

Etapas da transcrição

Pontos Principais:

- A transcrição é o processo no qual um gene da sequência de DNA é copiado (transcrito) para fazer uma molécula de RNA.
- RNA polimerase é a principal enzima de transcrição.
- A transcrição começa quando a RNA polimerase se liga a uma sequência promotora próxima ao início de um gene (diretamente ou através das proteínas auxiliares).
- A RNA polimerase usa uma das fitas de DNA (a fita molde) como uma referência para fazer uma molécula de RNA nova, complementar.
- A transcrição acaba num processo chamado terminação. A terminação depende das sequências no RNA, que sinalizam que a transcrição acabou.

Introdução

O que torna a morte por cogumelo cicuta verde mortal? Estes cogumelos obtêm seus efeitos letais ao produzir uma toxina específica, a qual se acopla a uma enzima crucial no corpo humano: a RNA polimerase.¹



Fotografia de cogumelos *Amanita phalloides* (cicuta verde).

A RNA polimerase é crucial porque ela executa a transcrição, o processo de copiar o DNA (ácido desoxirribonucleico, o material genético) em RNA (ácido ribonucleico, uma molécula similar porém de vida mais curta).

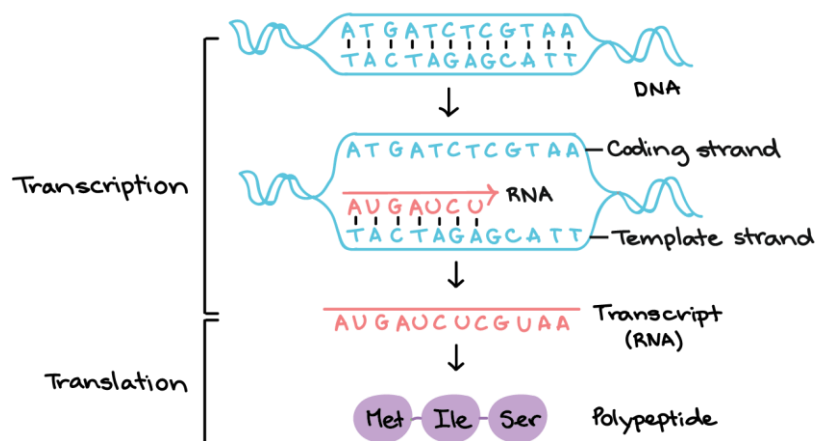
A transcrição é um passo essencial no uso da informação de genes em nosso DNA para fazer proteínas. As proteínas são as principais moléculas que dão estrutura às células e que as mantêm funcionando. Bloquear a transcrição com a toxina do cogumelo provoca falha hepática e morte, porque nenhum RNA novo - e portanto, nenhuma nova proteína - pode ser feito.²²start superscript, 2, end superscript

A transcrição é essencial para a vida e compreender como ela funciona é importante para a saúde humana. Vamos dar uma olhada no que acontece durante a transcrição.

Visão Geral da Transcrição

A Transcrição é o primeiro passo da expressão gênica. Durante esse processo, a sequência de DNA de um gene é copiada em RNA.

Antes que a transcrição possa ocorrer, a dupla hélice de DNA deve se desenrolar próximo ao gene que está sendo transcrito. A região do DNA aberto é chamada de bolha de transcrição.



Na transcrição, uma região de DNA se abre. Uma fita, a fita molde (ou template, do inglês), serve como gabarito para a síntese de um transcrito de RNA complementar. A outra fita, a fita codificadora, é idêntica ao RNA transcrito quanto à sequência, exceto que ela tem bases uracila (U) no lugar de bases timina (T).

Exemplo:

Fita codificante: 5'-ATGATCTCGTAA-3' Fita molde: 3'-TACTAGAGCATT-5' RNA transcrito: 5'-AUGAUCUCGUAA-3'

Na tradução, o RNA transcrito é lido para produzir um polipeptídeo.

