

**TRANSCRIÇÃO**

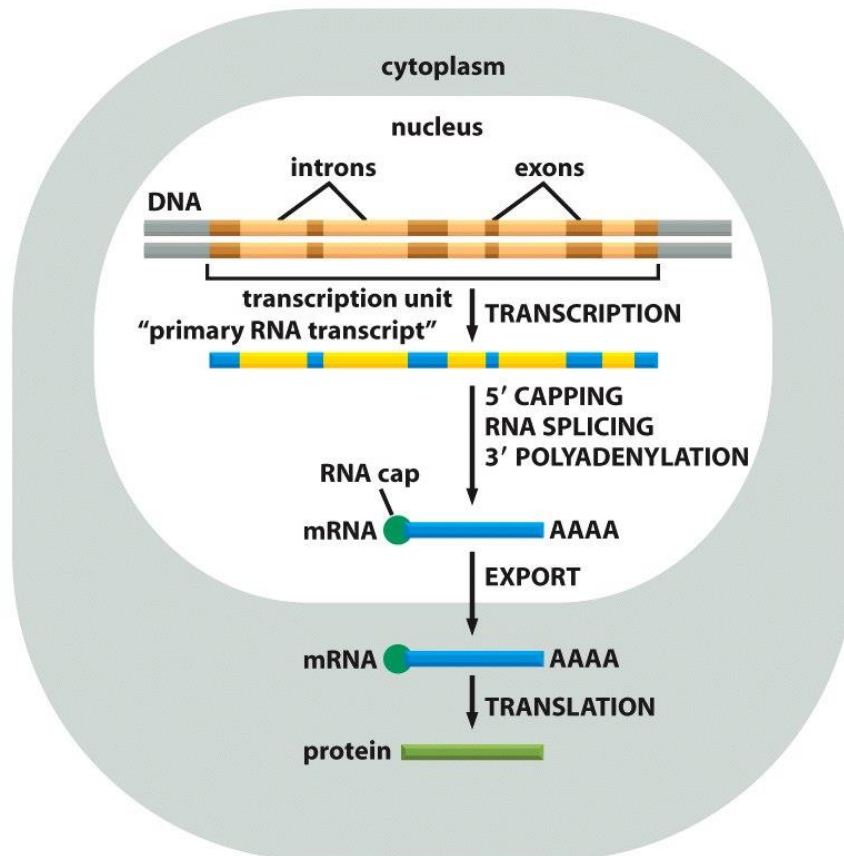
# Transcrição

- Síntese de todos os RNAs da célula
- Conecta o genótipo ao fenótipo
- É um dos principais processos em que ocorre a **regulação da expressão gênica**
- Transcrição e síntese de RNA nem sempre são sinônimos

# RNA: papel essencial na transferência da mensagem hereditária contida no DNA para o citoplasma (síntese protéica)

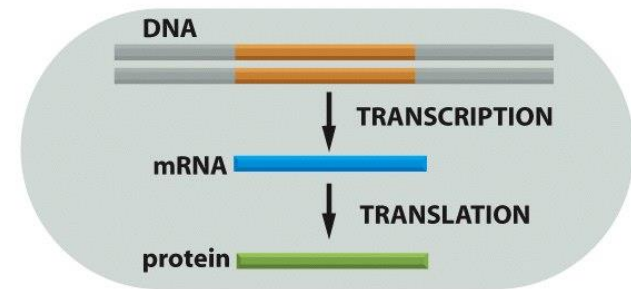
(A)

EUCARYOTES



(B)

PROCARYOTES

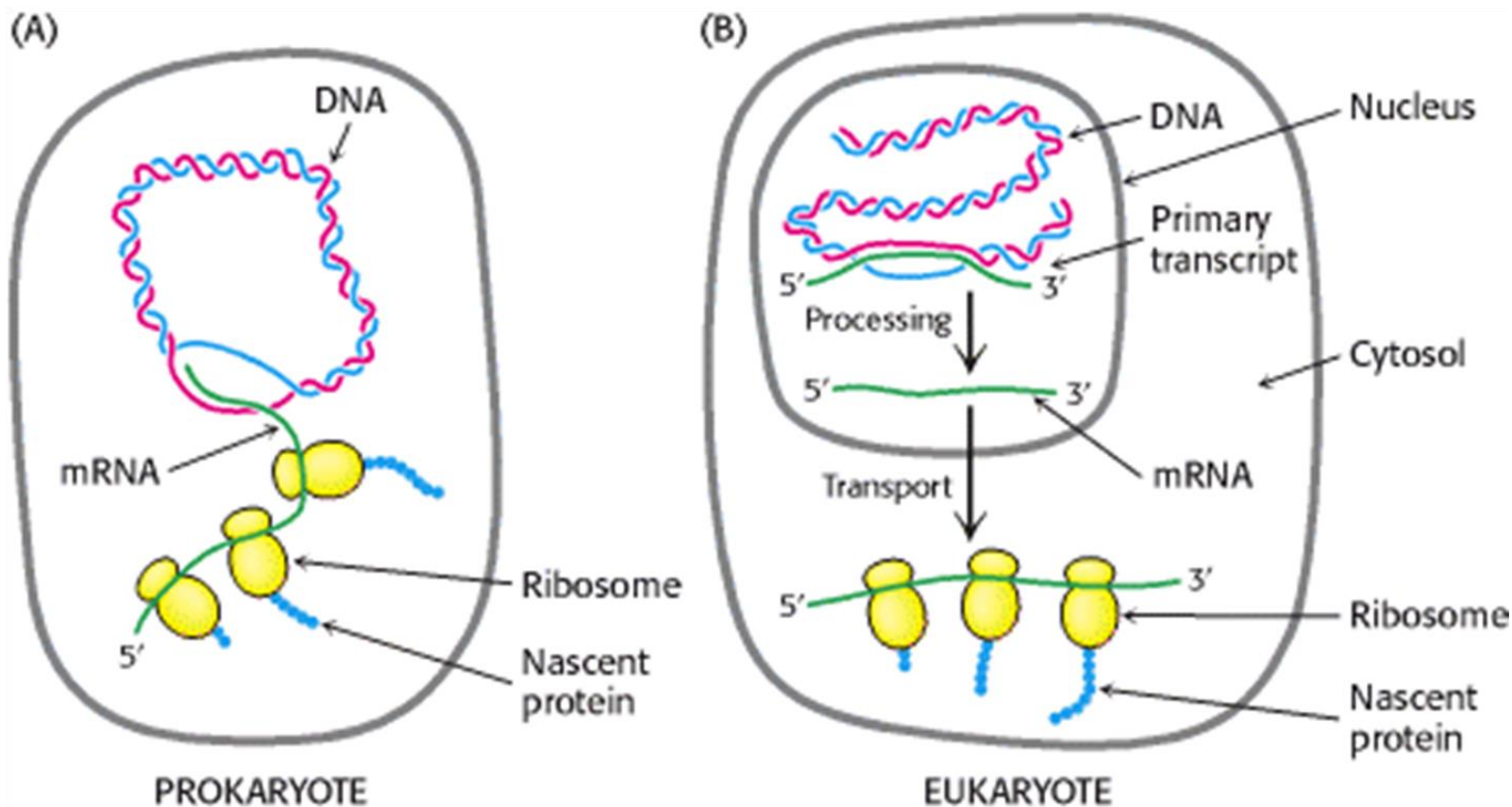


Eucariotos: genes interrompidos (introns).

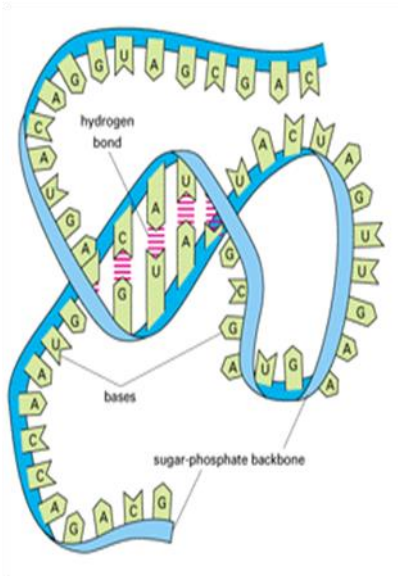
Transcrito primário: é editado em eucariotos, enquanto que em procariotos já é processado pelos ribossomos.

# Transcrição

- É mediada em todas as células por **RNA-polimerases (RNAP)**

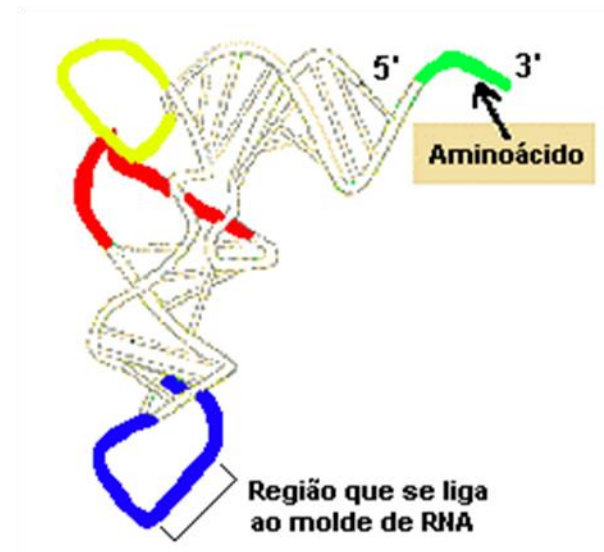


# Tipos de RNA



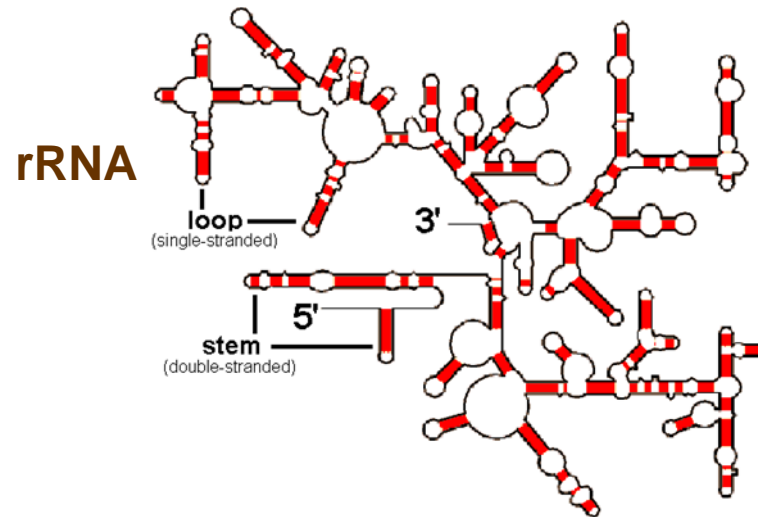
**mRNA**

**tRNA**



RNA<sub>t</sub>: adaptadores entre aa e os codons do RNA<sub>m</sub> durante a tradução. Existe de 1 a 4 RNA<sub>t</sub> para cada aa. 70-90nt. Forma de trevo por pareamentos intramoleculares.

