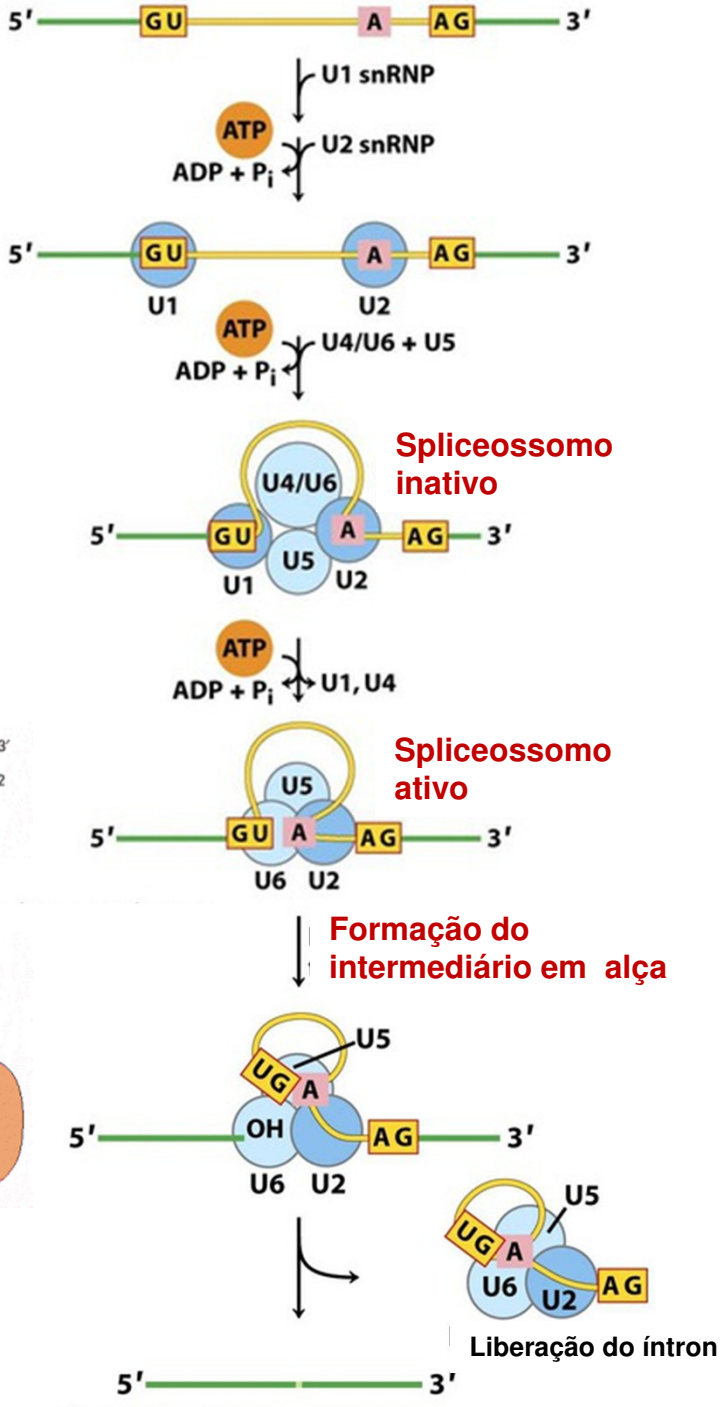
# Reações de transesterificações

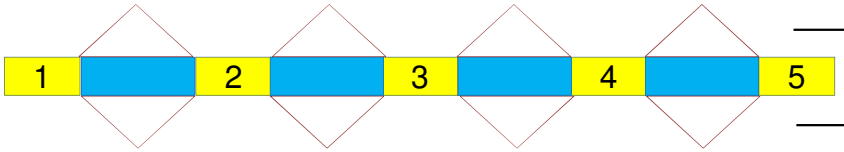


# *Splicing do pré-RNAm*



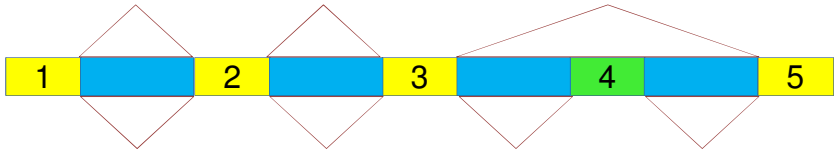






*Splicing* constitutivo

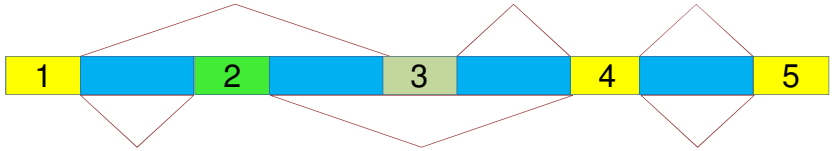
Todas as possibilidades de remoção intrônica


TODOS os éxons alinhados na mesma ordem em que ocorrem no gene



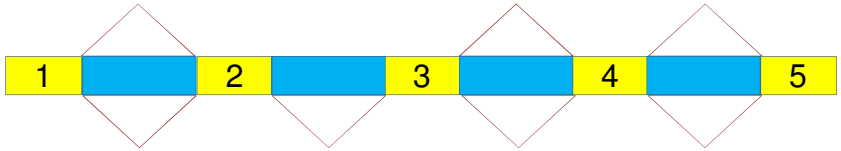


Exclusão exônica



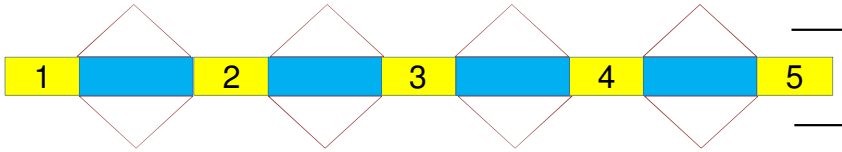


Éxons mutuamente excludentes





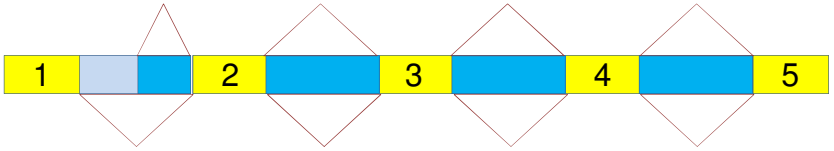
Retenção intrônica




*Splicing* constitutivo

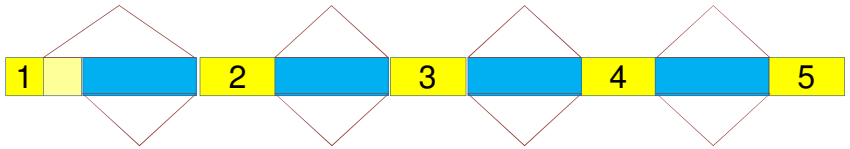
Todas as possibilidades de remoção intrônica


TODOS os éxons alinhados na mesma ordem em que ocorrem no gene



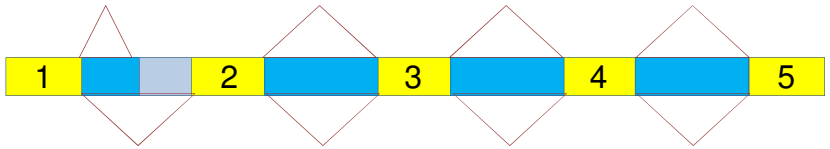


Sítio 5’ alternativo, localizado no íntron



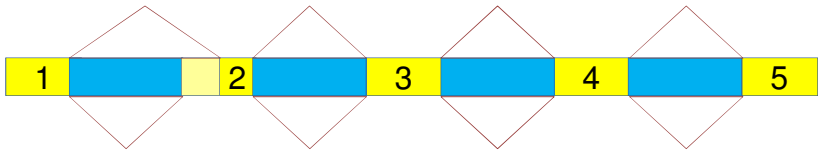


Sítio 5’ alternativo, localizado no éxon





Sítio 3’ alternativo, localizado no íntron





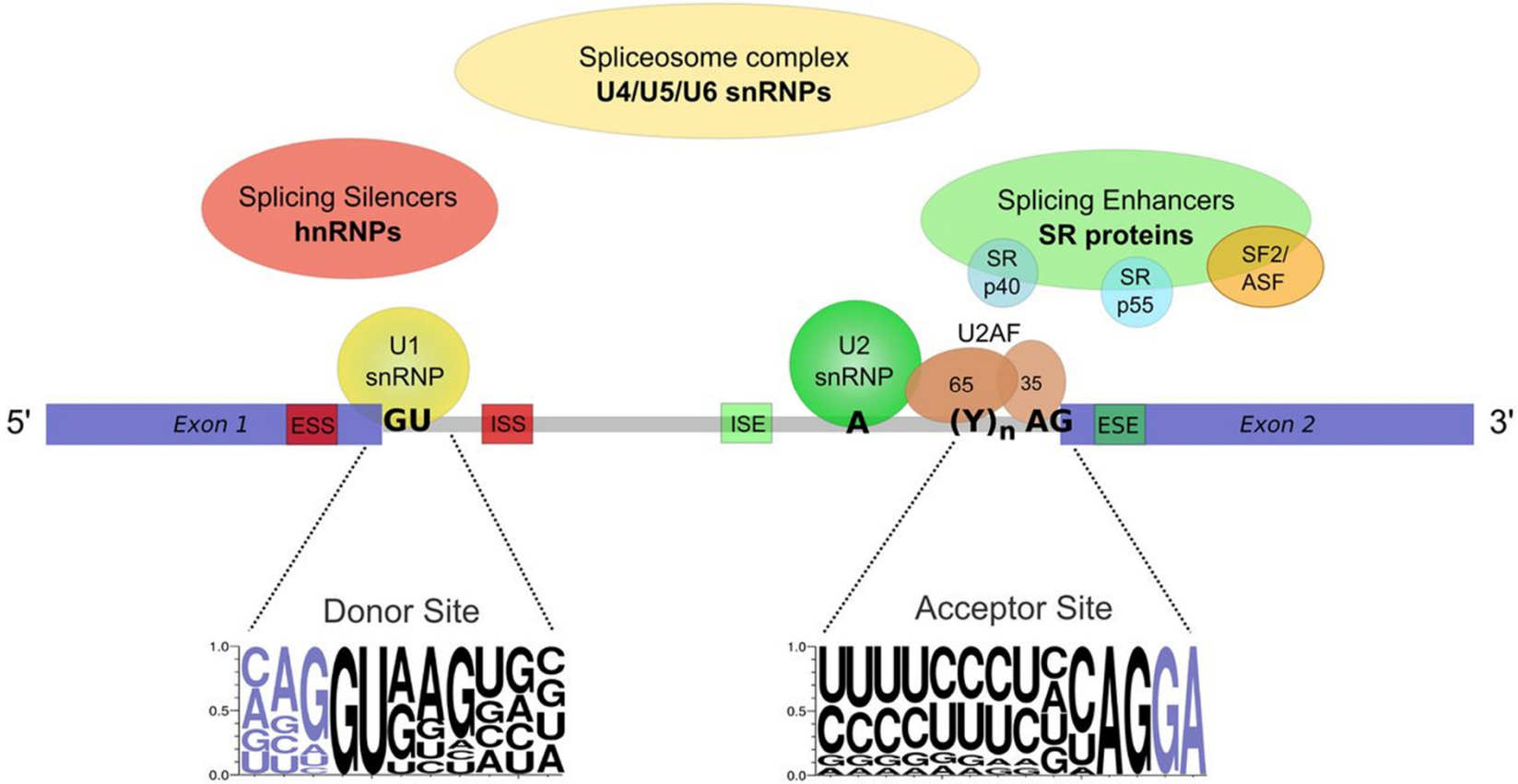
Sítio 3’ alternativo, localizado no éxon

# *Splicing* Alternativo

- Sequências acessórias reguladoras de *splicing*
- Elementos em *Cis*
- Definição
  - Sequências curtas, transcritas, exônicas ou intrônicas que regulam a escolha dos sítios de *splicing* (5' ou 3'), agindo como **acentuadores ou silenciadores destes sítios**

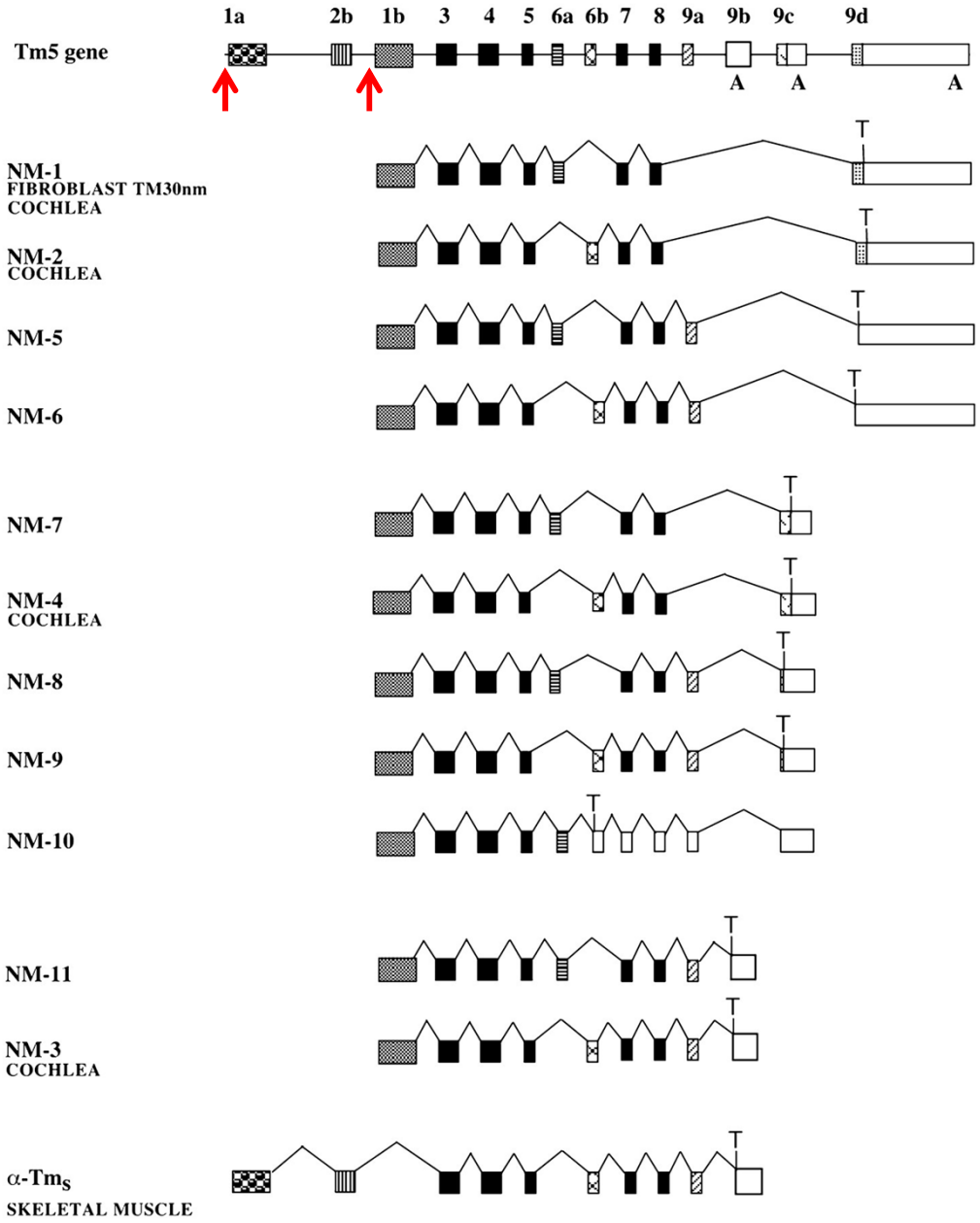
- Tipos
  - ESE - *Exonic Splicing Enhancer* – Acentuador exônico
  - ESS - *Exonic Splicing Silencer* – Silenciador Exônico
  - ISE - *Intronic Splicing Enhancer* – Acentuador intrônico
  - ISS - *Intronic Splicing Silencer* – Silenciador Intrônico

# Reguladores do *splicing* do pré-RNAm




Julia Dubois et al. mBio 2014; doi:10.1128/mBio.00070-14

↑: Promotor



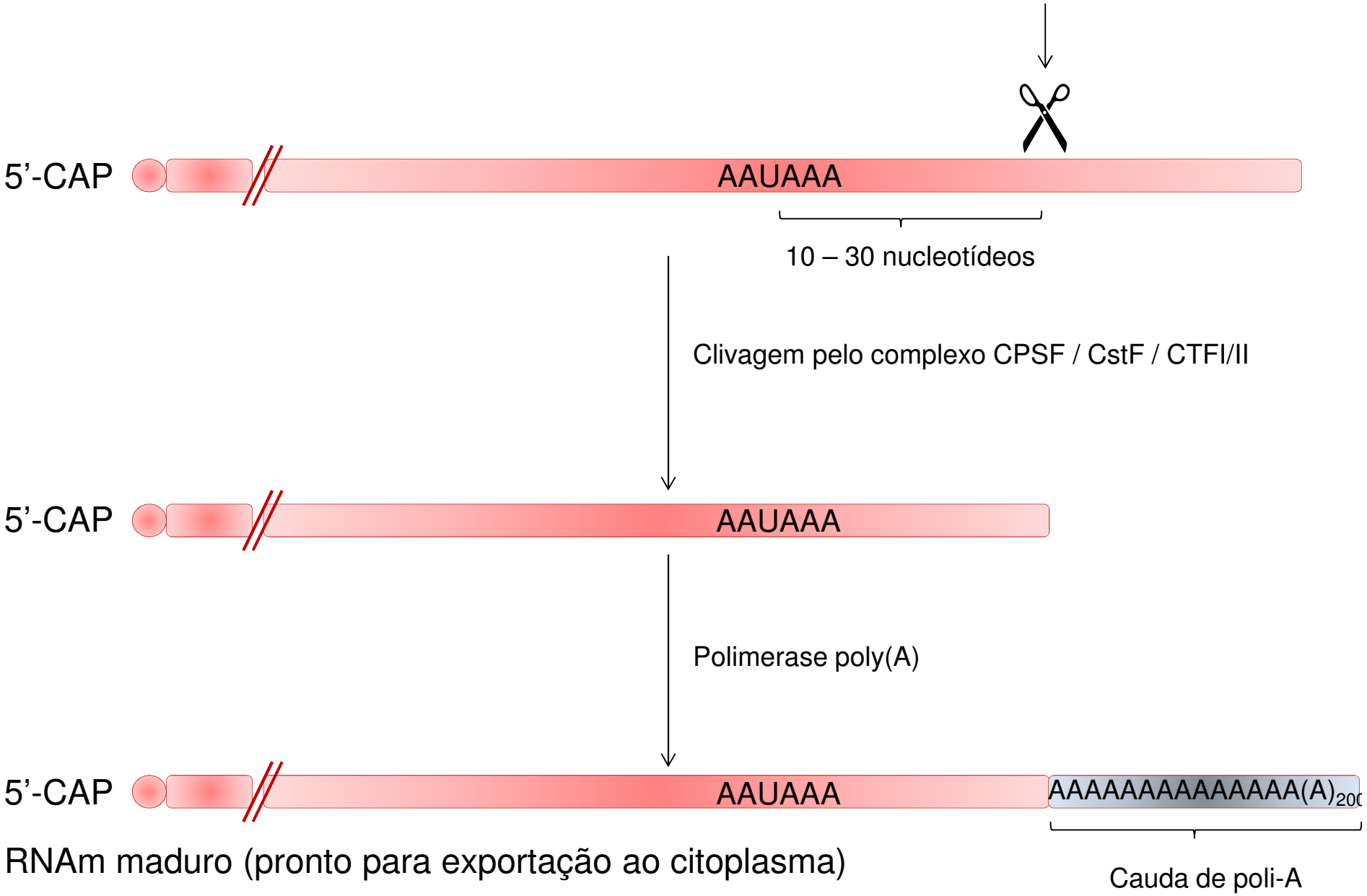

Cécile Dufour et al. J. Biol. Chem. 1998;273:18547-18555

(1) O que define a ponta 5´do RNAm?