Exemplo:

Transcrito de RNA: 5'-AUG AUC UCG UAA-3' Polipeptídeo: (N-terminal) Met - Ile - Ser - [STOP] (C-terminal)

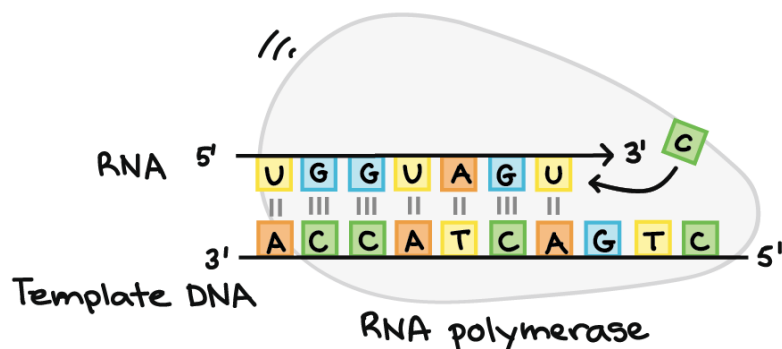
A transcrição usa uma das duas fitas de DNA expostas como molde; essa fita é chamada de fita molde. O produto de RNA é complementar à fita molde e é quase idêntico à outra fita de DNA, chamada de fita não-molde (ou codificante). No entanto, existe uma diferença importante: no RNA recém-formado todos os nucleótidos T são substituídos por nucleótidos U.

O local no DNA de onde o primeiro nucleotídeo de RNA é transcrito é chamado de local +1+1plus, 1, ou sítio de iniciação. Nucleotídeos que vem antes do sítio de iniciação recebem números negativos e são ditos estar a montante. Nucleotídeos que vem depois do sítio de iniciação são marcados com números positivos e ditos estar a jusante.

Se o gene transcrito codifica uma proteína (o que muitos genes fazem), a molécula de RNA será lida para fazer uma proteína em um processo chamado de tradução.

RNA polimerase

RNA polimerases são enzimas que transcrevem DNA em RNA. Usando um molde de DNA, a RNA polimerase constrói uma nova molécula de RNA através do pareamento de bases. Por exemplo, se houver um G no molde de DNA, a RNA polimerase adicionará um C à nova cadeia crescente de RNA.



A RNA polimerase sintetiza uma sequência de RNA complementar à fita de DNA molde. Ela sintetiza a fita de RNA na direção de 5' para 3', enquanto a leitura da fita molde de DNA ocorre na direção 3' para 5'. A fita de DNA molde e a fita de RNA são antiparalelas entre si.

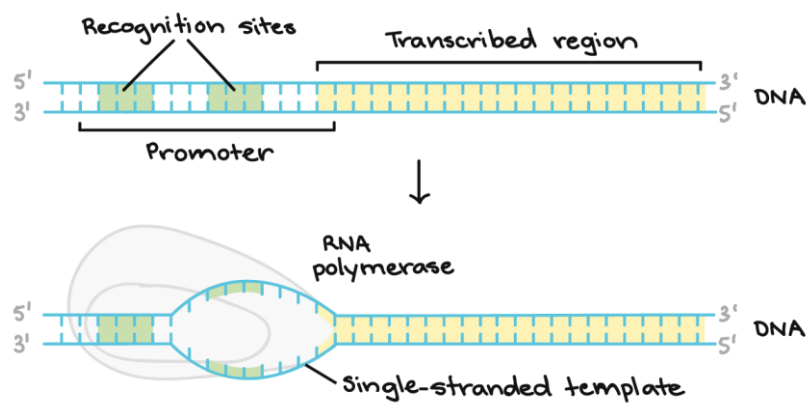
RNA transcrito: 5'-UGGUAGU...-3' (pontos indicando onde os nucleotídeos ainda estão sendo adicionados no final 3') DNA molde: 3'-ACCATCAGTC-5'

A RNA polimerase sempre constrói uma nova fita de RNA na direção 5' para 3'. Isto é, ela só pode adicionar nucleotídeos de RNA (A, U, C ou G) à extremidade 3' da cadeia.

RNA polimerases são grandes enzimas com múltiplas subunidades, mesmo em organismos simples como bactérias. Além disso, os seres humanos e outros eucariontes têm três tipos diferentes de RNA polimerases: I, II e III. Cada uma especializa-se em transcrever determinadas classes de genes.

Transcrição: iniciação

Para iniciar a transcrição de um gene, a RNA polimerase liga-se ao DNA do gene numa região denominada promotor. Basicamente, o promotor informa à polimerase onde "se sentar" no DNA e começar a transcrever.



A região promotora precede (e ligeiramente sobrepõe-se) à região transcrita, cuja transcrição específica. Ela contém locais de reconhecimento para a RNA polimerase ou suas proteínas auxiliares se ligarem. O DNA se abre na região promotora para que a RNA polimerase possa começar a transcrição.

