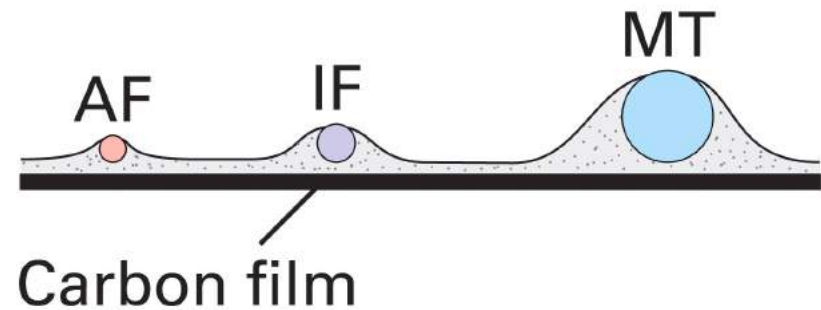
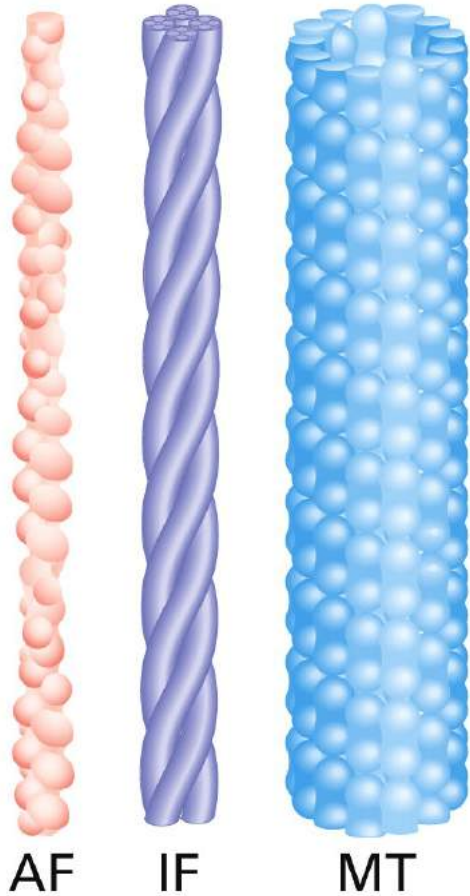


Componentes do citoesqueleto: filamentos protéicos



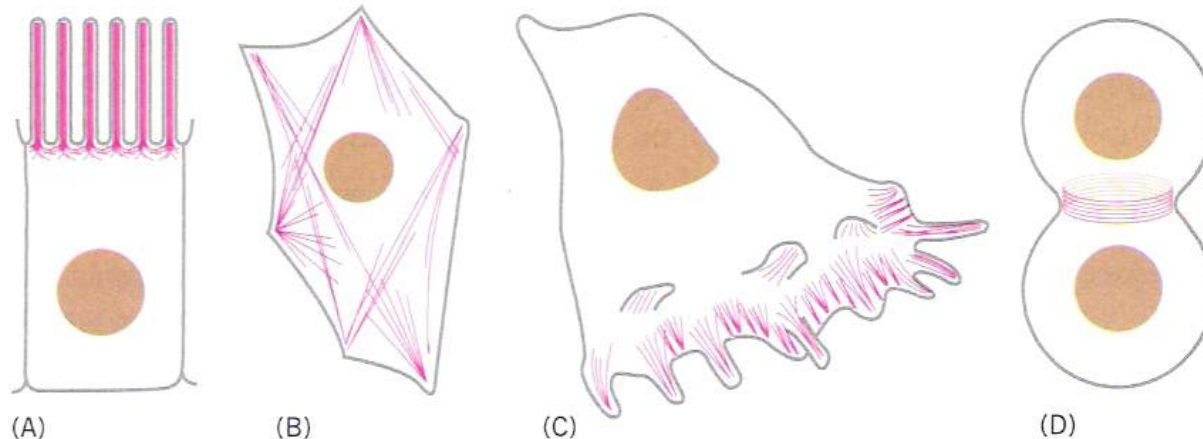
MT = microtúbulos

IF = filamentos intermediários

AF = filamentos de actina

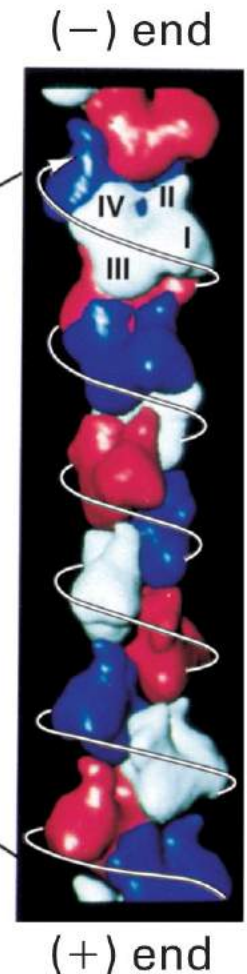
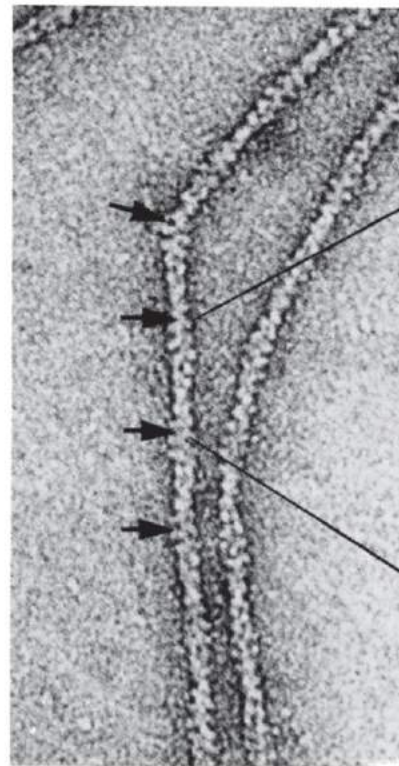
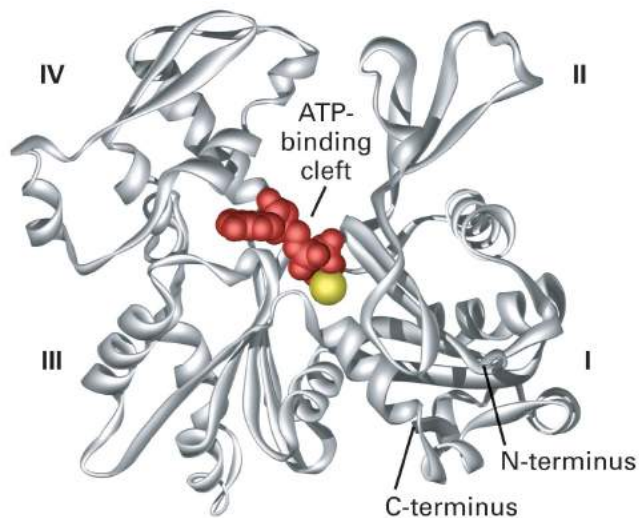
Filamentos de actina

- Encontrados em todas as células eucarióticas
- Essenciais para seu movimento:
 - Migração, fagocitose, divisão celular
- Assim como os microtúbulos, podem formar estruturas estáveis nas células;
- Subunidade é extremamente conservada entre eucariotos (~90%)
- Diferentes proteínas de ligação à actina conferem diferentes funções



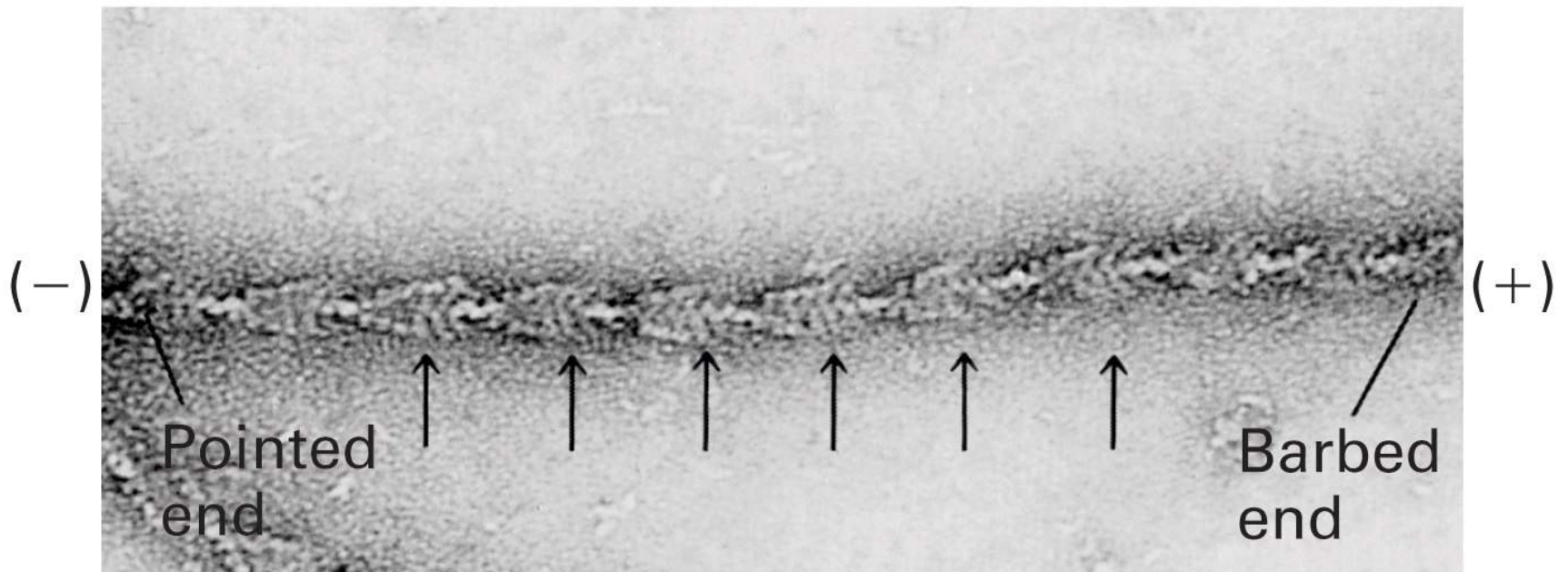
Os filamentos de actina são finos e flexíveis

(7nm de diâmetro)

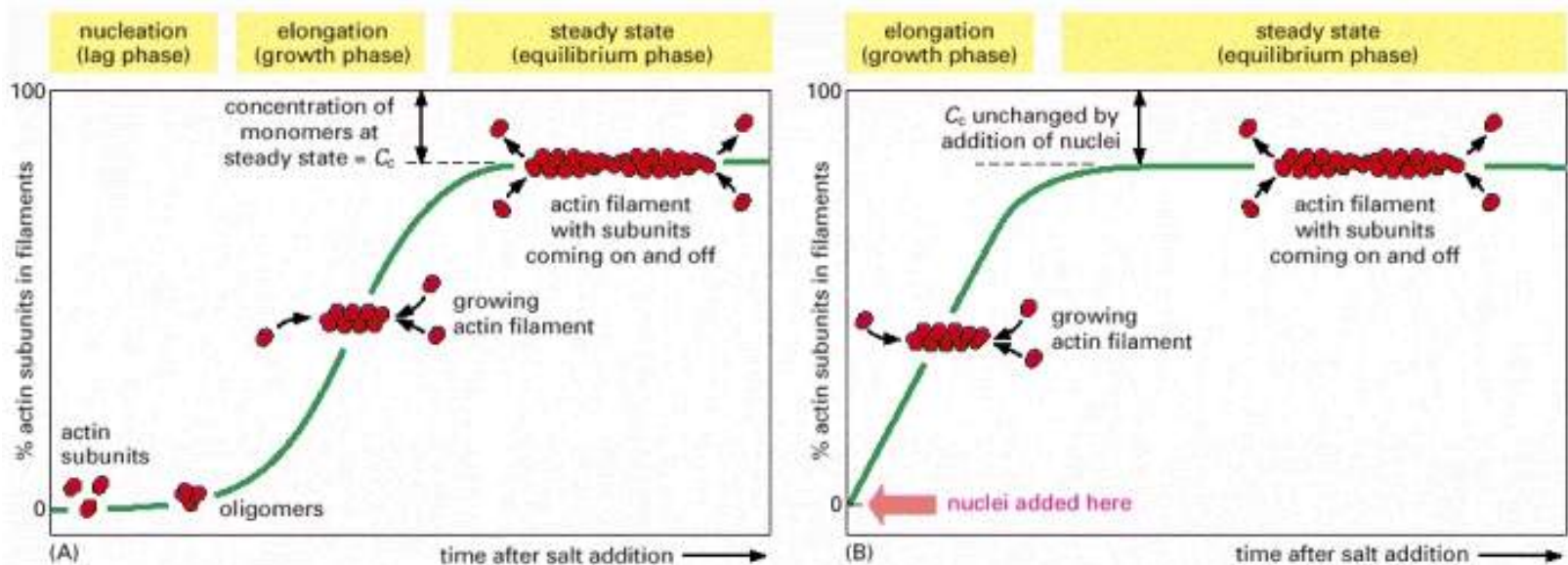
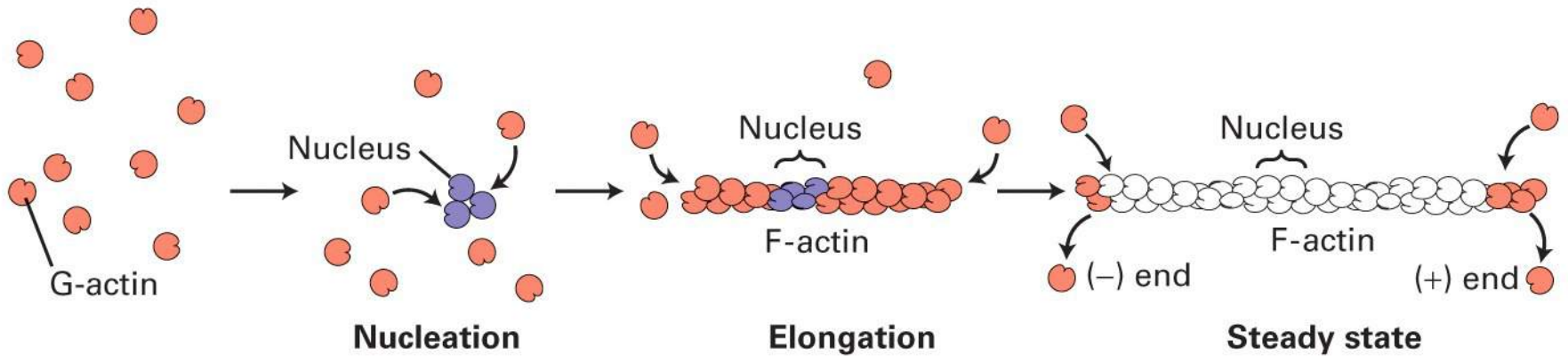