O promotor basal

(6) O que define a ponta 3´do RNAm?

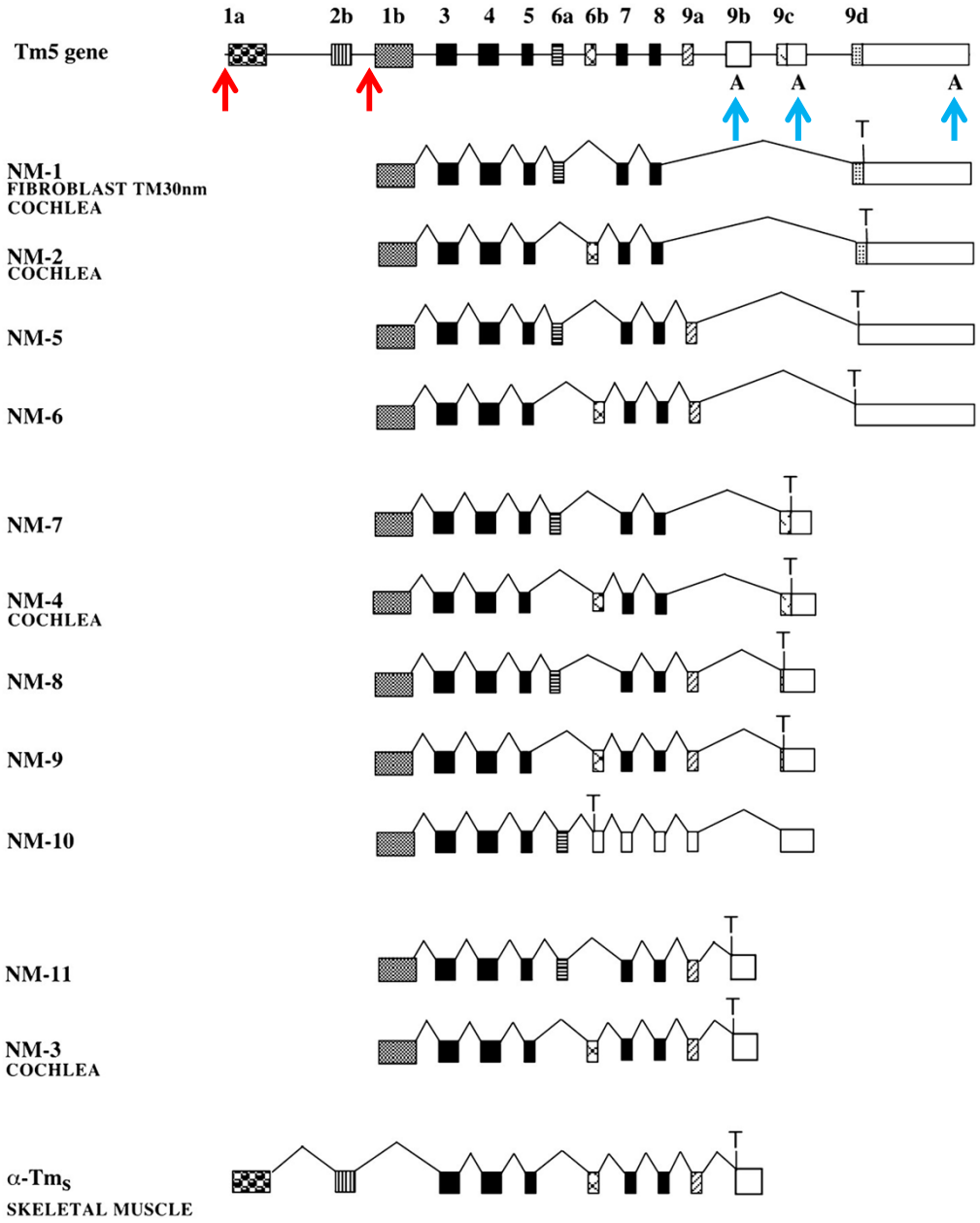
O sítio de poli-adenilação




RNAm maduro (pronto para exportação ao citoplasma)

# Diagram of the Tm5 mRNA splice variants and alternative promotor employed in the rat brain.

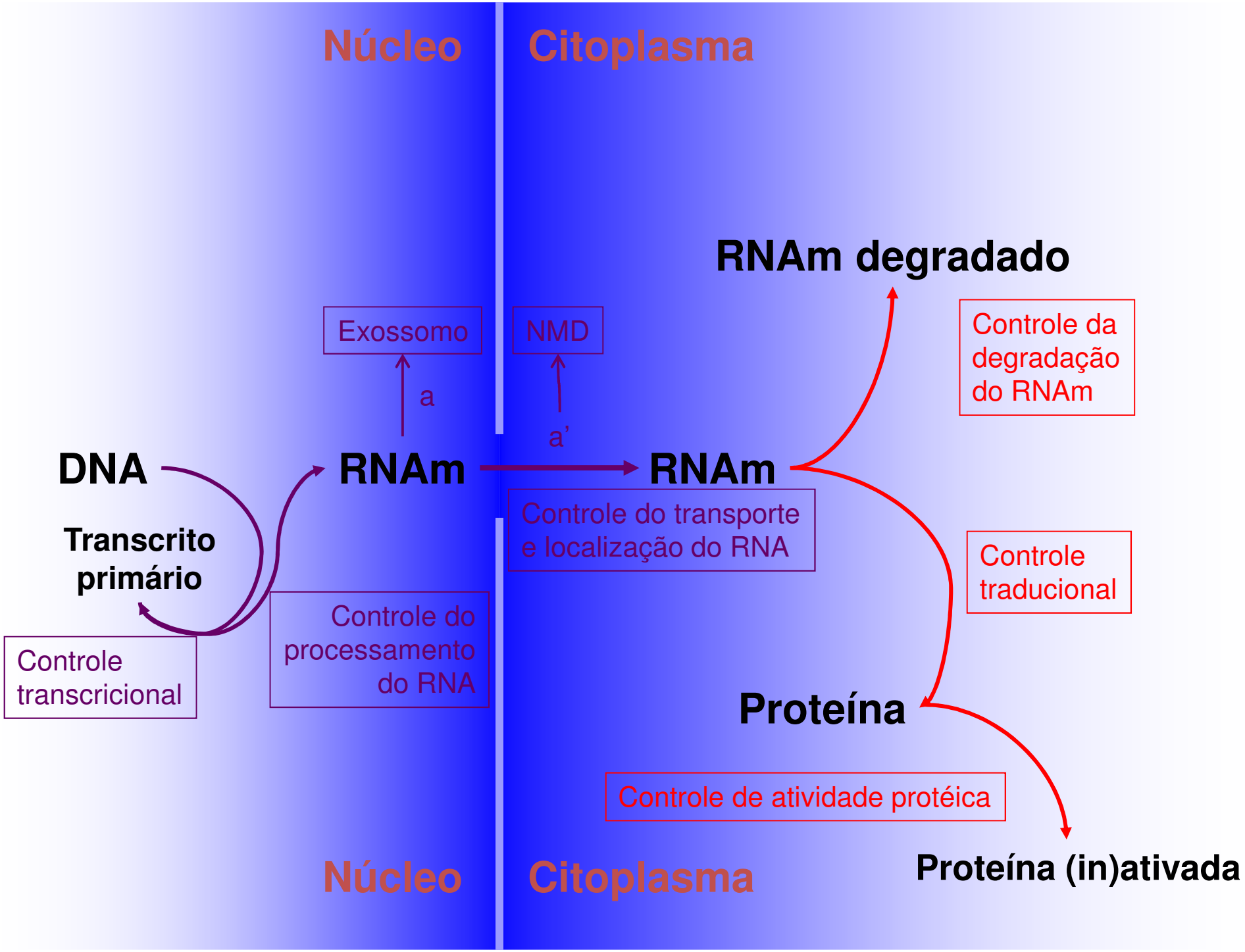
↑: Promotor



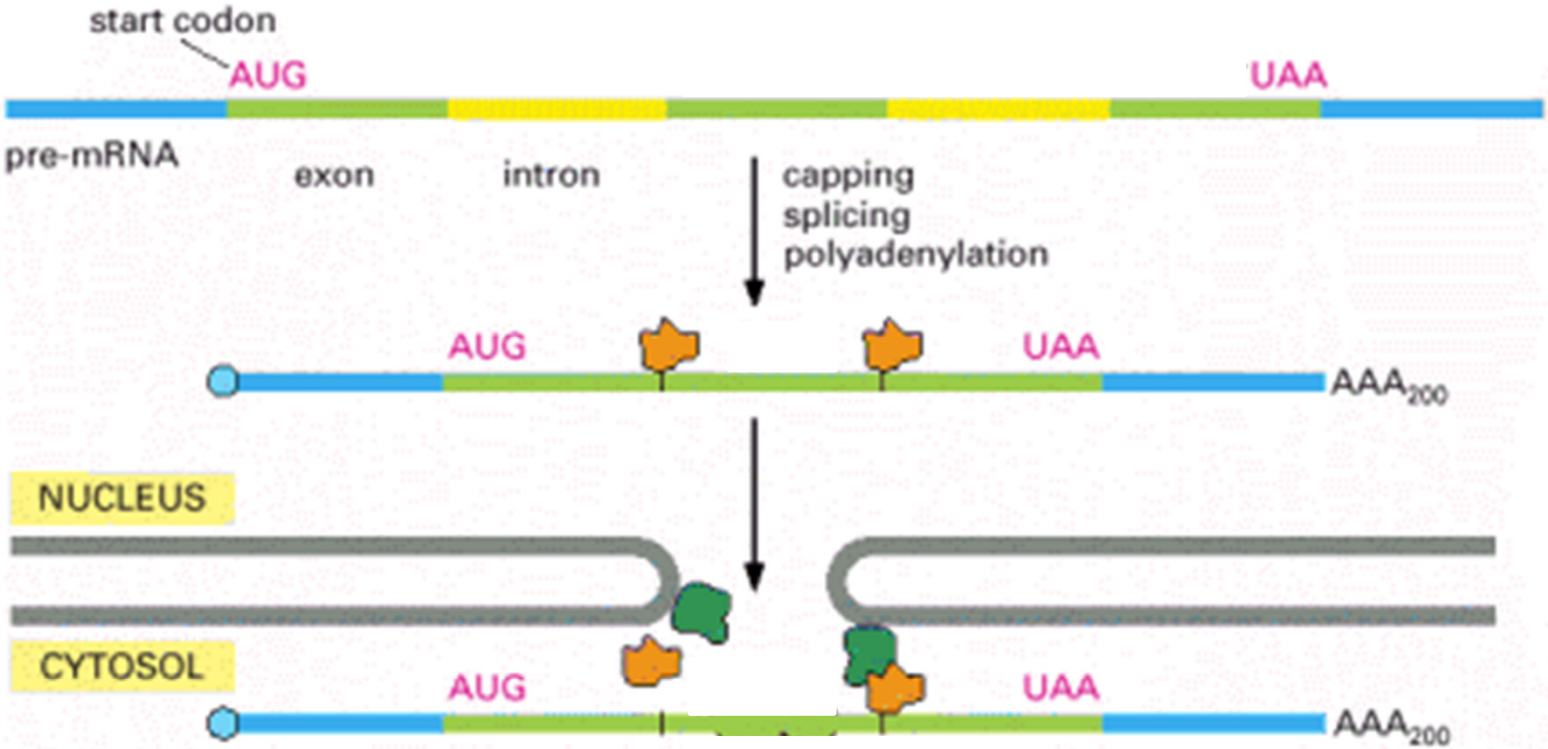

↑: Sítio de poliadenilação

Cécile Dufour et al. J. Biol. Chem. 1998;273:18547-18555

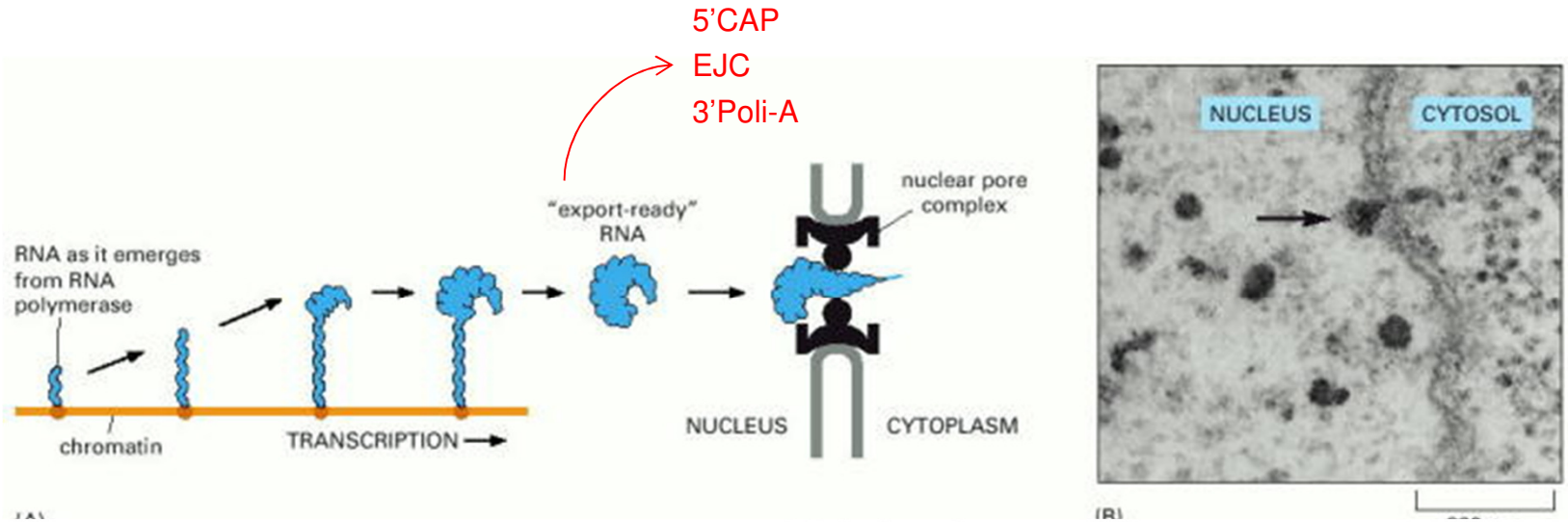
T8

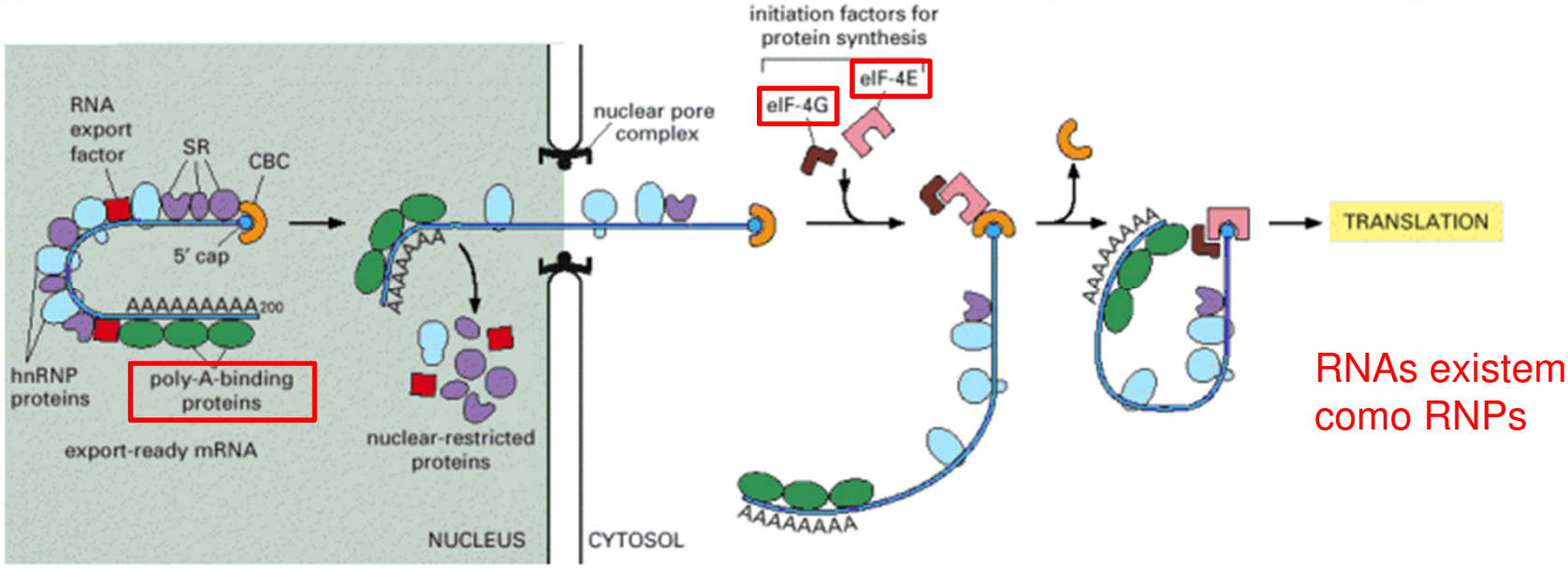

Núcleo
Citoplasma
RNAm degradado
Exossomo
NMD
Controle da degradação do RNAm
a
a'
DNA
RNAm
RNAm
Controle do transporte e localização do RNA
Transcrito primário
Controle traducional
Controle do processamento do RNA
Controle transcricional
Proteína
Controle de atividade protéica
Proteína (in)ativada
Núcleo
Citoplasma