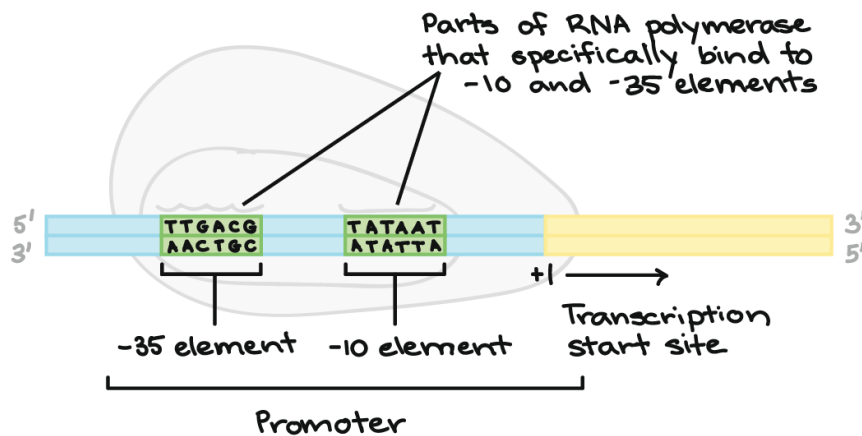
Cada gene (ou, em bactérias, cada grupo de genes transcritos juntos) tem seu próprio promotor. Um promotor contém sequências de DNA que deixam a RNA polimerase ou as suas proteínas auxiliares se ligarem ao DNA. Uma vez formada a bolha de transcrição, a polimerase pode iniciar a transcrição.

Promotores nas bactérias

Para obter uma melhor ideia de como funciona um promotor, vamos olhar um exemplo de bactérias. Um promotor bacteriano típico contém duas sequências de DNA importantes, os elementos -101010 e -353535.

A RNA polimerase reconhece e se liga diretamente à essas sequências. As sequências posicionam a polimerase no ponto certo para iniciar a transcrição de um gene alvo e elas também asseguram que a mesma está apontando para direção correta.

Assim que a RNA polimerase se estabelece, ela abre o DNA e começa a trabalhar. A abertura de DNA ocorre no elemento -101010, onde as fitas são fáceis de separar devido aos diversos As e Ts (pois se ligam entre si apenas com duas ligações de hidrogênio, em vez das três ligações de hidrogênio entre os Gs e Cs).



