

Expressão Gênica - Transcrição

Wellington Luiz de Araújo

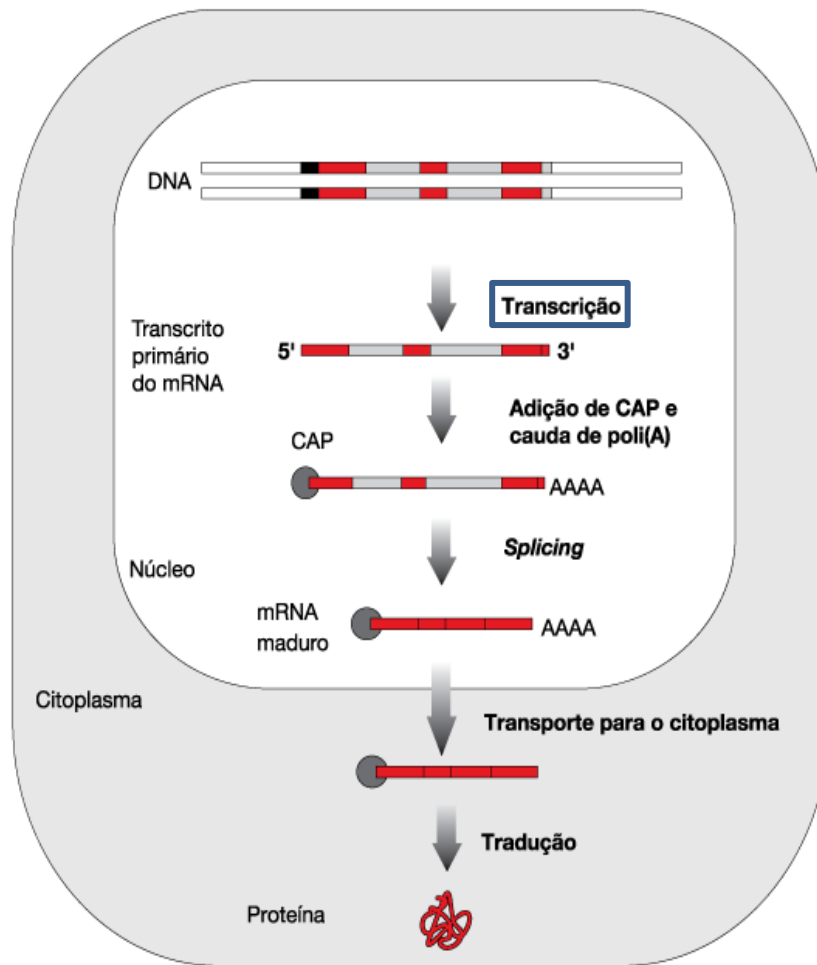
wlaraujo@usp.br



O que é a transcrição, quando se está falando em expressão de genes?

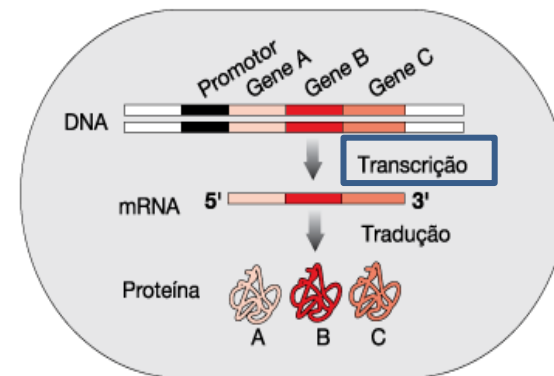
O fluxo da informação em sistemas biológicos

Eucariotos

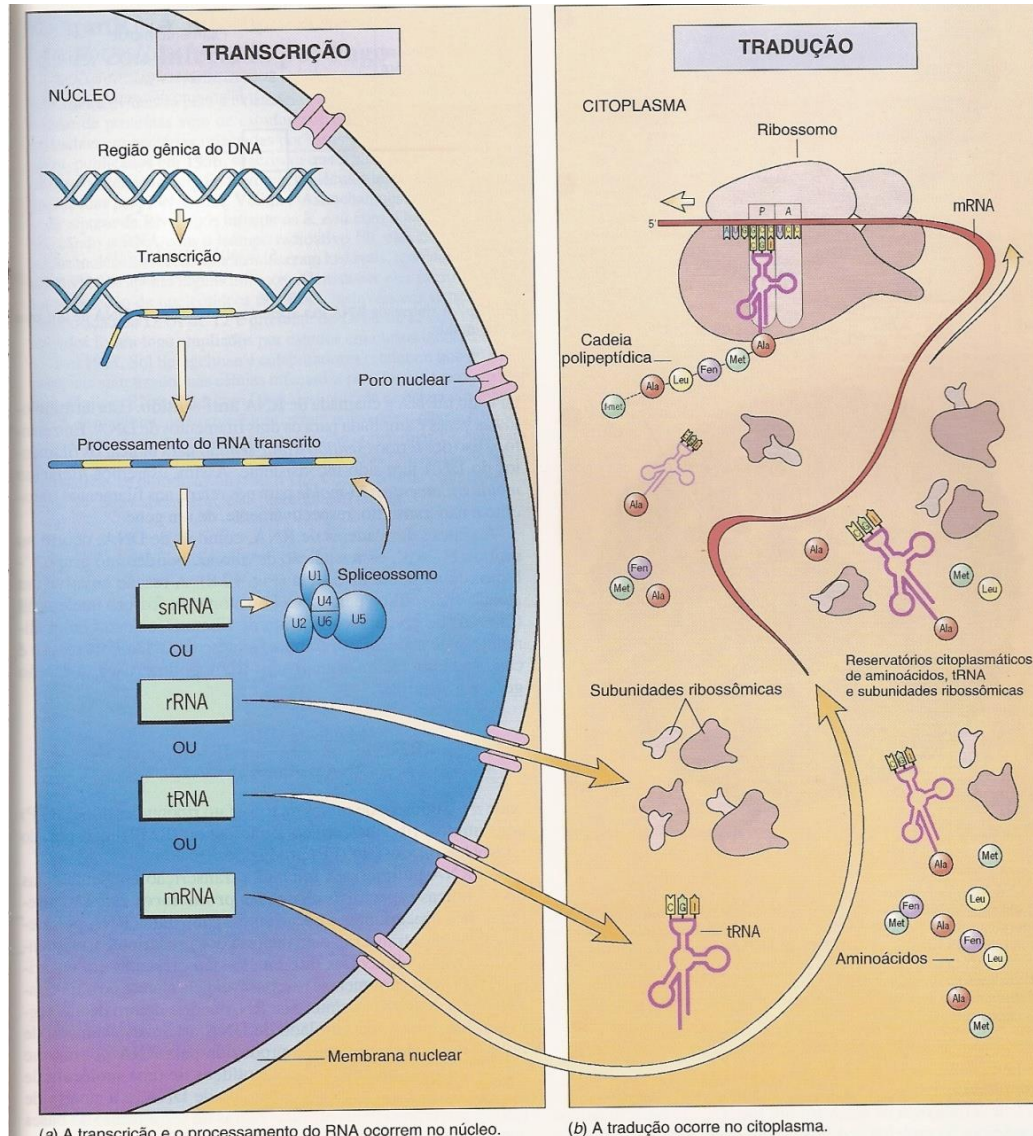


- Promotor
- Éxon
- Íntron

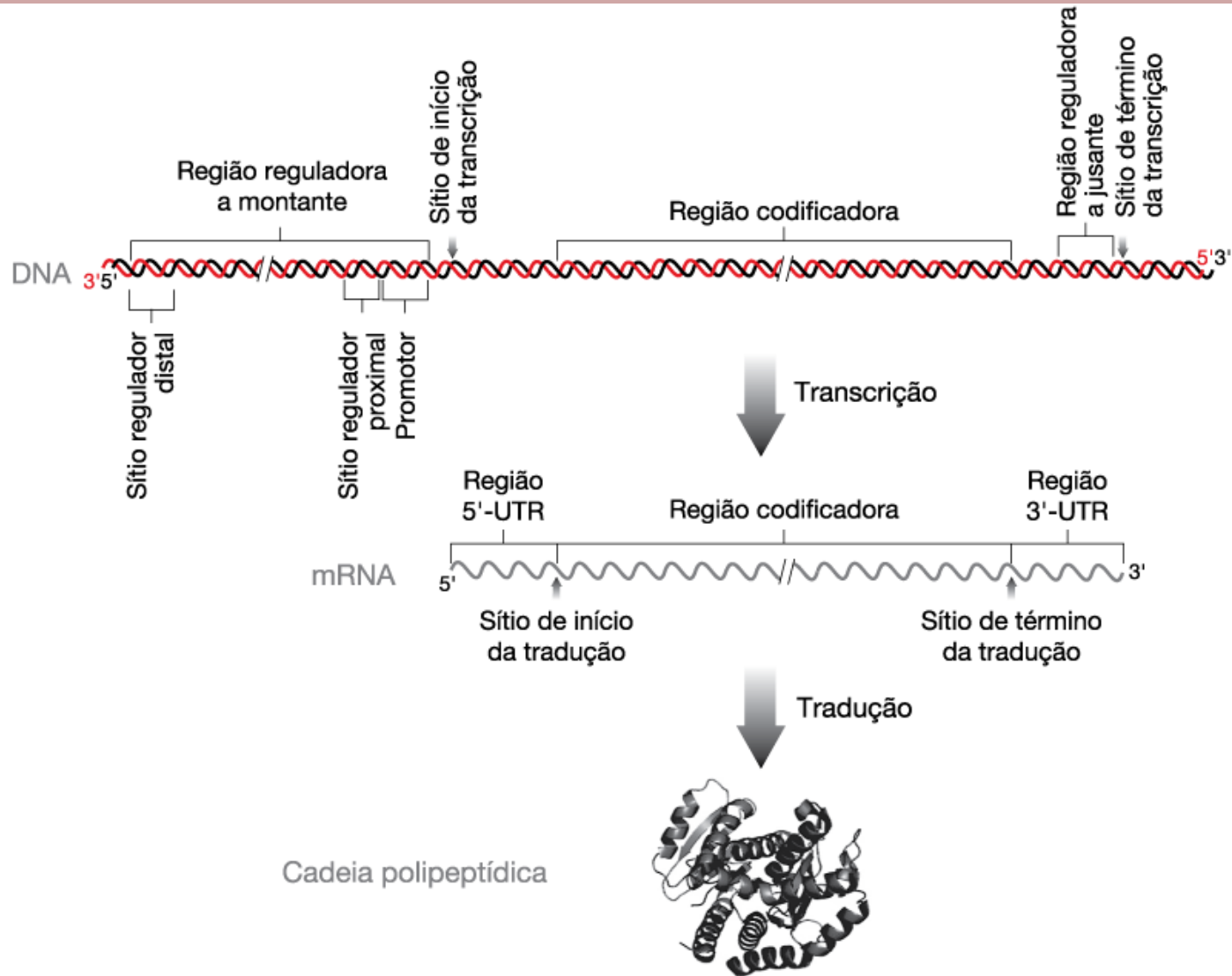
Procaríotos



Processo de transcrição e tradução são compartimentalizados em células eucarióticas.