RNAr: componentes estruturais dos ribossomos. Interagem com mais de 50 proteínas ribossomais.



Most  
eukaryotes  
(Tandem array)



Bacteria  
(Dispersed)



IGS: Intergenic Spacer  
ETS: External Transcribed Spacer  
ITS: Internal Transcribed Spacer

**RNAr e RNAt:** são estáveis (estrutura secundária). Sua maturação envolve clivagens por endonucleases

**snRNA:** componentes estruturais dos spliceossomos (nunca deixam o núcleo)

**scRNA:** pequenos RNAs citoplasmáticos envolvidos no transporte de proteínas.

**miRNA e siRNA:** micro RNAs (~22nt) envolvidos na regulação da expressão gênica no nível pós-transcricional.

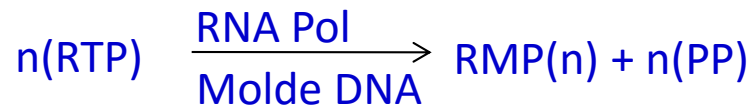
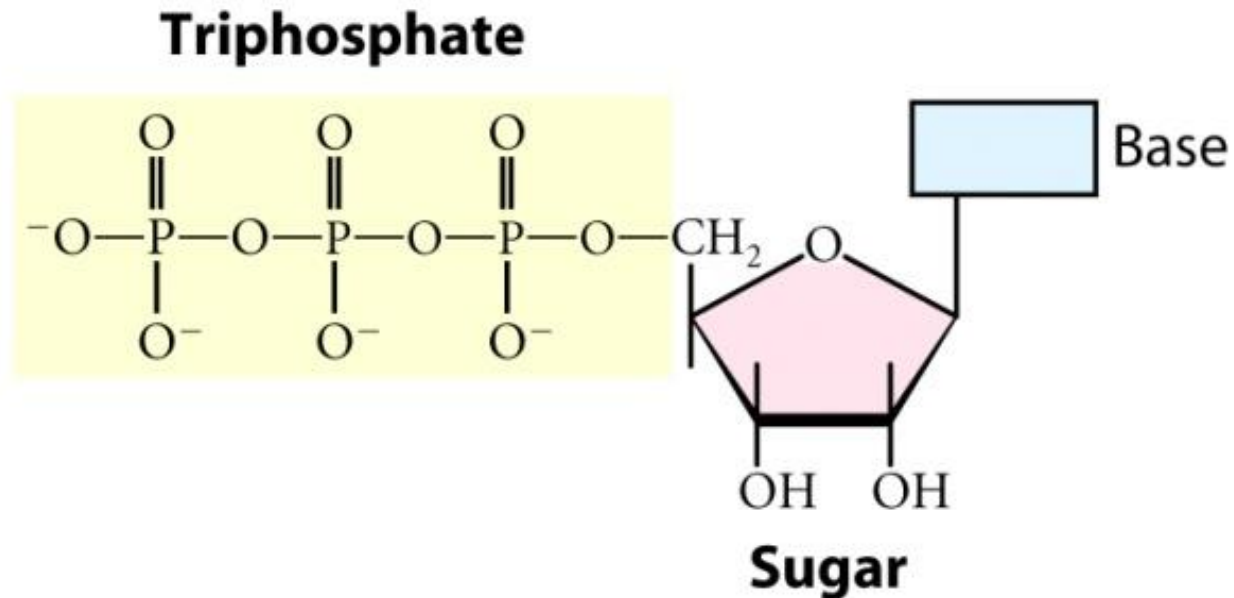
**RNAm:** envolvidos na síntese protéica. Pouco estáveis, principalmente em bactérias (1-3 min).

**piRNA:** maior classe de RNAs não codantes envolvidos no silenciamento epigenético e pós-transcricional.

**lncRNA:** *long non coding RNA*, atuam em vários níveis da regulação da expressão gênica.

# Características gerais da síntese de RNA:

Precusores: ribonucleotídeos trifosfato

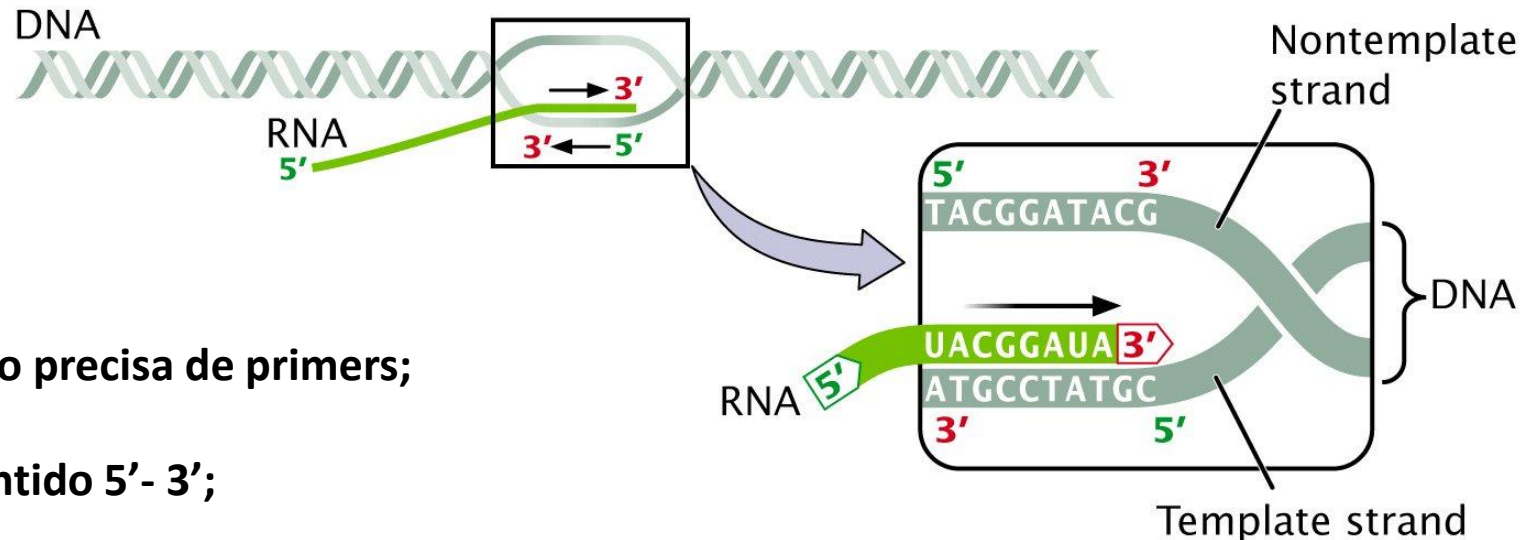




# Características gerais da síntese de RNA:

Apenas 1 fita de DNA é usada como molde

Fita de RNA é = a fita de DNA complementar ao molde;



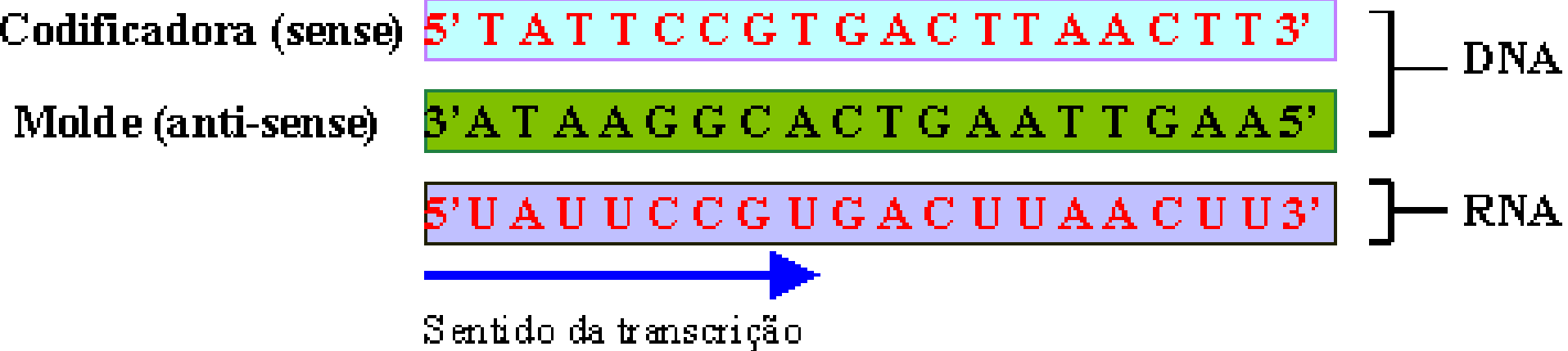
Não precisa de primers;

Sentido 5'- 3';

# Transcrição

- Por convenção, a sequência de um gene é sempre representada por uma cadeia de DNA
- A fita do DNA  $5' \rightarrow 3'$  é denominada codificadora (senso)
- A fita utilizada como molde na transcrição,  $3' \rightarrow 5'$ , é denominada anti-senso