Após o processamento do pré-RNAm, complexos proteicos são depositados nas junções entre éxons do RNAm
(Complexo de junção exônica – EJC)



# RNAs mensageiros são seletivamente exportados do núcleo ao citoplasma



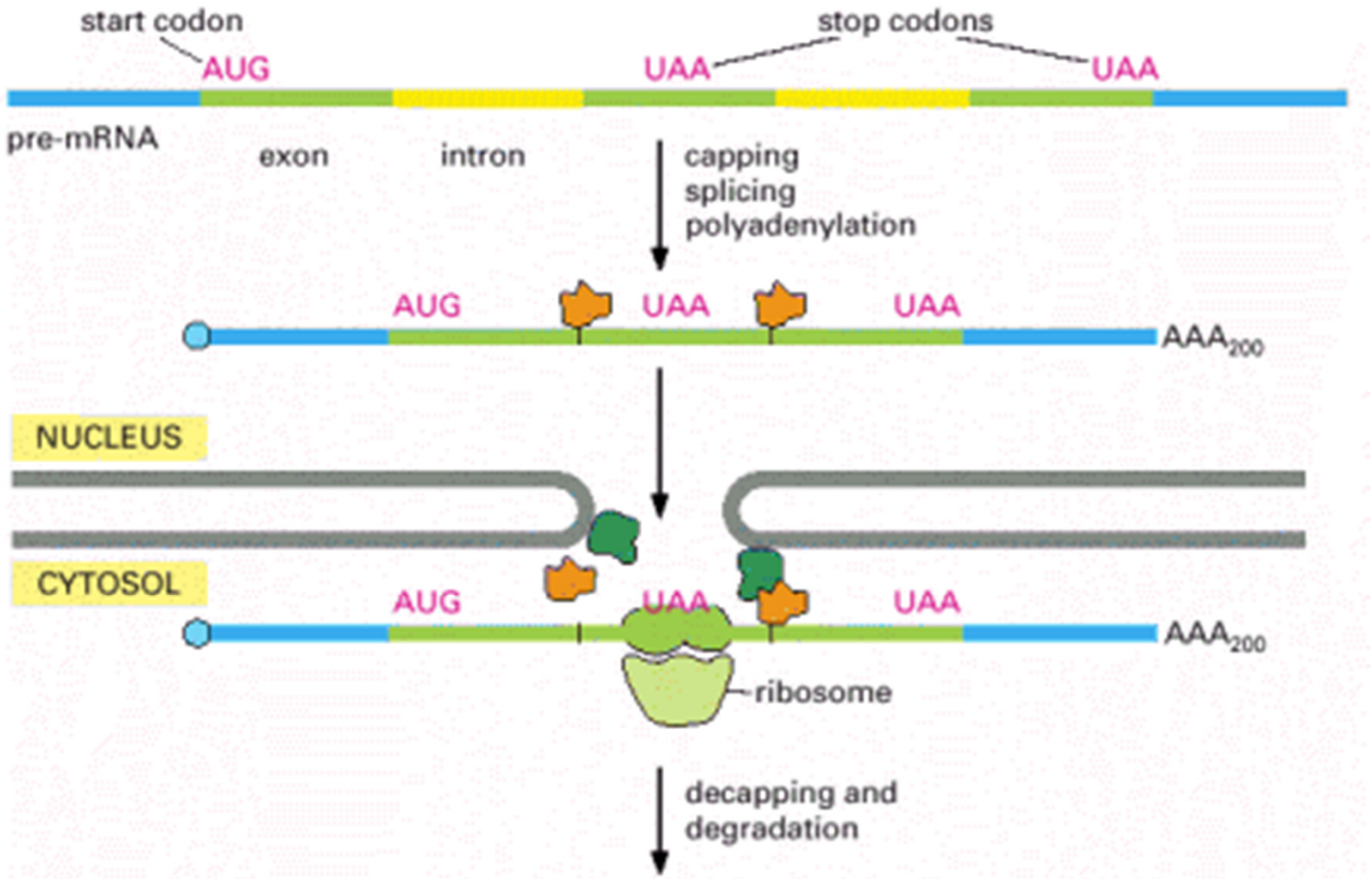




RNAs existem como RNPs

https://www.youtube.com/watch?v=KZBljAM6B1s

https://www.youtube.com/watch?v=qIwrhUrvX-k

À chegada ao citoplasma (ou ainda ligado ao poro nuclear, na face citoplasmática), o RNAm sofre tradução por um só ribossomo, produzindo uma molécula da proteína.




Durante essa tradução inicial, o sistema de 'Nonsense-mediated mRNA decay (NMD)' pode identificar códon de parada prematura e degradar esse RNAm.
"Controle de qualidade"

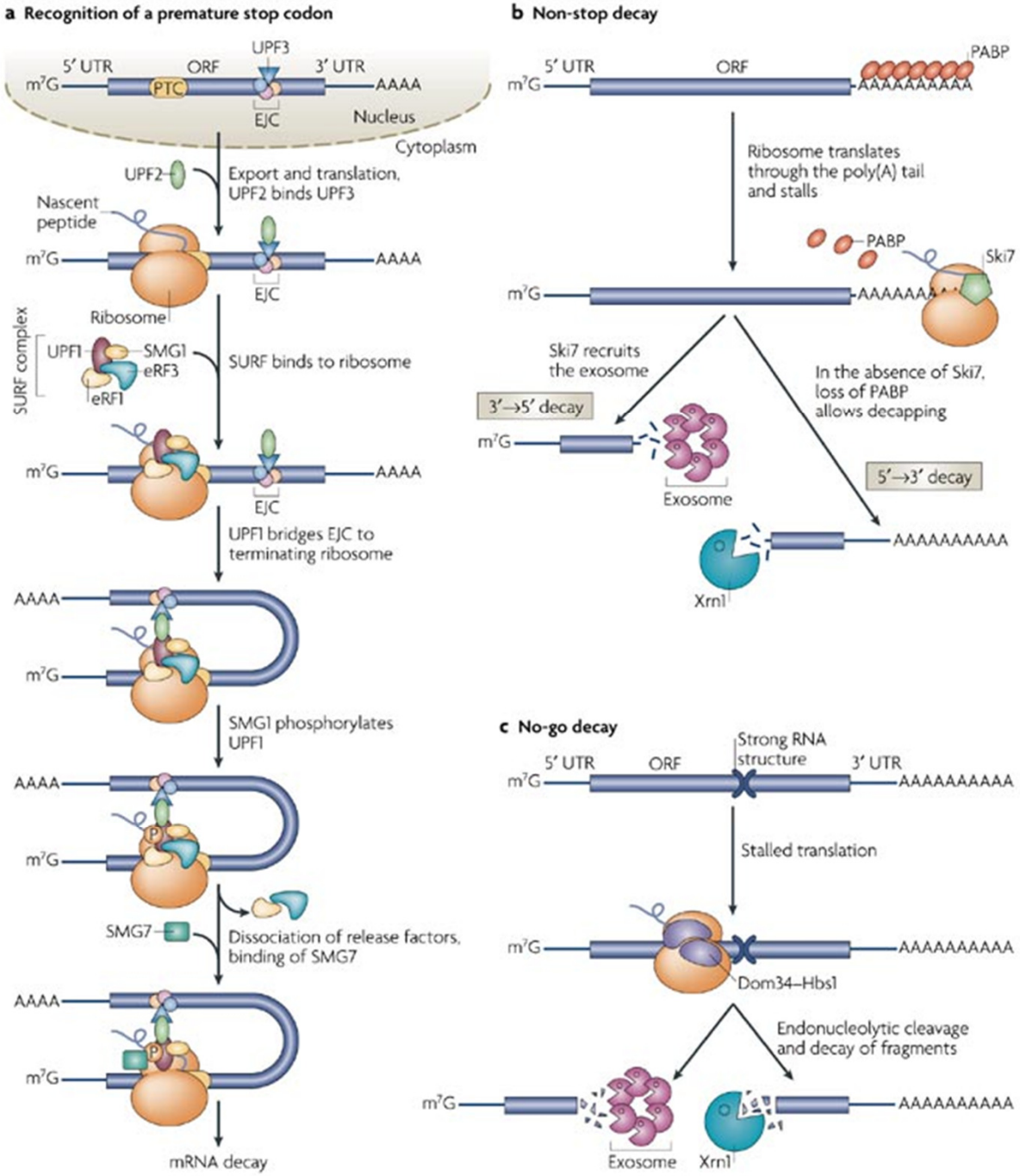
*Nonsense-mediated mRNA decay* (NMD)

# RNAm citoplásmático

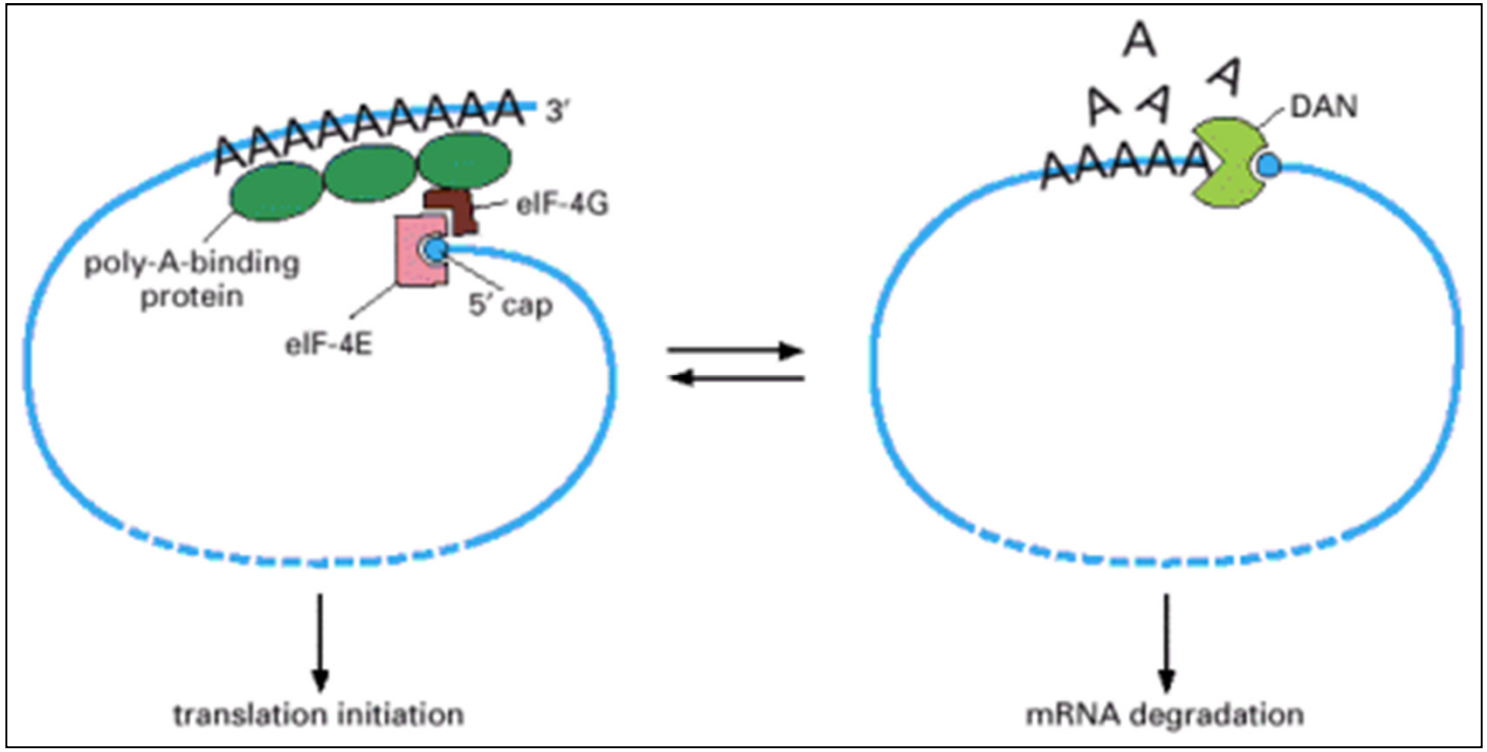
- **Após o controle de qualidade pelo *scan* do ribossomo**:
  - Todos os EJC deverão ter sido retirados do RNAm, deslocados pelo ribossomo durante a tradução.
  - UPF1 é depositada no códon de parada com eRF1-3; e

- **UPF2 e UPF3 são componentes do EJC (complexo de junção exônica)**.

- **Se se mantêm no RNAm citoplásmático, UPF2 e UPF3**:
  - recrutam UPF1 (a 5');
  - Há dissociação de eRF1-3
  - UPF1, em complexo com UPF 2 e 3, ativa a maquinaria para retirada do CAP, desadenilação e degradação do RNAm.


a Recognition of a premature stop codon
UPF3
5′ UTR
ORF
3′ UTR
m7G
PTC
AAAA
EJC
Nucleus
Cytoplasm
UPF2
Export and translation, UPF2 binds UPF3
Nascent peptide
Ribosome
SURF complex
UPF1
SMG1
eRF3
eRF1
SURF binds to ribosome
UPF1 bridges EJC to terminating ribosome
SMG1 phosphorylates UPF1
P
SMG7
Dissociation of release factors, binding of SMG7
mRNA decay
b Non-stop decay
PABP
Ribosome translates through the poly(A) tail and stalls
Ski7
Ski7 recruits the exosome
3′→5′ decay
Exosome
In the absence of Ski7, loss of PABP allows decapping
5′→3′ decay
Xrn1
c No-go decay
Strong RNA structure
Stalled translation
Dom34–Hbs1
Endonucleolytic cleavage and decay of fragments

# Destinos do RNAm



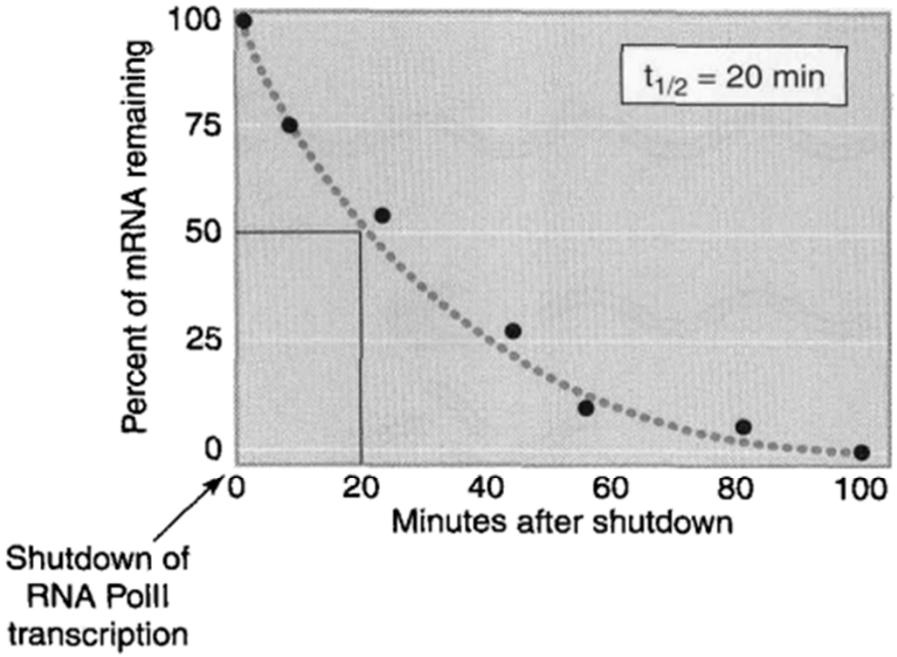
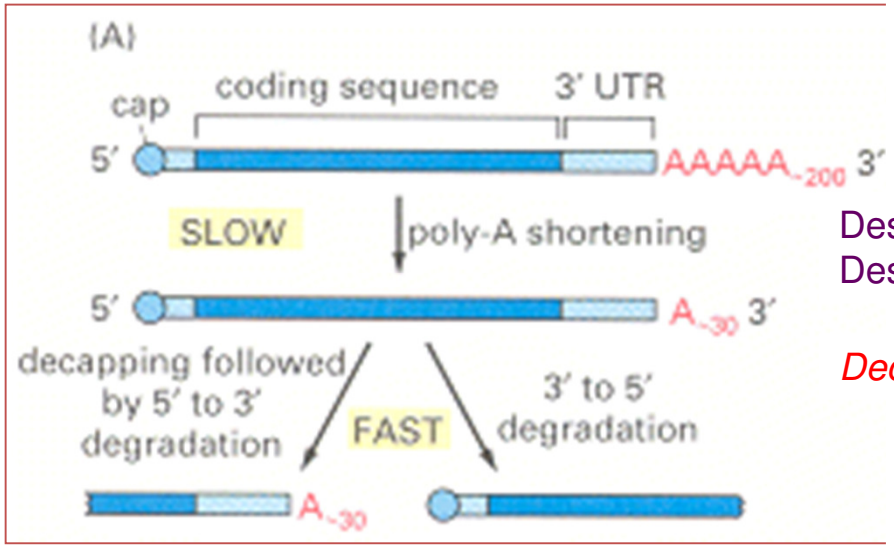



**FIGURE 22.3** Method for determining mRNA half-lives. RNA polymerase II transcription is shut down, either by a drug or a temperature shift in strains with a temperature-sensitive mutation in a PolII gene. The levels of specific mRNAs are determined by northern blot or RT-PCR at various times following shut-down. RNA degradation, once initiated, is usually so rapid that intermediates in the process are not detectible. The half-life is the time required for the mRNA to fall to one half of its initial value.