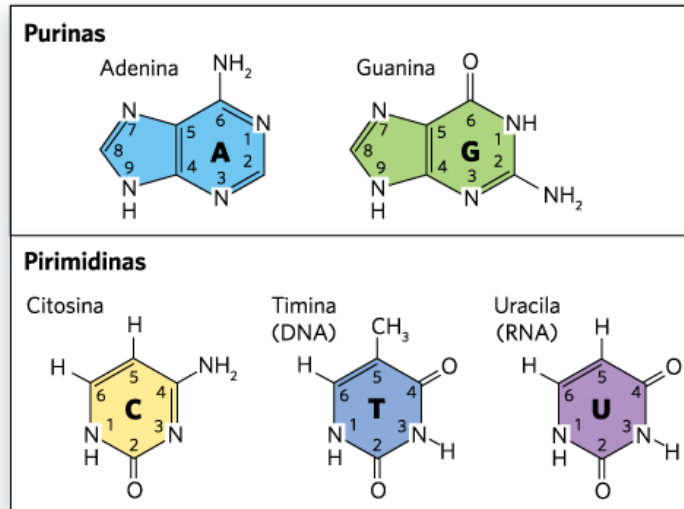
Qual a estrutura de um gene que codifica proteínas?



Funcionalmente, um gene é maior do que a região que codifica a proteína

Recordando a estrutura dos ácidos nucleicos

(a)



As bases nitrogenadas presentes no RNA podem formar pares de base com outra molécula de RNA ou com o DNA!

(b)

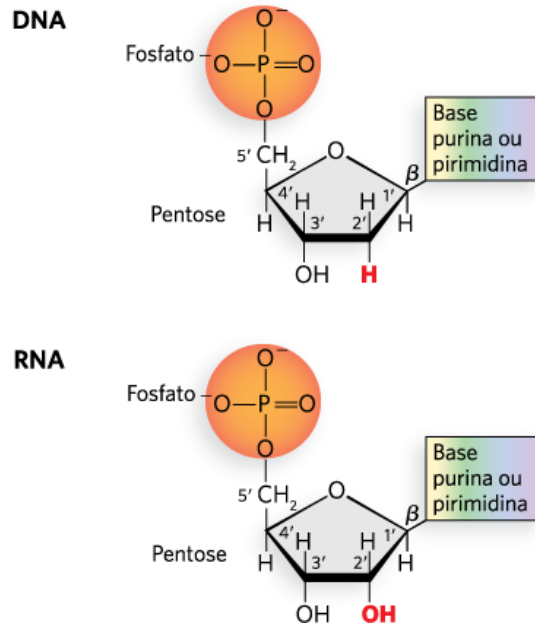
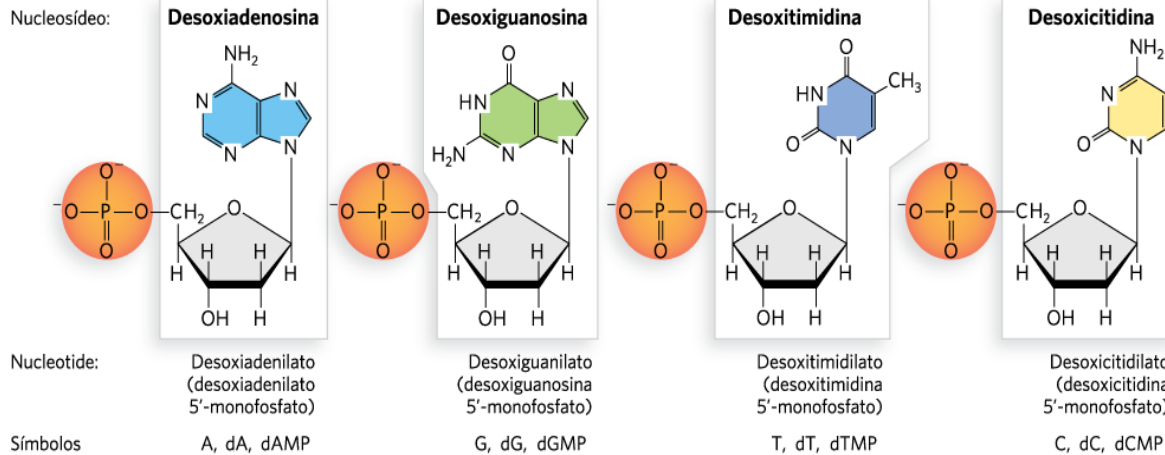


FIGURA 6-2 Composição química dos nucleotídeos. (a)

As bases são purinas, com anéis de nove membros, ou pirimidinas, com anéis de seis membros, com a indicação do sistema de numeração. No DNA e no RNA, as purinas são adenina e guanina; no DNA, as pirimidinas são citosina e timina; no RNA, as pirimidinas são citosina e uracila. (b) Os nucleotídeos consistem em um fosfato, uma pentose (açúcar) e uma base heterocíclica; os carbonos no anel da pentose são numerados como mostrado, com os números seguidos por um apóstrofo (') para diferenciá-los dos átomos numerados das bases. No DNA, a pentose é a 2'-desoxirribose, que não possui o grupo hidroxila no carbono 2' (em vermelho); no RNA, o açúcar é a ribose, que inclui a 2'-hidroxila. Uma ligação glicosídica liga o carbono 1' da ribose ou desoxirribose à base; o β indica a direção da base em relação ao anel da pentose.

Recordando a estrutura dos ácidos nucleicos

(a) Desoxirribonucleotídeos



(b) Ribonucleotídeos

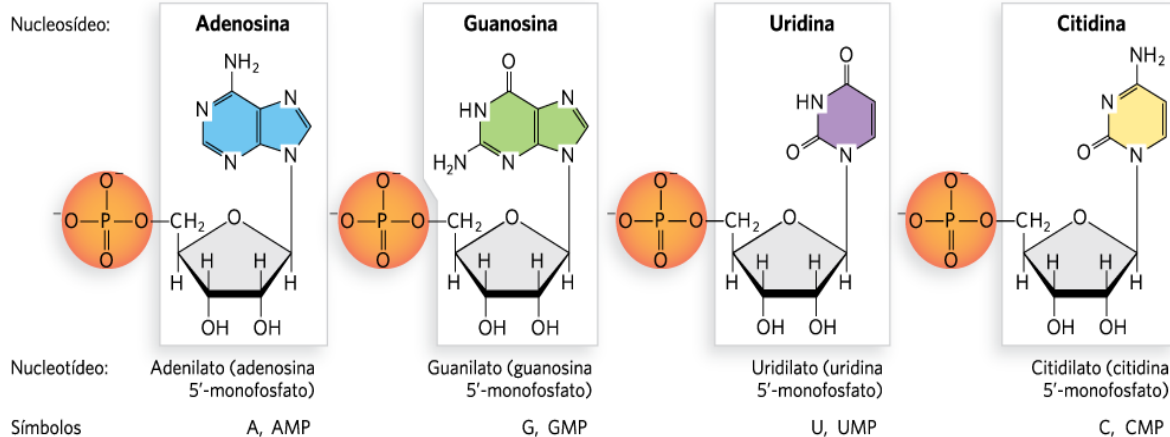
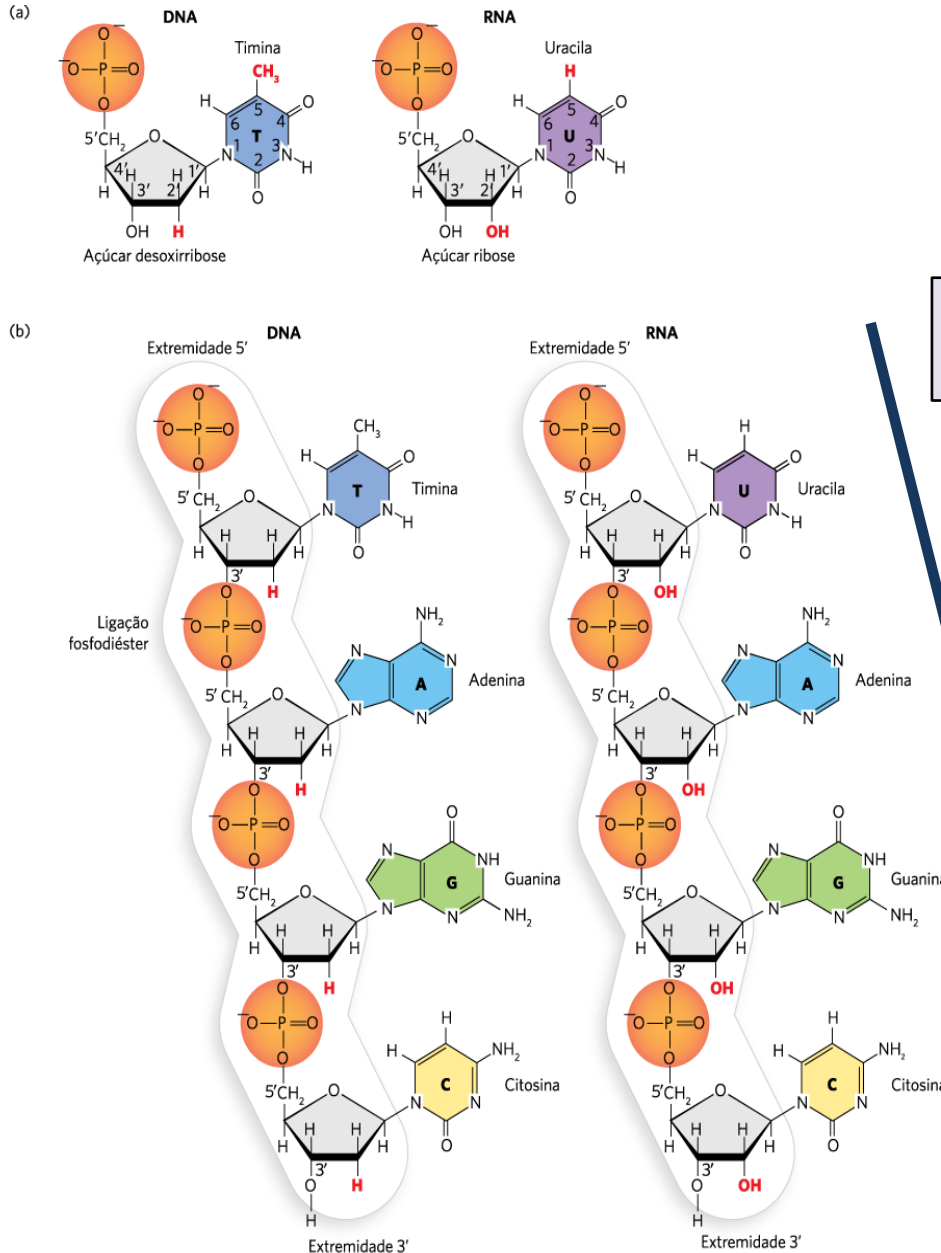


FIGURA 6-4 Desoxirribonucleotídeos e ribonucleotídeos dos ácidos nucleicos. Todos os nucleotídeos estão ilustrados nas suas formas predominantes em pH neutro. (a) Desoxirribonucleotídeos do DNA. (b) Ribonucleotídeos do RNA.