Há polaridade estrutural no filamento;
Associação e dissociação ocorrem

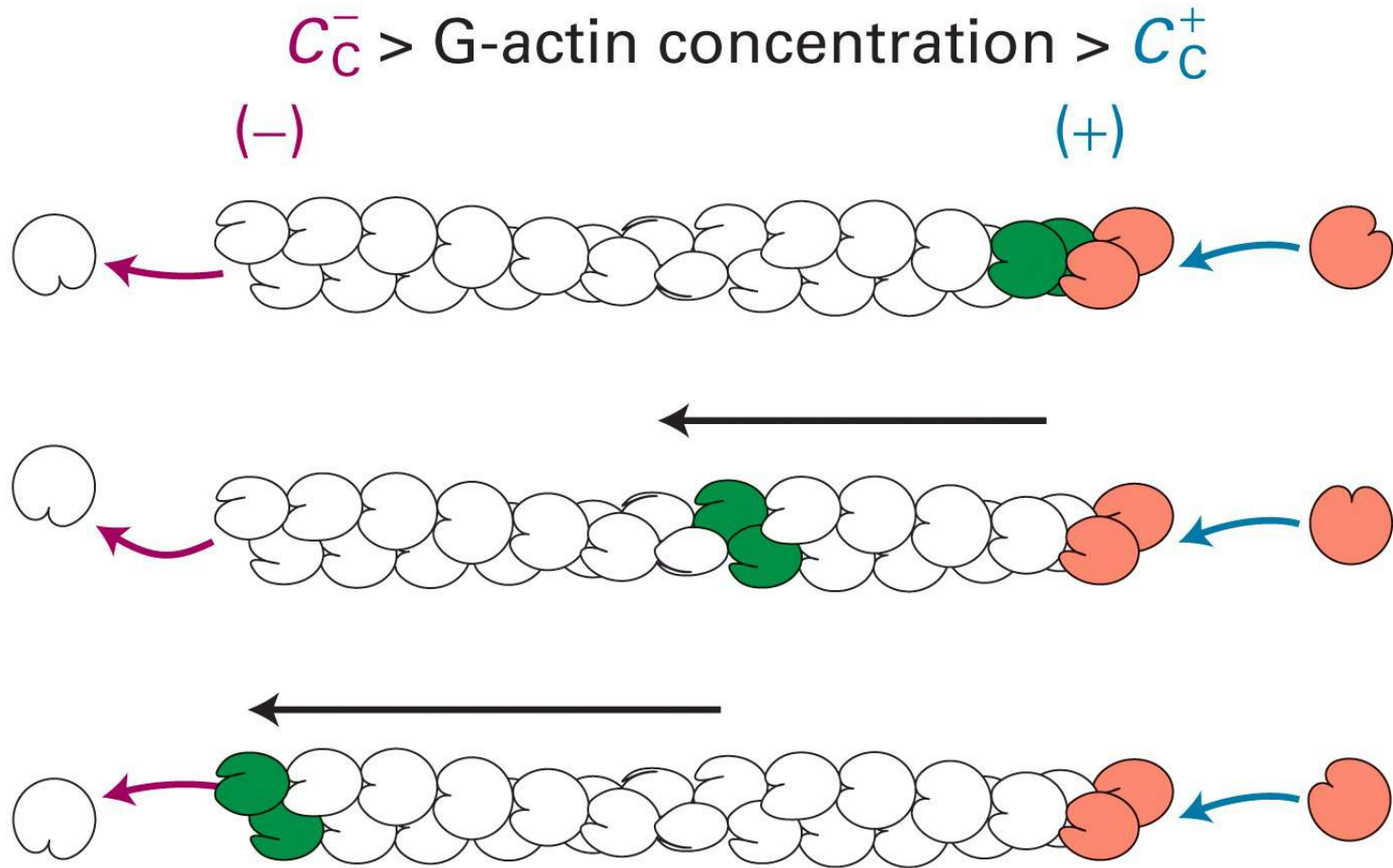
“Decoração” com miosina pode demonstrar a polaridade dos filamentos de actina



Polimerização da actina *in vitro*



As subunidades de actina podem “rolar” pelo filamento

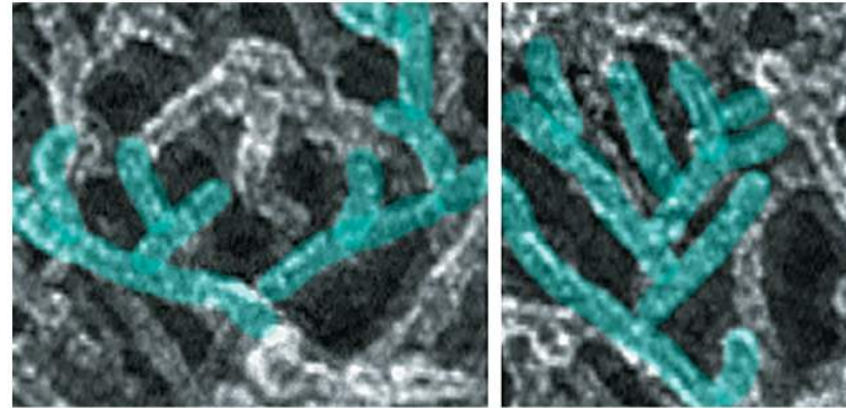
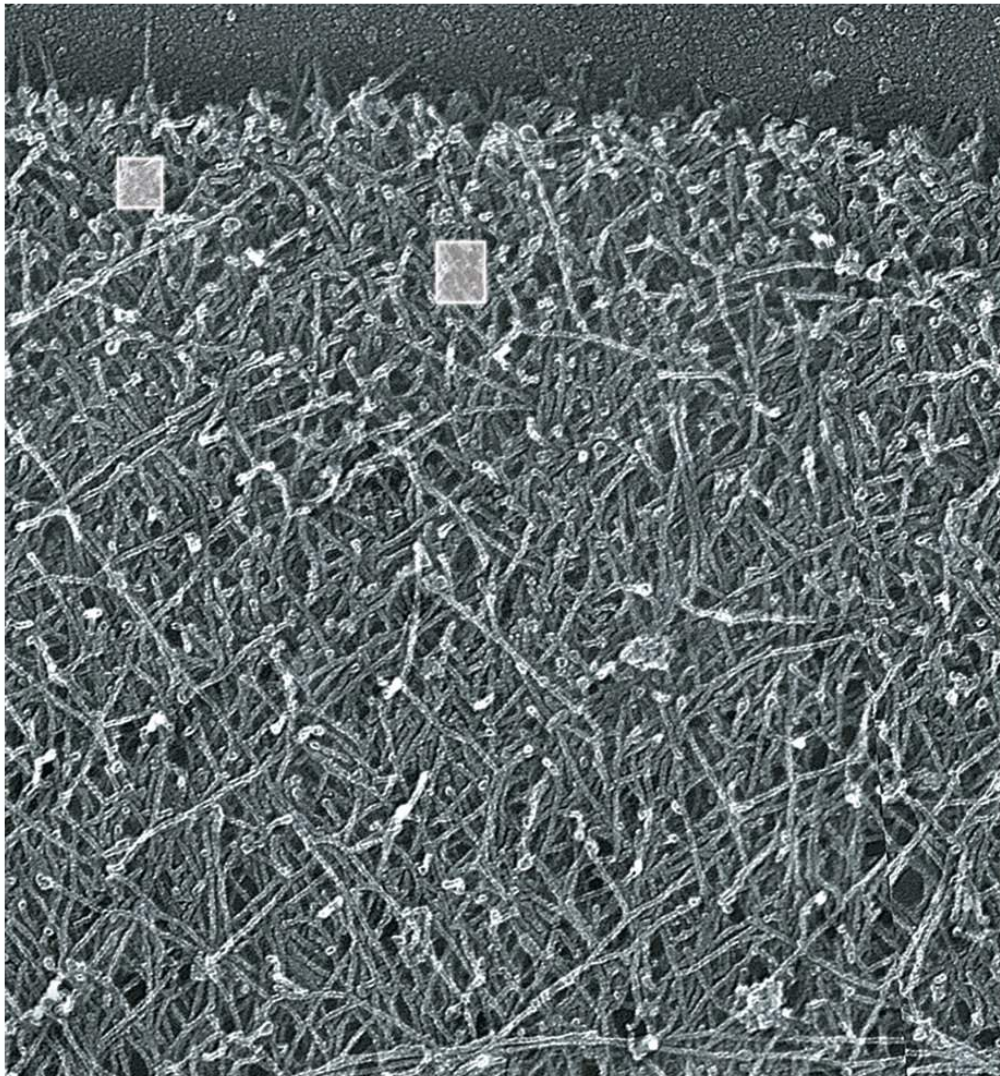


É possível monitorar a polimerização?

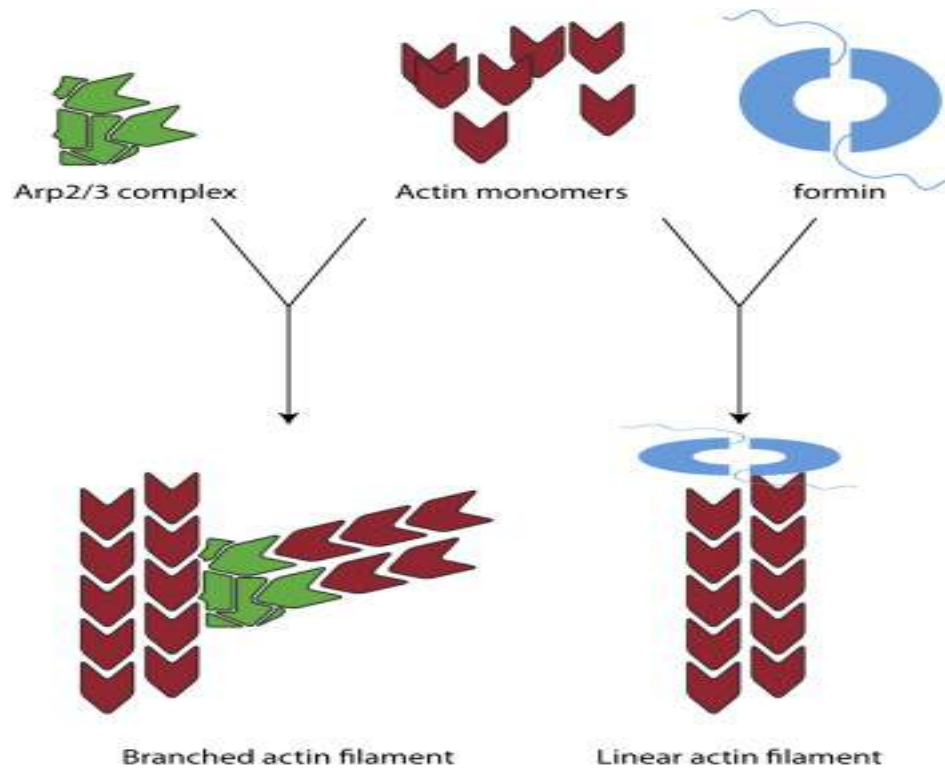
- Espalhamento de luz
- Fluorescência
- Viscosidade

Actina concentra-se no córtex celular

- Os filamentos de actina são frequentemente nucleados na ou próximos à membrana citoplasmática, regulados por sinais externos.
- proteínas de ligação à actina conectam os microfilamentos, formando uma trama de sustentação (ARPs) ou feixes não ramificados (forminas);
 - Revisão em: K. G. Campellone & M. D. Welch. [A nucleator arms race: cellular control of actin assembly](#). *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **11**, 237-251, 2010; doi:10.1038/nrm2867
- Essa trama **coordena morfologia e propriedades mecânicas** da membrana plasmática e superfície da célula



Rede de microfilamentos na base de um queratinócito: filamentos de actina ramificados com complexo Arp 2/3 nos pontos de ramificação (Arp= proteína relacionada à actina, catalisa a nucleação de actina)



The Major Mechanisms of **Actin Nucleation** in Cells and Some of their Accessory Proteins Both the Arp2/3 complex and formins use actin monomers to polymerize actin filaments.