# Transcrição



5'—GCGGCGACGCGCAGUAAUCCACAGCCGCCAGUUCCGCUGGCGGCAUUUU—3'

mRNA

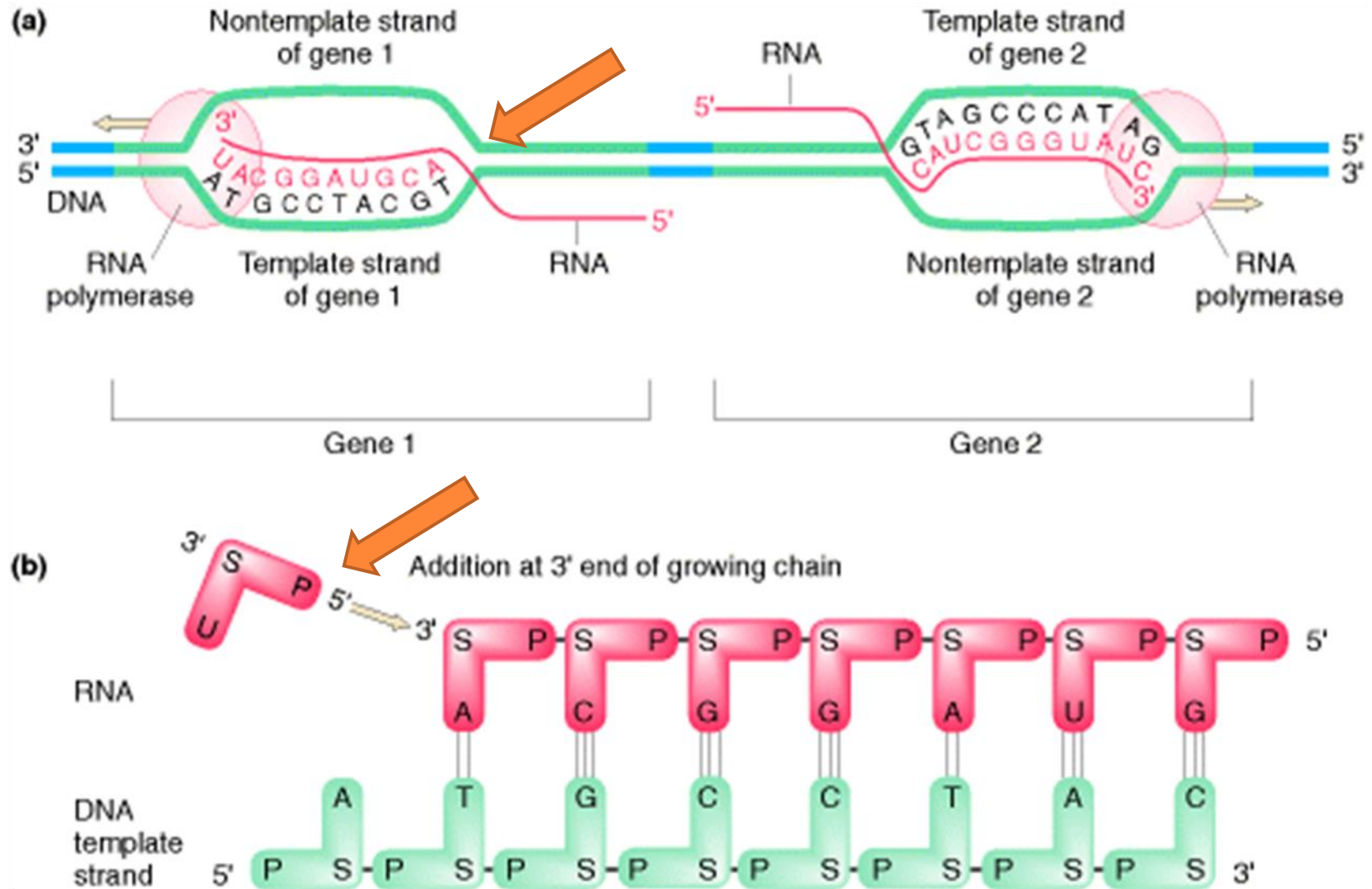
3'—CGCCGCTGCGCGTCAATTAGGGTGTCCGCGGTCAAGGCGACCGCCGTAAAA—5'

Template strand of DNA

5'—GCGGCGACGCGCAGTTAATCCACAGCCGCCAGTTCCGCTGGCGGCATTTT—3'

Coding strand of DNA

# Ambas as fitas podem ser moldes

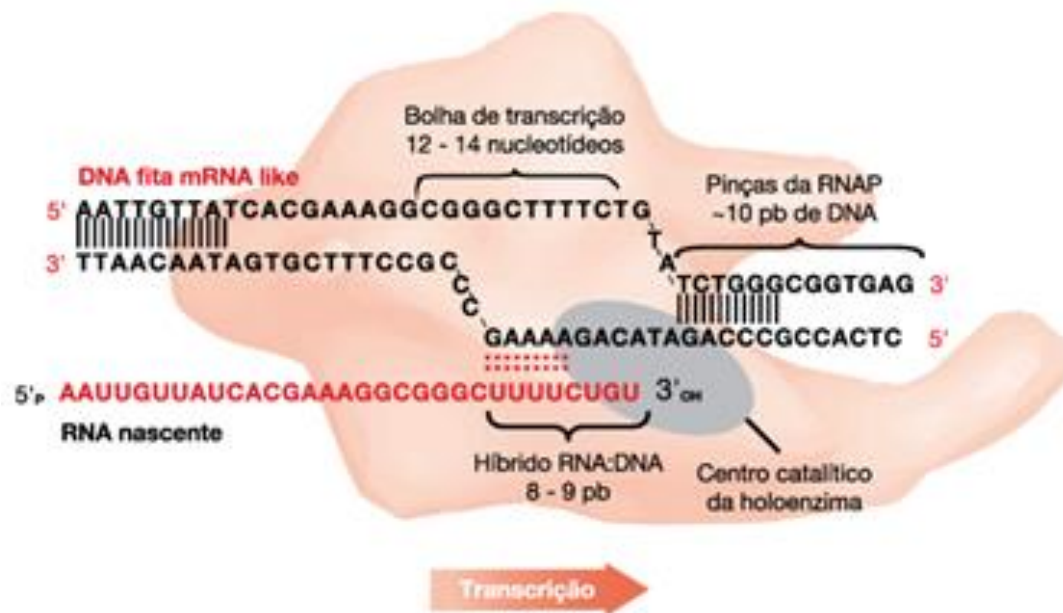


# Transcrição

- Três fases são definidas na transcrição:
  - ▣ Início – reconhecimento das sequências específicas no DNA
  - ▣ Alongamento – incorporação dos ribonucleotídeos
  - ▣ Terminação – quando a síntese é rompida

# RNAP

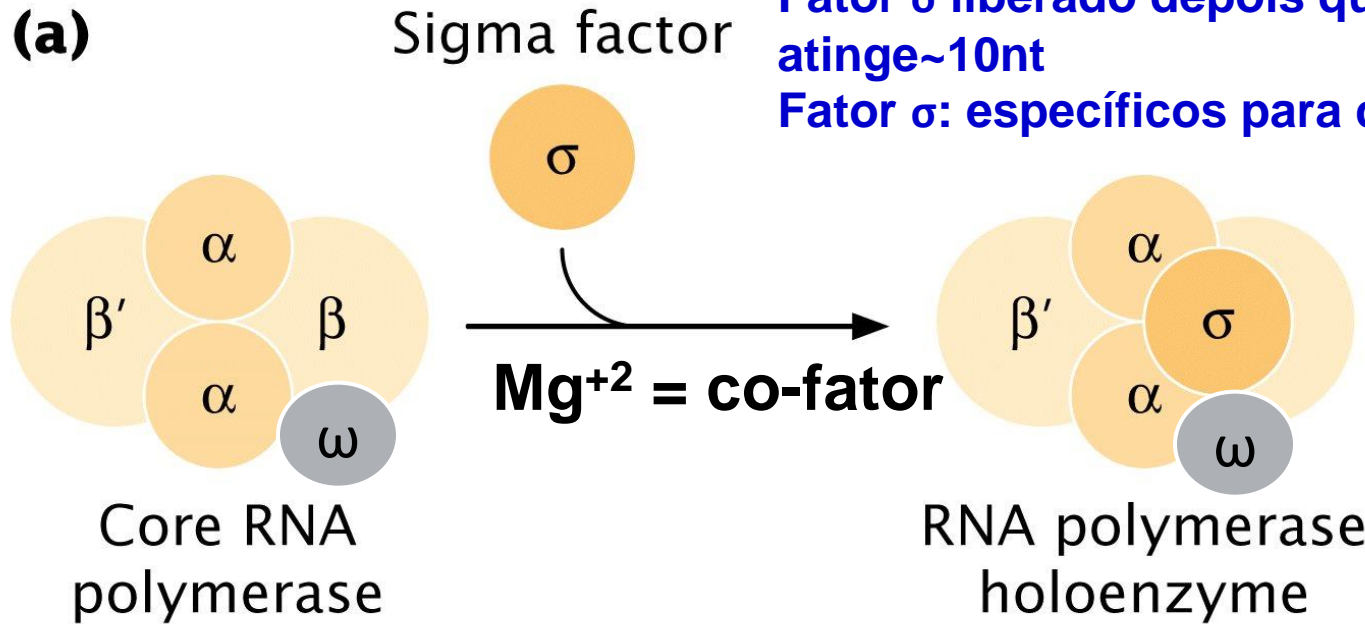
- reconhecem e se ligam a sequências específicas do DNA
- desnaturam o DNA expondo a região a ser transcrita
- mantêm as fitas de DNA separadas na região de transcrição
- mantêm estável o híbrido DNA:RNA na região de transcrição
- renaturam o DNA na região imediatamente posterior à síntese
- sozinhas, ou com auxílio de proteínas específicas, terminam a síntese do RNA



# Transcrição em Procariotos:

-1 único tipo de RNA Polimerase com múltiplas subunidades

(a)



Enzima principal:  $2\alpha\beta'\omega$

Fator  $\sigma$  liberado depois que a RNA Pol atinge ~10nt

Fator  $\sigma$ : específicos para diferentes promotores

RNA polimerases de eubactérias possuem 5 subunidades.