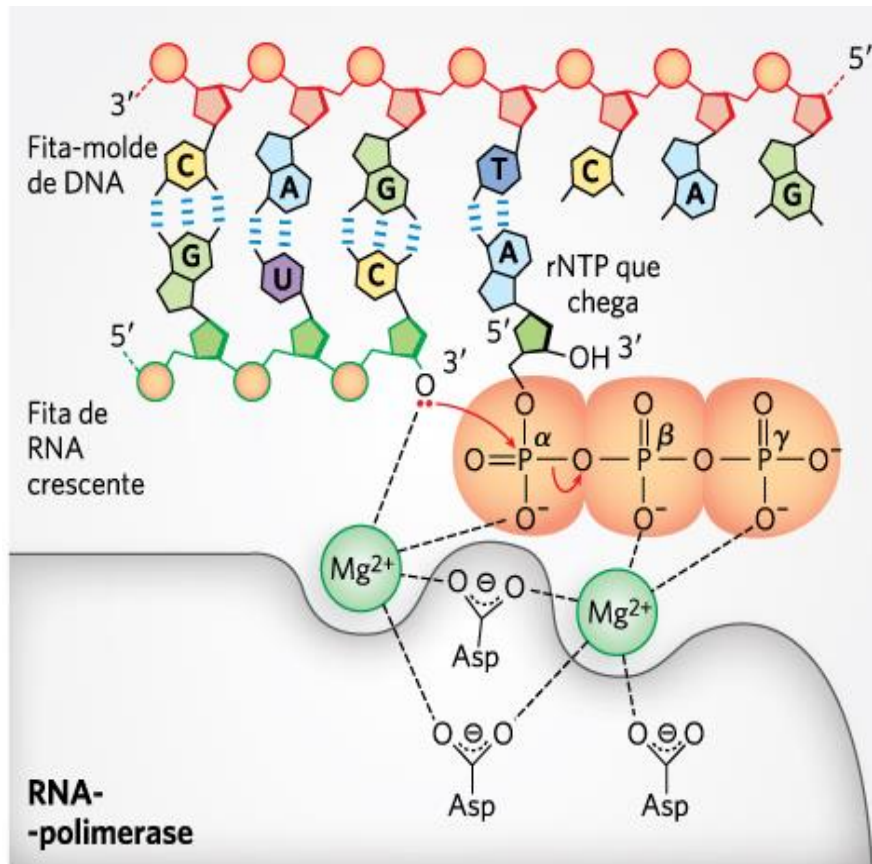
O RNA tem polaridade



Qual é o sentido da síntese de RNA?

5' – 3' !!!!!!! , ou seja, a cadeia cresce pela adição de ribonucleotídeos a uma extremidade 3' OH livre, exatamente como o DNA!

Mecanismo de ação da RNA polimerase



A polimerização ocorre por meio de ataque nucleofílico do oxigênio, da posição 3' do RNA, no carbono fosfato α do nucleotídeo que está sendo adicionado.

Por isso a transcrição ocorre no sentido 5' - 3'.

FIGURA 15-3 Mecanismo químico da síntese de RNA. A adição de um rNTP a um transcrito crescente é uma reação dependente de Mg^{2+} que produz uma ligação fosfodiéster 5'→3'.

A RNA polimerase NÃO precisa de primer

Qual é a fita a ser lida pela RNA polimerase??

Qual destas fitas a RNA polimerase “lê” durante a síntese de RNA?

Em qual sentido a RNA polimerase “lê” esta fita?



Qual é a fita a ser lida pela RNA polimerase??

Qual destas fitas a RNA polimerase “lê” durante a síntese de RNA?

Em qual sentido a RNA polimerase “lê” esta fita?



Por definição, sempre que se apresenta a sequência de um gene, é mostrada apenas a **fita codificadora** (aquela que é semelhante ao RNA), a não ser que explicitamente detalhado no texto.

Fita molde é aquela lida pela RNA polimerase

A síntese de RNA ocorre no sentido 5' → 3'

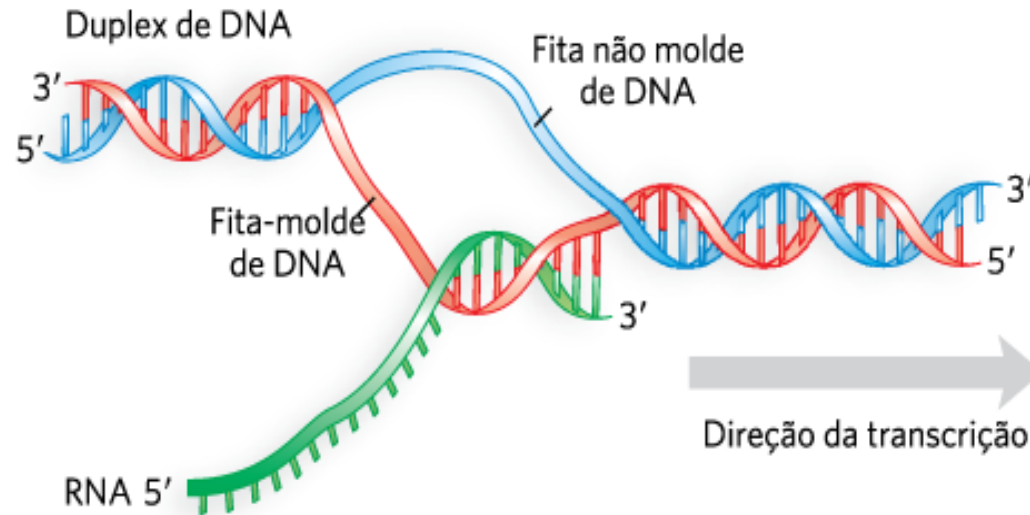


FIGURA 15-1 Transcrição do DNA em RNA. O duplex de DNA se abre, permitindo que uma cópia de RNA complementar seja produzida a partir de uma fita (molde). A síntese ocorre na direção 5'→3' na fita de mRNA.

A RNA polimerase lê a fita molde no sentido 3' - 5'

O gene bacteriano

Como encontrar um gene em meio a um mar de DNA?

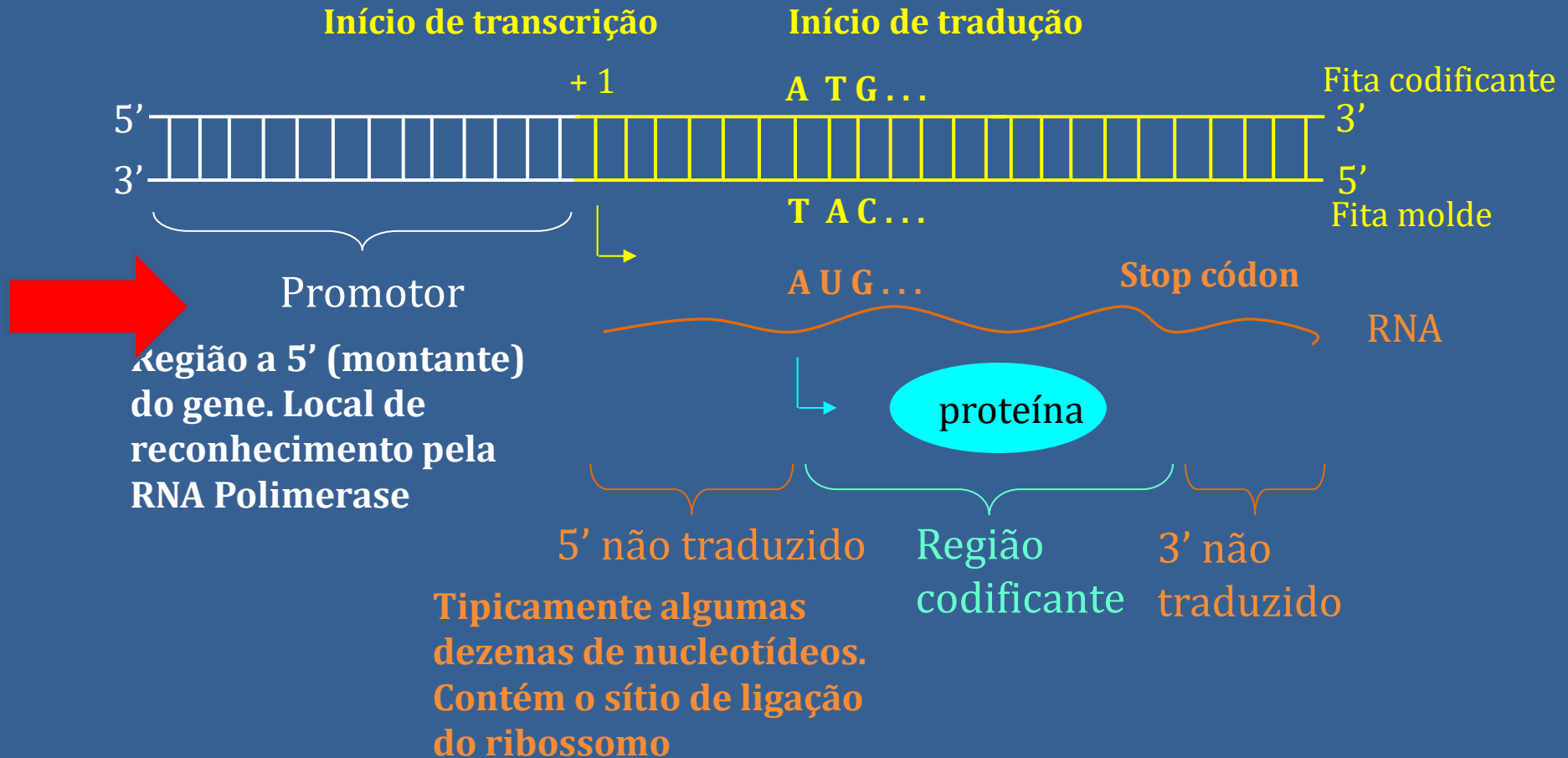


Por convenção, a transcrição inicia no nucleotídeo +1 e segue a jusante (downstream).

O nucleotídeo imediatamente anterior (upstream) é a posição -1.