# A degradação dos RNAs mensageiros é regulada

- A estabilidade de diferentes mensagens varia, dependendo principalmente da presença de:
  - Cap
  - Cauda de poli-A
  - Sequências ricas em AU na extremidade 3´
    - Outros elementos em *cis*

# Degradação do RNAm de eucarionte



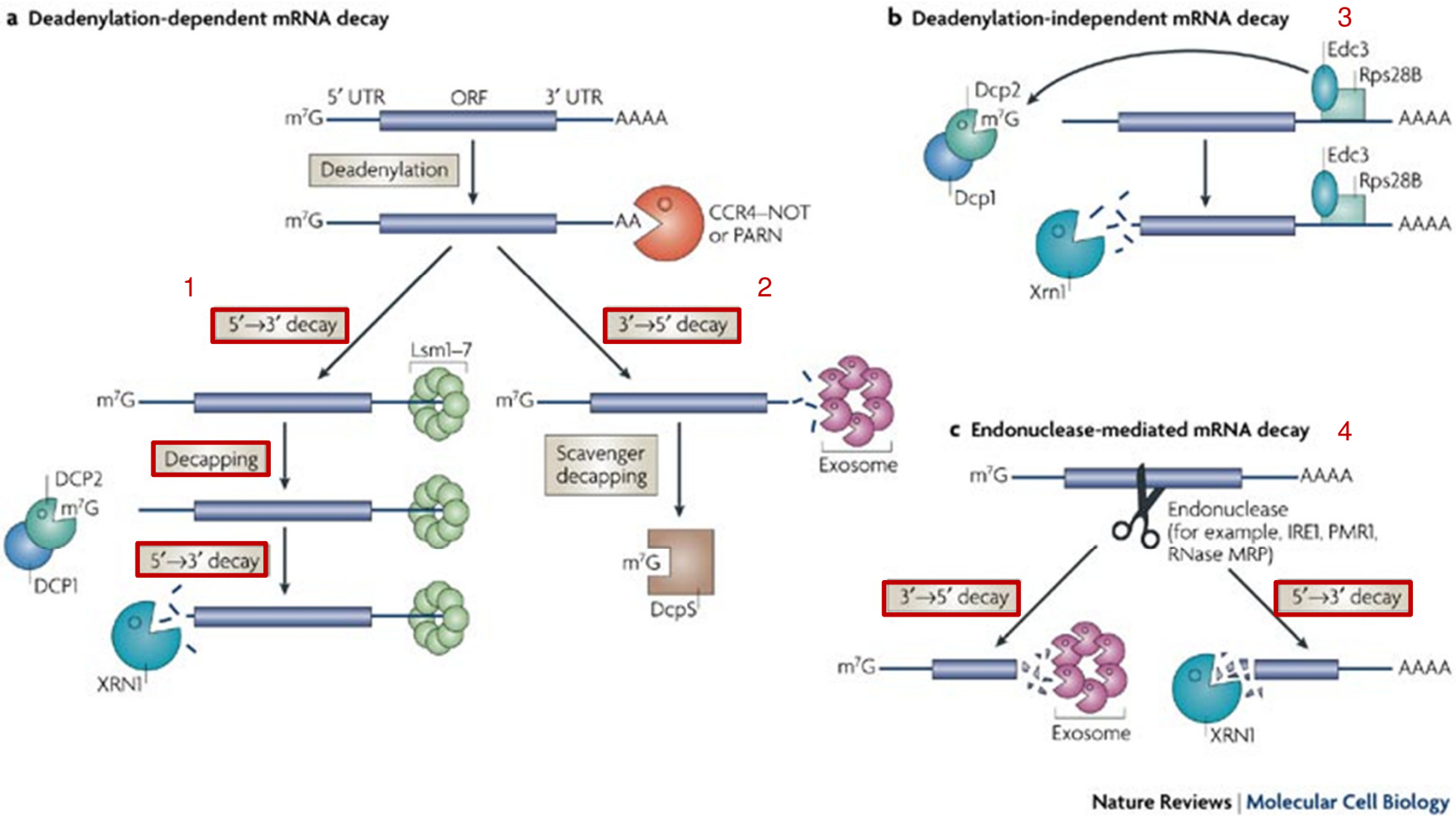

Desadenilação lenta (PAN2/3)
Desadenilação rápida (CCR4)

*Decapping*

Exonuclease
(1) 5' para 3'
(2) 3' para 5'

GenesXI
Página 630
Fig 22.6
Fig 22.7

# Degradação do RNAm de eucarionte



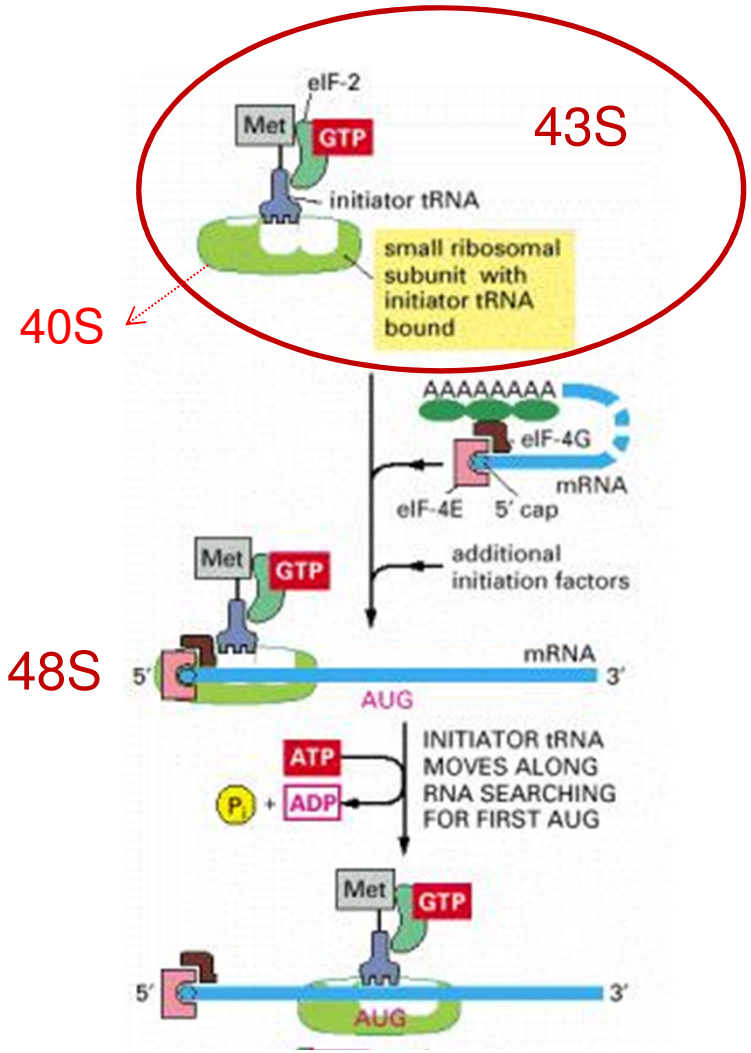

5 Oligouridinilação
*Decapping*
Exonuclease
(1) 5' para 3'
(2) 3' para 5'

6 miRNA

Genes XI
Página 632
Fig 22.8 e 22.9

# Início da tradução em eucariontes

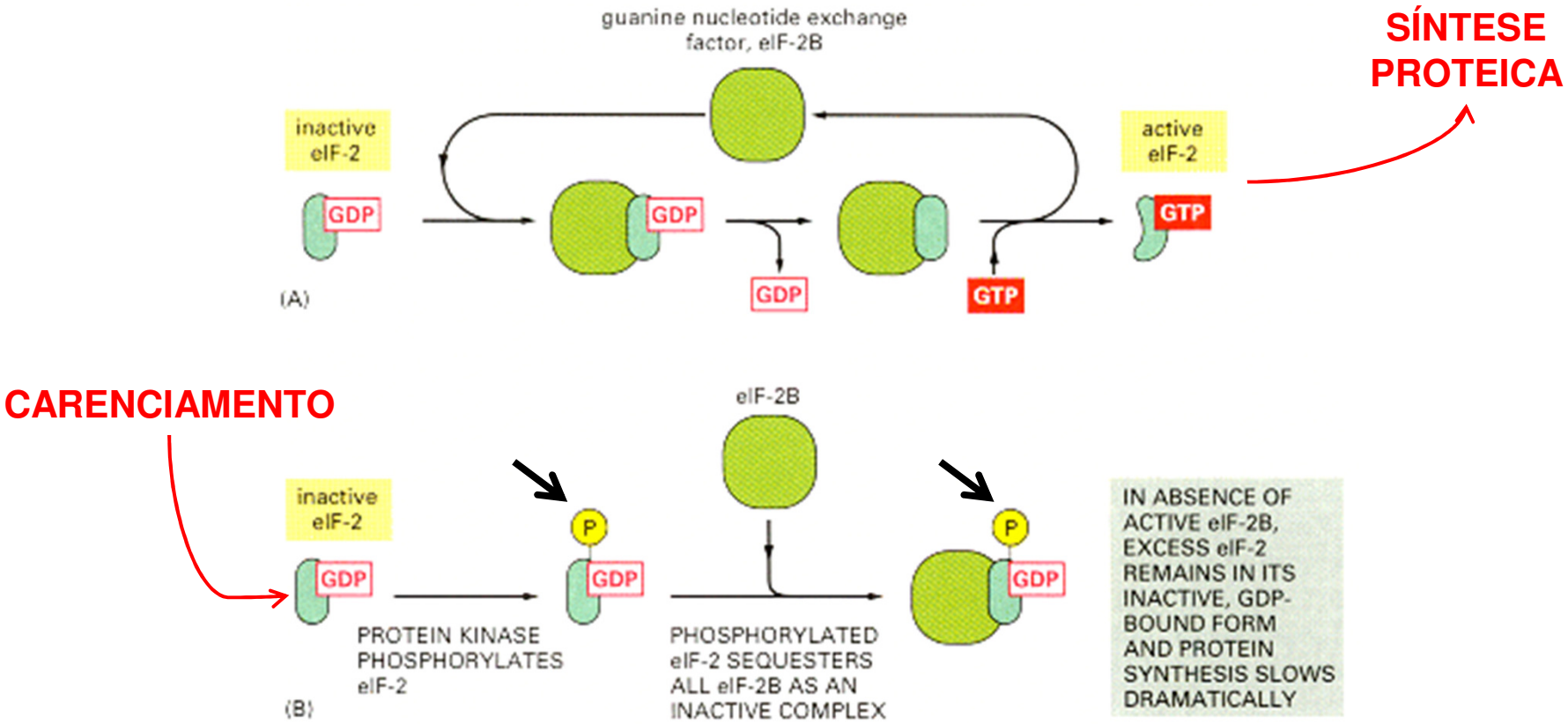
- Duas formas principais para a regulação do início da tradução do RNAm de eucariontes:
  - Formação do complexo de pré-iniciação (PIC, 43S);
  - Proteínas do cap (eiF4E);
    - Domínio 4E-BP (competição pela ligação ao eiF4G)



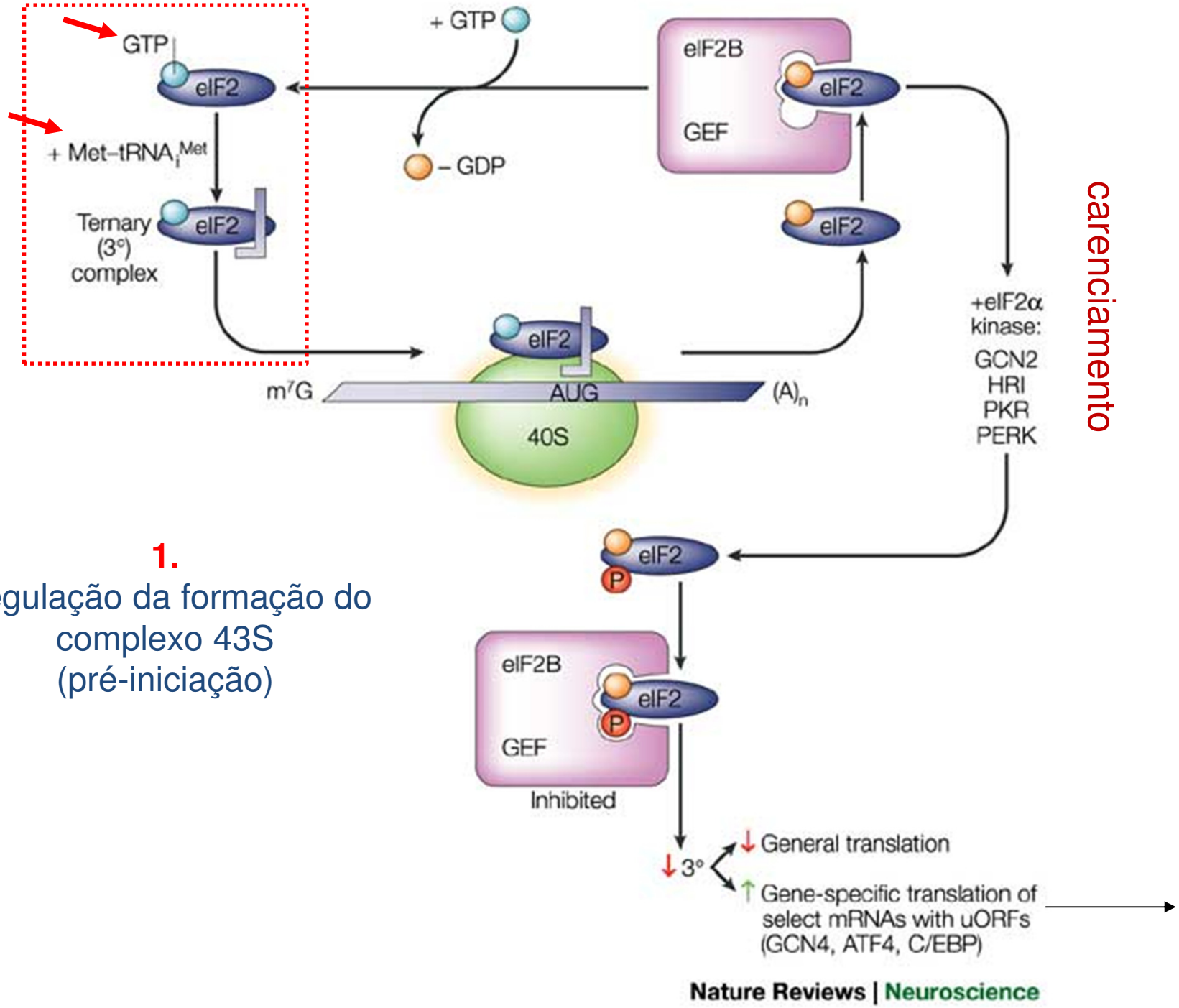
Como efetuar o controle global da tradução?