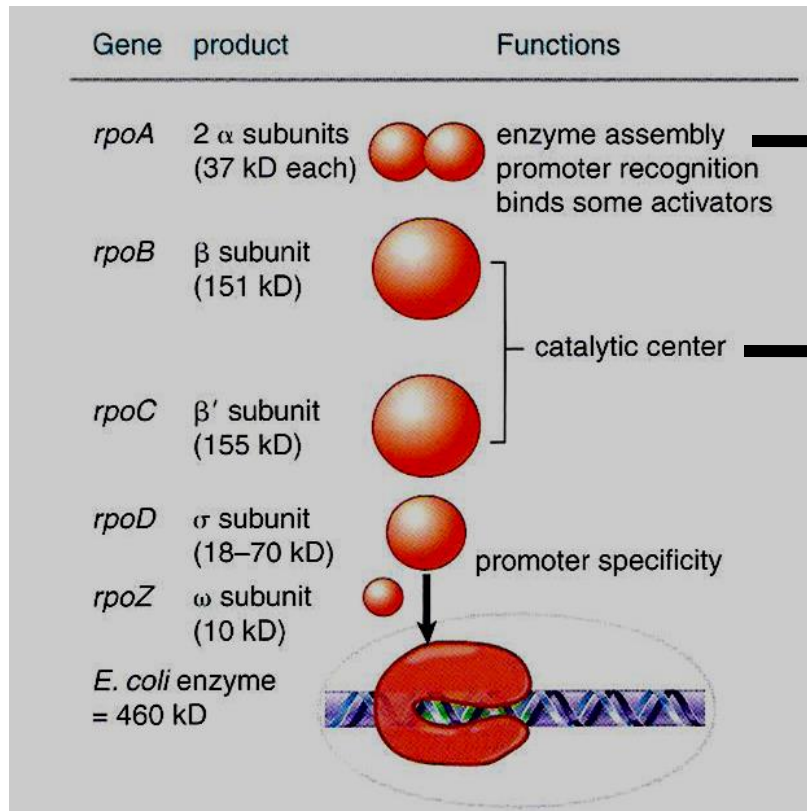
-2  $\alpha$ : reconhecem promotor e se ligam a ativadores

- $\beta$  e  $\beta'$ : centro catalítico

- $\sigma$  e  $\omega$ : especificidade ao promotor

**Enzima principal:  $\alpha 2\beta\beta'\omega$**

**Fator  $\sigma$  liberado depois que a RNA Pol atinge ~10nt**



**Cerne proteico para o centro enzimático**  
**Sua região C-terminal reconhece o promotor**

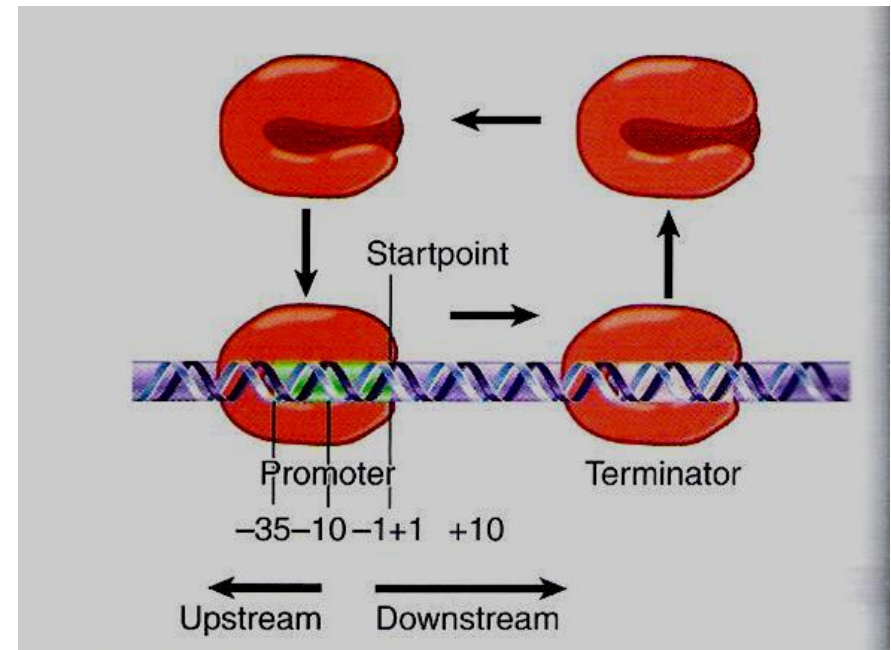
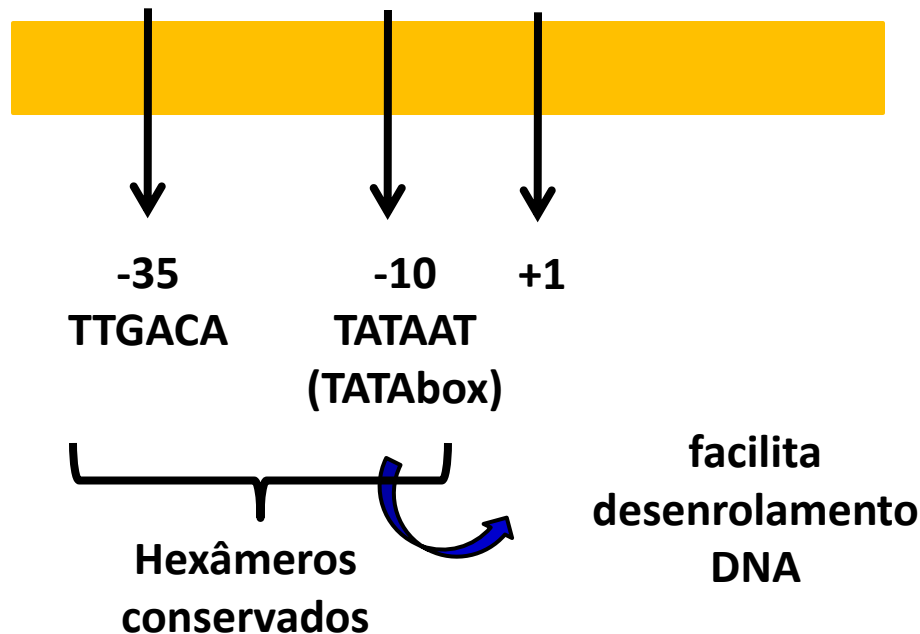
**Básico, alta afinidade ao DNA**  
**Super conservado nos 3 domínios de vida**