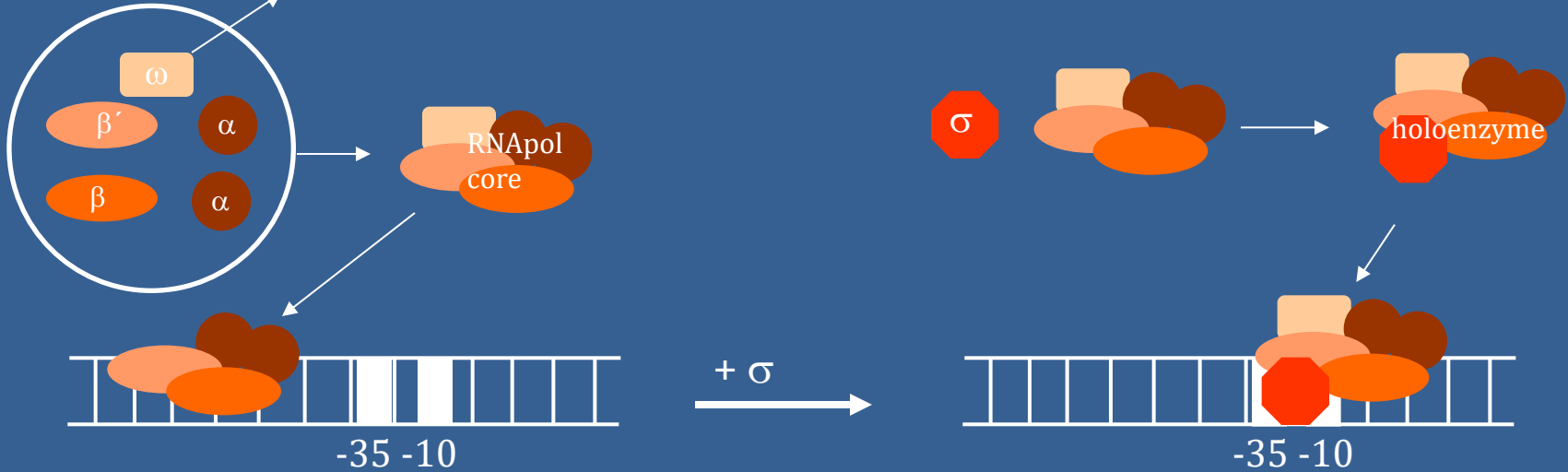
O gene bacteriano

Como encontrar um gene em meio a um mar de DNA?



Fatores Sigma e o reconhecimento de promotores em bactérias

Não é essencial, mas estabiliza a enzima e auxilia na montagem das subunidades.



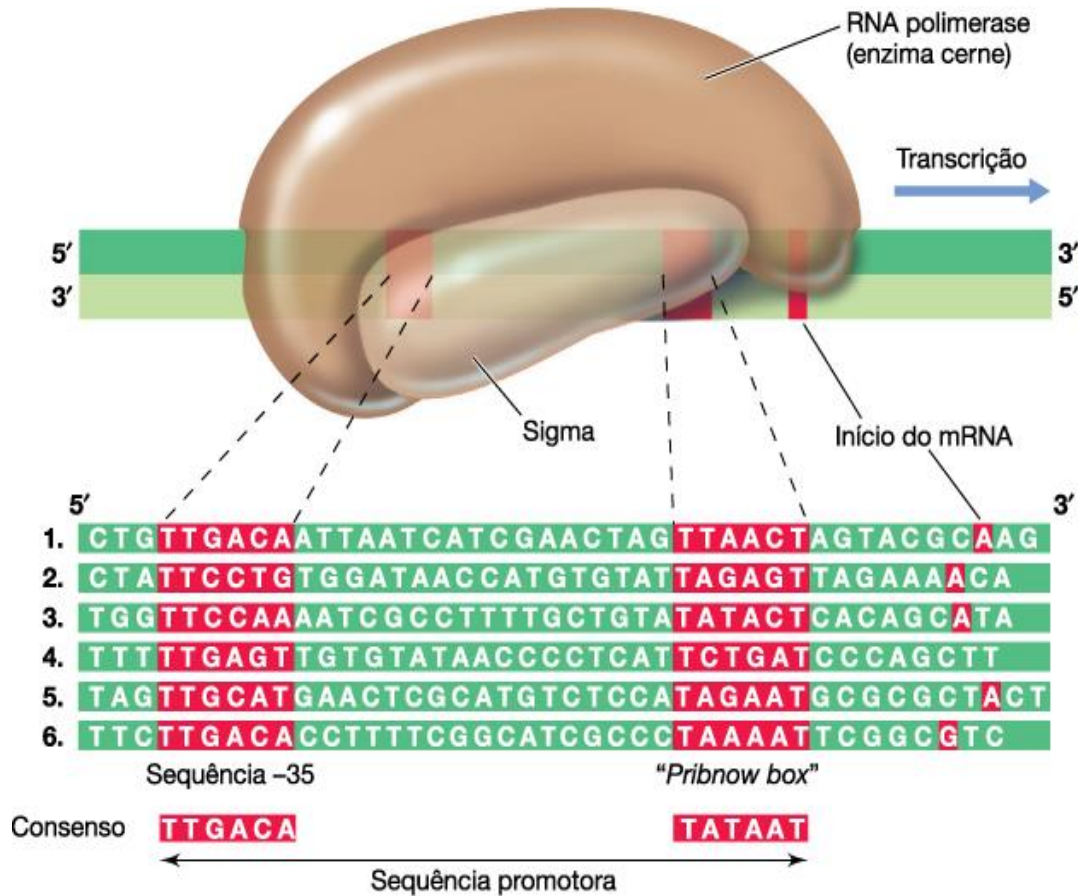
Ligação inespecífica

Reconhecimento das regiões -10 e -35 pelo fator sigma

Abertura da dupla fita e iniciação da transcrição

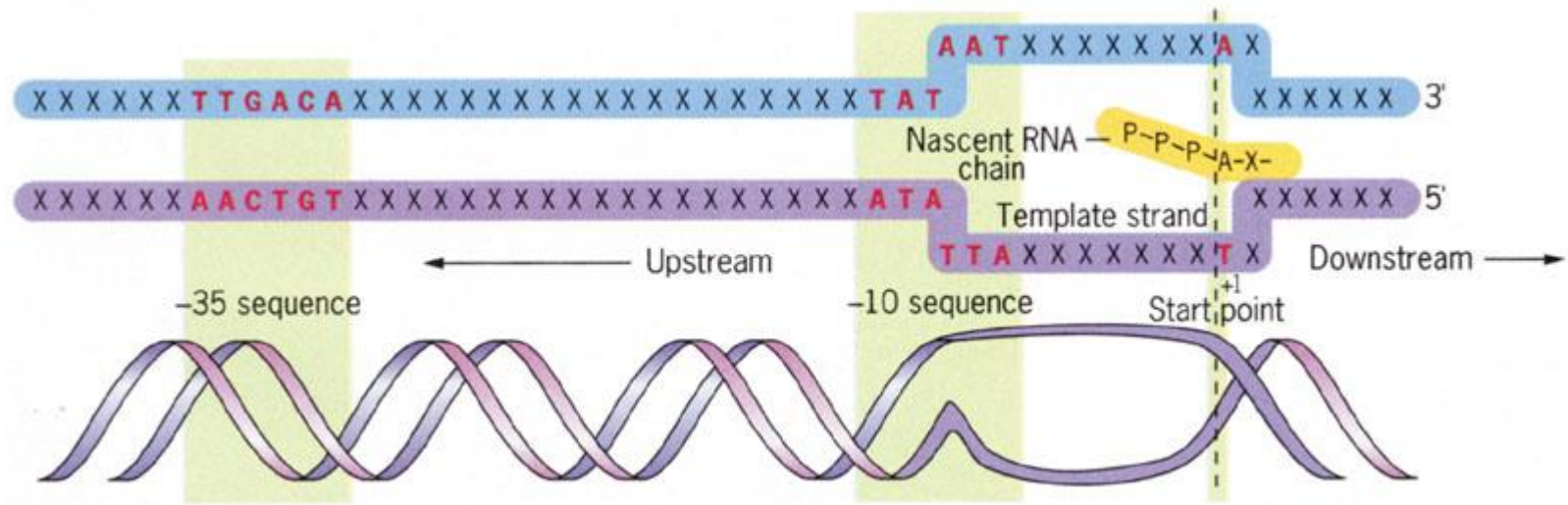
Fatores Sigma e o reconhecimento de promotores em bactérias

Fatores Sigma



Fatores sigma reconhecem seqüências nas regiões -35 e -10, e promovem uma ligação específica da RNA polimerase, posicionando-a para o início de transcrição

Início da transcrição



A dupla fita de DNA se abre em torno da região -10, permitindo o início da transcrição

A RNA polimerase NÃO precisa de primer

Início da transcrição

A “bolha” de transcrição

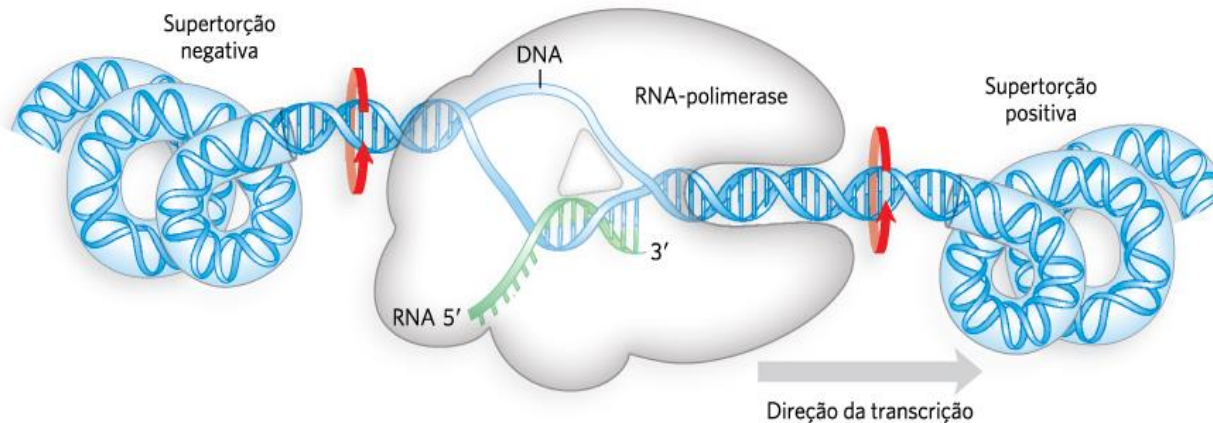
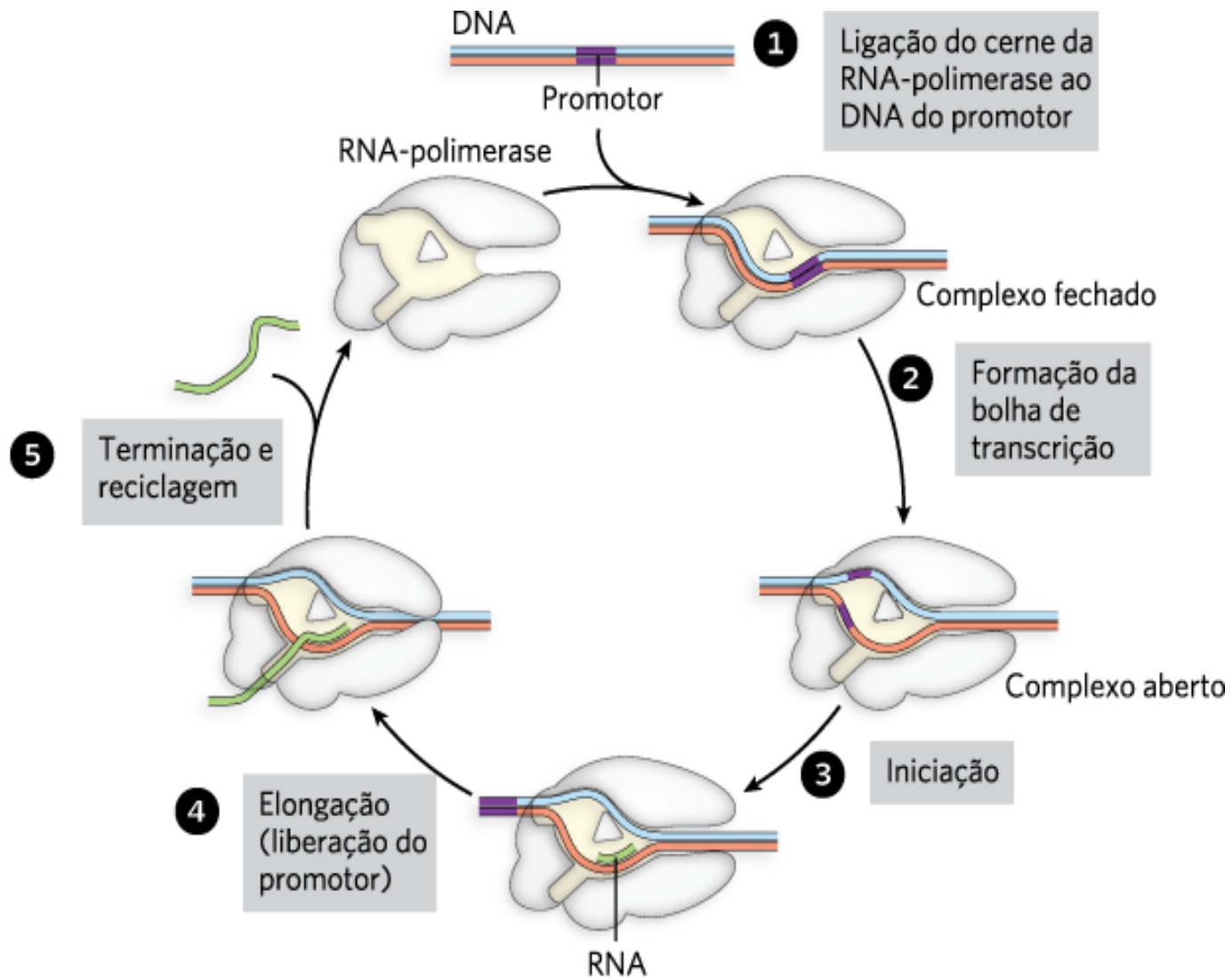