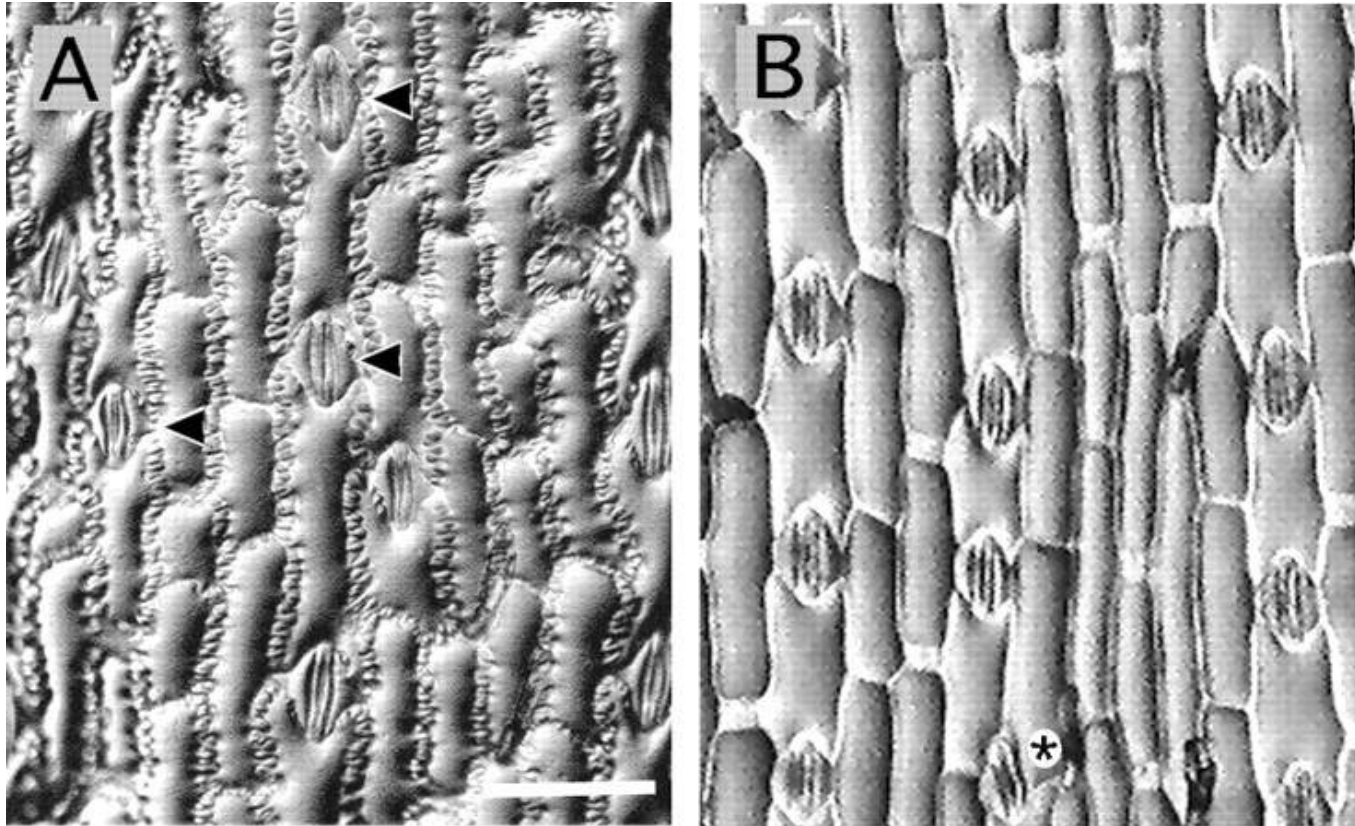
Robert H. Insall , Laura M. Machesky

Actin Dynamics at the Leading Edge: From Simple Machinery to Complex Networks

Developmental Cell Volume 17, Issue 3 2009 310 - 322

<http://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2009.08.012>

Phenotypes of wild-type and *brk2* (Arp) mutant leaves.

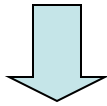


Frank M J et al. *Development* 2003;130:753-762

Filamentos de actina

- Em média, ~5% da proteína total de uma célula animal é actina.

$\frac{1}{2}$ associada a filamentos e $\frac{1}{2}$ monomérica no citosol



[alta], por que não se associam todas?

Monômeros estão ligados a outras proteínas no citosol (timosina)

Ou há proteínas de ligação ao filamento...

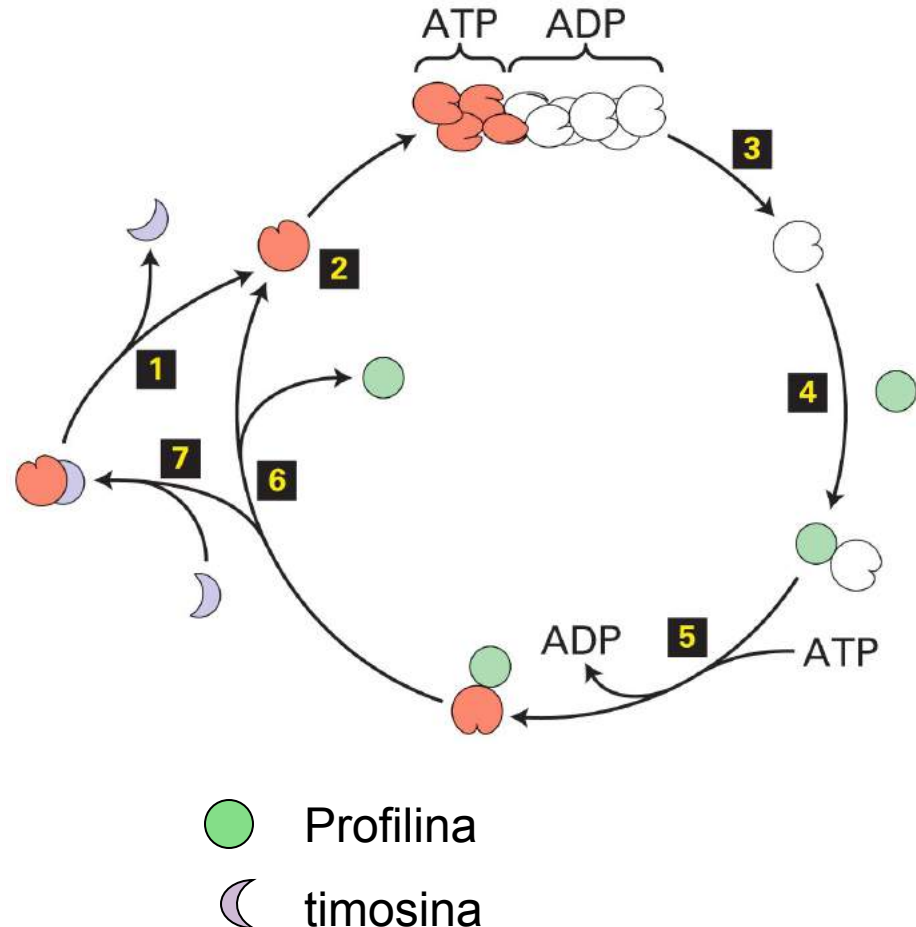


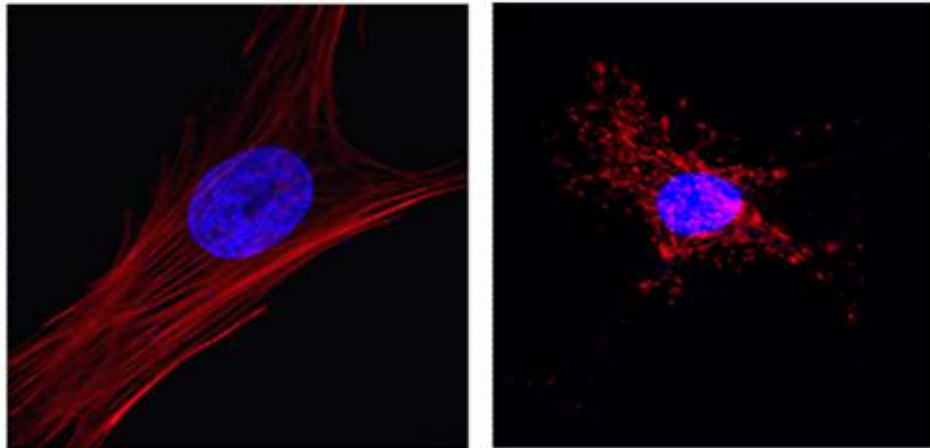
TABLE 19-2 Some Cytosolic Proteins That Control Actin Polymerization

Protein	MW	Activity
Cofilin	15,000	Dissociation from (-) end
Severin	40,000	Severing, capping [(+) end]
Gelsolin	87,000	Severing, capping [(+) end]
CapZ capping protein	36,000 (α) 32,000 (β)	Capping [(+) end]
Tropomodulin	40,000	Capping [(-) end]
Arp2/3 complex	200,000	Capping [(-) end], side binding and nucleation

Fonte: Lodish et al.

Proteínas que perturbam actina são úteis para estudos de dinâmica da actina

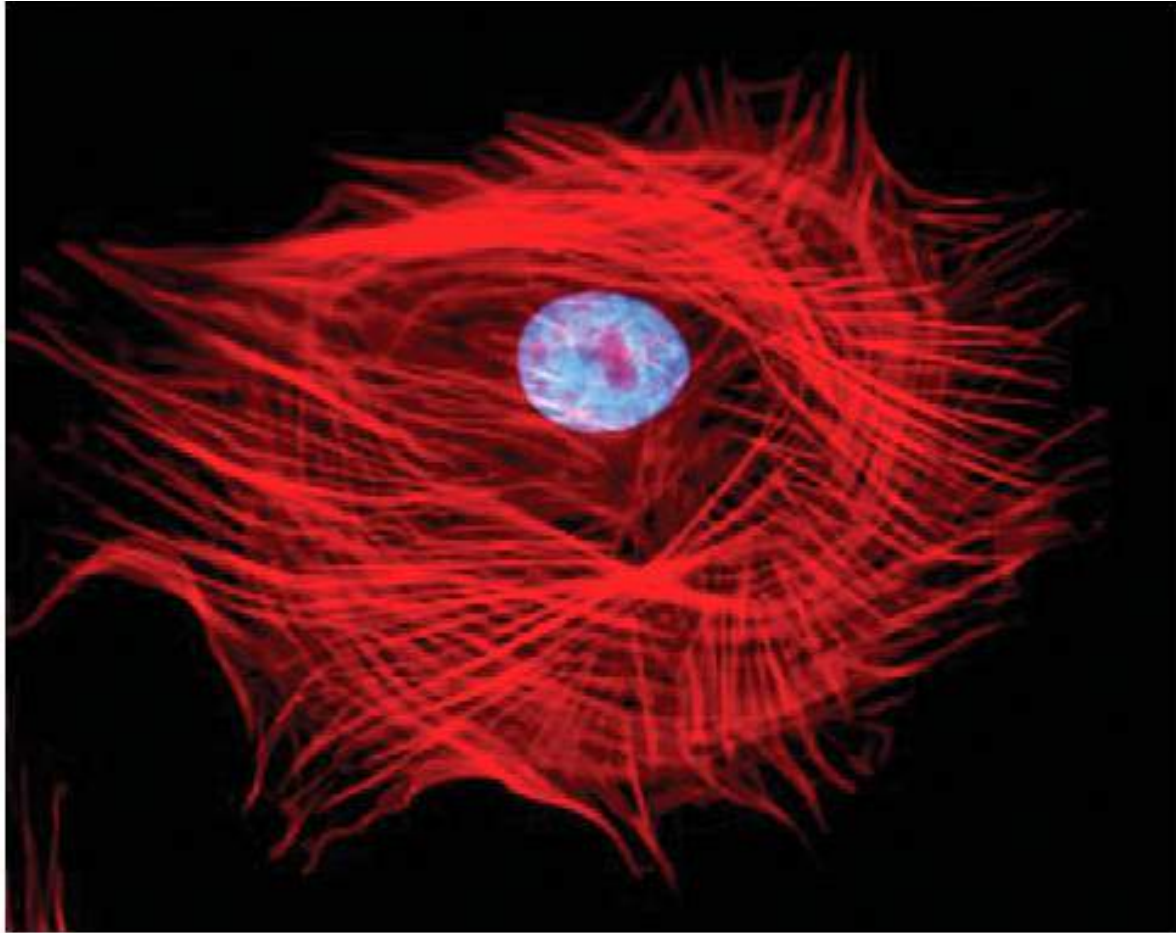
- Citocalasina D e latrunculina: promovem a despolimerização da actina
 - Citocalasina: alcalóide de fungo



- Faloidina: isolada de *Amanita phalloides* impede a despolimerização.



A faloidina impede a despolimerização da actina

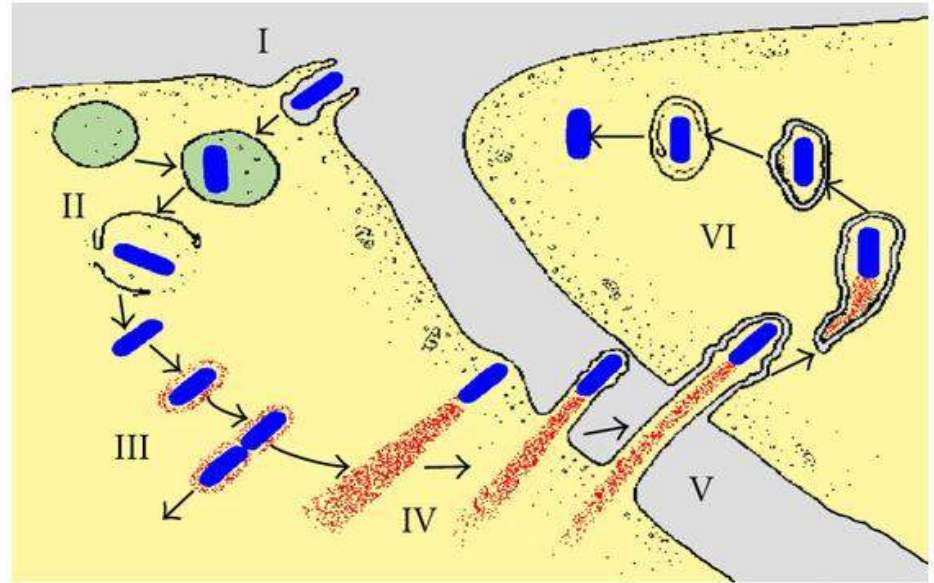


Muntjac skin fibroblast labeled with rhodamine phalloidin. The actin cytoskeleton of a fixed and permabilized muntjac skin fibroblast was labeled with rhodamine phalloidin; the nucleus was stained with DAPI.