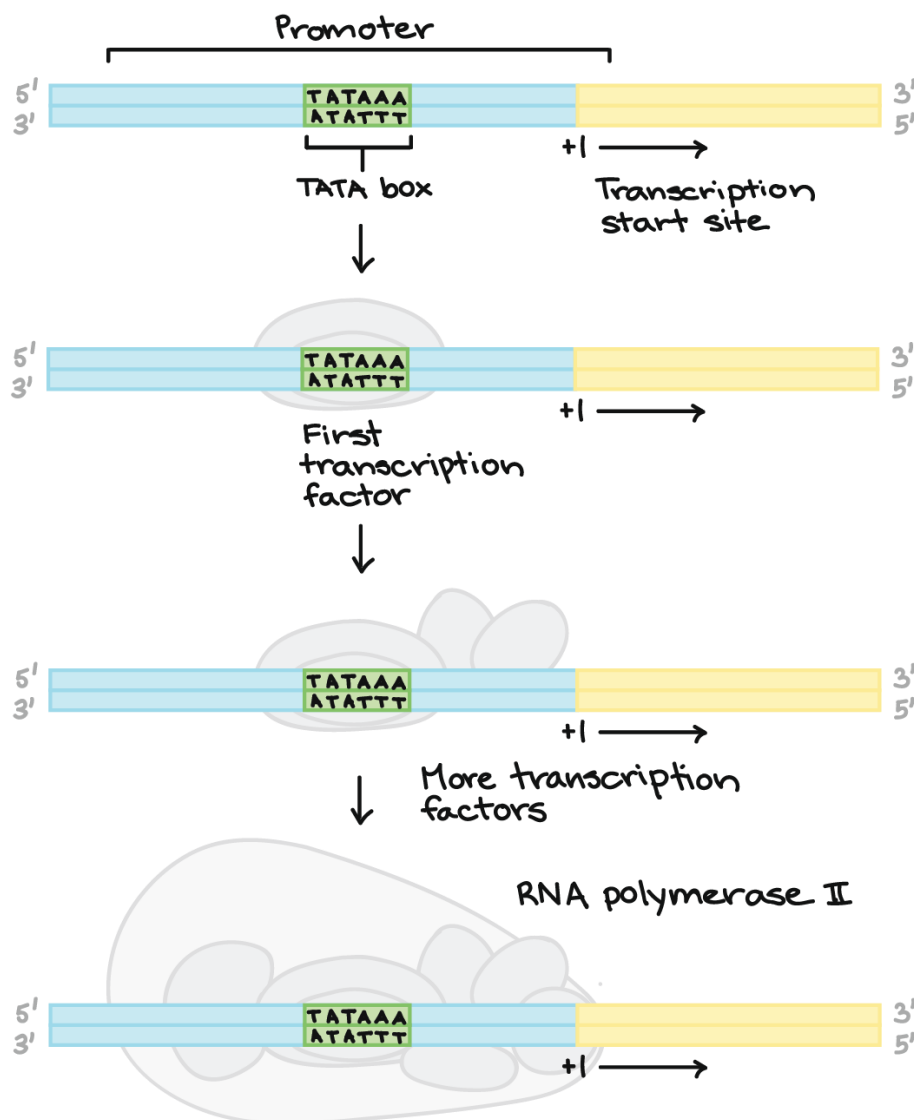
Promotor bacteriano. O promotor encontra-se no início da região transcrita, engloba o DNA anterior e se sobrepõe ligeiramente ao início do sítio transcricional. O promotor contém dois elementos, o elemento -35 e o elemento -10. O elemento -35 localiza-se em torno de 35 nucleotídeos antes do início do sítio transcricional (+1), enquanto o elemento -10 em torno de 10 nucleotídeos antes do início do sítio transcricional. Neste exemplo específico, a sequência do elemento -35 (na fita codificante) é 5'-TTGACG-3', enquanto a sequência do elemento -10 (na fita codificante) é 5'-TATAAT-3'. A RNA polimerase possui regiões que se ligam especificamente aos elementos -10 e -35.

Os elementos -101010 e -353535 são nomeados assim porque eles vêm 353535 e 101010 nucleotídeos antes do sítio de iniciação (+1+1plus, 1 no DNA). Os sinais de menos apenas significam que eles estão antes, e não depois, do sítio de iniciação.

Promotores em humanos

Em eucariontes como humanos, a principal RNA polimerase em suas células não se liga diretamente aos promotores como a RNA polimerase bacteriana. Ao invés disso, proteínas acessórias chamadas fatores de transcrição basais(gerais) se ligam primeiramente ao promotor, auxiliando a RNA polimerase em suas células a obter um ponto de apoio no DNA.

Muitos promotores eucarióticos possuem uma sequência chamada de TATA box. O "TATA box" tem um papel muito similar ao elemento -101010 em bactérias. Ele é reconhecido por um dos fatores gerais de transcrição, permitindo que outros fatores de transcrição e eventualmente a RNA polimerase se liguem. Ele também contém muitos As e Ts, o que torna mais fácil de separar as fitas de DNA.



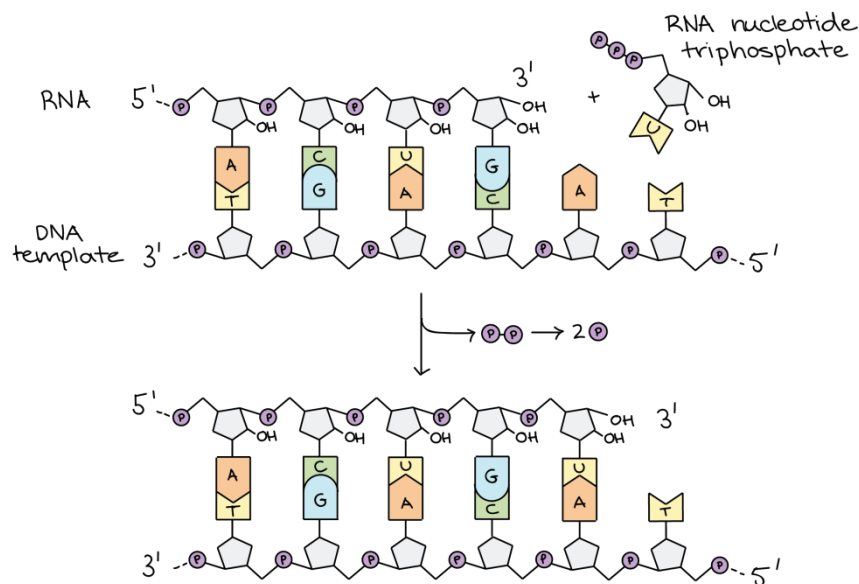
O promotor de um gene eucariótico é representado. O promotor se encontra anteriormente e ligeiramente sobreposto ao sítio de iniciação transcricional (+1). Ele contém o TATA box, que possui uma sequência (na fita codificante) de 5'-TATAAA-3'.