# Regulação global da síntese protéica
# (Ciclo do fator eiF2)

**Baixos níveis de aminoácidos como fator limitante para a síntese proteica**

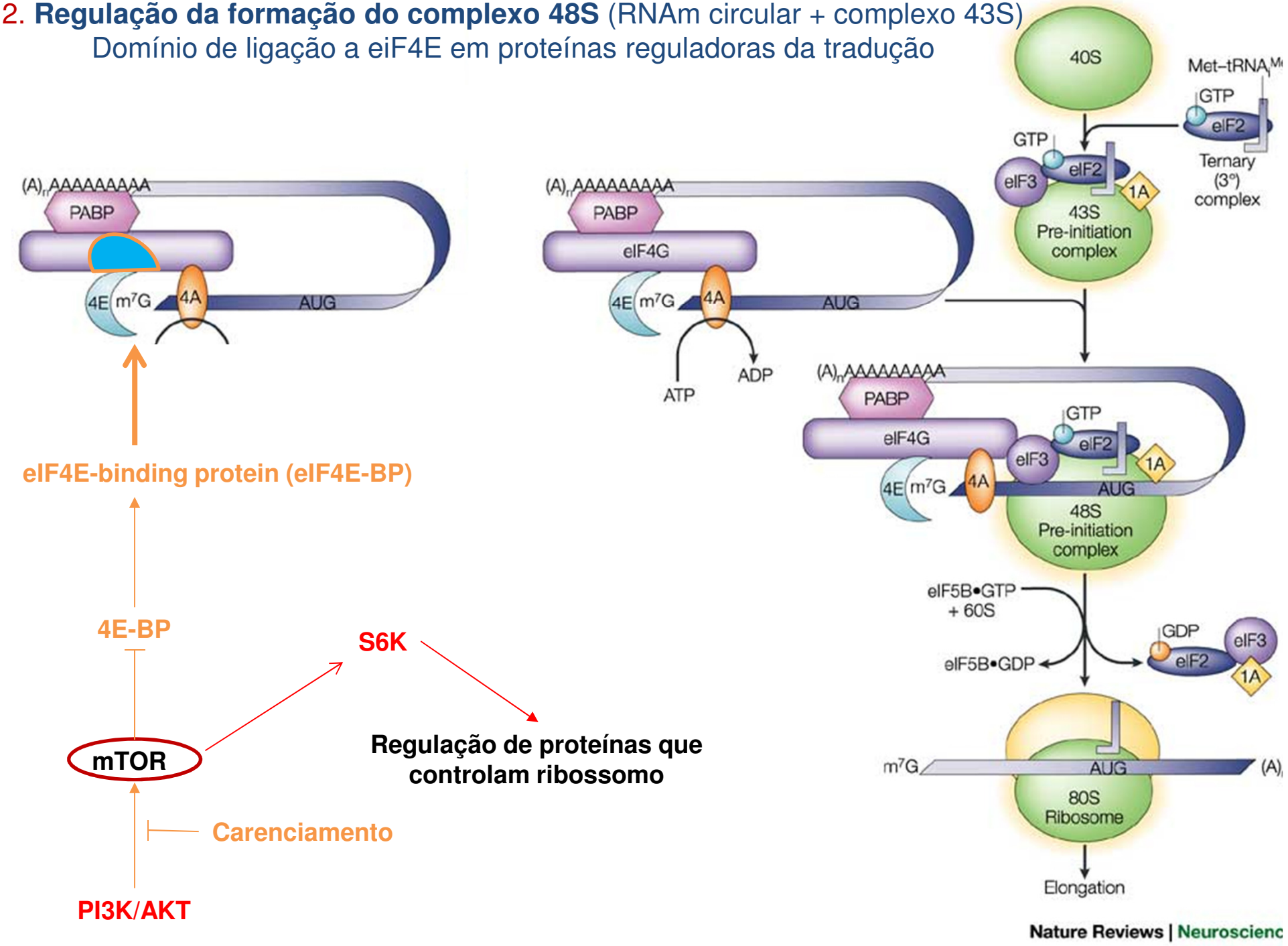


**1.**
Regulação da formação do complexo 43S (pré-iniciação)

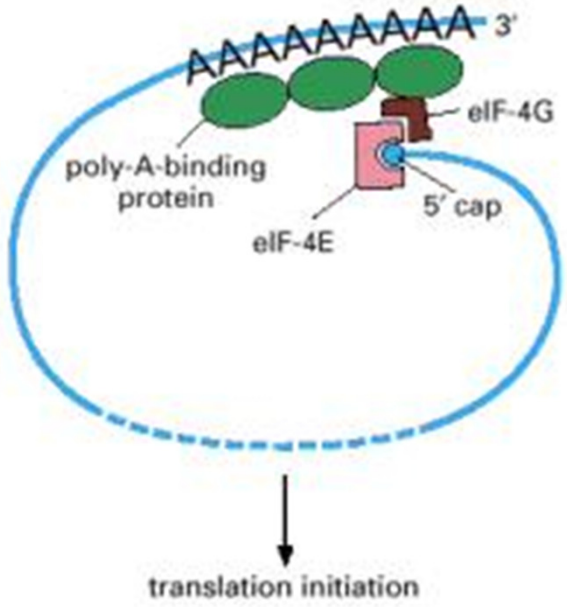



carenciamento

2. **Regulação da formação do complexo 48S** (RNAm circular + complexo 43S)
Domínio de ligação a eiF4E em proteínas reguladoras da tradução



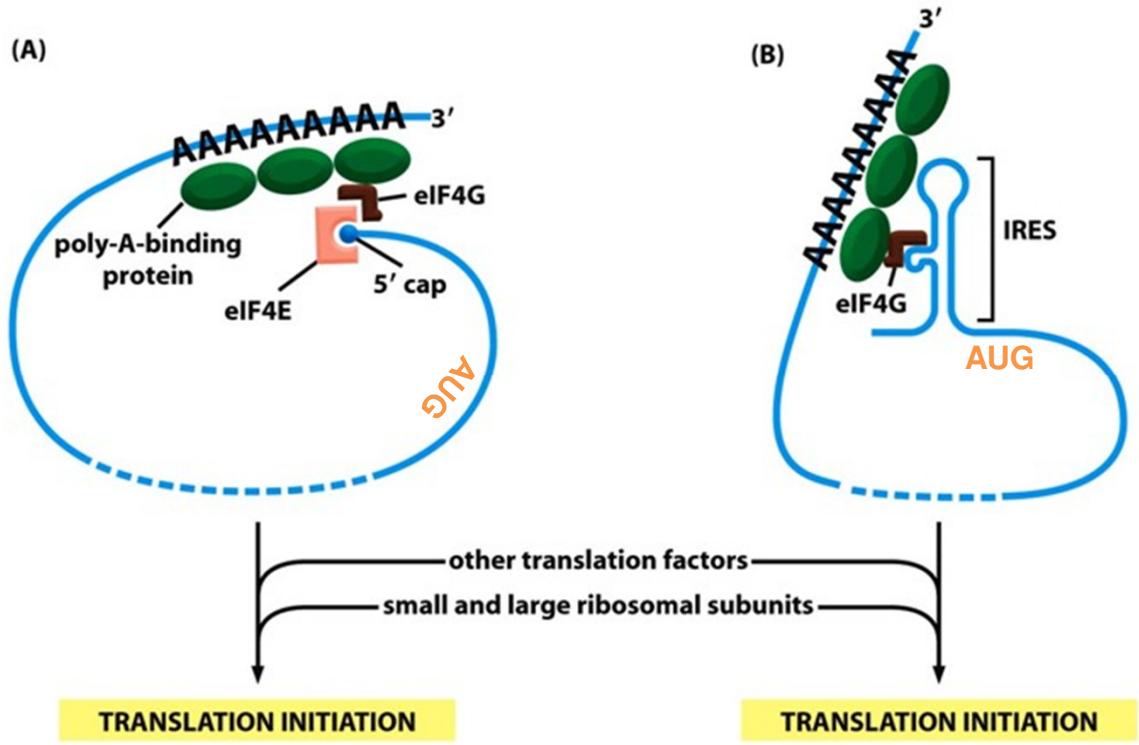
## 2. Regulação da formação do complexo 48S (RNAm circular + complexo 43S)
## Domínio de ligação a eiF4E em proteínas reguladoras da tradução




- 4E-BP1, 4E-BP2: importantes reguladores "globais"
- Domínios presentes em outras proteínas reguladoras traducionais;
- Competição com eiF4G pela ligação com eiF4E, modificando a configuração pró-traducional

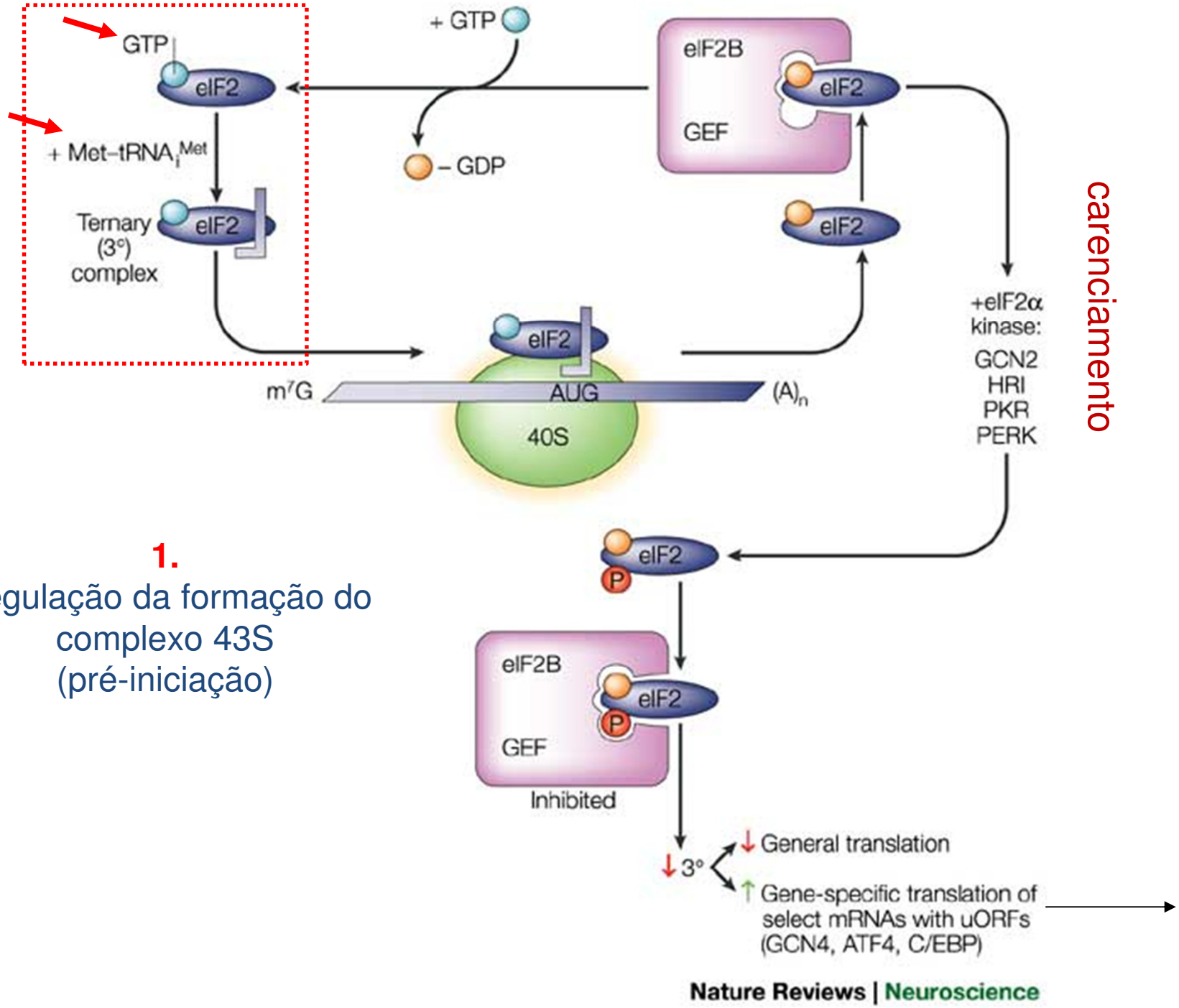
# Exceções ao controle global da tradução