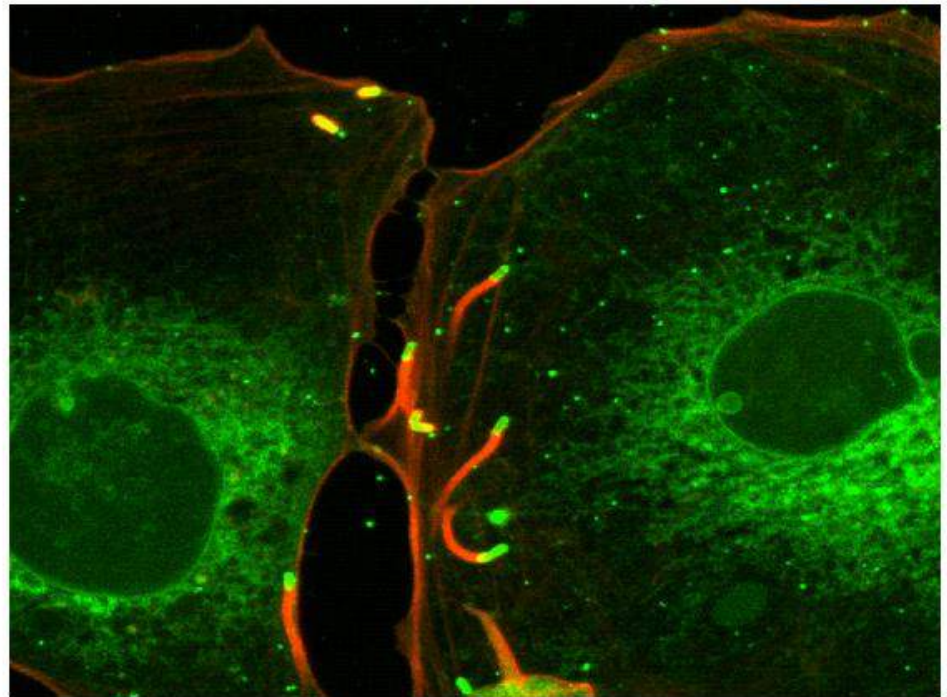
<http://www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/R415>

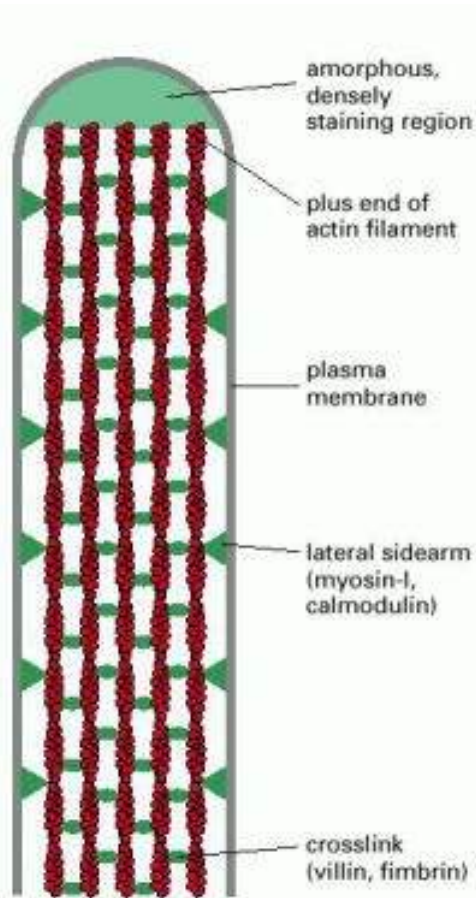
<https://youtu.be/4JWpG8XPku4>

Estágios do ciclo de vida intracelular de *Listeria monocytogenes*.

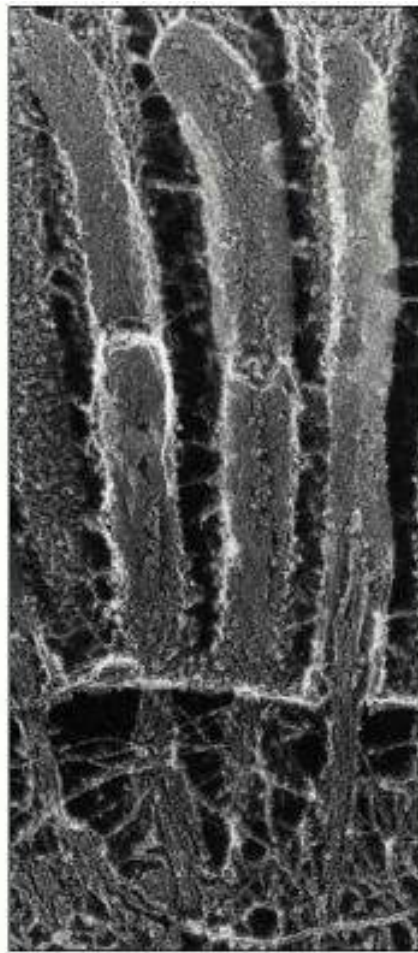


(a) Diagrama dos diferentes estágios da infecção: (I) fagocitose, (II) escape do fagolisossomo, (III) recrutamento da actina e replicação, (IV) movimento intracelular mediado pela polimerização da actina, (V) infecção cél.-cél., (VI) lise da dupla membrana. Modified from Tilney & Portnoy. (b) imagem de fluorescência mostrando o movimento intracelular e intercelular de *Listeria* (verde) dirigido pela polarização das caudas de actina (vermelho).

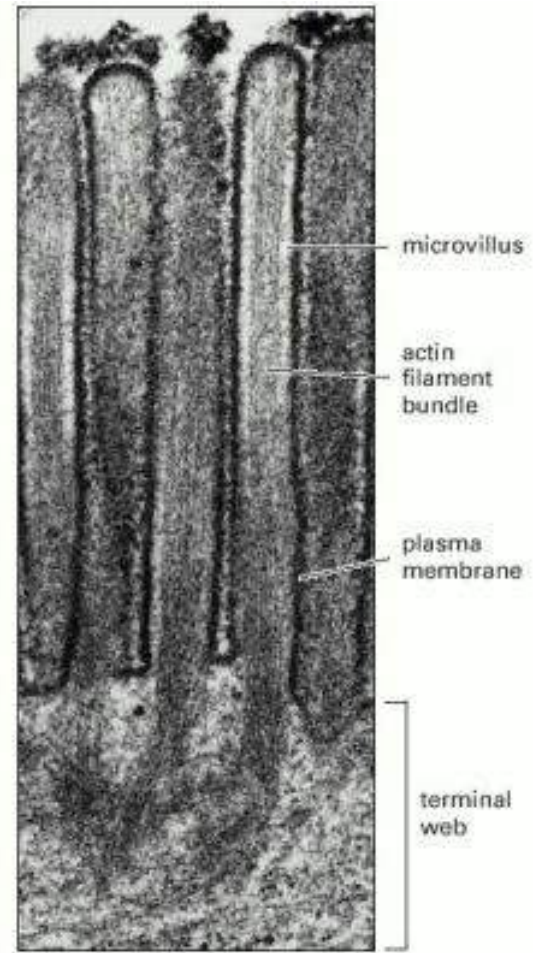




(A)



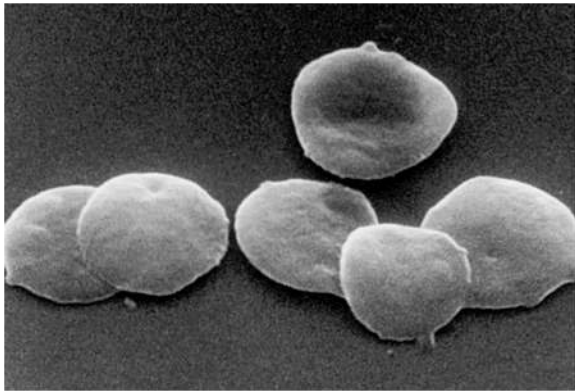
(B)



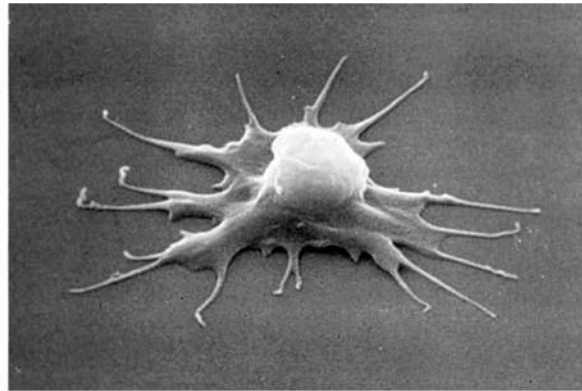
(C)

Uma microvilosidade. (A) um feixe de filamentos de actina paralelos ligados pelas proteínas **vilina** e **fimbrina**. As extremidades + dos filamentos estão na ponta do microvilus (B) Micrografia eletrônica de crio-fratura da superfície apical de uma célula do epitélio intestinal (C) Micrografia eletrônica de uma fina seção de uma microvilosidade.

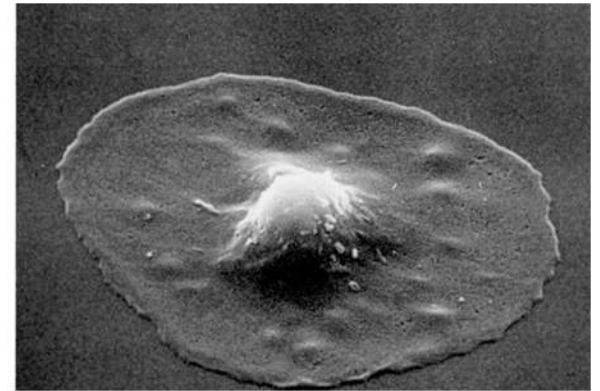
Alteração do formato das **plaquetas durante a coagulação**:
resultado de rearranjo de actina interligada à membrana plasmática.



em repouso



exposta a agentes
coagulantes



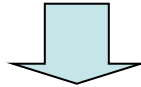
expandida

Adesão

- Quando lamelipódios e filopódios fazem contato com uma superfície favorável, eles ADEREM.

Integrinas = proteínas transmembrana de adesão

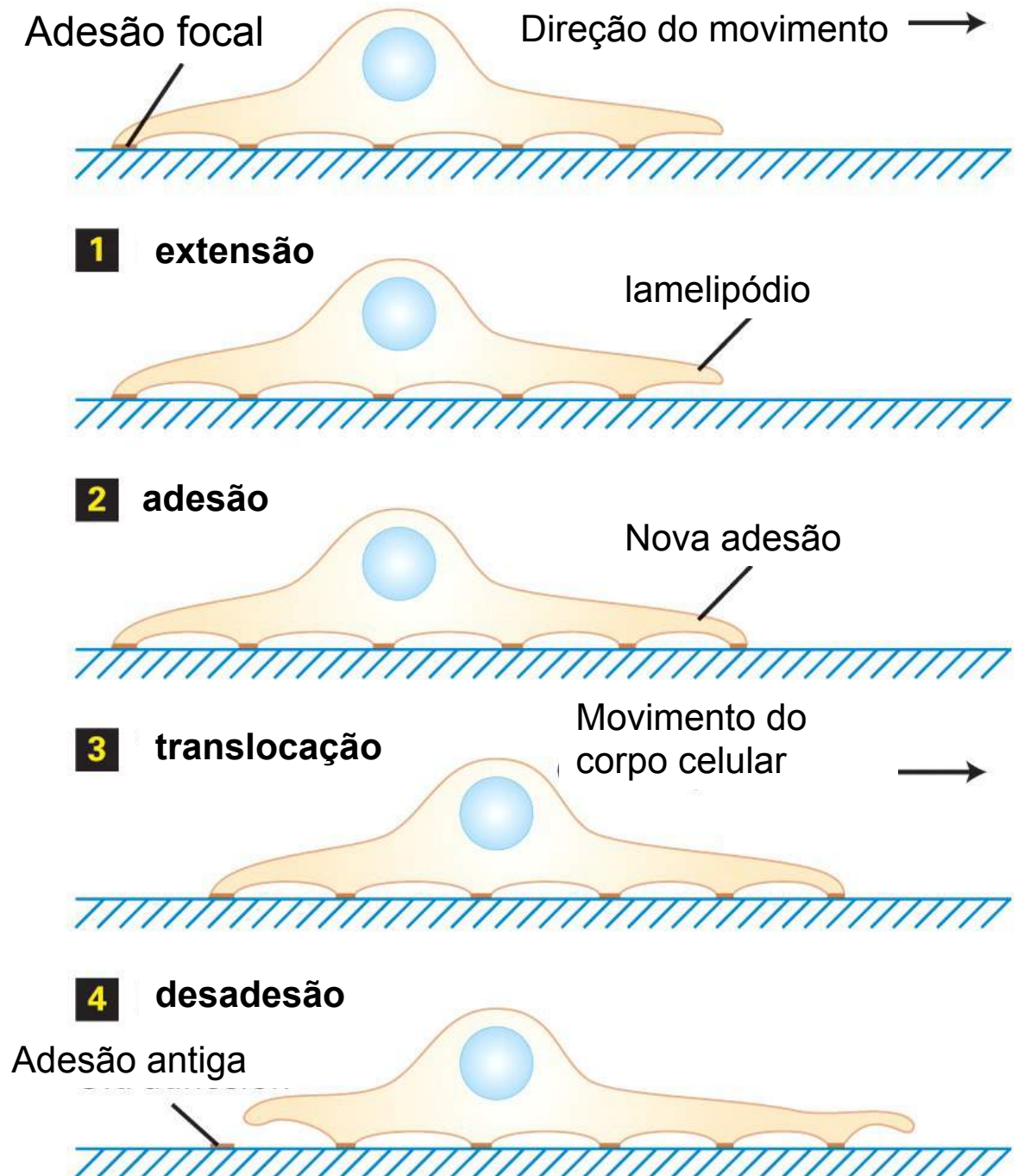
Ligam em fibronectina e colágeno



Pontos de ancoramento p/ a actina e

Ponto de apoio externamente (MEC ou céls.)