FIGURA 15-6 A “bolha” de transcrição. O duplex de DNA é desenrolado por cerca de 17 pb, formando uma bolha e permitindo que a RNA-polimerase acesse a fita-molde. A super-torção do DNA ocorre à frente e após a bolha de transcrição.

- ✧ A RNA polimerase cobre aproximadamente 35 pares de bases do DNA
- ✧ Em torno de 17 pares de bases separados
- ✧ O híbrido de DNA-RNA ocupa cerca de 9 pares de base
- ✧ Ocorre super-torção a frente a após a bolha de transcrição

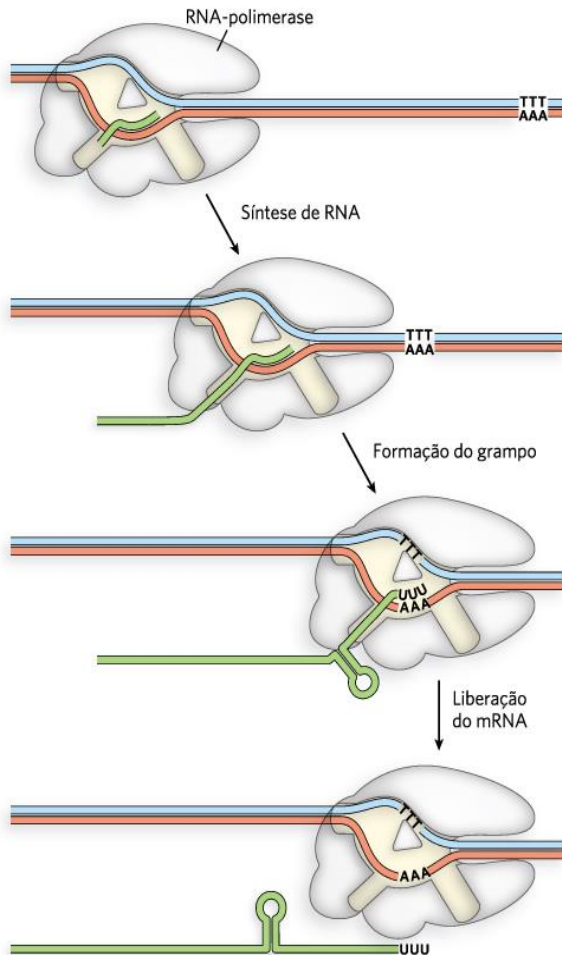
A transcrição



Término da transcrição

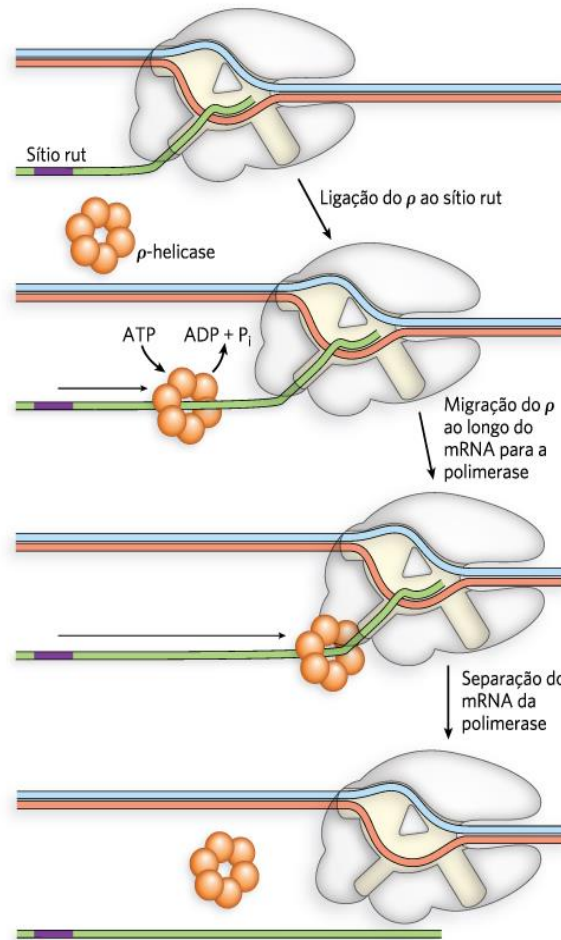
Terminação intrínseca ou independente de Rho

(a) Terminação independente de ρ

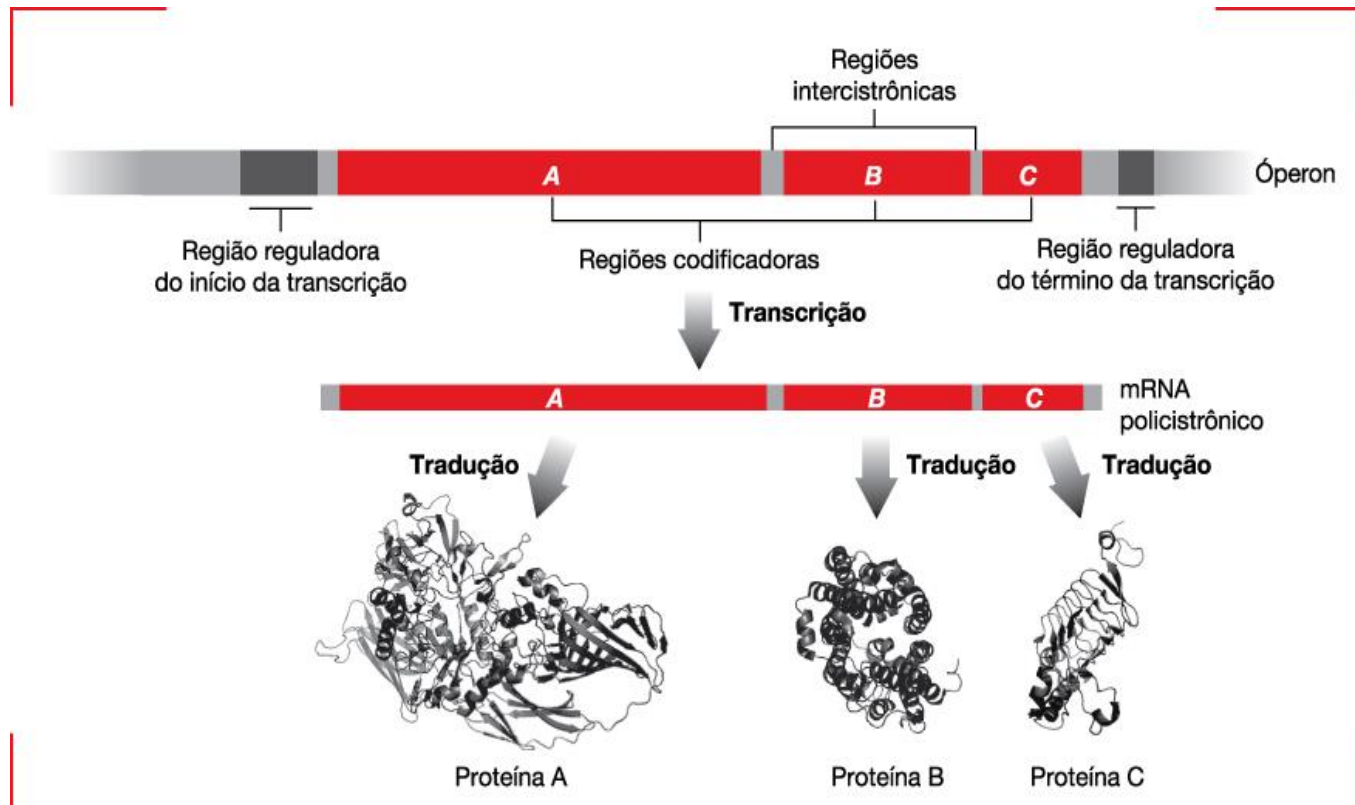


Terminação dependente de Rho

(b) Terminação dependente de ρ



Organização dos genes bacterianos



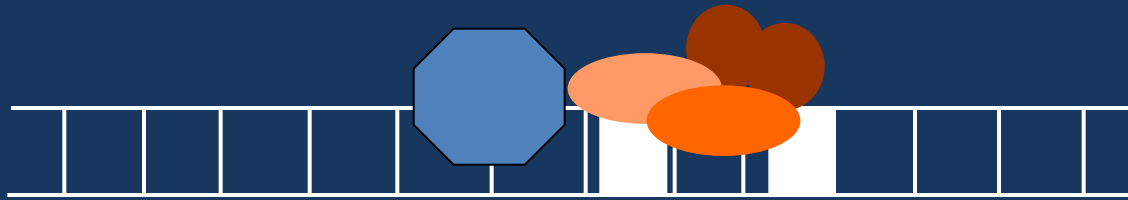
Sistema de operon. Qual é a vantagem?