- IRES: *internal ribosome entry site*



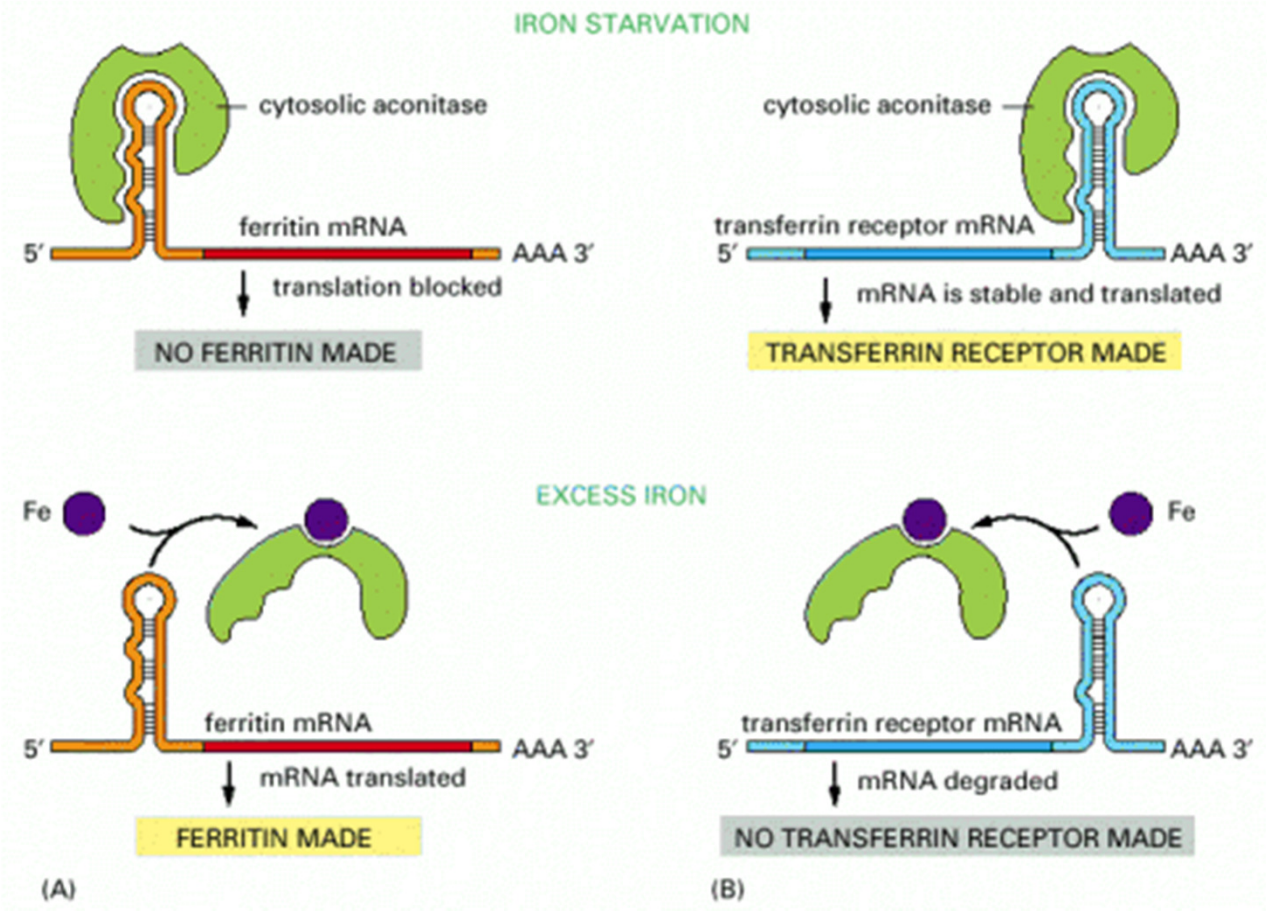

- uORF: *upstream Open Reading Frame*

**1.**
Regulação da formação do complexo 43S (pré-iniciação)



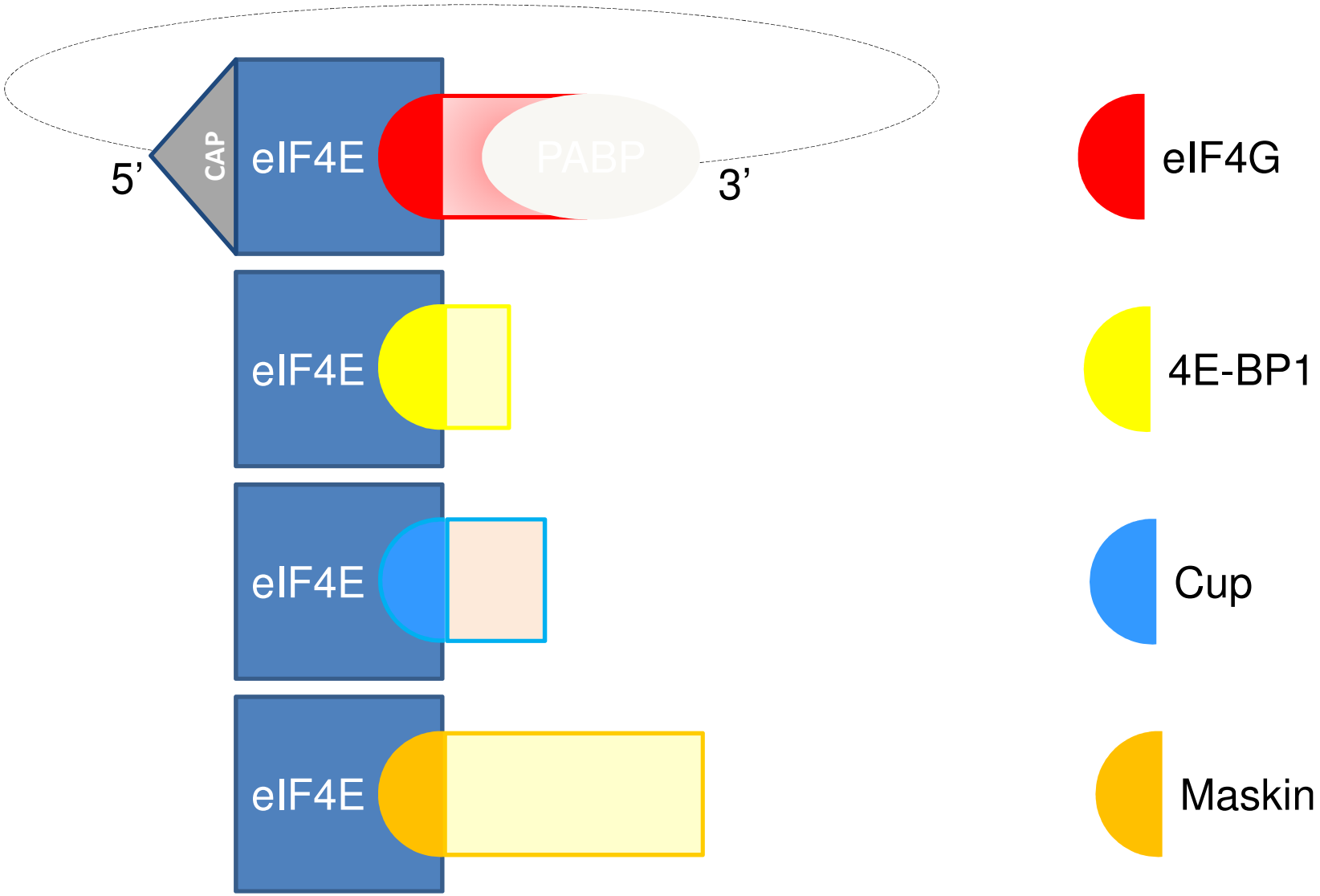

carenciamento

# Ferritina, receptor de transferrina e homeostase do ferro

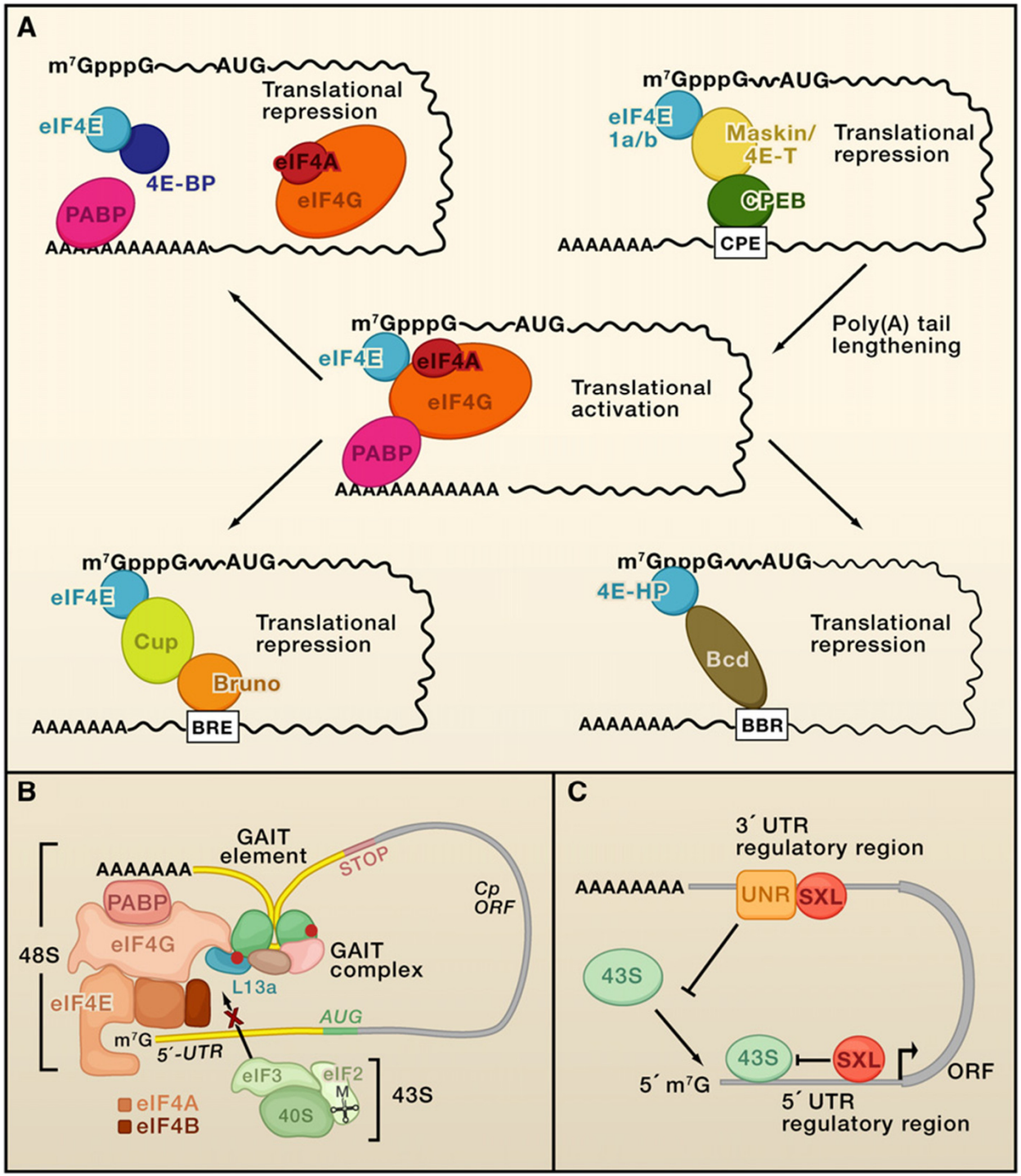



Página 635
Fig 22.11

# Domínio ligante a eIF4E pode conferir controle específico da tradução



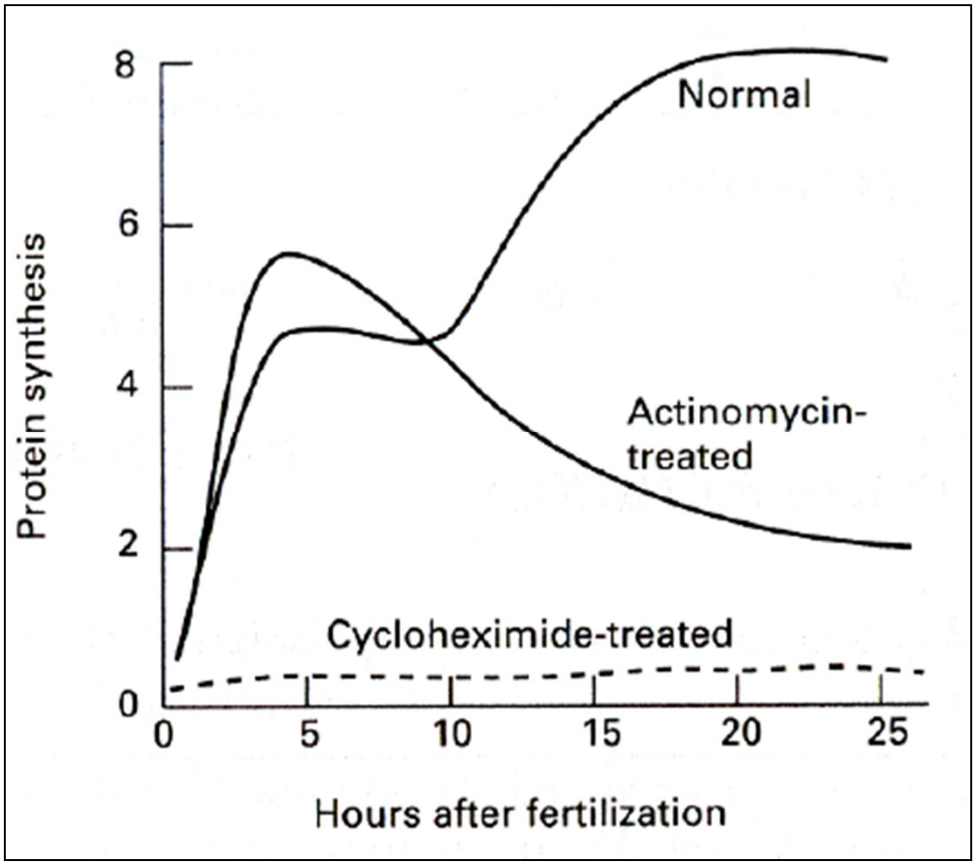
Competição com 4G pela ligação à 4E




Ambos

Bloqueio ao acesso do 43S

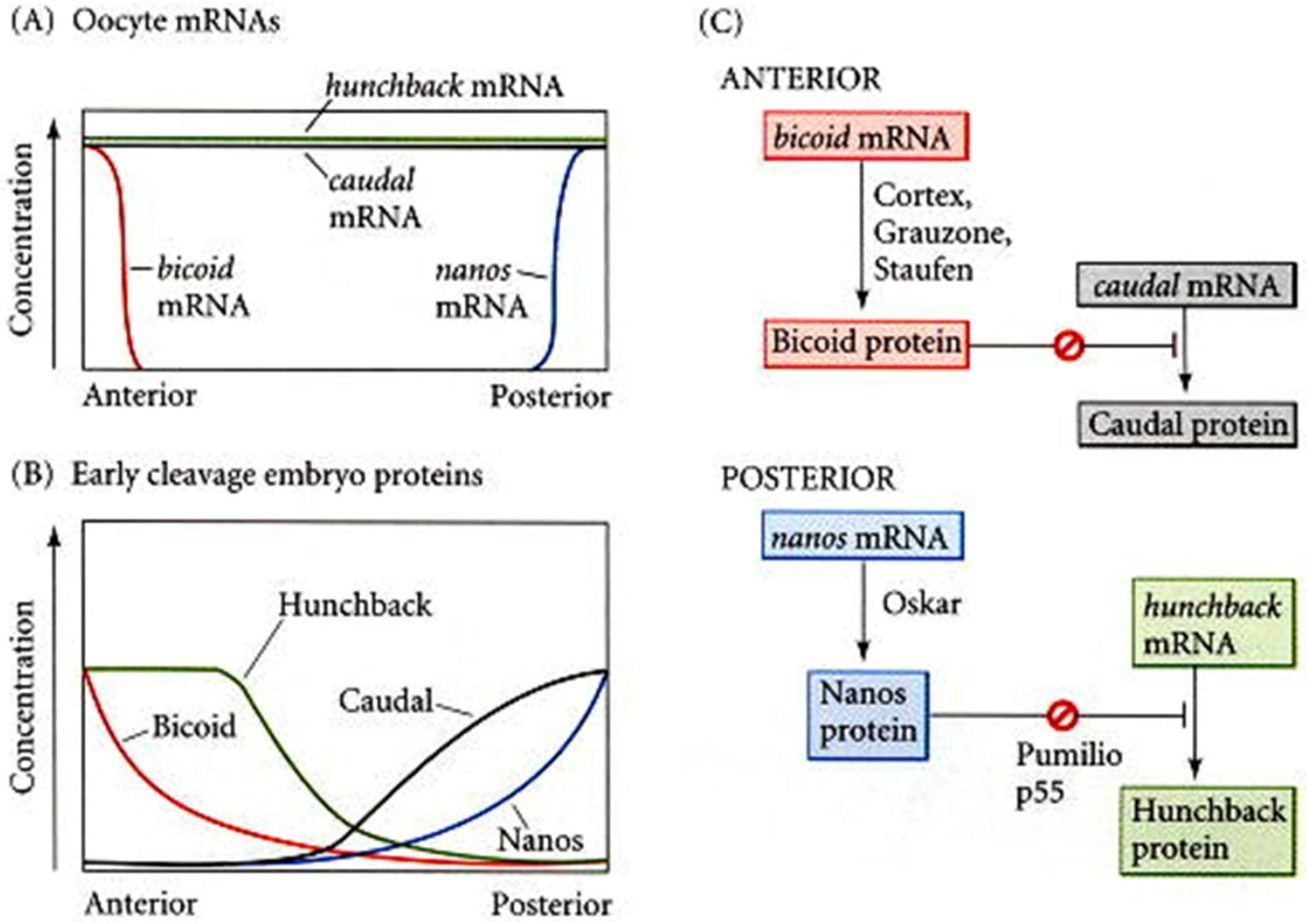
# Níveis proteicos no início do desenvolvimento da *Drosophila*




Actinomicina: inibidor transcricional

Cicloheximida: inibidor traducional

# Estabelecimento dos gradientes de produtos de genes maternos



# Regulação traducional em bactéria

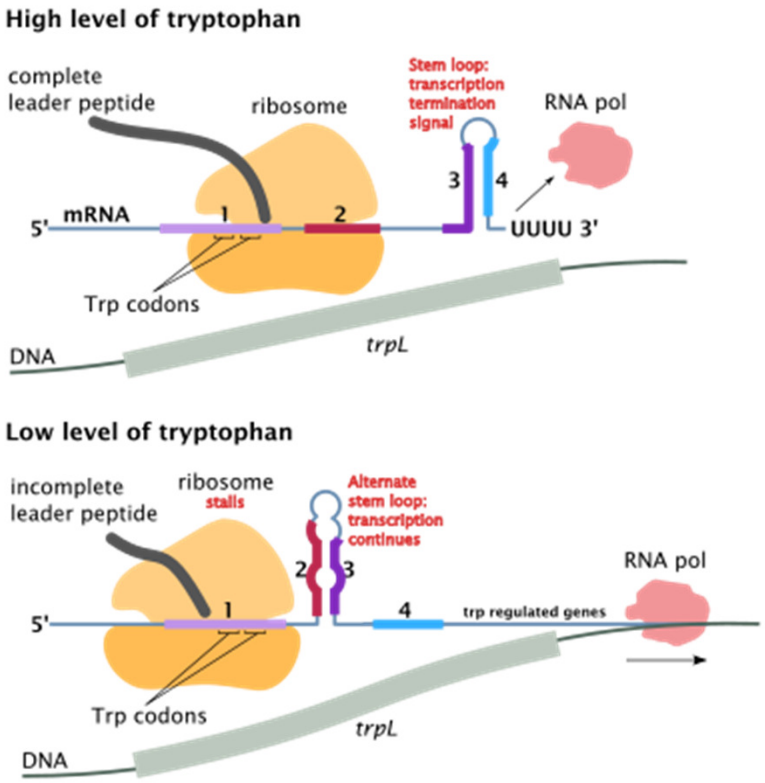
Ex. operon para expressão de proteínas ribossomais

- Excesso de cópias de DNA do operon:
  - Aumenta RNAm
  - Mantém níveis de proteínas ribossomais

Impedimento de acesso ao RBS (sítio de ligação ao ribossomo)

- Fator em *trans* (protéico) – auto-regulação
- Estruturas intramoleculares (operon)
- Ligação competitiva: proteína, produto da ORF, com capacidade de se ligar ao rRNA e mRNA para proteínas ribossomais

# Regulação traducional em bactéria




Pg707 (Watson, Cap 20)

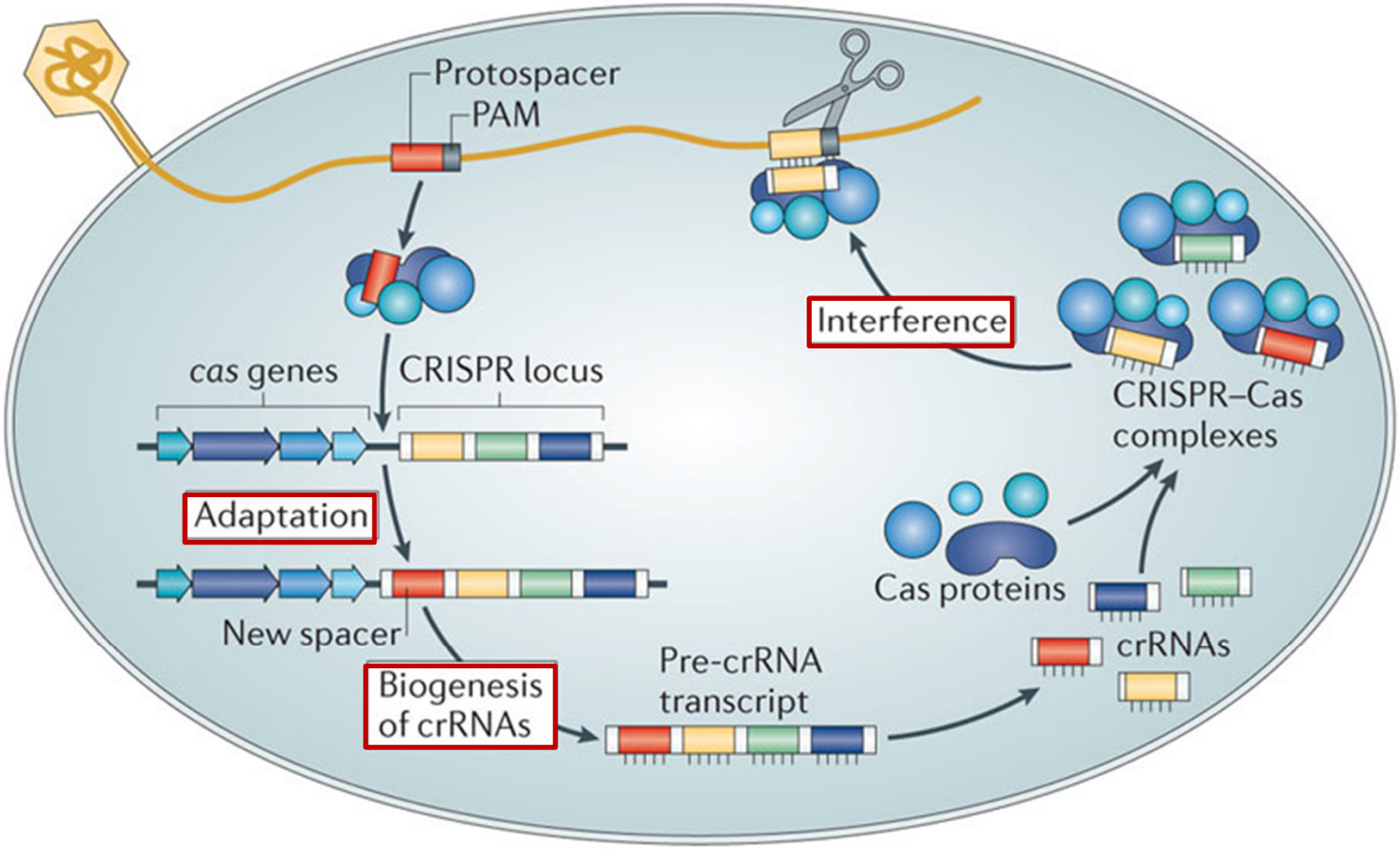
# RNAs regulatórios em bactéria

- Em *trans* (Fig. 20.1)
  - sRNAs
  - 80 – 110 nts
  - Sem processamento de precursor
  - Emparelhamento imperfeito com o alvo, facilitado por proteínas chaperonas
  - Efeitos:
    - » Degradação
    - » Tradução