**Mg<sup>+2</sup> = co-fator**

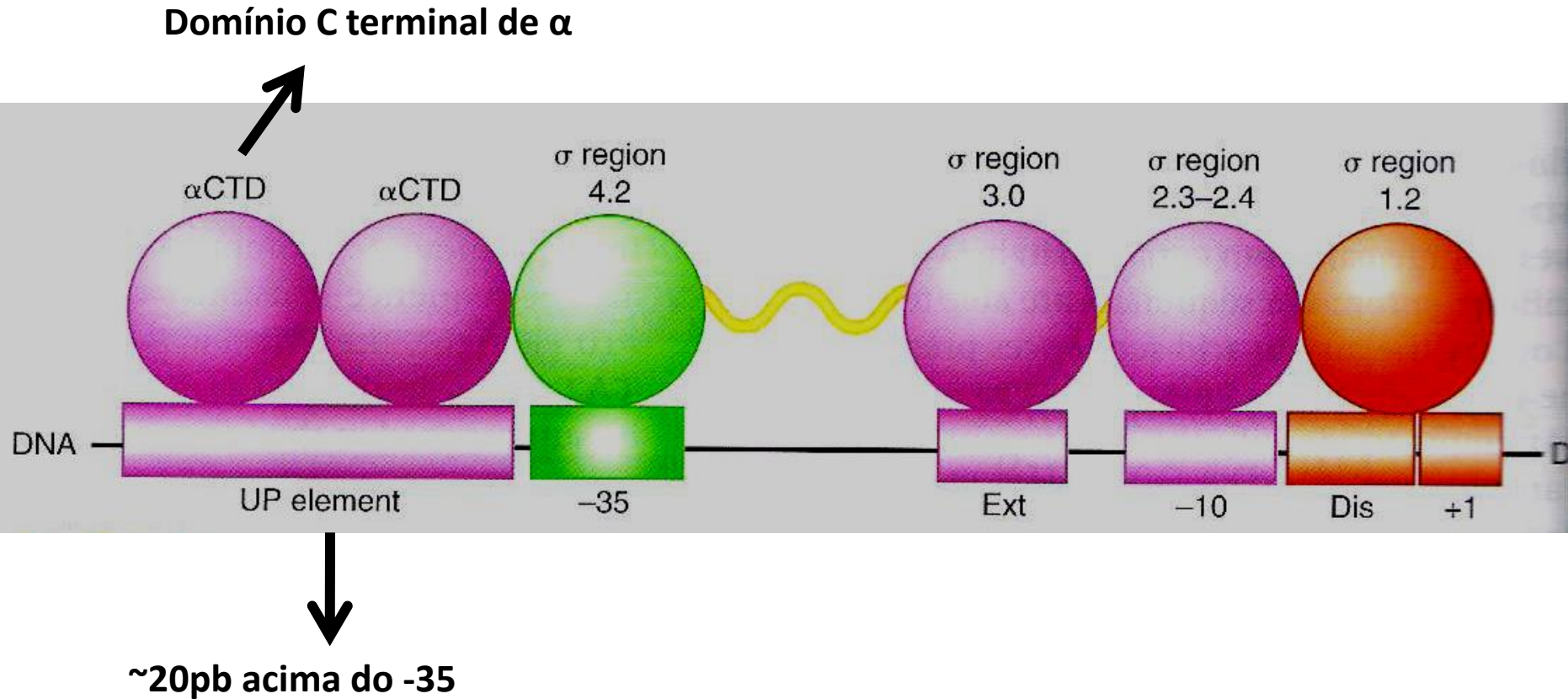


# O que o promotor tem de diferente para ser reconhecido?

Promotor mínimo de bactéria: 12pb

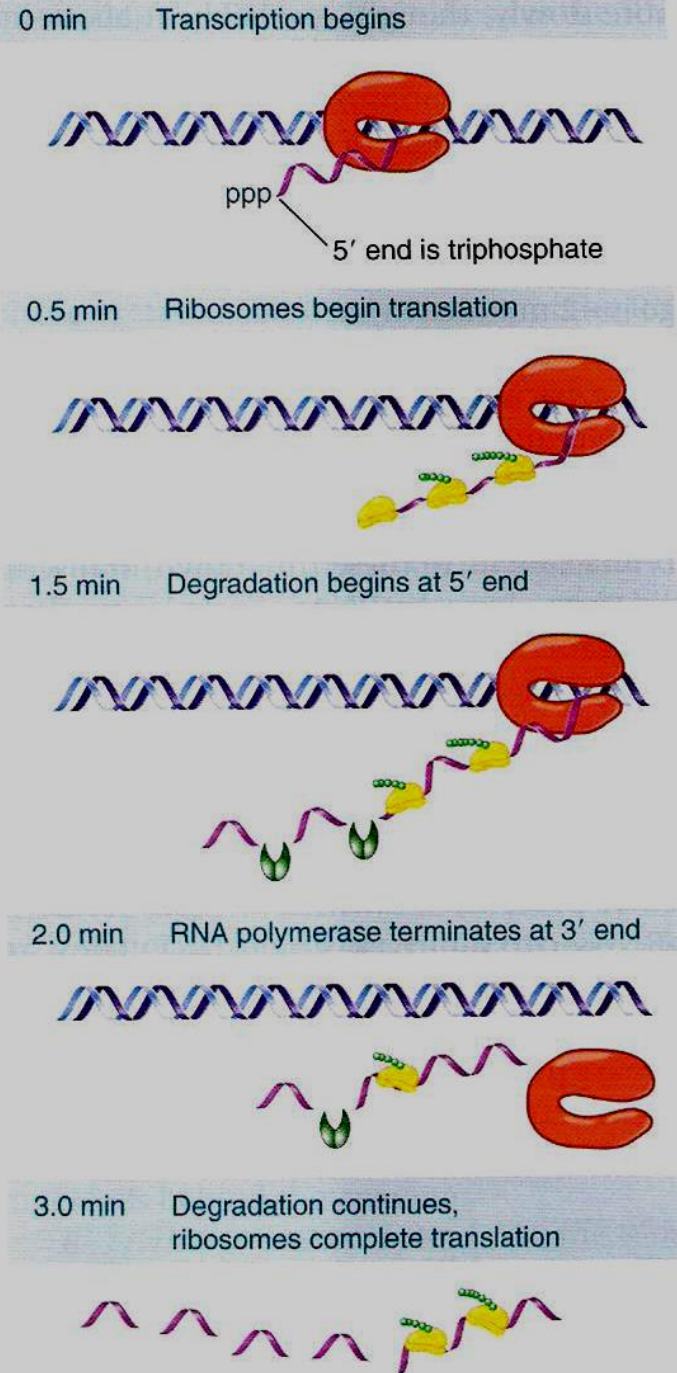
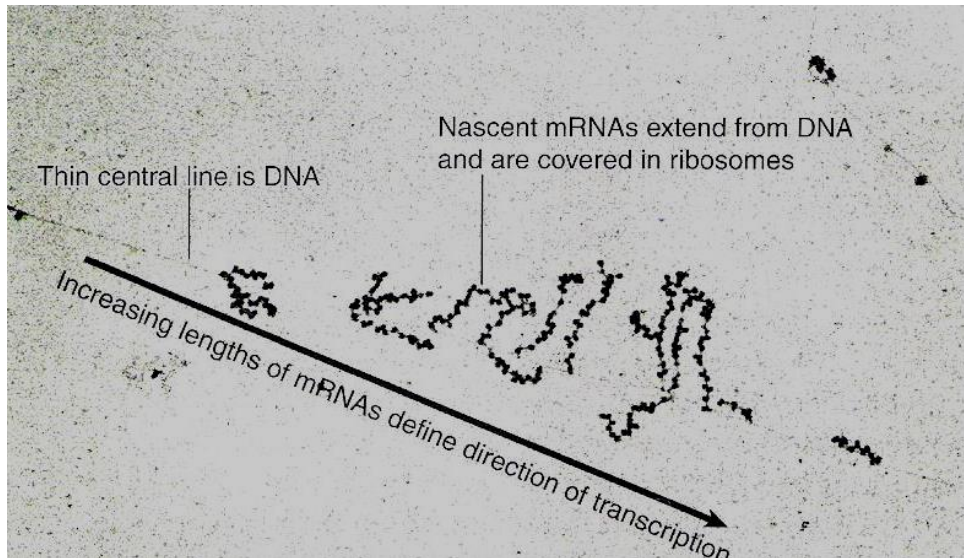


# Elementos do DNA e módulos da RNA Pol que contribuem para reconhecimento do promotor

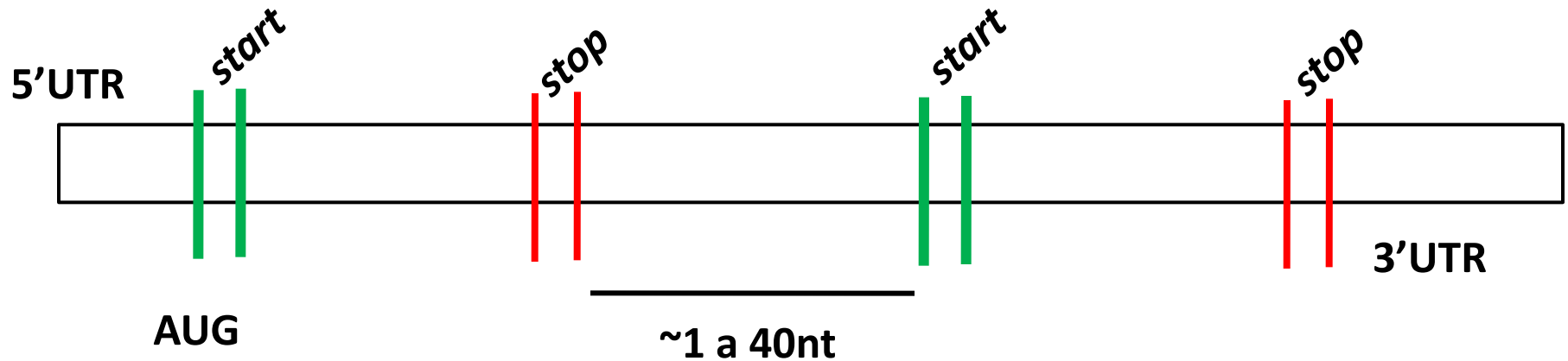


# Ciclo do RNAm em bactérias

- Transcrição e tradução são simultâneas
- RNAm muito instável (diferente de eucariotos)



**Diferente dos RNAm de eucariotos, muitos RNAm de procariotos são policistrônicos (transcritos de operons)**



Em eucariotos o 5'e 3'UTR podem conter informações regulatórias

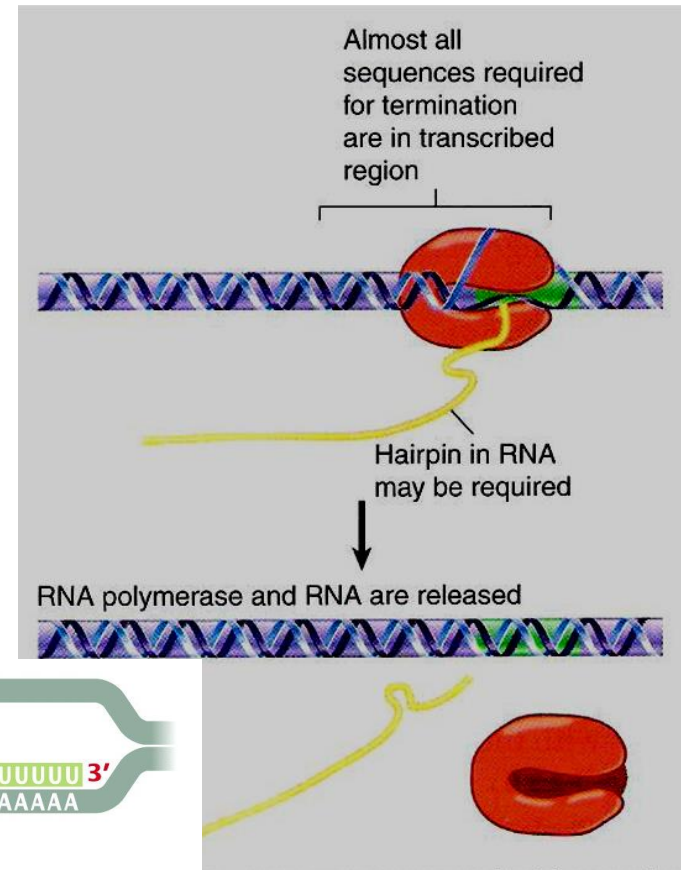
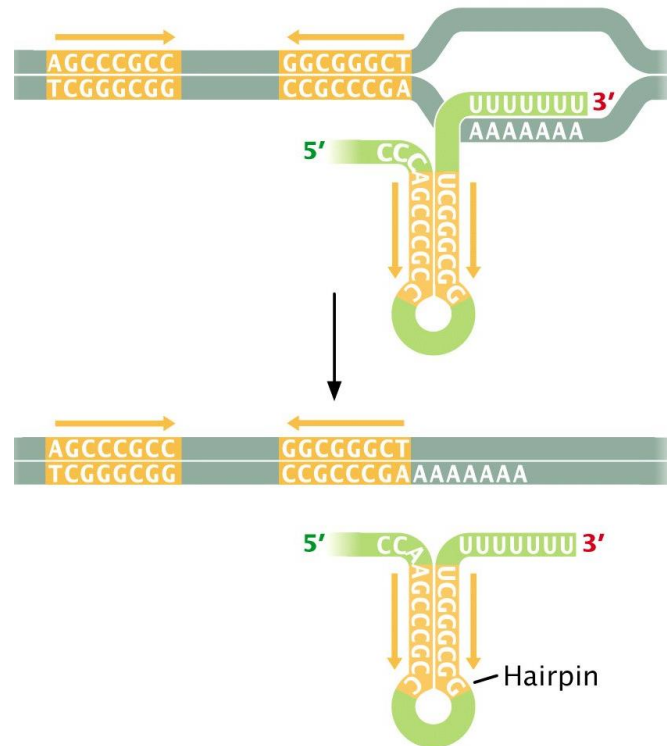
# **Como a RNA Polimerase sabe onde parar?**