Controle da Transcrição



Controle transcricional

Dois tipos básicos: Ativador e repressor



Ativador Transcricional

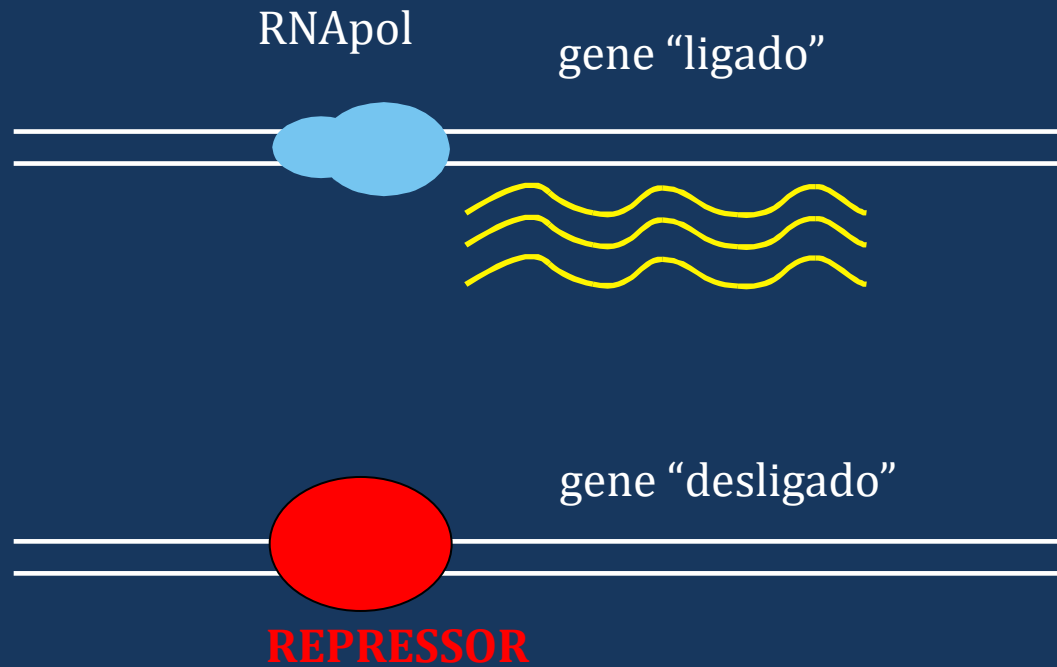
Ajuda a RNA polimerase a encontrar um promotor



Repressor

Atrapalha a RNA polimerase a encontrar um promotor

Controle transcricional: regulação por repressor



Controle transcricional: regulação por ativador

RNApol

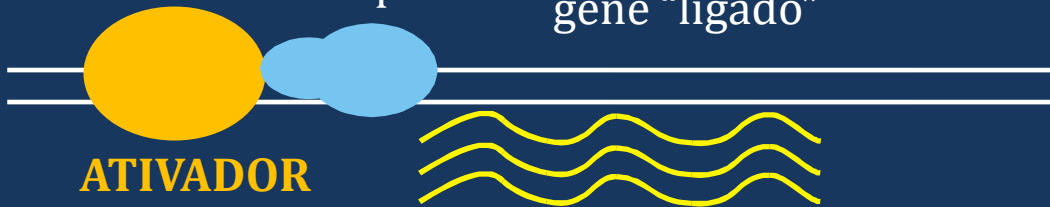


Promotor fraco, não reconhecido pela RNA polimerase
gene “desligado”



RNApol

gene “ligado”



ATIVADOR

Controle transcricional: regulação por ativador

Operon Maltose

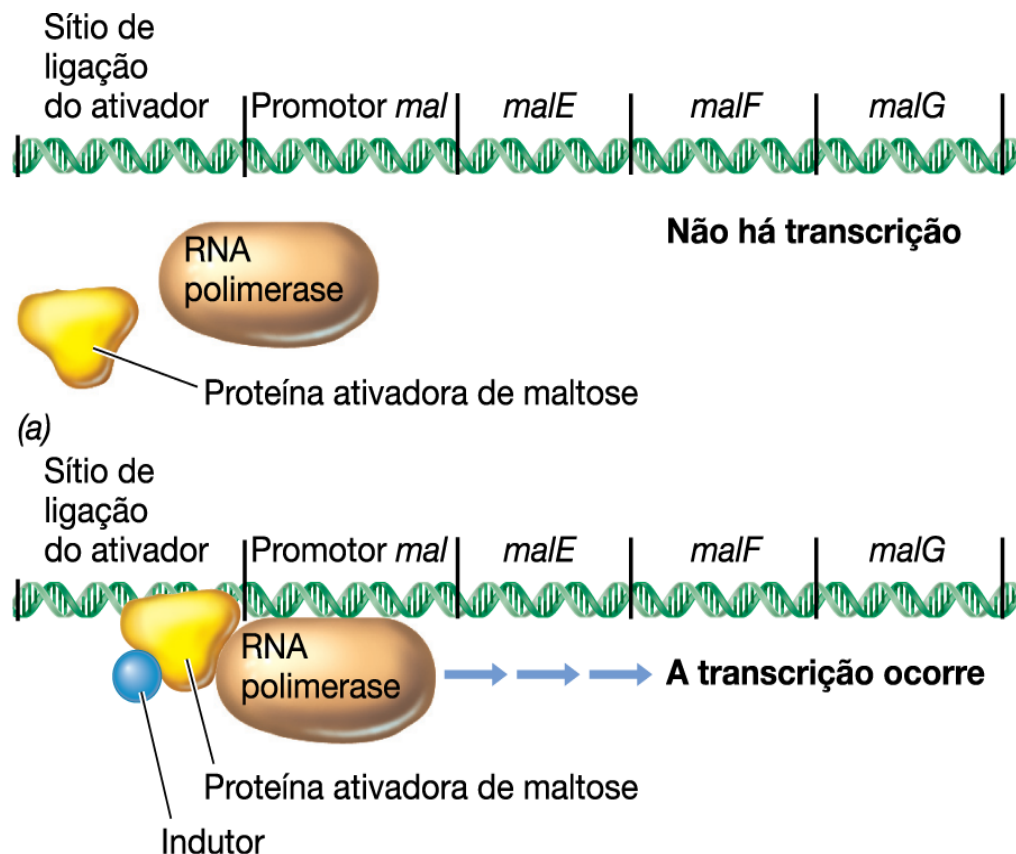
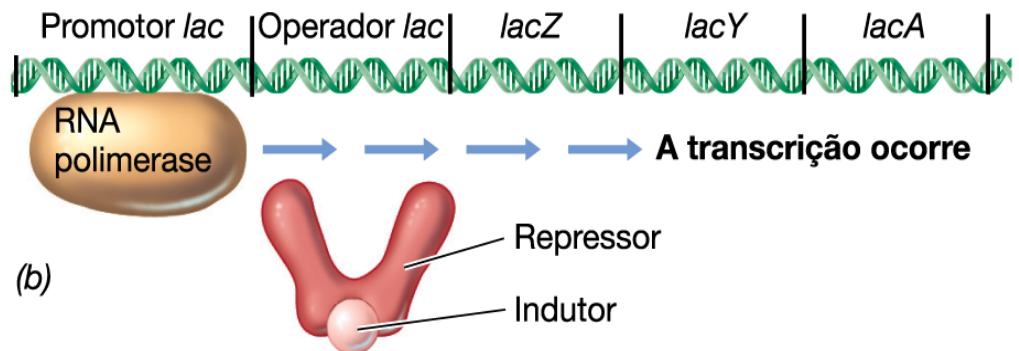
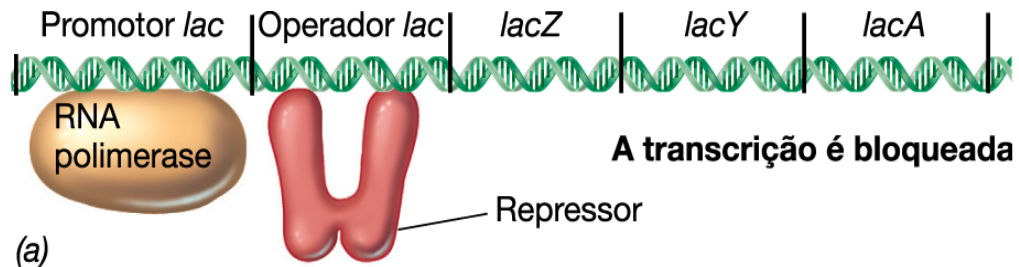


Figura 9.9 Controle positivo da indução enzimática, empregando o operon maltose como exemplo. (a) Na ausência de um indutor, nem a proteína ativadora, nem a RNA polimerase, são capazes de se ligar ao DNA. (b) Uma molécula indutora (no caso do operon *malEFG*, o açúcar maltose) liga à proteína ativadora (MalT) que, por sua vez, liga-se ao sítio de ligação do ativador. Isso permite à RNA polimerase ligar-se ao promotor e iniciar a transcrição.

Controle transcricional: regulação por repressor



Operon *lac*

Figura 9.8 Processo de indução enzimática, utilizando o operon lactose como exemplo. (a) Uma proteína repressora liga-se à região operadora, bloqueando a ligação da RNA polimerase. (b) Uma molécula indutora liga-se ao repressor, inativando-o e impedindo sua ligação ao operador. A RNA polimerase então transcreve o DNA e sintetiza o mRNA codificado por aquele operon. No caso do operon *lac*, o açúcar alolactose é o indutor que se liga ao repressor de lactose.