Adesão



A migração celular depende da actina: ex. de um fibroblasto

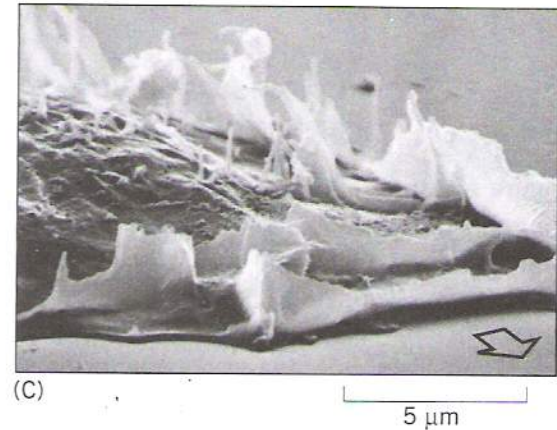
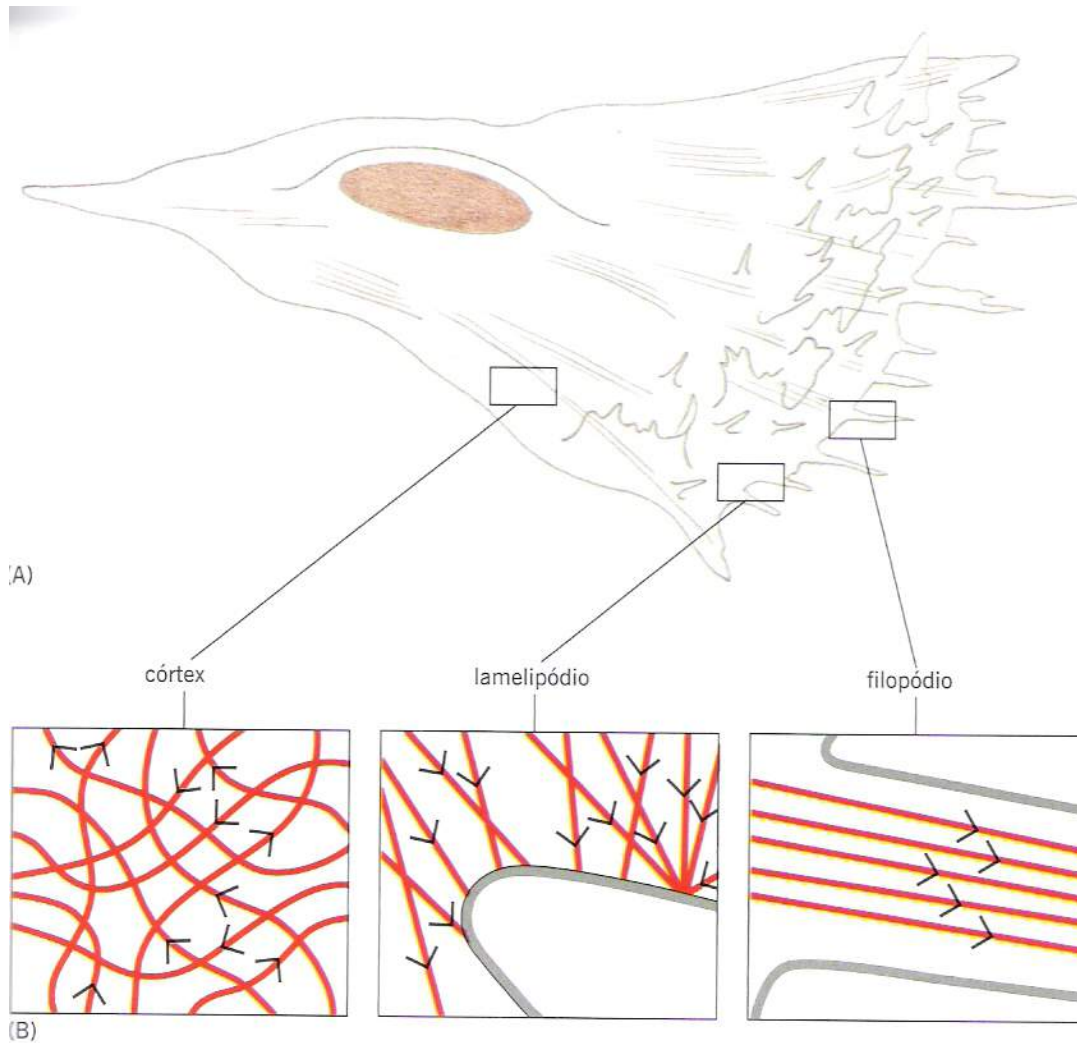
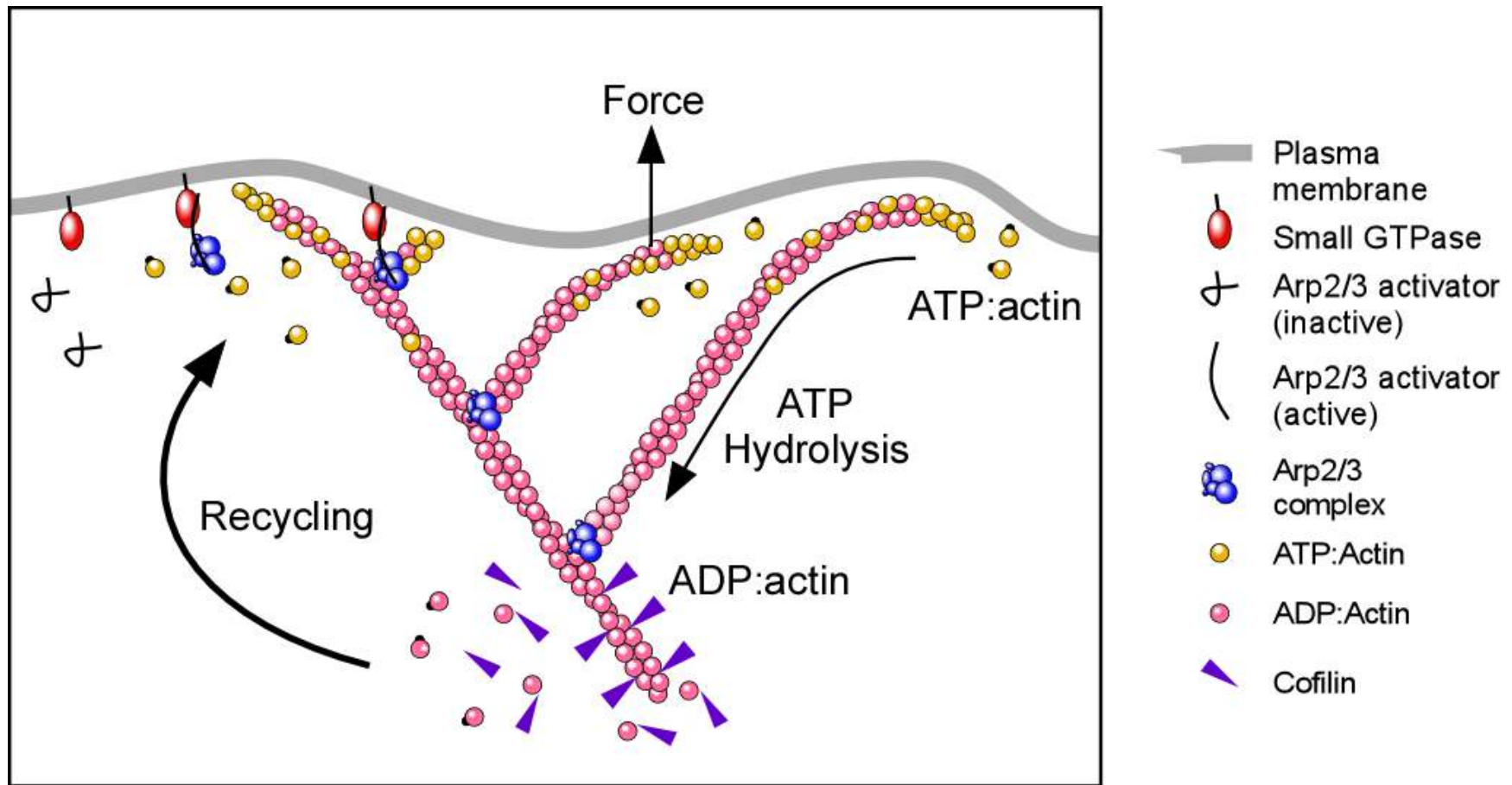


Figura 17-34 Os filamentos de actina permitem que uma célula migre. (A) Desenho esquemático de um fibroblasto ilustrando lamelipódios achatados e finos filopódios projetando-se de sua superfície, principalmente na região da borda anterior. (B) São ilustrados detalhes dos arranjos de filamentos de actina em três regiões do fibroblasto, com setas apontando em direção às suas extremidades mais desenvolvidas. (C) Microfotografia eletrônica de varredura mostrando lamelipódios e filopódios da borda anterior de um fibroblasto humano migrando em uma cultura. Uma seta indica o sentido de sua migração. (C, cortesia de Julian Heath.)

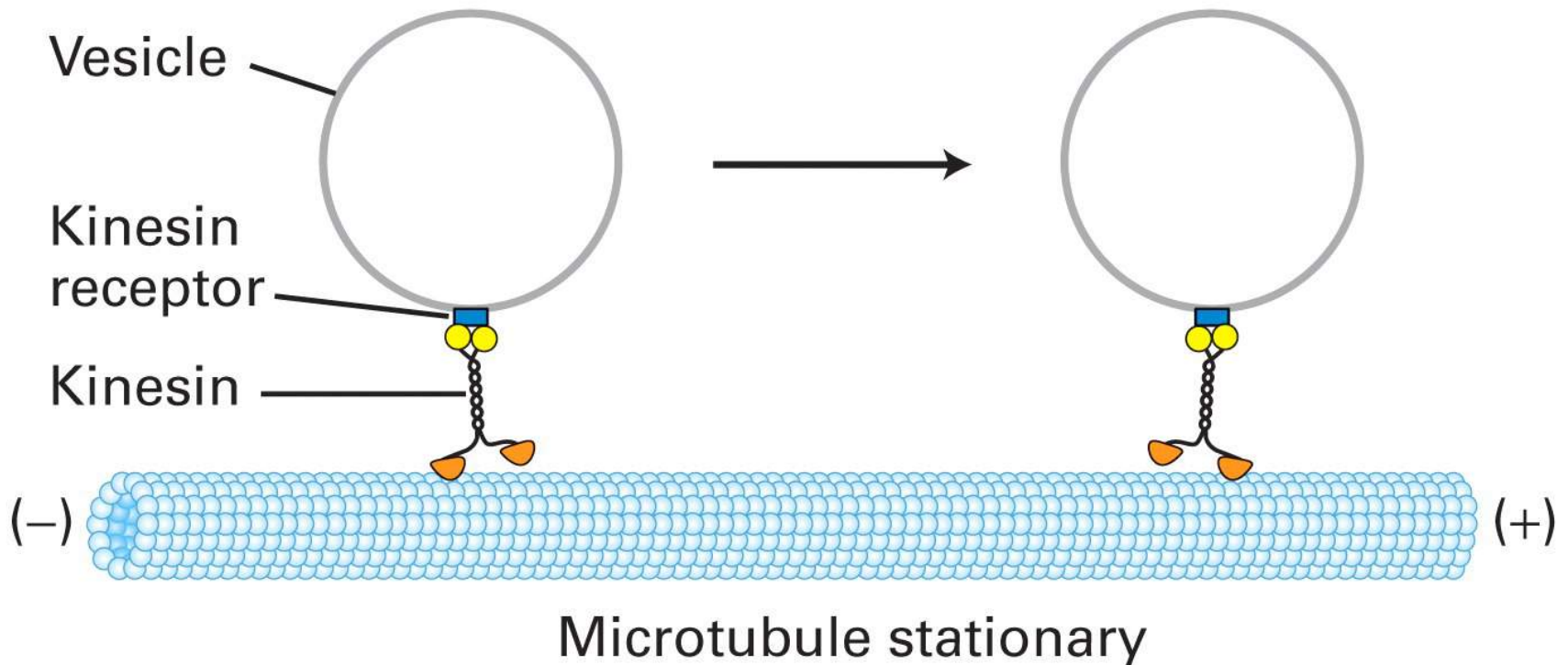
Forças produzidas pela montagem da rede de actina