O primeiro fator de transcrição geral eucariótico se liga ao TATA box. Então, outros fatores de transcrição geral se ligam. Finalmente, a RNA polimerase II e alguns fatores de transcrição adicionais se ligam ao promotor.

Alongamento

Uma vez que a RNA polimerase está na posição do promotor, o próximo passo da transcrição — o alongamento — pode começar. Basicamente, o alongamento é a fase que a sequência de RNA fica mais longa, graças à adição de novos nucleotídeos.

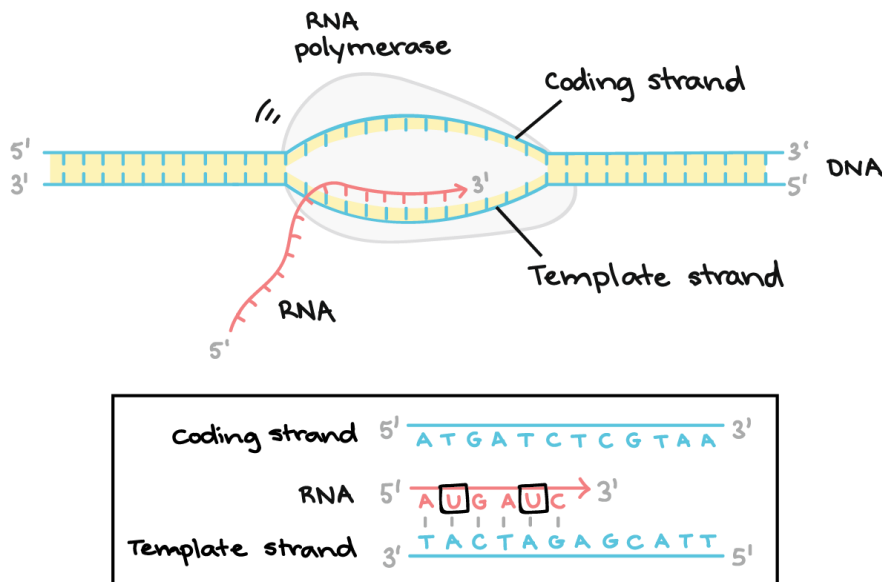
Durante o alongamento, a RNA polimerase "caminha" ao longo de uma fita de DNA, conhecida como fita molde, da 3' para 5'. Para cada nucleotídeo no molde, a RNA polimerase adiciona um nucleotídeo de RNA correspondente (complementar) à extremidade 3' da fita do RNA.



Polymerization reaction in which a RNA nucleotide triphosphate is added to the existing RNA strand. The RNA nucleotide triphosphate has a series of three phosphate groups attached to it. The innermost phosphate group reacts with the 3' hydroxyl on the nucleotide at the end of the existing strand, forming a phosphodiester bond that attaches the new nucleotide to the end of the chain. A pyrophosphate (molecule consisting of two phosphate groups) is lost in this process, and is later cleaved into two individual inorganic phosphates. In general, this reaction will occur only when an incoming

nucleotide is complementary to the next exposed nucleotide in the DNA strand that serves as a template for RNA synthesis.

The RNA strand looks similar to DNA, except that it contains the base uracil in place of thymine and has ribose sugars (which have a hydroxyl group on the 2' carbon) in place of deoxyribose sugars.



A RNA polimerase sintetiza um transcrito de RNA complementar à fita de DNA molde na direção 5' para 3'. Ela avança ao longo da fita molde na direção de 3' a 5', abrindo a dupla hélice do DNA, conforme avança. O RNA sintetizado só permanece ligado à fita molde por um curto período, então, deixa a polimerase como uma cadeia pendente, que permite que o DNA volte a fechar e formar uma dupla-hélice.