# RNAs regulatórios em bactéria

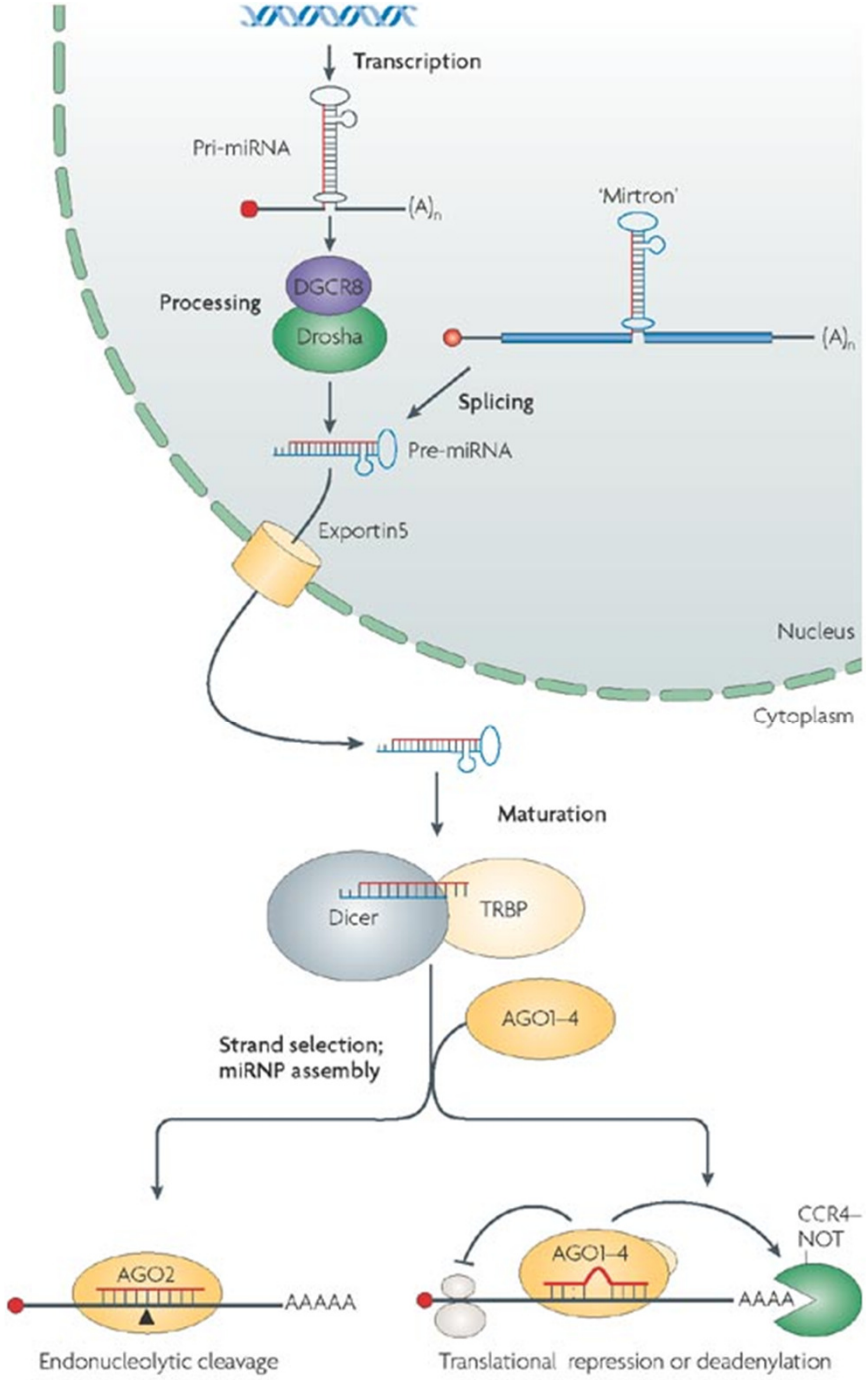
- Em *cis* (Fig. 20.2 e 20.3)
  - *Riboswitches*
  - 5'-UTR – parte do RNAm
  - Aptâmero + plataforma de espressão + cds
  - Regula transcrição ou tradução mediante modificação conformacional após ligação de fator em *trans* (metabólitos, vitaminas, tRNA, etc...)
  - *Atenuação transcricional em operons*

CRISPR (repetições palindrômicas, curtas, agregadas e regularmente intercaladas) e proteínas associadas a CRISPR (CAS)



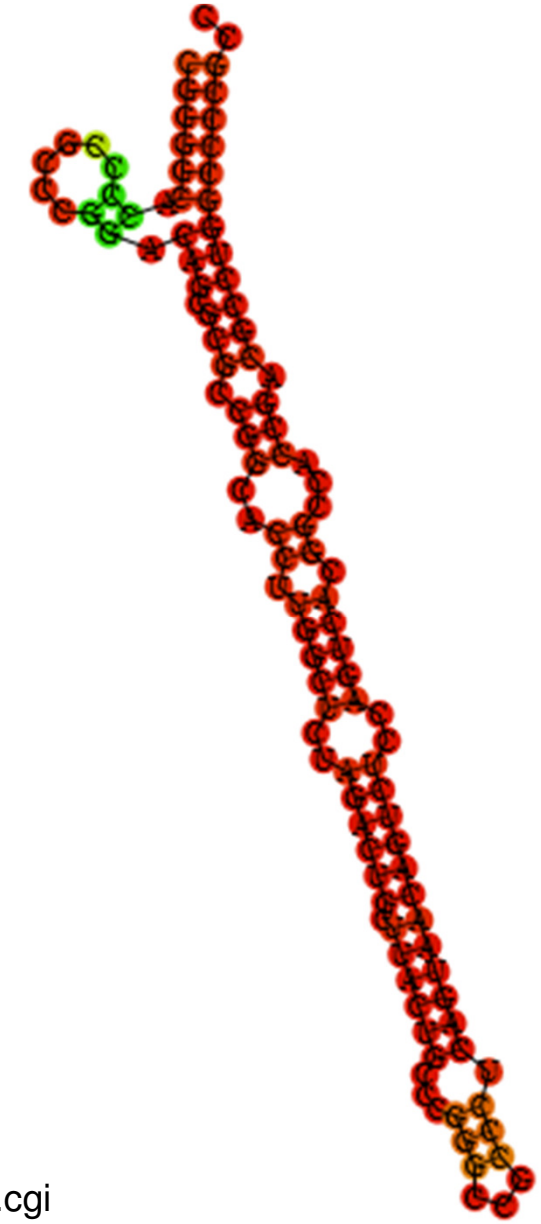
# Regulação da expressão do gene eucariótico

| | Elemento em *cis* | Natureza e localização | Fator em *trans* (Natureza) | Efeito |
|---|---|---|---|---|
| Transcrição do DNA | Promotor basal | DNA (-50 a +50) | Fatores gerais da transcrição, TFII_ (Proteína) | Transcrição basal |
| | Acentuador (*enhancer*) | DNA - Variável | Fatores específicos ativadores da transcrição (Proteína) | Acentuação (exponencial) |
| | Silenciador (*silencer*) | DNA - Variável | Fatores específicos repressores da transcrição (Proteína) | Repressão (silenciamento) |
| *Splicing* do pré-RNAm | Sítio doador (5' - GU) | RNA - Intrônico | snRNP U1 (snRNA) | Definição intrônica |
| | Sítio receptor (3' - AG) | RNA - Intrônico | snRNP U2 (Proteína) | Definição intrônica |
| | Ponto de Ramificação (A) | RNA - Intrônico | snRNP U2 (Proteína e snRNA) | Definição intrônica |
| | Acentuador (*enhancer*) | RNA - Intrônico (ISE) RNA - Exônico (ESE) | Proteínas SR | Definição exônica |
| | Silenciador (*silencer*) | RNA - Intrônico (ISS) RNA - Exônico (ESS) | hnRNPs (Proteína) | Exclusão exônica |
| Tradução ou degradação do RNAm | Elemento linear ou em grampo | RNA - 5'- ou *3'-UTR (embora possa ocorrer na cds) | Proteico | Repressão traducional Degradação do RNAm |
| | Elemento linear | RNA - 3'-UTR – mais de uma cópia | miRNA | Repressão traducional Degradação do RNAm |



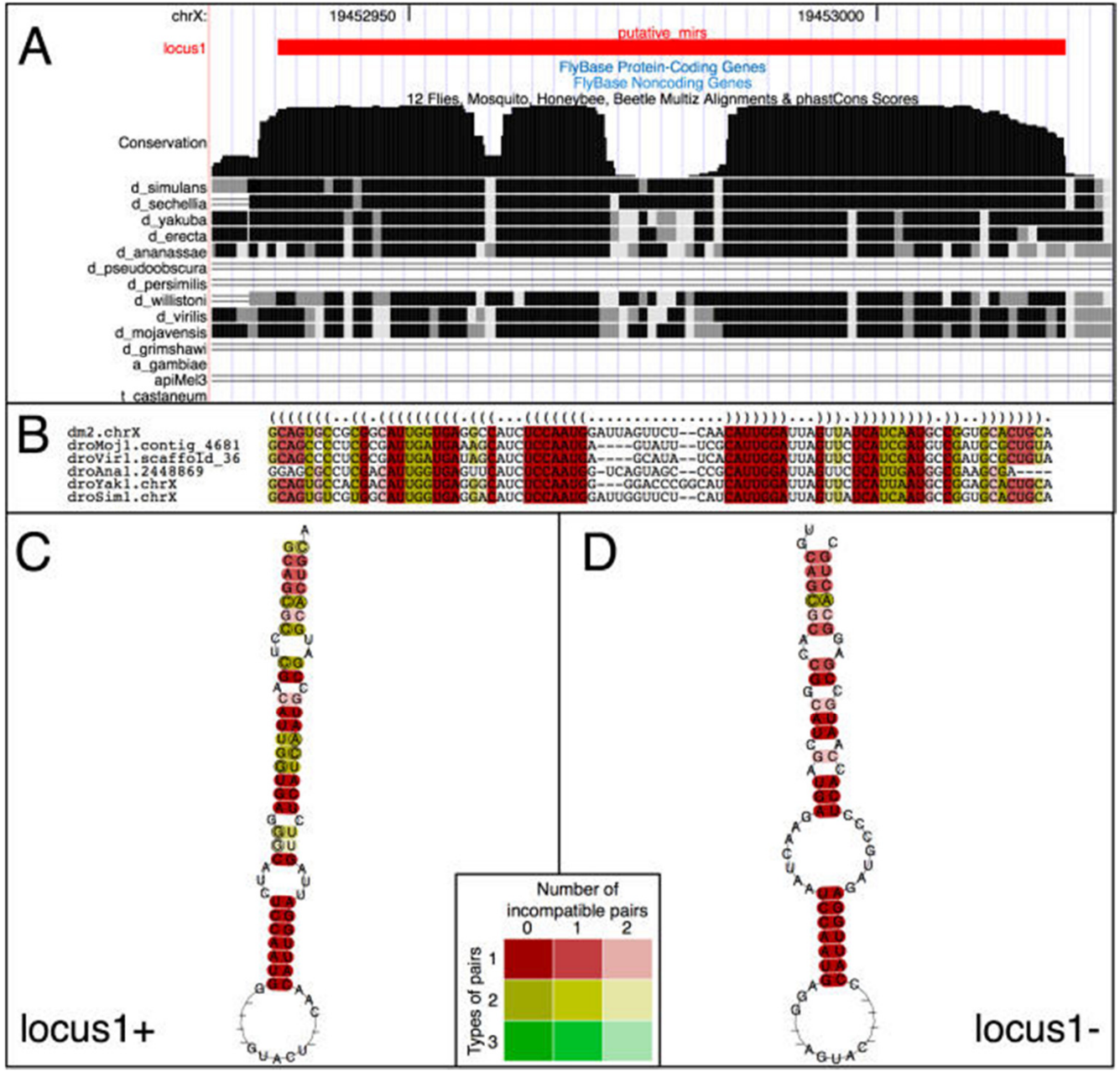

Nature Reviews | Genetics

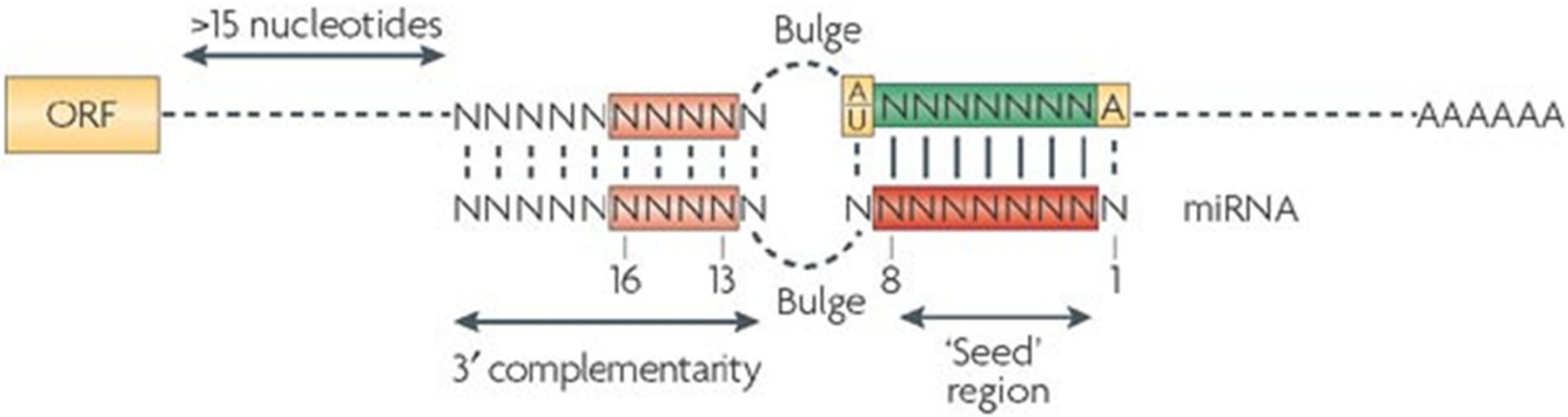
# miR212



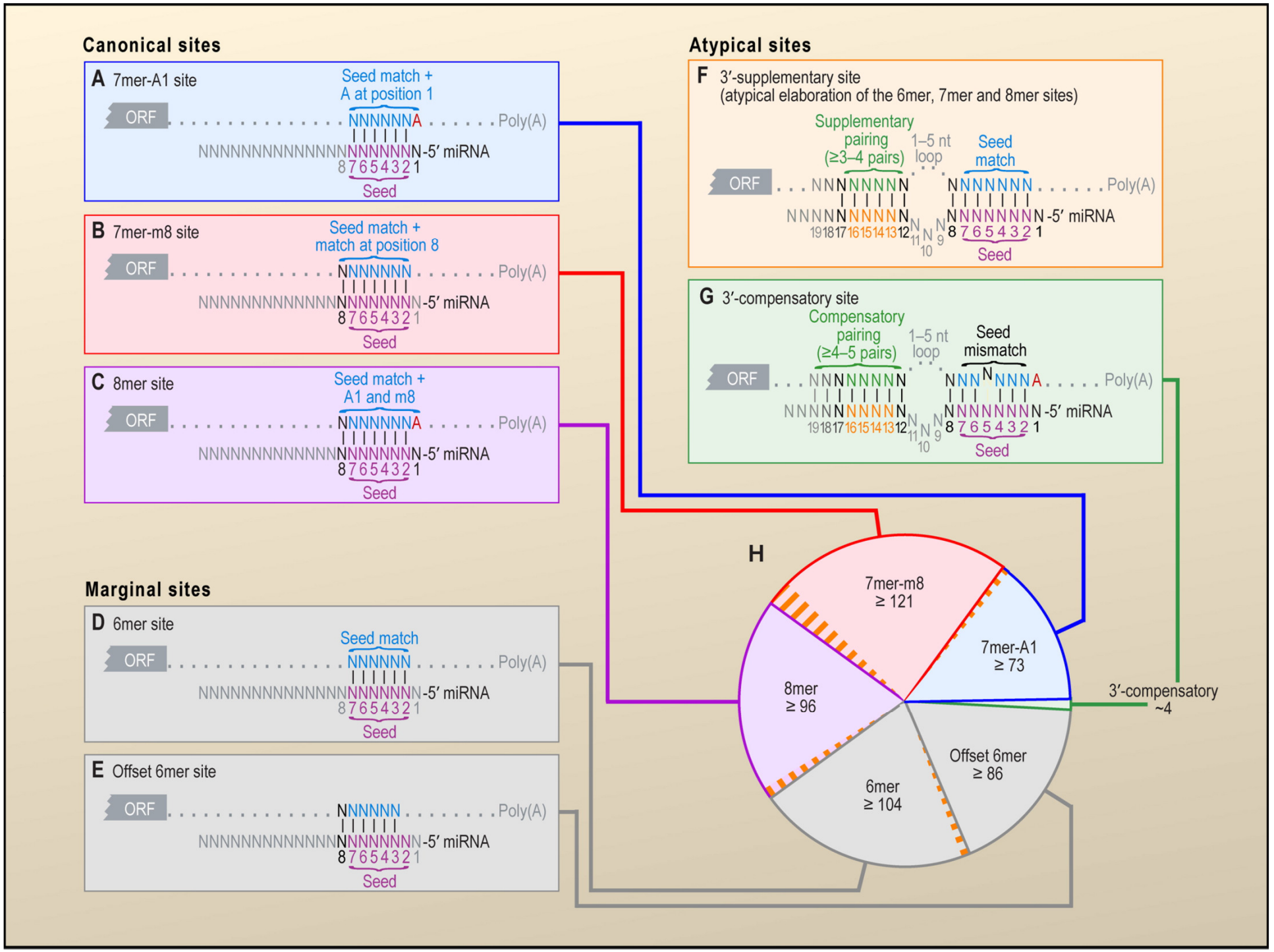
http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAfold.cgi