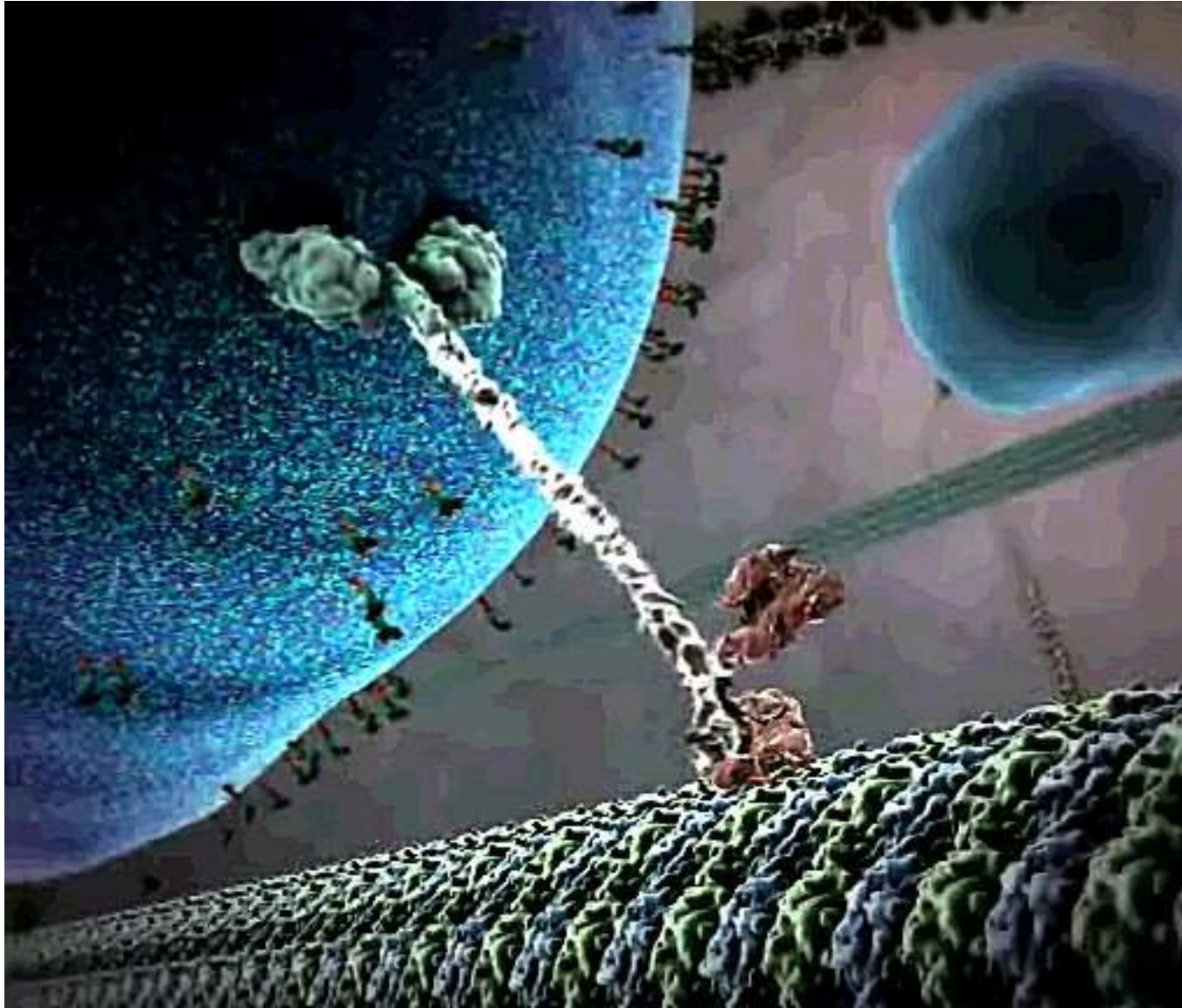


Proteínas motoras: motores moleculares

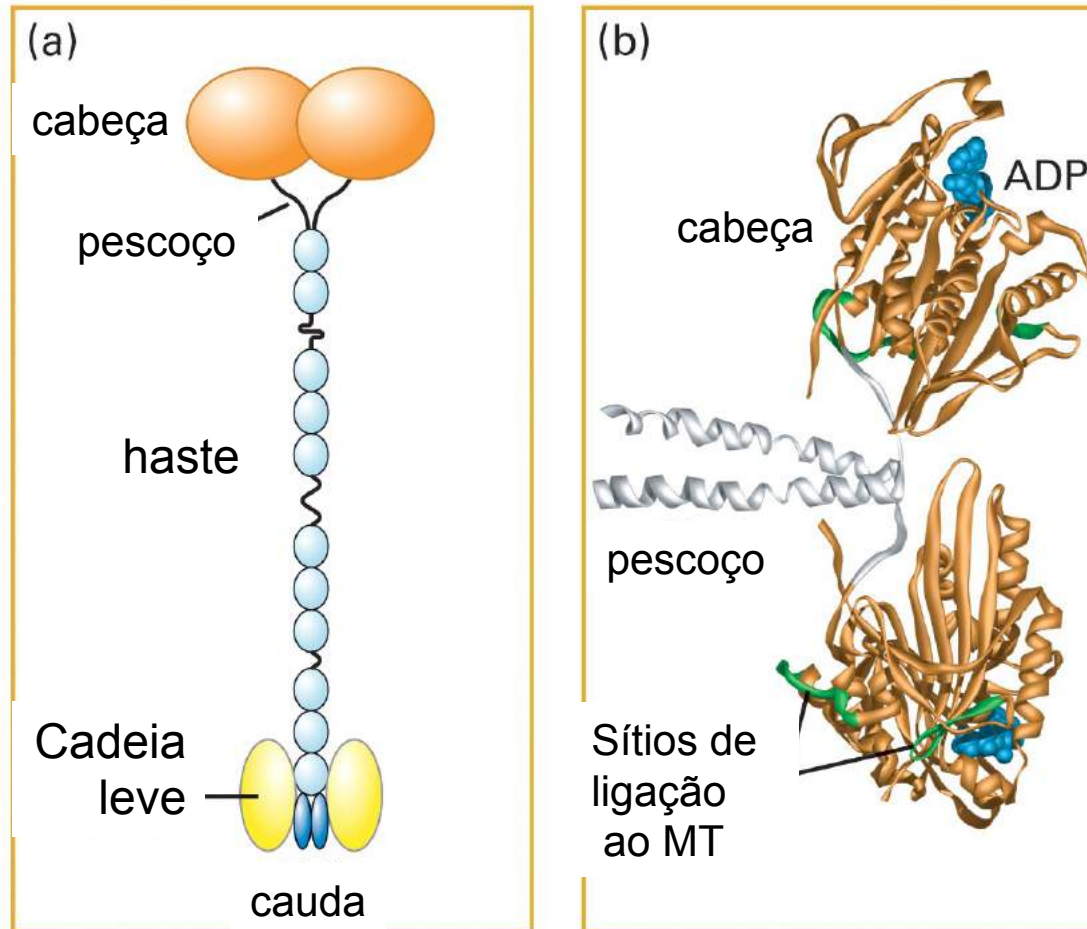
- **Proteínas motoras** usam a energia da hidrólise de **ATP** para o **transporte** de organelas, vesículas e outros;
- As vias citoplasmáticas são providas por microtúbulos (MT) e filamentos de actina;
- O movimento é **saltatório**
- **As proteínas motoras:**
 - Interagem com os MT ou filamentos de actina
 - Diferem quanto ao tipo de filamento ao qual se ligam e direção
 - Para os MT: cinesinas (preferencialmente +) e dineínas (-)
 - Possuem cabeças globulares de ligação à ATP e uma cauda (liga o cargo)

Modelo de transporte no microtúbulo catalisado pela cinesina





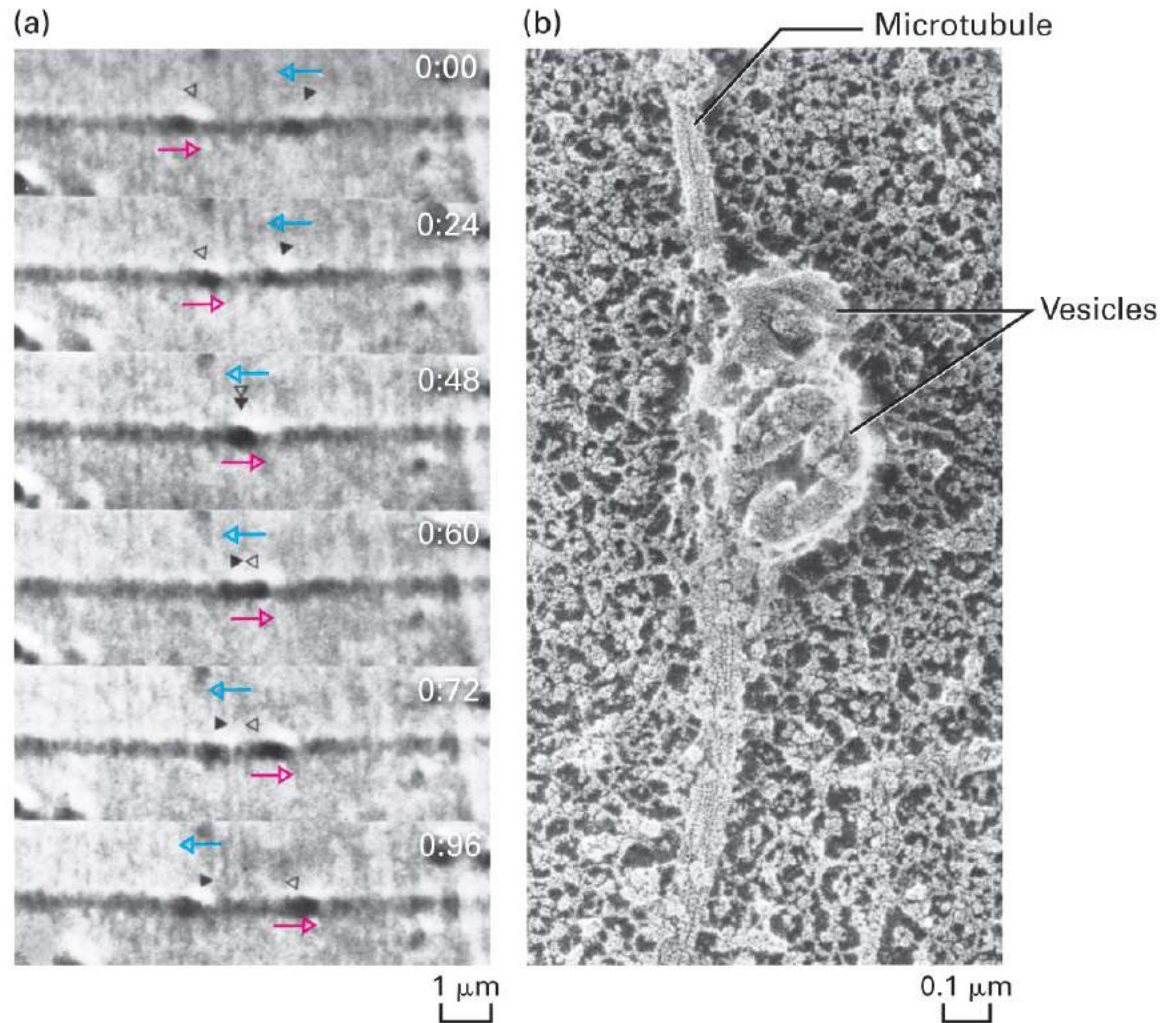
Estrutura da cinesina



A maioria das cinesinas é orientada para as extremidades mais.

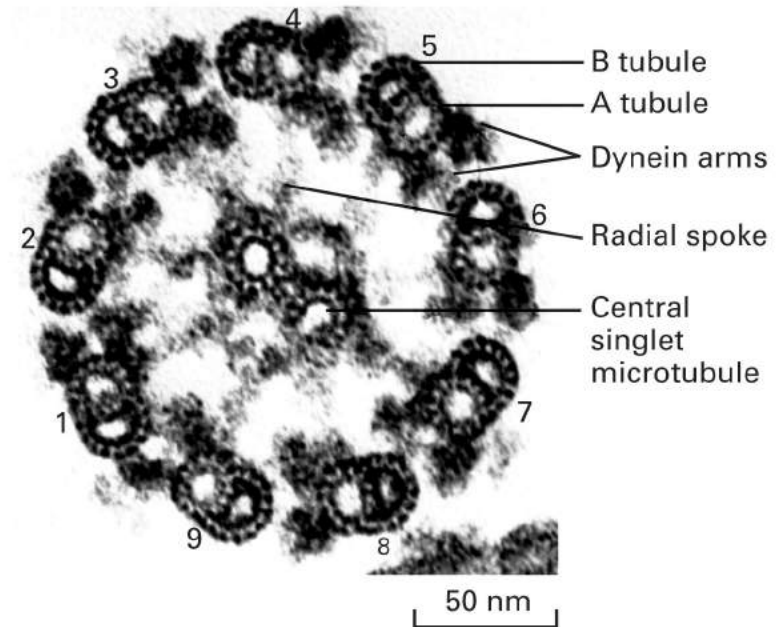
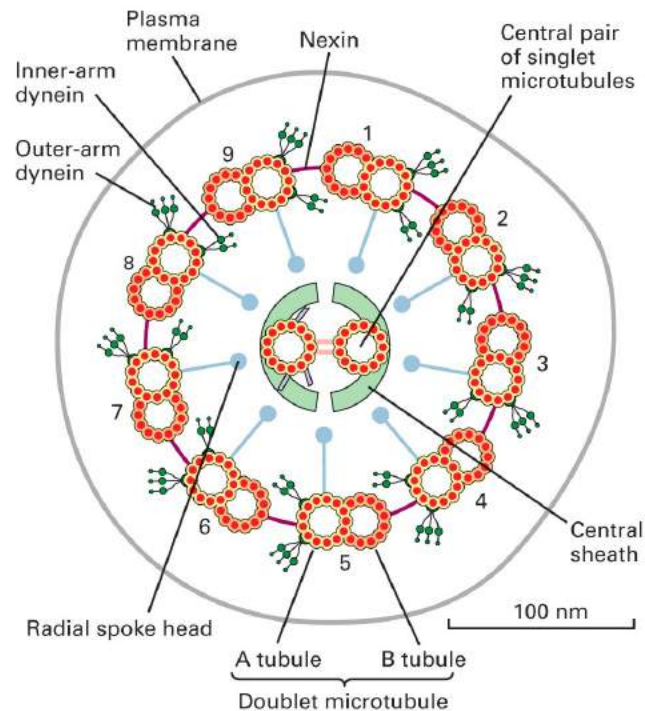
Os microtúbulos organizam a célula

Auxiliam no posicionamento das organelas e “guiam” o trânsito entre os diversos compartimentos celulares.