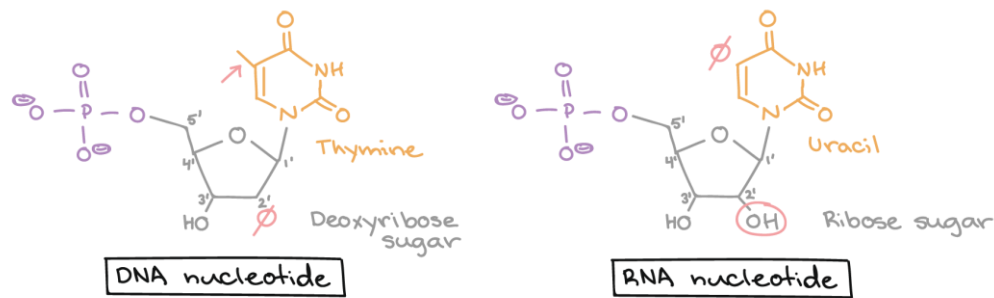
Neste exemplo, as sequências da fita codificadora, da fita molde e do transcrito de RNA são:

Fita codificadora: 5'- ATGATCTCGTAA-3'

Fita molde: 3'-TACTAGAGCATT-5'

RNA: 5'-AUGAUC...-3' (os pontos mostram onde nucleotídeos ainda estão sendo adicionados à fita em sua extremidade 3')

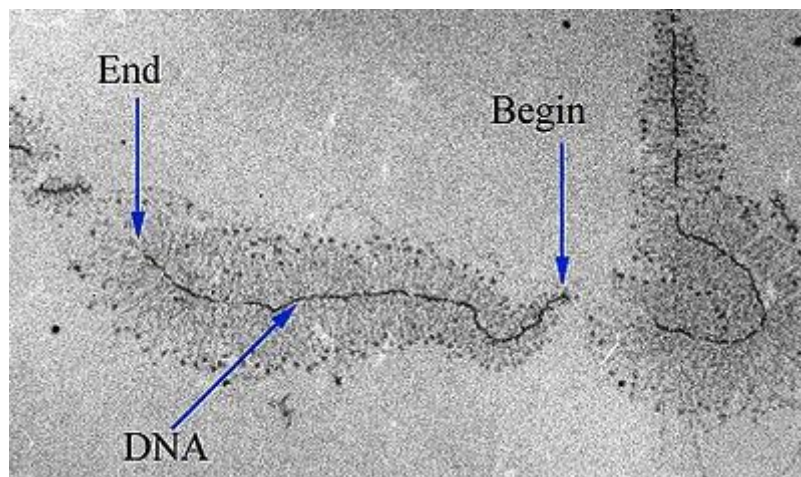
O transcrito de RNA é quase idêntico à fita de DNA não-molde ou codificante. Contudo, as fitas de RNA têm a base uracila (U) em vez de timina (T), assim como um açúcar ligeiramente diferente no nucleótido. Assim, como podemos ver no diagrama acima, cada T da fita codificante é substituído por um U no transcrito de RNA.



DNA nucleotide: lacks a hydroxyl group on the 2' carbon of the sugar (i.e., sugar is deoxyribose). Bears a thymine base that has a methyl group attached to its ring.

RNA nucleotide: has a hydroxyl group on the 2' carbon of the sugar (i.e., sugar is ribose). Bears a uracil base that is very similar in structure to thymine, but does not have a methyl group attached to the ring.

A figura abaixo mostra o DNA sendo transcrito por muitas RNA polimerases ao mesmo tempo, cada uma com uma "cauda" de RNA atrás dela. As polimerases próximas ao início do gene têm caudas de RNA curtas que ficam cada vez maiores à medida que a polimerase transcreve mais do gene.



Na imagem de microscopia representada aqui, um gene está sendo transcrito por várias RNA polimerases de uma vez. As cadeias de RNA são menores próximas ao começo do gene e se tornam maiores à medida que a enzima se move para o final do gene. Esse padrão cria uma espécie de estrutura em formato de cunha feita pelos transcritos de RNA se abrindo a partir do DNA do gene.