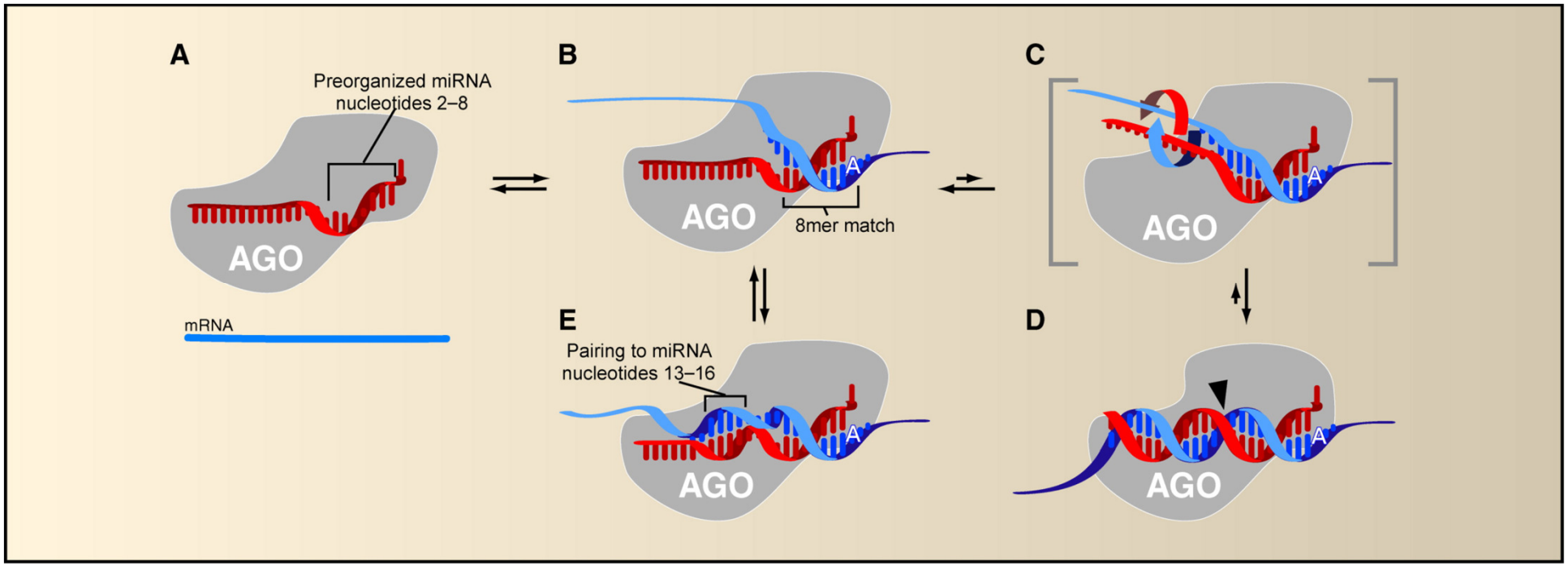
A
lin-4 RNA
let-7 RNA
B
miR-1
miR-1*
miR-34
miR-34*
miR-124
C
MIR165
MIR172
MIRJAW

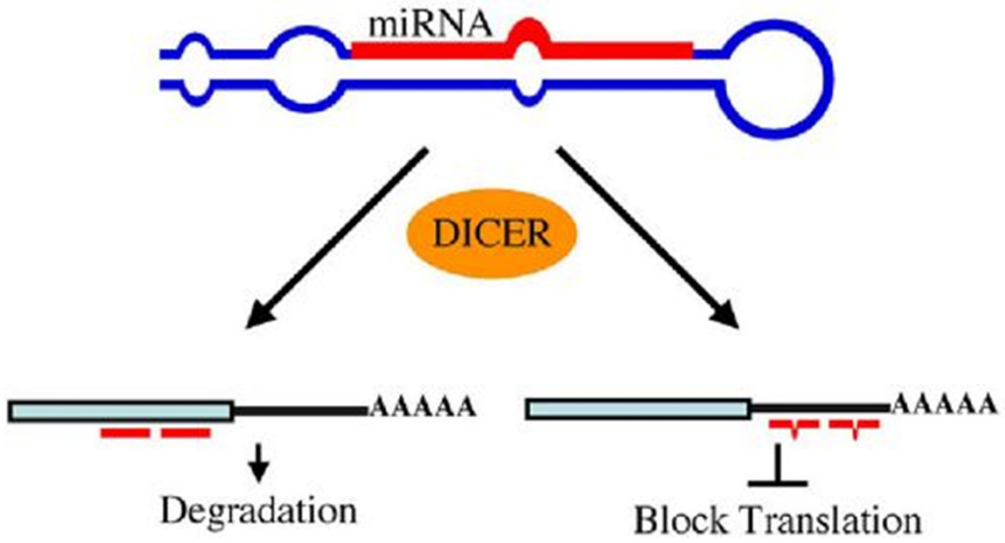

A
chrX:
19452950
19453000
locus1
putative_mirs
FlyBase Protein-Coding Genes
FlyBase Noncoding Genes
12 Flies, Mosquito, Honeybee, Beetle Multiz Alignments & phastCons Scores
Conservation
d_simulans
d_sechellia
d_yakuba
d_erecta
d_ananassae
d_pseudoobscura
d_persimilis
d_willistoni
d_virilis
d_mojavensis
d_grimshawi
a_gambiae
apiMel3
t_castaneum
B
dm2.chrX
droMoj1.contig_4681
droVir1.scaffold_36
droAna1.2448869
droYak1.chrX
droSim1.chrX
C
locus1+
D
locus1-
Number of incompatible pairs
0
1
2
Types of pairs
1
2
3




Nature Reviews | Genetics


Canonical sites
A 7mer-A1 site
Seed match + A at position 1
ORF
Poly(A)
NNNNNNA
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN-5′ miRNA
8 7 6 5 4 3 2 1
Seed
B 7mer-m8 site
Seed match + match at position 8
NNNNNNN
C 8mer site
Seed match + A1 and m8
Marginal sites
D 6mer site
Seed match
NNNNNN
E Offset 6mer site
Atypical sites
F 3′-supplementary site
(atypical elaboration of the 6mer, 7mer and 8mer sites)
Supplementary pairing (≥3–4 pairs)
1–5 nt loop
Seed match
G 3′-compensatory site
Compensatory pairing (≥4–5 pairs)
Seed mismatch
H
7mer-m8 ≥ 121
7mer-A1 ≥ 73
8mer ≥ 96
Offset 6mer ≥ 86
6mer ≥ 104
3′-compensatory ~4


A
Preorganized miRNA
nucleotides 2–8
AGO
mRNA
B
AGO
A
8mer match
C
AGO
A
D
AGO
A
E
Pairing to miRNA
nucleotides 13–16
AGO
A


miRNA
DICER
AAAAA
AAAAA
Degradation
Block Translation

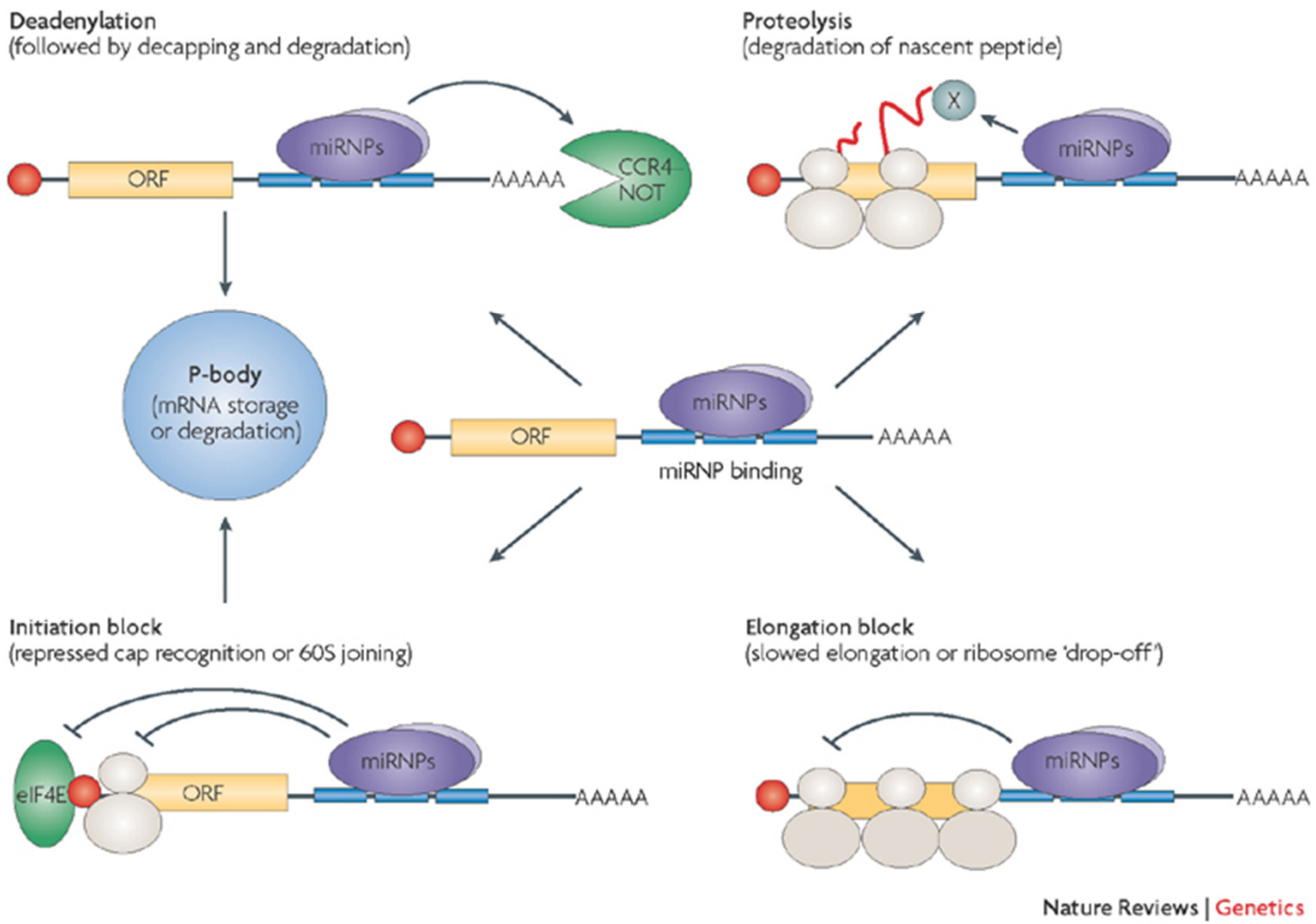
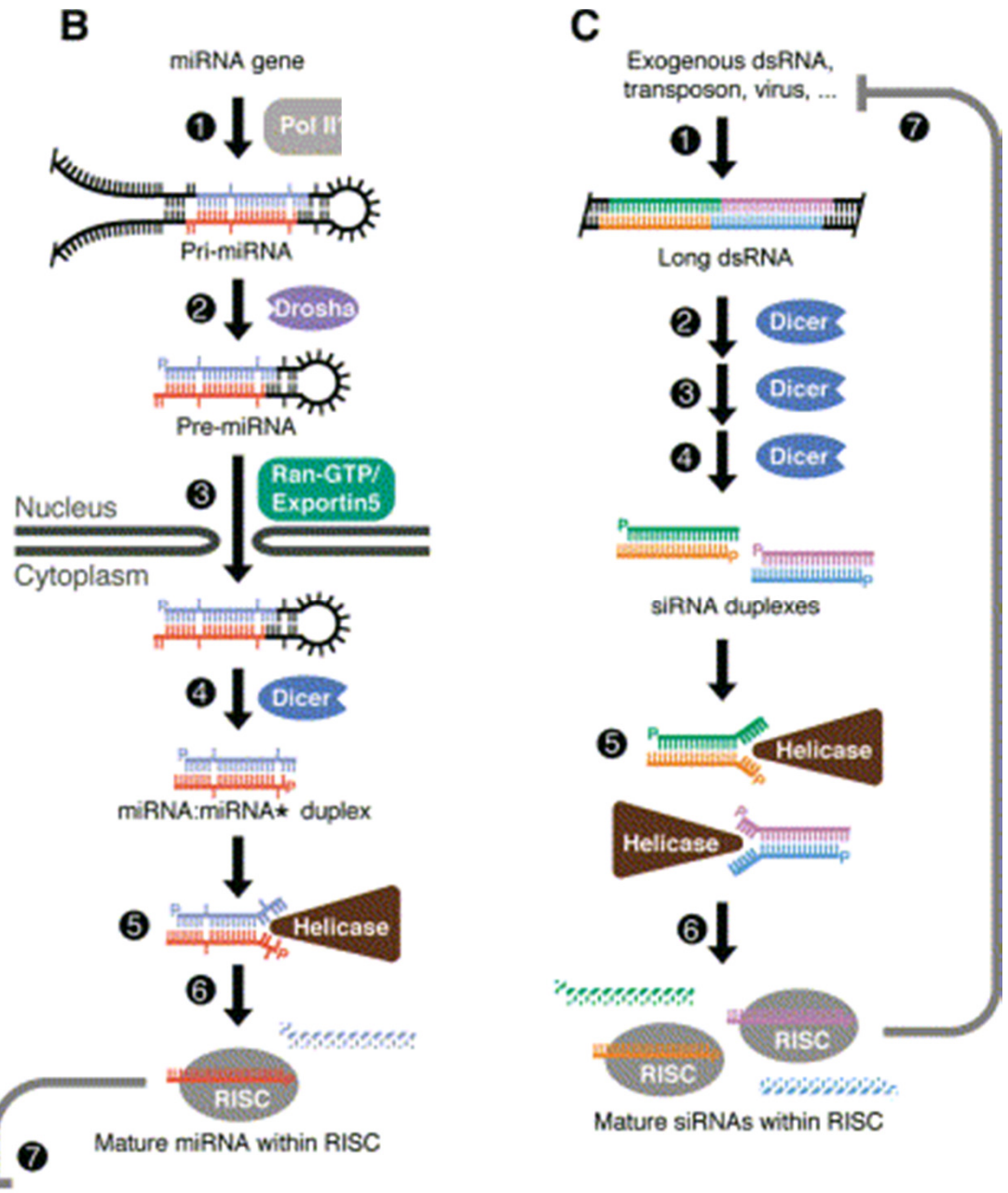
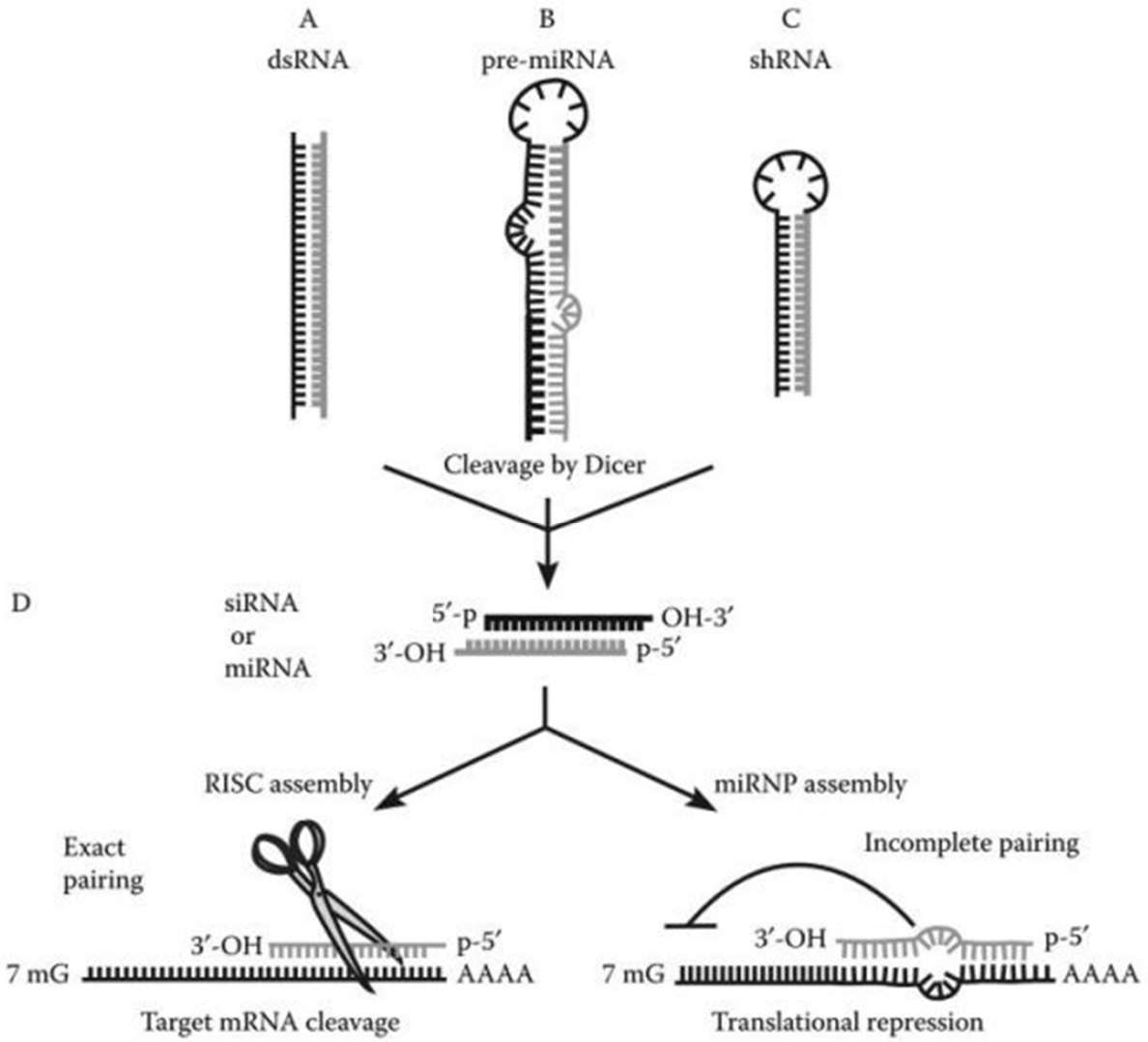



Fig 2 – Box 20.1 – pg 723

shRNA




Target mRNA unrelated
to miRNA gene loci


A
dsRNA
B
pre-miRNA
C
shRNA
Cleavage by Dicer
D
siRNA
or
miRNA
5′-p
OH-3′
3′-OH
p-5′
RISC assembly
miRNP assembly
Exact
pairing
Incomplete pairing
3′-OH
p-5′
7 mG
AAAA
3′-OH
p-5′
7 mG
AAAA
Target mRNA cleavage
Translational repression