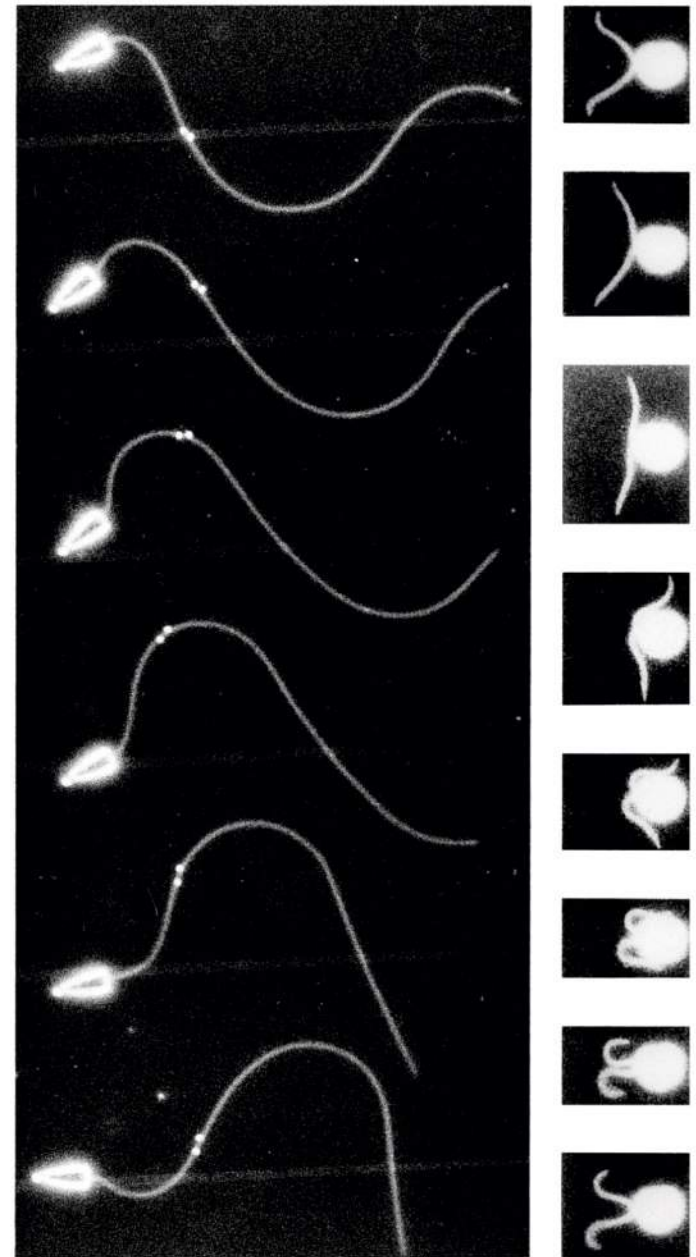
Cílios e flagelos

- Microtúbulos estáveis sustentam cílio e flagelo
- O padrão desses microtúbulos é peculiar (9+2) em eucariotos;



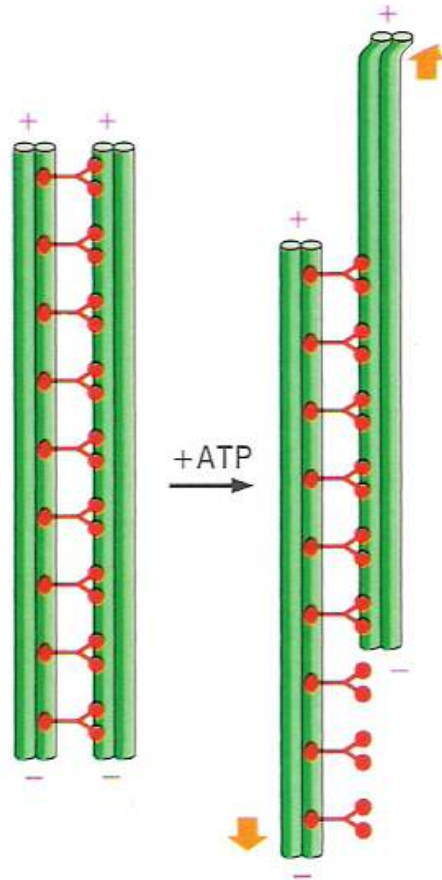
Deslizamento controlado dos microtúbulos duplos externos levam aos batimentos ciliares e flagelares.

Activate and Inhibit: How Cilia and Flagella Move. [Michael Astrachan on May 15, 2018](http://www.xvivo.net/blog/archives/activate-inhibit-cilia-flagella-move/)
<http://www.xvivo.net/blog/archives/activate-inhibit-cilia-flagella-move/>

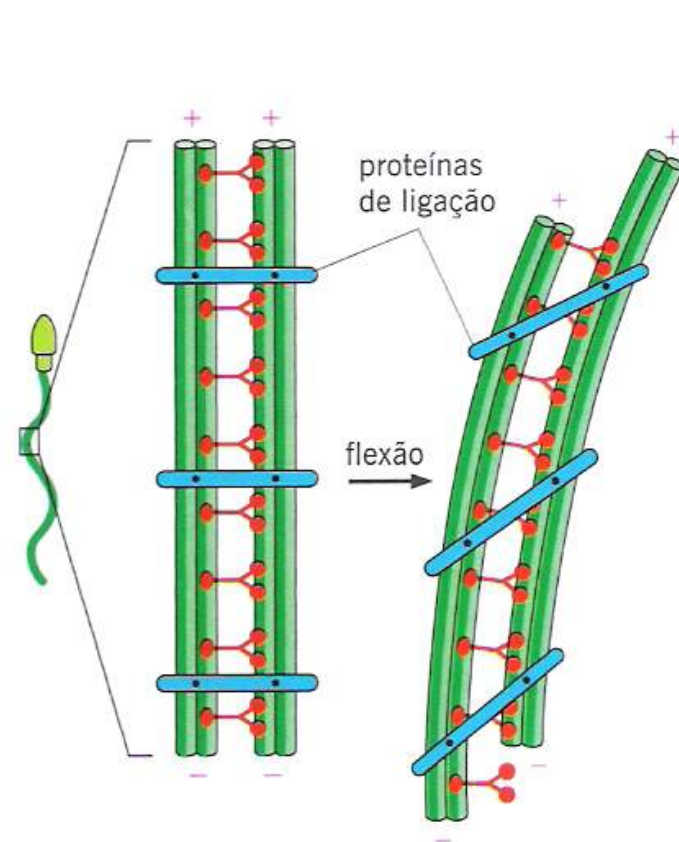


Espermatozóide e *Chlamydomonas*

O movimento da dineína levando à curvatura do flagelo





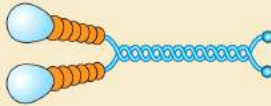
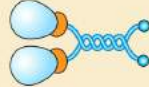
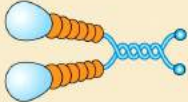
(A) EM PARES ISOLADOS DE MICROTÚBULOS: A DINEÍNA PROVOCA O DESLIZAMENTO DOS MICROTÚBULOS



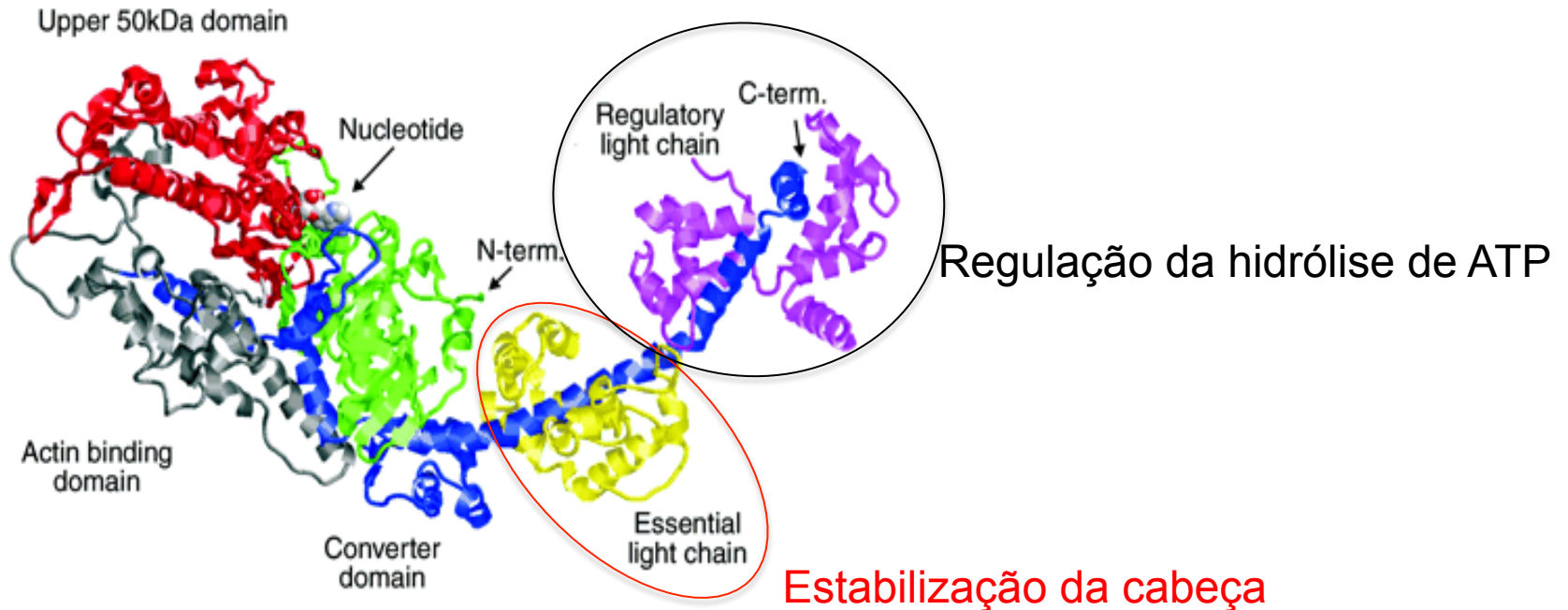
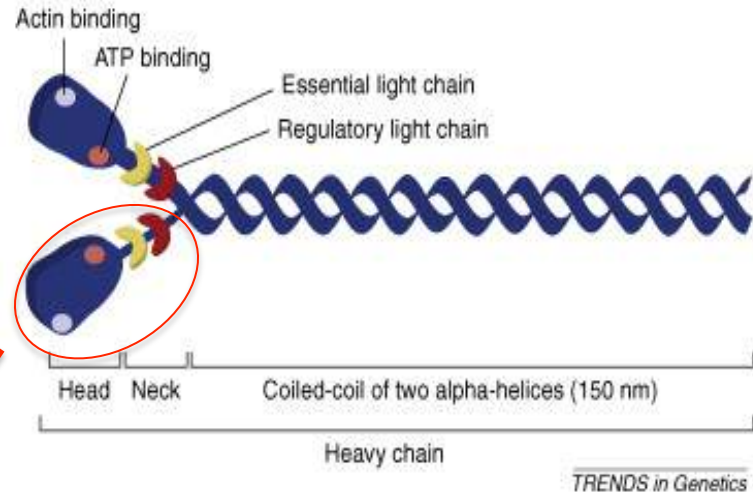
(B) EM FLAGELOS INTACTOS: A DINEÍNA PROVOCA A FLEXÃO DOS MICROTÚBULOS

Actina + miosina = estrutura contrátil

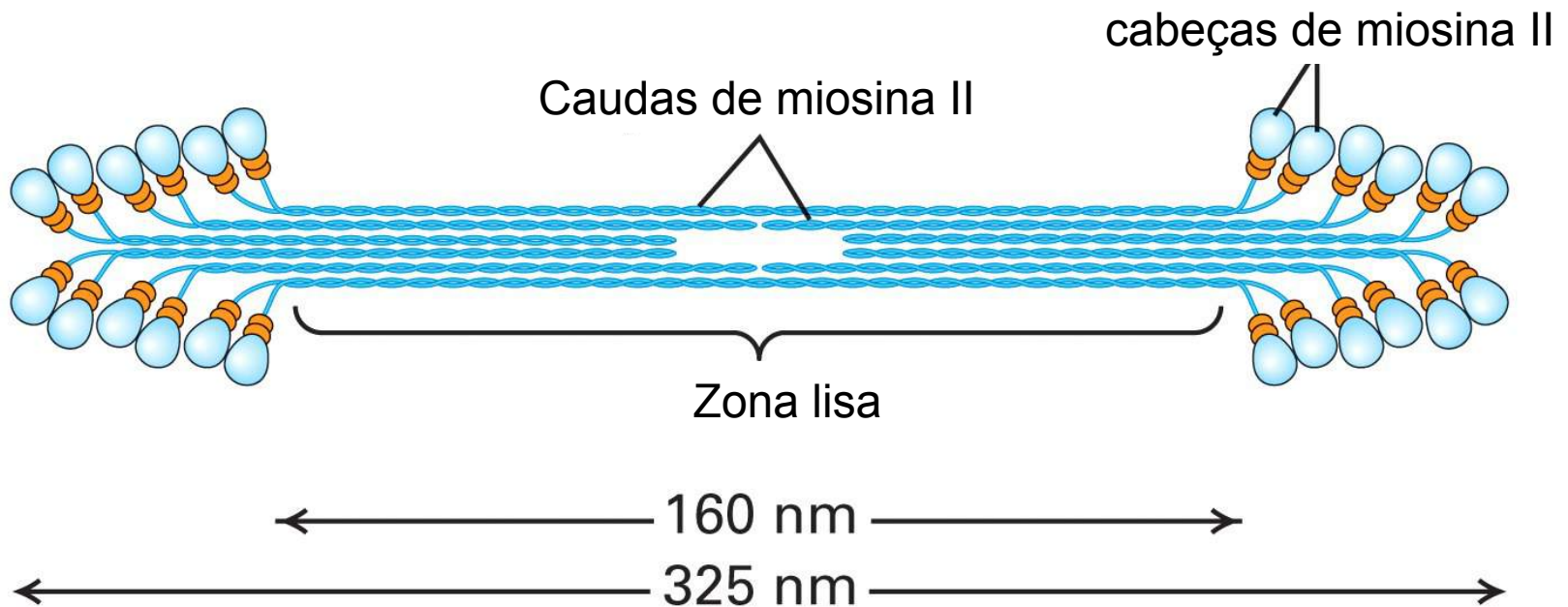
- **Miosina = proteína motora** dependente de actina
Hidrólise de ATP = energia p/ movimento