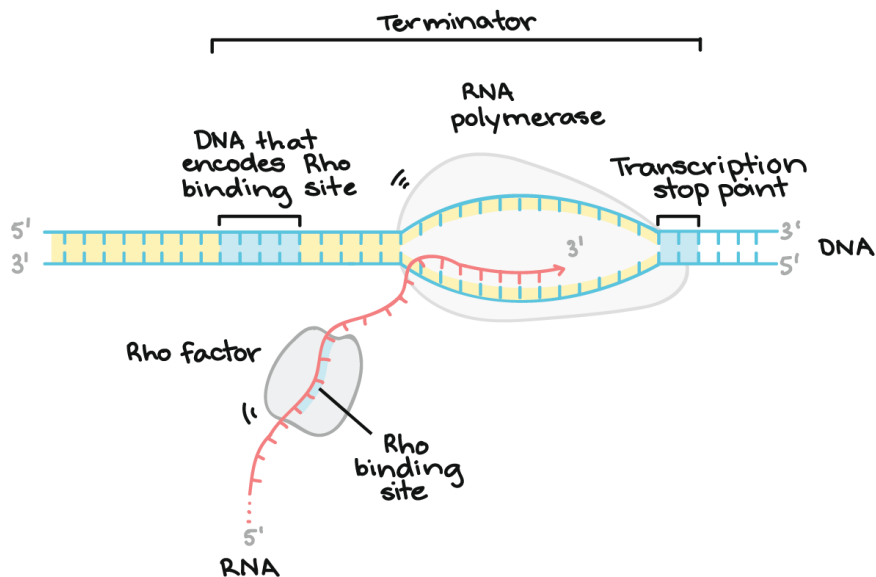
Transcrição: terminação

A RNA polimerase vai continuar transcrevendo até encontrar sinais para parar. O processo de término da transcrição é chamado terminação e isso acontece uma vez que a polimerase transcreve uma sequência de DNA conhecida como terminador.

Terminação em bactérias

Existem duas estratégias de terminação principais encontradas em bactérias: Rho-dependente e Rho-independente.

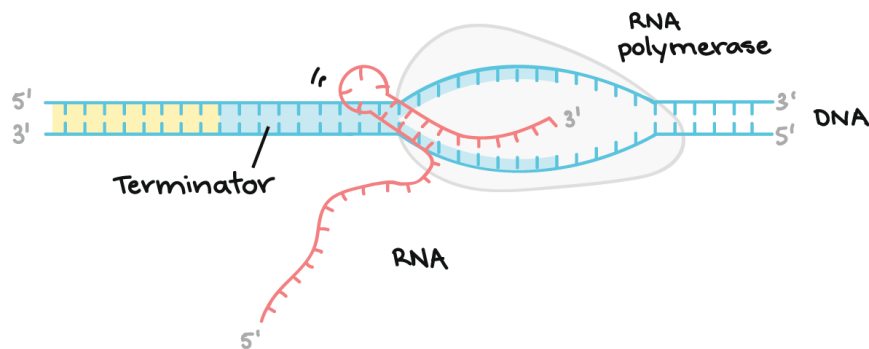
Em terminações Rho-dependente, o RNA contém um sítio de ligação para uma proteína chamada fator Rho. O fator Rho se liga à essa sequência e começa a "subir" o transcrito em direção à RNA polimerase.



Terminação Rho-dependente. O terminador é uma região de DNA que inclui a sequência que codifica o sítio de ligação de Rho no RNAm, bem como o ponto real de parada da transcrição (que é uma sequência que faz com que a RNA polimerase pause para que a Rho possa alcançá-la). A Rho liga-se ao sítio de ligação de Rho no mRNA e sobe o transcrito de RNA, no sentido 5' para 3', em direção à bolha de transcrição onde está a polimerase. Quando ela alcança a polimerase, fará com que o transcrito seja liberado, terminando a transcrição.

Quando ele alcança a polimerase na bolha de transcrição, o Rho puxa a transcrição do RNA e o molde de DNA se separa, liberando a molécula de RNA e terminando a transcrição. Outra sequência, encontrada mais tarde no DNA, chamada de ponto de parada da transcrição, faz com que a RNA polimerase pause e portanto ajuda o Rho alcançar.⁴⁴

Terminações Rho-independentes dependem das sequências específicas do modelo do DNA. Enquanto a RNA polimerase se aproxima do final do gene que está sendo transcrito, ele atinge uma região rica em nucleotídeos C e G. O RNA transcrito desta região se dobra de volta para si mesmo e os nucleotídeos complementares C e G se ligam. O resultado é um grampo de cabelo estável que faz com que a RNA polimerase fique presa.