**Sequências terminadoras: neste ponto a RNA Pol para de adicionar nt à cadeia crescente de RNA, libera a cadeia e se dissocia da fita molde de DNA.**

**Existem 2 tipos de terminadores: intrínsecos e dependentes de Rho**

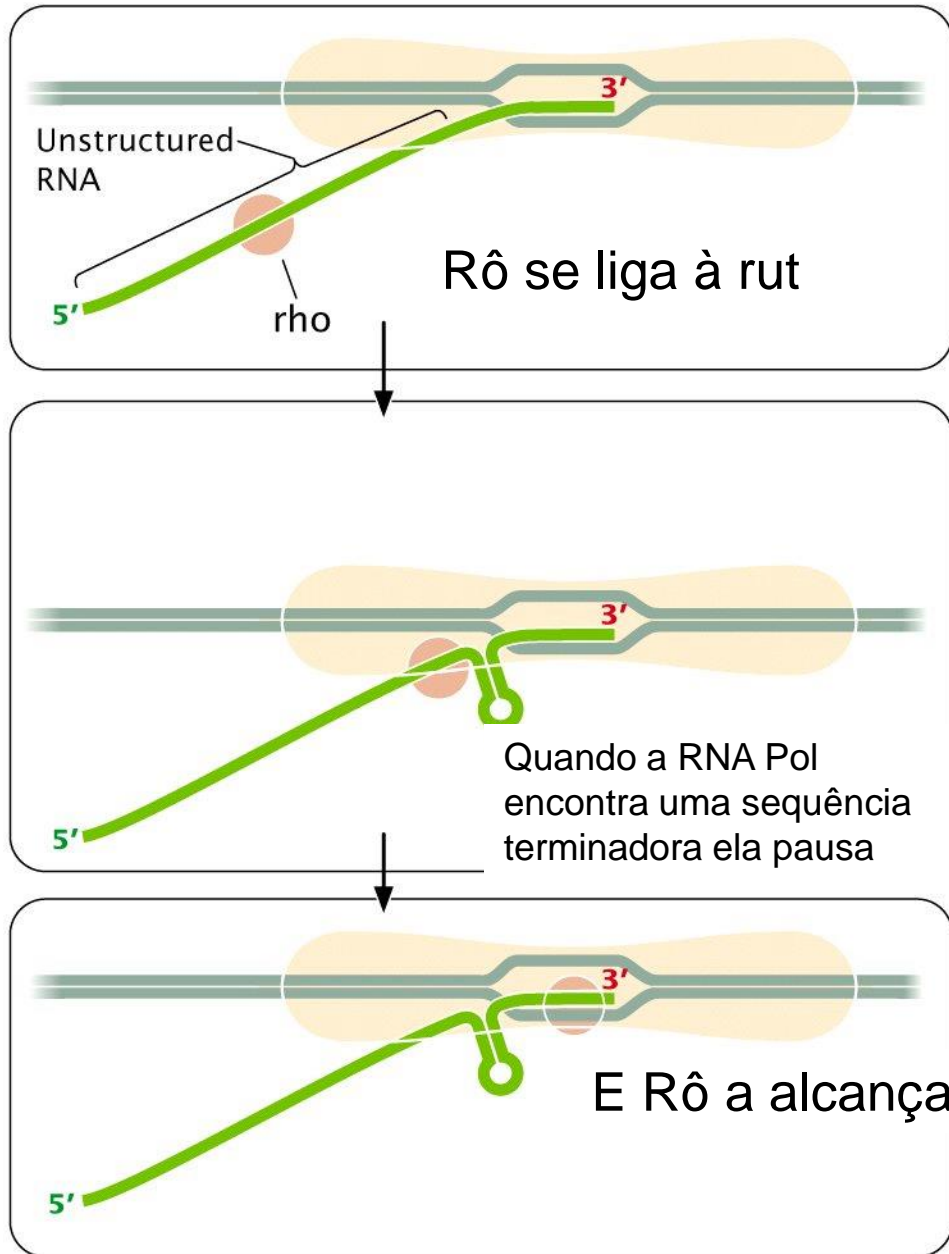
# Terminadores Intrínsecos (independentes de Rho)

- região rica em GC em forma de grampo;
- série de até 7 uracilas seguindo a estrutura do grampo;
- Neste caso o término depende do produto de RNA e não da sequência de DNA a frente;
- Mais da 1/2 dos transcritos de *Escherichia coli* se encaixam nessa categoria.





# Terminadores Dependentes de Rô



-Rô = proteína que se liga à cadeia nascente de RNA e se transloca até encontrar a RNA Pol e liberá-la do complexo de alongamento assim que ela encontra um sítio de terminação.

-rut= sequência na qual Rô se liga (rica em C e pobre em G).

-A pausa que a RNA Pol faz no sítio de terminação faz com que dê tempo da Ro alcança-la.

-Rô: helicase hexamérica dependente de ATP. Cada subunidade tem Dom. de lig. ao RNA e dom. de hidrólise do ATP.

# Transcrição em Eucariotos

- Com exceção de *Caenorhabditis elegans* e alguns *protistas*, os RNAs são monocistrônicos;
- Fatores de transcrição (qualquer proteína envolvida no início da transcrição que se associa a RNA Pol).