Type	Heavy Chain (MW)	Structure	Step Size (nm)	Activity
I	110,000–150,000		10–14	Membrane binding, endocytic vesicles
II	220,000		5–10	Filament sliding
V	170,000–220,000		36	Vesicle transport
VI	140,000		30	Endocytosis
XI	170,000–260,000		35	Cytoplasmic streaming

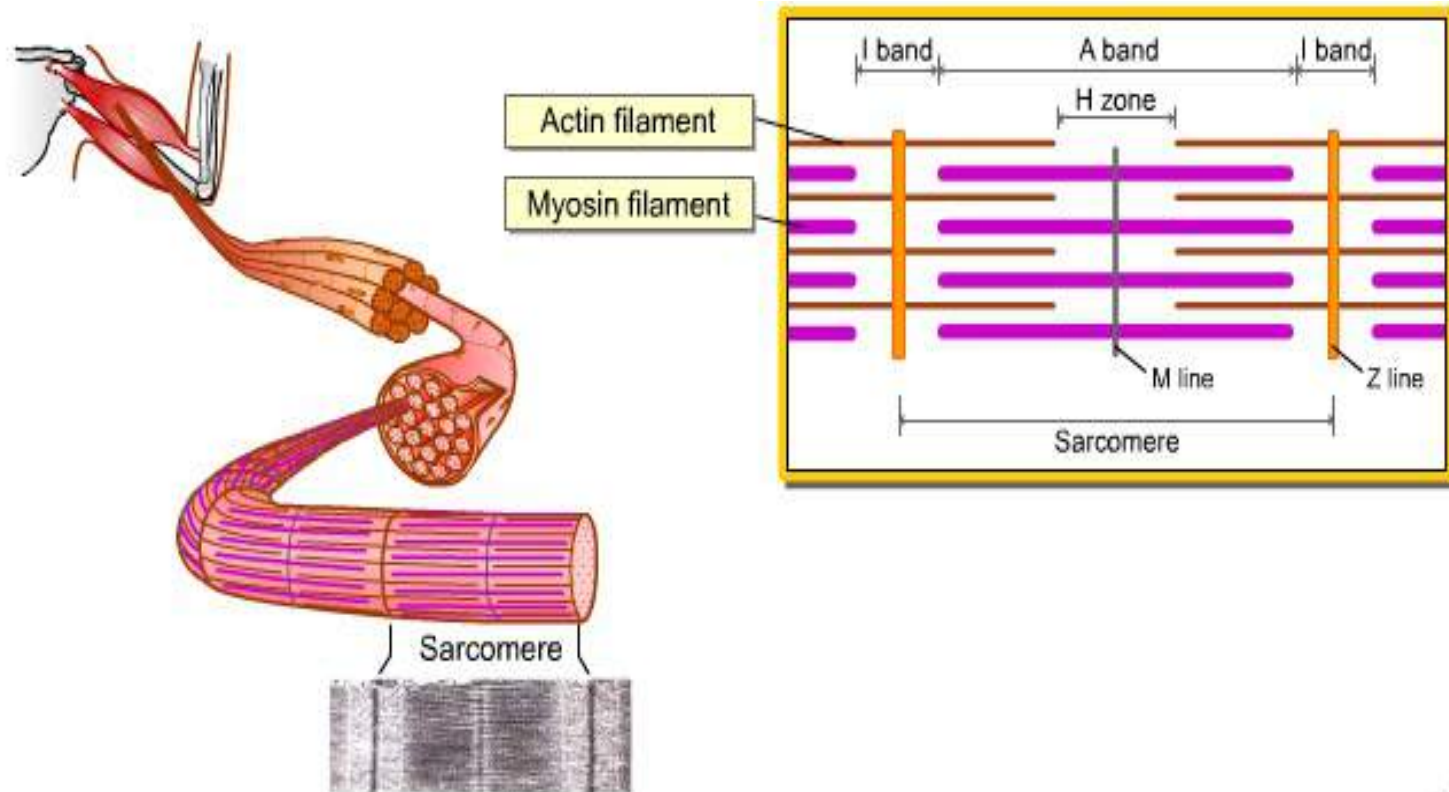
Miosina II - estrutura



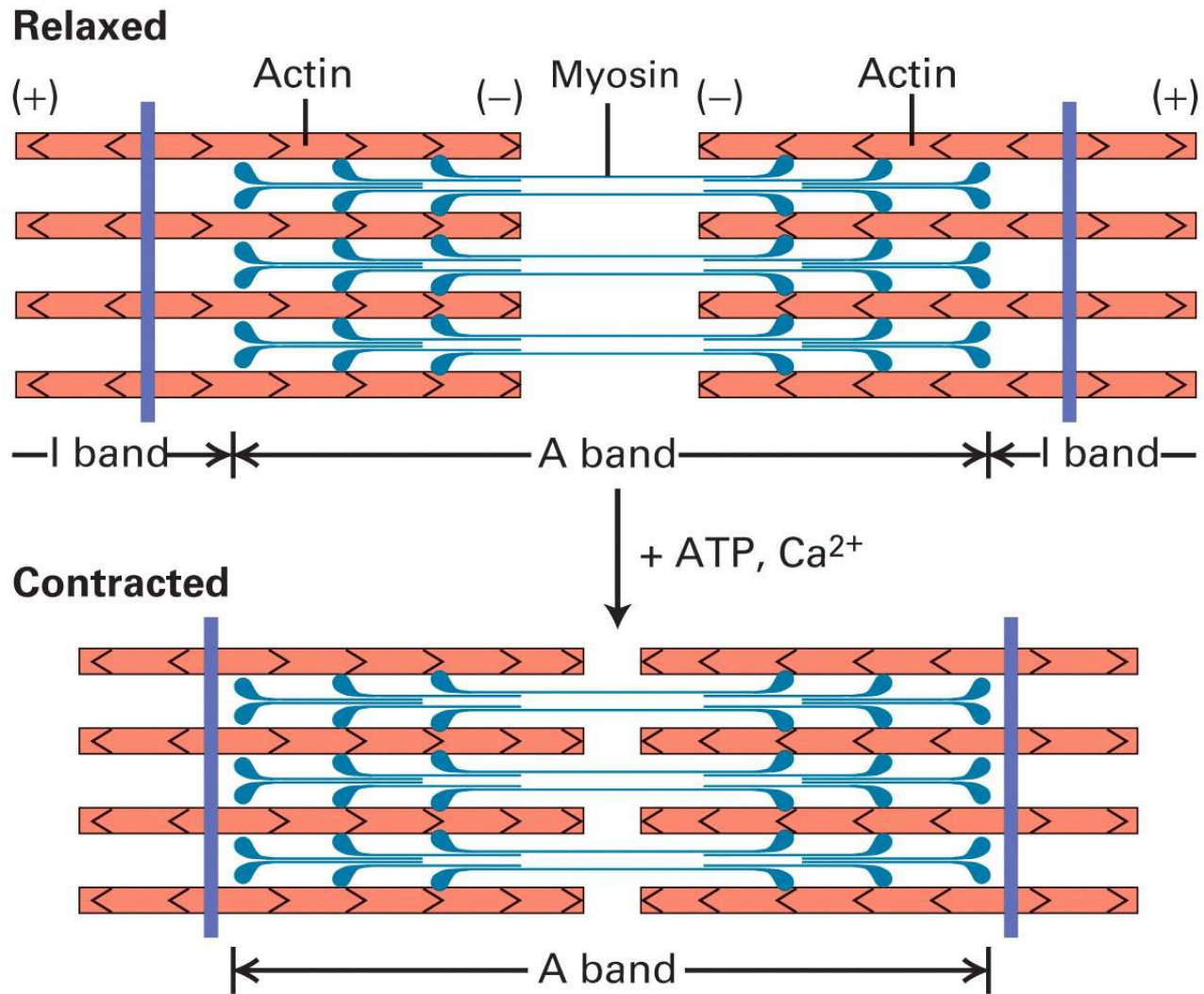
Miosina II: associação pelo domínio cauda e formação de filamentos grossos



Estrutura do sarcômero no músculo esquelético



O modelo do filamento deslizante na contração do músculo estriado



A molécula de miosina caminha ao longo do filamento de actina sofrendo um ciclo de mudanças estruturais.

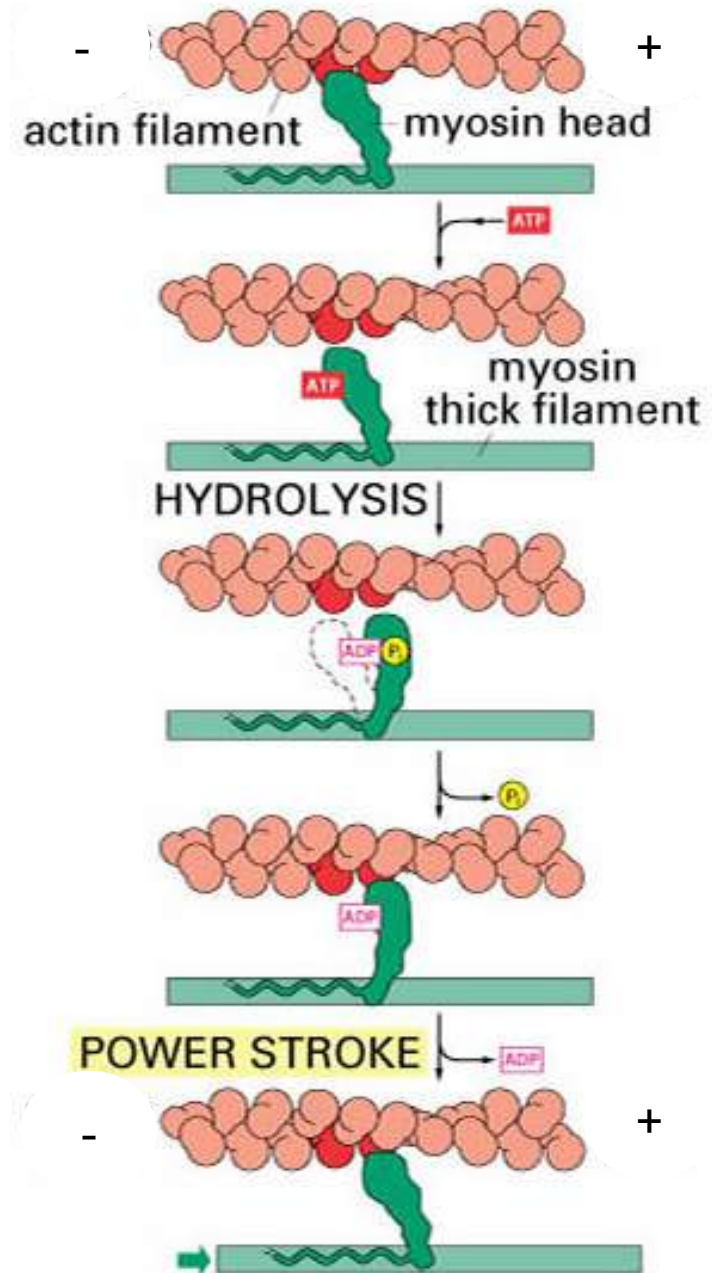
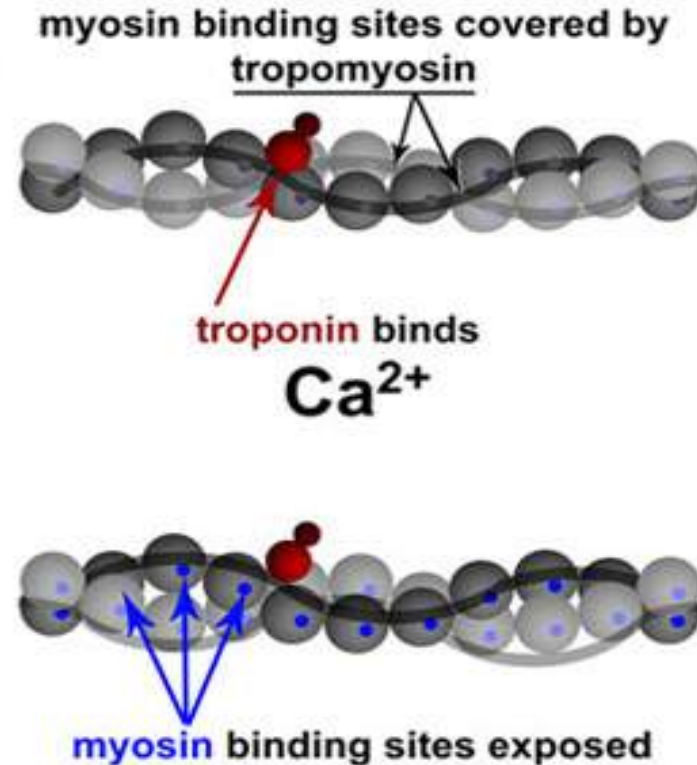


Figure 17-45 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Troponin and tropomyosin regulate contraction via calcium binding



Para leitura: Krans, J. L. (2010) The Sliding Filament Theory of Muscle Contraction. *Nature Education* 3(9):66