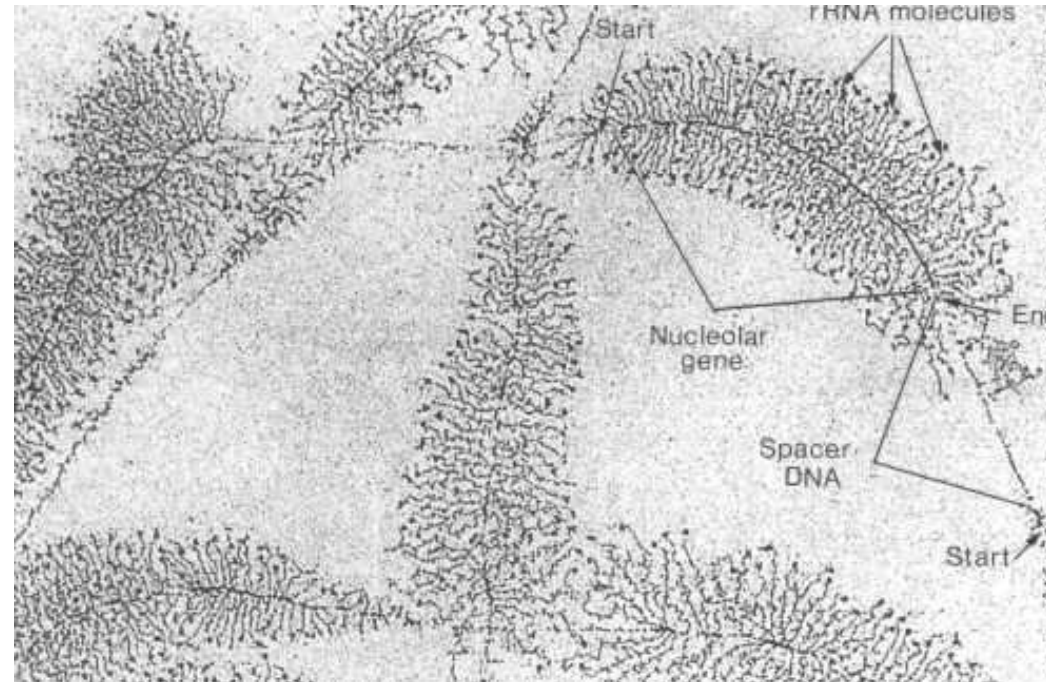
Tipos de RNA polimerases eucarióticas

RNA polimerases: uma para cada um dos tipos majoritários de RNA

RNA Pol I: rRNAs grandes

RNA Pol II: mRNAs

RNA Pol III: tRNAs, rRNA 5S



Transcrição pela RNA Pol I: “Christmas trees” nos nucléolos

RNA polimerase II de eucariotos X RNA polimerase bacteriana

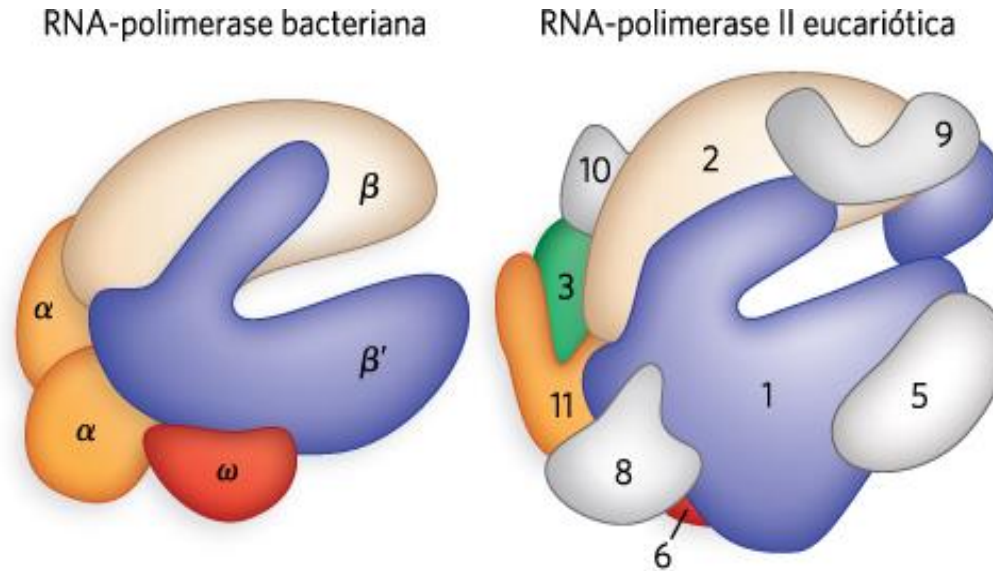
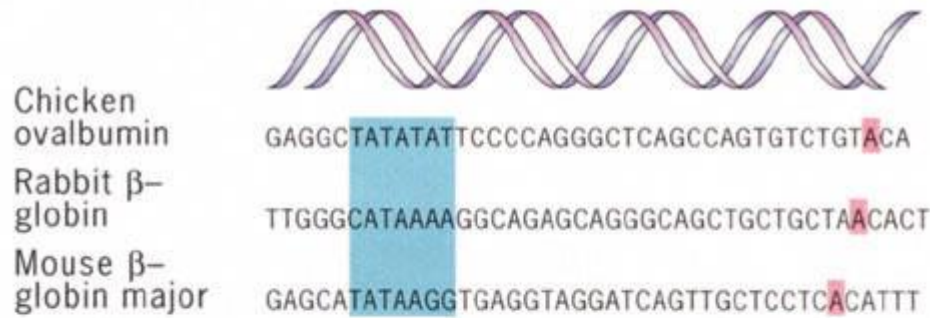


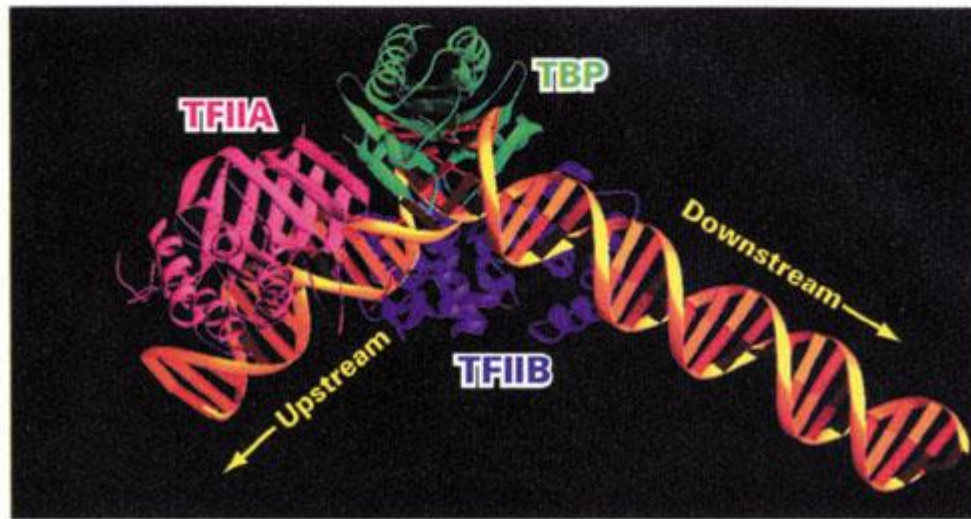
FIGURA 15-21 Elementos estruturais da RNA-polimerase bacteriana e Pol II eucariótica. Embora a Pol II tenha mais subunidades com componentes adicionais, ela possui similaridades estruturais óbvias com a RNA-polimerase bacteriana. Os números nas subunidades da Pol II indicam RBP1, RBP2 e assim por diante.

Promotores de eucariotos

TATA Box: reconhecido pela TBP (TATA Binding Protein)



(a)



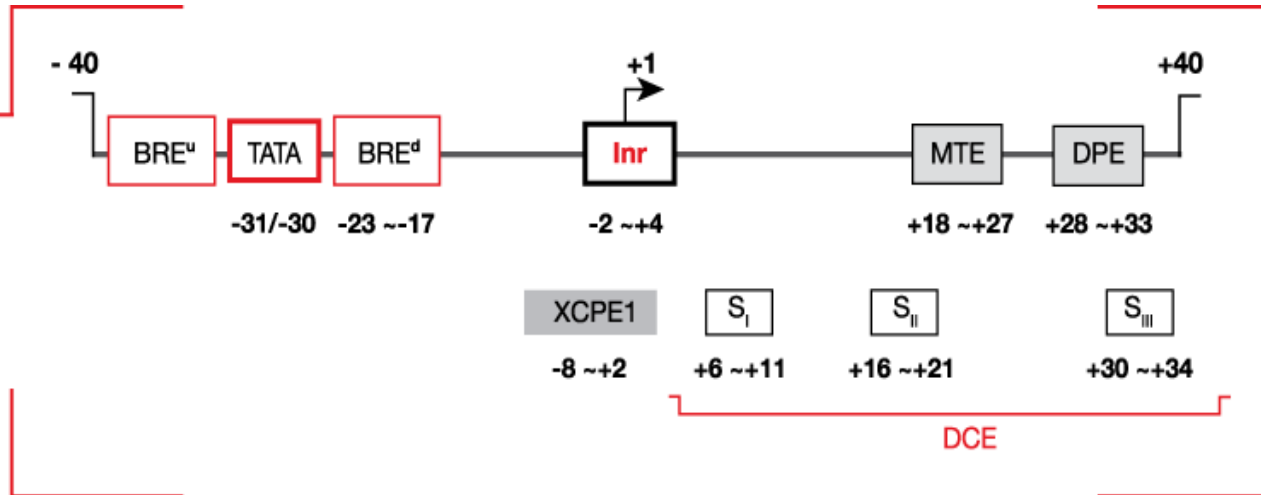
(b)

Promotores eucarióticos também possuem sequências típicas que são reconhecidas pelo aparato de transcrição

Promotores de eucariotos – outros elementos

Figura 10.3

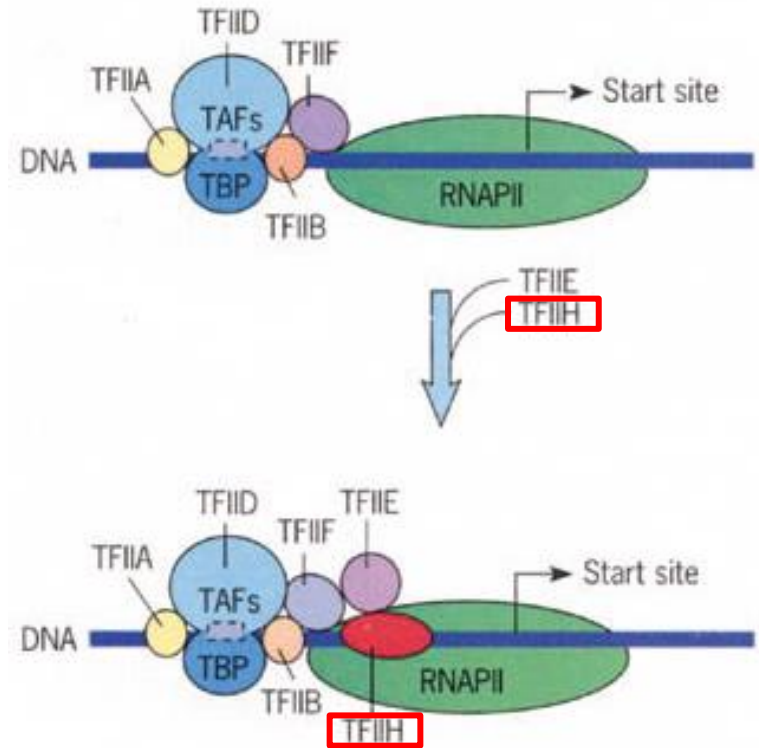
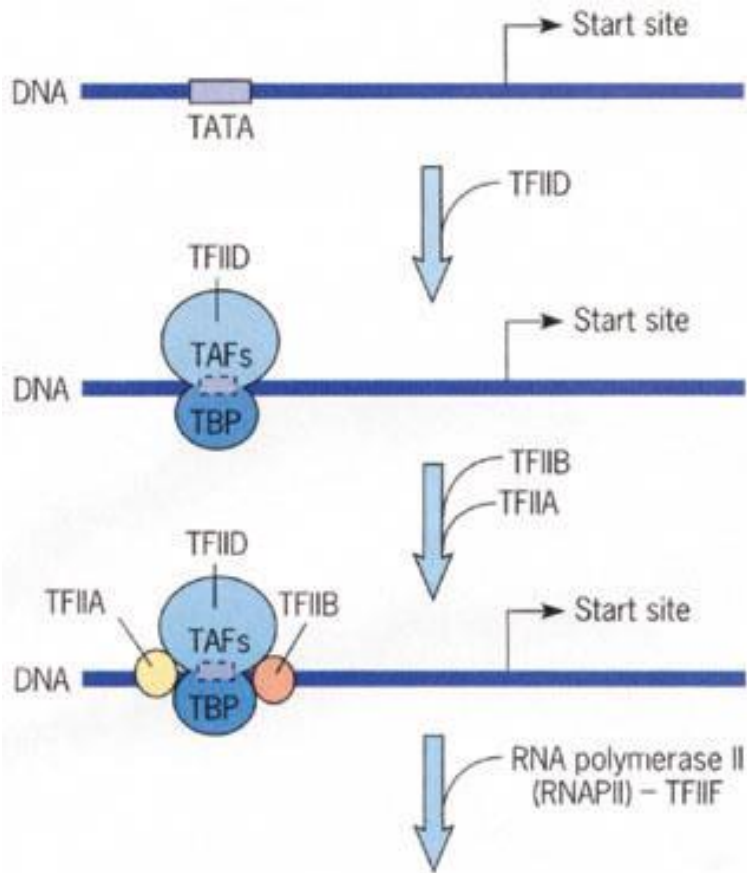
Modelo esquemático de organização de um promotor principal de eucariotos. (Os diferentes elementos deste promotor são descritos no **Quadro** da página 215)