# Principal diferença Eucarioto X Procarioto

**Procarioto:**  
**molde=DNA**  
**RNA Pol +  $\sigma$**

**Eucarioto:**

**molde=DNA compactado em uma cromatina**

**RNA Pol depende dos Fatores de transcrição basais (FTB) para se ligar no ponto de início da transcrição.**

**RNA Polimerase não se associa a região acima do promotor.**

## **FTB: *Fatores de Transcrição Basais***

**Necessários para o início da transcrição (depois são dispensáveis);**

**Reconhecem o promotor;**

**Criam estrutura no promotor formando um “alvo” a ser reconhecido pela RNA Pol.**

# RNA Polimerases de Eucariotos

**Pol I** (Nucléolo): RNAr (exceto 5S).

**Pol II** (Núcleo): RNAm, transcritos antisenses, intergênicos e de heterocromatina .

**Pol III** (Núcleo): RNAt, 5S e snRNAs.

} Maioria dos promotores  
acima do ponto de início

} Maioria dos promotores  
abaixo do ponto de início

**NÃO há nenhuma subunidade relacionada ao  $\sigma$  de bactéria (função exercida pelos FTB)**

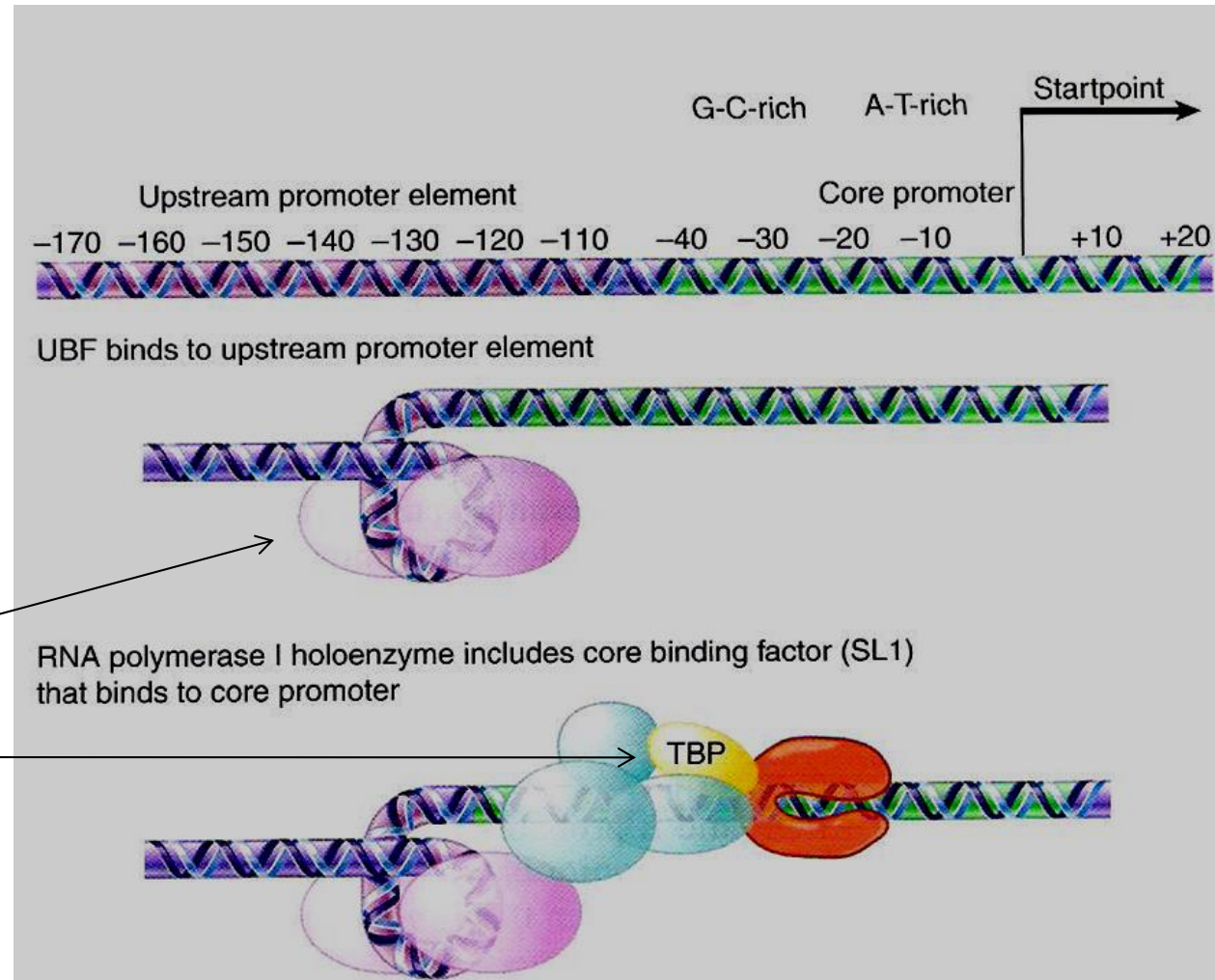
# RNA Polimerases de Eucariotos

- Grandes ~500KDa, ~12 subunidades;
- As 2 maiores subunidades de Pol II são homólogas a  $\beta$  e  $\beta'$  de bactérias;
- NÃO há nenhuma subunidade relacionada ao  $\sigma$  de bactéria (função exercida pelos FTB);
- Subunidade homóloga a  $\beta'$  possui domínio carboxi-terminal (DCT) com repetições múltiplas de aa;
- RNA Pol de mitocôndria e cloroplasto ~ ao de bactérias.

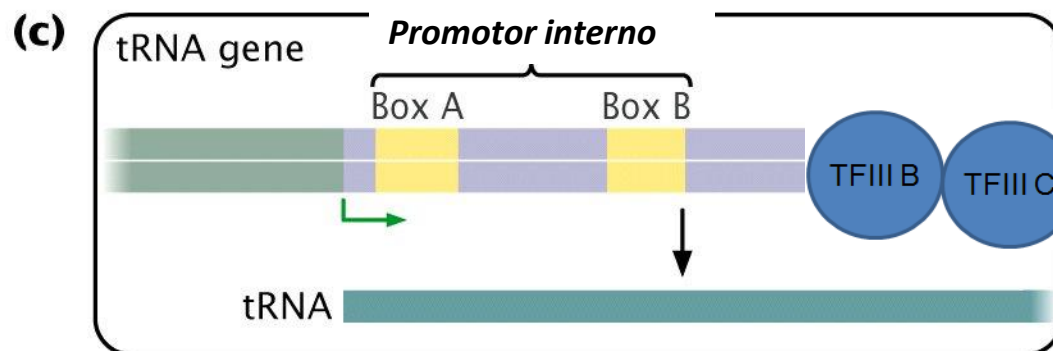
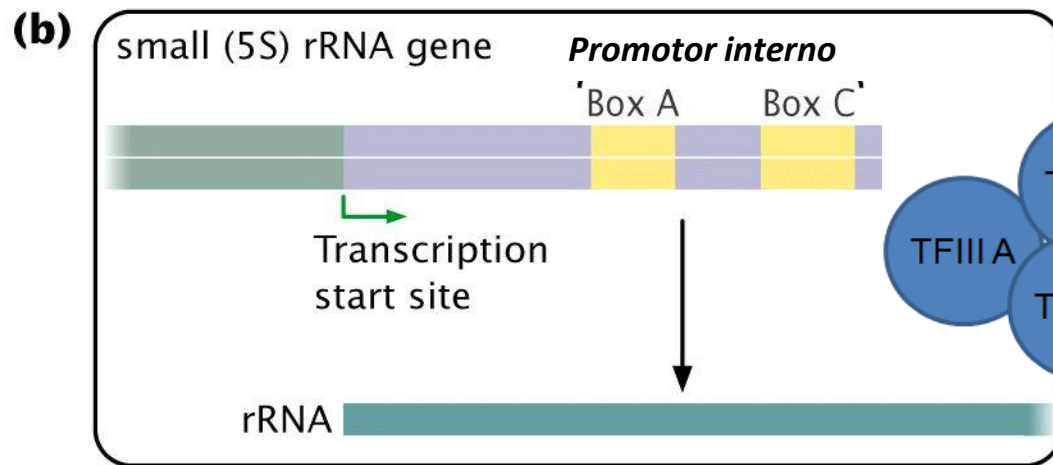
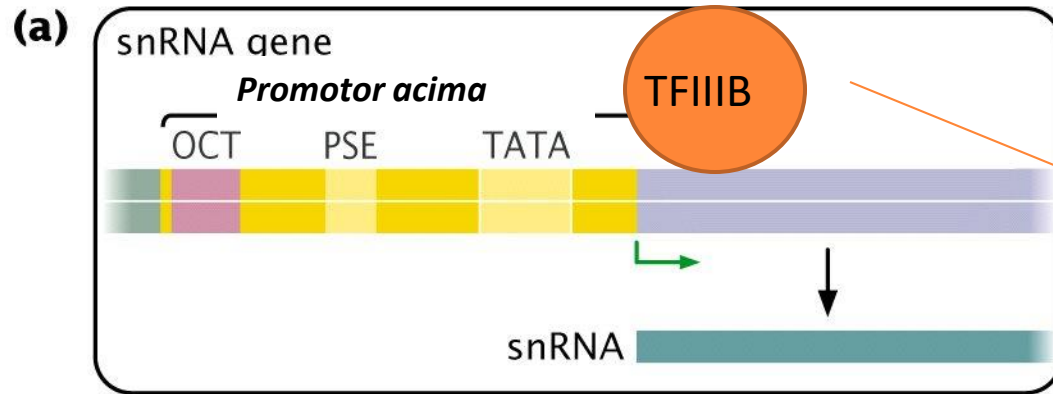
# Promotores de RNA Polimerases de Eucariotos

## RNA Pol I

- Transcreve RNAr;
- Promotor com 2 regiões: centro promotor e uma região a 70pb do centro promotor;
- Fat. Transcrição: SL1 e UBF.
- UBF se liga a região acima do centro do promotor.
- SL1 se liga ao centro do promotor, possui Prot lig ao TATA. Localiza a RNA Pol no *start point*.



# Reconhecidos pela RNA Pol III



Fatores de transcrição reconhecidos pela RNA Pol III

TFIIIB: possui subunidade TBP.

**TFIIIA: específico para 5S**

**TFIIIA + TFIIIC assistem a ligação do fator TFIIIB e depois saem.**

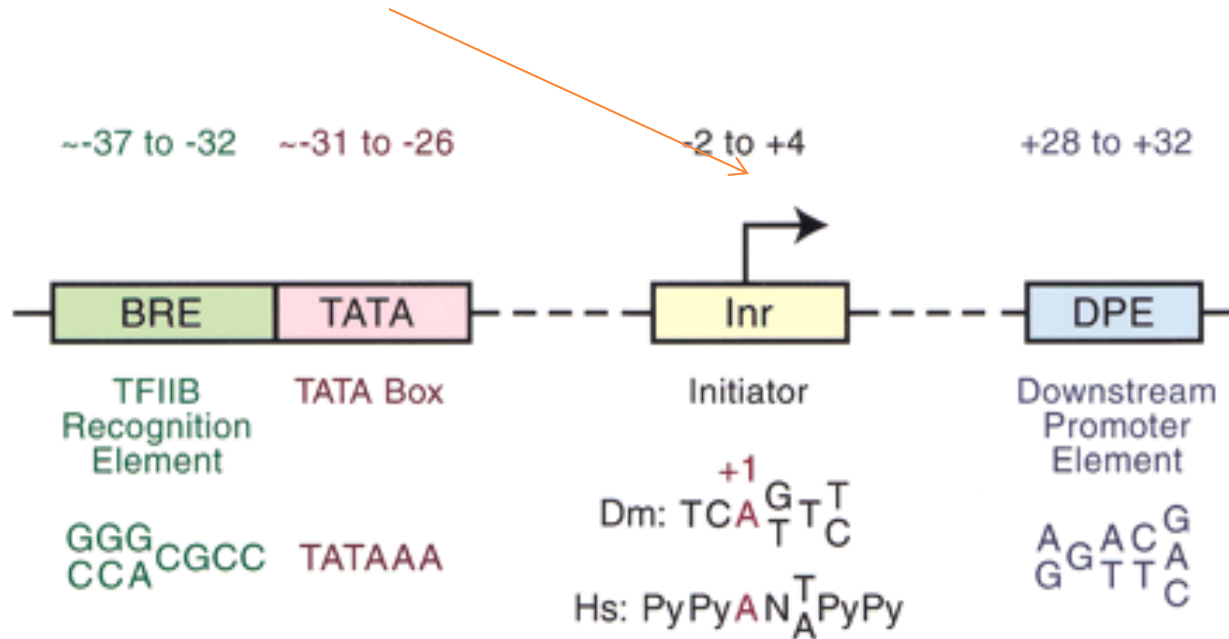
**TFIIIB: suficiente para a RNA Pol se ligar ao *start point*.**

**TFIIIB: 3 subunidades: TBP, Brf (~ ao TFIIIB)  $\beta''$  semelhante ao  $\sigma$  de bactéria)**

# Reconhecidos pela RNA Pol II

-Necessita de fatores de transcrição gerais (TFIIX);

-*Ponto de início da transcrição*: Adenina flanqueada por pirimidinas dos dois lados



Cerca de 50% dos promotores não possuem TATABox. Ao invés disso

*Elemento promotor abaixo do sítio de início da transcrição (Downstream promoter element)*