Terminação independente de Rho. A sequência de DNA terminadora codifica uma região de RNA que dobra sobre si mesma para formar um grampo. O grampo é seguido por séries de nucleotídeos U no RNA (não mostrado). O grampo causa a interrupção da polimerase, e o pareamento fraco entre os nucleotídeos A do DNA molde e U do transcrito de RNA permitem a separação entre o transcrito e o molde, finalizando a transcrição.

Em uma terminação, o grampo de cabelo é seguido de um trecho de nucleotídeos U no RNA, que se pareiam com nucleotídeos A no modelo de DNA. A região complementar U-A da transcrição do RNA forma somente uma fraca interação com o modelo de DNA. Isto, juntamente com a polimerase paralisada, produz instabilidade suficiente para a enzima cair e liberar o novo RNA transcrito.

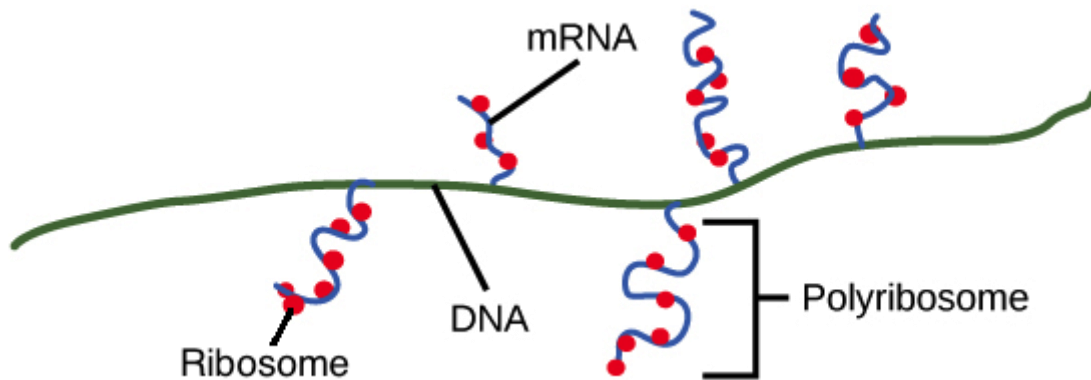
[Terminação da transcrição em eucariontes]

500500-2.2, point000000^5start superscript, 5, end superscript^6start superscript, 6, end superscript

O que acontece com o transcrito de RNA?

Após a terminação, a transcrição está concluída. Um transcrito de RNA que está pronto para ser utilizado na tradução é chamado de RNA mensageiro (RNAm). Em bactérias, os transcritos de RNA estão prontos para serem traduzidos logo após a transcrição. Na verdade, eles estão realmente prontos um pouco mais cedo do que isso: a tradução pode começar enquanto a transcrição ainda está acontecendo!

No diagrama abaixo, os RNAm estão sendo transcritos a partir de vários genes diferentes. Embora a transcrição ainda esteja em andamento, os ribossomos se ligaram a cada RNAm e começaram a traduzí-lo em proteína. Quando um RNAm está sendo traduzido por múltiplos ribossomos, diz-se que o RNAm e os ribossomos formam um polirribossomo.



A ilustração mostra mRNAs que estão sendo transcritos fora dos genes. Ribossomos se ligam aos mRNAs antes da transcrição ser concluída e começam a fazer proteínas.

Por que a transcrição e a tradução podem ocorrer simultaneamente para um RNAm em bactérias? Uma razão é que estes processos ocorrem na mesma direção de 5' para 3'. Isso significa que um pode seguir ou "perseguir" o outro que ainda está ocorrendo. Além disso, nas bactérias, não existem compartimentos internos de membranas para separar a transcrição da tradução.

O quadro é diferente nas células de seres humanos e outros eucariontes. Isso acontece porque a transcrição ocorre no núcleo de células humanas, enquanto a tradução ocorre no citosol. Além disso, em eucariotos, as moléculas de RNA precisam passar por etapas especiais de processamento antes da tradução. Isso significa que a tradução não pode começar até que a transcrição e o processamento de RNA estejam totalmente concluídos.

<https://pt.khanacademy.org/science/biology/gene-expression-central-dogma/transcription-of-dna-into-rna/a/stages-of-transcription>