Vários outros elementos estão presentes nos promotores eucarióticos, auxiliando no seu reconhecimento pelo aparato de transcrição

Promotores de eucariotos - reconhecimento

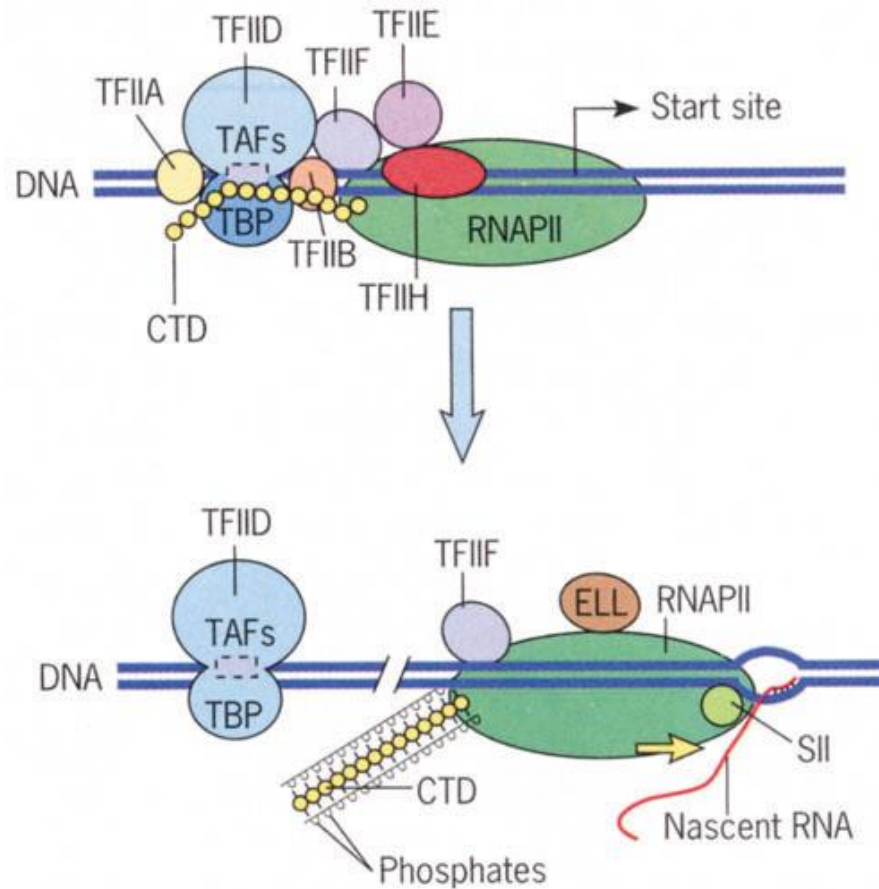
O reconhecimento de promotores eucarióticos requer o auxílio de vários **FATORES DE TRANSCRIÇÃO GERAIS**



Formação do complexo de pré-iniciação (PIC)

O complexo TFIIH possui as atividades de quinase e helicase

A RNA Polimerase é fosforilada em seu Domínio C-terminal (CTD)



Esta fosforilação é mediada pelo fator TFIIH, e converte a RNA polimerase em uma enzima altamente processiva, que deixa os fatores de transcrição para trás e começa a fase de alongação.

Visão geral da transcrição mediada pela RNA Pol II

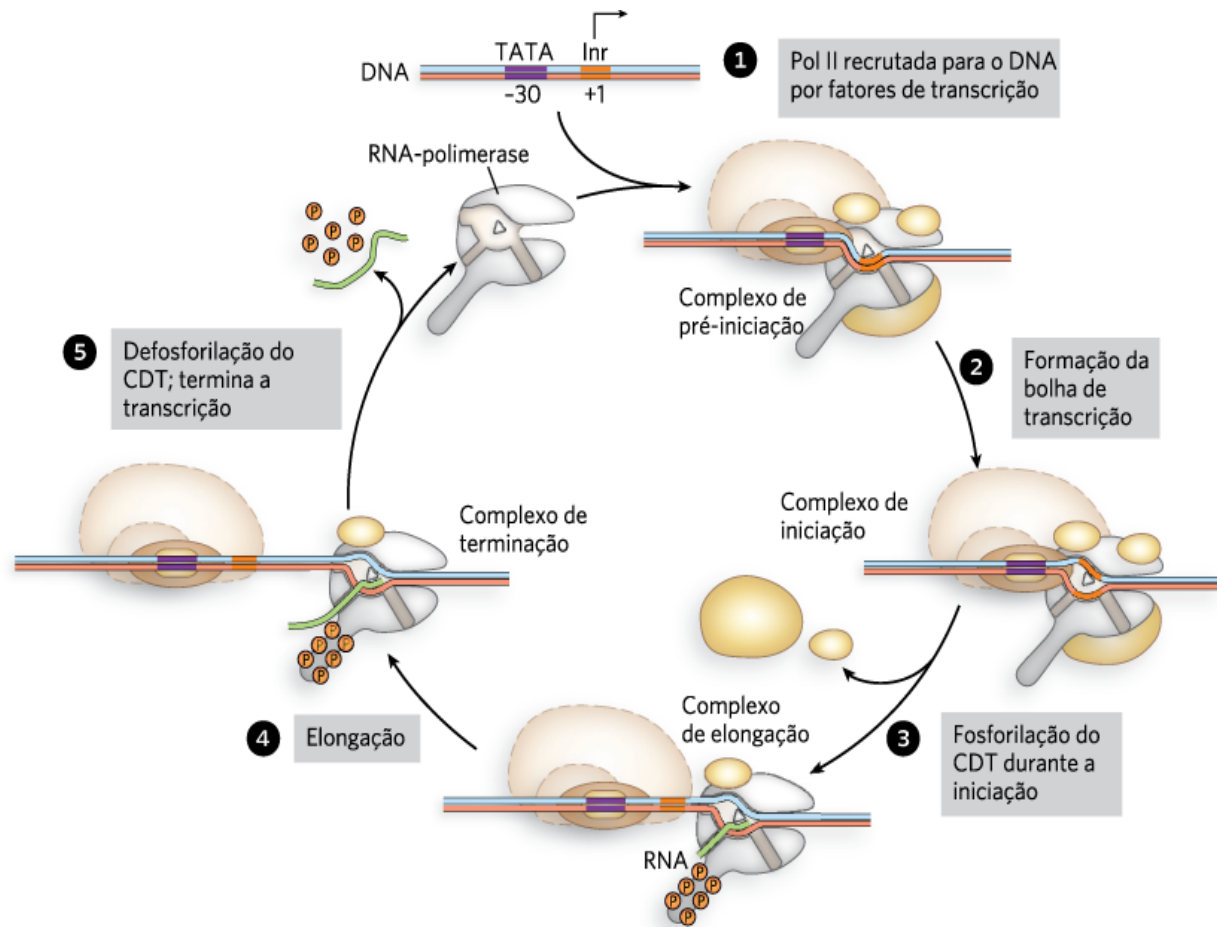


FIGURA 15-22 Transcrição nos promotores da Pol II. As fases da transcrição pela Pol II — montagem, iniciação, elongação e terminação — estão associadas a proteínas características, conforme descrito no texto. A montagem organizada e a dissociação dos fatores conduzem o processo adiante.

Exercício 1

- A figura 1 representa o processo de transcrição de dois genes de RNA ribossômicos adjacentes, em uma foto de microscopia eletrônica. Interpretando a figura, qual o movimento da RNA polimerase: da esquerda para a direita ou da direita para a esquerda? Por que? Por que as moléculas de RNA parecem menores do que o DNA que as codifica?

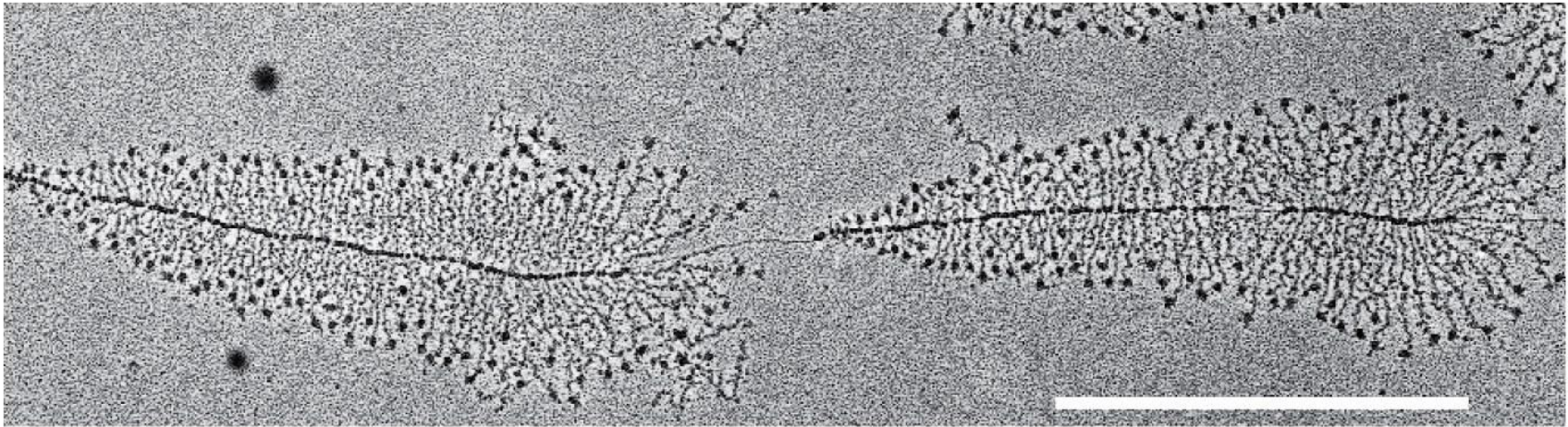


Figure 6-1 MBoC5: The Problems Book (© Garland Science 2008)

Figura 1. Microfotografia de genes de RNA ribossômico .

Exercício 2

- A sequência de DNA abaixo pode ser utilizada para transcrição de RNA. Qual seria a sequência da molécula de RNA? E se a RNA polimerase interrompesse a transcrição na sequência CCT, qual seria a sequência do RNA transcrito? Indique a orientação da fita.

5'- GTACATGCGGATCCGGACTGGACCTAG-3'

3'- CATGTACGCCTAGGCCTGACCTGGATC-5'