**TFIID- se liga a TATA (ou ao DPE);**

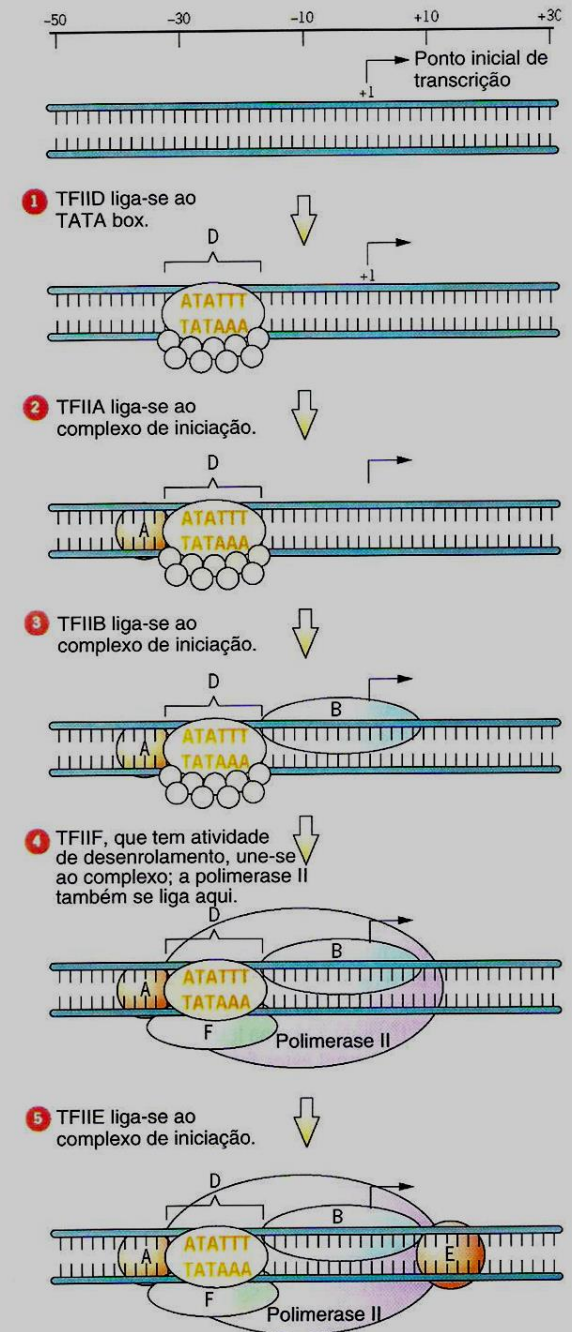
**TFIIA- ajuda no reconhecimento de TATA acima;**

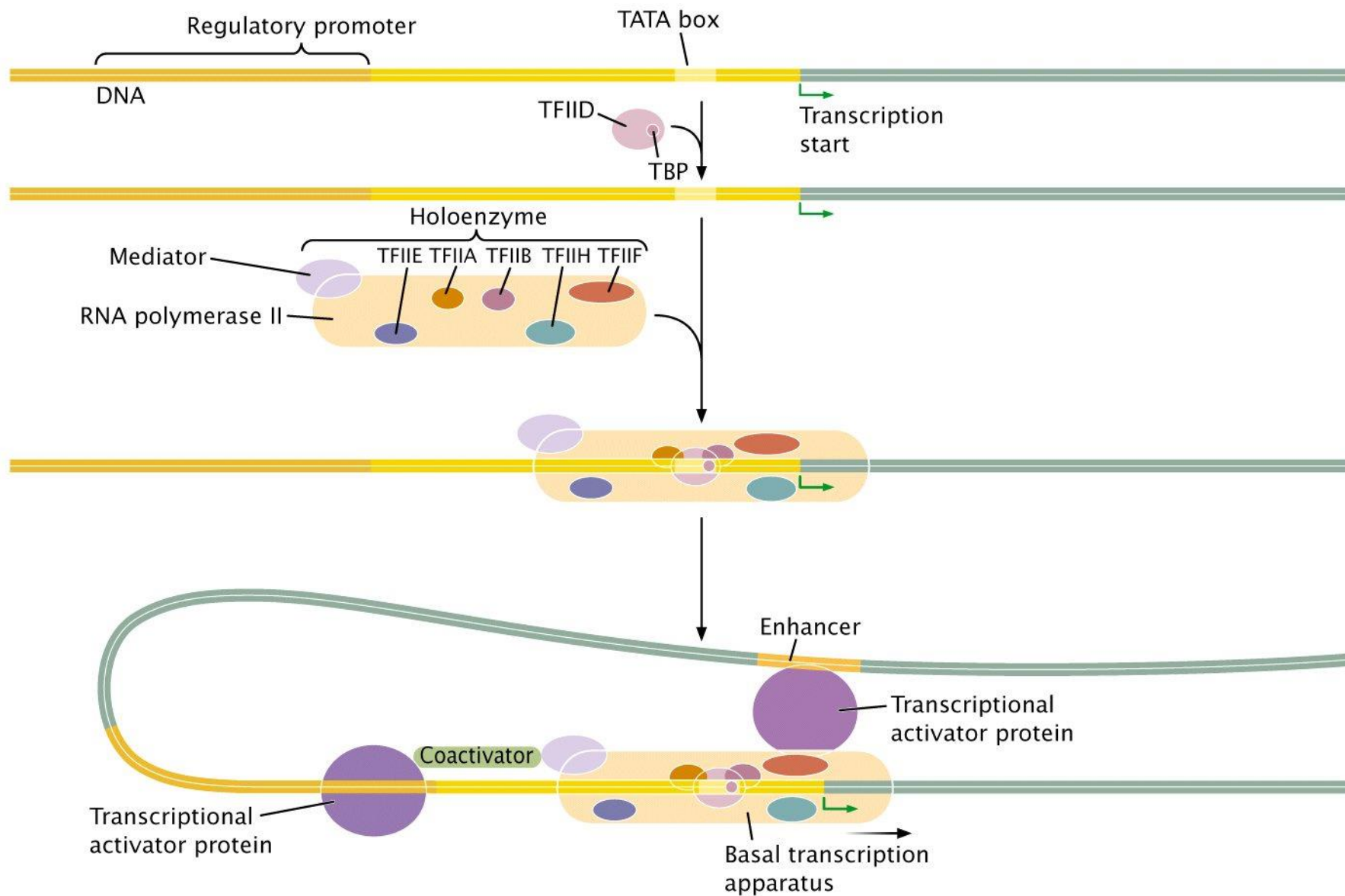
**TFIIB- se liga abaixo do TATA;**

**TFIIF- atividade de helicase (desenrolamento da fita de DNA).**

**TFIIE e H: últimos a se juntarem, papel no desenrolamento do DNA e na iniciação da polimerização do RNA pela RNA Pol II.**

**TFIIH: helicase, cinase (desfosforiliza o Domínio Carboxi-terminal da RNA Pol II para liberá-la do promotor e dos TFIIX).**



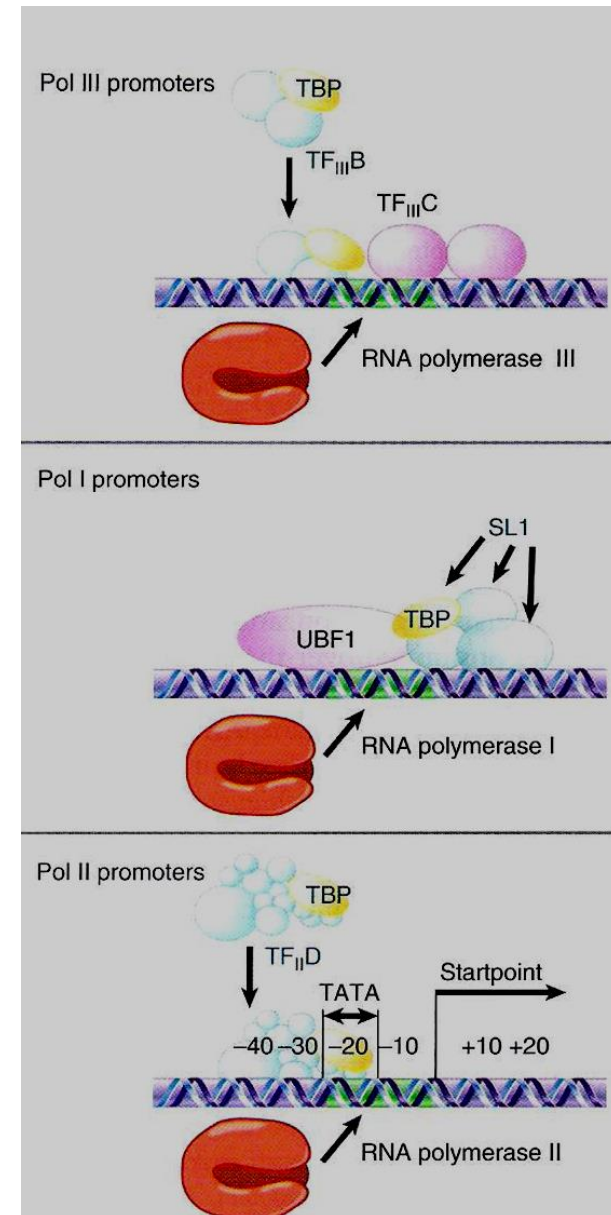


# Promotores de RNA Polimerases de Eucariotos

O TBP é um fator universal:

Todas as RNA Pol são assistidas por um fator que as posiciona no *start point*.

O TBP faz parte dos fatores SL1 (PolI), TFIIB (PolIII), TFIID (PolII).



# Terminação



- terminação ocorre além do *stop* codon.

- para Pol I e III: terminação em sequências discretas, bem definidas.

Para Pol II: não é claro. A produção da ponta 3' é um resultado de uma reação de clivagem no transcrito primário.

# O que vai mudar sua vida:

- ❑ As características gerais da transcrição
- ❑ As diferenças entre procariotos e eucariotos (sigma x fator de transcrição)
- ❑ Diferença entre RNA Pol de procarioto e Eucarioto
- ❑ A diferença entre terminação dependente e independente de Rô
- ❑ A importancia do promotor e de suas sequências consensuais, como o TATAbox